



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

GUSTAVO CAMPELO SILVA DE SOUZA

**APLICAÇÕES DE *QUANTUM DOTS* EM QUÍMICA
ANALÍTICA**

**RECIFE
2016**

GUSTAVO CAMPELO SILVA DE SOUZA*

**APLICAÇÕES DE *QUANTUM DOTS* EM QUÍMICA
ANALÍTICA**

Tese apresentada ao
programa de Pós-graduação
em Química da Universidade
Federal de Pernambuco,
como requisito necessário à
obtenção do grau de Doutor
em química.

Orientador: Prof. Dr^a. Ana Paula Silveira Paim (DQF- UFPE)

Orientador: Prof. Dr. André Fernando Lavorante (DQ- UFRPE)

* Bolsista FACEPE

**RECIFE
2016**

Catálogo na fonte
Bibliotecário Jefferson Luiz Alves Nazareno CRB 4-1758

S729a Souza, Gustavo Campelo Silva de.
Aplicações de *Quantum dots* em química analítica / Gustavo Campelo
Silva de Souza . – 2016.
115 f.: fig., tab.

Orientadora: Ana Paula Silveira Paim.
Coorientador: André Fernando Lavorante
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN.
Química fundamental, Recife, 2016.
Inclui referências e anexo.

1. Química analítica. 2. Fotoluminescência. 3. Nanotecnologia. 4. Detectores ópticos.
I. Paim, Ana Paula Silveira. (Orientadora). II. Título.

543 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2017-25

GUSTAVO CAMPELO SILVA DE SOUZA
APLICAÇÕES DE *QUANTUM DOTS* EM QUÍMICA ANALÍTICA

Tese apresentada ao
programa de Pós-graduação
em Química da Universidade
Federal de Pernambuco,
como requisito necessário à
obtenção do grau de Doutor
em química.

Aprovado em: 12/09/16
Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Ana Paula Silveira Paim (Orientadora)
Departamento de química fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Severino Alves Júnior
Departamento de química fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Giovannia Araújo de Lima Pereira
Departamento de química fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Josué Carinhanha Caldas Santos
Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas

Dr. Ricardo Saldanha Honorato
Departamento de Polícia Federal

A família e amigos.

À minha esposa Roberta

**"Mas em todas estas coisas somos mais que vencedores, por meio
daquele que nos amou" (Romanos 8:37).**

***Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.***

Fernando Pessoa

Agradecimentos

Agradeço a Deus por tudo que tem realizado na minha vida.

A minha esposa Roberta. Amo-te eternamente. Nesse período ela sempre me ajudou com seus conselhos, acerca das coisas boas da vida, assim como as coisas más. Ensinando-me a ter fé em Cristo. No período que estive fora do país para desenvolver uma parte do meu doutorado sempre falamos por meio do Skype, sei que foi um período difícil, mas cumpri minha missão e te agradeço pela paciência por esperar a minha volta.

A minha Mãe Maria José Silva de Souza e ao meu pai Roberto Campelo de Souza por todos os esforços para minha educação. Pai e mãe sei que vocês dois fizeram o que puderam pela minha formação como ser humano me ensinando valores inestimáveis de decência. As minhas irmãs Eliane, Amanda e Fábio meu cunhado, amo vocês, às vezes sou um pouco chato, mais é meu jeito.

Ao meu orientador Prof. Dr. André Fernando Lavorante, por sua confiança depositada em mim para elaboração deste trabalho. Ainda me lembro professor, quando cheguei a sua sala, exatamente no dia 27 de julho de 2008, uma manhã, pedindo uma oportunidade para realizar atividades relacionadas à pesquisa. O senhor me recebeu com toda a educação e simplicidade, que é de vossa característica, e me falou de um tal de “FIA” para fazer análise em fluxo de amostra. Confesso que não entendi nada, mas a curiosidade foi maior. Penso que é isso o que move a pesquisa científica, esse espírito aventureiro e desbravador que nós seres humanos temos nos nossos corações. Durante o doutorado tentamos trabalhar com outras coisas, os metais de terras raras, mas como ciência é imprevisível não conseguimos trabalhar com tais. O senhor professor um dia mostrou-me um artigo sobre uso quantum dots em química analítica, foi aí que o espírito de curiosidade tomou conta da minha mente. Tenho uma opinião sobre orientadores, vocês devem sempre ensinar o caminho para os alunos e nunca levar os alunos por meio do caminho. Professor Dr. André, o senhor sempre me ensinou o caminho. Obrigado!

Professora Dr^a Ana Paula Silveira Paim, te conheci realmente no segundo semestre do meu doutorado, quando começamos a realizar os primeiros experimentos com quantum dots. Aprendi diversas coisas contigo, desde assuntos científicos complexos a assuntos populares. Nunca vou me esquecer sobre ensinamentos sobre a vida científica e os valores éticos que são inerentes a ela. Vou carregar todos esses ensinamentos para sempre. Conheci sua família, seu esposo Fernando, uma pessoa que carrega uma energia muito positiva com ele, assim como sua filha, muito educada, engraçada e inteligente.

Professora Dr^a. Claudete, eu fiz uma disciplina de infravermelho instrumental com você, gostei muito pelos ensinamentos e conselhos durante o período da disciplina.

Professora Dr^a Maria da Conceição Branco da Silva e Professor Dr. Alberto Nova Araújo, essas duas pessoas, durante minha estadia na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP), me apresentaram uma nova maneira de olhar o mundo científico. Não são muitas palavras para descrever os dois, mas obrigado Conceição pelos almoços aos domingos, sempre muito saborosos e divertidos em companhia da sua família (Suzana, Miguel e João Paulo), em especial com seu pai, Alcino Branco, que para mim é uma biblioteca viva e ambulante e exemplo de pessoa. Alberto, eu gostei muito dos almoços com Professor Jorge e você, principalmente dos conselhos científicos e sobre a vida de uma forma geral. Aprendi uma coisa muito especial contigo, preciso ler muitos artigos sempre.

Professor Dr. João Luis da FFUP um sujeito sempre muito positivo e animado. Obrigado pelas conversas e conselhos.

Dr. David Sergio, investigador da FFUP, acho que no fundo agora sou torcedor do Benfica, por tua causa. Obrigada por tudo. Apreendi muito contigo.

Dr^a Célia Amorim do IBMC acho-te uma pessoa muito segura nas colocações. Obrigado e tenho muita admiração por você.

Prof. MSc. Paulo Alberto (IFAL) meu colega e amigo de laboratório do Brasil, que tem como característica principal a inteligência e paciência com os

outros. Foi um colega espetacular durante o mestrado e doutorado, sempre calmo todas às vezes que íramos assistir aulas de eletrônica na UFPB. Eu não gostava de ir, por causa da distância, mas sabia que era importante. Teve tivemos vários episódios profissionais juntos. Acho que o mais importante foi montar e desenvolver um trabalho de determinação de açúcares redutores em vinhos foi um grande aprendizado para nós dois.

Prof. Dr. Gilson Bezerra, IFPE, é um grande colega, o conheci na UFRPE, realizando as suas sínteses de carboidratos. Obrigado Gilson por ter compartilhado suas experiências de vida acadêmica e pessoal comigo, nunca esquecerei.

Prof. MSc. Denilson Vasconcelos foi o colega que me introduziu na parte experimental de síntese de quantum dots por via eletroquímica. Obrigado.

Agradecimentos ao professor Dr. Érico Teixeira Neto Laboratório de Microscopia Eletrônica, LNNano pelas análises de microscopia.

Aos colegas de laboratório do Brasil: Éden Hernandes, Rômulo, Rafael, Carlos Mendes, Leonardo, Nattany, Natália, Bianca, Pedro Lemos pelos momentos vividos no LAQIS.

Aos colegas de laboratório do GABAI da FFUP Dr^a S. Sofia, Cláudia, Dr. Armindo Melo, Álvaro Torrinha, Beatriz e Ana Luiza.

Agradecimentos financeiros a CAPES, FACEPE e CNPq, pela bolsa concedida e pelo financiamento do projeto.

RESUMO

A presente tese de doutorado dividiu-se em três seções. A seção primeira consiste em uma breve revisão sobre *quantum dots*: conceitos e aplicações. A segunda seção descreve o desenvolvimento de uma metodologia analítica para determinação de Cr(III). Neste trabalho o Cr(III) foi quantificado em suplementos alimentares empregando *quantum dots* CdSe-TGA, como *probe*. Na presença do íon Cr(III), o CdSe-TGA sofre supressão da emissão de sua fluorescência. Em condições experimentais otimizadas, a metodologia apresentou uma resposta linear para Cr(III) entre 25-325 ng L⁻¹ (R = 0,9996, n = 6), um limite de detecção de 5,67 ng L⁻¹ e um desvio padrão relativo de 4,43% (n = 10). Para verificar a precisão da metodologia desenvolvida, testes de adição e recuperação para Cr(III), foram empregados em cinco amostras de suplementos vitamínicos e resultados entre 82 e 98% foram obtidos. A metodologia aqui desenvolvida foi comparada com a técnica de espectrometria de absorção atômica por chama, onde não se verificou uma diferença significativa em nível de confiança de 95%. No terceiro seção, descreve-se a imobilização de *quantum dots*. Na terceira seção, *quantum dots*, tipo CdTe-AMP, com diâmetro 3,5 nm foram imobilizados em filmes de sílica via processo sol-gel. Para tanto, o agente sililante tetrametilortosilicato, o tensoativo TritonTM X-100, juntamente com o ácido nítrico foram utilizados para o desenvolvimento de um procedimento de imobilização do QDs CdTe-AMP via processo sol-gel. O filme produzido foi caracterizado por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura, podendo-se observar a formação de *clusters* de QDs ao longo do filme formado. Características físico-químicas, como rendimento quântico de 21,5 % e tamanho das nanopartículas foram preservadas. Quanto ao tempo de vida de emissão de fluorescência observou-se um aumento de cerca de 185 %, quando comparados com *quantum dots* em solução. Além disso, os filmes fabricados apresentaram uma boa fotoestabilidade. Logo, foi possível demonstrar a aplicabilidade do material proposto onde espécies reativas de oxigênio foram geradas por meio de um sistema de análise em fluxo multicomutado. Portanto, foi possível apresentar uma nova perspectiva para sua aplicação desse material em química analítica.

Palavras chave: *Quantum dot*. Fluorescência. Cromo(III). CdSe-TGA. CdTe-AMP. Imobilização. Filmes. Sol-gel. Espécies reativas de oxigênio. Multicomutação.

ABSTRACT

This doctoral dissertation was divided into three sections. The first section is a brief review about quantum dots: concepts and applications. The second section describes the development of an analytical methodology for Cr(III) determination. In this work, the Cr(III) ion was quantification in vitamin supplements by used TGA–CdSe *quantum dots* (QDs), as a probe. In the presence of the Cr(III) the TGA–CdSe QDs undergoes a quenching of the fluorescence emission. Under optimum experimental conditions, linear quenching was observed for Cr(III) in the range of 25-325 ng L⁻¹ (R= 0.9996, n= 6), a limit of detection of 5.67 ng L⁻¹, and relative standard deviation of 4.43% (n= 10). To check the accuracy of the methodology developed, the recovery test for Cr(III), it was used in five samples of vitamin supplements presented results from 82 to 98%. The methodology here developed, was compared to the same vitamin supplement sample using flame atomic absorption spectrometry (FAAS) method, and no significant differences were observed at 95% confidence level. In third section, quantum dots, type CdTe-MPA, 3.5 nm in size, were entrapped under silica films via sol-gel process. Therefore, the silylating agent tetramethyl orthosilicate, TritonTM X-100 surfactant together with the nitric acid were used for the development of an immobilization procedure of the QDs CdTe-AMP by sol-gel process. The produced film was characterized by scanning electron microscopy techniques, wherein can be observed the formation of agglomerates quantum dots over of the formed film. Physico-chemical characteristics such as, quantum yield of 21.5% and size of nanoparticles were preserved. Regarding the excited state lifetimes can be observed an increase about of 185 %, when compared to *quantum dots* in solution. In addition, manufactured films exhibit good photostability. Consequently, it was possible to demonstrate the applicability of the material proposed, where reactive oxygen species were generated through an analysis system multicommutated. Hence, it was possible to report a new perspective for their application this material in analytical chemistry.

Keywords: *Quantum dot*. Fluorescence. Chromium(III). CdSe-TGA. CdTe-MPA. Immobilization. Films. Sol-gel. Reactive oxygen species. Multicommutation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Quantum dots</i> de CdTe-AMP (ácido mercaptopropiônico).....	17
Figura 2. Esquema de um quantum dot com núcleo (<i>core</i>) em amarelo e agente passivador (<i>shell</i>), casca, representado pelas linhas vermelhas. *Fonte: Nanophotonica	22
Figura 3. (a) Modelo clássico para um semiconductor. (b) Regime de confinamento quântico leva as bandas de valência e condução a apresenta-se de forma discreta.....	23
Figura 4. (a) espectro de absorção e (b) espectro de emissão, obtido com comprimento de excitação a 400 nm do quantum dot CdTe-AMP. Nota-se um deslocamento para o vermelho à medida que o tamanho dos QDs aumenta.....	25
Figura 5. Figura ilustrativa sobre a determinação de Cr(III) em formulações farmacêutica pelo emprego de quantum dots CdSe-TGA.....	33
Figura 6. Estrutura 2D do complexo picolinato de cromo (III).....	39
Figura 7. Célula eletroquímica usada para Eletrorredução de Se^0	43
Figura 8. Dependência da fluorescência dos QDs CdSe-TGA com concentração dos íons Cr^{3+} ; Cu^{2+} ; Ni^{2+} ; Mn^{2+} ; Hg^{2+} ; Si^{2+} ; Fe^{2+} ; Ba^{2+}	49
Figura 9. Influência do pH sobre o sinal da fluorescência da reação entre CdSe-TGA com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ Cr(III).....	52
Figura 10. Influência do pH sobre o sinal da fluorescência da mistura entre CdSe-TGA com Cr(III) a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$	53
Figura 11. Intensidade da fluorescência dos QDs versus tempo na presença de Cr^{3+} , concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$. As fendas de excitação e de emissão foram de 3 e 5 nm, respectivamente. O sinal emissão foi monitorado a 551 nm.....	54
Figura 12. Efeitos de íons inorgânicos sobre a resposta da fluorescência de QDs CdSe-TGA e Cr(III) a $0,50 \text{ mg L}^{-1}$	55
Figura 13. Espectro de fluorescência do CdSe-TGA QDs na presença de várias concentrações de Cr(III) com as respectivas curvas analíticas plotadas como F_0/F , nas faixas de mg L^{-1} (A e C) e (C e D) ng L^{-1}	56
Figura 14. Geração de radicais $\text{O}_2^{\bullet-}$ por quantum dots tipo CdTe-AMP imobilizados em filmes de sílica.	61
Figura 15. A oxidação do luminol pelo radical superóxido em meio alcalino, produzindo 3- aminoftalato, em que emite radiação eletromagnética na região do visível.	66
Figura 16. Procedimento para obtenção do quantum dot CdTe-AMP.....	74

Figura 17. Procedimento para preparação de filmes luminescente por spin coater	76
Figura 18. Diagrama do sistema em fluxo proposto para geração e detecção de ERO. P ₁ , P ₂ , P ₃ são as microbombas; X, ponto de confluência; U.F.A., unidade de fotoativação, inserida dentro de uma caixa de policarbonato; D, detector quimioluminômetro; L, luminol a 0,50 mmol L ⁻¹ em 25 mmol L ⁻¹ de NaOH; Lâmpada LED, L, descarte.....	77
Figura 19. Caracterização espectrométrica do CdTe-AMP. Linha A, espectro de absorção do CdTe-AMP, com absorção máxima em 587 nm. Linha B, espectro emissão de fluorescência, excitação 400 nm, emissão máxima, 606 nm.	79
Figura 20. Imagem do HRTEM obtida do CdTe-AMP <i>quantum dot</i>	81
Figura 21. (A) espectro de fluorescência do cristal nos comprimentos de onda de excitação e emissão, respectivamente, $\lambda_{exc} = 589 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 636 \text{ nm}$ durante o processo de formação do gel das formulações F1 (I), F2 (II), F7 (III) e F13 (VI), sem QD. (B) Quantum dots fluorescentes ($\lambda_{exc} = 400 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 606 \text{ nm}$) durante hidrólise e condensação da formulação F1 (Ia), F7 (IIIa) e F13 (VIa).....	86
Figura 22. Imagens produzidas pela técnica SEM (A-C) e microscopia de fluorescência com imagem (D). Os filmes foram produzidos de acordo com a formulação.....	88
Figura 23. Espectro EDS do filme de sílica com CdTe-AMP QDs. A linha azul corresponde à região do filme com <i>clusters</i> de QDs. Já a linha vermelha pontilhada corresponde à região do filme sem esses <i>clusters</i>	90
Figura 24. Os espectros de emissão de fluorescência dos QDs CdTe-AMP disperso em solução aquosa (A) e após a sua imobilização em sílica (B) (comprimento de onda de excitação, 400 (nm)).....	91
Figura 25. Estudo de fotoestabilidade do filme de QDs com sílica ($\lambda_{exc} = 400 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 611 \text{ nm}$). Potência de irradiação foi de cerca de $180 \mu\text{W cm}^{-2}$	94
Figura 26. Influência das concentrações de luminol (a) e NaOH sobre o sinal analítico empregando a estratégia de stopped flow (b).....	96
Figura 27. Sinais gerados continuamente durante 210 min e repetidos em três dias diferentes.....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros utilizados no processo de preparo das amostras de picolinato de cromo	47
Tabela 2. Curvas analíticas para íons Cr(III); Cu ²⁺ ; Ni ²⁺ ; Mn ²⁺ ; Hg ²⁺ ; Si ⁴⁺ ; Fe ²⁺ ; Ba ²⁺	50
Tabela 3. Características analíticas de procedimentos que utilizam QDs para a determinação de Cr(III)	58
Tabela 4. Valores de recuperação em amostra de suplemento vitamínico com adição de 50 ng L ⁻¹ Cr(III).....	58
Tabela 5. Comparação dos resultados obtidos, de Cr(III) em amostras de vitaminas, pelo método proposto, método oficial e os valores informados pelos fabricantes (concentração nominal).	59
Tabela 6. Sequência de acionamento das minibombas.....	78
Tabela 7. Composição dos sols para a preparação dos filmes de sílica com CdTe–AMP <i>quantum dots</i> imobilizados.	85
Tabela 8. Os valores tempo de vida de emissão de fluorescência, τ , e rendimentos quânticos absolutos, Q(Y%), do filme de sílica com CdTe-AMP QDs imobilizado e <i>quantum dots</i> em suspensão.	92

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

EPR	Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (Electron paramagnetic resonance)
QDs	<i>Quantum dots</i>
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (Flame Atomic absorption spectroscopy)
eV	Elétron-volt
TGA	Ácido Tioglicólico (thioglycolic acid)
Kps	Constante do produto de solubilidade
AMP	Ácido 3-mercaptopropiônico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
B.V.	Banda de valência
B.C.	Banda de condução
FWHM	Largura à meia altura (full width at half maximum)
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)
TEOS	Tetraetilortosilicato
CV	Cristal violeta
TMOS	Tetrametilortosilicato
3-APTS	3-aminopropiltrietoxisilano
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
EDS	Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (energy-dispersive X-ray spectroscopy)
LED	Light Emitting Diode
HRTEM	Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (High-resolution transmission electron microscopy)
TBMC	Terc-butil-N-(2-mercptoetil)-carbamato
SEM	Microscopia eletrônica de varredura (Scanning electronic microscopy)
CMC	Concentração micelar crítica
AMS	ácido mercaptosuccínico

SUMÁRIO

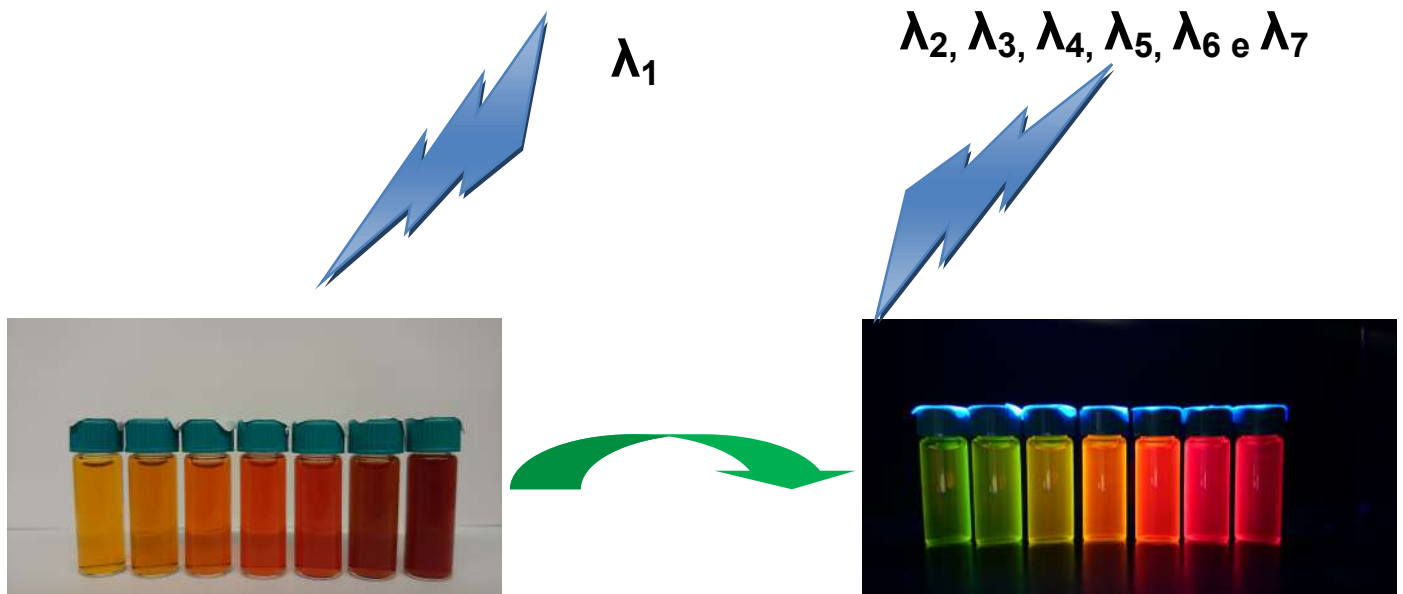
INTRODUÇÃO À <i>QUANTUM DOTS</i>	17
I.1. NANOPARTÍCULAS NO CONTEXTO HISTÓRICO	18
I.1.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS <i>QUANTUM DOTS</i>	22
I.1.2. SENSORES E SONDA QUÍMICOS ÓPTICOS PREPARADOS COM <i>QUANTUM DOTS</i>	26
I.1.3. LUMINESCÊNCIA	30
UTILIZAÇÃO DE <i>QUANTUM DOTS</i> DE CdSe-TGA SINTETIZADO ELETROQUIMICAMENTE PARA A DETERMINAÇÃO DE Cr(III) EM SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS	33
II.1.1. <i>QUANTUM DOTS</i> COMO SENSORES E SONDAS	34
II.1.2. DETERMINAÇÃO DE CROMO	37
II.2. MATERIAL E MÉTODO	42
II.2.1. MATERIAL	42
II.2.1.1 Síntese de CdSe <i>Quantum dots</i>	43
II.2.2. MÉTODO	44
II.2.2.1. Determinação da concentração do QDs em suspensão	44
II.2.2.2. Estudo de reação entre íons quantum dots e íons metálicos	45
II.2.2.3 Estudo de razão volumétrica com a solução tampão	45
II.2.2.4 Estudo de pH	45
II.2.2.5 Estudo de tempo de reação	46
II.2.2.6 Construção da curva analítica	46
II.2.2.7 Metodologia de preparo da amostra	46

II.2.2.8	Teste de adição e recuperação	47
II.2.2.9	Estudo de interferentes	48
II.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
II.3.1	ESTUDO DA REAÇÃO ENTRE <i>QUANTUM DOTS</i> E ÍONS METÁLICOS.....	49
II.3.2	ESTUDO DE RAZÃO VOLUMÉTRICA	52
II.3.3	ESTUDO DO pH.....	53
II.3.4	ESTUDO DO TEMPO DE REAÇÃO	54
II.3.5	ESTUDO DE INTERFERENTES.....	54
II.3.6	FIGURAS DE MÉRITO.....	55
II.3.7	TESTE DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO	58
II.4.	CONCLUSÃO	60
	GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO POR FOTOINDUÇÃO COM EMPREGO DE <i>QUANTUM DOTS</i>, CdTe-AMP, IMOBILIZADOS EM FILMES DE SÍLICA.	61
III.1.1.	GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO USANDO <i>QUANTUM DOTS</i>	62
III.1.2.	DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS BASEADOS NA GERAÇÃO DE ERO.....	65
III.1.3.	PROCESSO SOL-GEL NA IMOBILIZAÇÃO DE <i>QUANTUM DOTS</i> ...	69
III.2.	MATERIAL E MÉTODO	72
III.2.1.	MATERIAL	72
III.2.2.	MÉTODO.....	74
III.2.2.1.	Síntese do CdTe-AMP <i>quantum dot</i>	74

III.2.2.2. Fabricação de filmes de sílica luminescente por spin coater.....	75
III.2.2.3. Sistema em fluxo multicomutado para geração e detecção de ERO .	77
III.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
II.3.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO <i>QUANTUM DOT</i> CdTe-AMP.....	79
III.3.2. IMOBILIZAÇÃO DE <i>QUANTUM DOTS</i> CdTe-AMP IN SiO ₂ E PRODUÇÃO DE FILMES.....	81
III.3.3. COMPARAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS QDS CdTe-AMP ANTES E DEPOIS DA IMOBILIZAÇÃO	91
III.3.4. GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	94
III.4. CONCLUSÃO.....	99
REFERÊNCIAS.....	100
ANEXO.....	113

INTRODUÇÃO À *QUANTUM DOTS*

Figura 1. *Quantum dots* de CdTe-AMP (ácido mercaptopropiônico).



I.1. NANOPARTÍCULAS NO CONTEXTO HISTÓRICO

A história da nanociência iniciou-se com as civilizações romanas e gregas. Embora ainda não possuíssem discernimento sobre suas propriedades, essas civilizações antigas sabiam que determinados compostos, quando adicionados à areia (sílica), visando à produção de vidros, podiam fornecer diferentes cores ao vidro produzido. Um exemplo bastante interessante é a precipitação de nanopartículas de ouro para obtenção do vidro nas cores rubi ouro ou rubi vermelho. O copo de Licurgo, um objeto construído pelos romanos, muda de cor dependendo da posição em que a radiação passa ou não pelo copo. Podendo-se visualizar a cor vermelha (quando iluminado por trás) ou verde (quando iluminado pela frente). Esse efeito ótico pode ser explicado pela presença de pequenas proporções de nanopartículas de ouro e prata dispersas no vidro (LEONHARDT, 2007).

Há evidências da utilização de nanopartículas nas civilizações citadas anteriormente, pois como relata Walter *et al.* (2006), uma mistura de óxido de chumbo(II) (PbO) e hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2), juntamente com uma pequena quantidade de água era aplicado no cabelo das mulheres para restaurar a cor preta dos fios (WALTER *et al.*, 2006). Compreende-se que o processo de colorimento dos cabelos era devido à precipitação de cristais de sulfeto de chumbo(II) (PbS), que era proveniente da reação do PbO e da proteína queratina, que está presente nos fios capilares durante o tratamento químico do cabelo. Esses cristais de PbS com, aproximadamente, 5 nm de tamanho têm uma aparência similar à nanocristais luminescentes de PbS sintetizados recentemente (ELLINGSON *et al.*, 2005). Na primeira metade do século XIX, na Inglaterra, Michael Faraday reportou não de forma convencional, ou seja, com utilização de periódicos e revistas de divulgação científica, mas com anotações de cunho pessoal a síntese de nanopartículas de ouro coloidais. Faraday notou que partículas sólidas estavam dispersas numa solução e nomeou-as como: “*gold sol*”. Esse material apresenta como característica a coloração rubi intenso. Apesar de ser conhecida sua síntese pelos alquimistas do século XVII, pode-se afirmar que Faraday foi o primeiro a

estudar suas propriedades e rotas de síntese. Como era de costume para época, os membros da sociedade real (Royal Society), entre eles Michael Faraday, proferiam grandes palestras, para um público bem heterogêneo e com demonstrações experimentais, no auditório dessa academia de ciências. No dia 12 junho de 1858, Faraday proferiu uma palestra com o título “*On the relation of Gold to Light*” (tradução do inglês, a relação do ouro para luz). Nesta palestra, a plateia observou Faraday adicionar certos sais inorgânicos a uma suspensão coloidal de nanopartículas de ouro de cor vermelho rubi, onde se pode constatar a ocorrência na mudança de coloração da suspensão coloidal. Faraday conjecturou que a variação no tamanho das partículas de ouro pudesse ser a origem da mudança de cor (FARADAY, 1857).

Durante as primeiras décadas do século XX, a indústria mundial de vidros estava num estado de constante pesquisa para obtenção de vidros com diferentes cores, especialmente a cor rubi selênio. A maior parte da investigação sobre essa coloração foi realizada nas décadas de 30 e 40 do referido século. Rocksby, em 1932, empregou a técnica de difração de raio-X para determinar diferenças qualitativas na estrutura do vidro dopado com seleneto de cádmio (CdSe) e sulfeto de cádmio (CdS) (ROCKSBY, 1932). Em 1981, os físicos soviéticos, Ekimov e Onushchenko, publicaram um trabalho acerca da dependência do espectro de absorção de vidros de silicatos dopados com nanopartículas de cloreto de cobre (CuCl_2), onde observaram um deslocamento do comprimento de onda no espectro de absorção (EKIMOV; ONUSHCHENKO, 1981). Os autores atribuíram esse efeito aos diferentes tamanhos das nanopartículas de CuCl_2 contido na matriz vítrea.

Com o advento da terceira revolução industrial, nos últimos cinquenta anos, o ser humano tornou-se cada vez mais capaz de modificar o meio em que vive, desde a escala quilométrica, com a construção de supermáquinas, como foguetes e estações espaciais até a construção de materiais na escala nanométrica. Sendo que nos últimos trinta anos, com a invenção do microscópio de varredura de tunelamento, o homem adquiriu a capacidade de manipular e visualizar materiais na escala nanométrica, ou seja, materiais que tenham a magnitude de tamanho entre 1-100 nm ($1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}$). Existe um

grande interesse nessa escala de tamanho, pois dessa maneira materiais que a possuam essa escala de tamanho, podem apresentar propriedades físicas e químicas, que podem ser diferentes dos materiais na escala métrica. Esse acontecimento histórico permitiu explorar propriedades e fenômenos da matéria que somente se manifestam na escala nanométrica.

Segundo Nouailhat (2006) vivemos a grande “*onda nano*” (em inglês “*nano tidal wave*”) o qual pode ser definida como um movimento científico em áreas fundamentais do conhecimento humano como a física, química, biologia, eletrônica e medicina que visam aplicar ferramentas e conceitos advindos da nanociência e nanotecnologia, propiciando assim, o emprego de forma benéfica desses materiais no cotidiano do ser humano moderno. Nanociência e nanotecnologia vêm atraindo rapidamente altos investimentos dos governos e de grandes empresas, devido ao fato de que a manipulação de materiais na escala nanométrica, pode trazer benefícios para muitas áreas da vida cotidiana, bem como causar transformações substanciais em áreas da economia dos países, que fizerem uso desse tipo de conhecimento. Segundo a Royal Society, academia de ciências de Londres, com a seguinte tradução literal (Royal Society, 2004):

“Nós definimos a nanociência como o estudo dos fenômenos e a manipulação de materiais em escalas atômica, molecular e macromolecular, nas quais as propriedades diferem significativamente daqueles em uma maior escala; e nanotecnologias como o design, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas para controlar forma e tamanho em escala nanométrica.”

Dessa maneira, materiais com tamanho menor que 100 nm têm o comportamento ótico, assim como suas características elétricas e magnéticas modificadas. Esses materiais com estruturas sólidas são geralmente classificados de acordo com o número de dimensões espaciais livres de efeitos quânticos. A dimensionalidade se refere ao número de graus de liberdade, quando se refere ao movimento das partículas. Portanto, dependendo do número de dimensões espaciais livres, a seguinte classificação é feita. Quando

a quantização ocorre em única dimensão e restando duas dimensões espaciais a serem quantizadas, essa estrutura sólida, conhecida como poços quânticos (*quantum well*). Podem-se definir poços quânticos como semicondutores os quais são sintetizados em camadas finas sendo possível observar e controlar muitos efeitos da mecânica quântica (QIAN et al., 2012; ZAGHDOUDI et al., 2014). Em termos de propriedades quânticas a concepção de poços quânticos tem sido abordada em termos de energia como um ponto nanométrico, onde as propriedades intrínsecas podem ser explicadas pela mecânica quântica, quando considera apenas uma dimensão, a qual foi quantizada (BERA et al., 2010).

