

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas

Dissertação de Mestrado

Síntese Coloidal Aquosa Sustentável de Pontos Quânticos Nanoconjugados
de Ag-In-S Estabilizados por Carboximetilcelulose para Potenciais
Aplicações Biomédicas e Ambientais

Autor: Aislan Esmeraldo Paiva
Orientador: Prof. Dr. Herman Sander Mansur

Março/2019

Aislan Esmeraldo Paiva

Síntese Coloidal Aquosa Sustentável de Pontos Quânticos Nanoconjugados
de Ag-In-S Estabilizados por Carboximetilcelulose para Potenciais
Aplicações Biomédicas e Ambientais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas.

Área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Herman Sander Mansur

Belo Horizonte
Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Engenharia
2019

Paiva, Aislan Esmeraldo.

P149s Síntese coloidal aquosa sustentável de pontos quânticos nanoconjugados de Ag-In-S estabilizados por carboximetilcelulose para potenciais aplicações biomédicas e ambientais [manuscrito] /Aislan Esmeraldo Paiva. – 2019.
x, 99 f., enc.: il.

Orientador: Herman Sander Mansur.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Bibliografia: f.89-99.

1. Engenharia metalúrgica - Teses. 2. Pontos quânticos - Teses.
3. Luminescência - Teses. I. Mansur, Herman Sander, 1962.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia.
III. Título.

CDU: 669(043)

AGRADECIMENTOS

À minha família e amigos por todo apoio durante essa jornada.

Ao Professor Dr. Herman S. Mansur, pela orientação, conselhos, ensinamentos e crença em meu potencial.

Aos colegas do LASMAT, pela ajuda, colaboração e realização de ensaios durante todo o projeto. Especialmente à Fernanda, Anderson e Josué pelas muitas trocas de conhecimento, discussões sobre a vida e amizade.

Aos colegas do PPGEM, pelas conversas, ombros amigos e almoços compartilhados.

À UFMG e ao PPGEM, pela oportunidade de especialização e por oferecer um ensino público e de qualidade.

À CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo suporte financeiro, pelas instalações e equipamentos necessários a essa empreitada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE NOTAÇÕES	vi
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivos específicos	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Semicondutores	5
3.1.1. Estrutura de bandas de energia	5
3.1.2. Raio de Bohr do Éxciton.....	6
3.2. Pontos quânticos.....	7
3.2.1. Confinamento Quântico.....	8
3.2.2. Propriedades e aplicações gerais.....	10
3.3. Síntese de pontos quânticos	10
3.3.1. Síntese coloidal aquosa sustentável	11
3.3.2. Sistema de formação das nanopartículas: nucleação e crescimento	12
3.3.3. Variáveis de síntese	17
3.4. Pontos quânticos de Ag(Cu)InS ₂	21
3.4.1. Pontos quânticos e toxicidade.....	21
3.4.2. Pontos quânticos dos grupos I-III-VI.....	22
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	25
4.1. Materiais.....	25
4.2. Síntese dos pontos quânticos.....	26
4.2.1. Síntese de pontos quânticos de Ag-In-S com variação do grau de substituição da carboximetilcelulose e do pH do meio.....	27
4.2.2. Síntese de pontos quânticos de Zn-Ag-In-S	27
4.3. Caracterização	28
4.4. Ensaio biológicos.....	29

4.4.1.	Cultura celular.....	30
4.4.2.	Avaliação da citotoxicidade via ensaio de viabilidade celular MTT	30
4.4.3.	Ensaio de internalização celular dos nanoconjugados	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1.	Síntese de pontos quânticos de Ag-In-S com variação do pH e do DS da carboximetilcelulose	32
5.1.1.	Análise organoléptica	32
5.1.2.	Espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-Vis).....	34
5.1.3.	Fotoluminescência (PL).....	44
5.1.4.	Potencial zeta (ZP) e Espalhamento de luz dinâmico (DLS).....	51
5.1.5.	Espectroscopia de infravermelho (FTIR)	53
5.1.6.	Fluorescência de raios X (XRF)	61
5.1.7.	Difração de raios X (DRX).....	62
5.1.8.	Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	65
5.2.	Deposição de ZnS em pontos quânticos de AIS (ZAIS).....	71
5.3.	Ensaio biológicos.....	80
5.3.1.	Avaliação da citotoxicidade via ensaio de viabilidade celular MTT	80
5.3.2.	Ensaio de internalização celular dos nanoconjugados	83
6.	CONCLUSÕES.....	86
7.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	87
8.	CONTRIBUIÇÕES PARA A LITERATURA	88
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 3-1: Estrutura de bandas e diferenças entre energia de banda proibida (E_g) para os três tipos de materiais: condutores, semicondutores e isolantes.	5
Figura 3-2: Confinamento quântico em diferentes sistemas.	8
Figura 3-3: Variação da energia de banda proibida (E_g) em função do tamanho do PQ. .	9
Figura 3-4: Diagrama de energia livre em nucleação.	14
Figura 3-5: Representação esquemática de PQ estabilizado pela CMC.	17
Figura 3-6: Estrutura química da CMC.	18
Figura 3-7: Reação de formação da NaCMC.	18
Figura 3-8: Equilíbrio de protonação e desprotonação.	19
Figura 3-9: Espectros de absorção e emissão para diferentes razões molares Cu/In.	21
Figura 3-10: Emissão de pontos quânticos dos grupos I-III-VI.	23
Figura 4-1: Representação esquemática da metodologia: síntese de PQ de AIS com variação de DS e pH (A) e síntese de PQ de ZAIS (B).	26
Figura 5-1: Foto digital de soluções de PQ de AIS sob luz ambiente em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 0,7.	32
Figura 5-2: Foto digital de soluções de PQ de AIS sob luz ambiente em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 1,2.	32
Figura 5-3: Foto digital de soluções de PQ sob luz UV em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 0,7.	34
Figura 5-4: Foto digital de soluções de PQ sob luz UV em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 1,2.	34
Figura 5-5: Espectro de absorção dos precursores de AIS e CMC (curvas de branco) ..	35
Figura 5-6: Espectro de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).	35
Figura 5-7: Espectro de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).	36
Figura 5-8: Espectro de absorção de PQ de In_2S_3 (a) e Ag_2S (b) estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 7,0.	38
Figura 5-9: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 (a) e DS 1,2 (b) em pH 5,0.	39

Figura 5-10: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 7,0.....	39
Figura 5-11: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 8,5.....	40
Figura 5-12: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 10,0.....	40
Figura 5-13: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 12,0.....	41
Figura 5-14: Espectros de absorção ótica (Relação de Tauc) de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).	42
Figura 5-15: Espectros de absorção ótica (Relação de Tauc) de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).	42
Figura 5-16: E_g dos PQ de AIS em função do pH de síntese e do DS da CMC.	43
Figura 5-17: Espectro de emissão de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).	45
Figura 5-18: Espectro de emissão de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).	45
Figura 5-19: Intensidade de PL em função do pH de síntese e DS da CMC.....	46
Figura 5-20: Superfície gerada pela variação do λ_{exc} versus λ_{em} e intensidade de PL para AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0.	49
Figura 5-21: Desvio de Stokes para as amostras de PQ de AIS com maiores intensidades de PL: AIS/CMC DS 0,7/pH 12,0 (A) e AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0 (B)	50
Figura 5-22: ZP e D_H em função do pH e do DS da CMC (A) e representação esquemática de PQ de AIS sendo estabilizado eletrostaticamente pela CMC (B).	52
Figura 5-23: Espectros de FTIR para PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 (A) e CMC DS 1,2 (B)	54
Figura 5-24: Relação de intensidade entre a banda dos grupos carboxilatos e da ligação glicosídica em função do pH e do DS da CMC.	56
Figura 5-25: Espectro de FTIR na faixa de 1800 a 1200 cm^{-1} para PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (A), 7,0 (B) e 12,0 (C) em comparação com a CMC.....	58
Figura 5-26: Espectro de FTIR na faixa de 1800 a 1200 cm^{-1} para PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (A), 7,0 (B) e 12,0 (C) em comparação com a CMC.....	59

Figura 5-27: Interações entre carboxilato da CMC e íons metálicos na superfície do ponto quântico: monodentada (A) e ponte bidentada (B).	61
Figura 5-28: Difratoformas de PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 0,7 (d) nos pH 5,0 (a), 7,0 (b) e 12,0 (c).	62
Figura 5-29: Difratoformas de PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 (d) nos pH 5,0 (a), 7,0 (b) e 12,0 (c).	63
Figura 5-30: Diagrama de fase do sistema $\text{Ag}_2\text{S} - \text{In}_2\text{S}_3$: (1) L, (2) α' , (3) L + α' , (4) L + HT-AgInS ₂ , (5) L + ζ , (6) ζ , (7) L + ζ , (8) L + β'' , (9) β'' , (10) $\alpha' + \text{HT-AgInS}_2$, (11) HT-AgInS ₂ + ζ , (12) $\zeta + \beta''$, (13) $\alpha' + \text{LT-AgInS}_2$, (14) LT-AgInS ₂ + ζ , (15) $\zeta + \beta$, (16) β	64
Figura 5-31: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 5,0.	67
Figura 5-32: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 7,0.	68
Figura 5-33: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 12,0.	70
Figura 5-34: Foto digital de soluções de PQ de AIS (esquerda) e ZAIS (direita) sob luz UV ($\lambda_{\text{exc}} = 365 \text{ nm}$).	72
Figura 5-35: Espectro de absorção de PQ de AIS (a) e ZAIS (b) estabilizados por CMC DS 1,2.	72
Figura 5-36: Espectro de emissão de PQ de AIS (a) e ZAIS (b) estabilizados por CMC DS 1,2.	73
Figura 5-37: Superfície gerada pela variação do λ_{exc} versus λ_{em} versus intensidade de PL para ZAIS/CMC DS 1,2/pH 7,0.	74
Figura 5-38: Esquema de PQ de AIS recoberto com camada de ZnS (δ), evidenciando também a interdifusão para o núcleo de raio μ	75
Figura 5-39: Curvas de decaimento de PQ de AIS e ZAIS estabilizadas pela CMC DS 1,2.	76
Figura 5-40: Difratoformas de PQ de ZAIS (a) em comparação aos de AIS (b) estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 7,0.	77
Figura 5-41: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de ZAIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 7,0.	79

- Figura 5-42: Resposta de viabilidade celular para HEK 293 T através do ensaio de MTT após 24 de incubação com os nanoconjugados (A). Imagens das células HEK 293 T no controle (B) e após incubação com PQ de AIS (C) e ZAIS (D) (escala = 100 μm)..... 81
- Figura 5-43: Resposta de viabilidade celular para U-87 MG através do ensaio de MTT após 24 de incubação com os nanoconjugados (A). Imagens das células U-87 MG no controle (B) e após incubação com PQ de AIS (C) e ZAIS (D) (escala = 100 μm)..... 82
- Figura 5-44 Imagens de microscopia confocal de células HEK 293 T sem a presença dos PQ (A) e após 1 h de incubação com os nanoconjugados AIS (B) e ZAIS (C) (seta amarela: citosol e seta azul: núcleo) (escala = 100 μm) 84
- Figura 5-45: Imagens de microscopia confocal de células U-87 MG sem a presença dos PQ (A) e após 1 h de incubação com os nanoconjugados AIS (B) e ZAIS (C) (seta amarela: citosol e seta azul: núcleo) (escala = 100 μm) 85

LISTA DE TABELAS

Tabela 3-1: Dados de E_g , estrutura cristalina e K_{ps} de compostos envolvidos no projeto na síntese de PQ de (Zn)Ag-In-S	24
Tabela 4-1: Concentração das soluções precursoras.....	27
Tabela 5-1: pH inicial e final de síntese.	33
Tabela 5-2: Análise ANOVA das E_g de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7.	44
Tabela 5-3: Análise ANOVA das E_g de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2.	44
Tabela 5-4: Bandas assimétricas e simétricas dos grupos carboxilatos e diferenças ($\Delta\nu$).	60
Tabela 5-5: Percentagem molar dos precursores de AIS no final da síntese em diferentes pHs.	61
Tabela 5-6: Análise ANOVA do tamanho médio para amostras de PQ de AIS com CMC DS 1,2 em diferentes pHs.	71
Tabela 5-7: Tempos de decaimento estimados para as amostras de AIS e ZAIS.....	76

LISTA DE NOTAÇÕES

a	Atividade
AIS	Ponto quântico de Ag-In-S
BC	Banda de condução
<i>bulk</i>	Sólido estendido
BV	Banda de valência
C _b	Concentração de espécies reativas em solução
C _i	Concentração de espécies reativas na interface S/L
CIS	Ponto quântico de Cu-In-S
CMC	Carboximetilcelulose
C _r	Solubilidade da partícula
D	Coefficiente de difusão
D _H	Diâmetro hidrodinâmico
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DP	Grau de polimerização
DS	Grau de substituição
e	Carga elementar do elétron
EDS	Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X
E _g	Energia de banda proibida/Energia de <i>band gap</i>
FTIR	Espectroscopia no IV por transformada de Fourier
\hbar	Razão entre a constante de Planck e 2π
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia
HRTEM	Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução
IV	Infravermelho
J	Fluxo de espécies reativas
k	Taxa de reação superficial
k _B	Constante de Boltzmann
K _{ps}	Produto de solubilidade
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia
m ₀	Massa do elétron em repouso
m _e *	Massa do elétron no semiconductor

m_h^*	Massa do buraco no semicondutor
N	Número de núcleos formados
NIR	Infravermelho próximo
PL	Fotoluminescência
PQ	Pontos quânticos
QD	<i>Quantum dots</i>
r	Raio da partícula
r_{crit}	Raio crítico da partícula
SAR	Taxa de absorção específica
SAXS	Espalhamento de raios X a baixo ângulo
T	Temperatura
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TT	Tratamento térmico
UV-Vis	Espectroscopia no Ultravioleta-Visível
V	Volume
v	Volume molar
XRD	Difratometria de raios X
XRF	Fluorescência de raios X
ZAIS	Ponto quântico de Zn-Ag-In-S
ZP	Potencial zeta
γ	Energia de superfície
ΔG	Energia livre total
ΔG_{crit}	Energia livre total associada ao raio crítico
ΔG_s	Energia livre de superfície
ΔG_v	Energia de volume
ϵ_0	Constante dielétrica do vácuo
ϵ_∞	Constante dielétrica do meio
η	Viscosidade
θ	Ângulo de difração
λ_{em}	Comprimento de onda de emissão
λ_{exc}	Comprimento de onda de excitação

RESUMO

Pontos quânticos (PQ), ou nanocristais de semicondutores, estão entre os nanomateriais mais pesquisados da atualidade. Suas atrativas propriedades óticas, eletrônicas e químicas têm grandes potenciais de aplicação nas áreas biomédica e ambiental. A busca pelo desenvolvimento sustentável fez com que as pesquisas se voltassem para o projeto de materiais que fossem menos agressivos à natureza, nesse âmbito, pontos quânticos de elementos como Ag, Cu, In e S aparecem como interessantes possibilidades, visto que a toxicidade desses é inferior aos comumente PQ dos grupos II/IV-VI, como, CdS, PbS, entre outros. Além disso, outras vantagens como a grande disponibilidade de reagentes, energias de banda proibida adequadas a diversas aplicações e boa fotoestabilidade mostram o potencial deste grupo de materiais. No presente trabalho, pontos quânticos ternários de Ag-In-S (AIS) conjugados com o polímero carboximetilcelulose (CMC) foram sintetizados. A rota de síntese escolhida foi a química coloidal aquosa à temperatura ambiente, visando-se a ideia de sustentabilidade, simplicidade e baixo custo na produção de nanopartículas com eficiente emissão fluorescente. Como parâmetros a serem avaliados, pH do meio e grau de substituição (DS) da CMC foram variados com intuito de verificar possíveis efeitos nos processos de nucleação e crescimento das partículas. Foram investigadas suas influências sobre as propriedades óticas de absorção e emissão. As propriedades físico-químicas foram avaliadas através da carga superficial, diâmetro hidrodinâmico e interação partícula-ligante. Já as propriedades morfológicas através do tamanho e das fases presentes. Os resultados evidenciaram a efetiva síntese de nanopartículas de AIS sob regime de confinamento quântico e estáveis em meio aquoso com tamanho médio de 3,0 nm. Esses nanoconjugados apresentaram emissão na faixa de comprimento de onda entre 500 e 900 nm, sendo a intensidade variável de acordo com a condição de síntese (pH 5,0 - 12,0 e DS 0,7/DS 1,2). Além disso, realizou-se a formação da estrutura núcleo/casca AIS/ZnS (ZAIS), obtendo-se um rendimento quântico (QY) de 5,0 %, evidenciando aumento de 70 % em relação ao QY dos PQ de AIS (3,0 %). Com relação ao tempo de vida médio, obteve-se 325 e 369 ns para AIS e ZAIS respectivamente, tais valores foram maiores que aqueles de comumente utilizados corantes orgânicos, como a fluoresceína. Finalmente, estes nanoconjugados, livres de metais pesados, demonstraram citocompatibilidade *in vitro* e alta emissão fluorescente

para bioimagens de células normais e cancerígenas. Estes resultados trazem o potencial de aplicação dos PQ sintetizados na área biomédica e ambiental, como na produção de bioimagens e energia solar, por exemplo.

ABSTRACT

Quantum dots (QD) or semiconductor nanocrystals are within the most researched nanomaterials currently. Their attractive optical, electronic and chemical properties have wide potential in biomedical and environmental fields. The pursuit of the sustainable development implied in the design of lesser hazardous materials to the nature; considering this idea, quantum dots based on Ag, Cu, In, and S showed up as an option. Those elements have lower toxicity when compared to commonly II/IV-VI QD, such as CdS, PbS, among others. Moreover, other advantages as high reagent availability, suitable bandgap energy for several applications and photostability indicate the potential of that material group. In the present work, Ag-In-S (AIS) ternary quantum dots stabilized by carboxymethylcellulose (CMC) were synthesized. The chosen route was the aqueous colloidal chemistry at room temperature aiming sustainability, simplicity and low cost on the production of efficient fluorescent particles. It was studied the variation of pH and CMC's degree of substitution and their influence on the nucleation/growth processes of the particles. It was also examined their influence on the optical properties of absorption and emission. Superficial charge, hydrodynamic diameter and particle-ligand interaction were investigated in order to evaluate physico-chemical properties. Regarding morphology, size distribution and crystal structure were assessed. Results demonstrated the effective synthesis of AIS-nanoparticles under quantum confinement regime and stable in aqueous medium with mean size of 3.0 nm. These nanoconjugates showed emission wavelength range between 500 and 900 nm, the intensity varying according to synthesis' conditions (pH 5.0 - 12.0 e DS 0.7/DS 1.2). Furthermore, the synthesis of AIS/ZnS (ZAIS) core/shell QD was carried out, the obtained quantum yield (QY) was 5.0 %, representing an increase of 70 % related to AIS' QY (3.0 %). Regarding the photoluminescence decay for AIS and ZAIS QD, the lifetimes measured were 325 and 381 ns, respectively, this value being greater than values of commonly used organic dyes, such as Alexa Fluor and fluorescein. Finally, these novel nanoconjugates, free of heavy metals, demonstrated *in vitro* cytocompatibility and high fluorescent emission for bioimaging of normal and cancer cells. The results elucidate the potential of these quantum dots to be applied in biomedical and environmental areas, such as bioimaging and solar energy, for instance.

1. INTRODUÇÃO

Em 1925, o primeiro conceito de “nanômetro” foi exposto pelo ganhador do prêmio Nobel em química, Richard Zsigmondy ⁽¹⁾. Mas, foi em 1959, em sua famosa palestra denominada “There’s plenty of room at the bottom”, que Richard Feynman introduziu o conceito moderno de “nanotecnologia”, alavancando as pesquisas nessa área e fazendo com que tivessem um crescimento exponencial ⁽²⁾. De acordo com a StatNano ⁽³⁾, entre os anos 2000 e 2015, o número de publicações relacionadas à nanotecnologia aumentou de aproximadamente 20 mil para 142 mil. No último relatório, em 2017, houve a publicação de mais de 154 mil artigos, sendo que 52 % de tais artigos provêm da China, EUA e Índia ⁽⁴⁾. O Brasil aparece na lista de países, que produzem conhecimento na área, em 18º lugar, correspondendo a uma participação de 1,4 % ⁽⁵⁾. Tais números são reflexo das interessantes propriedades dos materiais que podem ser obtidas através da manipulação na ordem nanométrica. Essas propriedades diferem daquelas do sólido estendido, ou seja, do mesmo material, mas em escala maior, o que faz com que se abra um leque de possíveis aplicações tanto na engenharia, como na biologia, medicina, informática, entre outras áreas ⁽¹⁾.

Dentro da classe dos nanomateriais, encontram-se os chamados pontos quânticos (PQ) ou *quantum dots* (QD), em inglês. Pesquisas relacionadas ao tema se iniciaram há aproximadamente 30 anos. O desenvolvimento de diversos métodos de síntese, o surgimento de materiais menos tóxicos, compostos com emissões no infravermelho próximo (NIR) e a utilização de novos ligantes fizeram com que essas especiais nanopartículas encontrassem aplicações comerciais ⁽⁶⁾. São nanocristais de semicondutores, que devido à sua reduzida escala, tem propriedades físicas, óticas e eletrônicas dependentes de seu tamanho. São luminescentes, conseguindo absorver uma grande faixa de radiação eletromagnética e emitir em uma estreita faixa. Elementos dos grupos I, II, III, IV e VI, referentes à tabela periódica, são comumente utilizados, formando compostos como CdS, AgInS₂ e CuInS₂. Podem ter aplicação de biossensores e marcadores tumorais a células solares, fotocatalise e telas de dispositivos eletrônicos ⁽²⁾. No que diz respeito ao mercado global, em 2018, os pontos quânticos movimentaram cerca de 1,2 bilhões de dólares. É esperado que esse valor chegue a cerca de 5,7 bilhões

de dólares em 2022⁽⁷⁾. Com relação a patentes, entre 2007 e 2016, o número de patentes mundiais mais que dobrou, partindo de 1.500 para 3.500⁽⁷⁾. Ainda segundo o INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial), entre 2001 e 2016, foram depositadas 21 patentes no Brasil, relacionadas a pontos quânticos^(8,9).

Atualmente, grande atenção tem sido dada à toxicidade das nanopartículas e ao seu percurso tanto em organismos como na natureza. Embora não se tenha dado uma completa elucidação da interação destas com o meio ambiente, estudos mostram que os tão comumente utilizados pontos quânticos de Cd e Pb liberam íons que são tóxicos aos seres vivos⁽¹⁰⁾. Dessa forma, a busca pela síntese de PQ menos agressivos ambientalmente se iniciou, como, por exemplo, ZnS dopados com Bi⁽¹¹⁾, AgInS₂/ZnS⁽¹²⁾ e CuInS₂⁽¹³⁾. A produção de compostos dos grupos I-III-VI, como o AgInS₂ e o CuInS₂ parece suprir essa necessidade de materiais ambientalmente corretos, visto que não contêm metais pesados. Porém, deve-se ressaltar que Ag⁺ e Cu²⁺ para não serem tóxicos, devem estar em concentrações baixas, uma vez que esses também possuem efeitos nocivos a partir de determinadas quantidades⁽¹⁴⁾. A título comparativo, tem-se os seguintes valores de LD50 (dose letal por administração oral para 50% de um grupo teste de ratos) para os nitratos de prata, cobre e cádmio, respectivamente: 1173, 940 e 300 mg/kg⁽¹⁴⁾, evidenciando a menor toxicidade dos dois primeiros íons.

Os semicondutores dos grupos I-III-VI possuem propriedades óticas interessantes que podem ser ajustadas variando composição, tamanho e parâmetros de síntese. A possibilidade de combinar diferentes íons e também de formar compostos ternários (3 elementos) e quaternários (4 elementos) aumenta a dificuldade de síntese, mas também aumenta o potencial de aplicação destes. Entretanto, ainda se tem o desafio da obtenção de partículas com melhores rendimentos quânticos, quando comparados a PQ de CdS, por exemplo. Além disso, compostos do tipo I-III-VI tendem a ter maior concentração de defeitos de superfície, que afetam sua luminescência⁽¹⁵⁾.

A síntese de pontos quânticos pode ser realizada através de diferentes abordagens. Uma das mais comuns é a química coloidal, em que se obtêm partículas com distribuição de tamanho relativamente estreita e a um custo baixo, também é fácil de ser reproduzida

quando comparada a outros métodos. Inicialmente, a rota em meio orgânico foi a mais difundida, reagentes tóxicos e caros são de comum uso nesse tipo de síntese. Além disso, em muitos casos, há necessidade de etapas adicionais para tornar a nanopartícula solúvel em água, dependendo da aplicação final ⁽¹⁶⁾. Com o surgimento da rota coloidal aquosa, reduz-se o custo da síntese e a agressividade ao meio ambiente. Porém, há certa complexidade a ser levada em conta, devido, por exemplo, às diferentes reatividades dos íons e ao maior número de espécies presentes em solução. A diminuição de custos, a utilização de reagentes menos poluentes e a atenção a não produção de compostos secundários tóxicos se mostram como um dos objetivos das pesquisas atuais em química verde ⁽¹⁷⁾.

Quando se faz a opção de síntese dos PQ via rota coloidal, deve-se atentar ao fato de que essas partículas possuem elevada relação superfície/volume, o que faz com que tenham alta energia de superfície. Tal característica as impele à aglomeração, que acarreta perda de funcionalidade. Assim, o uso de estabilizantes se torna essencial para impedir tanto o crescimento desordenado quanto a aglomeração das nanopartículas ^(17,18). A utilização de polímeros como ligantes se mostra interessante devido à possibilidade de em uma cadeia termos diferentes grupos funcionais, capazes tanto de promover estabilização, como permitir a funcionalização para uma aplicação em específica ⁽¹⁷⁾. Dentro do grupo dos polímeros, tem-se os biopolímeros. Ou seja, materiais provindos de fontes renováveis, como de plantas, óleos vegetais, paredes celulares de fungos e carapaças de crustáceos ⁽¹⁹⁾. A carboximetilcelulose aparece como um representante desse conjunto, sendo ela biodegradável e biocompatível, o que agrega ainda mais a ideia de sustentabilidade no desenvolvimento dos nanoconjugados ⁽²⁰⁾.

Dentro desse contexto, o presente trabalho teve como objetivos a síntese e caracterização de pontos quânticos de Ag-In-S estabilizados pela carboximetilcelulose e a avaliação da influência da variação de parâmetros de síntese sobre as propriedades dessas nanopartículas, visando-se possíveis aplicações biomédicas e ambientais.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral desse projeto consistiu na síntese coloidal aquosa e caracterização de pontos quânticos (PQ) de Ag-In-S (AIS) e Zn-Ag-In-S (ZAIS) utilizando a carboximetilcelulose (CMC) como agente estabilizante visando potenciais aplicações biomédicas e ambientais.

