



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

**IZABEL GOMES DE SOUZA SOBRINHA**

**Obtenção de Pontos Quânticos de Calcogenetos de Prata com Luminescência NIR**  
**Aprimorada para Aplicações Analíticas e em Diagnóstico por Imagem**

**Recife**  
**2024**

**IZABEL GOMES DE SOUZA SOBRINHA**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFPE como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Química.

**Orientadora: Profa. Dra. Giovannia Araújo de Lima Pereira**

**Coorientadora: Profa. Dra. Maria Goreti Carvalho Pereira**

**Recife**

**2024**

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Souza-Sobrinha, Izabel Gomes de.

Obtenção de Pontos quânticos de Calcogenetos de prata com luminescência NIR aprimorada para aplicações analíticas e em diagnóstico por imagem / Izabel Gomes de Souza Sobrinha. - Recife, 2025.

142f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Programa de Pós-Graduação em Química, 2025.

Orientação: Giovannia Araújo de Lima Pereira.

Coorientação: Maria Goreti Carvalho Pereira.

1. Pontos quânticos (PQs); 2. Luminescência no infravermelho próximo (NIR); 3. PQs hidrofílicos; 4. Sondas bimodais IF/IRM. I. Pereira, Giovannia Araújo de Lima. II. Pereira, Maria Goreti Carvalho. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

**IZABEL GOMES DE SOUZA SOBRINHA**

**X**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFPE como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Química.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profª Giovannia Araújo de Lima Pereira (Orientadora)  
Departamento de Química Fundamental  
Universidade Federal de Pernambuco

---

José Licarion Pinto Segundo Neto  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

---

Júlio Santos Rebouças  
Universidade Federal da Paraíba

---

Severino Alves Junior  
Departamento de Química Fundamental  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Ricardo Oliveira da Silva  
Departamento de Química Fundamental  
Universidade Federal de Pernambuco

## **Agradecimentos**

Agradeço imensamente às minhas duas orientadoras, Giovannia e Goreti. Repetindo-me mais uma vez, tenho muita sorte de ter estado sob a vossa supervisão. Muitos outros poderiam me fornecer o conhecimento específico ou a infraestrutura que vocês me proporcionaram, mas sei que em poucos lugares eu teria recebido o apoio, respeito, confiança e carinho que recebi de vocês. Agradeço a todos aqueles que compõem e compuseram o LINCC, desde quando nem laboratório tínhamos, em especial àqueles que foram e são meus amigos: Ingrid, Gabi, Jailson, Joalen, Max, Mércia, Rebeca e Wedja. Vocês foram meus dias mais alegres em todo o tempo de pós-graduação, mas também foram meu lugar seguro. Ingrid, sem tua dedicação, compromisso e parceria durante boa parte do doutorado, esse trabalho não seria possível. À profa. Claudete e Felipe pelas contribuições, colaboração e todo auxílio que prestaram. A todos os professores das disciplinas que cursei durante o mestrado e doutorado. Agradeço a todos os servidores e colaboradores do DQF que permitiram a execução deste e de todos os trabalhos desenvolvidos no departamento. Em especial à Patrícia, a quem eu dei trabalho algumas vezes. Além de exercer sua função com competência e excelência, faz isso com tanta generosidade e cuidado que transborda. À Central Analítica do DQF e ao CEMENE pela infraestrutura disponibilizada, à Capes pela bolsa e financiamento concedidos, à UFPE, CNPq, FACEPE e INCTAA pelo apoio financeiro. Agradeço à Amanda, Bruninha, Evanily, Jéssica, Jeice, Karen, Kamila e Simone, que entraram na minha vida através da universidade e permanecem nela pela amizade que construímos. Tê-las em minha vida me faz desejar que cada mulher no mundo possa se cercar de outras mulheres que se apoiam, se respeitam e se acolhem sem julgamentos. Aos meus brothers Álvaro e Bernardo, pela amizade de anos e, principalmente nos últimos, pela companhia (inclusive e principalmente nas caronas mais caóticas), por terem me ouvido reclamar sempre que precisei, por entrarem na minha onda quando meu humor ácido vem à tona e por toda a generosidade que admiro demais em vocês dois. Nos últimos dias, pensando em tudo que me conduziu até aqui, foi inevitável concluir que ter em mente fazer sempre o melhor possível, ter consciência das minhas capacidades e ser gentil com aqueles ao meu redor foram os fatores mais importantes. Por isso, agradeço aos meus pais, Joaquim e Terezinha, que me ensinaram tudo isso, às vezes com palavras, mas principalmente

com exemplos. Nem sempre pude cumprir com o que vocês me ensinaram, mas foram essas referências que sempre me trouxeram “de volta para o eixo”. Agradeço aos meus irmãos, Júnior e Rubiana, cada um de vocês, de suas maneiras diferentes, me ensina tanto. Para mim, o laço de irmão é único; por um longo tempo estivemos juntos no mesmo lugar, vivendo as mesmas coisas, e isso nos une de uma forma que não consigo comparar com mais nada. É em vocês, nos nossos pais e nas três criaturinhas que vocês me deram para ser tia que eu sempre penso a cada decisão. Ao meu companheiro pelos últimos 10 anos e alguns meses, Renan, tudo fica mais possível, mais calmo, mais seguro e mais alegre do teu lado. Vocês são minha família, estar com vocês sempre me deu tudo que precisei para seguir. Obrigada e amo vocês.

## Resumo

Pontos Quânticos (PQs) de calcogenetos de prata ( $\text{Ag}_2\text{X}$ ) apresentam luminescência no infravermelho próximo (NIR), e composição livre de metais tóxicos como cádmio, chumbo e mercúrio, os tornam atrativos no campo analítico e biomédico. Na literatura recente há diferentes estratégias de obtenção de PQs de  $\text{Ag}_2\text{X}$ . Neste trabalho, foi explorada a síntese coloidal *one-pot*, que reúne fácil execução, menor custo e menor impacto ambiental. Planejamento e otimização de experimentos (POE) foi aplicado para rastrear condições experimentais que fornecessem PQs com luminescência intensa e estreita (menor largura à meia altura, FWHM). Os melhores PQs de seleneto de prata estabilizados com ácido mercaptopropiônico ( $\text{Ag}_2\text{Se-MPA}$ ) obtidos apresentaram diâmetro médio de 6 nm, luminescência intensa com máximo em 1070 nm e um FWHM de aproximadamente 140 nm. Já os melhores PQs de telureto de prata estabilizados com ácido mercaptosuccínico ( $\text{Ag}_2\text{Te-MSA}$ ) apresentaram emissão com máximos entre 1048 e 1060 nm e FWHM entre 175 e 150 nm.

PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se-MPA}$  foram conjugados a complexos paramagnéticos para avaliar seu potencial como agentes de contraste (ACs) óptico-magnéticas para uso em Imagem por fluorescência (FI) e por Ressonância Magnética (MRI), somando a rápida resposta e sensibilidade elevada da FI com a alta resolução espacial e a capacidade de escaneamento tridimensional da MRI. Os complexos selecionados derivam do Gd-DOTA (gadolínio (III) 2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il] acetato) e foram modificados com cisteína (Cys), glutathione (GSH) e cisteamina (CTM). Os melhores PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se-MPA}$  foram conjugados aos complexos: Gd-DOTA-Cys, Gd-DOTA-CTM e Gd-DOTA-GSH. Os sistemas PQ-Gd-DOTA-Cys-100 e PQ-Gd-DOTA-GSH-50 exibiram os melhores resultados com aumentos de  $r_1$  de até 139 e 157% respectivamente. PQ-Gd-DOTA-GSH-50 manteve o perfil de emissão original e PQ-Gd-DOTA-Cys-100 exibiu aumento de 150% da intensidade de emissão e redução de 23% de FWHM.

Palavras-chave: Pontos quânticos (PQs); Luminescência no infravermelho próximo (NIR); PQs hidrofílicos; Sondas bimodais IF/IRM.

## Abstract

Silver chalcogenide quantum dots ( $\text{Ag}_2\text{X}$  QDs) exhibit near-infrared (NIR) luminescence and a composition free of toxic metals such as cadmium, lead, and mercury, which makes them attractive in the analytical and biomedical fields. In recent literature, different strategies for obtaining  $\text{Ag}_2\text{X}$  QDs have been reported. In this work, a one-pot colloidal synthesis was explored, which combines ease of execution, lower cost, and reduced environmental impact. Design of experiments (DOE) was applied to identify experimental conditions that would yield QDs with intense and narrow luminescence (lower full width at half maximum, FWHM). The best 3-mercaptopropionic acid-stabilized silver selenide QDs ( $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA) obtained presented an average diameter of 6 nm, strong luminescence with a maximum at 1070 nm, and an FWHM of approximately 140 nm. Meanwhile, the best mercaptosuccinic acid-stabilized silver telluride QDs ( $\text{Ag}_2\text{Te}$ -MSA) exhibited emissions with maxima between 1048 and 1060 nm and FWHM values ranging from 175 to 150 nm.

$\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA QDs were conjugated to paramagnetic complexes to assess their potential as optical-magnetic contrast agents (CAs) for use in fluorescence imaging (FI) and magnetic resonance imaging (MRI), combining the fast response and high sensitivity of FI with the high spatial resolution and three-dimensional scanning capability of MRI. The selected complexes derive from Gd-DOTA (gadolinium (III) 2-[4,7,10-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl] acetate) and were modified with cysteine (Cys), glutathione (GSH), and cysteamine (CTM). The best  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA QDs were conjugated to the following complexes: Gd-DOTA-Cys, Gd-DOTA-CTM, and Gd-DOTA-GSH. The PQ-Gd-DOTA-Cys-100 and PQ-Gd-DOTA-GSH-50 systems exhibited the best results, with  $r_1$  increases of up to 139 and 157%, respectively. PQ-Gd-DOTA-GSH-50 maintained the original emission profile, while PQ-Gd-DOTA-Cys-100 showed a 150% increase in emission intensity and a 23% reduction in FWHM.

**Keywords:** Quantum dots (QDs); Near-infrared luminescence (NIR); Hydrophilic QDs; Bimodal FI/MRI probes.



## Índice de Figuras

Figura 1.1 - Esquema de estrutura de bandas em isolantes (esq.), semicondutores macroscópicos (meio) e condutores (dir.) .....	20
Figura 1.2 - Representação esquemática do processo de emissão de fluorescência em um semicondutor .....	20
Figura 1.3 – Densidade de estados energéticos em um semicondutor (da esquerda para a direita) macroscópico, em confinamento quântico em 1, 2 e 3 dimensões. ....	22
Figura 1.4 – Representação da estrutura eletrônica em função da variação do tamanho de partícula do semicondutor .....	24
Figura 1.5 – Regiões espectrais de emissão de luminescência para PQs de diferentes composições.....	25
Figura 1.6 – Esquema que ilustra as profundidades de penetração da luz com diferentes comprimentos de onda, na pele.....	27
Figura 1.7 – (A) Coeficiente de absorção da água, hemoglobina (Hb) e oxi-hemoglobina (HbO <sub>2</sub> ) e (B) coeficientes de espalhamento para diferentes tecidos. ....	28
Figura 1.8 – Valores de <i>band gap</i> fundamental para calcogenetos de prata. ....	29
Figura 1.9 – Estruturas, nomes e siglas de alguns alquilídeos utilizados como estabilizantes para síntese de PQs coloidais em meio aquoso. ....	32
Figura 1.10 – Diagrama de energia livre em função do raio do cristal no processo de nucleação.....	33
Figura 1.11 – (A) Diagramas de taxa de crescimento e distribuição de tamanhos em função do raio do cristal e (B) diagrama de variação da concentração de monômeros em função do tempo de acordo com LaMer. ....	36
Figura 1.12 – Esquemas ilustrativos de: A – Três primeiras transições eletrônicas permitidas para um PQ; B - Perfil de absorção com os três primeiros máximos de absorção para uma dada distribuição de tamanhos; C –Espectro de absorção do primeiro máximo para PQs com o aumento da dispersão de tamanhos (do mais claro para o mais escuro). ....	38
Figura 1.13 – Esquema ilustrativo para: A - diferentes processos de decaimento após absorção de fótons em PQs, (1) decaimento radiativo por recombinação excitônica, (2) decaimento radiativo a partir de níveis de energia relacionados a defeitos e (3)	

decaimento não radiativo; B – Perfis de emissão para PQs com defeitos que apresentam decaimentos radiativos; C – Perfis de emissão a partir de recombinação excitônica radiativa. ....	39
Figura 1.14 — (A) Representação esquemática dos prótons em um sistema na ausência de um campo magnético externo ( $B_0$ ); (B) Alinhamento dos prótons após serem colocados sob $B_0$ , criando uma pequena magnetização resultante de equilíbrio ( $M_0$ ); (C) Representação em ampulheta da precessão dos prótons ao redor do eixo z de $B_0$ . ....	47
Figura 1.15 — Ilustração do (A) vetor magnetização $M_0$ resultante da interação dos spins dos prótons com um campo magnético externo principal $B_0$ e (B) na presença de um segundo campo $B_1$ que provoca uma perturbação capaz de dividir $M_0$ em duas componentes: magnetização transversal $M_{xy}$ e magnetização longitudinal $M_z$ . ....	48
Figura 1.16 — Relaxação da magnetização longitudinal e transversal após a inversão da magnetização líquida $M_0$ em um ângulo de $90^\circ$ ; no intervalo de tempo $T_1$ , $M_z$ relaxa até recuperar 63% da magnetização líquida $M_0$ . No intervalo de tempo $T_2$ e $M_{xy}$ perde 63% da magnetização. ....	49
Figura 1.17 — Estruturas de alguns ACs baseados em Gd. ....	51
Figura 1.18 — Representação esquemática das possíveis localizações das moléculas de água em um complexo paramagnético e alguns dos parâmetros relacionados que contribuem para a relaxividade total. ....	52
Figura 1.19 — Principais parâmetros associados a mudanças no mecanismo relaxação quando um complexo paramagnético é conjugado a uma espécie de tamanho maior. .	60
Figura 3.1 – Esquema geral para obtenção de PQs coloidais de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA em meio aquoso.....	67
Figura 3.2 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$ ) para as principais sínteses de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA realizadas no planejamento experimental 1. ....	71
Figura 3.3 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$ ) para as sínteses de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA com menor FWHM no planejamento experimental 1. ....	73
Figura 3.4 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$ ) para as principais sínteses de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA realizadas no planejamento experimental 2. ....	75
Figura 3.5 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$ ) para as sínteses de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA correspondentes aos pontos fatoriais do planejamento experimental 3. ....	78

Figura 3.6 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{exc} = 470 \text{ nm}$ ) para as sínteses de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA correspondentes aos pontos axiais do planejamento experimental 3. ....	79
Figura 3.7 - Gráficos de superfícies de resposta para Intensidade PL de acordo com a função obtida através dos efeitos significativos para o modelo. A aproximação da região em vermelho indica melhora (aumento) na resposta intensidade de PL. ....	81
Figura 3.8 - Gráfico de superfície de resposta para FWHM de acordo com a função obtida através dos efeitos significativos para o modelo. A aproximação da região em verde indica melhora (diminuição) na resposta FWHM. ....	82
Figura 3.9 - Difratoograma de raios-X de nanopartículas de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA sintetizadas nas melhores condições experimentais (melhores valores de Intensidade de emissão e FWHM simultaneamente). ....	86
Figura 3.10 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de nanopartículas $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA sintetizadas nas melhores condições experimentais (melhores valores de Intensidade de emissão e FWHM simultaneamente). ....	87
Figura 3.11 - Espectro FTIR de PQs $\text{Ag}_2\text{Se}$ – MPA preparados com as melhores propriedades ópticas. ....	88
Figura 3.12 - Espectros IR-ATR corrigidos na linha de base para violeta de metila 2B ( $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) na ausência (linha vermelha) e presença de PQs $\text{Ag}_2\text{Se}$ – MPA (linha preta). ....	89
Figura 4.1 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{exc} = 470 \text{ nm}$ ) obtidos no dia 2 para as sínteses de $\text{Ag}_2\text{Te}$ -MSA do planejamento experimental 1. ....	95
Figura 4.2 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{exc} = 470 \text{ nm}$ ) obtidos no dia 8 para as sínteses de $\text{Ag}_2\text{Te}$ -MSA do planejamento experimental 1. ....	97
Figura 4.3 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{exc} = 470 \text{ nm}$ ) obtidos no dia 8 para sínteses de $\text{Ag}_2\text{Te}$ -MSA em pH 10 e $90^\circ\text{C}$ com tempos de reação de 1, 3 e 8 h. ....	101
Figura 4.4 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{exc} = 470 \text{ nm}$ ) obtidos no dia 8 para sínteses de $\text{Ag}_2\text{Te}$ -MSA em pH 10 tempo de reação de 3 h com temperaturas de reação entre 10 e $90^\circ\text{C}$ . ....	103
Figura 5.1 – Estruturas do complexo Gd – DOTA e seus derivados após modificação com adição dos ligantes cisteína, cisteamina e glutatona. ....	108
Figura 5.2 – Esquema ilustrativo do procedimento de filtração e lavagem utilizado ...	109

Figura 5.3 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo, $\lambda_{exc} = 470$ nm) de PQs de $Ag_2Se$ -MPA antes e após ajuste de pH da suspensão. ....	112
Figura 5.4 - Espectros de absorção (tracejado) e de emissão (contínuo, $\lambda_{exc} = 470$ nm) de sistemas óptico magnéticos baseados em PQs de $Ag_2Se$ -MPA e complexos de gadolínio, utilizando 50 $\mu L$ (azul) e 100 $\mu L$ (vermelho) de solução contendo complexo. ....	113
Figura 5.5 – Possíveis estruturas dos PQs $Ag_2Se$ -MPA antes (esquerda) e após conjugação (direita) aos complexos de gadolínio do tipo Gd – DOTA - RSH. ....	115

## Lista de siglas e abreviaturas

AE	Agente estabilizante
BC	Banda de Condução
BV	Banda de Valência
CEMENE	Central Multiusuário De Espectroscopia Do Nordeste
CETENE	Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste
CT	Tomografia Computadorizada
CTM	Cisteamina
Cyis	L-Cisteína
DOTA	Ácido 1,4,7,10- tetraazociclododecano-1,4,7,10–tetracético
DRX	Difratometria de raios-X
DTPA	Ácido de dietilenotriaminapenta-acético
Eg	Separação energética entre BV e BC, energia da região proibida
FI	Imagem de Fluorescência
FWHM	Largura à meia altura. Do inglês <i>full width at half maximum</i>
GSH	Glutathione
ICP-OES	Espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente
IS	Esfera interna de coordenação. Do inglês <i>inner sphere</i>
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MPA	Ácido 3-mercaptopropiônico
MRI	Imagem por Ressonância Magnética
MSA	Ácido mercaptosuccínico
NIR	Infravermelho próximo. Do inglês <i>Near Infrared</i>
OS	Esfera externa de coordenação. Do inglês <i>outer sphere</i>
PC	Ponto central
PET	Tomografia por Emissão de Pósitron
PL	Fotoluminescência
PQ	Ponto Quântico
QY	Rendimento quântico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SPECT	Tomografia Computadorizada por Emissão de Pósitron-Único
US	Ultrassonografia

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 : FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
1.1 Pontos quânticos: descoberta e desenvolvimento .....	17
1.2 Semicondutores e confinamento quântico.....	18
1.3 Pontos quânticos: propriedades e aplicações .....	24
1.4 Fluorescência no infravermelho e Imagem biomédica .....	26
1.5 Calcogenetos de prata .....	29
1.6 Síntese de PQs coloidais em meio aquoso .....	30
1.6.1 Crescimento de cristais .....	32
1.7 Caracterização de propriedades ópticas de PQs .....	37
1.8 Revisando estratégias de síntese aquosa de PQs de Ag <sub>2</sub> Se e de Ag <sub>2</sub> Te na literatura .....	40
1.9 Planejamento e otimização de experimentos como estratégia para obtenção de PQs de Ag <sub>2</sub> Se e Ag <sub>2</sub> Te com propriedades melhoradas .....	43
1.10 Imagem biomédica multimodal .....	45
1.1.1 Ressonância Magnética Nuclear na obtenção de Imagens.....	45
1.1.2 Quelatos de Gadolínio como agentes de contraste para MRI e mecanismos de relaxação paramagnética.....	51
1.1.3 Toxicidade do íon Gd <sup>3+</sup> e estratégias para obtenção de ACs mais eficientes .....	56
1.1.4 Nanosondas óptico – paramagnéticas baseadas em PQs e quelatos de gadolínio para imagem multimodal .....	58
1.11 Estrutura dos capítulos seguintes .....	60
CAPÍTULO 2 : OBJETIVOS .....	62
2.1 Objetivo geral .....	62
2.2 Objetivos específicos .....	62

CAPÍTULO 3 : Melhorando propriedades ópticas de pontos quânticos hidrofílicos de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  – MPA através de abordagens quimiométricas para aplicações de (bio)detecção ..... 63

3.1 Introdução.....	63
3.2 Metodologia .....	66
3.2.1 Reagentes .....	66
3.2.2 Síntese dos PQs de $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA .....	66
3.2.3 Caracterizações ópticas .....	68
3.2.4 Otimização de propriedades ópticas através de planejamento e otimização de experimentos .....	68
3.2.5 Caracterizações morfológicas e estruturais .....	69
3.2.6 Experimentos de FTIR e SEIRA .....	70
3.3 Resultados e discussão.....	70
3.3.1 Resultados Do Planejamento Experimental Fatorial Fracionário $2^{4-1}$ (Planejamento Experimental 1) .....	70
3.3.2 Resultados Do Planejamento Experimental Fatorial Completo $2^3$ (Planejamento Experimental 2) .....	74
3.3.3 Resultados Do Planejamento Composto Central (Planejamento Experimental 3) .....	77
3.3.4 Etapas para formação de pontos quânticos $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA .....	83
3.3.5 Caracterização estrutural e morfológica de pontos quânticos $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA obtidos nas melhores condições estudadas .....	85
3.4 Aplicação de pontos quânticos $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA em SEIRA .....	88
3.5 Conclusões .....	90

CAPÍTULO 4 : Melhorando propriedades ópticas de pontos quânticos hidrofílicos de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  – MSA através de abordagens quimiométricas ..... 91

4.1 Introdução.....	91
4.2 Metodologia .....	91
4.2.1 Reagentes .....	91

4.2.2 Síntese dos PQs de Ag <sub>2</sub> Te-MSA .....	92
4.2.3 Caracterizações ópticas .....	93
4.2.4 Otimização de propriedades ópticas através de planejamento e otimização de experimentos .....	93
4.3 Resultados e discussão .....	94
4.3.1 Resultados do Planejamento Experimental Fatorial Completo 2 <sup>4</sup> .....	94
4.3.2 Resultados para os testes com diferentes tempos de síntese .....	101
4.3.3 Resultados para testes com diferentes temperaturas .....	102
4.3.4 Estudos adicionais .....	104
4.4 Conclusões .....	105
CAPÍTULO 5 : Desenvolvimento de sistemas óptico-paramagnéticos contendo PQs de Ag <sub>2</sub> Se–MPA e complexos de Gd (III) para imagem por fluorescência e por ressonância magnética .....	106
5.1 Introdução .....	106
5.2 Metodologia .....	107
5.2.1 Materiais .....	107
5.2.2 Preparação dos complexos de Gd (III) .....	107
5.2.3 Preparação dos sistemas bimodais .....	108
5.2.4 Caracterizações ópticas .....	110
5.2.5 Medidas de tempo de relaxação .....	110
5.2.6 Quantificação de Gd <sup>3+</sup> .....	110
5.2.7 Cálculo de rendimento de conjugação .....	111
5.2.8 Cálculo de relaxividade .....	111
5.3 Resultados e discussão .....	112
5.4 Conclusões .....	119
CAPÍTULO 6 : Conclusões gerais .....	121



## CAPÍTULO 1 : FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 1.1 Pontos quânticos: descoberta e desenvolvimento

Em 2023, três cientistas, Moungi G. Bawendi, Louis E. Brus, e Aleksey I. Yekimov receberam o prêmio Nobel de química pela descoberta e síntese de pontos quânticos (PQs) [1].

Entre o final da década de 1970 e o início de 1980, na então União Soviética, Yekimov e seu grupo de pesquisa deram o primeiro passo ao observar que propriedades ópticas de um semicondutor, CuCl, contido em uma matriz vítrea, eram dependentes do tamanho. Yekimov considerou que efeitos de tamanho quântico explicavam este comportamento e, baseando-se no modelo mecânico-quântico de “partícula na caixa” atuou nos anos seguintes na descrição e no aperfeiçoamento do modelo para estas observações. Os semicondutores estudados por Yekimov estavam aprisionados em vidros o que impulsionou a busca pela síntese de pontos quânticos como coloides, a fim de ampliar as possibilidades de processamentos posteriores [1,2].

Sem conhecer o trabalho de Yekimov e equipe, em 1983 nos Estados Unidos da América, Brus e colaboradores observaram efeitos de tamanho quântico em um semicondutor nanométrico, CdS, em meio coloidal. A partir dos resultados experimentais, Brus trabalhou no desenvolvimento de um modelo para descrever os achados [1,2]. A partir destas descobertas e das terminologias existentes “*Quantum Wells*” e “*Quantum Wires*”, Mark Reed nomeou como “*Quantum Dots*” materiais de dimensão zero em completo confinamento [1].

Em 1993 Bawendi e colegas desenvolveram um método de síntese e obtiveram pontos quânticos coloidais de CdSe com maior controle da forma e tamanho das nanopartículas e boas propriedades ópticas. Os pesquisadores demonstraram o controle de tamanho a partir do tempo de crescimento e a relação entre tamanho e mudança do perfil de absorção destes nanocristais coloidais. Até este momento era sabido que semicondutores em tamanhos nanométricos, apresentavam propriedades relacionadas à efeitos quânticos e, além disso, que era

possível obter esses materiais não só em matrizes vítreas, mas também em suspensão coloidal [1,2].

## 1.2 Semicondutores e confinamento quântico

A classificação de um material sólido quanto a sua condutividade eletrônica se dá a partir de sua estrutura eletrônica [3]. Em um cristal, a natureza ondulatória dos elétrons resulta numa configuração de energia em bandas [4]. Um sólido macroscópico contém aproximadamente  $10^{23}$  átomos por  $\text{cm}^3$ , o que faz da descrição matemática da estrutura eletrônica um problema bastante complexo e, recorrer a algumas aproximações e explorar a simetria de cristais tornam possível a resolução deste problema. Duas das principais aproximações feitas são: 1) os núcleos dos átomos são estacionários e suas posições no cristal são conhecidas e 2) o problema envolve um único elétron, todos os demais elétrons são tratados como parte dos íons, os quais exercem um potencial periódico sob um elétron [4,5,6]. Cada elétron está sob o mesmo potencial médio  $V(r)$  e o movimento para cada um deles pode ser descrito pela mesma equação de Schroedinger [5]:

$$H_{1e}\psi_n(r) = \left( \frac{p^2}{2m} + V(r) \right) \psi_n(r) = E_n \psi_n(r) \quad (1.1)$$

Onde  $H_{1e}$ ,  $\psi_n(r)$  e  $E_n$  são, respectivamente: o hamiltoniano de um elétron, a função de onda e energia de um elétron em um autoestado rotulado por  $n$ . O máximo de dois elétrons é acomodado em cada autoestado, com spins opostos. Agora o trabalho consiste em encontrar as soluções para a equação de Schrödinger para um elétron sob um potencial periódico, o que ainda é um problema complexo pelo número elevado de elétrons e, a depender da estrutura cristalina em questão, nesta etapa o uso de Teoria de Grupos é crucial [4,5]. A invariância de cristais frente a translações permite que os elétrons sejam descritos como ondas planas e, portanto, as soluções da equação de Schrödinger para este caso têm a forma geral dada pelo Teorema de Bloch e são chamadas funções de Bloch, para este caso a função é [4,5,6]:

$$\psi_{bloch,k}(x) = e^{ikx} \cdot u_k(x) \quad (1.2)$$

onde  $k$  é definido como o vetor de onda ( $k = 2\pi/\lambda$ ) que caracteriza a onda que descreve o elétron no cristal,  $e^{ikx}$  fornece o sinal da amplitude e é uma onda plana modulada por uma função periódica  $u_k(x)$  que representa a resposta do elétron ao potencial periódico. Se ocorre a translação da função de Bloch por uma distância  $a$ , a função difere apenas por uma constante, ou seja, quando  $x$  muda para  $x + a$ ,  $\psi_{bloch,k}(x)$  é dada por [5,6]:

$$T_a \psi_{bloch,k} = \psi_{bloch,k}(x + a) = e^{ika} \cdot \psi_{bloch,k}(x) \quad (1.3)$$

Devido a simetria, o hamiltoniano  $H_{1e}$  é invariante sob a translação, o que permite que suas autofunções possam ser expressas como autofunções de  $T_a$  como soma de funções de Bloch [5]:

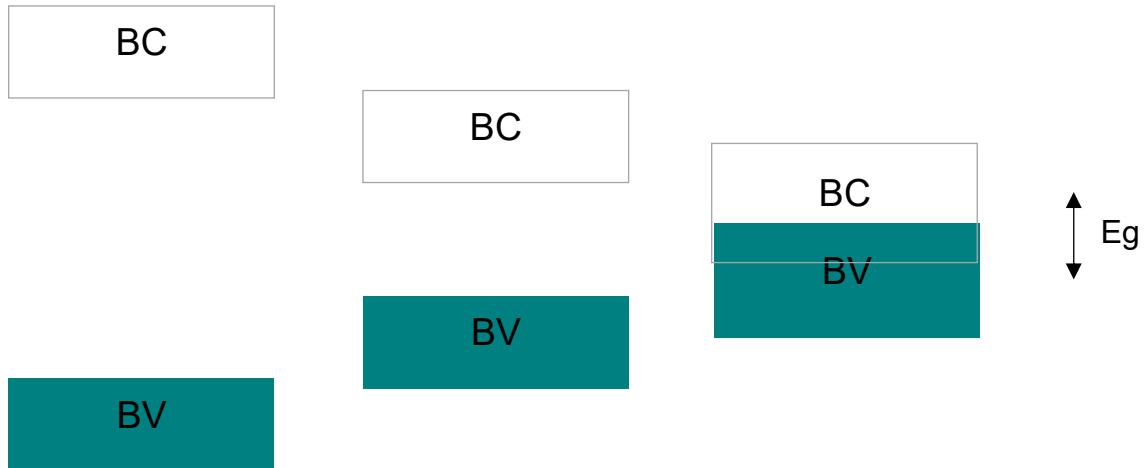
$$\psi(x) = \sum_k A_k \psi_{bloch,k}(x) = \sum_k A_k e^{ika} u_k(x) \quad (1.4)$$

onde  $A_k$  são constantes. A estrutura de bandas dos elétrons do cristal é obtida pelo gráfico das energias ( $E_k$ ) dos elétrons descritos por  $H_{1e}$  em função de seus respectivos vetores  $k$  e há diferentes formas de representá-la. Em três dimensões, pode ser complicado a visualização desta estrutura, por esta razão é comum que apenas as principais direções de  $k$  sejam representadas. Esta forma de representação é nomeada esquema de zonas reduzido, e consiste em transladar todas as bandas a serem representadas para a região do gráfico denominada primeira zona de Brillouin, que é delimitada por:  $-\pi/a < k < \pi/a$ . Uma vez que  $k$  varia discretamente, numa representação deste tipo é possível visualizar a ausência de estados permitidos entre as bandas, estas regiões são denominadas bandas proibidas [4,5].

A distribuição de elétrons nos níveis de energia de um sólido ocorre de forma análoga a distribuição eletrônica em átomos. A banda de valência (BV) corresponde ao nível eletrônico ocupado de mais alta energia, e a banda de condução (BC) é o

nível eletrônico desocupado de mais baixa energia. A região entre BV e BC é uma banda proibida (ou *band gap*, do inglês) com energia  $E_g$ . Em materiais condutores não há separação energética entre BV e BC, nos semicondutores a separação é menor ou igual a 3 eV enquanto nos isolantes a separação é maior que nos semicondutores (Figura 1.1) [7,8,9].

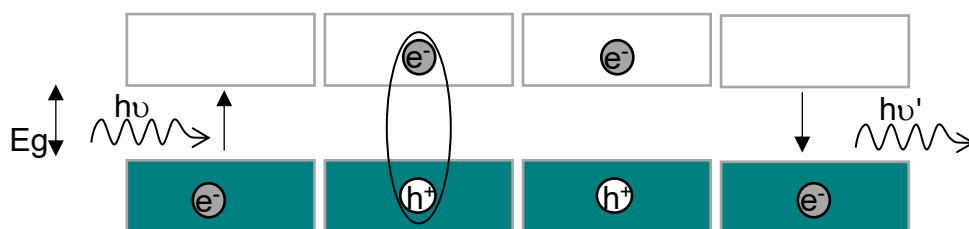
Figura 1.1 - Esquema de estrutura de bandas em isolantes (esq.), semicondutores macroscópicos (meio) e condutores (dir.)



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

Quando ocorre absorção de luz ou calor com energia igual ou superior a  $E_g$ , em um semicondutor, elétrons ( $e^-$ ) são excitados e passam a ocupar sítios na BC e, na BV surgem então vacâncias ( $h^+$ ) de carga oposta ao elétron [3,4]. Na ausência da fonte de excitação ocorre a relaxação do material e, a energia anteriormente absorvida é liberada resultando na emissão de fluorescência pelo material (Figura 1.2) [3].

Figura 1.2 - Representação esquemática do processo de emissão de fluorescência em um semicondutor



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

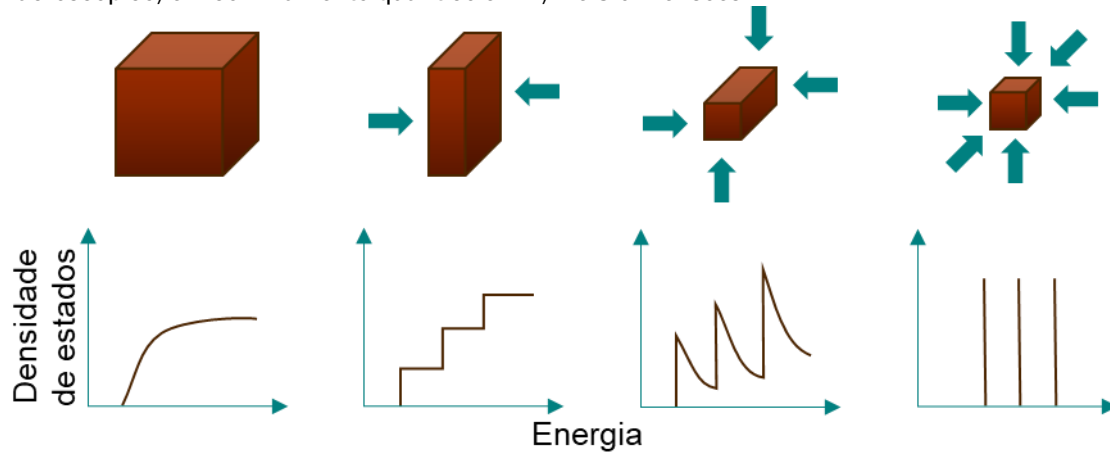
Elétrons ( $e^-$ ) e vacâncias ( $h^+$ ) podem ser compreendidos como portadores de carga, com massas efetivas  $m_e^*$  e  $m_h^*$ , respectivamente [3,4]. A massa efetiva leva em conta a interação da partícula com a rede cristalina e, portanto, as mudanças de mobilidade [4]. De acordo com o modelo atômico de Bohr o elétron ( $e^-$ ) orbita a vacância ( $h^+$ ) e interações de Coulomb formam o éxciton. A distância média entre o elétron e a vacância é dada pelo raio de Bohr do éxciton (Equação (1.5)) [3,10]:

$$a_B = \frac{4\pi\hbar\epsilon_0\epsilon}{m_0e^2} \left[ \frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right] \quad (1.5)$$

onde  $\hbar$  é a constante de Planck reduzida,  $\epsilon_0$  é a constante dielétrica para o semicondutor,  $\epsilon$  é a constante de permissividade do vácuo,  $m_0$  é massa do elétron em repouso, e  $e$  é a carga do elétron.

A estrutura de bandas descrita até aqui é adequada para semicondutores macroscópicos; quando as dimensões de um semicondutor se aproximam do raio de Bohr do material, os pares elétron-vacância (ou éxcitons) enfrentam um confinamento espacial (ou confinamento quântico) e os seus estados energéticos são modificados [4]. Nesta condição, o número de estados permitidos é menor e apresentam natureza quantizada (Figura 1.3). O confinamento quântico pode ocorrer em 1, 2 ou 3 dimensões (Figura 1.3) e os semicondutores nestas condições passam a ser denominados de poços quânticos, fios quânticos e pontos quânticos, respectivamente [7,9]. Em função das mudanças na estrutura eletrônica, semicondutores em confinamento quântico têm propriedades ópticas dependentes não só de sua composição e estrutura cristalina, mas também do tamanho das partículas [11].

Figura 1.3 – Densidade de estados energéticos em um semiconductor (da esquerda para a direita) macroscópico, em confinamento quântico em 1, 2 e 3 dimensões.



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

A descrição da estrutura eletrônica de semicondutores em confinamento espacial pode ser feita de duas maneiras: (1) tratar cada nanocristal como uma pequena porção do material macroscópico espacialmente confinado ou (2) tratar como um aglomerado molecular cada vez maior. Aqui a primeira abordagem será adotada. As funções de Bloch continuam úteis para descrever a estrutura de bandas, porém, agora uma função envelope entra na equação. Função envelope é uma solução da equação de Schroedinger para o problema da partícula na caixa [7,4], sendo a mesma dada pela equação (6):

$$\psi_{total}(x) = \psi_{bloch,k}(x) \cdot \varphi_{env}(x) \quad (1.6)$$

De forma análoga ao átomo de hidrogênio, o éxciton pode ser compreendido como uma entidade monoeletrônica. Em um PQ, cada éxciton está confinado em uma caixa esférica de diâmetro  $D$  com interior uniforme, e a energia potencial fora dos limites do nanocristal é infinita [7,3]. Considerando que cada éxciton está sob um potencial esférico e uniforme nas três dimensões, as autofunções podem então ser escritas com o produto dos harmônicos esféricos ( $Y(\vartheta, \varphi)$ ) e a função radial de Bessel ( $R(r)$ ) [4]:

$$\varphi_{env}(\theta, \varphi, r) = Y_l^m(\theta, \varphi) \cdot R(r) \quad (1.7)$$

As soluções da equação de Schroedinger a partir da equação (1.7) fornecem a estrutura de bandas de energia para elétrons confinados sob um potencial esférico [4]:

$$E_{n,l}^{conf}(D) = \frac{2\hbar X_{nl}^2}{m^* D^2} \quad (1.8)$$

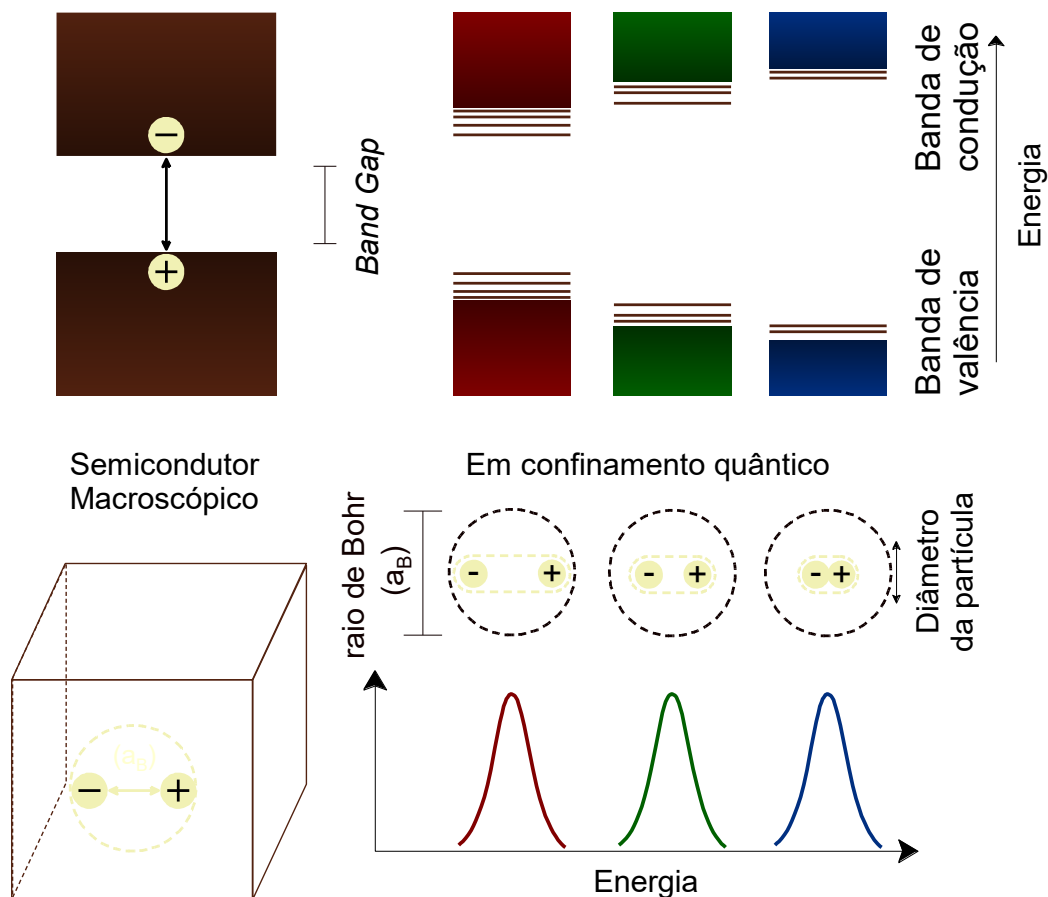
onde  $m^*$  é a massa efetiva do elétron ou do buraco,  $X_{nl}$  são as raízes para as funções de Bessel que são valores absolutos que dependem e aumentam de acordo com o número quântico principal  $n$  (1, 2, 3 ...) e o número quântico azimutal  $l$  (0, 1, 2, 3 ou s, p, d...). A partir disso é possível determinar as simetrias dos níveis discretos de energia em um PQ, onde de acordo com  $E_{nl}$ , o primeiro nível energético é 1S, o segundo 1P, e assim sucessivamente. A semelhança na descrição dos primeiros níveis de energia entre PQs e um átomo é a razão pela qual são chamados “átomos artificiais” [4]. A energia entre BV e BC,  $E_g^{total}$ , em um PQ tem a contribuição do  $E_g$  fundamental do semiconductor ( $E_g^o$ ), dependente da composição e estrutura cristalina e do  $E_g$  resultante do confinamento  $E_{n,l}^{conf}$  [4]:

$$E_g^{total}(D) = E_g^o + E_{n,l}^{conf}(D) = E_g^o + \frac{2\hbar X_{nl}^2}{m_{e-h}^* D^2} \text{ ou } E_g^o + \frac{2\hbar X_{nl}^2}{m_e^* D^2} + \frac{2\hbar X_{nl}^2}{m_h^* D^2} \quad (1.9)$$

onde  $m_{e-h}^*$  é a massa efetiva do éxciton. As duas variações da equação (1.9) refletem situações de 1) confinamento fraco e 2) confinamento forte. Até o limite de aproximadamente 3 vezes  $a_B$  observa-se confinamento quântico. Na situação 1) o raio do nanocristal  $> a_B$  e as interações de Coulomb entre elétrons e vacâncias são suficientemente fortes para que o éxciton seja tratado como uma espécie ligada; na situação 2) as interações de Coulomb ainda são mais elevadas que no semiconductor macroscópico, porém a energia cinética dos portadores de carga é superior e estes são tratados separadamente. As equações (1.8) e (1.9) refletem que: o valor de  $E_g$  de um semiconductor aumenta conforme diminui o diâmetro do semiconductor e níveis de energia discretos surgem nas bordas das bandas de condução e de valência (Figura 1.4) [4]. O que significa que devido ao confinamento quântico, o  $E_g$

de PQs pode ser ajustado alterando apenas o tamanho, o que torna possível ajustar a região de absorção e emissão de luminescência do material controlando seu tamanho [2,4,7].