- I. Como apresentado anteriormente com relação à quantização das dimensões espaciais, pode-se considerar agora a quantização de duas dimensões espaciais. Portanto, tem-se outro tipo de nanopartícula, conhecida como nanotubos ou nanofios (do inglês, *nanowire*).
- II. Chega-se agora a seguinte condição; a quantização de três dimensões espaciais leva a construção de uma estrutura, essa é conhecida como *quantum dots* (QDs), ou nanopartículas coloidais. Essas formam um aglomerado monodisperso cristalino de átomos, contendo entre 100 a 100.000 desses. Nanopartículas semicondutoras coloidais, QDs, podem ter um tamanho entre 1-5 nm (FRIGERIO et al., 2012).

A síntese de nanomateriais com tamanho e forma controladas tem sido um dos principais desafios em nanotecnologia. A síntese e caracterização de nanopartículas de semicondutores como os *quantum dots* (QDs) representam um dos grandes avanços na nanociência nas duas últimas décadas (CALLAN; RAYMO, 1998). Nanomateriais têm como característica a alta razão área da superfície/volume (S/V). Os nanomateriais com alta razão entre superfície/volume (S/V), podem reagir a taxas muito mais rápidas do que os materiais monolíticos, que apresentam tamanho na escala métrica ou micrométrica. Com

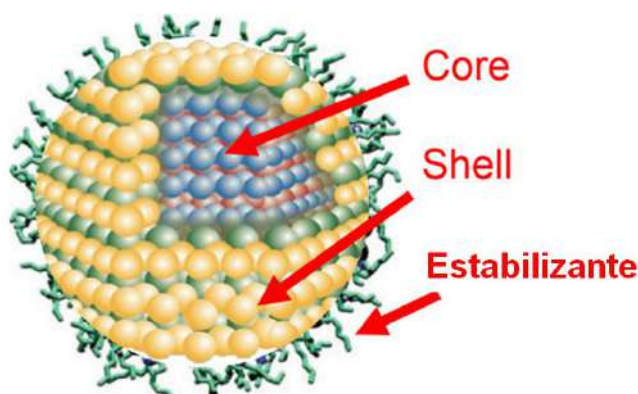
isso, em termos reacionais, os nanomateriais têm uma capacidade cinética alta.

I.1.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS *QUANTUM DOTS*

A descoberta da síntese de *quantum dots* pode ser atribuída a Rosseti, Nakahara e Louis E. Brus, em 1984, que era pesquisador no laboratório AT&T Bell, onde propôs pela primeira vez um estudo teórico e experimental de síntese de *quantum dots* de CdS (BRUS, 1983, 1984). Desde sua descoberta, a investigação experimental e teórica com nanopartículas semicondutoras coloidais, QDs, aumentou significativamente (CUI; HE; CHEN, 2015; LOU et al., 2014).

QDs são constituídos por um núcleo, que contém vários átomos entre 100 a 100.000, nomeado como *core*, do inglês caroço. O núcleo é recoberto por outra camada metálica chamada de *Shell*, do inglês casca. Sendo esses tipicamente compostos por átomos dos grupos IIB-VIA, IIIA-VA, IVA-VIA da tabela periódica. Por fim, ainda há também o agente estabilizador, que são moléculas orgânicas que contém grupos químicos tióis ou agentes surfctantes, sendo o principal papel desse agente a estabilização do QD (GREEN, 2010). Na Figura 2, é apresentado um esquema simples de um *quantum dot*.

Figura 2. Esquema de um quantum dot com núcleo (core) em amarelo e agente passivador (shell), casca, representado pelas linhas vermelhas. *Fonte: Nanophotonica



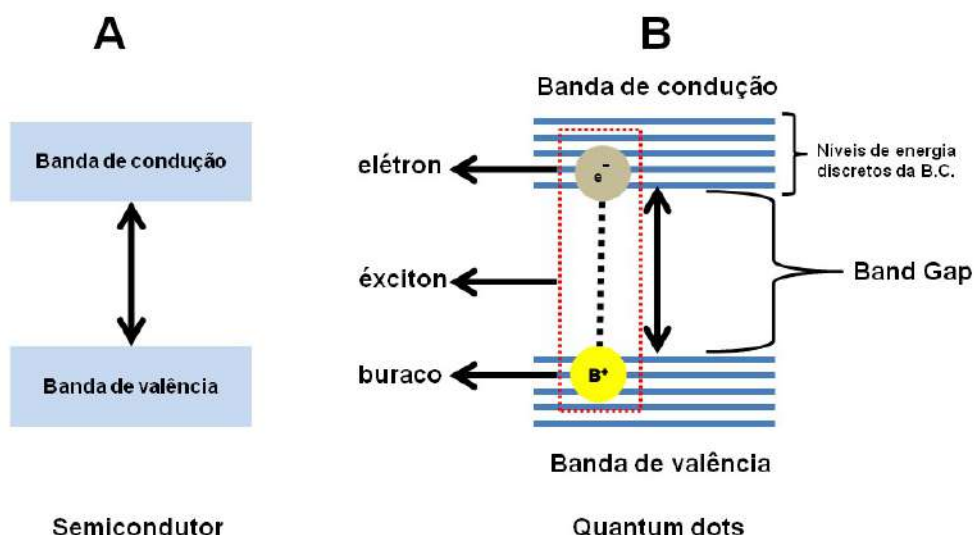
As propriedades ópticas de um material são geralmente determinadas por transições eletrônicas, que ocorrem dentro do material, assim como pela

ocorrência de espalhamento de luz (NEAMEN, 2006). Os semicondutores são materiais que apresentam características elétricas bastante interessantes, pois estes materiais são extremamente sensíveis à presença de impurezas, mesmo em pequenas concentrações. Um dos modelos mais bem aceitos para explicar essas propriedades elétricas é a Teoria de Bandas, que explica propriedades físico-químicas dos materiais sólidos condutores, semicondutores e isolantes. Segundo essa teoria esses materiais apresentam bandas de valência (B.V.), que são bandas de energia completamente ocupadas por elétrons e são inertes a interferências elétricas e térmicas do sistema. A banda de condução (B.C.) é formada por níveis de energia mais altos que os da banda de valência. É conhecido que na temperatura de 0 K tanto um material isolante quanto um semicondutor não podem conduzir elétrons devido às bandas de valência se encontrar totalmente preenchidas. Ao aumentar a temperatura acima de 0 Kelvin (0 K) alguns elétrons provenientes da banda de valência adquirem energia térmica e podem ser promovidos para a banda de condução, assim deixando buracos na banda de valência (BUSCH, 1989). A quantidade de energia necessária para ocorrer à transição do elétron entre as bandas de condução e de valência é chamada de intervalo de energia (em inglês, *band gap*), ou banda de energia proibida. Este fenômeno cria os “*holes*”, ou seja, buracos com carga própria sendo positiva e com massa efetiva, ou seja, a massa que parece ter ao responder às forças de repulsão e atração de partículas. O elétron, com carga negativa, e o buraco são considerados “ligados” via atração Coulômbica e, essa “*quasipartícula*” é então conhecida como “*éxciton*” (MURPHY, 2002). A distância entre o elétron e o buraco, quando um éxciton é formado, tem sido chamado como raio de excitação de Bohr. Efeitos quânticos ocorrem quando materiais são reduzidos à escala nanométrica, menor que o raio de excitação de Bohr, o tamanho desse raio é menor que 100 nm. Quando atendida essa condição, o semicondutor fica sujeito ao regime de confinamento quântico.

No semicondutor que não está submetido ao regime de confinamento quântico, os níveis de energia entre a banda de condução (B.C.) e a banda de valência (B.V.) se apresentam de forma contínua, como apresentado na Figura 3(a). Como os QDs têm tamanho menor que o raio de excitação de Bohr, tem-

se um bom exemplo de “*partícula na caixa*”, pois estão submetidos ao regime de confinamento quântico. Este modelo é usado principalmente como um exemplo teórico para descrever as diferenças entre os sistemas clássicos e quânticos. Em sistemas clássicos, por exemplo, uma bola presa dentro de uma grande caixa hipotética, seria a partícula que pode se mover com qualquer velocidade dentro da caixa, podendo assumir qualquer posição dentro da mesma caixa. No modelo da “*partícula na caixa*” para sistemas na escala nanométrica uma bola não pode assumir qualquer posição dentro da caixa.

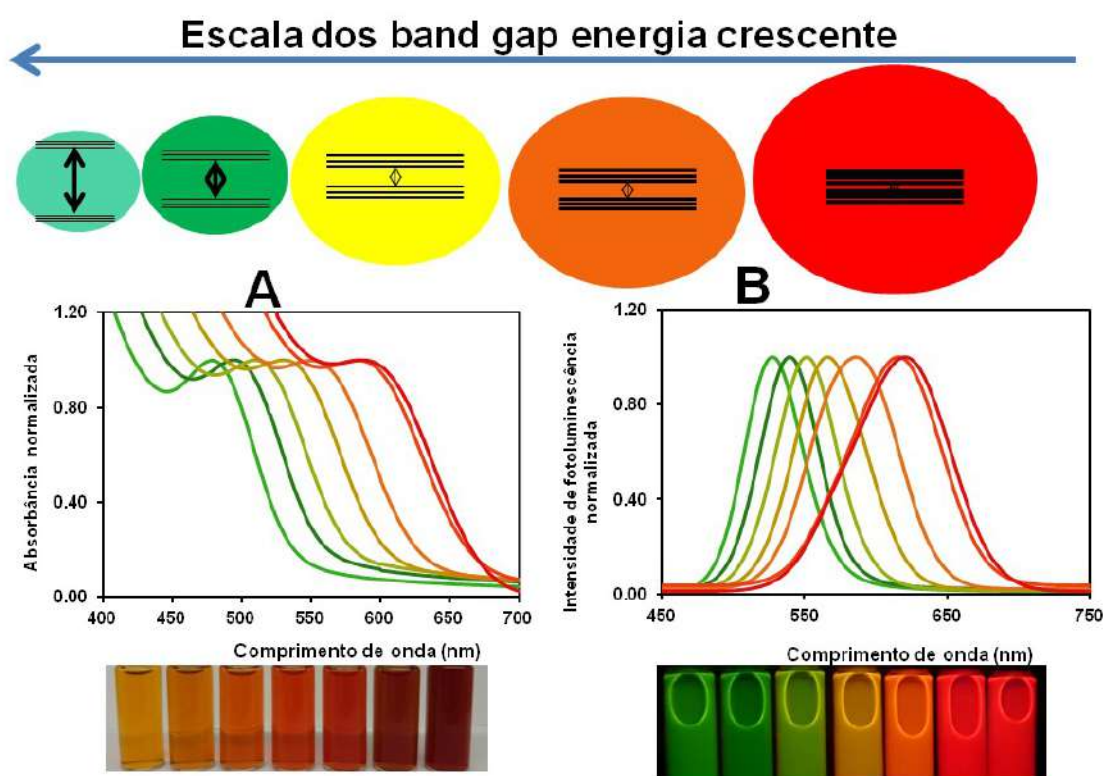
Figura 3. (a) Modelo clássico para um semiconductor. (b) Regime de confinamento quântico leva as bandas de valência e condução a apresenta-se de forma discreta.



Em um *quantum dot*, as B.V. e B.C., assim como o éxciton estão confinados nesse regime, fazendo com que os níveis de energia apresentem-se de forma discreta, como na Figura 3(b). Nomeadamente, em QDs o *band gap*, que é diferença de energia entre as B.V. e B.C, pode ser alterada pela variação do tamanho de nanopartícula. No *quantum dot*, a absorção de fóton de energia maior ou igual à energia contida no band gap resulta na promoção de um elétron para a banda de condução, levando à formação de um buraco na banda de valência, resultando na emissão de fotoluminescência, após retornar à B.V. Figura 3(b). Sob regime de confinamento quântico quanto menor a nanopartícula maior o *band gap*, em termos de energia em elétrons volts, como apresentado na Figura 4. Assim um *quantum dot* com *band gap* muito

pequeno, irá fluorescer na região do vermelho ou infravermelho. Já QDs, com *band gaps* maiores, irá luminescer na região do azul ou verde do espectro eletromagnético.

Figura 4. (a) espectro de absorção e (b) espectro de emissão, obtido com comprimento de excitação a 400 nm do quantum dot CdTe-AMP. Nota-se um deslocamento para o vermelho à medida que o tamanho dos QDs aumenta.



Como discutido acima, o confinamento quântico leva os *quantum dots* apresentarem características interessantes. De forma geral, os QDs são caracterizados por apresentar um espectro de absorção molecular contínuo e largo, com altos coeficientes de absorção molar na região do UV-vis, podendo ser eficientemente excitado em qualquer comprimento de onda nessa mesma região, Figura 4(a). Além disso, os QDs apresentam uma melhor fotoestabilidade quando esses são comparados a fluoróforos orgânicos. O espectro experimental de emissão de luminescência do *quantum dot* tem forma

de uma curva gaussiana com uma determinada largura, ou seja, a largura à meia altura, mais conhecida como, *full width at half maximum*, FWHM (SILVI; CREDI, 2015), Figura 4(b). A radiação eletromagnética proveniente dos QDs pode se apresentar desde a região do visível até o infravermelho, mas isso depende bastante da composição química do núcleo, assim como do agente estabilizante. Outra característica importante dos QDs, além do tamanho das nanopartículas, é que a temperatura ambiente os QDs apresentam tempos de vida de luminescência na escala de nanosegundos, com essa propriedade é possível aplicar os QDs, como biomarcadores luminescentes (KUANG et al., 2011).

I.1.2 SENSORES E SONDA QUÍMICOS ÓPTICOS PREPARADOS COM QUANTUM DOTS

O desenvolvimento de sensores baseados em materiais tradicionais inclui os complexos de metais de transição, corantes orgânicos e materiais de carbono: nanotubos de carbono e grafeno (LOPEZ et al., 2012; SIVARAMAN; VIDYA; CHELLAPPA, 2014; WANG; YEOW, 2009). Um sensor químico por definição é dispositivo que transforma uma informação química de uma amostra em um sinal que pode ser mensurável. Por exemplo, a concentração de um analito em uma amostra é transformada em corrente elétrica e essa é proporcional à quantidade do analito. Desde 1991, essa definição tem sido adotada pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991). Apesar dessa definição ser geral e amplamente utilizada, na literatura existem outras definições. De acordo com Wolfbeis (1990) um sensor químico pode ser definido como um dispositivo de pequeno porte, composto por transdutor e um processador de sinal capaz de determinar de forma contínua e reversível a concentração de um analito na amostra. Segundo Gründler (2007) vários autores tem adotado como critério fundamental a reversibilidade como fator importante para um dispositivo ser considerado como sensor. Outros critérios são elencados pelo mesmo autor, como:

- I. Transformar a concentração do analito presente em determinada amostra em sinal elétrico;
- II. Ter uma resposta rápida;
- III. Manter a sua atividade de monitoramento durante um longo período de tempo;
- IV. Ser um dispositivo pequeno;
- V. Possuir um baixo custo de desenvolvimento;
- VI. Ser seletivo, ou seja, devem responder exclusivamente a um analito, ou ao menos, ser seletivo para um grupo de analitos.

Há diferentes maneiras para classificação de sensores químicos, mas segundo a IUPAC (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991), sensores podem ser agrupados nos seguintes grupos:

- I. Sensores ópticos são aqueles baseados na absorção, reflectância e luminescência da radiação eletromagnética;
- II. Sensores eletroquímicos envolvem os voltamétricos e potenciométricos;
- III. Sensores piezelétricos são sensíveis à variação de pressão, aceleração, tensão ou força. São dispositivos baseados na acumulação de carga elétrica, que se acumula em certos materiais sólidos, como cristais, certas cerâmicas, assim como materiais biológicos, por exemplo, ácido desoxirribonucleico(em inglês, desoxyribonucleic acid, DNA) e proteínas;
- IV. Sensores magnéticos os quais se baseiam nas mudanças das propriedades magnéticas do material empregado, para obter uma resposta seletiva ao analito de interesse;
- V. Sensores termométricos são aqueles baseados na medição da temperatura causada por uma reação química específica, a qual envolve o analito.

O emprego de sensores químicos juntamente com técnicas analíticas tais como: cromatografia, espectrofotometria, espectrofluorimetria e técnicas eletroquímicas, podem resultar em baixos limites de detecção. Os QDs apresentam características fotofísicas atrativas, quando comparados com outros materiais, pois apresentam altos rendimentos quânticos e boa fotoestabilidade. Tais características são requeridas para aplicação nas áreas de dispositivos optoeletrônicos, sensores químicos e fotocatalise (BOGUE, 2014; KAMAT, 2007; SNEE et al., 2006; WALKER et al., 2003; YU; ZHANG; JARONIEC, 2010). Portanto, não é de surpreender que atualmente tem-se dedicado muita atenção para a aplicação de QDs como sensores luminescentes (CUI; HE; CHEN, 2015; KONG et al., 2015).

WU et al., (2014) tem alertado, que QDs devem ser classificados como *sondas* químicas, por não se adequar a definição de Wolfbeis (1990), anteriormente citada sobre sensores. Isso ocorre principalmente pelo fato de que na grande maioria dos trabalhos onde houve a utilização de QDs para determinação de íons metálicos ou ânions, utilizou-se o princípio de supressão do sinal de emissão da fluorescência do QD, quando esse interage com analito. Nessa condição o QD não pode ter sua emissão de fluorescência restaurada (JIN et al., 2004; LI et al., 2013; LIANG et al., 2004; PEI et al., 2012). Apesar disso, pode-se também encontrar trabalhos na literatura, onde se utilizou QDs como sensores pela definição de Wolfbeis (1990), por exemplo, ZHAO et al., (2014) empregando o efeito “turn off-on” dos QDs, conseguiram causar uma supressão do sinal de emissão de fluorescência, (*do inglês*, quencher), e depois restabeleceram esse mesmo sinal. Nesse trabalho foi utilizado o *quantum dot* CdTe e como agente estabilizante a N-acetilcisteína (NAC). A cisplatina, conhecida como um agente antineoplástico, causou uma supressão de emissão do QD CdTe-NAC. Esse fenômeno foi atribuído ao fato do átomo de platina ter orbitais “d” semipreenchidos fazendo com o QD CdTe-NAC transferisse elétrons para esse. Os autores reverteram esse efeito através da adição de DNA, ácido desoxirribonucleico (*do inglês*, *deoxyribonucleic acid*), “*turn on*”, o qual possui uma carga negativa podendo ligar-se com a cisplatina/*quantum dot*, detentor de uma carga positiva, além disso, como

também é conhecida, a cisplatina pode ligar-se fortemente ao DNA. Com isso, foi relatado pelos autores a possibilidade de se emprega *quantum dots* como sensores.

Progressos substanciais foram alcançados nos últimos anos quanto à modificação e síntese química de QDs e suas aplicações para sensores químicos envolvendo íons. Quanto à síntese, um dos trabalhos relatados por Stürzenbaum et al., (2012) sobre a síntese de *quantum dots* CdTe usando vermes *Lumbricus rubellus*, presentes em solos. As nanopartículas foram isoladas do intestino do animal e aplicadas onde os reagentes CdCl_2 e Na_2TeO_3 , foram adicionados ao ambiente em que esses foram confinados, por 11 dias. Segundo os autores, esse tipo de animal tem a capacidade de absorver os elementos cádmio e telúrio, os quais por meio de uma biossíntese conseguem obter nanopartículas luminescentes de CdTe. As nanopartículas foram isoladas do intestino do animal e aplicados como marcadores fluorescentes para células.

Uma tendência também encontrada na literatura é o uso de *quantum dots* para imunoensaios. Gokarna et al., (2008) fabricaram um dispositivo e detectaram a presença de uma glicoproteína, que é um marcador específico do câncer de próstata. Outro tipo de aplicação do *quantum dot* CdTe, estabilizado com ácido mercaptosuccínico, tem sido relatada para finalidades forenses, onde esse foi empregado como revelador de impressões digitais (CAI et al., 2013).

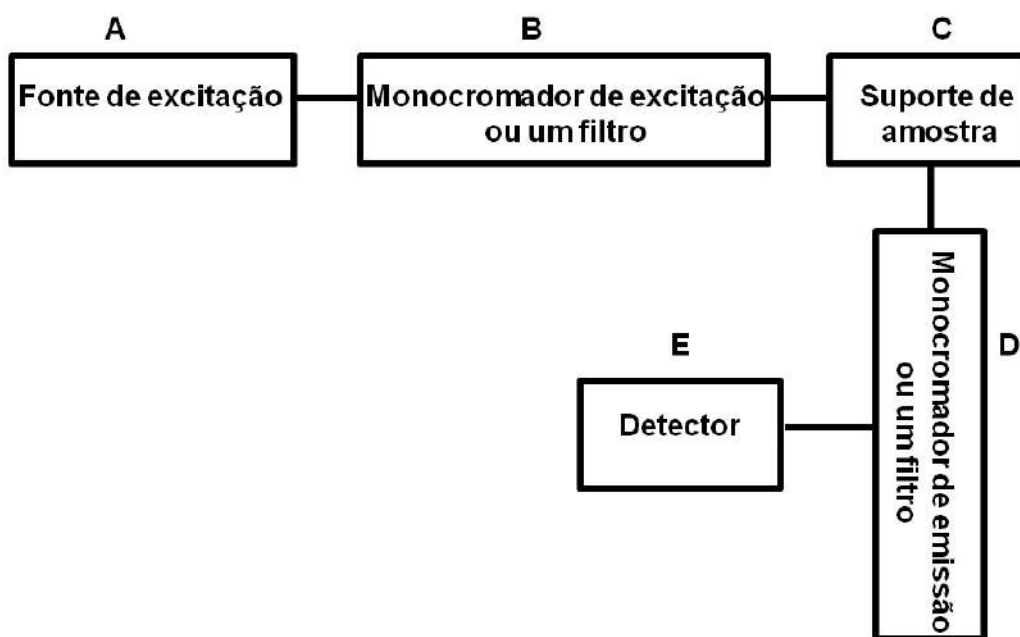
I.1.3 LUMINESCÊNCIA

Os corpos podem emitir radiação eletromagnética por meio de troca de calor com o ambiente, geralmente a altas temperaturas, esse processo chama-se incandescência. Outra forma de emissão de radiação eletromagnética se define por luminescência. Essa pode ser mais precisamente definida como: emissão de radiação de uma espécie eletronicamente no estado excitado ou de uma espécie vibratoriamente excitada, que não esteja em equilíbrio térmico com o sistema (VALEUR; BERBERAN-SANTOS, 2012).

Os vários tipos de luminescência são classificados de acordo com o modo de excitação: quando energia é fornecida ao material ou molécula, por meio de radiação eletromagnética, como fótons, e ocorre à emissão de radiação infravermelha, ultravioleta ou visível, essa forma de emissão de energia é chamada de fotoluminescência. Um material quando bombardeado com radiação ionizante, raios-X, α , β e γ emite radiação eletromagnética na forma de luz, geralmente visível, a esse fenômeno é chamado de radioluminescência (WANG et al., 2015). A catodoluminescência é um fenômeno óptico em que a radiação eletromagnética é emitida, quando os elétrons são acelerados sobre um material com propriedades luminescentes, tal como o fósforo, provocando a emissão de fótons, na região do espectro eletromagnético visível (NICHOLS, 2012). A eletroluminescência é um fenômeno, no qual um material é submetido a uma corrente elétrica ou a um forte campo elétrico, e luminesce. Alguns cristais exibem luminescência, quando previamente expostos a temperaturas elevadas ou radiação ionizante. O mecanismo, que governa esse fenômeno, é atribuído à radiação de alta energia que cria estados eletrônicos excitados em materiais cristalinos. Nesses materiais, os estados estão presos ou detidos, por longos períodos de tempo por defeitos localizados, ou imperfeições. Quando esses estados são excitados por radiação infravermelha eles são ejetados, na forma de luminescência (KEIZARS; FORREST; RINK, 2008). A quimiluminescência e a bioluminescência ocorrem quando uma reação química produz um intermediário de reação, que luminesce. Para o caso da bioluminescência os

reagentes são enzimas ou proteínas (HASTINGS, 1983; KUNTZLEMAN; ROHRER; SCHULTZ, 2012).

Os componentes instrumentais básico de um equipamento empregado para medidas de luminescência molecular não diferem muito de instrumentos utilizados para medidas de absorção eletrônica na região do UV-VIS, porém a configuração dos componentes de um instrumento de medidas de luminescência é única. A instrumentação básica para medidas de luminescência consiste de três elementos básicos: uma fonte excitação de radiação eletromagnética, um suporte de amostra e um detector. No esquema 1, abaixo é apresentado um arranjo básico de um espectrômetro de fluorescência, onde tem-se a fonte de excitação (A), e os monocromadores de excitação(B), emissão (D) ou filtros e detector (E).



Esquema 1. Componentes essenciais de um espectrômetro de fluorescência molecular.

Como é bem estabelecido em espectroscopia, um monocromador é um dispositivo óptico que transmite uma banda estreita de comprimentos de onda selecionáveis mecanicamente. Em equipamentos de espectrofluorescência sofisticados tem-se a presença de dois monocromadores, excitação e emissão. Para diminuir o custo de aquisição, muitos fabricantes utilizam filtros óticos, esses são pré-condicionados a selecionar comprimentos de onda específicos, mas por outro lado, a precisão e sensibilidade desses dispositivos quando

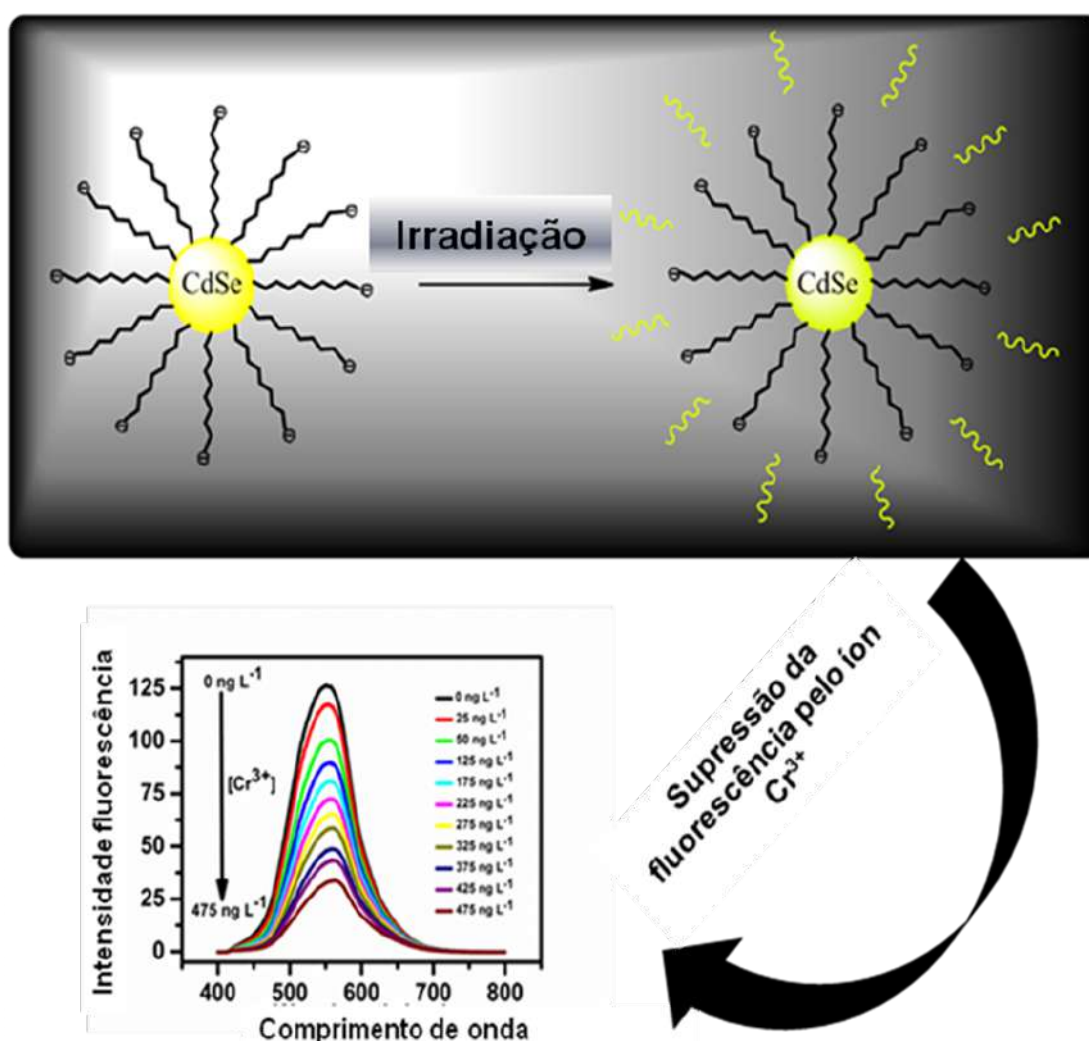
comparados com os monocromadores é menor. O suporte de amostra (C) pode ser uma cubeta de quartzo, para líquidos e soluções ou um suporte para amostras sólidas. O detector (E) é composto por um tubo fotomultiplicador, onde os fótons emitidos pela amostra são convertidos em corrente elétrica, sendo essa proporcional à quantidade de fótons emitidos.

Devido à sua elevada sensibilidade, as técnicas de espectroscopia de fluorescência molecular encontraram um lugar valioso na química analítica. A sensibilidade dos métodos de fluorescência deve-se, em grande parte, ao fato da ausência de sinal quando o fluoróforo não está presente no junto ao detector. Quando comparado com a espectrometria eletrônica de absorção as técnicas de fluorescência são frequentemente, de uma a três vezes mais sensíveis. Outra vantagem dessa técnica é referente à faixa linear de resposta que é significativamente maior que aquela encontrada na espectrometria de absorção eletrônica.

Metodologias analíticas quantitativas baseadas em fluorescência têm sido desenvolvidas para a determinação de espécies inorgânicas, orgânicas e bioquímicas. Os métodos fluorescentes inorgânicos são divididos em duas categorias: métodos diretos, sendo estes baseados na reação do analito com um agente complexante a fim de formar um complexo fluorescente; e indiretos, que dependem do decréscimo da fluorescência, ou seja, métodos baseados na supressão (*quenching*), sendo esse efeito resultante da interação do analito com o reagente fluorescente.

UTILIZAÇÃO DE *QUANTUM DOTS* DE CdSe-TGA SINTETIZADO ELETROQUIMICAMENTE PARA A DETERMINAÇÃO DE Cr(III) EM SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS.

Figura 5. Figura ilustrativa sobre a determinação de Cr(III) em formulações farmacêutica pelo emprego de quantum dots CdSe-TGA (DE SOUZA et al., 2015).



De Souza, G. C. S.; de Santana, É. E. A.; da Silva, P. A. B.; Freitas, D. V.; Navarro, M., Paim, A. P. S.; Lavorante, A. F. Employment of electrochemically synthesized TGA–CdSe quantum dots for Cr(III) determination in vitamin supplements. *Talanta* 144, 986–991, 2015.

II.1.1 QUANTUM DOTS COMO SENSORES E SONDAS

Nos últimos anos, segundo Costa-Fernandez *et al.* (2006) ocorreu um crescente aumento nas pesquisas que empregam *quantum dots* (QDs) como sensores fotoluminescentes. Uma das primeiras aplicações de *quantum dots* foi reportada em 1998 onde foram empregados como biomarcadores fluorescentes em células (BRUCHEZ JR., 1998; CHAN, 1998). A utilização de QDs têm se mostrado ideal para finalidades biológicas, por apresentarem uma ótima fotoestabilidade, quando comparado com corantes orgânicos fluorescentes.

