

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas

Tese de Doutorado

**Síntese Coloidal Aquosa de Pontos Quânticos Luminescentes  
Estabilizados por Quitosana e derivados: ZnS, Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.**

**Autor: Fábio Pereira Ramanery**

**Orientador: Prof. Dr. Herman Sander Mansur**

**Coorientadora: Dra. Alexandra A. P. Mansur**

**Belo Horizonte, Maio de 2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas

Fábio Pereira Ramanery

**Síntese Coloidal Aquosa de Pontos Quânticos Luminescentes  
Estabilizados por Quitosana e derivados: ZnS, Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.**

Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Metalúrgica, Materiais e  
de Minas da Universidade Federal  
de Minas Gerais

**Área de Concentração: Ciência e Eng. Materiais**

**Orientador: Prof. Dr. Herman Sander Mansur**

**Coorientadora: Dra. Alexandra A. P. Mansur**

**Belo Horizonte**

**Escola de Engenharia da UFMG**

**2016**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, primeiramente por permitir e conceder forças e luz no meu caminho para atingir os meus objetivos neste trabalho.

Mais uma vez ao meu orientador, Professor Dr. Herman Sander Mansur. Herman não é apenas um orientador, mas uma pessoa de extrema dedicação ao trabalho de seus orientados.

À Dr. Alexandra Mansur, gerente do Laboratório LASMAT, pela coorientação neste trabalho. Sua dedicação sempre esteve à frente deste trabalho.

A minha esposa Nélia, por mais este período de companheirismo, compreensão e força nos momentos de dificuldade. Sempre, sempre esteve à frente nesta luta.

Aos meus filhos João Pedro e Sarah, por acreditarem e compreenderem a minha dedicação aos estudos.

Em memória ao meu Pai João Batista Ramanery pela forma de conduzir seus filhos no caminho de responsabilidade e sempre respeitar o próximo.

A minha Mãe Daura R. P. Ramanery, dedicou sua vida a vida de seus filhos.

A todos os amigos conquistados nesta instituição.

A secretários Nelson e Cida que sempre estiveram dispostos atender da melhor forma possível os alunos da PÓS.

A CAPES, CNPq, FAPEMIG, pelo apoio financeiro ao projeto

## Sumário

|                                                                                          |              |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>LISTA DE FIGURAS.....</b>                                                             | <b>v</b>     |
| <b>LISTA DE TABELAS.....</b>                                                             | <b>xii</b>   |
| <b>LISTA DE ABREVIações.....</b>                                                         | <b>xiii</b>  |
| <b>RESUMO.....</b>                                                                       | <b>xvi</b>   |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                    | <b>xviii</b> |
| <b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO .....</b>                                                     | <b>1</b>     |
| <b>CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS.....</b>                                                       | <b>5</b>     |
| 2.1.    Objetivo Geral .....                                                             | 5            |
| 2.2.    Objetivos Específicos .....                                                      | 5            |
| <b>CAPÍTULO 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>                                          | <b>6</b>     |
| 3.1.    Nanotecnologia .....                                                             | 6            |
| 3.2.    Materiais Semicondutores .....                                                   | 9            |
| 3.2.1.    Banda Proibida.....                                                            | 9            |
| 3.2.2.    Processo direto e indireto de absorção .....                                   | 11           |
| 3.3.    Éxcitons em semicondutores.....                                                  | 13           |
| 3.4.    Confinamento Quântico.....                                                       | 17           |
| 3.6.    Pontos Quânticos de Semicondutores. ....                                         | 18           |
| 3.6.1.    Aplicações dos Pontos Quânticos .....                                          | 19           |
| 3.6.2.    Pontos Quânticos Livres de Metais Pesados .....                                | 19           |
| 3.7.    Síntese de Pontos Quânticos de Semicondutores.....                               | 21           |
| 3.7.1.    Síntese de Pontos Quânticos via Rota Coloidal Aquosa .....                     | 21           |
| 3.7.2.    Agente Estabilizante Quitosana e Carboximetilquitosana na Síntese de PQs ..... | 25           |
| 3.7.2.1.    Processo de carboximetilação da quitosana .....                              | 26           |
| 3.7.2.2.    Caracterização da Carboximetilquitosana .....                                | 30           |
| 3.8.    Síntese de PQs de ZnS.....                                                       | 35           |
| 3.9.    Síntese de PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> .....                           | 40           |

|                                                                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.10. Aplicações Ambientais e Biológicas dos PQs. ....</b>                                                        | <b>45</b> |
| <b>CAPÍTULO 4 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....</b>                                                                  | <b>49</b> |
| <b>4.1. Seleção da Quitosana; Síntese de Carboximetilquitosana e caracterização dos produtos. ....</b>               | <b>49</b> |
| 4.1.1. Seleção da Quitosana .....                                                                                    | 49        |
| 4.1.2. Síntese da Carboximetilquitosana. ....                                                                        | 49        |
| 4.1.2.1. Reagentes.....                                                                                              | 49        |
| 4.1.2.2. Procedimentos .....                                                                                         | 50        |
| 4.1.3. Caracterização dos polímeros QUI e CMC. ....                                                                  | 55        |
| 4.1.3.1. Análise dos polímeros por Titulação Potenciométrica.....                                                    | 55        |
| 4.1.3.2. Análise dos polímeros por Potencial Zeta .....                                                              | 56        |
| 4.1.3.3. Análise dos polímeros por FTIR e RMN. ....                                                                  | 56        |
| 4.1.3.4. Análise de solubilidade do Polímero por espectroscopia de UV-vis. ....                                      | 57        |
| <b>4.2. Síntese dos Pontos Quânticos. ....</b>                                                                       | <b>57</b> |
| 4.2.1. Preparo das Soluções do Polímero. ....                                                                        | 58        |
| 4.2.1.1. Dispersão de QUI 1% (m/v) em solução aquosa de ácido acético 2%v/v. ....                                    | 58        |
| 4.2.1.2. Dispersão de CMC 1% (m/v) em solução aquosa. ....                                                           | 58        |
| 4.2.2. Preparo das Soluções do Precursoras.....                                                                      | 59        |
| 4.2.2.1. Reagentes.....                                                                                              | 59        |
| 4.2.2.2. Soluções Precursoras .....                                                                                  | 59        |
| 4.2.3. Síntese dos Pontos Quânticos de ZnS.....                                                                      | 60        |
| 4.2.3.1. Síntese de PQs de ZnS – Efeito do polímero e variação do pH .....                                           | 61        |
| 4.2.4. Síntese dos Pontos Quânticos de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> .....                                          | 63        |
| 4.2.4.1. Síntese de PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> – Efeito do polímero, pH e fração molar dos precursores. . | 63        |
| <b>4.3. Caracterização dos Pontos Quânticos. ....</b>                                                                | <b>68</b> |
| 4.3.1. Espectroscopia de UV-vis.....                                                                                 | 68        |
| 4.3.2. Fotoluminescência .....                                                                                       | 68        |
| 4.3.3. Difração de raios X (DRX) .....                                                                               | 68        |
| 4.3.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) .....                                                             | 69        |
| 4.3.5. Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) .....                                      | 69        |
| 4.3.6. Potencial Zeta (Z) .....                                                                                      | 70        |
| <b>4.4. Aplicações dos Pontos Quânticos. ....</b>                                                                    | <b>70</b> |
| 4.4.1. Aplicação ambiental dos PQs de ZnS.....                                                                       | 70        |
| 4.4.2. Aplicação Biológica dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> .....                                           | 71        |
| 4.4.2.1. Cultura de células.....                                                                                     | 71        |

|          |                                                                                                              |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.4.2.2. | Ensaio de toxicidade por MTT (brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) brometo de tetrazólio 2,5-difenil)..... | 72 |
| 4.4.2.3. | Ensaio de toxicidade celular LIVE/DEAD® .....                                                                | 73 |
| 4.4.2.4. | Ensaio do Estudo da internalização dos nanoconjugados de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> /quitosana.....      | 73 |

## **CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES..... 75**

### **5.1. Caracterização do polímero quitosana. ....75**

|        |                                                   |    |
|--------|---------------------------------------------------|----|
| 5.1.1. | Análise da QUI por FTIR .....                     | 75 |
| 5.1.2. | Análise da QUI por RMN <sup>1</sup> H .....       | 78 |
| 5.1.3. | Análise da Titulação Potenciométrica da QUI. .... | 78 |
| 5.1.4. | Análise do Potencial Zeta (Z) da QUI. ....        | 80 |

### **5.2. Caracterização do polímero carboximetilquitosana .....81**

|        |                                                 |    |
|--------|-------------------------------------------------|----|
| 5.2.1. | Análise de FTIR da CMC .....                    | 81 |
| 5.2.2. | Análise de RMN <sup>1</sup> H.....              | 83 |
| 5.2.3. | Análise de Titulação Potenciométrica .....      | 84 |
| 5.2.4. | Análise da Solubilidade através de UV-vis ..... | 85 |

### **5.3. Caracterização dos Pontos Quânticos de ZnS .....86**

|          |                                                                             |     |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.3.1.   | Pontos Quânticos de ZnS estabilizados por Quitosana (QUI) .....             | 86  |
| 5.3.1.1. | Espectroscopia de UV-vis dos PQs de ZnS_QUI .....                           | 86  |
| 5.3.1.2. | Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de ZnS_QUI .....              | 89  |
| 5.3.1.3. | Análise de fotoluminescência dos PQs de ZnS_QUI.....                        | 92  |
| 5.3.1.4. | Análise de DRX dos PQs de ZnS_QUI .....                                     | 94  |
| 5.3.1.5. | Análise de Espectroscopia de FTIR dos PQs de ZnS_QUI .....                  | 95  |
| 5.3.2.   | Pontos Quânticos de ZnS estabilizados por carboximetilquitosana (CMC) ..... | 100 |
| 5.3.2.1. | Espectroscopia de UV-vis e PL dos PQs de ZnS_CMC.....                       | 100 |
| 5.3.2.2. | Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de ZnS_CMC.....               | 102 |
| 5.3.2.3. | Análise de Espectroscopia no infravermelho dos PQs de ZnS_CMC. ....         | 105 |
| 5.3.2.4. | Potencial Zeta dos PQs de ZnS_CMC. ....                                     | 107 |

### **5.4. Caracterização dos Pontos Quânticos de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>. .... 109**

|          |                                                                                                                  |     |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.4.1.   | Pontos Quânticos de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> estabilizados por Quitosana (QUI) .....                       | 109 |
| 5.4.1.1. | Espectroscopia de UV-vis dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> _QUI.....                                     | 109 |
| 5.4.1.2. | Análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> estabilizados por QUI | 112 |
| 5.4.1.3. | Análise de Potencial Zeta e DLS dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> estabilizados por QUI .....            | 120 |
| 5.4.1.4. | Análise de Fotoluminescência dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> estabilizados por QUI .....               | 122 |
| 5.4.2.   | Pontos Quânticos de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> estabilizados por Carboximetilquitosana (CMC) .....           | 123 |
| 5.4.2.1. | Espectroscopia de UV-vis dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> _CMC .....                                    | 123 |

|                                                                  |                                                                                               |            |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 5.4.2.2.                                                         | Análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ _CMC..... | 127        |
| <b>5.5.</b>                                                      | <b>Aplicações dos PQs de ZnS e PQs de <math>\text{Bi}_2\text{S}_3</math>.</b> .....           | <b>146</b> |
| 5.5.1.                                                           | Aplicações Ambientais de Pontos Quânticos de ZnS.....                                         | 146        |
| 5.5.1.1.                                                         | Análise da fotodegradação do corante MB por espectroscopia de UV-vis.....                     | 146        |
| 5.5.2.                                                           | Aplicações Biológicas dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ .....                                | 152        |
| 5.5.2.1.                                                         | Ensaio de toxicidade por MTT.....                                                             | 152        |
| 5.5.1.2.                                                         | Ensaio de toxicidade celular LIVE/DEAD .....                                                  | 154        |
| 5.5.1.3.                                                         | Estudo da internalização dos nanoconjugados de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ /quitosana. ....       | 157        |
| <b><i>CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES</i></b> .....                      |                                                                                               | <b>159</b> |
| <b><i>CAPÍTULO 7 - CONTRIBUIÇÕES PARA A LITERATURA</i></b> ..... |                                                                                               | <b>161</b> |
| 7.1.                                                             | Artigos Publicação em Periódicos.....                                                         | 161        |
| 7.2.                                                             | Trabalhos Completos publicados em Anais de Congressos nacionais .....                         | 162        |
| 7.3.                                                             | Apresentações de Trabalhos em congressos Internacionais e Nacionais .....                     | 162        |
| <b><i>CAPÍTULO 8 - SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS</i></b> .....  |                                                                                               | <b>164</b> |
| <b><i>REFERÊNCIAS</i></b> .....                                  |                                                                                               | <b>165</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Figura 3.1 - Esquema da evolução da ciência dos materiais (com base nos estudos da Bachmann/Horber).....</i>                                                                                             | <i>6</i>  |
| <i>Figura 3.2 - O cálice de Lycurgus no acervo do British Museum .....</i>                                                                                                                                  | <i>8</i>  |
| <i>Figura 3.3 - Distribuição do mercado global da Nanotecnologia.....</i>                                                                                                                                   | <i>9</i>  |
| <i>Figura 3.4 – Concentração de elétrons em metais, semimetais e semicondutores. ....</i>                                                                                                                   | <i>10</i> |
| <i>Figura 3.5 – Diagrama de bandas de um semicondutor intrínseco.....</i>                                                                                                                                   | <i>11</i> |
| <i>Figura 3.6 – (a) Processo direto de absorção (gap direto) e (b) processo indireto de absorção (gap indireto). ....</i>                                                                                   | <i>12</i> |
| <i>Figura 3. 7– Representação esquemática da formação de um éxciton.....</i>                                                                                                                                | <i>13</i> |
| <i>Figura 3.8 – Transições eletrônicas em semicondutores para materiais com gap: (a) diretos, (b) e gap indiretos .....</i>                                                                                 | <i>14</i> |
| <i>Figura 3.9 – Redução do tamanho de partículas semicondutoras dentro do regime de confinamento quântico .....</i>                                                                                         | <i>15</i> |
| <i>Figura 3.10– Evolução dos estados eletrônicos passando de um átomo para um semicondutor .....</i>                                                                                                        | <i>16</i> |
| <i>Figura 3-11– Bandas de condução e Valência para (a) nanopartícula de semicondutor CdS (b) ponto quântico e (c) Estrutura NC.....</i>                                                                     | <i>16</i> |
| <i>Figura 3.12– Representação do diagrama de energia para os diferentes regimes de confinamento devido ao efeito de tamanho .....</i>                                                                       | <i>17</i> |
| <i>Figura 3-13– Estruturas cristalinas (a) ZnS - Cúbica esfalerita, (b) HC ou Wurtzita e (c) Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Ortorrômica (111). ....</i>                                                        | <i>18</i> |
| <i>Figura 3-14– Diagrama Esquemático de um experimento espectrofotométrico .....</i>                                                                                                                        | <i>20</i> |
| <i>Figura 3.15– Esquema de amostras de PQ produzidas por dispersões de PQ com diferentes cores de emissão. ....</i>                                                                                         | <i>25</i> |
| <i>Figura 3.16– Representação esquemática da estrutura primária quitosana: (a) grau desacetilação 100%, (b) grau de desacetilação maior ou igual a 60%, (c) grau médio de acetilação do copolímero.....</i> | <i>26</i> |
| <i>Figura 3.17– Representação da estrutura primária da N,O-carboximetilquitosana (N,O-CMC).....</i>                                                                                                         | <i>28</i> |
| <i>Figura 3.18– Estruturas químicas da Carboximetilquitosana em diferentes possibilidades de substituição. ....</i>                                                                                         | <i>29</i> |

|                                                                                                                                                                                                                   |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Figura 3.19– Representação esquemática da substituição da quitosana em O-carboximetilquitosana .....</i>                                                                                                       | <i>30</i> |
| <i>Figura 3.20– Representação da estrutura da Quitina, Quitosana e Carboximetilquitosana e processos de desacetilação e carboximetilação na obtenção quitosana e carboximetilquitosana. ....</i>                  | <i>34</i> |
| <i>Figura 3.21– Espectros de UV-vis de (a) PQs de ZnS, (b) PQs de Mn-ZnS, (c) PQs de Cd-ZnS e (d) Cd-Mn-ZnS.....</i>                                                                                              | <i>36</i> |
| <i>Figura 3.22– Espectros de FTIR dos PQs de ZnS, ZnSe e CdSe. ....</i>                                                                                                                                           | <i>37</i> |
| <i>Figura 3.23– Espectros UV-vis e PL dos PQs de ZnS, ZnSe e CdSe. ....</i>                                                                                                                                       | <i>37</i> |
| <i>Figura 3.24– Curvas da Relação TAUC de PQs de ZnS. ....</i>                                                                                                                                                    | <i>39</i> |
| <i>Figura 3.25 – Espectro de Uv-vis e derivada dos PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>. ....</i>                                                                                                                   | <i>42</i> |
| <i>Figura 3.26 - MET de nanopartículas de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> preparadas por precipitação em substrato de nanocristais de TiO<sub>2</sub>.....</i>                                                        | <i>42</i> |
| <i>Figura 3.27 – Imagem típica de SEM (a, d) Mapeamento químico elementar, (e) EDS, (f) Imagens de TEM e (g) HRTEM de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/BiOCl.....</i>                                                  | <i>45</i> |
| <i>Figura 4.1 - Fluxograma simplificado do processo de modificação da QUI: (A) Formação do sal Na-O-CM_Quitosana e (B) Neutralização e purificação do sal de Na_CMC.....</i>                                      | <i>50</i> |
| <i>Figura 4.2 - Fluxograma detalhado da síntese de modificação da QUI em Na-O-CMC .....</i>                                                                                                                       | <i>52</i> |
| <i>Figura 4.3 - Fluxograma do processo de remoção de resíduos Na-CMC. ....</i>                                                                                                                                    | <i>53</i> |
| <i>Figura 4.4 - Fluxograma do processo de Neutralização e purificação do sal de Na-CMC (Na-O-CM-quitosana).....</i>                                                                                               | <i>54</i> |
| <i>Figura 4.5 - Fluxograma Geral da Síntese, caracterizações e a Aplicações dos PQs de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.....</i>                                                                                 | <i>58</i> |
| <i>Figura 4.6 - Fluxogramas das etapas do desenvolvimento do trabalho, com evidência das Etapas, Caracterizações da Síntese de PQs de ZnS na fração molar de 2:1. .</i>                                           | <i>61</i> |
| <i>Figura 4-7 - Fluxograma: (a) Preparo das soluções precursoras e (b) Processo de síntese dos PQs de ZnS. Fonte: .....</i>                                                                                       | <i>62</i> |
| <i>Figura 4.8 - Fluxogramas realizadas no desenvolvimento do trabalho, com evidência das Etapas, Caracterizações e Publicações referente ao capítulo III: Síntese de PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>. ....</i> | <i>64</i> |
| <i>Figura 4.9 - Fluxograma (a) Preparo das soluções precursoras e (b) Processo de síntese dos PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_QUI e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_CMC. ....</i>                                  | <i>67</i> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Figura 5.1 - Espectro de FTIR Quitosana em pH: (a) 4,0, Detalhe: Região de vibração: 1750 to 1400 cm<sup>-1</sup>. (Detalhe) estrutura da quitosana. (MANSUR, COSTA, et al., 2009; COSTA-JÚNIOR, BARBOSA-STANCIOLI, et al., 2009; SANTOS, MANSUR e MANSUR, 2013) .....</i> | <i>76</i> |
| <i>Figura 5.2 - Espectro de FTIR Quitosana em pH: (a) 4,0, (b) 5,0 e (c) 6,0 .....</i>                                                                                                                                                                                        | <i>77</i> |
| <i>Figura 5.3 - Espectro RMN da quitosana original.(I) H3-6, (II) H-2D, e (III) Acetil-H (CH<sub>3</sub>-CO<sup>-</sup>). .....</i>                                                                                                                                           | <i>78</i> |
| <i>Figura 5.4 - Curva Titulação Potenciométrica: (a) da quitosana dissolvida em 0,1 mol.L<sup>-1</sup> de solução de HCl, (b) e a derivada da curva de Titulação. ....</i>                                                                                                    | <i>79</i> |
| <i>Figura 5.5 - Potencial Zeta das dispersões de quitosana em diferentes valores de pH. 80</i>                                                                                                                                                                                |           |
| <i>Figura 5.6 - Espectro de FTIR de Quitosana (pH = 3,0) (a) e Carboximetilquitosa (b). .....</i>                                                                                                                                                                             | <i>81</i> |
| <i>Figura 5.7 - Espectro RMN da CMC (I) H-3' e H-6' (O-CH<sub>2</sub>COOD), (II) H3-6, (III) H-2' (N- CH<sub>2</sub>COOD), (IV) H-2D' e (V) Acetil-H (CH<sub>3</sub>-CO<sup>-</sup>). ....</i>                                                                                | <i>84</i> |
| <i>Figura 5.8 - Curva de titulação potenciométrica da CMC (a) e a sua derivada da curva (b). ....</i>                                                                                                                                                                         | <i>84</i> |
| <i>Figura 5.9 - Espectros de UV-vis dos PQs de ZnS_ QUI sintetizados em diferentes valores de pH: (a) pH = 4,0±0,2, (b) pH = 5,0±0,2 (c) pH = 6,0±0,2. ....</i>                                                                                                               | <i>87</i> |
| <i>Figura 5.10 - Curvas da relação TAUC dos PQs de ZnS_ QUI sintetizados em diferentes valores de pH: (a) pH = 4,0±0,2, (b) pH = 5,0±0, (c) pH = 6,0±0,2. ..</i>                                                                                                              | <i>87</i> |
| <i>Figura 5.11 - Análise do efeito do pH durante a síntese sobre o diâmetro médio e band gap (E<sub>GD</sub>) dos PQs de ZnS_QUI.....</i>                                                                                                                                     | <i>88</i> |
| <i>Figura 5.12 - TEM e EDS dos PQs de ZnS_QUI em pH 4,0: (a) imagens de TEM em diferentes magnitudes, (b) espectro de EDS, (c) franjas de interferência e (d) Histograma de distribuição de tamanho. ....</i>                                                                 | <i>90</i> |
| <i>Figura 5.13 - Imagens de TEM e Histogramas de distribuição de tamanho dos PQs de ZnS_QUI: (A) pH= 5,0 e (B) pH=6,0. ....</i>                                                                                                                                               | <i>91</i> |
| <i>Figura 5.14 – (A)Espectros de PL dos PQs de ZnS_QUI: (a) pH= 4,0, (b) pH=5,0 e pH=6,0. (B) diagramas de energia. (C) Destaque: Luminescência dos PQs de ZnS sob excitação UV.....</i>                                                                                      | <i>93</i> |
| <i>Figura 5.15 - Difrátogramas de PQs de ZnS-QUI sintetizados em diferentes pH. (a), pH = 4,0, (b) pH =5,0 e (c) pH = 6,0. ....</i>                                                                                                                                           | <i>95</i> |
| <i>Figura 5.16 - Espectros de FTIR. (a) QUI e (b) PQs de ZnS_QUI em (A) pH 6,0±0,2, (B) pH 5,0±0,2 e (C) pH 4,0±0,2. Regiões de vibrações: 1750 a 1475cm<sup>-1</sup> (direita)</i>                                                                                           |           |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| e 1250-950 $\text{cm}^{-1}$ (esquerda). (C) “red-shift” relativo das bandas associadas com os grupos funcionais da quitosana após a formação dos PQs de ZnS_QUI em função do pH. (Representação esquemática de algumas interações na nano-interface dos PQs de ZnS_QUI. ....             | 97  |
| Figura 5.17 - Espectros de FTIR: (a) QUI e (b) PQs ZnS_QUI na região de 3700-3050 $\text{cm}^{-1}$ para (A) pH 6,0 $\pm$ 0,2, (B) pH = 5,0 $\pm$ 0,2 e (C) pH = 4,0 $\pm$ 0,2. ....                                                                                                      | 98  |
| Figura 5.18 – Red-shift relativo das bandas associadas com os grupos funcionais da quitosana após a formação dos PQs de ZnS_QUI em função do pH. (Representação esquemática de algumas interações na nano-interface dos PQs de ZnS_QUI (sem escala). ....                                | 99  |
| Figura 5.19 - Espectros de UV-Vis e PL (A) e do band gap usando relação "TAUC" (B) de PQs de ZnS conjugados sintetizados em diferentes pH: (a) pH 4,0 e (b) pH 10,0. Inset: luminescência azul sob excitação UV. (Figura colorida online). (RAMANERY, MANSUR, et al., 2014) ....         | 101 |
| Figura 5.20 - Imagens de TEM PQs de ZnS-CMC_4(A) e ZnS-CMC_10(B). Inset franjas dos nanocristais. Espectro de EDS típica dos PQs (C). Os histogramas da distribuição de tamanho das nanopartículas de PQs sintetizados a pH 4,0 (D) e pH 10,0 (E). (RAMANERY, MANSUR, et al., 2014) .... | 104 |
| Figura 5.21 - FTIR resultados de espectros de (a) de CMC e (b) ZnS-CMC conjugados a pH 4,0 (A) e pH 10,0 (B). Regiões espectrais vibracionais: 1,800-1,500 $\text{cm}^{-1}$ (esquerda) e 1,150-950 $\text{cm}^{-1}$ (direita). ....                                                      | 105 |
| Figura 5.22 - Curva do potencial Zeta das soluções de CMC: (a) pH 4,0; (b) e pH 10,0; (c) Representação esquemática do potencial Zeta e as interações nas nanointerfaces ZnS-CMC (sem escala). (RAMANERY, MANSUR, et al., 2014) ....                                                     | 108 |
| Figura 5.23 - Espectros de UV-vis dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> _QUI em pH 2,5 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33. ....                                                                                                                                                     | 110 |
| Figura 5.24 - Espectros de UV-vis dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> _QUI em pH 3,5 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33. ....                                                                                                                                                     | 110 |
| Figura 5.25 - Curvas da relação TAUC dos PQs de Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> _QUI em pH: (I) 2,5 (II) 3,5: FM (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33. ....                                                                                                                                      | 111 |
| Figura 5.26 - Valores de Blue-shift em função do pH (Quadrados pretos, pH=2,5, e círculos vermelhos, pH=3,5) em função da variação da fração molar dos precursores [Bi <sup>3+</sup> ]/[S <sup>2-</sup> ]. ....                                                                          | 112 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 5.27 - Imagens de TEM dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}} 0,33$ e pH 2,5: (A) HRTEM, detalhe franjas; (B) Histograma de distribuição de tamanho.....                                                                                                                                                                                                                                            | 113 |
| Figura 5.28 - Imagens de TEM dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}} 0,67$ e pH 2,5: (A) HRTEM. Detalhe franjas; (B) Histograma de distribuição de tamanho; (C) Espectro de EDS .....                                                                                                                                                                                                                      | 114 |
| Figura 5.29 - Imagens de TEM dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}} 1,33$ em pH 2,5: (A) HRTEM. Detalhe franjas; (B) Histograma de distribuição de tamanho.....                                                                                                                                                                                                                                           | 115 |
| Figura 5.30 - Imagens de TEM dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}} 0,33$ em pH 3,5: (A e B) HRTEM, (C) Histograma de distribuição de tamanho e (D) Espectro de EDS...                                                                                                                                                                                                                                    | 117 |
| Figura 5.31 - Imagens de TEM dos Qs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}} 0,67$ pH 3,5: (A e B) HRTEM, (C) Histograma de distribuição de tamanho.....                                                                                                                                                                                                                                                            | 118 |
| Figura 5.32 - Imagens de TEM dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}} 1,33$ e pH 3,5: (A,B) TEM, (C) Histograma de distribuição de tamanho. ....                                                                                                                                                                                                                                                            | 118 |
| Figura 5.33 - Efeito da variação do pH e fração molar dos precursores no crescimento dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}$ .....                                                                                                                                                                                                                                                                        | 119 |
| Figura 5.34 - A) Resultados de DLS para os PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}} 0,67$ : Quadrados pretos, pH 2,5 e círculos vermelhos pH 3,5, (B) Representação esquemática da estrutura núcleo/casca.....                                                                                                                                                                                                  | 121 |
| Figura 5.35 - Espectros de PL dos PQs híbridos de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}$ : (a) PQs_ $\text{QUI} 0,33_{3,5}$ , (b) PQs_ $\text{QUI} 0,67_{3,5}$ , (c) PQs_ $\text{QUI} 1,33_{3,5}$ , e (d) PQs_ $\text{QUI} 0,67_{2,5}$ ( $\lambda_{\text{excitação}}=405\text{nm}$ ). Detalhe (Efeito do pH na emissão de PL e luminescência verde de PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ com excitação de luz UV). .... | 123 |
| Figura 5.36 - Espectros de UV-vis dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{CMC}}$ em pH 3,0 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33. ....                                                                                                                                                                                                                                                                             | 124 |
| Figura 5.37 - Espectros de UV-vis dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{CMC}}$ em pH 10 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33. ....                                                                                                                                                                                                                                                                              | 125 |
| Figura 5.38 – Curvas da Relação TAUC dos sistemas: (a) PQs_ $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{CMC}} 0,33_{3,0}$ ; (b) PQs_ $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{CMC}} 0,33_{10,0}$ e (c) PQs_ $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{CMC}} 1,33_{0,33}$ . (Detalhe) esquema representativo da energia de band gap dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ e bulk de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ . ....                                         | 126 |
| Figura 5.39 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{CMC}} 0,33_{3,0}$ : (A) Espectro típico EDS, (B) Histograma de distribuição de tamanho, (C) HRTEM. ....                                                                                                                                                                                                                                        | 128 |
| Figura 5.40 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{CMC}} 0,67_{3,0}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.....                                                                                                                                                                                                                                                                  | 129 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 5.41 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33\_3,0}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.....                                                                                                                                                                                                         | 130 |
| Figura 5.42 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_4,0}$ : (A)HRTEM, (B) Histograma de distribuição de tamanho, detalhe franjas.....                                                                                                                                                                                         | 131 |
| Figura 5.43 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,67\_4,0}$ : (A) HRTEM, (B) Histograma de distribuição de tamanho, detalhe franjas. ....                                                                                                                                                                                       | 132 |
| Figura 5.44 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33\_4,0}$ : (A) HRTEM, (B) Histograma de distribuição de tamanho, detalhe franjas. ....                                                                                                                                                                                       | 133 |
| Figura 5.45 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_10,0}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B e C) HRTEM, (Detalhe) franjas.. ....                                                                                                                                                                               | 134 |
| Figura 5.46 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,67\_10,0}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.....                                                                                                                                                                                                        | 135 |
| Figura 5.47 - Imagens de TEM dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33\_10,0}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.....                                                                                                                                                                                                        | 136 |
| Figura 5.48 - Histograma de distribuição dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}$ sintetizados em (A) $\text{pH}=3,0$ e (B) $\text{pH}=10,0$ com frações molares $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$ iguais a 0,33 (a), 0,67 (b) e 1,33 (c). ....                                                                                                   | 139 |
| Figura 5.49 - Ilustração dos modelos sugeridos de interações de nanopartículas em o $\text{O\_CMC}$ em $\text{pH } 3,0$ (sem escala). ....                                                                                                                                                                                                              | 140 |
| Figura 5.50 - Ilustração dos modelos sugeridos de interações de nanopartículas em o $\text{O\_CMC}$ em $\text{pH } 10,0$ (sem escala). ....                                                                                                                                                                                                             | 141 |
| Figura 5.51 - Resumo da variação do diâmetro dos PQs em função do $\text{pH}$ (Quadrados, $\text{pH } 3,0$ e Círculos, $\text{pH } 10,0$ ) x fração molar dos precursores $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$ . ....                                                                                                                                     | 142 |
| Figura 5.52 - (A) Potencial Zeta e (B) DLS (quadrados pretos, $\text{pH } 3,0$ e círculos vermelhos, $\text{pH } 10,0$ ) resultados da funcionalização e do $\text{pH}$ . ....                                                                                                                                                                          | 143 |
| Figura 5-53 – Espectros de PL dos PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3$ : (a) PQs_0.33_3.0, (b) PQs_0.33_10.0, and (c) PQs_1.33_10.0. ( $\lambda$ é exciton = 405 nm).(Detalhe:Imagens dos PQs com iluminação (a) natural e (b) luz de irradiação ultravioleta $\lambda = 254\text{nm}$ . ....                                                                    | 145 |
| Figura 5.54 – Mudanças no espectro de absorção do azul de metileno (MB) na presença de PQs de $\text{ZnS\_QUI}_{6,0}$ sob luz UV. ....                                                                                                                                                                                                                  | 146 |
| Figura 5.55 – (A) alterações normalizadas na concentração MB (C/Co) para diferentes proporções concentrações de corantes: (a) $\text{ZnS-CHI/MB}=1,5$ ; (b) $\text{ZnS-CHI/MB}=6$ ; (c) $\text{ZnS-CHI/MB}=12$ . (B) C/Co curva e degradação de eficiência $(1-\text{C/Co})$ para $\text{ZnS-CHI/MB}=12$ ; (Detalhe: MB descoloração com o tempo). .... | 148 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Figura 5.56 – Esquema de degradação de corantes pela nano-fotocatalize ZnS_QUI.</i>                                                                                                                                                                                                                                                                | 149 |
| <i>Figura 5.57 – ESI-MS para o controle da oxidação de MB por nano-fotocatalisador ZnS_QUI. ESI_MS espectro de (A) Padrão MB e (B) Esquema para a oxidação de MB (m/z=284) pelo catalizador.</i>                                                                                                                                                      | 151 |
| <i>Figura 5.58 - Resposta de viabilidade celular para cultura SAOS utilizando o ensaio de MTT (a). Morfologia das células SAOS na amostra de controle (b) e após 24 horas de incubação em contato com a amostra PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_CMC_0,67_10,0 (c). Barra de escala = 100 <math>\mu</math>m, 200X.</i>                                 | 153 |
| <i>Figura 5.59 - Resposta de viabilidade celular para cultura HEK 293 utilizando o ensaio de MTT (a). Morfologia das células HEK na amostra de controle (b) e após 24 horas de incubação em contato com a amostra PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_CMC_0,67_10,0 (c). Barra de escala = 100 <math>\mu</math>m, 200X.</i>                               | 154 |
| <i>Figura 5.60 (A) Imagens de microscopia de fluorescência utilizando o kit de viabilidade celular LIVE/DEAD®: controle (a), PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_QUI_0,67_3,0 (b) PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_CMC_0,67_3,0 (c) e PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_CMC_0,67_10,0. (B) Resultados quantitativos LIVE/DEAD®.</i>                          | 156 |
| <i>Figura 5.61 - Imagens de microscopia confocal de internalização celular de PQs nanoconjugados Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/QUI em células HEK 293 em comparação com as condições de controle (autofluorescência). (A) Campo Claro. (B) Imagem de fluorescência. (C) Mapeamento da distribuição da fluorescência no interior das células (630X).</i> | 158 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                   |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <i>Tabela 1 - Relação de dimensões de entidades químicas e biológicas .....</i>                                                                                   | <i>7</i>   |
| <i>Tabela 2 - Fenômenos e suas respectivas escalas.....</i>                                                                                                       | <i>7</i>   |
| <i>Tabela 3 - Condições de reação na síntese de CMC.....</i>                                                                                                      | <i>31</i>  |
| <i>Tabela 4 - Solubilidade de CMC .....</i>                                                                                                                       | <i>32</i>  |
| <i>Tabela 5- Módulos vibracionais da QUI e CMC .....</i>                                                                                                          | <i>32</i>  |
| <i>Tabela 6- Bandas de absorção e número de onda (cm<sup>-1</sup>) característicos de quitosana e carboximetilquitosana. ....</i>                                 | <i>33</i>  |
| <i>Tabela 7 - Parâmetros referentes à relação do cálculo da energia de band gap em função do raio da nanopartículas de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> .....</i>      | <i>44</i>  |
| <i>Tabela 8- Síntese de PQs de ZnS estabilizados com variação do pH do meio. ....</i>                                                                             | <i>61</i>  |
| <i>Tabela 9 - Identificação das diferentes frações molares dos precursores de Bi<sup>3+</sup> e S<sup>2-</sup> utilizadas nas sínteses.....</i>                   | <i>65</i>  |
| <i>Tabela 10 - Nomenclatura adotada na síntese de PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> .....</i>                                                                    | <i>65</i>  |
| <i>Tabela 11 - Bandas vibracionais de FTIR associadas com a QUI e CMC.....</i>                                                                                    | <i>82</i>  |
| <i>Tabela 12 - Variação dos diâmetros médios obtidos por TEM em função das proporções molares dos íons na síntese de PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>_CMC.....</i> | <i>137</i> |

## LISTA DE ABREVIACÕES

|                                  |                                                     |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b><math>a_B</math></b>          | Raio de Bohr do éxciton                             |
| <b><math>\hbar</math></b>        | Razão entre a constante de Planck e $2\pi$          |
| <b><math>\alpha</math></b>       | Coeficiente de absorção                             |
| <b><math>\nu</math></b>          | Frequ ncia de radiação                              |
| <b><math>\lambda_{PQ}</math></b> | comprimento de onda de absorção de pontos qu nticos |
| <b>BC</b>                        | banda de condução                                   |
| <b><i>Bulk</i></b>               | sólido estendido                                    |
| <b>BV</b>                        | banda de valência                                   |
| <b>CMC</b>                       | Carboximetilquitosana                               |
| <b>CS</b>                        | Estrutura core/ Shell                               |
| <b>DRX</b>                       | difracção de raios X                                |
| <b>DMEM</b>                      | meio de Eagle modificado por Dulbecco               |
| <b>DD</b>                        | grau de desacetilação                               |
| <b>DS</b>                        | grau substituição                                   |
| <b>EP<sub>pH</sub></b>           | grau de protonação                                  |
| <b>E<sub>g</sub></b>             | energia de banda proibida do sólido estendido       |
| <b>E<sub>PQ</sub></b>            | energia da banda proibida do ponto quântico         |
| <b>eV</b>                        | elétron volt                                        |
| <b>EDS</b>                       | espectros de energia dispersiva                     |
| <b>FBS</b>                       | soro fetal bovino                                   |
| <b>QUI</b>                       | Quitosana                                           |
| <b>QYs</b>                       | rendimento qu ntico                                 |
| <b>HSA</b>                       | albumina de soro humano                             |

|                       |                                                                             |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>HD</b>             | Raio hidrodinâmico                                                          |
| <b>h</b>              | constante de Planck                                                         |
| <b>h<sup>+</sup></b>  | buracos na cama de valência (portadores de carga)                           |
| <b>IUPAC</b>          | <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>                    |
| <b>MB</b>             | Corante azul de metileno                                                    |
| <b>m<sub>0</sub></b>  | massa do elétron em repouso.                                                |
| <b>m<sub>e</sub></b>  | massa do elétron                                                            |
| <b>m<sub>h</sub></b>  | massa do buraco no semiconductor.                                           |
| <b>MTT</b>            | ((brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) brometo de tetrazólio 2,5-difenil) |
| <b>μM</b>             | micro molar (μmol/L)                                                        |
| <b>Na-CMC</b>         | Sal de carboximetilquitosana                                                |
| <b>NPs</b>            | Nanopartículas                                                              |
| <b>NC</b>             | Estrutura núcleo casca                                                      |
| <b>PL</b>             | fotoluminescência                                                           |
| <b>PQs</b>            | Pontos Quânticos                                                            |
| <b>QDs</b>            | Quantum Dots                                                                |
| <b>RMN</b>            | Ressonância magnética nuclear                                               |
| <b>TEM</b>            | microscopia eletrônica de transmissão                                       |
| <b>TC</b>             | tomografia computadorizada                                                  |
| <b>TOPO</b>           | trioctilfosfina                                                             |
| <b>TOP</b>            | óxido trioctilfosfina                                                       |
| <b>UV-vis</b>         | espectroscopia no ultravioleta visível                                      |
| <b>V</b>              | Vacância                                                                    |
| <b>ε<sub>0</sub></b>  | constante dielétrica no vácuo.                                              |
| <b>ε<sub>∞</sub></b>  | constante dielétrica do meio.                                               |
| <b>K<sub>ps</sub></b> | constante do produto de solubilidade                                        |

|             |                                        |
|-------------|----------------------------------------|
| <b>S</b>    | grau de supersaturação de nanocristais |
| <b>SAOS</b> | osteossarcoma humanas imortalizadas    |
| <b>R*</b>   | raio crítico de equilíbrio             |
| <b>OM</b>   | Orbital molecular                      |
| <b>HOMO</b> | Orbital Molecular Ocupado de Maior     |
| <b>LUMO</b> | Orbital Molecular de Menor Energia     |
| $\lambda$   | Comprimento de onda                    |
| $\zeta$     | Potencial zeta                         |

## RESUMO

Nos últimos anos, o campo de nanocristais semicondutores coloidais, também referido como pontos quânticos coloidais (PQs), tem crescido rapidamente. Os desenvolvimentos são resultado de avanços significativos em nanociência e nanotecnologia, que predominantemente se concentram em aplicações biomédicas e ambientais. As contribuições interdisciplinares de diversas áreas, como ciência dos materiais, química e física, combinada com a área biológica, farmacêutica, médica e da ciência ambiental criou uma nova classe fascinante de nanomateriais híbridos ou nanoconjugados. Estes nanomateriais podem ser concebidos e projetados com praticamente qualquer propriedade ou para realizar diversas funções. Basicamente, estes conjugados de tamanho nanométrico combinam as funções intrínsecas de nanomateriais semicondutores inorgânicos e biointerfaces versáteis oferecidos por polímeros orgânicos (por exemplo, quitosana, PVA, PEG) e biomoléculas (por exemplo, aminoácidos, peptídeos, proteínas, DNA). No campo de materiais inorgânicos de baixa dimensionalidade, do termo em inglês “*low-dimension*”, para produção de nanoconjugados e nanoestruturas os PQs tem sido a principal escolha devido à sua combinação única de propriedades ópticas, eletrônicas, magnéticas e químicas, que podem ser ajustadas através da modificação do tamanho de nanopartículas abaixo do valor de limiar, chamado raio de Bohr do éxciton.

Assim, o presente estudo relata pela primeira vez, os novos nanoconjugados baseados em carboidratos combinando quitosana (QUI) e carboximetilquitosana (CMC) com PQs de semicondutores de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> desenhados e sintetizados através de um único passo via processo coloidal aquoso ambientalmente correto, “Química verde”, à temperatura ambiente. Estes sistemas foram extensivamente caracterizados por (SEM, TEM, AFM, DLS, o potencial zeta) e técnicas espectroscópicas morfológicas (UV-vis, FTIR, PL, RMN e outros), a fim de acessar suas principais características estruturais e propriedades físico-químicas. Estes nanocompósitos híbridos foram testados quanto à citocompatibilidade usando brometo de tetrazólio 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) 2,5-difenil (MTT) de proliferação de rim de células com células de osteossarcoma humanas cultivadas (SAOS), células embrionárias de rim humano (células HEK293T) e a viabilidade da citotoxicidade por ensaio LIVE/DEAD®. Os resultados demonstraram que a quitosana e CMC são estruturas poliméricas eficazes para nuclear e estabilizar as

nanopartículas de PQs em dimensões ultra-pequenas formando estruturas núcleo/casca em dispersões coloidais aquosas. Além disso, verificou-se que a variação do pH e a proporção molar de precursores durante a síntese afetou as propriedades físico-químicas e aspectos morfológicos das nanoestruturas. Além disso, os PQs nanoconjugados sem meio coloidal aquoso apresentaram fotoluminescência sob irradiação de luz. Os resultados *in vitro* demonstraram que a quitosana e CMC nanohíbridos não foram citotóxicos e exibiram respostas de viabilidade celular adequada em relação a três tipos de células. Portanto, é imaginável que esses nanocompósitos bioengenharia projetados pode ser potencialmente usada como nanopartículas fluorescentes em biosondas para macar células *in vitro*, farmacêutica e aplicações ambientalmente corretas.

## ABSTRACT

In recent years, the field of colloidal semiconductor nanocrystals, also referred to as colloidal quantum dots (QDs), has grown rapidly. The developments are the result of significant advances in nanoscience and nanotechnology that predominantly focus on biomedical and environmental applications. The interdisciplinary contributions from several areas such as materials science, chemistry and physics, combined with biology, pharmaceuticals, medicine and environmental science has created a fascinating new class of hybrid nanomaterials or nanoconjugates. These nanomaterials can be designed and engineered with almost any property or to carry out almost any function. Basically, these nano-sized conjugates combine the intrinsic functions of inorganic semiconductor nanomaterials and the versatile organic biointerfaces offered by polymers (e.g., chitosan, PVA, PEG) and biomolecules (e.g., amino acids, peptides, proteins, DNA). In the realm of inorganic '*low-dimensional*' materials for producing nanoconjugates and nanostructures, QDs have been the major choice because of their unique combination of optical, electronic, magnetic and chemical properties, which can be tuned *via* the modification of the nanoparticle size below the threshold value, named the Bohr radius exciton.

Thus, it is reported for the first time in this study, new carbohydrate-based nanoconjugates combining chitosan and carboxymethyl chitosan (CMC) with ZnS and Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> semiconductor QDs were designed and synthesized *via* a single-step "green" aqueous colloidal process at room temperature. These systems were extensively characterized by morphological (SEM, TEM, AFM, DLS, zeta potential) and spectroscopic techniques (UV-vis, FTIR, PL, RMN, and others) in order to access their major structural features and physico-chemical properties. These hybrid nanocomposites were tested for cytocompatibility using a 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) cell proliferation assay with cultured human osteosarcoma cells (SAOS), human embryonic kidney cells (HEK293T cells) and a LIVE/DEAD® viability-cytotoxicity assay. The results demonstrated that chitosan and CMC were effective polymer ligands for nucleating and stabilizing ultra-small QDs, forming colloidal core-shell nanostructures in aqueous dispersions. In addition, it was verified that variation of pH and molar ratio of precursors during the synthesis affected the physico-chemical properties

and morphological aspects of the nanostructures. Moreover, these water-soluble nanoconjugates were photoluminescent under light irradiation. The results of the *in vitro* assays demonstrated that the chitosan and CMC nanohybrids were not cytotoxic and exhibited suitable cell viability responses toward three cell types. Therefore, it is envisioned that these designed bioengineered nanocomposites can be potentially used as fluorescent nano-sized bioprobes to label cells *in vitro*, pharmaceutical and environmentally friendly applications.

## CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

A partir da palestra clássica de Richard Feynman, intitulada “*There's plenty of room at the bottom*”, pronunciada em 29 de dezembro de 1959, na reunião anual da Sociedade Americana de Física (no Instituto de Tecnologia da Califórnia, EUA), iniciou-se um marco histórico e científico ao referir-se à possibilidade de manipular a matéria em escala atômica e molecular e assim proferir o conceito de nanotecnologia (FEYNMAN, 1960). A nanociência destaca os estudos de materiais que apresentam dimensões extremamente reduzidas, e à nanotecnologia atribui-se o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados que apresente um ou mais componentes com, pelo menos, uma dimensão entre 1 a 100nm (MANSUR, 2010).

Os progressos científicos obtidos com os avanços da nanotecnologia e nanociência participam diretamente nos avanços recentes em diversas áreas, em destaque em nanomateriais para aplicações biomédicas.

Com os estudos e desenvolvimentos interdisciplinares de diversas áreas, como física, química e engenharia dos materiais, associados com a biologia, farmácia medicina e ciência ambiental, criou-se uma nova classe de nanomateriais híbridos que podem ser sintetizados de diferentes formas estruturais, dimensionais para atuarem em diversas funções (CHAUDHURI; PARIA, 2012).

Os estudos de nanopartículas com núcleos constituídos por materiais inorgânicos de semicondutores destacam-se entre as recentes pesquisas científicas e desenvolvimentos de nanomateriais e têm grande potencial de aplicações em diversas áreas da biomedicina (MANSUR, 2010; THANH; GREEN, 2010).

Nos últimos anos, com os avanços em nanociência e nanotecnologia, permitiu-se o desenvolvimento de nanopartículas (NPs) de materiais semicondutores ultrapequenos, referidos como pontos quânticos (PQs), do termo em inglês *Quantum Dots* (QDs), que consistem de alguns milhares de átomos. Devido à sua dimensão reduzida, PQs apresentam níveis de energia eletrônicos discretos que dão origem a propriedades eletrônicas ópticas e magnéticas únicas (MANSUR, 2010; WANG *et al.* 2013). Rapidamente os PQs avançaram como uma nova classe de nanomateriais fluorescentes para um número ilimitado de aplicações, principalmente como sondas de imagens nas áreas da biologia, medicina e farmácia. Apresentam inúmeras vantagens em relação aos corantes orgânicos, tais como ampla faixa de excitação eletrônica e resistência à

fotodegradação. Os PQs são uma das ferramentas mais interessantes para uso em áreas de nanotecnologia, nanomedicina e nanobiotecnologia (MANSUR, 2010). No entanto, para ser usado em condições biológicas, PQs devem apresentar compatibilidade com o meio fisiológico aquoso, no qual existem inúmeras macromoléculas naturais. Portanto a engenharia química de superfície de PQs é necessária para torná-los solúveis em água e biocompatíveis, desenvolvidos com semicondutores livres de metais pesados e atóxicos. Essencialmente, esses materiais podem reunir as funcionalidades intrínsecas das nanopartículas inorgânicas e as biointerfaces oferecidas por biomoléculas e polímeros de origem natural, tais como carboidratos e derivados, glicoconjugados, proteínas, DNA, enzimas e oligopeptídeos (TAN; HUANG; ZHANG, 2007; ETHERIDGE *et al.*, 2013). Diante das inúmeras possibilidades de alternativas disponíveis para a síntese de híbridos e conjugados para bioaplicações, os carboidratos têm sido frequentemente escolhidos devido à biocompatibilidade, propriedades físico-químicas e mecânicas, e a solubilidade e estabilidade química relativas no ambiente fisiológico aquoso (TAN; HUANG; ZHANG, 2007; COSTA-JÚNIOR *et al.*, 2009). Entre os carboidratos, a quitosana (QUI) (poli- $\beta$  (1  $\rightarrow$  4)-2-amino-2-desoxi-D-glucose) é um dos mais abundantes polissacáridos (semiprocessado) a partir de fontes naturais, perdendo apenas para celulose (TAN; HUANG; ZHANG, 2007; COSTA-JÚNIOR *et al.*, 2009). A quitosana é um polímero policatiônico que tem sido amplamente utilizado na indústria farmacêutica, transportadora de drogas e sistemas de distribuição, biomaterial de revestir ferimentos, filmes antimicrobianos, biomateriais, embalagens de alimentos e muitas aplicações (COSTA-JÚNIOR *et al.*, 2009; TAN; HUANG; ZHANG, 2007; XIA *et al.*, 2011). A quitosana é obtida a partir do processo de desacetilação alcalina da quitina (normalmente extraído das conchas de crustáceos marinhos, tais como caranguejos e camarões), formando um copolímero composto por N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina, unidades disponíveis em diferentes graus de desacetilação (COSTA-JÚNIOR *et al.*, 2009; TAN; HUANG; ZHANG, 2007). O grau de desacetilação (DD) e a massa molar (MM) da quitosana influencia em suas propriedades, tais como a solubilidade em água, o comportamento mecânico, a estabilidade química e a biodegradabilidade. Da mesma forma, existem várias alternativas de materiais inorgânicos nanoestruturados, unidimensionais e zero-dimensão, tais como nanotubos, nanofios nanobastões e pontos quânticos, que são adequados para a conjugação com os carboidratos para a produção de nanomateriais híbridos para bioaplicações (CHAUDHURI; PARIA, 2012; MANSUR, 2010).

Suprimente, os relatos sobre a superfície de biofuncionalização de PQs com quitosana e seus derivados são dificilmente encontrados na literatura (TAN; HUANG; ZHANG, 2007; MANSUR *et al.*, 2012; CHANG *et al.*, 2011), e só recentemente é que a síntese direta de PQs de CdS estabilizados por quitosana e quitosana quimicamente modificada em dispersão coloidal aquosa foi publicada pelo grupo Mansur *et al.*, 2012; Mansur *et al.*, 2013; Santos, Mansur e Mansur, 2013. Apesar dos avanços notáveis na síntese de nano-híbridos, com base na conjugação de PQs e biomoléculas, até à data, na maioria dos estudos publicados, os PQs comerciais são sintetizados através do método tradicional organometálico, que contém elementos tóxicos, tais como o cádmio, chumbo e mercúrio, utilizando solventes orgânicos (trioctilfosfina/óxido trioctilfosfina) (TOP/TOPO) (TOPO) em altas temperaturas. Recentemente, os PQs mais comumente utilizados contêm cádmio bivalente, amplamente conhecido como uma toxina, devido à acumulação de  $\text{Cd}^{2+}$  em tecidos e órgãos (MANSUR, 2010; GREEN, 2010; SANTOS; MANSUR; MANSUR, 2013). Embora  $\text{Cd}^{2+}$  seja incorporado em núcleo nanocristalino (como componentes de sulfetos ou selenetos de baixa solubilidade) revestido com outro semicondutor "concha", como ZnS, e rodeado por estabilizantes biologicamente compatíveis, tais como polímeros, aminoácidos, proteínas e carboidratos (MANSUR; MANSUR, 2011; MANSUR; MANSUR, 2012), ainda não está claro se esses íons tóxicos terão impacto sobre o uso de PQs como sondas luminescentes clínicas para aplicações biomédicas. Consequentemente, grande preocupação tem sido levantada sobre a toxicidade dos PQs produzidos por núcleos de metais pesados em células vivas, animais e seres humanos e, no meio ambiente, não é totalmente compreendido o impacto a longo prazo (TAN; HUANG; ZHANG, 2007; YONG *et al.*, 2013). Nesse sentido, os nanomateriais "livre de cádmio" são alternativas promissoras, tais como compostos de zinco (TAN; HUANG; ZHANG, 2007), devido a sua abundância ambiental natural. Cátions bivalentes de zinco ( $\text{Zn}^{2+}$ ) são comumente encontrados na natureza, em formas que variam de fontes inorgânicas de minerais de vários organismos vivos de espécies metabólicas como cruciais.

Estudos demonstram que a nanotecnologia é uma plataforma promissora em imagem molecular do câncer (FANG *et al.*, 2012). Segundo os autores citados, PQs são intensivamente estudados no desenvolvimento de sondas de imagens biomédicas, tanto *in vitro* como *in vivo* devido às características ópticas e eletrônicas únicas dos PQs. Os PQs permitem alterar suas propriedades, como absorbância e fotoluminescência e físico-

químicas, pelo controle do tamanho, forma, composição e características de superfície (FANG *et al.*, 2012).

Os PQs, quando conjugados com agentes biomoleculares, tais como anticorpos, peptídeos ou outras moléculas pequenas e as sondas com base nos PQs podem ser utilizados para direcionar moléculas cancerosas com elevada especificidade e sensibilidade por coloração com vários biomarcadores tumorais (FANG *et al.*, 2012).

Assim, esta pesquisa focou em demonstrar a síntese de pontos quânticos ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, diretamente estabilizados por quitosana (QUI) e derivados, como a carboximetilquitosana (CMC), usando um método de processamento fácil, reprodutível e econômico de uma rota aquosa à temperatura ambiente.

## **CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Esta tese tem por objetivo o desenvolvimento, a síntese e a caracterização de pontos quânticos (PQs) de semicondutores ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, estabilizados por quitosana (QUI) e carboximetilquitosana (CMC) via rota coloidal, à temperatura ambiente.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- a) Sintetizar núcleos de pontos quânticos de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> estabilizados por quitosana e carboximetilquitosana via rota coloidal aquosa.
- b) Estudar a estabilidade dos PQs em função da variação do pH.
- c) Avaliar o efeito dos polímeros, quitosana e carboximetilquitosana, da fração molar dos precursores e pH na síntese de pontos quânticos de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> via rota coloidal aquosa.
- d) Caracterizar espectroscópica, morfológica e estruturalmente os pontos quânticos de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.
- e) Avaliar a citotoxicidade e possibilidade de aplicações biológicas dos PQs sintetizados.

## CAPÍTULO 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1. Nanotecnologia

O aperfeiçoamento técnico dos instrumentos de medida e das análises físico-químicas dos materiais sempre foi primordial no avanço da ciência e tecnologia para o desenvolvimento de novos produtos. Assim, as análises físicas e biológicas, que eram projetadas com recursos em materiais de dimensões macroscópicas, com os avanços tecnológicos, aperfeiçoamento e desenvolvimento dos instrumentos de medidas, análises químicas e físicas, tornaram possível o estudo dos materiais em escala nanométrica. A Figura 3.1 mostra a evolução da ciência com o crescente desenvolvimento dos materiais (ARAKI, 2007).

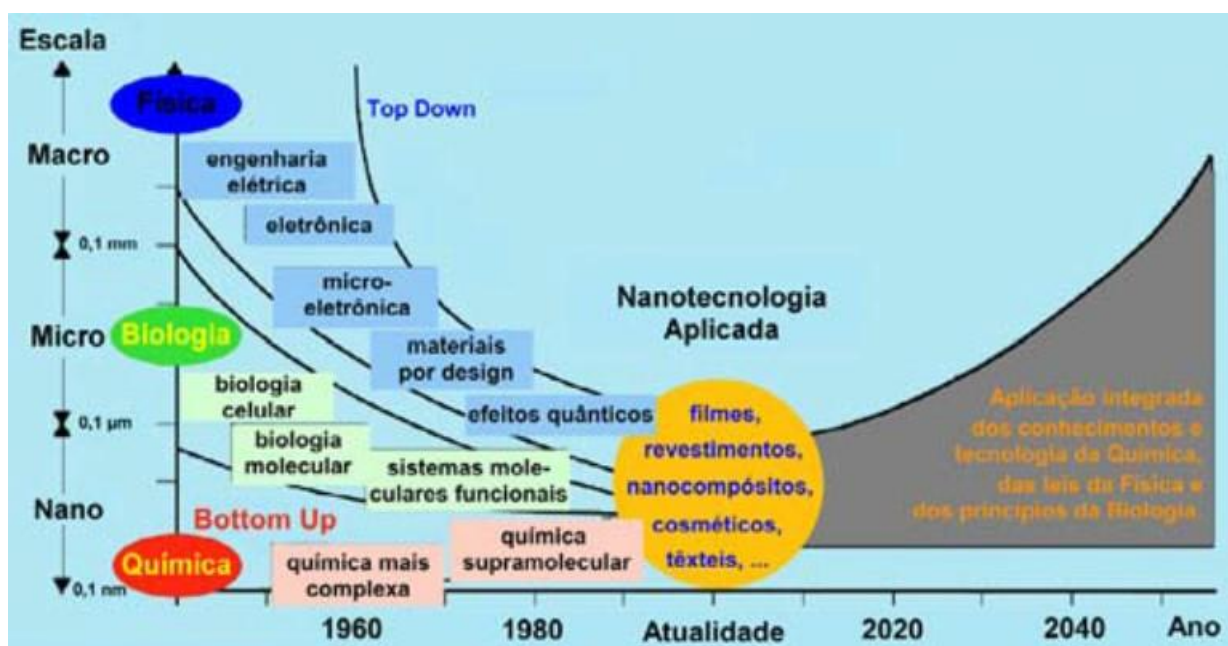


Figura 3.1 - Esquema da evolução da ciência dos materiais (com base nos estudos da Bachmann/Horber)  
Fonte: ARAKI, 2007.

A Tabela 1 traz uma relação de tamanho de várias entidades químicas e biológicas. Os efeitos, como gravidade, fricção, combustão, eletrostática, forças de *van der Waals* e movimentos brownianos estudados em livros de ciência, estão, na intimidade, relacionados com escalas de tamanho dos materiais.

Tabela 1 - Relação de dimensões de entidades químicas e biológicas

| <b>Partículas</b>        | <b>Dimensões</b> |
|--------------------------|------------------|
| Átomo de hidrogênio, H   | 0,1nm            |
| Fulereo (C60)            | 1nm              |
| DNA                      | 2nm              |
| Ponto Quântico de CdSe   | 8nm              |
| Dendrímeros              | 10nm             |
| Proteínas                | 50nm             |
| Proteínas Nanopartículas | 1-100nm          |
| Vírus                    | 75-100nm         |
| Bactérias                | 1000-10000nm     |
| Globos brancos do sangue | 10000nm          |

Fonte: Cartilha da ABDI - <http://www.abdi.com.br/Estudo/Cartilha%20nanotecnologia.pdf>.

A Tabela 2 relaciona alguns desses efeitos nas propriedades dos materiais com as dimensões.

Tabela 2 - Fenômenos e suas respectivas escalas

| <b>Dimensões</b> | <b>Gravidade, fricção, combustão</b>                               |
|------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Centímetro       | Gravidade, fricção, combustão, eletrostática                       |
| Milímetro e      | Eletrostática, van der Waals, movimento browniano. Efeito Quântico |
| Nanômetro        | Eletrostática, van der Waals, movimento browniano. Efeito Quântico |
| Angström         | Mecânica Quântica                                                  |

Fonte: Cartilha da ABDI - <http://www.abdi.com.br/Estudo/Cartilha%20nanotecnologia.pdf>

Como relacionado na Tabela 2, ao entrar na escala nanométrica, grande parte dos efeitos estão relacionados com os aspectos quânticos. Não seria um exagero imaginar que o número de possibilidades de aplicações em nanotecnologia possa chegar ao inverso da escala nano. Somente na natureza podemos citar diversos efeitos extraordinários decorrentes diretamente da nanoestrutura dos materiais. Historicamente, a nanotecnologia possui séculos de existência. Há 3,5 bilhões de anos, as primeiras células vivas desenvolveram-se. As células podem ser consideradas “biomáquinas nanométricas”, que têm funções de controlar suprimentos de energia e manipulação de material genético. O cálice de Lycurgus (Roma), produzido de vidro com a presença de nanopartículas de ouro e de prata, século IV a.C., apresenta coloração verde ao refletir a luz e vermelha quando transmite a luz do sol (fonte de dentro do cálice) (FIG. 3.2). As nanopartículas de ouro e prata são responsáveis por esse efeito de dicroico.



Figura 3.2 - O cálice de Lycurgus no acervo do British Museum

Fonte: FREESTONE et al., 2007.

Nota: Essa imagem mostra a mesma peça iluminada por fora (esquerda) e por dentro (direita). Nanopartículas de ouro.

Em 29 de dezembro de 1959, vários anos antes de receber o Prêmio Nobel (na "Reunião Anual da Sociedade Americana de Física", do Instituto de Tecnologia da Califórnia em Pasadena), Richard Feynman pronunciou uma palestra com o título sugestivo "*There's plenty of room at the bottom*", que lançou as bases para o que mais tarde ficou conhecido como nanotecnologia. Nessa conferência, Feynman abordou o tema de uma perspectiva completamente diferente e abriu um novo mundo de possibilidades. O que na época parecia apenas um sonho que surgiu da mente de um cientista, a passagem do tempo mostrou-se tornar uma realidade.

Apesar do óbvio de que Feynman foi a direção para a nanotecnologia, gastaram-se pelo menos 30 anos para suas ideias começarem a se materializar. E o principal motivo foi a falta de ferramentas adequadas para manipular átomos e moléculas. Durante seu discurso, Feynman propôs algumas soluções para determinados problemas que se colocam, tais como: por que não escrever os 24 volumes da Enciclopédia Britânica na cabeça de um alfinete? ou como reduzir o tamanho dos computadores? No entanto, as respostas envolviam processos tecnicamente impossíveis com os recursos disponíveis. Então, em 1981, dois pesquisadores, G. Binnig e H. Rohrer, quando trabalhavam nos laboratórios da IBM em Zurique, inventaram o microscópio de tunelamento. Esses pesquisadores ganharam o Prêmio Nobel em 1986, abrindo um novo mundo: a possibilidade obter imagens e manipular átomos e moléculas, conforme previsto por Feynman.

Outros acontecimentos importantes permitiram a percepção da relevância da nanotecnologia. Evidentemente tais descobertas criaram um clima todo especial, pois colocaram a nanotecnologia em destaque nas comunidades científicas de todo mundo. Somente no governo Clinton, em 2000, na Califórnia, no *Intitute of Technology*, na

*National Nanotechnology Initiative*, foram investidos US\$ 495 milhões dando um grande destaque a esse campo de pesquisa.

Algumas previsões para o mercado global da nanotecnologia convergem para investimentos superiores a um trilhão de dólares, em 2016, como é o caso de Josh Wolf, da Lux Capital (USA). Segundo a Lux, o mercado global da nanotecnologia faturou, em 2007, cerca de US\$ 146,4 bilhões. Na Figura 3.3 destaca-se a distribuição regional do mercado de nanotecnologia em 2007.

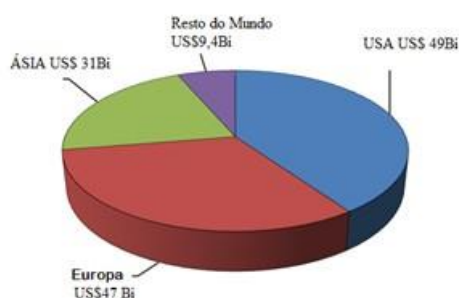


Figura 3.3 - Distribuição do mercado global da Nanotecnologia

Fonte: AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL (ABDI), 2016.

## 3.2. Materiais Semicondutores

A Figura 3.4 mostra as concentrações de portadores de carga típicos de metais, semimetais e semicondutores. Um material é classificado como semicondutor quando apresenta uma resistividade elétrica à temperatura ambiente na faixa de  $10^{-2}$  a  $10^9 \Omega \cdot \text{cm}$ , que varia acentuadamente com a temperatura (KITTEL, 2006).

Os semicondutores de fórmula química AB, onde A é um elemento bivalente e B é hexavalente, o semicondutor é chamado de composto II-VI (dois - seis); é o caso do sulfeto de zinco, ZnS.

### 3.2.1. Banda Proibida

Os semicondutores de alta pureza apresentam uma condutividade intrínseca, enquanto semicondutores com a presença de impurezas apresentam uma condutividade extrínseca

associada a impurezas. A Figura 3.5 apresenta o diagrama de bandas de energia associado a à condutividade intrínseca. A banda de condução está vazia no zero absoluto encontra-se separada da banda de valência, que encontra-se completa, por uma banda proibida de largura  $E_g$ , também denominada energia de *band gap* (KITTEL, 2006).

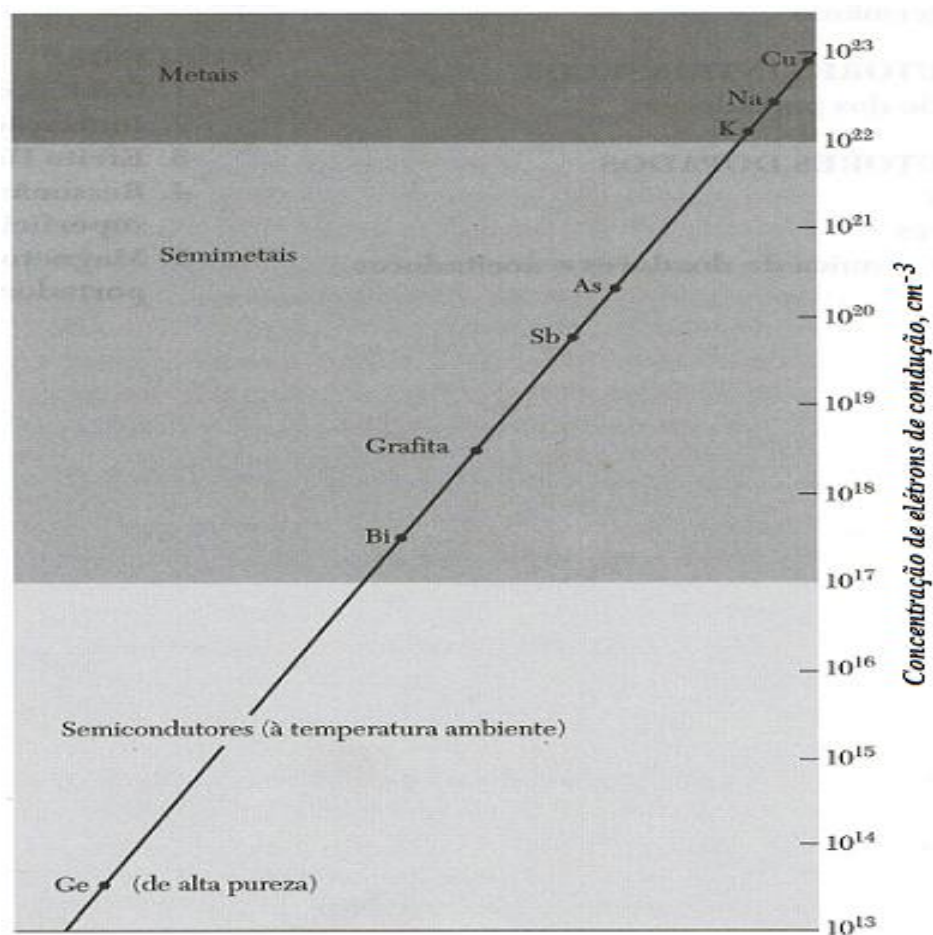


Figura 3.4 – Concentração de elétrons em metais, semimetais e semicondutores. Adaptação: (KITTEL, 2006)



Figura 3.5 – Diagrama de bandas de um semiconductor intrínseco.  
Adaptação: (KITTEL, 2006)

A condutividade intrínseca e a concentração de portadores intrínsecos dependem da razão entre a largura proibida e a energia térmica. Quando esta tem um valor elevado, a concentração de portadores intrínsecos é pequena e a condutividade é baixa.