Figura 1.4 – Representação da estrutura eletrônica em função da variação do tamanho de partícula do semiconductor



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

### 1.3 Pontos quânticos: propriedades e aplicações

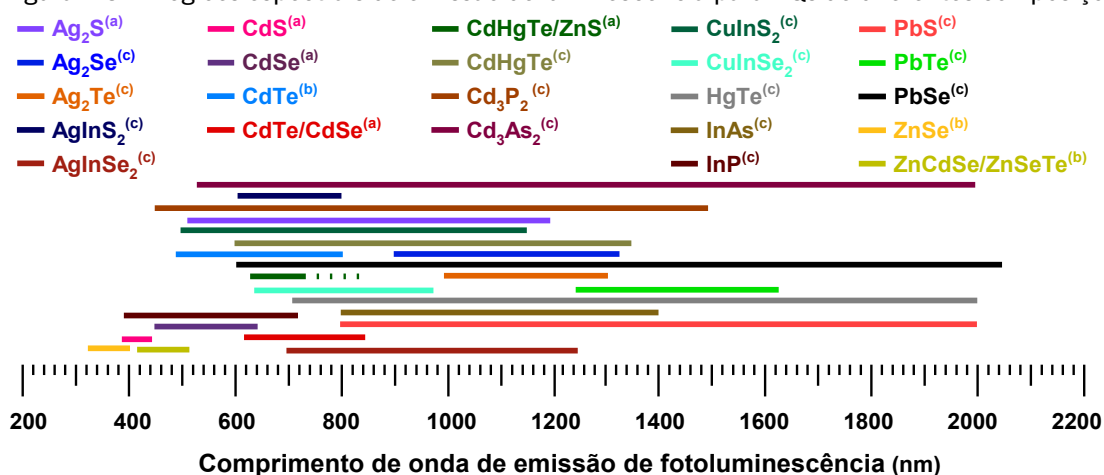
A luminescência ajustável com o tamanho faz dos PQs únicos. Além disso, quando comparados com fluoróforos orgânicos, os PQs apresentam espectros de absorção mais largos e espectros de emissão mais estreitos, elevados coeficientes de extinção, altos rendimentos quânticos de emissão, alta estabilidade química e fotoquímica, intermitência de fluorescência reduzida e deslocamento de Stokes elevado [3,12]. Estas características, portanto, os tornam vantajosas alternativas aos compostos orgânicos já empregados em diversas áreas. Desde sua descoberta os PQs têm ganhado espaço tanto em substituição dos fluoróforos orgânicos já



existentes como em tecnologias novas, tais como em *displays* e iluminação, *lasers*, detecção óptica, para captação de energia solar, para geração de luz quântica [11], imagem *in vitro* e *in vivo*, terapia fotodinâmica, detecção de patógenos e toxinas, entrega de genes, em terapêutica e diagnóstico (teranóstica) [3], e catálise [13,14].

Os numerosos estudos e a extensa bibliografia desenvolvidos nas últimas décadas acerca de PQs possibilitaram a obtenção de PQs com emissão de fluorescência em diferentes regiões do espectro eletromagnético, desde o ultravioleta-visível (UV-Vis) até o infravermelho (Figura 1.5).

Figura 1.5 – Regiões espectrais de emissão de luminescência para PQs de diferentes composições



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs). (a) [15], (b) [16] e (c) [17].

A aplicação tecnológica mais conhecida destes materiais, televisores e *displays* baseados em LEDs (*light-emitting diode*) de PQs, é também um exemplo no qual uma região de emissão de fluorescência específica foi explorada. O desenvolvimento do LED de GaN garantiu o Nobel de Física de 2014 aos cientistas Isamu Akasaki, Hiroshi Amano e Shuji Nakamura [18]. Em comparação às lâmpadas de filamento, os LEDs de PQs (ou QLEDs) apresentam maior eficiência, onde em telas QLEDs a corrente elétrica é convertida em cores vívidas e realistas, a manutenção das propriedades frente a alta exposição à luz e corrente elétrica é um requisito para essa aplicação [19]. A vivacidade das cores nessas telas se deve ao estreito espectro de emissão com alto rendimento quântico (QY) de emissão [11].

Desde 1998 pesquisas envolvendo o uso de PQs no campo biomédico vêm sendo desenvolvidas. Nos primeiros trabalhos, foram utilizados marcadores biológicos fluorescentes. O grupo de pesquisa de Alivisatos utilizou dois PQs de

CdSe de diferentes tamanhos incorporados em fibroblastos 3T3 de camundongos para obtenção de imagens das células *in vitro* [20]. No mesmo ano, Chan e Nie demonstraram imagens HeLa obtidas a partir da incubação das células com PQs de CdSe/ZnS [21]. Além da sua superfície quimicamente ativa, o tamanho nanométrico dos PQs lhes confere uma elevada razão superfície-volume, onde estes são também aspectos explorados nas aplicações biomédicas, permitindo ajustes que regulam sua interação com o meio e possibilitando ligações a proteínas, anticorpos ou outras espécies que atuam como biomarcadores específicos [11,22]. Alguns dos requisitos para aplicações biomédicas são: hidrofília, estabilidade química e coloidal em condições fisiológicas, além de, sobretudo para uso *in vivo*, devem ser biocompatíveis e excretados após exercerem sua função [22]. A hidrofília e estabilidade química e coloidal dos PQs estão estreitamente ligadas à superfície. Agentes estabilizantes (ou de passivação, ou ligantes de superfície), que geralmente são pequenas moléculas orgânicas, oferecem certo recobrimento aos PQs o que diminui a toxicidade relacionada a degradação do núcleo; as cargas dos grupos funcionais modulam a hidrofília e evitam que as partículas se aglomerem [3,23]. A excreção está diretamente relacionada com o diâmetro das partículas e as células dos rins atuam como um filtro de tamanho removendo rapidamente materiais menores que 5,5 nm da circulação. Nanopartículas de tamanhos muito acima deste limite podem se acumular no organismo oferecendo possíveis riscos [22,24]. O diâmetro de nanopartículas está também relacionado com a biodistribuição, a meia-vida da circulação sanguínea e a captação celular [25].

Desde os primeiros relatos até então, as aplicações biomédicas de PQs são numerosas e a imagem biomédica por fluorescência apresenta importantes avanços [3].

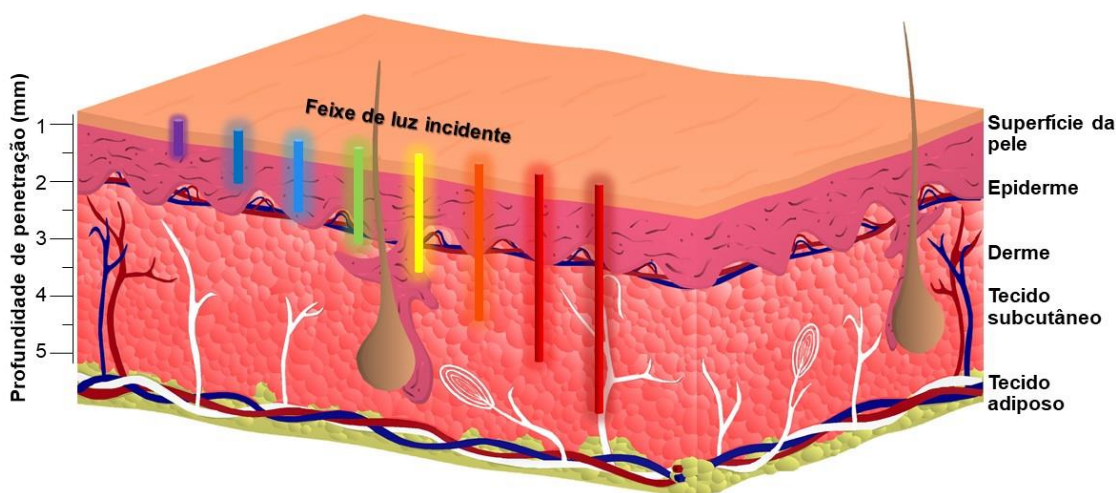
#### **1.4 Fluorescência no infravermelho e Imagem biomédica**

A visualização de órgãos, tecidos ou mesmo de todo corpo humano é essencial na prática clínica. Algumas das mais importantes modalidades para imagem biomédica são: Imagem por Ressonância Magnética (MRI), Ultrassonografia (US), Tomografia Computadorizada (CT), Tomografia por Emissão

de Pósitron (PET) e Tomografia Computadorizada por Emissão de Pósitron-Único (SPECT) e Imagem por Fluorescência (FI) [24,26].

Se uma resposta em tempo real com alta resolução espacial é importante a FI supera as demais modalidades citadas [24,26]. No caso de MRI, CT, PET e SPECT são necessários de minutos até algumas horas para que os sinais sejam processados e transformados em imagens. Para a FI, a obtenção das imagens ocorre a partir da exposição do alvo a um feixe de luz incidente que deve atravessar este alvo e promover excitação da sonda fluorescente que, por sua vez, emite um segundo feixe que deve ser capaz de fazer o caminho inverso, para fora do alvo, e ser detectada [26]. A profundidade de penetração da luz incidente e emitida é, portanto, determinante e difere de acordo com o respectivo comprimento de onda. Em comparação com as radiações na região visível (vis, 400-700 nm), aquelas cujos comprimentos de onda estão na região do infravermelho próximo (NIR, do inglês *near infrared*, 700-1700 nm) apresentam maior profundidade de penetração em tecidos biológicos, como ilustrado (Figura 1.6) [24,26].

Figura 1.6 – Esquema que ilustra as profundidades de penetração da luz com diferentes comprimentos de onda, na pele.

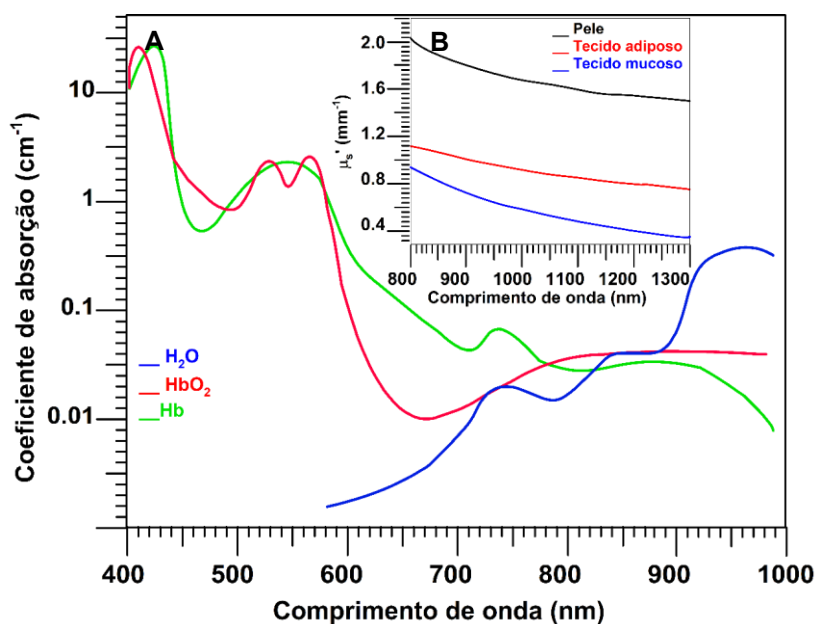


Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

A luz interage com tecidos biológicos através de diferentes processos, alguns dos quais podem resultar na atenuação da fluorescência, onde os mais importantes destes processos são: i) absorção, que resulta na diminuição da energia dos fótons e ii) espalhamento, que provoca mudança da direção de propagação dos fótons, resultando em um ruído de fundo [24]. Além disso, a autofluorescência dos tecidos

é também uma fonte de ruído [24,26,27]. A maior profundidade de penetração da luz NIR comparada a luz visível é resultado da combinação dos seguintes fatores: primeiramente, os coeficientes de absorção de diversas biomoléculas são mais elevados na região da luz visível (Figura 1.7-A); segundo, para a maior parte dos tecidos biológicos o coeficiente de espalhamento ( $\mu_s$ ) é inversamente proporcional ao comprimento de onda (Figura 1.7-B); e, por último, a autofluorescência é mais intensa na região ultravioleta-visível do que na região NIR [24,26]. Desta forma, a região do NIR é chamada de “janela de transparência biológica” [26].

Figura 1.7 – (A) Coeficiente de absorção da água, hemoglobina (Hb) e oxi-hemoglobina (HbO<sub>2</sub>) e (B) coeficientes de espalhamento para diferentes tecidos.



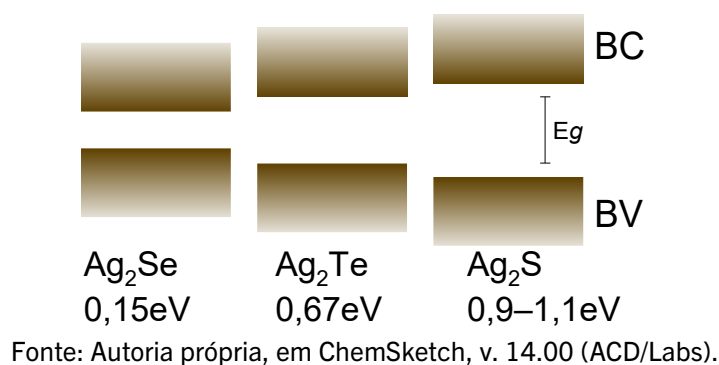
Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

Associar a modalidade de FI ao uso de luz NIR representa a obtenção de imagens com menos ruído e alcançando na matriz biológica estruturas impossíveis de serem visualizadas utilizando luz visível. Em outros termos, permite a melhoria do contraste e da resolução espacial. Esta associação é possível a partir do uso de sondas que apresentem emissão no NIR e possam ser excitadas próximas a esta região do espectro eletromagnético [26]. Até o momento poucas sondas fluorescentes no NIR estão aprovadas para uso clínico e são ainda pouco utilizadas [24].

## 1.5 Calcogenetos de prata

Uma parcela significativa de PQs luminescentes no NIR apresentam Cd, Hg ou Pb em sua composição (Figura 1.5), o que compromete a possibilidade de aplicações *in vivo* dada a toxicidade (para os organismos e para o meio ambiente) destes metais pesados [11,26]. Calcogenetos de prata ( $\text{Ag}_2\text{X}$  com  $\text{X}=\text{S}, \text{Se}$  e  $\text{Te}$ ) são semicondutores com *band gap* estreitos (Figura 1.8), o que permite luminescência na região NIR. Além disso, apresentam baixa solubilidade em água,  $K_{\text{sp}}$ :  $\text{Ag}_2\text{S} = 6,3 \times 10^{-50}$ ;  $\text{Ag}_2\text{Se} = 2,0 \times 10^{-64}$ ;  $\text{Ag}_2\text{Te} = 2,0 \times 10^{-72}$ , e composição livre de metais pesados [28,29]. A luminescência NIR, somada a menor toxicidade, faz dos calcogenetos de prata especialmente promissores para aplicações biomédicas. Quando comparados a  $\text{Ag}_2\text{S}$ , os outros dois calcogenetos são menos explorados na literatura, o que pode estar associado a condições de síntese mais desafiadoras e, por esta razão, neste trabalho  $\text{Ag}_2\text{Se}$  e  $\text{Ag}_2\text{Te}$  foram priorizados.

Figura 1.8 – Valores de *band gap* fundamental para calcogenetos de prata.



Algumas das propriedades dos PQs de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  e de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  são conhecidas a partir dos materiais macroscópicos. Em temperatura ambiente, estes semicondutores do tipo *n* apresentam baixa condutividade térmica e alta mobilidade eletrônica e, em composições não-estequiométricas  $\text{Ag}_2\text{Te}$  e  $\text{Ag}_2\text{Se}$  apresentam alta magnetorresistência [30,31,32]. Esta última propriedade ocorre quando sob ação de um campo magnético um material tem sua resistência elétrica aumentada, sendo que para  $\text{Ag}_{2+\delta}\text{Se}$  e  $\text{Ag}_{2+\delta}\text{Te}$  esse aumento é de até 200% em determinados campos, a temperatura ambiente e com regiões de respostas

lineares. Isso permite a aplicação destes materiais em sensores de campo magnético, por exemplo [33].

Em tamanhos macroscópicos, o  $\text{Ag}_2\text{Te}$  apresenta três fases cristalinas: monoclinica estável a baixas temperaturas, a qual apresenta o comportamento de semicondutor; cúbica de face centrada com transição em 145 °C e, em 802 °C ocorre transição para a fase cúbica de corpo centrado [30].  $\text{Ag}_2\text{Se}$  também apresenta três fases cristalinas: ortorrômbica, estável em baixas temperaturas, sendo a fase com o comportamento semicondutor; cúbica de corpo centrado cuja transição ocorre em aproximadamente 140 °C. A terceira fase é pouco conhecida devido à baixa estabilidade, sendo esta última tetragonal [34,35].

As fases cúbicas de ambos os calcogenetos apresentam condutividade superiônica, que decorre da alta mobilidade dos íons  $\text{Ag}^+$  pelos interstícios da rede cristalina, podendo ser utilizados como eletrólitos sólidos em baterias, sensores e monitores [30,32,34,35]. A condutividade superiônica combinada com a baixa condutividade térmica fazem com que esses materiais sejam ideais para aplicações termoelétricas, uma vez que são capazes de gerar corrente elétrica a partir do calor residual [36,37].

## 1.6 Síntese de PQs coloidais em meio aquoso

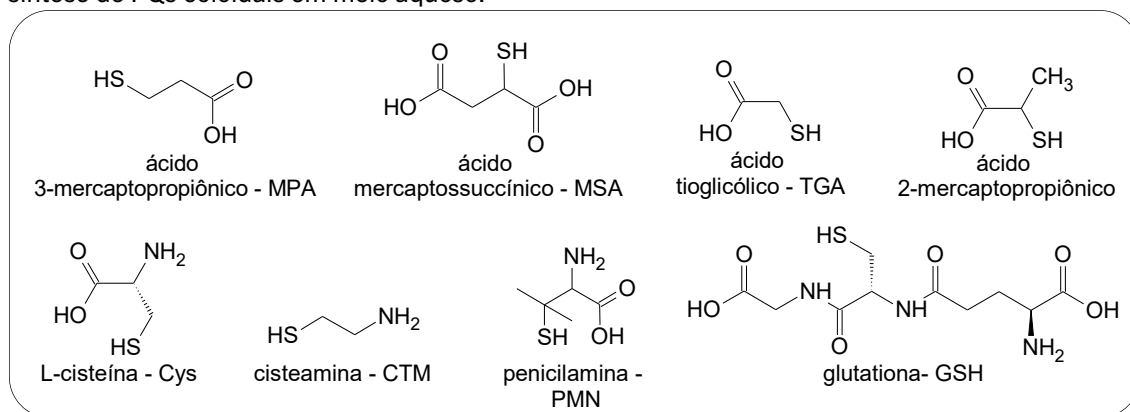
As diversas metodologias de obtenção de PQs são normalmente agrupadas em duas estratégias gerais: *top-down* (de cima para baixo), que consiste em processar o material macroscópico de modo a reduzir seu tamanho até a escala nanométrica; e *bottom-up* (de baixo para cima), na qual moléculas ou átomos são precursores que, através de reações químicas, formam os PQs [11,12]. Litografia por feixe de elétrons, feixe de íons focado, esfoliação eletroquímica, ablação a laser e tratamento com plasma são alguns dos exemplos de estratégias *top-down*; deposição química de vapor (CVD), síntese hidrotermal, método assistido por micro-ondas, método assistido por ultrassom, processo de microemulsão e processo sol-gel são exemplos de estratégias *bottom-up*. PQs obtidos a partir de processos *bottom-up* normalmente apresentam maiores rendimentos quânticos (QY) de luminescência, além disso o controle da superfície, composição e tamanho

é melhor quando comparado aos obtidos por estratégias *top-down* [12]. Neste sentido, nos métodos baseados em meios coloidais líquidos os nanocristais crescem a partir dos precursores por meio de precipitação controlada por difusão. Desde os primeiros estudos, realizados por Brus e colaboradores, a química coloidal representa uma estratégia simples de obtenção de PQs [2].

Quando o meio selecionado para a síntese de PQs coloidais é água, o processo se torna menos tóxico a organismos vivos e ao meio ambiente, mais simples de operar e com menor custo [17,38,39]. Além disso, os nanocristais obtidos são hidrofílicos, ou seja, não há a necessidade de qualquer processamento adicional pós síntese, permitindo mais facilmente aplicações em sistemas biológicos. Por outro lado, as propriedades ópticas, em especial o rendimento quântico (QY) de PQs coloidais preparados em meio aquoso são frequentemente inferiores àqueles obtidos em solventes orgânicos [17,22]. Este último aspecto pode não ser limitante para aplicações biomédicas quando os PQs são luminescentes no NIR, dadas as vantagens já mencionadas acima (item 1.4) da luz NIR neste contexto.

Na síntese coloidal os agentes estabilizantes (AEs) devem fornecer estabilidade química e coloidal e tornar os PQs hidrofílicos. Além disso, também atuam no controle do crescimento dos nanocristais [11,12]. Moléculas pequenas contendo grupos carboxílico, tiol e amina são exemplos de AEs utilizados [22]. Alquiltióis (RSH) (Figura 1.9) são particularmente interessantes para a síntese de PQs de  $\text{Ag}_2\text{X}$  coloidais em meio aquoso, devido à forte ligação entre S e Ag [17,28]. Enquanto o S do grupo tiol liga-se a superfície do PQ, grupos terminais funcionalizam a superfície, garantindo estabilidade coloidal e possibilitando subsequentes conjugações que podem ser úteis em aplicações futuras do material [26].

Figura 1.9 – Estruturas, nomes e siglas de alguns alquiltióis utilizados como estabilizantes para síntese de PQs coloidais em meio aquoso.



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

PQs coloidais são normalmente monodispersos e apresentam alta qualidade em termos de suas propriedades, no entanto ainda há espaço para melhorias que possam conduzir a PQs cada vez melhores opticamente e que possam ser produzidos em larga escala [11]. Em uma rota de síntese coloidal, a precipitação controlada dos PQs nada mais é do que um processo de crescimento de cristais e, por isso, a compreensão deste processo é essencial na busca por PQs com melhores propriedades.

### 1.6.1 Crescimento de cristais

Para que íons em solução formem cristais, duas etapas acontecem: a nucleação e o crescimento [40,41,42]. A nucleação pode ocorrer de forma homogênea, com núcleos do cristal se formando em toda fase de maneira uniforme, ou heterogênea, quando os núcleos se formam em impurezas, imperfeições ou quaisquer heterogeneidades [41,42]. O ganho no potencial químico, pela energia liberada em função da formação de ligações entre os íons, e o aumento da energia superficial total, como resultado da saturação de ligações incompletas de superfície, impulsionam a nucleação, sob pressão e temperatura constantes [40]. Quando um pequeno núcleo esférico (denominado semente) de raio  $r$  se forma, a variação de energia livre do sistema é:

$$\Delta G_r = \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_v + 4\pi r^2 \gamma_{SL} \quad (1.10)$$

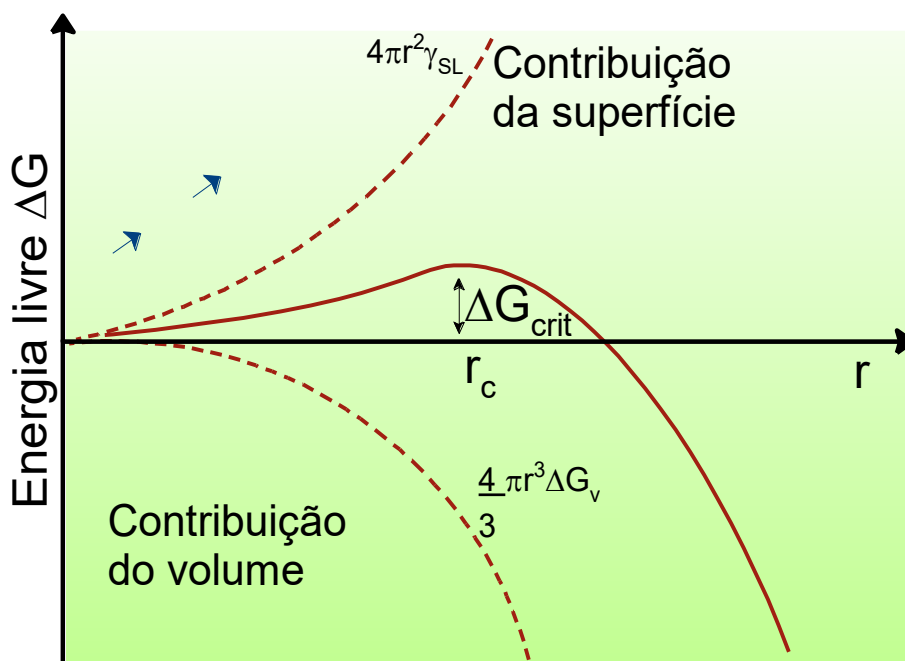


onde  $r$  é o raio do embrião,  $\Delta G_v$  é a variação de energia livre por unidade de volume entre o líquido e o sólido, e  $\gamma_{SL}$  é a energia livre da interface entre líquido e sólido, ou tensão superficial. A energia livre do cristal  $G_v$  é positiva (exceto acima da temperatura de fusão,  $T_m$ ) e a tensão superficial  $\gamma_{SL}$  é negativa. Desta forma, existe um máximo de energia livre,  $\Delta G_{crit}$ , associado a um raio crítico ( $r_c$ ), a partir do qual os núcleos formados são estáveis (Figura 1.10) [40,41,42].  $\Delta G_{crit}$  e  $r_c$  são obtidos a partir de  $d\Delta G/dr = 0$  [41,42]:

$$\Delta G_{crit} = 4\pi r_{crit}^2 \Delta G_v + 4\pi(2r_{crit}) \gamma_{SL} = 0 \quad (1.11)$$

$$r_{crit} = \frac{-2\gamma_{SL}}{\Delta G_v} \quad (1.12)$$

Figura 1.10 – Diagrama de energia livre em função do raio do cristal no processo de nucleação.



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

Para núcleos pequenos, a energia livre é mais dependente da energia superficial e quando os cristais ultrapassam o raio crítico o ganho de potencial químico passa a ser mais importante [40]. A partir do raio crítico, a energia livre diminui, ou seja, a barreira energética da nucleação é superada, e então a etapa de crescimento se inicia [40,42]. O número de núcleos formados em relação ao tempo,

isto é, a taxa de nucleação, está relacionada com a amplitude da barreira energética [40,41]. Esta taxa é dependente da supersaturação, da temperatura e da energia livre superficial. Destes parâmetros a supersaturação é o que tem maior efeito sobre a taxa de nucleação [41].

Em ambientes menos controlados a nucleação heterogênea ocorre. Nestes casos, a barreira de nucleação é diminuída e núcleos crescem em superfícies de heterogeneidades no meio, onde o formato esférico já não é favorecido. Os núcleos crescem como cascas e formam um ângulo de contato ( $\vartheta$ ) esférico com as superfícies. O máximo de energia livre para a nucleação passa a ter uma contribuição em função destes núcleos [41]:

$$\Delta G_{crit}^{hetero} = \phi \Delta G_{crit}^{homo} \quad (1.13)$$

onde  $\phi$  é um fator que reflete a dependência com o ângulo de contato  $\vartheta$ . Assim como na nucleação homogênea, uma vez que a energia livre crítica é superada, os núcleos são estáveis e o crescimento se inicia.

Dois processos controlam a etapa de crescimento dos cristais: a velocidade de reação e a difusão dos monômeros na superfície dos núcleos [40,41]. O crescimento dos cristais em função do tempo é dado por [40]:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{\dot{n}}{4\pi^2 d_m} \quad (1.14)$$

onde  $\dot{n}$  é a variação do número de monômeros com o tempo,  $r$  é o raio do cristal e  $d_m$  é a densidade de monômeros no cristal. No início do crescimento, há uma elevada concentração de monômeros e o crescimento depende da velocidade com a qual estes reagem com a superfície dos núcleos, sendo que esta velocidade é proporcional a área superficial dos núcleos. A diminuição da concentração dos monômeros faz com que o crescimento seja mais dependente da velocidade com a qual os monômeros chegam à superfície, ou seja, da difusão [40]. Os monômeros em solução chegam à superfície dos cristais a fluxo  $J$  e um gradiente da concentração de monômeros impulsiona o crescimento de cristais, os monômeros

livres são consumidos na superfície dos cristais [40]. A partir da primeira lei de Fick, este processo pode ser descrito de acordo com os dois mecanismos da etapa de crescimento. A equação (1.15) descreve o momento em que o crescimento depende da difusão e a equação (1.16) o momento em que a velocidade da reação é determinante [41]:

$$J = 4\pi Dr(C_b - C_i) \quad (1.15)$$

$$J = 4\pi r^2 k(C_i - C_r) \quad (1.16)$$

onde  $r$  é o raio da partícula,  $J$  é o fluxo total de monômeros passando por um plano esférico de raio  $x$ ,  $D$  é o coeficiente de difusão e  $C_b$  é a concentração em solução, distante de qualquer cristal,  $C_i$  é a concentração de monômeros na interface sólido líquido, ou seja, nos arredores da superfície do cristal,  $k$  é a taxa de reação superficial e  $C_r$  é a solubilidade da partícula. A variação do tamanho dos cristais formados com o tempo é [41]:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{D_v}{r}(C_b - C_i) \quad (1.17)$$

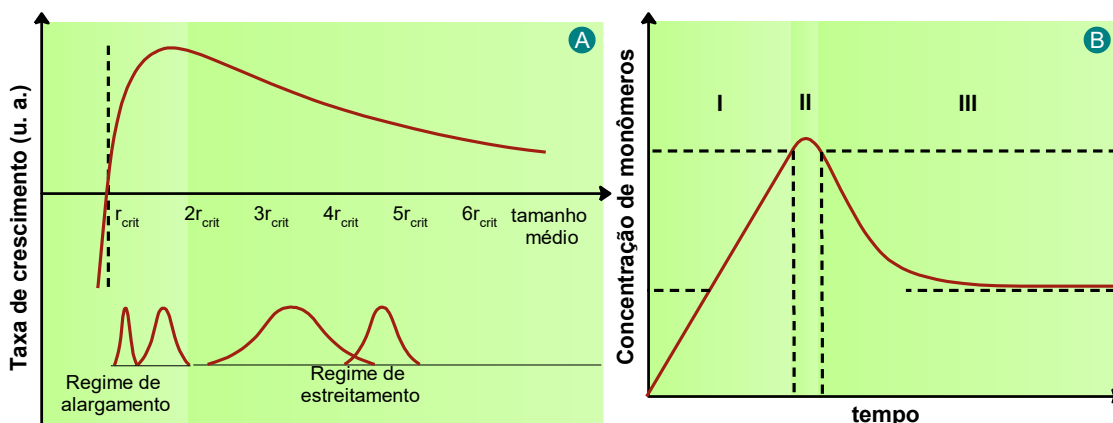
$$\frac{dr}{dt} = k_v(C_b - C_r) \quad (1.18)$$

Até então foi assumido que todos os cristais que se formam se mantêm estáveis, o que não é verdade para todo o processo. Em cristais menores a curvatura da superfície é maior, o que implica que os átomos na superfície estão mais expostos ao meio e mais fracamente ligados ao núcleo. Como resultado, monômeros se dissociam de cristais menores mais facilmente do que de cristais maiores, ou seja, em termos experimentais, nanocristais menores apresentam temperaturas de fusão mais baixas. A equação de Gibbs-Thompson relaciona as concentrações de monômeros em solução e próximo aos cristais,  $C_b$  e  $C_i$ , com a tensão superficial, refletindo a variação destas concentrações com a curvatura da superfície. Desta forma a variação do tamanho dos cristais com o tempo é dada por [40]:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{2\gamma DC_{\infty}}{d_m^2 k_B T} \frac{1}{r} \left( \frac{1}{r_{crit}} - \frac{1}{r} \right) \quad (1.19)$$

onde  $\gamma$  é a tensão superficial e  $C_{\infty}$  é a pressão de vapor de uma superfície plana. O raio crítico além de representar a barreira energética de nucleação (Figura 1.10), é também caracterizado por uma taxa de crescimento igual a zero, ou seja,  $r_{crit}$  é a fronteira da competição entre o crescimento do cristal e a dissolução de monômeros, como descrito por Gibbs-Thompson. Os valores de  $r_{crit}$  dependem principalmente da concentração de monômeros, da temperatura de reação e tensão superficial. Para cristais com  $r < r_{crit}$  a taxa de crescimento é negativa (Figura 1.11-A), a dissociação de monômeros é favorecida, a taxa de crescimento atinge seu máximo em  $2r_{crit}$  e decresce com o tempo [40].

Figura 1.11 – (A) Diagramas de taxa de crescimento e distribuição de tamanhos em função do raio do cristal e (B) diagrama de variação da concentração de monômeros em função do tempo de acordo com LaMer.



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

De modo semelhante a descrição já apresentada, LaMer descreveu o processo de nucleação e crescimento de cristais em função da concentração dos monômeros dividindo em três etapas (Figura 1.11-B): (I) ocorre um aumento rápido da concentração de monômeros em solução; (II) ocorre a “nucleação de explosão” com uma taxa que é “efetivamente infinita” e assim a concentração de monômeros sofre uma importante redução. Após isso a taxa de nucleação é quase nula e (III) ocorre o crescimento em função da difusão de monômeros [41]. Os mecanismos de nucleação e de crescimento influenciam diretamente na distribuição dos tamanhos

dos cristais e quando o tamanho médio dos nanocristais está abaixo de  $r_{crit}$  o sistema está num regime de alargamento (Figura 1.11), também chamado de regime de maturação de Ostwald, onde a concentração de cristais diminui e cristais pequenos se dissociam fornecendo monômeros para que cristais maiores cresçam. A menor distribuição de tamanhos ocorre para a maior taxa de crescimento, quando o tamanho médio é  $2r_{crit}$ , a concentração de monômeros é mais baixa e, a partir de então, o sistema entra em um regime de alargamento, também chamado de regime de focagem de tamanho [40,41]. Para que a distribuição de tamanhos seja estreita, a nucleação deve acontecer rapidamente, do contrário o regime de alargamento pode se iniciar quando alguns núcleos ainda estão se formando e outros já cresceram um pouco. A manutenção de uma concentração elevada de monômeros pode reduzir a etapa de nucleação, onde uma das formas possíveis para isso é o aumento da temperatura, que permite a rápida dissociação dos cristais menos estáveis fornecendo monômeros para que os mais estáveis cresçam [40].

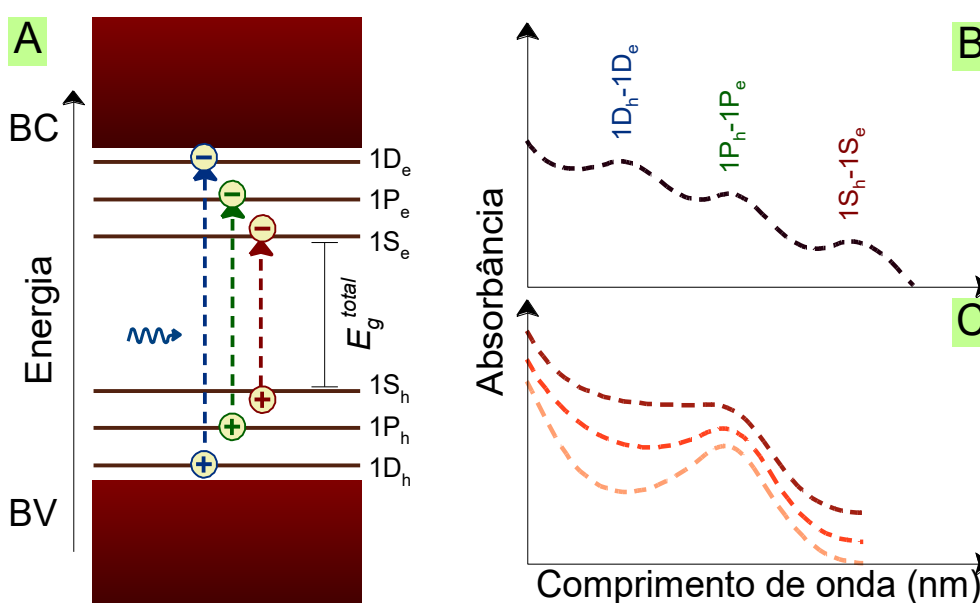
## 1.7 Caracterização de propriedades ópticas de PQs

Através de técnicas espectroscópicas, a estrutura eletrônica e as propriedades ópticas dos PQs podem ser estudadas. Devido ao confinamento quântico nestes materiais, investigar as propriedades ópticas de PQs está inevitavelmente relacionado com investigar sua forma e tamanho [43]. As espectroscopias de absorção, de emissão de fotoluminescência (PL) e de excitação por fotoluminescência (PLE) são as principais técnicas utilizadas [43,44].

Como foi descrito na seção 1.2, quando um PQ absorve fótons de energia igual ou superior ao  $E_g^{total}$  ocorre a formação de éxcitons. As transições eletrônicas permitidas que dão origem à formação de éxcitons em ordem de energia são:  $1S_h-1S_e$ ,  $1P_h-1P_e$ ,  $1D_h-1D_e$  (os índices  $e$  e  $h$  indicam se elétrons ou vacâncias ocupam o nível de energia) e assim por diante (Figura 1.12– A e B) [6]. No espectro de absorção, uma primeira região com absorbância proeminente corresponde ao estado excitado de mais baixa energia resultante da transição  $1S_h-1S_e$ , ou o primeiro pico excitônico. A posição do primeiro máximo é dependente do tamanho, enquanto sua forma e largura são fortemente influenciadas pela distribuição de

tamanho e forma dos PQs. Quanto mais homogêneas as formas e mais estreita a distribuição de tamanhos, mais bem definido e mais estreito é o primeiro máximo (Figura 1.12- C) [6,44]. Quando a energia do fóton absorvido pelo PQ é muito superior a  $E_g^{total}$  as transições eletrônicas mais energéticas que  $1S_h-1S_e$  acontecem e os chamados éxcitons ‘quentes’ podem ser formados (Figura 1.12– A e B) [6].

Figura 1.12 – Esquemas ilustrativos de: A – Três primeiras transições eletrônicas permitidas para um PQ; B - Perfil de absorção com os três primeiros máximos de absorção para uma dada distribuição de tamanhos; C –Espectro de absorção do primeiro máximo para PQs com o aumento da dispersão de tamanhos (do mais claro para o mais escuro).