A fluorescência dos QDs surge da promoção de um elétron da banda de valência para a banda de condução gerando o elétron-buraco. Segundo Wu *et al.* (2014), após essa promoção ocorre à relaxação do elétron, onde esse volta para a banda de condução. Esse processo de relaxação pode sofrer interferência, quando outras espécies químicas em interagir com o *quantum dot*, fazendo com que ocorra uma mudança de seu espectro de absorção, emissão de fluorescência e o rendimento quântico. Esse processo de interação com outras espécies químicas promove uma supressão ou aumento da intensidade de fluorescência. Dessa forma, é proposta a aplicação de QDs como *sonda* ou sensores químicos (CUI; HE; CHEN, 2015). Na aplicação dos QDs para a determinação de espécies químicas, o tamanho da nanopartícula e a natureza do agente estabilizante são de importância primordial para controlar as propriedades ópticas, e, por conseguinte, a resposta de fotoluminescência. Dependendo da estratégia de determinação do analito, outras características específicas também devem ser consideradas, tais como a concentração e o pH do meio em que se encontra o *quantum dot*.

Estudos pioneiros focando as interações entre os QDs e íons metálicos foram realizados por Spanhel *et al.* (1987). Nesse trabalho os autores, sintetizaram o *quantum dot* de CdS, onde demonstrou-se que o rendimento quântico tinha um aumento 50% em solução alcalina, ou seja na presença de OH⁻. Este efeito é atribuído à formação da camada de passivação de Cd(OH)₂

sobre a superfície do CdS. Lou *et al.* (2014), em artigo de revisão, relatam que a primeira utilização de QDs para a determinação de íons metálicos foi reportada por Chen *et al.*, 2002. Os autores sintetizaram o *quantum dot* de CdS, estabilizado com diferentes moléculas como: polifosfato, L-cisteína, e tioglicerol. O *quantum dot* CdS foi estabilizado com L-cisteína e mostrou seletividade para íons Zn(II), com tioglicerol apresentou uma alta sensibilidade e seletividade para íons Cu(II). Os estudos foram realizados em soluções aquosas. Os limites de detecção foram estimados em $0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o zinco (II) e $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ para íons Cu^{2+} . Neste trabalho, o aumento da emissão de fluorescência do CdS-L-cisteína pela interação com Zn(II), foi atribuído à formação do complexo entre o íon Zn(II) e a L-cisteína na superfície do *quantum dot*, assim ativando armadilhas que recombinam éxcitons. Por outro lado, a redução efetiva da emissão de fluorescência do *quantum dot* CdS-tioglicerol ocorre devido à transferência de energia do tioglicerol para o íon Cu(I). Segundo os autores o grupo tiol do tioglicerol formaando a espécie $\text{CdS}^+ \text{Cu}^+$ na superfície da nanopartícula, esse complexo possui um nível energético menor que o *quantum dot* CdS-tioglicerol. Portanto, quando o *quantum dot* é excitado ele transfere energia para esse complexo, sofrendo assim supressão de sinal (do inglês, *quenching*).

O *quenching*, ou supressão, é uma das estratégias mais reportadas para a determinação de íons metálicos. A seletividade do *quantum dot* sobre íon metálico dependerá da afinidade química entre ambos. Depois que o analito interage com *quantum dot*, se ligando a sua superfície, esse irá causar uma separação entre o elétron-hole, levando assim ao *quenching* da fluorescência do *quantum dots*. Esse fenômeno é chamado de transferência de elétron fotoinduzida. O íon Cu^{2+} tem sido extensivamente determinado por essa estratégia, devido ao seguinte fator geral o potencial padrão de redução do $\text{Cu}^{2+} + e \rightarrow \text{Cu}^+$, fazendo um ótimo acceptor de elétrons proveniente do *quantum dot*. Segundo Wu *et al.* (2014) os QDs baseados em átomos calcogênios, por exemplo, CdS, CdSe e CdTe, ao reagirem com cátions, apresentam como mecanismo de troca, baseado na constante de solubilidade. Consequentemente, esses cátions que formam compostos com valores mais

baixos de K_{ps} podem deslocar os cátions do *quantum dot* via troca catiônica, por exemplo, o *quantum dot* de CdS tem maior K_{ps} que os precipitados HgS, CuS, PbS e AgS, dando origem a uma permuta catiônica na superfície do *quantum dot*. Afetando assim, o processo de fluorescência por causa dos defeitos gerados na superfície do QD levando assim a uma recombinação não-radiativa dos éxcitons. Este efeito pode ser observado por meio da supressão de sinal. O deslocamento de cátions do *quantum dot* é limitado devido à elevada energia de ativação necessária para a difusão do *quantum dot*. As nanopartículas semicondutoras coloidais apresentam como característica intrínseca uma alta relação entre volume e superfície. Levando em consideração, essa característica o processo de deslocamento de cátions da solução para o *quantum dot* é favorecido. Cátions como Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ e Pb^{2+} , podem também ter afinidade por grupos tióis que fazem parte das moléculas que atuam como estabilizantes. Outra possível forma de interação de QDs com íons metálicos é por meio do processo de transferência de elétrons do metal para os QDs. Este caso foi observado por Isarov; Chrysochoos (1997) para o íon cobre Cu^{2+} e sua interação com nanopartículas de CdS. Neste estudo os autores verificaram que íons Cu^{2+} se reduzem a Cu^+ , este processo foi evidenciado por meio de técnicas de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR).

Uma consideração importante a ser observada sobre QDs com alta densidade de estabilizantes na sua superfície, é o fato de que o ataque do núcleo do QDs por íons metálicos pode ser prejudicado, mas cátions metálicos ainda podem ser adsorvidos por QDs, quer seja por atração eletrostática ou por coordenação com o estabilizante. Uma vez que os cátions metálicos são tipicamente deficientes em elétrons uma transferência de elétrons da banda de condução dos QDs para íons metálicos pode ocorrer, levando assim a uma supressão de sinal de fluorescência. Segundo Wu et al. (2014), interação de cátions metálicos com estabilizante da superfície dos QDs pode ser previsto em parte com o conceito ácido-base de Pearson, pois a coordenação de íon com um ligante é geralmente dependente do pH. Xu et al. (2012) demonstraram que QDs de CdTe poderiam ser usados como sensor

fluorescente para Mn(II) e Cu(II). Neste trabalho os autores demonstram uma forte correlação entre os QDs de CdTe em relação ao pH do meio.

Ânions também têm sido determinados com *quantum dots*. O ânion cianeto, CN^- , é um dos amplamente relatados (LOU; ZHAO; ZHU, 2016). CdSe QDs recoberto com terc-butil-N-(2-mercaptoetil)-carbamato (TBMC), tem uma fluorescência forte no comprimento de onda máximo de emissão em 580 nm, esse *quantum dot* permitiu a determinação do ânion cianeto em amostras de água, onde conseguiu-se estabelecer um limite de detecção de $1,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (JIN et al., 2004). Segundos os autores o íon CN^- , estabeleceu uma forte ligação química por meio de ligações de hidrogênio, com os grupos aminas do TBMC, ocorrendo uma adsorção do ânion na superfície da nanopartícula. Isso pode ser afirmado visto que o CdSe foi reprecipitado com metanol e sua fluorescência permaneceu suprimida. Portanto, relatou-se a ocorrência de *quenching* no espectro de emissão do CdSe. Outro exemplo bastante interessante sobre utilização de QDs para a determinação de sulfeto, S^{2-} , foi relato por Gore et al., (2013), onde o CdS QDs, recoberto com 3-mercaptopropiônico (MPA) foi sintetizado, com essa metodologia foi possível se obter um limite de detecção em $6,5 \text{ mmol L}^{-1}$ para S^{2-} . Os autores relatam um *quenching* no espectro de emissão, na faixa de $0,1\text{-}1,8 \text{ mg L}^{-1}$, essa supressão foi atribuída a agregação do CdS quando na presença do S^{2-} .

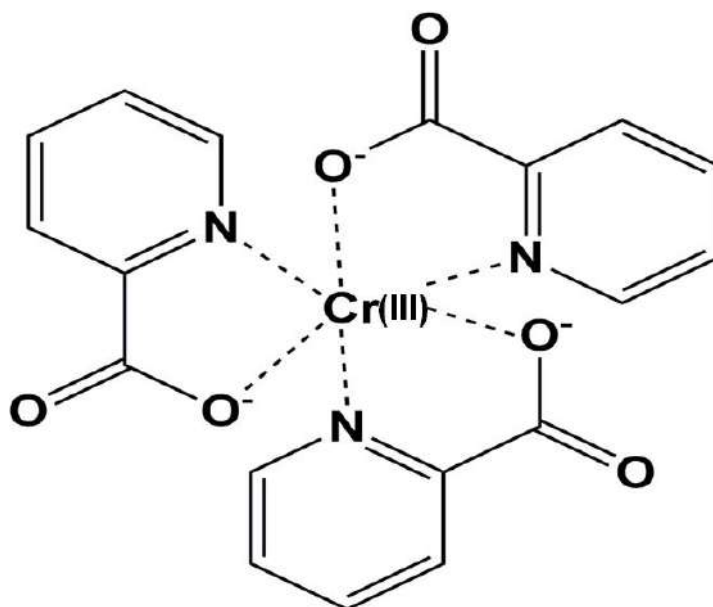
Apesar de todas as vias de interação acima citadas, ainda é difícil atribuir claramente as interações entre QDs e íons metálicos. Segundo Wu et al. (2014) as interações reais entre os íons metálicos e QDs pode também ser uma combinação dos mecanismos acima citados.

II.1.2 DETERMINAÇÃO DE CROMO

Micronutrientes são compostos de vitaminas ou elementos químicos, cátions na forma de sais minerais, que são requeridos por organismos vivos para a manutenção do metabolismo do seu próprio corpo. A ingestão diária de alimentos contendo minerais como ferro, cobalto, cromo, cobre, iodo, manganês, selênio, zinco e molibdênio em quantidades na faixa miligramas

diárias se faz necessária para prevenir uma série de distúrbios e doenças (CILLA et al., 2014). O elemento cromo pode ser encontrado em diferentes estados de oxidação que varia de +2 a +6. Os estados de oxidação mais comuns e estáveis são Cr(III) e Cr(VI), despertam grande interesse quanto às questões de saúde e ambientais. O cromo com estado de oxidação 3+ é um micronutriente essencial para o metabolismo de carboidratos, lipídios, proteínas, além do fato de aumentar a ação do hormônio insulina. A levedura de cerveja, pimenta preta, e carnes são boas fontes alimentares deste mineral (ANDERSON; KOZLOVSKY, 1984). Estudos mostram que os benefícios da ingestão de cromo incluem perda de peso, diminuição dos níveis de colesterol presente no sangue, assim como, os níveis de glicose (BUNACIU; ABOUL-ENEIN; FLESHIN, 2006). Recomenda-se uma ingestão diária de Cr(III), em adultos entre 50 a 200 µg/dia (VINCENT, 2000). A resistência a insulina é uma doença, em que os níveis normais dessa são insuficientes para que adipócitos (células de gordura), miócitos (células dos músculos) e hepatócitos (células do fígado) respondam de forma normal a presença da insulina. Essa condição pode levar a altos níveis de açúcar no sangue, que consequentemente está associado ao aparecimento da diabetes tipo 2. As deficiências nutricionais do Cr(III) podem ser supridas por suplementos alimentares. O picolinato de cromo (III) é um composto químico vendido com a finalidade de suplemento alimentar (PREUSS et al., 2008). No final de 1950 Schwarz; Mertz (1959) demonstraram a existência de um novo fator dietético, o qual estava ausente na dieta dos ratos alimentados com *torula*, espécie de fermento, como sua única fonte de proteína. Os ratos que foram submetidos a dieta desenvolviam uma incapacidade de remover a glicose do sangue de forma eficiente. Essa incapacidade foi invertida pela adição de alimentos ricos em Cr(III) ou por suplementos alimentares contendo esse elemento. O picolinato de Cr(III) é um dos suplementos alimentares amplamente empregados, a sua síntese foi reportada em 1917 por Ley; Ficken (1917). Esse composto tem uma solubilidade estimada em 600 µmol L⁻¹ em água com pH igual 7. O complexo é hidrolizado em meio ácido, assim liberando ácido picolínico e Cr(III) (VINCENT, 2001, 2010). Na Figura 6, é apresentada a estrutura molecular (HAKIMI, 2013).

Figura 6. Estrutura 2D do complexo picolinato de cromo (III).



O mecanismo que explica a origem desses efeitos farmacológicos do Cr(III) ainda é uma área ativa de investigação e debate. Vincent (2010) em seu trabalho de revisão relata que alguns autores concluem que o Cr(III) forma um composto biologicamente ativo que reage com o ácido nicotínico, glicina, ácido glutâmico, cisteína e cálcio. Esse raciocínio se deve a seguinte observação, os níveis de insulina necessários ao metabolismo são menores, quando na presença de cromo na forma biologicamente ativa (EVANS; BOWMAN, 1992). Outra molécula que têm sido sugeridas é a *substância ligadora de cromo de baixo peso molecular* (*low-molecular-weight chromiumbinding substance*, LMWCr), também chamado de cromodulina. Estudos que indicam que cromodulina, um oligopeptídeo que transporta Cr(III) no corpo, favorece a sensibilidade à insulina por estimular atividade tirosina quinase do receptor insulínico na membrana plasmática, resultando desse modo na amplificação da insulina (MOZAFFARI et al., 2012).

A técnica de espectroscopia de absorção atômica por chama é recomendada por vários autores para a determinação de traços de cromo em

amostras ambientais (MONDAL; DAS; DAS, 2002; QUINTAR et al., 2000; SAHUQUILLO et al., 1995) e farmacêuticas (STEFAN; BAIRU; VAN STADEN, 2003). Outras técnicas como espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) (LUTFULLAH; KHAN; RAHMAN, 2013), apresentam alto custo operacional. Portanto, o desenvolvimento de métodos simples para determinação seletiva e sensível de Cr(III) e Cr(VI) ainda é um grande desafio. A espectrofotometria de absorção molecular (REVANASIDDAPPA; KIRAN KUMAR, 2003) e potenciometria (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2010) têm sido empregados para a determinação seletiva de Cr(III). Vários sensores químicos fluorescentes para Cr (III) têm sido relatados na literatura (GUHA et al., 2012; SALUJA et al., 2012), entretanto, necessitam de solventes orgânicos e, geralmente, têm elevados limites de detecção. A espectroscopia de fluorescência molecular é uma técnica que vem sendo bastante explorada para a determinação de Cr(III) e Cr(VI) (CHEN et al., 2014; ELAVARASI et al., 2012; MAO; HE; LIU, 2010; SUI et al., 2013). Portanto, o desenvolvimento de métodos simples para determinação seletiva e sensível de Cr(III) e Cr(VI) ainda é um grande desafio.

Na literatura, *quantum dots* têm sido poucos relatados para a determinação de Cr(III). Kanwal; Fu; Su, (2010) exploram o efeito do aumento na quimioluminescência no sistema pirogalol H_2O_2 -CdTe. Na realização deste estudo, um sistema análise por injeção em fluxo (FIA) foi empregado. Nanopartículas semicondutoras de CdTe QDs com o agente estabilizante ácido mercaptosuccínico, AMS, foram sintetizados pelo método de irradiação de microondas. Verificou-se que a adição de CdTe QDs no sistema de pirogalol- H_2O_2 pode induzir um aumento quimioluminescência. Sob condições otimizadas a metodologia foi capaz de determinar Cr(III) no intervalo de concentração de 20 pmol L^{-1} - $30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. O limite de detecção encontrado foi de 6 pmol L^{-1} , com um desvio padrão relativo ($n = 11$) de 1,7%. Os autores sugerem que quimioluminescência pode ocorrer por meio de duas hipóteses. A primeira hipótese, já é bem estabelecida onde a reação entre pirogalol- H_2O_2 gera emissão de luz, pois a oxidação do pirogalol pelo H_2O_2 leva a formação do

radical, $^1\text{O}_2^*$, uma molécula com tempo de meia-vida curto, essa espécie transfere energia para o *quantum dot* CdTe, levando-o para um estado excitado, gerando por final quimioluminescência. A segunda hipótese, possivelmente envolve a transferência de energia do estado excitado do pirogalol para o *quantum dot* CdTe-MAS (ácido mercaptosuccínico), e nesse caso o emissor final é o estado excitado do CdTe-AMS.

Outro trabalho que empregou *quantum dots* para determinação de Cr(III) foi o realizado por Zhao et al. (2013), onde se verificou que a fosforecência dos QDs ZnS com o agente estabilizante albumina de soro bovino desnaturada e dopado com manganês poderia ser desativada seletivamente por Cr(III). Uma faixa de trabalho linear entre 10 - 300 nmol L⁻¹ foi estabelecida, onde o limite de detecção foi de 3 nmol L⁻¹. O potencial analítico foi avaliado por meio da determinação de Cr(III) em amostras de água, com recuperações na faixa de 95 e 106%. Segundo os autores o mecanismo de desativação de fosforência do *quantum dot* ZnS é pela transferência de elétrons. Nesse trabalho foram realizadas medidas de voltametria cíclica para correlacionar os resultados obtidos com medidas espectroscópicas de potencial dos orbitais *homo* e *lumo*.

Neste trabalho foi proposto a utilização de *quantum dots* CdSe estabilizado com ácido tioglicólico, CdSe-TGA, para a determinação de Cr(III) em suplemento vitamínico contendo picolinato de cromo por efeito de supressão de sinal da fluorescência dos *quantum dots* de CdSe-TGA. A intensidade de fluorescência dos QDs com emissão em 550 nm pode ser suprimido por íons Cr(III).

II.2. MATERIAL E MÉTODO

II.2.1. MATERIAL

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) obtida do sistema deionizador - Q380M, fabricado pela QUIMIS e com reagentes de grau analítico.

Selênio elementar (Se^0) em pó (99,8%, 200 mesh, Aldrich), cloreto de cádmio (CdCl_2 , 99,999%, Aldrich), ácido tioglicólico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2\text{S}$, TGA, 99%, Aldrich) e NaOH (97,0%, Quimex) foram utilizados para a síntese dos QDs. Soluções de Fe^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} e Cr^{3+} foram preparados pela diluição das soluções padrão (SpecSol® de 1007 mg L^{-1}).

Soluções tampão KCl/HCl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2, ácido cítrico/ citrato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 3, ácido acético/ acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4, ácido cítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ / fosfato de sódio dibásico $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5, 6 e 7, fosfato de sódio monobásico/ fosfato de sódio dibásico $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 8, carbonato de sódio anidrido/bicarbonato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 9, 10 e 10,7 e KCl/NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 12 foram preparadas para o estudo de pH e estabilidade dos QDs.

Para medidas de absorção eletrônica na região do Uv-Vis empregou-se um espectrofotômetro da Ocean Optics multicanal com arranjo linear de diodos, modelo USB4000 UV-Vis. Para a realização de medidas de fluorescência foi empregado um espectrofluorímetro, modelo Shimadzu RF-5301PC com uma lâmpada de Xenônio. Para realizar ajustes de pH das soluções e preparo de tampões foi utilizado um pHmetro de Bancada - Q400MT (QUIMIS). Um forno de micro-ondas fabricado pela CEM Corporation (Matthews, NC, EUA), modelo MarsXpress foi usado para processar a digestão da amostra de picolinato de cromo.

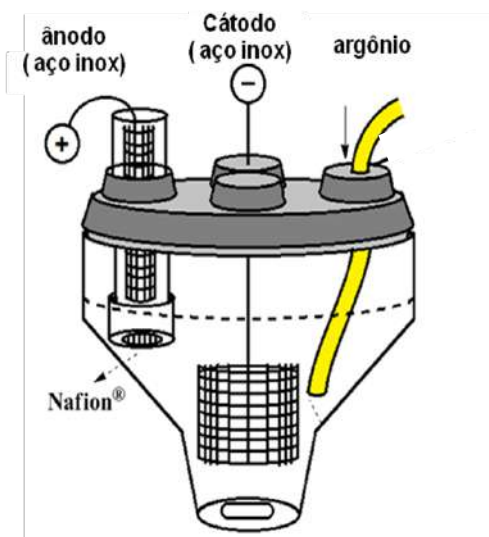
Para a comparação dos resultados, empregou-se a espectrometria de absorção atômica por chama, usando um espectrômetro de absorção atômica por chama (modelo AA240FS, Varian Inc, Palo Alto, Califórnia, EUA) equipado com lâmpada de cátodo oco de cromo, que foi operada a 10 mA com comprimento de onda $357,9 \text{ nm}$ e lâmpada de deutério para correção de *background*.

A eletrorredução do selênio foi realizada usando-se uma célula eletroquímica adaptada a uma simples fonte de corrente contínua sendo usados dois eletrodos, um catodo (-) e um anodo (+). O catodo utilizado consiste de uma rede de aço inox com aproximadamente $2,0 \text{ cm}^2$ de área e o anodo utilizado consiste de uma rede de aço inox com dimensões $0,5 \times 4 \text{ cm}$, estando o anodo em um compartimento separado do cátodo por uma membrana de Nafion[®].

II.2.1.1 Síntese de CdSe *Quantum dots*

O QD de CdSe recoberto com TGA foi preparado segundo metodologia descrita anteriormente por Freitas *et al.* (2014), conforme Figura 7.

Figura 7. Célula eletroquímica usada para Eletrorredução de Se^0 (FREITAS et al., 2014).



A metodologia consiste na redução eletroquímica do selênio. Para tanto, $5,0 \text{ mg}$ ($63,3 \text{ } \mu\text{mol}$) de selênio em pó foram adicionados à célula mostrada na Figura 6, juntamente com $5,0 \text{ mL}$ de uma solução de $\text{NaOH } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$. Sob atmosfera de argônio, o sistema foi submetido à eletrólise sob corrente constante ($I = -70 \text{ mA}$). Nesta condição, a solução apresenta uma cor amarelada. A verificação do ponto final da eletrorredução ocorre na ausência de selênio em pó e quando a solução está incolor, garantindo total consumo do selênio adicionado. Para a síntese dos QDs CdSe-TGA foi utilizada a proporção molar $1:0,25:2,4$ de $\text{Cd}^{2+}/\text{Se}^{2-}/\text{TGA}$, respectivamente. Para a síntese dos QDs CdSe, após a total eletrorredução do selênio, $1,0 \text{ mL}$ da solução de $12,7 \text{ mmol}$

L^{-1} Se^{2-} foi adicionado à solução seguido de 50 mL de solução NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ CdCl_2 / $2,4 \text{ mmol L}^{-1}$ TGA sob atmosfera de argônio. Uma suspensão coloidal amarela é formada e as nanopartículas de CdSe ($\text{pH} \approx 11$) são colocadas em refluxo a 90°C . A cada 30 minutos de aquecimento são retiradas alíquotas de 5 mL, para acompanhar o tamanho dos *quantum dots* por meio de medida de absorção e emissão de fluorescência. Após sua síntese, os *quantum dots* foram acondicionados a temperatura de 4°C .

II.2.2 MÉTODO

II.2.2.1 Determinação da concentração do QDs em suspensão

Para calcular a concentração dos *quantum dots* adotou-se a metodologia empírica descrita por Yu et al. (2003). De acordo com esta metodologia calcula-se primeiramente o diâmetro da nanopartícula, em seguida, se obtém o coeficiente de extinção molar dos QDs. Assim, a partir de medidas de espectrometria de absorção dos QDs, pode-se encontrar a concentração em mol L^{-1} .

Segundo Freitas et al., (2014) o tamanho das nanopartículas CdSe-TGA QDs depende do tempo de aquecimento da reação. Os autores relatam que QDs de CdSe-TGA apresentam boa estabilidade e alta luminescência com tamanho médio de 2,6 nm. O tamanho das nanopartículas semicondutoras coloidais de CdSe-TGA foi calculado segundo a metodologia de YU et al., (2003) de acordo com a equação 1:

$$D = (1,6122 \times 10^{-9}) \lambda^4 - (2,6575 \times 10^{-6}) \lambda^3 + (1,6242 \times 10^{-3}) \lambda^2 - (0,4277) \lambda + (41,57)$$

Eq. 1

Onde D é o diâmetro da nanopartícula, λ é o comprimento de onda referente à absorbância correspondente ao primeiro máximo de absorção do espectro de absorção na região do visível para as nanopartículas.

YU et al., (2003) também propõem calcular a concentração de QDs em mol L^{-1} a partir da seguinte equação 2:

$$\varepsilon = 1600\Delta E(D)^3 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde ΔE é a energia de transição correspondente ao primeiro máximo de absorção expressa em eV, ε é o coeficiente de extinção e D é o diâmetro dos QDs. Assim pode-se estimar a concentração em mol L⁻¹, aplicando-se também a lei de Lambert-Beer, equação 3:

$$A = \varepsilon bc \quad \text{Eq. 3}$$

A é absorvância, b é caminho ótico, em cm, e c a concentração em mol L⁻¹. Aplicando-se as equações acima citadas obteve-se a concentração de QDs de 6,92 μmol L⁻¹.

II.2.2.2 Estudo de reação entre íons *quantum dots* e íons metálicos

Após a síntese dos QDs de CdSe-TGA em meio básico, pH 11, sua interação foi estudada com íons Cr³⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺, Hg²⁺, Si²⁺, Fe²⁺ e Ba²⁺. Para realização desse estudo foi utilizado 2,0 mL de solução de CdSe-TGA na concentração de 2,8 x10⁻⁶ mol L⁻¹. Para construção das curvas analíticas, foram adicionados sequencialmente e separadamente, na cubeta de quartzo, volumes de 0,2 μL das soluções padrões dos íons Cr(III), Cu²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺, Hg²⁺, Si²⁺, Fe²⁺ e Ba²⁺ a 2,0 mL solução de QDs CdSe-TGA. Posteriormente esperou-se 5 minutos para em seguida realizar cada leitura de fluorescência.

II.2.2.3. Estudo de razão volumétrica com a solução tampão

Um estudo de razão volumétrica entre quantidade de solução tampão e *quantum dots* foi realizada. Com o objetivo de se verificar qual a menor quantidade de solução tampão seria necessária para manter a solução no pH desejado e qual a melhor intensidade de fluorescência. Para tal estudo foi selecionado o tampão fosfato, pH 6, concentração 0,1 mol L⁻¹.

II.2.2.4 Estudo de pH

Realizou-se um estudo de pH afim verificar a influência do mesmo sobre a fluorescência da mistura tampão/QDs/Cr(III), utilizando uma concentração de

Cr(III) de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$. O pH foi investigado no intervalo de 2 a 14 utilizando-se tampões na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

II.2.2.5 Estudo de tempo de reação

Após estabelecer o melhor valor de pH realizou-se um estudo de tempo de reação para o sistema QDs/ Cr(III)/solução tampão. Neste caso, o objetivo foi aumentar a frequência analítica da metodologia proposta. Para tanto, fixou-se o comprimento de onda de excitação em 365 nm e o monitoramento do sinal de emissão em 550 nm, durante 600 s (10 min). Para tal estudo colocou-se os QDs numa cubeta de fluorescência e com o auxílio de uma seringa injetou-se o analito Cr(III) com solução tampão pH 4 e concentração de Cr(III) a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$. O sistema reacional foi monitorado com o auxílio de um espectrofluorímetro, onde ocorreu a incidência do feixe de radiação de forma constate.

II.2.2.6. Construção da curva analítica

Os espectros de fluorescência usados para construção da curva analítica foram obtidos através da adição de $1,0 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de $50 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) em uma solução contendo CdSe-TGA, na proporção de 1:3 de solução tampão acetato:QDs $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,0. A intensidade da fotoluminescência foi monitorada com uma fenda de largura fixa de excitação de 3 nm e emissão de 5 nm. As medidas ópticas foram efetuadas após 200 s, depois da adição de solução de Cr(III). O comprimento de onda de excitação utilizado foi de 365 nm, e o monitoramento da emissão entre 400-750 nm.

II.2.2.7. Metodologia de preparo da amostra

O preparo das amostras comerciais contendo picolinato de cromo foi realizado por decomposição em via úmida empregando forno de micro-ondas. O procedimento foi realizado em triplicata, onde 0,2 gramas de amostra foram adicionados a $1,0 \text{ mL}$ de HNO_3 (65%, v/v) e colocados dentro de tubos Teflon PFA[®] e posteriormente, acondicionados no forno de micro-ondas. Os detalhes de programação do procedimento são descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros utilizados no processo de preparo das amostras de picolinato de cromo

Etapas	potência		rampa	tempo	
	Watts	%	Temperatura °C		(min)
1	800	100	110	10:00	00:00
2	1600	100	170	10:00	10:00

Para realização do teste de comparação, após o término do processo de preparo, as amostras foram filtradas com papel de filtro qualitativo e o Cr(III) foi determinado por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS).

II.2.2.8. Teste de adição e recuperação

Para testar a exatidão método foi realizado teste de adição e recuperação do analito na amostra. Para o cálculo de recuperação empregou-se a equação 4 (I. TAVERNIERS; LOOSE; BOCKSTAELE, 2004):

$$\%R = ((C_{ad.} - C_{amostra}) / C_{Ref}) \times 100\% \quad \text{Eq. 4}$$

onde $C_{ad.}$, $C_{amostra}$ e C_{ref} representam os valores de concentração de amostra mais quantidade de analito adicionado concentração de amostra e concentração da solução de referência, respectivamente. Em cada amostra foram adicionados $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de solução padrão de Cr(III), para resultar após diluição, em 50 ng L^{-1} Cr(III).

II.2.2.9. Estudo de interferentes

Após a otimização do método foi realizado um estudo de interferentes com os seguintes íons: K^+ , Zn^{2+} , Ca^{2+} e Na^+ , pois estes faziam parte da composição do suplemento alimentar. Portanto, foram preparadas as seguintes soluções K^+ (1000 mg L^{-1}); Zn^{2+} (20 mg L^{-1}); Ca^{2+} (1000 mg L^{-1}) e Na^+ (1000 mg L^{-1}) pela diluição das soluções padrão de K^+ ; Zn^{2+} ; Ca^{2+} ; Na^+ (SpecSol[®] concentração 1007 mg L^{-1})

II. 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

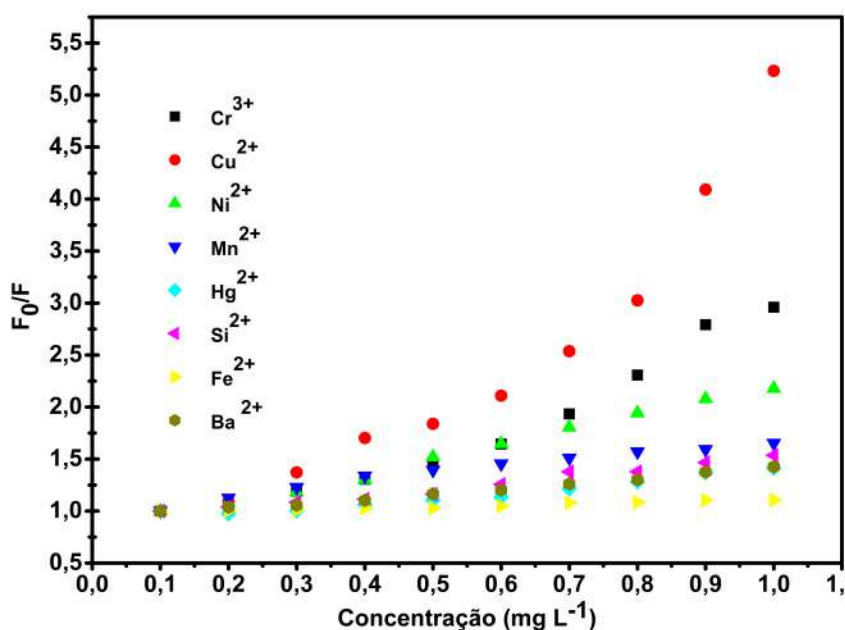
II. 3.1. ESTUDO DA REAÇÃO ENTRE *QUANTUM DOTS* E ÍONS METÁLICOS

Foi realizada a verificação na seletividade dos QDs CdSe-TGA, através da construção de curvas analíticas, como representado na Figura 8. Os dados de fluorescência foram analisados usando a equação de Stern-Volmer (equação 5), a qual permite explorar o mecanismo do processo fotofísico de desativação intermolecular (LAKOWICZ, 1999).

$$F_0/F = A + K_{SV}[Q] \quad \text{Eq. 5}$$

Onde F_0 e F são os sinais da fluorescência na ausência e na presença do íon estudado, respectivamente. “A” é intercepto da função, K_{SV} é a constante de Stern-Volmer e $[Q]$ a concentração do respectivo íon.

Figura 8. Dependência da fluorescência do QDs CdSe-TGA com concentração dos íons Cr^{3+} ; Cu^{2+} ; Ni^{2+} ; Mn^{2+} ; Hg^{2+} ; Si^{2+} ; Fe^{2+} ; Ba^{2+} .