### 3.2.2. Processo direto e indireto de absorção

Em um processo direto de absorção (band gap direto), figura 3.6(a), o limiar da absorção óptica é uma média da largura da banda proibida, segundo a equação 1. Um fóton é absorvido pelo cristal e ao mesmo tempo são criados o par elétron/buraco.

$$E_g = \hbar \cdot \omega_g \quad (1)$$

Onde:

$\omega_g$  limiar da absorção óptica

$$\hbar = h/\pi$$

$h$  Constante de Plank

Em um processo indireto de absorção (band gap indireto), figura 3.6(b) a distância mínima entre o máximo da banda de valência e o mínimo da banda de condução envolve elétrons e buracos separados por um vetor de onda,  $K_c$ . Nesse caso, uma transição

estimada por um fóton não satisfaz a lei de conservação do momento ( $=, \hbar \cdot K$ ), já que o momento do fóton é insignificante na faixa de energias envolvida. Entretanto, se um fóton é criado no processo, temos as seguintes considerações, equação 2:

$$k_{(fóton)} = k_c + k \cong 0 ; \hbar \omega = E_g + \hbar \Omega \quad (2)$$

Onde:

$k$  vetor de onda do fóton

$\Omega$  frequência do fóton

$\hbar \Omega$  energia do fóton

A equação 2 satisfaz as leis de conservação do momento e da energia. A energia do fóton é em geral muito menor que a energia da banda proibida,  $E_g$ : mesmo um fônon com um vetor de onda relativamente grande é facilmente acessível, porque as energias dos fônons são relativamente pequenas ( $\sim 0,01$  a  $0,03\text{eV}$ ) em comparação com a largura da banda proibida.

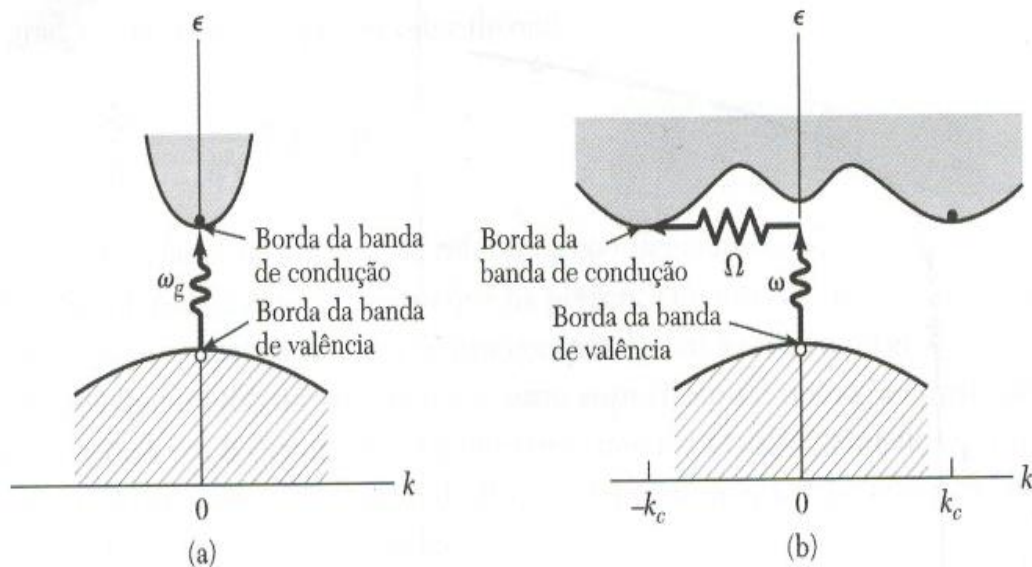


Figura 3.6 – (a) Processo direto de absorção (gap direto) e (b) processo indireto de absorção (gap indireto).

Adaptação: (KITTEL, 2006)

### 3.3. Éxcitons em semicondutores

Anomalias frequentemente encontradas em espectros de refletância e absorção em energias inferiores do que da banda proibida, para os quais seria de se esperar que o cristal fosse transparente. Estas anomalias são decorrentes da absorção de um fóton com a criação de um par ligado, denominado elétron-buraco, chamado de éxciton, figura 3.7.

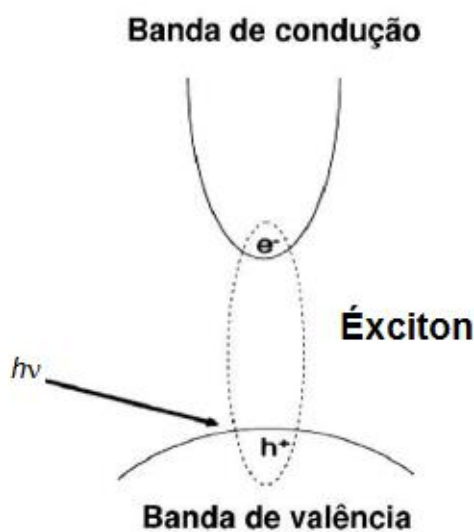


Figura 3. 7– Representação esquemática da formação de um éxciton.

Um éxciton pode se mover e transportar energia, mas não transporta carga, por ser eletronicamente neutro. A formação de éxcitons em semicondutores de *band gap* indireto podem ser instáveis em relação ao decaimento em um elétron livre e um buraco livre. Todos os éxcitons são instáveis em relação ao processo de recombinação, no qual o elétron e o buraco se aniquilam mutuamente. Um cristal ao absorver energia superior a energia do *band gap* a formação de um elétron livre e um buraco livre. O prelúdio para este processo é  $\hbar\omega = E_g$  em um processo direto. Em um processo indireto, que envolve a participação de fônon, o prelúdio é representado pela equação 3, figura 3.8:

$$\hbar\omega = E_g - \hbar\Omega \quad (3)$$

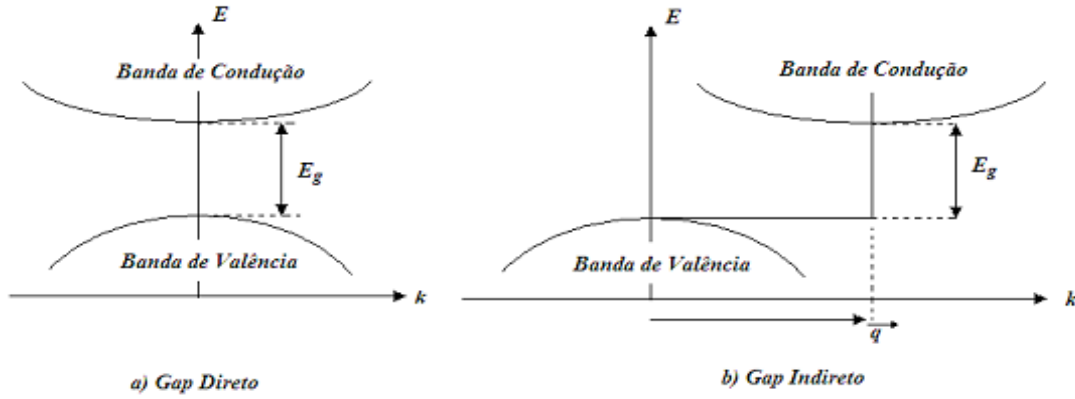


Figura 3.8 – Transições eletrônicas em semicondutores para materiais com gap: (a) diretos, (b) e gap indiretos

Fonte: MURPHY e COFFER, 2002.

O par ligado, éxciton, comporta-se como uma espécie independente, apresentando um conjunto de níveis de energia distintos do semiconductor e um raio de Bohr ( $a_{Be}$ ) do éxciton característico, conforme a equação 4.

$$a_{Be} = \frac{4\pi\epsilon_0\epsilon_\infty h}{m_0 e^2} X \left( \frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) \quad (4)$$

Onde:

$\epsilon_0$  é a constante dielétrica no vácuo;

$\epsilon_\infty$  é a constante dielétrica do meio;

$m_e^*$  e  $m_h^*$  são respectivamente as massas do elétron e do buraco no semiconductor;

$m_0$  é a massa do elétron em repouso;

$e$  é a carga elementar do elétron.

O estado excitado (par elétron/buraco) é chamado de éxciton e tem sido precursor no desenvolvimento de estudos que relacionam o tamanho da partícula com a  $E_g$  de pontos quânticos semicondutores. A equação 4 apresenta um modelo de massas efetivas que mostra a relação entre o tamanho da partícula e o  $E_{QD}$  para um ponto quântico de um semiconductor qualquer (MANSUR, 2010).

$$E_{QD} = E_g + \left( \frac{h^2}{8R^2} \right) \left( \frac{1}{m_e} + \frac{1}{m_h} \right) - \left( \frac{1,8e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon R} \right) \quad (5)$$

Onde:

$E_g$  e  $E_{QD}$  são, respectivamente, a *band gap* para o sólido estendido (*bulk*) e para o ponto quântico (PQ);

$R$  é o raio do ponto quântico;

$m_e$  é a massa efetiva do elétron no sólido;

$m_h$  é a massa efetiva do buraco no sólido;

$e$  é a carga elementar do elétron.

A redução do tamanho do PQ resulta numa variação sistemática da densidade de ocupação dos níveis de energia eletrônicos. As dimensões da partícula tornam-se compatíveis ao comprimento de onda de Fermi dos elétrons. Os portadores de cargas gerados pela absorção da radiação que movem livremente no material macroscópico são afetados pelas paredes das nanopartículas. O confinamento quântico descreve sua mudança de níveis de energia superpostos para um conjunto de níveis discretos, com a diminuição das dimensões das partículas, conforme Figura 3.9.

Em semicondutores, a excitação dos elétrons da banda de valência para banda de condução, separados pelo  $E_g$ , resulta em largas bandas no espectro de absorção. À medida que as partículas diminuem de tamanho, o  $E_g$  aumenta, conforme mostram a Figura 3.9 e a 3.10, alterando as propriedades óptico-eletrônicas do material.

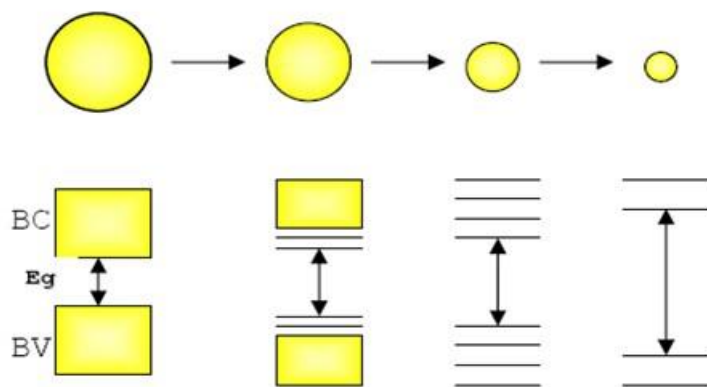


Figura 3.9 – Redução do tamanho de partículas semicondutoras dentro do regime de confinamento quântico

Fonte: Adaptado de ALIVISATOS, 1997.

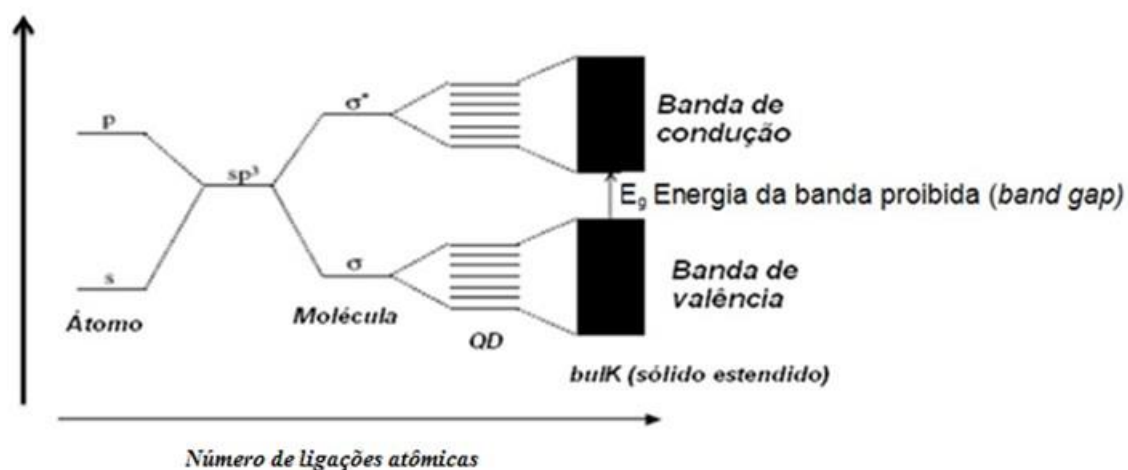


Figura 3.10– Evolução dos estados eletrônicos passando de um átomo para um semicondutor  
Fonte: ALIVISATOS, 1997.

A representação da dependência do tamanho do ponto quântico com a energia de transmissão entre a banda de valência e a banda de condução pode ser observada na Figura 3.11.

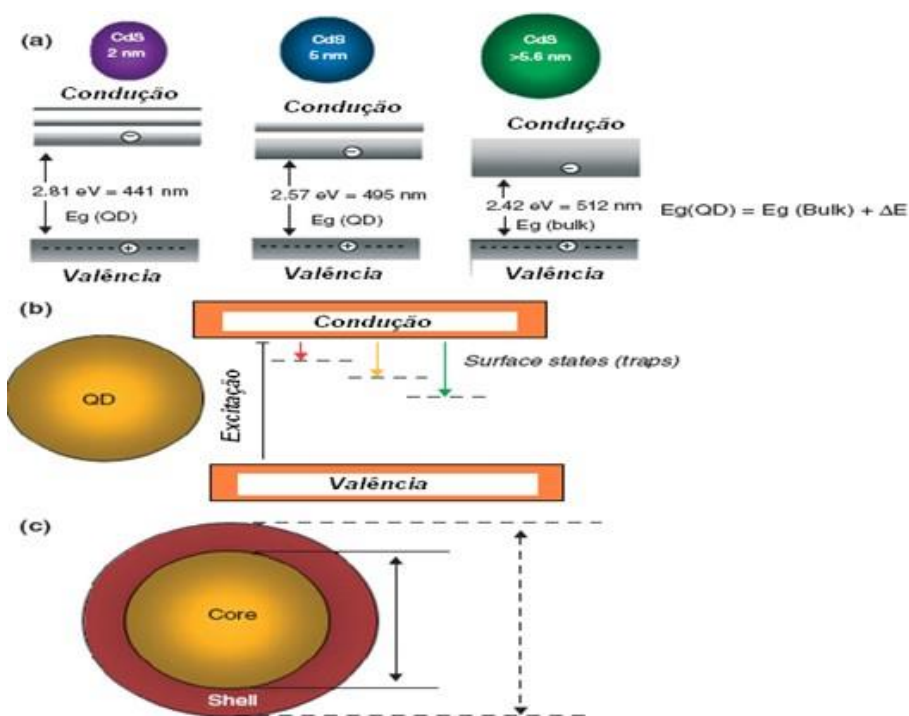


Figura 3-11– Bandas de condução e Valência para (a) nanopartícula de semicondutor CdS (b) ponto quântico e (c) Estrutura NC.

Fonte: Adaptado de MANSUR, 2010.

### 3.4. Confinamento Quântico

Em 1982 Efros e Efros apresentaram o primeiro modelo de confinamento quântico tridimensional, assumindo um modelo de bandas parabólicas com massas efetivas ( $\mu$ ), par elétrons e buracos ( $e^-/h^+$ ) e uma simetria esférica, para um ponto quântico de raio  $R$ , utilizando a aproximação da função de onda (EFROS; EFROS, 1982). Veja-se a Figura 3.7.

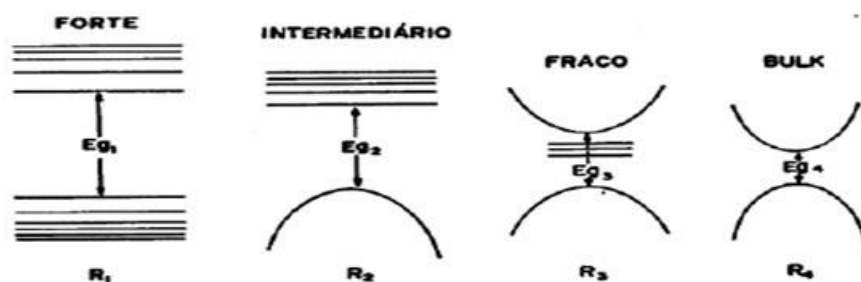


Figura 3.12– Representação do diagrama de energia para os diferentes regimes de confinamento devido ao efeito de tamanho

(EFROS, 1982)

Esse modelo apresenta três casos de confinamento quântico, comparando-se o raio de Bohr do éxciton ( $a_B$ ) do material semiconductor *bulk* com o raio do ponto quântico:

- Confinamento fraco, quando o raio  $R$  do ponto quântico é maior que raio de Bohr do elétron e do buraco. ( $R \gg a_{Be^-} \gg a_{Bh^+}$ );
- Confinamento médio, quando o raio  $R$  do ponto quântico é maior que o raio de Bohr do elétron e menor que do buraco. ( $a_{Be^-} \ll R \ll a_{Bh^+}$ );
- Confinamento forte, quando o raio  $R$  do ponto quântico é menor que o raio de Bohr do elétron e do buraco. ( $R \ll a_{Be^-} \ll a_{Bh^+}$ ).

### 3.6. Pontos Quânticos de Semicondutores.

Os pontos quânticos de semicondutores de *band gap* ( $E_g$ ) direto resultam da combinação de íons dos átomos de alguns grupos da Tabela periódica. Uma grande diferença entre os PQs de semicondutores e sua forma de sólido estendido, dito *bulk* do material, está no aumento da relação área superficial por unidade de volume.

Os PQs são nanopartículas de materiais semicondutores com tamanho típico entre 1 a 10nm (MANSUR, 2010). São estruturas confinantes nas três dimensões espaciais, com propriedades peculiares compreendidas entre os semicondutores em sua forma estendida, *bulk*, e as estruturas moleculares distintas. Os PQs mais comuns são os compostos semicondutores binários constituídos por íons dos átomos de diferentes grupos da tabela periódica, tais como: II-VI, sulfeto de cádmio (CdS), seleneto de cádmio (CdSe), telureto de cádmio (CdTe), seleneto de zinco (ZnSe), sulfeto de chumbo (PbS), e mercúrio sulfeto (HgS), V-VI,  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  sulfeto de bismuto, III-V, fosfeto de índio (InP), nitreto de gálio (GaN), arseneto de índio (InAs), etc.

A Figura 3.13 apresenta algumas estruturas assumidas pelos cristais de semicondutores em destaque neste trabalho.

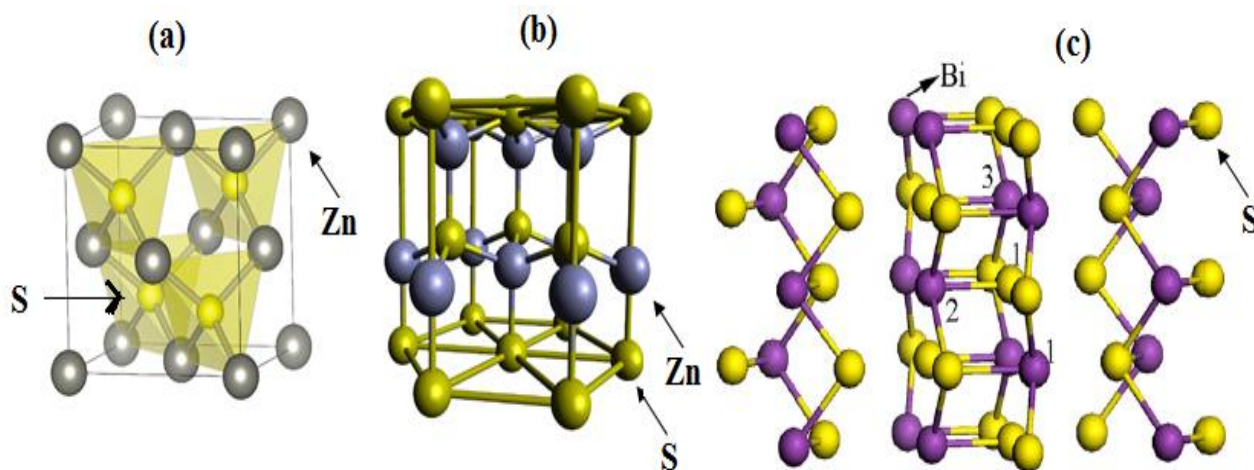


Figura 3-13– Estruturas cristalinas (a)  $\text{ZnS}$  - Cúbica esfalerita, (b) HC ou Wurtzita e (c)  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  Ortorrômica (111).

Fonte: MINERVA, 2016.

### 3.6.1. *Aplicações dos Pontos Quânticos*

Uma relevante aplicação dos PQs refere-se a diagnósticos analíticos resultantes da facilidade de modificar sua superfície com moléculas de polímeros hidrofílicas que apresentam diversos grupos orgânicos funcionais e que, pela constituição, permitem modificações e combinações em métodos analíticos de diagnósticos (SAHOO *et al.*, 2013). Os autores relatam aplicações de nanopartículas tais como biossensores e marcadores fluorescentes de sistemas biológicos. As primeiras publicações referentes à utilização de PQs em sistemas biológicos surgiram em 1998, com aplicações como marcadores biológicos (BRUCHEZ *et al.*, 1998).

Resultados recentes, publicados por Aviv e colaboradores (2012), apresentam a síntese de núcleos de nanopartículas de óxido de bismuto revestidas de camada de albumina de soro humano (HSA). A radiopacidade das nanopartículas foi demonstrada *in vitro* e *in vivo* por um scanner CT. Estes autores pretendem no futuro estender este estudo para aplicações de imagem molecular (AVIV *et al.*, 2012).

Outra grande relevância dos PQs luminescentes em relação aos marcadores radiológicos, ainda muito utilizados em algumas áreas de diagnósticos clínicos, é a possibilidade de produção de materiais com baixo risco de contaminação, menor risco no manuseio dos PQs e a facilidade de armazenamento com elevado tempo de utilização (AVIV *et al.*, 2012).

### 3.6.2. *Pontos Quânticos Livres de Metais Pesados*

Os pontos quânticos (PQs) poderão impactar significativamente o desempenho biomédico de diagnóstico de imagem na região do infravermelho próximo (NIR, do termo em inglês *near-infrared*), fornecendo sondas fluorescentes que são mais brilhantes que os corantes orgânicos convencionais com imagens estáveis. Estes exibem altos coeficientes de extinção molar, rendimentos de fotoluminescência ( $\Phi_f$ ) e quântica (QYs) e fotoestabilidade. Seus espectros de emissão podem ser ajustáveis em função do diâmetro e composição das nanopartículas. O rendimento quântico de fotoluminescência ( $\Phi_f$ ) basicamente pode ser definido pelo número de fótons que são emitidos pelo número de fotos que foram absorvidos. Como mostra a equação 6, o rendimento quântico mede a probabilidade de o estado excitado ser desativado pelo fenômeno da fluorescência, perda

de energia pela emissão de fótons, e não por outros fenômenos não radiativos como conversão interna ou relaxação vibracional. Quanto menor a taxa não radiativa, maior o valor do rendimento quântico, de modo que  $0 \leq \Phi_f \leq 1$ .

$$\frac{\Gamma}{\Gamma + K_{nr}} \quad (6)$$

Onde:

$\Gamma$  é a taxa de emissão radiativa e  $K_{nr}$  a taxa de emissão não radiativa

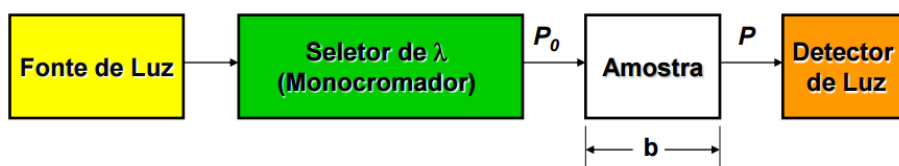


Figura 3-14– Diagrama Esquemático de um experimento espectrofotométrico

Diagrama esquemático de um experimento espectrofotométrico

No entanto, a toxicidade dos componentes de NIR emissores de pontos quânticos de grupos de semicondutores, tais como II-IV e IV-VI de metais pesados tóxicos (Cd, Hg, Te, Pb, etc.) realizados até agora, tem sido o principal obstáculo para o uso clínico de pontos quânticos (PQs).

Mesmo com os extraordinários avanços no desenvolvimento de PQs nas últimas décadas, alguns desafios ligados a áreas da química, física e biológicos, tais como solubilidade em meio aquoso, compatibilidade de meios biológicos, nanocristais de alta qualidade de luminescência, possibilidade funcional na superfície e características de baixa toxicidade, precisam ser investigados e amplamente abordados pela comunidade científica, com resultados de sua utilização segura em aplicações em biomateriais, aplicações ambientais e farmacêutica

Trabalhos recentes apresentam rotas aquosas de sínteses de PQs com estruturas núcleo/casca livres de metais pesados. Em algumas publicações mostra-se que *in vitro* de toxicidade de PQs de CdSe depende fortemente da presença de um invólucro de semicondutor tipo ZnS, capaz de retardar a liberação de íons de  $\text{Cd}^{2+}$  para o ambiente celular e a proteção do PQ contra a oxidação (LEWINSKI; COLVIN; DREZEK, 2008).

### 3.7. Síntese de Pontos Quânticos de Semicondutores.

De forma geral, PQ compostos de materiais semicondutores podem ser sintetizados por três processos distintos:

- a) combinação dos elementos em altas temperaturas;
- b) reação de cátions metálicos com calcogenetos em solução aquosa;
- c) métodos de precursores moleculares.

O processo (a) requer um grande consumo de energia e não permite um bom controle de tamanho dos nanocristais. O produto resultante tipicamente se encontra fora da faixa nanométricas.

A reação do cátion metálico (b) com os calcogenetos envolve borbulhar o gás do precursor ( $H_2E$ ;  $E = S, Se \text{ e } Te$ ) em uma solução aquosa. Apesar de realizados à baixa temperatura, envolvem a manipulação dos gases  $H_2E$  altamente tóxicos.

O processo de obtenção de nanomateriais consta na literatura desde 1857, quando Faraday relatou a síntese do ouro coloidal. A partir dessa época, e até os dias atuais, vários métodos de preparação de nanopartículas metálicas empregadas como catalisadores vêm sendo desenvolvidos. Em geral, essas rotas são conhecidas como método *top-down*, que utiliza técnicas físicas em que os nanocristais podem ser crescidos por litografia, e método *bottom-up*, que emprega técnicas de química coloidal. Por meio de técnicas físicas, é possível produzir grande quantidade de material. Rota química coloidal possibilita obter nanocristais com tamanhos relativamente uniformes, apesar de ser possível produzir apenas pequenas quantidades do material.

A partir da síntese de PQ descrita em 1982 por Efros e Ekimov, grande variedade de métodos tem sido relatada para a preparação de PQ em diferentes meios, incluindo a solução aquosa, de alta temperatura de solventes orgânicos e deposição de filmes moleculares em substratos sólidos.

#### 3.7.1. Síntese de Pontos Quânticos via Rota Coloidal Aquosa

Sistemas coloidais são soluções de “grandes moléculas”. O coloide é grande se comparado com a molécula do solvente, mas pequeno o suficiente para exibir movimento browniano. Os limites superiores e inferiores do tamanho não são tão bem definidos. De

acordo com a terminologia da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), uma dispersão coloidal consiste em uma solução contendo partículas dispersas nas quais pelo menos uma das dimensões está entre 1  $\mu\text{m}$  e 1 nm em um solvente (dispersante) (ATKINS, 2001). Caso as partículas em dispersão sejam maiores do que 1  $\mu\text{m}$ , o sistema é denominado de suspensão coloidal. O sistema que interessa é, com essa definição, uma dispersão coloidal.

Dispersões coloidais tendem a ser termodinamicamente instáveis devido à alta energia livre de superfície, além de ser um sistema irreversível, no sentido de que a dispersão não é facilmente reconstituída após a separação de fase. A dispersão coloidal é, portanto, um sistema de duas fases. Têm-se a fase dispersa (fase que forma as partículas) e a fase contínua (meio onde as partículas estão distribuídas ou suspensas). Se a fase dispersa não é de natureza polimérica, a dispersão coloidal recebe o nome de “sol” e sua fase contínua é um líquido chamado de “liosol”. Um sol é denominado “monodisperso” quando todas as partículas têm o mesmo tamanho, ou uma dispersão de tamanhos pequenos, e polidispersos no caso contrário (ATKINS, 2001).

Esse método utiliza-se de soluções precursoras, levando à obtenção de coloide, em que as nanopartículas formadas permanecem homoganeamente dispersas no solvente adequado. Uma grande vantagem desse método é a versatilidade devida à possibilidade de controle fino de vários parâmetros de síntese e custo relativamente baixo.

A síntese por precipitação envolve processos elementares:

- a) Nucleação;
- b) Crescimento e agregação (e/ou coersão) de partículas.

Os pontos quânticos têm sido obtidos, a partir da química coloidal, por meio de uma variedade de técnicas experimentais. Diversas rotas sintéticas têm sido propostas com o objetivo de aperfeiçoar e simplificar os métodos de síntese já existentes e, assim, tornar possível a obtenção de nanocristais com uma distribuição estreita de tamanhos, alta cristalinidade e com baixo nível de defeitos de superfície (MANSUR *et al.*, 2012).

O método “ideal” de síntese de PQs de semicondutores deverá permitir a preparação de nanopartículas que apresentam uma uniformidade de composição, forma, dimensão, estrutura superficial estável. Consequentemente, a utilização de PQs requer a preparação de nanocristais monodispersos e amostras bem caracterizadas, permitindo obter variações das propriedades físicas em função do tamanho dos PQs.

A obtenção de uma amostra em que os nanocristais se apresentem com reduzida dispersão de dimensão só é possível se o procedimento de síntese assegurar uma elevada velocidade

de nucleação e uma baixa velocidade de crescimento das partículas. São vários os procedimentos de preparação atualmente conhecidos, sendo, neste trabalho, o destaque para a rota coloidal aquosa, por permitir a obtenção de amostras com as qualidades acima referidas e compatíveis com sistemas biológicos.

Um dos primeiros métodos de preparação de partículas de reduzidas dimensões (com aproximadamente 5nm) de elementos dos grupos II-VI da tabela periódica foi preparado por rotas coloidais. Um exemplo típico é a síntese de PQs de CdS, por precipitação em fase homogênea a partir de soluções aquosas de CdSO<sub>4</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S (ROSSETTI *et al.*, 1985). Dado que a solubilidade do CdS, em água, é extremamente reduzida, é por isso possível obter tais partículas partindo de soluções muito diluídas dos referidos íons. As dimensões e propriedades das partículas produzidas são determinadas pela extensão de dois processos elementares: formação dos núcleos de cristalização (cristalitos) e sua agregação.

Nesse contexto, o método de síntese deve tornar possível controlar o processo de crescimento do cristal e assegurar que esse processo seja interrompido imediatamente depois de os pequenos germens cristalinos estarem completamente nucleados de forma homogênea. Impede-se, assim, a agregação desses cristalitos, limitando-se o consequente aumento do tamanho das partículas e reduzindo-se a dispersão dos tamanhos das partículas formadas.

A estabilidade dos cristalitos é determinada pelo equilíbrio dinâmico do processo descrito pela reação, representada na equação 7:



Na primeira fase elementar de formação dos núcleos de cristalização, o método de síntese deve assegurar que os cristais de menores dimensões não sofram um processo de dissolução espontânea, fenômeno conhecido como *Ostwald ripening*. Como os cristais de menores dimensões apresentam uma razão área/volume superior à dos cristais de maiores dimensões e, por isso, maior energia livre superficial, tal torna-os menos estáveis e, assim, servem de "nutriente" para o processo de crescimento dos cristais de maiores dimensões. A solubilidade dos cristais de menores dimensões pode ser reduzida e o consequente tempo de vida aumentado pela apropriada escolha dos solventes, da temperatura e do pH do meio reacional. Portanto, num solvente que apresente uma constante dielétrica inferior ao da água, o equilíbrio descrito pela equação (7) desloca-se no sentido da formação de

CdS devido à redução da estabilidade dos íons, indicados na referida equação, evitando-se, desse modo, a dissolução dos cristais. Quanto aos valores mais elevados de pH, a solubilidade dos sulfetos dos metais apresenta um valor mais baixo e assiste-se, desse modo, ao deslocamento do equilíbrio da referida equação no sentido da formação do respectivo sulfeto metálico (ROSSETTI *et al.*, 1984).

É também exigido que a formação de PQs via rota coloidal não evolua no sentido da agregação das partículas ou mesmo em sua posterior precipitação. O modo mais simples de se estabilizarem as partículas da solução coloidal é via de repulsão eletrostática (ROSSETTI *et al.*, 1985). Esse fenômeno ocorre com maior intensidade em solventes polares, em que as espécies de determinado íons apresentam-se em excesso na solução, originando, em sua vizinhança, uma nuvem de íons de carga oposta, que são assim atraídos para a superfície dos cristalitos carregados. Esse modo de estabilização não permite a obtenção de soluções coloidais com elevada concentração e o processo de agregação das partículas decorre em curto intervalo de tempo.

Usando-se agentes estabilizantes em elevados valores de pH, contendo grupos tiol, como o ácido 3-mercaptopropiônico em excesso de íons de  $\text{Cd}^{2+}$ , para sistema de CdTe, (ZHANG; ZHOU; YANG, 2003) e poliméricos orgânicos com grupo OH, poli (álcool vinílico) (PVA), em PQs de CdS, pode-se melhorar bastante a estabilidade coloidal (MANSUR, 2010).

Foi confirmado experimentalmente, a partir de medidas ópticas de fotoluminescência, que as nanopartículas de semicondutores possuem um grande número de estados com energias dentro da banda de energia proibida, devido à existência de defeitos de superfície e de ligações suspensas. Esses estados de superfície têm enorme influência nas respectivas propriedades ópticas e, em particular, na fotoluminescência das nanopartículas de semicondutores, funcionando como centros de decaimento não radiativo. A existência e a extensão desses centros podem ser eliminadas ou minimizadas pela utilização de agentes estabilizantes que estabelecem ligações com esses estados de superfície, sendo tal processo usualmente designado como passivação (*passivation*). As propriedades fotoluminescentes podem ser significativamente melhoradas por esse processo de estabilização (PAN *et al.*, 2005).

A Figura 3.14 apresenta imagens de amostras de PQs produzidas por dispersões coloidais aquosas com diferentes cores de emissão, em função do tamanho das nanopartículas, bem como os espectros de absorção óptica UV-Vis e de fotoluminescência (PL).

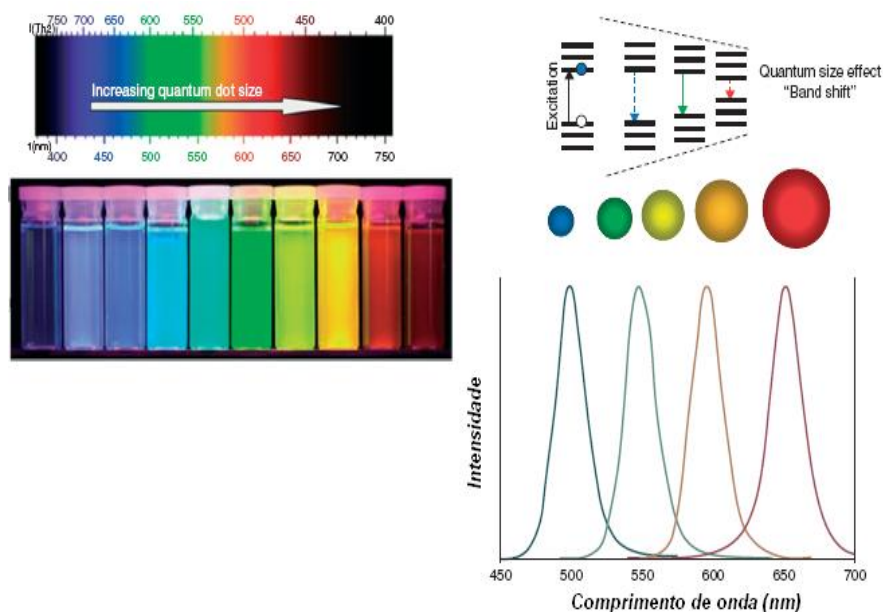


Figura 3.15– Esquema de amostras de PQ produzidas por dispersões de PQ com diferentes cores de emissão.

Fonte: Adaptado de MANSUR, 2010.

### 3.7.2. Agente Estabilizante Quitosana e Carboximetilquitosana na Síntese de PQs

O uso de polímeros como agentes estabilizantes nas rotas de síntese de nanopartículas de semicondutores deve-se à presença de grupos orgânicos (hidroxila, carbonila, carboxila, amina, tióis, etc.). A presença de grupos polares ao longo da cadeia polimérica pode promover a interação intermolecular com os defeitos superficiais da rede de cristalina das nanopartículas. As ligações intermoleculares entre grupos orgânicos presentes na cadeia polimérica e nanopartículas, além de estabilizar termodinâmica e estericamente seu crescimento, também promovem sua passivação (ALIVISATOS, 1996), que consiste na eliminação de níveis de energia na região do *band gap* do semicondutor. Esse processo de passivação é um importante mecanismo para elevar o rendimento quântico de fluorescência de nanopartículas

A quitosana (QUI) (FIG. 3.15) pode ser obtida, geralmente, pelo processo de desacetilação da quitina em pH alcalino. Nessa reação, os grupos acetamidos das unidades de repetição acetil-glicosamino (GlcNAc) da estrutura primária da quitina são modificados em grupos amina. Essa reação origina a quitosana. A quitosana é um polímero atóxico, biodegradável e biocompatível, que desperta inúmeros trabalhos

científicos pela facilidade de modificações estruturais, com propriedades físico-químicas e biológicas compatíveis com metabolismos biológicos. A quitosana, como derivado natural da quitina, e devido à sua natureza única policatiônica, permite ampla aplicação tal como purificação de água residual, atividades antifúngicas, principalmente pelo de menor toxicidade para as células de mamíferos (YU-LAN HU *et al.*, 2011).

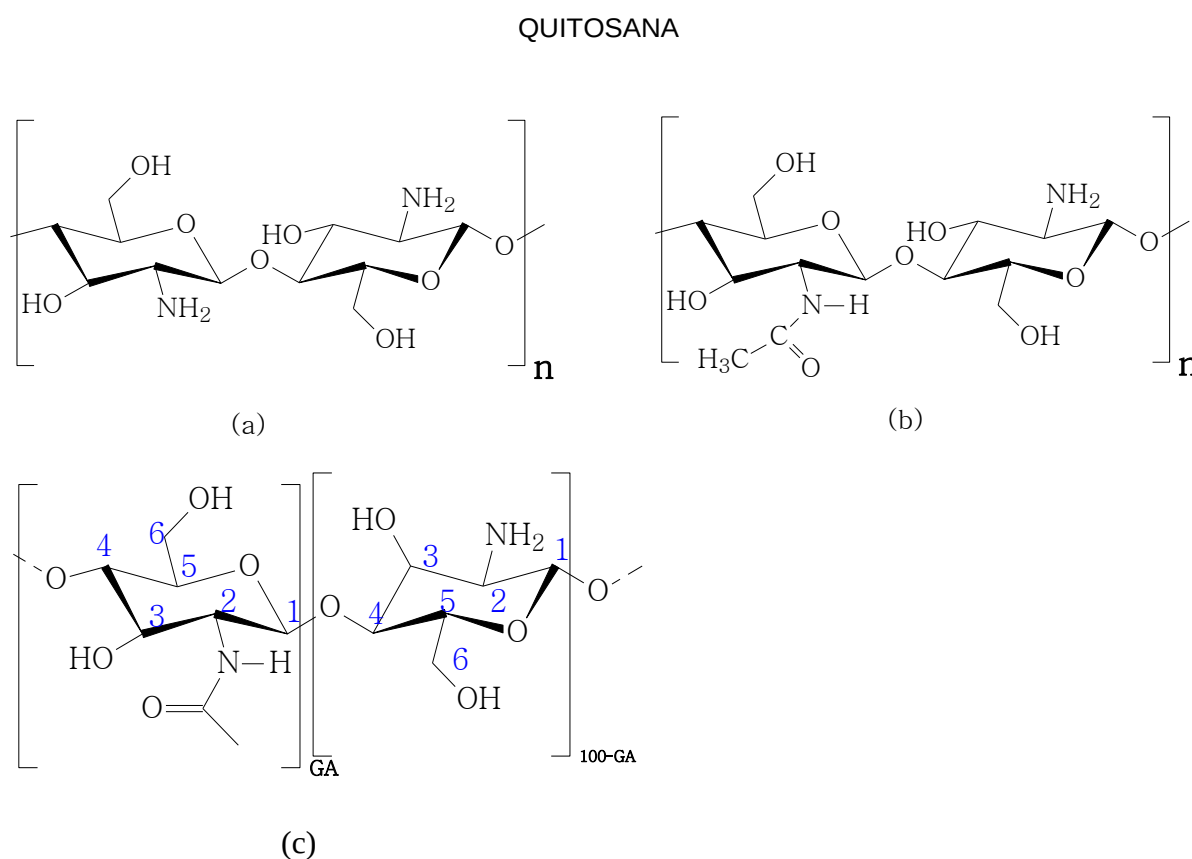


Figura 3.16– Representação esquemática da estrutura primária quitosana: (a) grau desacetilação 100%, (b) grau de desacetilação maior ou igual a 60%, (c) grau médio de acetilação do copolímero.

Fonte: YU-LAN HU, QI, *et al.*, 2011.

### 3.7.2.1. Processo de carboximetilação da quitosana

Uma das limitações de aplicações da quitosana é sua solubilidade apenas em meios ácidos. Modificações nos grupos funcionais ao longo da cadeia poliméricas são passíveis de serem realizadas para melhorar algumas propriedades, tais como solubilidade,

interações com grupos orgânicos e substâncias inorgânicas, quando comparadas à quitosana de origem. Entre vários processos de modificação, a reação de carboximetilação permite preparar derivados solúveis de quitosana, em uma ampla faixa de pH (CHEN; PARK, 2003).

Com o controle estequiométrico dos reagentes e condições de reações, como pH e temperatura, a carboximetilação da quitosana permite a produção de derivados O-carboximetilquitosana (O-CMC) N-carboximetilquitosana (N-CMC) ou N,O-carboximetilquitosana (N,O-CMC). A reação também permite obter derivado com substituição nos grupos amino da quitosana (N,N-CMC) (CHEN; PARK, 2003; FARAG; MOHAMED, 2013; ABREU *et al.*, 2013).

Em consequência da baixa solubilidade da quitosana em pH alcalino, condição indispensável no preparo de pontos quânticos de determinados semicondutores, como, por exemplo ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, neste trabalho foi desenvolvido método laboratorial no sentido de obter a quitosana modificada, derivada carboximetilquitosana (O-CMC) solúvel em ampla faixa de pH. A proposta de modificação utiliza de condições favoráveis à produção de O-CMC, pois trata-se de derivado polieletrólito de caráter anfótero que possui grupos com cargas negativas e positivas, consequência da disposição dos grupos carboximetil, e protonação dos grupos amino, respectivamente.

Como mencionado anteriormente, a quitosana apresenta aplicações limitadas por problemas de hidrossolubilidade em meio neutro, condição necessária para aplicações e biomateriais em que enzimas fisiológicas exercem sua atividade (KUBOTA, *et al.*, 2000) e em soluções aquosas alcalinas, pH>7,0. As sínteses de modificações químicas na estrutura primária da quitosana permitem aplicações em grande faixa de pH. A quitosana é um polissacarídeo biopolimérico que pode apresentar estrutura primária com presença de grupos orgânicos hidroxila, amino e amida, que permitem obter mudanças de cargas ao longo da cadeia polimérica, denominado de polieletrólito. Em presença de solventes polares, a quitosana apresenta cargas negativas, e a carboxometilquitosana cargas positivas e negativas (MILAS, 1991).

A carboximetilação da quitosana pode levar à síntese de diferentes derivados O-,N- ou N,O- substituídos ou mesmo à diss substituição nos grupos amino, N,N-substituídos, de acordo com as mudanças das condições dos reagentes utilizados na síntese de carboximetilação (ABREU; CAMPANA-FILHO, 2009).

A carboximetilquitosana (FIG. 3.16) é um  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glucano polieletrólito com amplas possibilidades de aplicações, pela versatilidade das propriedades físicas, químicas e biológicas (ABREU; CAMPANA-FILHO, 2009).

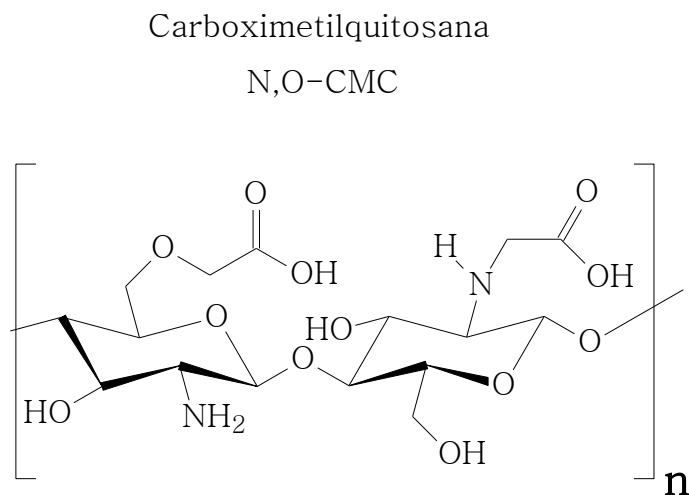
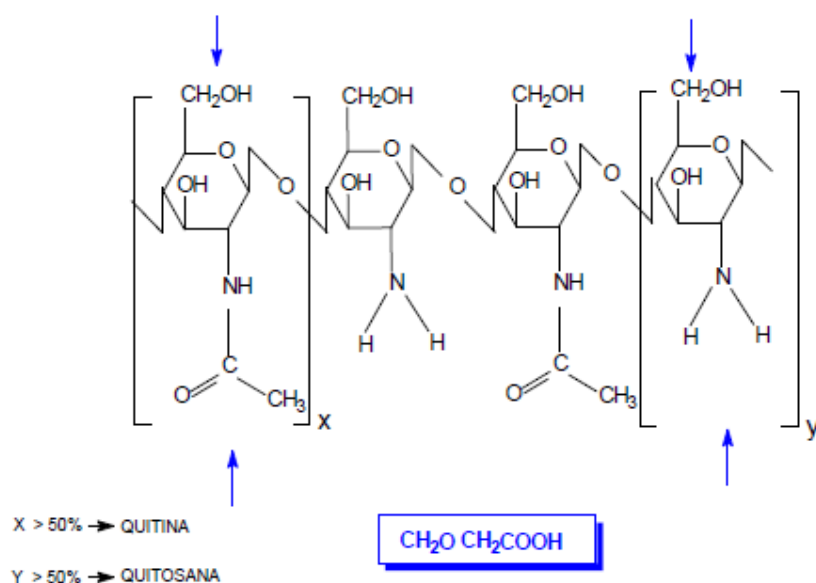


Figura 3.17– Representação da estrutura primária da N,O-carboximetilquitosana (N,O-CMC).

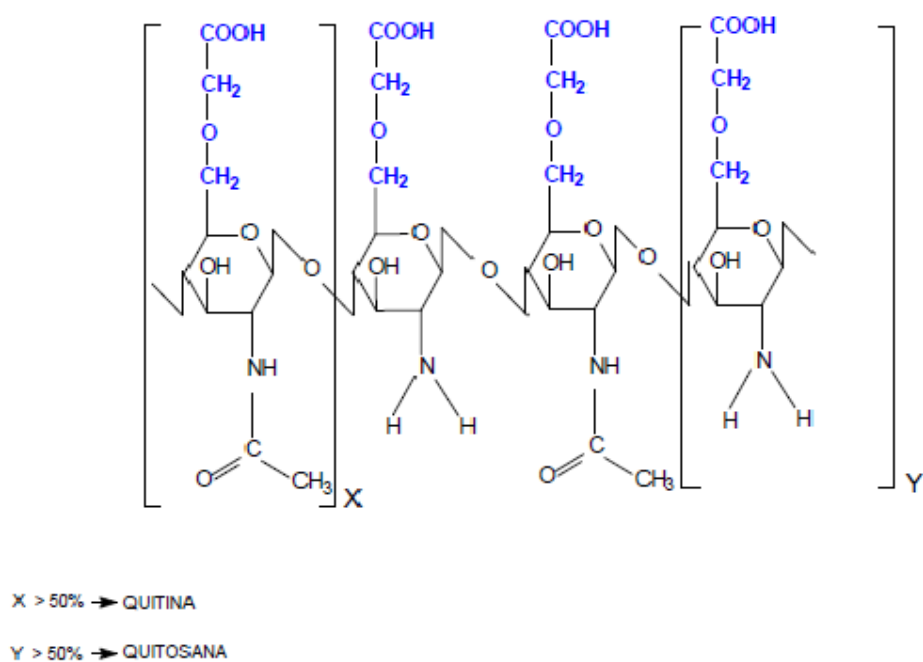
Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Liu e colaboradores (2001) obtiveram derivados hidrossolúveis N,O-carboximetilquitosana (N,O-CMC) e S-carboximetilquitosana (S-CMC) em síntese de quitosana suspensa em propanol-2 e adição de solução alcalina de hidróxido de sódio, 10 mol.L<sup>-1</sup> (LIU *et al.*, 2001).

Sini e colaboradores (2009) obtiveram a carboximetilação da hidroxila na posição C6 da quitosana por síntese em solução alcalina de NaOH e ácido monocloroacético na presença de solvente isopropanol. Segundo estes autores, a seletividade da reação nessa posição da estrutura primária da quitosana é obtida pela presença do isopropanol e solução aquosa de NaOH 50% com o agente carboxílico, ácido monocloroacético, conforme a Figura 3.17. Após a síntese de obtenção da O-carboximetilquitosana, ocorre a neutralização do sal com ácido e lavagem com etanol.



(A) Ilustração das possibilidades de reação da quitina/quitosana com o ácido monocloroacético



(B) Ilustração das possibilidades de reação da quitina/quitosana com o ácido monocloroacético favorecida pelo uso de álcool isopropílico em meio fortemente alcalino

Figura 3.18– Estruturas químicas da Carboximetilquitosana em diferentes possibilidades de substituição.

Fonte: Adaptado de ABREU e CAMPANA-FILHO, 2009

A Figura 3.18 apresenta formas quimicamente modificadas da quitosana, as quais permitem novas possibilidades de aplicações da quitosana e suas derivações. A carboximetilação, em meio fortemente alcalino, permite obter o derivado O-CMC pela

reação das hidroxilas; em caso inverso, a reação ocorre nos grupos amino, e o produto final será a N-CMC (BAUMANN, 2001).

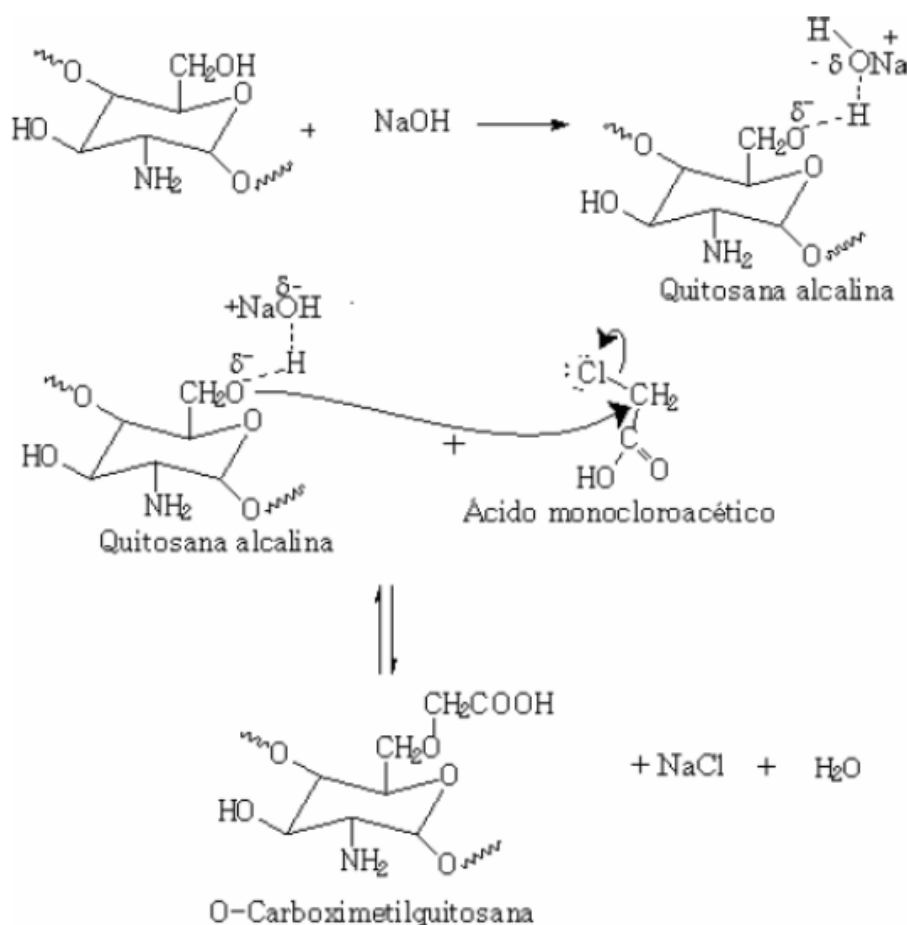


Figura 3.19– Representação esquemática da substituição da quitosana em O-carboximetilquitosana

Fonte: Adaptado de ABREU e CAMPANA-FILHO, 2009.

### 3.7.2.2. Caracterização da Carboximetilquitosana

Dados da literatura mostram que dois sítios ativos diferentes são disponíveis para síntese de carboximetilação da quitosana, grupos hidroxila ligados a C<sub>3</sub> e C<sub>6</sub> da unidade de repetição glucopirranose, bem como o grupo amino ligado a C<sub>2</sub>. Os dados da literatura mostram também que a carboximetilação da quitosana ocorre em C<sub>2</sub> e C<sub>6</sub> quando a reação é controlada em meio fortemente alcalino e com variação da temperatura elevada a temperatura ambiente (ABREU; CAMPANA-FILHO, 2009).

Chen e Park (2003) sintetizaram carboximetilquitosana em condições variáveis. A síntese foi preparada por reação química por dispersão de quitosana em isopropanol e água com

ácido monocloroacético sob várias condições a estrutura química foi analisada por FTIR e RMN. A solubilidade dos CMCs obtidos variou com as condições de modificações e o grau de carboximetilação final. Os CMCs preparados à temperatura entre 0-10°C se mostram solúveis em água. No entanto, as CMC preparadas entre 20 e 60°C foram insolúveis em água a pH quase neutro. A solubilidade em água do CMC em diferentes valores de pH variou com o grau de carboximetilação. O aumento da temperatura de reação aumentou a fração de carboximetilação e aumentou a insolubilidade em valores de pH inferiores; o aumento da proporção de água/isopropanol, no solvente da reação, diminuiu a fração de carboximetilação e aumentou a insolubilidade em valores de pH mais altos (CHEN; PARK, (2003). A Tabela 4 apresenta diferentes condições de reação e as frações de CMC solúveis obtidos.

*Tabela 3 - Condições de reação na síntese de CMC.*

| Amostra | % água/isopropanol<br>V/V | Temperatura<br>(°C) | CMC solúvel em água/taxa<br>de produção (%) |
|---------|---------------------------|---------------------|---------------------------------------------|
| CMC-01  | 1/9                       | 0                   | 1,2                                         |
| CMC-02  | 1/9                       | 10                  | 12,8                                        |
| CMC-03  | 1/9                       | 20                  | 66,7                                        |
| CMC-04  | 1/9                       | 30                  | 72,7                                        |
| CMC-05  | 1/9                       | 40                  | 71,8                                        |
| CMC-06  | 1/9                       | 50                  | 81,0                                        |
| CMC-07  | 1/9                       | 60                  | 82,3                                        |
| CMC-08  | 0/10                      | 50                  | 49,6                                        |
| CMC-09  | 2/8                       | 50                  | 99,8                                        |
| CMC-10  | 5/5                       | 50                  | 98,6                                        |

Fonte: CHEN e PARK, 2003.

A Tabela 5 apresenta os resultados de solubilidade de CMC obtidos por CHEN (2003), em função do pH e temperatura de preparo.

Os autores apresentaram os resultados de solubilidade que variando com as condições da reação. As amostras de CMC apresentam uma região insolúvel em uma faixa de pH 5-7 em função das condições de síntese da CMC.

Tabela 4 - Solubilidade de CMC

| Amostra   | Temperatura (°C) | Solubilidade (pH)                                                                  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
|-----------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|
|           |                  | 1                                                                                  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| CMC-01    | 0                |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
| CMC-02    | 10               |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
| CMC-03    | 20               |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
| CMC-04    | 30               |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
| CMC-05    | 40               |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
| CMC-06    | 50               |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
| CMC-07    | 60               |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |
| Quitosana | —                |  |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |

Fonte: CHEN e PARK, 2003.

Tabela 5- Módulos vibracionais da QUI e CMC

| Banda                             | $\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) | Banda                              | $\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> )    |
|-----------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Amida I (-C=O-NH <sub>2</sub> )   | ≈ 1650 e 1630                   | Amida II (-C=O-NH <sub>2</sub> )   | ≈ 1550 e 1560                      |
| Amida III (-C=O-NH <sub>2</sub> ) | ≈ 1310                          | -N-H <sub>3</sub> <sup>+</sup> (s) | ≈ 3350 - 3100 e 2100 <sup>41</sup> |
| -N-H <sub>2</sub> (s)             | ≈ 3250 - 3350                   | -N-H <sub>2</sub> (b)              | ≈ 1590 - 1630                      |
| -O-H (s)                          | ≈ 3450                          | -O-H (b)                           | ≈ 1260 <sup>42</sup>               |
| -C-OH (s)                         | ≈ 1030 e 1070                   | -C-H <sub>2</sub> (b, sc)          | ≈ 1410 - 1420                      |
| -NH-C(O)-C-H <sub>3</sub> (s)     | ≈ 1380                          | -NH-C(O)-C-H <sub>3</sub> (b)      | ≈ 2860 - 2910                      |

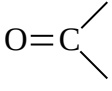
(a) s = estiramento (“stretching”); b = torção (“bending”); sc = (“scissor”).

Fonte: CHEN e PARK, 2003.

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) permite caracterizar e avaliar os grupos funcionais presentes na estrutura química das substâncias. As Tabelas 6 e 7 apresentam os principais modos vibracionais utilizados na identificação da quitosana e seus derivados.

A Figura 3.19 apresenta as estruturas da quitina, quitosana e carboximetilquitosana com os processos de síntese de modificação da quitina por desacetilação e obtenção da quitosana e, posteriormente, o processo de carboximetilação para obtenção da estrutura modificada da quitosana, na forma de carboximetilquitosana.

Tabela 6- Bandas de absorção e número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) característicos de quitosana e carboximetilquitosana.

|              | Banda                                                                             | $\nu/\text{cm}^{-1}$                   | Vibração                                  | Referência                                                        |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| QUI          |  | $1651 \text{ cm}^{-1}$                 | Estiramento assimétrico da carbonila      | Herman, Molecules. 2013.                                          |
|              | $\text{—NH}_2$                                                                    | $1590\text{--}1570 \text{ cm}^{-1}$    | Dobragem da amina primária desacetilada   | Herman, Molecules. 2013.                                          |
|              | $\text{—NH}_2$                                                                    | $1649 \text{ cm}^{-1}$                 | Flexão de NH em $\text{—NH}_2$            | YAN, H., <i>et al.</i> , 2011                                     |
|              | $\text{—CN}$                                                                      | $1157 \text{ cm}^{-1}$                 | Estiramento assimétrico em $\text{—CN}$   | YAN, H., <i>et al.</i> , 2011                                     |
|              | $\text{—C—O—}$                                                                    | $1064 \text{ cm}^{-1}$                 | Alongamento grupo $\text{—C—OH}$          | YAN, H., <i>et al.</i> , 2011                                     |
| CMC          | $\text{C—O—C}$                                                                    | $1156 \text{ e } 1071 \text{ cm}^{-1}$ |                                           | Yu, C., Yun-fei, L., Hui-min, T., carbohydrate Polymers, 75, 2009 |
|              | $\text{COO—}$                                                                     | $1620 \text{ cm}^{-1}$                 | Estiramento assimétrico da carbonila      | Yu, C., Yun-fei, L., Hui-min, T., carbohydrate Polymers, 75, 2009 |
|              | $\text{COOOH}$                                                                    | $1722 \text{ cm}^{-1}$                 | Indica ligação do grupo ácido carboxílico | YAN, H., <i>et al.</i> , 2011                                     |
|              | $\text{—NH}_3^+$                                                                  | $1512 \text{ cm}^{-1}$                 | Protonação grupo amina                    | YAN, H., <i>et al.</i> , 2011                                     |
| Na-O-CMC     |                                                                                   |                                        |                                           |                                                                   |
| Sal de O-CMC | $\text{COO—}$                                                                     | $1560 \text{ cm}^{-1}$                 | Estiramento assimétrico da carbonila      | YAN, H., <i>et al.</i> , 2011                                     |

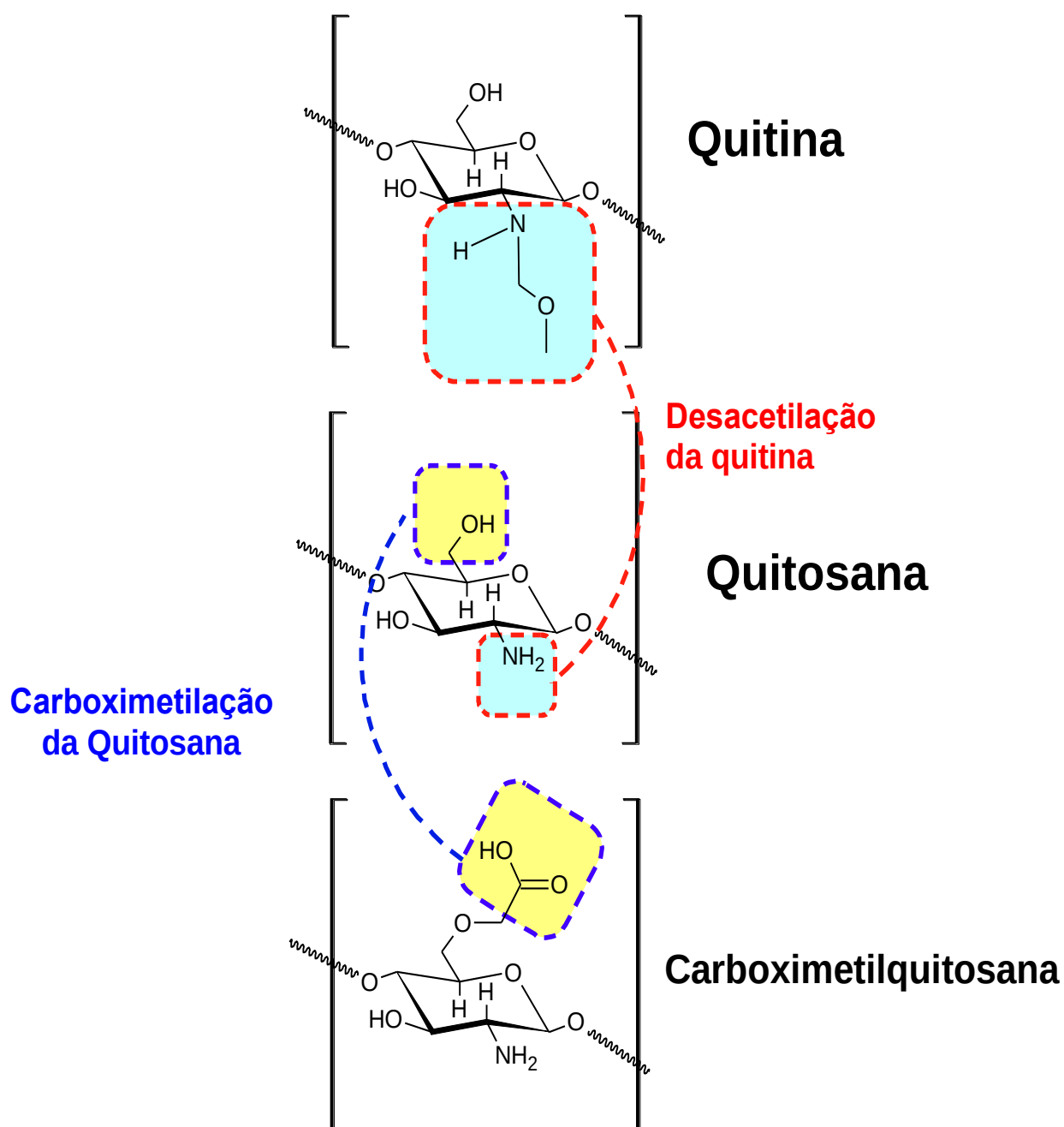


Figura 3.20– Representação da estrutura da Quitina, Quitosana e Carboximetilquitosana e processos de desacetilação e carboximetilação na obtenção quitosana e carboximetilquitosana.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

### 3.8. Síntese de PQs de ZnS

Manzoor e colaboradores apresentaram um típico processo de síntese de PQs *heavy-metal-free* luminescentes, com base em sulfeto de zinco dopado (ZnS), conjugada com estabilizante ácido fólico (AF). Esse processo foi apontado como promissor sistema *bio-friendly* para imagens orientada de câncer (MANZLOOR *et al.*, 2009). Segundo esses autores, os PQs de ZnS dopados foram preparados por um método simples aquoso, à temperatura ambiente. Difração de raio-X e estudos de microscopia eletrônica de transmissão mostraram a formação de PQs monodispersos de tamanho médio de cerca de 4nm com estrutura cristalina cúbica (esfalerita). Dopagem dos PQs com íons de metais ( $\text{Al}^{3+}$ ), metais de transição ( $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ) e fluoreto ( $\text{F}^-$ ) resultaram em sistemas com emissão multicolor, com dopante específico de cores desde azul (480nm) para vermelho (622nm). A citotoxicidade dos PQs conjugados foi testada *in vitro* em linha celular de fibroblastos. Segundo esses autores, os sistemas conjugados de ZnS não provocaram nenhuma toxicidade aparente, mesmo em altas concentrações em até 48 horas de incubação. Em contraste, PQs CdS, preparados sob condições idênticas, apresentaram toxicidade relativamente elevada, mesmo a baixas concentrações de cerca de  $0,1 \mu\text{M}$  ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e 24 horas de incubação (MANZLOOR *et al.*, 2009).

Mall e Kumar (2010) sintetizaram pontos quânticos luminescentes de ZnS dopados com íons de  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$  estabilizados com ácido 2-metilpropenoico (MAA, ácido metacrílico) com diâmetro entre 4 a 8nm. Os autores demonstraram, por espectros de energia dispersiva, EDS, a presença dos íons dos metais na estrutura dos PQs de ZnS. Os resultados apresentados mostram que as presenças dos íons como dopantes não afetaram o deslocamento da banda de energia proibida ( $E_g$ ). O deslocamento *blue shift* obtidos nos espectros de UV-vis, (FIG. 3.20) foram atribuídos apenas ao efeito da redução do tamanho dos PQs de ZnS. Os PQs com dimensões de 4,0nm apresentaram  $E_g$  de 3,9eV (318nm), energia superior ao material na forma estendida, *bulk*, de 3,67eV (338nm) (MALL; KUMAR, 2010).

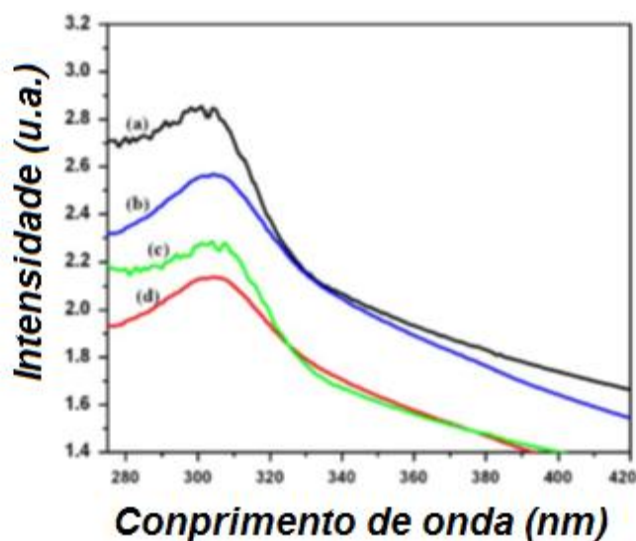


Figura 3.21– Espectros de UV-vis de (a) PQs de ZnS, (b) PQs de Mn-ZnS, (c) PQs de Cd-ZnS e (d) Cd-Mn-ZnS.

Fonte: MALL e KUMAR, 2010.