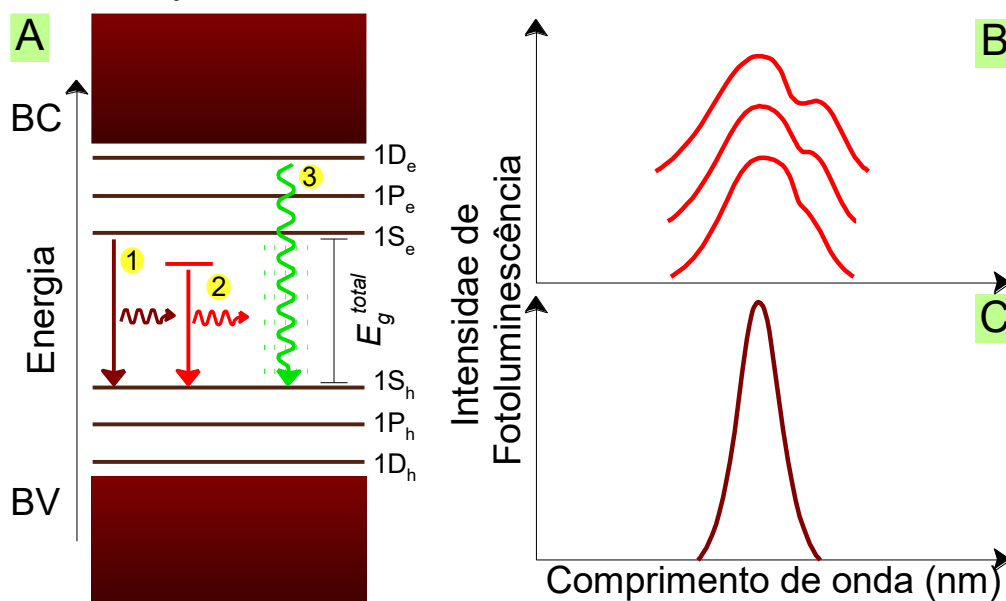


Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

No instante em que não há mais fótons a serem absorvidos pelos PQs o sistema tende a decair até seu estado fundamental, ou seja, ocorre relaxamento (Figura 1.12- A) [6,44]. No caso dos éxcitons ‘quentes’ o decaimento inicia rapidamente por processos intrabanda (por exemplo  $1P_e-1S_e$ ) e a energia é convertida em calor até que os éxcitons do sistema tenham a menor energia possível, ou seja, elétrons e buracos ocupem respectivamente os níveis  $1S_e$  e  $1S_h$ . O decaimento dos éxcitons  $1S_h-1S_e$  ocorre mais lentamente por recombinação elétron-vacância (ou excitônica), que consiste essencialmente no retorno do sistema ao estado em que os elétrons ocupam apenas a banda de valência, este relaxamento é radiativo [6]. O relaxamento por recombinação excitônica resulta na emissão de fótons com energia equivalente ao  $E_g$  total do PQ, que é menor que a

energia dos fótons absorvidos [44]. No espectro de emissão de fotoluminescência (PL) é observado então uma banda bem definida com posição correspondente a  $E_g$  total (Figura 1.13- B) que, devido ao confinamento quântico, é dependente do tamanho, a forma e a distribuição de tamanhos dos PQ alteram a largura desta banda (assim como ocorre com o perfil de absorção). O relaxamento destes sistemas pode ocorrer através de outros processos radiativos ou não radiativos. A presença de defeitos e impurezas que estão nos PQs pode favorecer decaimentos não-excitônicos [6].

Figura 1.13 – Esquema ilustrativo para: A - diferentes processos de decaimento após absorção de fótons em PQs, (1) decaimento radiativo por recombinação excitônica, (2) decaimento radiativo a partir de níveis de energia relacionados a defeitos e (3) decaimento não radiativo; B – Perfis de emissão para PQs com defeitos que apresentam decaimentos radiativos; C – Perfis de emissão a partir de recombinação excitônica radiativa.



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

O número elevado de átomos de superfície faz com que os defeitos mais importantes em PQs sejam resultantes de ligações químicas insatisfeitas, que resultam em níveis de energia entre a BV e a BC, denominados de armadilhas [6,44]. Uma vez que um dos portadores de carga ocupe estados de armadilha, a sobreposição das funções de onda do elétron e da vacância diminui, diminuindo também a probabilidade de recombinação radiativa, e assim favorecendo decaimentos por vias não radiativas. No entanto podem existir transições permitidas que envolvem os estados de armadilha que resultam na emissão de

fótons, neste caso é possível observar no espectro de emissão de fotoluminescência (PL) uma espécie de ombro no máximo correspondente a  $E_g$  total do PQ, ou mesmo uma diminuição da intensidade e alargamento da banda de emissão (ou aumento da largura a meia altura - FWHM do inglês: *Full width at half maximum*) [6]. Uma banda de emissão estreita e simétrica (Figura 1.13- C) indica então uma amostra com PQs de tamanhos homogêneos e com poucos defeitos.

## 1.8 Revisando estratégias de síntese aquosa de PQs de $Ag_2Se$ e de $Ag_2Te$ na literatura

Um dos primeiros trabalhos a descrever a obtenção de nanocristais fluorescentes de telureto e seleneto de prata foi publicado em 2011, por Yarema et al. Nele, os autores propuseram uma rota sintética em meio orgânico promovida por sililamidas para vários nanocristais (entre eles telureto e seleneto de prata). Os PQs de  $Ag_2Se$  obtidos tinham tamanhos entre 2 e 4 nm com máximos de emissão de luminescência em 1030 e 1250 nm respectivamente, com boa distribuição de tamanhos e poucos defeitos. Já os PQs de  $Ag_2Te$  apresentaram distribuição de tamanhos mais heterogênea e uma maior quantidade de defeitos, com tamanho médio de 3,2 nm e máximo de emissão entre 1300 e 1500 nm [45]. Um segundo trabalho do mesmo ano relata a obtenção dos três calcogenetos de prata em tamanhos nanométricos. A metodologia de síntese foi realizada em tri-*n*-octilfosfina (TOP) com ácido oleico (AO), 1-octadecilamina (ODA) e 1-octadeceno (ODE) como estabilizantes, o procedimento ocorre em atmosfera de  $N_2$  e envolveu etapas de aquecimento para eliminar água e oxigênio e, por fim uma série de etapas de purificação e redispersão em solventes orgânicos. Foram obtidos nanocristais de  $Ag_2Se$  com diâmetros entre 4 e 7 nm e de  $Ag_2Te$  com 3 a 8 nm, no entanto não foram estudadas as propriedades ópticas [46]. Até então só havia relatos de obtenção de PQs de  $Ag_2Se$  e  $Ag_2Te$  em meio orgânico e, a partir do ano seguinte é possível encontrar trabalhos que tratam da obtenção de formas hidrofílicas destes PQs.

Considerando apenas trabalhos que tratam de obtenção de PQs de  $Ag_2Se$  e  $Ag_2Te$  coloidais diretamente em meio aquoso, na bibliografia recente a partir de 2018, três etapas nos procedimentos podem ser destacadas: 1) mistura do



precursor de íons prata ( $\text{Ag}^+$ ) com o agente estabilizante, que foi em geral a etapa mais simples e rápida; 2) formação do íon calcogeneto ( $\text{X}^{2-}$ ); e 3) crescimento dos cristais. Nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) foi o precursor de  $\text{Ag}^+$  mais utilizado, alquiltióis como: ácido 3-mercaptopropiônico (3-MPA), ácido 2-mercaptopropiônico (2-MPA), ácido tioglicólico (TGA) e tioglicerol atuaram como agentes estabilizantes, assim como galactomananas (polissacarídeo), poli vinilpirrolidona (PVP) e albumina sérica bovina (BSA). A mistura dos íons  $\text{Ag}^+$  com o estabilizante ocorreu normalmente com ajuste de pH realizado com adição de hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ), de potássio ( $\text{KOH}$ ) e de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ). O precursor do calcogeneto utilizado mais frequentemente foi selenossulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeSO}_3$ ), preparado a partir de reação de sulfito de sódio ( $\text{NaSO}_3$ ) com selênio ( $\text{Se}$ ) metálico. Ainda em todos os casos esta etapa envolveu aquecimento com duração máxima de 12 h. Os calcogênios metálicos e selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) foram também precursores selecionados, onde nestes casos foram utilizados agentes redutores como hidrazina ( $\text{N}_2\text{H}_4$ ) e borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ). Na etapa final a mistura dos precursores ocorreu sob agitação. A Tabela 1.1 apresenta alguns exemplos de condições experimentais descritas na literatura para a obtenção destes PQs em água, assim como as principais propriedades dos PQs obtidos.

Tabela 1.1 – Propriedades e condições de síntese de Ag<sub>2</sub>Se e Ag<sub>2</sub>Te em água de alguns trabalhos descritos na literatura

Ano Ref.	Propriedades gerais					Formação do calcogeneto		Crescimento dos cristais				Propriedades ópticas			
	PQ	AE	D (nm)	AE/Ag (razão molar)	Ag/X (razão molar)	T (°C)	Tempo (min)	T (°C)	Atm.	Tempo (min)	pH	I <sub>Abs</sub> (nm)	I <sub>Emi</sub> (nm)	FWHM (nm)	QY (%)
2018 [47]	Ag <sub>2</sub> Se	galactomananas	~8.3 <sup>a</sup>	NE	NE	70	30 min	amb.	NE	20	NE	SD	705	NE	NE
2018 [48]	Ag <sub>2</sub> Se	3-MPA /PVP	8,2-11,6 <sup>a</sup>	NE	2	amb.	NE	amb.	amb.	10	10,2–10,5	SD	NE	NE	NE
2018 [35]	Ag <sub>2</sub> Se	TGA	1,8-2,5 <sup>b</sup>	73	5	amb.	NE	amb.	NE	alguns min	9	440-607	673	57	4,48 <sup>c</sup>
2019 [49]	Ag <sub>2</sub> Se	Tioglicerol	4 <sup>a</sup>	4,89	9,3	100	10h	NE	NE	NE	11,4	NE	NE	NE	NE
2020 [50]	Ag <sub>2</sub> Se	BSA	2,16 +/- 0,42 <sup>a</sup>	18,83	0,0002	80	12h	55	NE	240	12	SD	850	NE	21,3 <sup>d</sup>
2020 [51]	Ag <sub>2</sub> Te	BSA	3 <sup>a</sup>	12,79	0,75	80	NE	NE	NE	10	NE	808	1050	NE	NE
2022 [52]	Ag <sub>2</sub> Se	MSA	5,7 <sup>b</sup>	6	8	amb.	One-pot	60	amb.	20	5	583	789	109	16,3 <sup>e</sup>
2023 [53]	Ag <sub>2</sub> Se	2-MPA	2,6 <sup>a</sup>	1:1	3,3 e 1,7	95	até dissolução	NE	NE	até mudança de cor	9	605-655	720 715	90 e 200	NE

2-MPA: ácido 2-mercaptopropiônico; 3-MPA: ácido 3-mercaptopropiônico; AE: Agente estabilizante; amb.: condição ambiente; Atm.: tipo de atmosfera utilizada; BSA: albumina sérica bovina; D: diâmetro médio; NE: não especificado; PVP: poli vinilpirrolidona; SD: sem definição; TGA: ácido tioglicólico; X = Se ou Te; I<sub>Emi</sub>: comprimento de onda do máximo de emissão de fotoluminescência; I<sub>Abs</sub>: comprimento de onda do máximo de absorção.

<sup>a</sup>TEM – Microscopia eletrônica de transmissão; <sup>b</sup>HR TEM– Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução; <sup>c</sup>relativo, hidrogeno sulfato como referência;

<sup>d</sup>relativo indocianina verde como referência; <sup>e</sup>relativo, sulfato de quinina como referência.

### **1.9 Planejamento e otimização de experimentos como estratégia para obtenção de PQs de Ag<sub>2</sub>Se e Ag<sub>2</sub>Te com propriedades melhoradas**

A partir da revisão acima, resumida na Tabela 1.1, fica evidente que diferentes estratégias de síntese fornecem PQs com diferentes propriedades. Alguns estudos mostram também que seguindo uma mesma estratégia geral, algumas mudanças nas condições experimentais resultam também em variações nos PQs obtidos. Mudanças nas temperaturas de reação e nos tempos de crescimento, por exemplo, podem fornecer PQ com diferentes tamanhos [11,23]. Tais mudanças estão relacionadas com a influência destes fatores nas etapas de nucleação e o crescimento dos PQs [11]. De forma semelhante, agentes estabilizantes atuam na regulação da formação de PQs à medida que se liga a monômeros ou a superfícies de núcleos formados [11,22]. Portanto, qualquer fonte de variação capaz afetar as transformações físicas e químicas que acontecem durante a síntese podem ter impacto nas propriedades fotofísicas dos PQs sintetizados.

A variação da concentração de um dos agentes estabilizantes, o PVP, resultou na obtenção de PQs de Ag<sub>2</sub>Se com diferentes tamanhos. Uma vez que existe dependência entre o tamanho e o transporte de cargas, a eficiência destes PQs em células solares sensibilizadas por corante (DSSCs) foi testada. Neste caso, aqueles com diâmetro de 9,6 nm apresentaram melhor resposta, com aumento de 200% em relação ao controle. Desta forma, para esta aplicação, foi encontrada a melhor concentração de PVP (1 g/L) entre o intervalo testado [48]. Na obtenção de PQs Ag<sub>2</sub>Se revestidos com 2-MPA, diferentes proporções molares Ag:Se foram testadas, os autores determinaram que a melhor condição foi aquela que forneceu PQs com menor dispersão de tamanhos, medindo 2,6 nm [53]. Estudos como estes são exemplos de busca por melhores resultados por meio de estratégias univariadas, ou seja, que estudam a influência de uma variável (ou fator) por vez sob a resposta desejada. Em outros casos, um sistema ou processo pode ser otimizado através de abordagens multivariadas, onde pelo menos duas variáveis são avaliadas ao mesmo tempo. A quimiometria abriga uma série de possibilidades para estudar um sistema ou processo de forma multivariada e o Planejamento e otimização de experimentos

(POE) é um exemplo [54]. Em POE cada variável e as interações entre elas podem ser estudadas simultaneamente com um menor número de experimentos e, conseqüentemente, menor duração e custos quando comparados a estratégias univariadas [54,55,56]. Toda execução de POE pode ser dividida em quatro etapas: 1) identificação de variáveis experimentais e das respostas a serem avaliadas; 2) codificação das variáveis e seus níveis, que consiste em tratar cada valor de cada variável experimental de forma numérica e dentro de uma mesma escala, para que seja possível posteriormente aplicar os tratamentos matemáticos e estatísticos adequados; 3) realização dos experimentos, em que esta etapa pode consistir em: testar condições experimentais que possam ser variáveis do sistema, ou seja, que provoquem alterações na resposta ou podem ser selecionadas variáveis já conhecidas para o sistema; 4) e, finalmente obtenção de um modelo matemático (quantitativo ou qualitativo) [55].

No início da etapa 3, a seleção do tipo de planejamento deve ser feita, o que depende do objetivo e do quanto se conhece acerca do comportamento do sistema. Para situações em que uma exploração é necessária, planejamentos do tipo fatorial fracionário, por exemplo, são úteis pois permitem avaliar muitas variáveis com poucos experimentos. Entretanto podem fornecer respostas menos precisas em alguns casos. Já quando se conhece melhor o sistema, planejamentos do tipo fatorial completo e composto central, que permitem avaliar os efeitos na resposta para todas as variáveis e suas interações, podem ser utilizados [56,57]. Os experimentos devem ser realizados de forma aleatória a fim de evitar tendências e, quando necessário, repetições devem ser feitas a fim de fornecer graus de liberdade suficientes para o cálculo de todos os efeitos, que indicam como cada variável e interações afetam a resposta e a estimativa dos erros associados. E então são testadas as hipóteses de quais fatores afetam e, quando possível, qual condição experimental fornece os melhores resultados dentro dos intervalos estudados [56].

Em trabalho recente de nosso grupo de pesquisa, foram obtidos PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  estabilizados com ácido mercaptosuccínico (MSA) medindo em média 5,7 nm com máximos de absorção e de emissão em, respectivamente, 583 e 789 nm, onde as propriedades ópticas foram otimizadas através de estratégias multivariadas [52].

## 1.10 Imagem biomédica multimodal

A associação de mais de uma modalidade de imagem biomédica permite compensar limitações e somar vantagens de diferentes técnicas, por isso a multimodalidade é um caminho para uma melhor visualização de órgãos e tecidos [58,59].

Através de FI é possível realizar a detecção de uma única molécula e a obtenção de imagens ao nível celular e em tempo real [60,61,62]. Conforme já discutido, a fluorescência NIR permite que imagens mais bem definidas e com maior resolução sejam obtidas através de FI, ainda assim há limitações em termos de resolução espacial [58]. Uma resolução superior, entre milímetros até cerca de 10  $\mu\text{m}$ , a nível anatômico pode ser encontrada em modalidades como a MRI que também permite a obtenção de imagens em qualquer direção do corpo, é não-invasiva, não-destrutiva e capaz de fornecer visualização de tecidos moles como cérebro, coração e músculos, assim como de tumores [63,60]. Em contrapartida a baixa sensibilidade está presente na MRI [60,64,65]. A sensibilidade a nível molecular da FI e a resolução anatômica da MRI faz destas técnicas complementares entre si, por esta razão a bimodalidade FI-MRI tem sido frequentemente explorada [60,61,62,66].

### 1.1.1 Ressonância Magnética Nuclear na obtenção de Imagens

Na MRI, a ressonância magnética nuclear (RMN) dos núcleos de hidrogênio ( $^1\text{H}$ , frequentemente referidos como ‘prótons’) da água fornece o sinal que permite a obtenção de imagens [63,60]. O corpo humano é composto por 70% de água em massa, o que permite a obtenção de imagens de todo o corpo através da MRI [67,68,69]. Três gradientes de campo, em três direções perpendiculares entre si existentes nos equipamentos clínicos de RM fazem com que haja uma relação entre o sinal e sua posição, em três dimensões (3D). Ao selecionar um plano (um corte em duas dimensões) é possível obter uma imagem onde cada unidade de volume corresponde a uma frequência espacial. As diferentes intensidades de sinais que conferem o contraste da MRI, são moduladas pelo tempo para que os prótons de

moléculas de água ‘percam magnetização’. Esses tempos são denominados tempos de **relaxação magnética** [69].

A relaxação magnética está diretamente relacionada com ressonância magnética, e, naturalmente com as propriedades magnéticas das espécies envolvidas. Em escala atômica a compreensão destas propriedades é possível através da mecânica quântica [70,71].

Spins nucleares ( $I$ ) apresentam orientações aleatórias na ausência de campos magnéticos externos. Sob a ação de um campo externo homogêneo,  $B_0$ , os spins magnéticos (para núcleos com  $I \neq 0$ ) passam a ter orientações preferenciais [71,72]. A exposição de partículas carregadas a um campo magnético externo resulta em um movimento de precessão destas partículas [70,71]. Este movimento é frequentemente explicado como sendo análogo a um pião girando em torno do seu eixo gravitacional e sua frequência é dada pelo teorema de Larmor (equação (1.20) [67,71].

$$\omega = \gamma B_0 \quad (1.20)$$

onde  $q$  é carga do próton,  $m$  sua massa, e  $\gamma$  é a constante giromagnética, que é característica para cada núcleo [72]. A frequência de precessão do spin ou frequência de Larmor ( $\omega$ ) é proporcional ao campo magnético. O movimento de precessão do próton, assim como de qualquer partícula carregada, gera um campo elétrico que oscila com a mesma frequência. Quando a frequência do campo externo e a frequência do campo elétrico pela precessão do próton são equivalentes, estes campos se acoplam, o próton pode absorver energia resultando em uma mudança de spin. O próton está então em ressonância com a onda eletromagnética incidente [73].

O número máximo de estados permitidos para  $J$  é dado por  $2L+1$ , onde  $L$  é o spin total. Para o próton o spin é de  $\frac{1}{2}$ , o número quântico de spin ( $s$ ) assume valores de  $+I$  a  $-I$ , variando de uma unidade, ou seja,  $\frac{1}{2}$  e  $-\frac{1}{2}$  [70,71]. Existem então dois estados energéticos permitidos para o momento angular do próton. Em relação ao campo magnético externo,  $B_0$ , estes estados podem ser compreendidos como duas orientações de spin: paralelamente alinhado com  $B_0$ , estado de menor energia ( $+\frac{1}{2}$

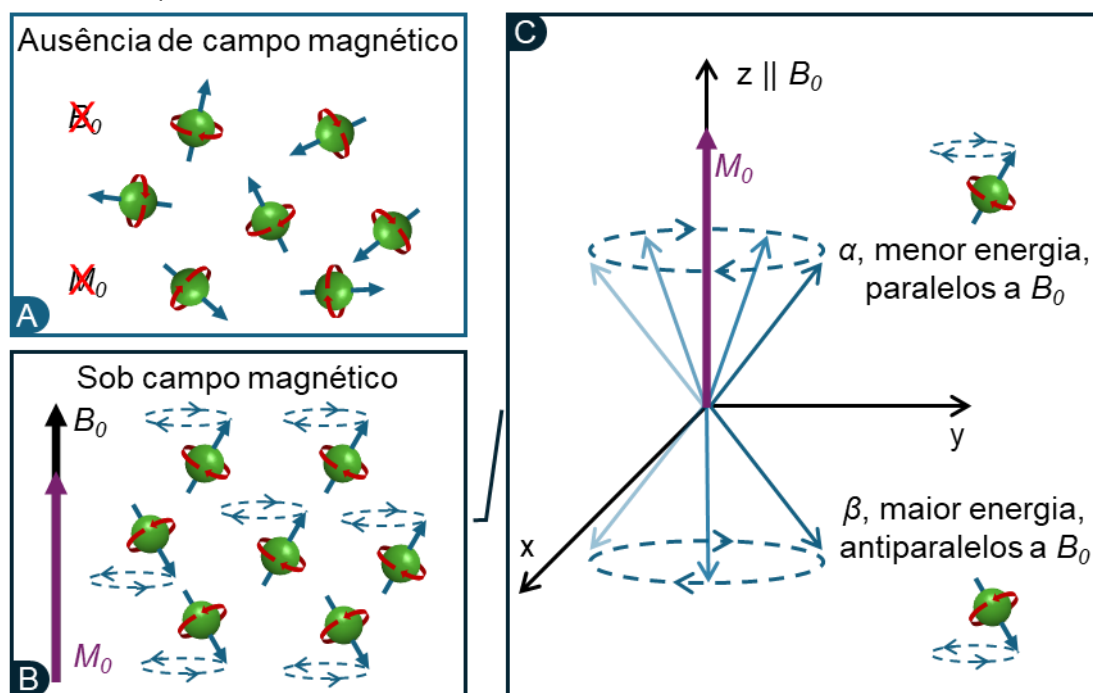
ou  $\alpha$ ), e antiparalelo a  $B_0$ , o estado de maior energia ( $-\frac{1}{2}$  ou  $\beta$ ) (Figura 1.14). Cabe retomar que estas orientações não refletem alinhamentos precisos ao longo do eixo paralelo ao campo, mas sim o movimento dos spins em precessão em torno deste eixo [71]. A distribuição dos spins nestes dois níveis segue a distribuição de Boltzmann (Equação (1.21)) [71,72]:

$$N_{\alpha \text{ ou } \beta} = a_{\alpha \text{ ou } \beta} e^{\frac{-\mu B}{kT}} \quad (1.21)$$

Onde,  $N$  é o número de espécies no estado correspondente;  $k$  é a constante de Boltzmann;  $T$  a temperatura em kelvin e  $a$  é uma constante que correlaciona  $N_{\alpha}$  e  $N_{\beta}$  de modo que (Equação (1.22)):

$$N = N_{\alpha} + N_{\beta} \quad (1.22)$$

Figura 1.14 — (A) Representação esquemática dos prótons em um sistema na ausência de um campo magnético externo ( $B_0$ ); (B) Alinhamento dos prótons após serem colocados sob  $B_0$ , criando uma pequena magnetização resultante de equilíbrio ( $M_0$ ); (C) Representação em ampulheta da precessão dos prótons ao redor do eixo  $z$  de  $B_0$ .



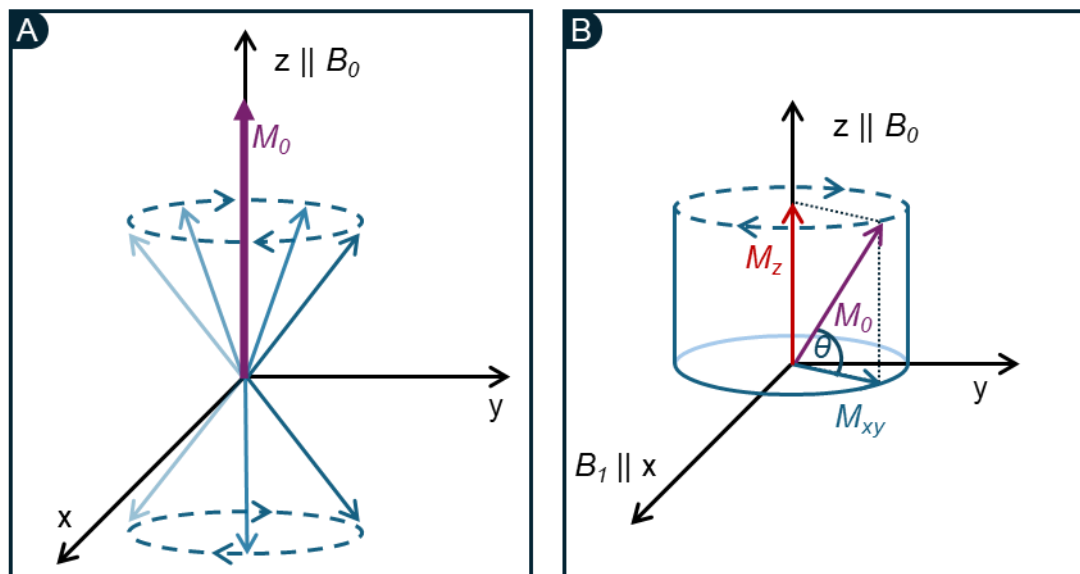
Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

Na situação de equilíbrio, há um excedente de aproximadamente  $1/10^8$  espécies com spins paralelamente alinhados a  $B_0$ , ou seja, o estado de menor

energia é preferencial em relação ao estado de maior energia. Por consequência disso uma pequena magnetização de equilíbrio é resultante ( $M_0$ ). Considerando sistema de coordenadas x, y e z, com o eixo z sendo paralelo ao campo magnético  $B_0$  e o plano xy como o plano transversal, no equilíbrio  $M_0 = M_z$ . Para que a detecção de  $M_z$  seja possível é necessário que a magnetização resultante se alinhe com o plano transversal (xy) o que demanda que um segundo campo magnético,  $B_1$ , perpendicular a  $B_0$  de curta duração seja aplicado (Figura 1.15) [71]. A frequência deste campo é dada pela frequência de Larmor (equação (1.20)). O átomo de hidrogênio tem constante giromagnética de  $42,6 \text{ MHz.T}^{-1}$ , o que significa que se  $B_0$  tem frequência 3 T é necessário que  $B_1$  tenha frequência de aproximadamente 127,8 MHz para ser capaz de mudar a orientação do vetor  $M_0$ . O ângulo ( $\alpha$ ) de inversão de  $M_0$  e o tempo de duração ( $t$ ) de  $B_1$  estão relacionados de acordo com a equação (1.23) [72].

$$\theta = \gamma B_1 t \quad (1.23)$$

Figura 1.15 — Ilustração do (A) vetor magnetização  $M_0$  resultante da interação dos spins dos prótons com um campo magnético externo principal  $B_0$  e (B) na presença de um segundo campo  $B_1$  que provoca uma perturbação capaz de dividir  $M_0$  em duas componentes: magnetização transversal  $M_{xy}$  e magnetização longitudinal  $M_z$ .



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint..

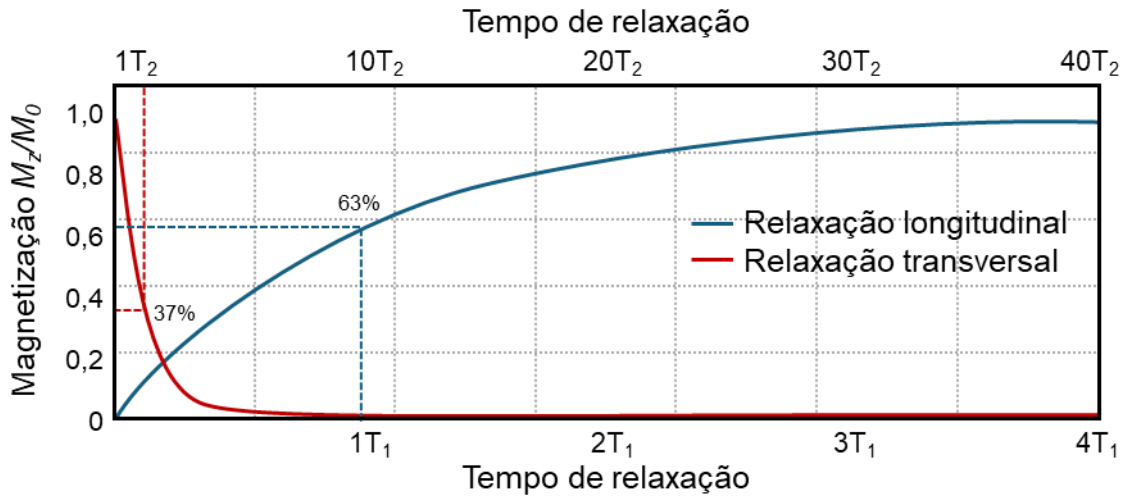
Como resultado da perturbação provocada pelo campo  $B_1$ , a magnetização paralela a  $B_0$ ,  $M_z$ , diminui com o passar do tempo até que se torna nula.  $B_1$  é



desligado e a magnetização  $M_z$  retorna em 63% a condição de equilíbrio que exibía enquanto o sistema estava sujeito apenas a  $B_0$ . Este processo é nomeado relaxamento longitudinal e ocorre por meio de interações spin-rede com uma constante exponencial de tempo,  $T_1$  de acordo com a equação (1.24) e conforme ilustrado na Figura 1.16 [72,73]:

$$M_z(t) = M_{z,0} (1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad (1.24)$$

Figura 1.16 — Relaxação da magnetização longitudinal e transversal após a inversão da magnetização líquida  $M_0$  em um ângulo de  $90^\circ$ ; no intervalo de tempo  $T_1$ ,  $M_z$  relaxa até recuperar 63% da magnetização líquida  $M_0$ . No intervalo de tempo  $T_2$  e  $M_{xy}$  perde 63% da magnetização.



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

De forma simultânea ao relaxamento longitudinal, ocorre o relaxamento transversal, que por sua vez é relativo a componente  $M_{xy}$  da magnetização. Sob a influência de  $B_0$  e  $B_1$  os spins passam a precessar em fase, os momentos magnéticos portanto se somam de forma não nula o que resulta em uma magnetização rotativa no plano  $xy$ ,  $M_{xy}$ . Após desligamento de  $B_1$ , os spins já não precessam em fase e a magnetização no plano  $xy$  diminui até seu estado inicial, quando apenas  $B_0$  estava presente, ou seja, torna-se nulo [73]. Este relaxamento resulta de interações spin-spin e ocorre exponencialmente com uma constante de tempo,  $T_2$  de acordo com a equação (1.25) e conforme ilustrado na Figura 1.16. A constante  $T_2$  reflete o intervalo até que 63% da magnetização transversal seja perdida [72,73].

$$M_{xy}(t) = M_{xy,0} (1 - e^{-\frac{t}{T_2}}) \quad (1.25)$$

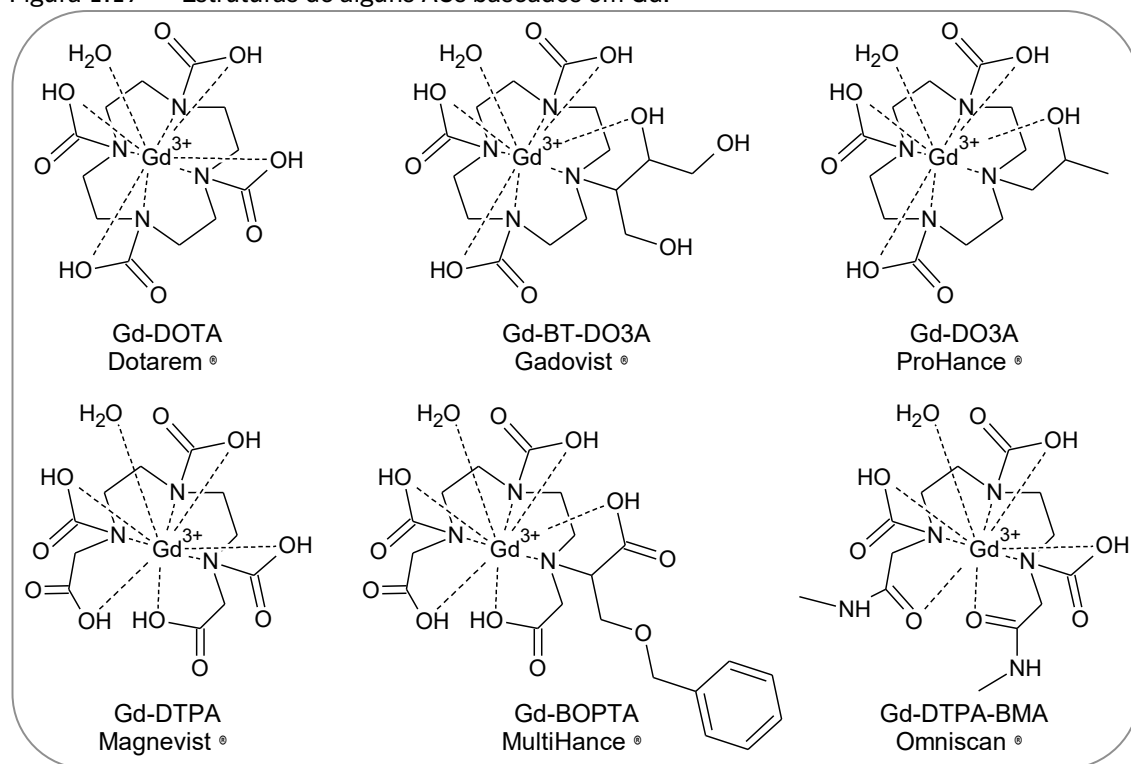
Os tempos de relaxação  $T_1$  e  $T_2$  dos núcleos de hidrogênio de moléculas de água são dependentes do meio em que essas moléculas encontram. Em tecidos do corpo humano  $T_1$  e  $T_2$  são muito menores que os tempos observados em água pura, o que se deve às interações das moléculas de água com macromoléculas e com possíveis espécies paramagnéticas endógenas. É essa diferença intrínseca que permite a diferenciação entre tecidos [74,75]. A obtenção de imagens por MRI pode ser ponderada por: a)  $T_1$  onde, as imagens exibem contraste positivo; tecidos com  $T_1$  mais curto brilham mais; b) ou por  $T_2$ , as imagens exibem contraste negativo: tecidos com  $T_2$  mais curto brilham menos. No organismo humano  $T_2$  é tipicamente entre 5 e 20 vezes menor que  $T_1$  [75]. Na faixa de intensidade de campo mais comum nos equipamentos de MRI utilizados clinicamente, a dependência entre intensidade do campo principal e tempo de relaxação é mais pronunciada para  $T_1$  que para  $T_2$ . O que permite que  $T_1$  possa ser modulado pela intensidade do campo. Além disso heterogeneidades no campo de quaisquer naturezas podem encurtar ainda mais  $T_2$  [72]. A maior sensibilidade de  $T_2$  e sua curta duração, nas condições dos exames clínicos, acrescentam restrições para obtenção de imagens com bom contraste nas varreduras ponderadas em  $T_2$  [75].

Como já pontuado, a MRI é uma técnica que apresenta sensibilidade baixa, uma fração importante dos exames de MRI demandam a utilização de um agente de contraste (AC). Esses agentes alteram o mecanismo de relaxação de moléculas de água em sua volta de modo a acentuar as diferenças entre os tecidos aumentando assim o contraste da imagem [74,76]. ACs afetam tanto  $T_1$  quanto  $T_2$ , um AC que altera  $T_1$  em maior proporção é tratado como um agente de contraste  $T_1$  ou agente de contraste positivo, da mesma forma, um AC que altera  $T_2$  em maior proporção é tratado como um agente de contraste  $T_2$  ou agente de contraste negativo [77,60].

### 1.1.2 Quelatos de Gadolínio como agentes de contraste para MRI e mecanismos de relaxação paramagnética

Os ACs para MRI mais utilizados clinicamente (Figura 1.17) são complexos de gadolínio (III), que são ACs de contraste positivo [75]. O íon  $\text{Gd}^{3+}$  é uma espécie paramagnética com elevado momento magnético efetivo, que se deve aos 7 elétrons 4f desemparelhados e, no estado fundamental este íon apresenta simetria elevada,  $^8\text{S}$  [77,78].

Figura 1.17 — Estruturas de alguns ACs baseados em Gd.



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

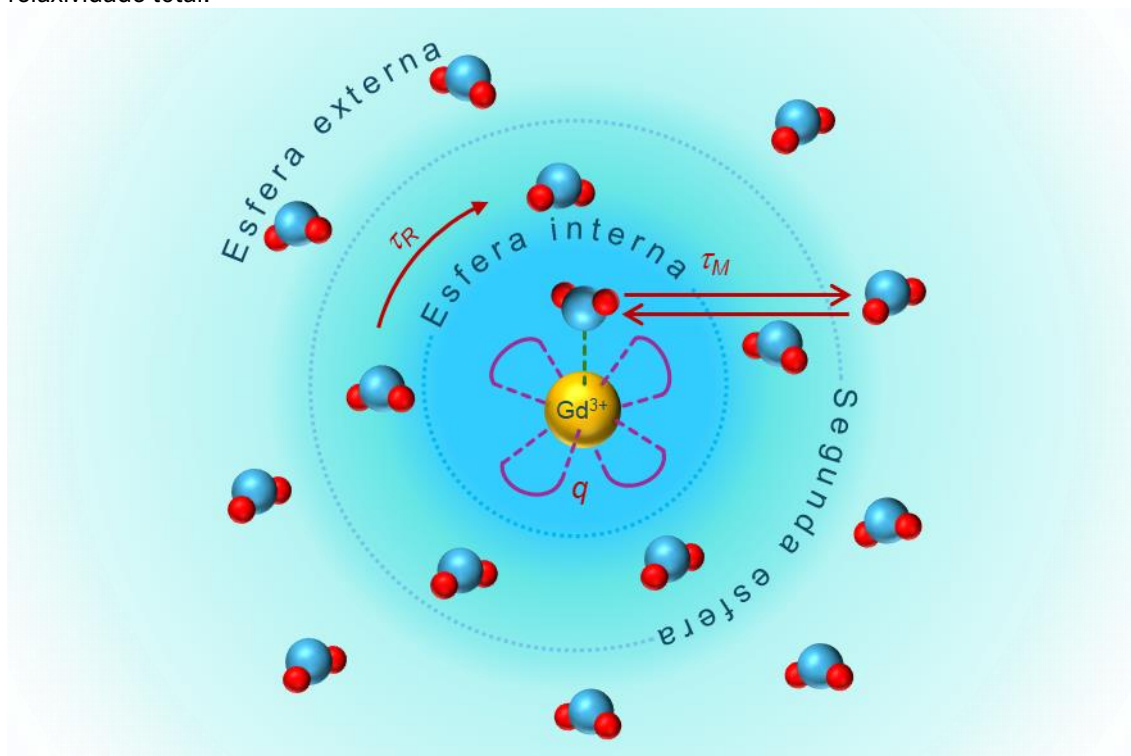
A medida do quanto os tempos de relaxação das moléculas de água são modificados em função da concentração AC é dada através da relaxividade,  $r_i$  (equação (1.26)) [79,76]:

$$r_i[C_p] = \frac{1}{T_{io}} - \frac{1}{T_{id}}, i = 1 \text{ ou } 2 \quad (1.26)$$

onde  $[C_p]$  é a concentração da espécie paramagnética em  $\text{mmol.L}^{-1}$ ,  $1/T_{id}$  é a taxa de relaxação diamagnética, ou seja, na ausência de qualquer espécie paramagnética, e  $1/T_{io}$  é a taxa de relaxação observada em função da presença da espécie paramagnética.

O movimento Browniano de uma espécie paramagnética faz surgir um campo magnético local que encurta o tempo de relaxação da molécula de água coordenada [75]. Isso ocorre através de mecanismos que envolvem interações entre o *spin* dos elétrons do centro paramagnético e o *spin* dos prótons  $^1\text{H}$  das moléculas de água [74]. De acordo com o modelo clássico, estes mecanismos de relaxação podem ser: de esfera interna, segunda esfera e esfera externa (Figura 1.18). O mecanismo de esfera interna trata de moléculas de água diretamente ligadas ao metal; o mecanismo de segunda esfera, trata das moléculas de água na segunda esfera de coordenação; e o mecanismo de esfera externa, trata das moléculas água que difundem em torno do composto paramagnético [74,75]. Frequentemente é difícil diferenciar contribuições de segunda esfera e de esfera externa, o faz com que sejam agrupados como efeitos de esfera externa.

Figura 1.18 — Representação esquemática das possíveis localizações das moléculas de água em um complexo paramagnético e alguns dos parâmetros relacionados que contribuem para a relaxividade total.