2.1. Objetivos específicos

- Sintetizar PQ de AIS através de rota coloidal aquosa;
- Estudar o efeito do grau de substituição (DS) da CMC sobre as propriedades óticas, físico-químicas e morfológicas de PQ de AIS;
- Estudar o efeito do pH sobre as propriedades óticas, físico-químicas e morfológicas de PQ de AIS;
- Caracterizar os PQ obtidos através das técnicas de Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-Vis), Fotoluminescência (PL), Potencial Zeta (ZP), Fluorescência de Raios X (XRF), Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios X (XRD), Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS);
- Sintetizar e caracterizar PQ de ZAIS utilizando UV-Vis, PL, XRD, TEM e EDS;
- Realizar ensaios biológicos de citotoxicidade e internalização celular dos nanoconjugados de AIS e ZAIS.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Semicondutores

3.1.1. Estrutura de bandas de energia

Para a formação de um sólido, os orbitais dos átomos se sobrepõem formando as denominadas bandas de energia, que são níveis quase contínuos. Condutores possuem uma banda de energia parcialmente preenchida pelos elétrons. Semicondutores possuem uma banda preenchida, também conhecida como banda de valência (BV), e uma não totalmente preenchida, chamada banda de condução (BC), sendo essas separadas por uma diferença de energia denominada energia de *band gap* ou energia de banda proibida, ideia similar à Teoria do Orbital Molecular que preconiza a diferença de energia entre HOMO (*highest occupied molecular orbital* ou orbital molecular ocupado de maior energia) e LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital* ou orbital Molecular desocupado de menor energia). Os isolantes possuem estrutura semelhante aos semicondutores, porém, a energia de banda proibida é maior⁽²¹⁾. A figura 3-1 evidencia as diferenças entre esses três tipos de materiais em relação à energia de banda proibida:

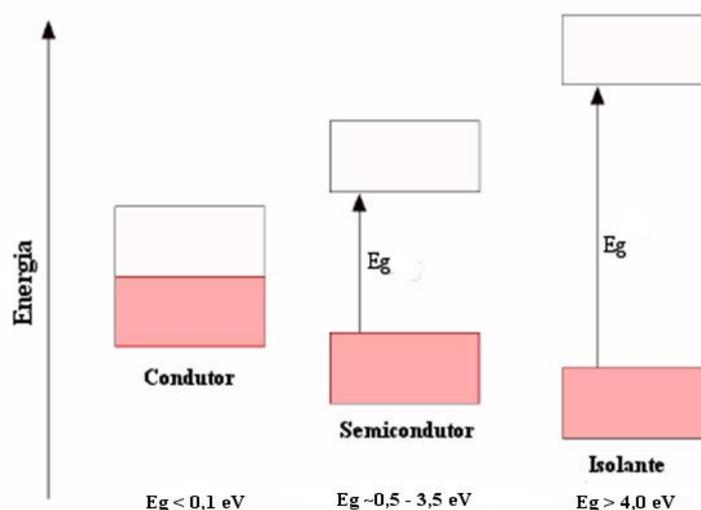


Figura 3-1: Estrutura de bandas e diferenças entre energia de banda proibida (E_g) para os três tipos de materiais: condutores, semicondutores e isolantes.

Fonte: (MURPHY, 2002)⁽²¹⁾

Classificando os três tipos de materiais em relação à energia de banda proibida, tem-se: condutores com valores inferiores a 0,1 eV, semicondutores entre 0,5 e 3,5 eV e isolantes superiores a 4,0 eV ⁽²¹⁾.

Em um semicondutor, o elétron pode ser excitado do seu estado fundamental por diferentes formas, como: radiação eletromagnética e estimulações térmica e mecânica. Estando esse elétron na banda de valência, quando recebe determinada quantidade de energia superior à energia de banda proibida, ocorre a transição para a banda de condução, para uma posição que estava desocupada. Na posição onde havia o elétron na banda de valência, gera-se um buraco, que possui carga positiva e comporta-se como uma partícula. O par elétron-buraco é denominado éxciton ⁽²²⁾.

O movimento do elétron, devido à estimulação, ocorre em quatro etapas: excitação, relaxação, termalização e recombinação. Na excitação, o elétron do átomo é excitado por energia maior que a banda proibida do material. A relaxação é o processo de eliminação da energia em excesso inicial e isso ocorre por meio de emissão de fônons (energia vibracional) para a rede cristalina. Na termalização, tanto elétron e buraco tendem a ocupar os níveis com menores energias da banda de condução (posição mais inferior) e da banda de valência (posição mais superior). Por fim, elétron e buraco se recombina radiotivamente ou não ⁽²³⁾. Em uma recombinação não radioativa fônons são emitidos ou elétrons são presos em defeitos fazendo com que a energia de transição seja liberada de outras formas ⁽²⁴⁾, como por exemplo, calor ⁽²⁵⁾.

3.1.2. Raio de Bohr do Éxciton

O par elétron-buraco, formado após a transição do elétron da banda de valência para a banda de condução, se comporta similarmente a um átomo de hidrogênio e permanece ligado através de forças coulombianas fracas. Adotou-se então o modelo de Bohr para o cálculo do raio característico (r_B) do par elétron-buraco ⁽²⁶⁾ (equação 3-1):

$$r_B = \frac{4\pi\epsilon_0\epsilon_\infty\hbar^2}{m_0e^2} \times \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) \quad \text{(Equação 3-1)}$$

Sendo: ϵ_0 : constante dielétrica do vácuo ($8,85 \times 10^{-12} \text{ C}^2\text{N}^{-1}\text{m}^{-2}$); ϵ_∞ : constante dielétrica do meio; m_e^* e m_h^* : massas do elétron e do buraco no semiconductor respectivamente; m_0 : massa do elétron em repouso ($9,11 \times 10^{-31} \text{ kg}$); \hbar : razão entre a constante de Planck e 2π ($1,05 \times 10^{-34} \text{ m}^2\text{kg/s}$); e : carga elementar do elétron ($-1,6 \times 10^{-19} \text{ C}$).

3.2. Pontos quânticos

Nanomateriais, ou seja, estruturas em que, pelo menos, uma de suas dimensões é menor que 100 nm, podem ser classificados em bidimensionais, unidimensionais e zero dimensionais⁽²⁷⁾. Nanoestruturas bidimensionais são aquelas em que uma dimensão foi reduzida/confinada à escala nanométrica, tem-se, por exemplo, filmes finos, nanotubos e nanohastes; as unidimensionais possuem duas de suas dimensões de ordem nanométrica, como em nanofios; por fim, as zero dimensionais possuem as três dimensões nanométricas, como os chamados pontos quânticos ou *quantum dots* (QD). Materiais com as três dimensões superiores a 100 nm são denominados sólidos estendidos ou *bulk*⁽²⁷⁾.

PQ são nanocristais inorgânicos de semicondutores cujas dimensões se situam entre 1-10 nm. Possuem interessantes propriedades óticas, eletrônicas, magnéticas e mecânicas. Os cristais são formados por em média 200-10.000 átomos provindos de diferentes grupos da tabela periódica, como por exemplo, PbS, CdS, AgInS₂ e CuInS₂⁽¹⁶⁾.

Uma estratégia comumente utilizada na síntese de PQ afim de melhorar suas propriedades óticas é o encapsulamento das nanopartículas com outro semiconductor. Assim, forma-se uma estrutura núcleo/casca, que permite a passivação de defeitos responsáveis por emissões não radioativas e melhora a luminescência do material. Dependendo da configuração da estrutura núcleo/casca, o sistema pode ser classificado em: tipo I ($E_g^{\text{casca}} > E_g^{\text{núcleo}}$), tipo I invertido ($E_g^{\text{núcleo}} > E_g^{\text{casca}}$), tipo II (BV e BC do núcleo são maiores ou menores em energia que as BV e BC da casca)⁽²⁸⁾.

3.2.1. Confinamento Quântico

As propriedades dos materiais começam a mudar drasticamente quando suas dimensões atingem a escala nanométrica, ou de maneira geral, abaixo dos 100 nm. A mecânica quântica explica essa mudança pela quantização das partículas subatômicas devido à escala reduzida e isso ocorre quando a dimensão da partícula se reduz para um tamanho similar ou menor que o raio de Bohr do éxciton⁽²²⁾. Em materiais bidimensionais, elétrons e buracos podem se mover livremente em duas dimensões, em materiais unidimensionais, os mesmos podem se mover em uma dimensão apenas, já em zero dimensionais, elétrons e buracos estão confinados nas três dimensões do material e não podem se mover livremente. Nos PQ, tem-se então um confinamento total de elétrons e buracos, que influencia diretamente suas propriedades⁽²¹⁾.

Os PQ têm seus níveis de energia discretos e quantizados, sendo mais similares àqueles de átomos e moléculas isolados do que àqueles do sólido estendido. Eles se comportam como átomos artificiais⁽²⁾. A figura 3-2 traz um esquema evidenciando a quantização e discretização dos níveis energéticos à medida que a escala se reduz:

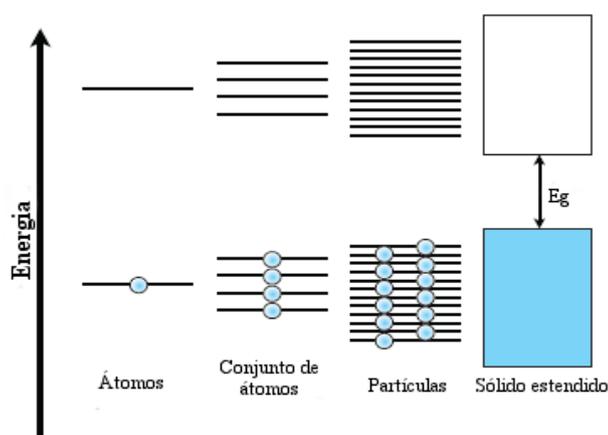


Figura 3-2: Confinamento quântico em diferentes sistemas.

Fonte: (WHEELER, 2013)⁽²²⁾

As propriedades físicas, químicas e eletrônicas dos PQ são altamente afetadas pelo confinamento quântico, sendo essas dependentes do tamanho dos nanocristais. Modelos

empíricos foram desenvolvidos utilizando o éxciton como base e buscam relacionar a energia de banda proibida dos PQ e seu tamanho ⁽²⁾ (equação 3-2):

$$E_{g,QD} = E_{g,b} + \left(\frac{h^2}{8R^2} \right) \left(\frac{1}{m_e} + \frac{1}{m_h} \right) - \left(\frac{1,8e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon R} \right) \quad (\text{Equação 3-2})$$

Sendo: $E_{g,QD}$ e $E_{g,b}$: energias de banda proibida do ponto quântico (QD) e do sólido estendido (*bulk*), respectivamente; h : constante de Planck; R : raio do ponto quântico; m_e e m_h : massas efetivas do elétron e buraco no sólido, respectivamente; e : carga elementar do elétron; ϵ_0 e ϵ : constantes dielétricas do sólido no vácuo e no meio, respectivamente.

Por exemplo, para um PQ de CdS, tem-se a seguinte variação de energia de banda proibida com seu tamanho respectivo (figura 3-3):

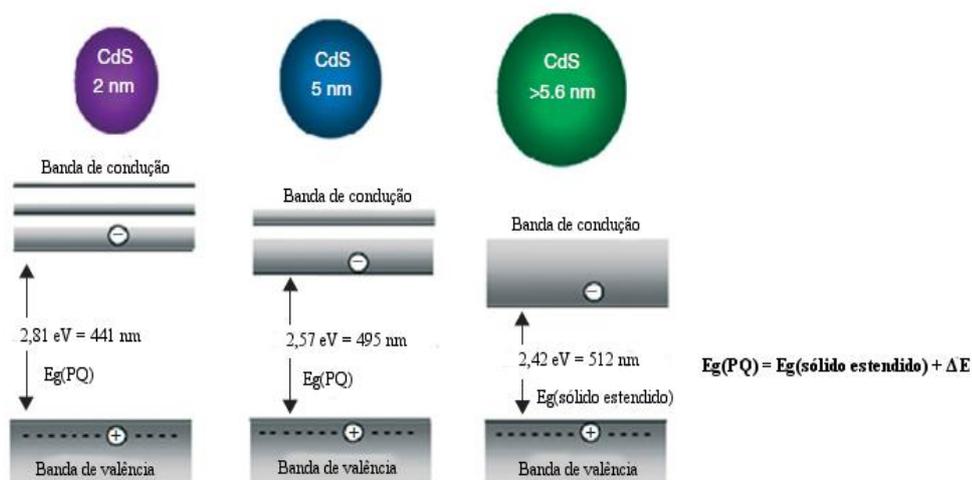


Figura 3-3: Variação da energia de banda proibida (E_g) em função do tamanho do PQ.

Fonte: (MANSUR, 2010) ⁽²⁾

Essa tendência faz com que um nanocristal, que esteja excitado, tenha luminescência (em caso de recombinação radioativa) com comprimento de onda dependente do seu tamanho. Quanto menor o tamanho, maior a energia de banda proibida e menor o comprimento de onda da luz emitida, tendendo essa para a região do azul; o contrário também é verdadeiro, quanto maior o tamanho, menor a energia de banda proibida e, portanto, maior o comprimento de onda da luz emitida, tendendo para a região do vermelho.

3.2.2. Propriedades e aplicações gerais

Devido às suas propriedades ajustáveis pelo tamanho, os PQ atraem numerosas pesquisas em diversas aplicações. Alto rendimento quântico, fotoestabilidade, estabilidade química, larga banda de absorção, múltipla geração de éxcitons com absorção de um único fóton, estreita faixa de emissão com perfis de luminescência simétricos e luminescência intensa são algumas das características que os fazem muito interessantes ⁽²⁹⁾.

Entre suas aplicações, tem-se: marcadores tumorais e biossensores, células solares e fotocatalise, telas de dispositivos eletrônicos, lasers, baterias, dentre outras ⁽²⁾.

3.3. Síntese de pontos quânticos

De maneira geral, os métodos de síntese para PQ, bem como para outras nanoestruturas, podem ser classificados em dois tipos: *top-down* e *bottom-up*. Os primeiros, também chamados de métodos físicos, são aqueles que envolvem modificação ou remoção de átomos a partir do sólido estendido ou miniaturização de processos que o produzem com o intuito de se “esculpir” as nanoestruturas. São exemplos do processamento em estado sólido e comuns aos engenheiros. Pode-se citar: litografia por feixe de elétrons, moagem, usinagem ⁽³⁰⁾.

Os métodos *bottom-up*, também chamados de métodos químicos, são aqueles que consistem na montagem da estrutura visada, átomo por átomo. Átomos, moléculas e nanopartículas são usados como blocos de montagem para a nanoestrutura, com controle de organização, tamanho e química de superfície para que as propriedades desejadas sejam obtidas. Englobam a síntese química e a deposição/crescimento altamente controlados dos materiais, sendo familiares aos químicos. Tem-se: deposição física de vapor, química coloidal e deposição assistida por plasma ⁽³⁰⁾.

A química coloidal se tornou muito popular entre os cientistas como método de síntese devido à sua relativa facilidade e baixo custo. Os métodos coloidais são baseados na precipitação das nanopartículas em matriz de solvente, formando uma solução coloidal

em que essas se encontram finamente dispersas. Os PQ tendo alta relação área/volume, possuem, por consequência, alta energia de superfície, que faz com que esses tenham tendência a se agregar formando *clusters* ou aglomerados, perdendo sua nanoestrutura. Para se evitar tal fenômeno, deve-se aumentar a repulsão entre as partículas, podendo ser o feito de duas maneiras: estabilização estática, ou seja, com a indução de cargas na superfície do ponto quântico através da quimissorção de espécies carregadas, por exemplo, com a mudança de pH ou estabilização estérica, com a utilização de ligantes que se ligam na superfície impedindo o crescimento^(27,30).

3.3.1. Síntese coloidal aquosa sustentável

Vários métodos de síntese são baseados em reagentes organometálicos, em que os PQ são formados em solventes orgânicos contendo moléculas que agem como estabilizantes. Porém, devido à presença dessas moléculas, as partículas são somente solúveis em meios apolares. Para diversas aplicações, como aquelas em meios biológicos e em fotocatalise, é necessário que as partículas sejam solúveis em água. Métodos para os tornar hidrofílicos foram desenvolvidos e tem duas categorias principais: a primeira consiste de troca de ligantes, em que um ligante bifuncional substitui a camada de solvente orgânica na superfície do ponto quântico; já a segunda consiste de modificação de superfície, como a introdução de uma casca de sílica⁽¹⁵⁾. Entretanto, essa modificação da hidrofilicidade da partícula gera redução da fotoluminescência e propensão a agregação e precipitação em meios biológicos⁽¹⁶⁾.

As rotas de síntese em meio aquoso surgiram como uma alternativa àquelas em meios orgânicos. Inicialmente, os procedimentos criados possuíam certos problemas no que diz respeito à monodispersão, cristalinidade e fluorescência dos PQ sintetizados⁽¹⁶⁾. Entretanto, vantagens como: reprodutibilidade, baixo custo, baixa toxicidade e produção de partículas já solúveis em água evitando uma etapa adicional⁽³¹⁾ fizeram com que esse grupo de síntese se desenvolvesse e obtivesse bons resultados. Além disso, as rotas aquosas têm maior escolha de funcionalidades para os agentes funcionalizantes, o que geram PQ mais específicos para as aplicações aos quais se destinam⁽¹⁷⁾.

3.3.2. Sistema de formação das nanopartículas: nucleação e crescimento

A formação dos PQ em meio coloidal se dá através de dois mecanismos principais: a nucleação e o crescimento. A química coloidal para sintetizar nanopartículas baseia-se na precipitação de espécies ⁽¹⁷⁾. As reações de precipitação ocorrem em condições de supersaturação do produto formado, o que faz com que a nucleação seja a etapa chave do processo e que se formem muitas partículas pequenas de uma vez. Mecanismos de agregação e maturação de Ostwald podem ocorrer modificando tamanho, morfologia e propriedades do precipitado ⁽¹⁸⁾.

A ideia consiste na formação espécies com baixo produto de solubilidade (K_{ps}) para que se atinja rapidamente a condição de supersaturação. A equação 3-3 traz uma reação genérica de precipitação e o cálculo do respectivo K_{ps} (equação 3-4) ⁽³²⁾:



$$K_{\text{ps}} = (a_{\text{A}})^x (a_{\text{B}})^y \quad (\text{Equação 3-4})$$

Em que: K_{ps}: produto de solubilidade; a_A: atividade do íon A; a_B: atividade do íon B.

Muitos carbonatos, hidróxidos, oxalatos e calcogenetos tem K_{ps} muito baixos em soluções aquosas, o que facilita a síntese de nanopartículas dos mesmos em meio aquoso. Porém, somente a precipitação não garante a formação de nanoparticulados. Quando o processo se inicia, muitos núcleos são formados e tendem a crescer ⁽³²⁾.

3.3.2.1. Nucleação

A nucleação é quando se forma uma semente do precipitado e essa age como base para o crescimento do cristal. Pela teoria clássica, existem dois tipos: a homogênea, que ocorre quando as sementes se formam de maneira uniforme na fase líquida e a heterogênea, em que as sementes se formam em “defeitos”, como nas paredes do recipiente, em grãos de impureza, etc. Dessa forma, a nucleação heterogênea tende a ocorrer mais facilmente que a homogênea ⁽¹⁸⁾. A força motriz para ocorrer a precipitação, como já dito, é a

supersaturação da solução, cujo grau pode ser encontrado através da equação 3-5 (considerando a relação apresentada na equação 3-3)⁽³²⁾:

$$S = \frac{a_A a_B}{K_{ps}} \quad (\text{Equação 3-5})$$

Sendo: S: grau de supersaturação; a_A : atividade do soluto A; a_B : atividade do soluto B.

A formação de núcleos pode ser analisada termodinamicamente através da energia livre total da partícula formada (ΔG), que corresponde à soma das energias livres de superfície e de volume (equação 3-6)⁽³²⁾:

$$\Delta G = 4\pi r^2 \gamma + \frac{4}{3} \pi r^3 \Delta G_v \quad (\text{Equação 3-6})$$

Em que: ΔG : energia livre total da partícula; r: raio da partícula considerada esférica; γ : energia de superfície; ΔG_v : energia livre de volume da partícula.

A energia de volume, por sua vez, é dada pela equação 3-7:

$$\Delta G_v = \frac{-k_B T \ln S}{v} \quad (\text{Equação 3-7})$$

Sendo: k_B : constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ m}^2\text{kg/s}^2\text{K}$); T: temperatura; S: grau de supersaturação da solução; v: volume molar.

Como a energia livre de superfície é sempre positiva e a energia de volume é sempre negativa, haverá um ponto de energia livre total que, caso a partícula o atinja, um núcleo estável será formado. O mesmo raciocínio leva à equação 3-8 para o cálculo do raio crítico (r_{crit}), em que se o raio da partícula for maior do que esse ($r > r_{crit}$), ela continuará crescendo, caso contrário ($r < r_{crit}$), ela se dissolverá na solução⁽¹⁸⁾:

$$r_{\text{crit}} = \frac{2\gamma v}{k_B T \ln S} \quad (\text{Equação 3-8})$$

A figura 3-4 traz um gráfico de energia livre total de uma partícula em função do tamanho. Nele, evidencia-se a composição da energia livre total pela soma dos gráficos de energia livre de superfície (ΔG_S) e energia livre de volume (ΔG_V), bem como a presença de um raio crítico com a respectiva energia livre total crítica⁽¹⁸⁾.

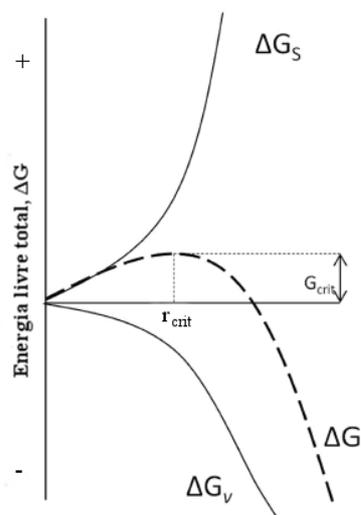


Figura 3-4: Diagrama de energia livre em nucleação.

Fonte: (THANH, 2014)⁽¹⁸⁾

A taxa de nucleação dN/dt pode ser descrita através da equação 3-9:

$$\frac{dN}{dt} = A \exp\left(-\frac{\Delta G_{\text{crit}}}{k_B T}\right) \quad (\text{Equação 3-9})$$

Sendo: A: fator pré-exponencial. E ΔG_{crit} (equação 3-10):

$$\Delta G_{\text{crit}} = \frac{4}{3} \pi \gamma r_{\text{crit}}^2 \quad (\text{Equação 3-10})$$

Fazendo a substituição da equação 3-10 na equação 3-9, obtém-se a equação 3-11:

$$\frac{dN}{dt} = A \exp\left(\frac{16\pi\gamma^3 v^2}{3k_B^3 T^3 (\ln S)^2}\right) \quad (\text{Equação 3-11})$$

Analisando a equação 3-11, vê-se que há três parâmetros experimentais: temperatura, energia livre de superfície e grau de supersaturação. O maior efeito na taxa de nucleação provém do grau de supersaturação, é necessário um valor crítico para que a taxa seja considerável⁽³²⁾.

3.3.2.2. Crescimento

Com relação à etapa de crescimento das partículas, o mesmo ocorre em função de dois mecanismos limitantes: a reação de formação do composto na superfície de uma partícula e a difusão das espécies formadoras. Entretanto, foi determinado, através de experimentos, que em grande parte das reações, o fator limitante é a difusão⁽³²⁾. A Lei de Fick pode ser utilizada para modelar os dois mecanismos citados. A equação 3-12 representa a difusão e a equação 3-13, a taxa de reação superficial⁽¹⁸⁾:

$$J = 4\pi D r (C_b - C_i) \quad (\text{Equação 3-12})$$

$$J = 4\pi r^2 k (C_i - C_r) \quad (\text{Equação 3-13})$$

Sendo: J: o fluxo total de espécies reativas; D: coeficiente de difusão; r: o raio da partícula; C_b: concentração de espécies reativas na solução; C_i: concentração de espécies reativas na interface partícula/líquido; C_r: solubilidade da partícula; k: taxa de reação superficial.

A solubilidade (C_r) da partícula é função de seu tamanho de acordo com a equação 3-14 de Gibbs-Thomson:

$$C_r = C_b \exp\left(\frac{2\gamma v}{r k_B T}\right) \quad (\text{Equação 3-14})$$

O aumento do tamanho da partícula em função do tempo, dr/dt é dado pela equação 3-15 para o caso de crescimento limitado por difusão e pela equação 3-16 caso o seja pela reação superficial⁽¹⁸⁾:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{Dv}{r} (C_b - C_i) \quad (\text{Equação 3-15})$$

$$\frac{dr}{dt} = kv (C_b - C_r) \quad (\text{Equação 3-16})$$

3.3.2.3. Distribuição de tamanhos

O efeito de maturação de Ostwald é considerado para explicar as diferenças de tamanhos das partículas quando essas estão crescendo. Através da equação 3-14, pode-se ver que a solubilidade de uma partícula aumenta à medida que seu raio diminui. Assim, o efeito em questão trata do aumento de partículas maiores em função da diminuição das menores. Para um crescimento limitado pela difusão, tem-se a equação 3-17 representando a distribuição de tamanhos. Caso o processo seja limitado pela reação superficial, tem-se a equação 3-18⁽¹⁸⁾:

$$\frac{d(\Delta r)}{dt} = \frac{K_D \Delta r}{\bar{r}^2} \left(\frac{2}{\bar{r}} - \frac{1}{r^*} \right) \quad (\text{Equação 3-17})$$

$$\frac{d(\Delta r)}{dt} = \frac{K_R \Delta r}{\bar{r}^2} \quad (\text{Equação 3-18})$$

Sendo: r : raio da partícula; \bar{r} : média dos raios; r^* : raio em equilíbrio com a solução. K_D e K_R são definidos pelas equações 3-19 e 3-20, respectivamente:

$$K_D = \frac{2\gamma Dv^2 C_b}{K_B T} \quad (\text{Equação 3-19})$$

$$K_R = \frac{2\gamma kv^2 C_b}{RT} \quad (\text{Equação 3-20})$$

Para se obter pontos quânticos por rota coloidal, analisando todas as equações acima citadas, verifica-se que é necessário que a nucleação de partículas seja uma etapa rápida

ao mesmo tempo em que o crescimento das mesmas seja lento. Como já discutido anteriormente, é necessário um controle do crescimento das nanopartículas, visto que elas tendem a se aglomerar para reduzir a energia superficial ⁽³²⁾.

3.3.3. Variáveis de síntese

3.3.3.1. Agente estabilizante

É possível estabilizar os pontos quânticos em solução coloidal e impedir sua tendência à aglomeração através de dois métodos: repulsão eletrostática ou impedimento estérico. Considerando a síntese aquosa, é interessante a utilização de ligantes iônicos ⁽¹⁷⁾.

Carboximetilcelulose

O polímero apresenta vários grupos carboxilatos que o conferem um caráter aniônico. Então, consegue-se uma estabilização tanto estática quanto estérica (figura 3-5):

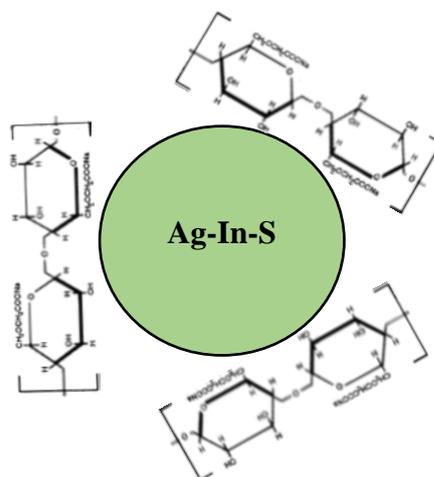


Figura 3-5: Representação esquemática de PQ estabilizado pela CMC.

Fonte: Próprio autor

A CMC (figura 3-6) é um composto, geralmente, apresentado na forma de sal de sódio derivado da celulose, que é o polímero vegetal mais abundante na Terra. A celulose por si só apresenta solubilidade muito restrita, não sendo solúvel em meios aquosos. A CMC, porém, apresenta alta solubilidade em água, o que torna seu uso interessante em diferentes

indústrias como a farmacêutica, a têxtil, alimentícia e de tintas. Pode ser obtida pela adição de ácido monocloroacético à celulose na presença de hidróxido de sódio (figura 3-7). As hidroxilas da celulose são ativadas pelo hidróxido e são substituídas pelos grupos do ácido⁽³³⁾.

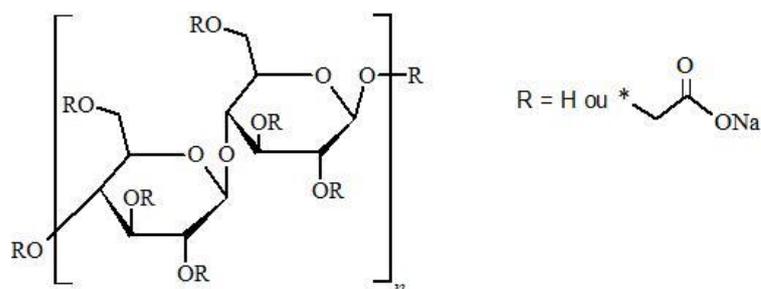


Figura 3-6: Estrutura química da CMC.