Cooper e colaboradores (2011) sintetizaram PQs de ZnS, ZnSe e CdSe em condições semelhantes de síntese com solventes orgânicos e método de injeção a quente, com temperatura de 300°C. Esses autores estudaram a influência das interações dos agentes estabilizantes nas propriedades dos pontos quânticos. Os estudos mostraram a interação e as características estruturais dos polímeros com a superfície e como eles interagiram com os PQs. Foram publicados estudos referentes à síntese de PQs de CdSe, ZnSe e ZnS com agentes estabilizantes em presença de grupos amina primária. Os resultados de FTIR, bem como RMN, UV-vis e espectroscopia de fluorescência e por microscopia eletrônica de transmissão TEM, demonstraram que polímeros com grupos amina primária apresentam maior interações por ligações de hidrogênio com os PQs de CdSe que nos PQs de ZnS, conforme demonstra a Figura 3.21 (COOPER *et al.*, 2011).

A Figura 3.22 apresenta o espectro de UV-vis e fotoluminescência dos PQs sintetizados. Para os PQs de ZnS, o éxciton aparece em cerca de 300nm, (4,13eV), com maior energia de *band gap* para o material *bulk*, de ZnS (3,68eV), que indica o efeito do confinamento quântico. O espectro de PL exhibe dois picos a 378 e 459nm, com deslocamento de Stokes de 0,85 e 1,43eV, respectivamente. Ao último previamente se atribuiu a emissão a partir de estados de vacância na superfície do PQs de ZnS.

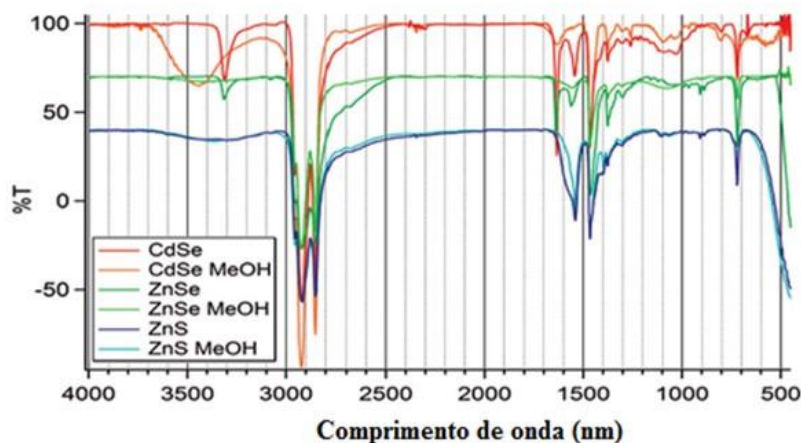


Figura 3.22– Espectros de FTIR dos PQs de ZnS, ZnSe e CdSe.

Fonte: COOPER *et al.*, 2011.

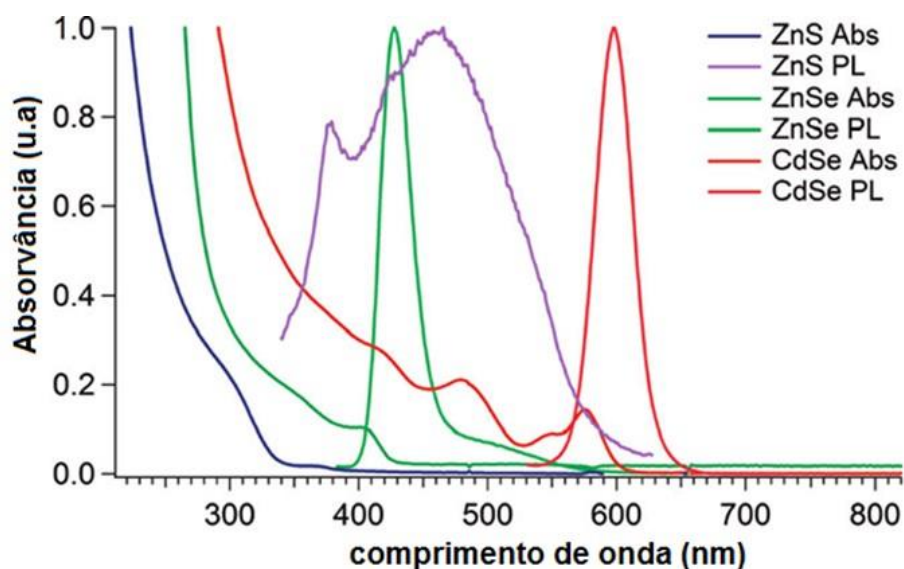


Figura 3.23– Espectros UV-vis e PL dos PQs de ZnS, ZnSe e CdSe.

Fonte: COOPER *et al.*, 2011.

Nath e colaboradores (2009) relataram a síntese de PQs de ZnS e ZnS: dopados com Cu por método químico à temperatura ambiente. Nessa técnica, os PQs de ZnS e ZnS:Cu foram produzidos por simples reações químicas, em que zeólita (ZSM-5) atuou como matriz e desempenhou papel fundamental no controle do crescimento de partículas durante a síntese. Os PQs de ZnS apresentam propriedades de luminescência, e os PQs ZnS:Cu eficiente eletroluminescência de baixa tensão. Este estudo demonstra a

importância da tecnológica de síntese de pontos quânticos semicondutores, preparados por rota química de baixo custo (NATH *et al.*, 2009).

Semicondutores apresentam propriedades únicas quando suas dimensões são menores do que a assim chamada "raio de Bohr" do éxciton ( $a_B$ ) do material semicondutor *bulk*. Isso ocorre devido ao efeito de confinamento quântico, que é essencialmente associado com a geração de um éxciton ("par elétrons/buraco"  $h^+/e^-$ ) pela radiação incidente. Assim, as mudanças na configuração do *gap* podem ser determinadas por meio da técnica de espectroscopia de UV-Vis, porque o "início absorvância" no espectro pode ser diretamente relacionado para o efeito quântico de tamanho. No artigo de Mall e Kumar (2010), estes estimaram o diâmetro médio dos PQs de ZnS por meio de equação que correlaciona a energia de *band gap* ( $E_{QD}$ ) em função do raio da nanopartículas. Veja-se a equação 8:

$$E_{QD}(R) = E_g(bulk) + \frac{\pi \hbar^2}{(2\mu R^2)} - \frac{1,786.e^2}{(\epsilon_r R)} + 0,284E_R \quad (8)$$

Onde:

R é o raio da partícula;

$\epsilon$  é a constante dielétrica e;

$m_{e^-}$  e  $m_{h^+}$  são as massas eficazes do par elétron/buraco, respectivamente.

O primeiro termo da equação acima representa a energia cinética do par elétrons/buraco; o segundo termo corresponde à interação de Coulomb; e ao último é atribuída a correlação entre duas partículas. Para nanocristais de ZnS, a aproximação de primeira ordem dá a boa relação entre o raio da partícula (r) e *band gap* ( $E_g$ ), conforme demonstra a equação 9. (JAISWAL *et al.*, 2011; CHENG *et al.*, 2012).

$$r(E_{QD}) = \frac{(0,32-2,9 \cdot \sqrt{(E_g-3,49)})}{2(3,50-E_g)} \quad (9)$$

Onde:

R é o raio da nanopartículas;

$E_{QD}$  é o *band gap* da nanopartícula.

Outros métodos podem também ser utilizados para determinar o intervalo de banda óptica ( $E_{QD}$ ), por exemplo, a relação *TAUC*.

Esse procedimento permite estimar o *band gap* ( $E_{QD}$ ) a partir de dados de coeficiente de absorção como uma função do comprimento de onda usando a Relação "TAUC" (TAUC; MENTH, 1972), como mostrado na equação 10.

$$\alpha h\nu = B(h\nu - E_{QD})^n \quad (10)$$

Onde:

$\alpha$  é o coeficiente de absorção;

$h\nu$  é a energia do fóton;

$B$  é o parâmetro empírico da fórmula;

$E_{QD}$  é o *band gap* da nanopartícula (Ponto quântico);

$n = 1/2$  para *band gap* direto e 2 para *band gap* indireto.

Para as sínteses dos PQs de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> abordadas neste trabalho, estes são PQs de semicondutores com *band gap* direto, neste caso,  $n = 1/2$ .

Portanto, pode-se estimar o valor *band gap* direto ao plotar as curvas  $(\alpha h\nu)^2$  *versus*  $(h\nu)$  e extrapolando a porção reta do gráfico do eixo x ( $h\nu$ ), isto é,  $\alpha=0$ , (linhas tracejadas na FIG. 3.23) (MANSUR *et al.*, 2014).

Deve-se salientar que estes são valores relativos geralmente comparados com o valor do *band gap* do material na forma expandida, *bulk* do semicondutor. No entanto, tem sido amplamente aceito como a forma mais precisa de estimar o tamanho médio da nanopartícula, por equações empíricas em função do  $E_{QD}$  do PQ.

Assim, reforçam-se as grandes possibilidades de síntese de PQs em diversos sistemas com uso de semicondutores livres de metais pesados tóxicos, Cd, Te, Se, Pb e Hg luminescentes para aplicações em biomateriais.

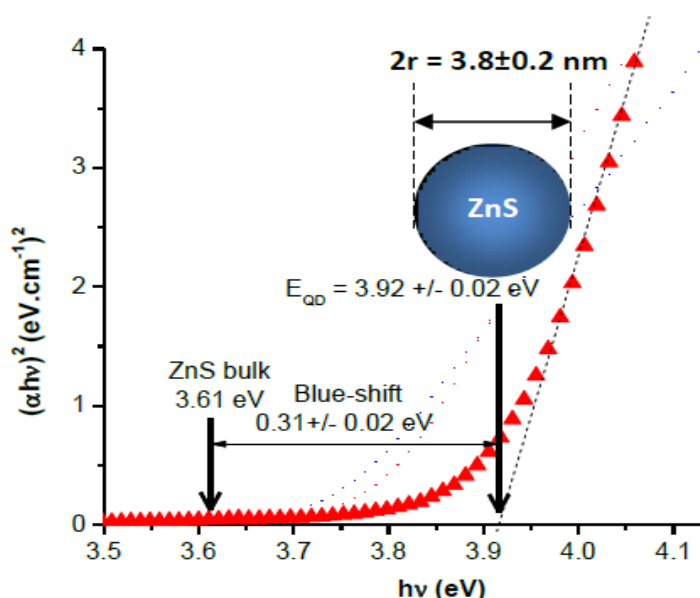


Figura 3.24– Curvas da Relação TAUC de PQs de ZnS.

Fonte: MANSUR *et al.*, 2014.

### 3.9. Síntese de PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>

O bismuto (Bi) é um metal quebradiço, de coloração prata, de baixo ponto de fusão e que reage com oxigênio somente a temperaturas elevadas. Na forma iônica, exibe principalmente os estados de oxidação Bi<sup>+3</sup> e Bi<sup>+5</sup>, sendo o primeiro o mais comum. O Bi requer um agente oxidante forte para alcançar o estado de oxidação +5, em compostos binários, e esse estado é alcançado somente com os elementos flúor (BiF<sub>5</sub>) e oxigênio (Bi<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Ambos os compostos são instáveis e excelentes agentes fluorantes ou oxidantes. Os íons Bi<sup>3+</sup> são instáveis em solução aquosa, como, por exemplo, o BiCl<sub>3</sub>, que reage prontamente com água, produzindo íons BiO<sup>+</sup>. No entanto, o processo pode ser revertido pela adição de solução de HCl 5 mol.L<sup>-1</sup> (GERRA; ALVES; SILVA, 2011). De fato, muitos compostos de bismuto sofrem decomposição em água, mas há exceções como os haletos BiF<sub>3</sub> e BiI<sub>3</sub>, que são solúveis. Cátions Bi<sup>3+</sup> formam vários complexos (ou compostos de coordenação). Geralmente, esses complexos possuem baixa solubilidade nos solventes mais comuns, dificultando uma caracterização espectroscópica abrangente (GERRA; ALVES; SILVA, 2011).

O hidróxido de bismuto III, Bi(OH)<sub>3</sub>, é uma base fraca; portanto, os sais de bismuto hidrolisam-se rapidamente; o íon bismutita, BiO<sup>+</sup>, forma sais insolúveis, como o cloreto de bismutita, BiOCl, com a maioria dos íons, mostrado na equação 11:



O íon metálico de Bismuto III em solução aquosa, Bi<sup>3+</sup><sub>(aq)</sub>, pode precipitar-se como hidróxido de bismuto III, Bi(OH)<sub>3</sub>, de cor branca, mediante adição de um excesso de amônia, conforme apresenta a equação 12.



As principais aplicações comerciais do bismuto se devem principalmente a suas características peculiares, tais como baixa toxicidade e o baixo ponto de fusão, sendo empregado na obtenção de produtos farmacêuticos, ligas de baixo ponto de fusão, produtos eletrônicos, cerâmicos, cosméticos e pigmentos de cosméticos, principalmente a espécie BiOCl. O composto Bi<sub>2</sub>Sr<sub>2</sub>Ca<sub>2</sub>Cu<sub>3</sub>O<sub>10+y</sub> é um supercondutor a 110K, uma

temperatura considerada elevada para essa área de estudo, indicando que cerâmicas contendo bismuto possam ser utilizadas no futuro.

Há um crescente interesse de pesquisas sobre semicondutores calcogenetos de metais, como sulfeto de bismuto III. Há inúmeras pesquisas sobre nanopartículas de semicondutores calcogenetos, em especial a espécie  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , que permite inúmeras aplicações, tais como termoelétricas convencionais e fotovoltaicas, para aplicações de imagens muito recentes de raios-X, calculados com base em tomografia (LU *et al.*, 2015). Nanomateriais tornaram-se cada vez mais importantes no desenvolvimento de novas sondas moleculares para imagens *in vivo*, tanto experimentalmente como clinicamente (JAFFER *et al.*, 2002). O uso de nanopartículas em testes de imagens tem incluído pontos quânticos semicondutores magnéticos, nanopartículas de ouro e nanoestruturas do tipo núcleo/casca, entre outros. No entanto, o uso de nanomateriais por uma das técnicas de imagiologia mais comum, a tomografia computadorizada (TC), manteve-se inexplorado. Agentes de contraste aplicados em TC atuais são constituídos de pequenas moléculas com a presença de iodo. Eles são eficazes em absorção de raios-X, mas a distribuição não-específica tem limitado bastante seu desempenho. Diante das limitações, pesquisas recentes propõem-se à utilização de nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizadas por polímeros como um agente de imagem CT injectável (RABIN *et al.*, 2006). Rabin e colaboradores prepararam excelentes nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  a elevadas concentrações de bismuto III ( $[\text{Bi}^{3+}]$  0,25 mol.L<sup>-1</sup>), com uma elevada absorção de raios-X (cinco vezes melhor do que o iodo), por longos tempos de circulação (> 2h) *in vivo* e um perfil de eficácia/segurança comparável ou melhor do que agentes de imagem iodados. Os autores demonstraram a utilidade dessas nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizadas com polímero para melhor visualização *in vivo* do sistema vascular, dos gânglios linfáticos e do fígado em ratos. Essas nanopartículas e seus bioconjugados deverão tornar-se um complemento importante para a imagem *in vivo* de alvos moleculares em condições patológicas.

Sulfeto de bismuto ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) é um semicondutor de *band-gap* praticamente direto com estrutura cristalina ortorrômbica. O *band gap* do material na forma estendida, *bulk* é 1,3eV (JI, *et al.*, 2008).

Peter e colaboradores (2003) sintetizaram nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  por precipitação em substratos de nanocristais eletrodos de  $\text{TiO}_2$  em sistema coloidal com 0,5mL de solução de iodeto de bismuto ( $\text{BiI}_3$  0,004 mol.L<sup>-1</sup>) em etanol anidro com adição de 2,5mL de ácido MPA. A solução foi passivada com fluxo de gás  $\text{N}_2$  e 0,5 mol de  $\text{H}_2\text{S}$ . Os PQs sintetizados apresentam comprimento de onda do éxciton em 373nm. A Figura 24 apresenta os

espectros de UV-vis e a derivada dos PQs preparados em sistema coloidal. As nanopartículas apresentaram banda de absorção do éxciton próximo a 390nm, com dimensões de 5nm de diâmetro, conforme mostra a Figura 25 (PETER *et al.*, 2003).

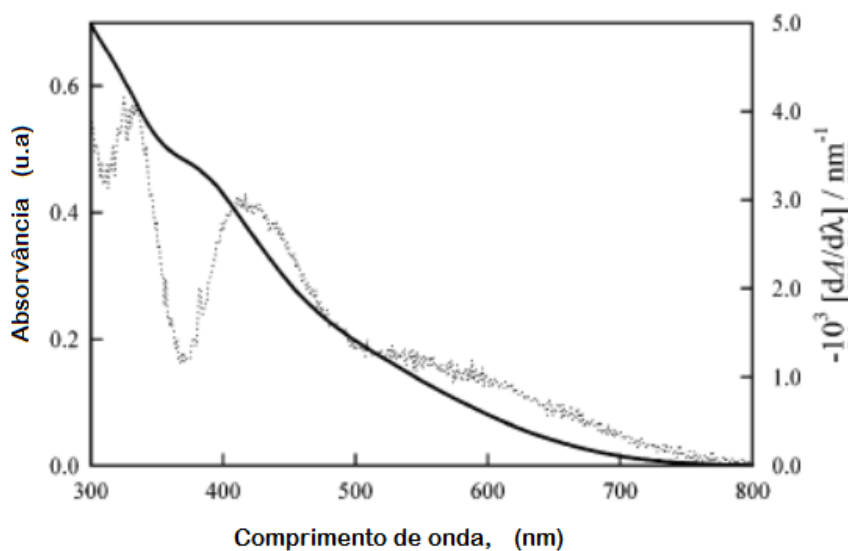


Figura 3.25 – Espectro de Uv-vis e derivada dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ .

Fonte: PETER *et al.*, 2003.

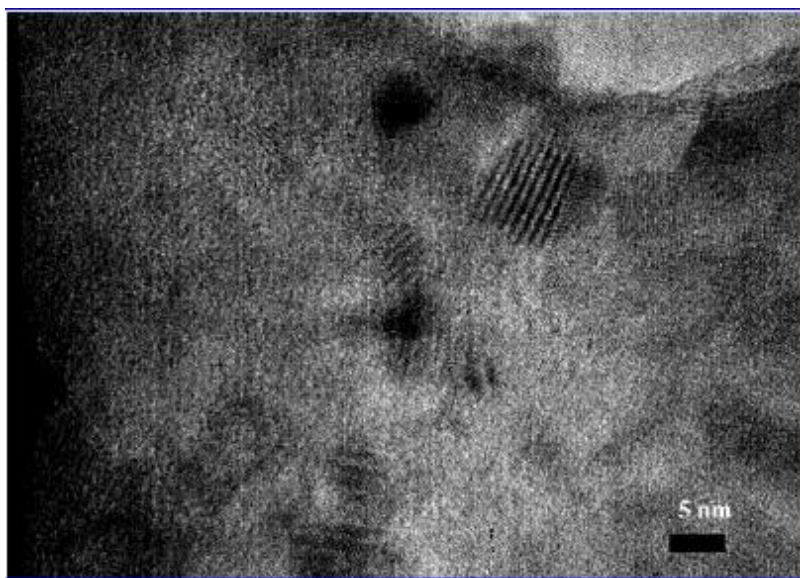


Figura 3.26 - MET de nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  preparadas por precipitação em substrato de nanocristais de  $\text{TiO}_2$ .

Fonte: PETER *et al.*, 2003.

Riley, Waggett e Wijayantha (2004) sintetizaram nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  sobre lâminas de vidro, revestidas por óxido de estanho. Após limpeza e hidrólise em solução aquosa de hidróxido de potássio  $5 \text{ mol.L}^{-1}$  por 2 horas, as lâminas foram então imersas em uma solução de etanol anidro contendo  $40 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$  de  $\text{BiI}_3$  e estabilizante com ácido mercaptopropiônico (3-MPA). Fluxo de argônio foi utilizado na solução por 30 minutos para remover o oxigênio.  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foi formado por injeção de  $0,5 \text{ cm}^3$  de  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $4,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  e agitação vigorosa. Usaram como agente estabilizador o Ácido mercaptopropiônico (3-MPA). A mistura em reação foi agitada por mais 40 minutos após ser lavada com etanol (RILEY; WAGGETT; WIJAYANTHA, 2004). Os resultados obtidos indicaram tamanho das nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  de  $4,1 \pm 1,0 \text{ nm}$  e  $3,0 \pm 0,6 \text{ nm}$  e *band gap*, de  $1,63 \pm 0,03 \text{ eV}$  e  $1,71 \pm 0,03 \text{ eV}$ , determinados pelo modelo de massas efetivas do confinamento quântico, conforme apresentam as equações 13 e 14 (CHENG *et al.*, 2012; PEJOVA; GROZDANOV, 2006):

$$\Delta E_g(R) = \left( \frac{h^2}{8m_0 R^2} \right) \left( \frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) \quad (13)$$

$$r_B = \frac{4\pi\hbar^2 \epsilon_r \epsilon_0}{e^2 m_0} \left( \frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) \quad (14)$$

Onde:

$E_{DQ}(R) = E_{gBulk} + \Delta E_g(R)$  Energia de *band gap* do ponto quântico;

R Raio da nanopartículas;

$r_B$  Raio de Bohr do éxciton do *bulk* de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ;

$\hbar$  Constante reduzida de Planck;

$h$  Constante de Planck;

$\epsilon_r$  Constante dielétrica relativa do *bulk* de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ;

$\epsilon_0$  Permissibilidade no vácuo;

$e^-$  Carga do elétron;

$m_0$  Massa do elétron;

$m_e^*$  Massa efetiva do elétron;

$m_h^*$  Massa efetiva do buraco;

$\Pi$  Valor de pi.

Por meio das equações 15 e 16, podem-se isolar e realizar cálculos algébricos e chegar-se à equação da variação da energia de *band gap* do PQs em função do raio da nanopartículas. Veja-se a equação 15.

$$\hbar = \frac{h}{2\pi} \therefore h^2 = \hbar \cdot 4 \cdot \pi^2 \quad (15)$$

Ao substituir equação 15, encontra-se a equação do raio de *Bohr do éxciton* expressa em nova forma:

$$r_B = \frac{4\pi h^2 \epsilon_r \epsilon_0}{\pi e^2 m_0} \left( \frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) \quad (16)$$

Com a substituição da equação 15 por 17, obtém-se a expressão matemática do diâmetro do PQs em função do raio de Bohr e variação da energia de *band gap* do PQs para nanopartículas de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>. Observe-se a equação 17:

$$\Delta E_g(R) = \left( \frac{r_B \cdot \pi e^2}{8 \epsilon_r \epsilon_0 R^2} \right) \quad (17)$$

A Tabela 8 apresenta os parâmetros utilizados nos cálculos do  $\Delta E_g$ .

Tabela 7 - Parâmetros referentes à relação do cálculo da energia de *band gap* em função do raio da nanopartículas de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>

|                               |                                                                 | Valor                      | Unid.                                            | Referência                     |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------|
| R                             | Raio da nanopartículas                                          |                            |                                                  |                                |
| h                             | Constante de Planck                                             | 6,62607.10 <sup>-34</sup>  | J.s                                              |                                |
| m <sub>0</sub>                | Massa do elétron                                                | 9,109389.10 <sup>-31</sup> | Kg                                               |                                |
| m <sub>e</sub>                | Massa efetiva do elétron                                        | 0,68                       |                                                  |                                |
| m <sub>h</sub>                | Massa efetiva do buraco                                         | 0,8                        |                                                  |                                |
| ε <sub>r</sub>                | Constante dielétrica relativa do Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub> | 10,9                       |                                                  | CANTARERO <i>et al.</i> , 1987 |
| E <sub>g<sub>bulk</sub></sub> | Bandgap do material bulk                                        | 1,33                       | eV                                               | CHENG <i>et al.</i> , 2012     |
| E                             | Carga do elétron                                                | 1,6.10 <sup>19</sup>       | C                                                |                                |
| r <sub>B</sub>                | Raio de Bohr do éxciton Bi <sub>2</sub> S <sub>3</sub>          | 24,2nm                     |                                                  | PEJOVA; GROZDANOV, 2006        |
| ε <sub>0</sub>                | Permissibilidade no vácuo                                       | 8,5.10 <sup>-12</sup>      | C <sup>2</sup> .J <sup>-1</sup> .m <sup>-1</sup> | MARTINS, 2010                  |

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Cheng e colaboradores (2012) sintetizaram sistema híbrido de nanopartículas de sulfeto de bismuto III e oxiclreto de bismuto, NCs-Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/BiOCl via rota de troca iônica. Segundo os autores, a técnica permite controlar o fornecimento de íons de bismuto III, Bi<sup>3+</sup> e liberação íons de sulfeto S<sup>2-</sup>, que desempenha um papel determinante no controle do tamanho da estrutura híbrida NCs-Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/BiOCl. O híbrido preparado mostrou atividade fotoluminescente e eficiência fotocatalítica em descontaminação de poluentes nocivos. A relação entre os produtos de solubilidades do Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> (K<sub>ps</sub> = 1,0x10<sup>-97</sup>) e BiOCl (K<sub>ps</sub> =

$1,8 \times 10^{-31}$ ) pode favorecer termodinamicamente a produção NCs-Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>, e uma reação parcial por troca iônica poderia facilitar o sistema híbrido de NCs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/BiOCl. A Figura 3.26 apresenta imagens de TEM das partículas sintetizadas (CHENG *et al.*, 2012).

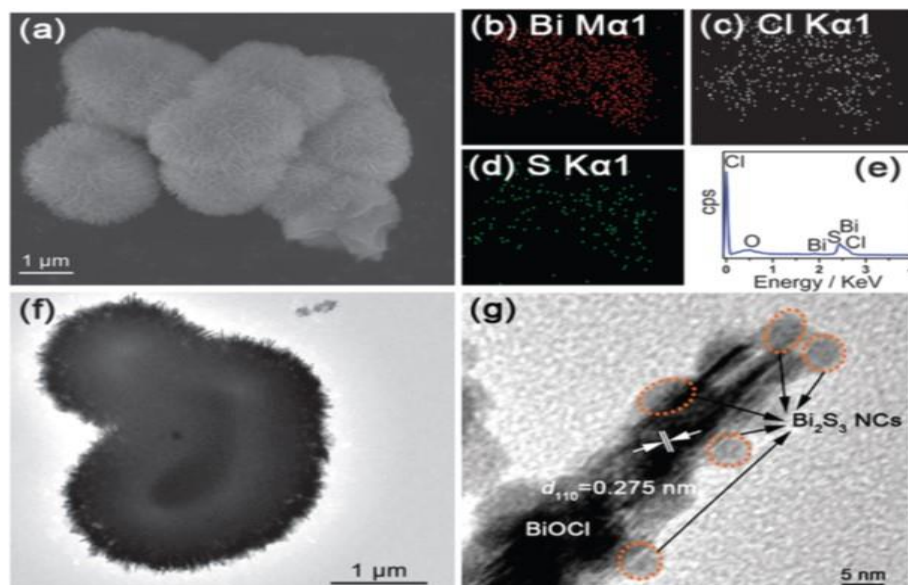


Figura 3.27 – Imagem típica de SEM (a, d) Mapeamento químico elementar, (e) EDS, (f) Imagens de TEM e (g) HRTEM de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/BiOCl

Fonte: CHENG *et al.*, 2012.

### 3.10. Aplicações Ambientais e Biológicas dos PQs.

Os pontos quânticos (PQs) são uma nova classe de nanomateriais semicondutores inorgânicos fluorescentes que apresentam propriedades ópticas, magnéticas e eletrônicas únicas, que conferem vantagens distintas sobre corantes orgânicos tradicionais em termos de grande coeficiente de extinção, características de emissão sintonizáveis, com espectros de emissão estreitos, elevado rendimento quântico e alta estabilidade fotoquímica (MANSUR, 2010). Apesar dos avanços extraordinários e inegáveis no desenvolvimento de nanopartículas nas últimas décadas, desafios para direcionar as aplicações de PQs, tais como solubilidade em água combinada com nanocristais de alta luminescência, funcionalização de superfície e características não-toxicidade, precisam ser mais amplamente abordados pela comunidade de investigação, incidindo sobre a utilização segura dessas aplicações em direção biomédica, ambiental e farmacêutica (KARAKOTI

*et al.*, 2015). Grande parte desse trabalho foi realizada com o objetivo de uso final de PQs em aplicações clínicas, mas grande quantidade de preocupação foi expressa sobre os perigos latentes de aplicações de PQs, principalmente devido ao teor de metais pesados nos nanocristais semicondutores, combinados com a possível toxicidade associada com a alta "área de superfície em relação ao volume", em comparação com as partículas na forma estendida, *bulk* do mesmo material (TSOI *et al.*, 2013). De fato, alguns pesquisadores estão convencidos que PQs sintetizados com metais pesados nunca poderão ter aplicações médicas e clínicas pela presença de núcleos altamente tóxico (Cd, Pb), o que seria de um comportamento imprevisível no corpo *in vivo* (TSOI *et al.*, 2013). Nesse sentido, a citotoxicidade de PQs é ainda altamente controversa com muitas perguntas sem respostas comprovadas. Diversos trabalhos interessantes e revisões abrangentes têm sido publicados recentemente na investigação da toxicidade dos PQs *in vitro* com diferentes linhas de células e *in vivo* utilizando animais de pequeno porte (HAUCK *et al.*, 2010).

A fim de reduzir a toxicidade potencial associada com o teor de metais pesados dos PQs, o interesse em semicondutores à base de calcogenetos de bismuto (por exemplo  $\text{Bi}_2\text{X}_3$ ,  $\text{X} = \text{S}, \text{Se}, \text{Te}$ ) tem intensificado nos últimos anos. Bismuto é um elemento extraordinariamente inofensivo, o que lhe rendeu o *status* de "elemento verde" e despertou grande atenção em áreas que variam de medicamentos para aplicações ambientais, como muitos compostos à base de bismuto que são ainda menos tóxicos do que sais alimentares comuns (por exemplo NaCl) (MOHAN, 2010). No entanto, a síntese dos nanomateriais  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  é mal pesquisada, tal como para a preparação de PQs coloidais (ARESTI *et al.*, 2014). Além disso, do ponto de vista de toxicidade, a biofuncionalização dos PQs com agentes estabilizantes tem sido utilizada como estratégia mais comum para torná-los biocompatíveis para aplicações biomédicas solúveis em água, que podem teoricamente apresentar um núcleo de semicondutores tóxicos com uma camada orgânica biocompatível (KARAKOTI *et al.*, 2015; MANSUR *et al.*, 2015). No entanto, além da solubilidade aquosa e da biocompatibilidade para aplicações biológicas, *in vitro* e *in vivo*, a funcionalização das superfícies dos PQs tem de satisfazer outros requisitos importantes, tais como a especificidade para o local alvo, a estabilidade bioquímica e a compatibilidade ambiental (MANSUR *et al.*, 2015).

Os materiais nanocompósitos à base de polissacarídeos chamaram muita atenção nas últimas décadas, para produção de bio-híbridos, principalmente devido à sua ampla gama de aplicações na indústria farmacêutica, biomédica, campos nutricionais e ambientais

(EL-SHERBINY; EL-BAZ, 2015). Os polissacáridos compreendem um grupo amino de polissacáridos, principalmente de origem animal, que contém unidades de açúcar aminados, mais frequentemente D-glucosamina e D-galactoseamine. Os polissacáridos, mais comuns aminoácidos naturais, incluem quitina, quitosana, sulfato de queratina, ácido hialurônico e heparina. No entanto, apesar de suas semelhanças em relação ao esqueleto de polissacárido, eles diferem significativamente por seus grupos funcionais químicos, como a quitina e a quitosana, que contêm grupos hidroxila, amino e acetileno, entre outros (FURDA, 2009). As principais razões para tal interesse crescente em quitosana e derivados dependem de: (a) propriedades biológicas únicas, físico-químicas (b) abundante fonte renovável de matéria-prima para sua produção; (c) suas propriedades intrínsecas, tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade e segundo as normas ambientais (JAYAKUMAR *et al.*, 2010; IL'INA; VARLAMOV, 2005; (UPADHYAYA *et al.*, 2013). Apesar da inegável importância da quitosana nos campos nutricionais, biomédicos e farmacêuticos, a mesma só é solúvel em condições ácidas, o que limita algumas de suas potenciais aplicações científicas e industriais em meio neutro e alcalino. Assim, mais recentemente, carboximetilquitosana (CMC) foi investigada devido à sua melhor solubilidade em água, melhoria da propriedade antibacteriana (LIU *et al.*, 2001), aumento da biocompatibilidade (CHEN *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2005) e segurança para o ser humano quanto à toxicidade (FU *et al.*, 2011; TOKURA *et al.*, 1996). Nesse sentido, a CMC tem sido utilizada na cicatrização de feridas, na engenharia de tecidos e aplicações de entrega de drogas (UPADHYAYA *et al.*, 2013). Nos últimos anos, a quitosana e sua forma derivada CMC têm sido referidas como sendo polímeros adequados para a produção de novos materiais bio-híbridos fluorescentes, uma vez que podem estabilizar nanocristais ultrapequenos de semicondutores em água e, ao mesmo tempo, criar uma concha orgânica multifuncional para biomédica e aplicações ambientais (MANSUR *et al.*, 2013; RAMANERY *et al.*, 2014., XIE *et al.*, 2005). Assim, a área de pesquisa de nanocristais semicondutores, também referidos como pontos quânticos coloidais (PQs), está a crescer a um ritmo muito rápido impulsionada principalmente pelos avanços significativos em nanociência e nanotecnologia com foco em optoeletrônica, catálise, biomedicina e aplicações ambientais *eco-friendly* (LESNYAK; GAPONIK; EYCHMÜLLER, 2013). Em particular, o interesse em materiais de *bandgap* estreitos, como calcogenetos de bismuto (por exemplo  $\text{Bi}_2\text{X}_3$ ,  $\text{X} = \text{S}, \text{Se}, \text{Te}$ ), tem se intensificado nos últimos anos, e os resultados da investigação apontam para as perspectivas realistas de aplicações para esses materiais em células solares e optoeletrônica infravermelho, por

exemplo: lasers, moduladores ópticos, e dispositivos fotodetectores foto imagens e em sistemas de imagem e biossensores biológicos, para nomear algumas (ARESTI *et al.*, 2014). Surpreendentemente, poucos estudos têm relatado a preparação de nanomateriais baseados em  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , tais como pontos quânticos, nanobastões (CHEN *et al.*, 2005) e uso em aplicações biomédicas e farmacêuticas (FANG *et al.*, 2012), mas nenhuma pesquisa que investiga bio-híbridos de quitosana ou carboximetilquitosana com  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foi encontrada na literatura consultada.

Assim, um dos objetivos do presente trabalho foi o desenvolvimento de um bio-híbrido inovador à base de biopolímero, combinando carboximetilquitosana (O-CMC) com nanocristais luminescentes de semicondutores de *band gap* estreito, como ZnS e  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ . Para esse efeito, um processo ecologicamente correto de desenvolvimento em único passo, à temperatura ambiente, foi concebido utilizando O-CMC como polímero durante a nucleação e o crescimento de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  ultrapequenos, formando nanoestruturas estáveis de núcleo-revestimento coloidal em dispersões aquosas. Esses nano-híbridos fotoluminescentes podem oferecer inúmeras possibilidades a serem exploradas, como fluoróforos para aplicações de bioimagens em biomedicina ou como catalisadores para aplicações de luz solar ambientalmente corretas.

## CAPÍTULO 4 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1. Seleção da Quitosana; Síntese de Carboximetilquitosana e caracterização dos produtos.

#### 4.1.1. Seleção da Quitosana

Utilizou-se a quitosana (QUI) comercial em pó (Aldrich, EUA, Massa Molar entre 310.000 e 375.000g/mol<sup>-1</sup>, com Grau de Desacetilação (DD)  $\geq$  75,0%, e viscosidade 800-2000 cPoise (1 % em 1 % ácido acético) na síntese dos PQs como agente estabilizante.

#### 4.1.2. Síntese da Carboximetilquitosana.

##### 4.1.2.1. Reagentes

Todos os reagentes e precursores são de alto grau de pureza (P.A.). Na síntese de modificação da Quitosana para obter carboximetilquitosana (CMC), utilizaram-se todos os reagentes e precursores de alto grau de pureza: ácido monocloroacético sólido (Sigma-Aldrich, EUA, 99% ClCH<sub>2</sub>COOH), hidróxido de sódio (Merck, EUA,  $\geq$  99%, NaOH), isopropanol (Aldrich, USA, 99,9%, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OHCH<sub>3</sub>), etanol anidro (Aldrich, USA, 99,9%, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) e quitosana em pó (Aldrich Chemical, EUA, peso molecular médio, MM = 310000 a 375000g/mol, o grau de desacetilação, DD  $\geq$  75,0%, e viscosidade de 800-2000 cPoise, a 1% m/v em solução 1% v/v de ácido acético). Água deionizada (H<sub>2</sub>O DI, Millipore Simplicity™) com resistividade de 18 MΩ.cm foi utilizada na preparação de todas as soluções. Cloreto de zinco (Vetec, 97%, ZnCl<sub>2</sub>), hidróxido de sódio (Merck, EUA,  $\geq$  99%, NaOH), sulfeto de sódio nono-hidratado (Synth, Brasil, >98% de Na<sub>2</sub>S.9H<sub>2</sub>O), ácido acético glacial (Synth, Brasil,  $\geq$ 99,7%, CH<sub>3</sub>COOH), ácido clorídrico (Sigma-Aldrich, EUA, 36,5-38,0%, HCl).

Água deionizada ( $\text{H}_2\text{O}$  DI, Millipore Simplicidade <sup>TM</sup>) com resistividade de  $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  foi utilizada na preparação de todas as soluções que foram feitas em temperatura ambiente ( $23\pm 2$ )°C.

#### 4.1.2.2. Procedimentos

O presente trabalho realizou síntese de modificação da estrutura da quitosana por carboximetilação via reação com ácido monocloroacético sólido e hidróxido de sódio a temperatura ambiente (25°C), de modo a favorecer a carboximetilação da quitosana no grupo hidroxila ligado a  $\text{C}_6$  (O-CMC).

A síntese de O-CMC foi realizada em três etapas, descritas a seguir:

- reação de quitosana com solução de NaOH e monocloroacético;
- remoção de resíduos da reação anterior;
- reação de neutralização da O-CMC

A Figura 4.1 apresenta um fluxograma simplificado das etapas de síntese de O-CMC.

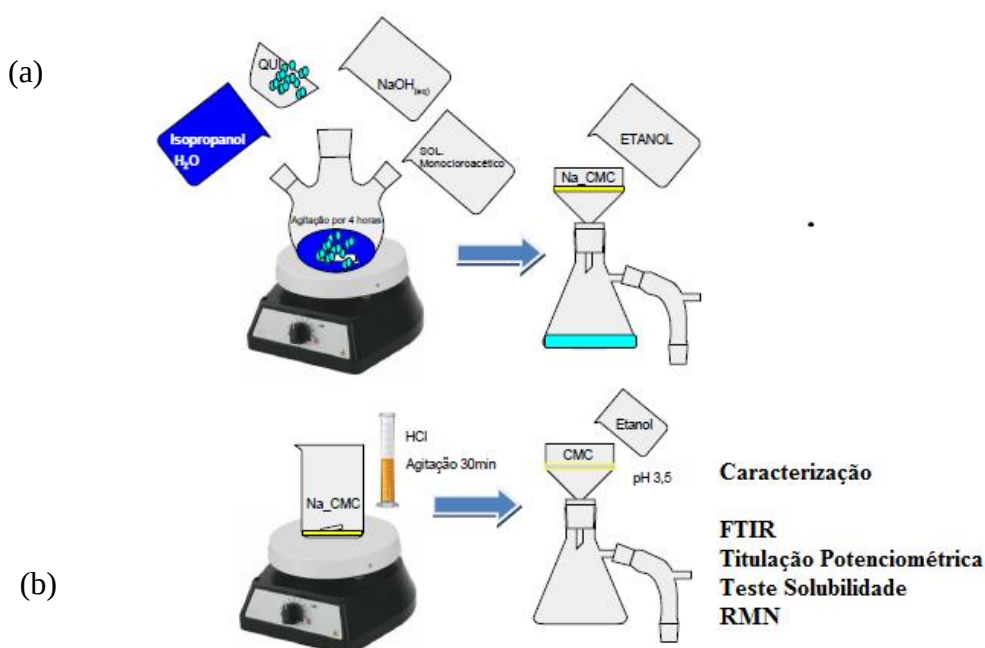


Figura 4.1 - Fluxograma simplificado do processo de modificação da QUI: (A) Formação do sal Na-O-CM\_Quitosa e (B) Neutralização e purificação do sal de Na\_CMC.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

**a) Reação de quitosana com solução de NaOH e ClCH<sub>2</sub>COOH**

Sintetizou-se a carboximetilquitosana segundo o método descrito por (LIU, *et al.*, 2001) com modificações. Em um balão de vidro (500mL) de três bocas, à temperatura ambiente de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , adicionaram-se 70,8mL de isopropanol sob agitação magnética moderada. Acrescentaram-se lentamente 3g de quitosana em pó e manteve-se a agitação magnética moderada por 30 minutos. Após homogeneização da suspensão, adicionaram-se lentamente 8,16g de hidróxido de sódio dissolvidos em 10g de H<sub>2</sub>O DI previamente preparada e 10mL de isopropanol. Manteve-se o sistema por 1 hora em temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , sob agitação mecânica moderada para reação de alcalinização da quitosana. Adicionou-se ao sistema 14,4g de solução de ácido monocloroacético dissolvidos em isopropanol (1:1 m/m). Posteriormente, manteve-se a agitação magnética por 4 horas à temperatura  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Em seguida cessou-se a reação pela adição de 100mL de etanol absoluto e filtrado. Lavou-se o produto sólido em etanol 70-90% para remoção dos sais e secagem. Após filtração sob vácuo, manteve-se o produto à temperatura ambiente para secagem. A Figura 4.2 apresenta o fluxograma geral do processo de síntese de modificação da quitosana e obtenção do sal de quitosana (Na-O-CMC).

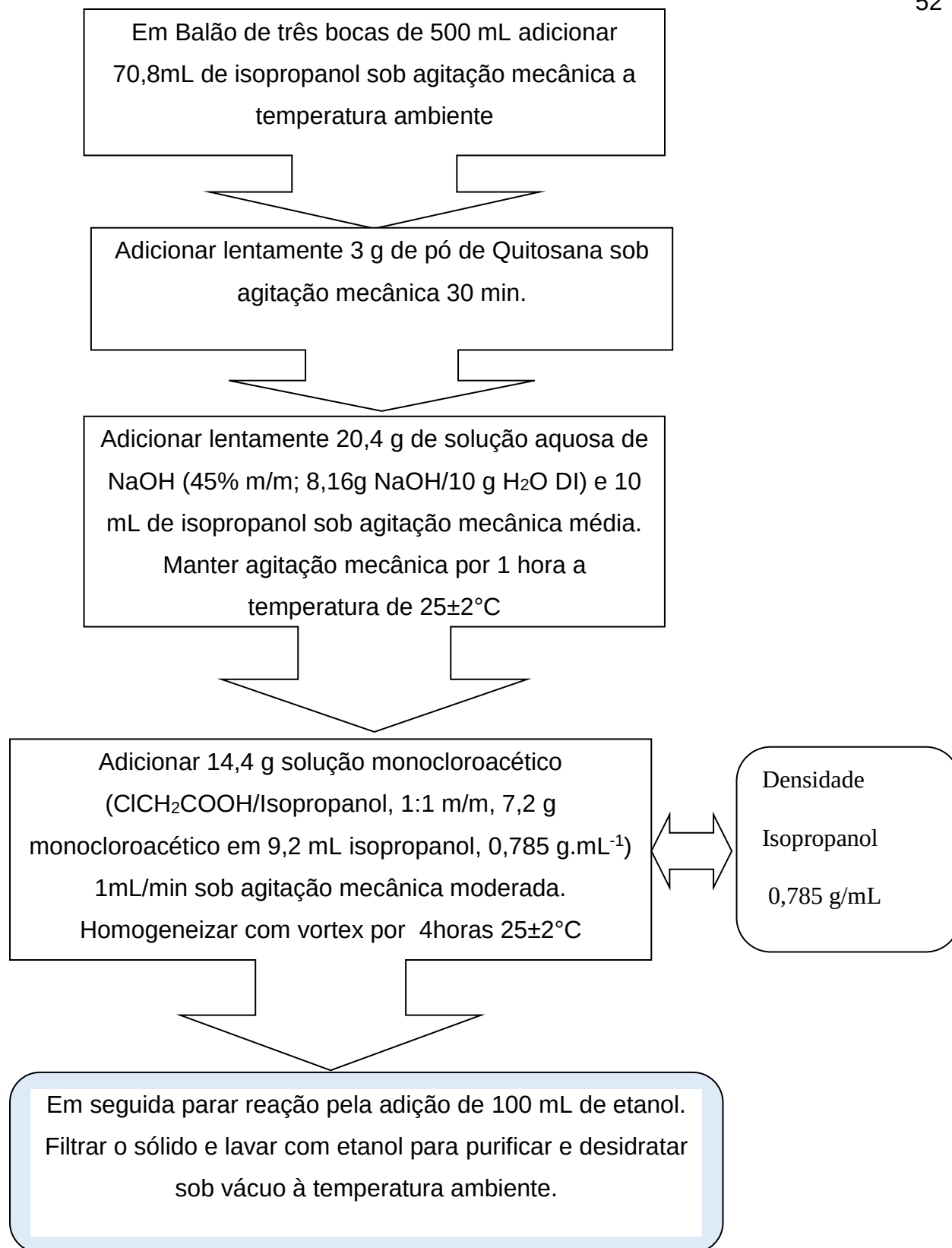


Figura 4.2 - Fluxograma detalhado da síntese de modificação da QUI em Na-O-CMC

Fonte: Elaborado pelo autor da tese.

### b) Remoção de resíduos de reação modificação da QUI em Na-O-CMC

Nesta etapa, cerca de 7,9g de Na-CMC seca foram adicionados em 100mL etanol 90% e mantidos sob agitação por 30 minutos. Após filtração a vácuo, o sólido foi seco à temperatura ambiente por 24 horas e a massa final avaliada. Veja a Figura 4.3.

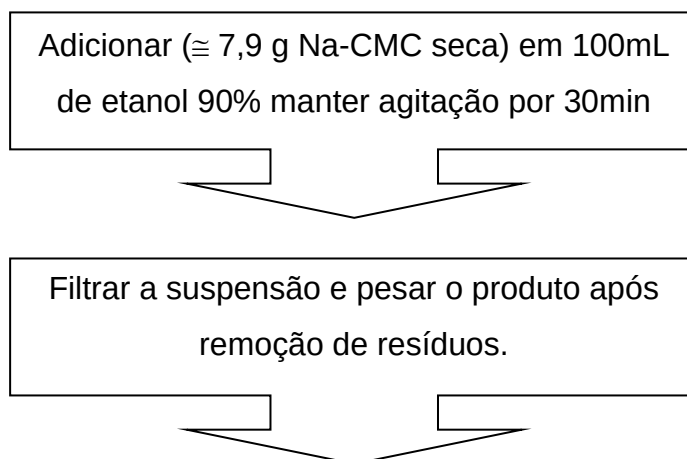


Figura 4.3 - Fluxograma do processo de remoção de resíduos Na-CMC.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

### c) Reação de neutralização do sal de CMC (Na-O-CMC)

No processo final de neutralização e purificação utilizou-se 1g do produto sal de carboximetilquitosana (Na\_CMC) após remoção dos resíduos. A Figura 4.4 apresenta o fluxograma do processo de neutralização adotado durante a etapa de neutralização.

Pesou-se 1g do sal de CMC (Na\_CMC) e adicionou-se 1mL ácido clorídrico concentrado (37%). Mante-se a mistura sob agitação mecânica moderada por 30 minutos. Depois de filtrá-la a vácuo, lavou-se o sólido intensamente com etanol 80% v/v até atingir o valor de pH  $6,0 \pm 0,2$ . Na sequência lavou-se o sólido com 50mL de etanol absoluto para desidratar. Secou-se o produto à temperatura ambiente por 24 horas. Pesou-se a massa final do produto O-CMC. A Figura 4.4 apresenta-se o fluxograma desta etapa.

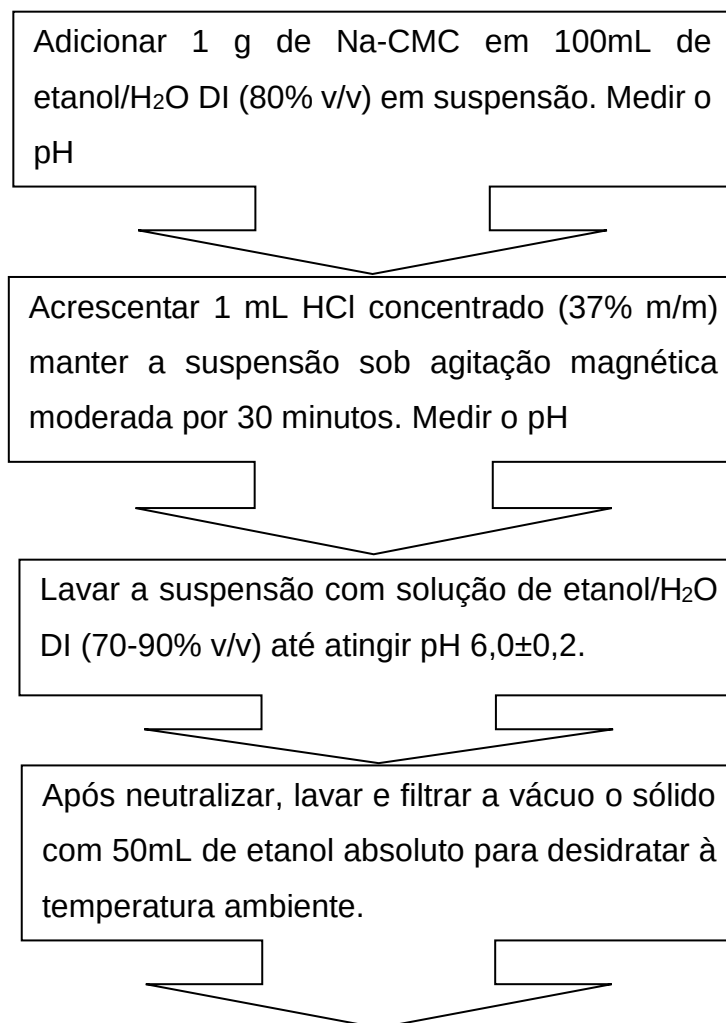


Figura 4.4 - Fluxograma do processo de Neutralização e purificação do sal de Na-CMC (Na-O-CM-quitosana).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese

Neste trabalho, a título de abreviação, adotou-se a nomenclatura da carboximetilquitosana (O-CMC) de (CMC), na identificação dos PQs sintetizados.

#### 4.1.3. Caracterização dos polímeros QUI e CMC.

Técnicas de titulação potenciométrica, FTIR e RMN foram utilizadas para caracterização da quitosana e da CMC sintetizadas, além de avaliação da faixa de solubilidade para a CMC.

##### 4.1.3.1. Análise dos polímeros por Titulação Potenciométrica

Utilizou-se a técnica de titulação potenciométrica para determinar o grau de desacetilação (DD) da cadeia polimérica da QUI. Para este estudo, 0,20g de quitosana foi dissolvido em 20mL de solução 0,10 mol.L<sup>-1</sup> HCl, com agitação suave durante a noite, seguida de diluição com 20mL de água DI. Sob agitação contínua, 100μL de solução de hidróxido de sódio 0,10 mol.L<sup>-1</sup> foram adicionados ao sistema. Mediu-se o valor do pH com peagâmetro digital de eletrodo de vidro (Quimis, Diadema, Brasil). Essa sequência foi repetida até a ocorrência da neutralização do HCl e da desprotonação dos grupos de amina. O DD foi calculado usando a equação 18 (TORRES *et al.*, 2005).

$$DD = \{[M_{NaOH} \times (V_2 - V_1) MM_{QUI}]/m_{QUI}\} \times 100 \quad (18)$$

Onde:

$M_{NaOH}$  é a concentração molar de uma solução de NaOH (mol.L<sup>-1</sup>) utilizados para neutralizar uma solução de quitosana de  $m_{QUI}$  (g);

$V_1$  (L) é o volume de NaOH adicionado para provocar a neutralização de HCl em excesso e  $V_2$  (L) é o volume de NaOH adicionada até neutralização completa dos íons de amônio;  $MM_{QUI}$  é a massa molecular das unidades de glucosamina (161 g.mol<sup>-1</sup>).

O grau de protonação ( $EP_{pH}$ ) de quitosana pode ser calculado a partir da Equação 19 (TORRES, VIEIRA, *et al.*, 2005):

$$EP_{pH} = 100 - [\%NH_2 \times \left(\frac{100}{DD}\right)] \quad (19)$$

Onde:

$\%NH_2$  é a quantidade de grupos amina não protonada estimada através da Equação 18 considerando que  $V_2$  é igual ao volume de base para neutralizar os íons amônio da quitosana no pH de interesse.

O grau de substituição (DS) de CMC foi avaliado utilizando o ensaio de titulação potenciométrica como se segue: 0,10 g de CMC foram dissolvidos em 100 mL de 0,10 mol.L<sup>-1</sup> HCl, com agitação moderada durante a noite. Sob agitação contínua, adicionaram-se 100 µL de solução de NaOH 0,10 mol.L<sup>-1</sup>, em seguida deixou-se atingir o equilíbrio e mediu-se o pH. Essa sequência foi repetida até a neutralização do HCl e grupos carboxílicos. Calculou-se o Grau de substituição (DS) pela equação 20.

$$DS = [M * C_{NaOH} * (V_2 - V_1)] / \{m - [80 * C_{NaOH} * (V_2 - V_1)]\} \quad (20)$$

Onde:

M é a média da massa molar da unidade repetitiva da quitosana (161g/mol-1);

C<sub>NaOH</sub> é a concentração de NaOH utilizada (mol.L<sup>-1</sup>);

V<sub>1</sub> é o volume de NaOH para neutralizar o excesso de HCl em mL;

V<sub>2</sub> é o volume de NaOH para neutralizar os grupos carboximetil protonados em mL;

m é a massa em gramas de CMQ utilizada na titulação para um volume de 100mL.

#### 4.1.3.2. *Análise dos polímeros por Potencial Zeta*

Análises de Potencial Zeta foram realizadas no equipamento de Brookhaven Zeta PALS com um laser com comprimento de onda de 660nm (35 mW diodo laser vermelho, Holtsville, NY, EUA). Foram utilizadas cubetas de poliestireno quadradas com um volume de 4,5mL. As medições do Potencial Zeta foram realizadas a (25±2°C), sob a aproximação Smoluchowski (DELGADO *et al.*, 2005) e 100 repetições (cinco medições de 20 ciclos) foram escolhidas para uma boa reprodutibilidade.

#### 4.1.3.3. *Análise dos polímeros por FTIR e RMN.*

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizada na faixa de 650-4000cm<sup>-1</sup> (Thermo Fisher, Nicolet 6700), usando-se o método de espectroscopia de reflectância total atenuada (ATR-FTIR). Foram utilizados flocos de quitosana e derivados de quitosana funcionalizada (QUI e CMC).

Neste estudo aplicou-se também a técnica de <sup>1</sup>H RMN, na caracterização dos polímeros QUI e CMC. Os espectros foram registados a 30±2°C em um espectrômetro BRUKER-200MHz Varian, do laboratório de Ressonância Magnética LAREMAR, localizado no Departamento de Química na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), com

espectros sendo obtidos acumulando 16 varreduras. As amostras foram preparadas pela dissolução das mesmas em uma solução de D<sub>2</sub>O/HCl.

#### 4.1.3.4. *Análise de solubilidade do Polímero por espectroscopia de UV-vis.*

A análise da solubilidade do polímero em meio aquoso foi avaliada por espectroscopia no ultravioleta visível. A avaliação da solubilidade em meio aquoso via espectroscopia no ultravioleta visível foi realizada no espectrômetro PerkinElmer (Lambda EZ-210, Waltham, MA, USA), conforme Abreu e Campana-Filho (2009). As soluções aquosas de 20mL foram preparadas com água deionizada, adicionada às CMCs na concentração de 1,5g.L<sup>-1</sup>, mantida sob agitação magnética. Na sequência foram adicionadas soluções de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) na concentração de 0,5% (v/v), obtendo-se assim soluções em diferentes faixas de pH. As soluções preparadas foram avaliadas por espectroscopia na faixa de 200 a 800nm, traçando-se curvas de comprimento de onda *versus* absorvância. Depois foi construída uma segunda curva com os valores de pH *versus* absorvância, considerando-se os valores de absorvância maior que 0,070 (transformação do valor de transmitância - 85%), declarados por Abreu & Campanana-Filho (2009) para absorvância no comprimento de onda de 450nm como solução insolúvel e no valor de 0,022 (85% de Transmitância), parcialmente solúvel.

## 4.2. Síntese dos Pontos Quânticos.

A Figura 4.5 apresenta o fluxograma geral de síntese e caracterização dos PQs de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> estabilizados por QUI e CMC.

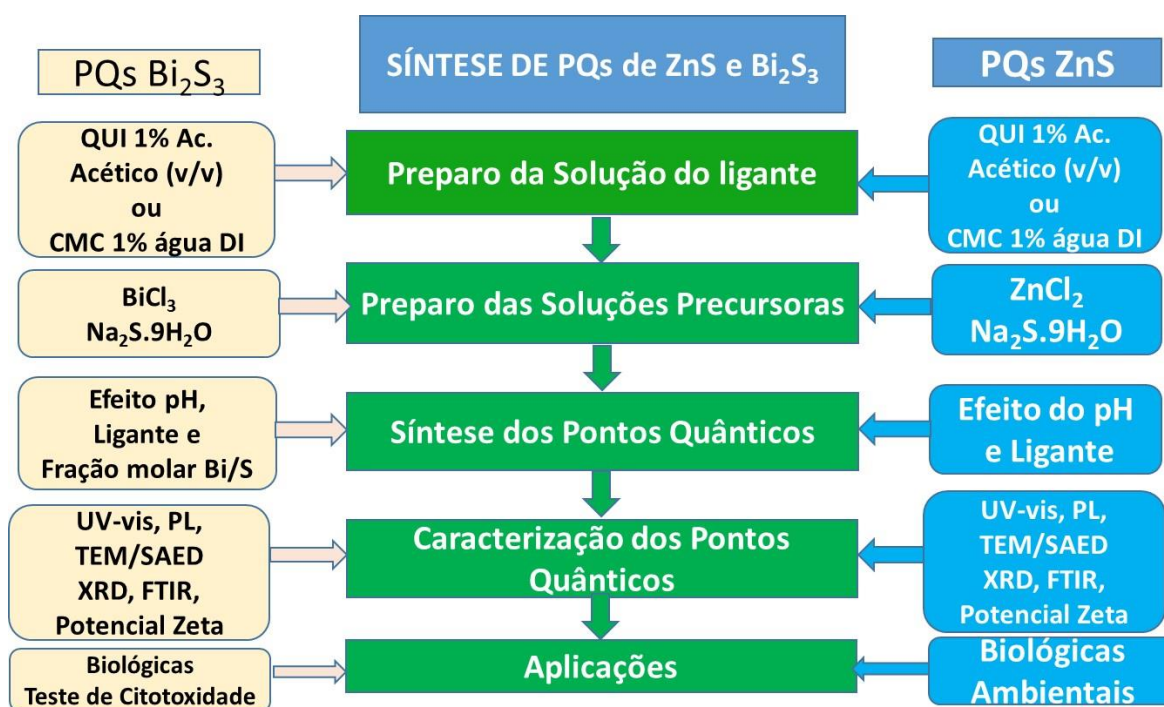


Figura 4.5 - Fluxograma Geral da Síntese, caracterizações e a Aplicações dos PQs de ZnS e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

#### 4.2.1. Preparo das Soluções do Polímero.

##### 4.2.1.1. Dispersão de QUI 1% (m/v) em solução aquosa de ácido acético 2%v/v.

Pipetaram-se 2mL de ácido acético glacial, transferiram-nos para um balão volumétrico de 100mL e completou-se o volume com água deionizada.

Adicionou-se 1,04g de quitosana em 100mL da solução aquosa de ácido acético (2%v/v) previamente preparado. Manteve-se o sistema sobre agitação magnética moderada por 12 horas à temperatura ambiente de  $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Essa solução foi identificada como “SOL-QUI”.

##### 4.2.1.2. Dispersão de CMC 1% (m/v) em solução aquosa.

Em um béquer de 100mL preparou-se a dispersão de carboximetilquitosana (CMC) pela adição de 0,2g de CMC previamente sintetizados em 20mL de água DI sob agitação

magnética moderada durante 2 horas à temperatura ambiente ( $23\pm 2$ )°C. Esta solução foi identificada como “SOL-CMC”.

#### **4.2.2. Preparo das Soluções do Precursoras.**

##### **4.2.2.1. Reagentes**

Todos os reagentes e precursores são de alto grau de pureza (P.A.): cloreto de zinco (Vetec, 97%,  $\text{ZnCl}_2$ ), hidróxido de sódio (Merck, EUA,  $\geq 99\%$ , NaOH), sulfeto de sódio nono-hidratado (Synth, Brasil,  $>98\%$  de  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ), ácido acético glacial (Synth, Brasil,  $\geq 99,7\%$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), ácido clorídrico (Sigma-Aldrich, EUA, 36,5-38,0%, HCl. Água deionizada ( $\text{H}_2\text{O}$  DI, Millipore Simplicidade <sup>TM</sup>) com resistividade de 18  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$  foi utilizada na preparação de todas as soluções que foram feitas em temperatura ambiente ( $23\pm 2$ )°C.

##### **4.2.2.2. Soluções Precursoras**

###### **a) Soluções precursoras de $\text{Zn}^{2+}$ [ $1,0\times 10^{-2}$ mol.L<sup>-1</sup>]**

Em bquer de 100mL adicionou-se 0,0693g de  $\text{ZnCl}_2$  a 30mL de água DI sob agitação manual moderada até dissolver completamente o soluto. Em sequência, transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 50mL e completou-se o volume até o nível de aferição com água DI. Essa solução precursora de  $\text{Zn}^{2+}$  foi referida como “SOL-Zn”, de concentração  $1,0\times 10^{-2}\text{mol.L}^{-1}$ .

###### **b) Solução precursora de $\text{S}^{2-}$ [ $8,0\times 10^{-3}\text{mol.L}^{-1}$ ].**

Adicionou-se 0,0980 g de  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$  a 30mL de água DI sob agitação manual moderada até dissolver completamente o soluto. Em seguida, transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume até o nível de aferição com água DI. A solução precursora de  $\text{S}^{2-}$  foi referida como “SOL-S”, de concentração  $8,0\times 10^{-3}\text{mol.L}^{-1}$ .

###### **c) Solução alcalina de $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ , [ $1,0\text{mol.L}^{-1}$ ].**

Adicionaram-se 4,0000 g de NaOH a 75 mL de água DI em béquer de 100mL sob agitação manual moderada até dissociar completamente o hidróxido de sódio. Em seguida, transferiu-se a solução para um balão volumétrico de PP (polipropileno) de 100 mL e completou-se o volume até o nível de aferição com água DI. Esta solução para ajuste de pH foi referida como “SOL-Na”, de concentração  $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ .

#### **d) Solução precursora de $\text{Bi}^{3+}$ [ $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ]**

Adicionou-se 0,1610 g de  $\text{BiCl}_3$  a 30 mL de ácido acético concentrado em um béquer de 100 mL. Agitou-se a solução com bastão de vidro até dissolver completamente o soluto. Em seguida, transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume até o nível de aferição com ácido acético glacial. Esta solução precursora de cátions de bismuto III,  $\text{Bi}^{3+}$ , foi referida como “SOL-Bi”, e concentração  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ .

#### **4.2.3. Síntese dos Pontos Quânticos de ZnS.**

Neste trabalho realizaram-se três procedimentos síntese de pontos quânticos de sulfeto de zinco, PQs ZnS, com excesso de 100% de  $\text{Zn}^{2+}$ , correspondente à fração molar dos precursores de  $\text{Zn}^{2+}:\text{S}^{2-}$  de 2:1, utilizando-se quitosana (QUI) e carboximetilquitosana (CMC) como agentes de estabilização. Na primeira fase avaliou-se o efeito da variação do pH do meio (4,0, 5,0 e 6,0) na estabilidade, morfologia e propriedades ópticas dos PQs de ZnS estabilizados por quitosana. Na segunda fase avaliou-se o efeito do polímero e pH na síntese de PQs de ZnS estabilizados por QUI em pH 4,0, ou estabilizados por CMC em pH 4,0 e 10,0, morfologia e propriedades ópticas dos PQs. Na terceira fase, foi feita a aplicação ambiental e biológica dos pontos quânticos de ZnS estabilizados com quitosana em pH 6,0. A Figura 4.6 apresenta o fluxograma simplificado das etapas em cada fase de síntese dos PQs de ZnS desenvolvidos neste trabalho. A Tabela 9 apresenta a nomenclatura adotada na identificação das amostras de PQs de ZnS sintetizados e os valores de pH durante o processo de síntese dos PQs.

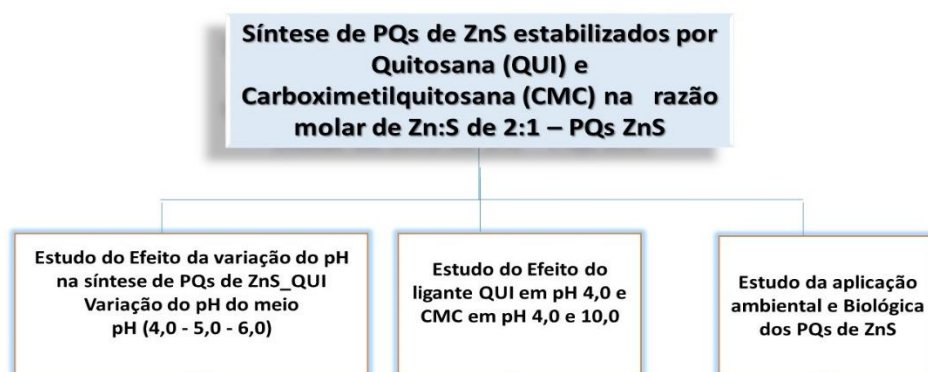


Figura 4.6 - Fluxogramas das etapas do desenvolvimento do trabalho, com evidência das Etapas, Caracterizações da Síntese de PQs de ZnS na fração molar de 2:1.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Tabela 8- Síntese de PQs de ZnS estabilizados com variação do pH do meio.

| Nomenclatura     | Polímero(abreviação)        | pH       | nZn <sup>2+</sup> :nS <sup>2-</sup> |
|------------------|-----------------------------|----------|-------------------------------------|
| PQs ZnS_QUI_4,0  | Quitosana (QUI)             | 4,0±0,2  | 2:1                                 |
| PQs ZnS_QUI_5,0  |                             | 5,0±0,2  |                                     |
| PQs ZnS_QUI_6,0  |                             | 6,0±0,2  |                                     |
| PQs ZnS_CMC_4,0  | Carboximetilquitosana (CMC) | 4,0±0,2  |                                     |
| PQs ZnS_CMC_10,0 |                             | 10,0±0,2 |                                     |

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

#### 4.2.3.1. Síntese de PQs de ZnS – Efeito do polímero e variação do pH

A Figura 4.7 apresenta o fluxograma simplificado das sínteses de PQs de ZnS estabilizados por QUI e CMC.