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

Para sistemas como os complexos de Gd(III) usados como ACs, as contribuições de esfera interna são as mais importantes [74]. Desta forma o termo  $1/T_{io}$  na equação (1.26) é então um somatório destas contribuições, como mostra a equação (1.27):

$$\frac{1}{T_{io}} = \frac{1}{T_i^{IS}} + \frac{1}{T_i^{OS}} + \frac{1}{T_{id}} \quad (1.27)$$

onde  $T_i^{IS}$  e  $T_i^{OS}$  são as contribuições paramagnéticas de esfera interna e externa, respectivamente, para o tempo de relaxação observado. O modelo de Solomon-Bloembergen Morgan (SBM) descreve o mecanismo de relaxação de esfera interna, no qual  $T_i^{IS}$  é dado pelas equações (1.28) e (1.29) [80,81,82]:

$$\frac{1}{T_1^{IS}} = R_1^{IS} = \frac{q[C_p]}{55,5(T_{1m} + \tau_m)} \quad (1.28)$$

$$\frac{1}{T_2^{IS}} = R_2^{IS} = \frac{q[C_p]}{55,5\tau_m} \left[ \frac{T_{2m}^{-1}(\tau_m^{-1} + T_{2m}^{-1}) + \Delta\omega_m^2}{(\tau_m^{-1} + T_{2m}^{-1})^2 + \Delta\omega_m^2} \right] \quad (1.29)$$

onde  $q$  é o número de moléculas de água diretamente coordenadas ao centro paramagnético;  $\tau_m$  é o tempo médio de residência dos prótons da água coordenada;  $[C_p]$  é a concentração molar da espécie paramagnética;  $T_{1m}$  e  $T_{2m}$  são, respectivamente, os tempos de relaxação eletrônica longitudinal e transversal dos prótons de moléculas de água; e  $\Delta\omega_m$  é a diferença de deslocamento químico entre moléculas de água livres e coordenadas [80,81,82].

A teoria de SBM fornece a equação (1.30) para as taxas de relaxação  $T_{1m}$  e  $T_{2m}$  nesses casos. Dois tipos de contribuições são levados em conta: dipolar, que ocorre por interações, através do espaço, entre o dipolo nuclear e o dipolo dos elétrons desemparelhados; e escalar, resultantes da deslocalização, através das ligações, da densidade de spin desemparelhado no núcleo. As equações (1.31) a (1.34) se referem a estas contribuições [77,83]:

$$\frac{1}{T_{im}} = \frac{1}{T_i^{DD}} + \frac{1}{T_i^{SC}} \text{ onde } i=1 \text{ ou } 2, DD=\text{dipolar}, SC=\text{escalar} \quad (1.30)$$

$$\frac{1}{T_1^{DD}} = R_1^{DD} = \frac{2}{15} \frac{\gamma_I^2 g^2 \mu_B^2}{r_{GdH}^6} S(S+1) \left( \frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \left[ 7 \frac{\tau_{c2}}{1 + \omega_S^2 \tau_{c2}^2} + 3 \frac{\tau_{c1}}{1 + \omega_I^2 \tau_{c1}^2} \right] \quad (1.31)$$

$$\frac{1}{T_1^{SC}} = R_1^{SC} = \frac{2S(S+1)}{3} \left( \frac{A}{\hbar} \right)^2 \left[ \frac{\tau_{e2}}{1 + \omega_S^2 \tau_{e2}^2} \right] \quad (1.32)$$

$$\frac{1}{T_2^{DD}} = R_2^{DD} = \frac{1}{15} \frac{\gamma_I^2 g^2 \mu_B^2}{r_{GdH}^6} S(S+1) \left( \frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \left[ 13 \frac{\tau_{c2}}{1 + \omega_S^2 \tau_{c2}^2} + 3 \frac{\tau_{c1}}{1 + \omega_I^2 \tau_{c1}^2} + 4\tau_{c1} \right] \quad (1.33)$$

$$\frac{1}{T_2^{SC}} = R_2^{SC} = \frac{S(S+1)}{3} \left( \frac{A}{\hbar} \right)^2 \left[ \frac{\tau_{e2}}{1 + \omega_S^2 \tau_{e2}^2} + \tau_{e1} \right] \quad (1.34)$$

onde,  $S$  é o número quântico de spin eletrônico;  $\gamma_I$  é a constante giromagnética nuclear;  $g$  é o fator de Landé do elétron;  $\mu_B$  é o magneton de Bohr;  $r_{GdH}$  é a distância entre o íon  $Gd^{3+}$  e o próton da água diretamente coordenada;  $\mu_0$  é a permeabilidade magnética no vácuo;  $A/\hbar$  é a constante de acoplamento hiperfina entre os elétrons do metal e os prótons da água;  $\omega_I$  e  $\omega_S$  são as frequências de Larmor nuclear e eletrônica respectivamente [77]. É possível perceber que as contribuições dipolar e escalar são definidas pelos respectivos tempos de correlação  $\tau_c$  e  $\tau_e$ , que por sua vez são definidos pelas equações (1.35) e (1.36) [77,83]:

$$\frac{1}{\tau_{ci}} = \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{T_{ie}} + \frac{1}{\tau_m} \quad (1.35)$$

$$\frac{1}{\tau_{ei}} = \frac{1}{\tau_m} + \frac{1}{T_{ie}}, \text{ onde } i=1 \text{ ou } 2 \quad (1.36)$$

onde  $\tau_R$  é o tempo de correlação rotacional da molécula/complexo, e  $1/T_{ie}$  é a taxa de relaxação eletrônica do íon metálico. Para complexos paramagnéticos com o íon  $Gd^{3+}$  as contribuições escalares são menores devido as distâncias entre o íon metálico e as moléculas de água coordenadas, portanto os parâmetros na contribuição dipolar são mais importantes [77,83].

A relaxação de esfera externa é explicada pelo modelo de esfera rígida de Hwang e Freed e é baseado na difusão translacional e nos movimentos de rotação de moléculas de água nas proximidades do centro paramagnético [84,77,74]. Modulada pela relaxação eletrônica resultante da interação entre o spin nuclear / do próton da água e o spin de elétron do gadolínio S, pode ser descrita como nas equações (1.37) a (1.39) [84,77].

$$\frac{1}{T_1^{OS}} = R_1^{OS} = \left(\frac{32\pi}{405}\right) \cdot \left(\frac{\mu_0}{4\pi}\right)^2 \cdot \gamma_I^2 \gamma_S^2 \eta^2 S(S+1) \cdot \frac{N_A}{a_{GdH} D_{GdH}} \cdot [3J(\omega_I; T_{1e}) + 7J(\omega_S; T_{2e})] \quad (1.37)$$

$$J(\omega_i T_{je}) = \text{Re} \left[ \frac{1 + \frac{1}{4} \left( i\omega_i \tau_{GdH} + \frac{\tau_{GdH}}{T_{je}} \right)^2}{1 + \left( i\omega_i \tau_{GdH} + \frac{\tau_{GdH}}{T_{je}} \right)^2 + \frac{4}{9} \left( i\omega_i \tau_{GdH} + \frac{\tau_{GdH}}{T_{je}} \right) + \frac{1}{9} \left( i\omega_i \tau_{GdH} + \frac{\tau_{GdH}}{T_{je}} \right)^2} \right] \quad (1.38)$$

onde j = 1 ou 2, i = I ou S

$$\tau_{GdH} = \frac{a_{GdH}^2}{D_{GdH}} \quad (1.39)$$

onde  $T_{je}$  é o tempo de relaxação eletrônico;  $J(\omega_i; T_{je})$  é uma função de densidade espectral não-Lorentziana;  $N_A$  é a constante de Avogadro;  $\gamma_S$  é a constante giromagnética do elétron;  $a_{GdH}$  é a menor distância entre os prótons do solvente na esfera externa e o centro paramagnético;  $D_{GdH}$  é a soma dos coeficientes de difusão dos prótons da água e do complexo e  $\tau_{GdH}$  é o tempo de correlação da difusão. Todos os outros termos se repetem das equações anteriores. É possível observar que a relaxação na esfera externa depende principalmente de  $a_{GdH}$  e  $D_{GdH}$ , consequentemente o tempo de correlação da difusão,  $\tau_{GdH}$ , domina o processo [77,83]. Os efeitos de esfera externa são essencialmente importantes na ausência de efeitos de esfera interna, ou seja, se nenhuma molécula de água está coordenada ao centro paramagnético [74,75].

### 1.1.3 Toxicidade do íon $Gd^{3+}$ e estratégias para obtenção de ACs mais eficientes

A baixa sensibilidade na MRI pode exigir que quantidades elevadas de ACs sejam administradas, muitas vezes na escala de gramas [79]. O íon  $Gd^{3+}$  é tóxico ao organismo humano, portanto, aumentar a eficiência dos ACs significa reduzir o volume necessário a ser administrado durante um exame tornando mais seguro seu uso clínico. Íons  $Gd^{3+}$  podem interferir vias de sinalização mediadas por  $Ca^{2+}$  em organismos vivos, pois os raios iônicos destes dois cátions se assemelham [75,79]. Fibrose sistêmica nefrogênica (NSF) é uma condição rara que tem sido associada a administração de ACs baseados em complexos de gadolínio em pacientes com insuficiência renal. NSF causa fibroses principalmente na pele e músculos dificultando a mobilidade e, em casos mais severos, provoca morte por insuficiência respiratória [85]. Há indícios que  $Gd^{3+}$  proveniente de ACs pode também se acumular no sistema nervoso central, são ainda desconhecidos os efeitos desde acúmulo para o organismo [75,79,76].

Ainda assim os ACs baseados em gadolínio são os mais seguros, com 40 eventos graves a cada milhão de injeções. Esta segurança é possível porque o  $Gd^{3+}$  presente nestes ACs está quelado, tipicamente por ligantes poliaminocarboxilatos octadentados e uma molécula de água ocupa o nono sítio de coordenação (Figura 1.17) [75]. Em circunstâncias ideais estes complexos são rapidamente excretados por via renal, evitando a liberação do íon  $Gd^{3+}$  no organismo [86,75].

Elevadas estabilidades termodinâmica e cinética de complexos de  $Gd^{3+}$  são o melhor indicativo de baixa toxicidade *in vivo*. A constante termodinâmica ( $K_{Gd-L}$ ) reflete a força das interações entre o íon e o ligante, ligantes mais básicos tipicamente fornecem complexos mais estáveis com  $Gd^{3+}$ , dada a afinidade entre ácido duro - base dura [75,79]. A estabilidade termodinâmica pode ser avaliada em circunstâncias específicas -como uma faixa de pH, por exemplo- a partir de uma constante de estabilidade condicional ( $K_{cond}$ ) [75]. Há evidências de que a inércia cinética é o fator mais importante para estabilidade destes complexos, e pode ser observada a partir da taxa com a qual  $Gd^{3+}$  é liberado na presença de um dos íons concorrentes ( $H^+$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  e  $Ca^{2+}$ ). A transmetalção com  $Zn^{2+}$  é a escolha mais frequente dada a alta concentração destes íons no organismo e estabilidade



termodinâmica dos complexos formados [87,75]. Normalmente os quelatos cíclicos são cineticamente mais inertes quando comparados aos lineares, devido a maior rigidez dos ligantes cíclicos [86,75]. Por essa razão a administração de quelatos lineares em indivíduos com insuficiência renal grave foi contraindicada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) nos EUA [75]. No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional De Vigilância Sanitária) disponibiliza orientações de uso seguro para cada um dos ACs aprovados [88].

Em termos quantitativos, o aumento de eficiência de um AC para IRM é observado pelo aumento da relaxividade [75,79]. Para complexos paramagnéticos simples a troca química ocorre rapidamente ( $\tau_m \ll T_{1m}$ ) os mecanismos de esfera interna são especialmente significativos e o aumento da taxa de relaxação experimentado pelas moléculas de água no meio dependerá da taxa de relaxação para a molécula de água coordenada [77,75]. Nos campos mais utilizados clinicamente (frequências  $> 0,2$  T), o tempo de correlação rotacional,  $\tau_R$  é dominante e a relaxividade longitudinal de esfera interna pode ser aproximada para a equação (1.40) [75]:

$$r_1^{IS} = \frac{R_1^{IS}}{C_q} = c \cdot q \cdot \tau_R \quad (1.40)$$

onde  $c$  é o conjunto de constantes da equação (1.28). Nestas condições, portanto, um aumento da relaxividade para complexos de  $Gd^{3+}$  poderia ser alcançado pela diminuição da velocidade de rotação do complexo paramagnético ou aumento do número de moléculas de água coordenada [75].

A abordagem mais eficaz para aumentar a relaxividade de ACs baseados em complexos de  $Gd^{3+}$  consiste em estender o tempo de correlação rotacional,  $\tau_R$  [76]. O tamanho e o peso molecular, presença de ligações covalentes com grupos volumosos, assim como a viscosidade do meio interferem no tempo de reorientação da espécie paramagnética [89,90]. Em campo baixo, para complexos simples de  $Gd^{3+}$ ,  $\tau_R$  é umas das contribuições mais importantes para a correlação geral e seu aumento é acompanhado de um aumento de  $r_1$  [89,90]. Este comportamento é visto até um limite, que ocorre quando o produto  $\omega^2 \tau_{c1}^2$  do termo  $3(\tau_{c1}/1 + \omega^2 \tau_{c1}^2)$  da equação (1.31) for  $> 1$ , ou seja, quando o campo ou  $\tau_c$  são elevados [75]. Para

espécies maiores a reorientação é mais complexa, e a relação entre o tamanho e o  $\tau_R$  não é tão direta [89,90].

Apesar de resultar em uma relaxividade maior, aumentar o número de moléculas de água coordenadas ao centro metálico costuma ter implicações negativas em suas estabilidades cinética e termodinâmica [63,90,75].

O tempo de residência,  $\tau_M$  ou taxa de troca,  $1/k_{ex}$  da água coordenada, é uma das contribuições para o tempo de correlação  $\tau_c$ , definido na equação (1.35). A troca química entre as moléculas de água coordenadas ao centro paramagnéticos e as que estão em volta deste deve ocorrer numa velocidade que permita a transferência e ainda assim não prejudique as interações dipolo-dipolo entre as moléculas [89,90]. Há uma dependência entre a relaxividade e  $1/(T_{1m} + \tau_M)$  como visto na equação (1.28), para pequenos complexos de  $Gd^{3+}$   $T_{1m} \gg \tau_M$  nesses casos  $\tau_M$  tem pouca influência na relaxividade. Se o tempo de rotação for longo e  $T_{1m}$  curto, então  $\tau_M$  passa a ter maior influência nos valores de relaxividade [75]. A presença de grupos que provocam impedimento estérico, surgimento de cargas ou permitam ligações de hidrogênio implicam na diminuição de  $\tau_M$ , que, em campo baixo, resulta em aumento de  $r_1$  [89,90].

#### *1.1.4 Nanosondas óptico – paramagnéticas baseadas em PQs e quelatos de gadolínio para imagem multimodal*

Como discutido em 1.3 e 1.4, PQs, em especial aqueles com emissão NIR, são bons candidatos a sondas para FI. Somado a isso, sua superfície ativa é um fator multiplicador de suas funcionalidades e possíveis aplicações. Portanto, conjugar espécies paramagnéticas à superfície de PQs lhes acrescenta uma propriedade – paramagnetismo – e, conseqüentemente possibilita sua aplicação em MRI. Quelatos de  $Gd^{3+}$  são uma boa opção para compor a parte paramagnética deste material visto que já são utilizados clinicamente com eficácia e segurança, conforme já explorado.

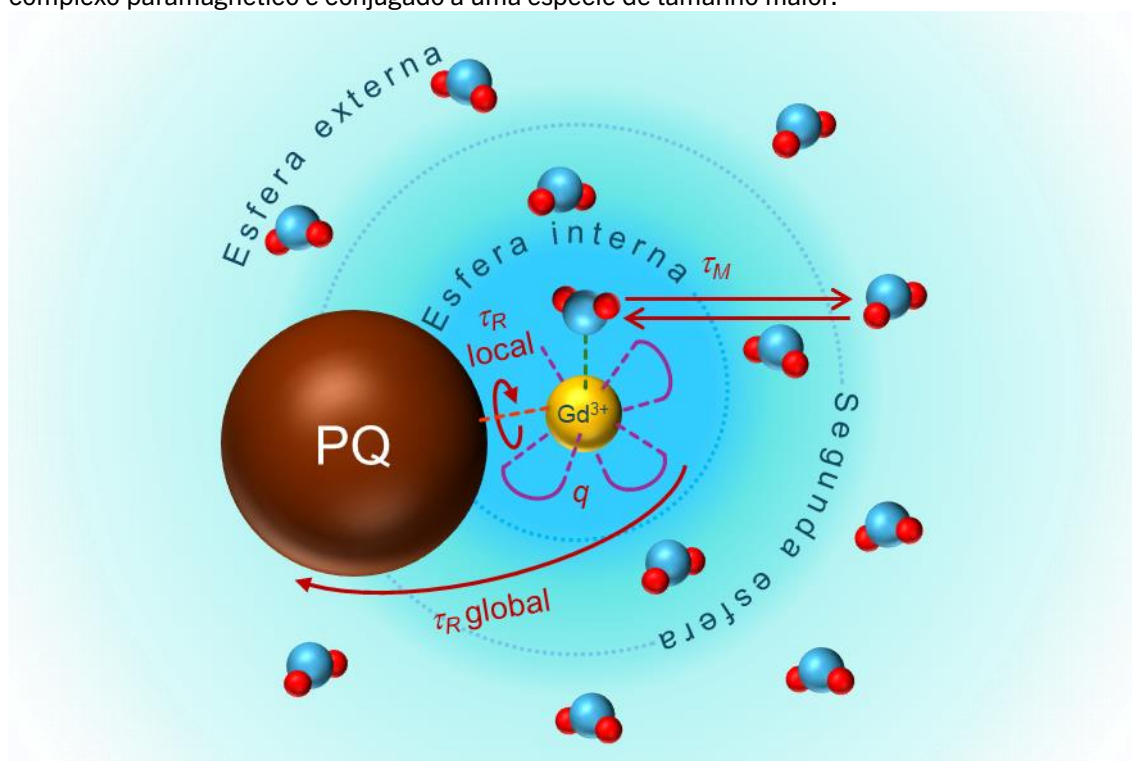
As estratégias mais comuns de conjugação de quelatos de  $Gd^{3+}$  a nanopartículas podem ser agrupadas de acordo com o tipo de interação entre as duas espécies: covalente e não-covalente. Nas estratégias de conjugação covalente

os grupos funcionais na superfície dos PQs são covalentemente ligados ao quelatos, normalmente agentes de acoplamento mediam estes processos. As estratégias não covalentes podem envolver encapsulamento, associações físicas, ligação coordenada e ligação estreptavidina-biotina [59].

O material obtido pela conjugação de PQs  $\text{Ag}_2\text{X}$  e quelatos de  $\text{Gd}^{3+}$  não só reúne as propriedades destas duas espécies como pode fornecer um material com relaxividade superior àquela observada para o quelato não conjugado. Uma vez que, o aumento da massa de um complexo paramagnético reduz sua mobilidade, ou seja, aumenta  $\tau_R$ , que resulta no aumento de  $r_1$ , conforme discutido em 1.1.3. A diminuição de mobilidade aumenta a contribuição da taxa de troca da água coordenada ( $k_{\text{ex}}=1/\tau_M$ ) na relaxação e pode limitar do aumento de  $r_1$  [68,91].

Quando um complexo paramagnético é ligado a uma espécie maior o tempo de correlação rotacional,  $\tau_R$ , é afetado pela rotação local em torno desta ligação e pela rotação de todo o material (Figura 1.19). Desta forma há, respectivamente, um  $\tau_{R\text{Local}}$  e um  $\tau_{R\text{Global}}$  [86,75,59]. A rotação local pode ocorrer de forma desacoplada em relação a rotação global, neste caso a relaxividade será menor do que esperado [75]. Os modelos de Lipari e Szabo, utilizados inicialmente para interpretar a relaxação em macromoléculas, descrevem matematicamente esse comportamento [92]. Os movimentos internos podem ser minimizados através de diferentes estratégias, como por exemplo: usar um ligante muito curto para a conjugação; utilizar ligante que permite dois pontos de ligação; promover a conjugação a partir da ligação com um grupo do próprio ligante do complexo [86].

Figura 1.19 — Principais parâmetros associados a mudanças no mecanismo relaxação quando um complexo paramagnético é conjugado a uma espécie de tamanho maior.



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

O aumento da relaxividade em função de  $\tau_R$  e  $\tau_M$  depende também da intensidade do campo magnético. Para as intensidades de campo da maioria dos equipamentos em uso clínico ( $\geq 1,5$  T) altas relaxividades são observadas quando a troca química de água ocorre rapidamente e a rotação é lenta e rotação lenta ( $\tau_R > 5$  ns). Para campos mais intensos ( $\geq 3$  T) relaxividades altas ocorrem se a troca é também rápida e a rotação é moderada ( $\tau_R$  de 0,5–2 ns) [86].

Em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa, quelatos derivados de Gd-DOTA foram conjugados a PQs através de ligações coordenadas (ou dativas) tiol-metal [93,94]. Esta é uma estratégia de conjugação não covalente já conhecida e tem sido utilizada para diferentes PQs e quelatos de  $Gd^{3+}$  [59,66,95].

### 1.11 Estrutura dos capítulos seguintes

O presente trabalho buscou expandir os resultados já obtidos anteriormente pelo grupo, a fim de obter PQs com absorção e emissão de fotoluminescência mais deslocados para o NIR. Para isto, POE foi utilizado para investigar as condições experimentais que fornecem PQs de  $Ag_2Se$  e de  $Ag_2Te$  com as melhores

propriedades ópticas possíveis. Os referidos PQs foram obtidos em meio coloidal aquoso através de um processo *bottom-up* e em uma configuração “*One-pot*” (do inglês - um vaso), onde todo processo acontece em um único vaso reacional, o que pode contribuir para diminuir fontes de erro. Desta forma, o Capítulo 3 é uma adaptação do artigo publicado como resultado de parte do trabalho desenvolvido, e trata da preparação dos PQs de Ag<sub>2</sub>Se estabilizados com MPA, enquanto o Capítulo 4 do estudo para obtenção de PQs de Ag<sub>2</sub>Te com propriedades ópticas otimizadas.

Por último, o Capítulo 5 descreve a obtenção de novos sistemas óptico – paramagnéticos baseados em PQs livres de cádmio e complexos de Gd<sup>3+</sup>. Para compor estes materiais foram selecionados os melhores PQs obtidos no desenvolvimento deste trabalho e três derivados de Gd-DOTA.

## CAPÍTULO 2 : OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Otimização das propriedades ópticas de nanopartículas de calcogenetos de prata hidrofílicas com emissão de fotoluminescência NIR e explorar aplicações em sondas analíticas e biomédicas.

### 2.2 Objetivos específicos

- 1- Rastrear as melhores condições sintéticas para obtenção de selenetos e teluretos de prata em meio aquoso através de reações *one-pot*;
- 2- Obter PQs altamente estáveis, luminescentes na região do NIR, com morfologia esférica, tamanhos homogêneos, cristalinidade;
- 3- A partir dos melhores PQs, obter:
  - a. Sensor que permita quantificar através de SEIRA (espectroscopia de infravermelho aprimorada por superfície) analitos de interesse;
  - b. Sonda biomédica óptico-paramagnética para imagem por fluorescência e por ressonância magnética, através da conjugação dos PQs a complexos paramagnéticos;
- 4- Verificar a manutenção das propriedades ópticas e estabilidade dos PQs nas sondas bimodais óptico-paramagnéticas;

## **CAPÍTULO 3 : Melhorando propriedades ópticas de pontos quânticos hidrofílicos de Ag<sub>2</sub>Se – MPA através de abordagens quimiométricas para aplicações de (bio)detecção**

(adaptação de artigo<sup>a</sup>)

### **3.1 Introdução**

Partículas pequenas, especialmente aquelas com dimensões menores que 5,5 nm, oferecem vantagens significativas para imagens e terapia direcionadas a tumores. Isto é atribuído à sua maior capacidade de penetrar nas barreiras celulares e à rápida eliminação do corpo (por excreção renal), resultando em toxicidade reduzida. Assim, os pontos quânticos (PQs) destacam-se como uma alternativa atraente para aplicações de nanodiagnóstico e nanoterapia [50].

PQs II-VI altamente fluorescentes são úteis como sensores para o estudo de sistemas biológicos. Estes semicondutores nanoestruturados têm sido extensivamente estudados e podem ser preparados por meio de síntese coloidal envolvendo blocos de construção orgânicos ou inorgânicos, dependendo do solvente (orgânico ou aquoso, respectivamente). Porém, a presença de íons metálicos pesados, como chumbo, mercúrio e cádmio, em sua composição limita o uso destes nanomateriais como sondas para monitoramento *in vivo*, bem como em aplicações biológicas ou ambientais, e torna tóxicos os resíduos gerados na sua obtenção e manuseio. Neste contexto, os PQs baseados em elementos dos grupos I-VI, que são livres de íons de metais pesados, são nanopartículas promissoras para aplicações (bio)médicas e ambientais. Dentre estes nanomateriais, os calcogenetos de prata (Ag<sub>2</sub>X, onde X = S, Se e Te) têm ganhado atenção por seu potencial em aplicações biomédicas [17,96]. Somada à sua composição, sua solubilidade relativamente baixa em água (valores de  $K_{ps}$ : Ag<sub>2</sub>S =  $6,3 \times 10^{-50}$ ; Ag<sub>2</sub>Se =  $2,0 \times 10^{-64}$ ; Ag<sub>2</sub>Te =  $2,0 \times 10^{-72}$ ) contribui para torná-los mais ecologicamente corretos e biocompatíveis. Além disso, esses semicondutores têm intervalos de banda estreito de 1,1; 0,15 e 0,06 eV para Ag<sub>2</sub>S, Ag<sub>2</sub>Se e Ag<sub>2</sub>Te, respectivamente, resultando em fotoluminescência na região espectral do infravermelho próximo (NIR) [28,52].

---

<sup>a</sup>Publicado na revista *New Journal of Chemistry* em 2024 (DOI: 10.1039/D4NJ01384K).

Tecidos e fluidos biológicos apresentam menor absorção e dispersão de luz, bem como redução da autofluorescência na região NIR, o que implica que a luz NIR tem maior penetrabilidade em sistemas biológicos. Por esta razão, a região NIR é frequentemente referida como “janela de diagnóstico biológico” (variando de 650 a 1450 nm) [17,96]. Essas razões tornam os PQs de  $\text{Ag}_2\text{X}$  promissores como sondas fluorescentes no NIR.

PQs de calcogenetos de prata mostram potencial não apenas para diagnósticos, mas também em aplicações analíticas e ambientais, para alcançar nanoplataformas sensíveis e precisas de detecção. É possível correlacionar mudanças nos perfis ópticos com a concentração do analito em estudo. PQs de  $\text{Ag}_2\text{S}$  têm sido usados como sensores fluorescentes para metais, ânions e antibióticos [97,98,99,100], e para a detecção de proteínas por espectrometria de massa [101]. Além disso, esses nanocristais têm sido avaliados como materiais ativos para espectroscopia de infravermelho aprimorada por superfície (SEIRA), sendo capazes de magnificar os modos vibracionais IR de ligações químicas. Esse aprimoramento ocorre através da contribuição de mecanismos químicos e eletromagnéticos, facilitando a detecção e monitoramento de baixas concentrações de poluentes em fontes de água [102].

A preparação de PQs em água apresenta algumas vantagens quando comparada a outros métodos, como impacto ambiental reduzido, melhor custo-benefício, condições de reação mais suaves e menos etapas para uso em sistemas biológicos [28]. A literatura recente descreve procedimentos sintéticos para PQs de calcogenetos de prata hidrofílicos, empregando temperaturas variando de 30 a 100 °C, tempos de reação de alguns minutos a 16 horas e diversas moléculas tioladas como agentes estabilizantes [96,28]. Os ligantes de superfície podem ser selecionados de acordo com a aplicação de interesse. Por exemplo,  $\text{Ag}_2\text{S}$  PQs funcionalizados com *N*-acetil-L-cisteína (NAC) apresentaram emissão entre 748 e 840 nm, demonstrando potencial para diagnóstico por imagem de fluorescência e capacidade terapêutica por promover a morte de células cancerígenas [103]. O revestimento de  $\text{Ag}_2\text{S}$  com metoxipoli(etilenoglicol)tiol (mPEG-SH) melhorou a captação celular, melhorando sua circulação sanguínea e desempenho como sonda para imagens de microscopia de fluorescência [104]. Apesar de seu potencial, os



PQs  $\text{Ag}_2\text{Se}$  têm sido relativamente subexplorados em comparação com seus equivalentes  $\text{Ag}_2\text{S}$ , provavelmente devido a maior dificuldade de obtenção destes PQs com boas propriedades físico-químicas através de metodologias síntese simplificadas [28,105].

As condições sintéticas gerais, como temperatura, pH, razão molar dos reagentes, tempo de reação e condições atmosféricas são cruciais no ajuste fino das propriedades ópticas dos PQs. Além disso, o agente estabilizante de superfície também é um fator chave nas propriedades ópticas dos PQs, e as melhores condições experimentais podem mudar de acordo com o ligante de superfície [96,28]. Assim, estudos para otimizar o desempenho de fluorescência dos PQs para cada agente estabilizador são essenciais. A maioria dos trabalhos que tratam de condições experimentais para melhorar as propriedades dos PQs baseiam-se em estudos univariados, que estudam um fator de cada vez. No entanto, tais abordagens não consideram as interações entre os fatores que alteram uma resposta, o que é uma limitação [54]. Para superar essas limitações, ferramentas quimiométricas como Planejamento e otimização de Experimentos (POE) surgiram como estratégias multivariadas poderosas para otimizar as características físico-químicas de sistemas ou processos [54]. No POE, as interações entre fatores experimentais podem ser estudadas com um número menor de experimentos e, conseqüentemente, menor duração e custos quando comparadas às estratégias univariadas [54,55]. No caso deste trabalho, essas ferramentas provaram ser inestimáveis para melhorar as propriedades de fluorescência dos  $\text{Ag}_2\text{Se}$  PQs, otimizando seus parâmetros sintéticos.

Este capítulo trata do emprego de estratégias multivariadas para preparar PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  hidrofílicos revestidos com ácido 3-mercaptopropiônico (MPA) e com fluorescência NIR melhorada.

## 3.2 Metodologia

### 3.2.1 Reagentes

Todos os reagentes foram usados conforme recebidos, sem quaisquer processos adicionais de purificação e todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade de 18,2 MΩ a temperatura ambiente). Foram utilizados os seguintes reagentes:  $\text{AgNO}_3$  ( $\geq 99\%$ ),  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (99%),  $\text{NaBH}_4$  ( $\geq 98\%$ ),  $\text{NaOH}$  ( $\geq 98\%$ ), ácido 3-mercaptopropiônico (MPA,  $\geq 99\%$ ),  $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{HCl}$  ( $\geq 98\%$ ) adquiridos de Sigma-Aldrich.

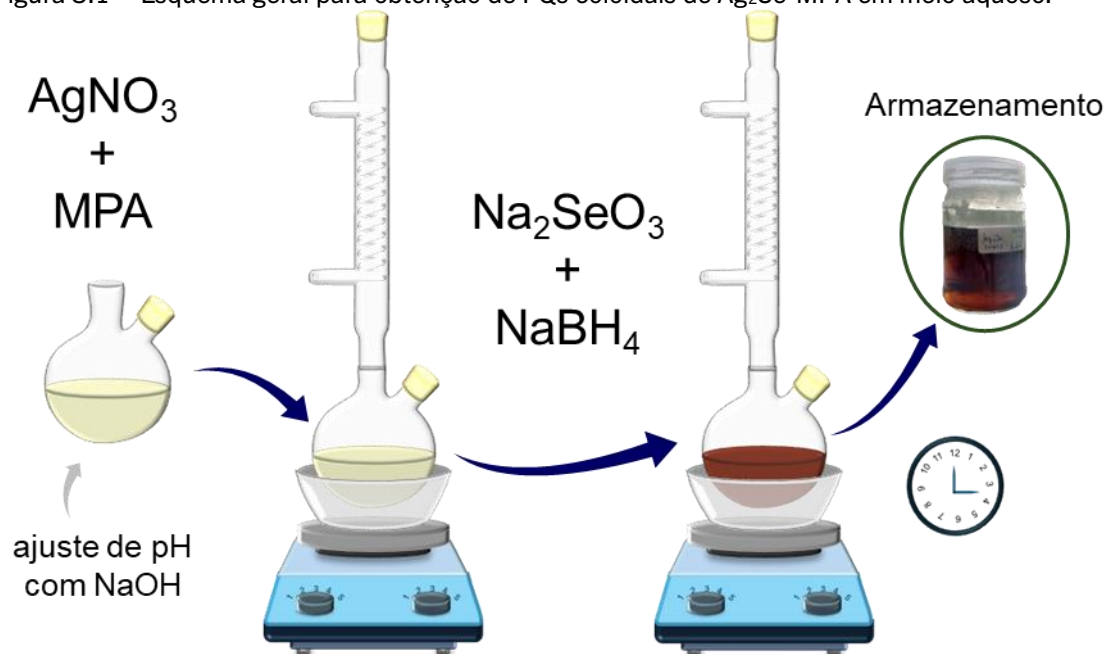
### 3.2.2 Síntese dos PQs de $\text{Ag}_2\text{Se-MPA}$

O protocolo sintético geral para preparação dos nanocristais de seleneto de prata ocorreu conforme ilustrado na Figura 3.1, de acordo com as seguintes etapas:

- 1- Soluções precursoras de  $\text{AgNO}_3$  ( $0,0025 \text{ mol.L}^{-1}$ ) e  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  ( $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ ) foram preparadas em água ultrapura;
- 2- Num balão de duas saídas foram adicionados 100 mL da solução de  $\text{AgNO}_3$  e a quantidade apropriada do estabilizante MPA (de acordo com os planejamentos experimentais descritos abaixo);
- 3- O pH foi ajustado a temperatura ambiente com adição de solução de  $\text{NaOH}$  ( $2 \text{ mol.L}^{-1}$ );
- 4- A mistura contendo precursor de prata e estabilizante foi submetida a aquecimento e agitação na temperatura selecionada, até equilíbrio térmico (variação de até  $\pm 3^\circ\text{C}$ );
- 5- O volume adequado da solução precursora de  $\text{Se}^{2-}$  foi adicionado;
- 6- Foi adicionado o agente redutor,  $\text{NaBH}_4$  solubilizado em 3 mL de água, de acordo com a proporção molar  $\text{NaBH}_4\text{:Se}$  de 2,5:1 e então a contagem do tempo de reação foi iniciado;

- 7- Após o tempo de síntese estipulado as suspensões obtidas foram armazenadas em frascos de vidro, mantidas ao abrigo da luz e do calor e posteriormente caracterizadas;
- 8- Todos os espectros foram registrados no sétimo dia após síntese.

Figura 3.1 – Esquema geral para obtenção de PQs coloidais de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA em meio aquoso.



Fonte: Autoria própria em Microsoft PowerPoint.

Os parâmetros tempo de reação, temperatura, pH e razões molares entre reagentes foram definidos para cada planejamento experimental e estão listados na Tabela 3.1. Os volumes de MPA e das soluções de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  foram adicionados de acordo com as razões molares MPA:Ag e Ag:Se.

Inicialmente foi realizado um planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$  com pontos centrais (CP), em seguida um planejamento fatorial completo  $2^3$ , e por fim, um Delineamento Composto Central (CCD) com pontos fatoriais ( $2^3$ ) e axiais (ou estrela, com  $\alpha = 1$  [106]). Os níveis inferior, central e superior foram representados por -1, 0 e +1, respectivamente. No Apêndice I estão descritas, para cada uma das amostras, suas respectivas condições sintéticas e os dados de intensidade de PL e FWHM obtidos.

Tabela 3.1 – Fatores e respectivos níveis estudados nos planejamentos experimentais realizados.

PQ - Estabilizante				Ag <sub>2</sub> Se - MPA								
Tipo de planejamento experimental				fatorial fracionado 2 <sup>4-1</sup> + PC			fatorial completo 2 <sup>3</sup> + PC			CCD 2 <sup>3</sup>		
Fator				Níveis								
				-1	0	+1	-1	0	+1	-1	0	+1
[Ag <sup>+</sup> ] (mmol.L <sup>-1</sup> )				0.25	1.375	2.5	a	a	a	a	a	a
Temperatura (°C)				30	50	70	b	b	b	50	70	90
Razão molar Ag:Se				4:1	6:1	8:1	4:1	6:1	8:1	c	c	c
Tempo de reação (min)				20*	x	180*	60*	x	180*	60	120	180
Razão molar MPA:Ag				d	d	d	6:1	8:1	10:1	d	d	d
pH				e	e	e	e	e	e	9	10	11

PC – pontos centrais, CCD – planejamento composto central

x: não há nível intermediário atribuído; \*tempo até a retirada da alíquota

a-e: condições de síntese fixadas, conforme valores:

a: [Ag<sup>+</sup>] = 2,5 mmol.L<sup>-1</sup>; b: Temperatura = 70 °C; c: Razão molar Ag:Se = 8:1; d: relação molar MPA:Ag = 6:1; e: pH = 11

### 3.2.3 Caracterizações ópticas

Para todas as suspensões obtidas, foram realizadas caracterizações ópticas através de espectroscopia de fluorescência no infravermelho (Espectrofluorímetro Fluorolog-3 ISA - Horiba) do CEMENE no DQF-UFPE, espectroscopia de absorção UV-Vis-infravermelho (espectrofotômetro Cary 5000 UV-Vis-NIR - Agilent Technologies) do Laboratório de Química no DF-UFPE e espectroscopia UV-Vis (Perkin Elmer, Lambda 650) da Central Analítica do DQF - UFPE. Todas as amostras foram diluídas de modo a se obter espectros sem efeitos de densidade óptica, até o primeiro máximo de absorção apresentar absorvância de aproximadamente  $\leq 0,2$ . Algumas amostras apresentaram valores mais elevados devido à formação de precipitados.

### 3.2.4 Otimização de propriedades ópticas através de planejamento e otimização de experimentos

A fim de obter PQs de Ag<sub>2</sub>Se com as melhores propriedades, o procedimento de síntese foi estudado de forma multivariada. Os fatores e os níveis correspondentes foram selecionados para cada planejamento e estão descritos em 3.2.2. Para todos os planejamentos experimentais foram avaliadas duas respostas: a intensidade da fotoluminescência (PL) e a largura à meia altura (FWHM), ambas obtidas a partir dos espectros de emissão de fotoluminescência, corrigidos para a

absorbância no comprimento de onda de excitação (470 nm), para desconsiderar o efeito da concentração nos resultados. O software utilizado foi o Statistica12, todos os dados foram inseridos como pertencentes a um único bloco e os experimentos realizados de forma aleatória.

Os resultados estatísticos foram analisados a partir da avaliação dos valores dos efeitos estudados e seus respectivos intervalos de confiança foram de 95%, considerando o desvio padrão e o valor  $t$  (coeficiente de *Student*) para o número de graus de liberdade para cada planejamento. Como os efeitos são calculados a partir da diferença entre as médias das respostas em cada nível, a ordem de grandeza do efeito assemelha-se à da própria resposta [107].

### 3.2.5 Caracterizações morfológicas e estruturais

Uma vez conhecidas as propriedades ópticas, as amostras selecionadas foram preparadas para caracterização estrutural.

Para microscopia eletrônica de transmissão (TEM), as suspensões foram filtradas e diluídas 1/100 v/v. Em seguida, as amostras foram colocadas em grades de cobre de malha 200 revestidas com carbono e analisadas usando um microscópio eletrônico de transmissão TECNAI GF20 operando a 200 kV. O diâmetro médio dos PQs Ag<sub>2</sub>Se-MPA foi estimado medindo o tamanho de 110 nanocristais, com *Image J* (versão 1.52.a).

Os padrões de difração de raios-X em pó (XRD) foram adquiridos usando um difratômetro D8 Advanced ECO Bruker, que opera a 1 kW com raios-X de 1,5418 Å (Cu-K<sub>α</sub>), faixa 2 $\theta$  de 10 a 70° com velocidade de varredura de 0,02°. Para realizar as medidas de DRX as suspensões de Ag<sub>2</sub>Se foram concentradas utilizando filtros de membrana de 1000 KDa, desestabilizadas, centrifugadas e secas sob aquecimento para obtenção do pó, que foi mantido em sílica até secar completamente.

### 3.2.6 Experimentos de FTIR e SEIRA

Os experimentos de FTIR e SEIRA foram realizados utilizando um módulo de refletância total atenuada (ATR) com cristal de diamante contendo uma reflexão interna, acoplado a um equipamento FTIR Perkin-Elmer, modelo Spectrum 400 equipado com detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS) do Laboratório de Combustíveis – LAC, localizado no LITPEG (Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo, Gás e Biocombustíveis). Todos os espectros foram registrados com uma resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$  como uma média de 16 varreduras. Foi feita a deposição de  $1\text{ }\mu\text{L}$  de suspensão de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA em cristal de diamante e após secagem do solvente o espectro foi registrado.