Na Tabela 2 pode-se observar que todos os modelos apresentam um valor de R^2 significativo por se aproximarem do valor 1. Para todas as

interações entre os íons e os QDs, observou-se nos espectros de luminescência molecular o efeito “*Quenching*”, ou seja, a supressão de sinal da luminescência dos QDs. Vários estudos têm demonstrado que a luminescência dos QDs surgem a partir da recombinação dos éxcitons (elétrons-buracos) devido às alterações na superfície dos QDs, afetando a eficiência de luminescência (WU et al., 2014).

Tabela 2. Curvas analíticas para íons Cr(III); Cu²⁺; Ni²⁺; Mn²⁺; Hg²⁺; Si⁴⁺; Fe²⁺; Ba²⁺

	Íon	Faixa linear 0,1-1,0 mg L ⁻¹	Equação	coeficiente de determinação (R ²)
1	Cr(III)		$F_0/F = 1,794c^2 + 0,538c + 0,982$	0,996
2	Cu ²⁺		$F_0/F = 9,463c^3 - 8,073c^2 + 4,473c + 0,736$	0,998
3	Ni ²⁺		$F_0/F = 1,452c + 0,912$	0,996
4	Mn ²⁺		$F_0/F = 0,611c + 1,121$	0,974
5	Hg ²⁺		$F_0/F = 0,599c + 0,877$	0,991
6	Si ⁴⁺		$F_0/F = 1,452c + 0,912$	0,996
7	Fe ²⁺		$F_0/F = 0,136c + 0,984$	0,961
8	Ba ²⁺		$F_0/F = 0,489c + 0,967$	0,991

Esses tipos de interações podem ser visualizados por extinção ou aumento da fluorescência. Uma variedade de processos pode contribuir para a extinção da fluorescência, incluindo a transferência de energia entre os QDs e íons, as reações no estado excitado, à formação do complexo entre o estabilizante do *quantum dot* e o íon e colisões entre os QDs e íons. Para o íon cobre este efeito de supressão de sinal pode ser explicado através da substituição na superfície da nanopartícula de CdSe-TGA dos íons Cd²⁺ por íons de Cu²⁺ para formar partículas extremamente de baixa solubilidade de CuSe sobre a superfície das nanopartículas de CdSe-TGA, desfavorecendo o

processo de transição da banda de valência para banda de condução (FERNÁNDEZ-ARGÜELLES et al., 2005). Nos trabalhos de Meyer; Zhang; Scholz, (1996) & Mansur; Mansur, (2011) os autores relatam que o produto de solubilidade (K_{ps}) para a CdSe é de $1,4 \times 10^{-35}$ e para o CuSe é $1,25 \times 10^{-37}$. Dados na literatura sugerem que em $pH > 7$ há formação do complexo $Hg(HSe)_2(OH)_2^{2-}$, que é composto altamente solúvel em comparação ao CdSe, podendo sugerir um mecanismo de troca entre íons Cd^{2+} e Hg^{2+} (OLIN et al., 2005). Chen et al. (2011) descreve a relação de Stern-Volmer, equação 5, entre os íons Cu^{2+} e CdSe. Neste trabalho, os autores sugerem que se tal equação é linear poderia existir um processo de supressão de sinal de luminescência por colisão, induzindo assim processos de recombinação nos centros dos elétrons-buracos. Este fato foi observado para os íons Ni^{2+} ; Mn^{2+} ; Hg^{2+} ; Si^{4+} ; Fe^{2+} e Ba^{2+} . Observando-se a Figura 8 e na Tabela 2, nota-se que para íons Cr(III) e Cu^{2+} os modelos matemáticos são quadrático e cúbico, respectivamente. Isso se deve ao fato da perda da camada de estabilização do *quantum dot* que conduz a uma forte supressão de sua fluorescência (RODRIGUES et al., 2014). Chen et al. (2006) desenvolveram uma metodologia para determinação de Hg(II) empregando QDs tipo CdSe recobertos com L-cisteína. Através da observação do efeito *quenching* nota-se a interação entre nanopartículas de CdSe com íons Hg(II) através da transferência de energia da superfície do QDs CdSe para os íons Hg(II).

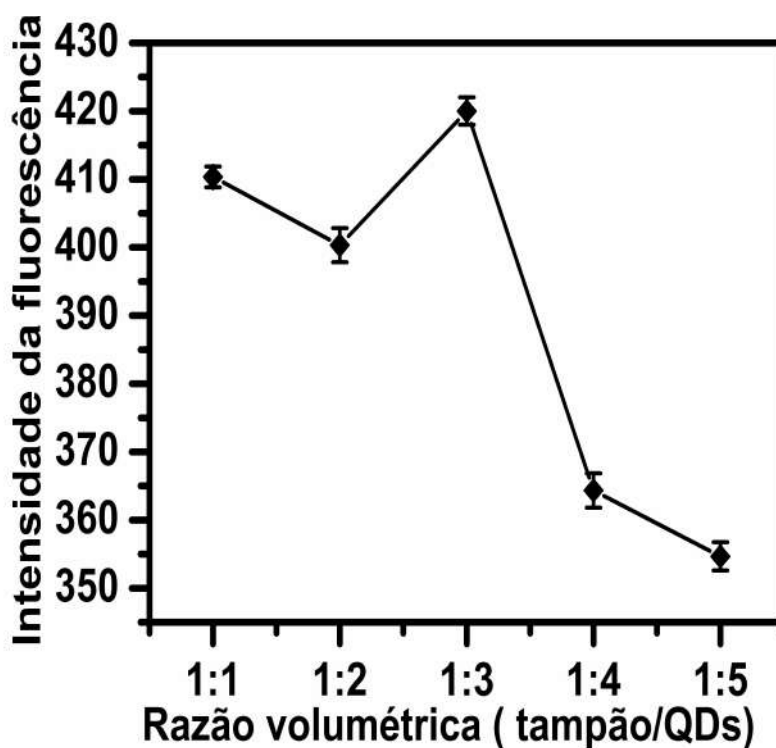
Freitas et al. (2014) propuseram QDs tipo CdSe-TGA que foram testados como um possível sensor para Hg^{2+} , onde observou-se o efeito de supressão de sinal (*quenching*) da fluorescência dos QDs. Segundo os autores existe um processo de transferência de elétrons entre o estabilizante, o ácido tioglicólico, e o íon Hg^{2+} , afetando assim o efeito de luminescência, pois não foi observado um deslocamento para o vermelho, quando se observa o espectro de emissão do CdSe-TGA em diferentes concentrações de íon mercúrio.

Para os íons Ni^{2+} ; Mn^{2+} ; Si^{4+} ; Fe^{2+} ; e Ba^{2+} não existem dados na literatura para explicar interação entre QDs e tais íons. Cálculos teóricos e um estudo mais aprofundado, também poderiam ajudar no entendimento sobre o mecanismo de supressão de fluorescência do *quantum dots* de CdSe-TGA.

II. 3.2. ESTUDO DE RAZÃO VOLUMÉTRICA

Para o estudo da razão volumétrica variou-se a proporção entre o tampão e o QDs entre 1:1 e 1:5 (v/v), conforme apresentado na Figura 9. Nesta Figura pode-se observar que a melhor razão volumétrica foi de 1:3 (tampão/QDs), apresentando uma maior emissão de fluorescência. Nas razões volumétricas de 1:1 e 1:2 a capacidade tamponante era anulada. Já nas razões volumétricas de 1:4 e 1:5 ocorria uma maior diluição do *quantum dots* levando a diminuição na intensidade da fluorescência e também ocorrendo à quebra da capacidade tamponante.

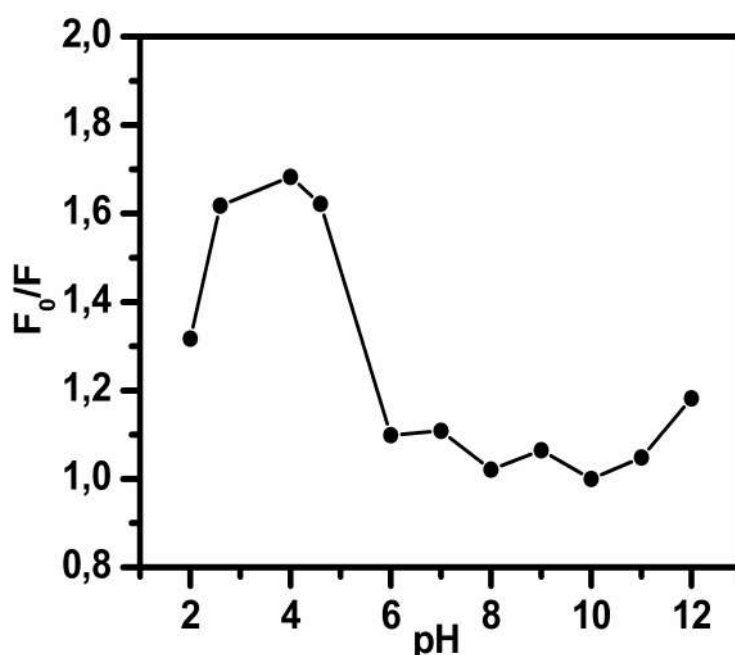
Figura 9. Influência do pH sobre o sinal da fluorescência da reação entre CdSe-TGA com $0,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr(III)}$



II. 3.3. ESTUDO DO pH

Depois de estabelecer-se a melhor proporção volumétrica realizou-se o estudo de pH. Na Figura 10, é apresentado efeito do pH sobre a fluorescência da mistura solução tampão/QDs/Cr(III). Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a intensidade de fluorescência da reação entre CdSe-TGA e o Cr(III) diminui com o aumento do pH. Pode-se verificar que a intensidade de fluorescência, atingiu o seu máximo com o pH 4. Este pH refere-se a solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Segundo Rodrigues *et al.* (2014), a diminuição da intensidade de fluorescência de QDs em baixos valores de pH, deve-se a diminuição da carga negativa da superfície do CdSe-TGA. No trabalho de Freitas *et al.* (2014), os valores descritos para ζ (potencial zeta) para grupos carboxilos, provenientes do ácido tioglicólico, quando estes são usados como estabilizante es para nanopartículas de CdSe, apresentaram valores entre -15 mV e -55 mV. Esta diminuição da carga negativa da superfície da nanopartícula de CdSe, talvez possa promover uma melhor interação com íons Cr(III) em pH 4. Em pH maior ou igual a 6, observa-se uma diminuição do efeito de supressão da fluorescência, isso pode ser associado a fato de que nesta faixa de pH ocorre a desprotonação dos grupos carboxílicos do ácido tioglicólico, aumentando assim a carga negativa dos *quantum dots* CdSe-TGA, afetando a interação com o íon Cr(III).

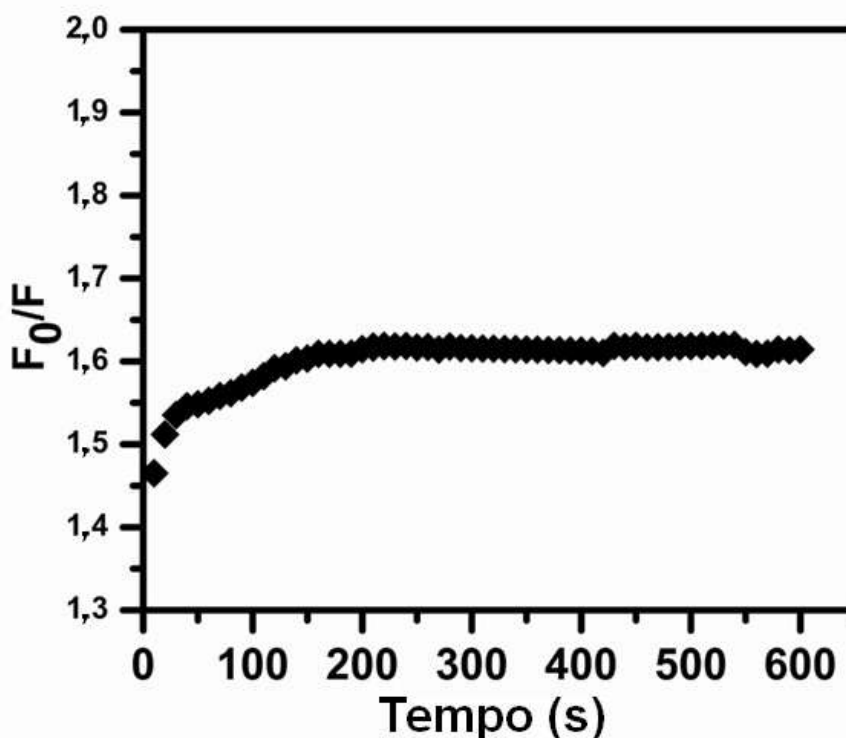
Figura 10. Influência do pH sobre o sinal da fluorescência da mistura entre CdSe-TGA com Cr(III) a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$



II. 3.4. ESTUDO DO TEMPO DE REAÇÃO

Na Figura 11, é apresentado o estudo de interação entre os QDs e os íons Cr(III). Observa-se abaixo de 50 s um máximo de fluorescência do sistema QDs/Cr(III)/solução tampão pH 4 e, após 50 s notou-se o efeito de supressão de sinal resultando na diminuição da fluorescência, até a completa estabilização do sinal após 200 s (3 min e 20 s). Portanto empregou-se o tempo de 200 s, para maximizar a frequência analítica da metodologia aqui proposta.

Figura 11. Intensidade da fluorescência dos QDs versus tempo na presença de Cr^{3+} , concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$. As fendas de excitação e de emissão foram de 3 e 5 nm, respectivamente. O sinal emissão foi monitorado a 551 nm.

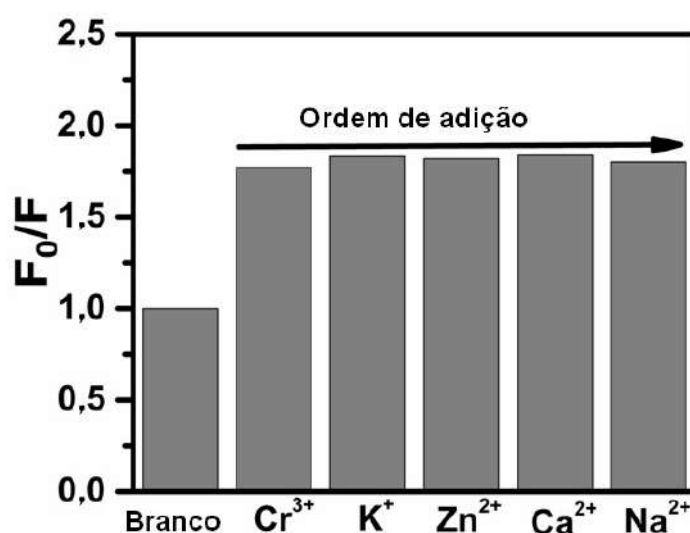


II.3.5 ESTUDO DE INTERFERENTES

Em relação ao efeito de interferência de íons inorgânicos concomitantes, uma solução contendo $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr(III) foi adicionada de íons, geralmente, encontrados no suplemento vitamínico que contem picolinato de cromo. O experimento foi realizado sob as condições previamente otimizadas, onde se mediu primeiramente o sinal do branco e, posteriormente, os sinais

referentes às adições sequenciais dos íons Cr^{3+} , K^+ , Zn^{2+} , Ca^{2+} e Na^+ . Os resultados são mostrados na Figura 12. Nesta Figura, pode-se observar que não houve interferência significativa para os íons K^+ (1000 mg L^{-1}); Zn^{2+} (20 mg L^{-1}); Ca^{2+} (1000 mg L^{-1}) e Na^+ (1000 mg L^{-1}). Entretanto, para concentrações de Zn^{2+} maiores que 20 mg L^{-1} , notou-se que a fluorescência do sistema CdSe-TGA/Cr(III) desaparece completamente.

Figura 12. Efeitos de íons inorgânicos sobre a resposta da fluorescência de QDs CdSe-TGA e Cr(III) a $0,50 \text{ mg L}^{-1}$.

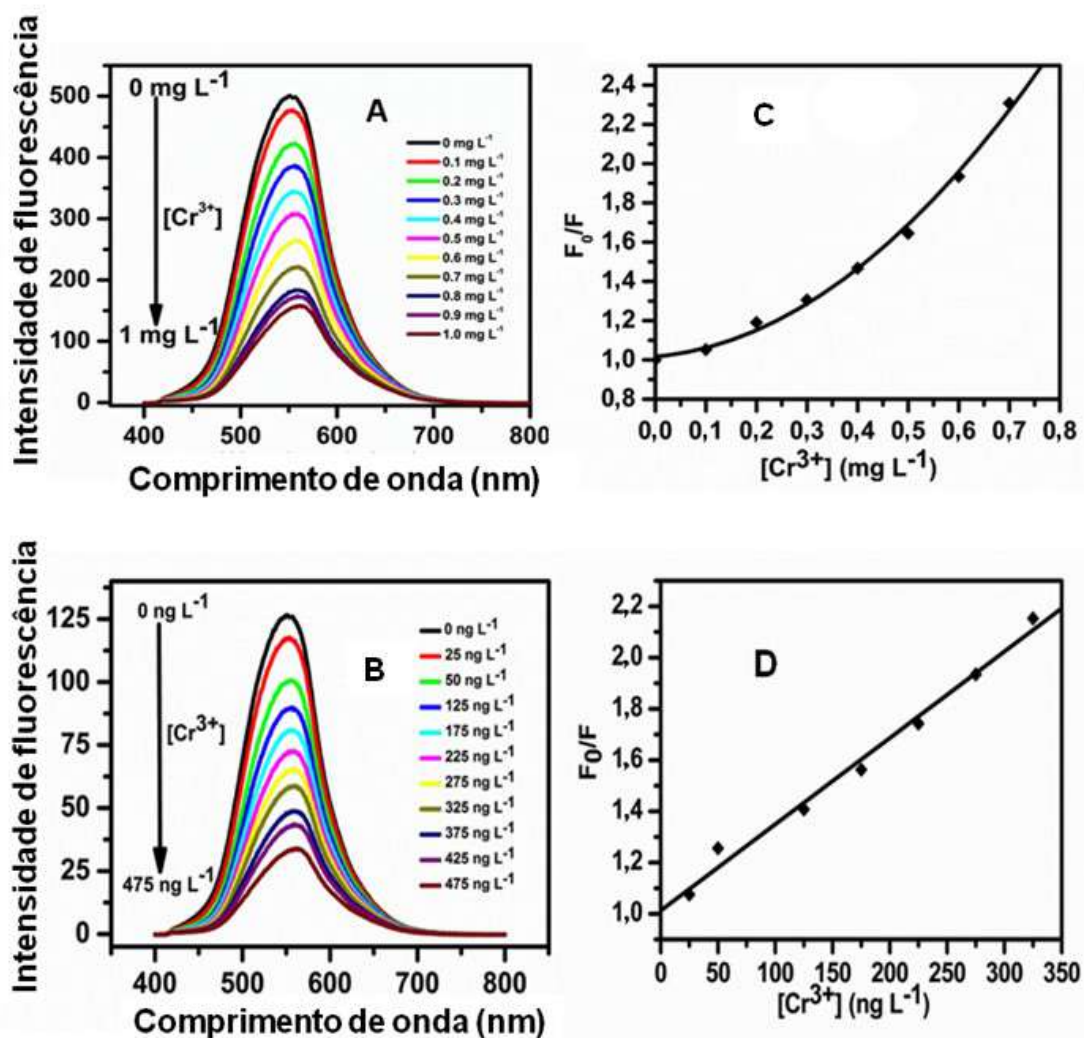


II. 3.6. FIGURAS DE MÉRITO

Após a otimização da metodologia analítica, obteve-se os espectros de fluorescência variando-se a concentração das soluções de referência de Cr(III) na presença do QDs de CdSe-TGA para a construção das curvas analíticas e, posteriormente, sua aplicação na determinação de Cr(III) em suplementos vitamínicos. Os espectros de emissão de fluorescência da suspensão de CdSe-TGA pode ser observado na Figura 13(A) e 13(B) nas faixas de concentrações de $0,1\text{-}1,0 \text{ mg L}^{-1}$ e de $25\text{-}475 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente. Nota-se que em ambos os casos, o máximo de emissão foi medido em 551 nm . Também se pode observar que a intensidade de emissão de fluorescência do *quantum dot* CdSe-TGA diminui, a medida que a concentração de Cr(III) aumenta. Observa-se na mesma Figura 13(A), um desvio para o vermelho, ou seja, um desvio para

comprimento de ondas maiores. Na Figura 13(C) um gráfico de Stern–Volmer (KEIZER, 1983) foi gerado, F_0/F versus concentrações, entre 0,1 – 1,0 mg L⁻¹ de Cr(III), onde uma equação de 2º grau é obtida, $F_0/F = (2,24527 \pm 0,27047)C^2 + (0,22423 \pm 0,1969)C + (1,01644 \pm 0,02950)$, ($r=0,995$). F_0 e F são as intensidades de fotoluminescência na ausência e na presença da espécie Cr(III), respectivamente. Para baixas concentrações, entre 25-325 ng L⁻¹ de Cr(III), Figura 13 (D), com uma equação linear $F_0/F = (0,00337 \pm 0,00017)C + (1,01239 \pm 0,03453)$ ($r = 0,993$).

Figura 13. Espectro de fluorescência do CdSe-TGA QDs na presença de várias concentrações de Cr(III) com as respectivas curvas analíticas plotadas como F_0/F , nas faixas de mg L⁻¹ (A e C) e (C e D) ng L⁻¹.



O limite de detecção foi de 5,67 ng L⁻¹ Cr(III) ($3,3 \cdot \sigma/S$) ($n = 10$) e o de quantificação foi 17,19 ng L⁻¹ Cr(III) ($10 \cdot \sigma/S$) foram estimados, onde σ é o desvio padrão para diferentes medidas do branco e S é coeficiente angular das

respectivas curvas analíticas. Assim, o desvio padrão relativo (RSD) foi estimado em 4,43% ($n = 10$).

Conforme relatado na literatura, o efeito de extinção da emissão de fluorescência do CdSe-TGA pode ser atribuído a formação da espécie CrSe com menor solubilidade do que CdSe, causando assim a sua precipitação ou aglomeração (COSTAS-MORA et al., 2014). Outros autores também relataram que os processos não-radioativos podem ocorrer durante o estado excitado, causando a transferência de energia entre do CdSe para o íon Cr(III). Podendo levar a formação de um complexo entre essas duas espécies (WU et al., 2014). Na Figura 13 (D) uma relação linear foi encontrada, de acordo com esses dados o mecanismo para essa escala de concentrações, poderia basear-se na formação de ligações entre as espécies CdSe-TGA e a espécie Cr(III), induzindo a recombinação dos éxcitons, assim modificando as energias da banda de valência e condução (RODRIGUES et al., 2014). A fim de se entender esse mecanismo detalhadamente, são necessários mais experimentos, como medir os rendimentos quântico absolutos e tempos de vida de luminescência das diferentes soluções de CdSe e Cr(III).

Na Tabela 3, são apresentadas as características analíticas da metodologia proposta. Comparando a metodologia proposta com a metodologia desenvolvida por Zhao et al. (2013), pode-se observar uma melhora no limite de detecção de 27 vezes (de 155 ng L^{-1} para $5,67 \text{ ng L}^{-1}$). Com relação à metodologia desenvolvida por Kanwal; Fu; Su (2010), a mesma apresenta menores limites de detecção, entretanto, o trabalho utilizou-se de outro princípio espectroscópico, a quimioluminescência, que apresenta limites de detecção melhores (mais baixos) quando comparada a fluorescência. O trabalho proposto desenvolvido apresenta uma característica dentro dos princípios de química verde, pois a síntese dos *quantum dots* empregados por (KANWAL; FU; SU, 2010; ZHAO et al., 2013) são uma metodologias sintéticas convencionais, pois empregam agentes redutores perigosos, para redução de Te^0 (selênio) e S^0 (enxofre). No trabalho desenvolvido por Freitas et al. (2014) e aplicado neste trabalho foram gerados íons Se^{2-} em um meio aquoso por via eletroquímica. O processo é simples e versátil. Além de apresentar uma boa reprodutibilidade sintética e estabilidade.

Tabela 3. Características analíticas de procedimentos que utilizam QDs para a determinação de Cr(III)

Tipo de QDs	Faixa linear (ng L ⁻¹)	RSD (%)	Limite de Detecção (ng L ⁻¹)	Técnica de detecção	Referências
CdTe-MSA ¹	1,1 - 1,55	1,7	0,31	Quimiluminescência	Kanwal; Fu; Su (2010)
ZnS-Mn-DBSA ²	520 - 15599	---	155	Fluorescência	Zhao et al., (2013)
CdSe-TGA ³	25 - 325	4,43	5,67	Fluorescência	Este trabalho

¹MSA = ácido Mercaptosuccínico; ²DBSA = albumina de soro bovino; ³TGA = ácido tioglicólico

II. 3.7. TESTE DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO

Para a validação do método proposto, aplicou-se o teste de adição e recuperação. Deste modo, em cinco amostras de suplemento vitamínico foram adicionadas concentrações de 50 ng L⁻¹ de Cr(III), onde obteve-se valores entre 82 a 98 % de recuperação, indicando assim ausência de efeito de matriz (TAVERNIERS; DE LOOSE; VAN BOCKSTAELE, 2004), conforme Tabela 4.

Tabela 4. Valores de recuperação em amostra de suplemento vitamínico com adição de 50 ng L⁻¹ Cr(III)

Amostras	Quantidade encontrada Cr(III) (ng L ⁻¹)	Recuperado (%)	RSD(%)
1	41 ± 2	82,0	1,91
2	48 ± 2	96,7	1,65
3	48 ± 2	96,1	1,81
4	48 ± 3	96,5	3,44
5	49 ± 1	98,0	0,99

Na Tabela 5, são apresentados os resultados obtidos pelo método proposto e comparados com os resultados obtidos por espectrometria de absorção atômica por chama (método de referência). Aplicando-se o Teste t de Student para a comparação das médias ($t_{\text{calculado}} = -0,08$ e $t_{\text{tabelado}} = 2,31$)

pode-se afirmar que ao nível de 95% de confiança não há diferença significativa na diferença entre as duas populações, pois o $t_{\text{calculado}}$ é menor que o t_{tabelado} .

Tabela 5. Comparação dos resultados obtidos, de Cr(III) em amostras de vitaminas, pelo método proposto, método oficial e os valores informados pelos fabricantes (concentração nominal).

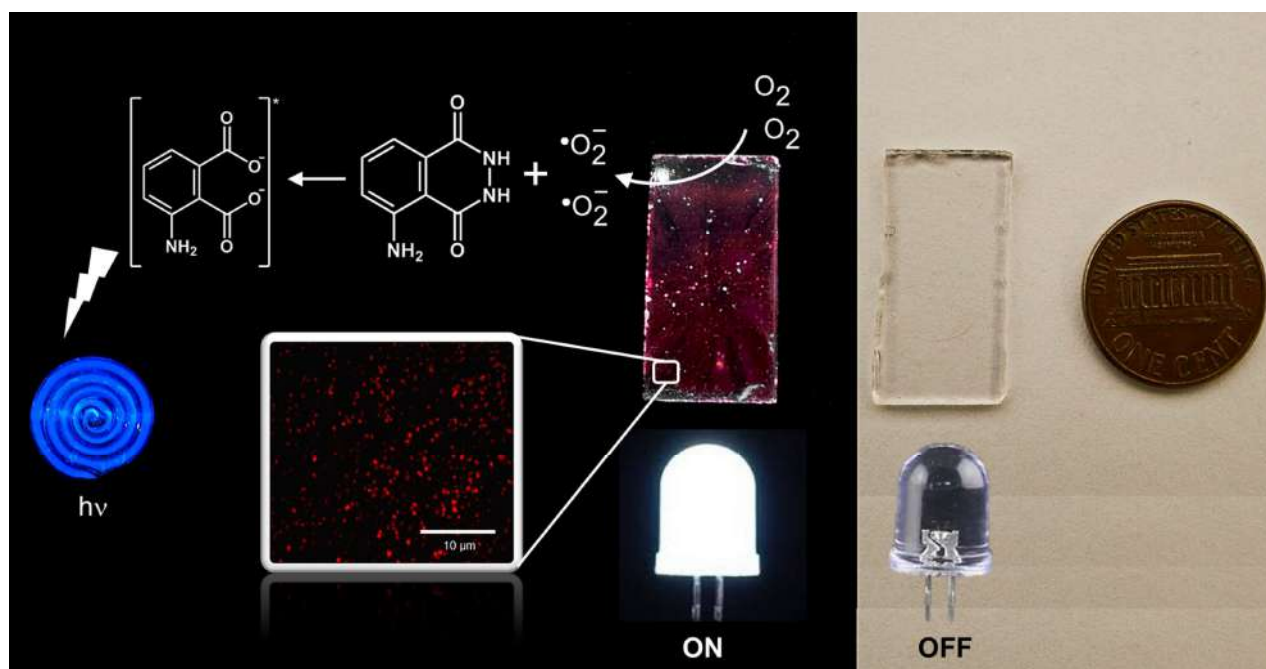
Amostras	Concentração nominal	Concentração encontrada (mg L ⁻¹)	
		Método proposto	FAAS
1	70	77,30 ± 0,04	79 ± 5
2	117	109 ± 3	107 ± 5
3	40	39,2 ± 0,5	43 ± 2
4	107	99 ± 6	102 ± 3
5	117	113 ± 2	114 ± 2

II. 4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos podemos concluir que uma nova metodologia para determinação de Cr(III) em suplemento vitamínico foi desenvolvida com base na supressão da fluorescência dos *quantum dots* CdSe-TGA. A metodologia proposta apresentou sensibilidade para a determinação de Cr(III) (limite de detecção de 5,67 ng L⁻¹), precisão e exatidão nos resultados, quando comparado ao método de referência. A síntese do *quantum dots* foi realizada em meio aquoso e sem utilização de agentes redutores para obtenção de íons Se²⁻, tornando-se assim uma metodologia de fácil aplicação e com características de “química verde”.

GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO POR FOTOINDUÇÃO COM EMPREGO DE *QUANTUM DOTS*, CdTe-AMP, IMOBILIZADOS EM FILMES DE SÍLICA.

Figura 14. Geração de radicais $O_2^{\cdot-}$ por quantum dots tipo CdTe-AMP immobilizados em filmes de sílica.



de Souza, G. C. S.; Ribeiro, D. S. M.; Rodrigues, S. S. M.; Paim, A. P. S.; Lavorante, André F.; da Silva, V. L.; Santos, J. L. M.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. M. Clean photoinduced generation of free reactive oxygen species by silica films embedded with AMP-CdTe quantum dots. *RSC Adv.*, v.6.n.11.p.8563-8571,2016.

III 1.1. GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO USANDO QUANTUM DOTS

Espécies reativas de oxigênio (ERO) (*do inglês, Reactive oxygen species, e sua sigla correspondente, ROS*) são moléculas altamente reativas que podem ser produzidas por meio da redução parcial do oxigênio molecular (O_2) (ADEGOKE; FORBES, 2015). ERO têm uma função crucial no metabolismo de seres vivos aeróbicos, pois tais moléculas desempenham o papel de sinalização celular, que pode ser definida como o processo bioquímico de células de perceberem e corretamente responder a estímulos próprios de seu microambiente celular. Exemplos de ERO incluem o oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o radical hidroxil ($^{\cdot}OH$), além do ácido hipocloroso (HClO). Apesar de ter um papel essencial para os seres vivos aeróbicos, a superprodução de ERO está associada ao desenvolvimento de doenças associado ao envelhecimento, tais como doenças neurodegenerativas, câncer, artrite, aterosclerose, entre outros estresses oxidativos (HUIE; NETA, 2002).

O desenvolvimento em larga escala de nanomateriais tais como: nanotubos de carbono, fulerenos, *quantum dots* (QDs) e *carbon dots*, entre outros, assim como seu emprego em seres vivos, *in vivo*, bem como em análises ambientais tem despertado interesse para estudos do grau de toxicidade desses materiais (COLVIN, 2003). Nanopartículas semicondutoras coloidais, como *quantum dots* (QDs), têm apresentado um considerável interesse para geração de ERO, por causa de suas propriedades físico-químicas, como por exemplo: altos rendimentos quânticos, uma boa fotoestabilidade e por apresentar um espectro de emissão molecular estreito, em comparação com fluoróforos convencionais. Além dessas propriedades, os QDs podem ser obtidos em uma gama de comprimentos de onda (do visível ao infravermelho), dependendo do tamanho de partícula, devido à propriedade de confinamento quântico que esses nanomateriais apresentam (CALLAN; RAYMO, 1998).