Fonte: Próprio autor

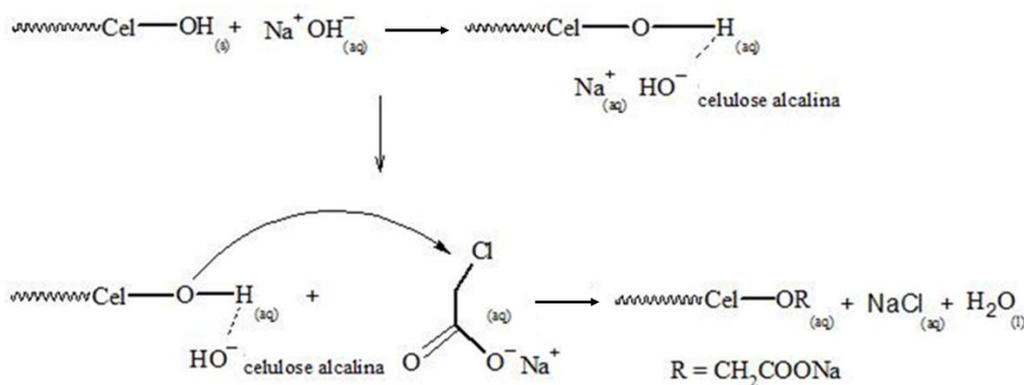


Figura 3-7: Reação de formação da NaCMC.

Fonte: Adaptado de (CERRUTTI, 2010)⁽³³⁾

Apresenta interessantes propriedades, como alta solubilidade em água, alta disponibilidade, não toxicidade, compatibilidade biológica e ambiental, baixo custo, boa biodegradabilidade e estabilidade química. Além disso, a presença de grupos funcionais como carboxilatos e hidroxilas faz com que a CMC aja como um agente quelante e forme complexos com os PQ, os estabilizando e formando uma quase monocamada na superfície dos mesmos⁽²⁰⁾. Esse polímero assim se torna um excelente agente para a produção de nanopartículas via química verde.

Sendo um polímero aniônico, é sensível a mudanças de pH devido à protonação e desprotonação dos grupos carboxílicos (figura 3-8). O pKa da CMC é aproximadamente

4,3⁽²⁰⁾, assim, em faixas de pHs abaixo desse valor, os grupos carboxílicos encontram-se em maioria protonados; acima desse valor, em maioria desprotonados na forma de carboxilatos.

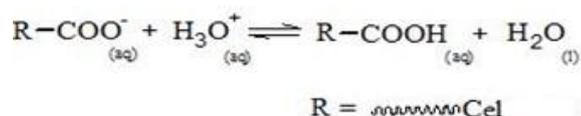


Figura 3-8: Equilíbrio de protonação e desprotonação.

Fonte: Próprio autor

Um importante fator determinante das propriedades da CMC, principalmente, a solubilidade, é o grau de substituição (DS). Este diz respeito ao número de hidroxilas substituídas por grupos carboxílicos em uma unidade de repetição. A CMC se apresenta altamente solúvel em faixa de DS entre 0,7 e 1,2⁽³⁴⁾.

3.3.3.2. Temperatura

De maneira geral, maiores temperaturas fazem com que as barreiras cinéticas e estéricas sejam vencidas mais facilmente, precursores se associem e nucleiem. Além disso, favorecem o crescimento das nanopartículas e a redução de defeitos de superfície, que diminuem a fotoluminescência⁽¹⁶⁾.

3.3.3.3. pH

Na síntese aquosa, as hidroxilas (OH^-) podem reagir com os cátions metálicos e formar hidróxidos insolúveis ou hidroxicomplexos, que reduzem a disponibilidade dos íons para a formação do ponto quântico. Para uma primeira análise de escolha de pH de trabalho, pode-se pensar em uma comparação entre os produtos de solubilidade do composto desejado e dos hidróxidos possíveis de serem formados. Porém, em sistemas reacionais reais, há diversos equilíbrios envolvidos que competem. Além disso, a concentração dos cátions afeta a solubilidade, bem como a cinética de formação do ponto quântico e a

atuação do agente funcionalizante. De maneira geral, a formação do semicondutor é mais rápida que a formação de hidróxidos, o que torna a primeira viável ⁽¹⁷⁾.

Outro fator afetado pelo pH é a protonação/desprotonação da CMC. Em pH 4,3 tem-se 50% de sua forma protonada e 50% de sua forma desprotonada. Se o pH é reduzido, a disponibilidade da forma desprotonada também se reduz. O grupo carboxilato possuindo carga negativa é mais interessante para a ação de quelação do agente funcionalizante e para manter as nanopartículas repelidas e não aglomeradas ⁽²⁰⁾.

3.3.3.4. Razão molar dos precursores

Considerando que os diferentes íons têm diferentes reatividades, deve-se escolher uma razão molar de maneira a compensar tal efeito e assim evitar separações de fases e formação de compostos secundários. Geralmente, utiliza-se uma concentração mais alta para o íon menos reativo e uma concentração mais baixa para aquele mais reativo de maneira a balanceá-los ⁽¹⁷⁾.

Porém, mesmo com as concentrações desbalanceadas, a incorporação dos íons mais reativos pode ocorrer mais rapidamente do que os menos reativos. Outra estratégia possível é a utilização de mais de um ligante para compensar as diferenças de reatividade. Deve-se ressaltar também que polímeros contendo múltiplos grupos carboxilatos ou fosfatos podem conseguir balancear as reatividades ⁽¹⁷⁾. Chen ⁽³⁵⁾ e colaboradores sintetizaram pontos quânticos de CuInS₂/ZnS através de rota coloidal aquosa utilizando glutationa para estabilizar os cátions Cu²⁺ e citrato para os cátions In³⁺, permitindo um melhor balanço do controle composicional. As razões molares Cu²⁺/In³⁺ no núcleo foram similares às aquelas adicionadas de precursores e variaram de 1:1 a 1:12. Percebeu-se que aumentando a razão entre os dois cátions, tanto o espectro de absorção quanto o espectro de emissão se deslocavam para maiores comprimentos de onda (figura 3-9):

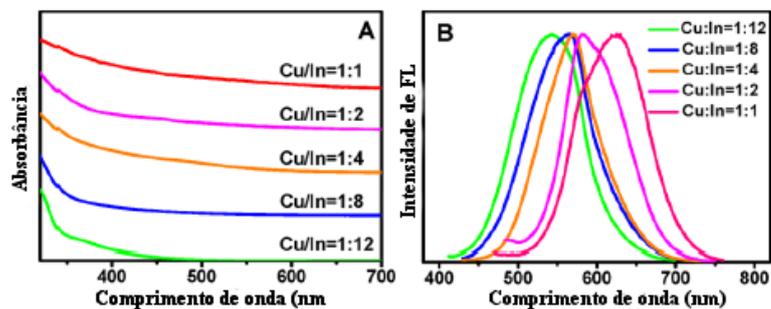


Figura 3-9: Espectros de absorção e emissão para diferentes razões molares Cu/In.

Fonte: (CHEN, 2013)⁽³⁵⁾

3.4. Pontos quânticos de Ag(Cu)InS₂

3.4.1. Pontos quânticos e toxicidade

Devido às suas interessantes propriedades já citadas, os PQ tem sido alvo de numerosas pesquisas para suas aplicações. Foi a utilização desses materiais em meios biológicos que chamou atenção dos cientistas quanto à toxicidade. A maioria dos nanocristais utilizados em medicina e biologia era baseada em cádmio, como CdS, CdTe e CdSe. Métodos de síntese simples, eficazes e consolidados utilizando precursores facilmente disponíveis fizeram com que esses se tornassem populares. É possível mesmo encontrá-los no comércio para aplicações específicas⁽³⁶⁾.

Em meio biológico, estudos mostraram que PQ de cádmio podem se degradar liberando íons tóxicos do metal. A toxicidade *in vivo* depende de diversos fatores como concentração, composição, tamanho, forma e funcionalização da superfície. Pesquisadores consideram que a toxicidade pode ocorrer de duas maneiras: diretamente associada com a partícula intacta e aquela associada com os constituintes. No primeiro caso, tamanho e forma são as características mais interligadas à interação biológica, como por exemplo, alterando a resposta do sistema imunológico. Já no segundo caso, a liberação de íons pode gerar problemas às células e tecidos. Uma vez que a toxicidade dos pontos quânticos depende de vários mecanismos físico-químicos e pode ter variadas origens, torna-se difícil a compreensão de todo o processo⁽³⁶⁾.

Com o aumento do uso dos PQ, aumenta-se também a quantidade das nanopartículas em ambientes aquáticos. Sua concentração é desconhecida, mas a ecotoxicidade relativa, ou seja, os efeitos que produtos químicos podem apresentar em seres vivos é algo importante a ser avaliada. O comportamento ambiental das nanopartículas é influenciado por três processos: transformações físico-químicas, interação macromolecular e reações biointermediadas⁽¹⁰⁾. As transformações físico-químicas são aquelas que ocorrem devido às características abióticas do meio, como pH, força iônica e radiação, que geram fenômenos como agregação, oxidação de espécies e dissolução. A interação macromolecular é quando a nanopartícula interage com polímeros ou biomoléculas presentes no meio, alterando sua biodisponibilidade e ecotoxicidade. Por último, as reações biointermediadas são aquelas em que PQ interagem com organismos modificando a toxicocinética⁽¹⁰⁾.

Estudos indicam que há grande bioacumulação de PQ e ecotoxicidade em microrganismos, vertebrados e invertebrados aquáticos. Sendo essas dependentes das propriedades físico-químicas, condições ambientais, concentração, tempo de exposição e radiação eletromagnética. Devido a problemas relativos às nanopartículas comumente usadas, a comunidade científica voltou-se para a nanoquímica e a engenharia de materiais para sintetizar PQ livre de metais pesados, que possuam características similares àqueles de cádmio e afins, mas que possuam menor toxicidade⁽¹⁰⁾.

3.4.2. Pontos quânticos dos grupos I-III-VI

Nanocristais baseados nos grupos I-III-VI (Cu, Ag, In, S, Se) tem atraído muitas pesquisas desde seu surgimento há 10 anos. Apresentam-se muito promissores para a substituição dos consolidados PQ baseados em cádmio. Permitem diferentes estequiometrias do composto, o que afeta diretamente suas propriedades. Além disso, possuem a grande vantagem de serem menos tóxicos que seus antecessores possuindo metais pesados na composição⁽³⁷⁾.

São materiais com grande disponibilidade, relativo baixo custo, interessantes propriedades intrínsecas como: alto coeficiente de absorção, energias de banda proibida

adequadas às aplicações diversas e baixa condutividade térmica, alta eficiência de conversão e boa fotoestabilidade. A elevada quantidade de precursores disponíveis, bem como a nucleação em solução a temperaturas relativamente baixas, faz com que a síntese seja acessível. As baixas diferenças de eletronegatividades entre os íons metálicos e os calcogênicos, além da possibilidade de ligações metal-metal e calcogênio-calcogênio na estrutura permite a formação de diversas estruturas cristalinas⁽³⁷⁾.

Tendem a ter alta concentração de defeitos (como por exemplo, vacâncias de íons de Ag, que possuem baixa energia de formação). Isso faz com que ocorram recombinações elétron-buraco entre as BV e BC, levando a relaxações não radiativas e reduzindo a luminescência. Assim, ocorre influência sobre o transporte de carga e, conseqüentemente, as propriedades eletrônicas, termoeletrônicas e optoeletrônicas⁽³⁸⁾. A figura 3-10 ilustra a emissão de diferentes PQ do tipo I-III-VI, o tamanho variando entre 2 e 5 nm:

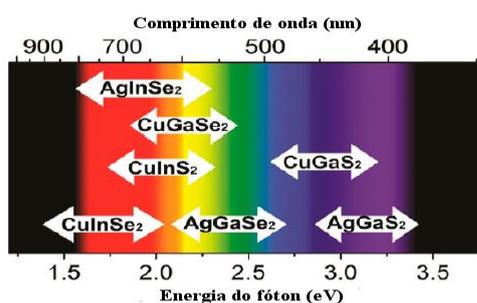


Figura 3-10: Emissão de pontos quânticos dos grupos I-III-VI.

Fonte: (KOLNY-OLESIK, 2013)⁽³⁹⁾

Um exemplo de composto muito pesquisado é o ternário CuInS_2 (CIS). É um semiconductor de gap direto com energia de banda proibida em torno 1,45 eV. Podem exibir três tipos de estruturas cristalinas, de acordo com as condições de síntese: calcopirita (tetragonal), wurtzita (hexagonal) e blenda de zinco (cúbica)⁽³⁹⁾. Outro exemplo, é o composto AgInS_2 (AIS), que é similar ao CIS. Pode existir em duas formas cristalinas: calcopirita e ortorrômbica. Possui energia de banda proibida direta em torno de 1,87 eV. Além do tamanho, a composição pode afetar o a energia de banda proibida. Assim, com o devido controle, a absorção e emissão podem ser ajustadas para a faixa do visível do espectro solar até mesmo o infravermelho próximo (NIR)⁽³⁶⁾.

À medida que se aumenta o número de elementos presentes em um composto (binário, ternário, quaternário), a complexidade da síntese se torna maior. Entretanto, como há numerosas possibilidades de estruturas e substituições, há uma evolução nas propriedades que podem ser configuradas para uma determinada aplicação. Quaternários, como Cu-Ag-In-S, possuem propriedades eletrônicas e estruturais mais complicadas do que binários ou ternários. Porém, como derivam de seus binários (por exemplo, Ag₂S), tendem a ter estruturas similares a esses ⁽³⁸⁾. De maneira geral, as propriedades dos ternários tendem a ser intermediárias às dos binários respectivos. A tabela 3-1 traz dados referentes aos cátions e compostos envolvidos no projeto:

Tabela 3-1: Dados de E_g, estrutura cristalina e K_{ps} de compostos envolvidos no projeto na síntese de PQ de (Zn)Ag-In-S

Composto (<i>bulk</i>)	E _g ^{bulk} (eV)	Estrutura cristalina	K _{ps} (25°C)
Ag ₂ S	1,1 ⁽⁴⁰⁾	Cúbica (JCPDS #76-0134) Monoclínica (JCPDS #75-1061)	3,0 x 10 ⁻⁵⁰ ⁽⁴¹⁾
	1,0 ⁽⁴²⁾		
	1,1 ⁽⁴³⁾		
In ₂ S ₃	2,0 - 2,3 ⁽⁴⁴⁾	Tetragonal (JCPDS #73-1366)	6,0 x 10 ⁻⁷⁶ ⁽⁴¹⁾
	2,0 - 2,2 ⁽⁴⁵⁾	Romboédrica (JCPDS #71-1813)	
	2,1 ⁽⁴⁶⁾	Cúbica (JCPDS #32-0456)	
AgInS ₂	1,85 ⁽⁴⁷⁾	Romboédrica (JCPDS #75-2379)	-
	1,87 ⁽⁴⁸⁾	Tetragonal (JCPDS #75-0117)	
	1,86 - 2,04 ⁽⁴⁹⁾	Ortorrômbica (JCPDS #25-1328)	
ZnS	3,2 ⁽⁵⁰⁾	Cúbica (JCPDS #77-2100) Hexagonal (JCPDS #72-0163)	3 x 10 ⁻²⁵ ⁽⁴¹⁾
	3,56 - 3,76 ⁽⁵¹⁾		
	3,61 ⁽¹²⁾		

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Materiais

- Nitrato de prata: AgNO_3 (Synth, Brasil, 99,9%);
- Nitrato de índio hidratado: $\text{In}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, EUA, In = 28,5 % m/m);
- Nitrato de zinco hidratado: $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, EUA, > 98%);
- Sulfeto de sódio hidratado: $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Synth, Brasil, > 98 %);
- Carboximetilcelulose de sódio (Sigma-Aldrich, EUA, grau de substituição (DS): 0,7 e 1,2, massa molecular média 250 kDa, viscosidade média: 180 cps, 4% em H_2O a 25 °C);
- Hidróxido de sódio: NaOH (Synth, Brasil, 99 %);
- Ácido nítrico: HNO_3 (Sigma-Aldrich, EUA, 65 % v/v);
- Ácido clorídrico: HCl (Sigma-Aldrich, 37 %)
- Água deionizada (DI) (Milipore simplicity™, resistividade de 18 $\text{m}\Omega \cdot \text{cm}$);
- Brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium (Sigma-Aldrich, EUA, > 98%);
- Triton™ X-100 (Sigma-Aldrich, EUA, > 98%);
- Meio eagle dulbecco modificado (DMEM, Gibco BRL, EUA);
- Soro fetal bovino (SFB, Gibco BRL, EUA);
- Sulfato de estreptomicina (Gibco BRL, EUA);
- Penicilina G sódica (Gibco BRL, EUA);
- Anfotericina B (Gibco BRL, EUA);
- Tampão fosfato salino (Gibco BRL, EUA);
- Hydromount (Fisher Scientific Ltd., UK);
- Células de rim de embrião humano (HEK 293T, American Type Culture Collection, ATCC® CRL-1573™) gentilmente cedidas pela Prof. M.F Leite do Departamento de Fisiologia e Biofísica, UFMG;
- Células de glioma humano (U-87 MG) adquiridas do banco de células do Rio de Janeiro (ATCC® HTB-14™, Brasil);

4.2. Síntese dos pontos quânticos

O fluxograma da figura 4-1 apresenta um esquema do procedimento experimental. Todas as sínteses foram realizadas, pelo menos, em duplicata:

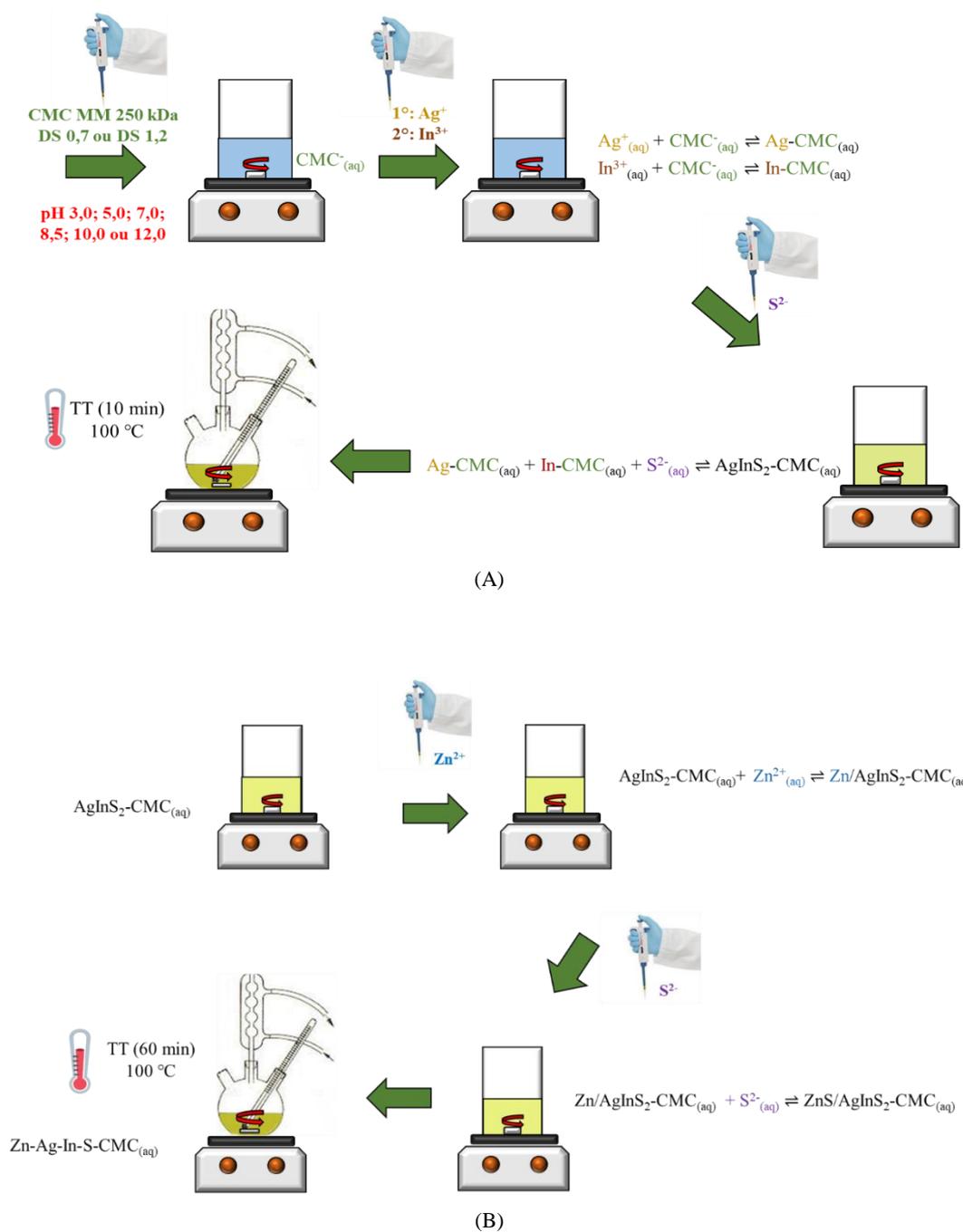


Figura 4-1: Representação esquemática da metodologia: síntese de PQ de AIS com variação de DS e pH (A) e síntese de PQ de ZAIS (B).

4.2.1. Síntese de pontos quânticos de Ag-In-S com variação do grau de substituição da carboximetilcelulose e do pH do meio

A síntese dos PQ foi baseada na metodologia desenvolvida por Mansur e colaboradores⁽¹²⁾. A escolha da proporção entre os íons precursores se deu através da literatura, sendo a razão Ag:In:S de 1:4:6,5 aquela que apresentou a maior intensidade de fotoluminescência^(12,52). Na primeira etapa, as soluções dos precursores foram preparadas à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) e com a utilização de água deionizada, observando-se as seguintes concentrações (tabela 4-1):

Tabela 4-1: Concentração das soluções precursoras.

Reagente	Concentração
AgNO ₃ , In(NO ₃) ₃ .xH ₂ O, Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O, Cu(NO ₃) ₂ .3H ₂ O e Na ₂ S.9H ₂ O	10 ⁻² mol.L ⁻¹
CMC	0,1 % m/V
NaOH e HNO ₃	1,0 mol.L ⁻¹

Após preparadas as soluções, em um béquer, foram adicionados 2,0 mL da dispersão de CMC (DS 0,7 ou DS 1,2) e 48,0 mL de água deionizada. Ajustou-se o pH do meio para aproximadamente 5,0, 7,0, 8,5, 10,0 ou 12,0 com auxílio das soluções de HNO₃ e NaOH. Sob agitação intensa e à temperatura ambiente, adicionaram-se rapidamente (< 5 s) 330 µL da solução de AgNO₃ e 1330 µL da solução de In(NO₃)₂.xH₂O. Manteve-se a agitação por mais 1 min. Então, foram adicionados 2160 µL da solução de Na₂S.9H₂O rapidamente (< 5 s). Manteve-se a agitação por mais 10 min após término da adição. Posteriormente, transferiu-se a solução para um balão tritubulado de fundo chato e o conjunto foi aquecido por 10 min a 100 ± 5 °C. Aguardou-se o resfriamento do sistema até a temperatura ambiente e a amostra foi reservada para uso futuro.

4.2.2. Síntese de pontos quânticos de Zn-Ag-In-S

A suspensão coloidal de PQ de AIS sintetizada no item anterior foi reservada por 24 h à temperatura ambiente. Então, sob agitação vigorosa, adicionaram-se 1250 µL da solução

de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ sob gotejamento. Posteriormente, foram adicionados 1250 μL da solução de $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ também sob gotejamento. Manteve-se agitação vigorosa por 20 min após término da adição. Em seguida, aqueceu-se a solução resultante, sob agitação vigorosa, a 100 ± 5 °C por 1 h. Esperou-se esfriar e reservou-se para uso futuro.

4.3. Caracterização

- UV-Vis: equipamento Lambda EZ-210 (Perkin-Elmer, EUA). Medidas no modo transmissão, com amostras sem preparação prévia, em cubeta de quartzo e varredura entre 700 e 190 nm;
- Câmara escura: aparelho BOIT-GAB02 ($\lambda_{\text{exc}} = 365$ nm, 6 W, Boitton Instrumentos, Brasil). As soluções de PQ foram iluminadas por lâmpada UV ($\lambda_{\text{exc}} = 365$ nm) para coleta de imagens de sua luminescência;
- PL: equipamento FluoroMax-Plus-CP (Horiba, Japão). Medidas à temperatura ambiente, com amostras sem preparação prévia, em cubeta de quartzo com laser de diodo: $\lambda_{\text{exc}} = 250$ a 500 nm, $\lambda_{\text{em}} = 250$ a 1000 nm e slit = 2,0 nm. O rendimento quântico foi medido através do procedimento que utiliza, como padrão, a Rodamina 6G (Sigma, EUA) em etanol com excitação $\lambda_{\text{exc}} = 488$ nm⁽⁵³⁾. O tempo de decaimento foi medido com excitação das amostras em 620 nm;
- ZP e DLS: equipamento ZetaPlus (Brookhaven Instruments Corporation, EUA, laser vermelho de 35 mW, $\lambda = 660$ nm). Medidas à temperatura ambiente, com amostras sem preparação prévia, sob aproximação Smoluchowski e 50 repetições (cinco medições de 10 ciclos) foram escolhidas para uma boa reprodutibilidade;
- FTIR: equipamento Nicolet 6700 (Thermo Fisch, EUA). As amostras foram analisadas por refletância total atenuada (ATR) (4000-500 cm^{-1} , 64 varreduras e resolução de 2 cm^{-1}). Para preparo das amostras, concentrou-se a solução de pontos quânticos em filtro Amicon Ultra Filter (Millipore, Irlanda). Posteriormente, pingou-se uma gota em lâmina de vidro com intuito de formação de filme, deixando-se secar por 24 h a 40 ± 1 °C;
- XRF: equipamento Supermini 200 (Rigaku, Japão, Software ZSX, tensão de 50 kV, corrente de 4 mA e potência de 200 W). Medidas por dispersão em comprimento de onda à temperatura de 20 ± 2 °C e umidade controlada. As amostras foram concentradas

em filtro Amicon Ultra Filter (Millipore, Irlanda) com membrana celulósica de corte 100 kDa. Posteriormente, pingaram-se 100 μL das soluções concentradas sobre filtro Microcarry (Rigaku, Japan), no qual uma área de 0,09 cm^2 é avaliada e posterior secagem por 24 h a 40 ± 1 °C;

- XRD: difratômetro PANalytical Empyrean (Reino Unido, radiação Cu-K α com $\lambda = 1.5406$ Å). Medidas foram realizadas entre 6,0021 e 89,9861 ° (2θ) com passo de 0,004 °. Para preparo da amostra, colocou-se 50 mL da solução diluída dos PQ em estufa a 40 ± 1 °C até que o volume restante fosse de aproximadamente 2 mL. Posteriormente, gotas da solução concentrada foram depositadas em lâmina de vidro com posterior secagem em estufa a 40 ± 1 °C;

- TEM e EDS: equipamento Tecnai-G2-20-FEI (FEI Company, EUA). Microscópio sob tensão de aceleração de 200 kV. Para preparo da amostra, 400 μL da solução diluída foi concentrada em filtro Amicon Ultra Filter (Millipore, Irlanda) com membrana celulósica de corte 100 kDa. Procedeu-se então a lavagem com água deionizada da solução concentrada por três vezes e finalmente o volume foi completado novamente para o volume inicial. Então, foi colocada alíquota da última em grade de cobre coberta com carbono e secou-se à temperatura ambiente por 12 h. O tamanho das nanopartículas, bem como sua distribuição foram obtidos medindo, no mínimo, 100 partículas aleatórias utilizando o programa de processamento DigitalMicrograph (Gatan, EUA).