Nos ensaios de SEIRA o analito (violeta de metila 2B) foi depositado em uma camada de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA formada no cristal de ATR. Os espectros SEIRA foram analisados usando a região de impressão digital, de  $1800\text{ cm}^{-1}$  a  $650\text{ cm}^{-1}$ , onde não havia assinaturas espectrais significativas de etanol. O espectro de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  – MPA foi subtraído para eliminar sua contribuição espectral sobre os espectros intensificados do analito,

## 3.3 Resultados e discussão

### 3.3.1 Resultados Do Planejamento Experimental Fatorial Fracionário $2^{4-1}$ (Planejamento Experimental 1)

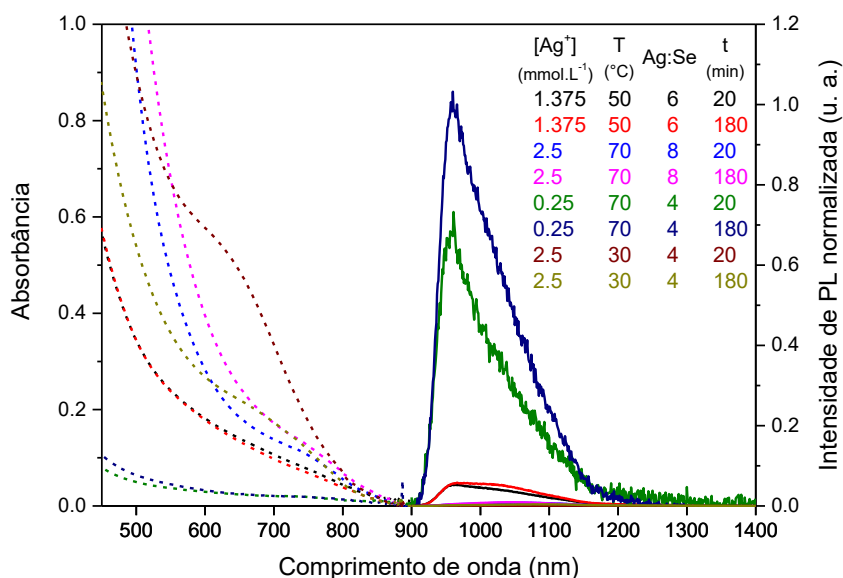
Neste primeiro planejamento experimental, foi realizada uma varredura inicial para explorar condições com menores custos (energia, tempo e reagentes) que permitam a obtenção de PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  através desta metodologia sintética. Para isso foi avaliada a influência do tempo de reação, concentração de íons prata, temperatura e razão molar  $\text{Ag}:\text{Se}$  nas propriedades ópticas dos PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA. Os valores mínimos de tempo e temperatura foram determinados considerando que estes PQs foram obtidos recentemente em temperatura ambiente [35,48], e com tempo de reação de aproximadamente 10 minutos [48]. Os limites máximos foram colocados abaixo dos máximos descritos na literatura ( $100\text{ }^\circ\text{C}$  [49] e 16 h [50]) para

síntese aquosa). Para concentração de  $\text{Ag}^+$  e razão molar Ag:Se, os valores máximos seguem o utilizado em trabalho anterior do nosso grupo para obtenção de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MSA [52], sendo o mínimo 10% desta concentração de  $\text{Ag}^+$  e metade da relação Ag:Se.

Um planejamento fatorial fracionário permite estudos exploratórios, porém pode não ser possível avaliar algumas das interações entre os fatores [107]. No presente caso: a baixa reprodutibilidade de alguns dos experimentos, os elevados desvios padrão e os modelos pouco ajustados limitaram ainda mais a interpretação quantitativa dos dados. Portanto, os resultados foram explorados qualitativamente com base nos espectros de absorção e emissão de fotoluminescência (PL).

Os perfis de absorção para a maioria das amostras são mal definidos (Figura 3.2), portanto a posição exata do primeiro máximo não pôde ser determinada na maioria dos casos. Este amplo perfil de absorção é típico de PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  e foi relatado na literatura [48,52]. Em geral, para a maioria das amostras que diferem apenas no tempo de reação, o tempo maior, 180 min, resultou em intensidades de PL mais altas, com pouca alteração nos perfis de absorção e emissão. Além disso, para todas as amostras foi observada emissão em comprimentos de onda superior a 900 nm, semelhante a outros trabalhos que relatam a preparação de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA [108,109].

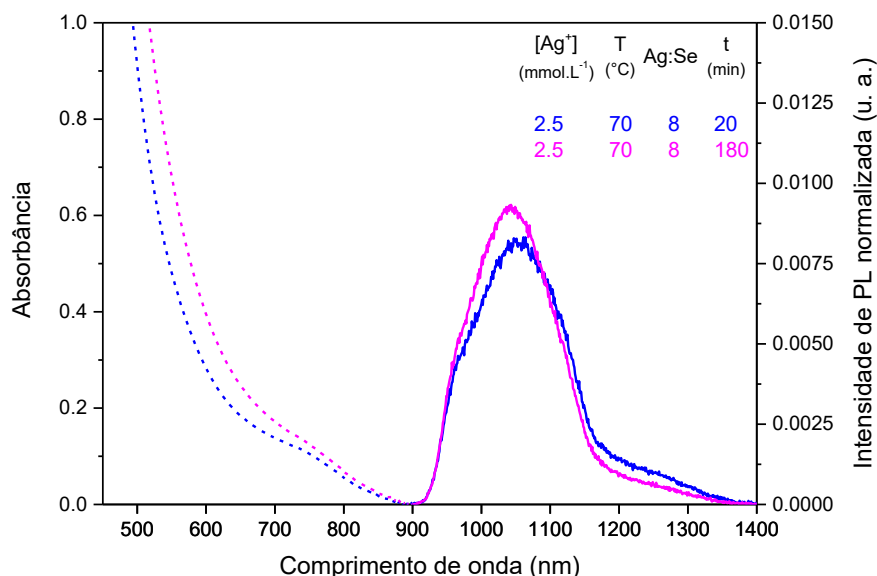
Figura 3.2 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$ ) para as principais sínteses de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA realizadas no planejamento experimental 1.



A maior intensidade de PL (Figura 3.2) foi observada quando as condições de síntese foram: concentração de  $\text{Ag}^+$  de  $0,25 \text{ mmol.L}^{-1}$ ,  $70^\circ\text{C}$ , e razão molar Ag:Se de 4:1. A baixa intensidade do perfil de absorção indica uma pequena concentração de nanocristais, a posição do máximo de emissão em comprimentos de onda menores, em relação às demais amostras, indica um tamanho médio de partícula menor. Nesta mesma condição de temperatura, os melhores valores de FWHM foram observados (Figura 3.3) para amostras obtidas nas seguintes condições: concentração de  $\text{Ag}^+$  de  $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  e razão molar Ag:Se de 8:1. Perfis de emissão mais simétricos e estreitos (menores valores de FWHM) estão relacionados a nanocristais com melhores características estruturais, especialmente superfícies com poucos defeitos [110]. Para esta segunda amostra, o maior diâmetro médio, indicado pela posição do máximo de emissão em comprimentos de onda maiores em relação à primeira, pode ter contribuído para uma menor concentração de defeitos superficiais, uma vez que a quantidade relativa de agente estabilizador foi a mesma para todas as amostras neste primeiro estudo. A diferença entre a energia livre de um cristal em comparação com seus íons livres em solução impulsiona a formação de núcleos [40] que atuam como uma plataforma para o crescimento do cristal [41]. Temperaturas mais altas contribuem para a nucleação rápida, o que resulta em esgotamento mais lento dos monômeros em solução, o que significa que o período de alargamento da distribuição de tamanho é evitado ou encurtado [40]. As amostras mencionadas até então foram obtidas na temperatura mais elevada, o que pode ter contribuído para uma nucleação mais rápida, em comparação com amostras obtidas a temperaturas mais baixas.



Figura 3.3 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) para as sínteses de  $Ag_2Se$ -MPA com menor FWHM no planejamento experimental 1.



Ainda tratando do grupo de amostras obtidas a 70 °C, a menor concentração de  $Ag^+$  e razão molar Ag:Se que resultou na maior intensidade de PL também resultou em uma distribuição de tamanho mais ampla, que pode ter se originado do consumo mais rápido dos monômeros. Para amostras nas quais a concentração de  $Ag^+$  e a razão molar Ag:Se foram maiores, o consumo dos monômeros ocorre mais lentamente, resultando em uma distribuição de tamanho mais estreita, o que foi evidenciado experimentalmente através dos espectros de absorção, que mostraram o primeiro máximo mais bem definido. O segundo par de amostras para as quais a concentração de  $Ag^+$  foi de 2,5 mmol.L<sup>-1</sup>, cujas demais condições experimentais foram: 30 °C e relação molar Ag:Se de 4:1, também apresentou melhor definição do primeiro máximo, porém, apresentou perfis de emissão mais amplos com baixas intensidades de PL. As sínteses realizadas a 30 °C, concentração de  $Ag^+$  de 0,25 mmol.L<sup>-1</sup> e maior relação molar Ag:Se de 8:1 não apresentaram intensidade significativa de emissão de PL. Por fim, as amostras obtidas sob as condições de concentração de  $Ag^+$  de 1,375 mmol.L<sup>-1</sup>, 50 °C e relação molar Ag:Se de 6:1 apresentaram elevadas intensidades de PL, inferiores apenas àquelas com os melhores valores deste planejamento. Os perfis de emissão destas amostras se tornam mais assimétricos com o aumento do tempo de reação. Estas observações indicam que as interações entre variáveis experimentais neste

primeiro estudo são muito importantes, o que implica que avaliar os resultados ignorando essas interações poderia ter levado a interpretações mais limitadas.

Considerando os dois cenários mais importantes até o momento em termos de condições experimentais, aqueles que resultaram na maior intensidade de emissão e aqueles que resultaram na menor FWHM, a estabilidade coloidal foi o fator decisivo para os planejamentos experimentais seguintes. Amostras com menor FWHM demonstraram estabilidade coloidal superior, especificamente aquelas com tempos de reação mais longos. Por esse motivo, o menor tempo de reação nos estudos seguintes foi de 60 min. Considerando que a maior disponibilidade de monômeros contribuiu para uma menor distribuição de tamanho, a concentração molar de  $\text{Ag}^+$  foi fixada em  $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ . A temperatura e a relação molar Ag:Se continuaram a ser estudadas nos próximos planejamentos experimentais, a fim de buscar maiores intensidades de PL.

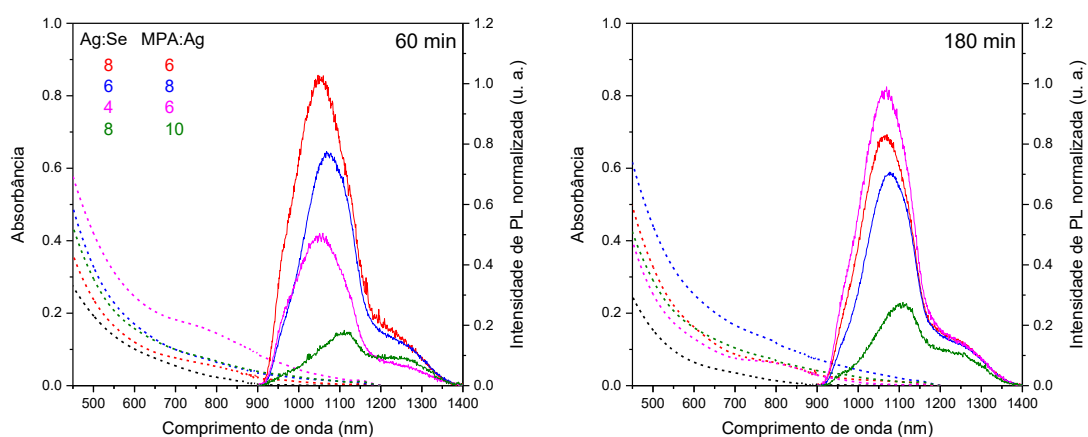
### *3.3.2 Resultados Do Planejamento Experimental Fatorial Completo 2<sup>3</sup> (Planejamento Experimental 2)*

Neste segundo planejamento foi avaliada a influência das razões molares Ag:Se e MPA:Ag e do tempo de reação nas propriedades ópticas dos PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se-MPA}$ . Os perfis espectrais de absorção e emissão das principais sínteses foram agrupados de acordo com o tempo de reação e são apresentados na

Figura 3.4. As amostras que apresentaram menor razão molar Ag:Se, 4:1 e maior razão MPA:Ag, 10:1 não apresentaram emissão significativa, baixas intensidades de emissão também foram encontradas para o segundo grupo de amostras com razão molar de 10:1 de MPA:Ag. Para amostras obtidas com proporções molares Ag:Se e MPA:Ag de 6:1 e 8:1 e 8:1 e 10:1, respectivamente, a mudança no tempo de reação causou pouca alteração nos perfis de emissão. Para amostras com razões molares Ag:Se e MPA:Ag de 4:1 e 6:1, respectivamente, houve aumento na intensidade de PL ao longo do tempo e o oposto ocorreu para aquelas com razões molares Ag:Se e MPA:Ag de 8:1 e 6:1, respectivamente. O perfil de absorção desta última amostra apresentou um primeiro máximo de absorção mal definido próximo

de 780 nm. Na mesma região, a amostra com razões molares Ag:Se e MPA:Ag de 4:1 e 6:1, respectivamente, apresentou perfil de absorção semelhante, com maior definição do primeiro máximo de absorção ao longo do tempo. As demais amostras apresentaram perfis de absorção muito amplos (Figura 3.4), indicando uma distribuição de tamanho mais larga.

Figura 3.4 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) para as principais sínteses de Ag<sub>2</sub>Se-MPA realizadas no planejamento experimental 2.



Diferentemente do planejamento experimental anterior, neste foi possível extrair interpretações quantitativas, por se tratar de um planejamento fatorial completo, que permite observar as interações entre as variáveis. Ambas as razões molares Ag:Se e MPA:Ag estudadas influenciaram a intensidade de PL (Tabela 3.2). O efeito mais significativo na intensidade de PL ocorreu para a variação da razão molar MPA:Ag, cuja diminuição promove aumento na intensidade de PL, enquanto um aumento na razão molar Ag:Se resulta em aumento na intensidade de PL. Os efeitos das interações indicam que quando o tempo de reação e a razão molar Ag:Se aumentam ao mesmo tempo, a intensidade de emissão diminui e, o mesmo ocorre quando as duas razões molares aumentam ao mesmo tempo.

Tabela 3.2 - Resumo das estimativas de efeito para intensidade de PL dos nanocristais de Ag<sub>2</sub>Se-MPA obtidos a partir do planejamento experimental 2. Em vermelho estão os efeitos estatisticamente significativos, em preto os efeitos não significativos.

Fator	Intensidade de PL			
	Efeito	Desvio padrão × t <sub>(12)</sub>	Intervalo de confiança*	
			-95%	+95%
Média	24405,63	5283,62	19122,00	29689,25
(1) Tempo de reação	1058,1	10567,25	-9509,15	11625,35
(2) Ag:Se	15392,61	11706,64	3685,96	27099,25
(3) MPA:Ag	-35680,53	11706,65	-47387,17	23973,88
1 * 2	-12461,69	11706,65	-24168,33	-755,04
1 * 3	4952,49	11706,64	-6754,15	16659,13
2 * 3	-12706,21	11706,65	-24412,85	-999,56
1*2*3	12152,19	11706,65	445,55	23858,84

\*95% de confiança

Na avaliação de FWHM, apenas a relação molar MPA:Ag apresentou significância estatística (Tabela 3.3), sendo a menor razão molar 6:1 a melhor condição. Assim, neste planejamento experimental, a variação da relação MPA:Ag foi a variável que causou mais alterações nas respostas avaliadas. E apresentou uma condição que melhora ambas as respostas ao mesmo tempo, já que a menor relação resultou em maior intensidade de emissão e de FWHM menor. Também nesta condição ocorreram as distribuições de tamanho mais estreitas, como observado pela melhor definição dos primeiros máximos de absorção (

Figura 3.4).

Tabela 3.3 - Resumo das estimativas de efeito para FWHM dos nanocristais de Ag<sub>2</sub>Se-MPA obtidos a partir do planejamento experimental 2. Em vermelho estão os efeitos estatisticamente significativos, em preto os efeitos não significativos.

Fator	FWHM			
	Efeito	Desvio padrão × t <sub>(12)</sub>	Intervalo de confiança*	
			-95%	+95%
Média	220,33	26,44	193,90	246,77
(1) Tempo de reação	-47,64	52,88	-100,51	5,24
(2) Ag:Se	-48,04	58,58	-106,62	10,54
(3) MPA:Ag	157,29	58,58	98,71	215,87
1 * 2	-8,42	58,58	-67,00	50,16
1 * 3	-44,33	58,58	-102,91	14,25
2 * 3	-47,96	58,58	-106,54	10,62
1*2*3	-10,08	58,58	-68,66	48,50

\*95% de confiança

Interações entre o agente estabilizante e a superfície do PQ resultam na redução dos defeitos superficiais, melhorando o perfil de emissão, por este motivo seria razoável imaginar que quanto mais estabilizante melhor. Nas condições deste

desenho experimental, isso não ocorreu. Considerando que a interação entre o estabilizador e a superfície dos nanocristais deve ocorrer através da ligação entre MPA e  $\text{Ag}^+$ , um excesso de moléculas estabilizadoras pode resultar no rápido consumo de  $\text{Ag}^+$ , limitando a formação de monômeros  $\text{Ag}_2\text{Se}$ . O que pode ter sido decisivo para que as amostras com maior relação molar MPA:Ag apresentassem os piores resultados, principalmente aquela cuja relação molar Ag:Se foi menor.

### 3.3.3 Resultados Do Planejamento Composto Central (Planejamento Experimental 3)

Considerando o modelo clássico que explica o crescimento de cristais em solução, a temperatura, o tempo e a energia superficial são variáveis que influenciam diversas etapas do processo, a nucleação por exemplo pode ter uma duração mais curta devido a uma temperatura mais elevada [40,41]. O raio crítico dos cristais, condição para a estabilidade do cristal no meio, depende da concentração de monômeros, da energia superficial e da temperatura e muda ao longo do tempo para tamanhos maiores [40]. Na fase de crescimento, que pode ser controlada pela difusão dos monômeros na superfície dos núcleos do cristal ou pela taxa com que esses monômeros reagem com o cristal, também ocorrem influências do tempo e da temperatura. Finalmente, o regime de Ostwald, que explica como o tamanho médio das partículas muda ao longo do tempo, demonstra que este não é um processo linear [41]. Dada a relação entre as propriedades ópticas dos PQs com seu tamanho e superfície, espera-se que ao longo do processo de formação destes nanocristais as propriedades mudem, inclusive de formas não lineares. Por este motivo, este último planejamento experimental é do tipo CCD (abreviação do inglês: “*Central Composite Design*”), que permite a construção de um modelo quadrático para explicar as respostas estudadas [107,106]. As variáveis estudadas foram pH, temperatura e tempo de reação. O pH está diretamente relacionado à energia superficial, pois pode influenciar a reação entre MPA e  $\text{Ag}^+$ . Até o momento, todas as sínteses ocorreram com pH inicial de 11, favorecendo a desprotonação do grupo -SH no MPA. Neste último estudo, foram testados valores de pH mais baixos para encontrar condições de pH mais suaves. Como os melhores resultados em termos

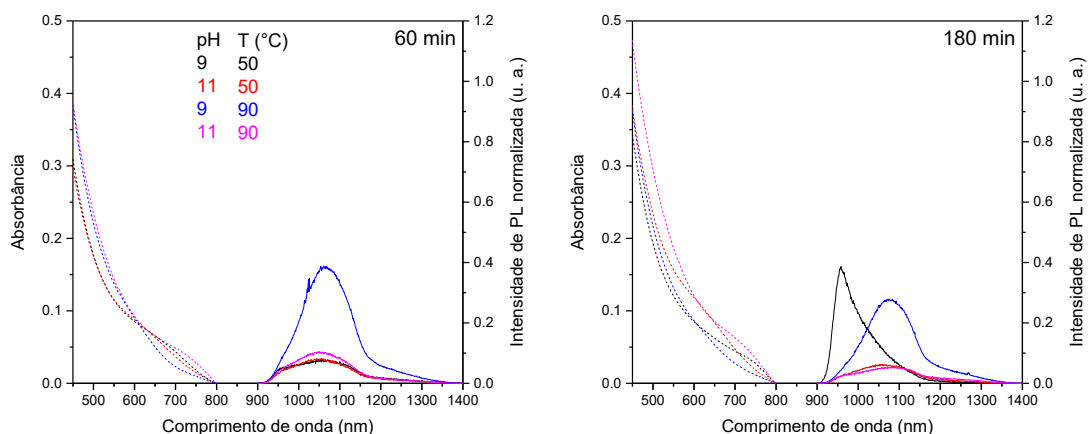
de temperatura foram observados para o maior valor testado, 70 °C, aqui foram testados valores até 90 °C. Como não ficou clara a influência do tempo de reação nos intervalos estudados, o mesmo intervalo foi estudado novamente, desta vez com acréscimo de um ponto central, aos 120 min.

Os perfis espectrais de absorção e de emissão foram separados em dois grupos, primeiro a parte correspondente aos pontos fatoriais (

Figura 3.5); e, segundo aos pontos axiais (Figura 3.6). Neste primeiro conjunto (

Figura 3.5), observou-se que aos 60 min apenas uma amostra se destaca com valores elevados de Intensidade de PL, obtidos com pH 9 e temperatura de 90 °C. O primeiro máximo de absorção para a maioria das amostras foi largo o que indica amplas distribuição do tamanho das partículas. Aos 180 min, a amostra obtida em pH 9 e 50 °C apresentou um aumento significativo na intensidade de emissão com deslocamento para a região abaixo de 900 nm. Todas as outras amostras apresentaram diminuição na intensidade de emissão e pouca variação nos perfis de absorção.

Figura 3.5 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) para as sínteses de Ag<sub>2</sub>Se-MPA correspondentes aos pontos fatoriais do planejamento experimental 3.



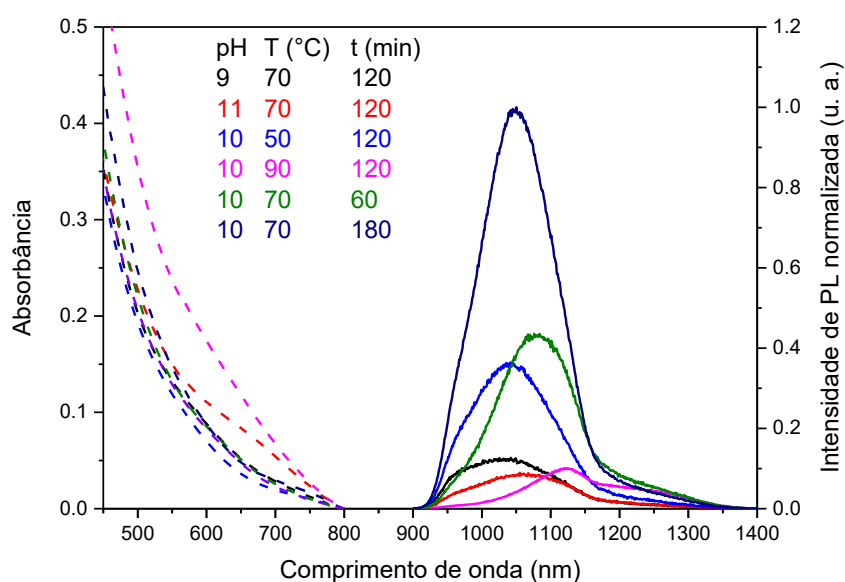
No segundo conjunto de espectros para este planejamento (

Figura 3.6), comparando as amostras obtidas na mesma temperatura e tempo de reação, 70 °C e 120 min, respectivamente, mas com valores de pH diferentes, observou-se que a emissão máxima foi encontrada em maior comprimento de onda e com menor intensidade quando o valor do pH é maior, 11. Esta mesma amostra (pH 11, 70 °C e 120 min) apresentou um perfil de absorção

com melhor definição, comparado ao conjunto todo. Para as amostras obtidas no mesmo pH e tempo de reação, 10 e 120 min, respectivamente, diferindo na temperatura de reação, foi observada maior intensidade de emissão para a temperatura mais baixa (50 °C). As melhores respostas deste estudo, em termos de Intensidade de PL, foram encontradas para as amostras obtidas em pH 10 e 70 °C, sendo a melhor condição aquela cujo tempo de reação foi maior (180 min) (

Figura 3.6).

Figura 3.6 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) para as sínteses de  $Ag_2Se$ -MPA correspondentes aos pontos axiais do planejamento experimental 3.



O tratamento estatístico dos dados de Intensidade de PL (

Tabela 3.3.3) demonstrou que os três fatores principais estudados foram estatisticamente significativos, considerando um comportamento quadrático. Assim, a avaliação das superfícies de resposta (



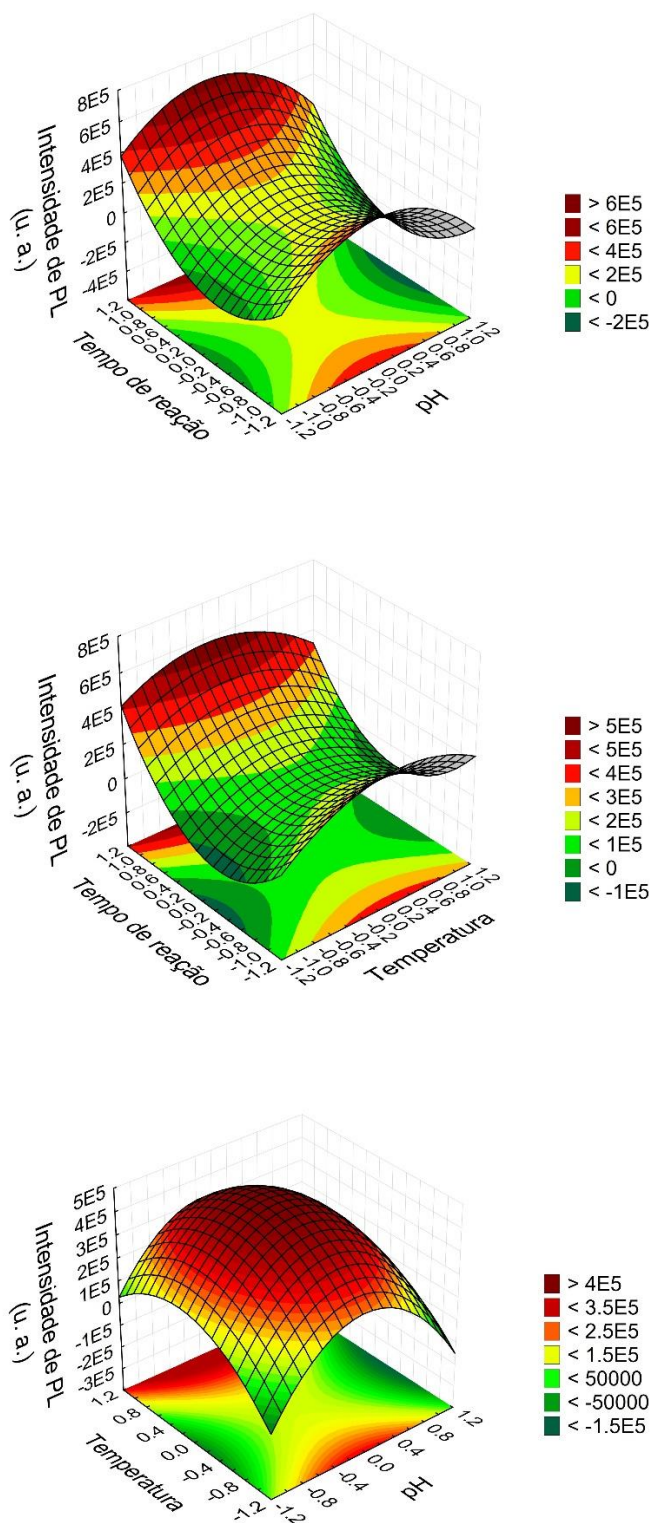
Figura 3.7) foi essencial. Houve concordância no comportamento da intensidade de emissão considerando as variações de pH e temperatura, de modo que as condições centrais, pH 10 e 70 °C, refletiram a melhor resposta. O contrário ocorreu para o tempo de reação nas condições extremas, 60 e 180 min, que proporcionaram maiores intensidades.

Tabela 3.3.3 - Resumo das estimativas de efeito para intensidade de PL dos nanocristais de Ag<sub>2</sub>Se-MPA obtidos a partir do planejamento experimental 3. Em vermelho estão os efeitos estatisticamente significativos, em preto os efeitos não significativos. Os índices Q e L referem-se às contribuições quadráticas e lineares do modelo, respectivamente.

Fator	Intensidade de PL			
	Efeito	Desvio padrão $\times t_{(12)}$	Intervalo de confiança*	
			-95%	+95%
Média	265666,30	96734,25	168932,05	362400,55
(1) pH (L)	-126855,02	137452,79	-264307,81	10597,77
pH (Q)	-489565,33	246172,81	-735738,13	-243392,52
(2) Temperatura (L)	-11465,14	132878,67	-144343,81	121413,53
Temperatura (Q)	-280245,00	237536,50	-517781,50	-42708,50
(3) Tempo de reação (L)	126931,37	132878,66	-5947,30	259810,03
Tempo de reação (Q)	527856,36	237536,50	290319,86	765392,86
1L * 2L	-33986,59	153676,89	-187663,47	119690,30
1L * 3L	-49765,77	153676,88	-203442,66	103911,11
2L * 3L	-83915,26	153676,89	-237592,15	69761,63

\*95% de confiança

Figura 3.7 - Gráficos de superfícies de resposta para Intensidade PL de acordo com a função obtida através dos efeitos significativos para o modelo. A aproximação da região em vermelho indica melhora (aumento) na resposta intensidade de PL.



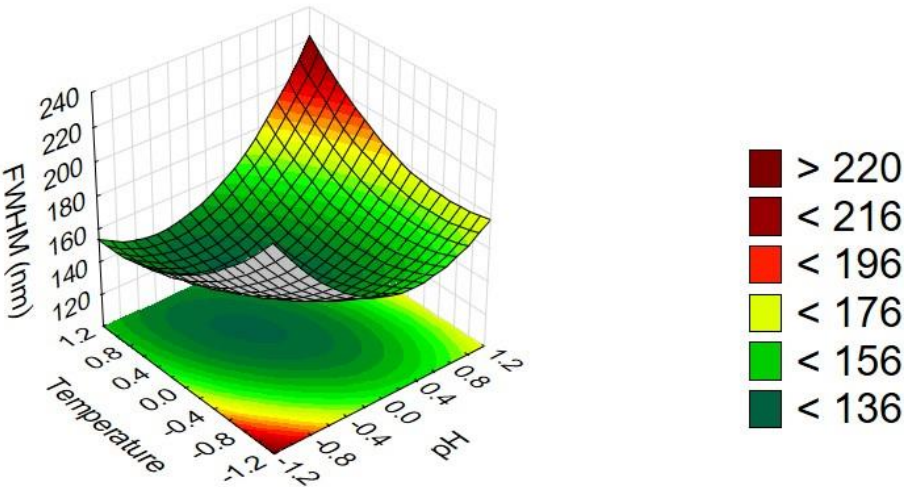
Para as demais respostas avaliadas, a FWHM, o pH em ajuste quadrático, a temperatura em ajuste linear e a interação entre eles apresentaram significância estatística (Tabela 3.5). Foi avaliado o gráfico de superfície de resposta (Figura 3.8) para os dois fatores que apresentaram significância. Perto do centro da superfície, onde o pH e a temperatura também estão próximos dos valores centrais, foram encontrados os valores mais baixos e, portanto, melhores de FWHM.

Tabela 3.5 - Resumo das estimativas de efeito para FWHM dos nanocristais de Ag<sub>2</sub>Se-MPA obtidos a partir do planejamento experimental 3. Em vermelho estão os efeitos estatisticamente significativos, em preto os efeitos não significativos.

Fator	FWHM			
	Efeito	Desvio padrão × $t_{(12)}$	Efeito -95%	Efeito +95%
Média	146,34	11,22	135,12	157,56
(1) pH (L)	3,00	15,95	-12,95	18,95
pH (Q)	52,98	28,57	24,42	81,55
(2) Temperatura (L)	-23,46	15,42	-38,88	-8,04
Temperatura (Q)	27,27	27,57	-0,29	54,84
(3) Tempo de reação (L)	-0,42	15,42	-15,83	15,00
Tempo de reação (Q)	-20,10	27,56	-47,66	7,46
1L * 2L	39,25	17,83	21,42	57,08
1L * 3L	7,25	17,83	-10,58	25,08
2L * 3L	13,75	17,83	-4,08	31,58

\*95% de confiança

Figura 3.8 - Gráfico de superfície de resposta para FWHM de acordo com a função obtida através dos efeitos significativos para o modelo. A aproximação da região em verde indica melhora (diminuição) na resposta FWHM.



Voltando a um dos achados do planejamento experimental 1, temperaturas mais elevadas, 70 °C, proporcionaram melhores resultados dentro da faixa estudada, o que permanece verdadeiro. Neste terceiro planejamento experimental, estudando uma nova região (de 50 a 90 °C) foi possível observar que 70 °C, ponto central, foi novamente a melhor condição de temperatura, tanto temperaturas inferiores quanto superiores a 70 °C proporcionaram maiores intensidades PL (

Figura 3.7A). Neste caso, uma temperatura média pode proporcionar um equilíbrio entre a rápida nucleação e o rápido crescimento de nanocristais sem esgotamento precoce dos monômeros em suspensão [40]. Finalmente, usando as equações dos modelos e aplicando a função de desejabilidade [107], que refletem as condições que proporcionam melhores valores para ambas as respostas estudadas (intensidade de PL e FWHM), os níveis centrais de pH e temperatura, e o nível superior de tempo de reação, forneceram os nanocristais com as melhores propriedades ópticas de acordo com todos os fatores e condições estudadas. Combinando as informações extraídas dos três planejamentos experimentais, foi possível resumir o conjunto de condições experimentais que forneceram a melhor nanopartícula (Tabela3.4).

Tabela3.4 - Condições experimentais que forneceram nanopartículas Ag<sub>2</sub>Se-MPA com os melhores valores de Intensidade PL e FWHM simultaneamente

[Ag <sup>+</sup> ] (mmol. L <sup>-1</sup> )	2,5
Temperatura (°C)	70
Razão molar Ag:Se	8:1
Tempo de reação (min)	180
Razão molar MPA:Ag	6:1
pH	10

#### 3.3.4 Etapas para formação de pontos quânticos Ag<sub>2</sub>Se-MPA

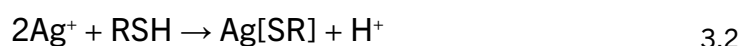
A reação de formação de seleneto de prata a partir de íons ocorre conforme mostrado na reação abaixo. Dados termodinâmicos mostram que esta reação ocorre de forma espontânea e exotérmica:  $\Delta_f G^\circ = -49.02 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ;  $S^\circ = 150.95 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ ;  $\Delta_f H^\circ = -41.98 \text{ kJ.mol}^{-1}$  (média dos valores descritos pelos autores) [111].



Embora o procedimento de síntese aqui descrito não ocorra nas condições padrão relacionadas aos dados termodinâmicos acima, podemos entender que a formação de seleneto de prata é favorável. A baixa solubilidade deste semiconductor também confirma a tendência de formação deste semiconductor [28,29]. Neste sentido, as condições de síntese estudadas através dos planejamentos

experimentais modulam a forma como o material será obtido, principalmente em termos de suas propriedades ópticas e tamanho nanométrico.

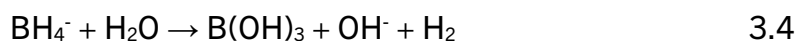
No procedimento experimental aqui proposto, a reação acima foi a última etapa, antes disso foi promovida a reação entre MPA e  $\text{Ag}^+$ . O MPA, assim como outros alquiltióis de baixo peso molecular, formam complexos com  $\text{Ag}^+$ , normalmente de estequiometria 1:1 que podem ser organizados em cadeias com arranjos complexos. Dados de difração de raios-X indicam a estrutura do complexo Ag-MPA como uma cadeia em zigue-zague contendo infinitas unidades unidimensionais de  $-\text{Ag-S(R)}-\text{Ag-S(R)}-$  [112].



As constantes de formação ( $\log K_f$ ) para complexos deste tipo estão normalmente entre 12 e 14, o que sugere uma elevada estabilidade quando comparado com complexos que não contêm o grupo  $\text{RS}^-$  [112], o que corresponde à afinidade esperada entre essas espécies, uma vez que são espécies moles de acordo com a teoria *Hard Soft Acid Base* (HSAB), sendo  $\text{Ag}^+$  um ácido de Lewis e  $\text{RS}^-$  uma base de Lewis [113,114]. A estabilidade do complexo MPA-Ag, dada pela alta afinidade entre  $\text{Ag}^+$  e  $\text{RS}^-$  pode ser o fator determinante para que os PQs sintetizados apresentassem estabilidade coloidal e uma camada superficial com menos defeitos, mesmo quando nem todas as moléculas do grupo  $-\text{SH}$  estão desprotonadas, uma vez que o grupo tiol do MPA tem  $\text{pK}_a = 11,3$  [115].

Na segunda etapa da metodologia de síntese, os íons  $\text{Se}^{2-}$  foram formados a partir da redução do  $\text{Se}^{2+}$  (Esquema 3.3-a), o que é uma etapa crítica, uma vez que o  $\text{Se}^{2-}$  é facilmente reoxidado [116], tornando importante o excesso do agente redutor  $\text{NaBH}_4$ , promoção de um meio redutor (Reações 3.3-5) [115]. Dentro da metodologia aqui descrita, esta etapa também pode ser beneficiada pelo aquecimento, especialmente porque não foi utilizada uma atmosfera inerte. O que pode ser um dos motivos pelos quais os resultados encontrados em temperaturas mais baixas foram piores.



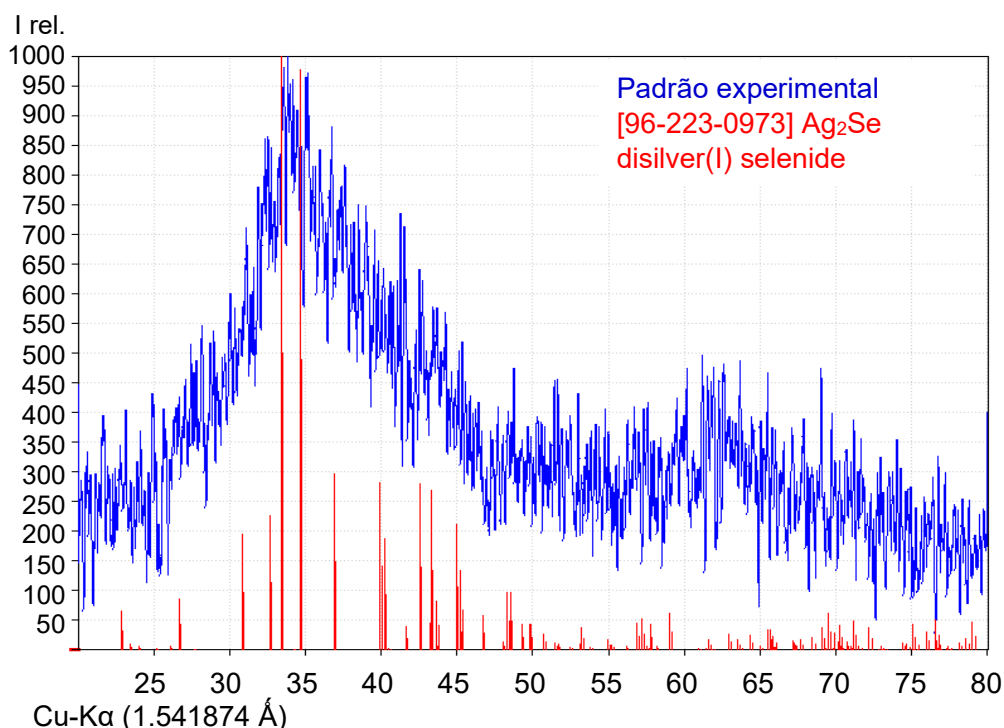


### 3.3.5 Caracterização estrutural e morfológica de pontos quânticos $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA obtidos nas melhores condições estudadas

Dentre as sínteses aqui realizadas, a amostra que apresentou as melhores propriedades ópticas foi caracterizada estruturalmente por DRX e TEM. O difratograma para as nanopartículas de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA, obtido na melhor condição sintética (Figura 3.9), refletiu uma concordância entre o padrão experimental e a fase cristalina esperada para este semicondutor, fase  $\beta$ - $\text{Ag}_2\text{Se}$  (ortorrômbica). A difração correspondente a um determinado plano de átomos também será distorcida, então o ângulo de difração será um conjunto de valores [117]. Resultados semelhantes também foram relatados na literatura, sendo a fase ortorrômbica uma fase cristalina típica para  $\text{Ag}_2\text{Se}$  [48,52,108,109].