Estudos iniciais sobre a possibilidade de geração de ERO com o emprego de *quantum dots*, decorreram do fato das nanopartículas

apresentarem uma citotoxicidade considerável. Um dos primeiros trabalhos desenvolvidos nessa área foi realizado por Hoshino *et al.*, o qual empregaram QDs tipo *core-shell* de ZnS/CdSe, ou seja, nanopartículas com um núcleo constituído de CdSe (seleneto de zinco) com uma camada de ZnS e com o uso dos estabilizantes, ácido mercaptundecanóico, cisteamina e tioglicerol (HOSHINO *et al.*, 2004). Neste trabalho foi demonstrado que a toxicidade dos QDs é devido aos estabilizantes e não ao *core*, ou seja, o núcleo metálico da nanopartícula. Porém, os autores não apresentaram uma discussão abrangente sobre a real possibilidade do mecanismo de toxicidade. Posteriormente, Derfus *et al.* relataram a citotoxicidade dos QDs CdSe e CdSe/ZnS por apresentarem liberação de íons Cd^{2+} em hepatócitos, células encontradas no fígado humano (DERFUS; CHAN; BHATIA, 2004). Esses estudos conduzidos por Derfus *et al.* foram realizados *in vitro*, pois os autores afirmam que íons Cd^{2+} podem se ligar a grupos tióis das proteínas mitocondriais, desta forma induzindo a ocorrência de lesão hepática. Quando grupos tióis de proteínas são desativados leva-se ao estresse oxidativo e, conseqüentemente, a disfunção mitocondrial. Ainda neste trabalho os autores sintetizaram o QDs CdSe/ZnS, pois o *core* composto por Cd, estaria protegido por uma camada (*shell*) de ZnS, minimizando assim a liberação de íons Cd^{2+} . Os autores relatam uma diminuição substancial da liberação de íons Cd^{2+} no meio celular, mas não uma diminuição significativa da citotoxicidade dos *quantum dots* CdSe/ZnS.

Terapia fotodinâmica é o tratamento que utiliza um quimioterápico, também chamado de agente de fotossensibilização. Esse agente tem sua ação desencadeada, quando é exposta a radiação eletromagnética na região do visível ou ultravioleta. As espécies oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e o radical hidroxil ($^{\cdot}\text{OH}$) são quimicamente ativas contra células cancerígenas, porém não possuem boa seletividade (ROBERTSON; EVANS; ABRAHAMSE, 2009). O uso da terapia fotodinâmica como uma terapia contra o câncer é, particularmente, atrativo. Devido a sua seletividade, pois os agentes de fotossensibilização atuam numa área restrita do tecido afetado do paciente, quando a luz é focada diretamente

sobre a lesão. A terapia fotodinâmica, empregando agentes de fotossensibilização, para geração de ERO, resulta em destruição celular bastante eficaz de células cancerígenas. Um estudo conduzido por Bakalova *et al.*, propõe o emprego de *quantum dots* (QDs) bioconjugados afim de serem utilizados como possível tratamento fototerápico contra o câncer. Os autores utilizaram o anti-corpo CD-90, como um marcador para câncer do fígado humano e o bioconjugaram com o *quantum dot* CdSe passivado com ácido dimercaptossuccínico (HAN *et al.*, 2013). Bakalova *et al.*, constataram a geração de ERO quando o QDs de CdSe foi irradiado com radiação eletromagnética na região do ultravioleta. Os resultados apresentaram respostas positivas em ensaios bioquímicos realizados com células, sugerindo que QDs tem um potencial para geração de oxigênio singleto (BAKALOVA *et al.*, 2004).

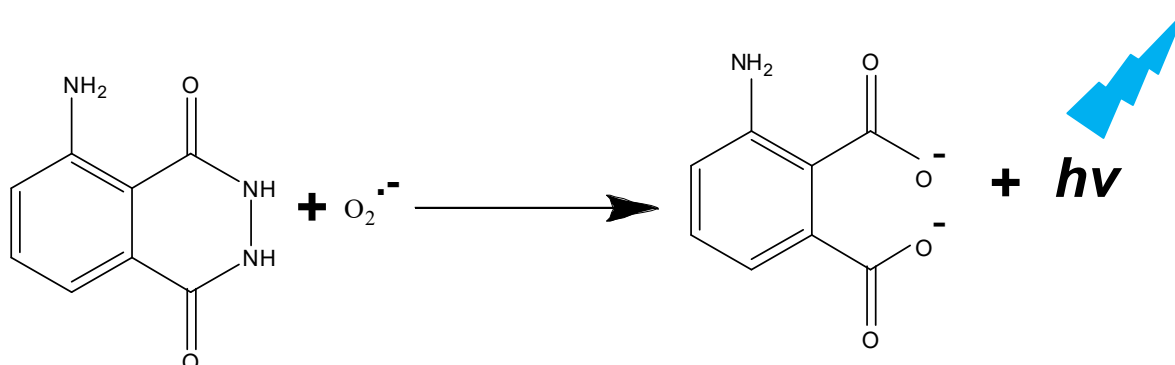
Ipe *et al.* (IPE; LEHNIG; NIEMEYER, 2005) reportaram um estudo sistemático sobre a geração de radicais em solução aquosa por fotoirradiação de QDs CdS, CdSe e CdSe/ZnS (*core/shell*) passivados com ácido tioglicólico. Os autores empregaram a técnica de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR, *electron paramagnetic resonance*). Essa técnica é amplamente utilizada para realização de estudos com a finalidade de identificar espécies químicas que apresentem elétrons desemparelhados. Os autores observaram sinais relativos à geração de duas espécies diferentes de radicais o O_2^* e o $^*OH^-$. Esse estudo confirmou a presença majoritária do ânion radical superóxido, O_2^{*-} . Um ensaio fluorimétrico foi empregado para corroborar os resultados obtidos com EPR, que consistiu na irradiação de QDs por radiação ultravioleta, na presença da enzima superóxido dismutase (SOD), que converte ânion radical superóxido, O_2^{*-} , a moléculas de H_2O_2 e O_2 . Segundo os autores, quando irradiado o *quantum dot* origina uma lacuna quântica na sua estrutura cristalina, essa lacuna tem como nome *electron-hole* (do inglês elétron-buraco). O *band gap* CdS e CdSe QDs são aproximadamente igual a 3,0 e 2,2 eV, respectivamente. O potencial redox da banda de condução CdS CdSe QDs é 0,4 e 0,1 eV, respectivamente. O potencial redox da reação $O_2 \rightarrow O_2^{*-}$ é 0,15 eV. Numa solução aquosa espécies químicas como O_2 e OH^-

estão presentes, pois o O_2 atmosférico dissolve-se facilmente em soluções aquosas. O OH^- está presente por causa da autoionização da água, que apesar de ser pequena precisa ser considerada. Portanto, não se observou o radical superóxido, $O_2^{\bullet-}$, produzido a partir do CdS, mas sim a sua produção com o CdS QDs. Este resultado está de acordo com os valores dos potenciais redox, porque o poder de redução do potencial de banda de condução do CdSe (-0,1 eV) é insuficiente para reduzir o O_2 (-0,15 eV).

III.1.2. DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS BASEADOS NA GERAÇÃO DE ERO

Metodologias analíticas, que se utilizaram das propriedades de geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) são pouco exploradas. O primeiro trabalho que relata o emprego de ERO em química analítica foi reportado por Silvestre *et al.* onde empregou-se QDs CdTe passivado com ácido mercaptopropiônico (SILVESTRE *et al.*, 2011) para promover a fotocatalise de vários compostos orgânicos, após irradiação com luz ultravioleta para a determinação da demanda química de oxigênio (DQO). O objetivo dessa determinação é avaliar a qualidade da água disponível para consumo ou para outras finalidades servindo também como parâmetro para avaliar as de um ecossistema. O procedimento foi aplicado para a determinação de DQO em amostras de referências certificadas de águas residuais. A determinação de DQO é baseada na reação redox do luminol, 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona, com o radical superóxido $O_2^{\bullet-}$, sendo previamente gerado pelo QDs CdTe-AMP em meio básico, produzindo uma reação com resposta quimioluminescente, em 445 nm, conforme mostra a Figura 15. Em seguida, a solução padrão ou a amostra real de DQO é adicionada, produzindo uma supressão do sinal de quimioluminescente gerado anteriormente. Para manipulação de reagentes e soluções foram empregadas minibombas solenoides, estabelecendo um gerenciamento independente de soluções e resultando na automação da metodologia analítica (MELCHERT; REIS; ROCHA, 2012).

Figura 15. A oxidação do luminol pelo radical superóxido em meio alcalino, produzindo 3-aminofталato, em que emite radiação eletromagnética na região do visível.



A metodologia proposta permitiu a determinação das concentrações de DQO entre 1-35 mg L⁻¹, com uma boa precisão (desvio padrão relativo menor que, 1,1%, n = 3) e uma frequência de amostragem de cerca de 33 h⁻¹. Um sistema de análise em fluxo, baseado no conceito de análise em fluxo por simples interface (do inglês, *single interface flow analysis*, SIFA) foi montado para realização da determinação de DQO (SILVESTRE et al., 2008). Segundo Silvestre *et al.*, medidas de quimiluminescência têm características inerentes a mesma, por exemplo: amplas faixas lineares de resposta, cinéticas de reação rápidas e uma excelente sensibilidade. Dessa maneira, fez-se necessário à implementação de um sistema de análise em fluxo, baseado no conceito de SIFA, para um controle eficaz das variáveis físicas, visando uma fácil manipulação de amostra e reagentes no sistema, bem como sinais analíticos altamente reprodutíveis. Um estudo interessante, realizado neste trabalho, é a influência da concentração de *quantum dots* na geração de ERO, assim como o tamanho dos QDs de CdTe-AMP. Segundo os autores essas duas variáveis são cruciais na geração de radicais, pois influenciam substancialmente na sensibilidade do sistema analítico. A concentração das QDs em solução foi estudada entre 4,2 x 10⁻⁶ e 4,2 x 10⁻⁷ mol L⁻¹. Observou-se que, um aumento do sinal do branco analítico com o aumento da concentração QDs, até 5,6 x 10⁻⁷ mol L⁻¹ fazendo com que essa concentração fosse escolhida. Quanto ao tamanho dos QDs, Silvestre *et al.*, afirma que QDs com tamanho maior, especificamente de tamanho 3,1 nm, podem ter uma facilidade em gerar espécies reativas de oxigênio, por causa do menor *gap* necessário para

promover um elétron da banda de valência para a de condução, em um *quantum dot*. Dessa forma, facilitando de uma formação de uma vacância entre as bandas de valência e condução.

Hemmateenejad *et al.*, desenvolveram um novo ensaio para atividade antioxidante (HEMMATEENEJAD *et al.*, 2012). Neste trabalho os autores utilizaram *quantum dots* CdTe passivado com L-cisteína. Uma nova metodologia foi estabelecida, baseada na geração de espécies reativas de oxigênio pela exposição de CdTe sob radiação ultravioleta a 254 nm. Os autores sugerem o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) ser a espécie química gerada pelo CdTe. A prova desse argumento vem do fato da azida sódica, NaN_3 , quando adicionada a uma solução de CdTe, provoca supressão de $^1\text{O}_2$. Logo, diminuindo a quantidade da espécie $^1\text{O}_2$. Portanto, neste trabalho foi estudado o efeito de seis antioxidantes, compostos polifenólicos como: quercetina, ácido tânico, ácido caféico, ácido gálico, naringina e trolox, com o auxílio de CdTe QDs.

Ribeiro *et al.* propuseram a utilização de luz visível gerada pela utilização de LEDs (do inglês, *light emission diode*) para gerar radicais (RIBEIRO *et al.*, 2012). Os autores argumentam que a radiação eletromagnética visível gerada pelo LED era mais do que suficiente para desencadear o processo de geração de radicais, dispensando, assim o uso de lâmpadas ultravioleta, que haviam sido utilizadas nos trabalhos anteriormente citados (HEMMATEENEJAD *et al.*, 2012; SILVESTRE *et al.*, 2011). A radiação ultravioleta em termos de manipulação da radiação gerada é mais prejudicial para desenvolvimento de metodologias analíticas para o operador, como também pode provocar uma variação da temperatura do meio, onde os *quantum dots* estão presentes, trazendo problemas na reprodução de dados analíticos. No trabalho reportado por Ribeiro *et al.*, foi desenvolvido um sistema de análise em fluxo baseado no conceito de multicomutação, visando um melhor controle das variáveis físico-químicas do sistema, assim como uma diminuição na geração de efluentes pelo sistema. Essa metodologia foi empregada para a determinação de epinefrina em formulações farmacêuticas. A faixa linear de $1,14 \times 10^{-7}$ - $2,28 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de epinefrina ($r = 0,9953$; $n =$

5) foi alcançada. A frequência analítica foi de cerca de 79 determinações por hora. Um limite de detecção estimado em $8,69 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Sasaki *et al.* desenvolveram um trabalho com objetivo de combinar as características favoráveis da técnica de quimiluminescência e o conceito de multicomutação em fluxo, para a determinação de ácido ascórbico em formulações farmacêuticas (SASAKI *et al.*, 2014). Foram empregados *quantum dots* CdTe passivado com L-glutathione reduzida, para geração do ânion radical superóxido $\text{O}_2^{\bullet-}$. Dessa maneira, esse radical oxidava o luminol e formava um estado de transição instável, em termos de energia. Esse estado emite radiação eletromagnética na região do visível, em 445 nm. O ácido ascórbico é uma molécula química com propriedades antioxidantes, sendo que esse pode inibir a reação de oxidação entre o ânion radical superóxido $\text{O}_2^{\bullet-}$ e luminol. Neste trabalho, obteve-se uma faixa linear de trabalho entre $5,0 \times 10^{-7}$ - $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0,9967$, $n = 5$), um limite de detecção de $3,05 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e uma frequência analítica de 200 determinações por hora.

Rodrigues *et al.* desenvolveram uma metodologia analítica para a determinação da capacidade antioxidante em amostras de alimentos, por radiação eletromagnética visível, utilizando como fonte de radiação visível um LED e a multicomutação em fluxo para automação da metodologia analítica. (RODRIGUES *et al.*, 2015). Neste trabalho, *quantum dots* de CdTe passivados com L-glutathione geraram o radical superóxido, $\text{O}_2^{\bullet-}$, que reage com o luminol, gerando assim um sinal analítico quimiluminescente. Desse modo, obtiveram uma resposta linear entre 0,0001 e 0,005 mmol L^{-1} de Trolox e limite de detecção estimado em 0,00005 mmol L^{-1} . A metodologia permitiu uma frequência analítica de 79 h^{-1} . O Trolox, ou o ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, é amplamente utilizado para medir a capacidade antioxidante de substâncias. Os autores propuseram uma hipótese acerca da natureza da geração de radicais por QDs CdTe considerando que o tamanho de QDs CdTe de 3,4 nm e sabendo-se que o potencial redox (PR) da banda de condução, assim como o valor para a banda de valência e o potencial redox para *gap* entre essas duas últimas bandas são 1,21 V, 0,91 V e 2,12 V, respectivamente, adotando o eletrodo de hidrogênio como referência,

Rodrigues *et al.* argumentam então, ser necessário um potencial acima de 1,8 V, para oxidar o H_2O a $^*\text{OH}^-$ ($E_{(\text{OH}^- \rightarrow ^*\text{OH})} = -2,8 \text{ V}$), assim, concluem que o único radical formado seria o superóxido $\text{O}_2^{\cdot-}$ ($E_{(\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2^{\cdot-})} = -0,33 \text{ V}$).

Santana *et al.* relataram um novo método para determinação de persulfato baseado na quimiluminescência, causada pela oxidação do luminol (SANTANA *et al.*, 2015). Um sistema em fluxo foi desenvolvido para automação do procedimento analítico proposto nesse trabalho. Os autores promovem a decomposição do íon persulfato $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, a fim de produzir radicais livres de sulfato, $\text{SO}_4^{\cdot-}$. Os autores argumentam que, dependendo do tamanho, QDs CdTe-AMP possuem um *gap* de energia entre a banda de valência e de condução entre 1,8 a 2,4 eV. Nesse trabalho, os autores concluem que a banda de valência e de condução possuem valores de potencial redox de +0,94 e de -1,3 V, respectivamente. Dessa maneira, os QDs são potencialmente eficazes para reduzir O_2 e para oxidar moléculas de H_2O para produzir ERO. Com esse método foi possível estabelecer uma frequência analítica de 60 determinações por hora, uma faixa de linear de resposta foi estabelecida entre 0,1 e 1 mmol L^{-1} e um limite de detecção de 2,7 mmol L^{-1} foi estabelecido.

III.1.3. PROCESSO SOL-GEL NA IMOBILIZAÇÃO DE QUANTUM DOTS

O processo sol-gel tem ganhado importância na ciência, bem como na indústria durante os últimos 30 anos. Este é um método interessante para a síntese de materiais poliméricos com a finalidade de obtenção de filmes com espessura na escala de micrometros. Esse processo permite preparar filmes com superfícies lisas e homogêneas (CIRIMINNA *et al.*, 2013). Nesse processo químico, no qual nanopartículas sólidas, entre 1-100 nm de tamanho, aglomeram-se conjuntamente para formar uma rede tridimensional contínua. As reações baseadas no processo sol-gel que empregam agentes sililantes, também chamados de compostos de organosilício, os quais contêm ligações covalentes entre os átomos de carbono e silício, processam-se por meio da hidrólise dos grupos dos alcóxidos para formação da rede de sílica como descrito pela equação 8.



O segundo passo desse processo consiste na formação do sol, onde ocorre a reação de condensação do grupo $\equiv\text{SiOH}$, o qual forma a ligação $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$ e, simultaneamente, elimina-se moléculas de H_2O no processo de polimerização formando-se o estado de gel, conforme a equação 9 (CIRIMINNA et al., 2013; SINGH et al., 2014)



O processo sol-gel de fabricação de filmes finos oferece vantagens potenciais sobre técnicas tradicionais tais como, deposição química em fase vapor, evaporação em vácuo e deposição física de vapor. Se for considerado o processo de deposição do substrato sobre um suporte sólido visando à obtenção de filmes, algumas vantagens podem ser citadas como: o desenvolvimento de deposição ocorre à baixa temperatura; é possível controlar a espessura, com obtenção de filmes finos; e a possibilidade de fabricação de filmes transparentes. Além disso, o processo sol-gel para obtenção de filmes apresenta um custo menor em termos de equipamento, quando consideradas as técnicas convencionais (ATTIA et al., 2002; JANI; DUAN, 2015).

Com relação aos *quantum dots*, a fim de se preservar as propriedades físico-químicas e luminescentes, bem como reduzir a citotoxicidade dos mesmos, algumas metodologias têm sido descritas para efetuar a imobilização de tais nanopartículas fluorescentes (BERA et al., 2008; KORALA et al., 2013; MASHFORD et al., 2011; PASSOS et al., 2014; ZHANG; YANG; MURASE, 2013). Entretanto, uma das metodologias mais amplamente estudada, a fim de efetuar a imobilização de *quantum dots*, tem sido o processo sol-gel. A imobilização de *quantum dots* em matriz de sílica, produzida pelo processo sol-gel, oferece vantagens como a estabilidade contra ambientes oxidantes e proteção contra a radiação ultravioleta fornecendo fotoestabilidade aos *quantum dots* presentes. Contudo, alguns procedimentos relatados na literatura têm apresentado dificuldades na imobilização das nanopartículas coloidais semicondutoras.

Alguns autores têm relatado que QDs quando disperso na fase sol podem agregar-se e assim perderem suas propriedades fotoluminescentes (MASHFORD et al., 2011). A principal vantagem de imobilização de *quantum dots* via processo sol-gel é a possibilidade de obtenção de vidros fluorescentes a baixa temperatura, conservando assim uma das principais características dessas nanopartícula, a luminescência e a fotoestabilidade. Além disso, a tecnologia para o desenvolvimento de filmes por esse processo permite a incorporação de nanopartículas com a produção de filmes com controle de espessura, evitando ainda o crescimento, agregação e oxidação dos QDs, o que o torna muito atrativo para essa finalidade. A grande maioria dos procedimentos para imobilização de QDs em estruturas de sílica pelo processo sol-gel emprega *quantum dots* com agentes estabilizante es hidrofóbicos (BERA et al., 2008; CHENG et al., 2014; DARBANDI; THOMANN; NANN, 2005; GERION et al., 2001; SASHCHUUK et al., 2002; SELVAN et al., 2001; SPANHEL et al., 1987; YANG, 2012). Procedimentos que envolvem QDs com agentes estabilizante hidrofílicos são também relatados na literatura (LI; ANDO; MURASE, 2004a, 2004b; LI; MURASE, 2004; SUN et al., 2015; YANG; LI; MURASE, 2005; ZHANG; YANG; MURASE, 2013). A imobilização de *quantum dots* em uma superfície sólida pode ser uma forma alternativa para assegurar a sua reutilização contínua, visando futuras aplicações em química analítica. Portanto, a sua imobilização pode levar a uma utilização racional dos mesmo, pois se evita assim o aumento da geração de efluentes, quando da utilização dessas nanopartículas em procedimentos de análise química. Um ponto básico sobre metodologia de imobilização de QDs é a preservação de suas propriedades ótica e reatividade química. Portanto, como a presente metodologia demonstrou ser eficaz na preservação das propriedades óticas dos QDs, desse modo se fez necessário demonstrar a reatividade química do CdTe-AMP QDs imobilizado em sílica.

No presente trabalho será apresentada a imobilização do *quantum dot* CdTe-AMP em matriz de sílica por uma via simples e com objetivo da produção de filmes com o agente sililante TMOS pelo processo sol-gel em condições de catálise ácida. Com a metodologia aqui apresentada, foi possível produzir espécies reativas de oxigênio (ERO) por meio da irradiação do material com radiação eletromagnética na região do visível. A detecção das ERO foi realizada com emprego do reagente luminol, o qual foi oxidado e gerou um sinal de quimioluminescência.

III.2. MATERIAL E MÉTODO

III.2.1. MATERIAL

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) e com reagentes de alto grau analítico. Os reagentes listados a seguir foram adquiridos da Sigma–Aldrich®: etanol absoluto (CH_3O , 99,8%), 3-aminopropiltrietoxissilano, ($\text{C}_9\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{Si}$, 3-APTS), cristal violeta ($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{Cl}$, CV, 90%), cloreto de cádmio (CdCl_2 , 99%), ácido 3-mercaptopropiônico (AMP, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2\text{S}$, 99%), metanol (CH_3O , 99,8%), ácido nítrico (HNO_3 , 70%), telúrio em pó (Te^0 , 200 mesh, 99,8%), tetraetilortosilicato (TEOS, 98%, $\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Si}$), tetrametilortosilicato (TMOS, 98%, $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{O}_4\text{Si}$), triton™ X-100, borohidreto de sódio (NaBH_4 , 99%), luminol, 5-amino-2,3-di-hidro-1,4-fitalazinadiona ($\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$, 99%), e hidróxido de sódio (NaOH , 99%).

Uma solução estoque de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 4,00 g do reagente em 100 mL de água deionizada. Uma solução estoque de luminol $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 177,1 mg do reagente em 100 mL de água a qual foi mantida sob temperatura de 4°C e protegida da luz ambiente. Todas as soluções de trabalho foram preparadas por simples diluição das soluções estoque.

No procedimento de síntese dos QDs e confecção e caracterização dos filmes empregou-se uma centrífuga refrigerada ThermoElectron Jouan BR4I (Waltham MA, USA); uma bomba peristáltica (Ismatec®) com tubos de Tygon®, para transferência da solução de NAHTE; spin coater Laurell WS-650-23B para obtenção de filmes de sílica obtido pelo processo sol-gel; um leitor de microplaca multi-mode reader (Cytation 3, BIO-TEK), acoplado com um fluorímetro, para otimização do processo sol-gel; e espectrofotômetro de duplo feixe V-660 (Easton, MD, USA) para aquisição de espectros de absorção dos *quantum dots* dispersos em água. Um espectrofotômetro de duplo feixe V-660 (Easton, MD, USA) foi usado para aquisição de espectros de absorção dos *quantum dots* dispersos em água. Espectrofluorímetro modelo Fluorolog Tau-3 Lifetime (Horiba Jobin Yvon, NJ, USA) foi empregado para adquirir espectros

de emissão, assim como para medir os tempos de meia vida, utilizando a modulação de frequência, o Ludox foi usado como solução de referência ($\tau = 0.00$ ns). Para as medidas de rendimento quântico absoluto um espectrofluorímetro Hamamatsu modelo Quantaurus QY C11347-11 contendo uma esfera de integração foi usado. A morfologia e tamanho das nanopartículas foram investigadas por meio de um microscópio de transmissão eletrônica de alta resolução JEOL JEM 3010 (Tokyo, Japan), que foi operado com uma aceleração de 300 eV de voltagem. A morfologia dos filmes de sílica formados foi estudada com o emprego de um microscópio eletrônico de varredura ambiental MEV/EDS Quanta 400 FEG ESEM / EDAX Genesis X4M, e com auxílio da espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS) foi realizada a caracterização quanto à composição dos filmes de sílica. Um microscópio de fluorescência Tecnai-20 (Philips-FEI) composto por um epifluorescence microscópio (Eclipse TE300, Nikon), Policrome II monocromador (TILL Photonics, Martinsried, Germany) e uma câmera CCD (C6790; Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan) foi utilizado para gerar imagens de fluorescência.

Um sistema em fluxo baseado no conceito de multicomutação empregando minibombas solenoides, modelo 120SP (Bio-Chem Valve Inc. Boonton, NJ, USA) e tubos de polietileno de 0,8 mm (d.i.= diâmetro interno) foram utilizados, visando uma maior sensibilidade de detecção e uma alta eficiência na geração de ERO. Os dispositivos de bombeamento apresentam uma capacidade de bombeamento de 10 μ L por pulso. Como detector foi empregado um quimioluminômetro modelo CL-2027 (Jasco, Easton, MD, USA) composto por uma cela de quimioluminescência em formato helicoidal de politetrafluoretileno com diâmetro interno de 0,8 mm e volume 100 μ L. Também foi desenvolvido um programa escrito em linguagem *LABVIEW 8.5* para aquisição de dados e controle das minibombas, assim como, uma interface eletrônica foi confeccionada em laboratório usando o circuito integrado ULN2803A, operando com 12 V, o qual estava acoplado a uma interface USB6009, (*National instruments*) para o controle e acionamento das minibombas. Uma coluna foi confeccionada em Perspex com 40 mm de

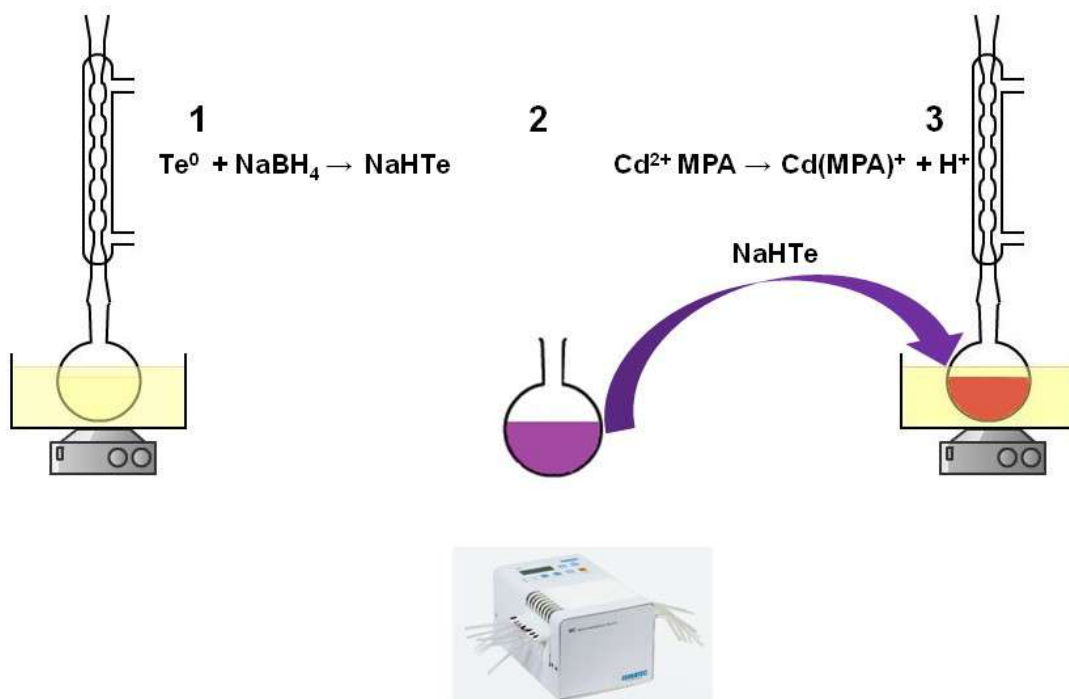
comprimento e 2,5 mm de diâmetro interno para ser posicionado o filme SiO_2 com o *quantum dot* CdTe-AMP imobilizado. A coluna foi colocada em frente a uma lâmpada de LED, modelo Parathorm R50 40 daylight, com 6 W de potência emitindo luz branca com um fluxo luminoso de 240 lumen. Uma lã de algodão foi colocada na extremidade final da coluna para evitar a perda de sílica por lixiviação. Em função do tempo de vida das ERO, o sinal de quimioluminescência tem tempo meia vida curto assim, o tamanho do caminho analítico entre o ponto de confluência X e detector D foi fixado em 3 cm, menor comprimento possível, de acordo com a montagem do sistema proposto.

III.2.2. MÉTODO

III.2.2.1. Síntese do CdTe-AMP *quantum dot*

A relação molar de Cd^{2+} : Te^{2-} : AMP foi fixada na seguinte razão molar 1:0,05:1,7, respectivamente, para a síntese do *quantum dot* CdTe com o agente estabilizante AMP, conforme descrita por Zou et al. (2008). Esse procedimento sintético esta resumido na Figura 16.

Figura 16 Procedimento para obtenção do quantum dot CdTe-AMP.

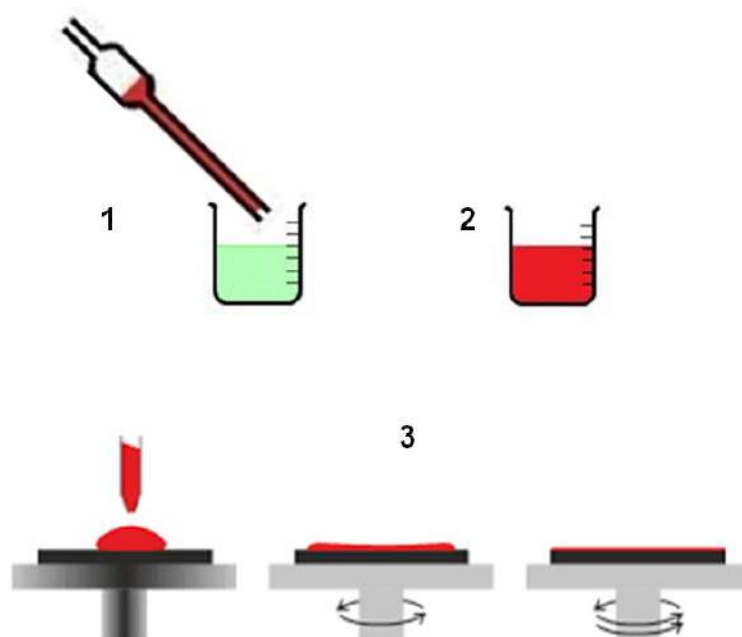


A etapa 1 consiste na completa redução de $2,99 \times 10^{-4}$ mol de Te^0 com $4,7 \times 10^{-3}$ mol de NaBH_4 em atmosfera de N_2 em 15 mL de água destilada. Para a redução total do Te^0 e NaOH , consequentemente, a produção da espécie NaHTe , a mistura $\text{Te}^0 / \text{NaBH}_4$ foi mantida sob agitação e refluxo a 85°C , durante 30 min. A solução resultante da etapa 1 possui uma coloração roxa, devido a espécie NaHTe . A solução foi então transferida (etapa 2) com o auxílio de uma bomba peristáltica para um balão de reação sob refluxo (etapa 3) contendo $6,59 \times 10^{-3}$ mol de CdCl_2 e $1,02 \times 10^{-2}$ mol de AMP em 120 mL de água destilada sob atmosfera de N_2 e pH 11,5. A solução teve seu pH ajustado para 11,5 com uma solução de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, para a formação do complexo $\text{Cd}(\text{AMP})^+$. Com adição de NaHTe , tempo de refluxo de 1h e temperatura de 100°C , a mistura da etapa 3 adquiriu uma coloração vermelho rubi. Posteriormente, a suspensão foi precipitada em etanol absoluto e, subsequentemente, separada por centrifugação, seca com o auxílio de dessecador contendo sílica, obtendo assim, as nanopartículas de QDs de CdTe-AMP .