Os resultados numéricos provindos das caracterizações foram tratados estatisticamente com cálculo de média e desvio padrão. Em alguns casos, a análise de variância (ANOVA) de fator único foi também realizada afim de se verificar similaridade entre valores.

4.4. Ensaios biológicos

Visando-se possíveis aplicações no campo biomédico dos nanoconjugados sintetizados, alguns ensaios biológicos foram feitos. Todos os experimentos foram realizados de acordo com a norma ISO 10993-5:2009/(R)2014 (*Biological evaluation of medical devices: tests for in vitro cytotoxicity*) utilizando linhagem celular renal de cultura embrionária humana (HEK 293T) e células malignas de glioma (U-87 MG). As amostras

AIS e ZAIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 7,0 foram escolhidas para serem utilizadas nestes ensaios.

4.4.1. Cultura celular

As células HEK 293T (passagem 21) e U-87 MG (passagem 29) foram cultivadas em meio DMEM com 10% de FBS, penicilina G sódica (10 unidades.mL⁻¹), sulfato de estreptomicina (10 mg.mL⁻¹) e anfotericina b (0,025 mg.mL⁻¹) em atmosfera úmida de 5% de CO₂ a 37 ° C.

4.4.2. Avaliação da citotoxicidade via ensaio de viabilidade celular MTT

Testes de MTT foram realizados para avaliar a toxicidade das dispersões de PQ. As células HEK 293T e U-87 MG foram plaqueadas (1 x 10⁴ células/poços) em placas de 96 poços. Então, as populações celulares foram sincronizadas em meio isento de soro por 24 h. A seguir, o volume do meio foi aspirado e substituído por meio DMEM contendo 10% de FBS. As soluções coloidais de AIS e ZAIS foram adicionadas aos poços individuais atingindo as concentrações finais de 2,5 nmol·L⁻¹ de nanopartículas (\cong 1,0 mg.mL⁻¹). Para o ensaio de MTT, as amostras de controle foram planejadas do seguinte modo: grupo de controle (cultura celular com meio DMEM), controle positivo (Triton™ X-100 a 1,0% V/V em PBS) e controle negativo (chips de polipropileno estéril Eppendorf, 1,0 mg.mL⁻¹, Eppendorf, Alemanha). Após 24 h, o meio foi aspirado e substituído por 60 µL de meio de cultura contendo soro em cada poço e as imagens das células foram adquiridas em um microscópio invertido Leica DMIL LED (Leica, Alemanha). Em seguida, 50 µL do reagente MTT (5,0 mg.mL⁻¹) foram adicionados a cada poço com posterior incubação por 4h em estufa com 5% de CO₂ a 37 ° C. Depois, 40 µL de solução de SDS/4% de HCl foram colocados em cada poço e incubados por 16 h em estufa com 5% de CO₂ a 37 ° C. Posteriormente, 100 µL foram removidos de cada poço e transferidos para uma placa de 96 poços. A absorbância foi quantificada a 595 nm em um leitor de microplacas iMark™ (Bio-Rad, EUA) com filtro de 595 nm. A percentagem de viabilidade celular foi calculada de acordo com a equação 4-1. Os valores dos controles (poços apenas com células) foram definidos para 100% de viabilidade celular.

$$\text{Viabilidade celular} = \frac{(\text{absorbância da amostra e células})}{(\text{absorbância do controle})} \times 100 \% \quad (\text{Equação 4-1})$$

4.4.3. Ensaio de internalização celular dos nanoconjugados

A avaliação dos conjugados de PQ como nanosondas biológicas fluorescentes foi realizada utilizando-se de microscopia confocal, ao expor as células HEK 293 T e U-87 MG aos nanoconjugados AIS e ZAIS. Células HEK 293 T (passagem 23) e U-87 MG (passagem 32) foram plaqueadas (5×10^5 células/poço) em placa de 6 poços. Em seguida, as populações celulares foram sincronizadas em meio isento de soro por 24 horas em 5% de CO₂ a 37 ° C. Para o controle de referência, as células foram incubadas apenas com o meio original com 10% de FBS (autofluorescência). Posteriormente, adicionaram-se às células, as soluções coloidais dos PQ (500 µL) em 500 µL de meio de cultura (DMEM com 10% de FBS) e o conjunto foi incubado em 5 % de CO₂ a 37 ° C durante 1 h. Na sequência, as células foram fixadas com paraformaldeído (4%) por 30 min e lavadas três vezes com PBS e as lamínulas foram montadas com Hydromount. As imagens foram obtidas em um microscópio confocal Zeiss LSM Meta 510 (Carl Zeiss, Alemanha) usando lente objetiva de imersão em água 63 x (objetiva 1,4 NA). Para os PQ de AIS, a excitação foi em $\lambda_{\text{exc}} = 568$ nm e com emissão detectada em LP (low-pass filter) = 585 nm. Para os PQ de ZAIS, o laser de argônio foi usado para excitar em $\lambda_{\text{exc}} = 488$ nm e a emissão foi coletada em 505 - 550nm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese de pontos quânticos de Ag-In-S com variação do pH e do DS da carboximetilcelulose

5.1.1. Análise organoléptica

As figuras 5-1 e 5-2 trazem imagens das soluções de PQ estabilizadas pelos dois DSs da CMC em diferentes pHs:



Figura 5-1: Foto digital de soluções de PQ de AIS sob luz ambiente em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 0,7.



Figura 5-2: Foto digital de soluções de PQ de AIS sob luz ambiente em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 1,2.

Observa-se que todas as amostras possuem aparência igual, com ausência de precipitados e coloração homogênea amarelo amarronzada. Ressalta-se ainda que as amostras em pH 5,0 (DS 0,7 e DS 1,2) possuíam odor característico de ácido sulfídrico (H_2S). A provável formação de H_2S foi devida ao deslocamento do equilíbrio de ionização/(des)ionização do enxofre em meio aquoso (Le Chatelier)^(54,55) (equações 5-1 a 5-4):





Além disso, os pHs inicial e final de síntese foram medidos, conforme tabela 5-1:

Tabela 5-1: pH inicial e final de síntese.

DS	pH	pH ⁰	pH ^f	DS	pH	pH ⁰	pH ^f
0,7	5,0	4,9 ± 0,1	5,2 ± 0,1	1,2	5,0	5,0 ± 0,1	5,4 ± 0,1
	7,0	7,2 ± 0,1	6,2 ± 0,1		7,0	7,2 ± 0,1	6,7 ± 0,1
	8,5	8,6 ± 0,1	6,4 ± 0,1		8,5	8,6 ± 0,1	6,8 ± 0,1
	10,0	10,0 ± 0,1	6,9 ± 0,1		10,0	10,0 ± 0,1	7,0 ± 0,1
	12,0	12,0 ± 0,1	11,6 ± 0,3		12,0	12,0 ± 0,1	12,0 ± 0,1

É interessante notar que nas sínteses em pHs 8,5 e 10,0, para os dois DSs, ocorreu uma variação significativa entre os pHs inicial e final. Tal queda foi devida à interação do polímero com as hidroxilas do meio, sendo evidenciada através de experimentos paralelos em que o pH de soluções de CMC, com concentração semelhante à síntese do AIS, foi ajustado e posteriormente verificado. A CMC, como já dito anteriormente, em meio acima do seu pKa, possui os grupos carboxílicos, em maioria, sob a forma de carboxilatos, ou seja, desprotonados. Entretanto, pela própria definição da constante de acidez (equação 5-4), há ainda a presença de grupos protonados, uma vez que o que ocorre é o desbalanceamento entre o ácido e a base de Brönsted-Lowry correspondentes. Sendo assim, ocorreria reação entre os íons H⁺ provindos dos carboxilatos com as hidroxilas do meio (equação 5-5). Tal reação pode ocorrer de maneira não imediata, uma vez que a CMC possui uma grande cadeia e o enovelamento do polímero pode afetar sua interação com o meio. Em pH 12,0, entretanto, devido à alta concentração de OH⁻, não se observou a queda de pH.

$$K_a = \frac{[\text{COO}^{-}][\text{H}_3\text{O}^{+}]}{[\text{COOH}]} \quad (\text{Equação 5-4})$$



Posteriormente, as amostras foram inseridas na câmara escura ficando expostas à iluminação UV ($\lambda_{exc} = 365 \text{ nm}$). Fotos digitais foram feitas sob as mesmas condições de equipamento, tempo de exposição, abertura e velocidade do obturador (figuras 5-3 e 5-4):



Figura 5-3: Foto digital de soluções de PQ sob luz UV em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 0,7.



Figura 5-4: Foto digital de soluções de PQ sob luz UV em diferentes pHs estabilizados pela CMC DS 1,2.

Todas as amostras apresentaram luminescência com coloração laranja avermelhado, aparentemente com diferenças de intensidade. As imagens foram uma primeira sugestão de que tanto o DS quanto o pH tiveram influência na emissão dos PQ de AIS.

5.1.2. Espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-Vis)

O ensaio de UV-Vis é um dos principais testes utilizados na síntese de PQ, uma vez que pode atestar a formação das nanopartículas desejadas. Primeiramente, foram realizadas medidas de absorção de cada um dos precursores na concentração que estariam na síntese do AIS com o intuito de se obter as curvas dos brancos. As condições escolhidas foram de CMC DS 1,2 e pH 7,0 (figura 5-5). Verificou-se que a absorção dos precursores na faixa de comprimentos de onda analisada é nula, com exceção do enxofre que começa a apresentar absorção na região próxima a 275 nm.

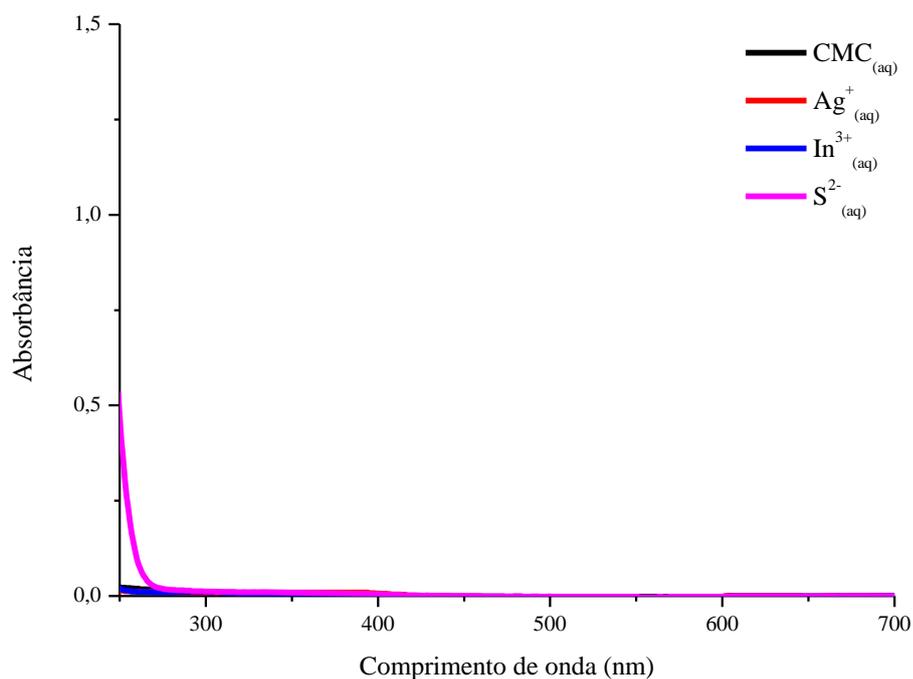


Figura 5-5: Espectro de absorção dos precursores de AIS e CMC (curvas de branco)

Posteriormente, os espectros de absorção das nanopartículas sintetizadas em pH 5,0, 7,0, 8,5, 10,0 e 12,0 estabilizadas por CMC DS 0,7 (figura 5-6) e CMC DS 1,2 (figura 5-7) foram registrados:

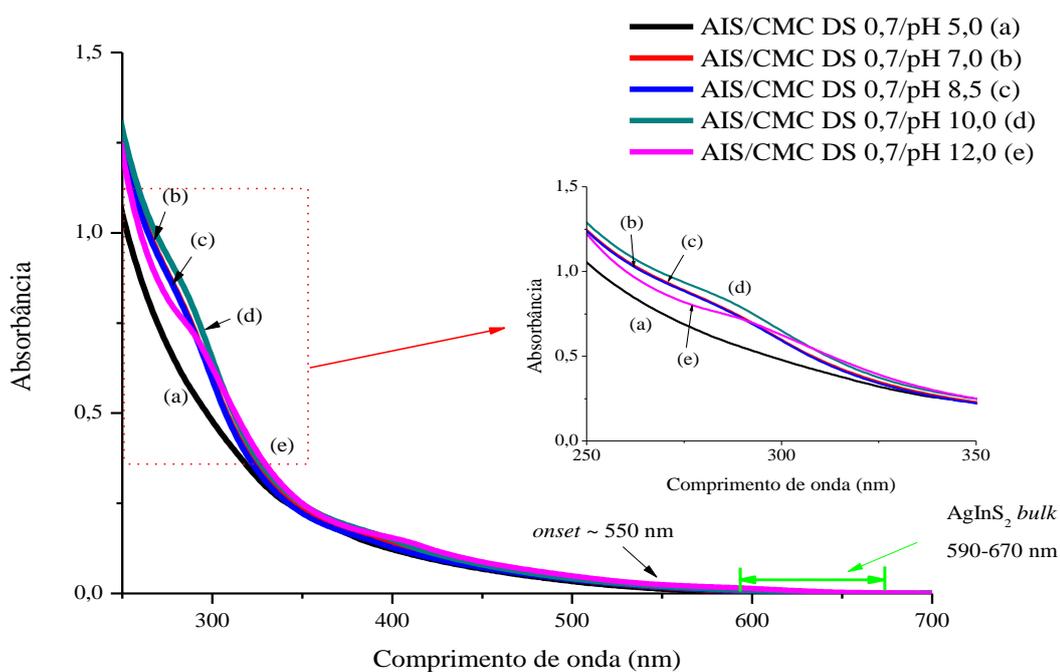


Figura 5-6: Espectro de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).

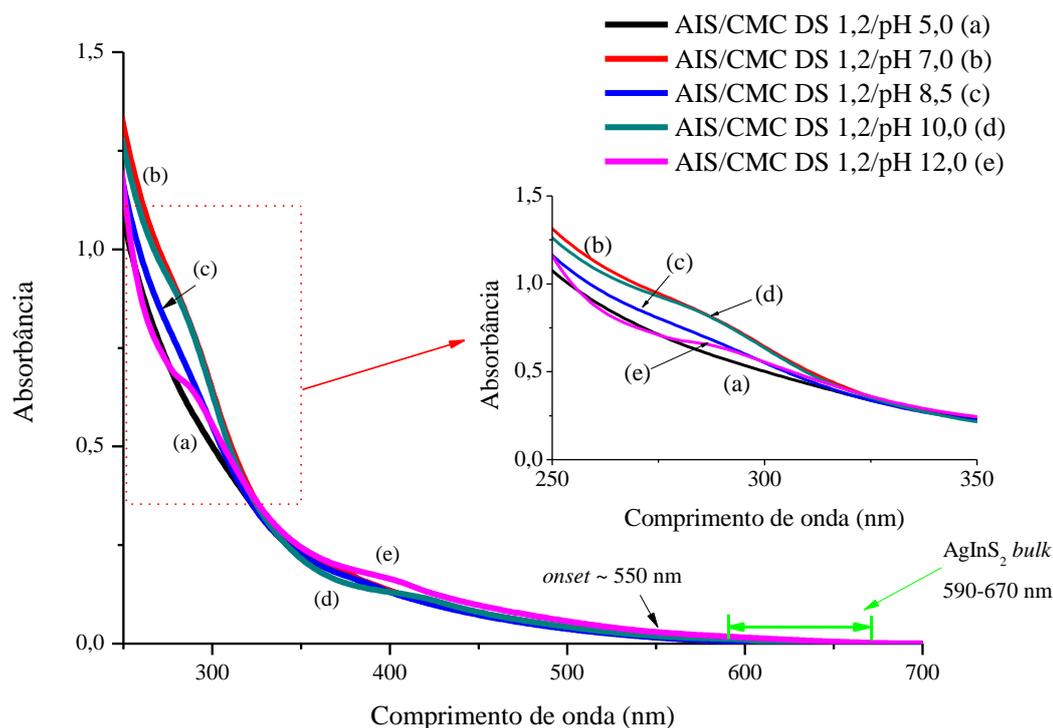


Figura 5-7: Espectro de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).

Para os dois DSs e para todos os pHs, observam-se espectros largos, em que a intensidade de absorbância diminui para maiores comprimentos de onda, além da ausência de pico de absorção. O *onset* das curvas, ou seja, o comprimento de onda em que se inicia a absorção ocorre em aproximadamente, 550 nm (2,3 eV). Tal aspecto já foi reportado na literatura para PQ de AIS^(12,47,56) e pode ser associado tanto à distribuição de tamanhos das nanopartículas⁽¹²⁾, como também a transições intra *band gap* que ocorrem devido a estados de defeitos intrínsecos ao material, mascarando a transição excitônica^(57,58).

Como hipótese inicial, foi considerado que a variação do pH alteraria o processo de nucleação e crescimento das nanopartículas e, conseqüentemente, a distribuição de tamanhos das mesmas. A similaridade entre as curvas das figuras 5-6 e 5-7 pode ter ocorrido devido à atuação da CMC como agente estabilizante. Sendo um polímero sensível ao pH, acima de seu pKa ($\cong 4,3$ ⁽¹²⁾), os grupamentos carboxílicos estão, em maioria, sob a forma de carboxilatos⁽²⁰⁾ (equação 5-6):



Uma das funções do ligante é controlar a cinética de nucleação e crescimento das nanopartículas. Considerando este processo dividido em três etapas, tem-se: (a) aumento da concentração dos monômeros formadores dos PQ quando os precursores são adicionados, (b) rápida nucleação com formação de “embriões” das nanopartículas e, por fim, (c) crescimento das partículas formadas. Os dois primeiros estágios (a e b) são dependentes da concentração das espécies envolvidas. Sendo assim, é necessária a supersaturação do meio através de reações químicas que formam compostos com baixo produto de solubilidade⁽⁵⁹⁾. No caso do sistema AIS, o Ag₂S tem K_{ps} igual a $3,0 \times 10^{-50}$ ⁽⁴¹⁾ e o In₂S₃ igual a $6,0 \times 10^{-76}$ ⁽⁴¹⁾. Deve-se ressaltar ainda que quanto maior o número de íons envolvidos no meio, maior a complexidade do sistema, visto que pode haver coprecipitação de diferentes espécies⁽³²⁾. O estágio c é o mais afetado pela presença do ligante. As interações entre o ligante e os embriões formados no segundo estágio são mais fortes do que a tendência à agregação, portanto, a fase de crescimento fica limitada. Nessa última fase, o crescimento se dá através da difusão das espécies envolvidas⁽⁵⁹⁾. Ligantes fortes são capazes de limitar a difusão e balancear a reatividade dos cátions, bem como evitar a própria dessorção da superfície de uma nanopartícula formada, gerando partículas estáveis⁽⁶⁰⁾. Tal força é provinda da ação de agentes quelantes capazes de se ligarem eficientemente aos átomos da superfície das nanopartículas, ou seja, maior a quantidade de grupos capazes de interagir com as partículas, maior a força do ligante⁽¹⁷⁾. Além disso, macromoléculas contendo múltiplos grupamentos carboxílicos, são eficientes estabilizantes, uma vez que agem como ligantes fortes através de interações eletrostáticas entre os carboxilatos e as nanopartículas^(17,60,61). Com base nessa ideia, sugere-se que pelo fato de a CMC possuir uma longa cadeia polimérica, com diversos grupamentos carboxilatos, a estabilização promovida por ela foi eficiente para não ser afetada pela variação de pH do meio (pH > pK_a da CMC). Ou seja, a CMC atuou de maneira semelhante na fase de crescimento das partículas, independente do pH. Além da ação dos carboxilatos, há também o efeito do tamanho da cadeia, gerando impedimento estérico e melhora da estabilização⁽⁶¹⁾.

Pode-se observar que os espectros de absorção das figuras 5-6 e 5-7 apresentam praticamente sobreposição até a região em torno de 300 nm (4,1 eV). Diferenças na região abaixo de 300 nm podem ser devidas à formação de fases secundárias além do composto

ternário desejado (AIS), como por exemplo, os sulfetos binários Ag_2S e In_2S_3 , gerando estas flutuações dependendo da proporção entre tais. Entretanto, não é possível distinguir aspectos nas curvas que possam ser inferidas à presença destes compostos, visto que na literatura, os espectros de UV-Vis dos mesmos também se apresentam com forma larga e sem pico de absorção^(62,63,64,65). A possível formação dos binários provavelmente ocorreu tanto devido ao excesso de In e S no sistema, sendo a Ag o reagente limitante, quanto ao próprio rendimento da reação formadora do ternário, que pode não ter sido 100 %. Para fins comparativos, foi realizada a síntese de PQ de Ag_2S e In_2S_3 sob condições similares àquelas das nanopartículas de AIS em pH 7,0 com a CMC DS 1,2. A figura 5-8 apresenta o espectro de absorção dos binários em questão. Verifica-se que o *onset* para o Ag_2S está em torno de 650 nm (1,9 eV), enquanto para o In_2S_3 próximo a 450 nm (2,8 eV). Nota-se então que os valores de *onset* referentes aos PQ de AIS, em diferentes condições de pH, se encontram entre esses dois extremos, o que é esperado, uma vez que se trata de uma liga dos dois compostos. Além disso, pode-se observar uma diferença de aspecto nas curvas dos binários, que provavelmente gerou as flutuações, antes reportadas, na região próxima a 300 nm.

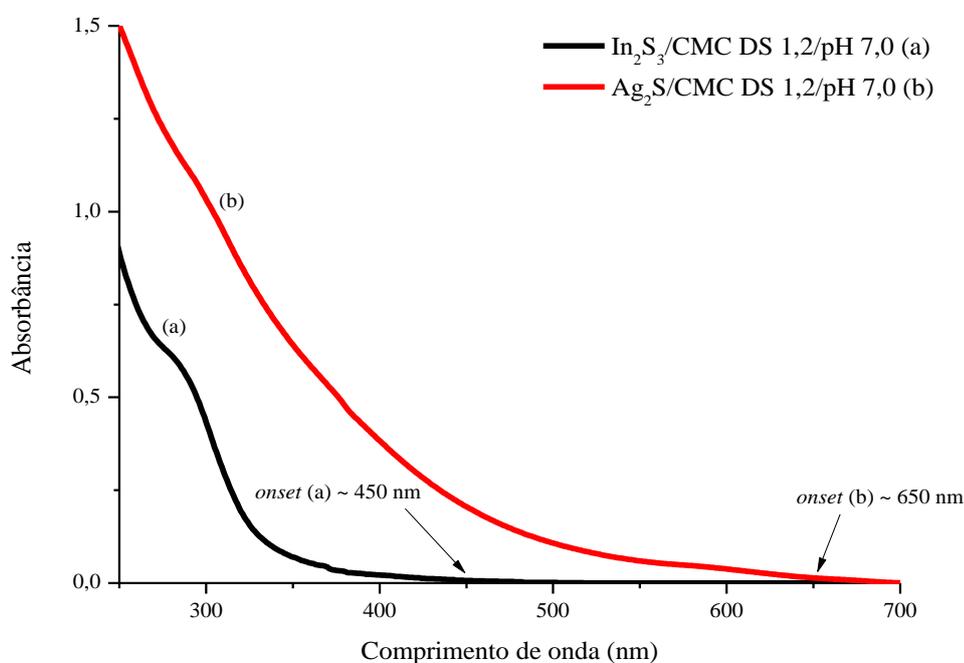


Figura 5-8: Espectro de absorção de PQ de In_2S_3 (a) e Ag_2S (b) estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 7,0

Considerando a influência do DS da CMC, as figuras de 5-9 a 5-13 trazem a comparação entre os espectros de absorção de cada pH para os dois graus de substituição estudados:

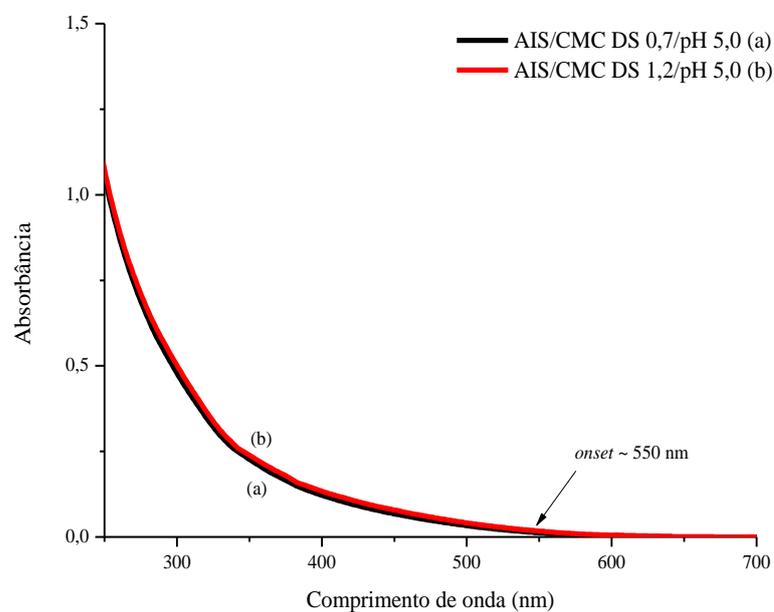


Figura 5-9: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 (a) e DS 1,2 (b) em pH 5,0