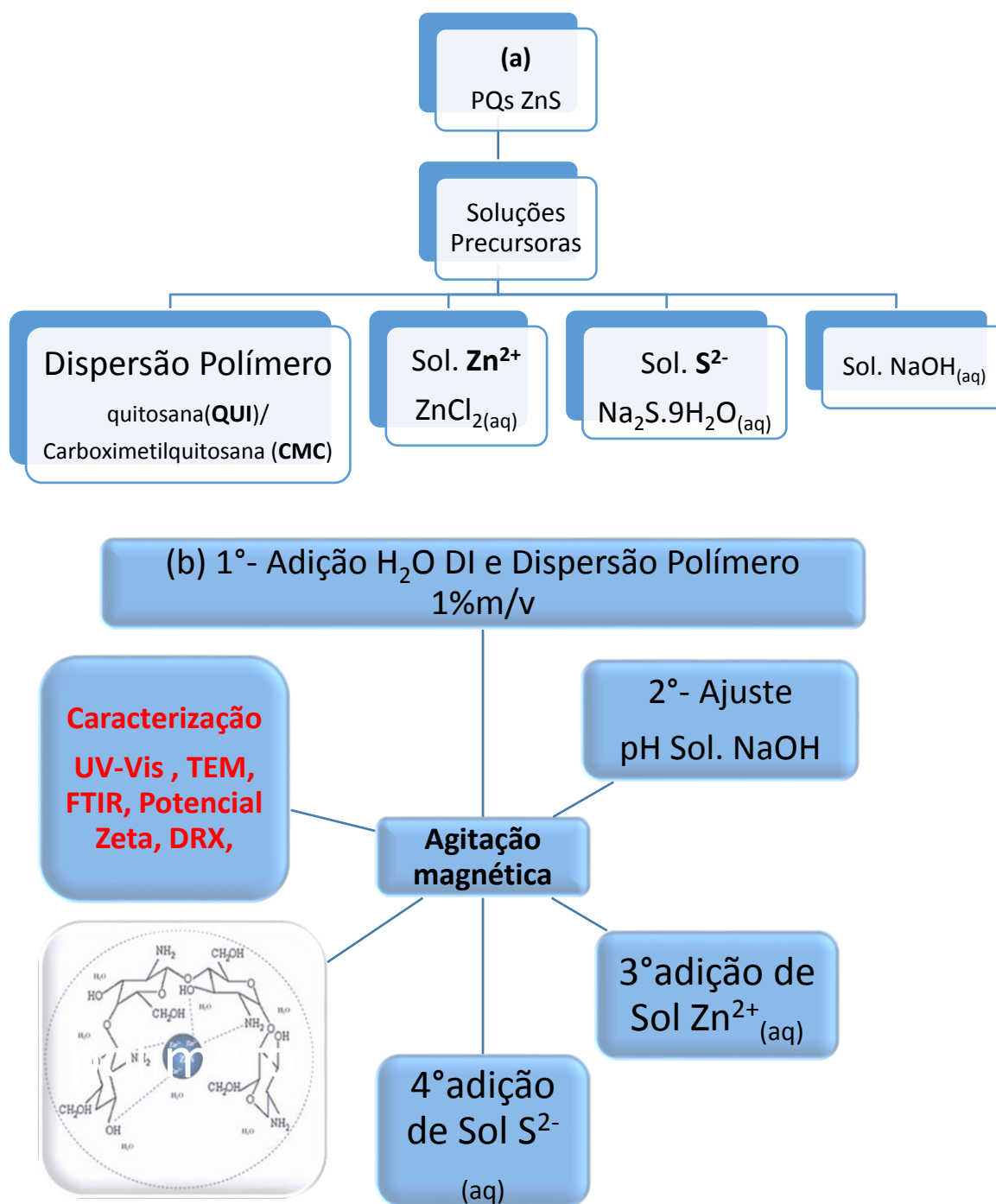
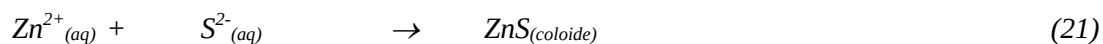


Figura 4-7 - Fluxograma: (a) Preparo das soluções precursoras e (b) Processo de síntese dos PQs de ZnS. Fonte:

Elaborado pelo autor desta tese.

Nanopartículas de ZnS foram sintetizadas por via aquosa num balão de reação, usando as soluções dos precursores descritas na seção 4.2.2 e à temperatura ambiente ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) conforme equação 21.



Adicionaram-se 2mL da dispersão do polímero (Sol-QUI ou Sol-CMC) a 45mL de água deionizada em balão de reação. Ajustou-se o valor de pH dessa solução (polímero QUI, conforme descrito na tabela 9, pH em 4,0±0,2; 5,0±0,2 e 6,0±0,2 e CMC, pH igual a 4,0±0,2 e 10,0±0,2) com solução de NaOH (SOL-NaOH) gota a gota. Sob agitação magnética moderada, adicionaram-se 4,0mL de solução precursora de  $\text{Zn}^{2+}$  (SOL-Zn). Em sequência adicionaram-se 2,5mL de solução precursora de  $\text{S}^{2-}$  (SOL-S). Manteve-se a agitação magnética moderada do sistema por duas horas. Após esse intervalo, o material foi armazenado em temperatura de (6±2)°C para posterior caracterização e aplicação. Todas as sínteses foram realizadas em triplicata.

#### 4.2.4. Síntese dos Pontos Quânticos de $\text{Bi}_2\text{S}_3$

Neste trabalho, foram realizadas três rotas de síntese de Pontos Quânticos de sulfeto de bismuto, PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  com variação da fração molar entre os íons de  $\text{Bi}^{3+}$  e  $\text{S}^{2-}$  ( $\text{Bi}^{3+}/\text{S}^{2-}$  de 1,33 com excesso de 100% em mol de  $\text{Bi}^{3+}$ , relação estequiométrica de 0,67 e excesso de 100% em mol de  $\text{S}^{2-}$ , 0,33). Na primeira fase foram sintetizados PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados por QUI com variação da fração molar dos precursores de  $\text{Bi}^{3+}$  e  $\text{S}^{2-}$  e do pH. Na segunda fase os PQs foram estabilizados por CMC com variação da fração molar e do pH. Na terceira fase, foi avaliada a aplicação biológica dos pontos quânticos de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ .

##### 4.2.4.1. Síntese de PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ – Efeito do polímero, pH e fração molar dos precursores.

A Figura 4.8 apresenta o Fluxograma simplificado das etapas em cada fase de síntese dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  desenvolvidos neste trabalho.

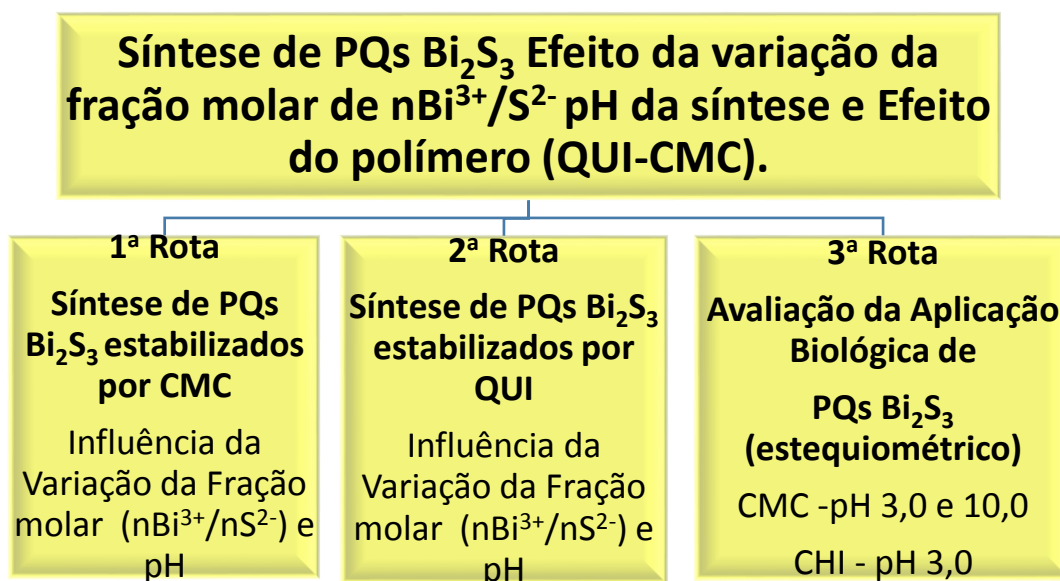


Figura 4.8 - Fluxogramas realizadas no desenvolvimento do trabalho, com evidência das Etapas, Caracterizações e Publicações referente ao capítulo III: Síntese de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ .

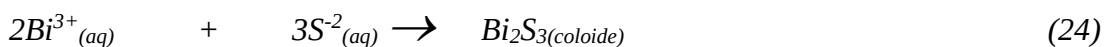
Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Pontos quânticos de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foram sintetizados via rota química coloidal aquosa em balão de reação à temperatura ambiente em única etapa adotando três frações molares diferentes de precursores. Os cálculos das frações molares do precursor de íons de sulfeto em solução durante o processo de síntese dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foram determinados com base na relação estequiométrica em mol dos íons  $\text{S}^{2-}$  e  $\text{Bi}^{3+}$ , presente nas soluções de sulfeto de sódio e cloreto de bismuto III, com base nas equações de dissociação, conforme equações 22 e 23, respectivamente.



É importante salientar que a relação estequiométrica de Bi e S não é direta, devido aos índices na fórmula do semiconductor  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ . Para cada 2 mols de cátions de  $\text{Bi}^{3+}$  em solução são necessários 3 mols de ânions de sulfeto em solução, para obter 1 mol de sulfeto de bismuto III,  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ . Esta relação estequiométrica de 2mols de  $\text{Bi}^{3+}$  para 3 mols de  $\text{S}^{2-}$ , Equação 24, corresponde a relação considerada na fração molar de 0,67, dos respectivos

íons em solução. Portanto, para síntese com excesso de 100% de íons de  $\text{Bi}^{3+}$ , relação 1,33, em solução são necessários 4mols de cátions para 3mols de  $\text{S}^{2-}$ .



A Tabela 10 resume as informações sobre as frações molares e Tabela 11 apresenta a nomenclatura adotada na identificação das amostras de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  sintetizados.

*Tabela 9 - Identificação das diferentes frações molares dos precursores de  $\text{Bi}^{3+}$  e  $\text{S}^{2-}$  utilizadas nas sínteses.*

| Volume Sol. Precursores | $\text{BiCl}_3$      | $\text{Na}_2\text{S}$ | Relações Estequiométricas Molar                          |                   | Fração molar Estequiométrica       |
|-------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------|
| [ ] mol.L <sup>-1</sup> | $1,0 \times 10^{-2}$ | $1,0 \times 10^{-2}$  | $\text{Bi}^{3+}:\text{S}^{2-} - 2\text{mol}:3\text{mol}$ |                   | $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$ |
| V(mL)                   | 2,0                  | 6,0                   | $[\text{Bi}^{3+}]$                                       | $[\text{S}^{2-}]$ | 0,33                               |
| n(mol)                  | $2,0 \times 10^{-5}$ | $6,0 \times 10^{-5}$  | 2                                                        | 6                 |                                    |
| V(mL)                   | 2,0                  | 3,0                   | $[\text{Bi}^{3+}]$                                       | $[\text{S}^{2-}]$ | 0,67                               |
| n(mol)                  | $2,0 \times 10^{-5}$ | $3,0 \times 10^{-5}$  | 2                                                        | 3                 |                                    |
| V(mL)                   | 4,0                  | 3,0                   | $[\text{Bi}^{3+}]$                                       | $[\text{S}^{2-}]$ | 1,33                               |
| n(mol)                  | $4,0 \times 10^{-5}$ | $3,0 \times 10^{-5}$  | 4                                                        | 3                 |                                    |

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

*Tabela 10 - Nomenclatura adotada na síntese de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$*

| PQs                     | Polímero | $n\text{Bi}^{3+}/n\text{S}^{2-}$ | pH             | Identificação                                |
|-------------------------|----------|----------------------------------|----------------|----------------------------------------------|
| $\text{Bi}_2\text{S}_3$ | QUI      | 0,33                             | $2,5 \pm 0,2$  | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_0,33\_2,5$  |
|                         |          | 0,67                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_0,67\_2,5$  |
|                         |          | 1,33                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_133\_2,5$   |
|                         |          | 0,33                             | $3,5 \pm 0,2$  | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_0,33\_3,5$  |
|                         |          | 0,67                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_0,67\_3,5$  |
|                         |          | 1,33                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_133\_3,5$   |
|                         | CMC      | 0,33                             | $3,0 \pm 0,2$  | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_0,33\_3,0$  |
|                         |          | 0,67                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_0,67\_3,0$  |
|                         |          | 1,33                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_133\_3,0$   |
|                         |          | 0,33                             | $4,0 \pm 0,2$  | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_0,33\_4,0$  |
|                         |          | 0,67                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_0,67\_4,0$  |
|                         |          | 1,33                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_133\_4,0$   |
|                         |          | 0,33                             | $10,0 \pm 0,2$ | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_0,33\_10,0$ |
|                         |          | 0,67                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_0,67\_10,0$ |
|                         |          | 1,33                             |                | PQs $\text{Bi}_2\text{S}_3\_CMC\_133\_10,0$  |

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

A Figura 4.9 apresenta o fluxograma simplificado das sínteses de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados por QUI e CMC, realizadas conforme descrito na sequência: Adicionaram-se 2mL de dispersão do polímero (SOL-QUI ou SOL-CMC) em 45mL de água DI a um balão de reação. Em sequência, lentamente adicionou-se, sob agitação magnética moderada, X mL ( $X = 6,0\text{mL}$  para 0,33,  $3,0\text{mL}$  e para 0,67 e 1,33) de solução precursora  $\text{S}^{2-}$  (SOL-S). Ajustou-se o pH do meio (QUI nos valores de  $2,5 \pm 0,2$ ,  $3,5 \pm 0,2$  e CMC nos valores de  $3,0 \pm 0,2$ ,  $4,0 \pm 0,2$  e  $10,0 \pm 0,2$ ), lentamente, com solução alcalina de NaOH (SOL-NaOH)  $1\text{ mol.L}^{-1}$ . Posteriormente, adicionou-se lentamente Y mL ( $2\text{mL}$  para 0,33 e 0,67 e  $4\text{mL}$  para 1,33) de solução precursora de  $\text{Bi}^{3+}$  (SOL-Bi). Durante a adição da solução precursora de íons de  $\text{Bi}^{3+}$  mediu-se e ajustou-se o pH para o valor de pH proposto para a síntese com solução alcalina de NaOH (SOL-NaOH). Na sequência, manteve-se a agitação magnética moderada durante 60 minutos e, após esse período, as amostras foram mantidas sob refrigeração  $6 \pm 2^\circ\text{C}$  para posterior caracterização e aplicação. Todas as sínteses foram realizadas em triplicata.

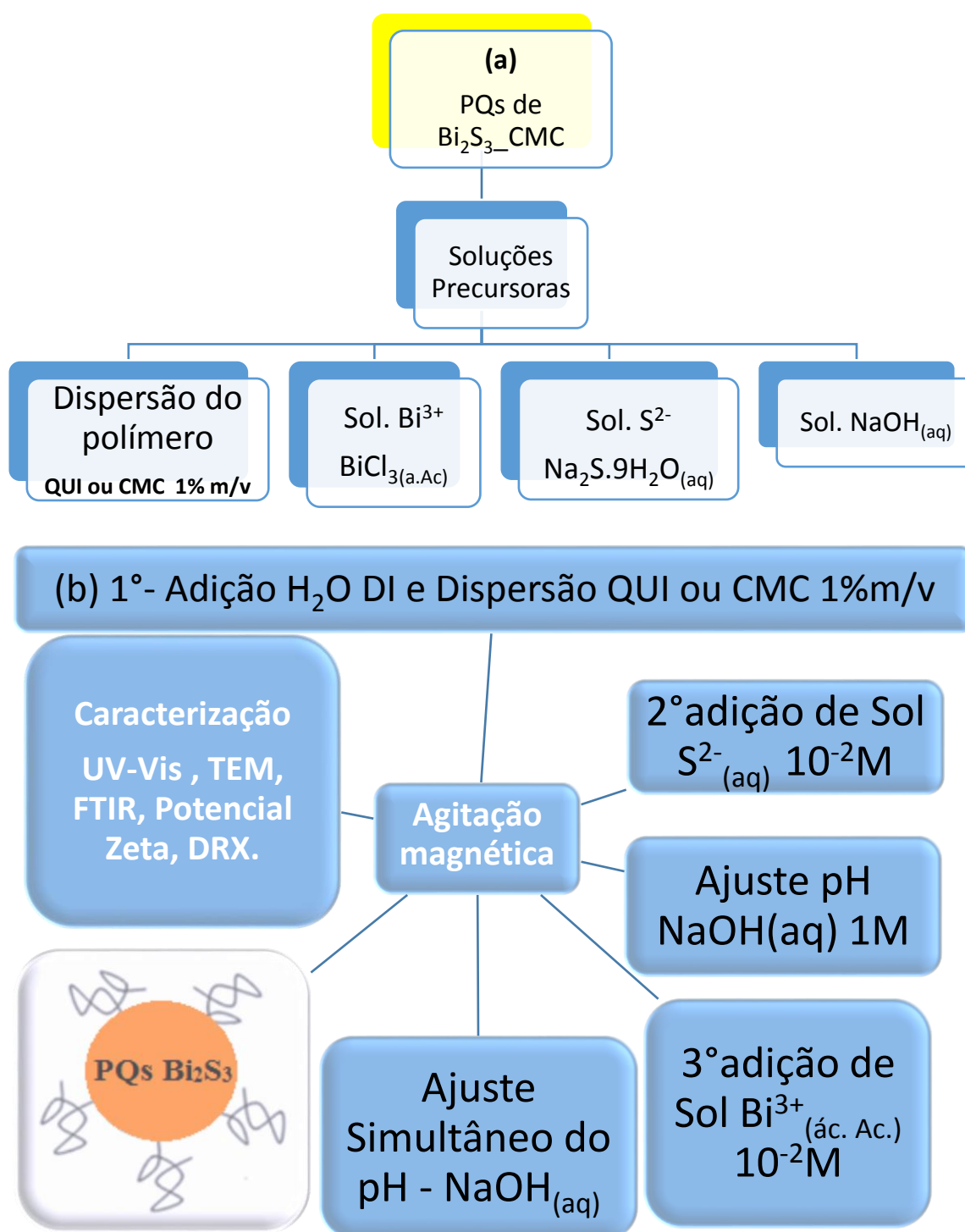


Figura 4.9 - Fluxograma (a) Preparo das soluções precursoras e (b) Processo de síntese dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}$  e  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}$ .

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

### **4.3. Caracterização dos Pontos Quânticos.**

#### **4.3.1. Espectroscopia de UV-vis**

Espectroscopia de radiação na região do ultravioleta e visível (Espectroscopia de UV-Vis) foi realizada usando-se o equipamento PerkinElmer (Lambda EZ-210, Waltham, MA, EUA) no modo de transmissão com as amostras em cubeta de quartzo ao longo de um intervalo de comprimento de onda entre 1000 e 190nm. Todas as experiências foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ) e os resultados oriundos dessas avaliações foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão.

#### **4.3.2. Fotoluminescência**

A avaliação da fotoluminescência (PL) dos PQs sintetizados neste trabalho foi realizada com base em espectros adquiridos à temperatura ambiente usando-se o equipamento Nanodrop 3300 fluoro-espectrometer (Thermo Scientific, LED UV com comprimento de onda de excitação de  $\lambda_{\text{excitação}} = 365 \pm 10 \text{ nm}$ ). Outras avaliações foram realizadas utilizando-se um laser violeta de comprimento de onda de excitação de 405 nm (150 mW, Roithner LaserTechnik, GmbH) associado a um espectrômetro USB400 VIS-NIR (Ocean Optics).

Os valores de rendimento quântico (quantum yield, QY) foram avaliados utilizando-se este aparato e a Rodhamina 6G (Sigma, USA) em etanol como material de referência, seguindo os procedimentos descritos em Eaton (1988) e Allen (2010).

Todos os testes foram realizados com um mínimo de quatro repetições ( $n \geq 4$ ). Além disso, as amostras de PQs coloidais foram analisadas em câmara escura, com iluminação por uma lâmpada de emissão de radiação UV ( $\lambda_{\text{excitação}} = 365 \text{ nm}$  ou 254 nm, 6W (Boitton Instruments, Porto Alegre, Brasil). As emissões na faixa do visível foram coletadas em imagens digitais.

#### **4.3.3. Difração de raios X (DRX)**

Os padrões de Difração de raios X (DRX) foram obtidos utilizando-se um difratômetro PANalytical Empyrean (Cu-K $\alpha$  radiação com  $\lambda = 1,5406\text{\AA}$ , Almelo, Holanda). As medidas foram realizadas com  $2\theta$  na faixa de  $6^\circ$  a  $75^\circ$ , com passo de  $0,017^\circ$ . As amostras para os ensaios de difração de raios-X foram preparadas a partir da concentração da suspensão de pontos quânticos utilizando-se o dispositivo de ultracentrifugação (Amicon<sup>®</sup> Ultra 15mL com membrana Ultracel<sup>®</sup> de 50 ou 100 KDa, Millipore), seguido do gotejamento desse material concentrado sobre lâmina de microscópio e secagem em estufa a  $40\pm 2^\circ\text{C}$ .

#### **4.3.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)**

As análises de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foram realizadas no Centro de Microscopia da UFMG, no equipamento Tecnai G2-20-FEI, (Hillsboro, OR, EUA), a uma tensão de aceleração de 200 kV, permitindo a obtenção imagens de padrões de difração de elétrons (SAED) e espectros de EDS para análise elementar das amostras de PQs. As amostras foram preparadas por gotejamento de amostra de dispersão coloidal dos PQs previamente purificada em uma grade de cobre de 400 mesh, recoberta com filme de carbono (*holey carbon film*). A purificação da amostra foi feita utilizando-se dispositivo de ultracentrifugação (Amicon<sup>®</sup> Ultra 0.5mL com membrana Ultracel<sup>®</sup> de 50 ou 100 KDa, Millipore) por meio de 4 ciclos de 12000 rpm, fazendo-se a reposição do filtrado com água deionizada. O tamanho dos PQs e os dados de distribuição de tamanho foram obtidos com base nas imagens de TEM, medindo-se pelo menos 100 nanopartículas selecionadas aleatoriamente, e usando-se o programa de processamento de imagens (ImageJ, versão 1.50, de domínio público, National Institute of Health).

#### **4.3.5. Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)**

Os pontos quânticos coloidais foram analisados por espectroscopia na região do infravermelho pelo método de reflectância difusa (DRIFTS), utilizando-se o equipamento Nicolet 6700 (Thermo Fischer, Waltham, MA, EUA) no intervalo de  $400$  a  $4.000\text{cm}^{-1}$  em 64 varreduras de  $2\text{cm}^{-1}$  de resolução. As amostras foram preparadas pelo gotejamento da solução do polímero e da suspensão concentrada de PQs (Amicon<sup>®</sup> Ultra 0.5mL).

#### 4.3.6. Potencial Zeta (Z)

Análises de potencial zeta foram realizadas nas suspensões de pontos quânticos utilizando o mesmo procedimento descrito para os polímeros na seção 4.1.3.2.

### 4.4. Aplicações dos Pontos Quânticos.

#### 4.4.1. Aplicação ambiental dos PQs de ZnS

A atividade catalítica dos bioconjugados ZnS estabilizados por quitosana (ZnS\_QUI\_6,0) foi avaliada através da degradação fotocatalítica de azul de metileno (Synth,  $C_{16}H_{18}N_3SCl \cdot 3H_2O$ ) sob irradiação UV. O corante azul de metileno (MB) é um corante catiônico solúvel em água que foi utilizado como composto modelo para avaliar as reações de oxidação dos poluentes orgânicos ambientais.

A experiência foi realizada à temperatura ambiente, utilizando-se 15mL de uma suspensão contendo as seguintes proporções: 30 mg.L<sup>-1</sup> do catalisador ZnS\_QUI\_6,0 e 20 mg L<sup>-1</sup> do corante (ZnS\_QUI\_6,0/corante = 1,5), 5 mg L<sup>-1</sup> do corante (ZnS\_QUI\_6,0/corante = 6) ou 2,5 mg L<sup>-1</sup> (ZnS\_QUI\_6,0/corante = 12) do corante. Para efeito de simplificação, a denominação ZnS\_QUI\_6,0/corante será resumida como ZnS/MB. As suspensões foram misturadas primeiro por agitação magnética ao abrigo da luz, durante 1,5 hora para atingir o equilíbrio de adsorção-dessorção. Os valores de todas as suspensões foram de pH 6,0±0,2.

Para a avaliação foi utilizada radiação ultravioleta C (UVC,  $\lambda = 280-100$  nm) fornecida por uma fonte de radiação (6W, em  $\lambda = 254$ nm, *Boitton Instruments*) posicionada paralelamente à superfície da suspensão que foi colocada em placa de petri (10cm de diâmetro), a uma distância fixa de 20 cm. Em determinados intervalos de tempo, 3mL das suspensões PQ+corante foram recolhidas e analisadas por espectroscopia UV-vis (Lambda EZ-210, Perkin Elmer) para determinar a concentração de corante com base em curvas de calibração previamente elaboradas, baseadas na equação de *Beer-Lambert*, que permite correlacionar a absorvância com a concentração de corante no comprimento de onda máximo de absorção característica (ou seja, 664nm para MB). As alíquotas ( $v =$

3mL) foram colhidas para medições de espectroscopia UV-Vis e foram devolvidas ao recipiente de reação imediatamente após cada análise. Durante esse intervalo curto, a fonte de luz foi desligada e o cronômetro foi parado.

Para identificar as espécies químicas intermediárias da reação de oxidação do corante, o equipamento ION-TRAP LCQ Fleet (ThermoScientific, San José, CA) foi utilizado em modo de íons positivos. Após a degradação por UV, as amostras foram analisadas através da introdução de alíquotas filtradas (Amicon® Ultra 15mL com membrana Ultracel® de 30kDa, Millipore) para a fonte de ESI-MS (Espectrometria de massa de ionização por eletrospray) com uma bomba de seringa a uma taxa de fluxo de 15L min<sup>-1</sup>. Os espectros foram obtidos como médias de cinco varreduras em 0.2 s cada uma. As condições de ensaio foram: capilar aquecido em temperatura de 275°C, gás N<sub>2</sub> com taxa de fluxo de cerca de 4L min<sup>-1</sup>; tensão do spray de 2 kV e tensão capilar e de deslocamento de tubo de lente de 25V. a *spray voltage* of 2 kV, em como uma tensão capilar e deslocamento de lente de tubo de tensão de 25 V.

#### **4.4.2. Aplicação Biológica dos PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>**

Inicialmente foi realizada a avaliação da citotoxicidade da estrutura núcleo/casca de PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/quitosana e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/CMC utilizando o ensaio MTT ((brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) brometo de tetrazólio 2,5-difenil)) e o kit LIVE/DEAD® em amostras sintetizadas sob condições ácidas (isto é, pH = 3,0, e PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_QUI\_0,67\_3,0 e PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_CMC\_0,67\_3,0) e em meio alcalino (ou seja, pH = 10,0, PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_CMC\_0,67\_10.0). Além disso, foram utilizadas duas linhagens celulares, SAOS e HEK293. Foram também realizados ensaios para avaliação da internalização celular de pontos quânticos de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> estabilizados com quitosana.

##### **4.4.2.1. Cultura de células.**

##### **a) Linhagem celular de osteosarcoma humano imortalizada (células SAOS)**

As células derivadas de osteossarcoma humanas imortalizadas (SAOS) foram fornecidas pelo Prof. A. Góes, do Departamento de Imunologia e Bioquímica da UFMG. As células SAOS são largamente aceitas como uma linha de células permanente de osteoblasto

humanos, porque possuem várias características osteoblásticas; são altamente proliferativas e comportam-se como fonte de moléculas relacionadas com os ossos. As células SAOS foram cultivadas em DMEM (meio de Eagle modificado por Dulbecco) com 10% de soro fetal bovino (FBS), sulfato de estreptomicina ( $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), penicilina G de sódio ( $10 \text{ unidades.mL}^{-1}$ ) e anfotericina-b ( $0,025 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), todos fornecidos pela Gibco BRL (Nova Iorque, EUA), usando uma atmosfera umidificada de 5% de  $\text{CO}_2$  a  $37^\circ\text{C}$ . Células da passagem 23 foram utilizadas nos experimentos.

#### **b) Linhagem celular de rim de embriões humanos (células HEK293 T)**

A linha de células de rim de embrião humano (HEK293 T) foi gentilmente cedida pela Profa. M. F. Leite, do Departamento de Fisiologia e Biofísica da UFMG. As células foram cultivadas em DMEM com 10% de FBS, penicilina G sódica ( $10 \text{ unidades.mL}^{-1}$ ), sulfato de estreptomicina ( $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e anfotericina-b ( $0,025 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), todos da Gibco BRL (Nova Iorque, EUA), em uma atmosfera umidificada de 5% de  $\text{CO}_2$  a  $37^\circ\text{C}$ . Células da passagem 12 foram utilizadas nos experimentos.

#### *4.4.2.2. Ensaio de toxicidade por MTT (brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) brometo de tetrazólio 2,5-difenil)*

Todos os testes biológicos foram efetuados de acordo com os padrões ISO 10993-5: 1999 (Avaliação biológica de dispositivos médicos; Parte 5: Ensaio de citotoxicidade *in vitro*). Todos os experimentos foram realizados utilizando-se a metodologia de contato direto. Células SAOS e células HEK 293 T foram plaqueadas ( $3 \times 10^5$  células/poço) em placas de 96 poços. As populações de células foram sincronizadas em meios isentos de soro durante 24 horas. Após esse período, o volume do meio foi aspirado e substituído com meio contendo FBS a 10% durante 24 horas. As amostras de nanoconjugados/polímero  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foram adicionadas a poços individuais numa concentração de 3,0% (v/v). Para controle foram utilizadas as células e meio DMEM com FBS a 10%. O controle positivo foi Triton X-100 (1%) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e, como controle negativo, lascas de polipropileno estéril Eppendorf ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ , Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). Após 24 horas, todos os meios foram aspirados e substituídos por 60  $\mu\text{L}$  de meio de cultura com soro em cada poço e fotografados utilizando-se microscópio óptico invertido (Leica DMIL LED, Alemanha). O MTT ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi

adicionado em cada poço e incubou-se durante 4 horas em uma estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Na sequência, foram colocados 40µl de SDS/solução de 4% de HCl, com incubação durante 16 horas em uma estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Em seguida, foram transferidos 100µL de cada poço para uma placa de 96 poços e foi quantificada a absorvância (abs) na leitura de microplacas i-Mark (Thermo), utilizando-se o filtro de 595nm. Os valores obtidos foram expressos como percentagem de células viáveis de acordo com a equação 25. Atribuiu-se ao controle (poços com células e meio) o valor de 100% de viabilidade celular.

$$A \text{ viabilidade celular} = (ABS \text{ de amostra e células}) / (Abs \text{ de controle}) \times 100\% \quad (25).$$

#### 4.4.2.3. *Ensaio de toxicidade celular LIVE/DEAD®*

SAOS em células de linhagem 23 de passagem foram plaqueadas ( $3 \times 10^5$  células/poço) em placas de 96 poços. Populações de células foram sincronizadas em meio isento de soro durante 24 horas; após esse período, o meio foi aspirado e substituído com meio contendo 10% de FBS. As amostras de PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_QUI\_0,67\_3.0 e Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_CMC\_0,67\_3.0 foram adicionadas a 3% durante 24 horas. Controles de referência tinham sido usados com células e meio DMEM com FBS a 10%. Após 24 horas, todos os meios foram aspirados, lavados com PBS durante duas vezes com 10mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) a partir de (Gibco BRL, Nova Iorque, EUA). As células SAOS foram tratadas durante 30 minutos com o kit LIVE/DEAD® Viabilidade/citotoxicidade de (Life Technologies do Brasil Ltda, São Paulo), de acordo com as especificações do fabricante. As imagens foram obtidas com um microscópio óptico invertido (Leica DMIL LED, Alemanha). As emissões de fluorescência foram adquiridas em separado, bem como calceína a  $530 \pm 13\text{nm}$ , e EthD-1 a  $645 \pm 20\text{ nm}$ .

#### 4.4.2.4. *Ensaio do Estudo da internalização dos nanoconjugados de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/quitosana*

A linha de células de rim de cultura de embrião humano (HEK 293 células T) foi gentilmente cedida pelo Prof. M.F Leite, do Departamento de Fisiologia e Biofísica da

UFMG. As células foram cultivadas em DMEM, com 10% de FBS, penicilina sódica G (10 unidades.mL<sup>-1</sup>), sulfato de estreptomicina (10mg.mL<sup>-1</sup>) e anfotericina-b (0,025 mg.mL<sup>-1</sup>), todas fornecidas pela Gibco BRL (Nova Iorque, EUA), numa atmosfera umidificada de 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. As células foram usadas para experiências em 7 passos.

A microscopia confocal de varredura a laser das células HEK 293 foi plaqueada 5x10<sup>4</sup> células por poço (placa de 24 poços). As células foram incubadas durante 4 dias a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> e sincronizada, durante 24 horas. A amostra PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_QUI\_0,67\_2,5 contendo 50% da solução de meio foi adicionado às células HEK 293. Depois, as células foram incubadas a 37°C em 5% de CO<sub>2</sub> durante 1 hora e lavadas com PBS. Após lavagem, as células foram fixadas com paraformaldeído (a 4%) durante 30 minutos, lavadas com PBS (3 vezes), e lamelas foram montadas com Hydromount (Fisher Scientific Co., Ltd., Leicestershire, Reino Unido). Na análise por microscopia de fluorescência confocal de varredura a laser (Zeiss LSM 510 Meta, Carl Zeiss, Alemanha) para detectar a fluorescência das células, utilizou-se irradiação a laser de argônio de 488nm para excitar os nanoconjugados de PQs. As emissões dos PQs conjugados foram recolhidos entre 505nm e 530nm. Para o controle, as células de HEK 293 foram incubadas com DMEM com FBS a 10% (imunofluorescência).

## CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Caracterização do polímero quitosana.

#### 5.1.1. Análise da QUI por FTIR

A Figura 5.1(a) apresenta o espectro de infravermelho da quitosana com bandas compreendidas entre 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ . Entre 3200-3400  $\text{cm}^{-1}$  pode-se observar a banda associada ao estiramento da ligação -NH sobreposta à banda do estiramento das hidroxilas. Além disso, as absorções a 1030-1040  $\text{cm}^{-1}$  e 1080-1100  $\text{cm}^{-1}$ , indicam bandas de estiramento do grupo C-O na quitosana, associadas às hidroxilas primária do C<sub>6</sub>-OH e hidroxila secundária C<sub>3</sub>-OH, respectivamente (MANSUR, COSTA, *et al.*, 2009; COSTA-JÚNIOR, BARBOSA-STANCIOLI, *et al.*, 2009; SANTOS, MANSUR e MANSUR, 2013). Além disso, as bandas em 1320  $\text{cm}^{-1}$  estão associadas com a ligação -CN (Amida III) e as vibrações em 1154  $\text{cm}^{-1}$  e 920  $\text{cm}^{-1}$  são contribuições do C-O-C (SANTOS, MANSUR e MANSUR, 2013). O espectro no detalhe da Figura 5.1 ilustra bandas de absorção em 1650-1640  $\text{cm}^{-1}$  e 1580-1550  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento assimétrico da carbonila dos grupos das aminas secundárias e dobramento da ligação N-H na amina primária (-NH<sub>2</sub>) e na amida II. Estes grupos amina e hidroxila são os grupos mais reativos da quitosana associados ao processo de modificações químicas deste carboidrato e nas interações de quitosana com cátions e ânions (RIVA *et al.*, 2011; VARMA, DESPANDE; KENNEDY, 2004). A quitosana pode ser considerada um biopolímero polissacarídeo sensível ao pH e uma base fraca, em soluções aquosas com valores de pKa que variam entre 6,3-7,2 (NOMANBHAY; PALANISAMY, 2005). O pKa da quitosana permite controlar a protonação dos grupos amino em soluções ácidas, de acordo com a equação 26.



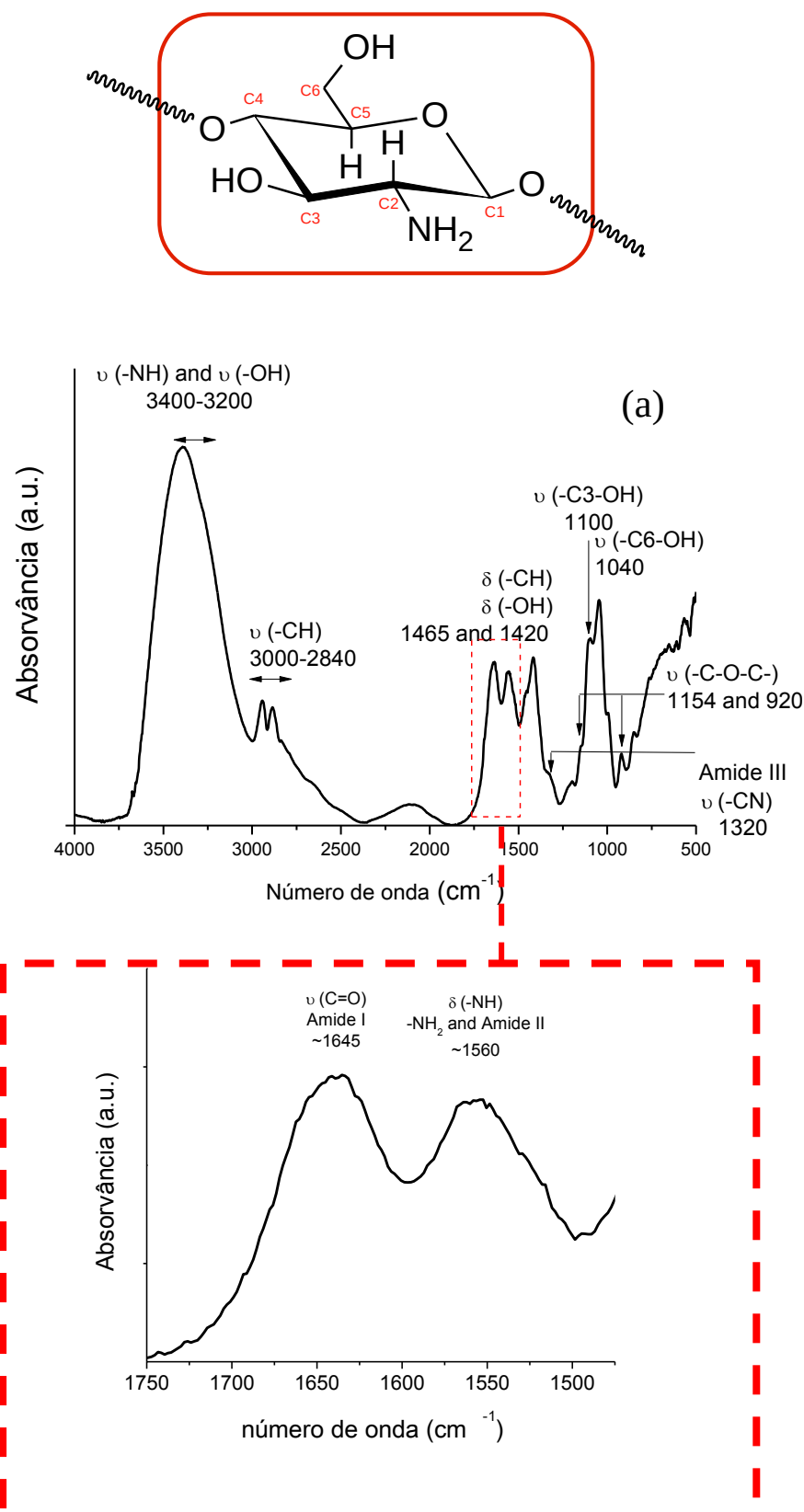


Figura 5.1 - Espectro de FTIR Quitosana em pH: (a) 4,0, Detalhe: Região de vibração: 1750 to 1400 cm<sup>-1</sup>. (Detalhe) estrutura da quitosana. (MANSUR, COSTA, *et al.*, 2009; COSTA-JÚNIOR, BARBOSA-STANCIOLI, *et al.*, 2009; SANTOS, MANSUR e MANSUR, 2013)

Com base na equação 26 (PAG. 75), sob condições ácidas ( $\text{pH} < \text{pKa}$ ), o grupo amina da quitosana é protonado a vários graus, dependendo do pH da solução; o pH sendo mais baixo (referência ao  $\text{pKa}$ ), maior é a extensão da protonação ( $\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$ ). Nos espectros de FTIR, vibrações específicas de amins e amins protonadas aparecem na região espectral de  $1750\text{-}1400\text{cm}^{-1}$  (LAWRIE *et al.*, 2007), conforme se apresenta na Figura 5.2. Observa-se que a protonação do grupo amina provoca o aparecimento de duas novas bandas. A primeira a  $1635\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$ , associada ao estiramento antissimétrico -  $\text{NH}_3^+$ , sobrepondo a banda da amida I; e a segunda banda em  $1550\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$  está relacionada com a estiramento simétrico do grupo  $-\text{NH}_3^+$  (LAWRIE *et al.*, 2007). No entanto, FTIR não é uma técnica que pode ser usada diretamente para avaliar o grau de protonação da quitosana.

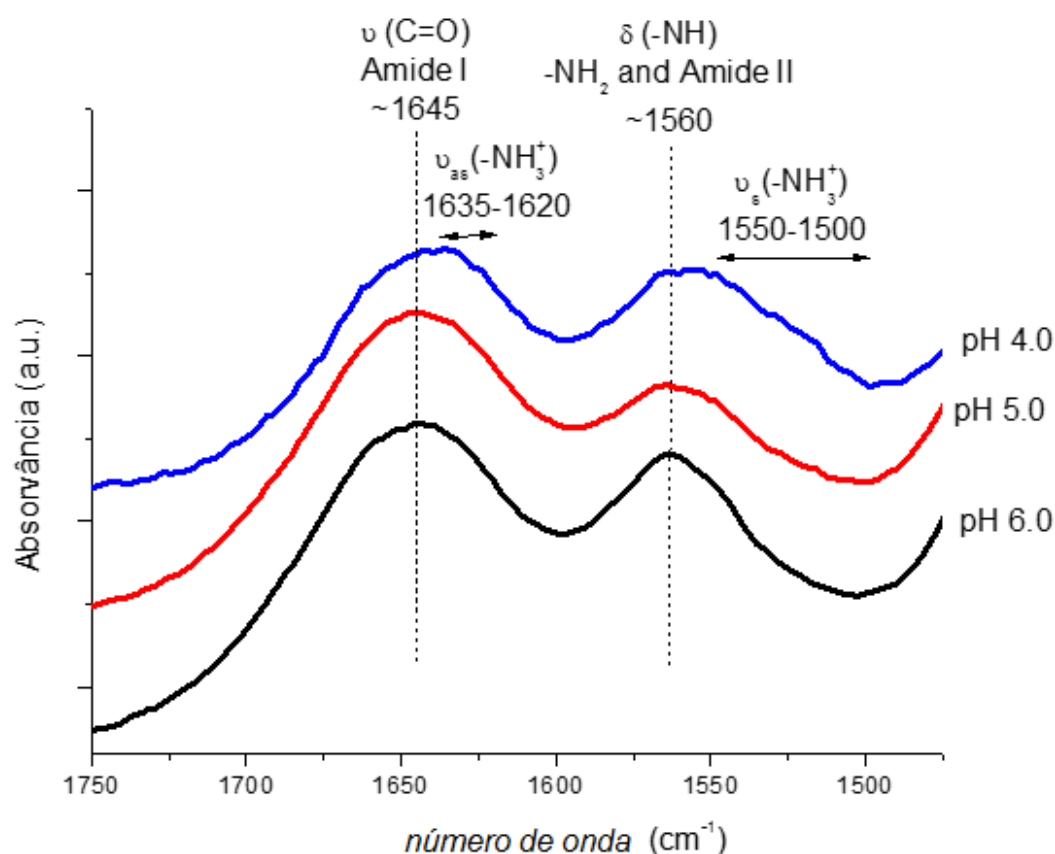


Figura 5.2 - Espectro de FTIR Quitosana em pH: (a) 4,0, (b) 5,0 e (c) 6,0

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

### 5.1.2. Análise da QUI por RMN<sup>1</sup>H

O espectro de RMN<sup>1</sup>H da quitosana está apresentado na Figura 5.3. O pico na faixa de 5,0-4,4 ppm é atribuído a hidrogênio ligado a carbono C1, e os hidrogênios ligados aos carbonos C3, C4, C5 e C6 são relacionados com os picos de 4,0 até 3,3ppm (I). Picos de hidrogênio ligados ao C2 do anel de glucosamina podem ser observados na posição 3,05ppm (II) e hidrogênio metílicos dos grupos acetamida (1,92ppm, III) também foram detectados.

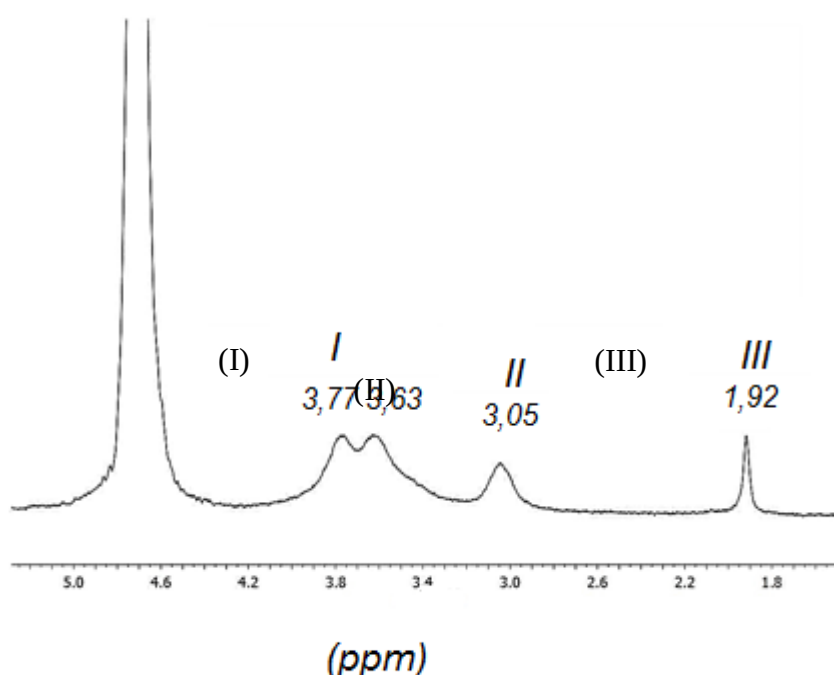


Figura 5.3 - Espectro RMN da quitosana original. (I) H3-6, (II) H-2D, e (III) Acetil-H (CH<sub>3</sub>-CO).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

### 5.1.3. Análise da Titulação Potenciométrica da QUI.

A técnica de Titulação Potenciométrica permite avaliar o grau de desacetilação da cadeia polimérica da QUI, bem como o grau de protonação. A partir da curva de titulação potenciométrica de quitosana, conforme a Figura 5.4, pode ser calculado o grau de desacetilação (DD), segundo a equação 18 e a extensão da protonação (EP<sub>pH</sub>) a diferentes valores de pH pela equação 19.

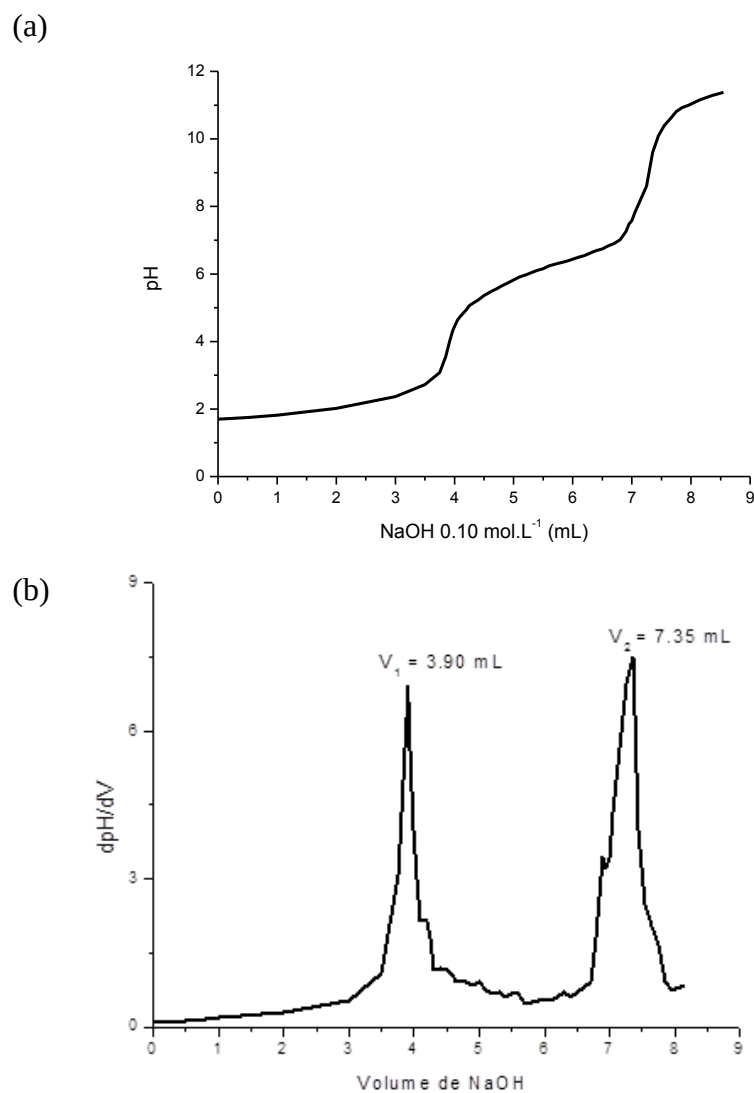


Figura 5.4 - Curva Titulação Potenciométrica: (a) da quitosana dissolvida em  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  de solução de  $\text{HCl}$ , (b) e a derivada da curva de Titulação.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

A DD foi calculada igual a  $75 \pm 2\%$  compatível com os dados fornecidos pelo fabricante ( $\geq 75,0\%$ ) e a extensão da protonação foi estimada como 100%, 92% e 60% no pH de 4,0, 5,0 e 6,0, respectivamente, os quais são consistentes com estudos prévios relatado na literatura (HASAN, *et al.*, 2008; NOMANBHAY; PALANISAMY, 2005).

#### 5.1.4. Análise do Potencial Zeta (Z) da QUI.

Com o objetivo de uma investigação mais aprofundada, a caracterização da quitosana por meio de medições de potencial zeta foi realizada. A Figura 5.5 apresenta a curva do potencial zeta de soluções de quitosana em diferentes valores de pH.

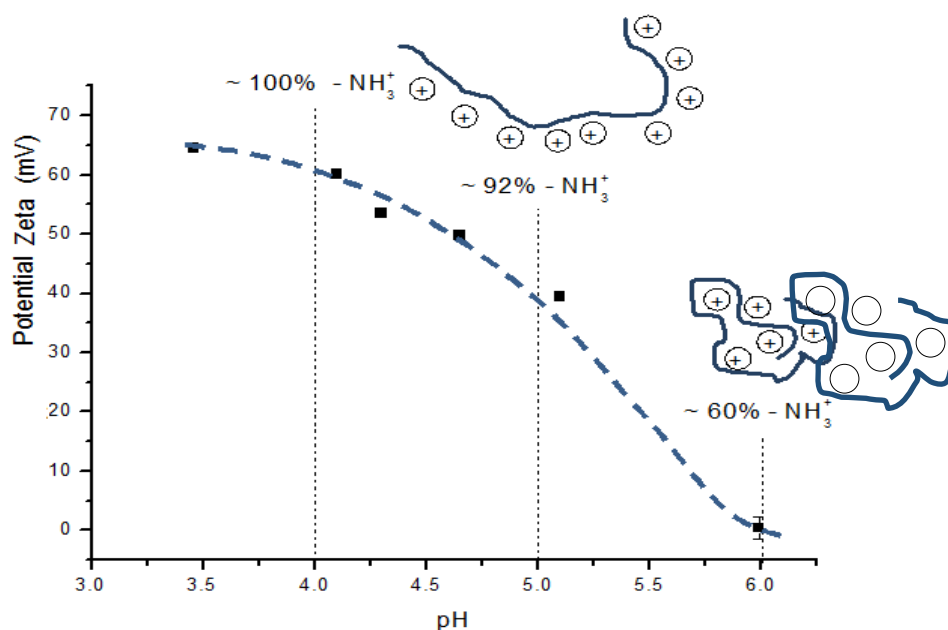


Figura 5.5 - Potencial Zeta das dispersões de quitosana em diferentes valores de pH.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Esses resultados indicaram uma diminuição da carga positiva de superfície com o aumento do pH que varia de +65mV a um pH de 3,5 para aproximadamente zero perto do pH 6,0. Esses resultados seguem a mesma tendência que o grau de protonação, como uma função do pH: maior valor potencial zeta foi medido com maior teor de grupos- $\text{NH}_3^+$ , conforme ilustrado na Figura 5.5. No entanto, é interessante notar que, apesar da presença de grupos protonados, a carga de superfície de quitosana no pH 6,0 tende a zero. Isto pode ser explicado em termos de conformação de cadeias da quitosana. Em pH mais baixos, quase todos os grupos amina estão protonados, favorecendo a interação entre a quitosana e as moléculas de água, e, portanto, superando as forças associativas entre as cadeias. Em valores de pH mais elevados, o número de espécies  $-\text{NH}_3^+$  e as forças eletrostáticas repulsivas entre cadeias são reduzidos, favorecendo as ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre as cadeias e promovendo a formação de uma estrutura mais compacta (CHENITE *et al.*, 2001).

## 5.2. Caracterização do polímero carboximetilquitosana

### 5.2.1. Análise de FTIR da CMC

A mudança dos grupos funcionais presentes na estrutura da quitosana após a síntese de carboximetilquitosana foi avaliada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os espectros comparativos da QUI e CMC são apresentados na Figura 5.6. As principais bandas associadas com a QUI e CMC observadas nos espectros FTIR estão resumidas e listadas na Tabela 12.

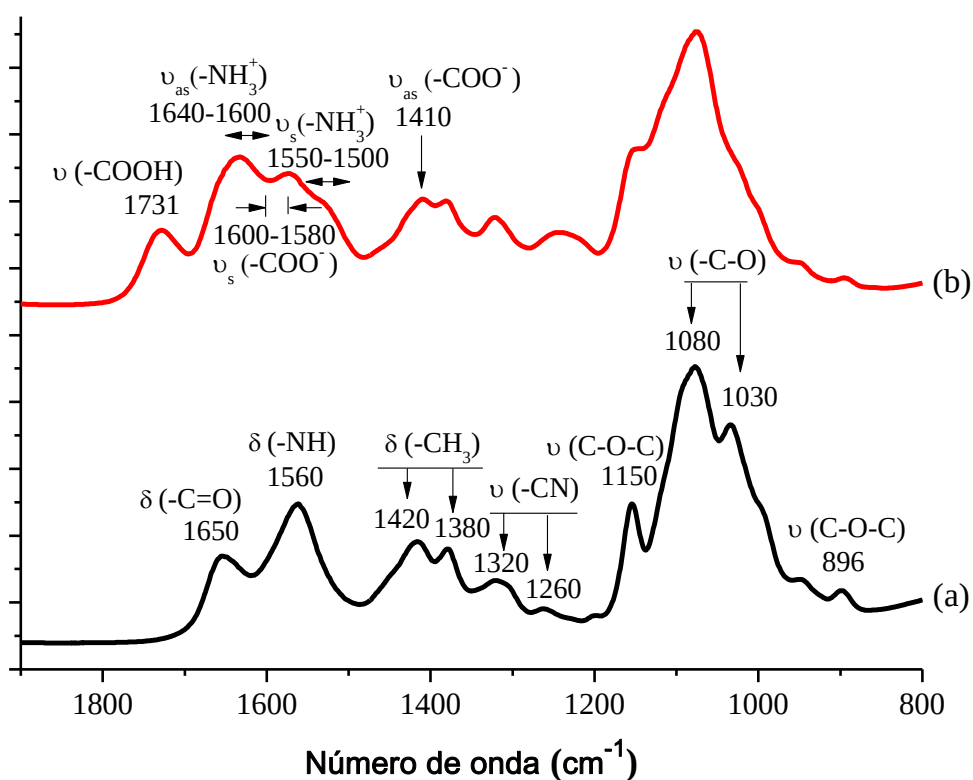


Figura 5.6 - Espectro de FTIR de Quitosana ( $pH = 3,0$ ) (a) e Carboximetilquitosana (b).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Ao contrário do espectro de quitosana, conforme se apresenta na Figura 5.5a, uma banda característica foi observada a cerca de  $1731\text{cm}^{-1}$ , atribuída ao grupo carboxílico ( $-\text{COOH}$ ), conforme se apresenta na Figura 5.5b, indicando a formação de H-CMC. As

bandas no número de onda 1588 e 1412 $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas às deformações simétricas e assimétricas axiais do grupo carboxilato  $\text{COO}^-$ , respectivamente, que são as características de carboximetilquitosana de sódio (Na-CMC). Além disso, devido à protonação dos grupos amina, bandas na região de 1640-1600 $\text{cm}^{-1}$  (estiramento antissimétrico do  $-\text{NH}_3^+$ ), superpostas com a banda da amida I ( $-\text{C}=\text{O}$ , 1650 $\text{cm}^{-1}$ ), e na faixa de 1550-1500  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento simétrico do  $-\text{NH}_3^+$ ), foram observadas.

Tabela 11 - Bandas vibracionais de FTIR associadas com a QUI e CMC

| Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Atribuição de Banda                         | Material  |
|-------------------------------------|---------------------------------------------|-----------|
| 1740-1730                           | -COOH estiramento                           | H-CMC     |
| 1650                                | -C = O Banda (Amida I)                      | QUI e CMC |
| 1640-1620                           | $-\text{NH}_3^+$ estiramento antissimétrico | H-CMC     |
| 1600-1580                           | $-\text{COO}^-$ estiramento simétrico       | Na-CMC    |
| 1590-1550                           | -NH dobramento ( $\text{NH}_2$ e amida II)  | QUI e CMC |
| 1550-1500                           | $-\text{NH}_3^+$ estiramento simétrico      | H-CMC     |
| 1422                                | $-\text{CH}_3$ deformação assimétrica       | QUI e CMC |
| 1412                                | $-\text{COO}^-$ estiramento assimétrico     | Na-CMC    |
| 1380                                | $-\text{CH}_3$ deformação simétrico         | QUI e CMC |
| 1320                                | -CN estiramento (Amida III)                 | QUI e CMC |
| 1120-1090                           | C-O- estiramento (álcool secundário C3-OH)  | QUI e CMC |
| 1060-1020                           | C-O- estiramento (C6-OH álcool primário)    | QUI e CMC |

Fonte: Adaptado de CHEN e PARK, 2003; LAWRIE *et al.*, 2007; YAN *et al.*, 2011; RIVA *et al.*, 2011; ABREU *et al.*, 2013; MANSUR, *et al.*, 2013

Com base nos resultados, a forma de ácido (H-CMC) e o sal de Na-CMC foram produzidos, o que indica que a conversão completa da forma de sal na forma de ácido livre não foi conseguida, mesmo na condição de lavagem ácida (pH 3,0).

A comparação entre os espectros da QUI e CMC (Figura 5.5) também indica a ocorrência preferencial de carboximetilação na hidroxila do álcool primário (C6-OH) em  $1060\text{cm}^{-1}$  devido à redução significativa desta banda. Menos significativas foram as variações na banda do C3-OH ( $1080\text{ cm}^{-1}$ ) e nas bandas do -NH ( $1560\text{ cm}^{-1}$ ) e do -CN ( $1260\text{ cm}^{-1}$ ) que poderiam evidenciar a introdução dos grupos carboximetilas nas hidroxilas do álcool secundário e da amina, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com a literatura que indica que a reatividade dos três sítios possíveis de reação da CMC varia na seguinte ordem: C6-OH > C3-OH > NH<sub>2</sub> (RINAUDO, DUNG, *et al.*, 1992). Além disso, a rota de síntese selecionada, temperatura ambiente e utilizando uma suspensão de isopropanol e água em presença de ácido monocloroacético e hidróxido de sódio, predominantemente, resultam na O-carboximetilação da quitosana (RHAZI *et al.*, 2002).

### 5.2.2. *Análise de RMN <sup>1</sup>H*

Na região entre 4,05 e 4,55 ppm (centrado em 4,28 ppm) do espectro de RMN de <sup>1</sup>H de CMC (Figura 5.7), as ressonâncias são associadas com os prótons 3- e 6-substituídos nos grupos carboxilato (-O-CH<sub>2</sub>-COOD) da CMC, que não são observados no espectro da quitosana utilizada como amostra de referência (Figura 5.6). Foram observados apenas sinais menores da presença de grupos N-carboximetil em CMC (sinal de ressonância a 3,0-3,4ppm), o que provavelmente foi causado pela reação paralela comum de substituição nos grupos amino de quitosana como relatado na literatura (ABREU; CAMPANA-FILHO, 2009; CHEN e PARK, 2003).

Estes resultados de FTIR e RMN de <sup>1</sup>H mostraram a hipótese de que O-CMC foi predominantemente produzida neste trabalho, uma vez que os parâmetros e as condições utilizadas na síntese realizada foram escolhidos para favorecer a reação na região seletiva nos grupos hidroxila da cadeia de polissacarídeo. Seria necessária a caracterização adicional de CMC com base na RMN de <sup>13</sup>C para uma análise mais precisa e quantitativa sobre a distribuição de substituintes em cada posição (hidroxilas em C-6, C-3 e amina em C2) dos derivados de quitosana carboximetilados, o que não foi o foco do presente estudo.

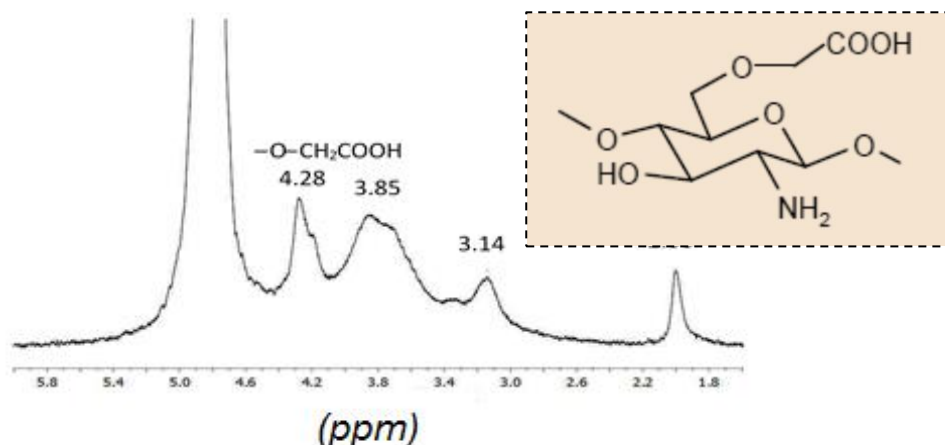


Figura 5.7 - Espectro RMN da CMC (I) H-3' e H-6' ( $O-CH_2COOD$ ), (II) H3-6, (III) H-2' ( $N-CH_2COOD$ ), (IV) H-2D' e (V) Acetil-H ( $CH_3-CO^-$ ).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese

### 5.2.3. Análise de Titulação Potenciométrica

A curva de titulação potenciométrica da CMC está apresentada na Figura 5.8. A partir dos volumes obtidos e utilizando a Equação 19, obteve-se um valor de DS igual a  $(0,78 \pm 0,01)$  em acordo com valores obtidos por Abreu e Campana Filho em condições similares de reação (ABREU e CAMPANA-FILHO, 2005).

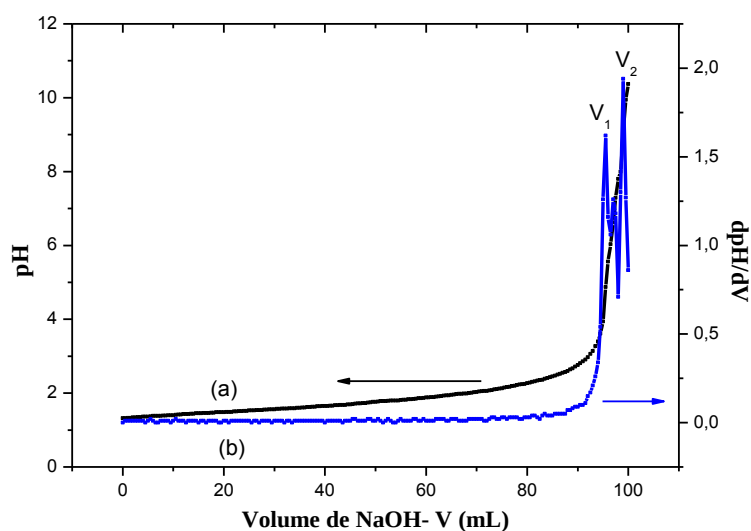


Figura 5.8 - Curva de titulação potenciométrica da CMC (a) e a sua derivada da curva (b).

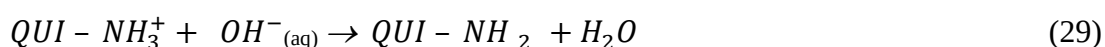
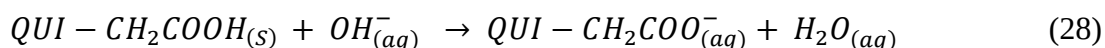
Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

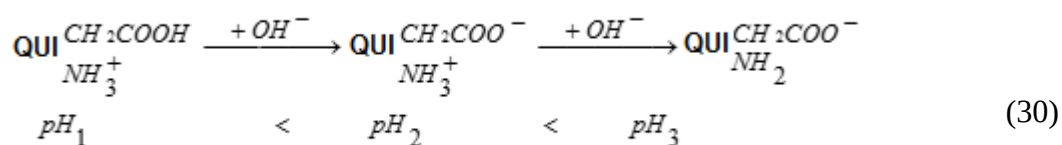
#### 5.2.4. Análise da Solubilidade através de UV-vis

Os testes de solubilidade baseados em espectroscopia na região do Ultravioleta visível, UV-Vis, revelaram a CMC é solúvel em condições ácidas e alcalinas, e apenas insolúveis na região de  $6,0 < \text{pH} < 7,5$ . Esta é uma das principais vantagens da CMC em relação à QUI, porque são solúveis em meio aquoso ácido e alcalino enquanto a quitosana é insolúvel em pH maior que 6,5. A faixa de solubilidade de quitosana e do derivado da quitosana pode ser explicado com base no balanço geral de cargas negativas e positivas na cadeia polimérica. Em condições ácidas ( $\text{pH} < \text{pK}_a \approx 6,5$ ) (SONIA; SHARMA, 2011), os grupos amino da quitosana são protonados para vários graus (equação 26). Grupos amino protonados se repelem, o que favorece as interações quitosana-água, que superam as ligações de hidrogênio hidrofóbicas entre as cadeias do biopolímero.

Em condição moderadamente ácida para neutra, o número de espécies amino protonadas,  $\text{NH}_3^+$  e o resultado líquido das forças eletrostáticas repulsivas entre cadeias são menores, e a solubilidade reduz até a insolubilidade.

A CMC sintetizada neste estudo apresenta as formas de CMC ácida ( $\text{QUI-CH}_2\text{-COOH}$ ) e o sal de sódio ( $\text{QUI-CH}_2\text{COONa}$ ). Nesse sentido, o sal de sódio é prontamente disponível para dissociação em solução aquosa (equação 27), uma vez que é praticamente independente do pH. Por outro lado, a dissociação da forma ácida de CMC é dependente do pH (equação 28). Em soluções ácidas, duas espécies de grupos protonados estão presentes na estrutura da CMC, grupo carboxílico ( $-\text{COOH}$ ) e as aminas ( $\text{NH}_3^+$ ). À medida que se eleva o pH (por exemplo, por adição de  $\text{OH}^-$ ), os grupos carboxílicos ( $-\text{COOH}$ ) são em primeiro lugar desprotonados formando carboxilatos ( $-\text{COO}^-$ , equação 27) e, em seguida, seguindo-se a desprotonação de aminas a partir de  $-\text{NH}_3^+$  a  $\text{NH}_2$  (WANG *et al.*, 2008) (equação 29). A representação esquemática da esperada desprotonação de CMC, elevando o pH, é apresentada na equação 30.





Assim, na faixa de pH entre 6,0 e 7,5, a estrutura da CMC é neutra ou ligeiramente positiva ou negativa, devido ao balanço global da presença de grupos amina protonados e grupos carboxílicos desprotonados, estabilizando a cadeia polimérica através de forças entre cadeias e reduzindo a solubilidade. Em pHs ácidos (< 6,0) e alcalinos (> 7,5), os grupos amina protonados ou os grupos carboxilatos, respectivamente, dominam e garantem a solubilidade da CMC nessas faixas de pH.

### 5.3. Caracterização dos Pontos Quânticos de ZnS

#### 5.3.1. Pontos Quânticos de ZnS estabilizados por Quitosana (QUI)

##### 5.3.1.1. Espectroscopia de UV-vis dos PQs de ZnS\_QUI

Os espectros de absorção na região do UV-vis das nanopartículas de ZnS produzidas, usando-se o estabilizante quitosana na fração molar dos íons de  $\text{Zn}^{2+}:\text{S}^{2-}$  de 2:1 (PQs de ZnS\_QUI), com variação do valor do pH de  $4,0 \pm 0,2$ ,  $5,0 \pm 0,2$  e  $6,0 \pm 0,2$ , estão apresentados na Figura 5.9. As curvas apresentam uma banda de absorção na faixa de 250 a 360nm, correspondente à primeira transição excitônica. Esses valores são inferiores ao  $\lambda_{\text{exc}}$  do *bulk* de ZnS, 343nm, sendo um indicativo de que as partículas se encontram em regime de confinamento quântico.