III.2.2.2. Fabricação de filmes de sílica luminescente por *spin coater*

O sol-gel SiO_2 foi preparado misturando-se 2 mL de TMOS, 2 mL de Triton™ X-100, 8 mL de metanol e 1 mL de HNO_3 (1 mol L^{-1}). A mistura foi colocada em um becker de Teflon® de 50 mL protegido por um vidro de relógio. A mistura foi agitada vigorosamente por 10 h com o auxílio de um agitador magnético.

Cerca de 200 mg de CdTe-AMP *quantum dot* foi disperso em 3 mL de uma solução iônica contendo $\text{Cd}^{2+}/\text{AMP}$, pH 10, na relação molar 1:3 ($\text{Cd}^{2+}:\text{AMP}$), conforme descrita por Yang; Murase (2010). Para produção de filmes luminescentes empregou-se a técnica de “spin coater” (ATTIA et al., 2002).

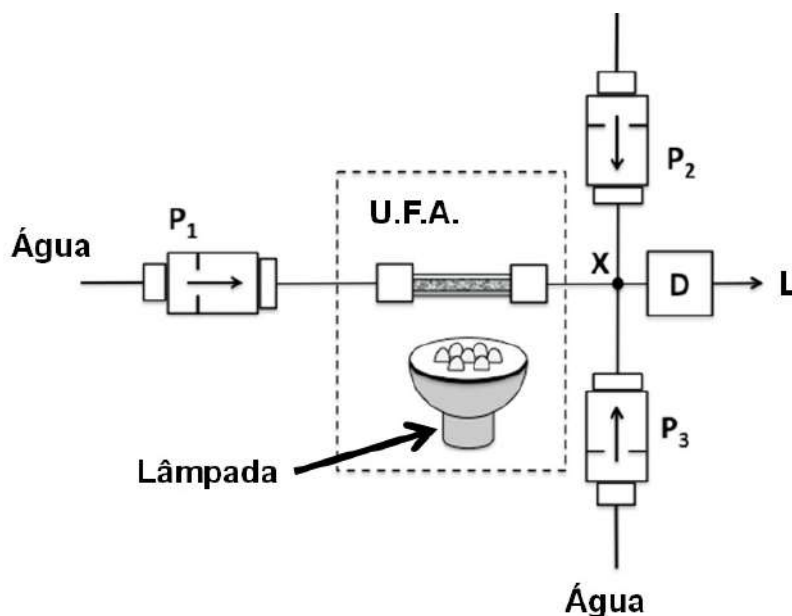
Figura 17. Procedimento para preparação de filmes luminescente por spin coater

Na Figura 17, acima, é apresentado, em resumo, as etapas de confecção dos filmes propostos. Na etapa 1, 3 mL de solução CdTe-AMP é disperso no sol-gel de SiO₂, preparado anteriormente, e agitado vigorosamente por 10 min. Na etapa 2 o sol-gel adquire uma coloração vermelha e uma textura de gel, com forte intensidade de luminescência. Para obtenção dos filmes de sílica luminescentes, se realizou a deposição do sol-gel sobre pedaços de vidro, tipo soda lima. Para maximizar o processo de deposição, a superfície do vidro teve seus grupos silanóis ativados pela imersão desses em uma solução de HNO₃, HNO₃/água 1:1 (v:v), por 24 h. Depois o vidro foi lavado com água deionizada, acetona e seco numa estufa por 30 min a 100 °C. A formação do filme consistiu no recobrimento da superfície do vidro pelo material (etapa 3), onde 1,0 mL do xerogel luminescente foi colocado no equipamento de spin coater, assim como o pedaço de vidro. Parâmetros como velocidade de injeção do material e frequência angular, ou seja, rotações por minuto (r.p.m.), foram otimizados preventivamente. Para a deposição do xerogel na superfície vítrea realizou-se a injeção do mesmo, a qual durou cerca de 1 s a 500 r.p.m.. Posteriormente houve um aumento para 2500 por 2 min, a fim de se obter um filme com uma distribuição de material homogênea. Os filmes formados foram secos a temperatura ambiente por 48 horas.

III.2.2.3. Sistema em fluxo multicomutado para geração e detecção de ERO

O diagrama em fluxo para a geração de espécies livres de oxigênio em fluxo por meio do *quantum dot*, CdTe-AMP, imobilizado em sílica foi baseado no conceito de multicomutação associado com as minibombas solenoide, como mostrado na Figura 18.

Figura 18. Diagrama do sistema em fluxo proposto para geração e detecção de ERO. P₁, P₂, P₃ são as minibombas; X, ponto de confluência; U.F.A., unidade de fotoativação, inserida dentro de uma caixa de policarbonato; D, detector quimioluminômetro; L, luminol a 0,50 mmol L⁻¹ em 25 mmol L⁻¹ de NaOH; Lâmpada LED, L, descarte.



O controle das variáveis do sistema proposto, número de ciclos amostragem, frequência de acionamento, número de pulsos das minibombas e tempo de aquisição dos dados foram realizados empregando um programa desenvolvido em linguagem Labview 8.5. Para a detecção empregou-se o quimioluminômetro, obtendo-se sinais transientes (volts versus tempo). As minibombas solenoide P₁, P₂ e P₃ foram acionadas com intervalo de tempo de 0,4 s, ou seja, uma vazão de 1,50 mL min⁻¹, que equivale a 2,5 Hz de frequência de acionamento. Inicialmente, todos os percursos analíticos foram

preenchidos com as soluções correspondentes, Figura 17. A sequência de acionamento das minibombas é apresentada na Tabela 6.

Tabela 6. Sequência de acionamento das minibombas.

Geração de ERO	Etapas	P₁	P₂	P₃	Pulsos	Ciclo
Preenchimento com os reagentes	1	1/0*	0*	0	15	-
	2	0	1/0*	0	15	-
	3	0	0	1/0*	15	-
Estabelecimento de linha de base	4	0	0	1/0*	15	-
Amostragem e detecção	5	1/0	0	0	15	1
		0	1/0	1/0	15	
	6	0	0	1/0	80	-

*O acionamento de uma minibomba solenoide é representado pelos códigos 0, no qual indica a desativação do dispositivo, e 1/0 indicando o acionamento da minibomba.

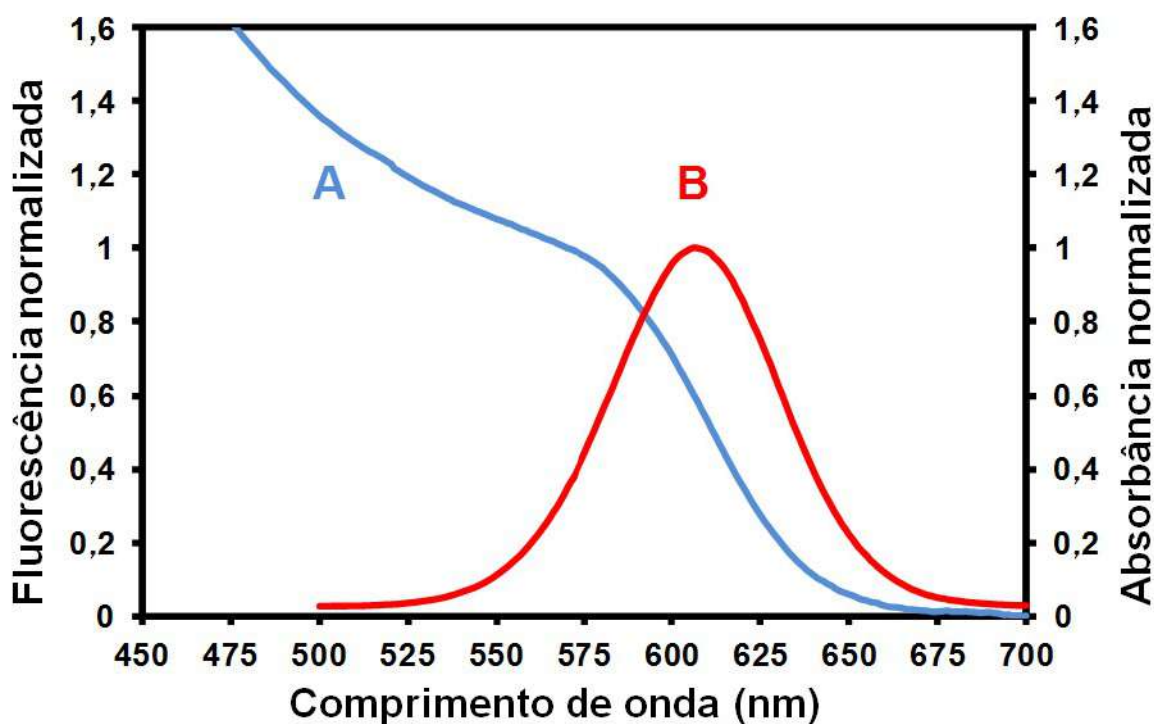
As etapas (1-3) correspondem ao preenchimento do sistema com reagente (luminol) e carregador (água) utilizando as minibombas P₁, P₂ e P₃, com 15 pulsos para cada minibomba ser preenchida com as respectivas soluções. A linha de base foi estabelecida pela ativação da minibomba P₃ (etapa 4). A geração de ERO tem início com acionamento da lâmpada de LED e ativação das minibombas P₁ por 6s (15 pulsos), e em seguida P₂ por igual período. Deste modo, a zona de amostragem composta por água (onde se gera a ERO) e luminol é transportada até o detector. Posteriormente, a limpeza do detector é realizada pelo acionamento da minibomba P₃ por 32 s (80 pulsos).

III.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

II.3.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO QUANTUM DOT CdTe-AMP

O tamanho do *quantum dot* é um aspecto importante, pois contribuem com suas principais características óticas, tais como altos rendimentos quânticos, assim como alto coeficiente de absortividade molar e um amplo espectro de absorção. Uma característica notória no espectro de absorção e emissão dessas nanopartículas está ligada ao regime de confinamento quântico, onde à medida que o tamanho *quantum dot* aumenta, seu *band gap* diminui, dessa forma o comprimento de onda de emissão e absorção sofrem desvios para a região do vermelho. O espectro de absorção e emissão de fluorescência normalizada do CdTe-AMP sintetizado é mostrado na Figura 19, abaixo.

Figura 19. Caracterização espectrométrica do CdTe-AMP. Linha A, espectro de absorção do CdTe-AMP, com absorção máxima em 587 nm. Linha B, espectro emissão de fluorescência, excitação 400 nm, emissão máxima, 606 nm.



Um alto rendimento quântico depende da minimização dos defeitos de superfície dos QDs. A geração de radicais com emprego de *quantum dot* tem se mostrado com melhor eficiência, quando se empregou QDs com *band gap* menor (RIBEIRO et al., 2012). Isso se deve ao fato de elétrons da banda de valência precisarem de menos energia para serem promovidos para banda de condução, dessa forma facilitando a formação de cargas positivas na banda de valência. Essas cargas são responsáveis pela reação redox com O₂ dissolvido na água gerando a espécie O₂^{•-}. Portanto, selecionou-se a proporção molar de 1:0,05:1,7 (Cd²⁺:Te²⁻:MPA), previamente estudada, permitindo assim a obtenção de QDs que emitem na região do vermelho do espectro visível, com 606 nm de emissão máxima, e rendimento quântico de 22% (RIBEIRO et al., 2012; SILVESTRE et al., 2011). Pode-se observar na linha A, Figura 18, um espectro de absorção amplo com o comprimento de onda de absorção máxima em 587 nm. O espectro de emissão de fluorescência, linha B, Figura 18, apresentou-se simétrico, com largura a meia altura (*do inglês, Full Width at Half Maximum, FWHM*) de 57 nm, e emissão máxima em 606 nm. A diferença de energia entre os dois máximos de comprimento de onda (absorção e emissão) pode levar a obtenção do *band gap* da nanopartícula, que foi calculado em 2,06 eV YU et al. (2003).

As características observadas nos espectros da Figura 19, indicam a obtenção de *quantum dots* monodispersos e homogêneos em termos de distribuição com relação ao tamanho. O tamanho médio dos QDs foi estimado de acordo com fórmula empírica proposta por YU et al. (2003):

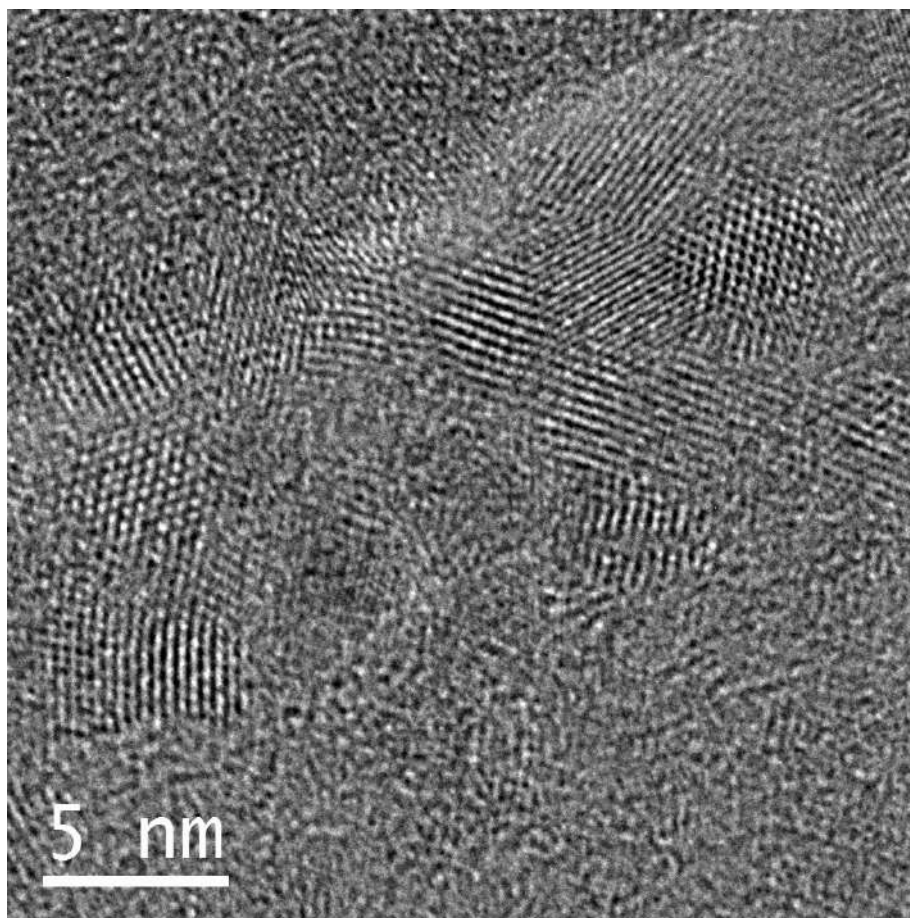
$$D = (9,8127 \times 10^{-7})\lambda^3 - (1,7147 \times 10^{-3})\lambda^2 + (1,0064)\lambda - (194,84) \quad \text{Eq. 10}$$

onde λ corresponde ao comprimento de onda para o máximo do espectro de absorção da nanopartícula. Aplicando-se a equação 10, o tamanho foi estimado em 3,5 nm.

Em seguida, foram realizadas imagens de microscopia de transmissão de alta resolução (*do inglês, high resolution transmission microscope, HRTEM*) do CdTe-AMP conforme mostrada, Figura 20. Pode-se observar nesta Figura, que os QDs apresentam um formato esférico, cujo tamanho das nanopartículas

mostrou uma distribuição com uma população majoritária de tamanho estimado em aproximadamente em 3,5 nm, estando de acordo com o que foi calculado pela fórmula de YU et al. (2003). Assim, as nanopartículas sintetizadas apresentaram propriedades adequadas para a sua imobilização em sílica, produzindo filmes fluorescentes.

Figura 20. Imagem do HRTEM obtida do CdTe-AMP *quantum dot*.



III.3.2. IMOBILIZAÇÃO DE QUANTUM DOTS CdTe-AMP IN SiO₂ E PRODUÇÃO DE FILMES

O xerogel é uma rede polimérica de silício obtida pelo processo sol-gel por evaporação normal da suspensão coloidal. A produção de xerogéis de sílica empregando o processo sol-gel tem vantagens significativas, tais como, a preparação do material à temperatura e pressão ambiente, bem com a sua

versatilidade para se produzir uma estrutura polimérica com uma espessura e porosidade desejados (JERONIMO; ARAUJO; MONTENEGRO, 2007). Com essas características atrativas o processo sol-gel foi estudado de maneira sistemática. A Tabela 7, mostra as formulações de dezesseis ensaios (F_1 - F_{16}) onde o percussor, concentração de catalisador, volume de surfactante e a relação molar $H_2O:Si$ foram estudados. Nestes ensaios, os volumes do co-solvente metanol e o monômero de sílica foram fixados respectivamente em 8 e 2 mL. Esse estudo foi realizado com o espectrofluorímetro, que possuía um agitador magnético, o qual auxiliou no desenvolvimento desses ensaios. Também foi usado um rotor molecular fluorescente para acompanhar em tempo real os ensaios de otimização do processo sol-gel. O uso desse rotor molecular fluorescente, justifica-se, pois esses tipos moléculas atuam como sensores de nanoviscosidade, essas se tornam fluorescentes somente se seus graus de liberdades rotacionais ficam restritos (HAIDEKKER et al., 2010; HAIDEKKER; THEODORAKIS, 2010a).

O uso de um agente tensoativo na fabricação de filmes de sílica, pelo processo sol-gel, reduz o encolhimento durante a etapa de envelhecimento e secagem, assim também evitando a ocorrência de fraturas, após a imersão da película em água, uma vez que seu emprego reduz a tensão superficial no interior dos poros da rede de sílica (ROTTMAN et al., 1992). O agente tensoativo não-iônico, Triton X-100, foi utilizado como um agente estabilizante para prevenir a deterioração e a aglomeração dos QDs, durante a ocorrência do processo sol-gel. Também, existe um estudo realizado anteriormente por Hamity; Lema; Suchetti (2000), onde foi avaliado o efeito de três agentes tensoativos, Triton X-100, cloreto de cetiltrimetilamônio e dodecil sulfato de sódio, sobre a intensidade de fluorescência e o tempo de vida de emissão de fluorescência de *quantum dots* CdS. Os QDs foram preparados usando polifosfato de sódio como agente estabilizante e um excesso de Cd^{2+} foi empregado. Segundo os autores, quando o Cd^{2+} é adicionado em excesso à solução de CdS e tensoativo, cloreto de cetiltrimetilamônio ou dodecil sulfato de sódio, um aumento moderado da intensidade de fluorescência foi observado, mas esse efeito não foi notado para o tensoativo Triton X-100. Isso se justifica

pela ausência de cargas nesse tipo de tensoativo. Em soluções concentradas, as moléculas do tensoativo organizam-se em agregados moleculares, denominados micelas. A concentração micelar crítica (CMC), é a concentração em que se inicia o processo de formação das micelas (RIZZATTI; ZANETTE; MELLO, 2009). No processo sol-gel, quando há adição de tensoativo, esse também pode influenciar na forma e tamanho das partículas, quando a CMC é atingida ou excedida poderá haver uma diminuição do tamanho das partículas formada no processo sol-gel (LAVKUSH BHAISARE et al., 2015). No trabalho aqui apresentado, a concentração de Triton X-100 foi mantida acima CMC, com a finalidade de obter-se um filme homogêneo, quanto a distribuição dos *quantum dots*.

Os tempos de gelificação mais longos foram observados para os agentes sililantes tetraetilortosilicato (TEOS) e 3-aminopropiltrietoxissilano (3-APTES). Quanto ao tetrametilortosilicato (TMOS) foram observados tempos de geificação mais rápidos quando comparados com esses dois últimos agentes sililantes. Pode-se atribuir esse efeito às diferentes velocidades de hidrólise dos agentes sililantes (VAINRUB et al., 1996; YOSHIKAWA et al., 1986). Os tempos de gelificação também são influenciados pelo aumento da relação Si/H₂O, R. Na Tabela 7, nota-se um aumento do tempo de gelificação devido à maior diluição de precursores hidrolisados em solução, diminuindo assim a velocidade, na qual ocorre o processo de condensação. Os Xerogels F₃, F₄, F₉, F₁₀, F₁₅ e F₁₆ foram preparados com maior volume de *quantum dots*, assim um ambiente reacional alcalino foi criado, levando a formação de estruturas poliméricas com aparência translúcida, dessa forma denotando uma estrutura de rede de sílica diferente. O processo de hidrólise e de condensação catalisada em pH ácido, conduz a uma rede de sílica continuamente crescente e condensada de oligômeros, fazendo com que ocorra uma precipitação dos oligômeros formados. Em tais condições, o processo de amadurecimento de Ostwald prevalece, ou seja, as partículas maiores são energeticamente mais favorecidas do que as partículas menores. Logo, por serem menos mais estáveis que as partículas de sílica maiores, em termos energéticos, as partículas menores acabam se juntando, tornando-se maiores e assim esse

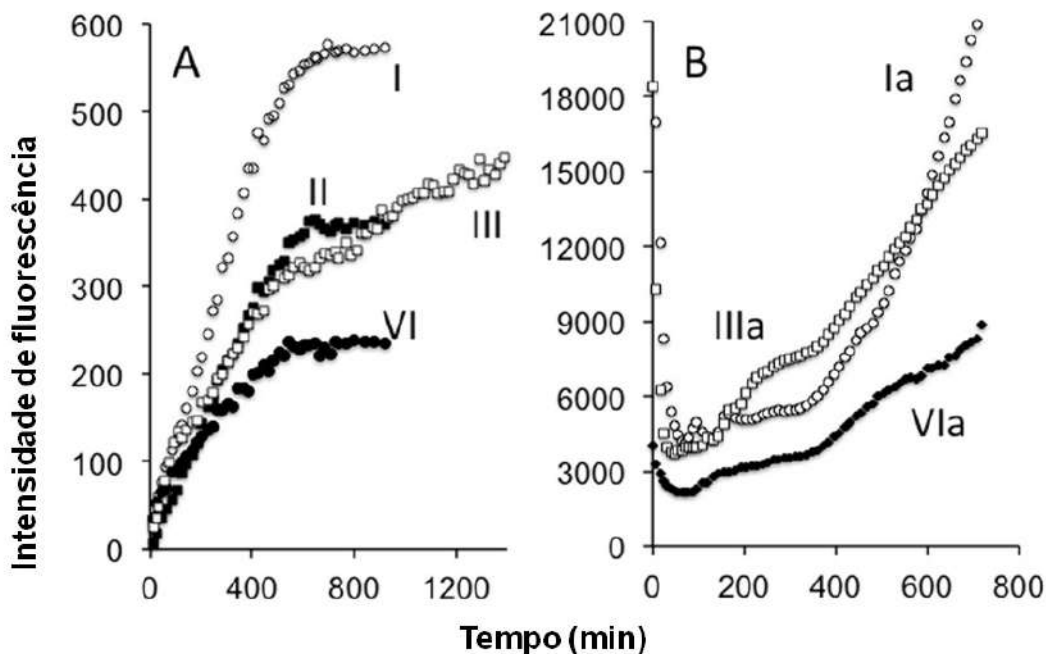
fenômeno acabam sendo responsável pelo crescimento das partículas de sílica, que finalmente se agregam para formar uma rede translúcida (BRINKER; SCHERER, 1990). Nas formulações F₅, F₆, F₁₁, F₁₂, F₁₅ e F₁₆, um baixo volume de Triton X-100 foi empregado rendendo xerogéis quebradiços e características óticas transparentes que diminuíram significativamente o processo de envelhecimento e secagem.

Para avaliar a concentração do catalisador, HNO₃, na mistura inicial do precursor, utilizou-se um rotor molecular fluorescente, o cloreto de hexametil pararosanilina, mais conhecido como cristal violeta (CV) (HAIDEKKER; THEODORAKIS, 2010b). Podem-se definir rotores moleculares fluorescentes como sensores capazes de detectar a nanoviscosidade do ambiente em que ele está inserido. O CV se torna fluorescente, quando somente alguns graus de sua rotação molecular tornam-se limitados (KUIMOVA et al., 2008). Portanto, o volume de uma solução de cristal violeta similar à solução de QDs, foi empregado na concentração de 0,5 g L⁻¹. Observou-se que o cristal violeta se comportou como um composto não fluorescente em meio de baixa viscosidade (LOUTFY, 1986; VALEUR; BERBERAN-SANTOS, 2013). No entanto, com o aumento da viscosidade média do meio, os movimentos rotacionais tornam-se restritos, fazendo surgir a fluorescência.

Tabela 7. Composição dos sols para a preparação dos filmes de sílica com CdTe–AMP *quantum dots* imobilizados.

Filmes		F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂	F ₁₃	F ₁₄	F ₁₅	F ₁₆
TMOS	(mL)	2	2	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TEOS	(mL)	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2	-	-	-	-
3-APTMS	(mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2
Metanol	(mL)	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Triton X100	(mL)	2	2	2	2	0.1	0.1	2	2	2	2	0.1	0.1	2	2	0.1	0.1
HNO ₃ (1 mol L ⁻¹)	(mL)	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	0
HNO ₃ (5 mol L ⁻¹)	(mL)	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1
QDs sol	(mL)	4	4	8	8	4	4	4	4	8	8	4	4	4	4	8	8
R relação Si/H ₂ O		34	34	67	67	34	34	50	50	100	100	50	50	41	41	81	81
Tempo de geleficação	(h)	10	10	>12	>12	10	10	12	12	>15	>15	12	12	>15	>15	<24	<24

Figura 21. (A) espectro de fluorescência do cristal nos comprimentos de onda de excitação e emissão, respectivamente, $\lambda_{\text{exc}} = 589 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 636 \text{ nm}$ durante o processo de formação do gel das formulações F_1 (I), F_2 (II), F_7 (III) e F_{13} (VI), sem QD. (B) *Quantum dots* fluorescentes ($\lambda_{\text{exc}} = 400 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 606 \text{ nm}$) durante hidrólise e condensação da formulação F_1 (Ia), F_7 (IIIa) e F_{13} (VIa).



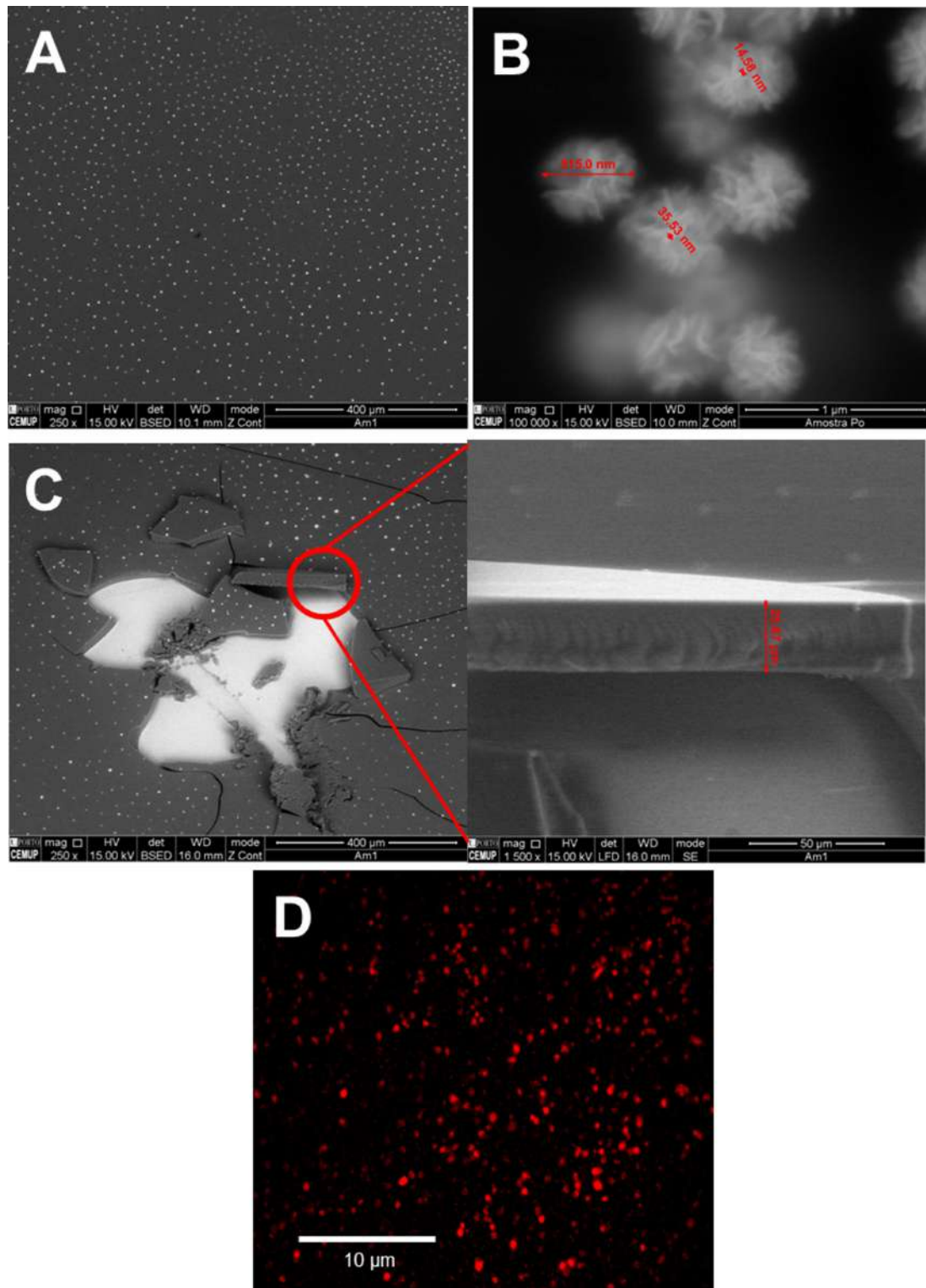
Um aumento constante da fluorescência foi observado durante o processo de hidrólise e condensação independente do agente sililante utilizado nas formulações F_1 , curva (I), F_2 curva (II), F_7 curva (III) e F_{13} curva (VI), quando se utilizou o CV, Figura 21(A), acima. A comparação relativa sobre a qualidade dos géis produzidos com TMOS, TEOS ou 3-APTMS não é possível, devido a mudanças no comportamento dos rotores moleculares em função das propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas do meio reacional (HAIDEKKER et al., 2006). Porém, quando se utilizou uma concentração baixa de catalisador (HNO_3), verificou-se uma melhor retenção do rotor molecular dentro da rede estrutural de sílica e, portanto, um acentuado aumento de fluorescência (curva I, Figura 21A).

Na Figura 21(B), o processo sol-gel foi monitorado por meio da fluorescência dos QDs para as formulações F₁, F₇ e F₁₃ (curvas Ia, IIIa e VIa, respectivamente). Nesses ensaios, as dispersões coloidais de *quantum dot* foram adicionadas no começo do processo de hidrólise e de condensação.

Inicialmente houve a hidrólise e condensação conduzindo a libertação de alcoóis conforme as reações se desenvolviam. Uma queda na fluorescência é observada durante os primeiros 90 min, após esse tempo pode-se observar um aumento da fluorescência. Essa queda pode ser atribuída à deterioração dos QDs, inicialmente ocasionada pelo processo sol-gel. Essa perda de fluorescência foi evitada por meio da adição de uma solução iônica contendo cádmio e AMP em meio alcalino na proporção 1:3 molar, como descrito pelos autores: Li; Murase, 2004; Murase; Gao, 2004; Yang; Li; Murase, 2005. Por outro lado, a queda inicial da fluorescência desapareceu, quando a evaporação do álcool, ao fim do processo sol-gel foi quase completa e a viscosidade do meio era alta.

A microscopia eletrônica de varredura, mais conhecida pela sigla SEM (do inglês, *scanning eletronic microscopy*), se baseia no princípio da quantificação dos elétrons secundários, elétrons de baixa energia, que são emitidos pela amostra, quando essa foi previamente excitada com feixe de radiação de elétrons, raio-X. Essa técnica fornece informações qualitativas da morfologia e topografia da amostra. Logo, foram realizadas caracterizações dos filmes de sílica CdTe-AMP QDs utilizando a técnica SEM. A formulação F₁, da Tabela 7, foi preparada e os filmes foram secos com o auxílio de estufa a 90°C por uma hora e, posteriormente, foram colocados em dessecador por 48 horas.