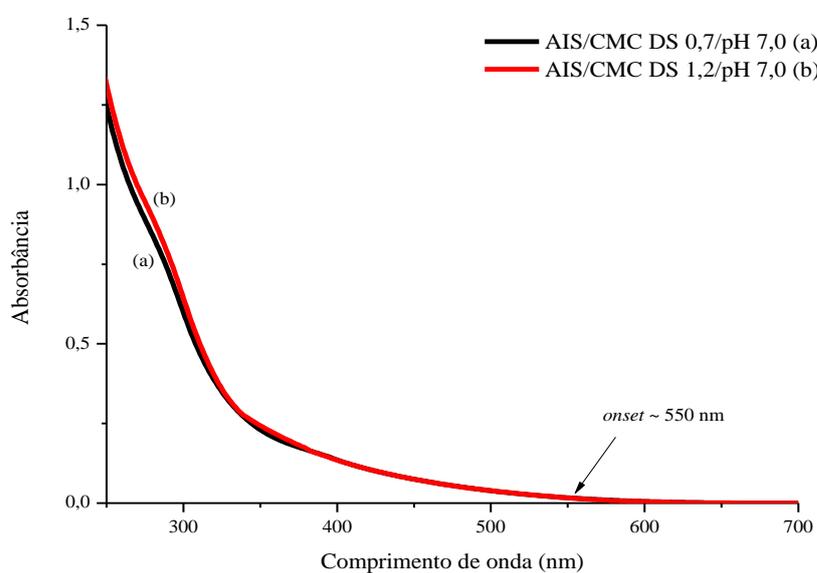


Figura 5-10: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 7,0

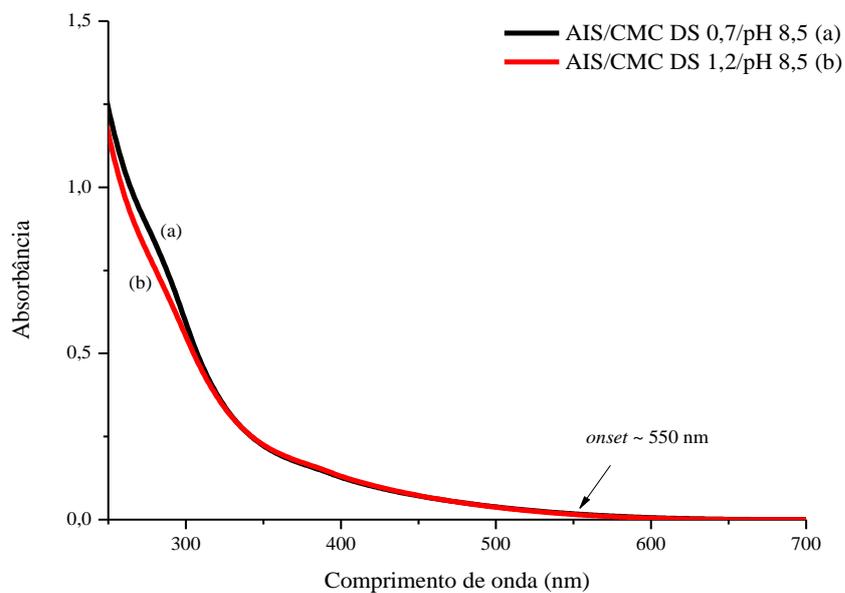


Figura 5-11: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 8,5

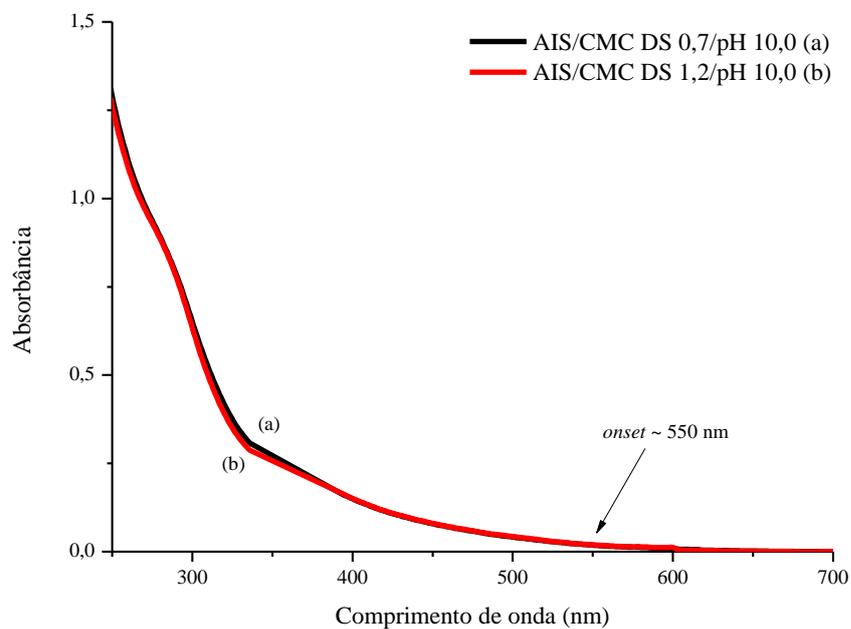


Figura 5-12: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 10,0

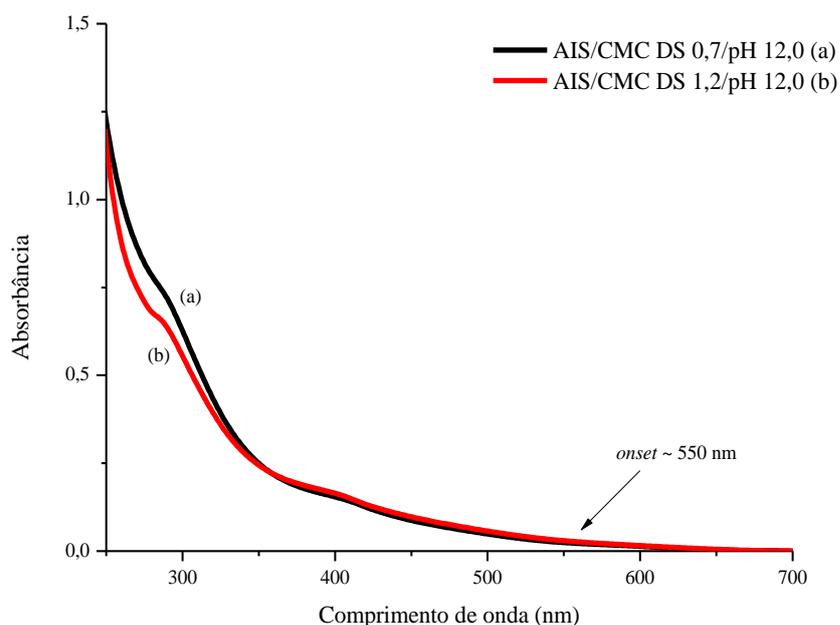


Figura 5-13: Espectros de absorção de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 e DS 1,2 em pH 12,0

Nota-se que não há diferença significativa entre os espectros para os pHs de 5,0 a 10,0, sugerindo que o DS teve pequena influência sobre a distribuição de tamanhos das nanopartículas. Considerando que a CMC é um polímero de cadeia longa possuindo diversos grupamentos carboxílicos, a regência da cinética de nucleação e crescimento bem como a estabilização podem ter ocorrido de maneira efetiva o suficiente com o DS 0,7, que o aumento da quantidade de carboxilatos presente no DS 1,2 não provocou efeito pronunciado ⁽⁶⁶⁾. Ou seja, no que diz respeito à distribuição de tamanhos, pode-se ter atingido uma condição limite de estabilização com a CMC DS 0,7 ^(17,61). Já em relação ao pH 12,0, observa-se uma pequena diferença de intensidade de absorção na região entre 325 (3,8 eV) e 275 nm (4,5 eV). Tal diferença pode ser devida à formação de compostos secundários em diferentes proporções, o que não invalida a baixa influência do DS sobre a nucleação e crescimento dos pontos quânticos. Estes resultados elucidam a ação da CMC como agente estabilizante dos PQ de AIS. A presença de múltiplos carboxilatos, que funcionam como agentes quelantes, garante uma eficiente estabilização das partículas pouco influenciada pelo pH e pelo DS.

Utilizando os espectros de UV-Vis e através do método gráfico de Tauc ⁽⁶⁷⁾, estimou-se os valores de energia de *band gap* (E_g) dos PQ sintetizados (figuras 5-14 e 5-15):

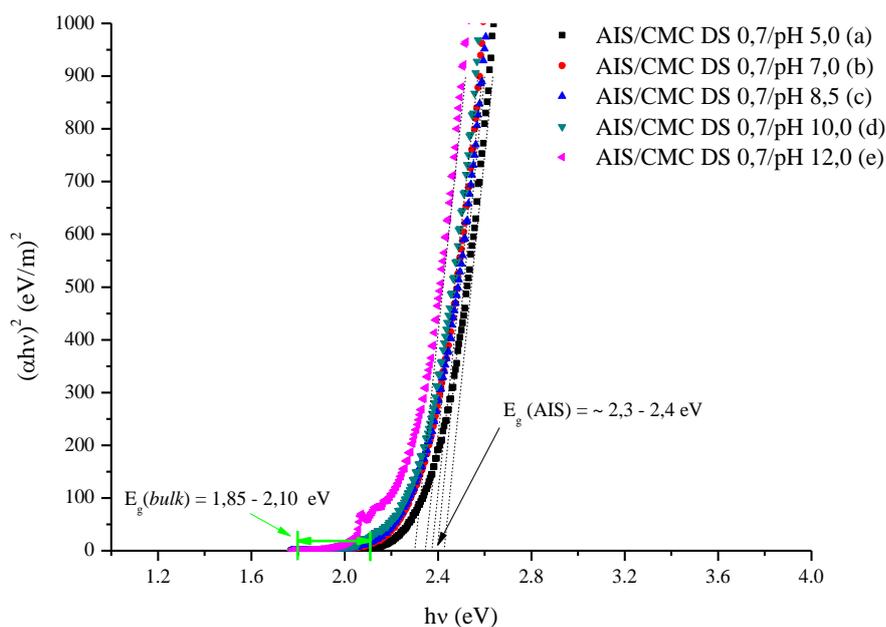


Figura 5-14: Espectros de absorção óptica (Relação de Tauc) de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).

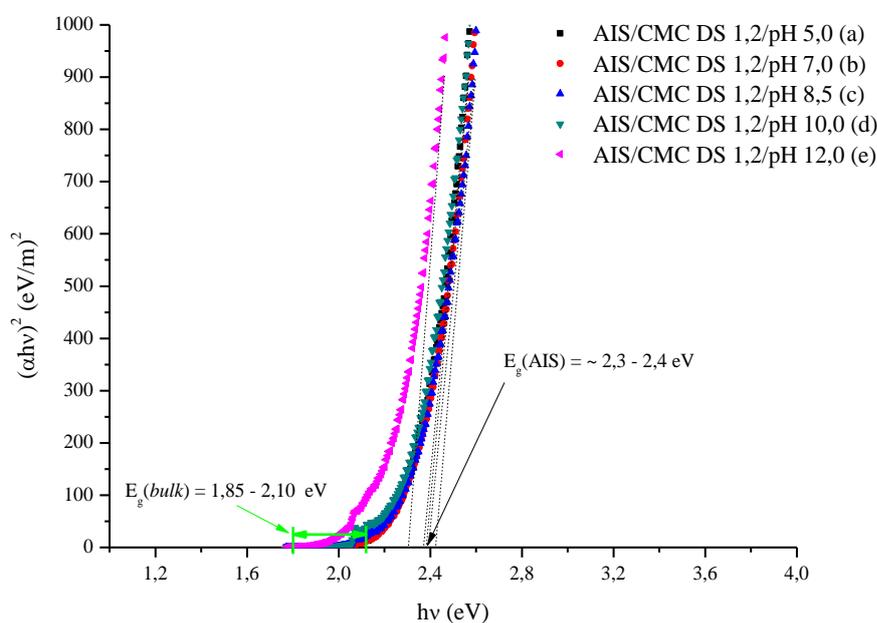


Figura 5-15: Espectros de absorção óptica (Relação de Tauc) de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).

A figura 5-16 traz uma comparação sob a forma gráfica dos valores de E_g estimados, evidenciando a pequena variação entre eles:

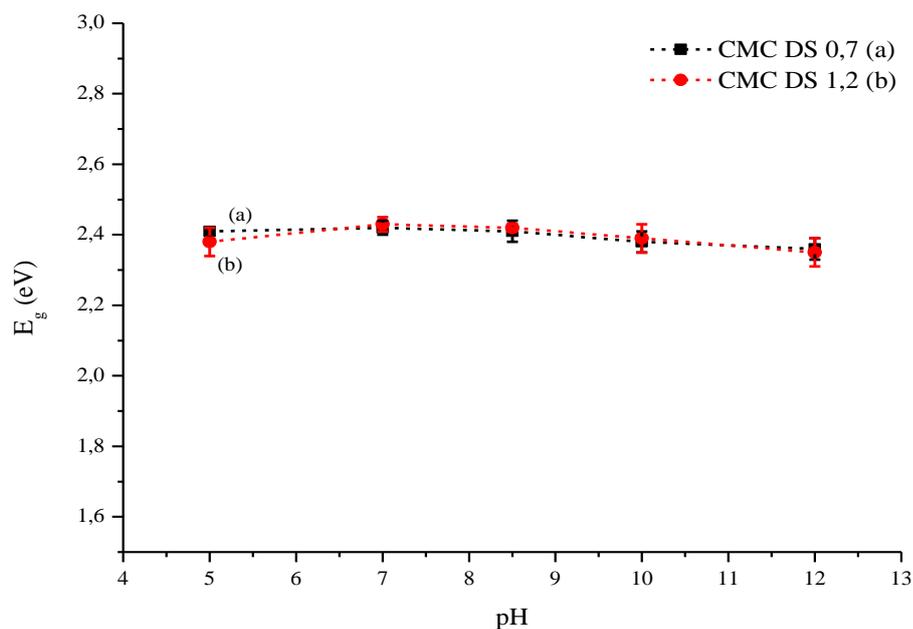


Figura 5-16: E_g dos PQ de AIS em função do pH de síntese e do DS da CMC.

AIS (AgInS_2) é um semiconductor de *gap* direto com energias de banda proibida para o sólido estendido (*bulk*) variando entre 1,85 e 2,10 eV, de acordo com sua estrutura cristalina⁽¹²⁾. Para todos os pHs e considerando os dois graus de substituição da CMC, os valores de E_g estimados são superiores à faixa de energia de *band gap* do *bulk*, esse aumento ocorreu devido à formação de PQ e ao efeito do confinamento quântico⁽²⁾. Para fins comparativos, os valores de E_g dos *bulk* dos sulfetos correspondentes aos cátions são respectivamente 1,0 - 1,1 eV (Ag_2S) e 2,0 - 2,3 eV (In_2S_3)^(40,42,44), evidenciando que os valores estimados estão também acima desses.

Percebe-se que os valores obtidos de E_g são similares, o que já era esperado, uma vez que a região do espectro de UV-Vis utilizada para a estimativa (*onset*) é similar em todos os pHs e DSs. Para verificar se é verdadeira a hipótese de que tais valores não possuem diferenças estatísticas significativas, o teste de variância (ANOVA) foi realizado (tabelas 5-2 e 5-3):

Tabela 5-2: Análise ANOVA das E_g de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F _{crítico}
Entre grupos	0,00434	4	0,00108	1,10714	0,44527	5,19217
Dentro dos grupos	0,0049	5	0,00098			
Total	0,0924	9				

Tabela 5-3: Análise ANOVA das E_g de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F _{crítico}
Entre grupos	0,00706	4	0,00176	2,05234	0,22511	5,19217
Dentro dos grupos	0,0043	5	0,00086			
Total	0,01136	9				

Como $F < F_{\text{crítico}}$ para os dois DSs, aceita-se a hipótese nula de que os valores de E_g são semelhantes. Sendo assim, pode-se afirmar que tanto o DS quanto o pH tiveram pouca influência sobre a absorção, a energia de *band gap* e a distribuição de tamanhos dos pontos quânticos de AIS.

5.1.3. Fotoluminescência (PL)

Outra análise importante no que diz respeito à caracterização de materiais fluorescentes, e complementar ao ensaio de UV-Vis, é a fotoluminescência. As figuras 5-17 e 5-18 trazem os espectros de emissão das amostras de PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 0,7 e CMC DS 1,2, respectivamente, em diferentes pHs de síntese excitadas por laser $\lambda = 350$ nm:

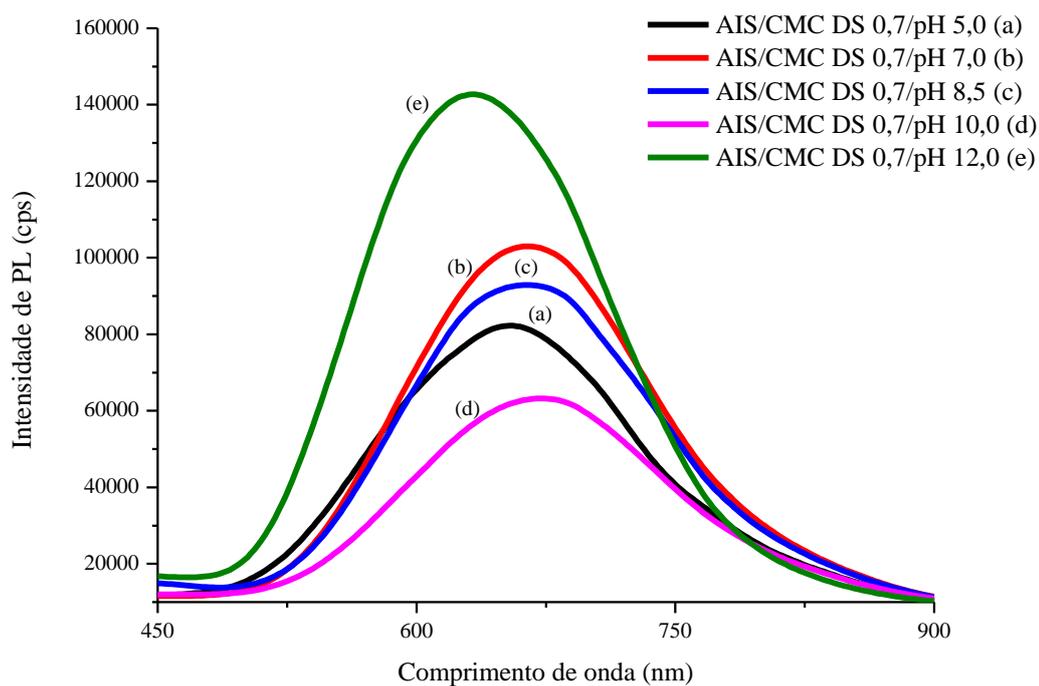


Figura 5-17: Espectro de emissão de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).

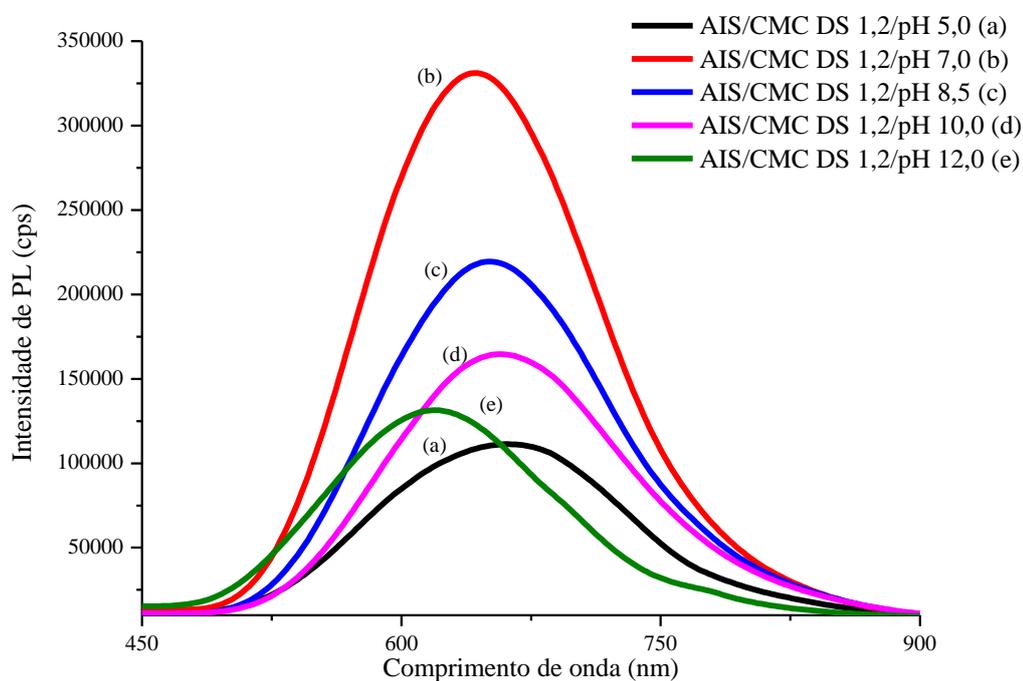


Figura 5-18: Espectro de emissão de PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (a), pH 7,0 (b), pH 8,5 (c), pH 10,0 (d) e pH 12,0 (e).

Os espectros dos PQ para os diferentes pHs e DSs da CMC apresentaram emissão de 500 a 900 nm, sendo a maior parte na região do visível (500 - 780 nm) e uma pequena parcela

no infravermelho próximo (NIR) (780 - 900 nm). Além disso, os comprimentos de onda referentes às emissões de maior intensidade se encontram próximo a 660 nm (1,9 eV) para todos os pHs, à exceção do pH 12,0 (630 nm (2,0 eV)). Esse leve *blue shift* pode ser devido a complexos fenômenos ocorrendo em meio altamente alcalino. O aspecto largo dos espectros é devido ao tipo de emissão de PQ dos grupos I-III-VI, que não é baseada na recombinação do éxciton e sim na recombinação de transportadores de carga (buraco e elétron) aprisionados em níveis energéticos entre as bandas de valência e condução, mecanismo denominado doador-aceptor (DA). Esse mecanismo decorre da presença de inúmeros defeitos presentes nos cristais desses semicondutores, que podem atuar tanto como doadores (recebem buracos), como aceptores (recebem elétrons)⁽⁶⁸⁾. Tais defeitos pertencem a duas categorias principais: defeitos de superfície e defeitos cristalográficos intrínsecos. Sabe-se que os últimos são os principais responsáveis pela fluorescência desse tipo de PQ, uma vez que os defeitos de superfície, em maioria, geram mecanismos de recombinação não radioativos⁽⁵⁸⁾.

A figura 5-19 faz um comparativo entre a intensidade de PL para os diferentes pHs e DSs da CMC:

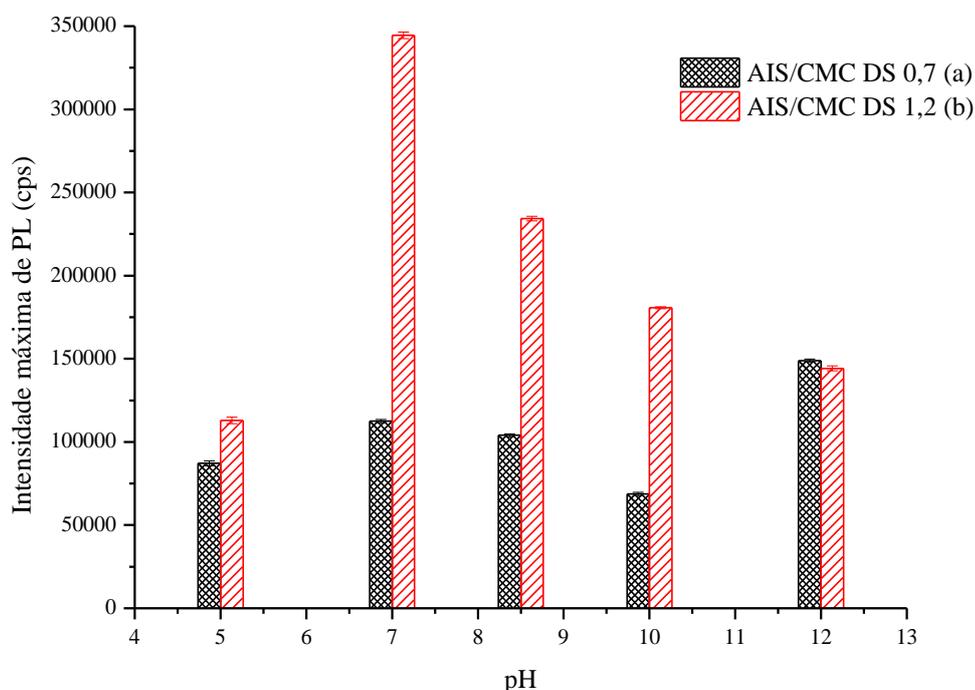


Figura 5-19: Intensidade de PL em função do pH de síntese e DS da CMC

Entre as funções do ligante na síntese de PQ por via úmida, tem-se: estabilização das nanopartículas, controle de seu crescimento evitando aglomerações e controle da disponibilidade de reagentes no meio reacional para o crescimento. Além disso, sua estrutura eletrônica contribui e afeta a estrutura eletrônica dos átomos na superfície dos PQ, podendo, por exemplo, criar aprisionadores de elétrons ou buracos, ou mesmo passivar os últimos, o que afeta diretamente sua fotoluminescência^(69,70). À medida que o pH aumenta de 5,0 para 7,0 para os dois DSs, ocorre maior desprotonação dos grupamentos carboxílicos presentes na cadeia da CMC, visto que o aumento da concentração dos íons OH^- do meio aumenta a interação com os íons H^+ dos grupos carboxílicos, o que representaria maior interação com a superfície dos PQ e levaria à maior passivação de defeitos responsáveis por emissões não radioativas⁽²²⁾, ocorrendo assim melhora da luminescência. Inicialmente, esperava-se que tal fenômeno ocorreria à medida que o pH continuasse aumentando, entretanto, observa-se que a partir do pH 7,0, ocorre uma queda na intensidade de luminescência. Uma possível sugestão para tal diminuição na luminescência é a deposição de uma camada de hidróxidos dos íons metálicos, favorecida pelo meio alcalino⁽⁷¹⁾, sobre a superfície das nanopartículas⁽⁷²⁾. A atuação dos hidróxidos sobre a PL pode dizer respeito tanto à formação de camadas espessas sobre as nanopartículas ou à não adaptação do material de recobrimento sobre o núcleo. Tais fenômenos levariam à criação de deslocamentos e tensões residuais nos cristais, que funcionariam como centros de recombinação não radioativa⁽²⁷⁾. Já em pH 12,0, nota-se comportamento anômalo para DS 0,7, visto que a tendência antes observada seria a diminuição da intensidade de PL do pH 10,0 para o 12,0. Acredita-se que em pHs muito elevados, ocorrem diferentes fenômenos físico químicos devido à alta concentração de hidroxilas no meio, o que levaria a esse comportamento não previsível, bem como a similaridade entre as intensidades de PL para os dois DSs.

Através da figura 5-19, nota-se ainda que a intensidade de PL das amostras estabilizadas com a CMC DS 1,2 é maior do que aquelas estabilizadas com a CMC DS 0,7, com exceção do pH 12,0. A diferença entre as CMCs diz respeito à proporção de grupos carboxilatos presentes na cadeia do polímero: aquela com DS 1,2 possui tais grupamentos em maior número, quando comparada à CMC DS 0,7. Sendo assim, pode-se sugerir que a maior presença de carboxilatos na CMC DS 1,2 foi responsável por melhor passivação

de defeitos de superfície, responsáveis principalmente por relaxamentos não radiativos⁽¹⁶⁾ e, portanto, melhora significativa da fotoluminescência. Entretanto, como visto anteriormente, o DS não provocou efeitos sobre a nucleação e crescimento das partículas, gerando distribuição de tamanhos semelhantes. Sugerindo que tanto o pH quando o DS da CMC foram provavelmente responsáveis apenas por modificações na estrutura eletrônica dos átomos superficiais das nanopartículas.

O rendimento quântico (QY) da amostra com maior intensidade de PL (AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0) foi calculado através do procedimento utilizando a Rodamina 6G⁽⁵³⁾. O valor encontrado foi de 3,0%, que é um valor compatível para sínteses aquosas⁽¹⁷⁾.