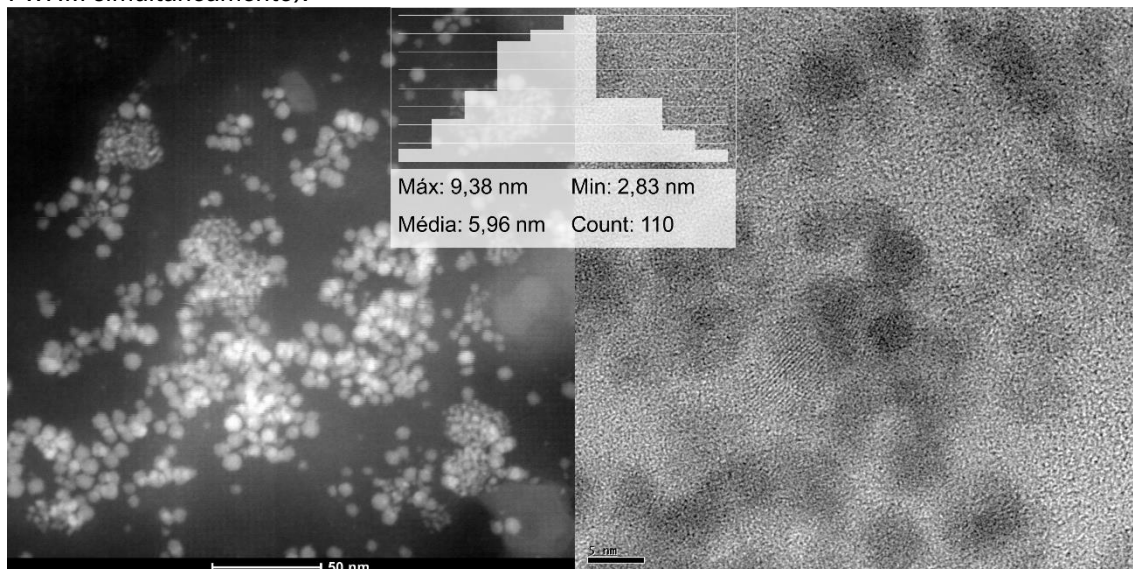


Figura 3.9 - Difratograma de raios-X de nanopartículas de Ag<sub>2</sub>Se-MPA sintetizadas nas melhores condições experimentais (melhores valores de Intensidade de emissão e FWHM simultaneamente).



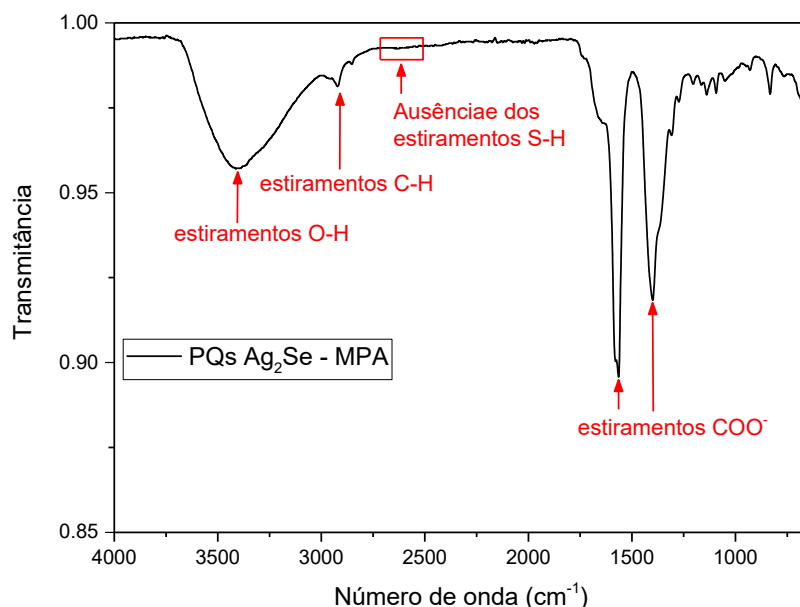
Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (Figura 3.10) confirmaram que as nanopartículas de Ag<sub>2</sub>Se apresentavam formato esférico com diâmetro médio de  $6,0 \pm 3,4$  nm. O diâmetro médio das nanopartículas ficou próximo do esperado para pontos quânticos deste material já que o raio de Bohr é de 2,9 nm [118]. Outros trabalhos da literatura relataram a formação de Ag<sub>2</sub>Se-MPA com diâmetros em torno de 4-5 nm [119] o que se aproxima dos nossos resultados. Em comparação com os PQs estabilizados por MSA obtidos anteriormente, estes PQs de Ag<sub>2</sub>Se-MPA mostram tamanhos maiores e uma região de emissão mais deslocada para o infravermelho. As condições de síntese nas quais foram obtidos PQs de Ag<sub>2</sub>Se-MPA com melhores propriedades ópticas diferem daquelas observadas para Ag<sub>2</sub>Se-MSA, o que mostra as diferentes dinâmicas de crescimento em função da mudança no agente estabilizante. Além disso, reflete a possibilidade de obtenção de PQs com emissão em diferentes regiões do NIR com o mesmo núcleo semiconductor, e mesma metodologia experimental, através da seleção de diferentes agentes estabilizantes.

Figura 3.10 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de nanopartículas  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA sintetizadas nas melhores condições experimentais (melhores valores de Intensidade de emissão e FWHM simultaneamente).



O perfil espectral de FTIR do MPA puro apresenta duas bandas características próximas a  $2660$  e  $2560\text{ cm}^{-1}$  referentes aos modos de estiramento da ligação SH [119,120], ausência dessas bandas no espectro obtido para os PQs  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA (Figura 3.11) indica a interação do alquiltiol com a superfície do PQ através da ligação S-Ag. As duas bandas mais intensas, próximas a  $1600\text{ cm}^{-1}$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo  $\text{COO}^-$  [109,119], que está relacionado à desprotonação dos grupos carboxila do MPA, uma banda fraca aproximadamente  $2.920\text{ cm}^{-1}$  está relacionado às ligações CH [119]. e a banda larga e intensa em aproximadamente  $3.300\text{ cm}^{-1}$  é atribuída aos modos vibracionais das ligações O-H [120]. Estes resultados são semelhantes a outras nanopartículas estabilizadas com MPA [109,119].

Figura 3.11 - Espectro FTIR de PQs Ag<sub>2</sub>Se – MPA preparados com as melhores propriedades ópticas

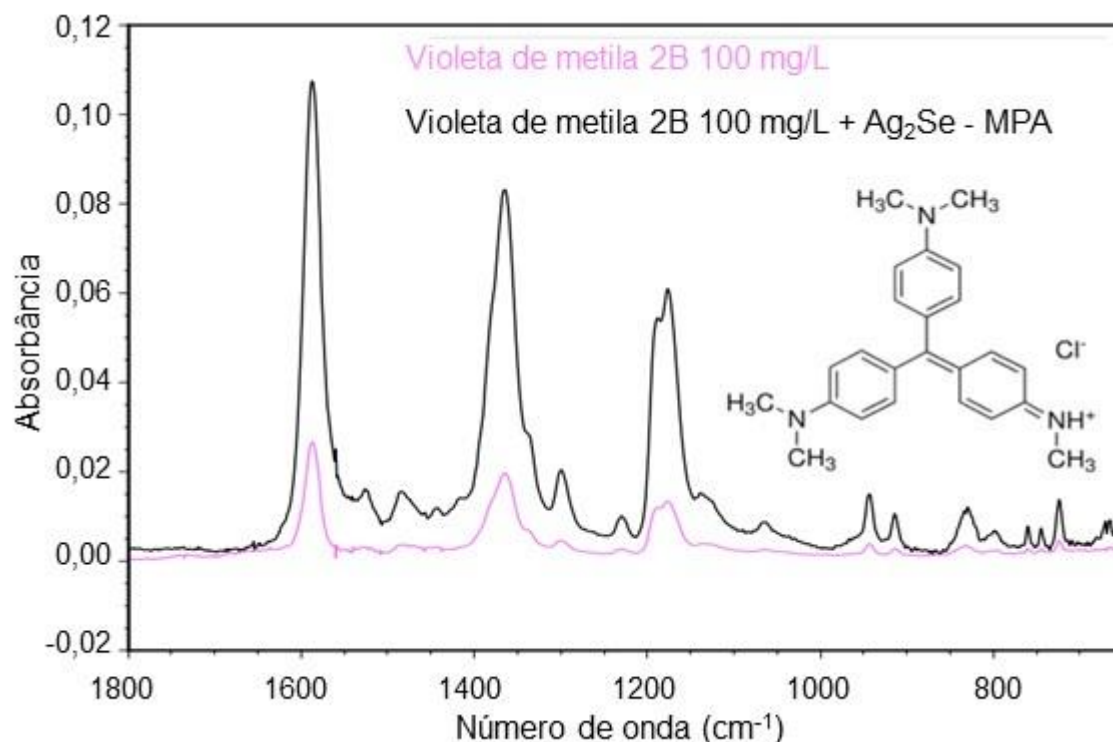


### 3.4 Aplicação de pontos quânticos Ag<sub>2</sub>Se-MPA em SEIRA<sup>b</sup>

Uma das classes de poluentes mais comuns em ambientes aquáticos são os corantes orgânicos, amplamente utilizados em diversos segmentos industriais. Por exemplo, o violeta de metila 2B (MV, estrutura molecular inserida na Figura 3.12) é um corante catiônico que apresenta sérias ameaças à saúde humana, com riscos mutagênicos e cancerígenos. Assim, devido à sua alta toxicidade e capacidade de bioacumulação, a busca por técnicas analíticas capazes de detectar essas espécies em concentrações ambientalmente relevantes é uma preocupação global, e a espectroscopia SEIRA pode ser útil para detectar corantes orgânicos tóxicos com alta sensibilidade e precisão [99,121]. Neste trabalho, o violeta de metila 2B (MV) foi selecionada para se estabelecer uma metodologia para detecção e quantificação de contaminantes. Os PQs de Ag<sub>2</sub>Se-MPA com as melhores propriedades ópticas obtidos aqui foram utilizados para detectar o corante MV (100 mg/L) através de SEIRA. Testes iniciais demonstram a capacidade desses materiais de intensificar toda a faixa espectral de impressão digital do analito, com o espectro FTIR do analito sendo idêntico ao espectro SEIRA, como pode ser visto na Figura 3.12.

<sup>b</sup> Esta parte do trabalho foi desenvolvida em colaboração com outros pesquisadores, conforme detalhado no artigo publicado.

Figura 3.12 - Espectros IR-ATR corrigidos na linha de base para violeta de metila 2B (100 mg.L<sup>-1</sup>) na ausência (linha vermelha) e presença de PQs Ag<sub>2</sub>Se – MPA (linha preta).



O grau de intensificação pode ser medido através do fator de intensificação (EF), que é calculado usando a equação (3.1).

$$EF = \left( \frac{I_{SEIRA}}{I_{IR}} \right) \times \left( \frac{N_{IR}}{N_{SEIRA}} \right) \quad (3.1)$$

onde  $I_{SEIRA}$  e  $I_{IR}$  são as intensidades (altura da banda) na presença e ausência de Ag<sub>2</sub>Se-MPA, respectivamente, e,  $N_{SEIRA}$  e  $N_{IR}$  são as quantidades de moléculas de analito em cada experimento. A quantidade de analito nos experimentos IR e SEIRA foi a mesma, portanto,  $EF = (I_{SEIRA}/I_{IR})$ . Assim, os fatores de intensificação obtidos foram  $EF_{1587} = 3,6$ ,  $EF_{1365} = 3,5$  e  $EF_{1175} = 3,9$ . Esses valores são comparáveis aos descritos na literatura que utilizaram sistemas de pontos quânticos com seleneto de cobre estabilizados com ácido mercaptossuccínico (MSA), que obtiveram EF com média de 1,8 vezes (MV 30 mg/L) [122] e Ag<sub>2</sub>Se-MSA com EF média de 3,8 vezes (MV 25 mg/L) [102]. Os EF também foram comparáveis a outros tipos de substratos encontrados na literatura para a intensificação do MV, como óxido de grafeno [123] e nanoestrelas de ouro [124].

O efeito SEIRA é resultado de diferentes mecanismos, conforme descrito na literatura [125]. Para o sistema estudado aqui, acreditamos que há uma interação eletrostática entre o MPA (negativamente carregado) e os grupos metila do MV (positivamente carregado) (1175, 1365  $\text{cm}^{-1}$ ) e também interações  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis aromáticos do MV e o MPA (1587  $\text{cm}^{-1}$ ) [102]. Como pode ser visto, a escolha do agente estabilizante para o PQ é de fundamental importância para avaliar as interações intermoleculares e eletrostáticas que ocorrerão entre o analito e o substrato [102].

### 3.5 Conclusões

Através de estratégias multivariadas foi possível encontrar condições experimentais que permitiram a obtenção de pontos quânticos  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA com boas propriedades ópticas e estabilidade coloidal. Como esperado, a mudança do agente estabilizante em relação a trabalhos anteriores, resulta em diferentes dinâmicas de crescimento para estes nanocristais, o que implica que as condições sintéticas para obtenção do  $\text{Ag}_2\text{Se}$  mudam de acordo com o agente estabilizador utilizado. Os PQs  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA com as melhores propriedades neste trabalho apresentam maiores tamanhos médios e emissão de fotoluminescência na região NIR-II, em comparação com os PQs  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MSA obtidos anteriormente, que são luminescentes NIR-I. A influência das interações entre variáveis experimentais pôde ser observada no planejamento experimental 2, o que reforça a vantagem das estratégias multivariadas em relação às univariadas.

## **CAPÍTULO 4 : Melhorando propriedades ópticas de pontos quânticos hidrofílicos de Ag<sub>2</sub>Te – MSA através de abordagens quimiométricas**

### **4.1 Introdução**

Assim como os demais calcogenetos de prata, Ag<sub>2</sub>Te é um semicondutor com *band gap* estreito, baixa solubilidade e composição livre de chumbo, mercúrio e cádmio [28,52]. A obtenção de Ag<sub>2</sub>Te em dimensões nanométricas fornece PQs com emissão no NIR, particularmente interessante para aplicações biomédicas [17,96].

Dos três calcogenetos de prata, Ag<sub>2</sub>Te é o menos explorado quando se trata da produção de PQs, sobretudo em meio aquoso, o que é evidenciado pelo menor número de trabalhos na literatura, como pode ser visto na Tabela 1.1 Por esta razão a obtenção de PQs de Ag<sub>2</sub>Te em meio aquoso e através de métodos simples representa uma contribuição significativa.

Este capítulo trata do emprego de estratégias multivariadas para preparar Ag<sub>2</sub>Te PQs hidrofílicos revestidos com ácido mercaptossuccínico (MSA) e com fluorescência intensificada no NIR.

### **4.2 Metodologia**

#### **4.2.1 Reagentes**

Todos os reagentes foram usados como recebidos, sem quaisquer processos adicionais de purificação e todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade de 18,2 MΩ a temperatura ambiente). Foram utilizados os seguintes reagentes: AgNO<sub>3</sub> (≥ 99%), Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> (99%), NaBH<sub>4</sub> (≥ 98%), NaOH (≥ 98%), ácido mercaptossuccínico (MSA, 99%) adquiridos de Sigma-Aldrich.

#### 4.2.2 Síntese dos PQs de $\text{Ag}_2\text{Te}$ -MSA

O protocolo sintético geral para preparação dos nanocristais de telureto de prata foi realizado de maneira semelhante àquele descrito em 3.2.2 que trata da obtenção de seleneto de prata, com algumas modificações:

- 1- Soluções precursoras de  $\text{AgNO}_3$  ( $0,0025 \text{ mol.L}^{-1}$ ) e  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  ( $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ ) foram preparadas;
- 2- Num balão de duas saídas foram adicionados 100 mL da solução de  $\text{AgNO}_3$  e 0,2252 g de MSA;
- 3- O pH foi ajustado a temperatura ambiente com adição de solução de NaOH ( $2 \text{ mol.L}^{-1}$ );
- 4- A mistura contendo precursor de prata e estabilizante foi submetida a aquecimento e agitação na temperatura selecionada, até equilíbrio térmico (variação de até  $\pm 3^\circ\text{C}$ ). Nesta etapa a mistura foi também submetida a atmosfera de  $\text{N}_2$  durante aproximadamente 30 min;
- 5- Um volume de 125 mL da solução precursora de Te foi adicionado;
- 6- Foi adicionado o agente redutor, (0,0030 g)  $\text{NaBH}_4$  solubilizado em 3 mL de água, de acordo com a proporção molar  $\text{NaBH}_4\text{:Te}$  de 2,5:1 e então a contagem do tempo de reação foi iniciado;
- 7- Após o tempo estipulado as suspensões obtidas foram armazenadas em frascos de vidro, mantidas ao abrigo da luz e do calor e posteriormente caracterizadas.

Os parâmetros: tempo de reação, tempo até análise, temperatura e pH foram definidos para cada planejamento experimental e estão descritos na Tabela 3.1. Os volumes das soluções de  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  e a quantidade de MSA e  $\text{NaBH}_4$  foram adicionados de acordo com as razões molares MSA:Ag de 6:1 e Ag:Te de 8:1.

Um planejamento fatorial completo  $2^4$  foi realizado com pontos centrais (CP) conforme Tabela 4.1. Os níveis inferior, central e superior foram representados por -1, 0 e +1, respectivamente. No Apêndice II estão descritas para cada uma das

amostras suas condições sintéticas e os dados de intensidade de PL e FWHM obtidos.

Tabela 4.1 – Fatores e respectivos níveis estudados no planejamentos experimental realizado.

PQ – Estabilizante	Ag <sub>2</sub> Te – MSA		
Tipo de planejamento experimental	fatorial completo 2 <sup>4</sup> + PC		
Fator	Níveis		
	-1	0	+1
Temperatura (°C)	50	70	90
Tempo de reação (min)	20*	x	180*
pH	5	7,5	10
Tempo até análise (dias)	2	x	8

PC – Pontos centrais; x: não houve nível intermediário atribuído; \*tempo até a retirada da alíquota

#### 4.2.3 Caracterizações ópticas

Para todas as suspensões obtidas foram realizadas caracterizações ópticas através de espectroscopia de fluorescência no infravermelho (Espectrofluorímetro Fluorolog-3 ISA - Horiba) do CEMENE no DQF-UFPE, espectroscopia de absorção UV-Vis-infravermelho (espectrofotômetro Cary 5000 UV-Vis-NIR - Agilent Technologies) do Laboratório de Química no DF-UFPE e espectroscopia UV-Vis (Perkin Elmer, Lambda 650) da Central Analítica do DQF - UFPE. Todas as amostras foram diluídas de modo a se obter espectros sem efeitos de densidade óptica, até o primeiro máximo de absorção apresentar absorvância de aproximadamente  $\leq 0,2$ , algumas amostras apresentaram valores mais elevados devido à formação de precipitados.

#### 4.2.4 Otimização de propriedades ópticas através de planejamento e otimização de experimentos

A fim de obter PQs de Ag<sub>2</sub>Te com as melhores propriedades ópticas, o procedimento de síntese foi estudado de forma multivariada. Os fatores e os níveis correspondentes foram selecionados para cada planejamento e estão descritos em 4.2.2. Para todos os planejamentos experimentais foram avaliadas duas respostas: a intensidade da fotoluminescência (PL) e a largura à meia altura (FWHM), ambas obtidas a partir dos espectros de emissão de fotoluminescência, corrigidos para a absorvância no comprimento de onda de excitação (470 nm), para desconsiderar



o efeito da concentração nos resultados. O software utilizado foi o Statistica12, todos os dados foram inseridos como pertencentes a um único bloco e os experimentos realizados de forma aleatória.

Os resultados estatísticos foram analisados a partir da avaliação dos valores dos efeitos estudados e seus respectivos intervalos de confiança foram de 95%, considerando o desvio padrão e o valor  $t$  (coeficiente de *Student*) para o número de graus de liberdade para cada planejamento. Como os efeitos são calculados a partir da diferença entre as médias das respostas em cada nível, a ordem de grandeza do efeito assemelha-se à da própria resposta [107].

### **4.3 Resultados e discussão**

#### *4.3.1 Resultados do Planejamento Experimental Fatorial Completo 2<sup>4</sup>*

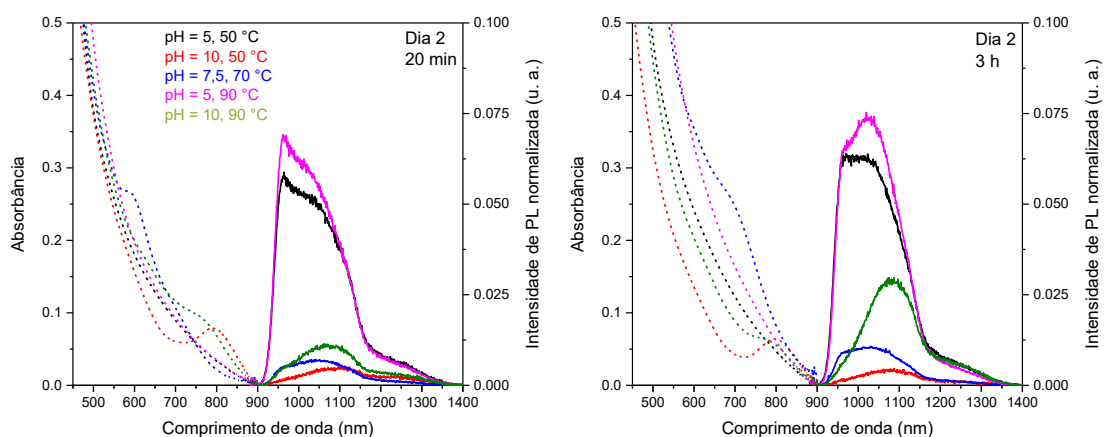
Os dados deste planejamento foram obtidos a partir de 7 sínteses realizadas, das quais 3 são repetições do ponto central. De todas as amostras foram retiradas alíquotas com 20 e 180 min, o que resulta em 14 amostras, e espectros foram coletados nos dias 2 e 8 após síntese, totalizando 28 amostras.

Este planejamento experimental foi realizado como forma de explorar a influência dos fatores: pH, temperatura, tempo de reação e tempo até análise sob as propriedades ópticas de PQs de Ag<sub>2</sub>Te - MSA. Os valores para cada fator foram selecionados considerando os resultados obtidos para o sistema anteriormente estudado, Ag<sub>2</sub>Se – MPA assim como as condições experimentais de síntese descritas na literatura recente. O tempo até análise foi avaliado considerando espectros obtidos das amostras em dias diferentes, sendo sempre o segundo e o oitavo dia desde o dia de obtenção do material. A avaliação deste fator teve como objetivo investigar o tempo mínimo até que as propriedades óticas dos nanocristais obtidos atingissem alguma estabilidade.

Os espectros de absorção e de emissão de fotoluminescência foram agrupados de acordo com o tempo de análise. Nos espectros obtidos no dia 2 (Figura 4.1), foi possível observar um primeiro máximo definido no perfil de absorção da amostra obtida em pH 10 e 50 °C. Alguma definição do primeiro

máximo também ocorreu para a segunda amostra obtida no mesmo pH, mas a 90 °C. Sendo assim, o pH mais elevado resultou na obtenção de nanocristais de tamanhos mais homogêneos em relação às amostras obtidas em valores de pH mais baixos [44,6]. Para ambas as amostras, o primeiro máximo se desloca para comprimentos de onda ligeiramente maiores e a absorbância diminui quando o tempo de reação aumenta, o que pode estar relacionado com diferentes etapas do processo de crescimentos destes nanocristais. Ao final dos primeiros 20 min de reação, há muitos cristais pequenos e por isso o máximo está em comprimentos de onda menores, a concentração e consequentemente a absorbância é mais elevada, à medida que a reação continua até 180 min, cristais muito pequenos se decompõem para fornecer monômeros e aumentar o diâmetro médio diminuindo a concentração e deslocando o máximo de absorção para comprimentos de onda maiores [40,41]. Para as demais amostras os espectros são alargados e sem definição de qualquer possível máximos. O aumento do tempo de reação provocou poucas mudanças nos espectros de absorção.

Figura 4.1 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) obtidos no dia 2 para as sínteses de  $Ag_2Te$ -MSA do planejamento experimental 1.

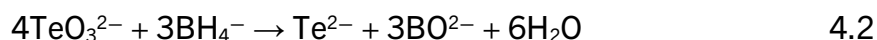


Entre os pares de amostras obtidas em valores de pH iguais, aquelas para as quais a temperatura de reação foi de 90 °C apresentaram intensidades de PL mais elevadas. A temperatura é um fator importante na dinâmica de crescimento de cristais, como destacado no tópico 1.6.1. A formação de  $Ag_2Te$  a partir de seus íons ocorre de forma espontânea e exotérmica:  $\Delta_f G^\circ = -38,03 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ;  $S^\circ = 167,21 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$ ;  $\Delta_f H^\circ = -29,39 \text{ kJ.mol}^{-1}$  (média dos valores descritos na referência [126]) de

acordo com a reação 4.1, desta forma uma vez que os íons estejam formados, o crescimento dos nanocristais inicia.



A baixa solubilidade de  $\text{Ag}_2\text{Te}$ , já mencionada no tópico 1.5 também confirma a tendência de formação deste semicondutor [28,29]. Por outro lado, a formação de  $\text{Te}^{2-}$  a partir de  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  ocorre de maneira não espontânea,  $E^\circ = -1,713 \text{ V}$  [127], de acordo com a reação 4.2. Desta forma no caso do procedimento de obtenção de nanopartículas do presente trabalho, a disponibilidade dos monômeros é dependente da formação de  $\text{Te}^{2-}$ .



Temperaturas mais elevadas podem contribuir para uma produção mais rápida de  $\text{Te}^{2-}$  e consequentemente a formação mais rápida e em maior concentração dos monômeros quando comparado aos ensaios realizados em temperaturas mais baixas. Por esta razão, os perfis de emissão mais intensos ocorreram quando a temperatura durante a reação foi de  $90^\circ\text{C}$ .

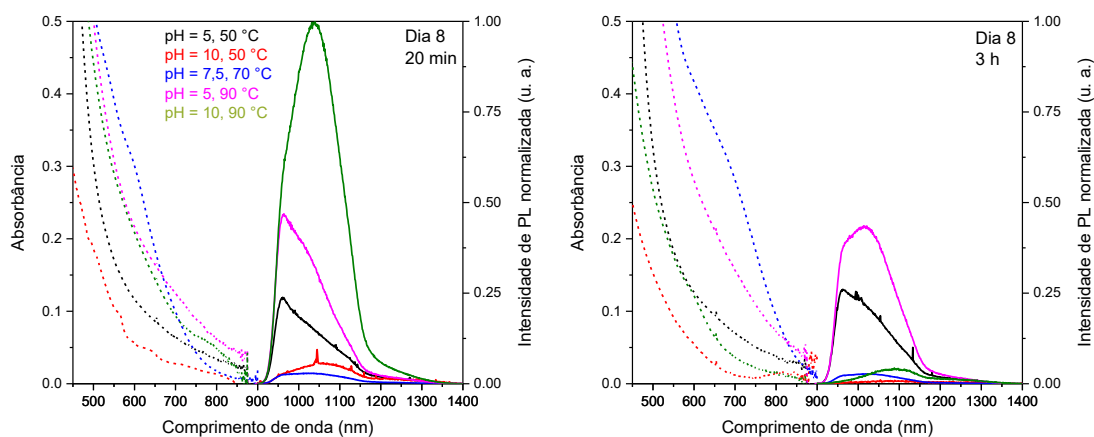
No caso das amostras obtidas em pH 5, o aumento do tempo de reação também resultou num aumento de intensidade de PL, no entanto os picos de emissão podem ser mais alargados do que foi possível observar uma vez que a região próxima dos 900 nm não é detectada com precisão pelo equipamento utilizado. Entre aquelas amostras obtidas em pH 10, ocorreu aumento de intensidade de PL com o tempo de reação apenas para amostra obtida a  $90^\circ\text{C}$ , quando a temperatura de reação foi de  $50^\circ\text{C}$  o perfil de emissão se tornou um pouco mais simétrico, mas sem mudanças importantes de intensidade de PL.

A amostra obtida a  $90^\circ\text{C}$  e pH 10, aparentou uma banda de emissão mais simétrica que as demais, saindo de uma FWHM de 171 para 143 nm, o que está relacionado a uma superfície com menos defeitos [6]. O máximo de emissão desta amostra ocorreu em comprimento de onda maiores em relação às demais amostras, o que está relacionado com um diâmetro médio maior, o aumento do tempo de

reação provocou também um pequeno deslocamento no mesmo sentido. O diâmetro médio é dependente principalmente do raio crítico ( $r_{crit}$ ) dos núcleos formados na etapa de nucleação que dependem principalmente da concentração de monômeros, da temperatura de reação e tensão superficial dos núcleos [40]. Cristais maiores apresentam menor razão entre área superficial e volume o que implica em menos defeitos de superfície, em comparação com cristais de tamanhos menores, o que pode ter sido a principal razão para a maior simetria deste perfil de emissão em relação aos demais.

O comportamento dos perfis de emissão das amostras obtidas em mesmo pH e temperaturas distintas se mantém de forma semelhante no dia 8, o que pode ser uma confirmação da discussão acima (Figura 4.2). Ambas as amostras obtidas em pH 5 em duas temperaturas distintas, 50 e 90 °C novamente apresentaram intensidades de PL elevadas e que aumentaram com o aumento do tempo de reação. Os perfis de absorção são ainda menos definidos que aqueles observados no dia 2. Por último, nos espectros registrados no dia 8 o achado mais evidente foi a elevada intensidade de PL para amostra obtida em pH 10 e 90 °C com 20 min de tempo de reação, o perfil de absorção desta amostra passou a ser menos definido em relação ao observado no dia 2, com aumento do tempo de reação intensidade de PL diminuiu drasticamente, esta variação foi explorada posteriormente.

Figura 4.2 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) obtidos no dia 8 para as sínteses de  $Ag_2Te$ -MSA do planejamento experimental 1.



A influência do pH nas propriedades ópticas de PQs estabilizados com alquiltióis está relacionada com processos relativos à estabilização da superfície e

à própria dinâmica de crescimento [128,129]. No procedimento experimental utilizado no presente trabalho, o primeiro destes processos é a formação de complexos entre o estabilizante com o metal catiônico do semiconductor, respectivamente MSA e  $\text{Ag}^+$ . Ligantes derivados de MSA podem se coordenar a metais através dos átomos doadores S e O [130,131]. No caso dos íons  $\text{Ag}^+$  a formação do complexo através do átomo de enxofre é mais favorecida, uma vez que como um ácido macio, sua ligação com bases macias como  $\text{RSH}$  e  $\text{RS}^-$  são mais favoráveis que ligações com bases duras, como  $\text{RO}^-$  [113]. Desta forma, esta etapa deve ocorrer principalmente como demonstrado na reação 3.2, como se observa também para a reação entre  $\text{Ag}^+$  outros alquil tíois [112]. PQs de CdSe e CdTe estabilizados com MSA apresentaram emissão de fluorescência e estabilidade coloidal em condições de pH baixo [115,128]. Apesar de o grupo tiol do MSA sofrer desprotonação em condições mais alcalinas,  $\text{pK}_{\text{aSH}} = 10,24$ , a formação do complexo MSA-Ag não depende desta desprotonação, o que indica que mesmo nos ensaios realizados em pH mais baixo esta reação tem condições de ocorrer [132,131]. A estabilidade coloidal em pH baixo se deve à desprotonação de ambas as carboxilas,  $\text{pK}_{\text{a1COOH}} = 3,12$  e  $\text{pK}_{\text{a2COOH}} = 4,52$  [132,131]. Desta forma, considerando o perfil de emissão mais intenso observado, um pH de síntese mais elevado parece contribuir para um melhor recobrimento da superfície, resultando na maior simetria do perfil.

De modo a complementar o que se pôde extrair observando os espectros, o tratamento estatístico dos dados deste planejamento experimental pode fornecer informações acerca do comportamento de Intensidade de PL e FWHM das amostras em função das variações das condições experimentais aplicadas. Uma vez que este planejamento tem caráter exploratório e não foram realizadas repetições autênticas de todos os experimentos, a avaliação a seguir teve caráter qualitativo. De acordo com os efeitos calculados (Tabela 4.2), com exceção da interação entre pH e tempo até análise, todos os demais fatores e interações apresentaram significância estatística, ou seja, provocam mudanças na intensidade de PL. Quando os fatores principais (temperatura e tempo até a análise) aumentam a intensidade de PL também aumentam, o que ocorre também quando aumentam juntos pH e temperatura e temperatura e tempo até a análise. Os demais fatores

principais: pH e tempo de reação provocam aumento de intensidade de PL quando diminuem, o mesmo ocorre para todas as demais interações significativas.

Tabela 4.2 - Resumo das estimativas de efeito para intensidade de emissão dos nanocristais de Ag<sub>2</sub>Te-MSA obtidos a partir do planejamento experimental 1.

Fator	Intensidade de emissão			
	Efeito	Desvio padrão	Intervalo de confiança*	
		× t <sub>(12)</sub>	-95%	+95%
Média	42259,25	2035,48	40223,78	44294,73
(1) pH	-24716,67	5385,37	-30102,04	-19331,3
(2) Temperatura	69354,58	5385,37	63969,2	74739,95
(3) Tempo de reação	-27832,13	4070,96	-31903,09	-23761,17
(4) Tempo até análise	64362,13	4070,96	60291,17	68433,09
1*2	28886,96	5385,37	23501,59	34272,33
1*3	-48184,49	5385,38	-53569,86	-42799,11
1*4	-4188,52	5385,37	-9573,89	1196,85
2*3	-45973,98	5385,37	-51359,35	-40588,61
2*4	63568,77	5385,37	58183,4	68954,14
3*4	-29774,15	4070,96	-33845,1	-25703,19
1*2*3	-41101,27	5385,38	-46486,64	-35715,89
1*2*4	28512,18	5385,37	23126,8	33897,55
1*3*4	-48559,99	5385,37	-53945,36	-43174,62
2*3*4	-47098,2	5385,37	-52483,57	-41712,83

\*95% de confiança

Os efeitos calculados para a segunda resposta avaliada, FWHM (Tabela 4.2) indicam que todos os fatores principais são significativos e alteram esta resposta da mesma maneira, FWHM diminui conforme pH, temperatura, tempo de reação e tempo até análise aumentam, o mesmo ocorre quando temperatura e tempo de reação aumentam juntos. Nenhuma das interações envolvendo o fator principal 4, tempo até análise, demonstrou significância estatística. As demais interações indicam que FWHM aumenta quando aumentam juntos: pH e temperatura, pH e tempo de reação e esses três fatores juntos.

Tabela 4.2 - Resumo das estimativas de efeito para FWHM dos nanocristais de Ag<sub>2</sub>Te-MSA obtidos a partir do planejamento experimental 1.

Fator	FWHM			
	Efeito	Desvio padrão $\times t_{(12)}$	Intervalo de confiança*	
			-95%	+95%
Média	213,79	4,53	209,25	218,32
(1) pH	-146,63	12,01	-158,63	-134,62
(2) Temperatura	-60,13	12,01	-72,13	-48,12
(3) Tempo de reação	-34,57	9,07	-43,65	-25,5
(4) Tempo até análise	-22	9,07	-31,08	-12,92
1*2	41,87	12,01	29,87	53,88
1*3	34,13	12,01	22,12	46,13
1*4	9,37	12,01	-2,63	21,38
2*3	-44,88	12,01	-56,88	-32,87
2*4	10,87	12,01	-1,13	22,88
3*4	2,43	9,07	-6,65	11,5
1*2*3	47,63	12,01	35,62	59,63
1*2*4	3,87	12,01	-8,13	15,88
1*3*4	-4,88	12,01	-16,88	7,13
2*3*4	4,13	12,01	-7,88	16,13

\*95% de confiança

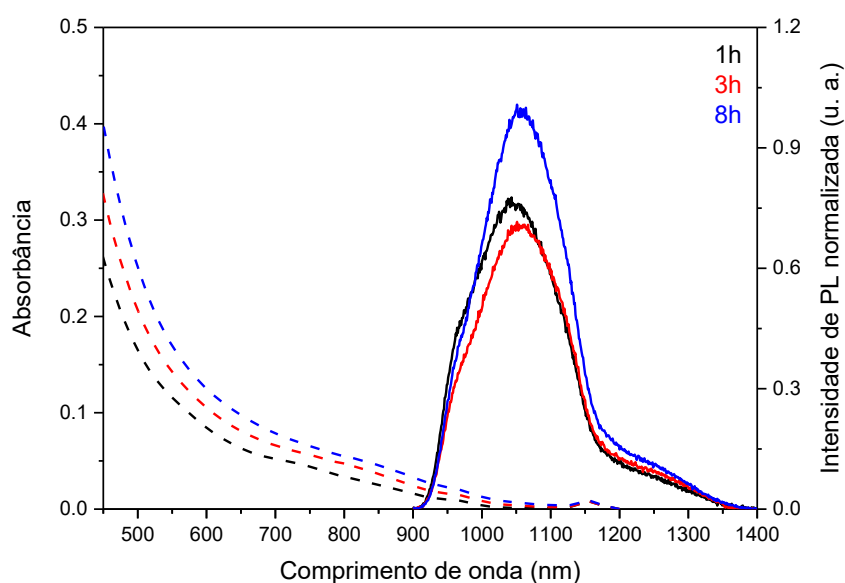
Considerando as previsões dos modelos para as respostas, os valores de desejabilidade indicaram que quando pH, temperatura e tempo até análise estão próximos dos valores máximos estudados, e o tempo de reação se aproxima do mínimo, as duas respostas deveriam se aproximar dos melhores valores, ou seja intensidade de PL elevada acompanhada de FWHM estreita. Considerando os dados experimentais, isso se aproxima de pH 10 e 90 °C tempo até análise de 8 dias e 20 min de tempo de reação, o que corresponde a amostra com a maior intensidade de emissão de todo este planejamento, cujo perfil de emissão se destaca na Figura 4.2, sendo assim uma distribuição de tamanhos um pouco mais homogênea em relação a maior parte das outras amostras obtidas. Partindo destas conclusões, e considerando a grande discrepância entre os perfis de emissão desta amostra no dia 8 aos 20 min e após 180 min, foram realizados novos experimentos a fim de verificar se o tempo de reação menor de fato conduz a melhores resultados. Os dados a seguir não puderam substituir aqueles utilizados neste planejamento pois o equipamento no qual os espectros de emissão foram registrados sofreu mudanças que tornaram as intensidades incomparáveis.

#### 4.3.2 Resultados para os testes com diferentes tempos de síntese

Duas repetições para a síntese de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  - MSA foram realizadas repetindo as condições experimentais para a amostra que resultou nos melhores resultados no planejamento discutido no tópico anterior com exceção do tempo total de reação. Nestes ensaios o tempo máximo foi de 8 h, sendo retiradas alíquotas com 1 e 3 h.

A média dos espectros registrados ao dia 8 pós síntese (Figura 4.3) indicam uma mudança significativa no perfil de emissão com o aumento do tempo de reação, o máximo de emissão é em 1048 nm com 1 h, de 1050 nm com 3 h e de 1060 nm com 8 h, respectivamente as FWHM são de 175, 160 e 150 nm.

Figura 4.3 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{\text{exc}} = 470$  nm) obtidos no dia 8 para sínteses de  $\text{Ag}_2\text{Te}$ -MSA em pH 10 e 90 °C com tempos de reação de 1, 3 e 8 h.



Diferente do observado no tópico anterior, o aumento do tempo de reação contribui para um aumento da intensidade de emissão, o que confirma um possível erro nos dados anteriores. Um discreto crescimento das nanopartículas pode justificar o deslocamento para o vermelho do máximo de emissão à medida que o tempo de reação aumenta. A dispersão de tamanhos apresenta uma pequena mudança entre 1 e 3 h de síntese, e permanece estável até o final das 8 h. A mudança na intensidade de emissão pode estar associada com uma melhor passivação da superfície do nanocristal, um maior tempo de reação fornece



condições para que moléculas do estabilizante livres em suspensão possam ligar-se a superfície do PQ, o que também corrobora com um crescimento muito discreto do diâmetro. Um estudo de 2016, com PQs de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  com polímeros como agente estabilizante demonstrou que um aumento do tempo de síntese de 2 h para 3 h provocou deslocamento do máximo de emissão em menos de 5 nm, os autores não discutiram a respeito da intensidade de luminescência [133].

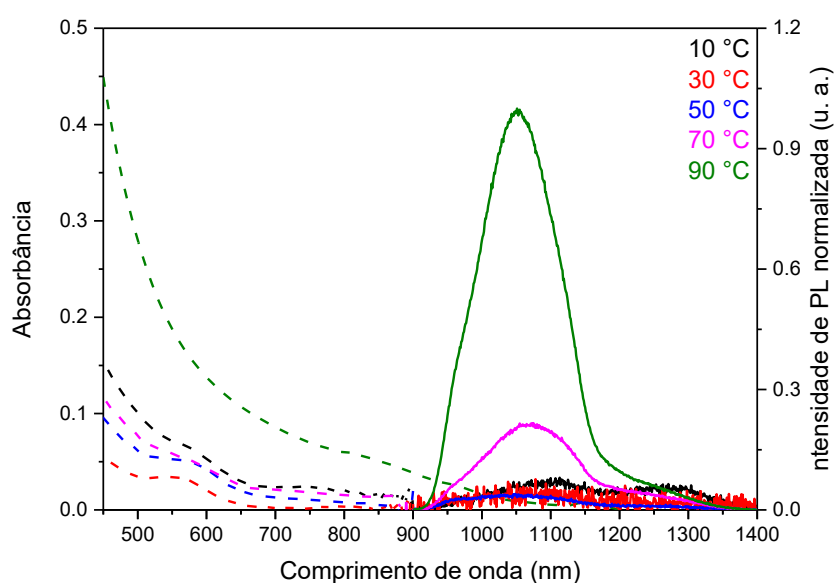
Comparando estes resultados com os aqueles descritos na literatura para PQs de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  – BSA obtidos anteriormente também em meio aquoso, observa-se uma diferença importante em relação ao tempo de reação. Os autores descrevem que os PQs de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  – BSA cresceram durante apenas 10 min e apresentaram máximo de emissão em 1050 nm [51]. A principal razão para esta diferença pode ter relação com o agente estabilizante selecionado, uma vez que, como já mencionado, os mesmos afetam a dinâmica de crescimento de nanocristais [11].