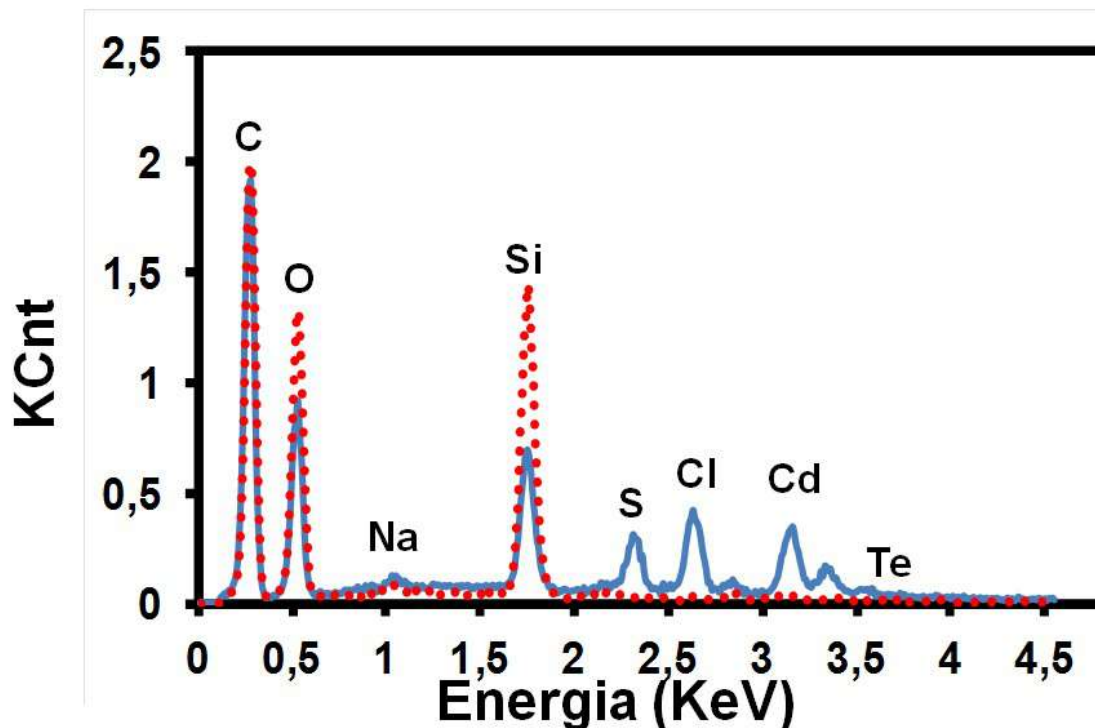
Figura 22. Imagens produzidas pela técnica SEM (A-C) e Microscopia de fluorescência com imagem (D). Os filmes foram produzidos de acordo com a formulação F₁.



Pode-se visualizar claramente a formação *clusters* de CdTe-AMP, esses estão homogeneamente dispersos no filme de sílica, Figura 22(A), com diâmetros médios de cerca de 500 nm, Figura 22(B). A espessura do filme foi calculada em 25,67 μm , Figura 22(C). A formação desses *clusters* pode ser atribuída ao momento da segregação de fases do processo sol-gel e ao mesmo tempo ao crescimento da rede polimérica (SELVAN et al., 2004). A microscopia de fluorescência com imagem permitiu a visualização da emissão de fluorescência do filme, onde se pode ver claramente *clusters* fluorescentes, Figura 22(D).

Concomitantemente no microscópio SEM foi empregada a técnica espectroscopia de raios X por dispersão em energia conhecida pela sigla EDS (do inglês, *energy-dispersive X-ray spectroscopy*) para uma melhor caracterização do material, quanto a sua composição química. Essa técnica baseia-se na interação de uma fonte de elétrons de alta energia com uma amostra. Nessa técnica os elétrons são retroespalhados, por espalhamento inelástico ao interagir com os átomos da amostra. A análise EDS geralmente envolve a geração de um espectro de raios-X a partir da área de leitura do SEM. Na Figura 23, apresenta-se o espectro EDS do filme de sílica com CdTe-AMP QDs na formulação F₁. O gráfico é gerado por meio do software, onde o eixo Y mostra as contagens, ou seja, o número de elétrons recebidos e processados pelo detector do equipamento. No eixo X são apresentados os níveis de energia desses elétrons, cada nível está associado a um elemento químico. O feixe de elétrons foi posicionado em duas áreas do filme, na região do *cluster*, linha azul, e na área sem a presença de *cluster*, linha vermelha pontilhada.

Figura 23. Espectro EDS do filme de sílica com CdTe-AMP QDs. A linha azul corresponde à região do filme com *clusters* de QDs. Já a linha vermelha pontilhada corresponde à região do filme sem esses *clusters*.

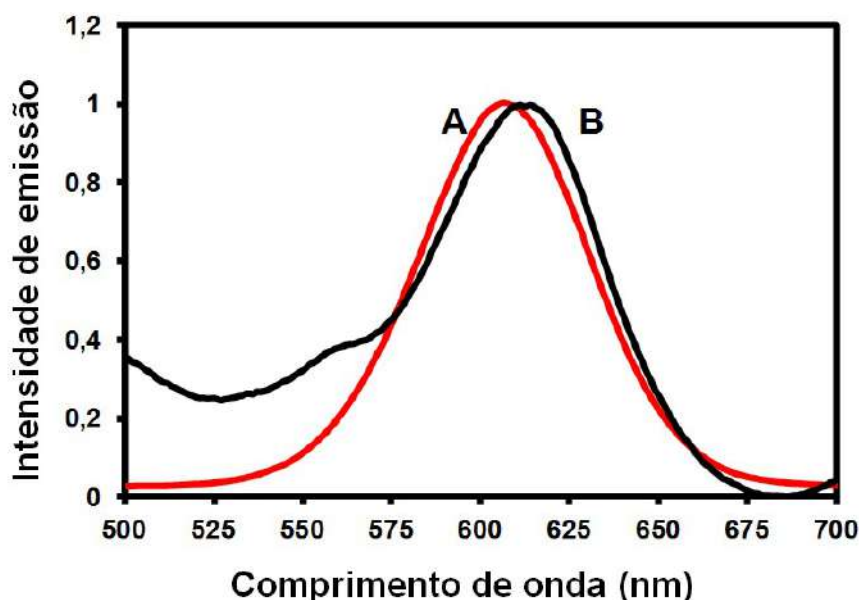


Os espectros de EDS apresentados na Figura 23 confirmaram presença de Cd, Te e S nas regiões contendo *clusters* de QDs, assim como picos de C, O e Si estão presentes em ambos os espectros. Isso se deve aos precursores orgânicos como, o ácido mercaptopropiônico (AMP), surfactante Triton X-100 e TMOS. Outros picos atribuídos a Na e Cl são observados e deve-se ao fato da síntese de QDs CdTe-MPA empregar CdCl_2 e NaOH.

III.3.3. COMPARAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS QDs CdTe-AMP ANTES E DEPOIS DA IMOBILIZAÇÃO

As propriedades ópticas dos QDs, antes e após a imobilização em filmes de sílica foram comparados, quanto ao respectivo espectro de emissão de fluorescência, ao tempo de vida de emissão e a valores do rendimento quântico. O espectro de emissão de fluorescência dos QDs imobilizados obtidos após imersão do filme numa solução tampão a pH 11 e das nanopartículas em solução estão apresentados na Figura 24.

Figura 24. Os espectros de emissão de fluorescência dos QDs CdTe-AMP disperso em solução aquosa (A) e após a sua imobilização em sílica (B) (comprimento de onda de excitação, 400 nm).



O espectro de emissão representado pela linha B possui um máximo em 611 nm. O pequeno ombro, no lado esquerdo corresponde à radiação de fundo do suporte de vidro, onde o filme foi depositado, linha preta. Um pequeno desvio na região entre 606 – 611 nm foi observado no espectro de emissão de fluorescência dos QDs imobilizados em filmes de sílica, quando comparado ao espectro de emissão, linha A, dos QDs dispersos em solução aquosa. Não foram observadas diferenças nos valores FWHM nos dois espectros. Esse desvio para o maior comprimento de onda pode ser explicado pela proximidade das nanopartículas de QDs CdTe-AMP presentes nos aglomerados formados,

propiciando assim uma transferência de energia parcial entre cada nanopartícula (LI; ANDO; MURASE, 2004a). O tempo de vida de emissão de fluorescência, τ , refere-se ao tempo médio que uma espécie química permanece em seu estado excitado antes de emitir um fóton. O rendimento quântico, QY (%), pode ser definido como uma razão entre o número de fótons emitido e absorvidos. Na Tabela 8, são mostrados os valores de tempo de vida de emissão de fluorescência do filme de sílica com QDs imobilizados, e QDs em suspensão, assim como seus valores de rendimentos quânticos são apresentados.

Tabela 8. Os valores tempo de vida de emissão de fluorescência, τ , e rendimentos quânticos absolutos, Q(Y%), do filme de sílica com CdTe-AMP QDs imobilizado e *quantum dots* em suspensão.

	τ (ns)	QY (%)
CdTe-AMP QDs em água	49,69 $\pm$ 0,96	22,2 $\pm$ 0,2
CdTe-AMP QDs, em suspensão iônica de Cd²⁺ e AMP	22,85 $\pm$ 0,68	15,2 $\pm$ 0,2
CdTe-AMP QDs imobilizado em filme de sílica	65 $\pm$ 4	21,5 $\pm$ 0,4

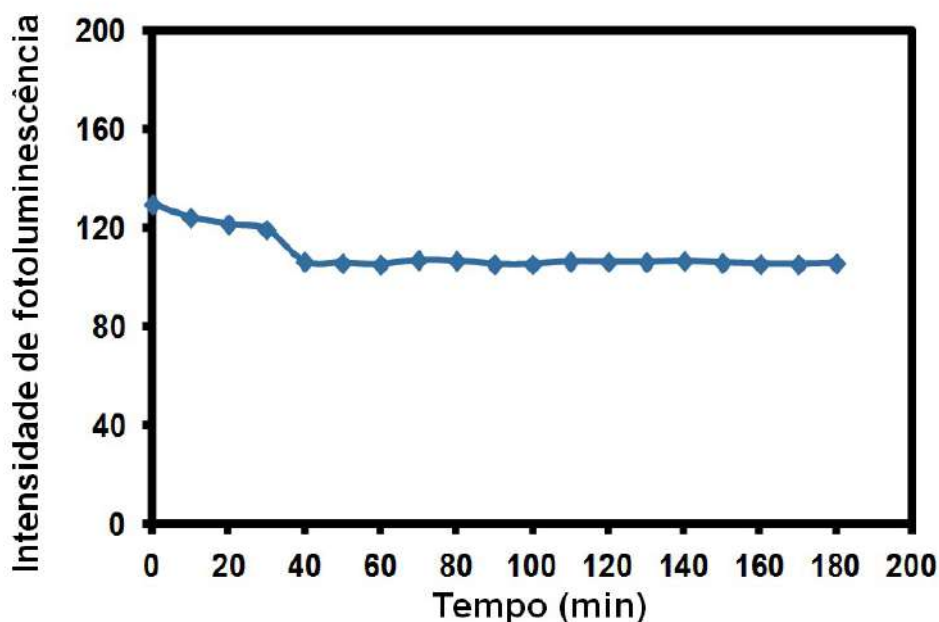
Na Tabela 8, nota-se uma diminuição de cerca de 54% do τ (de 49,69 para 22,85 ns) do QDs CdTe-AMP dissolvido em água, quando comparado com aqueles dissolvidos em suspensão iônica de Cd²⁺ e AMP em pH 10. O decréscimo pode ser atribuído à adsorção do cátion Cd²⁺ sobre a superfície do *quantum dots*, criando assim armadilhas que interferem no processo de recombinação de éxcitons. Quando os QDs em solução iônica contendo Cd²⁺ e AMP em pH 10 são imobilizados pelo processo sol-gel verifica-se um aumento em 185% do τ , de 22,85 para 65,13ns.

Apesar de existir uma adsorção de cátions Cd^{2+} , como citado anteriormente, há possibilidade desse processo de adsorção ser revertido durante o processo sol-gel na etapa de gelificação. Esse fenômeno pode ser atribuído ao estabelecimento de uma força de atração eletroestática entre o cátion Cd^{2+} , grupos silanóis livres e os grupos tióis do ácido mercaptopropiônico, AMP, criando assim uma rede polimérica que aprisiona os QDs e aumentando o tempo de vida de emissão de fluorescência.

Os resultados obtidos, neste trabalho estão de acordo com os resultados da literatura (Chen; Rosenzweig, 2002; Duong et al., 2011; Mahmoud, 2012). A análise dos valores de rendimento quântico, QY (%), contido na Tabela 8, mostra que essa propriedade não se alterou significativamente. Observou-se que o QDs CdTe-AMP quando disperso em solução aquosa mostraram um rendimento quântico absoluto de 22,2%. Ao se dispersar o *quantum dot* CdTe-AMP em solução iônica de Cd^{2+} e AMP em pH 10 houve uma diminuição de 31,5 % do Q(Y%), de 22,2 % para 15,2 %. Os filmes de sílica contendo CdTe-AMP QDs imobilizado apresentou uma recuperação do seu QY (%) para 21,5 %. Logo, o procedimento de imobilização pelo processo sol-gel demonstrou que foram obtidos filmes fluorescentes com propriedades óticas bem semelhantes aos QDs, quando dispersos em solução aquosa.

A fim de verificar a fotoestabilidade do filme de sílica produzido, o mesmo foi imerso numa solução tampão pH 11 durante 180 min e lavado com água em intervalos de 10 min. Os comprimentos de onda de excitação e emissão de 400 e 611 nm, respectivamente, foram empregados para monitorar possíveis mudanças. Os resultados são apresentados na Figura 25, onde nota-se apenas uma ligeira diminuição da intensidade de fotoluminescência nos primeiros 40 min, seguido de estabilização nos valores dos sinais de leituras.

Figura 25. Estudo de fotoestabilidade do filme de QDs com sílica ($\lambda_{exc} = 400 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 611 \text{ nm}$). Potência de irradiação foi de cerca de $180 \mu\text{W cm}^{-2}$.



III.3.4. GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

A reatividade do filme como preparado foi avaliado com o emprego de reatores baseado em sistemas de análise em fluxo. Este estudo tem como principal objetivo demonstrar, que o filme preserva a capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio, após irradiação com luz visível, uma vez que já tem sido demonstrado que em dispersão os QDs possuem essa capacidade. (RIBEIRO et al., 2012; RODRIGUES et al., 2015; SASAKI et al., 2014).

De acordo com a literatura, os QDs quando exposto a uma radiação eletromagnética com energia igual ou maior do que o *band gap* do semicondutor sofre uma promoção e a deslocalização de elétrons da banda de valência para a condução, levando à formação de um éxciton (par elétron-buraco). O éxciton formado possui propriedade redox, o que pode provocar reações químicas com as espécies próximas ao *quantum dot*. Rodrigues et

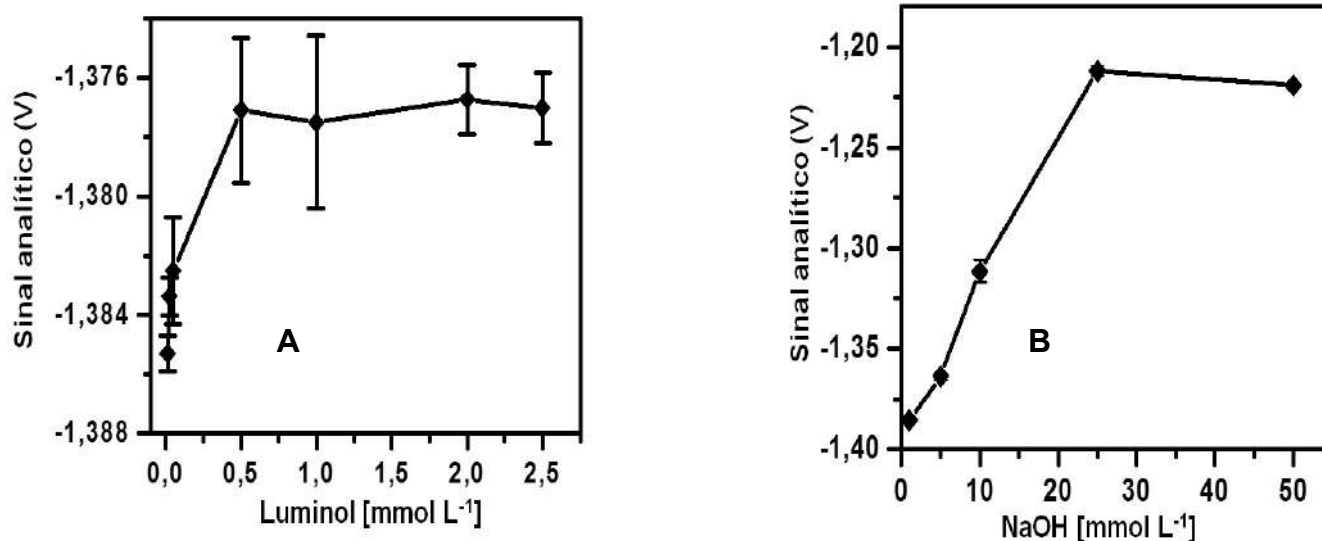
al., 2015 e Sasaki et al., 2014 indicam que o radical superóxido é a principal espécie formada. Essa conclusão vem do fato que o radical superóxido possui um potencial padrão de redução negativo, $O_2 \rightarrow O_2^{\bullet -}$, - 0,15 eV, e o poder de redução da banda da condução do CdTe, é de aproximadamente -1,00 eV, sendo assim suficiente para reduzir o O_2 (IPE; LEHNIG; NIEMEYER, 2005). Por sua vez, o radical $O_2^{\bullet -}$ pode oxidar o luminol, uma sonda quimioluminescente amplamente conhecida, e assim permitir uma possível aplicação em química analítica.

O esquema de reação da Figura 18, foi implementado por meio do emprego de um sistema em fluxo utilizando o conceito de multicomutação em fluxo e o uso de microbombas solenoide, representado na Figura 18. Neste sentido, uma coluna foi preenchida com 100 mg do filme de sílica com QDs CdTe-AMP e posicionada na frente de uma lâmpada de LED, para a geração de $O_2^{\bullet -}$. O reagente luminol foi preparado em meio alcalino, e usado como sonda de quimioluminescência para a detecção do radical $O_2^{\bullet -}$. Durante a geração do radical $O_2^{\bullet -}$ apenas água é bombeada através do reator contendo filme de sílica. Para uma melhor sensibilidade na detecção de radicais $O_2^{\bullet -}$, a influência da concentração de luminol no sinal analítico foi estudada numa faixa de 0,0125 - 2,5 mmol L⁻¹, enquanto que a concentração de NaOH foi mantida constante a 10 mmol L⁻¹.

Uma das características interessante desse sistema de geração de radicais, consiste na utilização da estratégia de parada de fluxo (do inglês, *stopped flow*) (RŮŽIČKA; HANSEN, 1979). Ensaios preliminares indicaram que a repetibilidade e a magnitude dos sinais de quimioluminescência foram significativamente afetadas sem a utilização estratégia de parada de fluxo.

Na Figura 26, são apresentados os estudos de variação da concentração do luminol, Figura 26(a), e da concentração do NaOH, Figura 26(b). Os resultados do estudo de concentração de luminol, Figura 26(a) revelaram um aumento da amplitude do sinal analítico com a concentração de luminol até 0,50 mmol L⁻¹. Do mesmo modo na Figura 27(b) é apresentado o estudo da influência das concentrações de NaOH sobre o sinal analítico de quimiluminescência, onde a concentração de NaOH foi variada de 1,0 - 50,0 mmol L⁻¹. Para valores de concentração entre 1,0 e 25,0 mmol L⁻¹, observou-se um aumento significativo no sinal analítico. Para concentrações mais elevadas não foram observadas diferenças na intensidade do sinal analítico. Portanto, levando em conta os resultados obtidos selecionou-se as concentrações de 0,50 mmol L⁻¹ e 25,0 mmol L⁻¹ para luminol e NaOH, respectivamente, para os estudos seguintes.

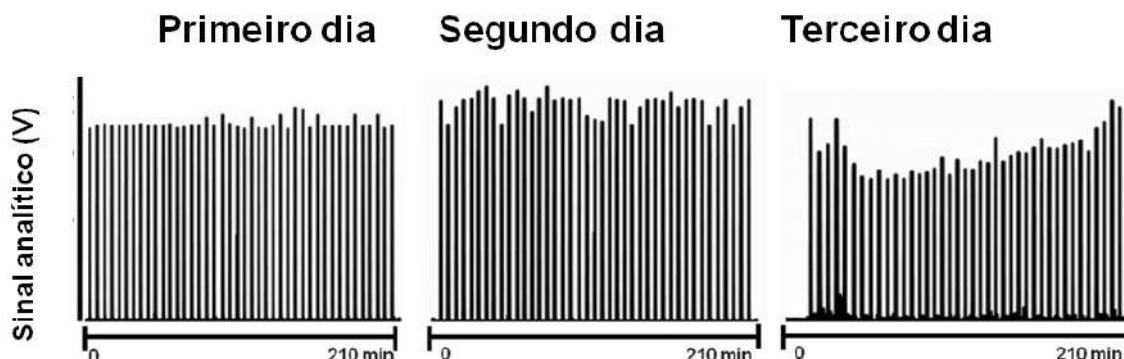
Figura 26. Influência das concentrações de luminol (a) e NaOH sobre o sinal analítico empregando a estratégia de *stopped flow* (b).



Como já foi mencionada, a influência do tempo de irradiação foi importante em termos de reprodutibilidade e a magnitude dos sinais analíticos, por isso a estratégia de *stopped flow* foi empregada. Fatores como: a estrutura porosa, a estabilidade mecânica da rede de sílica e sua permeabilidade para uma dada espécie química (HAN et al., 2009; JERONIMO; ARAUJO; MONTENEGRO, 2007; TRIANTAFILLIDIS; ELSAESSER; HÜSING, 2013) podem ter influenciado na quantidade de radicais $O_2^{\bullet-}$ gerados. Um estudo do tempo parado do fluxo de água, que passa através da coluna foi realizado, onde se verificou um aumento acentuado na intensidade do sinal de quimioluminescência, quando ocorreu a parada do fluxo de água houve o aumento nos intervalos de tempo entre 2 e 5 minutos com estabilização do sinal de quimioluminescência, quando empregou-se um tempo de parada em 10 min, para um tempo igual a 0 min não se observou a geração de radicais por meio da reação de oxidação do luminol. Pode-se sugerir que o luminol como método para detecção de radical $O_2^{\bullet-}$ não seja tão sensível para detecção de pequenas quantidades desse tipo de radical.

Uma vez comprovado a reatividade dos QDs imobilizadas em filmes de sílica, se fez importante demonstrar a possibilidade, que este novo material ter quanto a sua utilização de forma contínua, ou seja, como um reator para a geração de $O_2^{\bullet-}$. Logo, foi realizado um estudo com as do sistema de geração de radicais em fluxo, condições já otimizadas, a estabilidade na geração de $O_2^{\bullet-}$ foi avaliada para 42 determinações analíticas realizadas durante 210 min e repetidos em três dias diferentes. Os resultados obtidos, na Figura 27, revelou uma alta reprodutibilidade dos sinais com um desvio padrão relativo, RSD, de 1,29%.

Figura 27. Sinais gerados continuamente durante 210 min e repetidos em três dias diferentes.



Outro aspecto do desenvolvimento desse sistema é quanto à diminuição de geração de resíduos. Os QDs como é bem conhecido são formados por uma combinação de metais e semi-metais, seus resíduos podem oferecer de certa forma um risco para o meio ambiente. Dessa forma, o uso de QDs imobilizados em filmes de sílica para a geração de do radical $O_2^{\cdot -}$ permitiu uma reutilização do mesmo, proporcionando um método que minimiza produção de resíduos perigosos. Quando comparado com outros trabalhos descritos na literatura que empregam QDs em solução aquosa para a geração de espécies reativas de oxigênio uma determinada quantidade de CdTe-AMP QDs foi consumido por determinação produzindo assim efluentes que oferecem risco (RIBEIRO et al., 2012; RODRIGUES et al., 2015; SASAKI et al., 2014).

Como exemplo, a comparação da metodologia aqui proposta com os trabalhos relatados na literatura, quando se considera determinações analíticas consecutivas, ou seja, sinais gerados durante 210 min, com os trabalhos realizados por Ribeiro *et al* (RIBEIRO et al., 2012), Sasaki *et al* (SASAKI et al., 2014) e Rodrigues *et al* (RODRIGUES et al., 2015), a quantidade de QDs consumida durante o mesmo intervalo de tempo pode ser estimada em 11300 μg (22 mL of 1,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ MPA-CdTe), 1036 μg (49 mL de 0,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ GSH-CdTe), 351 μg (22 mL of 0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ GSH-CdTe), respectivamente..

II.4.CONCLUSÃO

A produção de filmes de sílica pelo processo sol-gel, utilizando o tetrametilortosilicato (TMOS) e tensioativo Triton X-100 proporcionou a imobilização eficaz de *quantum dots* CdTe-MPA, produzindo assim um material com as propriedades intrínsecas das nanopartículas coloidais. Logo, o processo sol-gel permitiu por meio do processo de catálise ácida, a produção de filmes com uma boa transparência. Desse modo, as características ópticas das nanopartículas imobilizadas, como o rendimento quântico e o tempo de vida de emissão de fluorescência foram preservadas ou maximizadas. Concomitantemente pode-se comprovar a reatividade dos *quantum dots* imobilizados por meio da sua capacidade em produzir espécies reativas de oxigênio, com o emprego de radiação eletromagnética na região do visível. Também, foi demonstrada a robustez do material preparado, por meio de um sistema de análise em fluxo multicomutado. Desse modo, o uso do material imobilizado para a geração de espécies reativas de oxigênio com o auxílio de um sistema de análise em fluxo permitiu a geração de múltiplos sinais de quimiluminescência, sem a produção de efluentes que causariam risco ambiental. Logo, o processo de imobilização de *quantum dots* poderá abrir novos caminhos, para futuras aplicações nas áreas de sensores químicos e optoeletrônica.

REFERÊNCIAS

ADEGOKE, O.; FORBES, P. B. C. Challenges and advances in quantum dot fluorescent probes to detect reactive oxygen and nitrogen species: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 862, p. 1–13, 2015.

ANDERSON, A.; KOZLOVSKY, S. Chromium intake , absorption and excretion subjects consuming. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v.41, p. 1177–1183, 1984.p. 1177–1183, 1984.

ATTIA, S. *et al.* **Review on Sol—Gel Derived Coatings: Process, Techniques and Optical Applications** **Journal of Materials Science & technology**, 2002. Disponível em: <http://www.cqvip.com/qk/84252x/200203/6982802.html>. Data de acesso 29/04/2016.

BAKALOVA, R. *et al.* Quantum Dot anti-CD Conjugates: Are They Potential Photosensitizers or Potentiators of Classical Photosensitizing Agents in Photodynamic Therapy of Cancer? **Nano Letters**, v. 4, n. 9, p. 1567–1573, 2004.

BERA, D. *et al.* Photoluminescence of ZnO quantum dots produced by a sol-gel process. **Optical Materials**, v. 30, n. 8, p. 1233–1239, 2008.

BERA, D. *et al.* Quantum Dots and Their Multimodal Applications: A Review. **Materials**, v. 3, n. 4, p. 2260–2345, 24 mar. 2010.

BOGUE, R. Graphene sensors: a review of recent developments. **Sensor Review**, v. 34, n. 3, p. 233–238, 10 jun. 2014.

BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W. **Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing**. Academic Press; 1 edition, 1990.912 p.

BRUCHEZ JR., M. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. **Science**, v. 281, n. 5385, p. 2013–2016, 25 set. 1998.

BRUS, L. E. A simple model for the ionization potential, electron affinity, and aqueous redox potentials of small semiconductor crystallites. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 11, p. 5566, 1983.

BRUS, L. E. Electron–electron and electron-hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. **The Journal of Chemical Physics**, v. 80, n. 9, p. 4403, 1984.

BUNACIU, A. A.; ABOUL-ENEIN, H. Y.; FLESCHEIN, Ș. FT-IR Spectrophotometric Analysis of Chromium (Tris) Picolinate and its Pharmaceutical Formulations. **Analytical Letters**, v. 39, n. 7, p. 1401–1410, jun. 2006. BUSCH, G. Early history of the physics and chemistry of semiconductors-from doubts to fact in a hundred years. **European Journal of Physics**, v. 10, n. 4, p. 254–264, 1 out. 1989.

CAI, K. et al. Super fast detection of latent fingerprints with water soluble CdTe quantum dots. **Forensic Science International**, v. 226, n. 1–3, p. 240–243, mar. 2013.

CALLAN, J. F.; RAYMO, F. M. **Quantum dot Sensors: Technology and Commercial Applications**. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton. 2013. 205 p.

CHAN, W. C. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. **Science**, v. 281, n. 5385, p. 2016–2018, 25 set. 1998.

CHEN, H.-Q. et al. Determination of chromium(III) in aqueous solution using CePO₄:Tb³⁺ nanocrystals in a fluorescence resonance energy transfer system. **Luminescence**, v. 29, n. 6, p. 642–648, 24 set. 2014.

CHEN, J. et al. A novel fluorescent array for mercury (II) ion in aqueous solution with functionalized cadmium selenide nanoclusters. **Analytica chimica acta**, v. 577, n. 1, p. 77–84, 1 set. 2006.

CHEN, S. et al. CdSe quantum dots decorated by mercaptosuccinic acid as fluorescence probe for Cu²⁺. **Journal of Luminescence**, v. 131, n. 5, p. 947–951, maio 2011.

CHEN, Y.; ROSENZWEIG, Z. Luminescent CdS Quantum Dots as Selective Ion Probes. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 19, p. 5132–5138, 1 out. 2002.

CHENG, X. et al. Colloidal silicon quantum dots: from preparation to the modification of self-assembled monolayers (SAMs) for bio-applications. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 8, p. 2680, 2014.

CILLA, A. et al. Nutritional Hazards: Micronutrients: Vitamins and Minerals. In: **Encyclopedia of Food Safety**. Elsevier, 2014. v. 3p. 86–94.

CIRIMINNA, R. et al. The Sol–Gel Route to Advanced Silica-Based Materials and Recent Applications. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 8, p. 6592–6620, 14 ago. 2013.

COLVIN, V. L. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. **Nature Biotechnology**, v. 21, n. 10, p. 1166–1170, out. 2003.

COSTA-FERNÁNDEZ, J. M.; PEREIRO, R.; SANZ-MEDEL, A. The use of luminescent quantum dots for optical sensing. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 207–218, mar. 2006.

COSTAS-MORA, I. et al. An overview of recent advances in the application of quantum dots as luminescent probes to inorganic-trace analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 57, p. 64–72, maio 2014.

CUI, L.; HE, X.-P.; CHEN, G.-R. Recent progress in quantum dot based sensors. **RSC Adv.**, v. 5, n. 34, p. 26644–26653, 2015.

DARBANDI, M.; THOMANN, R.; NANN, T. Single quantum dots in silica spheres by microemulsion synthesis. **Chemistry of Materials**, v. 17, n. 23, p. 5720–5725, 2005.

DE SOUZA, G. C. S. et al. Employment of electrochemically synthesized TGA–CdSe quantum dots for Cr^{3+} determination in vitamin supplements. **Talanta**, v. 144, p. 986–991, 2015.

DERFUS, A. M.; CHAN, W. C. W.; BHATIA, S. N. Probing the Cytotoxicity of Semiconductor Quantum Dots. **Nano Letters**, v. 4, n. 1, p. 11–18, jan. 2004.

DUONG, H. D. et al. Amplification of fluorescence emission of CdSe/ZnS QDs entrapped in a sol–gel matrix, a new approach for detection of trace level of PAHs. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 157, n. 1, p. 139–145, set. 2011.

EKIMOV, A. I.; ONUSHCHENKO, A. A. Quantum size effect in three-dimensional microscopic semiconductor crystals. **Jetp Letters**, v. 34, n. 6, p. 345–349, 1981.

ELAVARASI, M. et al. Studies on fluorescence determination of nanomolar Cr(III) in aqueous solutions using unmodified silver nanoparticles. **Analytical Methods**, v. 4, n. 10, p. 3407, 2012.

ELLINGSON, R. J. et al. Highly Efficient Multiple Exciton Generation in Colloidal PbSe and PbS Quantum Dots. **Nano Letters**, v. 5, n. 5, p. 865–871, maio 2005.

EVANS, G. W.; BOWMAN, T. D. Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 46, n. 4, p. 243–250, jun. 1992.