Uma possível aplicação dos PQ diz respeito ao campo ambiental, mais precisamente à energia solar. Dessa forma, foi realizada uma análise variando os comprimentos de onda de excitação (λ_{exc}) da solução coloidal e detectando tanto a intensidade quanto o comprimento de onda de emissão (λ_{em}), com o intuito de se verificar o potencial dos nanoconjugados de AIS-CMC na área ambiental. A figura 5-20 traz a superfície gerada pela variação λ_{exc} versus λ_{em} versus intensidade de PL para a amostra AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0:

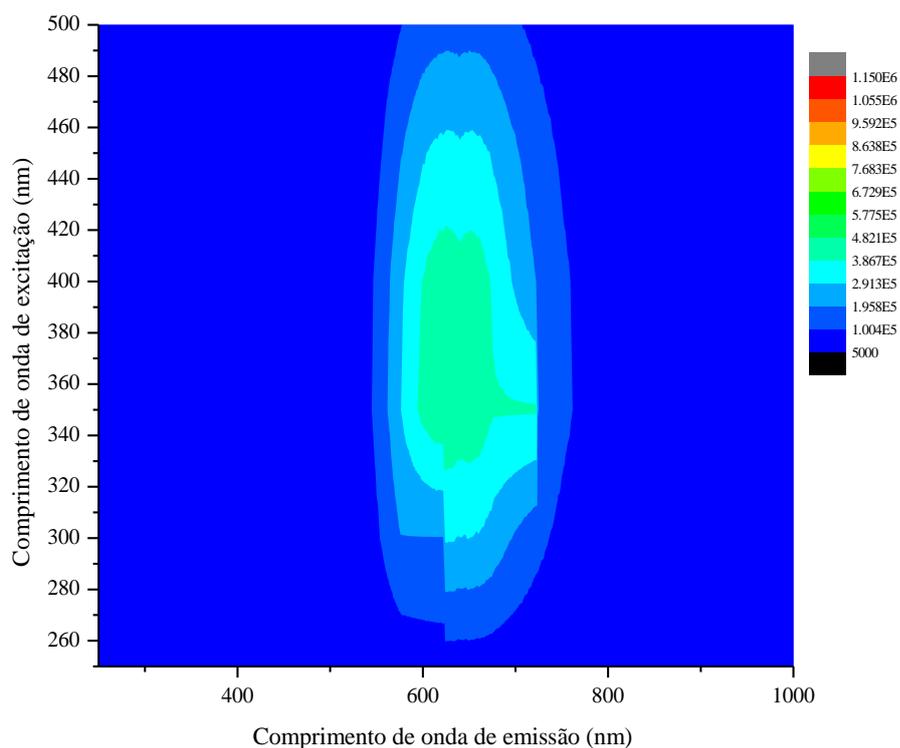
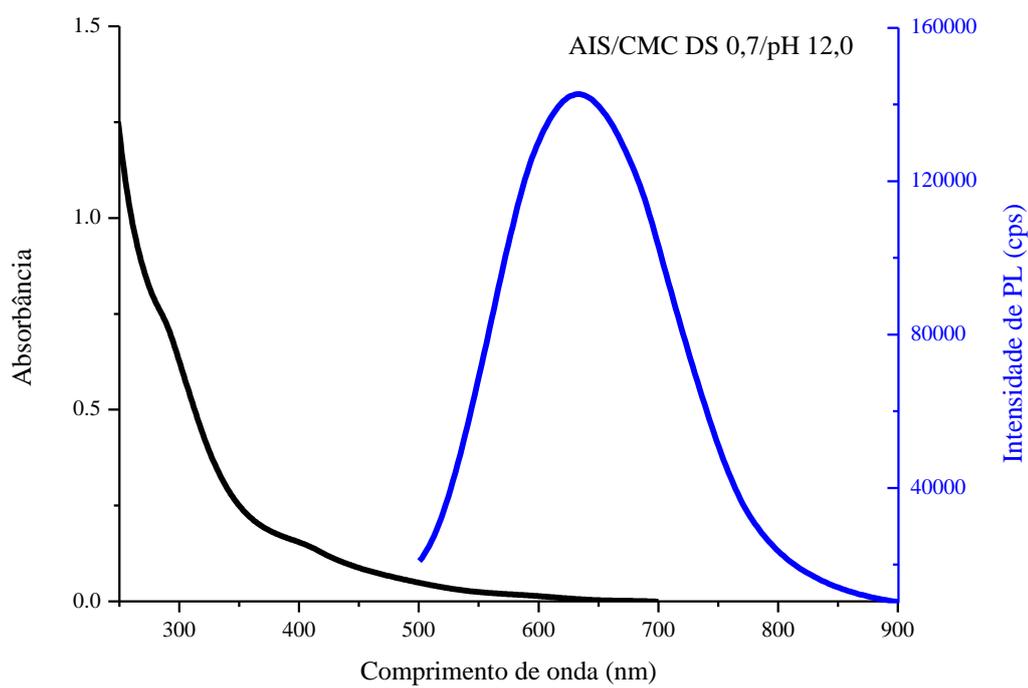
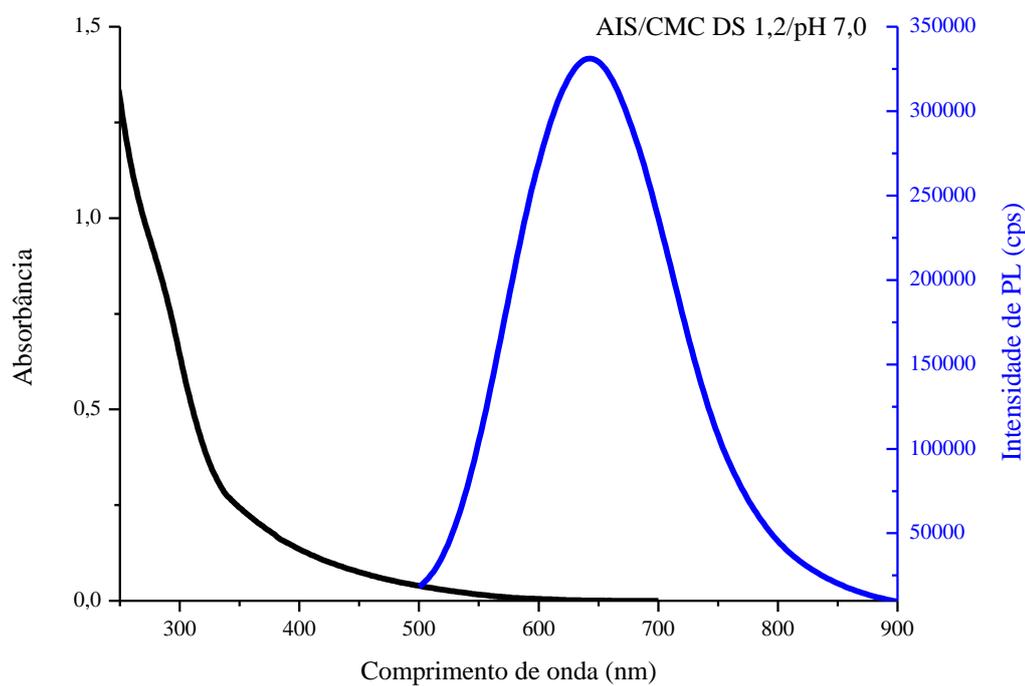


Figura 5-20: Superfície gerada pela variação do λ_{exc} versus λ_{em} e intensidade de PL para AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0.

A região de excitação compreendida entre 330 (3,8 eV) e 430 nm (2,9 eV) é aquela que apresenta maior intensidade de PL, sendo que será emitido comprimentos de onda entre 600 (2,1 eV) e 700 nm (1,8 eV), compreendendo a região do laranja no visível e corroborando a cor das soluções evidenciada pelas fotos digitais em luz UV. Além disso, é possível verificar uma significativa emissão com a excitação entre 400 (3,1 eV) a 500 nm (2,5 eV), que se encontra dentro da faixa do visível. Em energia solar, a escolha do material que proporcionará a conversão deve ser feita de maneira a se obter a maior absorção da radiação possível. No nível da superfície terrestre, a radiação é composta de cerca de 49,4 % de infravermelho, 42,3 % de luz visível e 8 % de ultravioleta ⁽⁷³⁾. Observou-se que os PQ obtidos apresentaram uma absorção de ampla faixa de comprimentos de onda. Além disso, sua praticamente não sobreposição entre os espectros de absorção e de emissão evita a auto absorção (figura 5-21), característica essencial em dispositivos solares ^(74,75). Sendo assim, os nanoconjugados de AIS-CMC trazem uma promissora capacidade de serem aplicados em energias limpas.



(A)



(B)

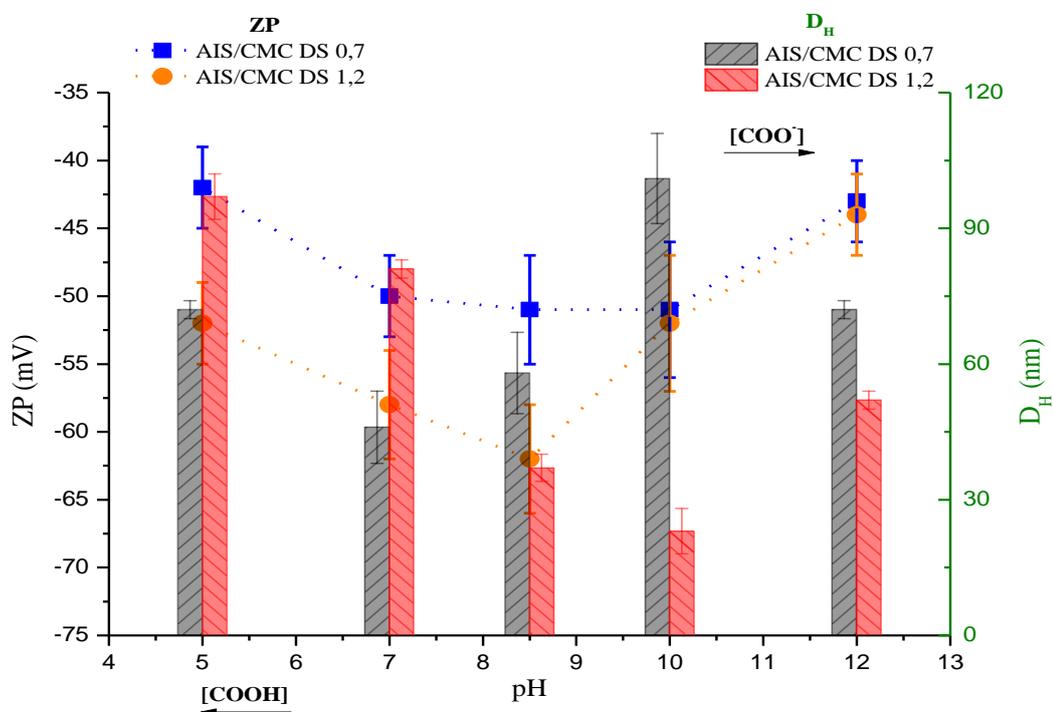
Figura 5-21: Desvio de Stokes para as amostras de PQ de AIS com maiores intensidades de PL: AIS/CMC DS 0,7/pH 12,0 (A) e AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0 (B)

5.1.4. Potencial zeta (ZP) e Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

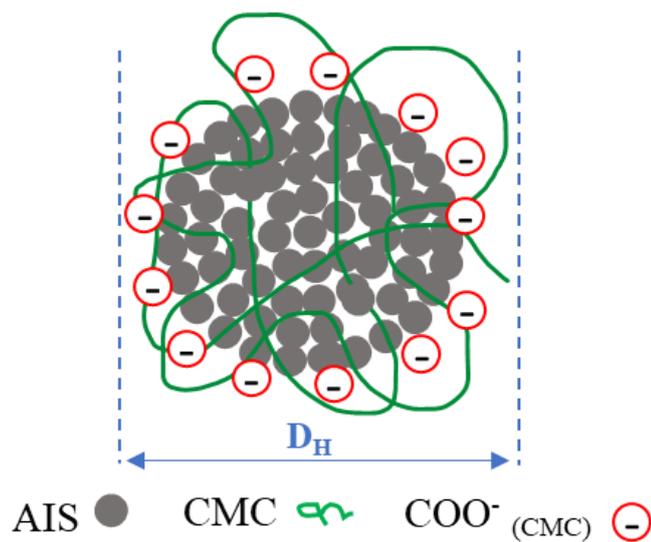
Na química de coloides, a carga superficial e o diâmetro hidrodinâmico (D_H) são importantes fatores para guiar uma possível aplicação das nanopartículas. Sendo assim, as cargas superficiais dos PQ sintetizados foram avaliadas através de medidas de potencial zeta (ξ). Os valores médios de ξ encontrados variaram de -42 mV (meio ácido) a -62 mV (meio levemente básico) (figura 5-22 A). Os potenciais negativos obtidos indicam que as nanopartículas estão predominantemente estabilizadas eletrostaticamente pelo polímero sob a forma de nanoconjugados. Tal estabilização se deu através dos grupos carboxilatos da CMC ($pK_a \cong 4,3$ ⁽¹²⁾) que estão em predominância em pHs acima do pK_a , fazendo com que a superfície esteja carregada negativamente^(12,20,76). Além disso, tais valores corroboram a ideia de se ter obtido soluções coloidais estáveis e com ausência de precipitação, visto que é amplamente divulgado que valores $> |30 \text{ mV}|$ são característicos de tais sistemas⁽⁷⁷⁾. Ainda é possível notar que os valores de ZP para os pHs de 5,0 a 8,5 são mais negativos para o DS 1,2 em relação ao DS 0,7. Isso já era esperado uma vez que no maior DS, tem-se maior quantidade de substituição das hidroxilas da cadeia por grupos carboxílicos, que contribuem para maior carga negativa. Em meios mais fortemente básicos, verifica-se que os valores de ZP para os dois DSs não possuem diferenças significativas, o que pode indicar que uma condição limite foi atingida, em que para um determinado pH, o DS não tem mais influência na carga superficial.

A avaliação do diâmetro hidrodinâmico (D_H) dos PQ foi realizada através da técnica de DLS. Tal diâmetro pode ser definido como a soma dos tamanhos da parte inorgânica (PQ) e da orgânica (CMC), sendo a última influenciada pelas interações com o meio aquoso⁽⁷⁶⁾. Deve-se ressaltar que o solvente e a força iônica do meio podem influenciar a camada elétrica na superfície das partículas e, conseqüentemente, alterar o valor medido⁽⁷⁸⁾. Os valores de D_H estão entre 23 e 101 nm de acordo com a variação do pH (figura 5-22 A). Pode-se notar, que próximo ao pH neutro, os nanoconjugados se encontram com o maior módulo de carga superficial e com o menor diâmetro hidrodinâmico. Isso ocorre devido à alta interação entre os carboxilatos presentes na cadeia da CMC com os PQ, fazendo com que o D_H fique reduzido. Além disso, como visto anteriormente na avaliação das

propriedades óticas, pH em torno de 7,0 fornecem a maior intensidade de PL quando as nanopartículas são excitadas.



(A)



(B)

Figura 5-22: ZP e D_H em função do pH e do DS da CMC (A) e representação esquemática de PQ de AIS sendo estabilizado eletrostaticamente pela CMC (B).

Estes resultados evidenciam que os nanoconjugados sintetizados via rota coloidal contém núcleos individuais de AIS cercados pela CMC carregada negativamente os estabilizando

(figura 5-22 B). Para aplicações biomédicas, por exemplo, tanto o tamanho da partícula quanto a carga superficial são fatores importantes na eficiência, biodistribuição, metabolismo e toxicidade dos PQ. Deve-se garantir que as partículas permaneçam estáveis no meio fisiológico, que pode apresentar variações de pH, sem aglomeração e perda de funcionalidade ⁽⁷⁹⁾ ⁽⁸⁰⁾. Em muitos casos, os nanoconjugados precisam ser ainda funcionalizados com biomoléculas para que se atinja um determinado alvo, assim, o potencial zeta mostra grande influência nessa etapa, que pode ser realizada via conjugações covalentes ou não covalentes. É sabido ainda que as interações célula-nanoconjugados são governadas basicamente pelas cargas entre as duas entidades e o tamanho dos nanoconjugados ⁽⁷⁹⁾ ⁽⁸⁰⁾. Além disso, o D_H deve ser de dimensão suficiente para ser eliminado pelo sistema renal ⁽⁸¹⁾. Dessa forma, pode-se ver que os PQ de AIS estabilizados pela CMC apresentaram estabilização em diversas faixas de pHs e apresentam uma eficiente emissão radioativa, o que gera potencial de aplicação na geração de bioimagens, por exemplo. Pode-se ainda conjugar essas nanopartículas com drogas para se obter um mecanismo de visualização de determinado tecido e liberação de fármacos para tratamento.

5.1.5. Espectroscopia de infravermelho (FTIR)

Com o intuito de se estudar a forma de interação entre o polímero e a nanopartícula, ensaios de FTIR foram realizados. A figura 5-23 traz os espectros de FTIR das amostras de AIS em pH 5,0, 7,0 e 12,0 estabilizadas pelas CMC DS 0,7 (A) e DS 1,2 (B) evidenciando as principais bandas referentes às funções químicas presentes no composto:

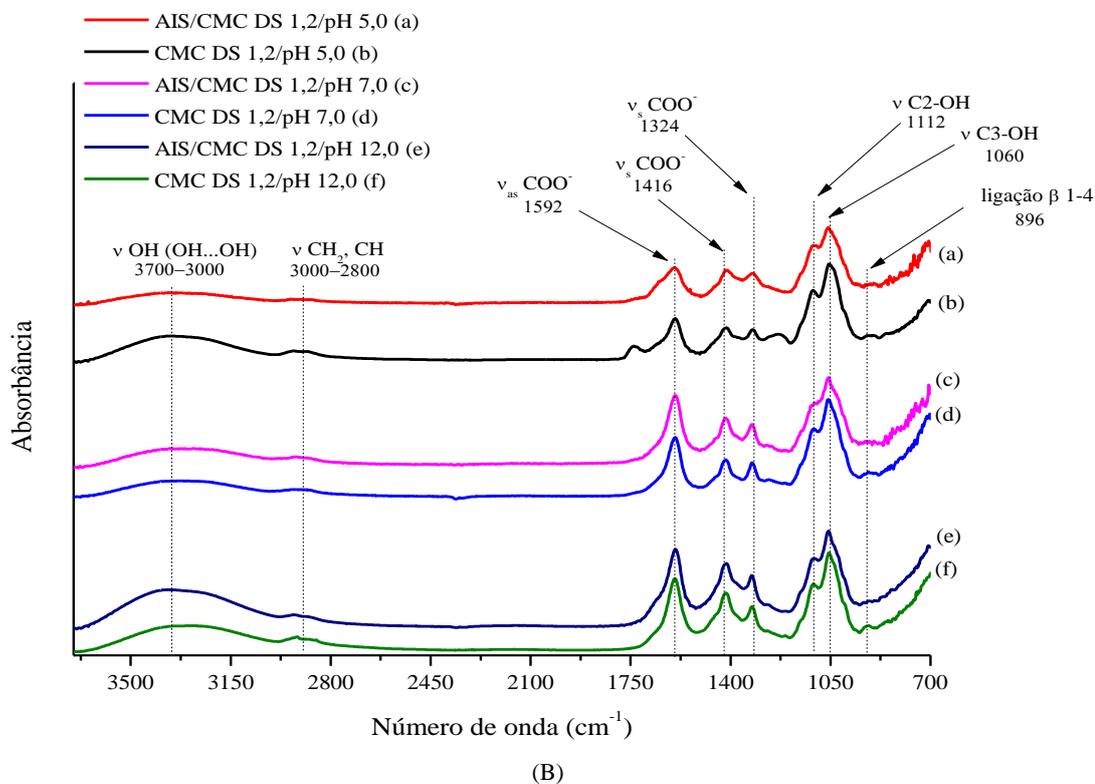
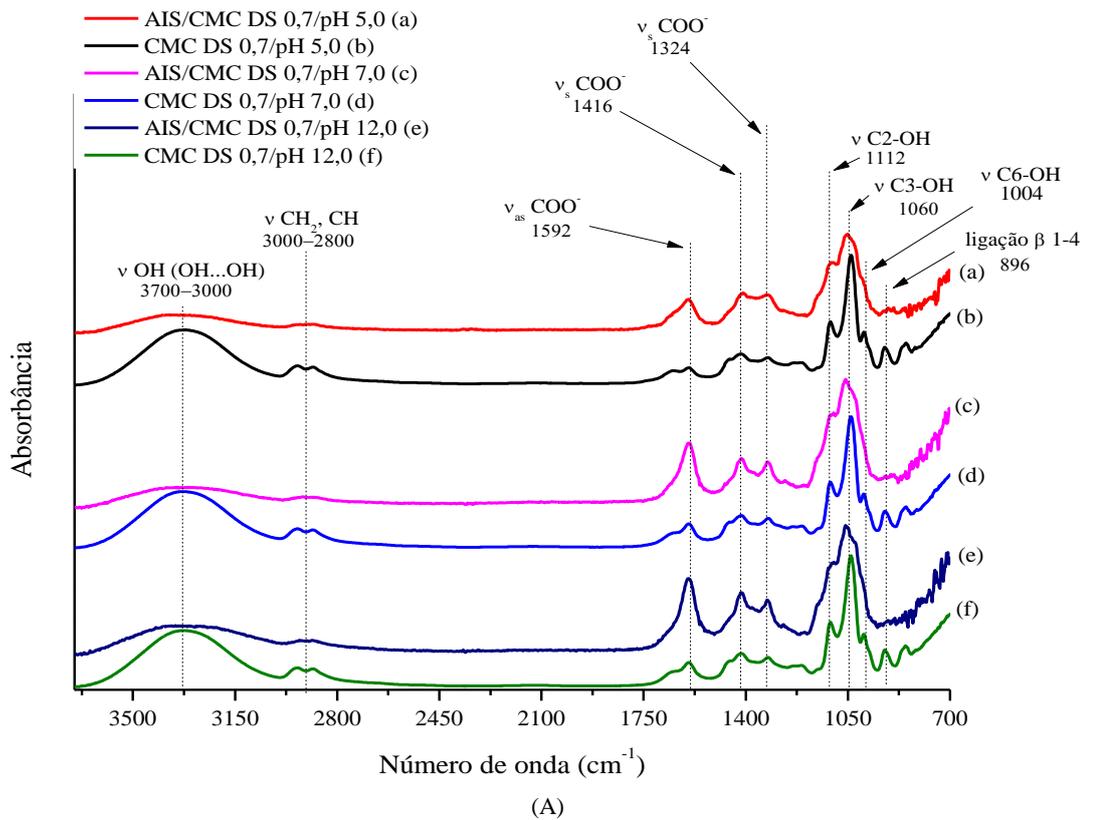


Figura 5-23: Espectros de FTIR para PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 (A) e CMC DS 1,2 (B)

Observa-se banda larga, nítida e intensa em torno de 3400 cm^{-1} que se refere às vibrações de estiramento dos grupamentos OH em ligações de hidrogênio. Os grupos alquila originam a banda de intensidade média em 2890 cm^{-1} causadas por estiramento das ligações CH_2 e CH e também a banda centrada em 1428 cm^{-1} devido ao dobramento das mesmas. Grupos carboxilatos (COO^-) são evidenciados pela bandas em torno de 1592 cm^{-1} , devido ao estiramento assimétrico, e em torno de 1416 e 1324 cm^{-1} devido ao estiramento assimétrico desses grupos. As funções carboxílicas (COOH) possuem bandas características de estiramento das ligações $\text{C}=\text{O}$ em 1730 cm^{-1} e das ligações $\text{C}-\text{O}$ em 1243 cm^{-1} ⁽²⁰⁾, entretanto, deve-se ressaltar que como a CMC é um polímero sensível ao pH devido à protonação/desprotonação dos grupamentos carboxílicos, tais bandas podem ou não se tornar evidentes. Os grupos álcoois são evidenciados pelas bandas de estiramento em 1112 e 1060 cm^{-1} (álcool secundário: $\text{C}2-\text{OH}$ e $\text{C}3-\text{OH}$) e pela banda em 1004 cm^{-1} (álcool primário: $\text{C}6-\text{OH}$). A ligação glicosídica pode ser associada à banda em 896 cm^{-1} ⁽²⁰⁾.

Através desse ensaio, é possível também elucidar a sensibilidade do polímero frente à variação do pH do meio, conceito já discutido anteriormente. A figura 5-24 traz um gráfico comparativo entre as relações de intensidade ($I_{\text{COO}^-}/I_{\beta 1-4}$) da banda referente ao carboxilato ($\cong 1592\text{ cm}^{-1}$) e da ligação glicosídica ($\cong 896\text{ cm}^{-1}$) em diferentes pH:

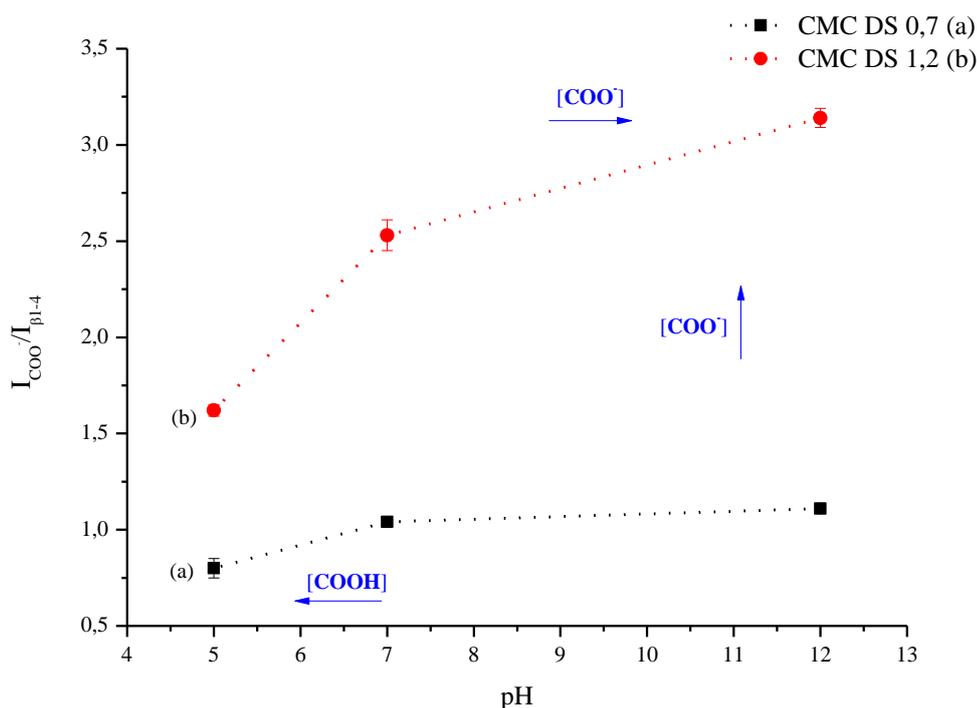
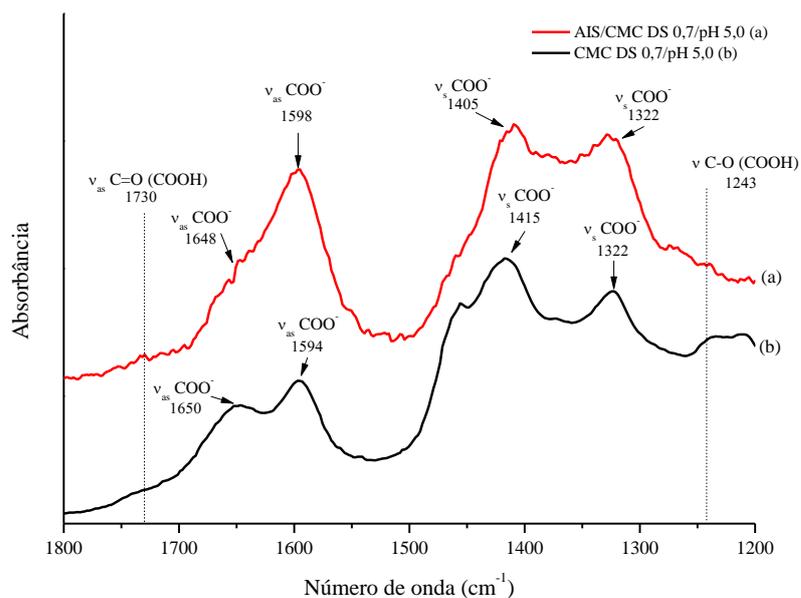


Figura 5-24: Relação de intensidade entre a banda dos grupos carboxilatos e da ligação glicosídica em função do pH e do DS da CMC.

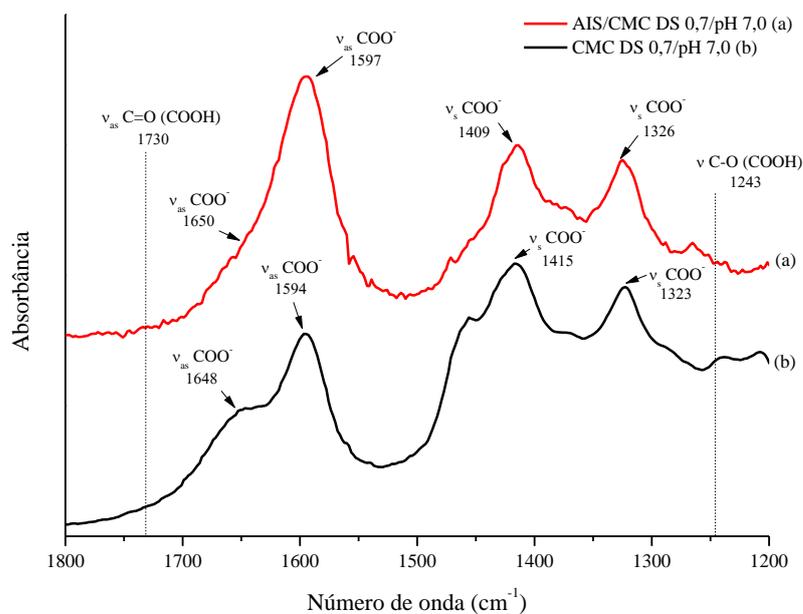
Como esperado, verifica-se que, para os dois DSs, ocorre aumento da concentração relativa de COO^- no sistema à medida que o pH também aumenta. Isso corresponde à maior desprotonação dos grupos carboxílicos presentes na cadeia da CMC. Além disso, pode-se notar que as intensidades relativas para o DS 1,2 são superiores às aquelas para o DS 0,7, o que evidencia a maior presença de grupos carboxílicos no polímero com maior grau de substituição.