O *band gap* dos pontos quânticos pode ser avaliado por modelo teórico empírico. Neste estudo, a energia da banda proibida ( $E_{\text{QD}}$ ) foi avaliada a partir dos dados de coeficiente de absorção em função do comprimento de onda utilizando-se a relação *TAUC* (equação 10) (TAUC; MENTH, 1972), que permite determinar o *band gap* dos PQs de ZnS através do intercepto da reta tangente à curva com o eixo da abscissa (FIG. 5.10). Os valores de *band gap* ( $E_{\text{QD}}$ ) dos PQs de ZnS extraídos das curvas, usando-se a relação *TAUC* (FIG. 5.10), foram iguais a  $3,74 \pm 0,02$ ,  $3,79 \pm 0,02$  e  $3,92 \pm 0,02\text{eV}$  para pH = 4,0, 5,0 e 6,0, respectivamente. Esses valores de *band gap* são superiores ao *band gap* do *bulk*, 3,54-3,68eV para o ZnS com uma estrutura cúbica. Esse acréscimo de energia referente à

diferença entre o *band gap* do PQs e do material *bulk* ( $E_{QD} - E_g$ ) é dito como *blue shift* (COOPER *et al.*, 2011; FANG *et al.*, 1993), que é característico da formação de nanopartículas no regime de confinamento quântico e confirma a obtenção de PQs de ZnS estabilizados por polímero QUI.

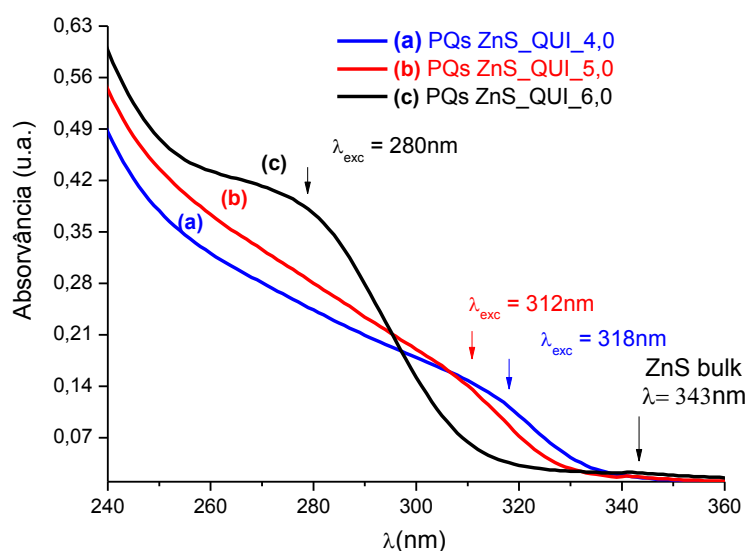


Figura 5.9 - Espectros de UV-vis dos PQs de ZnS\_QUI sintetizados em diferentes valores de pH: (a) pH =  $4,0 \pm 0,2$ , (b) pH =  $5,0 \pm 0,2$  (c) pH =  $6,0 \pm 0,2$ .

Fonte: elaborado pelo autora desta tese.

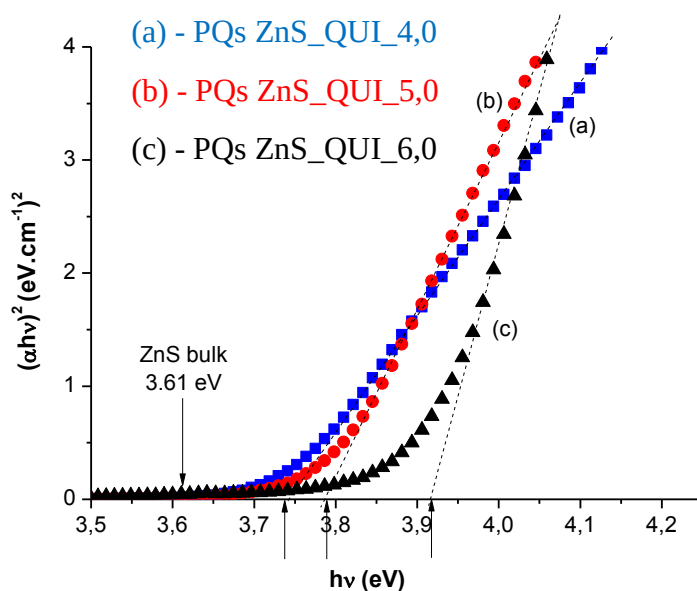


Figura 5.10 - Curvas da relação TAUC dos PQs de ZnS\_QUI sintetizados em diferentes valores de pH: (a) pH =  $4,0 \pm 0,2$ , (b) pH =  $5,0 \pm 0,2$ , (c) pH =  $6,0 \pm 0,2$ .

Fonte: elaborado pelo autora desta tese.

Esse procedimento permite estimar as dimensões das nanopartículas em suspensão coloidal diluídas *in situ*, uma vez que o tamanho médio dos nanocristais ZnS pode ser estimado utilizando-se o modelo empírico publicado na literatura (JAISWAL, A. *et al.*, 2011; CHENG *et al.*, 2012; MALL; KUMAR, 2010), que se refere à estimativa empírica do raio ( $r$ ) das nanopartículas de ZnS, para o  $E_{QD}$  a partir de um espectro de UV-vis (equação 9 do capítulo 3).

A avaliação do diâmetro dos PQs foi realizada com base nos resultados da equação 9, correspondente à  $4,7 \pm 0,1$ ,  $4,4 \pm 0,1$  e  $3,8 \pm 0,1$  nm, para o pH = 4,0, 5,0 e 6,0, respectivamente. Os resultados dos valores de diâmetros mostraram que o pH da síntese influenciou as propriedades ópticas e as dimensões, como mostrado na Figura 5.11.

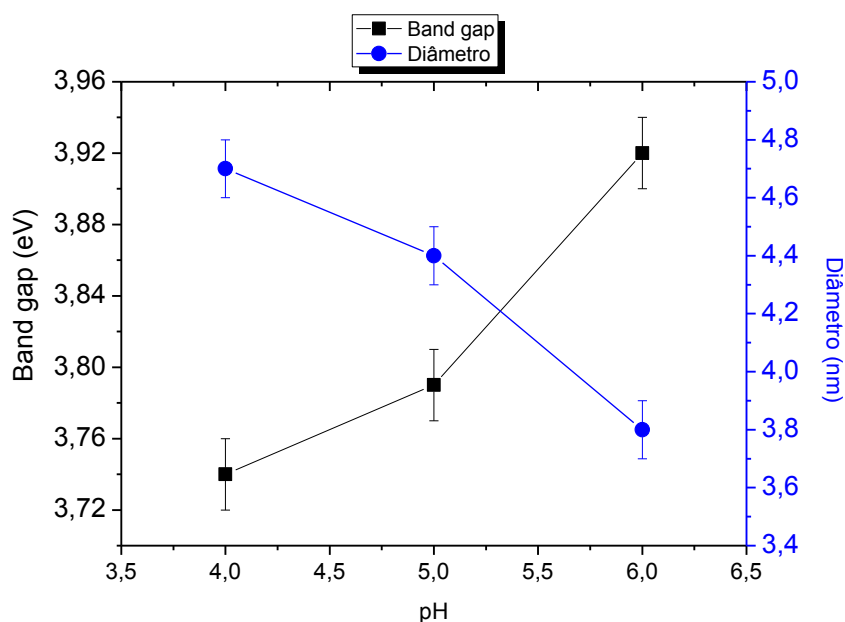
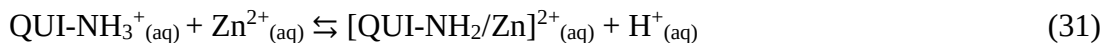


Figura 5.11 - Análise do efeito do pH durante a síntese sobre o diâmetro médio e band gap ( $E_{QD}$ ) dos PQs de ZnS\_QUI.

Fonte: elaborado pelo autor.

Portanto, uma influência significativa do pH na formação, crescimento e estabilização e nas propriedades ópticas dos pontos quânticos foi observada. Com base nas curvas de espectroscopia de UV-vis, o aumento do pH de 4,0 para 6,0 resultou em uma redução do tamanho do nanocristal de cerca de 20% (de 4,7 para 3,8 nm). A redução no tamanho pode ser atribuída à soma de diversas contribuições que ocorrem no processo de formação do nanoconjugado com núcleo inorgânico de ZnS e uma “casca” orgânica de quitosana. Em valores relativamente baixos de pH 4, a síntese ocorre em uma situação em que a

maioria dos grupos amina está protonada ( $\text{pH} \ll \text{pK}_a$ ) e, portanto, os cátions do metal têm de competir com o íon hidrogênio para a complexação com o par de elétrons do grupo amina (interações metal-polímero), conforme representado na equação 31.



Ao contrário, quando a síntese é realizada em  $\text{pH} = 6$ , mais grupos amina desprotonados estão disponíveis na quitosana para ligações dativas com o cátion divalente ( $\text{Zn}^{2+}$ ) diminuindo a repulsão eletrostática ( $\text{Zn}^{2+} \rightleftharpoons \text{NH}_3^+$ ) e favorecendo a estabilização dos nanocristais de ZnS em menores dimensões devido ao aumento do número de sítios de nucleação.

#### 5.3.1.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de ZnS\_QUI

As características morfológicas e estruturais dos PQs de ZnS\_QUI foram estudadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), com detector de espectros de energia dispersiva de raio-X (EDS) e utilizando análise de difração de elétrons de área selecionada (SAED).

A Figura 5.12a apresenta as imagens de TEM com detalhe para a distância interplanar e o espectro de EDS para os PQs de ZnS\_QUI em  $\text{pH} 4,0$ . Pode-se verificar no padrão de difração de elétrons que o parâmetro de rede é compatível com o cristal de ZnS de estrutura cúbica (JCPDS 05-0566). No espectro de EDS identificou-se a presença dos elementos constituintes do PQ, isto é, Zn e S, além do C e O, associados com o agente de estabilização. O carbono também pode ser associado ao filme que recobre o grid de cobre (Cu), que também foi detectado. O histograma de distribuição de tamanho dos PQs ZnS\_QUI\_4,0 (FIG. 5.12b) indica uma distribuição monodispersa com tamanho médio de  $5,1 \pm 0,3 \text{ nm}$ .

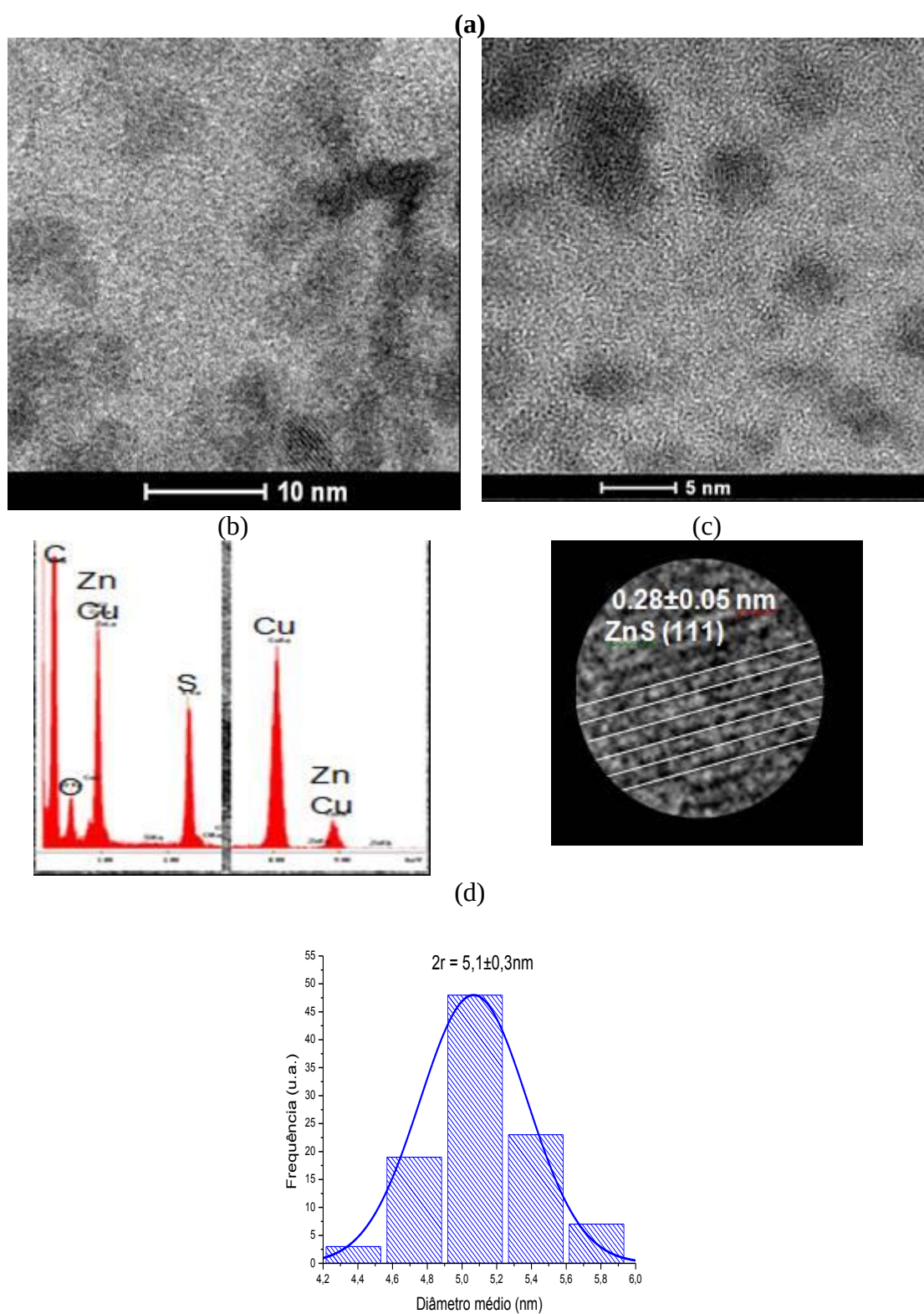


Figura 5.12 - TEM e EDS dos PQs de ZnS\_QUI em pH 4,0: (a) imagens de TEM em diferentes magnitudes, (b) espectro de EDS, (c) franjas de interferência e (d) Histograma de distribuição de tamanho.

Fonte: Elaborada pelo autor desta tese.

A Figura 5.13 apresentam as imagens de TEM e histograma de distribuição de tamanho dos PQs de ZnS\_QUI em pH 5,0 e 6,0.

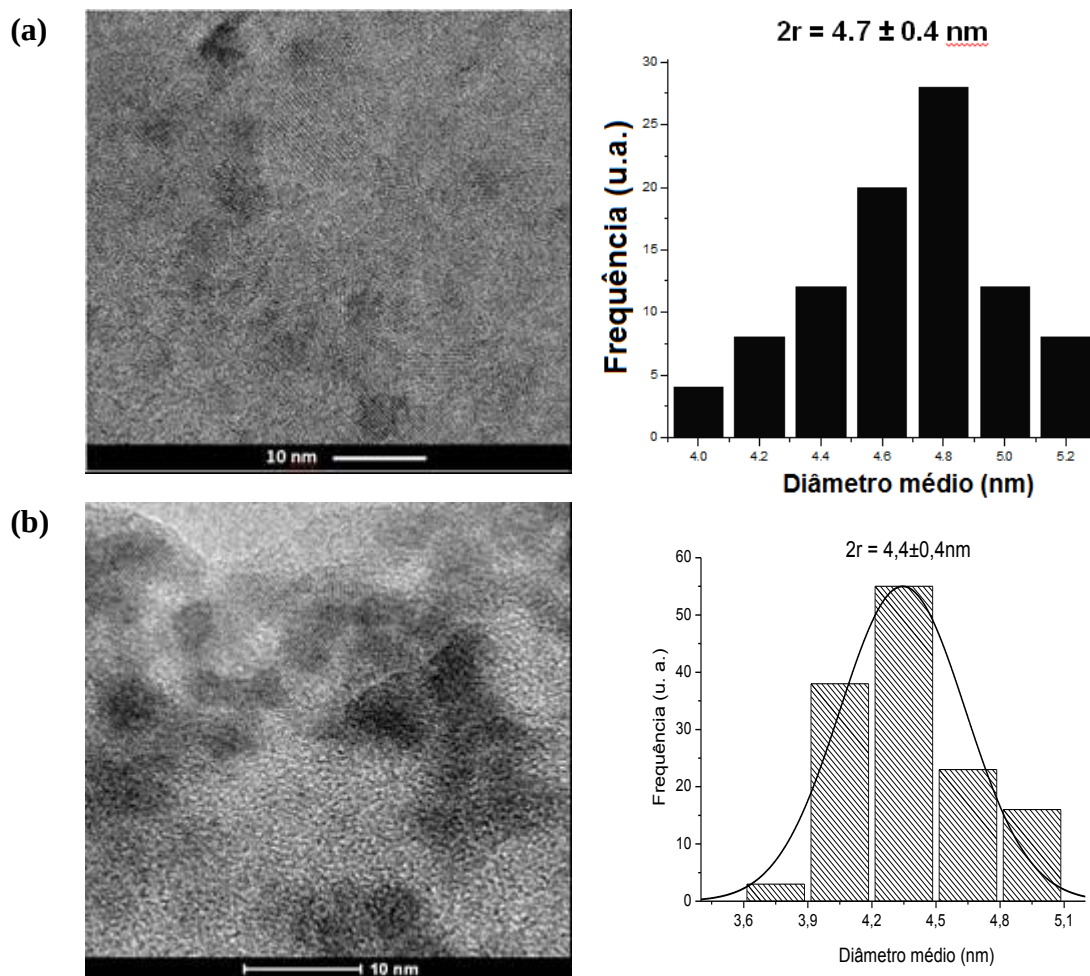


Figura 5.13 - Imagens de TEM e Histogramas de distribuição de tamanho dos PQs de ZnS\_QUI: (A) pH= 5,0 e (B) pH=6,0.

Fonte: Elaborada pelo autor desta tese.

Analogamente, as amostras de PQs de ZnS\_QUI em pH 5,0 e 6,0 exibiram nanopartículas razoavelmente monodispersas com diâmetros médios de  $4,7 \pm 0,1 \text{ nm}$  e  $4,4 \pm 0,4 \text{ nm}$  (FIG. 5.13), respectivamente. Assim os resultados de TEM demonstraram que os PQs de ZnS\_QUI foram devidamente estabilizados por quitosana, em razoável acordo com os valores obtidos a partir dos resultados de absorção óptica e a equação empírica (equação 9), com valores para os PQs de ZnS\_QUI em pH 4,0 ( $2r=4,7 \pm 0,1 \text{ nm}$ ), pH 5,0 ( $2r=4,4 \pm 0,1 \text{ nm}$ ) e pH 6,0 ( $2r=3,8 \pm 0,1 \text{ nm}$ ).

### 5.3.1.3. Análise de fotoluminescência dos PQs de ZnS\_QUI

A Figura 5.14 mostra os espectros de fotoluminescência registrados à temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) dos PQs de ZnS\_QUI nos valores de pH 4,0, 5,0 e 6,0, com destaque para luminescência azul dos PQs sob excitação de luz UV. Com base nas curvas de absorção energias (Figura 5.9), esperava-se a emissão de luz dos PQs de ZnS estabilizados por quitosana na faixa UV ( $E_g \geq 3,6\text{eV}$ ). Porém, a presença de defeitos superficiais, de vacâncias e de átomos intersticiais pode determinar o caminho que o par elétron/buraco ( $e^-/h^+$ ), gerado pela excitação dos elétrons da banda de valência para banda de condução, irá seguir ao sofrer recombinação. Esses defeitos resultam em níveis intermediários de aprisionamento entre o topo da banda de valência e o fundo da banda de condução, que, durante o processo de recombinação, podem resultar em emissões não-radiativas (fônons), fazendo com que a energia da fotoluminescência seja inferior à de absorção. Pontos quânticos ZnS normalmente apresentam picos de emissão na faixa de comprimento de onda 400-550nm (azul-verde) associados com defeitos pontuais, tais como vacância (V) e íons intersticiais (I) e também defeitos superficiais (CHANG *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2010; LING; WAGEH; XU-RONG, 2003).

No sistema estudado, não foram detectadas recombinações excitônicas, porém observaram-se outras bandas de emissão no intervalo de comprimento de onda na região violeta-azul (FIG. 49). De acordo com os diagramas de níveis de energia reportados por Ling, Wageh e Xu-Rong (2003) e Becker e Bard (1983), as bandas de emissões de alta energia ( $\lambda < 450\text{ nm}$ ) observadas nos espectros estão associadas a defeitos de vacância de ânions de enxofre ( $V_{S^{2-}}$ ) e de cátions de Zn ( $IZnIZn \quad n^{2+}$ ) em locais de interstícios na rede cristalina dos PQs. Esses defeitos podem ter sido favorecidos pelas condições de síntese dos PQs produzidos com excesso de cátions Zn em relação aos ânions de S, relação estequiométrica de  $[S^{2-}]:[Zn^{2+}] = 1:2$ , desenvolvidos no presente trabalho. Além disso as energias de *band gap* referentes aos estados de vacâncias de  $S^{2-}$  são inferiores aos de interstícios de  $Zn^{2+}$  presentes em PQs coloidais de ZnS, conforme destaque na Figura 5.14 (LING; WAGEH; XU-RONG, 2003; BECKER, W. G.; BARD, A. J., 1983; DENZLER, D.; OLSCHESKI, M.; SATTLER, K., 1998).

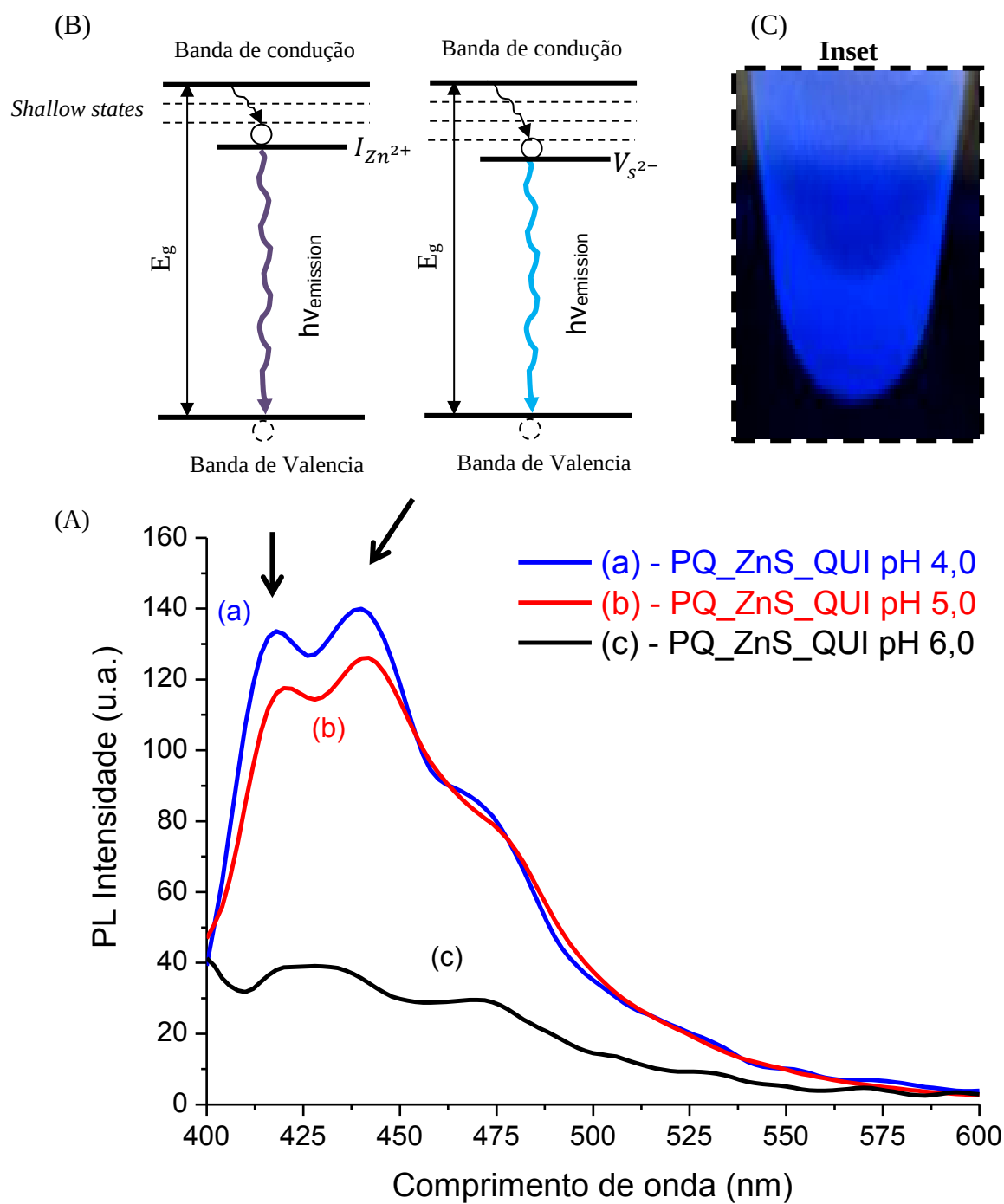


Figura 5.14 – (A) Espectros de PL dos PQs de ZnS\_QUI: (a) pH= 4,0, (b) pH=5,0 e pH=6,0. (B) diagramas de energia. (C) Destaque: Luminescência dos PQs de ZnS sob excitação UV.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

A banda de emissão em comprimento de onda de 418nm (2,97eV) é provocada pelos estados de transição que envolvem os interstícios de  $\text{Zn}^{2+}$  nos PQs de ZnS\_QUI em pH igual a 4,0 e 5,0, enquanto a banda de emissão em comprimento de onda de 440nm (2,82eV) é atribuída aos estados de vacância de  $\text{S}^{2-}$ . A banda de emissão em comprimento de onda de aproximadamente 470nm (2,63eV), observados para todos os sistemas independentes do pH da síntese, pode ser atribuída a defeitos superficiais (LING; WAGEH; XU-RONG, 2003).

A análise das curvas de PL também permite observar que as propriedades de fotoluminescência também foram dependentes do pH. A eficiência da PL foi superior em condições mais ácidas de síntese (pH = 4.0). A redução da PL pode ser atribuída a diferentes causas, no entanto, neste caso, observou-se um decréscimo da luminescência com a redução do tamanho das partículas. Sendo o tamanho reduzido, a desordem superficial e as ligações incompletas na superfície podem dominar as propriedades de luminescência, criando caminhos não-radiativos que dissipam a emissão do ponto quântico, resultando no decréscimo da intensidade.

#### 5.3.1.4. *Análise de DRX dos PQs de ZnS\_QUI*

Os padrões de difração de raio-X das amostras de PQs de ZnS\_QUI sintetizados em valores de pH=4,0, 5,0 e 6,0 apresentam picos bem definidos com perfis semelhantes (FIG.5.15). Os resultados mostram que os três picos mais intensos nos padrões de  $2\theta \sim 28,7^\circ$ ,  $2\theta \sim 48,0^\circ$  e  $2\theta \sim 56,3^\circ$  podem ser atribuídos aos planos (111), (220) e (311) de ZnS com estrutura cristalina cúbica (Blenda de zinco, também conhecido como esfalerita, JCPDS 05-0566). Essa estrutura cristalina tem sido relatada por vários autores para as nanopartículas de ZnS, apesar de a estrutura wurtzita, baseada em arranjo hexagonal compacta (HC), ser o polimorfo estável do material *bulk* de ZnS à temperatura ambiente (TARASOV, K. *et al.*, 2013). Na análise dos resultados pode-se observar o alargamento dos picos com a elevação do pH, característico da redução do tamanho dos cristais de ZnS, consequência do efeito da variação do valor do pH durante a síntese dos PQs de ZnS\_QUI. Com base nessas características, os perfis de DRX obtidos estão de acordo com os resultados das dimensões das nanopartículas estimadas por espectros de UV-vis e imagens de TEM, relacionados com a elevação do valor do pH da síntese.

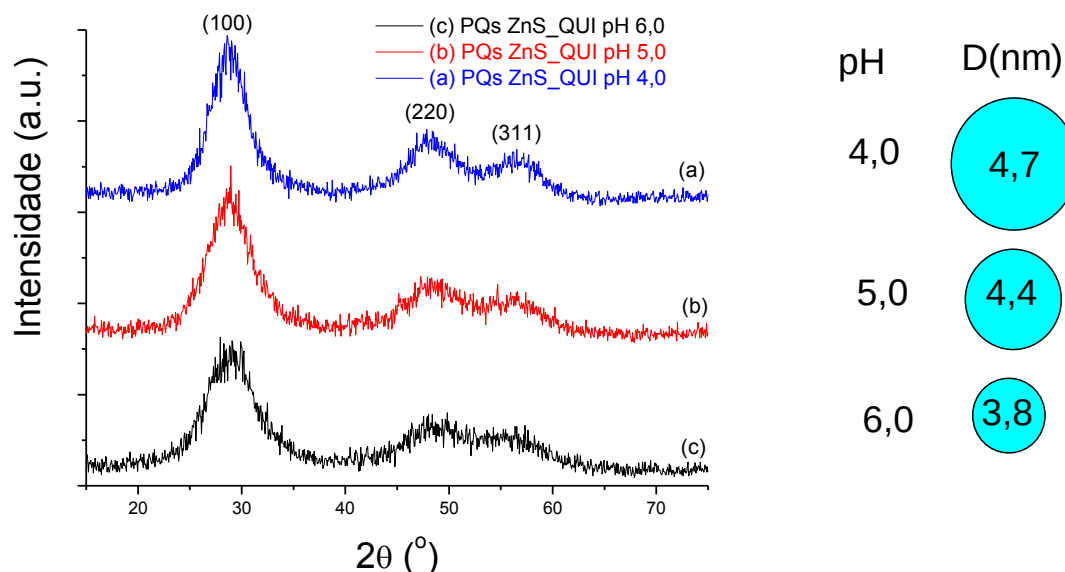


Figura 5.15 - Difrátogramas de PQs de ZnS-QUI sintetizados em diferentes pH. (a), pH = 4,0, (b) pH = 5,0 e (c) pH = 6,0.

Fonte; Elaborado pelo autor desta tese.

#### 5.3.1.5. Análise de Espectroscopia de FTIR dos PQs de ZnS\_QUI

A Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) é comumente utilizada para compreender melhor o nano-microambiente dos polímeros na superfície do PQ, e os grupos amina, amida e hidroxila, locais mais reativos da quitosana, estão envolvidos nas modificações químicas desse carboidrato e nas interações de quitosana com cátions e ânions (RIVA *et al.*, 2011; VARMA, 2004).

Os espectros da Figura 5.16 e da Figura 5.17 apresentam várias bandas da quitosana que exibem alterações em suas energias (número de onda,  $\text{cm}^{-1}$ ), que podem ser atribuídas principalmente às interações que ocorrem entre os grupos funcionais do polímero quitosana (amina/acetamida e hidroxilas) e os PQs de ZnS. Por exemplo, nos espectros de PQs bioconjugados (FIG. 5.16), a banda associada ao grupo amida I ( $1650\text{cm}^{-1}$ ) deslocou-se para um número de onda menor por  $7\text{cm}^{-1}$  para os PQs de ZnS\_QUI a pH 4,0 e 6,0.

Uma alteração significativa também foi observada na região de  $1000$  a  $1200\text{cm}^{-1}$ , que foi essencialmente associada com grupos -OH. Na banda associada com a vibração do álcool primário (C6-OH), ocorreu um *red-shift* (deslocamento para o vermelho) de  $13\text{cm}^{-1}$ , para PQs ZnS\_QUI em pH 6,0 e  $18\text{cm}^{-1}$  para PQs ZnS\_QUI em pH 4,0. A banda associada ao estiramento atribuído ao C3-OH (álcool secundário) mudou sua posição para uma energia

mais baixa por  $38\text{cm}^{-1}$  para PQs ZnS\_QUI em pH 6,0 e  $15\text{cm}^{-1}$  para PQs ZnS\_QUI em pH 4,0. A Figura 5.17C apresenta os espectros de FTIR em diferentes regiões das amostras QUI e PQs de ZnS\_QUI referentes aos *red-shift* de banda relacionada com os grupos funcionais da quitosana após bioconjugações dos PQs de ZnS em função do pH.

A Figura 5.17 apresenta as alterações referentes ao pico da quitosana em  $3385\text{cm}^{-1}$ , que corresponde à vibração de estiramento dos grupos amina e hidroxila,  $-\text{NH}_2$  e  $-\text{OH}$ . Os picos ficaram significativamente mais estreitos após a síntese dos PQs de ZnS\_QUI. Essa mudança pode ser atribuída à redução de grupos amina "livres" após a estabilização dos pontos quânticos (COOPER *et al.*, 2011).

..

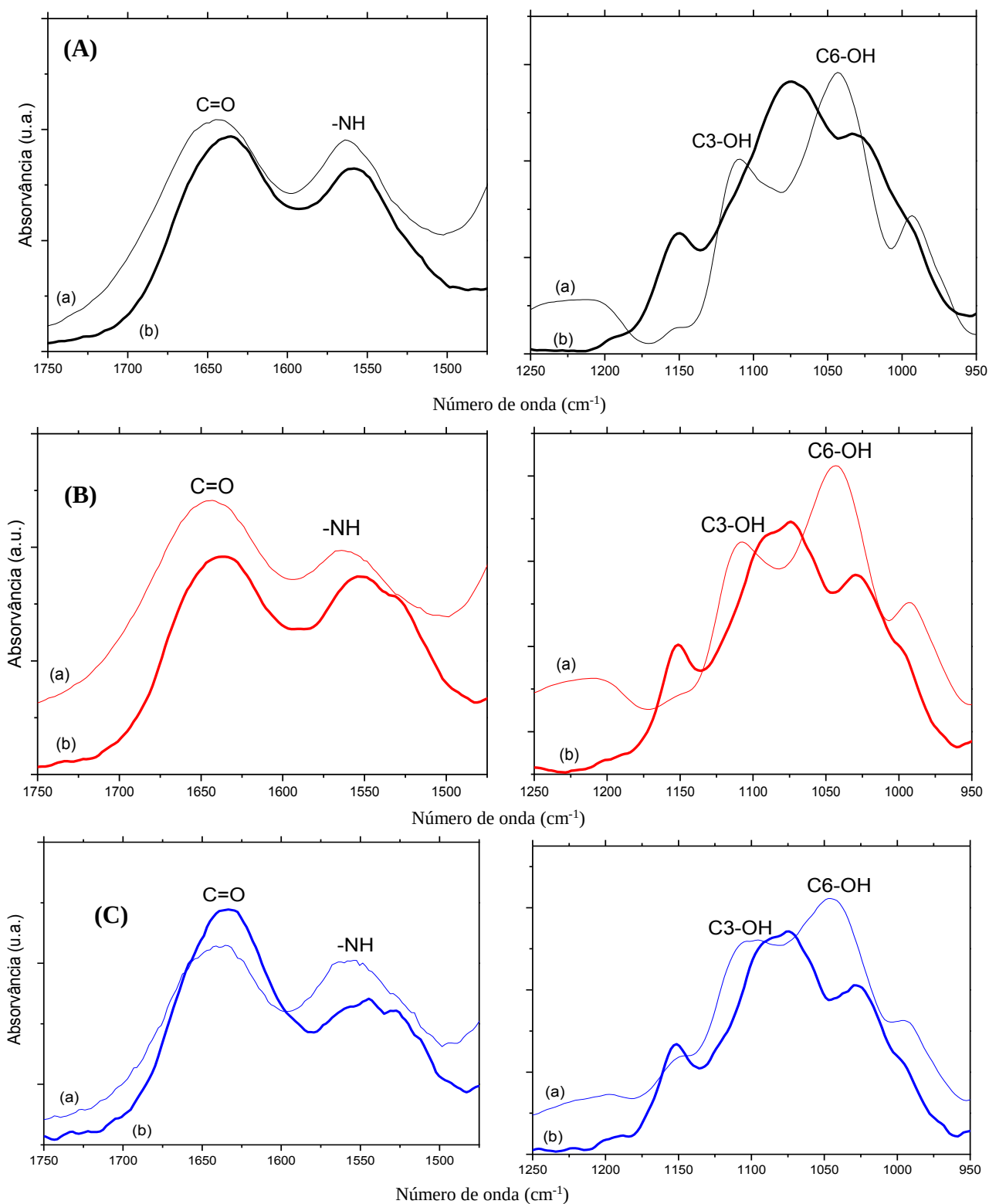


Figura 5.16 - Espectros de FTIR. (a) QUI e (b) PQs de ZnS\_QUI em (A) pH 6,0±0,2, (B) pH 5,0±0,2 e (C) pH 4,0±0,2. Regiões de vibrações: 1750 a 1475cm<sup>-1</sup> (direita) e 1250-950 cm<sup>-1</sup> (esquerda). (C) “red-shift” relativo das bandas associadas com os grupos funcionais da quitosana após a formação dos PQs de ZnS\_QUI em função do pH. (Representação esquemática de algumas interações na nano-interface dos PQs de ZnS\_QUI).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

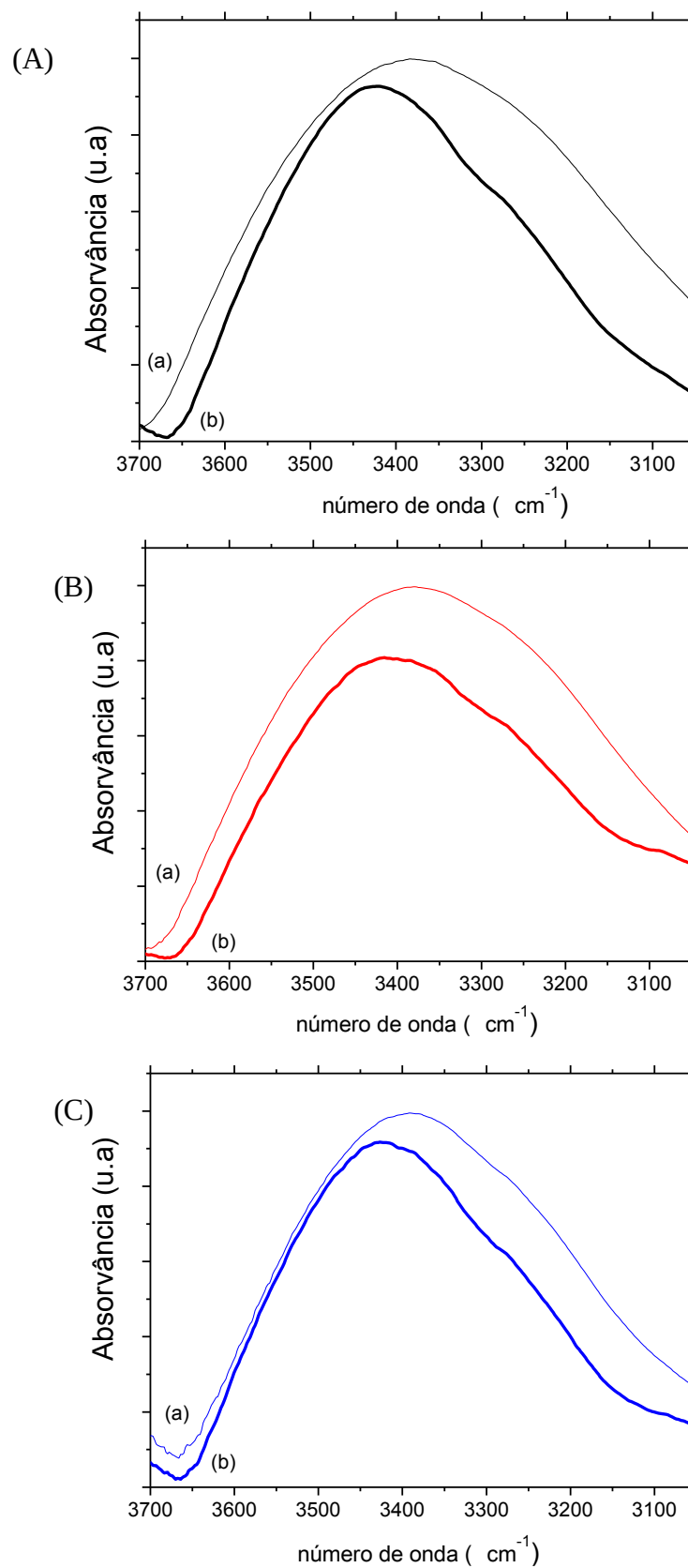


Figura 5.17 - Espectros de FTIR: (a) QUI e (b) PQs ZnS\_QUI na região de 3700-3050  $\text{cm}^{-1}$  para (A) pH  $6,0 \pm 0,2$ , (B) pH  $= 5,0 \pm 0,2$  e (C) pH  $= 4,0 \pm 0,2$ .

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

A Figura 5.18 resume os deslocamentos verificados nas diferentes bandas da quitosana dos grupos químicos envolvidas em reações químicas e interações. Com base na análise FTIR, os álcoois primários e secundários e os grupos amina e acetanoamida (carboxílico) na estrutura da quitosana foram determinantes para interagir com os pontos quânticos ZnS. As diferenças entre os espectros de FTIR da quitosana antes e depois da conjugação com os nanocristais ZnS podem ser atribuídas à formação de complexos de coordenação entre quitosana e cátions  $Zn^{2+}$  sobre as superfícies das PQs, com a participação do grupo amino e/ou grupos funcionais hidroxila, além de grupos carboxila de acetamida, conforme representado esquematicamente na Figura 5.18 (LI. Z *et al.*, 2003; RIVA *et al.*, 2011; RIVAS; SALVAGNI; PARSONS, 2004). Cátions de metais têm sido sugeridos para realizar interações com os grupos  $NH_2$ ,  $OH$  e  $NH-CO-CH_3$  presentes na cadeia de quitosana como mono e/ou multi-interações (FIG. 5.18), dependendo do tipo e da concentração das espécies metálicas, os grupos funcionais derivados funcionais e o pH (WANG; DU; LIU, 2004; RIVAS; SALVAGNI; PARSONS, 2004; VARMA, 2004)

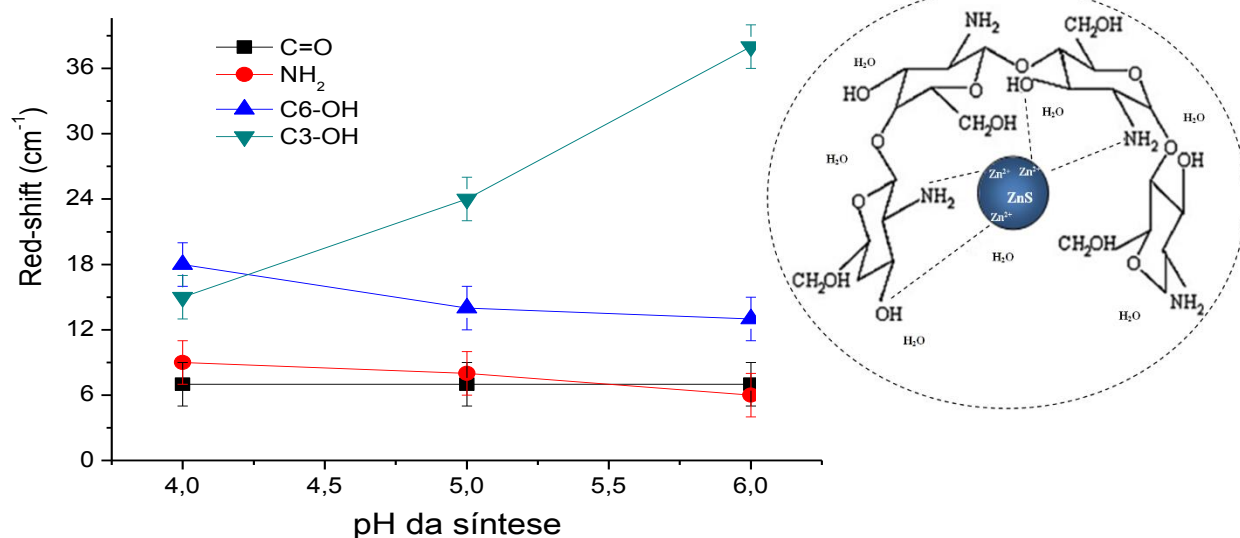


Figura 5.18 – Red-shift relativo das bandas associadas com os grupos funcionais da quitosana após a formação dos PQs de ZnS\_QUI em função do pH. (Representação esquemática de algumas interações na no-interface dos PQs de ZnS\_QUI (sem escala).

(LI. Z *et al.*, 2003; RIVA *et al.*, 2011; RIVAS; SALVAGNI; PARSONS, 2004)

### 5.3.2. Pontos Quânticos de ZnS estabilizados por carboximetil quitosana (CMC)

#### 5.3.2.1. Espectroscopia de UV-vis e PL dos PQs de ZnS\_CMC

Os espectros de absorção de UV-Vis de nanopartículas ZnS coloidais estabilizadas por CMC como agente estabilizante (ZnS\_CMC) são mostrados na Figura 5.19A. As curvas apresentam uma banda larga de absorção em 250-300nm, associada com a primeira transição excitônica. Esses valores são inferiores ao  $\lambda_{exc}$  do *bulk* de ZnS correspondente a 343nm (BRUS, 1984). O *band gap* dos pontos quânticos de ZnS estabilizados por CMC foi avaliado utilizando-se a equação de TAUC (TAUC; MENTH, 1972) e o tamanho das nanopartículas, calculado conforme a equação 9 (JAISWAL, 2011), de forma similar à análise realizada para os pontos quânticos estabilizados por quitosana.

A diferença entre o *band gap* do PQs e do material bulk ( $\Delta E = E_{QD} - E_g$ ), denominada *blue shift*. Os valores de energia de *band gap* e os valores de "*blue-shift*" determinados das curvas da relação "TAUC" (FIG. 54B) confirmam a formação de PQs de ZnS estabilizados por CMC com valores de energia da banda proibida (*band gap*) correspondente a  $3,83 \pm 0,02$ eV e  $4,10 \pm 0,02$ eV para ZnS\_CMC\_4,0 e ZnS\_CMC\_10,0, respectivamente. Esses valores de  $E_{QD}$  são significativamente maiores que os valores de  $E_g$  do *Bulk* de ZnS (ou seja, 3,61eV) (COOPER *et al.*, 2011). O *blue shift* é uma característica da formação de nanopartículas em regime de confinamento quântico, portanto confirmam a síntese de pontos quânticos de ZnS estabilizadas por CMC.

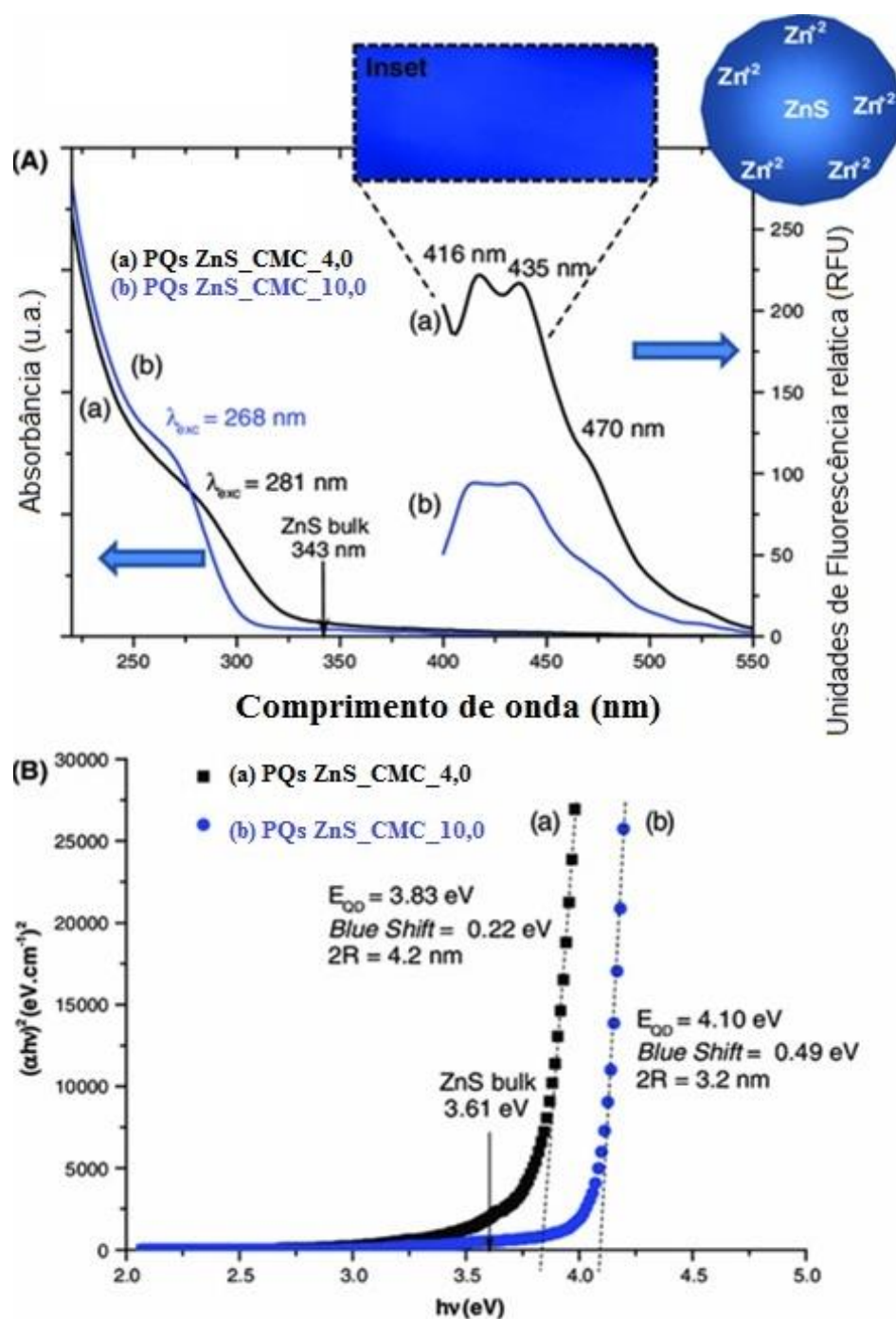


Figura 5.19 - Espectros de UV-Vis e PL (A) e do band gap usando relação "TAUC" (B) de PQs de ZnS conjugados sintetizados em diferentes pH: (a) pH 4,0 e (b) pH 10,0. Inset: luminescência azul sob excitação UV.(Figura colorida online). (RAMANERY, MANSUR, et al., 2014)

A Figura 5.19A (eixo y da direita) também ilustra os espectros de fotoluminescência das nanopartículas coloidais ZnS\_CMC, obtidas à temperatura ambiente com suas intensidades relativas. Não foram observadas emissões da região do ultravioleta, que seriam associadas à emissão excitônica, sendo verificadas bandas na região do violeta-

azul (detalhe na FIG. 5.19A). Esses resultados são coerentes com trabalhos publicados com estudos de espectro de emissão de nanopartículas de ZnS, que normalmente apresentam recombinação radiativa na faixa de comprimento de onda 400-550nm, resultante de estados de recombinações associadas com defeitos de superfície (CHANG, 2011; LING; WAGEH; XU-RONG, 2003). A banda de emissão identificada em aproximadamente 416nm é devida a transições que envolvem estados intersticiais de  $\text{Zn}^{2+}$  ( $\text{I}_{\text{zn}}$ ), enquanto a banda de emissão a 435nm é atribuída aos estados das vacância de enxofre ( $\text{V}_{\text{s}}$ ), compatível com o procedimento utilizado no presente trabalho, usando uma razão molar estequiométrica de  $\text{Zn}^{2+}:\text{S}^{2-} = 2:1$ . A banda a aproximadamente 470nm pode ser associada a defeitos superficiais (DENZLER.; OLSCHIEWSKI; SATTLER, 1998; LING; WAGEH; XU-RONG, 2003). Além disso, as propriedades de fotoluminescência também foram afetadas pelo pH. O valor de eficiência relativa PL (RFU) dos bioconjugados de ZnS\_CMC foi maior em condições ácidas (pH 4,0) de síntese ( $220 \pm 12$  RFU em 416nm) do que em meio alcalino (pH 10,0 e  $94 \pm 5$  RFU a 416nm). Essa diferença pode ser explicada levando-se em conta que as nanopartículas de ZnS foram menores em pH 10,0 e que neste pH todos os grupos amina estão desprotonados. Isto ocorre porque, com menor tamanho das nanopartículas de ZnS, há maior desordem superficial e maior número de ligações terminais incompletas (*dangling bonds*), criando-se percursos não-radiativos que dissipam emissão dos pontos quânticos, o que resultou na redução da intensidade da PL (LANDES; BRAUN; EL-SAYED, 2011). Considerando-se que os PQs esféricos, com diâmetro médio de nanopartículas ( $2r$ ), reduzem de 4,2nm (pH 4,0) a 3,2nm (pH 10,0), a relação área superficial por unidade de volume (superfície/volume =  $3/r$ ) é aumentada significativamente ( $\sim 31\%$ ) levando a mais defeitos de superfície. Além disso, os grupos amina (com pares de elétrons doador) podem agir como receptores de buracos, que podem extinguir a fotoluminescência (BAKER; KAMAT, 2010).

#### 5.3.2.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de ZnS\_CMC

A Figura 5.20 apresenta as imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) de PQs de ZnS estabilizadas com a CMC, a pH  $4,0 \pm 0,2$  (a) e pH  $10,0 \pm 0,2$  (b), com a forma esférica. A análise química dos nanocristais com base no espectro de EDS revelou que o Zn e S são os elementos principais (FIG. 5.20C), com exclusão do cobre relacionado com

o porta amostra (*grid* cobre com revestimento de filme fino de carbono), utilizado nas análises de TEM. A presença do elemento oxigênio e dos picos de carbono está associada com o polímero CMC e o Si ao detector. O parâmetro de rede (distância interplanar) de aproximadamente  $0,3\pm 0,1\text{nm}$  pode ser atribuído ao plano (111) do ZnS com uma estrutura cristalina cúbica (JCPDS 05-0566), como mostrado no detalhe da Figura 5.20B. O histograma da distribuição de tamanho dos PQs de ZnS-CMC\_4 (FIG. 5.20D) indica uma distribuição monodispersa com um diâmetro médio de  $4,3\pm 0,3\text{nm}$ . Do mesmo modo, as amostras de ZnS-CMC\_10 exibiram nanopartículas razoavelmente monodispersas, com uma dimensão média centrada a aproximadamente  $2,7\pm 0,2\text{nm}$  (FIG. 5.20E). Assim, os resultados de TEM demonstraram que os pontos quânticos de ZnS foram devidamente estabilizados pela CMC, coerentes com os valores obtidos a partir da absorção óptica UV-Vis na seção anterior para ZnS-CMC\_4 ( $2r = 4,2\pm 0,1\text{nm}$ ) e ZnS-CMC\_10 ( $2r = 3,2\pm 0,1\text{nm}$ ).

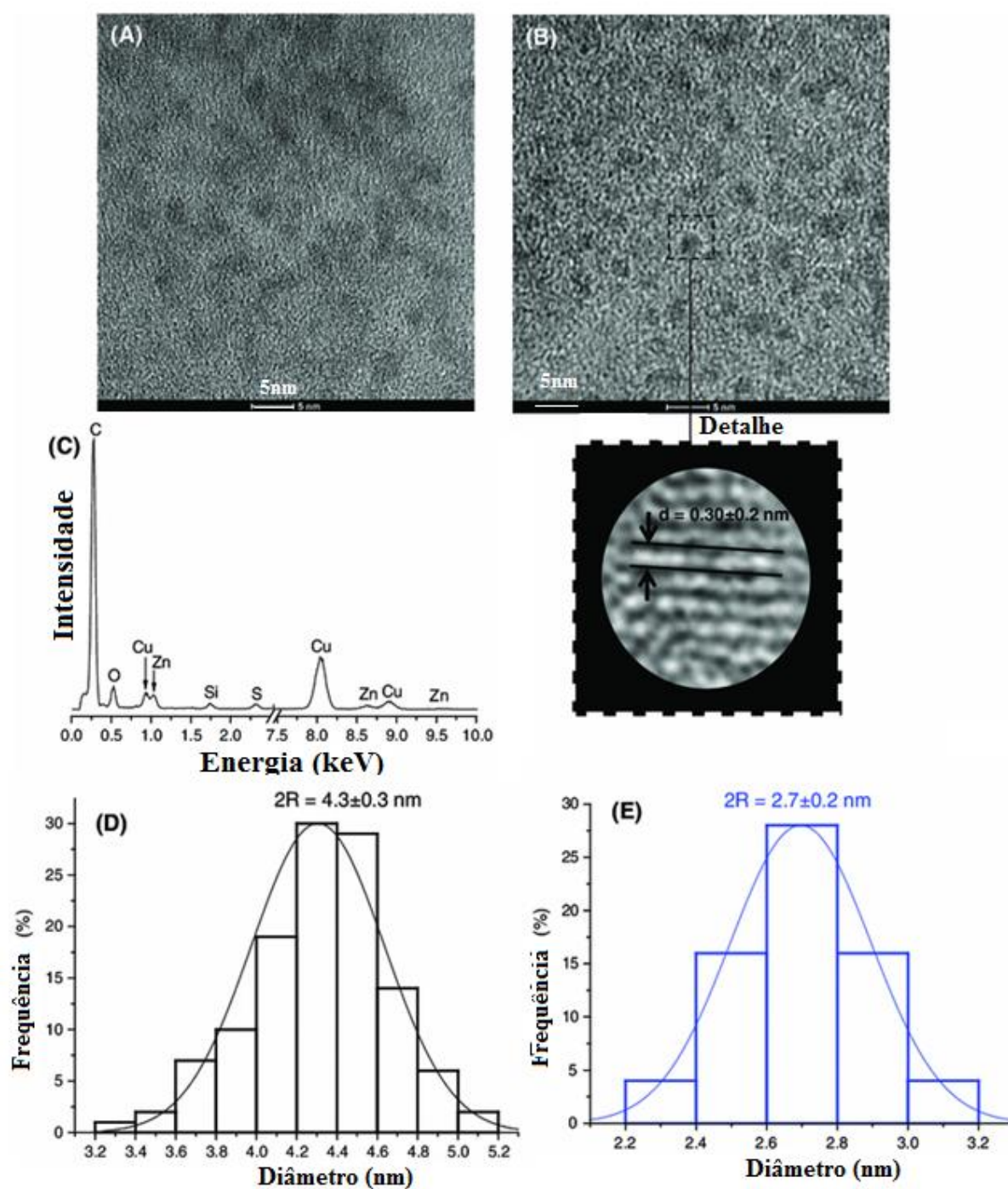


Figura 5.20 - Imagens de TEM PQs de ZnS-CMC<sub>4</sub>(A) e ZnS-CMC<sub>10</sub>(B). Inset franjas dos nanocristais. Espectro de EDS típica dos PQs (C). Os histogramas da distribuição de tamanho das nanopartículas de PQs sintetizados a pH 4,0 (D) e pH 10,0 (E). (RAMANERY, MANSUR, et al., 2014)

### 5.3.2.3. Análise de Espectroscopia no infravermelho dos PQs de ZnS\_CMC.

A Figura 5.21A e B (curva B) mostram os espectros de FTIR dos PQs conjugados ZnS\_CMC\_4,0 e ZnS\_CMC\_10,0, respectivamente, em comparação com as dispersões do polímero (CMC a pH 4 e pH 10, curva a). Os espectros de FTIR da CMC foram compatíveis com o comportamento anfótero da CMC. Em pH 4 a banda relativa ao modo de vibração associado com amina protonados ( $-\text{NH}_3^+$ ) é sobreposto com a banda característica da amida I. A banda de C=O do grupo carboxila está ausente do espectro devido à desprotonação do grupo do ácido carboxílico a partir da H-CMC na solução aquosa nesse pH. Em vez disso, a banda que é atribuída ao estiramento dos carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ) foi observada em  $1590\text{cm}^{-1}$ , sendo associada com a desprotonação do grupos carboxílicos e com a dissociação do sal Na-CMC.

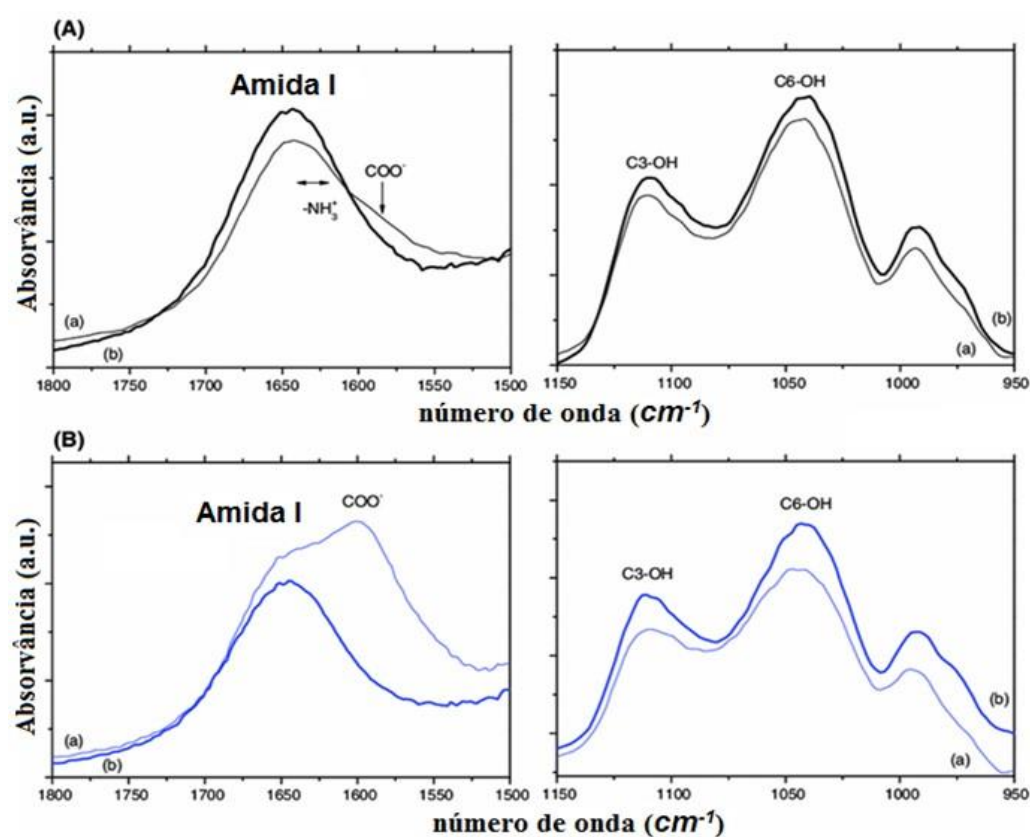


Figura 5.21 - FTIR resultados de espectros de (a) de CMC e (b) ZnS-CMC conjugados a pH 4,0 (A) e pH 10,0 (B). Regiões espectrais vibracionais:  $1,800-1,500\text{ cm}^{-1}$  (esquerda) e  $1,150-950\text{ cm}^{-1}$  (direita).

(RAMANERY, MANSUR, et al., 2014)

Para solução de CMC em pH 10, como os grupos amina a partir da quitosana estão completamente desprotonados, a banda de 1640-1620  $\text{cm}^{-1}$ , associada ao  $\text{NH}_3^+$ , não está presente, enfatizando a banda do carboxilato em 1600-1580  $\text{cm}^{-1}$ . Além dos grupos aminas, amidas e carboxilatos, a CMC também apresenta grupos hidroxila como possíveis locais reativos (RIVA *et al.*, 2011). As absorções a 1020-1060  $\text{cm}^{-1}$  e 1090-1120  $\text{cm}^{-1}$  indicam modos vibracionais de estiramento de C-O em CMC, que são atribuídos ao grupo álcool primário C6-OH e ao grupo álcool secundário C3-OH, respectivamente (TAB. 12).

Algumas alterações nas intensidades e/ou energia das bandas atribuídas às espécies reativas nos espectros FTIR podem ser esperadas após conjugação com as nanopartículas (COOPER, *et al.*, 2011). Essa tendência pode ser relacionada com a formação de complexos de íons de metais com CMC, causada por formação de quelatos e interações eletrostáticas nos compostos de coordenação (íons metálicos-estabilizantes) (DEACON; PHILLIPS, 1980; COOPER *et al.*, 2011). A relação "excesso" de íons  $\text{Zn}^{2+}$  em comparação com íons  $\text{S}^{2-}$  usados na síntese ( $[\text{S}^{2-}]:[\text{Zn}^{2+}] = 1:2$ ) foi proposta para estabilizar as nanopartículas de ZnS com os grupos eletronegativos presentes na cadeia do estabilizante (isto é, grupos aminas e hidroxilas presentes na cadeia polimérica da QUI e carboxilatos na CMC). Com base nos resultados (FIG. 5.53), em ambos os espectros de FTIR de PQs conjugadas, não foram detectadas alterações significativas no número de onda e intensidade relativa das aminas, amidas e grupos hidroxila. A principal mudança observada após conjugação da CMC e ZnS foi na intensidade da banda relativa da vibração do grupo carboxilato, que diminuiu ou até mesmo desapareceu. Assim, pode-se supor que os grupos carboxilato da CMC estão envolvidos na formação e estabilização de pontos quânticos ZnS. As diferenças entre os espectros de FTIR de CMC antes e depois da conjugação com nanocristais ZnS podem ser atribuídas à formação de complexos de coordenação de  $\text{Zn}^{2+}$  --- ( $\text{COO}^-$ ) na superfície dos PQs.

Observou-se significativa influência na estabilização dos núcleos de ZnS pelos grupos desprotonados carboxilatos,  $\text{COO}^-$ , com influência direta do pH do meio em dispersão coloidal de CMC de síntese. Com base nos resultados de espectroscopia de UV-Vis, ao elevar o pH de 4,0 a 10,0, o tamanho médio dos nanocristais reduziu em aproximadamente 30% (4,2-3,2nm). A diminuição do tamanho poderia ser atribuída à soma de várias contribuições para a formação dos nanoconjugados, efetuada pelo "núcleo" de ZnS e a "concha" de CMC. Em pH relativamente mais baixo (pH 4,0), a maior parte dos grupos amina do derivado de quitosana são protonados. Como resultado, os íons de metais de

transição com carga positiva [ $\text{Zn}^{2+}$ ] têm de competir com a atração eletrostática entre  $\text{NH}_3^+ \cdots \text{COO}^-$ , reduzindo-se os locais para as interações estabilizante-metal. No entanto, à medida que o pH aumenta até 10,0, grupos amina e carboxílicos são completamente desprotonados, e todos os grupos  $\text{COO}^-$  tornam-se disponíveis na cadeia de CMC para complexação com  $\text{Zn}^{2+}$ , que favorece a estabilização dos nanocristais de ZnS em dimensões menores, devido ao aumento do número de pontos de nucleação.

#### 5.3.2.4. *Potencial Zeta dos PQs de ZnS\_CMC.*

O potencial zeta ( $\zeta$ ) calculado para o ZnS\_CMC\_4,0 e ZnS\_CMC\_10 foi  $32,9 \pm 2,0$  mV (FIG. 5.22a), e a  $\zeta = -33,0 \pm 2,1$  mV (FIG. 5.22 b), respectivamente, indica que a estabilização dessas nanopartículas baseia-se tanto em repulsão eletrostática quanto no impedimento estérico das cadeias de polímero adsorvidas fisicamente e quimicamente para evitar-se o contato próximo entre os PQs fluorescentes (JIANG; OBERDORSTER; BISWAS, 2009).

Esses resultados indicam que os PQs conjugados de CMC possuem cargas de superfície positiva em pH 4,0 e cargas negativas em pH 10,0. Em pH 4,0, os grupos carboxílicos estão envolvidos principalmente na formação de complexos de coordenação na nanointerface dos PQs de ZnS, deixando as aminas protonadas, carregadas positivamente, viradas para fora na camada "*concha*" polimérica, disponíveis para complexação, adsorção/quelação de ânions. Em contraste, em meio alcalino, todas as aminas estão desprotonadas e os carboxilatos estão controlando tanto a nucleação e crescimento dos pontos quânticos ZnS quanto a estabilização dos nano-híbridos com estrutura "núcleo-concha" ( $\zeta > -30$  mV). Além disso, a camada "*concha*" carregada negativamente está disponível para absorção eletrostática de cátions. A Figura 5.22c resume os resultados da análise de potencial zeta com uma representação esquemática das interações a interface de acordo com os resultados de FTIR.