FARADAY, M. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 147, n. 0, p. 145–181, 1 jan. 1857.

FERNÁNDEZ-ARGÜELLES, M. T. et al. Surface-modified CdSe quantum dots for the sensitive and selective determination of Cu(II) in aqueous solutions by luminescent measurements. **Analytica Chimica Acta**, v. 549, n. 1–2, p. 20–25, set. 2005.

FREITAS, D. V. et al. Electrochemical synthesis of TGA-capped CdTe and CdSe quantum dots. **Green Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 3247, 2014.

FRIGERIO, C. et al. Application of quantum dots as analytical tools in automated chemical analysis: a review. **Analytica chimica acta**, v. 735, p. 9–22, 20 jul. 2012. GERION, D. et al. Synthesis and Properties of Biocompatible Water-Soluble Silica-Coated CdSe/ZnS Semiconductor Quantum Dots †. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 105, n. 37, p. 8861–8871, set. 2001.

GOKARNA, A. et al. Quantum dot-based protein micro- and nanoarrays for detection of prostate cancer biomarkers. **PROTEOMICS**, v. 8, n. 9, p. 1809–1818, maio 2008.

GOPE, A. H. et al. Direct detection of sulfide ions [S^{2-}] in aqueous media based on fluorescence quenching of functionalized CdS QDs at trace levels: analytical applications to environmental analysis. **The Analyst**, v. 138, n. 5, p. 1329, 2013.

GREEN, M. The nature of quantum dot capping ligands. **Journal of Materials Chemistry**, v. 20, n. 28, p. 5797, 2010.

GRÜNDLER, P. **Chemical Sensors**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007.

GUHA, S. et al. Thiophene anchored coumarin derivative as a turn-on fluorescent probe for Cr^{3+} : cell imaging and speciation studies. **Talanta**, v. 91, p. 18–25, 15 mar. 2012.

HAIDEKKER, M. A. et al. A ratiometric fluorescent viscosity sensor. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 2, p. 398–399, 2006.

HAIDEKKER, M. A. et al. Dyes with Segmental Mobility: Molecular Rotors. In: **The Journal of Physical Chemistry B**. v. 105p. 267–308.2010.

HAIDEKKER, M. A; THEODORAKIS, E. A. Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors. **Journal of biological engineering**, v. 4, p. 11, 2010a.

HAIDEKKER, M. A; THEODORAKIS, E. A. Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors. **Journal of Biological Engineering**, v. 4, n. 1, p. 11, 2010b.

HAKIMI, M. Structural and Spectral Characterization of a Chromium(III) Picolinate Complex: Introducing a New Redox Reaction. **Journal of the Korean Chemical Society**, v. 57, n. 6, p. 721–725, 20 dez. 2013.

HAMITY, M.; LEMA, R. .; SUCHETTI, C. . Effect of detergents on the fluorescence from CdS-Q clusters prepared using variable excess Cd^{2+} concentrations. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 205–211, maio 2000.

HAN, L. et al. Cancer stem cells: therapeutic implications and perspectives in cancer therapy. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 3, n. 2, p. 65–75, abr. 2013.

HAN, W. S. et al. Silica-based chromogenic and fluorogenic hybrid chemosensor materials. **Chemical Society reviews**, v. 38, n. 7, p. 1904–1915, jul. 2009.

HASTINGS, J. W. Biological diversity, chemical mechanisms, and the evolutionary origins of bioluminescent systems. **Journal of molecular evolution**, v. 19, n. 5, p. 309–321, 1983.

HEMMATEENEJAD, B. et al. Antioxidant activity assay based on the inhibition of oxidation and photobleaching of L-cysteine-capped CdTe quantum dots. **The Analyst**, v. 137, n. 17, p. 4029, 2012.

HOSHINO, A. et al. Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on Their Surface Modification. **Nano Letters**, v. 4, n. 11, p. 2163–2169, nov. 2004.

HUIE, R. E.; NETA, P. **Chemistry of Reactive Oxygen Species**. Kluwer Academic Publishers. 2002. 697 p.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors: definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247–1250, 1 jan. 1991.

I. TAVERNIERS; LOOSE, M. DE; BOCKSTAELE, E. VAN. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, p. 535–552, 2004.

IPE, B. I.; LEHNIG, M.; NIEMEYER, C. M. On the Generation of Free Radical Species from Quantum Dots. **Small**, v. 1, n. 7, p. 706–709, jul. 2005.

ISAROV, A. V; CHRYSOCHOOS, J. Optical and Photochemical Properties of Nonstoichiometric Cadmium Sulfide Nanoparticles: Surface Modification with Copper(II) Ions. **Langmuir**, v. 13, n. 12, p. 3142–3149, jun. 1997.

JANI, H.; DUAN, L. Acid-free sol-gel fabrication of glass thin films embedded with II-VI colloidal quantum dots. **Journal of Nanophotonics**, v. 9, n. 1, p. 93072, 20 maio 2015.

JERONIMO, P.; ARAUJO, A.; CONCEICAO, B.S.M.MONTENEGRO, M. Optical sensors and biosensors based on sol-gel films. **Talanta**, v. 72, n. 1, p. 13–27, 15 abr. 2007.

JIN, W. J. et al. Surface-modified CdSe quantum dots as luminescent probes for cyanide determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 522, n. 1, p. 1–8, set. 2004.

K, EIZARS, K. Z.; FORREST, B. M.; RINK, W. J. Natural Residual Thermoluminescence as a Method of Analysis of Sand Transport along the Coast of the St. Joseph Peninsula, Florida. **Journal of Coastal Research**, v. 242, n. 242, p. 500–507, mar. 2008.

KAMAT, P. V. Meeting the Clean Energy Demand: Nanostructure Architectures for Solar Energy Conversion. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 7, p. 2834–2860, fev. 2007.

KANWAL, S.; FU, X.; SU, X. Size dependent active effect of CdTe quantum dots on pyrogallol-H₂O₂ chemiluminescence system for chromium(III) detection. **Microchimica Acta**, v. 169, n. 1–2, p. 167–172, 24 mar. 2010.

KEIZER, J. Nonlinear Fluorescence Quenching and the Origin. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 3443, n. 5, p. 1494–1498, 1983.

KONG, W. et al. Photoluminescent nanosensors capped with quantum dots for high-throughput determination of trace contaminants: strategies for enhancing analytical performance. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, nov. 2015.

KORALA, L. et al. Uniform Thin Films of CdSe and CdSe(ZnS) Core(Shell) Quantum Dots by Sol–Gel Assembly: Enabling Photoelectrochemical Characterization and Electronic Applications. **ACS Nano**, v. 7, n. 2, p. 1215–1223, 26 fev. 2013.

KUANG, H. et al. Recent developments in analytical applications of quantum dots. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 10, p. 1620–1636, nov. 2011.

KUIMOVA, M. K. et al. Molecular Rotor Measures Viscosity of Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 21, p. 6672–6673, maio 2008.

KUNTZLEMAN, T. S.; ROHRER, K.; SCHULTZ, E. The Chemistry of Lightsticks: Demonstrations To Illustrate Chemical Processes. **Journal of Chemical Education**, v. 89, n. 7, p. 910–916, 12 jun. 2012.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. Springer; 3rd edition. New York.

LAVKUSH BHAISARE, M. et al. Fluorophotometric determination of critical micelle concentration (CMC) of ionic and non-ionic surfactants with carbon dots via Stokes shift. **Talanta**, v. 132, p. 572–578, jan. 2015.

LEONHARDT, U. Optical metamaterials: Invisibility cup. **Nature Photonics**, v. 1, n. 4, p. 207–208, abr. 2007.

LEY, H.; FICKEN, K. Isomerie und Lichtabsorption bei inneren Komplexsalzen. (Über innere Komplexsalze. XV.). **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 50, n. 2, p. 1123–1137, jul. 1917.

LI, C. L.; ANDO, M.; MURASE, N. Preparation and characterization of glass embedding photoluminescent CdTe nanocrystals. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 342, p. 32–38, 2004a.

LI, C. L.; ANDO, M.; MURASE, N. Preparation and characterization of glass embedding photoluminescent CdTe nanocrystals. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 342, n. 1–3, p. 32–38, ago. 2004b.

LI, X. et al. An ultrasensitive method for the determination of melamine using cadmium telluride quantum dots as fluorescence probes. **Analytica Chimica Acta**, v. 802, p. 82–88, nov. 2013.

LI; MURASE, N. Synthesis of Highly Luminescent Glasses Incorporating CdTe Nanocrystals through Sol–Gel Processing. **Langmuir**, v. 20, n. 1, p. 1–4, jan. 2004.

LIANG, J.-G. et al. Functionalized CdSe quantum dots as selective silver ion chemodosimeter. **The Analyst**, v. 129, n. 7, p. 619–22, jul. 2004.

LOPEZ, I. S. et al. Europium complex-based thermochromic sensor for integration in plastic optical fibres. **Optical Materials**, v. 34, n. 8, p. 1447–1450, jun. 2012.

LOU, Y. et al. Metal ions optical sensing by semiconductor quantum dots. **J. Mater. Chem. C**, v. 2, n. 4, p. 595–613, 2014.

LOU, Y.; ZHAO, Y.; ZHU, J.-J. Ultrasensitive optical detection of anions by quantum dots. **Nanoscale Horiz.**, v. 1, n. 2, p. 125–134, 2016.

LOUTFY, R. O. **Fluorescence probes for polymer free-volume** *Pure and Applied Chemistry*, 1986.

LUTFULLAH; KHAN, F.; RAHMAN, N. Solid phase extraction and determination of Cr(III) by spectrophotometry using cefaclor as a complexing reagent and FAAS. **Environmental monitoring and assessment**, v. 185, n. 6, p. 4959–67, jun. 2013.

MAHMOUD, W. E. Functionalized ME-capped CdSe quantum dots based luminescence probe for detection of Ba²⁺ ions. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 164, n. 1, p. 76–81, mar. 2012.

MANSUR, H. S.; MANSUR, A. A. P. CdSe quantum dots stabilized by carboxylic-functionalized PVA: Synthesis and UV–vis spectroscopy characterization. **Materials Chemistry and Physics**, v. 125, n. 3, p. 709–717, fev. 2011.

MAO, J.; HE, Q.; LIU, W. An “off-on” fluorescence probe for chromium(III) ion determination in aqueous solution. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 396, n. 3, p. 1197–203, fev. 2010.

MASHFORD, B. et al. Synthesis of quantum dot doped chalcogenide glasses via sol-gel processing. **Journal of Applied Physics**, v. 109, n. 9, p. 94305, 2011.

MELCHERT, W. R.; REIS, B. F.; ROCHA, F. R. P. Green chemistry and the evolution of flow analysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 714, p. 8–19, fev. 2012.

MEYER, B.; ZHANG, S.; SCHOLZ, F. The quantitative analysis of mixed crystals $\text{CuS}(x)\text{Se}(1-x)$ with abrasive stripping voltammetry and a redetermination of the solubility product of CuSe and the standard potential of the Cu/CuSe electrode. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 356, n. 3–4, p. 267–70, set. 1996.

MONDAL, B. C.; DAS, D.; DAS, A. K. Synthesis and characterization of a new resin functionalized with 2-naphthol-3,6-disulfonic acid and its application for the speciation of chromium in natural water. **Talanta**, v. 56, n. 1, p. 145–52, 4 jan. 2002.

MOZAFFARI, M. S. et al. Renal and glycemic effects of high-dose chromium picolinate in db/db mice: assessment of DNA damage. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 23, n. 8, p. 977–85, ago. 2012.

MURASE, N.; GAO, M. Preparation and photoluminescence of water-dispersible ZnSe nanocrystals. **Materials Letters**, v. 58, p. 3898–3902, 2004.

MURPHY, C. J. Peer Reviewed: Optical Sensing with Quantum Dots. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 19, p. 520 A–526 A, out. 2002.

NEAMEN, D. A. **Semiconductor physics and devices**. McGraw-Hill; 4th edition, 2011. 784 p.

NICHOLS, G. Applications of cathodoluminescence spectroscopy and imaging in the characterisation of pharmaceutical materials. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1–2, p. 19–42, jan. 2012.

NOUAILHAT, A. **An Introduction to Nanoscience and Nanotechnology**. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2006.

OLIN, Å. et al. **Chemical Thermodynamics of Selenium. Chemical Thermodynamics**. Elsevier Science. 2005. 894 p.

PASSOS, M. L. C. et al. Silica nanostructures synthesis and CdTe quantum dots immobilization for photocatalytical applications. **RSC Adv.**, v. 4, n. 104, p. 59697–59705, 3 nov. 2014.

PEI, J. et al. Synthesis of cysteamine-coated CdTe quantum dots and its application in mercury (II) detection. **Analytica chimica acta**, v. 757, p. 63–8, 13 dez. 2012.

PREUSS, H. G. et al. Comparing metabolic effects of six different commercial trivalent chromium compounds. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, n. 11, p. 1986–1990, 2008.

QIAN, F. et al. Controlled Synthesis of AlN/GaN Multiple Quantum Well Nanowire Structures and Their Optical Properties. **Nano Letters**, v. 12, n. 6, p. 3344–3350, 13 jun. 2012.

QUINTAR, S. E. et al. The influence of the variable sample volume and constant added standard on the determination of copper, nickel and chromium by atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 51, n. 1, p. 7–10, 24 jan. 2000.

REVANASIDDAPPA, H. D.; KIRAN KUMAR, T. N. A highly sensitive spectrophotometric determination of chromium using leuco Xylene cyanol FF. **Talanta**, v. 60, n. 1, p. 1–8, 28 maio 2003.

RIBEIRO, D. S. M. et al. Photoactivation by visible light of CdTe quantum dots for inline generation of reactive oxygen species in an automated multipumping flow system. **Analytica chimica acta**, v. 735, p. 69–75, 20 jul. 2012.

RIZZATTI, I. M.; ZANETTE, D. R.; MELLO, L. C. Determinação potenciométrica da concentração micelar crítica de surfactantes: uma nova aplicação metodológica no ensino de Química. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 518–521, 2009.

ROBERTSON, C. A.; EVANS, D. H.; ABRAHAMSE, H. Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 96, n. 1, p. 1–8, jul. 2009.

ROCKSBY, H. P. Color of selenium ruby glasses. **journal society glass technology**, v. 16, n. 171, 1932.

RODRIGUES, D. M. C. et al. Antioxidant capacity automatic assay based on inline photogenerated radical species from l-glutathione-capped CdTe quantum dots. **Talanta**, v. 141, p. 220–229, 2015.

RODRIGUES, S. S. M. et al. Determination of iron in biodiesel based on fluorescence quenching of CdTe quantum dots. **Fuel**, v. 117, p. 520–527, jan. 2014.

ROTTMAN, C. *et al.* **Doped sol-gel glasses as pH sensors Materials Letters**, 1992.

RŮŽIČKA, J.; HANSEN, E. H. Stopped flow and merging zones - a new approach to enzymatic assay by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 106, n. 2, p. 207–224, 1979.

SAHUQUILLO, A. et al. Extractable chromium determination in soils by AAS. **Mikrochimica Acta**, v. 119, n. 3–4, p. 251–258, set. 1995.

SALUJA, P. et al. Benzimidazole-based fluorescent sensors for Cr^{3+} and their resultant complexes for sensing and F-. **Tetrahedron**, v. 68, n. 41, p. 8551–8556, out. 2012.

SÁNCHEZ-MORENO, R. A. et al. Evaluation of solid-state platforms for chromium (VI) potentiometric sensor development. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 143, n. 2, p. 716–723, 7 jan. 2010.

SANTANA, R. M. M. et al. Enhancing reactive species generation upon photo-activation of CdTe quantum dots for the chemiluminometric determination of unreacted reagent in UV. **Talanta**, v. 135, p. 27–33, 2015.

SASAKI, M. K. et al. Chemiluminometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical formulations exploiting photo-activation of GSH-capped CdTe quantum dots. **Luminescence: the journal of biological and chemical luminescence**, v. 29, n. 7, p. 901–7, 3 nov. 2014.

SASHCHIUUK, A. et al. Optical and conductivity properties of PbS nanocrystals in amorphous zirconia sol-gel films. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 24, n. 1, p. 31–38, 2002.

SCHWARZ, K.; MERTZ, W. Chromium(III) and the glucose tolerance factor. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 85, p. 292–5, nov. 1959.

SECTION, S. P. **Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties**The Royal Society & The Royal Academy of Engineering. **Disponível em:** [https://royalsociety.org/topicspolicy/publications/2004/nanoscience nanotechnologies/](https://royalsociety.org/topicspolicy/publications/2004/nanoscience%20nanotechnologies/) 08/05/2016. Data de acesso 06/08/2016.

SELVAN, S. T. et al. Synthesis of Tunable, Highly Luminescent QD-Glasses Through Sol-Gel Processing. **Advanced Materials**, v. 13, n. 12–13, p. 985–988, jul. 2001.

SELVAN, S. T. et al. **Formation of Luminescent CdTe–Silica Nanoparticles through an Inverse Microemulsion Technique**Chemistry Letters, 2004.

SILVESTRE, C. et al. Single reaction interface flow system for chemiluminescent monitoring of mannitol based on its hydroxyl radical scavenger activity. **Talanta**, v. 77, n. 2, p. 518–521, 15 dez. 2008.

SILVESTRE, C. I. C. et al. Quantum dots assisted photocatalysis for the chemiluminometric determination of chemical oxygen demand using a single interface flow system. **Analytica Chimica Acta**, v. 699, n. 2, p. 193–197, 12 ago. 2011.

SILVI, S.; CREDI, A. Luminescent sensors based on quantum dot–molecule conjugates. **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, n. 13, p. 4275–4289, 2015.

SINGH, L. P. et al. Sol-Gel processing of silica nanoparticles and their applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 214, p. 17–37, dez. 2014.

SIVARAMAN, G.; VIDYA, B.; CHELLAPPA, D. Rhodamine based selective turn-on sensing of picric acid. **RSC Advances**, v. 4, n. 58, p. 30828, 2 jul. 2014.

SNEE, P. T. et al. A Ratiometric CdSe/ZnS Nanocrystal pH Sensor. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 41, p. 13320–13321, out. 2006.

SPANHEL, L. et al. Photochemistry of colloidal semiconductors. 20. Surface modification and stability of strong luminescing CdS particles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 109, n. 19, p. 5649–5655, set. 1987.

STEFAN, R.-I.; BAIRU, S. G.; VAN STADEN, J. F. Diamond paste-based electrodes for determination of Cr(III) in pharmaceutical compounds. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 376, n. 6, p. 844–7, jul. 2003.

STÜRZENBAUM, S. R. et al. Biosynthesis of luminescent quantum dots in an earthworm. **Nature Nanotechnology**, v. 8, n. 1, p. 57–60, 23 dez. 2012.

SUI, C.X. *et al.* CdTe-CdSe nanocrystals capped with dimethylaminoethanethiol as ultrasensitive fluorescent probes for chromium(VI). **Microchimica Acta**, v. 181, n. 3–4, p. 347–353, 14 nov. 2013.

SUN, H. et al. Highly Luminescent Hybrid SiO₂-Coated CdTe Quantum Dots Retained Initial Photoluminescence Efficiency in Sol–Gel SiO₂ Film. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, p. 1562–1566, 2015.

TAVERNIERS, I.; DE LOOSE, M.; VAN BOCKSTAELE, E. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 8, p. 535–552, set. 2004.

TRIANAFILLIDIS, C.; ELSAESSER, M. S.; HÜSING, N. Chemical phase separation strategies towards silica monoliths with hierarchical porosity. **Chemical Society reviews**, v. 42, n. 9, p. 3833–3846, 2013.

VAINRUB, A. et al. **Sol-gel polymerization in alkoxysilanes: 29Si nmr study and simulation of chemical kinetics** *Materials Science and Engineering: B*, 1996.

VALEUR, B.; BERBERAN-SANTOS, M. N. **Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Imaging Fluorescence Applications in Biotechnology and Life Sciences Surface Enhanced Raman Spectroscopy Applied and Industrial Photochemistry**. Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA. 2012. Weinheim, Germany. 553 p.

VINCENT, J. B. The biochemistry of chromium. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 4, p. 715–8, abr. 2000.

VINCENT, J. B. The bioinorganic chemistry of chromium(III). **Polyhedron**, v. 20, n. 1–2, p. 1–26, jan. 2001.

VINCENT, J. B. Chromium: celebrating 50 years as an essential element? **Dalton Transactions**, v. 39, n. 16, p. 3787, 2010.

WALKER, G. W. et al. Quantum-dot optical temperature probes. **Applied Physics Letters**, v. 83, n. 17, p. 3555, 2003.

WALTER, P. et al. Early Use of PbS Nanotechnology for an Ancient Hair Dyeing Formula. **Nano Letters**, v. 6, n. 10, p. 2215–2219, out. 2006.

WANG, Y. et al. Energy dependence of radioluminescence spectra from strontium titanate. **Journal of Luminescence**, v. 166, p. 17–21, out. 2015.

WANG, Y.; YEOW, J. T. W. A Review of Carbon Nanotubes-Based Gas Sensors. **Journal of Sensors**, v. 2009, p. 1–24, 2009.

WOLFBEIS, O. S. Chemical sensors ? survey and trends. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 337, n. 5, p. 522–527, 1990.

WU, P. et al. Semiconductor quantum dots-based metal ion probes. **Nanoscale**, v. 6, n. 1, p. 43–64, 7 jan. 2014.

XU, S. et al. Discriminative detection of bivalent Mn ions by a pH-adjustable recognition method via quantum dot fluorescence sensing. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 18, p. 9216, 2012.

YANG, P.; LI, C. L.; MURASE, N. Highly Photoluminescent Multilayer QD–Glass Films Prepared by LbL Self-Assembly. **Langmuir**, v. 21, n. 19, p. 8913–8917, 13 set. 2005.

YANG, P.; MURASE, N. Preparation-Condition Dependence of Hybrid SiO₂ - Coated CdTe Nanocrystals with Intense and Tunable Photoluminescence. **Advanced Functional Materials**, v. 20, n. 8, p. 1258–1265, 23 abr. 2010.

YANG, Z. Facile fabrication of uniform silica films with highly luminescent hydrophobic QDs through direct phase transfer. **Advanced Materials Letters**, v. 3, n. 1, p. 2–7, 1 jan. 2012.

YOSHIKAWA, K. et al. Novel liquid-membrane oscillator with anionic surfactant. **Langmuir**, v. 2, n. 6, p. 715–717, 1986.

YU, J.; ZHANG, J.; JARONIEC, M. Preparation and enhanced visible-light photocatalytic H₂-production activity of CdS quantum dots-sensitized Zn_{1-x}Cd_xS solid solution. **Green Chemistry**, v. 12, n. 9, p. 1611, 2010.

YU, W. et al. Experimental determination of the extinction coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 17, p. 2854–2860, 2003.

ZAGHDOUDI, W. et al. Synthesis, optical and structural properties of quantum-wells crystals grown into porous alumina. **Superlattices and Microstructures**, v. 71, p. 117–123, jul. 2014.

ZHANG, A.; YANG, P.; MURASE, N. Fabrication of SiO₂ Beads with High Concentrated Hydrophobic CdSe/Cd_xZn_{1-x}S *Quantum dots* Using Functional Alkoxides. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 13, n. 4, p. 2993–2998, 1 abr. 2013.

ZHAO, D. *et al.* “Turn off–on” fluorescent sensor for platinum drugs-DNA interactions based on quantum dots. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 52, p. 29–35, fev. 2014.

ZHAO, T. *et al.* Phosphorescent sensing of Cr^{3+} with protein-functionalized Mn-doped ZnS quantum dots. **The Analyst**, v. 138, n. 21, p. 6589–94, 7 nov. 2013.

ZOU, L. *et al.* Ultrafast synthesis of highly luminescent green- to near infrared-emitting CdTe nanocrystals in aqueous phase. **Journal of Materials Chemistry**, v. 18, p. 2807, 2008.

Anexo



Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Employment of electrochemically synthesized TGA–CdSe quantum dots for Cr^{3+} determination in vitamin supplements



Gustavo C.S. de Souza^{a,b}, Éden E.A. de Santana^a, Paulo A.B. da Silva^{b,c}, Denilson V. Freitas^b, Marcelo Navarro^b, Ana Paula S. Paim^b, André F. Lavorante^{a,*}

^a Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil

^b Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Jornalista Aníbal Fernandes, s/n-Cidade Universitária, 50740-560 Recife, PE, Brasil

^c Instituto Federal de Alagoas, Campus Coruripe, 57035-000 Maceió, AL, Brasil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 May 2015

Received in revised form

16 July 2015

Accepted 18 July 2015

Available online 20 July 2015

Keywords:

CdSe quantum dots

Vitamin supplements

Electrochemical synthesis

Chromium ion (III)

ABSTRACT

The fluorescence quenching of TGA–CdSe quantum dots (QDs) was used for Cr^{3+} quantification in vitamin supplements. The QD was electrochemically synthesized, demonstrating high reproducibility with control of particle size, thus making it a clean method, without the presence of reducing agents. Under ideal conditions, with the fluorescence band at 551 nm (excitation 365 nm), the maximum fluorescence quenching was observed at pH 4.0, with a time of 200 s for each data acquisition. Under optimum experimental conditions, linear quenching was observed for Cr^{3+} in the range of 25.0–325.0 ng L^{-1} ($R=0.9996$, $n=6$), a limit of detection of 5.67 ng L^{-1} , and relative standard deviation of 4.43% ($n=10$). The recovery test for Cr^{3+} quantification in vitamin supplements presented results from 82% to 98%. These Cr^{3+} determination results were compared to the same vitamin supplement sample using flame atomic absorption spectrometry (FAAS) method, and no significant differences were observed at 95% confidence level.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Chromium (III) is a micronutrient essential for the proper functioning of living organisms. Daily intake of chromium (III) is required for carbohydrate and lipid metabolism [1,2]. The ability of chromium (III) to improve insulin level and to reduce blood glucose and lipids has been reported previously in diabetic rats [3,4]. Many studies have shown the benefits of chromium intake for glycemic control, such as the decrease of cholesterol and glucose levels in diabetic patients [5,6]. This is an essential micronutrient with a recommended daily intake between 50 and 200 μg for adults [7].

Some works have reported that only two naturally occurring compounds are known as chromium-containing molecules [8]. The first is transferrin, which acts as a chromium (III) molecular transport agent to insulin-sensitive cells. The second is the well-known oligopeptide chromodulin, which binds to the chromic ions in a response that may function as a part of a novel insulin-signaling autoamplification mechanism in humans [8,9].

Since the ingestion of chromium (III) vitamin supplements,

such as chromium (III) picolinate, have become common, it is important to find efficient methodologies for analyzing the content of chromium (III) in these products [6].

The luminescence properties of inorganic nanomaterials make them of great interest to researchers in Chemistry. A QDs or colloidal semiconductor nanoparticle is a material that has all three dimensions confined to a 1–10 nm of scale and exhibits quantum mechanical properties [9]. The fluorescence of the QDs is dependent on the size of the nanoparticle which contributes to its stability and could be synthesized by combination of atom groups from the periodic table such as, IIB–VIB, IIIB–VB and IVB–VIB [10]. A number of procedures have reported QD syntheses of the following semiconductors: CdSe, CdTe, ZnSe, CdS, CdSe/ZnS, and InP [10].

In general, there are non-aqueous and aqueous routes for the synthesis of quantum dots in colloidal suspension, according to the reaction medium. Normally, the non-aqueous route is carried out at high temperatures with organic solvents. The aqueous route is carried at lower temperatures and employs polar organic stabilizers. The QDs obtained in an aqueous medium, however, have a lower quantum yield [11]. Both routes employ highly toxic, pyrophoric and explosive precursors, such as the reducing agents NaBH_4 or N_2H_4 . Alternative procedures have been developed using electrochemistry as a cleaner method for obtaining of QDs

* Corresponding author.

E-mail address: afavora@dq.ufpe.br (A.F. Lavorante).



RSC Advances

ARTICLE

Clean photoinduced generation of free reactive oxygen species by silica films embedding MPA-CdTe quantum dots

Received 00th January 20xx,
Accepted 00th January 20xx

DOI: 10.1039/x0xx00000x

www.rsc.org/

Gustavo C. S. de Souza,^a David S. M. Ribeiro,^b S. Sofia M. Rodrigues,^b Ana Paula S. Paim,^a André F. Lavorante,^c Valdinete L. da Silva,^d João L. M. Santos,^{*b} Alberto N. Araújo^{*b} and Maria Conceição B. S. M. Montenegro^{*b}

CdTe quantum dots capped with mercaptopropionic acid and with 3.5 nm in size were entrapped in sol-gel films prepared with tetramethyl orthosilicate under mineral acidic catalysis in the presence of Triton X-100 as non-ionic surfactant. The follow-up of the sol-gel process was performed in real-time both with the fluorescent crystal-violet as molecular rotor and with quantum dots. Clusters of nanoparticles with 500 nm in size become homogeneously distributed in films, but preserving initial photoluminescence quantum yields (21%), and emission spectrum and with increased excited state lifetime (65±4 ns) and photostability. Films photoactivation inside a multi-pumping flow system enabled reproducible generation of reactive oxygen species determined by chemiluminescence using the alkaline luminol reagent, thus opening future development of clean and environment friendly analytical applications.

Introduction

Quantum dots (QDs) in colloidal solution have been largely exploited as fluorescent reagents for analytical and biological applications.^{1,2} The enhanced photostability, quantum efficiency of luminescence and tenability of emission also turn them attractive alternatives to conventional organic fluorophores in contexts ranging from the improvement of optoelectronic and solar cell devices to sensing and (bio)imaging equipment.^{3–6} Those properties can be patterned through elemental composition, crystallinity, size and shape, defects and impurities. The QDs combining zinc or cadmium with oxygen, sulfur, selenium or tellurium as II-VI semiconductive compounds are particularly popular due to direct band gap allowance and the numerous available recipes for synthesis. However, several hazardous effects upon humans and environment are particularly cumbersome. Cadmium for instance, has no recognized physiological role in humans yet dermal, pulmonary and gastrointestinal exposure causes serious kidney, bone and pulmonary damages including cancer.⁷ Regulatory agencies like Environmental Protection

Agency (EPA) and Occupational Safety and Health Administration impose respectively the limits of 5 µg/L to drinking water and 100 ppb to workplace air in order to restrain biohazard.⁸ In turn, engineered nanoparticles in monodisperse colloidal sols exhibit peculiar aggregation, adsorptive and reactive behaviours which include increased metal bioavailability and toxicity to biota.^{9,10} Thus, usages based on immobilized QDs and recycling of out of use materials are of great interest, being also beneficial to provide cost-effective analytical applications, reduce wastes and to mitigate environmental concern upon discard. Additionally, the same structured material becomes accessible for multiple purposes, including continuous reactive surface, separation unit or as reusable sensor.¹¹

Many efforts have been undertaken to incorporate QDs into silica sol-gel matrices while preserving the initial photoluminescence properties.^{12–17} Several two-step procedures, *i.e.* separate preparation of nanostructured particles followed by incorporation in the silica bulk medium, are typically used to immobilize QDs in glass films. In this way, luminescent materials with good mechanical characteristics, high transparency, low UV light sensitivity and high thermal stability could be implemented. The alternative *in situ* preparation of nanocrystals in molten glasses evidenced low versatility entailing the synthesis process, inevitable particle oxidation, volatilization of metal chalcogenides during glass densification and limited ability to obtain core/shell nanostructures.¹⁸ Room temperature procedures were attempted to synthesise II-VI^{19,20} and IV-VI QDs²¹ during the hydrolysis-condensation of silica alkoxydes in simpler manner but particle size heterogeneity and high-concentration defects were pointed out as main disadvantages. Thus, bottom-up

^a Dep. Química Fundamental, Univ. Federal Pernambuco, Av. Jornalista Aníbal Fernandes, s/n - Cidade Universitária, 50740-560 Recife, PE, Brasil.

^b LAQV, REQUIMTE, Dep. Química Aplicada, Fac. Farmácia, Univ. Porto, R. Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313, Porto, Portugal.

^c Dep. Química, Univ. Federal Rural de Pernambuco, R. D. Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

^d Dep. Engenharia Química, Univ. Federal Pernambuco, R. Teresa Mello s/n Cidade Universitária 50740-521 - Recife, PE - Brasil.

* J.L.M. Santos, A.N. Araújo and M.C.B. da Silva are the corresponding authors. E-mail: joaolms@ff.up.pt, anaraujo@ff.up.pt and mcbranco@ff.up.pt
Electronic Supplementary Information (ESI) available: [details of any supplementary information available should be included here]. See DOI: 10.1039/x0xx00000x