Segundo a literatura, pode-se relacionar a diferença numérica entre os modos de vibração simétricos (ν_s) e assimétricos (ν_{as}) dos grupamentos carboxilatos (COO^-) com o tipo de coordenação (iônica, monodentada, bidentada ou um misto das três) entre os íons metálicos da superfície do PQ e a CMC⁽⁸²⁾. As figuras 5-25 e 5-26 trazem os espectros de FTIR das amostras de PQ estabilizados com CMC DS 0,7 e CMC DS 1,2, respectivamente, na faixa de 1800 a 1200 cm^{-1} , região que apresenta as vibrações de grupamentos carboxílicos e carboxilatos. Há a presença de dois picos assimétricos e dois picos simétricos para os dois tipos de CMC, sugerindo a presença de dois tipos de coordenação presentes no nanoconjugado. As vibrações simétricas e assimétricas dependem das densidades de carga eletrônica das ligações C-O nos carboxilatos. À

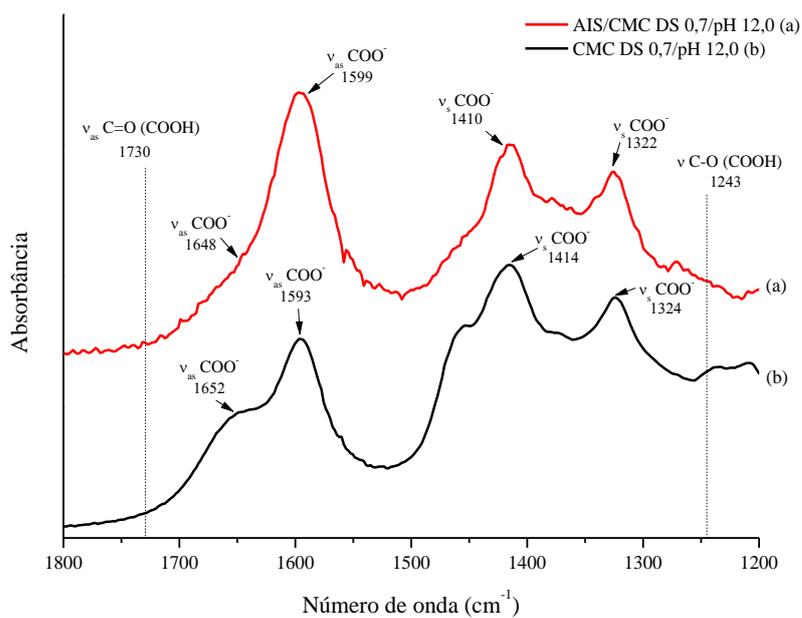
medida que se aumenta a diferença de densidade eletrônica nas ligações C-O, aumenta-se a frequência das vibrações assimétricas e diminui-se a frequência de vibrações simétricas⁽⁸³⁾.



(A)

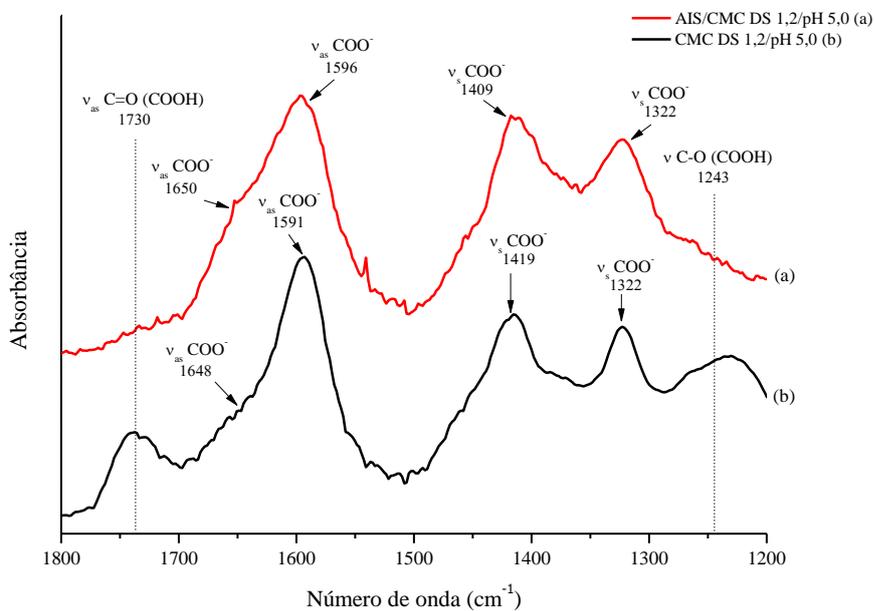


(B)

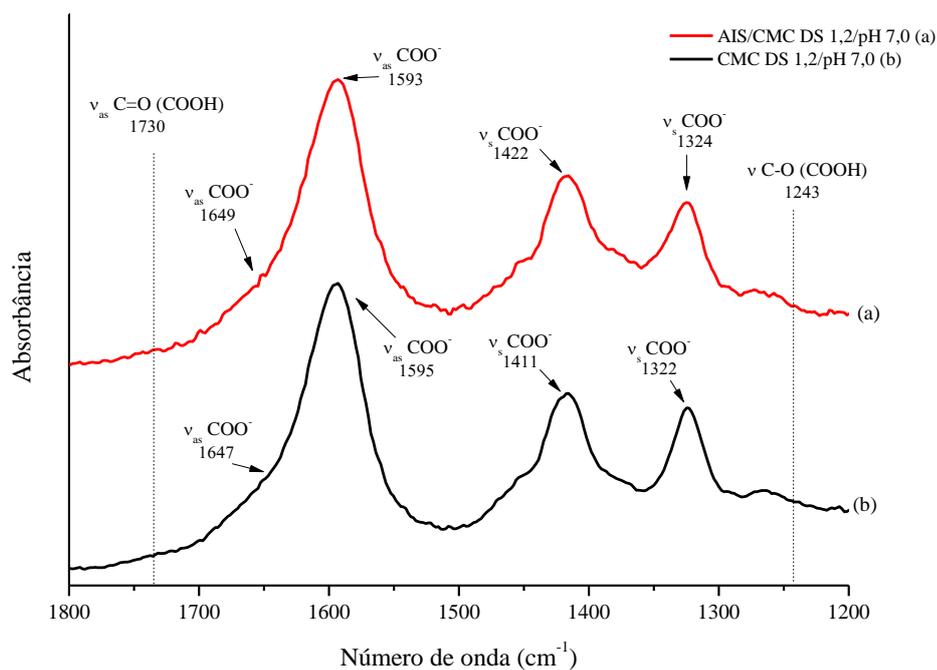


(C)

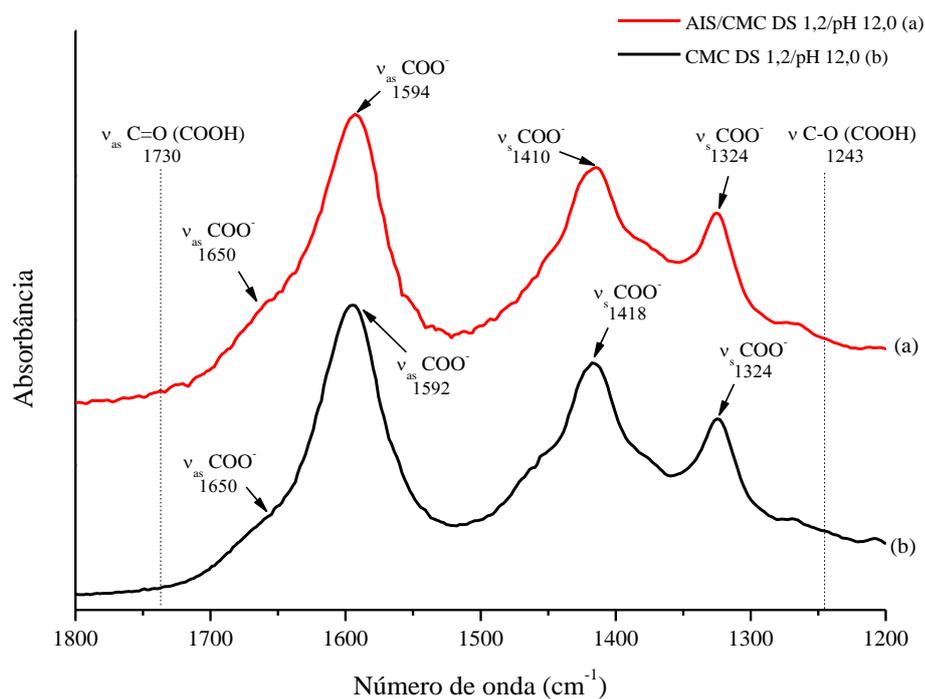
Figura 5-25: Espectro de FTIR na faixa de 1800 a 1200 cm⁻¹ para PQ de AIS estabilizados por CMC DS 0,7 em pH 5,0 (A), 7,0 (B) e 12,0 (C) em comparação com a CMC.



(A)



(B)



(C)

Figura 5-26: Espectro de FTIR na faixa de 1800 a 1200 cm^{-1} para PQ de AIS estabilizados por CMC DS 1,2 em pH 5,0 (A), 7,0 (B) e 12,0 (C) em comparação com a CMC.

É interessante notar que em pH 5,0, para os dois DSs, é possível notar a presença da banda referente ao estiramento assimétrico da ligação C=O (COOH) em 1730 cm^{-1} (20). Tal fato

evidencia que o pH 5,0, que está um pouco acima do pKa da CMC, ainda tem uma quantidade de grupamentos carboxílicos protonados suficiente para detecção pela FTIR. Esta banda desaparece à medida que se aumenta o pH, elucidando o grande aumento da proporção COO^-/COOH no sistema.

A tabela 5-4 traz os números de onda das bandas referentes aos carboxilatos de cada composto e a diferença entre elas ($\Delta\nu$):

Tabela 5-4: Bandas assimétricas e simétricas dos grupos carboxilatos e diferenças ($\Delta\nu$).

Amostra	Modo 1			Modo 2		
	ν_{as}	ν_{s}	$\Delta\nu$ (cm^{-1})	ν_{as}	ν_{s}	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
CMC DS 0,7/pH 5,0	1650	1322	328	1594	1415	179
AIS/CMC DS 0,7/pH 5,0	1648	1322	326	1598	1405	193
CMC DS 0,7/pH 7,0	1648	1323	325	1594	1415	179
AIS/CMC DS 0,7/pH 7,0	1650	1326	324	1597	1409	188
CMC DS 0,7/pH 12,0	1652	1324	328	1593	1414	179
AIS/CMC DS 0,7/pH 12,0	1648	1322	326	1599	1410	189
CMC DS 1,2/pH 5,0	1648	1322	326	1591	1419	172
AIS/CMC DS 1,2/pH 5,0	1650	1322	328	1596	1409	187
CMC DS 1,2/pH 7,0	1649	1324	325	1593	1422	184
AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0	1649	1324	325	1593	1422	171
CMC DS 1,2/pH 12,0	1650	1324	326	1592	1418	174
AIS/CMC DS 1,2/pH 12,0	1650	1324	326	1594	1410	184

Para avaliação do tipo de coordenação do complexo formado entre os cátions metálicos da superfície do PQ e a CMC, podem-se utilizar os seguintes critérios, que são baseados entre a comparação entre $\Delta\nu$ do sal sódico e $\Delta\nu$ do respectivo complexo: (a) $\Delta\nu_{\text{complexo}} \ll \Delta\nu_{\text{salsódico}}$: quelante bidentado, (b) $\Delta\nu_{\text{complexo}} \leq \Delta\nu_{\text{salsódico}}$: ponte bidentada, (c) $\Delta\nu_{\text{complexo}} \gg \Delta\nu_{\text{salsódico}}$: monodentada⁽⁸³⁾. Ao analisar a tabela 5-4, nota-se que no modo 1, devido à similaridade entre os $\Delta\nu$ das CMC e nanoconjugados respectivos para um determinado pH, pode-se considerar uma interação do tipo ponte bidentada. Já no modo 2, como há diferença significativa entre os $\Delta\nu$, pode-se inferir que o segundo modo de coordenação

é baseado no tipo modentado. Observa-se que tanto o pH quanto o DS da CMC não produziram diferenças no modo de interação polímero-nanopartícula. A figura 5-27 traz uma representação esquemática dos dois tipos de interação acima evidenciados:

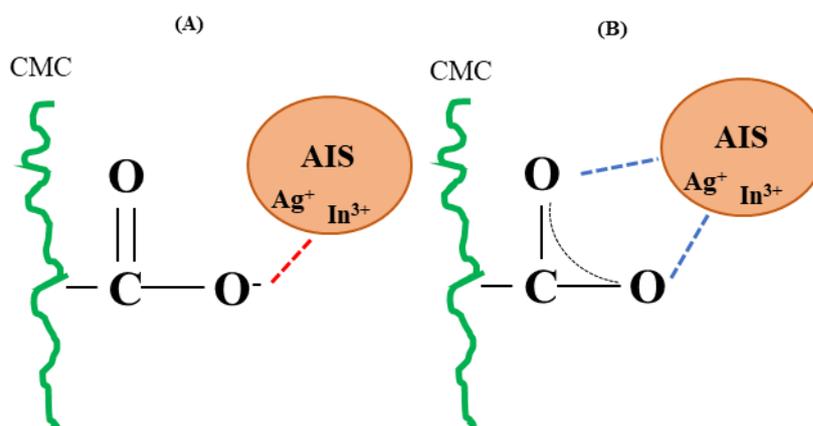


Figura 5-27: Interações entre carboxilato da CMC e íons metálicos na superfície do ponto quântico: monodentada (A) e ponte bidentada (B).

5.1.6. Fluorescência de raios X (XRF)

Foi realizada análise por XRF afim de se verificar a presença dos elementos formadores do ternário AIS e a quantidade molar relativa dos mesmos nas amostras com CMC DS 1,2. A tabela 5-5 traz os dados obtidos por essa técnica para três pHs:

Tabela 5-5: Percentagem molar dos precursores de AIS no final da síntese em diferentes pHs.

Amostra	Ag (%)	In (%)	S (%)
AIS/CMC DS 1,2/pH 5,0	9,7 ± 1,1	30,0 ± 4,9	60,3 ± 4,0
AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0	9,3 ± 2,1	40,3 ± 2,2	50,4 ± 1,2
AIS/CMC DS 1,2/pH 12,0	10,7 ± 1,7	31,9 ± 4,6	57,5 ± 3,1

Observa-se que os valores encontrados estão próximos do valor teórico da quantidade molar relativa entre Ag (8,7 %), In (34,8 %) e S (56,5 %) ou Ag:In:S 1:4:6,5. Assim, pode-se dizer que os precursores participaram efetivamente da síntese, embora não se possa inferir se reagiram formando o composto de interesse ou compostos secundários.

5.1.7. Difração de raios X (DRX)

Ensaio de XRD foram utilizados para verificar as fases cristalinas presentes no material sintetizado. As figuras 5-28 e 5-29 trazem os difratogramas das amostras de PQ de AIS estabilizados, respectivamente, pelas CMCs com DS 0,7 e DS 1,2 em pH 5,0, 7,0 e 12,0:

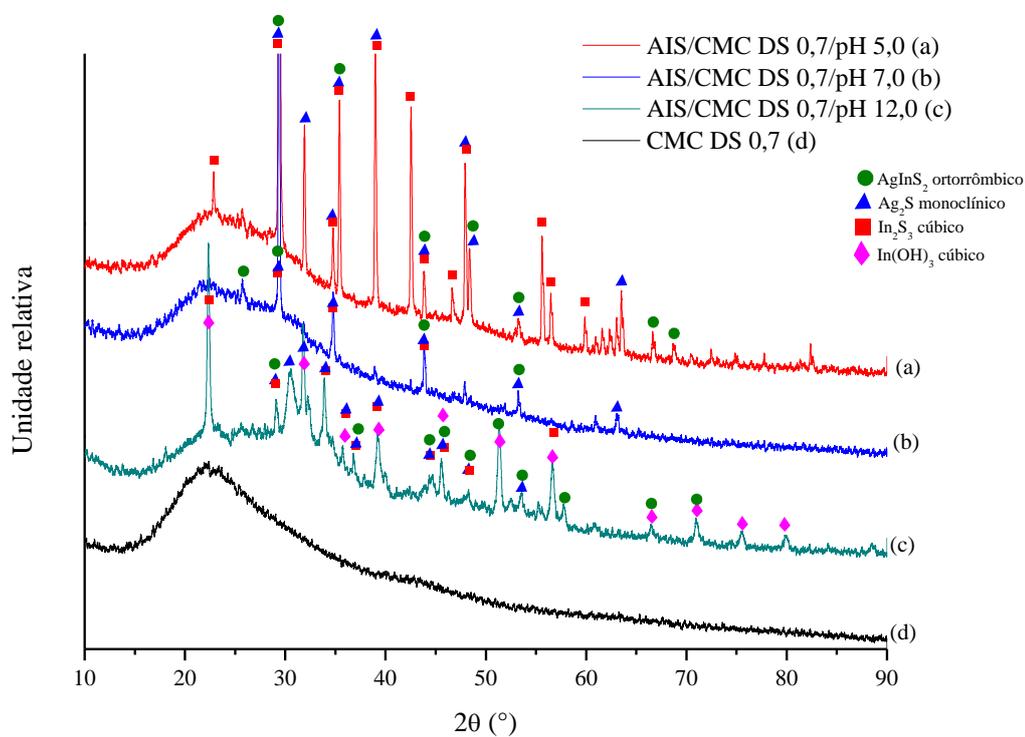


Figura 5-28: Difratogramas de PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 0,7 (d) nos pH 5,0 (a), 7,0 (b) e 12,0 (c).

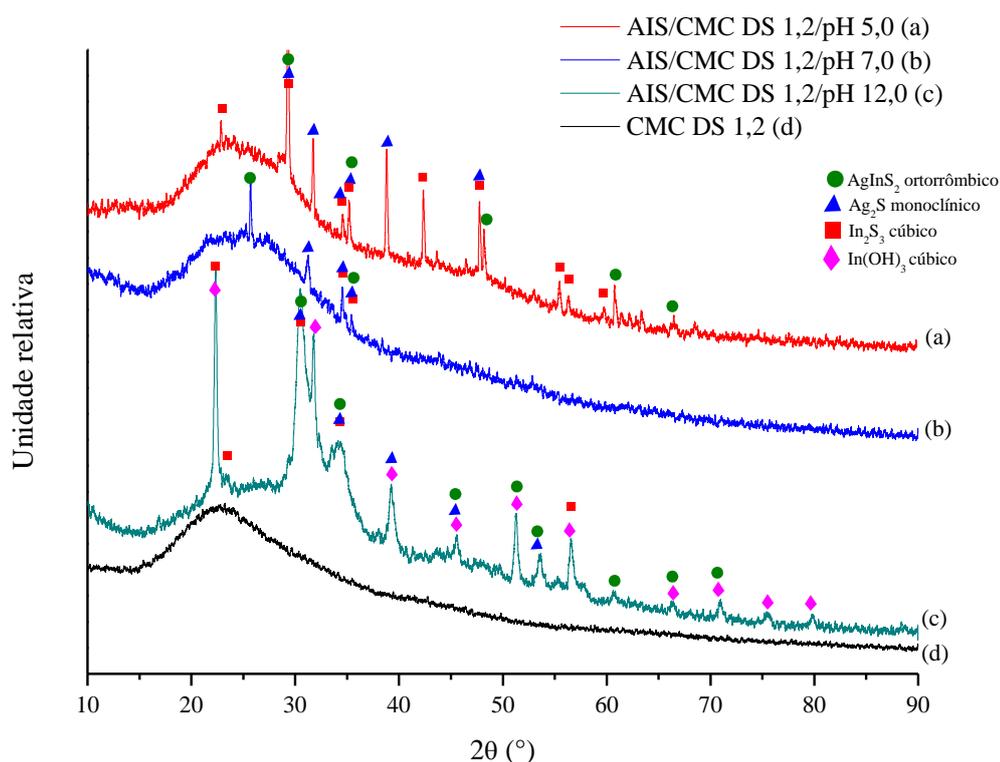


Figura 5-29: Difratogramas de PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 (d) nos pH 5,0 (a), 7,0 (b) e 12,0 (c).

A CMC apresenta uma banda larga em aproximadamente $2\theta = 22,8^\circ$, que é típica do polímero, devido às interações de hidrogênio entre suas moléculas causando baixa cristalinidade^(84,85). Tal banda está presente em todas as amostras. É possível notar que diversos picos de compostos diferentes se sobrepõem devido à proximidade. Observou-se a presença de picos do composto AgInS_2 sobre a forma cristalina ortorrômbica (ICDD #25-1328) em todas as amostras, evidenciando sua formação. Picos referentes aos compostos binários de sulfeto de prata (Ag_2S) com estrutura monoclinica (ICDD #75-1061) e sulfeto de índio (In_2S_3) sob a forma cúbica (ICDD #32-0456) também estão presentes em todas as amostras de PQ, inferindo que além do AIS, houve competição para a formação de seus binários respectivos. De acordo com a literatura, o sistema $\text{Ag}_2\text{S} - \text{In}_2\text{S}_3$ é *quasi*-binário, sendo passível de formação de soluções sólidas e fases com variadas estruturas cristalinas⁽⁸⁶⁾. Sachanyuk e colaboradores⁽⁸⁷⁾ construíram o diagrama de fase estável binário do sistema $\text{Ag}_2\text{S} - \text{In}_2\text{S}_3$ e preveram a formação de mais de uma fase em concomitância ao ternário AIS (figura 5-30):

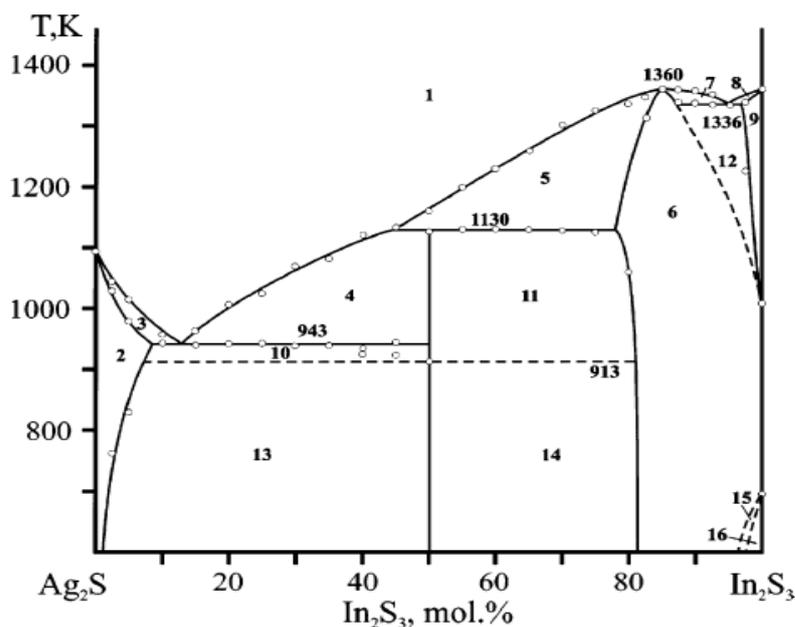


Figura 5-30: Diagrama de fase do sistema $\text{Ag}_2\text{S} - \text{In}_2\text{S}_3$: (1) L, (2) α' , (3) $L + \alpha'$, (4) $L + \text{HT-AgInS}_2$, (5) $L + \zeta$, (6) ζ , (7) $L + \zeta$, (8) $L + \beta''$, (9) β'' , (10) $\alpha' + \text{HT-AgInS}_2$, (11) $\text{HT-AgInS}_2 + \zeta$, (12) $\zeta + \beta''$, (13) $\alpha' + \text{LT-AgInS}_2$, (14) $\text{LT-AgInS}_2 + \zeta$, (15) $\zeta + \beta$, (16) β .

Fonte: (SACHANYUK, 2008)⁽⁸⁷⁾

Em que: L: fase líquida, α' : Ag_2S , HT-AgInS_2 : AgInS_2 em alta temperatura, ζ : AgIn_5S_8 , β'' : In_2S_3 , LT-AgInS_2 : AgInS_2 em baixa temperatura, β : $\text{AgIn}_{11}\text{S}_{17}$.

Pela análise do diagrama, nota-se que dependendo da concentração dos compostos formadores do ternário, há a presença não somente do AIS, mas também de compostos secundários. Com relação ao sistema proposto AIS-CMC, provavelmente, a formação dos PQ se deu de maneira não estável termodinamicamente, uma vez que se trata de um sistema nanoestruturado sujeito ao efeito quântico, além da presença do polímero como estabilizante e processo de nucleação/crescimento rápido. Porém, é possível fazer um paralelo entre o diagrama apresentado por Sachanyuk⁽⁸⁷⁾ e as nanopartículas de AIS. A porcentagem em mol adicionada dos precursores metálicos é de aproximadamente 20 % Ag e 80 % In, o que corresponde ao ponto no diagrama de 20 % Ag_2S e 80 % In_2S_3 (região 14). Nessa região, rica em In, segundo os autores, tem-se a presença do composto AgInS_2 e AgIn_5S_8 , em que o último forma uma solução sólida contínua com o In_2S_3 . Ou seja, é de se esperar que haja a presença de múltiplas fases, entre elas o In_2S_3 . Além disso, como

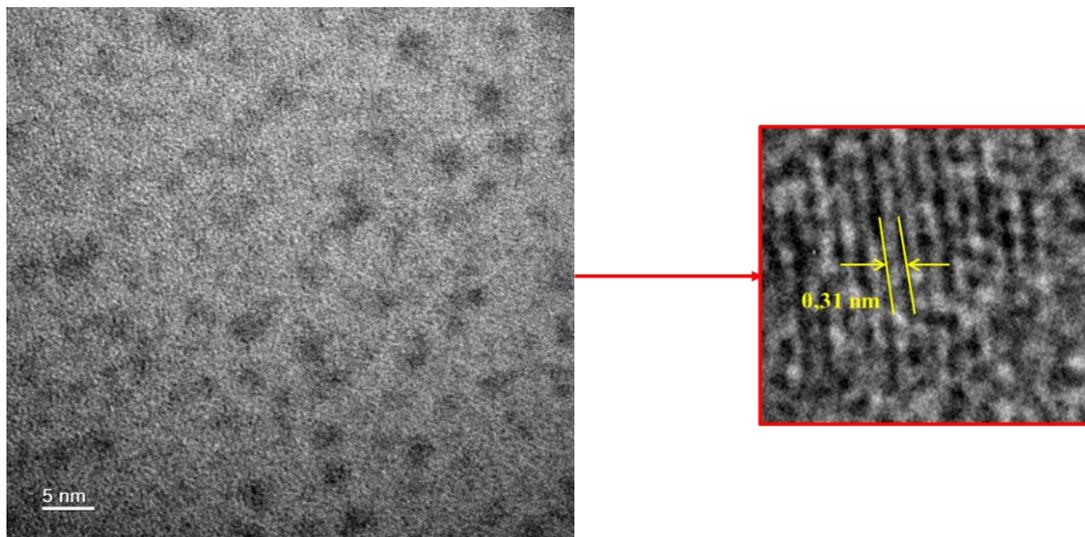
o sistema de precipitação e formação dos PQ é complexo, é possível a formação de fases como o Ag_2S , cuja região de estabilidade (região 13) encontra-se próxima ao ponto do sistema AIS-CMC.