#### *4.3.3 Resultados para testes com diferentes temperaturas*

Nos resultados obtidos até então, a baixa definição do máximo de absorção que reflete uma distribuição de tamanhos mais larga se repetiu para a maioria das condições sintéticas estudadas. Alguns autores atribuem a falta de controle nos tamanhos dos PQs de calcogentos de prata a um crescimento muito rápido [35]. A complexa dinâmica entre a rápida nucleação seguida por um crescimento mais lento dos nanocristais, deve fornecer uma distribuição de tamanhos mais estreita. Um crescimento muito rápido faz com que menos nanocristais cheguem ao diâmetro de equilíbrio e acabam sendo consumidos os monômeros antes que uma homogeneidade de tamanhos seja atingida. Como forma de modular o rápido crescimento de PQs de  $\text{Ag}_2\text{Te}$ , alguns autores utilizaram solventes viscosos para desacelerar esse processo [134]. Uma forma simples para alterar a cinética de qualquer reação química é modificar a quantidade de calor fornecida aos reagentes. Deste modo, partindo das melhores condições experimentais até então, foram exploradas modificações na temperatura de reação. A escala de temperaturas selecionadas inicia aos 10 °C, variando de em intervalos de 20 °C, até

os 90 °C previamente estudados. Os ensaios foram feitos em duplicatas, e foi observada reprodutibilidade nos resultados.

Os espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) obtidos no dia 8 para sínteses de  $Ag_2Te$ -MSA em pH 10 tempo de reação de 3 h com temperaturas de reação entre 10 e 90 °C.



O máximo de emissão em 1070 nm, observado para nanocristais obtidos a 70 °C, indica diâmetros médios um pouco maiores que aqueles obtidos a 90 °C, a FWHM é um pouco mais estreita, cerca de 160 nm. Estas diferenças indicam que houve uma mudança significativa na dinâmica de crescimento dos nanocristais com a variação de 70 para 90 °C. Além do mais, as variações de temperatura, como já discutido, podem ter também implicações na etapa de redução de telurito.

Neste trabalho, a temperatura de 90 °C forneceu os PQs de  $Ag_2Te$  - MSA com a emissão mais intensa se aproxima dos 80 °C utilizados na obtenção de PQs de  $Ag_2Te$  – BSA [51]. Além disso, ela está na mesma faixa de temperaturas utilizada

nos últimos anos para obtenção de selenetos de prata em meio aquoso, entre 70 e 100 °C, conforme Tabela 1.1.

#### 4.3.4 Estudos adicionais

A partir dos resultados obtidos até então, um segundo planejamento foi realizado fixando o tempo até análise em 8 dias, o pH em 10 e a temperatura em 90 °C. O nível inferior para o tempo de reação foi deslocado para 1 h. Esta mudança teve origem nos resultados mais imprecisos para o primeiro planejamento quando o tempo de reação foi 20 min, problemas semelhantes foram também observados para os PQs de Ag<sub>2</sub>Se. O nível superior para o tempo de reação foi mantido em 3 h. Apesar de tempos de reação maiores terem fornecido melhores resultados, é prioritário alcançar boas respostas com o menor tempo de reação possível uma vez que a redução de custos é um dos condutores para uma síntese com menor impacto ambiental. Além disso foram estudadas diferentes razões molares Ag:Te e MPA:Ag a fim de explorar as contribuições destas variáveis para o sistema.

Tabela 4.3 – Fatores e respectivos níveis estudados no planejamento experimental realizado.

PQ – Estabilizante		Ag <sub>2</sub> Te – MSA		
Tipo de planejamento experimental		fatorial completo 2 <sup>3</sup> + PC		
Fator		Níveis		
		-1	0	+1
Razão molar Ag:X		4:1	6:1	8:1
Razão molar MPA:Ag		6:1	8:1	10:1
Tempo de reação (h)		1*	x	3*

PC – Pontos centrais; x: não há nível intermediário atribuído; \*tempo até a retirada da alíquota

Todas as sínteses para este planejamento foram obtidas, porém não foi possível registrar os espectros devido ao não funcionamento do fluorímetro por um longo período. Ainda assim, há um indicativo que as razões molares utilizadas anteriormente (Ag:Te 8:1 e MSA:Ag 6:1) fornecem melhores resultados, pois todas as amostras deste segundo planejamento apresentaram precipitados nos primeiros 15 dias pós síntese. Desta forma, em estudos futuros, é importante explorar novas razões molares Ag:Te e MSA:Ag e avaliar os resultados através de POE na busca de PQs de Ag<sub>2</sub>Te - MSA com as melhores propriedades ópticas. Por fim, a realização

de caracterizações estruturais dos melhores nanocristais obtidos através de MET, FTIR e DRX são também etapas cruciais a serem realizadas.

#### **4.4 Conclusões**

A metodologia já utilizada para obter PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  se mostrou eficaz também na obtenção de PQs de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  hidrofílicos. Através de estudos multivariados foi possível rastrear condições de experimentais capazes de fornecer PQs de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  estabilizados com MSA com emissão no NIR. Além disso, estudos univariados adicionais confirmaram que um maior tempo e uma maior temperatura de reação conduziram a melhores propriedades ópticas. Os melhores nanocristais obtidos apresentaram máximos de emissão de fotoluminescência entre 1048 e 1060 nm e FWHM entre 175 e 150 nm.

## **CAPÍTULO 5 : Desenvolvimento de sistemas óptico-paramagnéticos contendo PQs de Ag<sub>2</sub>Se–MPA e complexos de Gd (III) para imagem por fluorescência e por ressonância magnética**

### **5.1 Introdução**

O desenvolvimento de técnicas e metodologias, no começo deste século, que permitem o controle de tamanho na obtenção de diversos materiais possibilitou que materiais inorgânicos sejam obtidos em dimensões da mesma escala que biomoléculas. Os nanomateriais apresentam propriedades físico-químicas dependentes do tamanho, essas propriedades os diferenciam dos materiais macroscópicos de mesma composição, e de outras espécies de tamanhos semelhantes, como moléculas, proteínas e enzimas [135,136]. Desde então, nanomateriais das mais diversas composições são estudados e aplicados em múltiplas áreas como: biomedicina – desde a etapa diagnóstica até tratamento – [135,136,15], armazenamento e geração de energia [137,138], catálise [13,14], entre outras.

Explorar mudanças estruturais de nanomateriais tem sido uma importante alternativa para o desenvolvimento de agentes de contraste (ACs) mais eficientes para imagem por ressonância magnética (MRI), permitindo superar a baixa sensibilidade e a necessidade de doses elevadas [74]. Além disso possibilita explorar a multimodalidade diagnóstica [60,61,59]. A conjugação de PQs e complexos de Gd<sup>3+</sup> resulta em um material que reúne fluorescência e paramagnetismo. Materiais deste tipo são potenciais agentes de diagnóstico bimodais FI-MRI [61,59].

Neste trabalho, a obtenção de sistemas com propriedades ópticas e paramagnéticas foi realizada através da conjugação de PQs de Ag<sub>2</sub>Se-MPA e complexos de Gd<sup>3+</sup> através de ligações tiol-metal. Os PQs selecionados foram à aqueles que exibiram as melhores propriedades ópticas, conforme descritos no Capítulo 3. Os complexos paramagnéticos selecionados são derivados de Gd-DOTA anteriormente obtidos pelo grupo e já utilizados para este mesmo fim.

## 5.2 Metodologia

### 5.2.1 Materiais

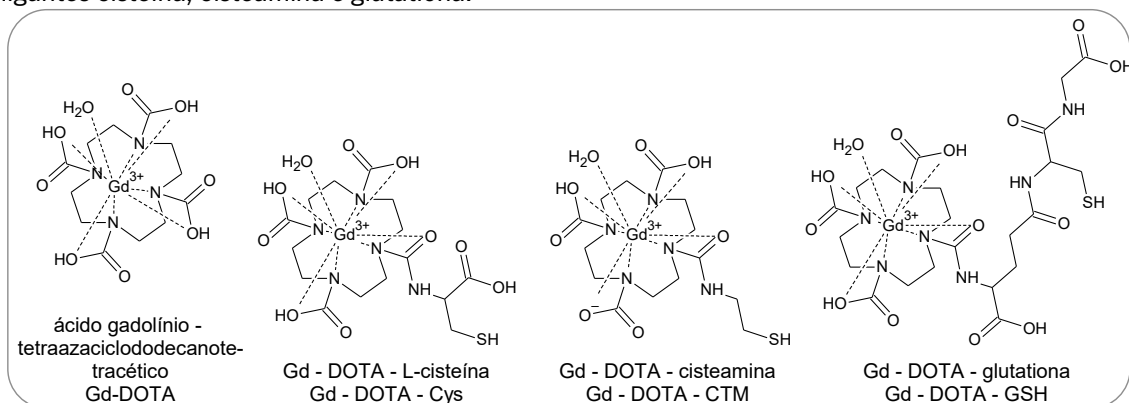
Todos os reagentes foram usados como recebidos, sem quaisquer processos adicionais de purificação e todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade de 18,2 M $\Omega$  a temperatura ambiente). Foram utilizados os seguintes reagentes: hidróxido de sódio (98%), hidrocloreto de cisteamina (CTM, 98%), glutathione reduzida (GSH, 98%), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA, 97%), *N*-hidroxisuccinimida (NHS, 98%), *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida, (EDC, 98%/) cloreto de gadolínio (99,99%), L-cisteína (Cys, 97%) de Sigma-Aldrich, ácido nítrico (65% PA, Fmaia) e ácido clorídrico (37% PA/ACS, Neon).

### 5.2.2 Preparação dos complexos de Gd (III)

Os complexos aqui utilizados são resultantes do trabalho de Albuquerque *et al.* (2024) e foram cedidos pelas autoras para realização desta etapa. O método de preparação se baseia no uso de uma carbodiimida para promover a formação de uma ligação amida entre uma carboxila do ligante DOTA e um grupo amina de alquil tiol. O ligante DOTA foi dissolvido em água, o pH foi mantido entre 5,6-5,8, foram adicionados EDC e NHS, a mistura permaneceu sob agitação por 1 h a 60 °C. Ao final desta etapa foi obtida uma solução a 10 mmol.L<sup>-1</sup> de DOTA-NHS. Após a mistura atingir temperatura ambiente o pH foi ajustado para 7 e uma solução a 9 mmol.L<sup>-1</sup> de GdCl<sub>3</sub> foi adicionada, esta nova mistura também permaneceu sob agitação por 1 h a 60 °C. Novamente, após atingir a temperatura ambiente, o pH da mistura foi ajustado para 7, foi aquecida a 60 °C por 20 min até que o pH exibisse pouca ou nenhuma variação. Frações desta solução foram tomadas para obter os diferentes complexos derivados de Gd-DOTA. Para esta última etapa os ligantes foram adicionados à solução, permanecendo em agitação por 4 h em temperatura ambiente. Ao final o pH foi ajustado novamente para 7. Diferentes complexos

derivados de Gd-DOTA foram obtidos, aqui três destes complexos foram utilizados e estão ilustrados na Figura 5.1 em comparação com o complexo Gd-DOTA [93].

Figura 5.1 – Estruturas do complexo Gd – DOTA e seus derivados após modificação com adição dos ligantes cisteína, cisteamina e glutatona.

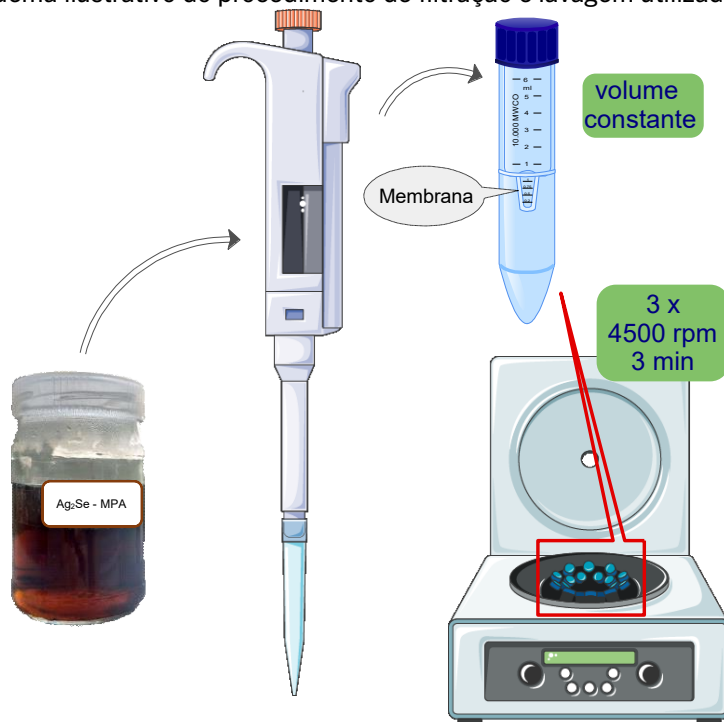


Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

### 5.2.3 Preparação dos sistemas bimodais

Antes de realizar a mistura entre os PQs e complexo, a suspensão contendo PQs de Ag<sub>2</sub>Se-MPA foi lavada e filtrada (Figura 5.2), utilizando filtros de membrana 10000 kDa GE vivaspin. Em seguida, o pH da suspensão foi ajustado para 7, com adição de uma solução aquosa de MPA 1:4 (v:v).

Figura 5.2 – Esquema ilustrativo do procedimento de filtração e lavagem utilizado



Fonte: Foram utilizadas figuras, com modificações, de Servier Medical Art, sob licença CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>). Modificações feitas em: ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

Por último, os sistemas bimodais foram preparados misturando 1000 mL da suspensão de PQs lavada e filtrada com o volume de 50 mL ou de 100 mL da solução contendo o complexo selecionado. Água ultrapura foi adicionada até completar o volume de 2 mL, e então a mistura permaneceu em agitação branda por aproximadamente 4 h. Seis variações de sistemas foram preparadas e diferem entre si acordo com o complexo selecionado ou com o volume utilizado, conforme descritos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Nomenclatura dos sistemas bimodais obtidos de acordo com o complexo e volume selecionados.

Complexo utilizado	Volume de solução utilizado (μL)	Nomenclatura do Sistema
Gd-DOTA-Cys	50	PQ-Gd-DOTA-Cys-50
	100	PQ-Gd-DOTA-Cys-100
Gd-DOTA-CTM	50	PQ-Gd-DOTA-CTM-50
	100	PQ-Gd-DOTA-CTM-100
Gd-DOTA-GSH	50	PQ-Gd-DOTA-GSH-50
	100	PQ-Gd-DOTA-GSH-100



Antes das medidas descritas nos dois próximos tópicos, as suspensões foram lavadas e filtradas da mesma forma como feito para os PQs, como ilustrado na Figura 5.2. Neste momento a lavagem e filtração elimina das amostras, ligantes e complexos não conjugados a PQs e íons  $Gd^{3+}$  livres, desta forma tanto a resposta relaxométrica quanto a espectroscópica são relativas apenas a complexos conjugados a PQs.

#### 5.2.4 Caracterizações ópticas

Para todas as suspensões obtidas foram realizadas caracterizações ópticas através de espectroscopia de fluorescência no infravermelho (Espectrofluorímetro Fluorolog-3 ISA - Horiba) do CEMENE no DQF-UFPE, espectroscopia de absorção UV-Vis-infravermelho (espectrofotômetro Cary 5000 UV-Vis-NIR - Agilent Technologies) do Laboratório de Química no DF-UFPE e espectroscopia UV-Vis (Perkin Elmer, Lambda 650) da Central Analítica do DQF - UFPE. Todas as amostras foram diluídas de modo a se obter espectros sem efeitos de densidade óptica, até o primeiro máximo de absorção apresentar absorvância de aproximadamente  $\leq 0,2$ .

#### 5.2.5 Medidas de tempo de relaxação

Foram medidos os tempos de relaxação longitudinal ( $T_1$ ) dos núcleos de  $^1H$  nas suspensões coloidais dos sistemas bimodais obtidos e da suspensão contendo apenas o PQ. As medidas foram realizadas a 37 °C em campo magnético de 60 MHz (ou 1,41 T) usando uma sequência de pulsos de inversão-recuperação (IR), com 20 pontos de dados coletados e 4 varreduras para cada, em relaxômetro Bruker, Minispec mq60.

#### 5.2.6 Quantificação de $Gd^{3+}$

Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) foi realizado em espectrômetro PERKIN ELMER, Optima 7000 DV, para quantificar  $Gd^{3+}$  nas amostras dos sistemas óptico-paramagnéticos PQs-Gd-DOTA-

RSH. As suspensões foram diluídas até que a concentração de  $Gd^{3+}$  estivesse aproximadamente na faixa de ppm (partes por milhão). E então foram submetidas a uma solução ácida contendo 2:6 v/v de ácido nítrico e ácido clorídrico até completa digestão.

#### 5.2.7 Cálculo de rendimento de conjugação

Uma vez que todo  $Gd^{3+}$  quantificado por ICP-OES é proveniente de sistemas Gd-DOTA-PQ é possível relacionar a concentração deste íon com o rendimento de conjugação. Para isto, foram comparados os dados obtidos por ICP-OES ( $[Gd]_{ICP}$ ) com a concentração inicial de  $Gd^{3+}$  ( $[Gd]_i$ ) de acordo com a Tabela 5.3. Desta forma o rendimento de conjugação é dado pela equação (5.1):

$$\% \text{ Rendimento} = \frac{[Gd]_{ICP}}{[Gd]_i} \times 100 \quad (5.1)$$

#### 5.2.8 Cálculo de relaxividade

A partir das medidas de  $T_1$  e da quantificação de  $Gd^{3+}$  foram calculados os valores de relaxividade dos sistemas obtidos de acordo com a equação (5.2).

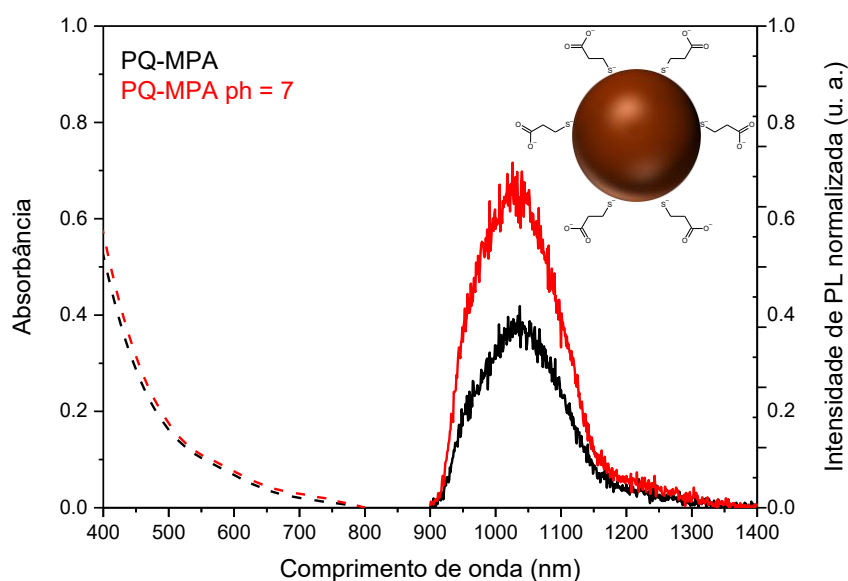
$$r_i = \frac{\frac{1}{T_{i,obs}} - \frac{1}{T_{i,d}}}{[Gd]_{ICP}} \quad (5.2)$$

Onde  $T_{i,obs}$  ( $i = 1, 2$ ) são os tempos de relaxação medidos experimentalmente na presença dos sistemas paramagnéticos,  $T_{i,d}$  são os tempos de relaxação da suspensão contendo apenas PQs (contribuição diamagnética),  $[Gd]$  é a concentração do íon gadolínio (em mmol.L<sup>-1</sup>) e  $r_i$  são as relaxividades longitudinal ( $i = 1$ ) ou transversal ( $i = 2$ ), ou seja, é o incremento da taxa de relaxação dos núcleos de  $^1H$  das moléculas de água por mmol.L<sup>-1</sup> de  $Gd^{3+}$ .

### 5.3 Resultados e discussão

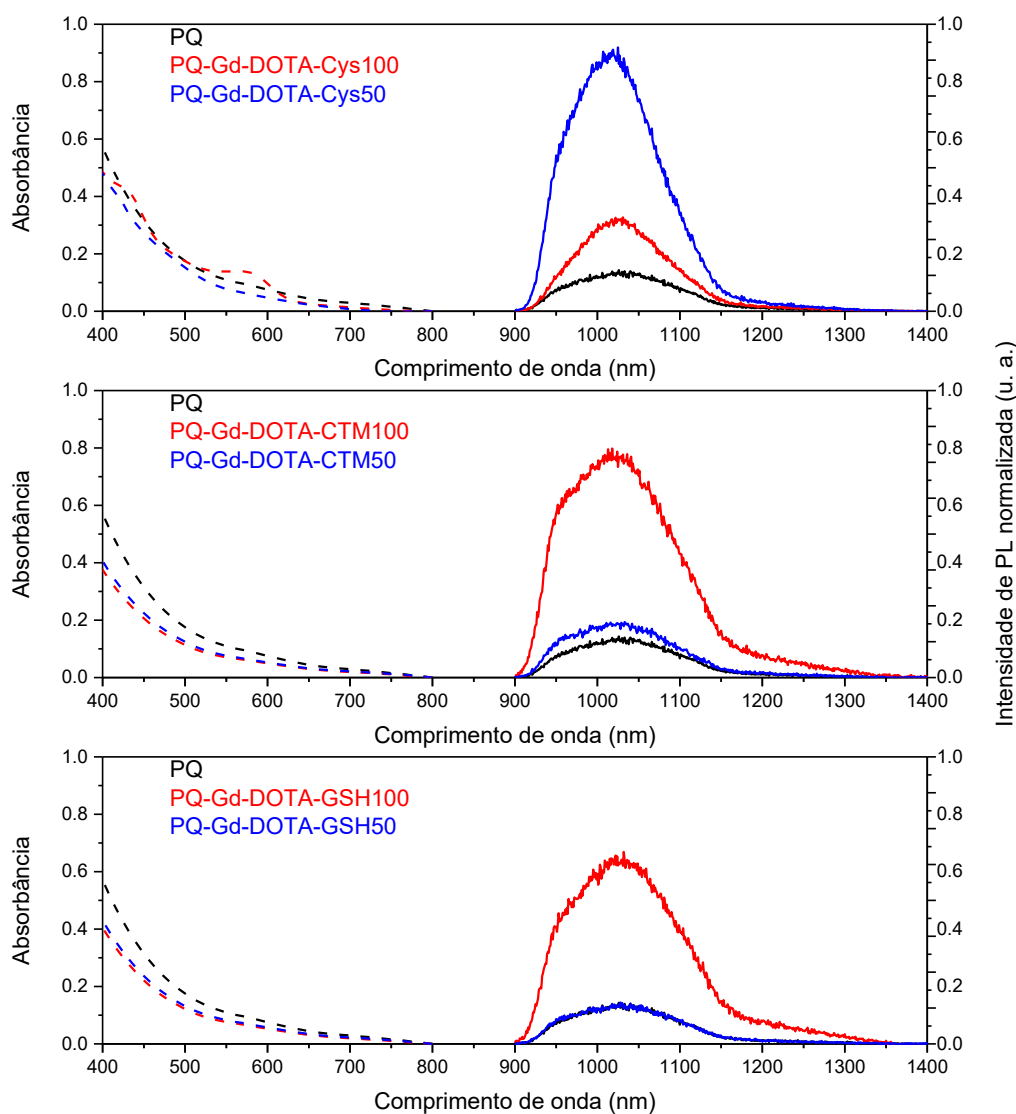
Os PQs com as melhores propriedades ópticas obtidos até então no desenvolvimento deste trabalho foram os PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  – MPA destacados ao final do Capítulo 3. Estes PQs foram então selecionados para compor os sistemas bimodais óptico-magnéticos. Estudos anteriores demonstraram que o ajuste de pH da suspensão de PQs com solução ácida pode provocar diminuição do rendimento quântico, e, conseqüentemente da intensidade de emissão. Por outro lado, quando soluções do agente estabilizante foram utilizadas, resultou no aumento da intensidade de emissão e rendimento quântico [139]. A manutenção das propriedades ópticas e estabilidade coloidal após ajuste de pH foi verificada. Os espectros de absorção e emissão (Figura 5.3) das suspensões contendo os PQs antes e após ajuste de pH demonstram pouca mudança do perfil de absorção e um incremento da intensidade de PL, o que pode ser consequência de um melhor recobrimento da superfície decorrente de novas ligações MPA-Ag na superfície do PQ. Nenhuma formação de precipitados foi observada na suspensão após ajuste de pH.

Figura 5.3 - Espectros de absorção (tracejado) e emissão (contínuo,  $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$ ) de PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -MPA antes e após ajuste de pH da suspensão.



Após a etapa de conjugação, novos espectros de absorção e de emissão (Figura 5.4) foram obtidos para todos as 6 variações dos sistemas óptico-paramagnéticos.

Figura 5.4 - Espectros de absorção (tracejado) e de emissão (contínuo,  $\lambda_{exc} = 470$  nm) de sistemas óptico magnéticos baseados em PQs de  $Ag_2Se$ -MPA e complexos de gadolínio, utilizando 50  $\mu$ L (azul) e 100  $\mu$ L (vermelho) de solução contendo complexo.



As mudanças nos perfis de emissão podem ser avaliadas de forma mais quantitativa de acordo com os dados da Tabela 5.2. Para os PQs conjugados a complexos Gd-DOTA-Cys ocorreu diminuição do FWHM em relação ao PQ não conjugado e um aumento da intensidade de PL, onde PQ-Gd-DOTA-Cys-50 exibiu maior intensidade de PL. Quando 100  $\mu$ L da solução do complexo Gd-DOTA-Cys foram utilizados, o perfil de absorção passou a apresentar uma banda mais definida

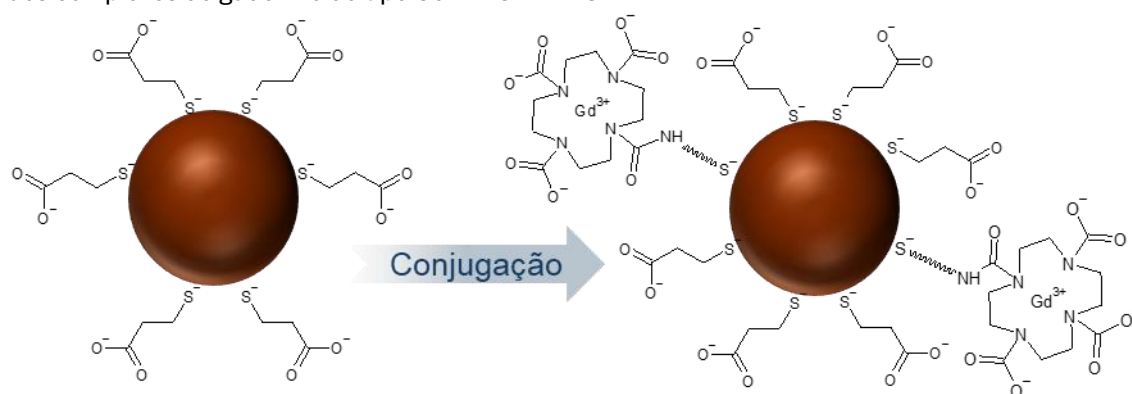
com máximo próximo dos 580 nm, o que seria consequência de uma melhora na distribuição de tamanhos dos PQs [44,6]. Esta mudança na distribuição de tamanhos pode ser confirmada através de caracterizações estruturais.

Tabela 5.2 – Dados dos perfis de emissão para os sistemas de PQ-Gd-DOTA-RSH em comparação com o PQ não conjugado.

Sistema	Intensidade de PL		FWHM	
	u. a.	Variação em %	nm	Variação em %
PQ	25216,69	-	171	-
PQ-Gd-DOTA-Cys-50	176309,79	+599	143	-16
PQ-Gd-DOTA-Cys-100	63068,67	+150	132	-23
PQ-Gd-DOTA-CTM-50	37960,34	+51	170	-1
PQ-Gd-DOTA-CTM-100	153911,96	+510	166	-3
PQ-Gd-DOTA-GSH-50	25216,69	0	171	0
PQ-Gd-DOTA-GSH-100	128368,05	+409	174	+2

Nos sistemas PQ-Gd-DOTA-CTM e PQ-Gd-DOTA-GSH, os valores de FWHM se mantiveram muito próximos daqueles observados para o PQ não conjugado. Para estes sistemas, quanto maior volume de complexo maior também foi o aumento observado na intensidade de PL, que pode ser resultante de melhorias da superfície do PQ. Os ligantes utilizados na mudança estrutural do complexo Gd-DOTA são alquilíóis, o que torna possível a interação destes complexos diretamente com a superfície dos PQs através de interações  $RS^- - Ag$ . Novas ligações deste tipo podem significar diminuição de armadilhas e consequentemente de decaimentos não radiativos, o que contribui para aumento de intensidade de PL que ocorre por decaimento radiativo via recombinação excitônica [6]. Assim, a alteração da intensidade de PL é um indicativo do sucesso da conjugação dos complexos de Gd(III) com os PQs. Desta forma, a conjugação dos PQs de  $Ag_2Se$  aos complexos Gd-DOTA-RSH podem ter resultado em estruturas como exemplificado na Figura 5.5.

Figura 5.5 – Possíveis estruturas dos PQs  $\text{Ag}_2\text{Se}$ –MPA antes (esquerda) e após conjugação (direita) aos complexos de gadolínio do tipo Gd – DOTA - RSH.



Fonte: Autoria própria, em ChemSketch, v. 14.00 (ACD/Labs).

O teste de alaranjado de xylenol verifica a eficiência da complexação de gadolínio a partir de mudanças dos espectros de absorção em função da quantidade de  $\text{Gd}^{3+}$  livre em solução [140]. As autoras que desenvolveram os complexos para esta etapa do estudo, submeteram os mesmos a este teste, as concentrações aproximadas de Gd-DOTA-RSH (Tabela 5.3). Os rendimentos de complexação observados foram 99,8%, 99,9% e 99,9 % para Gd-DOTA-CTM, Gd-DOTA-Cys e Gd-DOTA-GSH respectivamente [141]. Estes dados permitem o cálculo do rendimento de conjugação, conforme demonstrado em 5.2.7.

Tabela 5.3 – Concentrações de Gd-DOTA-RSH de acordo com teste de alaranjado de xylenol.

Complexo	Concentração Gd-DOTA-RSH (mmol.L <sup>-1</sup> )
Gd-DOTA-Cys	9,0
Gd-DOTA-CTM	8,9
Gd-DOTA-GSH	9,0

Além dos espectros demonstrados acima, outras evidências experimentais indicaram a efetividade da conjugação entre PQ e complexos de Gd. Primeiro, todos os sistemas bimodais obtidos apresentaram tempos de relaxação longitudinal menores que os 3,69 s, observados para a suspensão contendo apenas o PQ de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ –MPA. Segundo, em todas as amostras,  $\text{Gd}^{3+}$  pôde ser detectado e quantificado por ICP-OES (Tabela 5.3). Estes últimos dados contribuem também para uma melhor compreensão da diferença de comportamento dos perfis de emissão dos sistemas contendo o complexo Gd-DOTA-Cys em relação aos demais. Uma maior quantidade de complexos foi conjugada quando o volume menor de

solução foi utilizado. O que implica que em PQ-Gd-DOTA-Cys-50 uma quantidade maior de novas interações RS<sup>-</sup>-Ag ocorreu quando comparado a PQ-Gd-DOTA-Cys-100, a tendência oposta é observada para os sistemas com os complexos Gd-DOTA-CTM e Gd-DOTA-GSH.

Tabela 5.4 – Tempos de relaxação longitudinal  $T_1$  a 60 MHz e 37 °C para os complexos utilizados e para os sistemas bimodais obtidos, concentração de  $Gd^{3+}$  em mmol.L<sup>-1</sup>, relaxividade  $r_1$  rendimento da conjugação.

Sistema	$T_1$ (s)	[Gd <sup>3+</sup> ] (mmol.L <sup>-1</sup> )*	$r_1$ (mmol <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	Rend conjug (%)
Gd-DOTA-Cys	-	-	3,5	-
PQ-Gd-DOTA-Cys-50	2,01	0,05	4,4	22,8
PQ-Gd-DOTA-Cys-100	1,67	0,04	8,4	8,7
Gd-DOTA-CTM	-	-	3,5	-
PQ-Gd-DOTA-CTM-50	2,02	0,03	7,6	13,2
PQ-Gd-DOTA-CTM-100	1,24	0,10	5,6	21,4
Gd-DOTA-GSH	-	-	3,4	-
PQ-Gd-DOTA-GSH-50	1,87	0,03	8,7	13,4
PQ-Gd-DOTA-GSH-100	1,70	0,05	6,8	10,5

\*Determinado por ICP-OES.

A partir dos dados de ICP-OES foi possível estimar o rendimento de conjugação para cada sistema, ou seja, o percentual de complexos que efetivamente foram conjugados a PQs através da metodologia seguida (Tabela 5.4). Para os sistemas PQ-Gd-DOTA-Cys houve diminuição do rendimento de conjugação em função do aumento do volume de complexo adicionado, no entanto a quantidade de complexos em PQ-Gd-DOTA-Cys-100 é semelhante àquela em PQ-Gd-DOTA-Cys-50. Estes valores podem ser um indicativo que o limite de complexos possíveis de serem conjugados na superfície do PQ é atingido com a adição de 50 µL da solução. O comportamento do rendimento de conjugação dos sistemas PQ-Gd-DOTA-GSH é o mesmo que o observado para PQ-Gd-DOTA-Cys, no entanto uma quantidade maior de complexo é conjugada quando um volume maior de complexo é adicionado. Neste caso, o limite de conjugação em relação ao volume de solução pode estar acima dos 50 µL. Por último, para os sistemas PQ-Gd-DOTA-CTM tanto o rendimento de conjugação quanto o número de complexo conjugados são maiores para o sistema PQ-Gd-DOTA-CTM-100. O número de complexos em PQ-Gd-DOTA-CTM-100 é mais que três vezes que aquele em PQ-Gd-DOTA-CTM-50.

A razão pela qual a conjugação nos sistemas PQ-Gd-DOTA-Cys e PQ-Gd-DOTA-GSH ocorreu de forma semelhante e diferiu do observado para os sistemas PQ-Gd-DOTA-CTM pode ter relação com a estrutura dos complexos (Figura 5.1). A carboxila em Gd-DOTA-Cys assim como as carboxilas e aminas secundárias em Gd-DOTA-GSH podem interagir de forma repulsiva com a carboxila do MPA na superfície do PQ. Por outro lado, Gd-DOTA-CTM não apresenta nenhum grupo funcional lateral, o que resulta em menor impedimento estérico considerando a interação deste complexo com a superfície.

Quando comparados aos complexos não conjugados, todos os sistemas apresentaram aumento dos valores de relaxividade longitudinal. Os maiores valores de  $r_1$  foram observadas para: PQ-Gd-DOTA-CTM-50, PQ-Gd-DOTA-Cys-100 e PQ-Gd-DOTA-GSH-50 com aumentos de 117, 139, e 157% em relação a relaxividade dos complexos correspondentes. Foi demonstrado que complexos semelhantes a Gd-DOTA sofrem pouca variação em  $\tau_M$  quando conjugados a espécies de tamanhos maiores [142]. Quando um dos grupos acetato do DOTA é convertido a amida, o número de coordenação do complexo não é alterado uma vez que o oxigênio da amida é capaz de coordenar-se ao metal [77,143]. Desta forma o número de moléculas de água coordenadas ao centro metálico não deve ser modificado em função da mudança estrutural do ligante. Consequentemente, na maioria dos sistemas semelhantes aos obtidos aqui, um aumento de relaxividade é atribuído principalmente a aumentos dos tempos de correlação rotacional ( $\tau_R$ ) [75,144]. A massa dos complexos pode também ter contribuído no aumento dos tempos de correlação rotacional, uma vez que os aumentos observados de relaxividade foram maiores para os complexos com maior massa [142]. Além disso, as diferenças estruturais entre os complexos (Figura 5.1) implicam que os movimentos de rotação dos sistemas obtidos são também distintos. Tipicamente, ligantes mais flexíveis movem-se de forma independente da rotação do sistema como um todo, de modo que o  $\tau_R$  é menor que o esperado pelo aumento de tamanho [75,86]. No entanto apenas com experimentos de dispersão de relaxação magnética nuclear (NMRD) e RMN de  $^{17}\text{O}$  seria possível esclarecer o que contribui para as mudanças nos valores de relaxividade dos sistemas.



Materiais semelhantes aos obtidos neste trabalho já foram descritos anteriormente. Em 2015 PQs de  $\text{Ag}_2\text{S}$  estabilizados com ácido diidrolipóico (DHLLA) e funcionalizados com polietilenoglicol (PEG) foram conjugados ao éster *N*-hidroxisuccinimida do Gd-DOTA (Gd-DOTA-NHS) via ligação amida, requerendo a presença de grupos amina na superfície do PQ. A sonda obtida exibiu máximo de PL em aproximadamente 1200 nm e  $r_1$  de  $4,9 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$  a 500 MHz e 25 °C [145]. Nanocristais de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -PEG com máximo de emissão de fotoluminescência próximo de 1340 nm foram conjugados a complexos Gd-DTPA, que são menos estáveis cineticamente que os Gd-DOTA. Os sistemas  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -PEG-Gd-DTPA apresentaram diâmetros de  $6,4 \pm 1,0 \text{ nm}$  e relaxividade longitudinal de  $2,98 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$  a 120 MHz [146]. Novamente PQs de  $\text{Ag}_2\text{S}$ , desta vez com L-cisteína como estabilizante, foram conjugados a Gd-DOTA-4-aminotiofenol (DOTA-ATF) via ligação metal-tiol. Os PQs de  $\text{Ag}_2\text{S}$ -L-cisteína de partida tinham diâmetros os próximos de 2,2 (QD2) e 4,2 (QD2) e máximos de emissão de PL próximos de 1024 nm e 1220 nm respectivamente, após a conjugação estas características se mantiveram. Os sistemas obtidos, Gd-QD1 e Gd-QD2 apresentaram  $r_1$  a 400 MHz de 7,78 e 8,27  $\text{mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$  respectivamente [66]. As medidas relaxométricas para os sistemas descritos na literatura e os obtidos neste trabalho foram realizadas em condições distintas, o que não permite uma comparação exata dos valores de  $r_1$ , sendo possível apenas algumas suposições. Desta forma, é possível que os sistemas aqui obtidos apresentem valores de  $r_1$  superiores aos sistemas  $\text{Ag}_2\text{Se}$ -PEG-Gd-DTPA, considerando a menor diferença entre os campos. Já os valores de  $r_1$  para os demais sistemas devem ser maiores em 60 MHz. No entanto, a metodologia aqui proposta através da conjugação dativa tiol-metal é uma estratégia simples que não depende da estrutura do estabilizante do PQ.

Tabela 5.5 – Propriedades de sistemas óptico-paramagnéticas baseadas em PQs de Ag<sub>2</sub>X e complexos de Gd<sup>3+</sup> descritos na literatura em comparação com os obtidos neste trabalho.

PQ Ref	I <sub>Emi</sub> (nm)	Complexo	r <sub>1</sub> (mmol <sup>-1</sup> .L <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	Campo (MHz)	Temp. (°C)
Ag <sub>2</sub> S-DHLA-PEG [145]	1200	Gd-DOTA-éster-NHS	4,9	500	25
Ag <sub>2</sub> Se-PEG [146]	1340	Gd-DTPA	2,98	120	*
Ag <sub>2</sub> S-Cys [66]	1024 e 1220	Gd-DOTA-ATF	7,78 e 8,27	400	*
Ag <sub>2</sub> Se-MPA Este trabalho	1070	Gd-DOTA-Cys Gd-DOTA-CTM Gd-DOTA-GSH	8,4 7,6 8,7	60	37

\* Temperatura não informada.

Em todos estes trabalhos anteriores as sondas bimodais propostas reúnem fotoluminescência NIR e paramagnetismo, e todas compartilham do fato que a síntese do PQ ocorreu em meio orgânico. As propriedades ópticas dos PQs em todas estas sondas foram mantidas ou melhoradas e todas exibiram aumento de  $r_1$  em relação ao complexo correspondente não conjugado. A proposta aqui relatada oferece um caminho para obtenção de sondas óptico-paramagnéticas, eliminando o uso de solventes orgânicos em todas as etapas experimentais, com manutenção ou melhoria das propriedades ópticas e aumento de  $r_1$  relativamente ao agente de contraste usado clinicamente.

## 5.4 Conclusões

Nanomateriais com fotoluminescência NIR e paramagnetismo baseados em PQs de Ag<sub>2</sub>Se e complexos de gadolínio foram obtidos em meio aquoso, do início ao fim dos protocolos experimentais. Os melhores sistemas obtidos pela funcionalização do Gd-DOTA com GSH, exibem um aumento de relaxividade longitudinal de até 157% em relação ao complexo não conjugado e manutenção das propriedades ópticas com aumento de intensidade de PL.