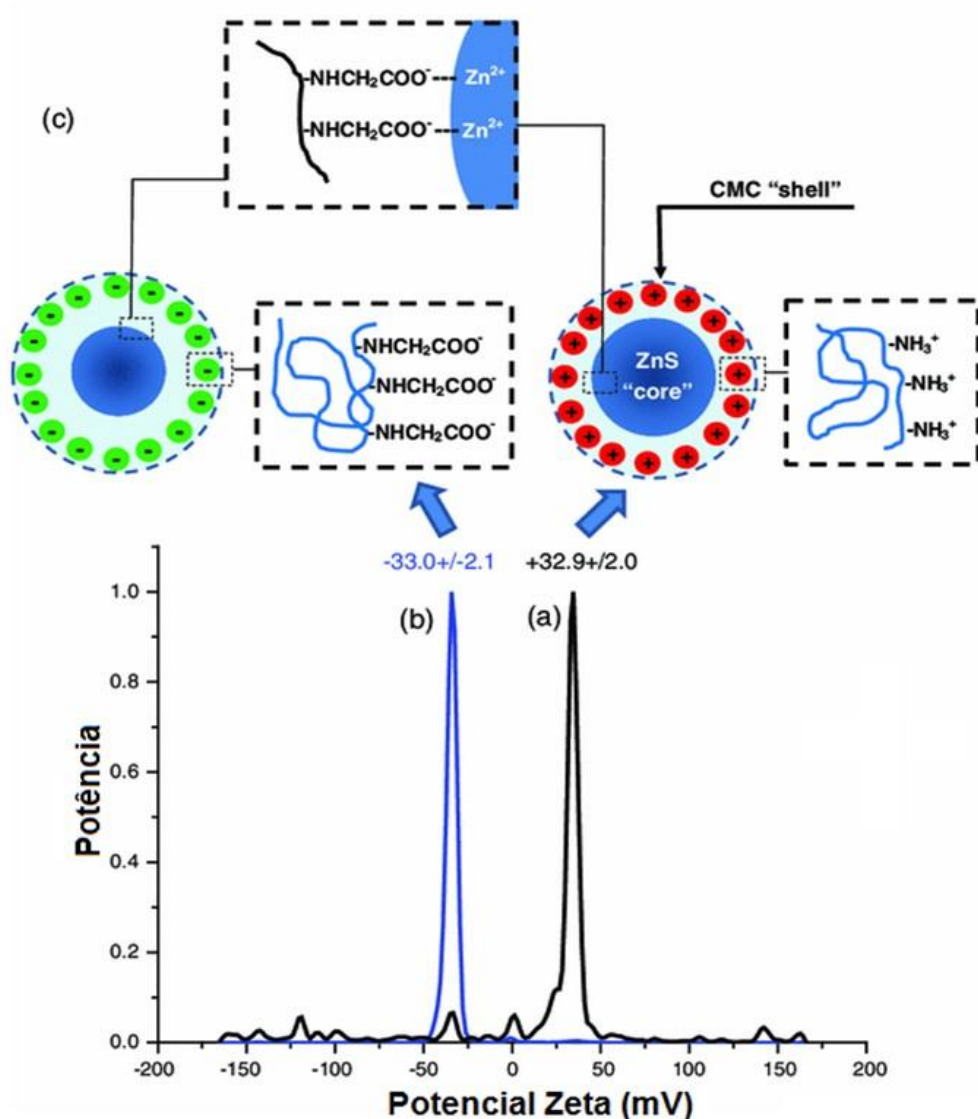


Figura 5.22 - Curva do potencial Zeta das soluções de CMC: (a) pH 4,0; (b) e pH 10,0; (c) Representação esquemática do potencial Zeta e as interações nas nanointerfaces ZnS-CMC (sem escala). (RAMANERY, MANSUR, et al., 2014)

Com base nos resultados, pode-se sugerir que os nano-híbridos produzidos de PQs ZnS-carboximetil quitosana podem ser adaptados para melhorar a absorção de cátions e ânions numa ampla gama de pH nos meios aquosos. Além disso, tendo em conta a biocompatibilidade conhecida do polímero quitosana e seus derivados, os PQs produzidos neste estudo poderiam ser possivelmente utilizados como adsorventes de espécies catiônicas/aniônicas para aplicações ambientais e sustentáveis, com potencial recuperação e também aplicações devido às suas propriedades fluorescentes.

## 5.4. Caracterização dos Pontos Quânticos de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ .

### 5.4.1. Pontos Quânticos de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ estabilizados por Quitosana (QUI)

#### 5.4.1.1. Espectroscopia de UV-vis dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI

Os espectros de absorção de UV-Vis foram utilizados para avaliar a formação dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados por QUI com variações do pH e fração molar dos íons em solução  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$  durante a síntese. Através do aparecimento de absorção no espectro, avaliou-se o confinamento quântico do semiconductor.

As Figuras 5.23 e 5.24 apresentam os espectros típicos de absorção de UV-vis das nanopartículas estabilizadas por quitosana, PQs\_ $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI em pH 2,5 e 3,5, respectivamente, nas diferentes frações molares em estudo: 0,33 (excesso de enxofre), 0,67 (razão estequiométrica) e 1,33 (excesso de bismuto). Observou-se um início de absorbância a partir de aproximadamente  $\lambda = 800\text{nm}$  e os picos excitônicos não foram claramente detectados; associou-se esse efeito à dispersividade dos tamanhos típicos dos PQs encontrados em síntese coloidal aquosa (MANSUR, 2010). Os valores de energia da banda proibida ( $E_{\text{QD}}$ ) das nanopartículas sintetizadas foram estimados utilizando-se a forma linear da relação TAUC de semicondutores de *band gap* direto (TAUC; MENTH, 1972) (FIG. 5.25). Os valores  $E_{\text{QD}}$  obtidos pela Relação TAUC para todos os sistemas sintetizados (FIG.5.26) foram maiores que o *band gap* do material *bulk* correspondente (1,33eV) para  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , (CHENG *et al.*, 2012), como consequência direta do efeito de confinamento quântico característico de PQs de semicondutores. Os valores do "blue-shift" ( $\Delta E = E_{\text{QD}} - E_g$ ) determinados para os PQs sintetizados em comparação com o valor do *band gap* do *bulk* de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  também estão apresentados na Figura 5.26. Observa-se a elevação do blue-shift com o aumento da fração molar dos precursores nos dois valores de pH (2,5 e 3,5) utilizados nas sínteses de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI.

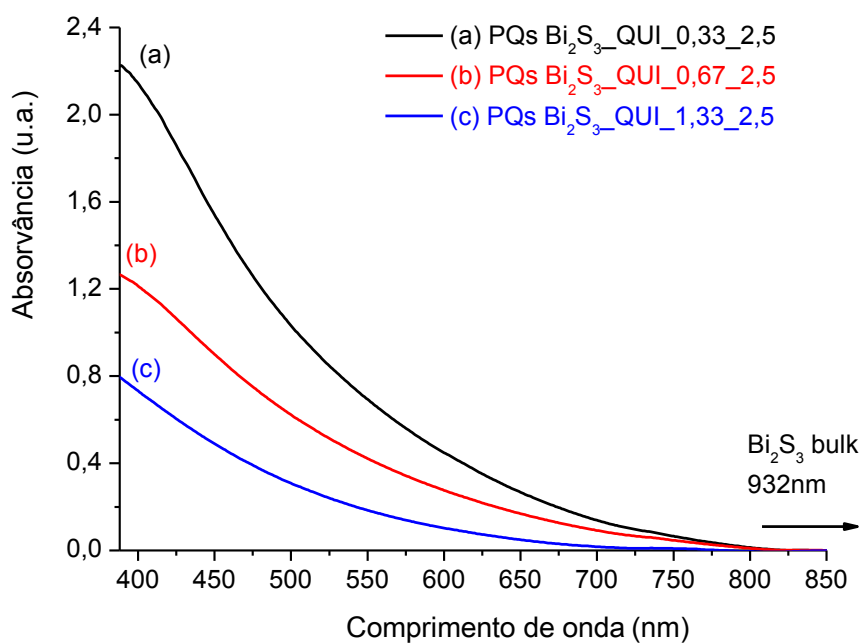


Figura 5.23 - Espectros de UV-vis dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}$  em pH 2,5 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

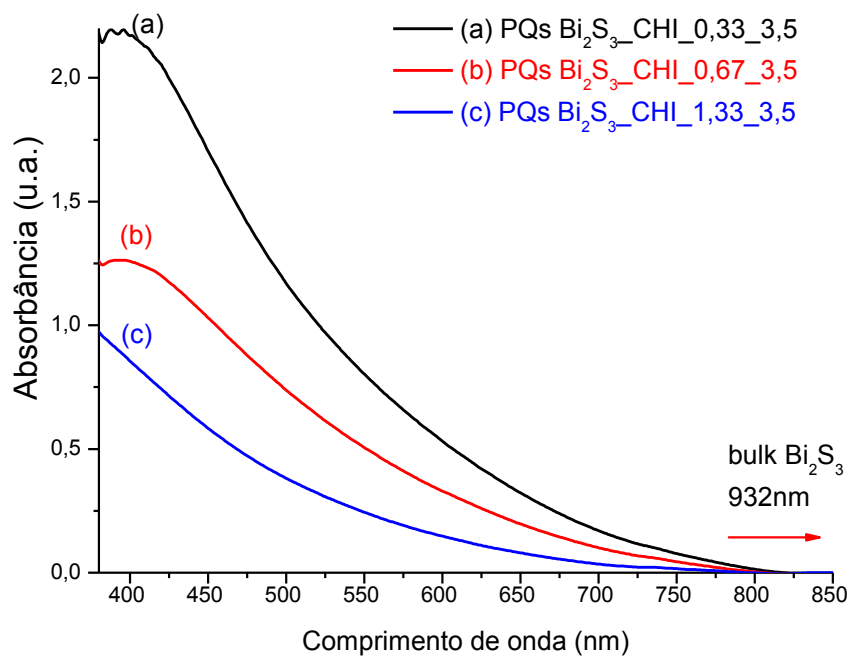


Figura 5.24 - Espectros de UV-vis dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}$  em pH 3,5 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

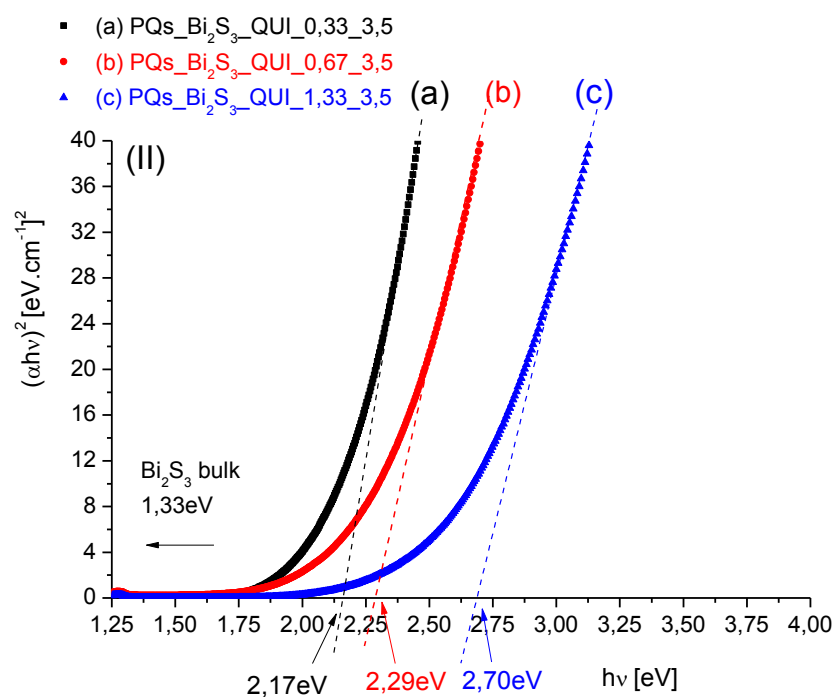
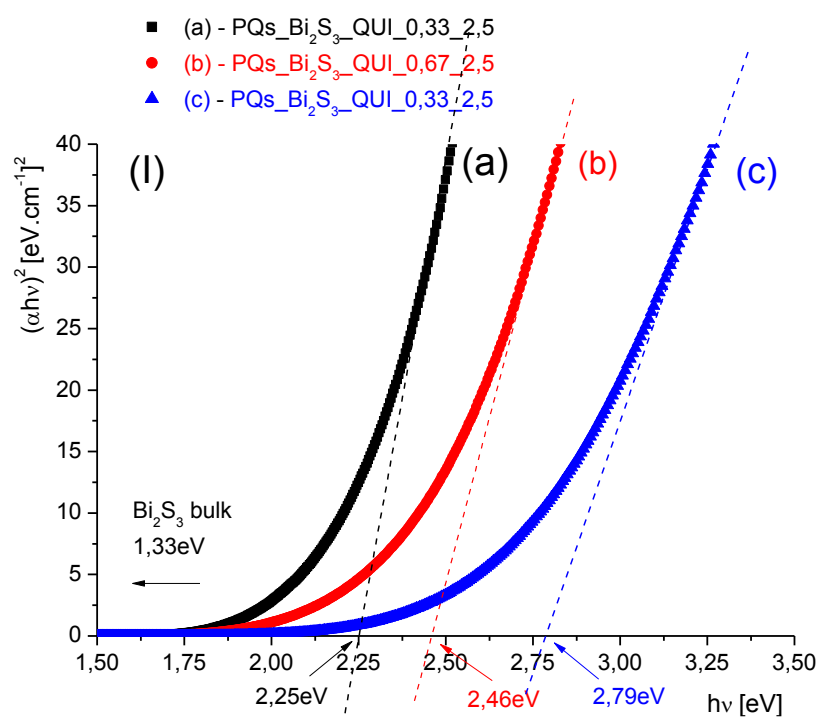


Figura 5.25 - Curvas da relação TAUC dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}$  em pH: (I) 2,5 (II) 3,5: FM (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

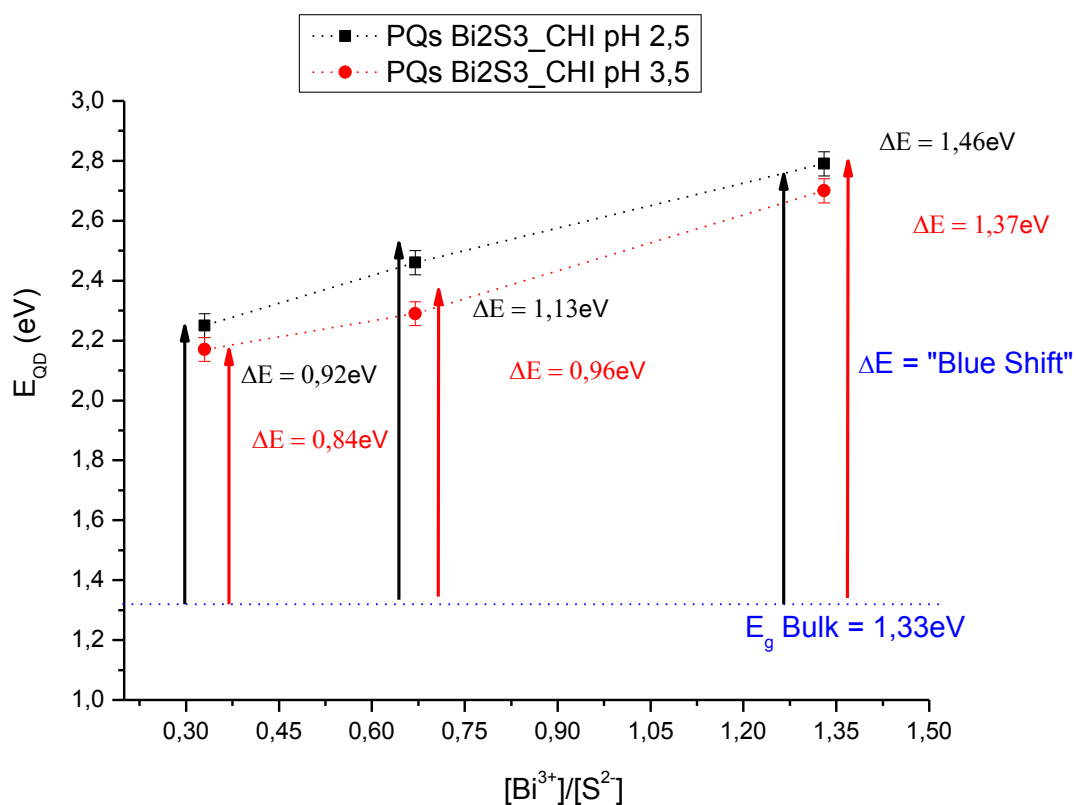


Figura 5.26 - Valores de Blue-shift em função do pH (Quadrados pretos, pH=2,5, e círculos vermelhos, pH=3,5) em função da variação da fração molar dos precursores  $[Bi^{3+}]/[S^{2-}]$ .

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

#### 5.4.1.2. Análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> estabilizados por QUI

As características morfológicas e estruturais dos PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_QUI foram estudadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), com detector de EDS para obtenção de espectros de energia dispersiva de raios-X (EDS).

As Figuras 5.27, e 5.28 apresentam as imagens de TEM com histogramas de distribuição de tamanho para os PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_QUI sintetizados em pH igual a 2,5 nas frações molares dos precursores ( $nBi^{3+}/S^{2-}$ ) de 0,33; 0,67 e 1,33, respectivamente.

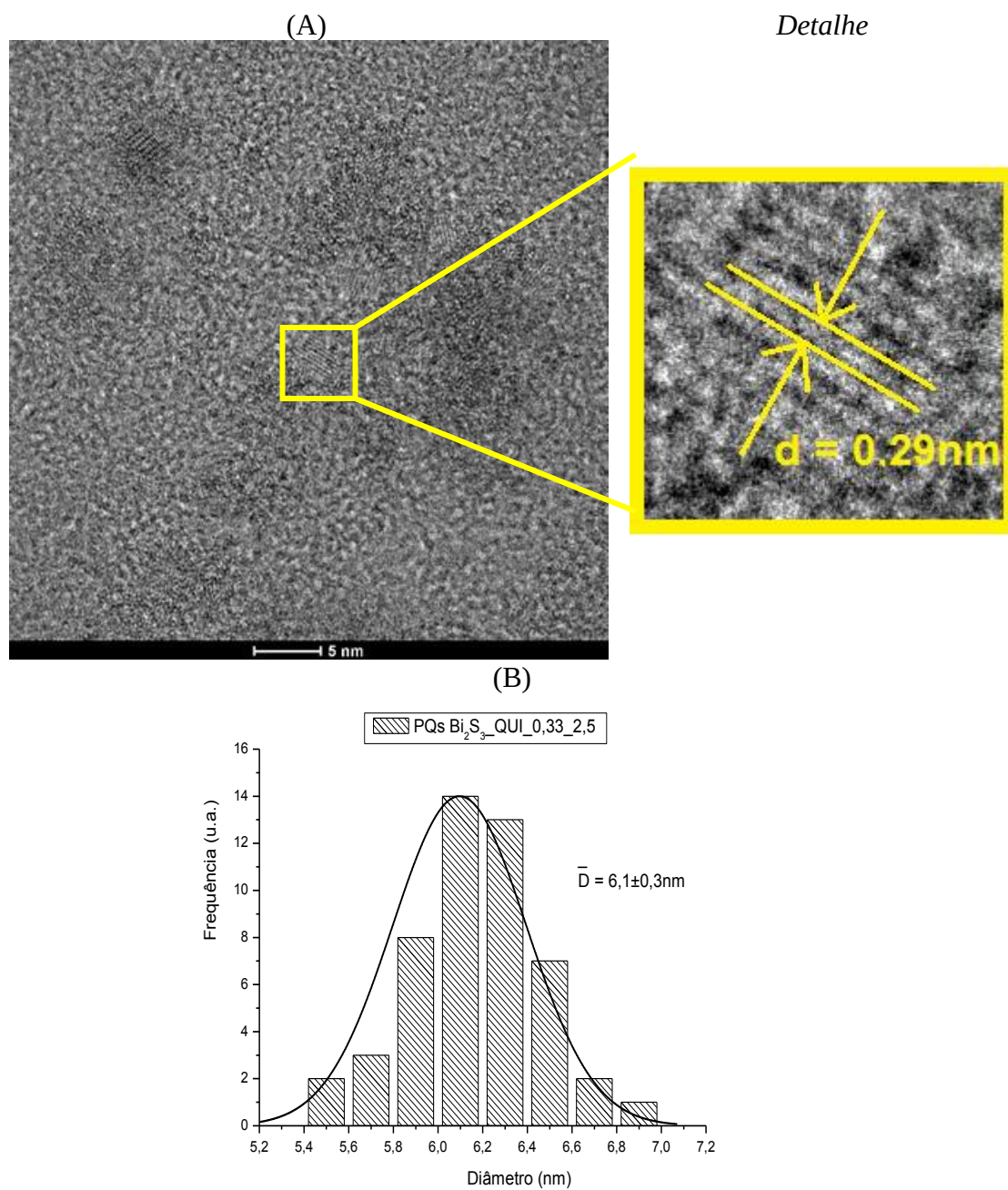


Figura 5.27 - Imagens de TEM dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{0,33}$  e pH 2,5: (A) HRTEM, detalhe franjas; (B) Histograma de distribuição de tamanho

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

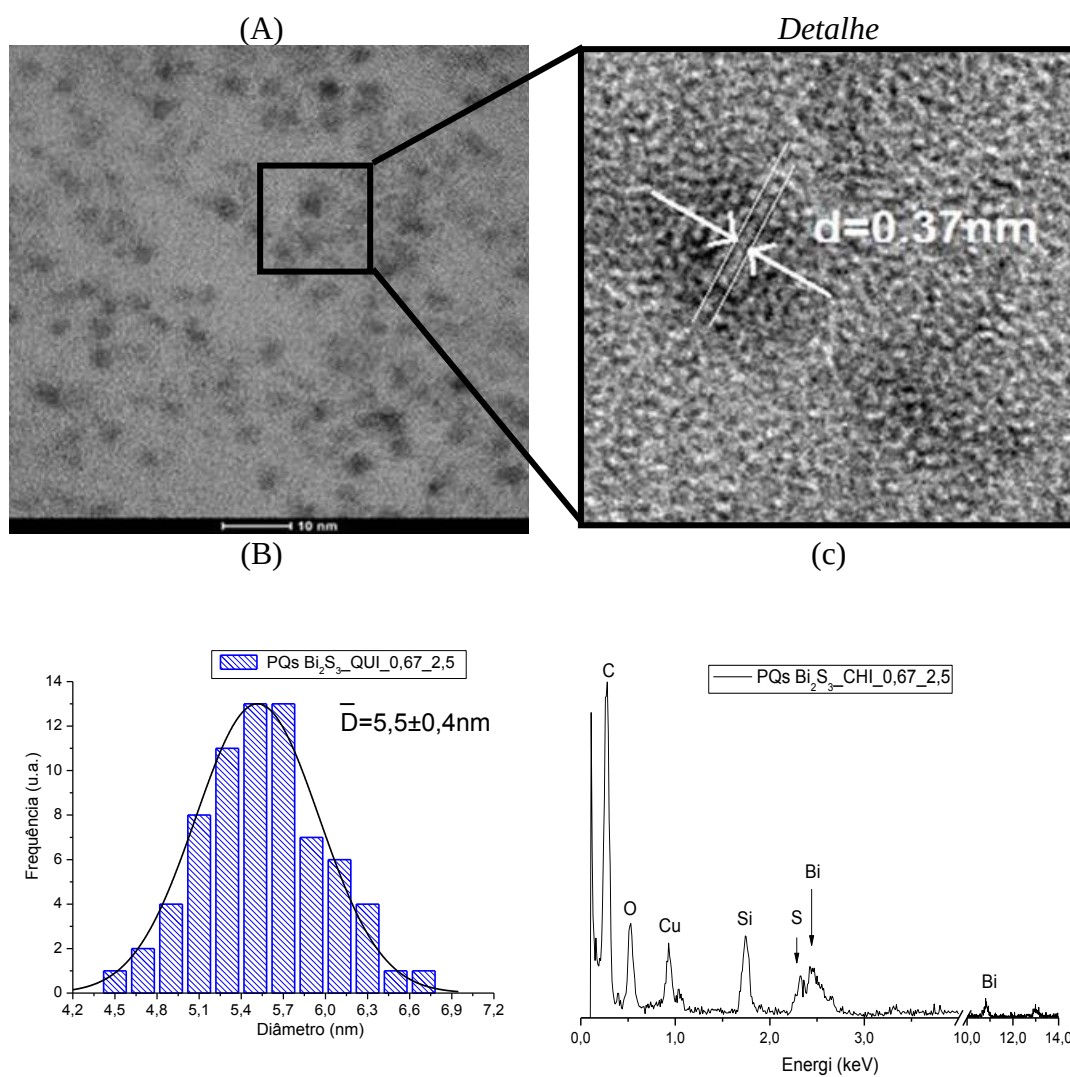


Figura 5.28 - Imagens de TEM dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{0,67}$  e pH 2,5: (A) HRTEM. Detalhe franjas; (B) Histograma de distribuição de tamanho; (C) Espectro de EDS

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

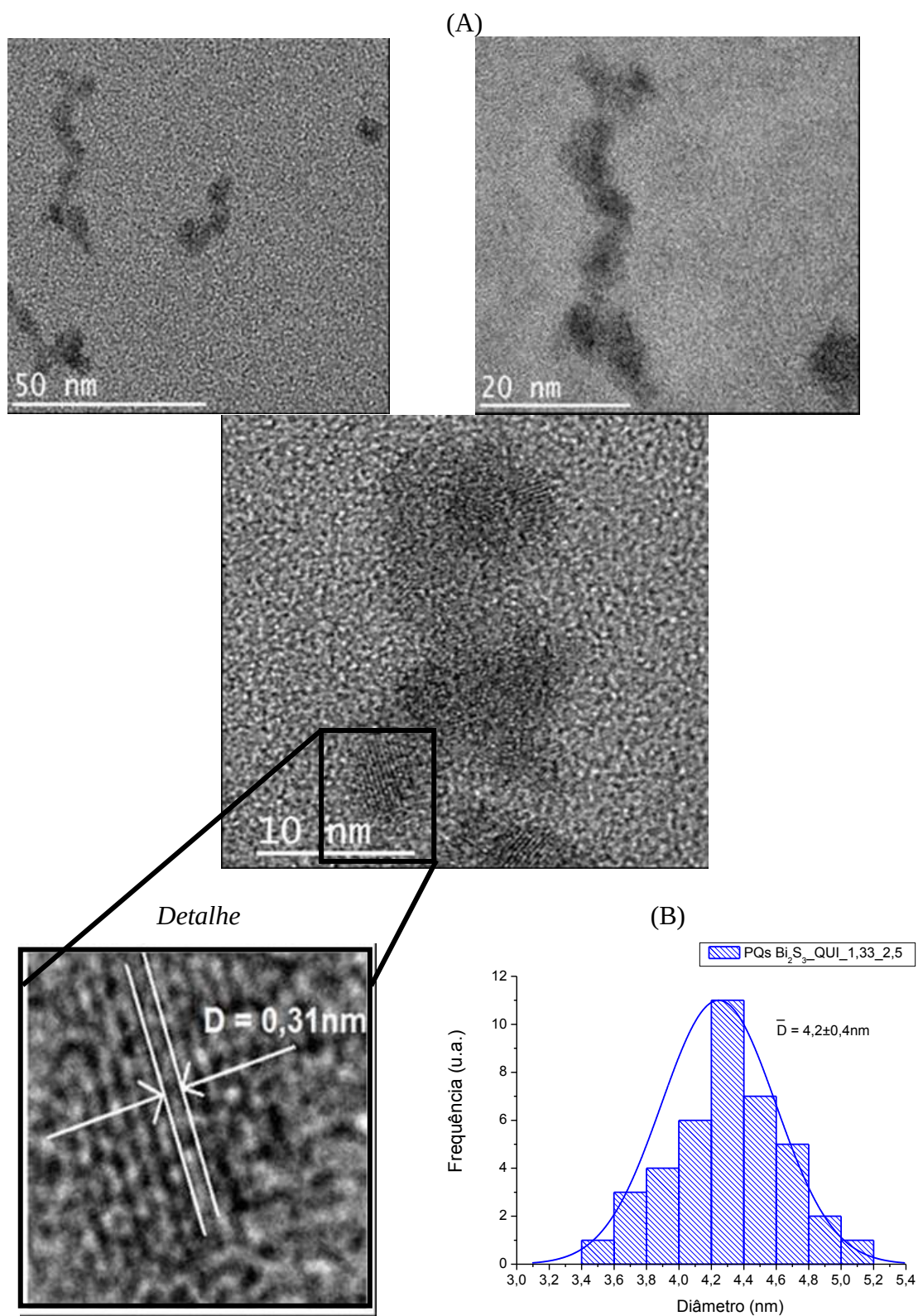


Figura 5.29 - Imagens de TEM dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{1,33}$  em pH 2,5: (A) HRTEM. Detalhe franjas; (B) Histograma de distribuição de tamanho.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

As Figuras 5.27A, 5.28A e 5.29A apresentam as imagens com detalhe da distância interplanar para os PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}$  em pH 2,5 nas frações molares de 0,33, 0,67 e 1,33. Pode-se verificar no padrão de difração de elétrons que o parâmetro de rede  $0,29 \pm 0,01\text{nm}$ ,  $0,37 \pm 0,01\text{nm}$  e  $0,31 \pm 0,01\text{nm}$ , referente aos planos (221), (101) e (040) do sistema compatível com o cristal de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  de estrutura ortorrômbico (JCPDS 43-1471) com parâmetros ( $a=1,11\text{nm}$ ,  $b=1,13\text{nm}$  e  $c=0,39\text{nm}$ ).

Os histogramas de distribuição de tamanho dos PQ de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}_{0,33\_2,5}$ , PQ de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}_{0,67\_2,5}$  e PQ de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}_{1,33\_2,5}$  (Figuras 5.27, 5.28 e 5.29 (B)) indicam uma distribuição monodispersa com tamanho médios de  $6,1 \pm 0,3\text{nm}$ ,  $5,5 \pm 0,4\text{nm}$  e  $4,2 \pm 0,4\text{nm}$ , respectivamente.

O espectro de EDS, na Figura 5.28c, identificou-se a presença dos elementos constituintes do PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , isto é, Bi e S, além do C e O, associados com o agente de estabilização. O carbono também pode ser associado ao filme que recobre o grid de cobre (Cu) que também foi detectado.

As Figuras 5.30, 5.31 e 5.32 apresentam as imagens de TEM com os histogramas de distribuição de tamanho para os PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}}$  sintetizados em pH= 3,5 nas frações molares dos precursores ( $n\text{Bi}^{3+}/n\text{S}^{2-}$ ) de 0,33; 0,67 e 1,33, respectivamente.

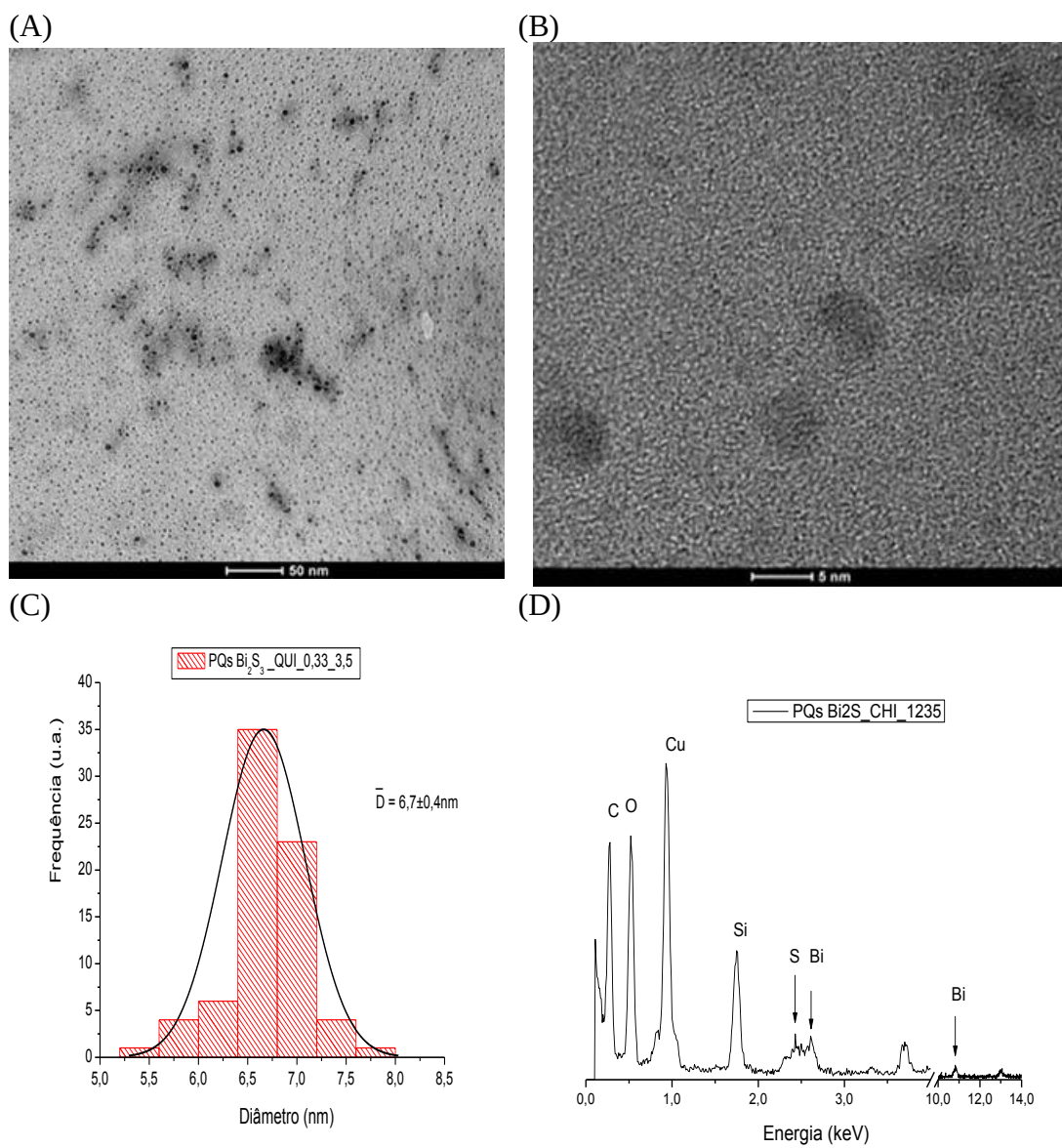


Figura 5.30 - Imagens de TEM dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3_{\text{QUI}_0,33}$  em pH 3,5: (A e B) HRTEM, (C) Histograma de distribuição de tamanho e (D) Espectro de EDS.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

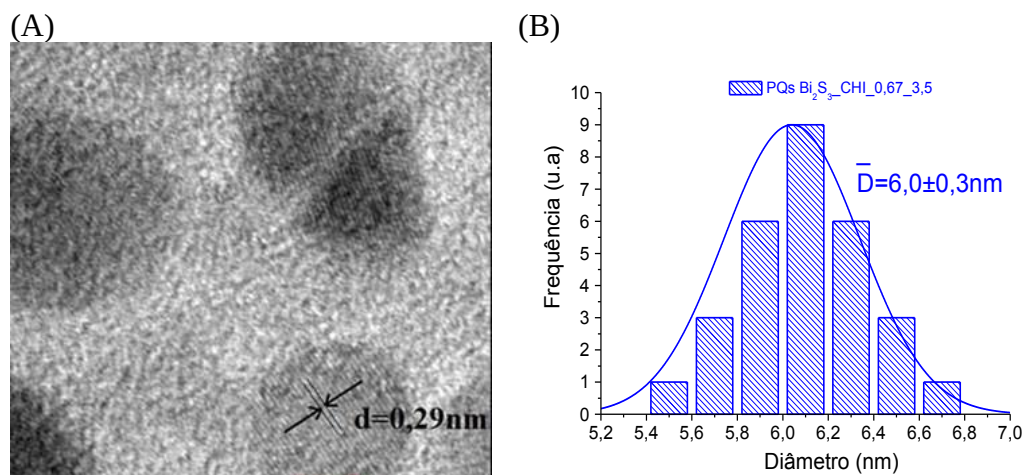


Figura 5.31 - Imagens de TEM dos Qs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{0,67}$  pH 3,5: (A e B) HRTEM, (C) Histograma de distribuição de tamanho.

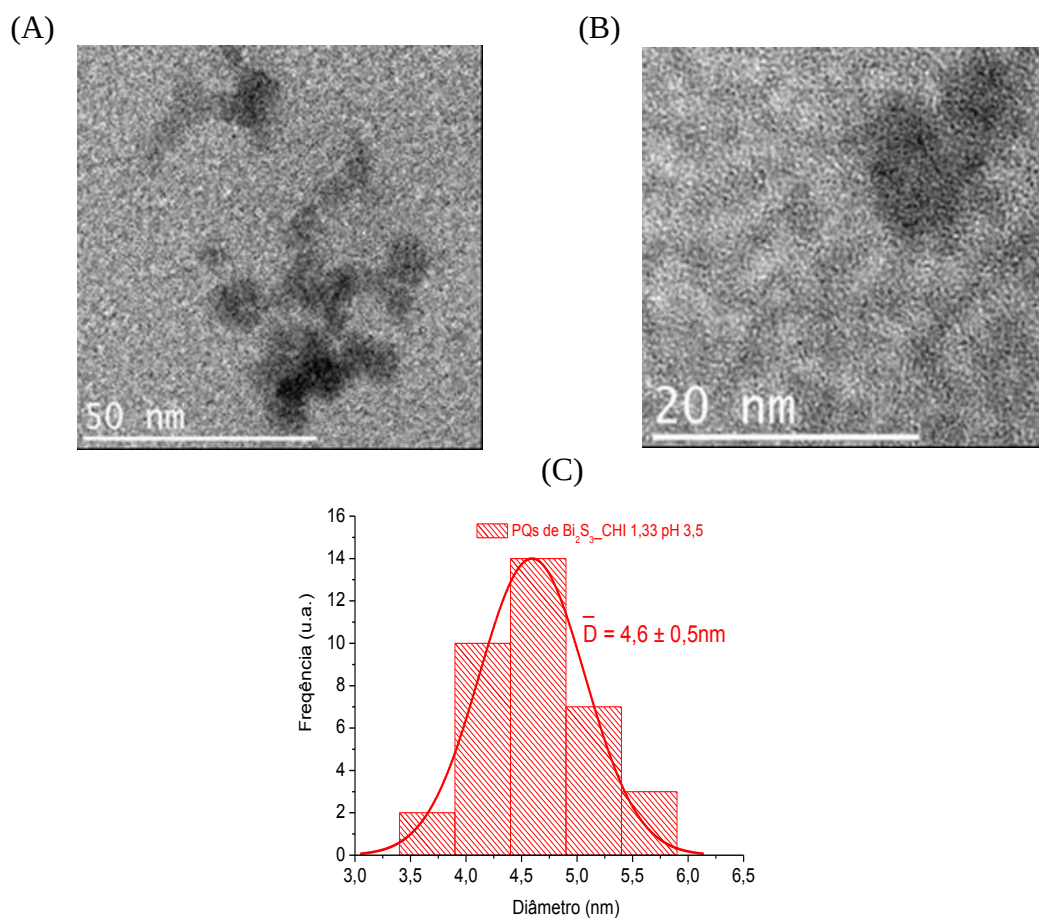


Figura 5.32 - Imagens de TEM dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{1,33}$  e pH 3,5: (A,B) TEM, (C) Histograma de distribuição de tamanho.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

A Figura 5.30A apresenta as imagens com detalhe das franjas para os PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_0,33\_3,5$ . Pode-se verificar no padrão de difração de elétrons o parâmetro de rede  $0,29\pm0,01\text{nm}$  referente ao plano (221) do sistema compatível com o cristal de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  de estrutura ortorrômbico (JCPDS 43-1471).

Os histogramas de distribuição de tamanho dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_0,33\_3,5$ ,  $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_0,67\_3,5$  e PQ de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI\_1,33\_3,5$  (FIG 5.30C, 5.31 e 5.29C) indicam uma distribuição monodispersa com tamanho médios de  $6,7\pm0,4\text{nm}$ ,  $6,0\pm0,3\text{nm}$  e  $4,26\pm0,5\text{nm}$ , respectivamente. O espectro de EDS, na Figura 5.30D identificou-se a presença dos elementos constituintes dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\_0,33\_3,5$  isto é, Bi e S, além do C e O, associados com o agente de estabilização. O carbono também pode ser associado ao filme que recobre o *grid* de cobre (Cu) que também foi detectado.

A Figura 5.33 apresenta a influência da variação da fração molar dos precursores no diâmetro médio dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI$  sintetizados em pH 2,5 e 3,5

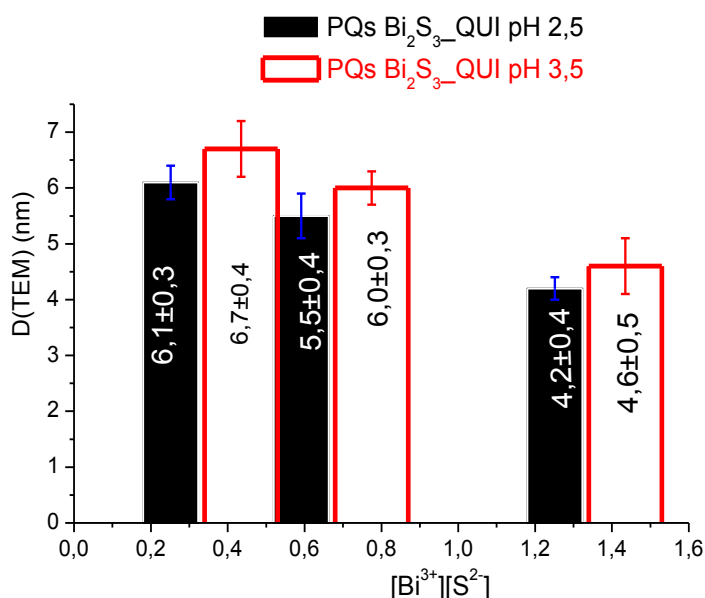
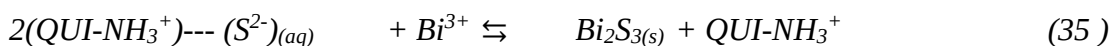


Figura 5.33 - Efeito da variação do pH e fração molar dos precursores no crescimento dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\_QUI$ .

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

Os resultados da avaliação do diâmetro dos PQs, realizada com base nos resultados de TEM, mostraram que, com acréscimo de íons de  $\text{Bi}^{3+}$  em solução (0,33 excesso de  $\text{S}^{2-}$ , 0,67 relação estequiométrica e 1,33 excesso de  $\text{Bi}^{3+}$ ), ocorre uma redução significativa de 31% no tamanho médio dos PQ de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI sintetizados em pH 2,5 e 3,5.

O efeito da fração molar ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$ ) no tamanho das nanopartículas pode ser explicado conforme proposta a seguir: em pH = 2,5 e 3,5, todos os grupos amina da quitosana estão protonados (RAMANERY; MANSUR; MANSUR, 2013), e sulfetos carregados negativamente ( $\text{S}^{2-}$ ) interagem com grupos aminas protonados  $\text{NH}_3^+$ , conforme proposta representada nas equações 32, 33 e 34. Quando os íons  $\text{Bi}^{3+}$  foram adicionados ao recipiente de reação, que atuaram como locais de nucleação para a formação de partículas  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  (equação 34), o excesso de bismuto na proporção molar de  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]=1,33$  favoreceu a estabilização dos nanocristais  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  em dimensões menores, devido ao aumento do número de locais de nucleação ("sementes"). Em paralelo, a menor fração de  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$  produziu PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  relativamente maiores, como as espécies em solução  $\text{S}^{2-}$  foram estabilizadas pela cadeia de quitosana protonada pela redução da cinética de nucleação.



#### 5.4.1.3. Análise de Potencial Zeta e DLS dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ estabilizados por QUI

Os resultados de DLS (FIG. 5.34A) revelaram que o diâmetro hidrodinâmico (HD) do sistema núcleo-casca ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_quitosana) nano-híbridos foram de aproximadamente 22nm e 26nm para o PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI\_0,67\_2,5 e PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI\_0,67\_3,5, respectivamente. Esses valores estão associados com as interações entre a quitosana e meio aquoso (FIG. 5.34B). Como esperado, os valores de HD são maiores que os diâmetros dos PQs avaliados pela técnica de TEM, que avalia as dimensões do núcleo inorgânico dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ . Porém, os HD avaliados dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI\_0,67 apresentam maior raio,

com aumento relativo de 18% com a elevação do pH do intervalo de 2,5-3,5, coerente com os resultados de TEM.

Medidas de Potenciais Zeta ( $\zeta$ ) para PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{0,67\_2,5}$  e  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{0,67\_3,5}$  foram de  $\zeta = +56 \pm 1$  mV e  $\zeta = +37 \pm 3$  mV, respectivamente. Em condições altamente ácidas de ambos os valores de pH, todos os grupos amina estão protonados, mas, em pH de 2,5, há mais espécies  $\text{H}^+$  em solução com maior repulsão e exposição dos grupos  $-\text{NH}_3^+$  na superfície da nano-híbridos (ou seja, a superfície mais externa da casca orgânica). Em pH 3,5, a fração molar dos precursores também influenciou os valores ZP. Em uma fração molar  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = 0,33$ , o ZP foi medido foi de  $\zeta = +31 \pm 3$  mV, que é inferior ao valor obtido para o sistema estequiométrico onde  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = 0,67$ . Essa diferença pode ser devido ao excesso da espécie  $\text{S}^{2-}$  que forma complexos com aminas protonadas, reduzindo a carga positiva na dupla camada. Para o sistema de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{1,33\_3,5}$ , o  $\zeta$  foi de  $\zeta = +33 \pm 11$  mV. O desvio padrão estatístico relativamente maior pode ser atribuído ao excesso de espécies  $\text{Bi}^{3+}$  que aumenta a repulsão entre os grupos  $\text{NH}_3^+$  nas cadeias da quitosana, interrompendo, assim, o equilíbrio da nanoestrutura núcleo-casca. Além disso, os resultados indicaram que os valores de  $\zeta$  dos PQs são, em sua maioria, eletrostaticamente estabilizados ( $\zeta > 30$  mV), evitando contato próximo entre as nanopartículas, compatível com as características de dispersão homogênea das nanopartículas observadas nas imagens de TEM.

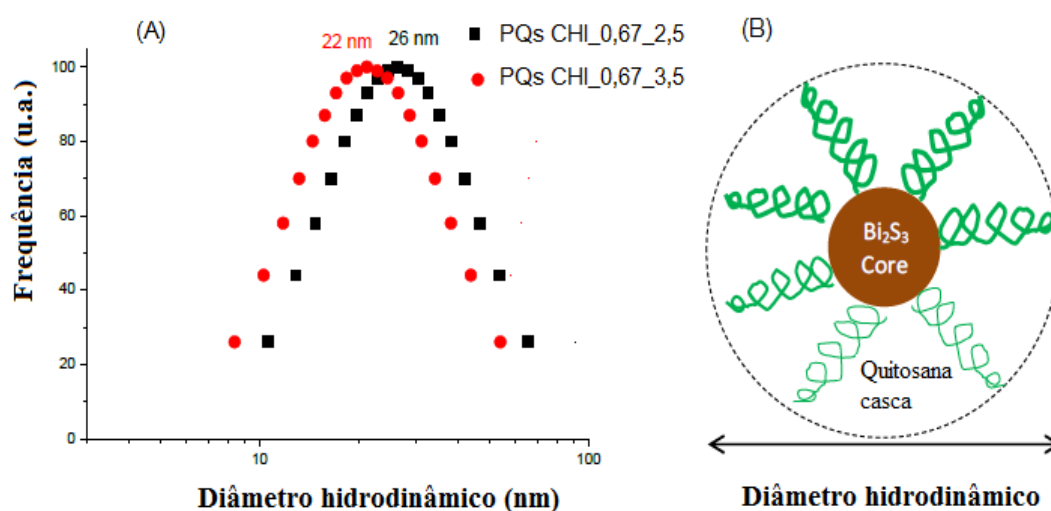


Figura 5.34 - A) Resultados de DLS para os PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{0,67}$ : Quadrados pretos, pH 2,5 e círculos vermelhos pH 3,5, (B) Representação esquemática da estrutura núcleo/casca.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

#### 5.4.1.4. *Análise de Fotoluminescência dos PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> estabilizados por QUI*

Todos os sistemas sintetizados apresentaram comportamento luminescente sob excitação, com a banda predominante de emissão PL na faixa espectral de 450 a 650nm (FIG. 5.35). O espectro de PL nanoconjugados Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> não é dominado pela emissão excitônica, mas os resultados indicaram que os comprimentos de onda máximos dos espectros de PL são estatisticamente semelhantes ( $\lambda_{PL} = 504 \pm 1$  nm). Essa emissão é a contribuição global da recombinação radiativa de PQs e/ou transições eletrônicas de Bi<sup>3+</sup>, que normalmente é o  $^3P_1 \rightarrow ^1S_0$  transição radiativa retroativa (GAO, PENG; WONDRAKZEK, 2014).

Com base nos resultados de PL da Figura70, os resultados indicam que a luminescência foi dependente da proporção molar de precursores. A maior resposta de luminescência foi medida para a fração de 0,33, a qual está associada como maior tamanho dos PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>. Esse comportamento é normalmente observado, uma vez que a densidade de defeitos de superfície (por exemplo, estados de energia de armadilhas) e vias emissões não-radiativos aumentam à medida que diminui o tamanho das nanopartículas (MANSUR, 2010; RAMANERY; MANSUR; MANSUR, 2013).

Adicionalmente, o rendimento quântico (QY) dos nanoconjugates Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> produzidos neste estudo foi entre 0,5% e 1,0%, menor do que os valores de QDs sintetizados a alta temperatura com processo orgânico, mas em boa concordância com os pontos da literatura quântica, sintetizados por rota coloidal aquosa a baixas temperaturas (MANSUR, 2010).

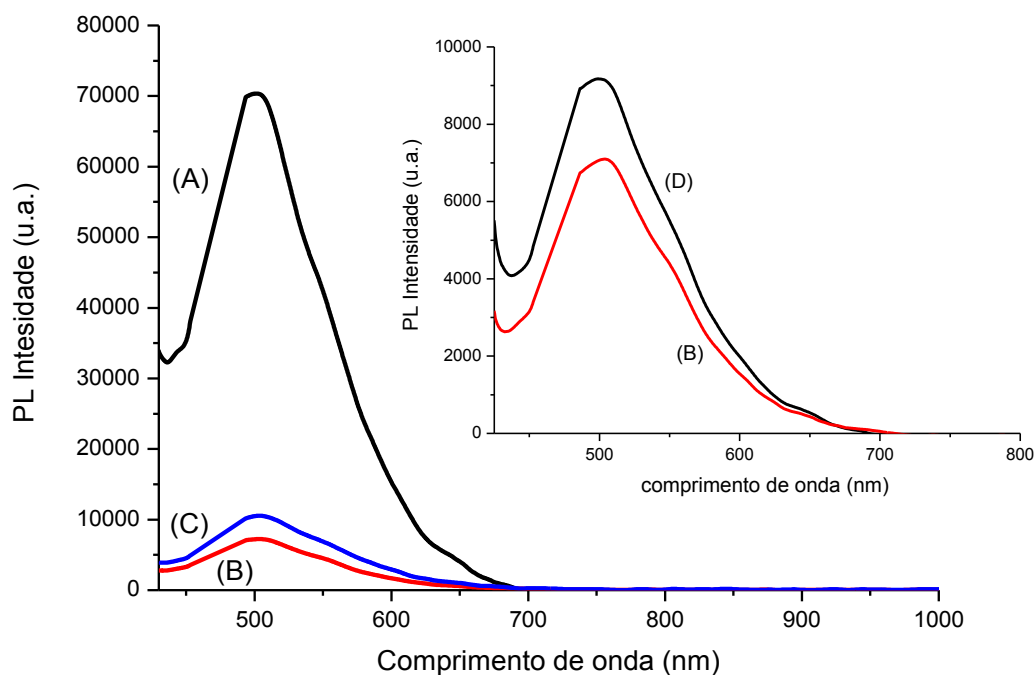


Figura 5.35 - Espectros de PL dos PQs híbridos de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ -QUI: (a) PQs\_QUI\_0.33\_3.5, (b) PQs\_QUI\_0.67\_3.5, (c) PQs\_QUI\_1.33\_3.5, e (d) PQs\_QUI\_0.67\_2.5 ( $\lambda_{\text{excitação}}=405\text{nm}$ ). Detalhe (Efeito do pH na emissão de PL e luminescência verde de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  com excitação de luz UV).

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

#### 5.4.2. Pontos Quânticos de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ estabilizados por Carboximetilquitosana (CMC)

##### 5.4.2.1. Espectroscopia de UV-vis dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC

A técnica de espectroscopia na região do UV-Vis foi utilizada para avaliar diretamente *in situ* a formação de nanopartículas com o estabilizante O-CMC e, através do aparecimento de absorção no espectro, avaliar o confinamento quântico semiconductor. As Figuras 5.36 e 5.37 apresentam os espectros típicos de absorção de UV-vis das nanopartículas estabilizadas por carboximetilquitosana, PQs\_ $\text{Bi}_2\text{S}_3$  CMC em pH 3,0 e 10,0, respectivamente.

O início de absorção foi observado em aproximadamente  $\lambda = 800\text{nm}$  e as bandas associadas às transições excitônicas não foram claramente observadas, o que pode ser associado com a elevada dispersão de tamanho característica dos PQs sintetizados utilizando-se rotas coloidais aquosas em temperatura ambiente (MANSUR, 2010). A

energia da banda ( $E_{\text{QD}}$ ) das nanopartículas sintetizadas foi estimada utilizando-se a forma linear da relação *TAUC* de semicondutores de *band gap* direto (TAUC; MENTH, 1972) (equação 10).

Os valores de  $E_{\text{QD}}$  para os PQs extraídos das curvas usando a relação *TAUC* (FIG. 5.38) foram iguais a  $2,63 \pm 0,1$  e  $2,34 \pm 0,2$  e  $1,84 \pm 0,2$  eV para os PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_3,0}$ ,  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_10,0}$  e PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33\_10,0}$ , respectivamente. Os valores  $E_{\text{QD}}$  obtidos pela Relação *TAUC* para todos os sistemas sintetizados foram maiores que o *band gap* do material *bulk* correspondente ( $E_g = 1,33$  eV para  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) (CHENG *et al.*, 2012) como consequência das nanopartículas estabilizadas com o polímero CMC estarem em regime de forte confinamento quântico. Os valores do *band gap* ( $E_{\text{QD}}$ ) e o "blue-shift" ( $\Delta E = E_{\text{QD}} - E_g$ ) determinados para alguns dos PQs sintetizados em comparação com o valor do *band gap* do *bulk* de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estão apresentados na Figura 5.38 ((a)  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_3,0}$ ; (b)  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_10,0}$  e (c)  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33\_3,0}$ ). Uma representação esquemática da estrutura de banda para o *bulk* e para os PQs com o efeito do confinamento quântico pode ser visualizada na Figura 5.38 (detalhe).

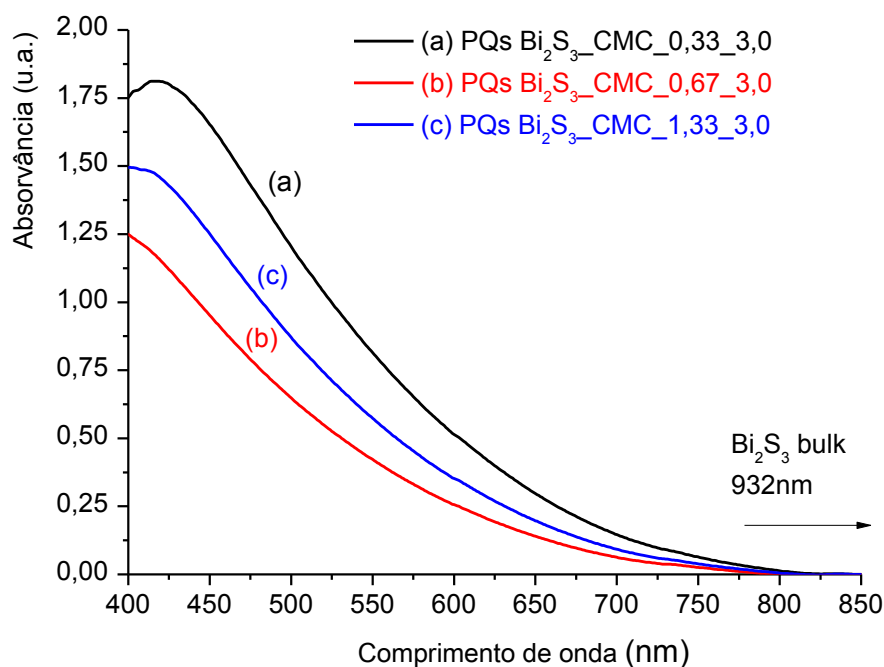


Figura 5.36 - Espectros de UV-vis dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}$  em pH 3,0 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

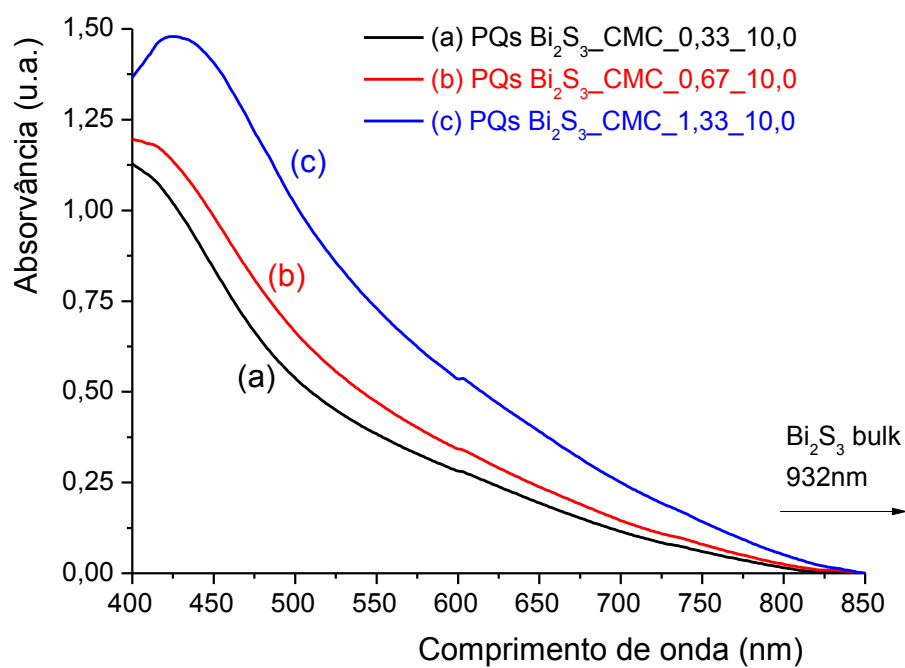


Figura 5.37 - Espectros de UV-vis dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ -CTMC em pH 10 e FM: (a) 0,33, (b) 0,67 e (c) 1,33.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

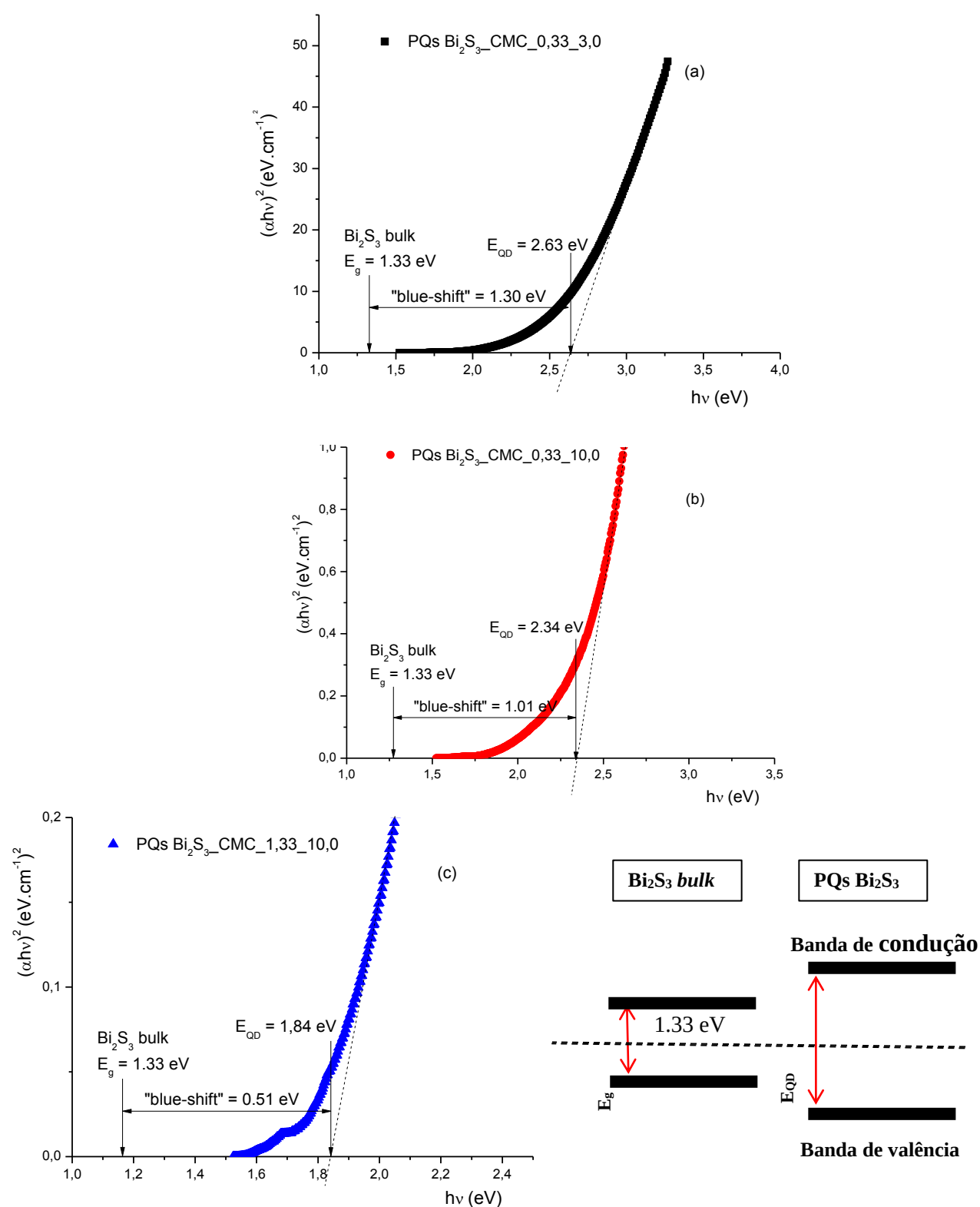


Figura 5.38 – Curvas da Relação TAUC dos sistemas: (a)  $\text{PQs Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33_3,0}$ ; (b)  $\text{PQs Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33_10,0}$  e (c)  $\text{PQs Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33_10,0}$ . (Detalhe) esquema representativo da energia de band gap dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  e bulk de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ .

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

#### 5.4.2.2. Análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC.

Neste estudo, as características morfológicas, análise química elementar (EDS) e distribuição de tamanho dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados por CMC foram obtidas por imagens de microscopia eletrônica de transmissão (FIG. 5.39 a 5.47). Como tendência geral, pode-se observar que os PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC apresentam forma razoavelmente esférica e as nanopartículas dispersas, com tamanhos claramente abaixo do raio de *Bohr do éxciton* de referência do  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  ( $a_B \sim 24$  nm) (CHENG *et al.*, 2012), confirmando que as nanopartículas  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foram formadas e devidamente estabilizadas por CMC em "regime de confinamento quântico".

O padrão de difração de elétrons (SAED), *inset* na Figura 5.43c e na 5.45c, indicou um parâmetro de rede de  $0,35 \pm 0,01$  nm compatível com o plano (310),  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , que apresenta uma estrutura ortorrômbica (JCPDS - 43-1471). Analogamente, o padrão de elétrons (SAED), detalhe na Figura 5.42a e na Figura 5.44c, indicou um parâmetro de rede de  $0,37 \pm 0,01$  nm e  $0,24 \pm 0,01$  nm compatíveis com os planos (101) e (231), respectivamente, da estrutura ortorrômbica do  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  (JCPDS - 43-1471).

Os histogramas da distribuição de tamanho dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC em pH 3,0 com variação da estequiometria dos precursores,  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$  de 0,33, 0,67 e 1,33 (FIG. 5.39, 5.40 e 5.41) indicaram uma distribuição monodispersa com diâmetro médio de  $2,8 \pm 0,3$  nm,  $3,0 \pm 0,6$  nm e  $5,2 \pm 1,1$  nm, respectivamente. Para os pontos quânticos sintetizados em pH 4,0, os valores dos diâmetros medidos através de TEM foram (FIG. 5.42, 5.43 e 5.44)  $3,5 \pm 0,4$  nm ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = 0,33$ ),  $3,7 \pm 0,3$  nm ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = 0,67$ ) e  $6,1 \pm 0,5$  nm ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = 1,33$ ). Esses resultados de síntese em meio ácido mostraram o efeito da fração molar no crescimento dos pontos quânticos, com um aumento do diâmetro de 86% e 74% com a elevação da fração molar de 0,33 (excesso de  $\text{S}^{2-}$ ) para 1,33 (excesso de  $\text{Bi}^{3+}$ ) nos pH 3,0 e 4,0, respectivamente. Esse mesmo efeito foi observado nos resultados da síntese em meio alcalino (pH 10,0), com os histogramas de distribuição do tamanho dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC (FIG. 5.45, 5.46 e 5.47), indicando uma distribuição monodispersa com diâmetros médios de  $7,6 \pm 0,9$  nm,  $8,0 \pm 1,2$  nm e  $12,4 \pm 3,8$  nm, para as frações molares 0,33, 0,67 e 1,33, respectivamente, e representando um acréscimo de 63% no tamanho dos PQs com a elevação da fração molar  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$  de 0,33 para 1,33.

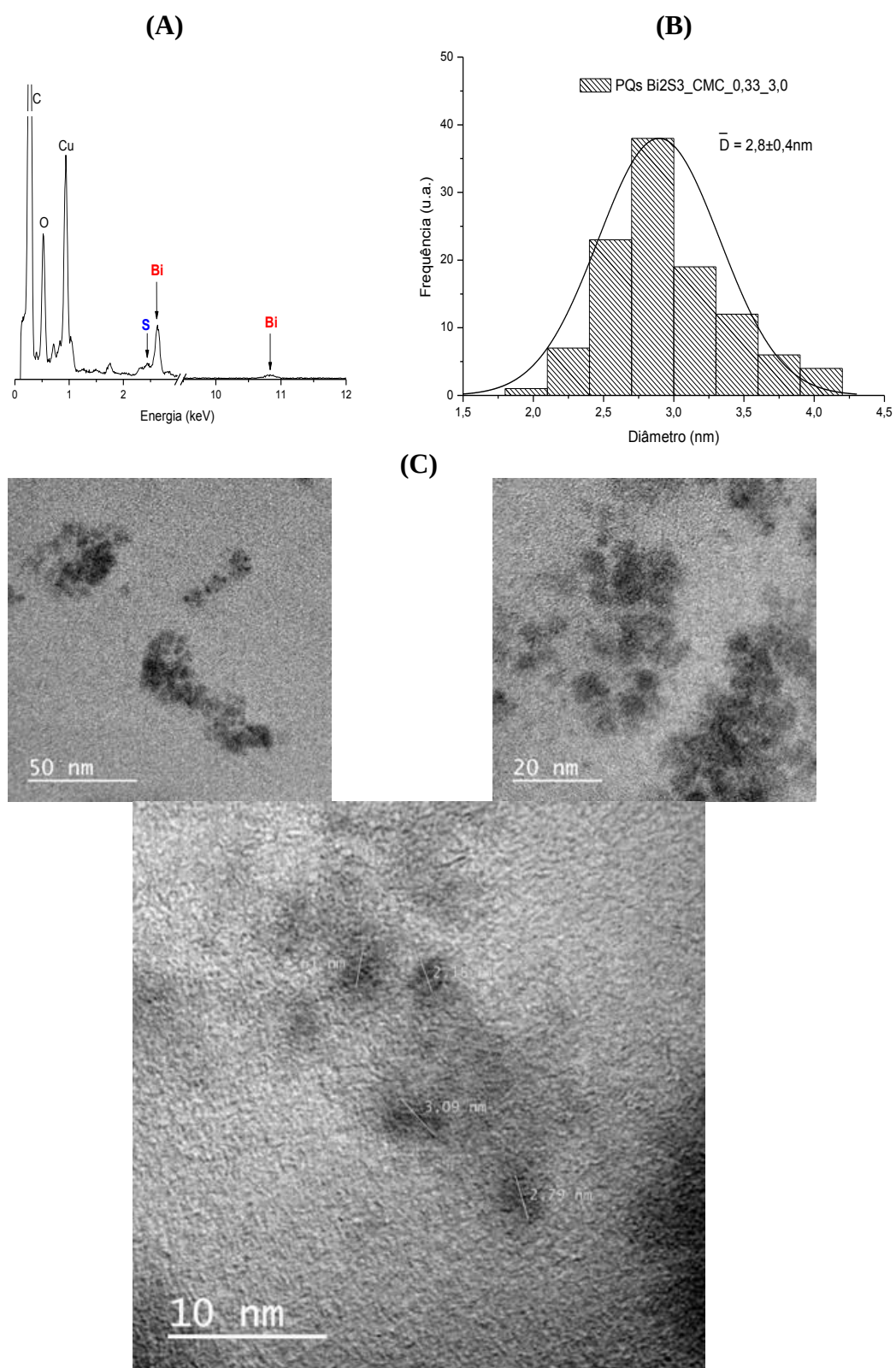
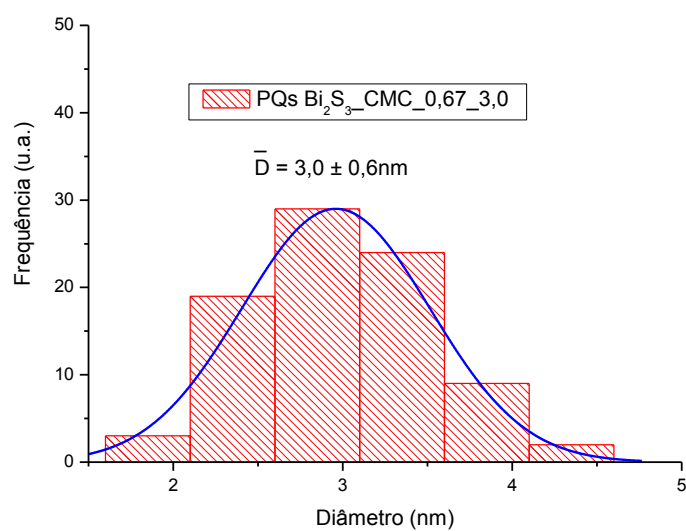


Figura 5.39 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33_3,0}$ : (A) Espectro típico EDS, (B) Histograma de distribuição de tamanho, (C) HRTEM.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

(A)



(B)

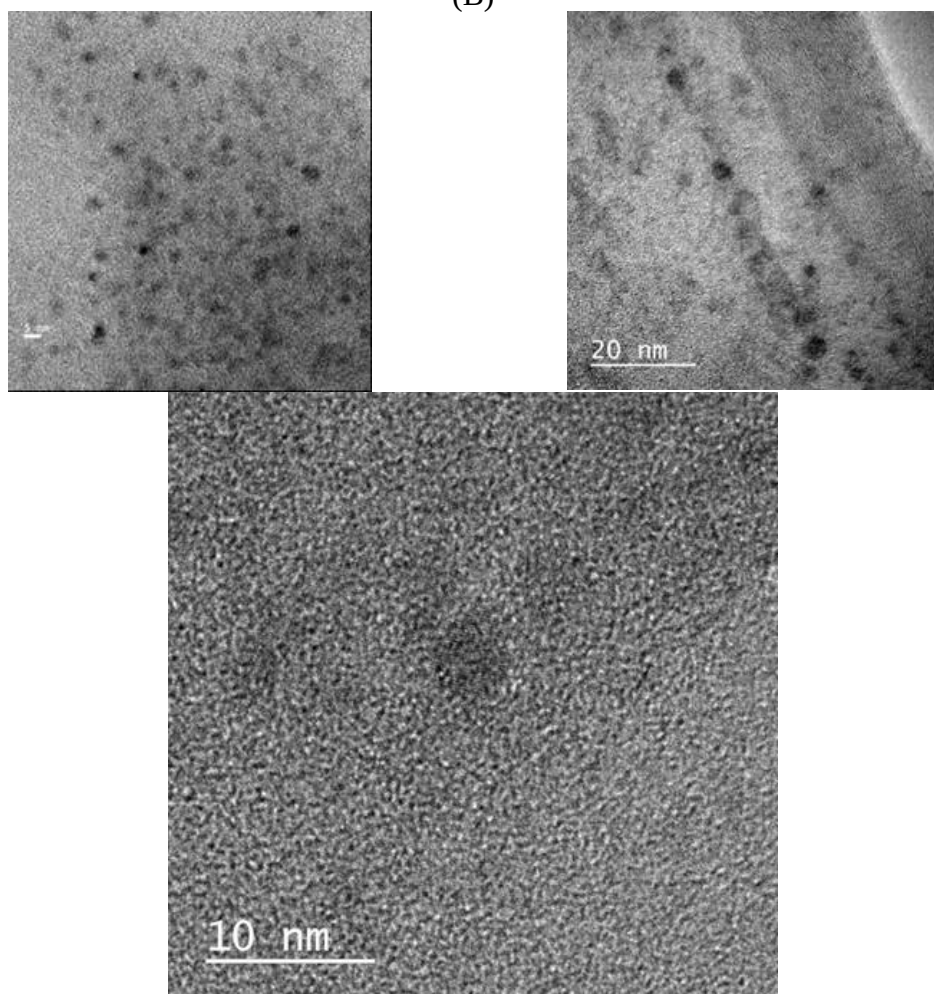


Figura 5.40 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,67\_3,0}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

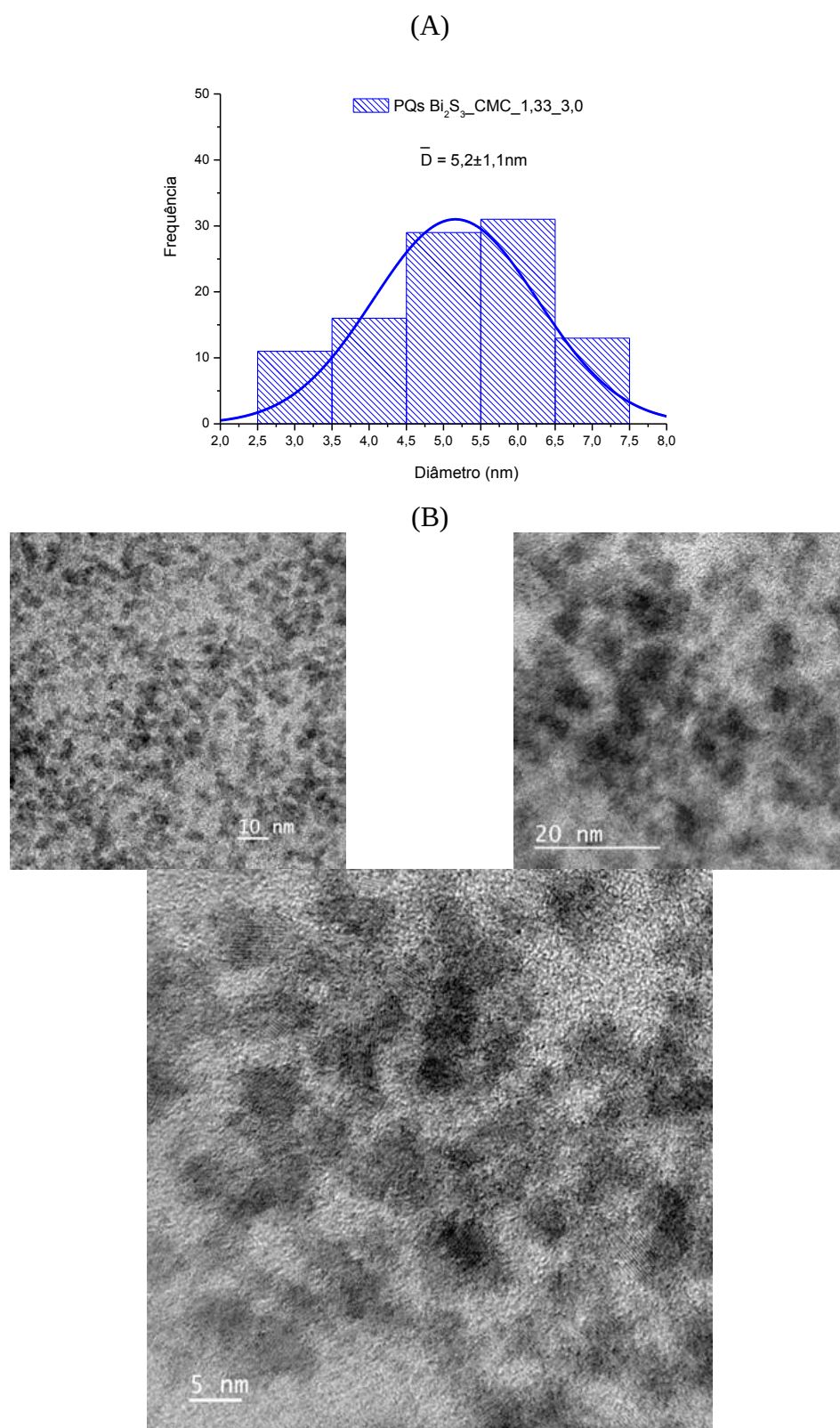


Figura 5.41 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33_3,0}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

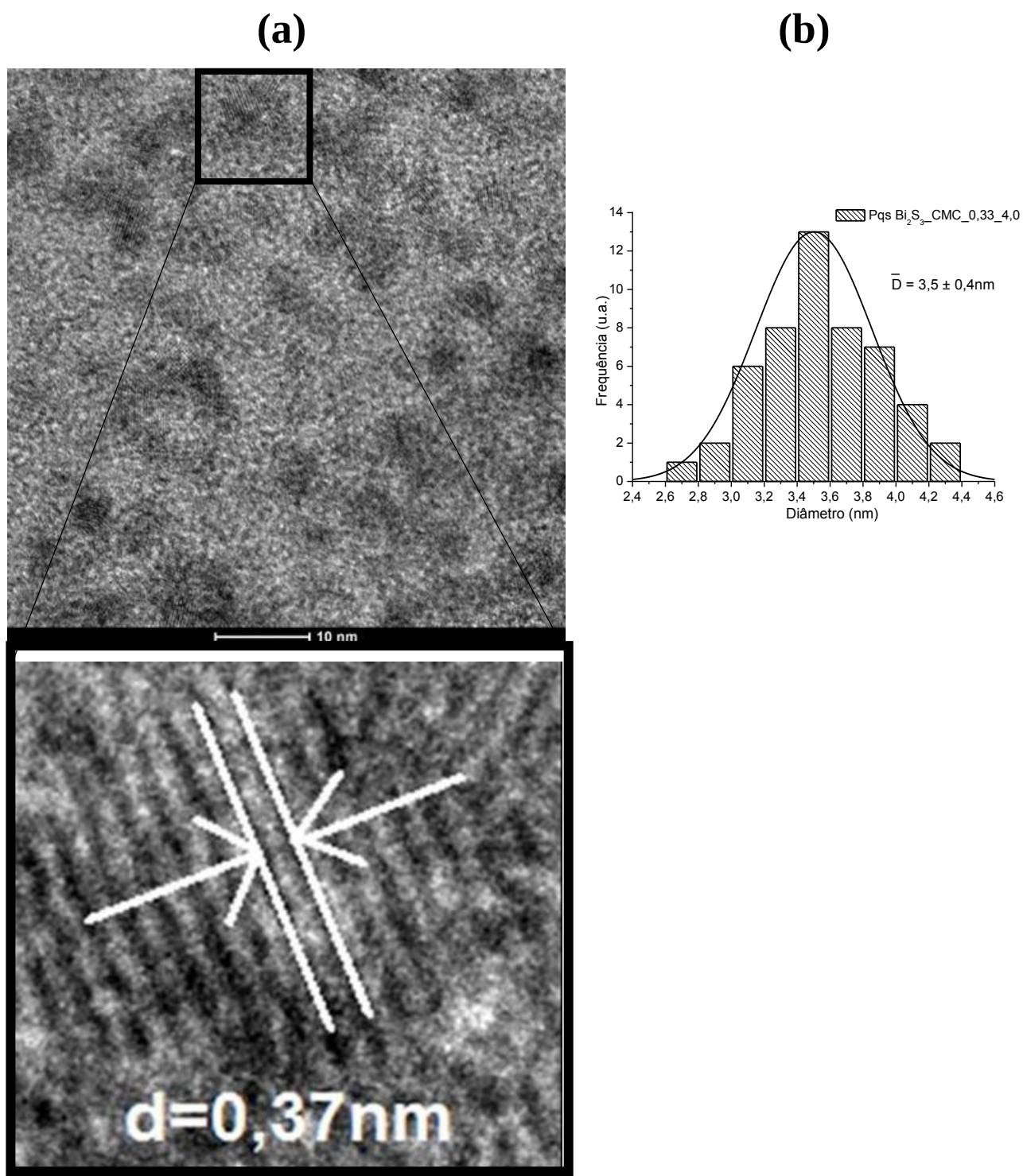


Figura 5.42 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_4,0}$ : (A)HRTEM, (B) Histograma de distribuição de tamanho, detalhe franjas

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

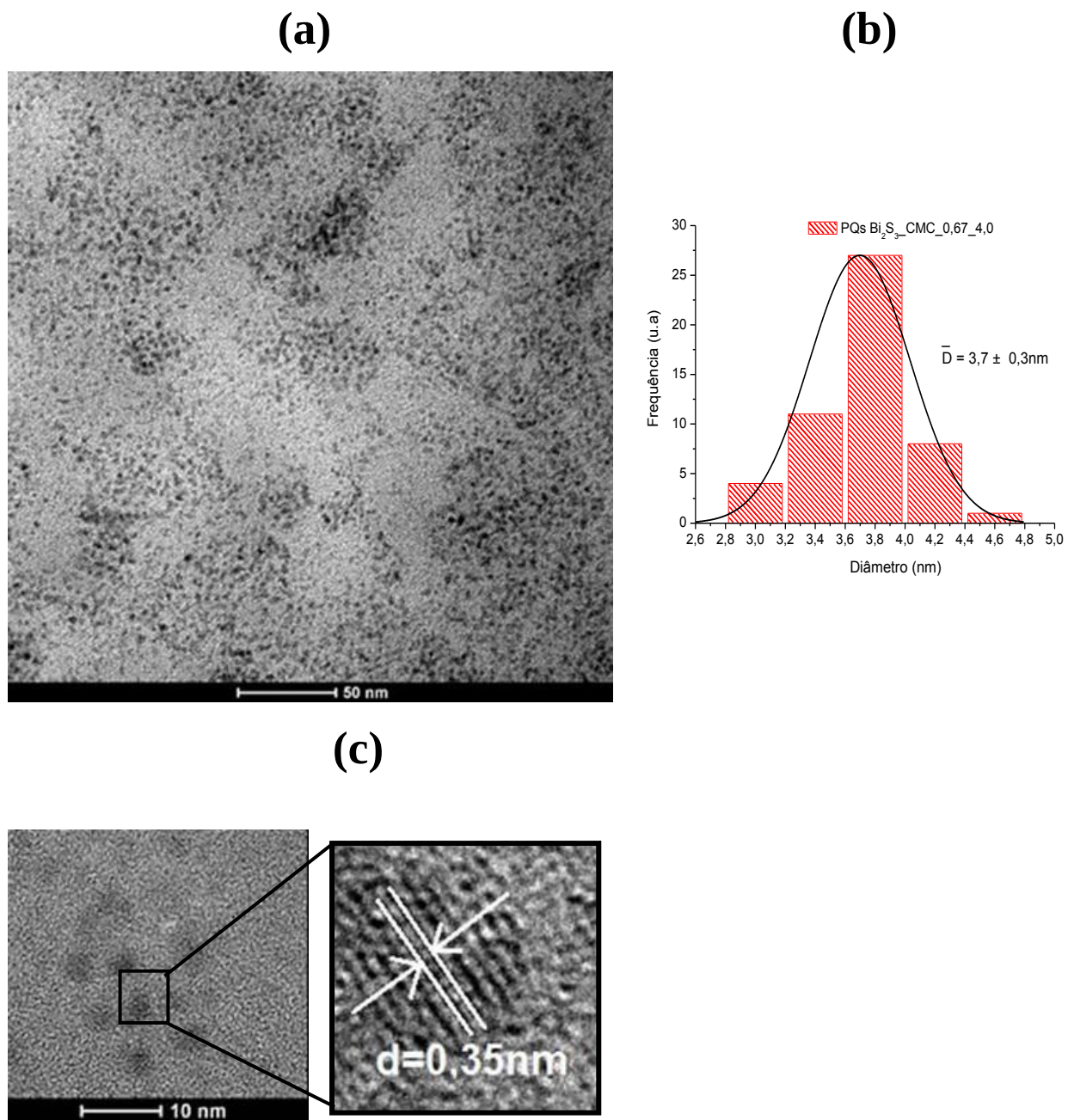


Figura 5.43 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,67_4,0}$ : (A) HRTEM, (B) Histograma de distribuição de tamanho, detalhe franjas.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

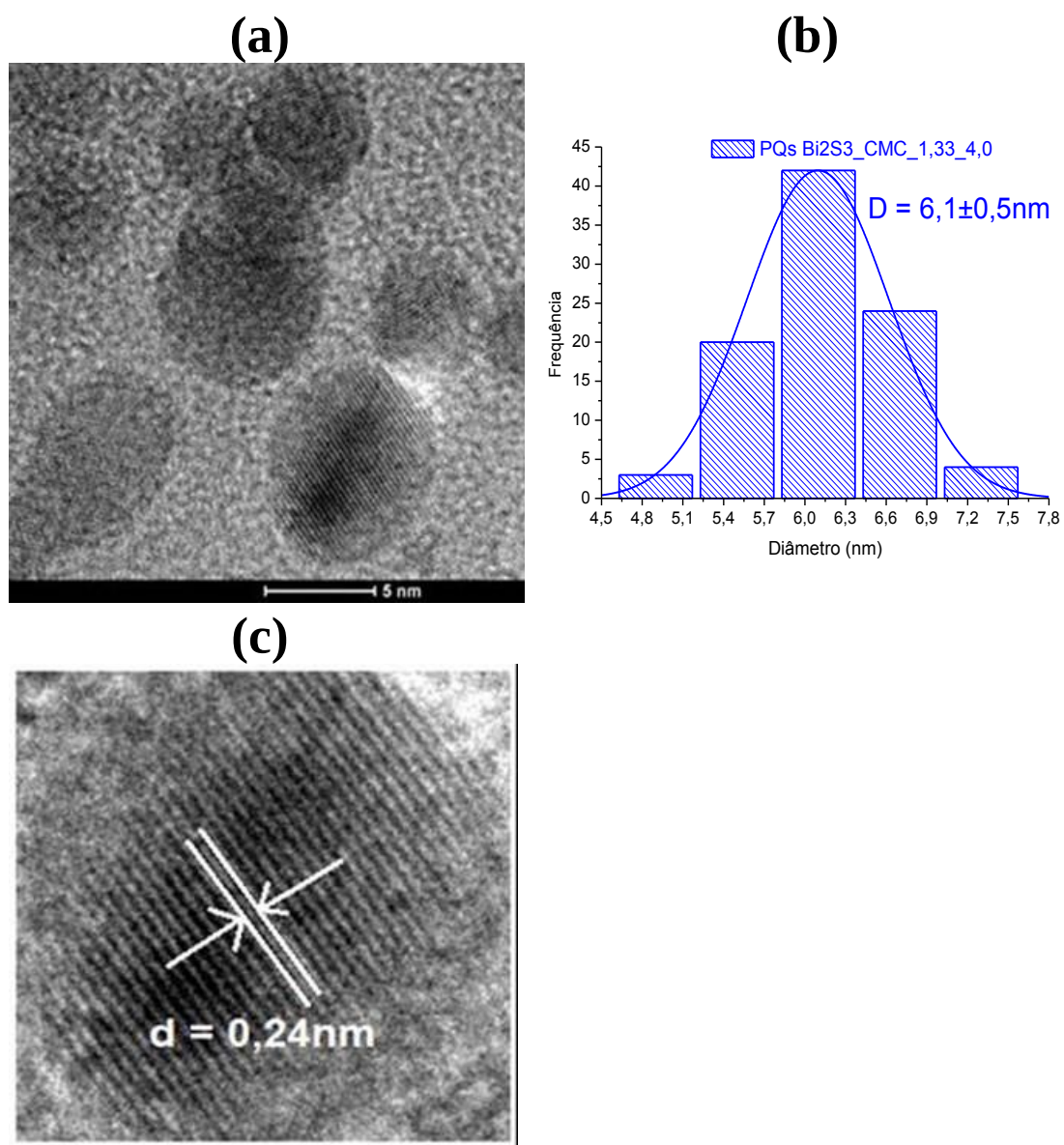


Figura 5.44 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{CMC}_{1,33_4,0}$ : (A) HRTEM, (B) Histograma de distribuição de tamanho, detalhe franjas.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

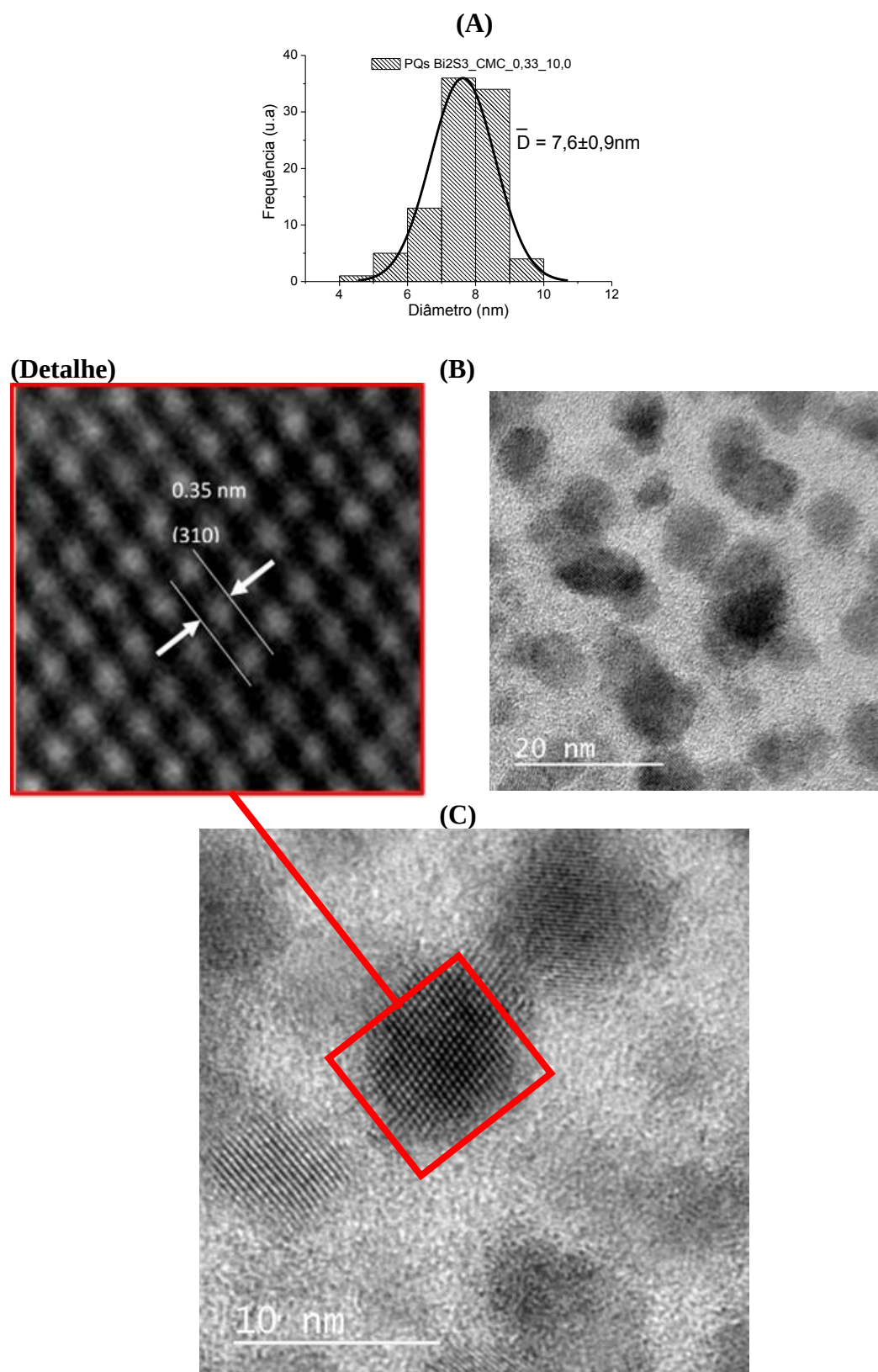


Figura 5.45 - Imagens de TEM dos PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_CMC\_0,33\_10,0: (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B e C) HRTEM, (Detalhe) franjas..

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

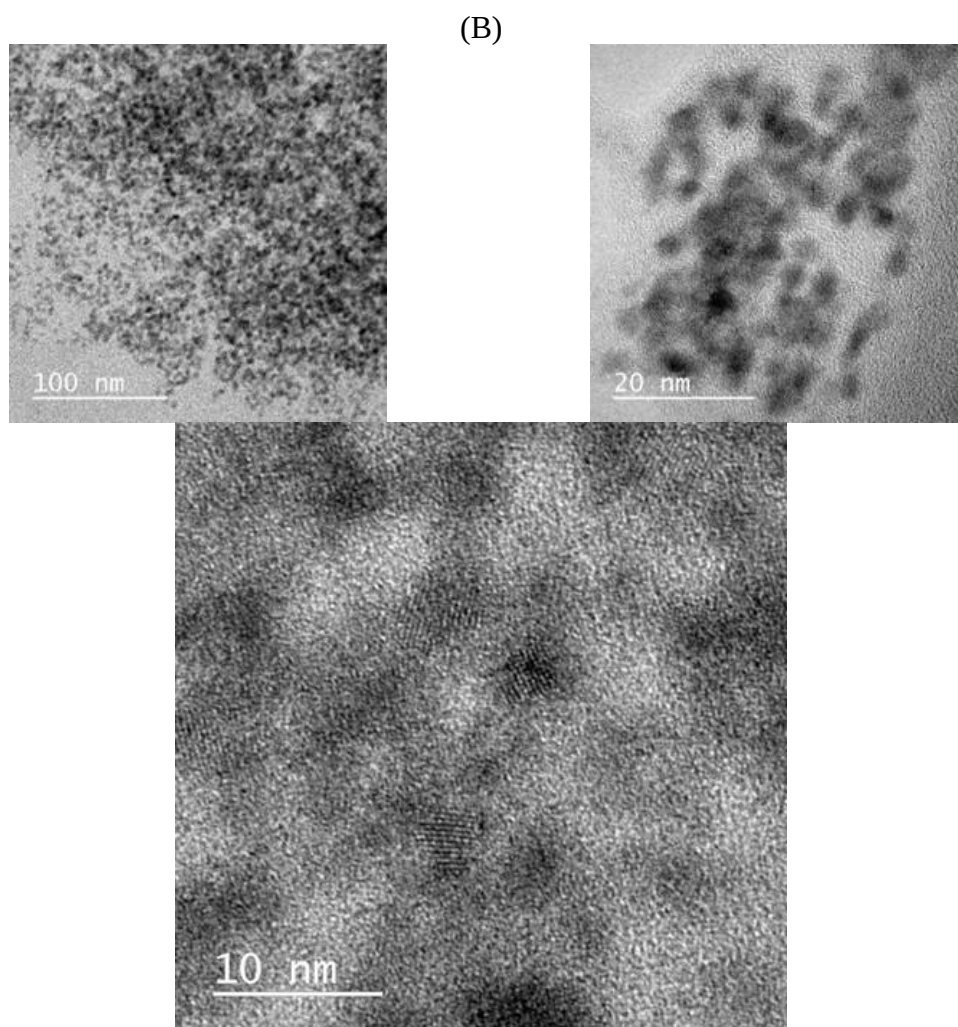
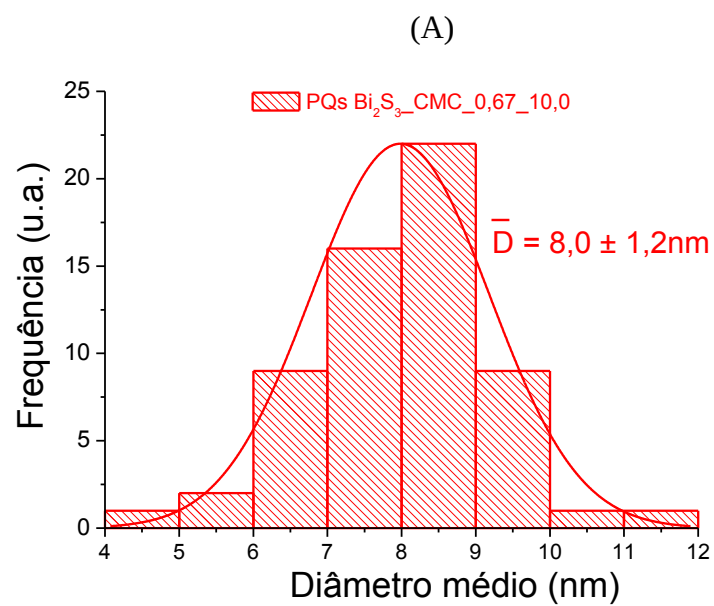


Figura 5.46 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC\_0,67\_10,0: (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

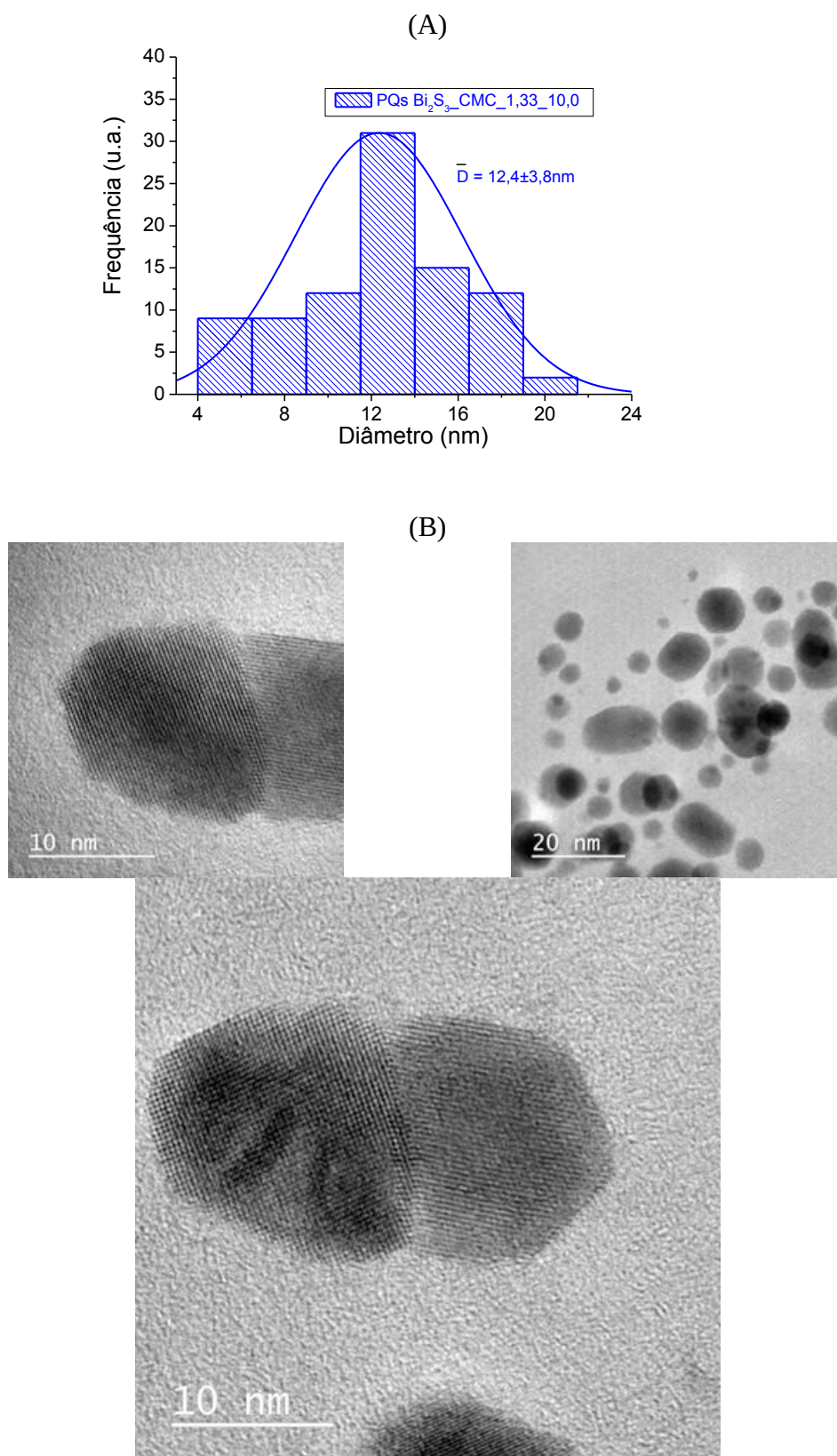


Figura 5.47 - Imagens de TEM dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33_{10,0}}$ : (A) Histograma de distribuição de tamanho, (B) HRTEM.

Fonte: elaborado pelo autor desta tese.

O espectro de EDS (FIG. 5.37) indicou claramente a presença dos elementos químicos Bi e S e além de picos relacionados com a quitosana (C e O), a grade (Cu e C) e o detector (Si).

A Tabela 13 e a Figura 5.46 apresentam um resumo desses resultados que mostram a influência direta da variação da fração molar na etapa de nucleação e crescimento dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}$  sintetizados.

*Tabela 12 - Variação dos diâmetros médios obtidos por TEM em função das proporções molares dos íons na síntese de PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}$ .*

| <b>Diâmetro (nm) – TEM</b>                           |                |            |             |
|------------------------------------------------------|----------------|------------|-------------|
| <b><math>[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]</math></b> | <b>pH meio</b> |            |             |
|                                                      | <b>3,0</b>     | <b>4,0</b> | <b>10,0</b> |
| <b>0,33</b>                                          | 2,8±0,4        | 3,5±0,3    | 7,6±0,9     |
| <b>0,67</b>                                          | 3,0±0,6        | 3,7±0,3    | 8,0±1,2     |
| <b>1,33</b>                                          | 5,2±1,1        | 6,1±0,5    | 12,4±3,8    |

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Além disso, na Figura 5.48 pode-se observar que os tamanhos das nanopartículas para as três relações molares ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$ ) foram drasticamente afetados pelo aumento do pH da síntese a partir de 3,0 para 10,0. Isso pode ser explicado considerando-se que a CMC, como derivado de quitosana, é predominantemente sensível ao pH, devido à presença de grupos amino, que podem ser protonados/desprotonados ( $-\text{NH}_3^+/-\text{NH}_2$ ), dependendo do pH do meio (equação 29). Esse aspecto é mais intensamente desenvolvido na síntese de PQs estabilizados por CMC devido à presença dos grupos carboxílicos como a funcionalidade química adicional na estrutura da QUI, que também é dependente do pH ( $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ ) (equação 28). A dependência da estrutura da CMC com o valor do pH em água pode ser resumida pelas reações, como mostrado na equação 30.

Assim, em valores baixos de pH (3,0), espera-se que a cadeia de polímero CMC apresente praticamente todas as aminas e grupos carboxílicos protonados, causando forte atração eletrostática com  $\text{S}^{2-}$  em solução. Ao adicionar  $\text{Bi}^{3+}$  ao meio, pequenos núcleos de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  são formados e o crescimento é limitado pelo polieletrólito positivamente carregado (CMC) em torno da nanopartículas, atuando como um agente de estabilização

multidentado (FIG. 5.49). Ao contrário, em pH alcalino, o sistema está completamente invertido, com a cadeia polimérica apresentando carga negativa, devido à desprotonação dos grupos amina e à presença predominante de carboxilatos ( $\text{R-COO}^-$ ), resultando em forte repulsão eletrostática intracadeias e intercadeias e entre o polímero e o  $\text{S}^{2-}$  em solução. Na sequência, a adição do  $\text{Bi}^{3+}$  ao meio faz com que a nucleação ocorra predominantemente em solução em vez de limitada pelo polímero (isto é, repulsão  $\text{R-COO}^- \leftrightarrow \text{S}^{2-}$ ), permitindo o crescimento das nanopartículas e favorecendo a ocorrência de uma faixa mais ampla de distribuição de tamanhos. Esse mecanismo está esquematizado na Figura 5.50.

Em relação à fração molar, foi observado um efeito notável do aumento da concentração relativa de  $\text{Bi}^{3+}$  acima da fração estequiométrica, em que o maior teor de bismuto ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = [4/3] = 1,33$ , ou seja, excesso de  $\text{Bi}^{3+}$ ) conduziu à formação dos maiores tamanhos dos nanocristais de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  em ambos os valores de pH (pH = 3,0 e 10,0). Em mesmo pH, não se observou alteração significativa no tamanho médio das nanopartículas entre as amostras com proporções molares de 0,33 ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = [2/6] = 0,33$  e 0,67 ( $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}] = [2/3] = 0,67$ ), o que é atribuído à mesma concentração de  $\text{Bi}^{3+}_{(\text{aq})}$ , resultando em uma cinética de nucleação/crescimento semelhantes. Assim, é plausível supor que o excesso de  $\text{Bi}^{3+}$  em solução (1,33) durante a reação favoreceu as taxas de nucleação e crescimento de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  em solução, em vez de limitado pelo CMC, resultando no aumento do tamanho dos nanocristais. Essa tendência foi mais evidente a pH = 10, em que o diâmetro médio do ponto quântico foi de 12,4nm, cerca de 140% maior do que a respectiva amostra em pH = 3, o que é consistente com a hipótese do papel principal dos grupos amino e carboxilatos da CMC como um agente de estabilização multidentado na modulação das dimensões dos nanocristais semicondutores  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  formados. Os resultados gerais dos efeitos do pH e da concentração relativa de precursores nos tamanhos médios dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados por CMC são resumidos na Figura 5.51.

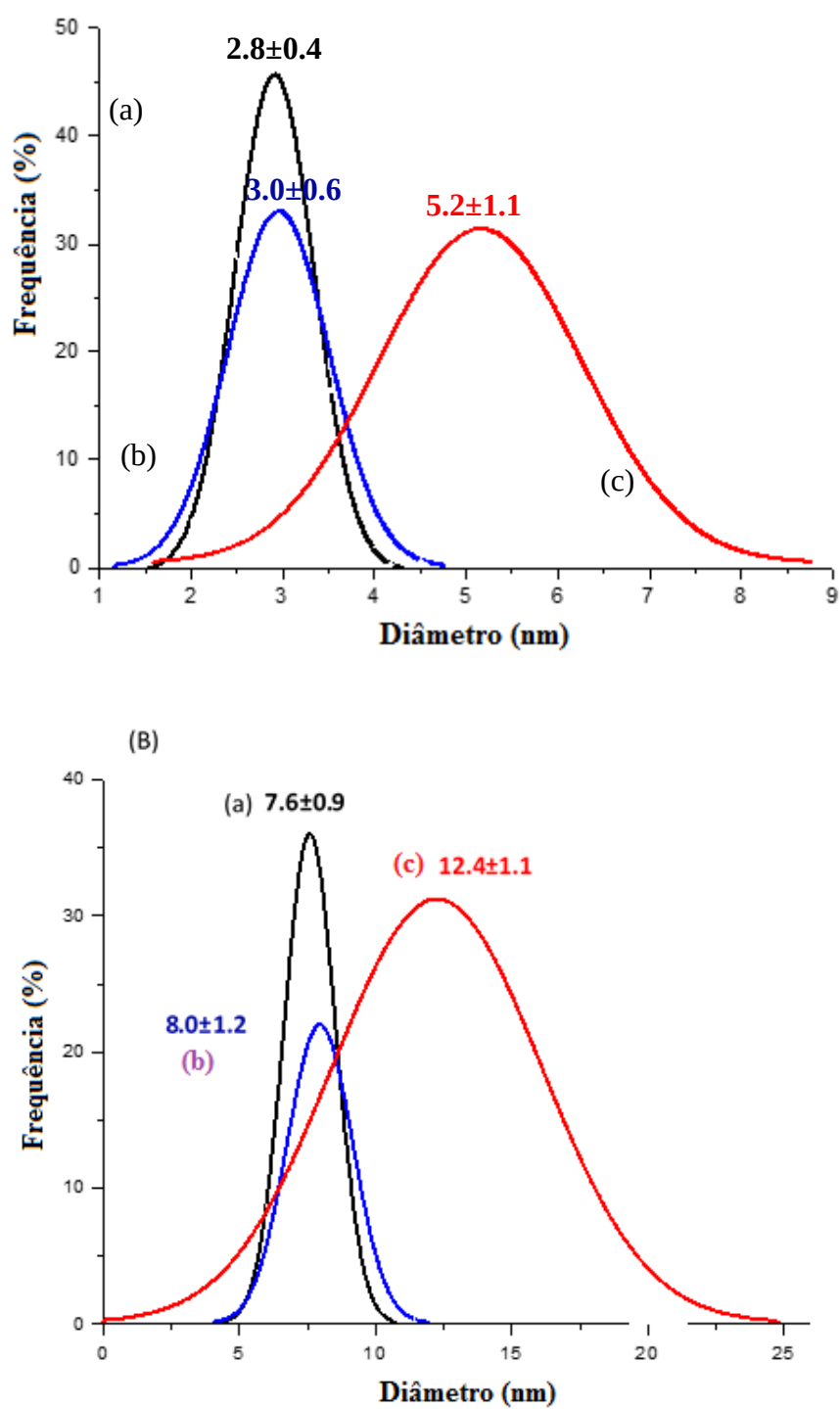


Figura 5.48 - Histograma de distribuição dos PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}$  sintetizados em (A)  $\text{pH}=3,0$  e (B)  $\text{pH}=10,0$  com frações molares  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$  iguais a 0,33 (a), 0,67 (b) e 1,33 (c).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

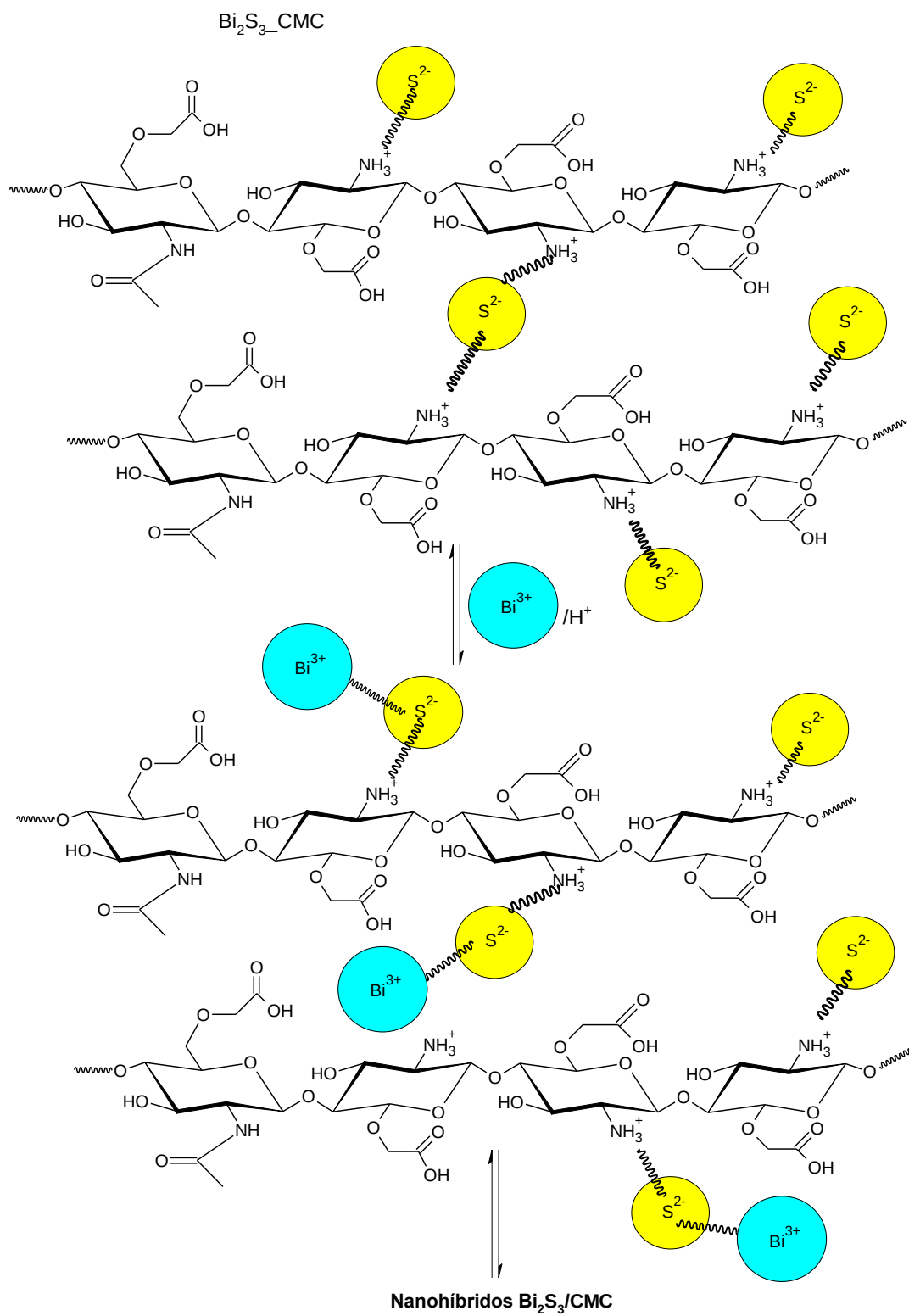


Figura 5.49 - Ilustração dos modelos sugeridos de interações de nanopartículas em o O\_CMC em pH 3,0 (sem escala).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

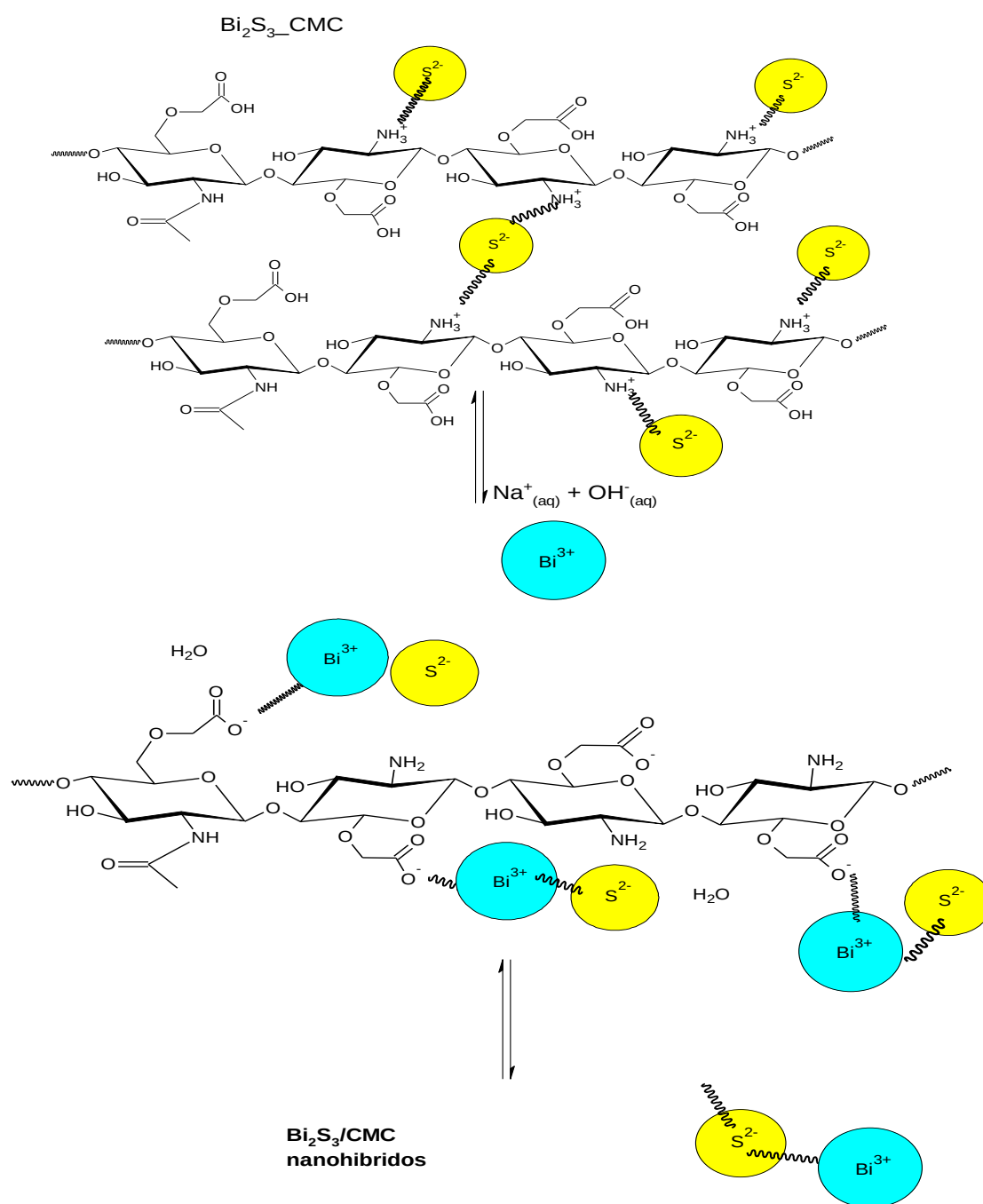


Figura 5.50 - Ilustração dos modelos sugeridos de interações de nanopartículas em o O\_CMC em pH 10,0 (sem escala).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

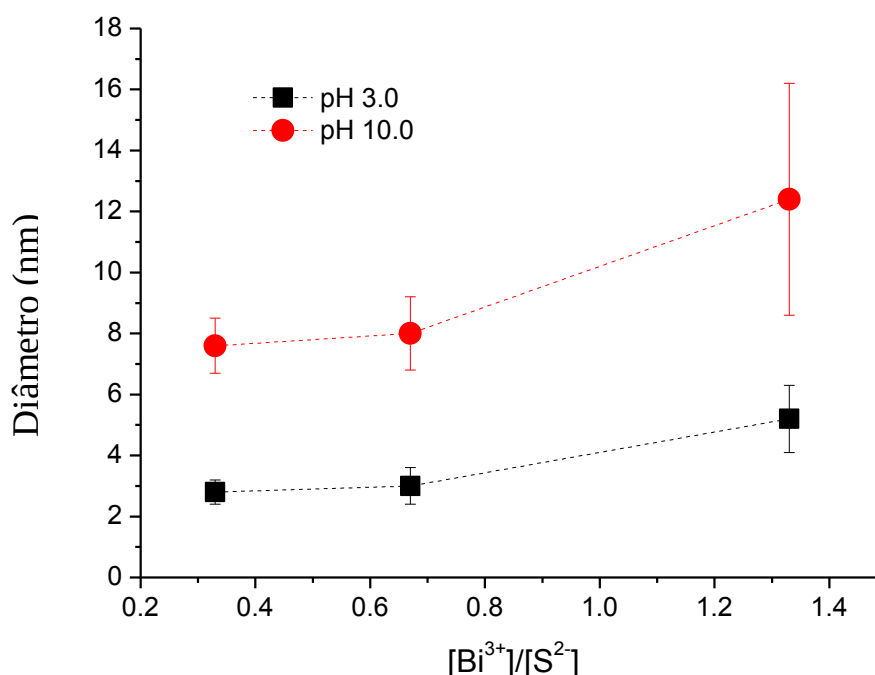


Figura 5.51 - Resumo da variação do diâmetro dos PQs em função do pH (Quadrados, pH 3,0 e Círculos, pH 10,0) x fração molar dos precursores  $[Bi^{3+}]/[S^{2-}]$ .

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Os resultados do potencial zeta ( $\zeta$ -potencial) demonstraram o efeito significativo do pH do meio no equilíbrio global das cargas na nanoestrutura núcleo-casca (FIG.5.52A). Como um polieletrólito multifuncional, os grupos químicos da O-CMC, isto é, aminas e carboxílicos estão totalmente protonados no pH = 3,0 (ou seja,  $-NH_3^+$ ,  $-COOH$ ) e, no pH = 10,0, em sua maioria desprotonados (isto é,  $-NH_2$ ,  $-COO^-$ ). O resultado foi a formação de nanopartículas coloidais carregadas positiva ( $\zeta = +25$  mV) ou negativamente ( $\zeta = -177$  mV  $\zeta$ ) no pH 3,0 e no pH 10,0, respectivamente. Esses valores relativamente altos de  $\zeta$ -potencial em condições ácidas e alcalinas asseguram a estabilidade coloidal das nanoestruturas por repulsão eletrostática dos grupos positivos ou negativos da superfície dos nanoconjugados no meio aquoso. Essa característica foi validada pelos resultados de espalhamento dinâmico de luz (DLS) apresentados na Figura 5.52B, em que o diâmetro hidrodinâmico ( $H_D$ ) das nanopartículas coloidais foi drasticamente afetado pelo pH, variando de cerca de 85nm (pH = 3,0) para 185nm (pH=10,0), como resultado da forte repulsão intracadeias carregadas em solução aquosa. Vale ressaltar que esses valores de  $H_D$  são muito superiores ao medidos para o ponto quântico por meio das imagens de TEM, uma vez que correspondem ao nano-híbrido formado pelo núcleo inorgânico e pela casca

polimérica incluindo sua interação com o meio aquoso. Também é interessante notar que os valores medidos para o potencial zeta e o  $H_D$  corroboram os mecanismos de nucleação/crescimento propostos para analisar o efeito do pH e das frações molares dos precursores nos diâmetros das nanopartículas discutidos anteriormente.

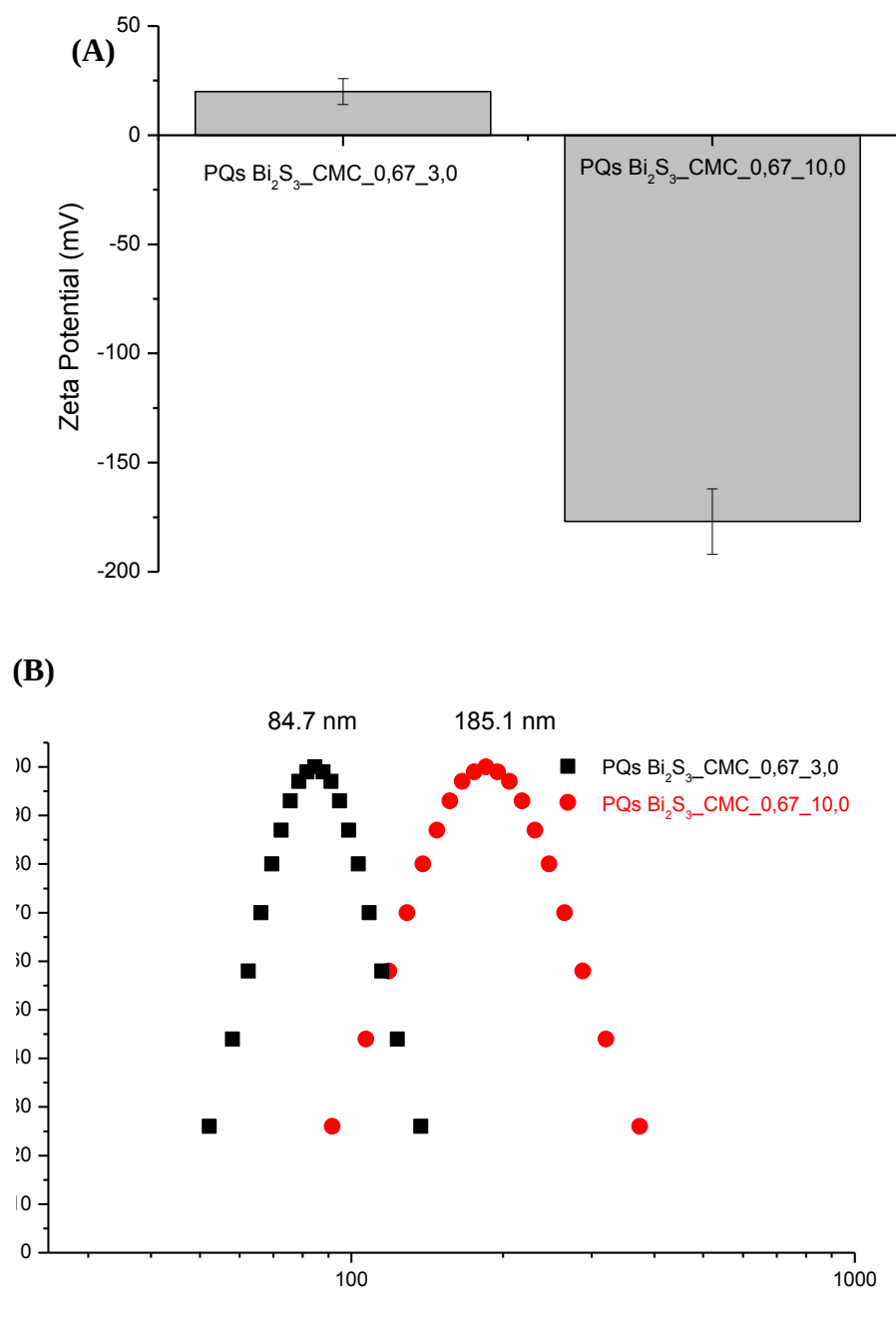


Figura 5.52 - (A) Potencial Zeta e (B) DLS (quadrados pretos, pH 3,0 e círculos vermelhos, pH 10,0) resultados da funcionalização e do pH.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Independente do pH durante a síntese e a proporção molar de precursores, os sistemas apresentaram comportamento luminescente significativo. A Figura 5.53 mostra os espectros de PL das amostras  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_3,0}$  (curva a),  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,33\_10,0}$  (curva b), e (c) curva sistemas  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{1,33\_10,0}$ . Todas as amostras exibem uma banda larga de emissão na região azul-laranja, tipicamente de 450 a 625nm com intensidade máxima no comprimento de onda de 504nm. A emissão nessa faixa de comprimento de onda não corresponde à emissão excitônica e pode ser considerada o somatório das contribuições radiativas dos pontos quânticos de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  e das transições eletrônicas do  $\text{Bi}^{3+}$ , que é tipicamente decorrente do decaimento radiativo  $^3\text{P}_1 \rightarrow ^1\text{S}_0$  (GAO; PENG; WONDRACZEK, 2014). Além disso, a intensidade de fotoluminescência observada para cada solução coloidal  $\text{Bi}_2\text{S}_3/\text{CMC}$  é o resultado global de várias características, tais como a relação entre área/volume dos PQs, o pH da solução, a densidade e tipo de defeitos, concentração  $\text{Bi}^{3+}$ , entre outros (RAMANERY; MANSUR; MANSUR, 2013). No entanto, pode ser verificado que a intensidade foi maior para a amostra sintetizada em pH 10,0, muito provavelmente devido ao maior tamanho desses pontos quânticos, o que é diretamente relacionado a menor quantidade de defeitos superficiais e menor número de centros de recombinação associado com a separação de carga causada pela cadeia polimérica da CMC negativamente carregada (potencial zeta negativo e elevado valor do diâmetro hidrodinâmico).

A Figura 5.53 (detalhe) mostra imagens típicas de fluorescência com emissão no verde (imagem inferior) dos PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados com polissacarídeos, quitosana ou CMC, quando expostos à radiação ultravioleta ("câmara escura-câmara", luz fonte  $\lambda_{\text{excitação}} = 254$  nm), em comparação com a solução coloidal nano-híbridos sob iluminação de luz natural (imagem superior).

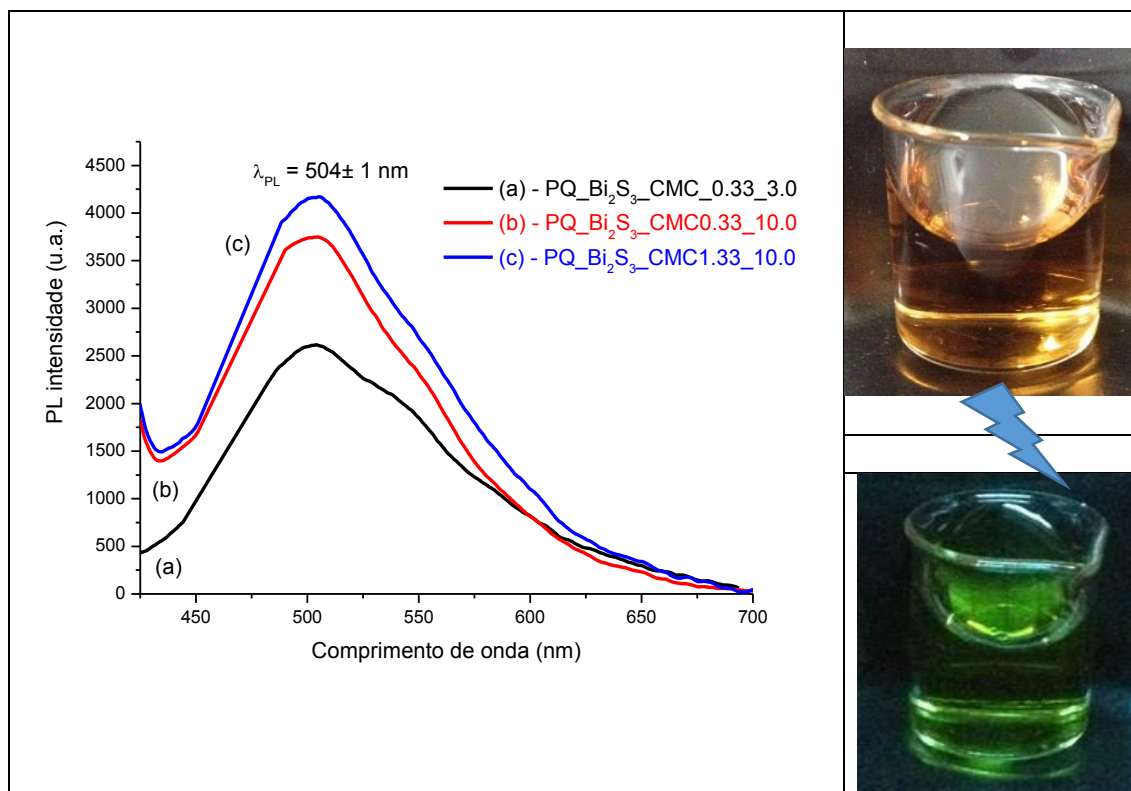


Figura 5-53 – Espectros de PL dos PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>: (a) PQs\_0.33\_3.0, (b) PQs\_0.33\_10.0, and (c) PQs\_1.33\_10.0. ( $\lambda$  éxciton = 405 nm). (Detalhe: Imagens dos PQs com iluminação (a) natural e (b) luz de irradiação ultravioleta  $\lambda = 254$  nm).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

## 5.5. Aplicações dos PQs de ZnS e PQs de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.

### 5.5.1. Aplicações Ambientais de Pontos Quânticos de ZnS.

A atividade catalítica dos bioconjugados ZnS\_QUI\_6,0 foi avaliada através de degradação fotocatalítica do corante azul de metileno (MB), um corante catiônico solúvel em água que é utilizado como composto modelo para reações de oxidação dos poluentes orgânicos ambientais.

#### 5.5.1.1. Análise da fotodegradação do corante MB por espectroscopia de UV-vis

A Figura 5.54 mostra os espectros de absorção de UV-Vis da suspensão formada pelo corante azul de metileno mais o nanocatalisador ZnS\_QUI\_6,0, após exposição à radiação UV durante 0, 2, 5, 10, 30 e 120 minutos (ZnS/MB = 6). O MB tem uma banda de absorção forte centrada em 664nm e uma banda de menor intensidade em aproximadamente 610nm (HORVÁTH *et al.*, 2012). À medida que o tempo de irradiação com luz ultravioleta aumentou, ambas as bandas de absorção diminuíram gradualmente, indicando a decomposição da estrutura cromófora do MB (SOLTANI *et al.*, 2012).

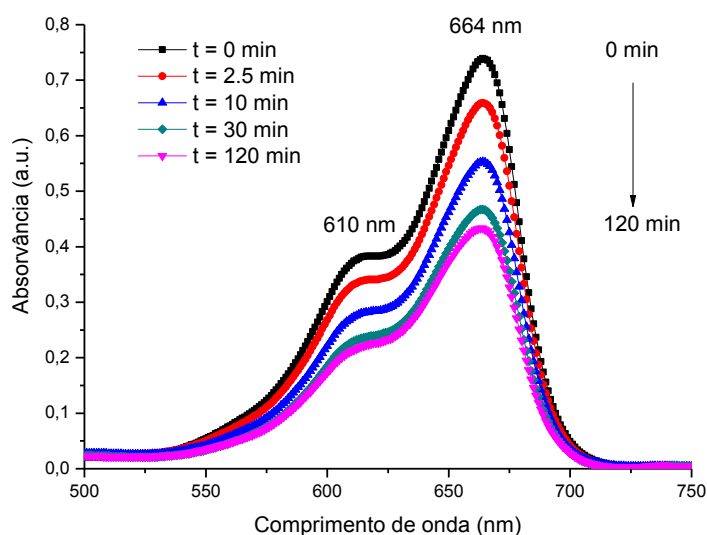


Figura 5.54 – Mudanças no espectro de absorção do azul de metileno (MB) na presença de PQs de ZnS\_QUI\_6,0 sob luz UV.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese

A cinética de fotodegradação do corante foi investigada através do monitoramento da absorvância da solução de MB a um comprimento de 664nm. Os valores de absorvância foram convertidos na concentração da espécie, utilizando-se a curva de calibração inicialmente elaborada. As alterações na concentração normalizada de MB,  $C/Co$  (FIG. 5.55A) e na eficiência de degradação,  $1-C/Co$  (FIG. 5.55B, para o  $ZnS/MB=12$ ) foram calculadas para diferentes concentrações do corante em relação aos pontos quânticos, onde  $Co$  é a concentração inicial de MB e  $C$  é a concentração de MB nos diferentes tempos avaliados. A intersecção dessas duas curvas indicada a meia-vida do corante é o tempo necessário para a concentração de MB diminuir para metade. Com base nas curvas, o tempo de meia-vida (*half-life*) medido para o sistema  $ZnS/MB = 6$  foi de cerca de 60 minutos (não mostrado) e para a razão  $ZnS/MB = 12$  foi inferior a 8 minutos. Para o sistema  $ZnS/MB = 1,5$  (curva não mostrada), não ocorreu a intersecção das curvas. Com base nesses resultados, a eficiência da fotodegradação foi maior com o aumento relativo da concentração do nanoconjugado em relação ao corante (isto é, aumento da relação  $ZnS/MB$ ). Uma vez que a concentração das nanopartículas catalisadoras foi mantida constante, o aumento da relação entre o  $ZnS\_QUI\_6,0$ /corante ( $ZnS/MB$ ) implica menor quantidade de moléculas de MB por área superficial da suspensão de nanopartícula-biopolímero, isto é, um aumento do número de sítios ativos disponíveis por molécula de MB para adsorção e degradação por fotocatalise. O detalhe da Figura 5.55B mostra a descoloração do azul de metileno após irradiação por 120 minutos, o que promoveu uma degradação de cerca de 90% do corante.

A atividade fotocatalítica do bioconjugado  $ZnS\_QUI\_6,0$  sob irradiação UVC ( $\lambda=254nm$ ) era esperada baseada no *design* do sistema, representado esquematicamente na Figura 5.54 (SOLTANI *et al.*, 2012; LI; WANG; YU, 2011; YU *et al.*, 2012; ZHAO; CHEN; MA, 2005). Os pontos quânticos de  $ZnS\_QUI\_6,0$ , utilizados neste estudo, apresentam uma banda larga de absorção entre 250-350nm, uma energia de banda proibida  $E_{QP}$ , de 3,92eV ( $\lambda=316nm$ ), conforme mostrado nas Figuras 5.56 e 5.57. Assim, quando o sistema de  $ZnS\_QUI\_6,0$ /azul de metileno foi irradiado por uma luz UV com energia maior que a energia do *band gap*, elétrons ( $e^-$ ) e buracos ( $h^+$ ) foram fotoinduzidos nas bandas de condução (CB) e de valência (VB), respectivamente. Além disso, como os potenciais redox de  $H_2O/OH^\bullet$ ,  $OH^\bullet/OH^-$  e  $O_2/O_2^{\bullet-}$  se encontram dentro da região da banda proibida do semiconductor (SOLTANI *et al.*, 2012), o radical aniônico superóxido pode ser gerado pela captura de elétrons na banda de condução e os buracos fotoinduzidos

podem ser aprisionados para produzir espécies de radicais hidroxila, que são consideradas as responsáveis pela degradação dos corantes.