Os resultados discutidos neste tópico são ainda iniciais, explorar mudanças no processo de conjugação dos complexos aos PQs pode fornecer resultados ainda mais promissores para aplicações destas nanossondas em diagnóstico por imagem.

Em acréscimo, é essencial ampliar a investigação acerca das propriedades magnéticas dos sistemas obtidos de modo que seja possível entender quais fatores estão contribuindo ou não para a melhoria da relaxividade.

## CAPÍTULO 6 : Conclusões gerais

Considerando os resultados obtidos neste trabalho de diferentes sistemas baseados em calcogenetos de prata, é evidente que foi possível obter mais e melhores resultados para a investigação acerca dos PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  – MPA, o que se deve principalmente ao fato de que mais tempo e mais recurso humano foi dedicado a essa porção do trabalho. Neste contexto, para o estudo com o  $\text{Ag}_2\text{Se}$  – MPA (Capítulo 3), foram realizados 3 planejamentos experimentais, que reuniram 58 ensaios. A partir da avaliação da intensidade de fotoluminescência e da largura à meia altura dos espectros de emissão destas 58 amostras, foi possível encontrar um conjunto de condições experimentais que permitiu obter PQs hidrofílicos de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  - MPA com luminescência NIR aprimorada. As caracterizações estrutural e morfológica confirmaram a estrutura cristalina favorecida, as dimensões nanométricas e o formato esférico esperado para estes nanocristais. Além disso, foi possível observar evidências da interação entre o agente estabilizante e a superfície do PQ, que lhes garante a estabilidade coloidal observada nestas suspensões. Aplicações analíticas destes sistemas realizadas em colaboração confirmaram seu potencial na detecção de poluentes em amostras aquosas, através da técnica de espectroscopia SEIRA.

Para os PQ de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  – MSA, a quantidade de resultados obtidos foi menor, ainda assim, a princípio, pôde ser observada a obtenção bem-sucedida destes PQs seguindo a mesma metodologia utilizada para obtenção dos PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$ . A partir dos dados do planejamento experimental efetivamente concluído, contabilizando 28 ensaios, foi possível observar tendências a respeito das melhores condições experimentais que, mais tarde, puderam ser confirmadas através de dois estudos univariados. Ao final desta etapa, PQs hidrofílicos de  $\text{Ag}_2\text{Te}$  – MSA com luminescência NIR foram obtidos. É possível que resultados ainda melhores residam em condições experimentais ainda não testadas, e por isso a continuidade desta investigação se faz importante.

Finalmente, a conjugação dos melhores PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  a três diferentes complexos de gadolínio permitiu obter materiais óptico – paramagnéticos, onde os dados experimentais coletados confirmaram a conjugação. Estes dados também

indicaram que a conjugação destas espécies conduz a um aumento da capacidade de intensificar o contraste em IRM quando se compara ao complexo original. Estes achados evidenciam a potencialidade deste material como sonda bimodal para diagnóstico por imagem de fluorescência e por ressonância magnética. Este último estudo é ainda mais recente e de menor duração que os dois outros, por isso sua continuidade pode conduzir a resultados ainda melhores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NOBELPRIZE.ORG. The official website of the Nobel Prize. **NobelPrize.org**, 04 out 2023. Disponível em: <<https://www.nobelprize.org/uploads/2023/10/advanced-chemistryprize2023.pdf>>. Acesso em: Jan 2024.
2. EFROS, A. L.; BRUS, L. E. Nanocrystal Quantum Dots: From Discovery to Modern Development. **ACS Nano**, 15, 2021. 6192-6210.
3. RESHMA, V. G.; MOHANAN, P. V. Quantum dots: Applications and safety consequences. **Journal of Luminescence**, 205, Jan 2019. 287-298.
4. REZENDE, S. M. **Materiais e dispositivos eletrônicos**. 2ª. ed. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2004. ISBN 547.
5. YU, P. Y.; CARDONA, M. **Fundamentals of Semiconductors: Physics and Materials Properties**. 4. ed. [S.l.]: Springer-Verlag Berlin Heidelberg , 2010. 793 p.
6. KOOLE, R.; GROENEVELD, E.; VANMAEKELBERGH, D. Size Effects on Semiconductor Nanoparticles. In: DONEGÁ, C. D. M. **Nanoparticles: Workhorses of Nanoscience**. Utrecht: Springer, 2014. Cap. 2, p. 13-51.
7. BRUS, L. E. Electron–electron and electronhole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. **The Journal of Chemical Physics**, 80, p. 4403-3309, 1984.
8. TAKAGAHARA, T.; TAKEDA, K. Theory of the quantum confinement effect on excitons in quantum dots of indirect-gap materials. **Physical Review B**, **pág. 15578-15581**, Toquio, 46, n. 23, 1992.
9. ALIVISATOS, A. P. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. **Science**, 271, p. 933–937, 1996.
10. ÉFROS, L. . A.; ÉFROS, A. L. Interband absorption of light in a semiconductor sphere. **Soviet Physics Semiconductors-Ussrp**, v. 16, p. 772-775, 1982.
11. ARQUER, F. P. G. D. et al. Semiconductor quantum dots: Technological progress and future challenges. **Science**, 373, 06 Ago 2021. 1-14.
12. XU, Q. et al. Quantum dots in cell imaging and their safety issues. **Journal of Materials Chemistry B**, 9, 2021. 5765–5779.

13. LI, S. et al. Recent Advances of Ferro-, Piezo-, and Pyroelectric Nanomaterials for Catalytic Applications. **ACS Applied Nano Materials**, v. 3, p. 1063-1079, 2020.
14. JIN, H. et al. Emerging Two-Dimensional Nanomaterials for Electrocatalysis. **Chemical Reviews**, v. 118, p. 6337-6408, 2018.
15. MICHALET, X. et al. Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics. **Science**, v. 307, p. 538-544, 2005.
16. GAPONIK, N. Assemblies of thiol-capped nanocrystals as building blocks for use in nanotechnology. **Journal of Materials Chemistry**, 20, 2010. 5174-5181.
17. MA, Y.; ZHANG, Y.; YU, W. W. Near infrared emitting quantum dots: synthesis, luminescence properties and applications. **Journal of Materials Chemistry C**, 7, 2019. 13662-13679.
18. NOBELPRIZE.ORG. The official website of the Nobel Prize. **NobelPrize.org**, 2014. Disponível em: <<https://www.nobelprize.org/prizes/physics/2014/press-release/>>. Acesso em: 20 outubro 2020.
19. OWEN, J.; BRUS, L. Chemical Synthesis and Luminescence Applications of Colloidal Semiconductor Quantum Dots. **Journal of the American Chemical Society**, v. 139, n. 32, p. 10939–10943, 2017.
20. BRUCHEZ-JR., M. et al. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. **Science**, 281, Sep 1998. 2019-2016.
21. CHAN, W. C. W.; NIE, S. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. **Science**, 281, Sep 1998. 2016-2018.
22. JIAO, M. et al. Recent advancements in biocompatible inorganic nanoparticles towards biomedical applications. **Biomaterials Science**, 6, 2018. 726–745.
23. BADİLLİ, U. et al. Role of quantum dots in pharmaceutical and biomedical analysis, and its application in drug delivery. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 131, Oct 2020. 116013.
24. CHEN, Y.; WANG, S.; ZHANG, F. Near-infrared luminescence high-contrast in vivo biomedical imaging. **Nature Reviews Bioengineering**, 2023. v. 1, p. 60–78.
25. HAN, X. et al. Applications of nanoparticles in biomedical imaging. **Nanoscale**, 11, 2019. 799-819.

26. ZHAO, J.; ZHONG, D.; ZHOU, S. NIR-I-to-NIR-II fluorescent nanomaterials for biomedical imaging and cancer therapy. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, p. 349-365, 2018.
27. CHANG, Z. et al. Near-infrared dyes, nanomaterials and proteins. **Chinese Chemical Letters**, 30, october 2019. 1856-1882.
28. NIEVES, L. M. et al. Silver chalcogenide nanoparticles: a review of their biomedical applications. **Nanoscale**, 13, 2021. 19306–19323.
29. MING, L. et al. A brighter era for silver chalcogenide semiconductor nanocrystals. **Optical Materials**, 141, 2023. 1-11.
30. FUJIKANE, M. et al. Electrical properties of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Ag<sub>2</sub>Te. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 387, p. 297-299, 2005.
31. LIU, Y.-W. et al. Near-Infrared Absorption of Monodisperse Silver Telluride (Ag<sub>2</sub>Te) Nanocrystals and Photoconductive Response of Their Self-Assembled Superlattices. **Chemistry of Materials**, v. 23, p. 4657–4659, 2011.
32. YANG, S. et al. Bendable thermoelectric generators composed of p- and n-type silver chalcogenide nanoparticle thin films. **Nano Energy**, v. 49, p. 333-337, 2018.
33. XU, R. et al. Large magnetoresistance in non-magnetic silver chalcogenides. **Nature**, v. 390, p. 57-60, 1997.
34. WANG, J. et al. Tetragonal–Orthorhombic–Cubic Phase Transitions in Ag<sub>2</sub>Se Nanocrystals. **Chemistry of Materials**, v. 26, p. 5647-5653, 2014.
35. RAMEZANLOO, B.; MOLAEI, M.; KARIMIPOUR, M. Red emissive Ag<sub>2</sub>Se quantum dots (QDs) with room-temperature synthesis of both orthorhombic and superionic cubic phases via stirring approach. **Journal of Luminescence**, 204, Dec 2018. 419-423.
36. OUYANG, T.; ZHANG, X.; HU, M. Thermal conductivity of ordered-disordered material: a case study of superionic Ag<sub>2</sub>Te. **Nanotechnology**, v. 26, n. 2, p. 1-8, 2014.
37. BOOLCHAND, P.; BRESSER, W. Mobile silver ions and glass formation in solid electrolytes. **Nature**, v. 410, p. 1070–1073, 2001.
38. LESNYAK, V.; GAPONIK, N.; EYCHMÜLLER, A. Colloidal semiconductor nanocrystals: the aqueous approach. **Chemical Society Reviews**, v. 42, p. 2905-2929, 2013.
39. DUAN, H.; WANG, D.; LI, Y. Green chemistry for nanoparticle synthesis. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 5778-5792, 2015.



40. KUDERA, S. et al. Growth mechanism, shape and composition control of semiconductor nanocrystals. In: ROGACH, A. L. **Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots: Synthesis, Assembly, Spectroscopy and Applications**. [S.l.]: SpringerWienNewYork, 2008. Cap. 1, p. 1-34.
41. THANH, N. T. K.; MACLEAN, N.; MAHIDDINE, S. Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution. **Chemical Reviews**, 114, 2014. 7610–7630.
42. KULKARNI, S. K. **Nanotechnology: Principles and Practices**. 3<sup>a</sup>. ed. Pune, India: Capital Publishing Company 2015, 2015.
43. DONEGÁ, C. D. M. The Nanoscience Paradigm: "Size Matters!" In: DONEGÁ, C. D. M. **Nanoparticles: Workhorses of Nanoscience**. Utrecht: Springer, 2014. Cap. 1, p. 1-12.
44. REISS, P. Synthesis of semiconductor nanocrystals in organic solvents. In: ROGACH, A. L. **Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots: Synthesis, Assembly, Spectroscopy and Applications**. [S.l.]: SpringerWienNewYork, 2008. Cap. 2, p. 35-72.
45. YAREMA, M. et al. Infrared Emitting and Photoconducting Colloidal Silver Chalcogenide Nanocrystal Quantum Dots from a Silylamide-Promoted Synthesis. **ACS Nano**, v. 5, n. 5, p. 3758-3765, 2011.
46. SAHU, A. et al. Facile Synthesis of Silver Chalcogenide ( $\text{Ag}_2\text{E}$ ; E = Se, S, Te) Semiconductor Nanocrystals. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 17, p. 6509–6512, 2011.
47. LESNICHAYA, M. V. et al. Synthesis of Water-Soluble Silver Selenide Quantum Dots Luminescing within the Transparency Window of Biological Tissues. **Russian Journal of General Chemistry**, 88, mar 2018. 284–287.
48. ZHANG, Z. et al. Highly efficient  $\text{Ag}_2\text{Se}$  quantum dots blocking layer for solid-state dye-sensitized solar cells: Size effects on device performances. **Materials Today Energy**, 7, 2018. 27-36.
49. LEE, W.-Y. et al. High-Detectivity Flexible Near-Infrared Photodetector Based on Chalcogenide  $\text{Ag}_2\text{Se}$  Nanoparticles. **Advanced Optical Materials**, 7, aug 2019. 1-7.
50. YIN, X. et al. Integration of fluorescence/photoacoustic imaging and targeted chemo/photothermal therapy with  $\text{Ag}_2\text{Se}$ @BSA-RGD nanodots. **New Journal of Chemistry**, 44, fev 2020. 4850-4857.
51. DONG, L. et al. Ultrasmall  $\text{Ag}_2\text{Te}$  Quantum Dots with Rapid Clearance for Amplified Computed Tomography Imaging and Augmented Photonic Tumor Hyperthermia. **Applied Materials Interfaces**, 12, 2020. 42558-42566.

52. VIEGAS, I. M. A. et al. Synthesis of hydrophilic Ag<sub>2</sub>Se quantum dots optically optimized by multivariate strategies: an easy one-pot approach. **New journal of chemistry**, 2022. v. 46, p. 21864-21874.
53. GREVTSEVA, I. et al. Temperature effects and mechanism of IR luminescence of colloidal Ag<sub>2</sub>Se QDs passivated with 2-mercaptopropionic acid. **Journal of Luminescence**, 257, may 2023. 1-7.
54. EBRAHIMI-NAJAFABADI, H.; LEARDI, R.; JALALI-HERAVI, M. Experimental Design in Analytical Chemistry—Part I: Theory. **Journal of AOAC International**, 97, 2014. 3-11.
55. BRERETON, R. G. et al. Chemometrics in analytical chemistry—part I: history, experimental design and data analysis tools. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2017. v. 409, p. 5891-5899.
56. NETO, B. D. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa edesenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas-SP: Editora da Unicamp, 2001. 412p p.
57. WEISSMAN, S. A.; ANDERSON, N. G. Design of Experiments (DoE) and Process Optimization. A Review of Recent Publications. **Organic Process Research & Development**, v. 19, p. 1605–1633, 2015.
58. TIAN, R. et al. Ultrasmall Quantum Dots with Broad-Spectrum Metal Doping Ability for Trimodal Molecular Imaging. **Advanced Functional Materials**, 29, Apr 2019.
59. ALBUQUERQUE, G. M. et al. Quantum Dots and Gd<sup>3+</sup> Chelates: Advances and Challenges Towards Bimodal Nanoprobes for Magnetic Resonance and Optical Imaging. **Topics in Current Chemistry**, 379, Feb 2021. 12-35.
60. ZHANG, L. et al. The evolution of gadolinium based contrast agents: from single-modality to multi-modality. **Nanoscale**, v. 8, p. 10491–10510, 2016.
61. KIM, J. S. et al. Recent advances in Gd-chelate based bimodal optical/MRI contrast agents. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 1791-1806, 2015.
62. LOUIE, A. Multimodality imaging probes: design and challenges. **Chemical reviews**, v. 110, p. 3146-3195, 2010.
63. PEREIRA, G. A. L.; GERALDES, C. F. G. C. Design and Optimization of Gadolinium Based Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. **Annals of Magnetic Resonance**, v. 6, p. 1 – 33., 2007.
64. LOHRKE, J. et al. 25 Years of Contrast-Enhanced MRI: Developments, Current Challenges and Future Perspectives. **Advances in therapy**, v. 33, p. 1-28, 2016.

65. RAYMOND, K. N.; PIERRE, V. C. Next Generation, High Relaxivity Gadolinium MRI Agents. **American Chemical Society**, v.16, p. 3-8, 2004.
66. BHARDWAJ, K. et al. Tunable NIR-II emitting silver chalcogenide quantum dots using thio/selenourea precursors: preparation of an MRI/NIR-II multimodal imaging agent. **Dalton Transactions**, 49, 2020. 15425–15432.
67. HENDERSON, G. R. Nuclear magnetic resonance imaging: a review. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 76, p. 206–212, 1983.
68. CARAVAN, P. Strategies for increasing the sensitivity of gadolinium based MRI contrast. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 512–523, 2006.
69. PEREIRA, G. A. L. **Paramagnetic Systems as Potencial MRI Contrast Agents: Evaluation of Physical-Chemical Properties** (Tese Doutorado). Coimbra: Universidade de Coimbra , 2008.
70. EISBERG, R. M.; RESNICK, R. **Física Quântica: Átomos, Moléculas, Sólidos e Partículas**. [S.l.]: Campus, 1979.
71. FEYNMAN, R. P.; LEIGHTON, R. B.; SANDS, M. **Feynman: Lições de Física**. Vol. II. Porto Alegre: Bookman, 2008.
72. RÜMENAPP, C.; GLEICH, B.; HAASE, A. Magnetic Nanoparticles in Magnetic Resonance Imaging and Diagnostics. **Pharmaceutical Research**, 29, May 2012. 1165–1179.
73. PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia: Tradução da 4a edição norte-americana**. Bellingham, Washington: Cengage Learning, 2010.
74. ZHOU, Z. et al. Structure–Relaxivity Relationships of Magnetic Nanoparticles for Magnetic Resonance Imaging. **Advanced Materials**, 31, Jan 2019. 32 pp.
75. WAHSNER, J. et al. Chemistry of MRI Contrast Agents: Current Challenges and New Frontiers. **Chemistry Reviews**, 119, 23 Jan 2019. 957–1057.
76. ZHANG, J. et al. Design and synthesis of chiral DOTA-based MRI contrast agents with remarkable relaxivities. **Communications Chemistry**, 6, 16 Nov 2023. 10pp.
77. CARAVAN, P. et al. Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications. **Chemical reviews**, v. 99, p. 2293-2352, 1999.
78. SHERRY, A. D.; CARAVAN, P.; LENKINSKI, R. E. Primer on gadolinium chemistry. **Journal of magnetic resonance imaging: JMRI**, v. 30, p. 1240-1248, 2009.

79. CLOUGH, T. J. et al. Ligand design strategies to increase stability of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents. **Nature Communications**, 10, 29 Mar 2019. 14 pp.
80. BLOEMBERGEN, N. J. Proton Relaxation Times in Paramagnetic Solutions. **The Journal of Chemical Physics**, v. 27, p. 572-573, 1957.
81. BLOEMBERGEN, N.; MORGAN, L. O. Proton Relaxation Times in Paramagnetic Solutions. Effects of Electron Spin Relaxation. **The Journal of Chemical Physics**, v. 34, p. 842 – 842, 1961.
82. SOLOMON, I. Relaxation processes in a system of two spins. **Physical Review**, v. 99, p. 559-565, 1995.
83. HELM, L.; MERBACH, A.; TÓTH, E. **The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging**. 2<sup>a</sup>. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons, Ltd., 2013.
84. FREED, J. H. Dynamic effects of pair correlation functions on spin relaxation by translational diffusion in liquids. II. Finite jumps and independent T1 processes. **The Journal of Chemical Physics**, v. 48, p. 4034-4037, 1978.
85. BIRKA, M. et al. Diagnosis of Nephrogenic Systemic Fibrosis by means of Elemental Bioimaging and Speciation Analysis. **American Chemical Society**, v. 87, p. 3321-3328, 2015.
86. POLASEK, M.; CARAVAN, P. Is Macrocycle a Synonym for Kinetic Inertness in Gd(III) Complexes? Effect of Coordinating and Noncoordinating Substituents on Inertness and Relaxivity of Gd(III) Chelates with DO3A-like Ligands. **Inorganic Chemistry**, 52, Mar 2013. 4086-4096.
87. LAURENT, S. et al. How to measure the transmetallation of a gadolinium complex. **Contrast Media & Molecular Imaging**, v. 5, p. 305-308, 2010.
88. BRASIL. Consultas - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2024. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/>>. Acesso em: 18 jun. 2024.
89. LAUFFER, R. B. Paramagnetic Metal Complexes as Water Proton Relaxation Agents for NMR. **Chemical Reviews**, v. 87, p. 901-927, 1987.
90. DEBROYE, E.; PARAC-VOGT, T. N. Towards polymetallic lanthanide complexes as dual contrast agents for magnetic resonance and optical imaging. **Chemical Society Reviews**, v. 43, p. 8178-8192, 2014.
91. CAO, Y. et al. Gadolinium-based nanoscale MRI contrast agents for tumor imaging. **Journal of materials chemistry. B, Materials for biology and medicine**, v. 5, p. 3431-3461, 2017.

92. LIPARI, G.; SZABO, A. Model-Free Approach to the Interpretation of Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Macromolecules. 1. Theory and Range of Validity. **Journal of the American Chemical Society**, 104, 1982.
93. ALBUQUERQUE, G. M. D. **Desenvolvimento de agentes de contraste bimodais para imagem óptica e por ressonância magnética baseados em pontos quânticos de CdTe e quelatos de Gd (III)**. Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química. Recife, p. 127. 2020.
94. COIADO, S. D. **Nanossondas Bimodais baseadas em pontos quânticos e complexos de Gd(III) para imagem óptica e por ressonância magnética**. Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química. Recife, p. 56. 2021.
95. YANG, Y. et al. CuInS<sub>2</sub>/ZnS Quantum Dots Conjugating Gd(III) Chelates for Near-Infrared Fluorescence and Magnetic Resonance Bimodal Imaging. **Applied Materials & Interfaces**, 9, 2017. 23450–23457.
96. DING, C. et al. Synthesis and Bioapplications of Ag<sub>2</sub>S Quantum Dots with Near-Infrared Fluorescence. **Advanced Materials**, 33, n. 32, 2021.
97. LLANO-SUÁREZ, P. et al. Near-infrared fluorescent nanoprobes for highly sensitive cyanide quantification in natural waters. **Talanta**, 192, Jan 2019. 463-470.
98. JIANG, P. et al. Biocompatible Ag<sub>2</sub>S quantum dots for highly sensitive detection of copper ions. **Analyst**, 144, feb 2019. 2604-2610.
99. NASIRI, S.; ALIZADEH, N. Synthesis and adsorption behavior of hydroxypropyl-β-cyclodextrin–polyurethane magnetic nanoconjugates for crystal and methyl violet dyes removal from aqueous solutions. **RSC Advances**, 9, 2019. 24603-24616.
100. WANG, H. et al. Efficient detection for Nitrofurazone based on novel Ag<sub>2</sub>S QDs/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> fluorescent probe. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Mar 2022.
101. KAILASA, S. K.; WU, H.-F. Surface modified silver selenide nanoparticles as extracting probes to improve peptide/protein detection via nanoparticles-based liquid phase microextraction coupled with MALDI mass spectrometry. **Talanta**, 83, Dez 2010. 527-534.
102. PEREIRA, C. F. et al. Surface-enhanced infrared absorption spectroscopy using silver selenide quantum dots. **Journal of Materials Chemistry C**, 8, 2020. 10448-10455.
103. BUZ, P. T. et al. Development of near-infrared region luminescent N-acetyl-L-cysteine-coated Ag<sub>2</sub>S quantum dots with differential therapeutic effect. **NANOMEDICINE**, 14, 2019. 969-987.

104. LU, F. et al. Aqueous synthesis of PEGylated Ag<sub>2</sub>S quantum dots and their in vivo tumor targeting behavior. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 529, 2020. 930-935.
105. PURUSHOTHAMANA, B.; SONG, J. M. Ag<sub>2</sub>S quantum dot theragnostics. **Biomaterials Science**, 9, 2021. 51-69.
106. VIEGAS, I. M. A.; PEREIRA, G. A. D. L.; PEREIRA, C. F. Multivariate Optimization: A Powerful Tool for the Systematic Control of Quantum Dots Properties. In: FONTES, A.; SANTOS, B. **Quantum Dots**. [S.l.]: Methods in Molecular Biology, v. 2135, p 3-36, 2020.
107. BARROS-NETO, B. D.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa edesenvolvimento na ciência e na indústria**. 2ª. ed. Campinas-SP: Editora da Unicamp, 2001. 401 p.
108. CAO, Q. et al. Crystal defect-mediated band-gap engineering: a new strategy for tuning the optical properties of Ag<sub>2</sub>Se quantum dots toward enhanced hydrogen evolution performance. **Journal of Materials Chemistry A**, 3, Aug 2015. 20051-20055.
109. TANG, H. et al. Biological Behaviors and Chemical Fates of Ag<sub>2</sub>Se Quantum Dots in Vivo: The Effect of Surface Chemistry. **Toxicology Research**, 6, 2017. 693-704.
110. PEREIRA, M. G. C. et al. Quantum Dots. In: SANCHEZ-DOMINGUEZ, M.; RODRIGUEZ-ABREU, C. **Nanocolloids - A Meeting Point for Scientists and Technologists**. 1. ed. [S.l.]: Elsevier, v. 1, 2016. Cap. 4, p. 131-158.
111. LI, Z. et al. Thermodynamic Assessment of the Ag-Se System Aided by First-Principles Calculations. **Journal of Phase Equilibria and Diffusion**, 39, 2018. 870–881.
112. BELL, R. A.; KRAMER, J. R. STRUCTURAL CHEMISTRY AND GEOCHEMISTRY OF SILVER–SULFURCOMPOUNDS: CRITICAL REVIEW. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 18, 2009. 9–22.
113. PEARSON, G. R. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, 85, 1963. 3533–3539.
114. HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **INORGANIC CHEMISTRY**. 2ª. ed. [S.l.]: Pearson Education Limited, 2005. 987 p.
115. DONG, M. et al. Synthesis of highly luminescent mercaptosuccinic acid-coated CdSe nanocrystals under atmospheric conditions. **Luminescence**, v. 8, p. 818-823, 2014.

116. ZENG, R. et al. Aqueous synthesis of type-II CdTe/CdSe core–shell quantum dots for fluorescent probe labeling tumor cells. **Nanotechnology**, 20, 2009. 095-102.
117. CALLISTER, W. D. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. 8ª. ed. [S.l.]: LTC, 2012. 844 p.
118. SAHU, A. et al. Quantum confinement in silver selenide semiconductor nanocrystals. **Chemical Communications**, 48, 2012. 5458-5460.
119. CAO, Q.; CHE, R. Synthesis of near-infrared fluorescent, elongated ring-like Ag<sub>2</sub>Se colloidal nanoassemblies. **RSC Advances**, 4, 19 Mar 2014. 16641–16646.
120. RIBEIRO, D. S. M. et al. Synthesis of distinctly thiol-capped CdTe quantum dots under microwave heating: multivariate optimization and characterization. **Journal of Materials Science**, 52, 2017. 3208–3224.
121. ALAVINIA, S. et al. Sodium alginate/diethyleneamine-triazine-sulfonamide nanocomposite for adsorptive removal of Pb(II) and methyl violet from aqueous solutions. **Materials Chemistry and Physics**, 293, Jan 2023. 15.
122. SILVA, J. J. D. et al. A facile route toward hydrophilic plasmonic copper selenide nanocrystals: new perspectives for SEIRA applications. **New J. Chem.**, 45, 2021. 15753-15760.
123. LI, Y. et al. Graphene Plasmon Enhanced Vibrational Sensing of Surface-Adsorbed Layers. **Nano letters**, 14, n. 3, 2014. 1573–1577.
124. BIBIKOVA, O. et al. Towards enhanced optical sensor performance: SEIRA and SERS with plasmonic nanostars. **Analyst**, 142, 2017. 951-958.
125. OSAWA, M. Dynamic Processes in Electrochemical Reactions Studied by Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy (SEIRAS). **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, 70, n. 12, 1997. 2861-2880.
126. VORONIN, M. V.; OSADCHII, E. G.; BRICHKINA, E. A. Thermochemical properties of silver tellurides including empressite (AgTe) and phase diagrams for Ag–Te and Ag–Te–O. **Physics and Chemistry of Minerals**, 44, 19 Abr 2017. 639–653.
127. VANÝSEK, P. Electrochemical Series. In: HAYNES, W. M. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 95. ed. Boca Road, FL: CRC Press/Taylor and Francis, 2015. p. 84.
128. YING, E. et al. Synthesis and Bio-Imaging Application of Highly Luminescent Mercaptosuccinic Acid-Coated CdTe Nanocrystals. **PLOS ONE**, v. 3, 2008.

129. SCHNEIDER, R. et al. pH and concentration dependence of the optical properties of thiol-capped CdTe nanocrystals in water and D2O. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, p. 19083-19092, 2016.
130. LENZ, G. R.; MARTELL, A. E. Metal Chelates of Mercaptosuccinic and , alfa,alfa'-Dimercaptosuccinic Acids1. **Inorganic Chemistry**, v. 4, p. 378-384, 1965.
131. BJØRKLUND, G. et al. A Review on Coordination Properties of Thiol-Containing Chelating Agents Towards Mercury, Cadmium, and Lead. **Molecules**, v. 24, p. 3247-3250, 2019.
132. CRISPONI, G. et al. Equilibrium study on Cd(II) and Zn(II) chelates of mercapto carboxylic acids. **Polyhedron**, v. 21, p. 1319-1327, 2002.
133. YANG, M. et al. Ag<sub>2</sub>Te quantum dots with compact surface coatings of multivalent polymers: Ambient one-pot aqueous synthesis and the second near-infrared bioimaging. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, p.115-120, 2015.
134. JIN, H. et al. Glycerol-regulated facile synthesis and targeted cell imaging of highly luminescent Ag<sub>2</sub>Te quantum dots with tunable near-infrared emission. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 143, n. 1, p. 118-123, 2016.
135. ALIVISATOS, P. The use of nanocrystals in biological detection. **Nature**, v. 22, p. 47–52, 2004.
136. KAIRDOLF, B. A. et al. Semiconductor Quantum Dots for Bioimaging and Biodiagnostic Applications. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 6, p. 143-162, 2013.
137. KUMAR, K. S. et al. Recent Advances in Two-Dimensional Nanomaterials for Supercapacitor Electrode Applications. **ACS Energy Letters**, v. 3, p. 482-495, 2018.
138. LYU, H. et al. Ball-Milled Carbon Nanomaterials for Energy and Environmental Applications. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, p. 9568-9585, 2017.
139. ESTUPIÑÁN-LÓPEZ, C. et al. A pH dependence study of CdTe quantum dots fluorescence quantum yields using eclipsing thermal lens spectroscopy. **Journal of Luminescence**, 174, Jun 2016. 17-21.
140. BARGE, A. et al. How to determine free Gd and free ligand in solution of Gd chelates. A technical note. **Contrast Media & Molecular Imaging**, 1, 28 Sep 2006. 184-188.



141. ALBUQUERQUE, G. M. et al. Nanoprobes based on quantum dots and Gd(III) complexes for dual optical and magnetic resonance imaging. **Materials Letters**, Sep 2024. 4.
142. TÓTH, É. et al. The role of water exchange in attaining maximum relaxivities for dendrimeric MRI contrast agents. **Chem. Eur. J.**, 1996. v. 2, p. 1607-1615.
143. PETERS, J. A. et al. Structure, dynamics and computational studies of lanthanide based contrast Agents in The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging. **Wiley**, 2013. v. , p. 209-276.
144. WERNER, E. et al. High-Relaxivity MRI Contrast Agents: Where Coordination Chemistry Meets Medical Imaging. **Angewandte Chemie International Edition**, 47, Oct 2008. 8568-8580.
145. LI, C. et al. Preoperative Detection and Intraoperative Visualization of Brain Tumors for More Precise Surgery: A New Dual-Modality MRI and NIR Nanoprobe. **Small**, 11, Sep 2015. 4517-4525.
146. MA, J.-J. et al. Gd-DTPA-coupled Ag<sub>2</sub>Se quantum dots for dualmodality magnetic resonance imaging and fluorescence imaging in the second near-infrared window. **Nanoscale**, 10, May 2018. 10699–10704.

## Apêndice I: Dados para sínteses de Ag<sub>2</sub>Se - MPA

Quadro 1: Dados do planejamento fatorial fracionado 2<sup>4-1</sup> (planejamento 1 Ag<sub>2</sub>Se - MPA)

Ensaio	Tempo de reação (1)	[Ag <sup>+</sup> ] (2)	Temperatura (3)	Ag:Se (4)	Intensidade de PL (a. u.)	FWHM (nm)
1	-1	1	1	1	12967.64	176
2	1	1	1	1	15049.893	162
3	-1	-1	1	-1	838984.418	290
4	1	-1	1	-1	1355719.47	310
5	-1	-1	-1	1	0	500
6	1	-1	-1	1	0	500
7	-1	1	-1	-1	0	500
8	1	1	-1	-1	5650.2242	171
9	-1	0	0	0	2828.09545	240
10	1	0	0	0	2003.4364	231
11	-1	1	1	1	0	500
12	1	1	1	1	0	500
13	-1	-1	1	-1	268271.605	337
14	1	-1	1	-1	268271.605	337
15	-1	1	-1	-1	235.19229	169
16	1	1	-1	-1	837.8644	201
17	-1	0	0	0	79978.3044	343
18	1	0	0	0	89549.7627	358

Equação do modelo: Intensidade de PL = -162375.25\*(2) + 178190.23\* (3) - 175528.45\* (4) + 142092.26

Quadro 2: Dados do planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> (planejamento 2 Ag<sub>2</sub>Se - MPA)

Ensaio	Tempo de reação (1)	Ag:Se (2)	MPA:Ag (3)	Intensidade de PL (a. u.)	FWHM (nm)
1	-1	-1	-1	31380.8715	163
2	1	-1	-1	47156.1969	142
3	-1	1	-1	58885.116	160
4	1	1	-1	59366.1573	139
5	-1	-1	1	8378.60781	312
6	1	-1	1	9230.3339	372
7	-1	1	1	9388.79457	287
8	1	1	1	11092.2467	275
9	-1	0	0	21505.3763	138
10	1	0	0	33022.0713	132
11	-1	-1	-1	8546.97227	170

12	1	-1	-1	30969.1568	158
13	-1	1	-1	71505.3763	146
14	1	1	-1	36078.0985	142
15	-1	-1	1	0	500
16	1	-1	1	8546.97227	270
17	-1	1	1	4981.60724	370
18	1	1	1	11438.8795	138
19	-1	0	0	9230.3339	172
20	1	0	0	12795.6989	175
21	-1	1	-1	85512.1675	166
22	1	1	-1	31692.1336	163

Equação do modelo: Intensidade de PL =  $7696.3 \cdot (2) - 17840.3 \cdot (3) - 6230.8 \cdot (1 \cdot 2) - 6353.1 \cdot (2 \cdot 3) + 6076.1 \cdot (1 \cdot 2 \cdot 3) + 24405.6$

Equação do modelo: FWHM =  $78.64 \cdot (3) + 220.33$

Quadro 3: Dados do planejamento composto central 2<sup>3</sup> (planejamento 3 Ag<sub>2</sub>Se - MPA)

Ensaio	pH (1)	Temperatura (2)	Tempo de reação (3)	Intensidade de PL (a. u.)	FWHM (nm)
1	-1	-1	-1	55301.3582	217
2	-1	-1	1	284538.745	200
3	-1	1	-1	284772.653	139
4	-1	1	1	201816.667	138
5	1	-1	-1	59447.0046	181
6	1	-1	1	44789.9968	167
7	1	1	-1	76582.2785	170
8	1	1	1	38457.5967	195
9	-1	0	0	90349.0029	177
10	1	0	0	63226.4529	173
11	0	-1	0	155036.598	176
12	0	-1	0	265126.557	155
13	0	1	0	74008.9994	165
14	0	0	-1	314920.013	136
15	0	0	1	729818.491	136
16	0	0	1	719318.796	141
17	0	0	0	91105.0291	135
18	0	0	0	216611.173	149

Equação do modelo: Intensidade de PL =  $-244782.66 \cdot (1)^2 - 140122.50 \cdot (2)^2 + 263928.18 \cdot (3)^2 + 265666.30$

Equação do modelo:  $FWHM = 26.49*(1)^2 - 11.73*(2) + 146.34$

## Apêndice II: Dados para sínteses de Ag<sub>2</sub>Te - MSA

Quadro 4: Dados de planejamento fatorial completo 2<sup>4</sup> (planejamento 1 Ag<sub>2</sub>Te - MSA)

Ensaio	pH (1)	Temperatura (2)	Tempo de reação (3)	Tempo até análise (4)	Intensidade de PL (a. u.)	FWHM (nm)
1	-1	-1	-1	-1	20647.78	388
2	1	-1	-1	-1	1852.79	197
3	-1	1	-1	-1	27418.03	370
4	1	1	-1	-1	4405.7	171
5	-1	-1	1	-1	24613.73	380
6	1	-1	1	-1	1602.84	183
7	-1	1	1	-1	28665.51	180
8	1	1	1	-1	11371.11	143
9	-1	-1	-1	1	96066.18	333
10	1	-1	-1	1	21820.34	174
11	-1	1	-1	1	179976.58	332
12	1	1	-1	1	389900.99	158
13	-1	-1	1	1	101241.22	347
14	1	-1	1	1	2878.4	140
15	-1	1	1	1	168379.24	158
16	1	1	1	1	15442.72	149
17	0	0	-1	-1	1843.41	204
18	0	0	1	-1	2668.64	194
19	0	0	-1	1	4627.68	182
20	0	0	1	1	3264.11	187
21	0	0	-1	-1	2954.88	191
22	0	0	1	-1	5158.46	177
23	0	0	-1	1	5427.77	186
24	0	0	1	1	4188.37	181
25	0	0	-1	1	11289.78	185
26	0	0	1	1	10108.5	169
27	0	0	-1	1	18222.55	164
28	0	0	1	1	17221.82	163

Equação do modelo: Intensidade de PL =  $-12358.34*(1) + 34677.29*(2) - 13916.06*(3) + 32181.06*(4) + 14443.48*(1*2) - 24092.24*(1*3) - 22986.99*(2*3) + 31784.39*(2*4) - 14887.07*(3*4) - 20550.63*(1*2*3) + 14256.09*(1*2*4) - 24279.99*(1*3*4) - 23549.10*(2*3*4) + 42259.25$

Equação do modelo:  $FWHM = -73.31*(1) - 30.06*(2) - 17.29*(3) - 11*(4) + 20.94*(1*2) + 17.06*(1*3) - 22.44*(2*3) + 23.81*(1*2*3) + 213.79$

Quadro 5: Dados de planejamento fatorial completo  $2^3$  (planejamento 2 Ag<sub>2</sub>Te - MSA)

Ensaio	Ag:Te	RSH:Ag	Tempo de agitação	Ag:Te	Intensidade de PL (a. u.)	FWHM (nm)
1	-1	-1	-1	-1		
2	-1	-1	-1	-1		
3	0	0	-1	0		
4	-1	1	-1	-1		
5	0	0	1	0		
6	1	1	1	1		
7	-1	1	1	-1		
8	1	-1	1	1		
9	1	-1	0	1		
10	1	1	0	1		
11	-1	-1	0	-1		
12	-1	-1	0	-1		
13	0	0	0	0		
14	-1	1	0	-1		
15	0	0	0	0		
16	1	1	-1	1		
17	-1	1	1	-1		
18	1	-1	-1	1		
19	1	-1	1	1		
20	1	1	-1	1		

### **Apêndice III: Resumo simplificado**

Materiais semicondutores com tamanhos próximos de um bilhão de vezes menores que um metro, chamados pontos quânticos (PQs), são capazes de emitir luz quando recebem estímulo. Essa característica tem sido explorada em diversas áreas, desde telas de televisores, placas de energia solar e em sensores. Pesquisas recentes têm explorado materiais que emitem luz numa faixa chamada infravermelho próximo (ou NIR). A luz NIR atravessa órgãos e tecidos mais profundamente. Esta maior capacidade de penetração também se aplica para amostras aquosas. Desta forma, pontos quânticos com emissão de luz NIR apresentam potencial para detecção em amostras biológicas e aquosas, podendo contribuir para detecção de poluentes e obtenção de imagens biomédicas mais precisas.

Pontos quânticos de prata, como  $\text{Ag}_2\text{S}$ ,  $\text{Ag}_2\text{Se}$  e  $\text{Ag}_2\text{Te}$  são capazes de emitir luz NIR e não contém metais tóxicos como mercúrio, cádmio e chumbo. Entretanto, PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  e  $\text{Ag}_2\text{Te}$  são menos estudados que  $\text{Ag}_2\text{S}$ , por isso, a tese de doutorado do Programa de Pós-graduação em química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) da estudante Izabel G. de Souza Sobrinha é resultado de estudos destes dois materiais. PQs de  $\text{Ag}_2\text{Se}$  e  $\text{Ag}_2\text{Te}$  foram preparados em água e através de uma metodologia simples buscando uma estratégia de obtenção mais econômica e cause menor dano ambiental. Inicialmente foram estudadas modificações na metodologia para avaliar quais condições sintéticas forneciam os melhores resultados. Então, os melhores pontos quânticos foram submetidos a testes que confirmaram seu potencial para detecção de poluentes em água e como sensores biomédicos. As profas. Giovannia A. L. Pereira e Goreti Pereira orientaram o trabalho, uma bolsa de Doutorado foi concedida à estudante pela Capes. UFPE, CNPq (Universal/CNPq-2021projeto ID do projeto: 409319/2021-0), CAPES, FACEPE (APQ-1351-1.06/22), INCTAA (CNPq-465768/2014-8; FAPESP-2014/50951-4) financiaram o projeto.