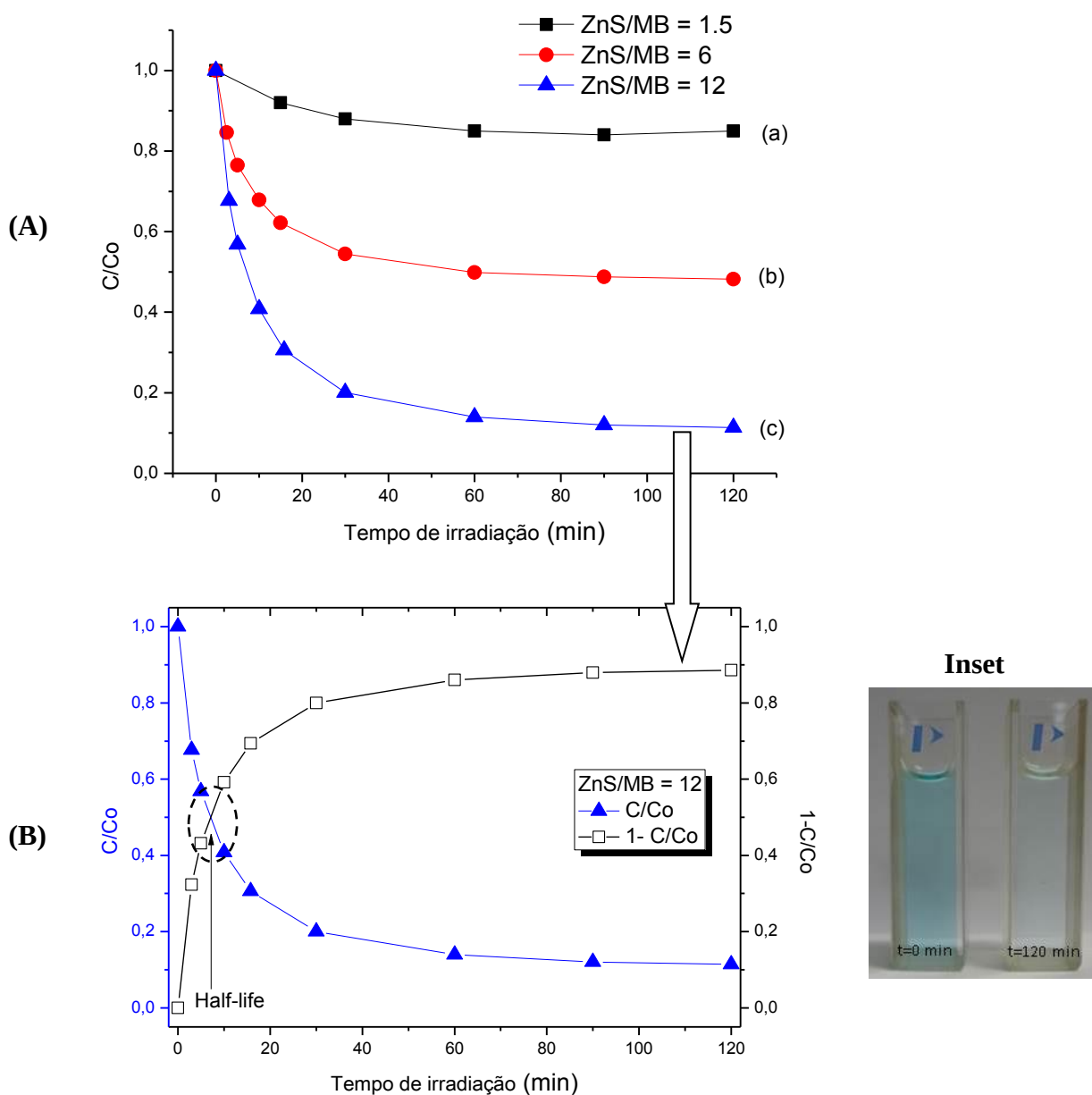


Figura 5.55 – (A) alterações normalizadas na concentração MB ( $C/Co$ ) para diferentes proporções concentrações de corantes: (a) ZnS-CHI/MB=1,5; (b) ZnS-CHI/MB= 6; (c) ZnS-CHI/MB= 12. (B)  $C/Co$  curva e degradação de eficiência ( $1-C/Co$ ) para ZnS-CHI/MB=12 ; (Detalhe: MB descoloração com o tempo).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Além disso, defeitos intrínsecos na estrutura cristalina (ou seja, as vacâncias de  $S^{2-}$  e os sítios intersticiais de  $Zn^{2+}$  na estrutura) (WAGEH, LING e XU-RONG, 2003; BECKER,

W. G.; BARD, A. J., 1983), foram criados no PQ do semiconductor uma vez que são favorecidos pela síntese de nanopartículas na presença de espécies do metal em excesso ( $\text{Zn}^{2+}:\text{S}^{2-} = 2:1$ ) adotado neste estudo.

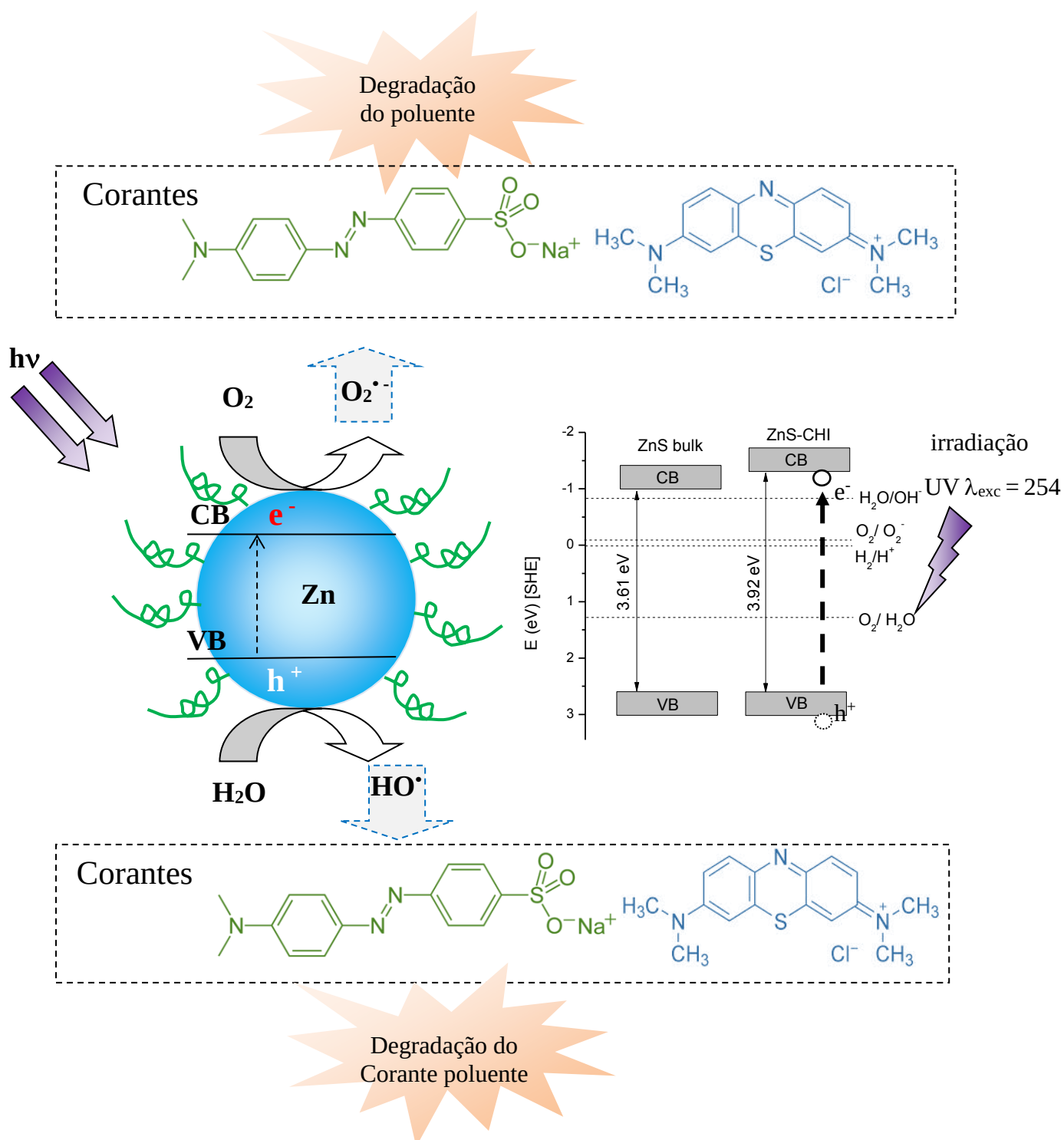


Figura 5.56 – Esquema de degradação de corantes pela nano-fotocatalize ZnS\_QUI.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

Estes defeitos atuam como estados intermediários de energia para os elétrons, inibindo ou atrasando o rápido processo de recombinação dos portadores de carga, e, conseqüentemente, aumentando a separação dos pares elétron/buraco.

A degradação do corante por bioconjugados ZnS\_QUI\_6,0 foi monitorada por ESI\_MS (FIG.5.57a). Para o corante de azul de metileno no tempo zero, o espectro de ESI-MS indicou a presença de apenas um único cátion ( $m/z = 284$ ) que é característico dos MB em solução aquosa (PINTO, PACHECO, *et al.*, 2012), (CASTRO, GUERREIRO, *et al.*, 2009). Após 120 minutos de reação (ZnS/MB=12), o pico intenso a  $m/z=284$  diminuiu, e novos picos apareceram com  $m/z$  igual a 115, 207 e 338. O pico em  $m/z=338$  sugere sucessiva hidroxilação, que indica a geração de radical .OH por processos fotocatalíticos, como previamente relatado na literatura (SILVA, OLIVEIRA, *et al.*, 2009), (OLIVEIRA, OLIVEIRA, *et al.*, 2014). Os outros picos ( $m/z=115$  e 207) com massa inferior ao MB sugere que o anel da estrutura foi de alguma forma quebrado, que indica um estado avançado de oxidação. A Figura 5.57b mostra as estruturas intermediárias propostas para reação completa de oxidação completa do azul de metileno em  $CO_2$  e  $H_2O$ .

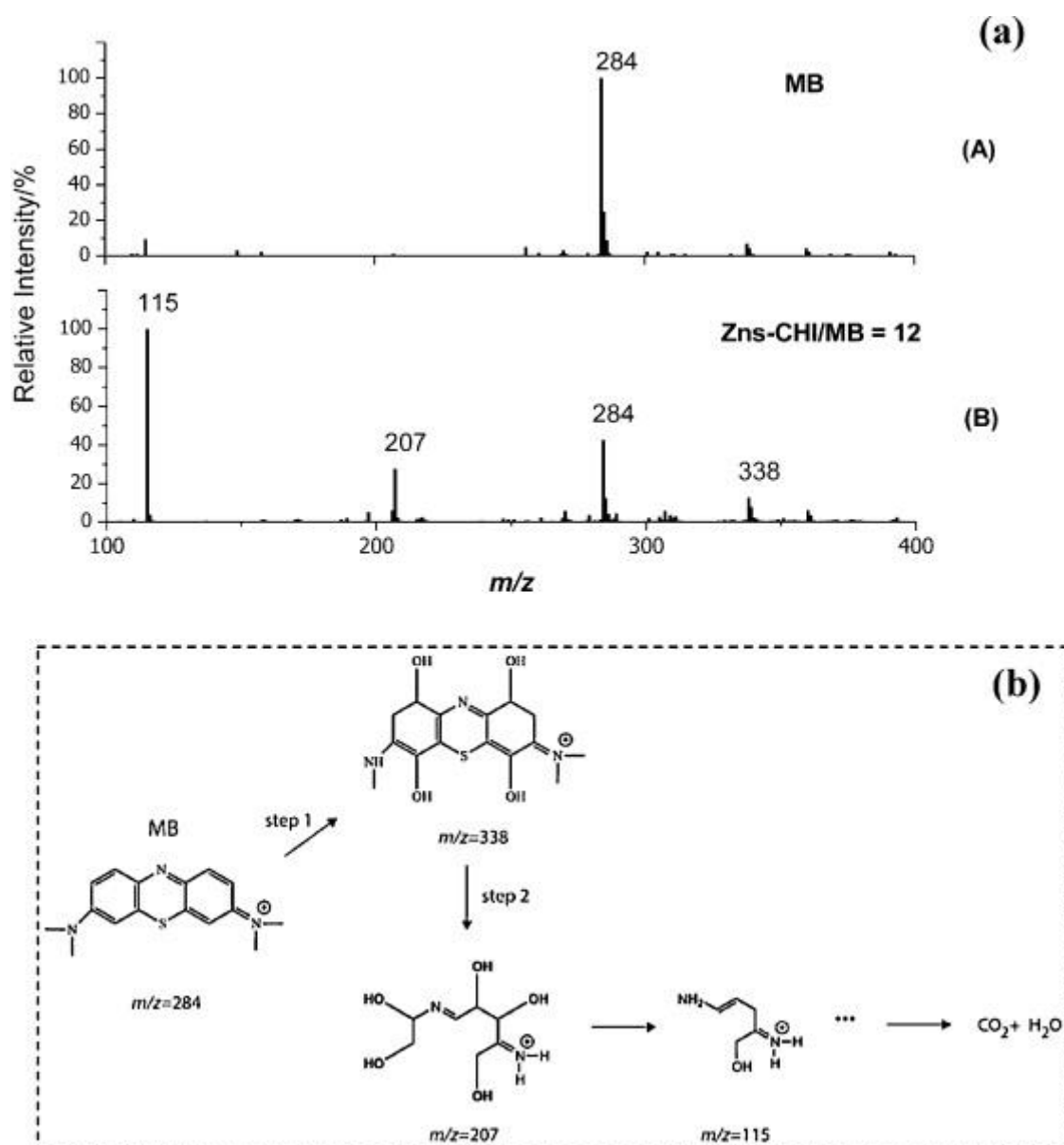


Figura 5.57 – ESI-MS para o controle da oxidação de MB por nano-fotocatalisador ZnS\_QUI. ESI\_MS espectro de (A) Padrão MB e (B) Esquema para a oxidação de MB ( $m/z=284$ ) pelo catalizador.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

### 5.5.2. Aplicações Biológicas dos PQs de $\text{Bi}_2\text{S}_3$ .

Nesta avaliação foram utilizados os pontos quânticos de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados por quitosana em pH 3,0 (PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-QUI}_{0,67\_3,0}$ ) e por carboximetilquitosana em pH 3,0 (PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,67\_3,0}$ ) e pH 10,0 (PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,67\_10,0}$ ), previamente sintetizados, para avaliar e investigar a citotoxicidade dessas nanopartículas, além da viabilidade de sua utilização como biomarcadores.

#### 5.5.2.1. Ensaio de toxicidade por MTT

A Figura 5.58 apresenta os resultados de MTT para os bioconjugados em contato com as células SAOS. A partir dos resultados, pode-se afirmar que não foram detectadas diferenças significativas na viabilidade celular e o efeito não-tóxico em comparação com o grupo de controle, dentro do intervalo de variação estatística. Além disso, não foram observadas alterações nas características morfológicas das células SAOS, apresentando 100% de confluência celular, após 24 horas de contato com a solução dos nano-híbridos. Em uma análise inicial, como esperado, todos eles apresentaram valores similares de viabilidade celular superior a 90% (ou seja, não citotóxico). Analogamente, o ensaio de MTT foi realizado com cultura de células HEK293 e os resultados são mostrados na Figura 5.59. Todas as amostras apresentaram respostas de viabilidade celular superior a 65%, indicando uma característica não-tóxica dos sistemas. Apesar disso, os resultados indicam claramente diferenças significativas que são o resultado global dos diâmetros hidrodinâmicos, dos valores de potencial zeta, do caráter hidrofílico/hidrofóbico, pH, tipo de polímero, das características da linhagem celular, dentre outros que estão além do escopo deste trabalho (FRÖHLICH, 2012; GAO *et al.*, 2011; SAMAL *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2015; SOHAEBUDDIN *et al.*, 2010).

Esses resultados mostraram que os nano-híbridos sintetizados com um núcleo livre de metal pesado (PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ), associado com a camada externa (casca) de polissacarídeo biocompatível (QUI ou CMC), através de processo em rota coloidal aquosa ecologicamente correta (*eco-friendly*), apresentaram comportamento global de biocompatibilidade e de não-citotoxicidade, indispensáveis para o uso em aplicações biológicas.

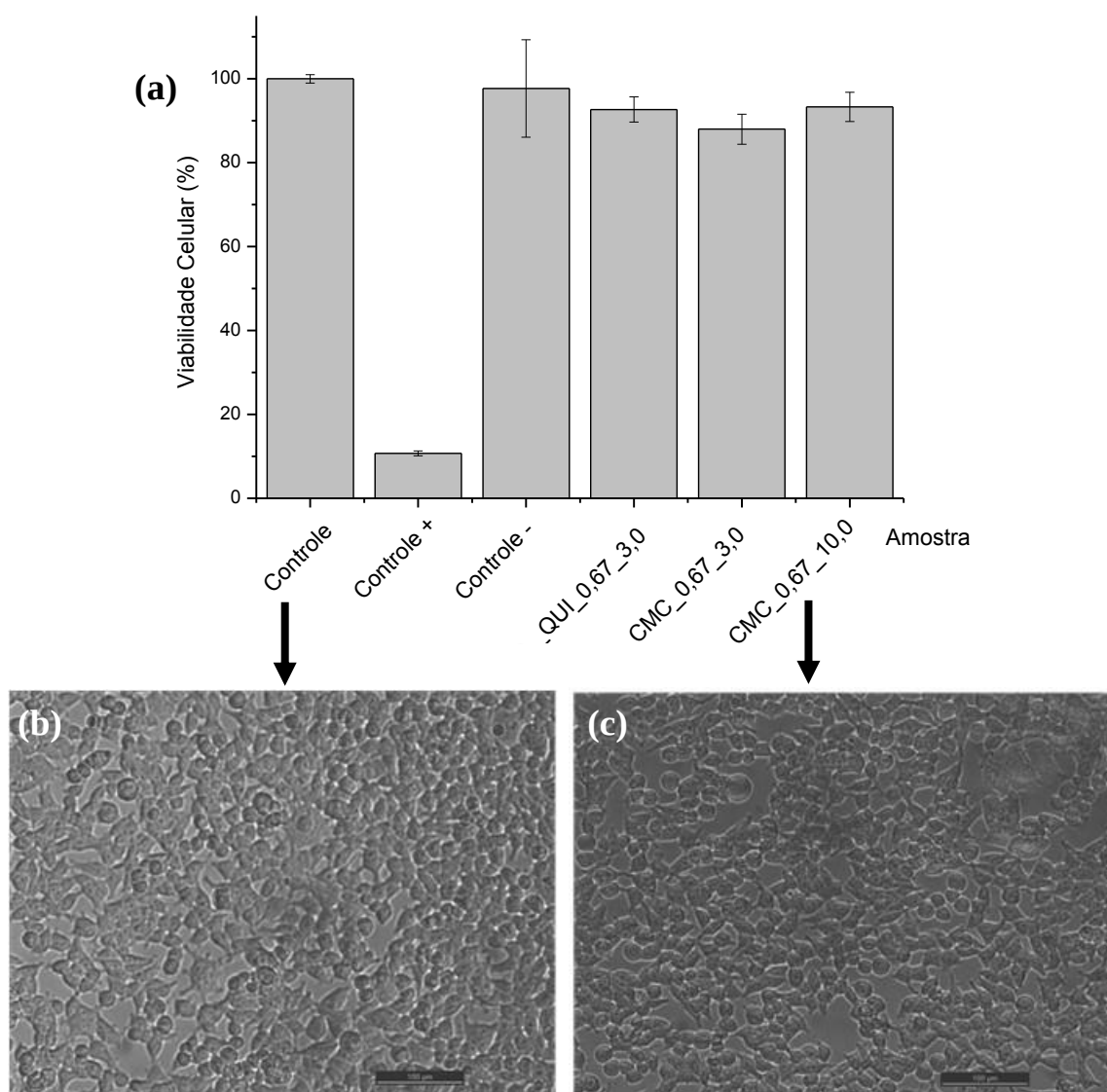


Figura 5.58 - Resposta de viabilidade celular para cultura SAOS utilizando o ensaio de MTT (a). Morfologia das células SAOS na amostra de controle (b) e após 24 horas de incubação em contato com a amostra PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3\text{-CMC}_{0,67_{10,0}}$  (c). Barra de escala = 100  $\mu\text{m}$ , 200X.

Fonte: Elaborado pelo autora desta tese.

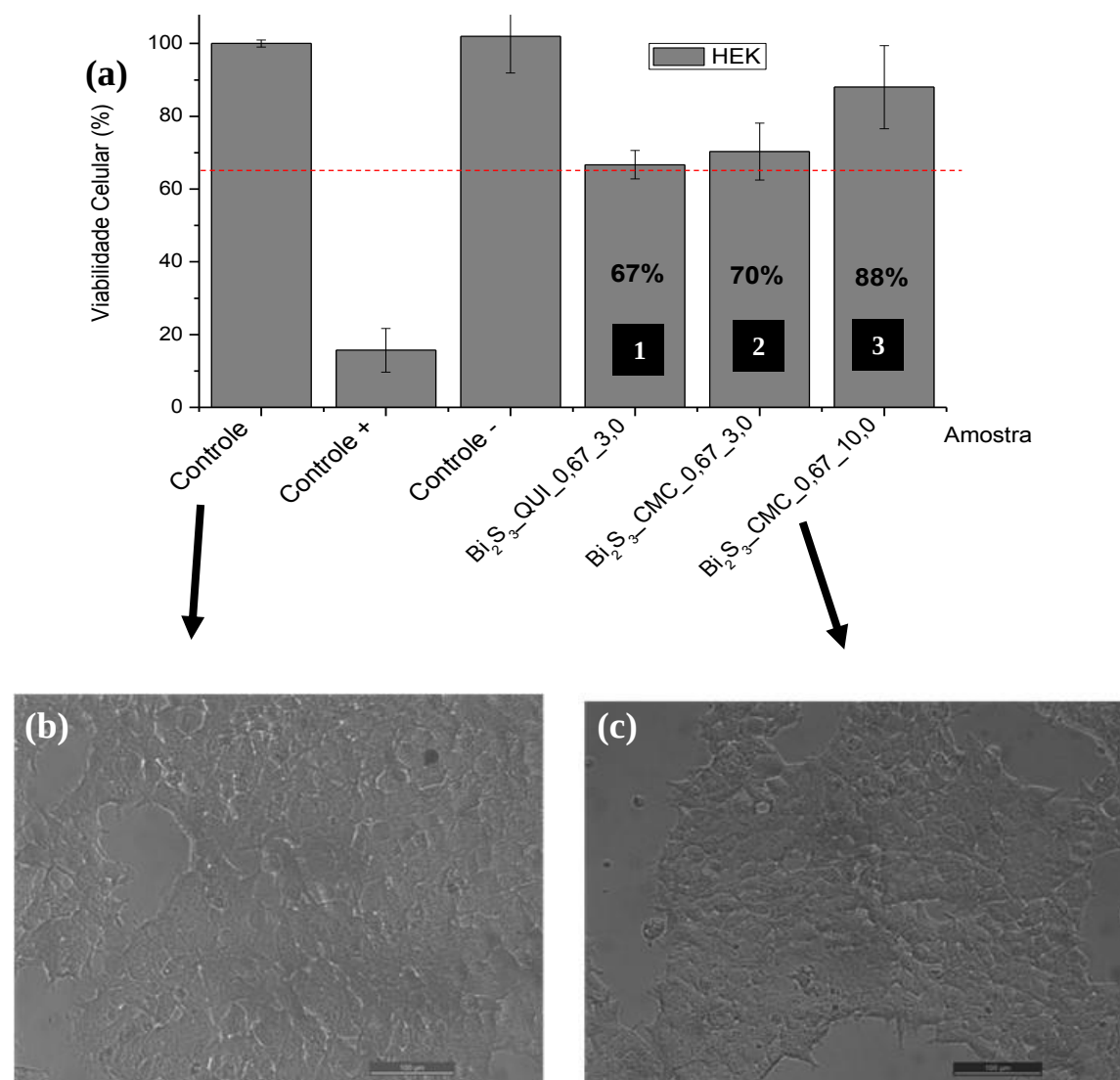


Figura 5.59 - Resposta de viabilidade celular para cultura HEK 293 utilizando o ensaio de MTT (a). Morfologia das células HEK na amostra de controle (b) e após 24 horas de incubação em contato com a amostra PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>-CMC\_0,67\_10,0 (c). Barra de escala = 100  $\mu$ m, 200X.

Fontes: elaborado pelo autor desta tese.

#### 5.5.1.2. Ensaio de toxicidade celular LIVE/DEAD

O ensaio de viabilidade celular *LIVE/DEAD*® foi também usado para validar os resultados de toxicidade do ensaio de viabilidade celular por MTT. A fim de evitar redundância, o teste *LIVE/DEAD*® foi realizado apenas em células SAOS. Essencialmente, ensaio de citotoxicidade *LIVE/DEAD*® proporciona um ensaio de viabilidade celular de fluorescência de duas cores, que é baseado na determinação simultânea de células vivas (coradas a verde) e mortas (marcadas de vermelho). Para tal, são utilizados dois diferentes

marcadores, a calceína AM, que penetra na membrana celular de células vivas, e homodímero de etídio (EthD-1), que só pode passar através das zonas de membrana interrompidas de células mortas.

Assim, pode ser observado, nas imagens apresentadas na Figura 5.60, que as células, em contato com as amostras de PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_QUI\_0,67\_3,0 (b), PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC\_0,67\_10,0 (c) e PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ \_CMC\_0,67\_100 (d), apresentaram padrões semelhantes de fluorescência aos obtidos para o grupo de controle (a), ou seja, um grande número de células com emissão no verde (células viáveis) e pouca ou nenhuma célula com fluorescência no vermelha (células mortas). Portanto, esses resultados do ensaio *LIVE/DEAD*<sup>®</sup> confirmam qualitativamente (FIG. 5.58A) e quantitativamente (FIG. 95B) os resultados obtidos no ensaio de viabilidade celular MTT, sem resposta de toxicidade para a célula da linhagem SAOS. Novamente, de acordo com os resultados obtidos nos ensaios *in vitro*, sugere-se que os PQs  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizados por polissacárideos (quitosana ou CMC) em pH ácido ou alcalino (3,0 ou 10,0, respectivamente) podem oferecer uma plataforma promissora para futuras aplicações biomédicas, tais como nanovetores fluorescentes para diagnóstico e bioimagens. Certamente, são necessários estudos futuros para investigar os aspectos intrigantes que envolvem a toxicidade devido às interações e especificidades dos nanomateriais com células. Os resultados demonstraram conclusivamente que os nano-híbridos, produzidos na presente pesquisa utilizando quitosana e CMC, têm características favoráveis como ausência de citotoxicidade, no entanto as respostas gerais de viabilidade celular foram dependentes da linhagem celular e das características físico-química dos nanoconjugados.

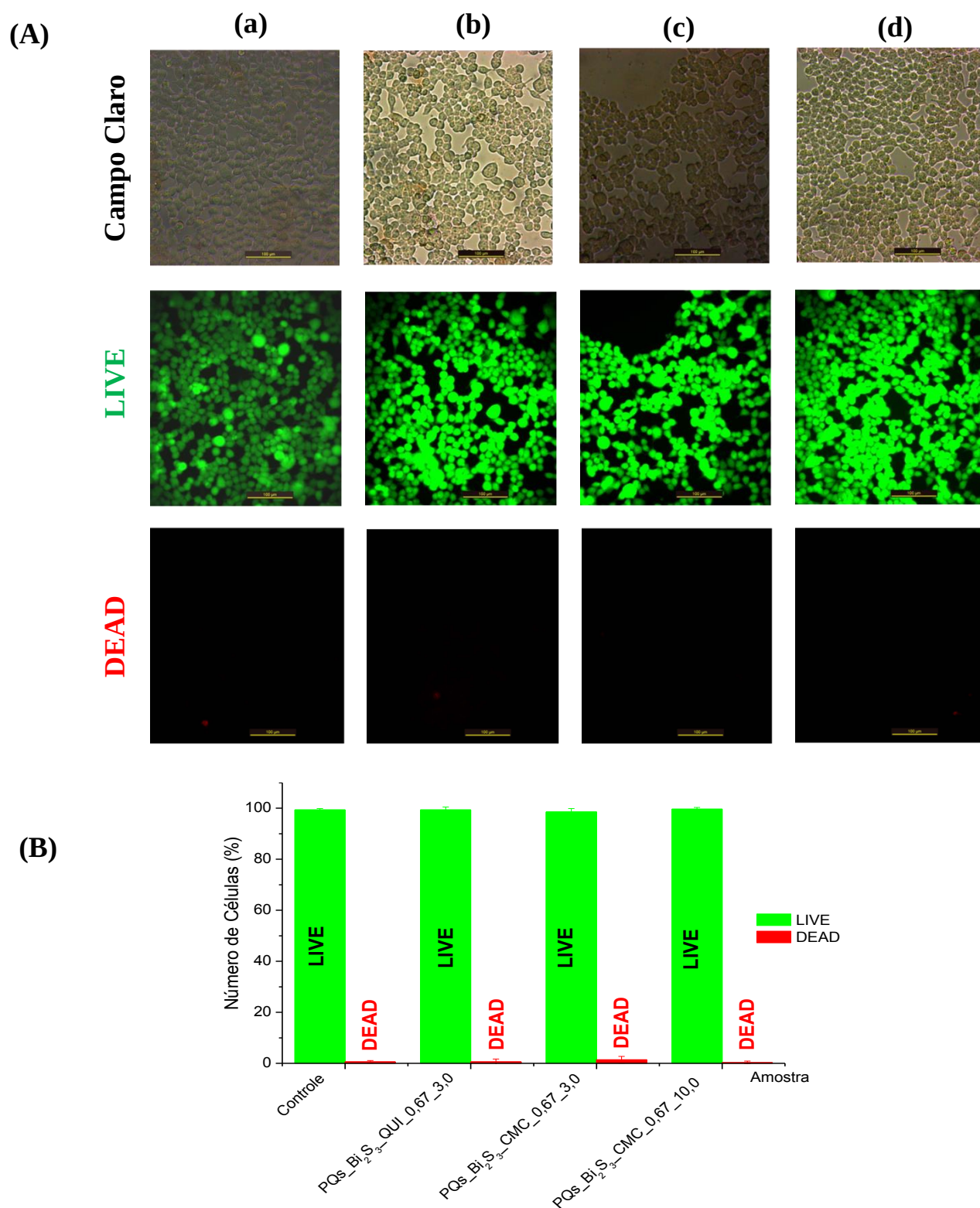


Figura 5.60 (A) Imagens de microscopia de fluorescência utilizando o kit de viabilidade celular LIVE/DEAD®: controle (a), PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_QUI\_0,67\_3,0 (b) PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_CMC\_0,67\_3,0 (c) e PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_CMC\_0,67\_10,0. (B) Resultados quantitativos LIVE/DEAD®.

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

#### 5.5.1.3. *Estudo da internalização dos nanoconjugados de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/quitosana.*

Endocitose é o processo biológico responsável pela internalização das nanopartículas pelas células. Esse processo depende da energia e coordenação funcional dos lipídios e da membrana plasmática. Portanto, os estudos que permitem a visualização de internalização dos nanomateriais são ferramentas importantes para o desenvolvimento e caracterização biológica de nanopartículas (MANSUR, 2010; CHAUDHURI; PARIA, 2012). Assim, no presente estudo, microscopia confocal de fluorescência foi utilizada para determinar a internalização celular dos nanoconjugados Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> em células HEK 293. A Figura 5.61 mostra imagens de fluorescência de internalização de pontos quânticos de Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\_QUI\_0,67\_3,0 em comparação com a amostra de controle (autofluorescência celular), demonstrando as propriedades de biomarcação dos nanoconjugados de PQs Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>/QUI e sua potencial utilização para a vetorização como biomarcador ou para administração de fármacos, uma vez que os nanoconjugados apresentaram translocação eficiente através da membrana do plasma (HEZINGER; TESSMAR; GOPFERICH, 2008).

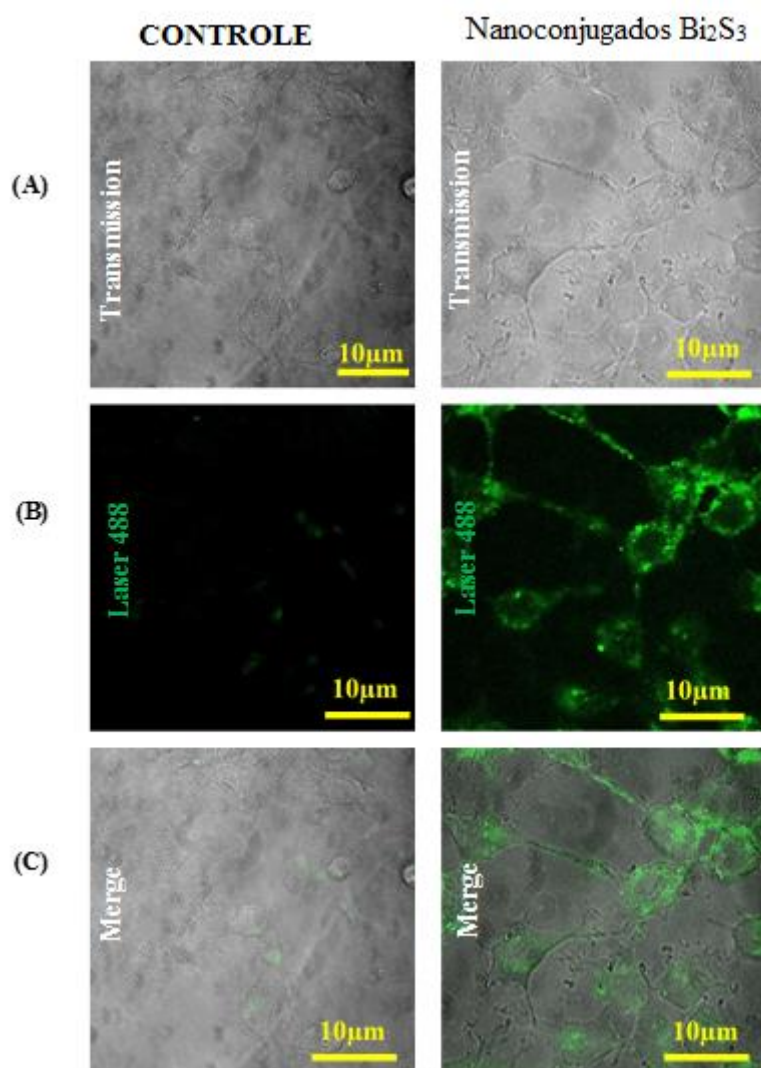


Figura 5.61 - Imagens de microscopia confocal de internalização celular de PQs nanoconjugados  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ /QUI em células HEK 293 em comparação com as condições de controle (autofluorescência). (A) Campo Claro. (B) Imagem de fluorescência. (C) Mapeamento da distribuição da fluorescência no interior das células (630X).

Fonte: Elaborado pelo autor desta tese.

## CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES

No presente trabalho, pontos quânticos de ZnS, diretamente biofuncionalizados por quitosana e carboximetilquitosana, foram sintetizados em única etapa via rota coloidal em meio aquoso à temperatura ambiente. Os resultados demonstraram que a variação do pH entre 4,0 e 6,0 afetou significativamente o tamanho médio dos PQs de ZnS\_QUI produzidos, variando entre 3,8 a 4,7 nm. Os resultados indicaram a estabilização dos conjugados de ZnS pela interação dos grupos funcionais da quitosana, aminas, acetamidas e hidroxilas, com íons de  $\text{Zn}^{2+}$  na superfície dos PQs. Além disso, o pH da solução induziu efeitos importantes sobre o comportamento de fluorescência óptica dos bioconjugados ZnS-quitosana, que foi atribuído às emissões dos estados *trap* envolvendo os estados de defeito de PQs. Assim, novos coloides biocompatíveis sem cádmio com base em PQs ZnS estabilizados por quitosana foram desenvolvidos com sucesso, apresentando atividade luminescente que pode ser sintetizada através do ajuste do pH com grande potencial para o uso em aplicações biomédicas e ecologicamente corretas.

Na etapa de síntese dos PQs de ZnS CMC, os resultados também indicaram que variar o pH dentro de uma vasta gama, a partir do ácido (pH 4,0) para alcalina (pH 10,0) em soluções de CMC, afeta, de forma significativa, o tamanho médio e o potencial Zeta de nanocristais ZnS produzidos. Ao aumentar-se o pH 4,0-10,0, o diâmetro diminuiu de 4,2 a 3,2 nm e o Potencial Zeta alterou de +33 para -33 mV, levando a mudanças nas propriedades luminescentes dos nano-híbridos ZnS\_CMC. Além disso, os resultados indicaram que o mecanismo de estabilização dos nanoconjugados ZnS pode ser através de interações dos grupos funcionais carboxilato de CMC com  $\text{Zn}^{2+}$  na superfície dos PQs. Novas estruturas núcleo/casca (NC), do termo em inglês, *core-shell* (CS), fluorescentes nano-híbridos foram concebidos e produzidos com base em carboximetilquitosana (CMC), como a casca orgânica e  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , pontos quânticos semicondutores, como o núcleo inorgânico. Além disso, esses nano-híbridos foram sintetizados em rota aquosa coloidal em processo com uma única etapa à temperatura ambiente. Os resultados claramente demonstraram que o pH da solução, a partir de ácido a condições alcalinas, e a proporção relativa dos precursores utilizados durante a síntese de CMC foram de importância fundamental em alterar a cinética de nucleação e o crescimento de nanopartículas coloidais de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ . Portanto, o tamanho médio das nanopartículas  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foi drasticamente afetado por esses parâmetros, conduzindo à formação de nanocristais

menores sob condições ácidas e em menor proporção de  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$  (ou seja,  $2R = 2,8\text{nm}$ , a  $\text{pH}=3,0$ ,  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]=0,33$ ). Analogamente, as maiores nanopartículas de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  foram produzidas sob condições alcalinas e em maior proporção de  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]$  (ou seja,  $2R = 12,8\text{nm}$ , a  $\text{pH}=10,0$ ,  $[\text{Bi}^{3+}]/[\text{S}^{2-}]=1,33$ ). Assim, no presente estudo, é sugerido que as funcionalidades químicas dependentes do pH na cadeia de polímero de CMC, isto é, grupos amino e carboxílicos, desempenham um papel importante no mecanismo de nucleação e de estabilização das nanopartículas  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , controlando as dimensões das nanoestruturas de núcleo-revestimento, formadas em dispersões coloidais. Além disso, esses nano-híbridos foram fotoluminescentes, solúveis em água e "*heavy metal-free*", o que pode oferecer uma ampla gama de possibilidades a serem exploradas, como nanossondas de *gap estreito* fluorescentes para biomedicina e nanoplataformas para aplicações solares ecologicamente corretas (*eco-friendly*).

Em resumo, nano-híbridos foram desenhados e sintetizados com quitosana, como em estrutura núcleo/casca de núcleo inorgânico de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  casca de biopolímetro quitosana. Os nano-híbridos foram sintetizados através de via rota aquosa coloidal, de forma ecologicamente correta, "*eco-friendly*", em única etapa de processamento à temperatura ambiente. Os resultados demonstraram que a quitosana se comportou como um polímero eficaz para a estabilização na fase de nucleação em partículas ultrapequenas de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ , levando à formação de nanoestruturas de núcleo/casca coloidais em dispersões aquosas. Além disso, esses nano-híbridos apresentaram boa propriedade de fotoluminescência, propriedades que podem oferecer possibilidades inovadoras para serem exploradas como *narrow-bandgap*, nanossondas fluorescentes para biomedicina e *nanoplatfoms* para aplicações solares baseadas em favor do meio ambiente.

## CAPÍTULO 7 - CONTRIBUIÇÕES PARA A LITERATURA

### 7.1. Artigos Publicação em Periódicos

RAMANERY, F. P.; MANSUR, H. S.; MANSUR, A. A. P. One-step colloidal synthesis of biocompatible water-soluble ZnS quantum dot/chitosan water-soluble ZnS quantum dot/chitosan. **Nanoscale Research Letters**, v. 8, p. 512, 2013.

MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S.; RAMANERY, P. R.; OLIVEIRA, L. C.; SOUZA, P. P. “Green” colloidal ZnS quantum dots/chitosan nano-photocatalysts for advanced oxidation processes: Study of the photodegradation of organic dye pollutants. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 158–159, 269–279, 2014

RAMANERY, F. P.; MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S.; Green and facile synthesis of water-soluble ZnS quantum dots nanohybrids using chitosan derivative ligands. **J. Nanopart, Res.** V. 16, 2504, 2014.

RAMANERY, P. R.; MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S. Biocompatible Fluorescent Core-shell Nanoconjugates based on Chitosan/Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Quantum Dots. **Nanoscale Research Letters**. 2016.

MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S.; RAMANERY, P. R.; OLIVEIRA, L. C. Carboxymethyl chitosan functionalization of Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> quantum dots: Towards eco-friendly fluorescent core-shell nanoprobe. **Carbohydrate Polymers**. 2016.

MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S.; RAMANERY, P. R.; SANDHRA, C.; ZELIA, L.; LEITE, M. Cytotoxicity Investigation of Luminescent Nanohybrids Based on Chitosan and Carboxymethyl Chitosan Conjugated with Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Quantum Dots for Biomedical Applications. **Toxicology Research**. 2016.

## 7.2. Trabalhos Completos publicados em Anais de Congressos nacionais

MANSUR, A. A. P.; BORSAGLI, F. G. L. M.; RANAMERY, F. P.; MANSUR, H. S.; Bio-functionalized Water-Soluble ZnS Quantum Dots using Carboxymethylchitosan. In: ICSF17 (International Conference on Solid Films and Surfaces), Rio de Janeiro – RJ. De 08 a 11 de setembro de 2014.

## 7.3. Apresentações de Trabalhos em congressos Internacionais e Nacionais

RAMANERY, F. P.; MANSUR, A. P.; HMANSUR, H. S. Synthesis and Characterization of Colloidal ZnS Quantum dots using Chitosan and Derivatives as Capping Ligands . 4th International Colloids Conference, Surface, Design Engineering, Materials-1. **Madrid, Spain**, 2014.

RAMANERY, F. P.; MANSUR, A. A. P.; Mansur, H. S. Estudo da influência da variação do pH na Síntese de pontos quânticos de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  - quitosana via rota coloidal aquosa. 13º Congresso Brasileiro de Polímeros, CBPOL, 2015, **Natal, Rio Grande do Norte** – Brasil de 18 a 22 de outubro de 2015.

MANSUR, R. L. MANSUR, A. A. P.; Mansur, H. S.; RAMANERY, F. P. Nanoconjugados de pontos quânticos semicondutores/biopolímero para aplicações como potenciais biomarcadores fluorescentes. Poster). 13º Congresso Brasileiro de Polímeros, CBPOL, 2015, **Natal, Rio Grande do Norte** – Brasil de 18 a 22 de outubro de 2015.

RAMANERY, F. P.; MANSUR, A. A. P.; Mansur, H. S. One-step colloidal synthesis of  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  quantum dots using chitosan biopolymer as capping ligand. XIV Brazilian MRS Meeting, **Rio de Janeiro-RJ**, september 27th to October 1st 2015.

RAMANERY, F. P.; Mansur, A. A. P.; Mansur, H. S. Estudo da Influência da variação do pH na Síntese de pontos quânticos de ZnS-Quitosana via rota coloidal aquosa. In: 12º Congresso Brasileiro de Polímeros. 12º CBPol, 2013, **Florianópolis-SC**. Programa do 12º Congresso Brasileiro de Polímeros. 12º CBPol, 2013. v. 1. p. 1-4.

RAMANERY, F. P.; Mansur, A. A. P.; Mansur, H. S. Biocompatible Chitosan/ZnS-Quantum dot Conjugates for Potential Biomedical Applications. XII SBPMat, **Campos do Jordão**, SP. 2013.

RAMANERY, F. P.; MANSUR, A. A. P.; Mansur, H. S. Síntese e caracterização de Pontos Quânticos de semicondutores com estrutura do tipo núcleo/casca de CdSe/CdS-PVA-COOH via rota coloidal aquosa para aplicações em biomateriais. In: 20º CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2012, **Joinville - SC**. Anais do 20º CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2012. v. 1. p. 11016-11023.

RAMANERY, F. P.; MANSUR, A. P.; González, J.; Mansur, H. S. Síntese e Caracterização de Pontos Quânticos de CdS Estabilizados com Poli (Álcool Vinílico): Efeito da Fração Molar dos Precursores. In: 11 CBPOL, 2011, **Campos do Jordao-SP**. 11º Congresso brasileiro de polímeros, 2011. v. 1. p. 127-132.

## CAPÍTULO 8 - SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Síntetizar ligas de PQs de  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  com %x (molar) de dopagens de  $\text{Zn}^{+2}$  estabilizados com quitosana e carboximetilquitosana, PQs  $\text{Bi}_{(2-x)}\text{Zn}_x\text{S}_3$ \_QUI e PQs  $\text{Bi}_{(2-x)}\text{Zn}_x\text{S}_3$ \_CMC.

Síntetizar ligas de PQs de  $\text{ZnS}$  com %y (molar) de dopagens de  $\text{Bi}^{+3}$  estabilizados com quitosana e carboximetilquitosana, PQs  $\text{Zn}_{(2-y)}\text{Zn}_y\text{S}_3$ \_QUI e PQs  $\text{Zn}_{(2-y)}\text{Zn}_y\text{S}_3$ \_CMC.

Estudar a influência da variação do dopante, polímero quitosana e carboximetilquitosana e pH nas propriedades ópticas, estabilidade e morfologia dos PQs dopados.

Verificar as possíveis aplicações físico-químicas das ligas sintetizadas como aplicações de fotodegradação de poluentes ambientais.

Promover ensaios de citotoxicidade dos nanohíbridos dopados estabilizados com QUI e CMC para possíveis aplicações como biomateriais.

Síntese de estruturas núcleo/casca (*Core/shell*) de semicondutores de  $\text{ZnS}$  e  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  estabilizadas por quitosana e carboximetilquitosana para possíveis aplicações biológicas e físico-químicas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, F. O. M. S. *et al.* Propriedades e Características da Quitosana Obtida a Partir do Exoesqueleto de Caranguejo-Uçá Utilizando. **Polímeros**, v. 23, n. 5, p. 630-635, 2013. ISSN 5.
- ABREU, F. R. **Estudos de obtenção e caracterização de esferas entrecruzadas de carboximetil quitosana**. 158f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, USP. São Carlos, São Carlos, 2006.
- ABREU, F. R.; CAMPANA-FILHO, S. P. Preparation and characterization of carboxymethylchitosan. **Polímeros: Ciencia e Tecnologia**, v. 15, n. 2, p. 79-83, 2005.
- ABREU, F. R.; CAMPANA-FILHO, S. P. Characteristics and properties of carboxymethylchitosan. **Carbohydr Polym**, v. 75, n. 2, p. 214-221, 2009.
- AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL (ABDI). **Cartilha sobre nanotecnologia**. Disponível em: [http://www.mdic.gov.br/arquivos/dwnl\\_1296148052.pdf](http://www.mdic.gov.br/arquivos/dwnl_1296148052.pdf). Acesso em 10 jan. 2016.
- ALIVISATOS, A. P. Nanocrystals: building blocks for modern materials design. ALIVISATOS, A., P. Nanocrystals: building blocks for modern materials design. **Endeavour**, v. 21, p. 56-60, 1997.
- ALIVISATOS, A. P. Perspectives on the physical chemistry of semiconductor nanocrystals. **J Phys Chem.**, v. 100, p. 132.261-132390, 1996.
- ALLEN, M. W. Measurement of Fluorescence Quantum Yields. Thermo Fisher Scientific. **Technical Note No. 52019**, Madison, WI, USA, 2010.
- ARAKI, K. Estratégias supramolecular para a naotecnologia. **Química Nova**, v. 30, n.6, p. 1484-1490, 2007.
- ARESTI, M. *et al.* Colloidal Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Nanocrystals: Quantum Size Effects and Midgap States. **Adv. Funct. Mater.**, v. 24, p. 3341-3350, 2014.
- ATKINS, P. **Princípios de Química**. Porto Alegre: Bookman, 2001.
- AVIV, H. *et al.* Synthesis and charactization of Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/HSA core-shell nanoparticles for X-ray imaging applications. **Society For Biomaterials**, v. 3, p. 1-8, 2012.
- BABA, K.; NISHIDA, K. Single-Molecule Tracking in Living Cells Using Single Quantum Dot Appli-cations. **Theranostics**, v. 2, n. 7, p. 655-667, 2012.
- BAKER, D. R.; KAMAT, P. V. Tuning the emission of CdSe quantum dots by controlled trap enhancement. **Langmuir**, v. 26, p. 11.272-11.276, 2010.
- BECKER, W. G.; BARD, A. J. Photoluminescence and photoinduced oxygen adsorption of colloidal zinc sulfide dispersions. **J Phys Chem**, v. 87, p. 4.888-4.893, 1983.

BRUCHEZ, M. J. *et al.* Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. **Science**, v. 281, p. 2013-2016, 1998.

BRUS, L. E. Electron–electron and electronhole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. **J Chem Phys**, v. 80, p. 4.403-4.409, 1984.

CANTARERO, A. *et al.* Refractive index of bismuth sulfide in the infrared region. **Phys Rev B**, v. 35, p. 9.586, 1987.

CASTRO, C. S. *et al.* Iron oxide dispersed over activated carbon: Support influence on the oxidation of the model molecule methylene blue. **Appl Catal A: Gen.**, v. 367, p. 53-58, 2009.

CHANG, S.-Q. *et al.* One-step fabrication of biocompatible chitosan coated ZnS and ZnS:Mn<sup>2+</sup> quantum dots via gamma-radiation route. **Nanoscale Res Lett**, v. 6, p. 591, 2011.

CHAUDHURI, R. G.; PARIA, S. Core/Shell Nanoparticles: Classes, Properties, Synthesis Mechanisms, Characterization, and Applications. **Chem Rev**, v. 112, p. 2.373-2.433, 2012.

CHAVES, C. R. **Síntese e caracterização de nanopartículas de sulfeto de cádmio: aplicações biomédicas**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

CHEN, R. *et al.* Controlled synthesis of high crystalline bismuth sulfide nanorods; using bismuth citrate as a precursor. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, p. 4.540-4.545, 2005.

CHEN, R.; LI, D.; LIU, B.; PENG, Z.; GURZADYAN, G. G.; XIONG, O.; SUN, H. Optical and excitonic properties of crystalline ZnS nanowires: toward efficient ultraviolet emission at room temperature. **Nano Lett**, v. 10, p. 4.956-4.961, 2010.

CHEN, X. G. *et al.* The effect of carboxymethylchitosan on proliferation and collagen secretion of normal and keloid skin fibroblasts. **Biomaterials**, v. 23, p. 4.609-4.614, 2002.

CHEN, X. G.; PARK, H. J. Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, p. 355-359, 2003.

CHEN, Z. H. *et al.* Exciton Polariton Contribution to the Stokes Shift in Colloidal Quantum Dots. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, p. 5.286–5.293, 2011.

CHENG, H. *et al.* A controlled anion exchange strategy to synthesize Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanocrystals/BiOCl hybrid architectures with efficient visible light photoactivity. **Chem Comm**, v. 48, p. 97-99, 2012.

CHENITE, A. *et al.* Rheological characterization of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, n. 1, p. 39-47, 2001.

COOPER, J. K. *et al.* Characterization of primary amine capped CdSe, ZnSe, and ZnS quantum dots by FT-IR: determination of surface bonding interaction and identification of selective desorption. **Langmuir**, v. 27, p. 8.486-8.493, 2011.

COSTA-JÚNIOR, E. S. *et al.* Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) chemically crosslinked blends for biomedical applications. **Carbohydr Polym**, v. 76, n. 3, p. 472-481, 2009.

DEACON, G. B.; PHILLIPS, R. J. Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination. **Coord Chem Rev**, v. 33, n. 3, p. 227-250, 1980.

DELGADO, A. V. *et al.* Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. **Pure Appl Chem**, v. 77, p. 1.753-1.805, 2005.

DENZLER, D.; OLSCHIEWSKI, M.; SATTLER, K. Luminescence studies of localized gap states in colloidal ZnS nanocrystals. **J Appl Phys**, v. 84, p. 2.841–2.845, 1998.

EATON, D. F. Reference Materials for Fluorescence. **Pure & Appl Chem**, v. 60, p. 1.107-1.114, 1988. ISSN 7.

EFROS, AI. L.; EFROS, A. L. The interband absorption of light in a sphere of semiconductor. **Sov. Phys. Semicond.**, v. 16, n. 7, p. 772-775, 1982.

EL-SHERBINY, I. M.; EL-BAZ, N. M. A Review on Bionanocomposites Based on Chitosan and Its Derivatives for Biomedical Applications, eco-friendly Polymer Nanocomposites. **Advanced Structured Materials.**, v. 74, p. 173-208, 2015.

ETHERIDGE, M. L. *et al.* The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. **Nanomedicine**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2013.

FANG, J. H. *et al.* MOCVD growth of non-epitaxial and epitaxial ZnS thin films. **Appl Surf Sci**, v. 70-71, p. 701-706, 1993.

FANG, M. *et al.* Quantum Dots for Cancer Research: Current Status, Remaining Issues, and Future Perspectives. **Cancer Biol Med**, v. 9, p. 151-163, 2012.

FARAG, R. K.; MOHAMED, R. R. Synthesis and Characterization of Carboxymethyl Chitosan Nanogels for Swelling Studies and Antimicrobial Activity. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 190-203, 2013.

FEYNMAN, R. P. There's plenty of room at the bottom. **Eng Sci**, v. 23, n.5, p. 22-36, 1960.

FREESTONE *et al.* The lycurgus cup - a roman nanotechnology. **Gold Bulletin**, v. 40, n. 4, p. 270-277, 2007.

FRÖHLICH, E. The role of surface charge in cellular uptake and cytotoxicity of medical nanoparticles. **Int J Nanomedicine**, v. 2012, n. 7, p. 5577-5591, 2012.

- FU, D. *et al.* Effects of carboxymethyl chitosan on the blood system of rats.. **Biochemical and Biophysical Research Communications.**, v. 408, n. 1, p. 110-114, 2011.
- FURDA, I. Aminopolysaccharides - Their potencial as Dietary Fiber. **Symposium Series**, v. 214, p. 105-122, 2009.
- GAO, G.; PENG, M.; WONDRAKZEK, L. Spectral shifting and NIR down-conversion in Bi<sup>3+</sup>/Yb<sup>3+</sup> codoped ZnGeO<sub>4</sub>. **J Mater Chem**, v. 2, p. 8083-8088, 2014.
- GAO, H. *et al.* Amino poly(glycerol methacrylate)s for oligonucleic acid delivery with enhanced transfection efficiency and low cytotoxicity. **Soft Matter.**, v. 7, p. 9239-9247, 2011.
- GERRA, W.; ALVES, F. E.; SILVA, K. C. C. Bismuto. **Química Nova na Escola**, v. 33, p. 192-193, 2011. ISSN 3.
- GREEN, M. The nature of quantum dot capping ligands. **J Mater Chem**, v. 20, p. 5.797-5.809, 2010.
- HASAN, S. *et al.* Dispersion of chitosan on perlite for enhancement of copper (II) adsorption capacity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, n.2, p. 826–837, 2008.
- HAUCK, T. S. *et al.* In vivo quantum-dot toxicity assessment. **Small**, v. 6, n. 1, p. 138-144, 2010.
- HEZINGER, A. F.; TESSMAR, J.; GOPFERICH, A. Polymer coating of quantum dots-a powerful tool toward diagnostics and sensorics.. **Eur J Pharm Biopharm** **68:138-152.**, v. 68, p. 138-152, 2008.
- HORVÁTH, E. *et al.* Magrez Dye metachromasy on titanate nanowires: Sensing humidity with reversible molecular dimerization. **J Mater Chem**, v. 22, p. 8778-8784, 2012.
- IL'INA, A. V.; VARLAMOV, V. P. Chitosan-based polyelectrolyte complexes: a review.. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 5-11., 2005.
- JAFFER, F. A. *et al.* In Vivo Imaging of Thrombin Activity in Experimental Thrombi With Thrombin-Sensitive Near-Infrared Molecular Probe. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 22, p. 1929-1935, 2002.
- JAISWAL, A.; SANPUI, P.; CHATTOPADHYAY, A.; GHOSH, S. S. Investigating fluorescence quenching of ZnS quantum dots by silver nanoparticles. **Plasmonics**, v. 6, p. 125-132, 2011.
- JAYAKUMAR, R. *et al.* Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials-A short review.. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 227-232., 2010.
- Jl, X. *et al.* Solution Chemical Synthesis of nanostructured Thermoelectric materials. **Journal of the South Carolina Academy of Science**, v. 6, n. 2, p. 1-9, 2008.

JIANG, J.; OBERDORSTER, G.; BISWAS, P. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. **J Nanopart Res**, v. 11, n. 1, p. 77-89, 2009.

JUZENAS, P.; CHEN, W.; SUN, Y. E. A. Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 15, p. 1600-1614, 2008.

KARAKOTI, A. S. *et al.* Surface functionalization of quantum dots for biological applications. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 215, p. 28-45, 2015.

KITTEL, C. **Introdução à Física do Estado Sólido**. Rio de Janeiro: LTC editora, 2006.

KUBOTA, N. *et al.* A simple preparation of half Nacetylated acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents. **Carbohydrate Research**, v. 324, n. 4, p. 268-274. , 2000.

LANDES, C. F.; BRAUN, M.; EL-SAYED, M. A. On the nanoparticle to molecular size transition: fluorescence quenching studies. **J Phys Chem B** , v. 105, n. 43, p. 10554-10558, 2011.

LAURETO, E. *et al.* The photoluminescence technique applied to the investigation of structural imperfections in quantum wells of semiconducting materials. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica.**, Londrina, v. 26, p. 23-38, 2005. ISSN 1.

LAWRIE, G. *et al.* Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 2533-2541, 2007.

LESNYAK, V.; GAPONIK, N.; EYCHMÜLLER, A. Colloidal semiconductor nanocrystals: the aqueous approach. **Chemical Society Reviews**, v. 42, p. 2905-2929, 2013.

LEWINSKI, N.; COLVIN, V.; DREZEK, R. Cytotoxicity of Nanoparticles. **Small**, v. 4, p. 26-49, 2008.

LI, C.; WANG, F.; YU, J. C. Semiconductor/biomolecular composites for solar energy applications. **Energy Environ. Sci.**, v. 4, p. 100-113, 2011.

LI, Z. *et al.* Preparation and characterization of CdS quantum dots chitosan biocomposite. **React Funct Polym**, v. 55, p. 35-43, 2003.

LING, Z. S.; WAGEH, S.; XU-RONG, X. S. Growth and optical properties of colloidal ZnS nanoparticles. **J Cryst Growth**, v. 255, p. 332-337, 2003.

LIU, X. F.; GUAN, Y. L.; YANG, D. Z.; YAO, K. D. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. **Journal Applied Polymer Science**, v. 79, p. 1324-1335, 2001.

LU, M. *et al.* Synthesis of BiPO<sub>4</sub>/BiS<sub>3</sub> heterojunction with enhanced photocatalytic activity under visible-light irradiation. **Nanoscale Research letters**, v. 10, n. 385, 2015.

- MALL, M.; KUMAR, L. Optical studies of Cd<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> Co-doped ZnS nanocrystals. **J. Lumin**, v. 130, p. 660-665, 2010.
- MANSUR, A. A. P. *et al.* "Green" colloidal ZnS quantum dots/chitosan nano-photocatalysts for advanced oxidation processes: Study of the photodegradation of organic dye pollutants. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 158-159, p. 269-279, 2014.
- MANSUR, H. S. Quantum dots and nanocomposites.. **Wiley Interdiscip Rev Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 2, p. 113-129, 2010.
- MANSUR, H. S. *et al.* Cytocompatibility evaluation in cell-culture systems of chemically crosslinked chitosan/PVA hydrogels. **Mater Sci Eng C**, v. 29, p. 1574-1583, 2009.
- MANSUR, H. S. *et al.* Bioconjugation of quantum-dots with chitosan and N, N, N-trimethyl chitosan. **Carbohydr Polym**, v. 90, p. 189-196, 2012.
- MANSUR, H. S. *et al.* Functionalized-chitosan/quantum dots nano-hybrids for nanomedicine applications: towards biolabeling and biosorbing phosphate metabolites. **J Mater Chem B**, v. 1, p. 1696-1711, 2013.
- MANSUR, H. S. *et al.* Beyond biocompatibility: an approach for the synthesis of ZnS quantum dot-chitosan nano-immunoconjugates for cancer diagnosis. **Green Chem**, v. 17, p. 1820-1830, 2015. Verificar
- MANSUR, H. S.; MANSUR, A. A. P. CdSe quantum dots stabilized by carboxylic-functionalized PVA: synthesis and UV-vis spectroscopy characterization. **Mater Chem Phys**, v. 125, p. 709-717, 2011.
- MANSUR, H. S.; MANSUR, A. A. P. Fluorescent nanohybrids: quantum-dots coupled to polymer-recombinant protein conjugates for the recognition of biological hazards. **J Mater Chem**, v. 22, p. 9006-9018, 2012.
- MANZOOR, K. *et al.* Bio-conjugated luminescent quantum dots of doped ZnS: a cyto-friendly system for targeted. **Nanotechnology**, v. 20, 2009.
- MINERVA. Chemistry of Energy Storage. Disponível em: [Http://minerva.mlib.cnr.it/mod/book/view.php?id=269&chapterid=105](http://minerva.mlib.cnr.it/mod/book/view.php?id=269&chapterid=105), (n.d.). Acesso em: 25 jan. 2016.
- MOHAN, R. Green bismuth. **Nature Chem.**, v. 2, p. 336, 2010.
- MURPHY, C. J.; COFFER, J. L. Quantum Dots: A Primer, Focal Point., v. 56, p. 16-27, 2002. ISSN 1. Nome da revista?
- NATH, S. S. *et al.* Green luminescence of ZnS and ZnS:Cu quantum dots embedded in zeolite matrix. **JOURNAL OF APPLIED PHYSICS**, v. 105, p. 094305, 2009.
- NOMANBHAY, S. M.; PALANISAMY, K. Removal of heavy metal from industrial wastewater using chitosan coated oil palm shell charcoal. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 43-53, 2005.

- OLIVEIRA, L. C. A. *et al.* One-pot Synthesis of CdS@Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> core-shell nanostructures with enhanced photocatalytic activity. **Appl. Catal. B: Environ.**, v. 152–153, p. 403–412, 2014.
- PAN, D. B. *et al.* Synthesis of extremely small CdSe and highly Luminescent CdSe-CdS CS nanocrystals via a novel two-phase thermal approach. **Advanced Materials**, v. 17, p. 176–178, 2005. ISSN 2.
- PEJOVA, B.; GROZDANOV, I. Structural and properties of chemically deposited thin films of quantum-sized bismuth(III) sulfide. **Materials Chemistry and Physics**, v. 99, p. 39–49, 2006.
- PETER, L. M. *et al.* Band-Edge Tuning in Self-Assembled Layers of Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Nanoparticles Used To Photosensitize Nanocrystalline TiO<sub>2</sub>. **J. Phys. Chem B**, v. 107, p. 8378–8381, 2003.
- PINTO, I. S. X. *et al.* Nanostructured (-FeOOH: An efficient Fenton-like catalyst for the oxidation of organics in water. **Appl Catal B: Environ**, v. 119/120, p. 175–182, 2012.
- RABIN, O. *et al.* An X-ray computed tomography imaging agent based on long-circulating bismuth sulphide nanoparticles. **Nat Mater**, v. 52, p. 118–122, 2006.
- RAMANERY, F. P. *et al.* Green and facile synthesis of water-soluble ZnS quantum dots nanohybrids using chitosan derivative ligands. **J Nanopart Res**, p. 2504–2518, 2014.
- RAMANERY, F. P.; MANSUR, H. S.; MANSUR, A. P. One-step colloidal synthesis of biocompatible water-soluble ZnS quantum dot/chitosan water-soluble ZnS quantum dot/chitosan. **Nanoscale Research Letters**, v. 8, p. 512, 2013.
- RHAZI, M. *et al.* Influence of the nature of the metal ions on the complexation with chitosan: Application to the treatment of liquid waste. **European Polymer Journal**, v. 38, p. 1523–1530, 2002.
- RILEY, D. J.; WAGGETT, J. P.; WIJAYANTHA, K. G. U. Colloidal bismuth sulfide nanoparticles: a photoelectrochemical study of the relationship between bandgap and particle size. **Journal of Materials Chemistry**, v. 14, p. 704–708, 2004.
- RINAUDO, M. *et al.* Substituent distribution on O, N-carboxymethylchitosans by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C RMN. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 14, p. 122–128, 1992.
- RIVA, R. *et al.* Chitosan and chitosan derivatives in drug delivery and tissue engineering. **Advances in Polymer Science**, v. 244, p. 19–44, 2011.
- RIVAS, J. C. M.; SALVAGNI, E.; PARSONS, S. Investigating the effect of hydrogen bonding environments in amide cleavage reactions at zinc(II) complexes with intramolecular amide oxygen co-ordination. **Dalton Trans**, v. 21, p. 4185–4192, 2004.
- ROSSETTI, R. *et al.* Size effects in the excited electronic states of small colloidal crystallites., v. 80, p. 4464–4469, 1984. ISSN 9.

ROSSETTI, R. *et al.* Excited electronic states and optical spectra of ZnS and CdS crystallites in the almost-equal to 15 to 50. A size range-evolution from molecular to bulk semiconducting properties. **J. Chem. Phys.**, v. 82, n. 1, p. 552-559, 1985.

SAHOO, N. G. *et al.* Nanocomposites for bone tissue regeneration. **Nanomedicine (Lond)**, v. 8, 639-653, 2013.

SAMAL, S. K. *et al.* Cationic polymers and their therapeutic potential. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, p. 7147-7194, 2012.

SANTOS, J. C. C. *et al.* Functionalized chitosan derivatives as nonviral vectors: physicochemical properties of acylated N,N,N-trimethyl chitosan/oligonucleotide nanopolyplexes. **Soft Matter**, v. 11, p. 8113-8125, 2015.

SANTOS, J. C. C.; MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S. One-step biofunctionalization of quantum dots with chitosan and n-palmitoyl chitosan for potential biomedical applications. **Molecules**, v. 18, p. 6550-6572, 2013.

SASHIWA, H.; SHIGEMASA, Y. Chemical modification of chitin and chitosan 2: Preparation and water soluble property of N-acylated partially deacetylated chitins. **Carbohydrate polymers**, v. 39, n. 2, p. 127-138, 1999

SILVA, A. C. *et al.* Nb-containing hematites  $\text{Fe}_{2-x}\text{Nb}_x\text{O}_3$ : The role of  $\text{Nb}^{5+}$  on the reactivity in presence of the  $\text{H}_2\text{O}_2$  or ultraviolet light. **Appl. Catal. A: Gen.**, v. 357, p. 79-84, 2009.

SOHAEBUDDIN, S. K. *et al.* Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. **Particle and Fibre Toxicology** 20107:22, v. 7, n. 22, p. 1-17, 2010.

SOLTANI, N. *et al.* Visible light-induced degradation of methylene blue in the presence of photocatalytic ZnS and CdS nanoparticles. **I**, v. 13, p. 12.242-12.258, 2012.

SONIA, T. A.; SHARMA, C. P. Chitosan and its derivatives for drug delivery perspective. **Adv Polym Sci**, v. 243, p. 23-54, 2011.

TAN, W. B.; HUANG, N.; ZHANG, Y. Ultrafine biocompatible chitosan nanoparticles encapsulating multi-coloured quantum dots for bioapplications. **J Colloid Interface Sci**, v. 310, p. 464-470, 2007.

TARASOV, K.; HOUSSEIN, D.; DESTARAC, M.; MARCOTTE, N.; GÉRARDIN, C.; TICHIT, D. Stable aqueous colloids of ZnS quantum dots prepared using double hydrophilic block copolymers. **New J Chem**, v. 37, p. 508-514, 2013.

TAUC, J.; MENTH, A. States in the the gap. **J Non-cryst Solids**, v. 8-10, p. 569-585, 1972.

THANH, N. T. K.; GREEN, L. A. W. Functionalisation of nanoparticles for biomedical applications. **Nano Today**, v. 5, p. 213-230, 2010.

TOKURA, S. *et al.* Biological activities of biodegradable polysaccharide. **Macromolecular Symposia**, v. 101, p. 389-396, 1996.

- TORRES, M. A. *et al.* Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros**, v. 15, p. 306-312, 2005.
- TSOI, K. M. *et al.* Are quantum dots toxic? Exploring the discrepancy between cell culture and animal studies. **Acc Chem Res**, v. 46, n. 3, p. 662-671, 2013.
- UNICAMP. *Trabalhos publicados*. Disponível em: <http://lqes.iqm.unicamp.br>. Acesso em: 10 jan. 2016.
- UPADHYAYA, L. *et al.* Biomedical applications of carboxymethyl chitosans. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 452– 466., 2013.
- VARMA, A. J.; Despande, S. V.; Kennedy, J. F. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, n. 1, p. 77-93, 2004.
- WANG, B. *et al.* Power conversion efficiency enhancement of various size CdS quantum dots and dye co-sensitized solar cells. **Int J Hydrogen Energ.**, v. 38, p. 16.733–16.739., 2013.
- WANG, X. H.; DU, Y. M.; LIU, H. Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan–Zn complex. **Carbohydr Polym**, v. 56, p. 21-26, 2004.
- XIA, W. *et al.* Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. **Food Hydrocoll**, v. 25, p. 170–179, 2011.
- XIE, M. *et al.* CdSe/ZnS labeled carboxymethyl chitosan as a bioprobe for live cell imaging. **Chemical Communications.**, v. 44, p. 5.518-5.520, 2005.
- YAN, H. *et al.* Enhanced and selective adsorption of copper (II) ions on surface carboxymethylated chitosan hydrogel beads. **Chem Eng J**, v. 174, p. 586-594, 2011.
- YONG, K.-T. *et al.* Nanotoxicity assessment of quantum dots: from cellular to primate studies. **Chem Soc. Rev.**, v. 42, p. 1.236-1.250, 2013.
- YU, L. *et al.* The degradation mechanism of methyl orange under photo-catalysis of TiO<sub>2</sub>. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 14, p. 3.589-3.595, 2012.
- YU-LAN HU, Y. *et al.* Toxicity evaluation of biodegradable chitosan nanoparticles using a zebrafish embryo model. **Int J Nanomedicine**, v. 6, p. 3.351-3.359, 2011.
- ZHANG, H.; ZHOU, Z.; YANG, B. The Influence of Carboxyl Groups on the Photoluminescence of Mercaptocarboxylic Acid-Stabilized CdTe Nanoparticles. **J. Phys. Chem. B**, v. 107, p. 8-13, 2003. ISSN 1.
- ZHAO, J.; CHEN, C.; MA, W. Photocatalytic degradation of organic pollutants under visible light irradiation. **Top. Catal.**, v. 35, p. 269-278, 2005.
- ZHU, A. *et al.* The aggregation behavior of Ocarboxymethyl chitosan in dilute aqueous solution. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.**, v. 43, p. 143-149, 2005.