Nas amostras em pH 12,0, percebe-se ainda a presença de picos referentes ao hidróxido de índio ($\text{In}(\text{OH})_3$) com estrutura cúbica (ICDD #85-1338), formado, como já discutido, pela influência do pH alcalino ⁽⁷¹⁾. A formação do $\text{In}(\text{OH})_3$ pode ter prevalecido em relação ao hidróxido de prata (AgOH) tanto em virtude da maior quantidade do precursor de índio, quanto em função da maior reatividade do In^{3+} com o OH^- , considerando que os dois íons são duros de acordo com a teoria de Lewis ⁽¹⁷⁾. Além disso, o K_{ps} do composto do $\text{In}(\text{OH})_3$ ($1,26 \times 10^{-37}$ ⁽⁸⁸⁾) é inferior ao AgOH ($1,0 \times 10^{-8}$ ⁽⁸⁹⁾), o que também explicita a maior tendência de formação do primeiro.

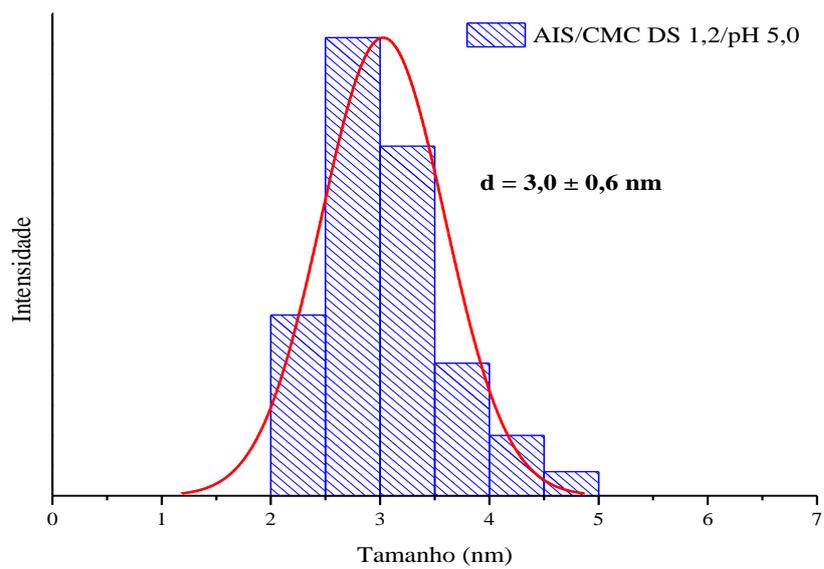
Sendo assim, verifica-se então que a síntese do ternário envolve também a formação de compostos secundários, o que corrobora com as flutuações observadas nos espectros de UV-Vis. Provavelmente, estas dizem respeito às diferentes proporções de fases em cada amostra. O grande número de picos e as sobreposições nos difratogramas podem ter se dado devido à formação de soluções sólidas dos compostos envolvidos.

5.1.8. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Por fim, TEM acoplada com EDS foi realizada com o intuito de se verificar morfologia e distribuição de tamanhos dos nanoconjugados AIS-CMC. Considerando os resultados do ensaio de UV-Vis, que sugeriram que o grau de substituição provocou poucas mudanças na distribuição de tamanho das nanopartículas, decidiu-se por realizar a TEM nas amostras com DS 1,2 em diferentes pHs, afim de se verificar se esse parâmetro causou ou não mudança de tamanho nos PQ. As figuras 5-31 a 5-33 trazem as imagens obtidas por TEM, com detalhes de HRTEM, além da distribuição de tamanhos das nanopartículas e espectros de EDS PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 5,0, 7,0 e 12,0 respectivamente:



(A)



(B)

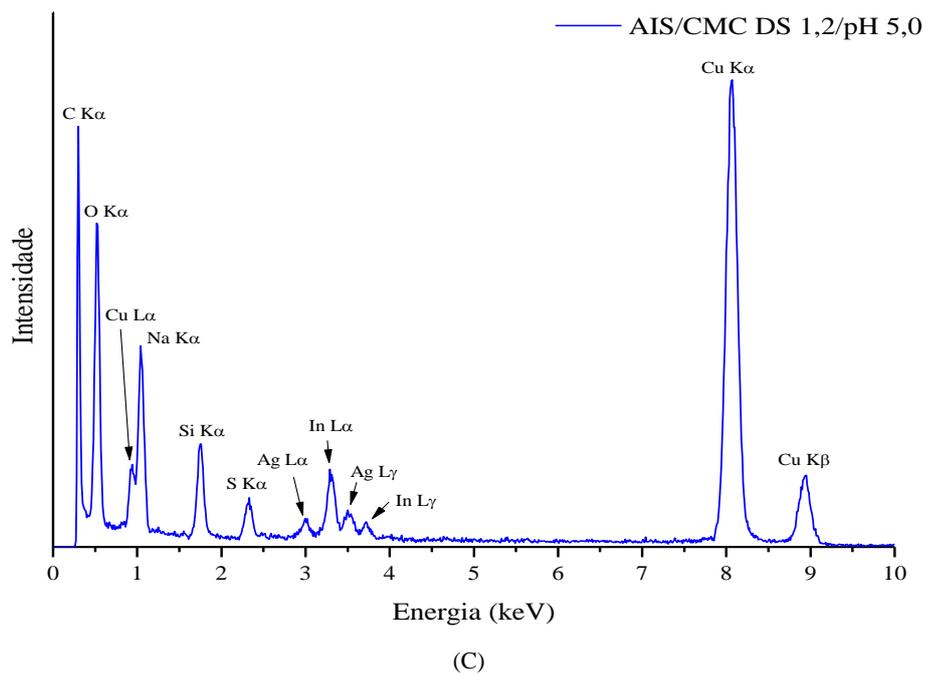
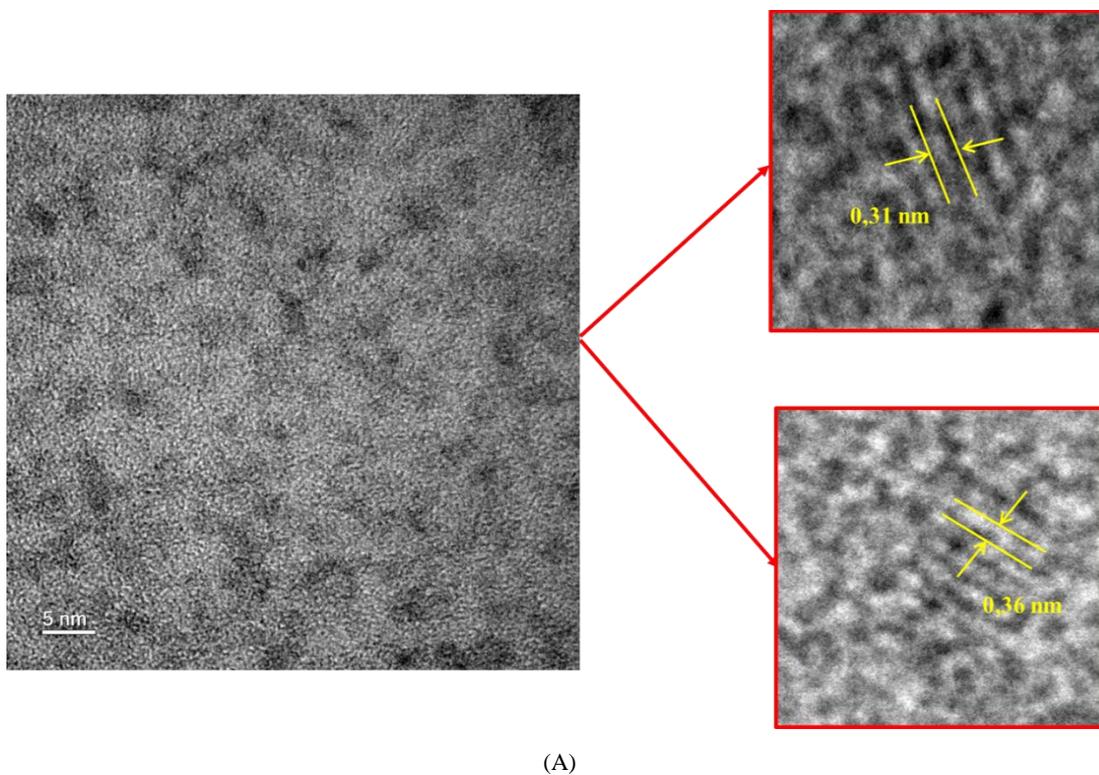


Figura 5-31: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 5,0.



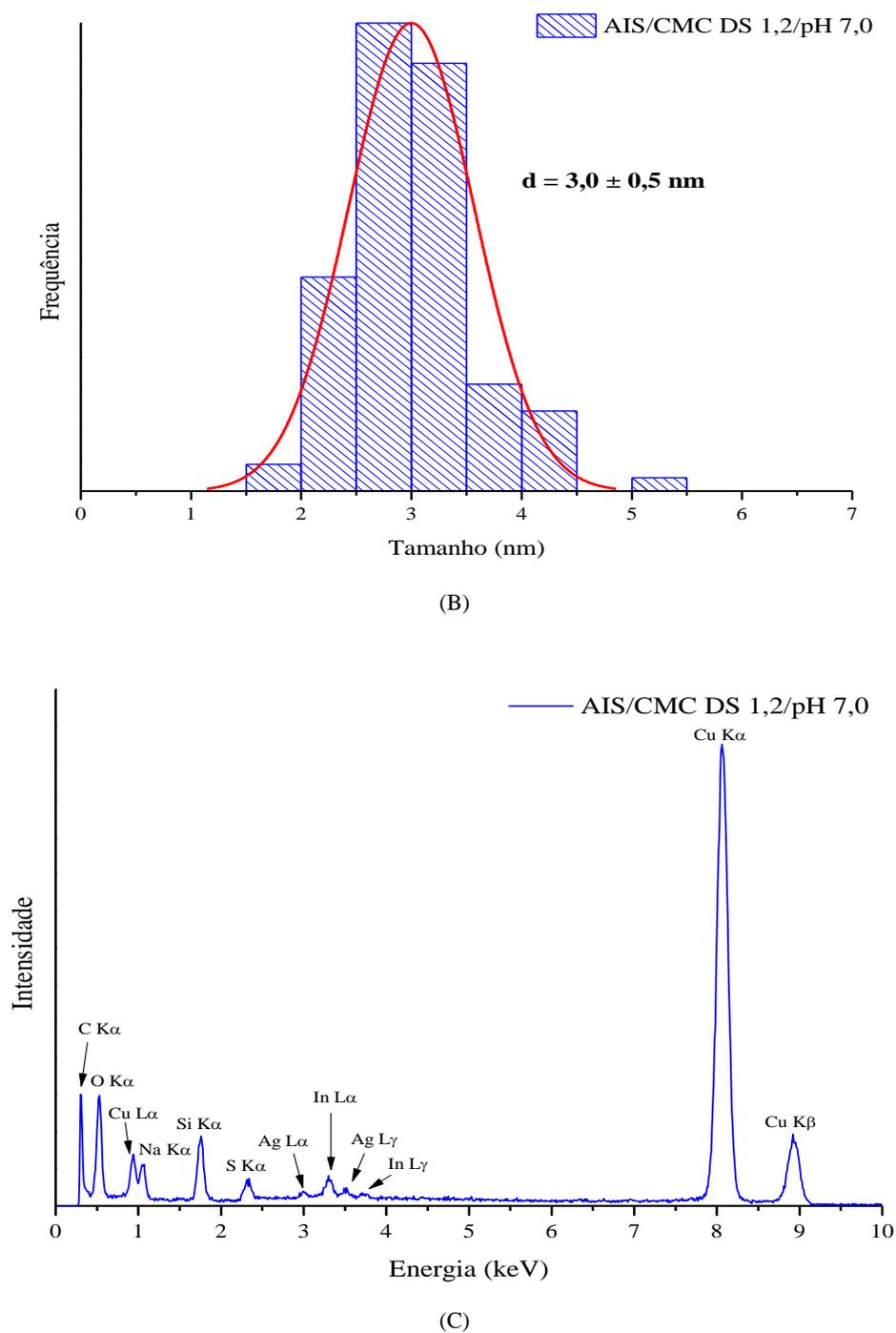
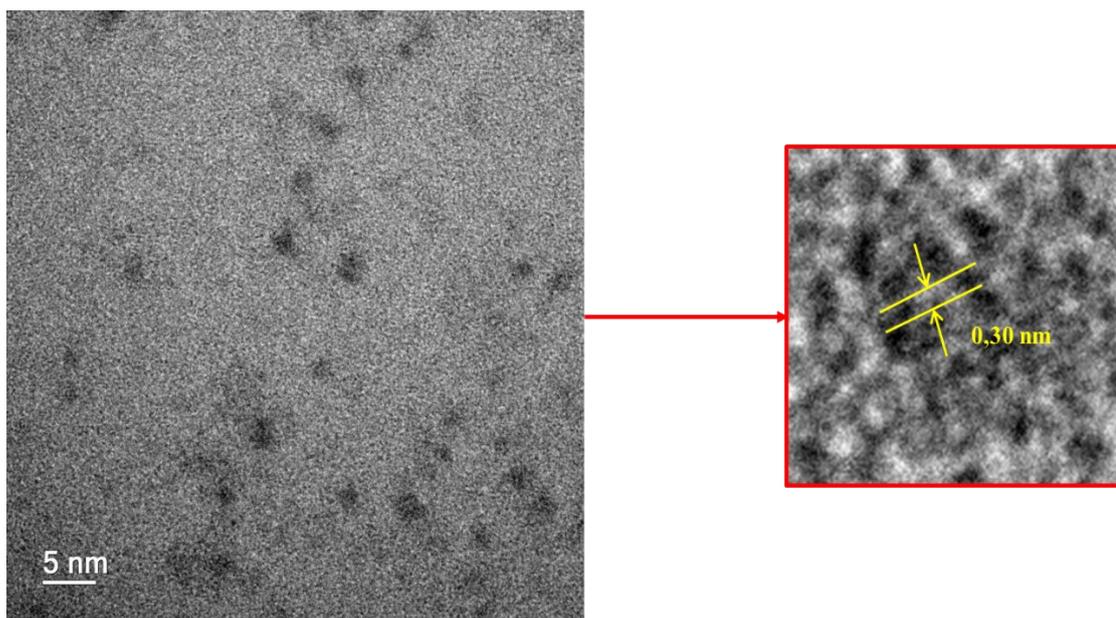
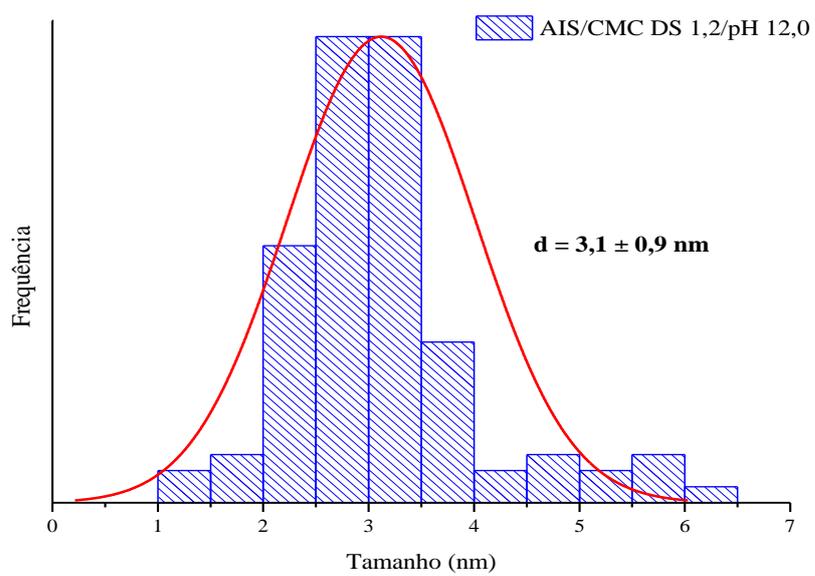


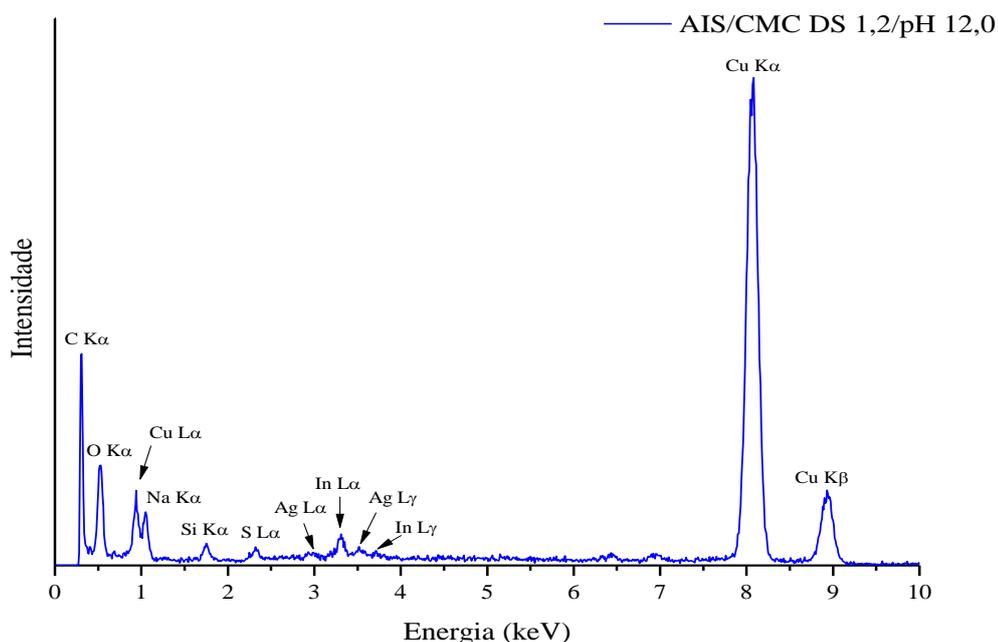
Figura 5-32: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 7,0.



(A)



(B)



(C)

Figura 5-33: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de AIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 12,0.

É possível notar que as quatro amostras apresentam partículas com forma esferoidal. Além disso, através da alta resolução (HRTEM), evidenciou-se a presença de franjas, configurando o caráter cristalino do material. Os valores encontrados para a distância interplanar de 0,30 e 0,31 nm, em todas as amostras, referem-se ao plano (121) do composto AgInS_2 com estrutura ortorrômbica (ICDD # 25-1328); já o valor de 0,36 nm, encontrado na amostra em pH 7,0, refere-se ao plano (120) também do AgInS_2 ortorrômbico. Os resultados apresentados pela microscopia corroboram com aqueles apresentados pela difração de raios x. Entretanto, não foi possível diferenciar a presença de partículas dos outros compostos elucidados pela difração, Ag_2S , In_2S_3 e $\text{In}(\text{OH})_3$, visto que poucas franjas ficaram evidentes.

Para verificar se há ou não diferença significativa entre as médias de tamanhos das partículas obtidas, foi realizado teste ANOVA com nível de significância (α) de 0,05 (tabela 5-6):

Tabela 5-6: Análise ANOVA do tamanho médio para amostras de PQ de AIS com CMC DS 1,2 em diferentes pHs.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F _{crit}
Entre grupos	0,78929	2	0,39464	0,81953	0,44163	3,02615
Dentro dos grupos	143,02	297	0,48155			
Total	143,8093	299				

Como o valor de $F < F_{crit}$, a hipótese de que não há diferença significativa entre as médias dos tamanhos para as diferentes amostras é verdadeira. Tal resultado corrobora com as curvas similares de UV-Vis e que a distribuição de tamanhos também é semelhante. Embora estatisticamente as médias não possuam valores diferentes, através do histograma, nota-se um pequeno aumento da polidispersão na amostra em pH 12,0 em relação às amostras em pH 5,0 e 7,0. Tal fato possivelmente é devido a fenômenos concomitantes que ocorrem em pHs mais alcalinos, como a formação de hidróxidos⁽⁷¹⁾.

Por fim, os espectros de EDS mostraram a presença dos elementos Ag, In e S, similarmente ao que foi encontrado via XRF.

5.2. Deposição de ZnS em pontos quânticos de AIS (ZAIS)

Os defeitos na superfície dos PQ são principalmente responsáveis por emissões não radioativas, o que faz com que o QY diminua^(22,36,68). Uma das maneiras de passivá-los é através do recobrimento da nanopartícula com um material semiconductor de maior energia de *band gap*, como o sulfeto de zinco (ZnS) ($\cong 3,5$ eV⁽²⁸⁾), formando um sistema núcleo/casca tipo I⁽²⁸⁾. Dessa forma, quando se forma uma casca e essa se adapta aos parâmetros de rede do núcleo, os transportadores de carga gerados ficam confinados nessa região por uma barreira potencial, gerando uma luminescência estável. Além disso, ocorre melhora de sua estabilização coloidal no que diz respeito à proteção do núcleo contra oxidação e lixiviação dos íons^{(27) (28)}. Com esse intuito, fez-se a deposição do ZnS sobre a amostra com maior intensidade de luminescência (AIS/CMC DS 1,2/pH 7,0 - *vide* seção 5.1.3).

A figura 5-34 traz uma foto digital das soluções de PQ de AIS e ZAIS sob luz UV ($\lambda = 365$ nm), em que se pode observar aparente aumento da luminescência e mudança de cor na amostra de ZAIS em relação a AIS:



Figura 5-34: Foto digital de soluções de PQ de AIS (esquerda) e ZAIS (direita) sob luz UV ($\lambda_{exc} = 365$ nm).

A primeira análise se deu através dos espectros de UV-Vis, para se verificar a formação dos PQ. A figura 5-35 traz o espectro de absorção dos PQ de AIS e ZAIS:

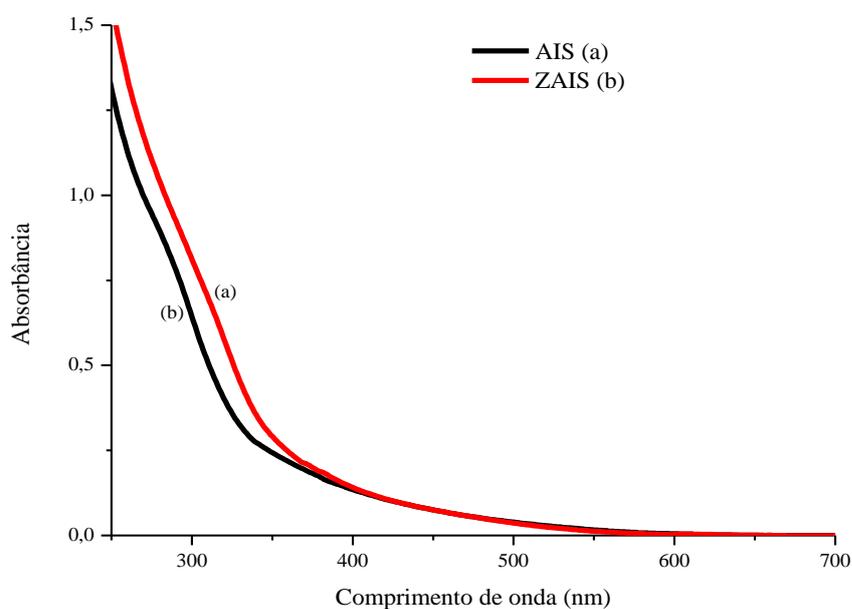


Figura 5-35: Espectro de absorção de PQ de AIS (a) e ZAIS (b) estabilizados por CMC DS 1,2.

Observam-se espectros largos para as duas amostras, em que a intensidade de absorbância diminui para maiores comprimentos de onda. O *onset* das curvas se inicia, em aproximadamente, 550 nm (2,3 eV). Tal aspecto já foi reportado na literatura para pontos quânticos de AIS/ZAIS^(12,47,56) e pode ser associado à distribuição de tamanhos das nanopartículas⁽¹²⁾ e também a transições intra *band gap*^(57,58). É possível notar que a curva

referente aos PQ de ZAIS apresenta *red shift* em relação aos PQ de AIS na região abaixo de 400 nm (3,1 eV). Esse deslocamento pode ser devido à formação de partículas maiores quando da incorporação de um novo material (ZnS) ao núcleo de AIS. Além disso, outra explicação diz respeito à fuga parcial do éxciton do núcleo de AIS através da heterojunção com a casca de ZnS ⁽¹²⁾.

Os valores de E_g foram novamente estimados através do método de Tauc ⁽⁶⁷⁾, encontrando-se $2,43 \pm 0,03$ e $2,41 \pm 0,03$ eV, para AIS e ZAIS respectivamente. Tais valores são superiores àqueles do bulk (1,85 e 2,10 eV ⁽¹²⁾) e, portanto, evidenciam a formação de partículas no regime de confinamento quântico. Como esperado, devido à similaridade das curvas na região do *onset*, o método de Tauc não apresentou diferenças para os dois compostos.

A figura 5-36 traz o espectro de emissão das amostras de AIS e ZAIS obtidos por excitação de laser $\lambda_{exc} = 350$ nm:

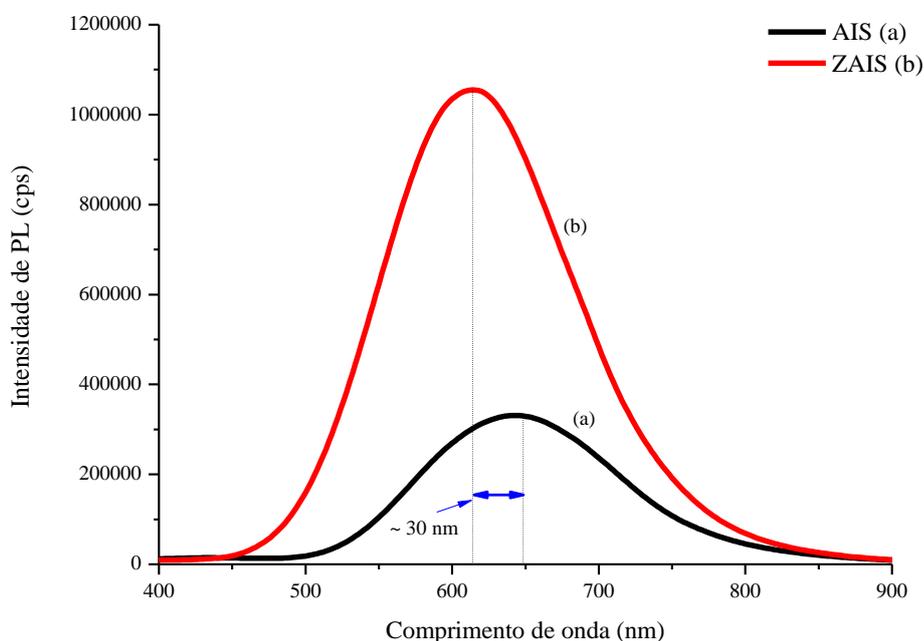


Figura 5-36: Espectro de emissão de PQ de AIS (a) e ZAIS (b) estabilizados por CMC DS 1,2.

Percebe-se claramente o aumento de intensidade de luminescência ($\cong 150$ %) proporcionada pela introdução do ZnS em relação ao núcleo de AIS. Isso demonstra que a medida para melhorar a propriedade ótica foi efetiva. Nota-se ainda um *blue shift* de

aproximadamente 30 nm (41 eV) do centro do espectro de ZAIS em relação ao AIS, uma possível explicação para tal é a eficiente deposição da camada de ZnS na superfície do PQ, além da interdifusão de íons Zn^{2+} para o interior da rede cristalina do AIS, formando uma liga de ZAIS^(12,52). O QY do ZAIS foi calculado e encontrou-se o valor de 5,0 %, ou seja, ocorreu aumento de quase 70 % em relação ao QY do AIS original (3,0 %). Esse aumento da emissão é relativo à passivação dos defeitos de superfície dos PQ de AIS, que como dito anteriormente, funcionam como centro de recombinações não radioativas, diminuindo a luminescência⁽⁹⁰⁾. A figura 5-37 traz a superfície gerada pela variação do comprimento de onda de excitação (λ_{exc}) versus comprimento de onda de emissão (λ_{em}) versus intensidade de PL para a amostra de ZAIS:

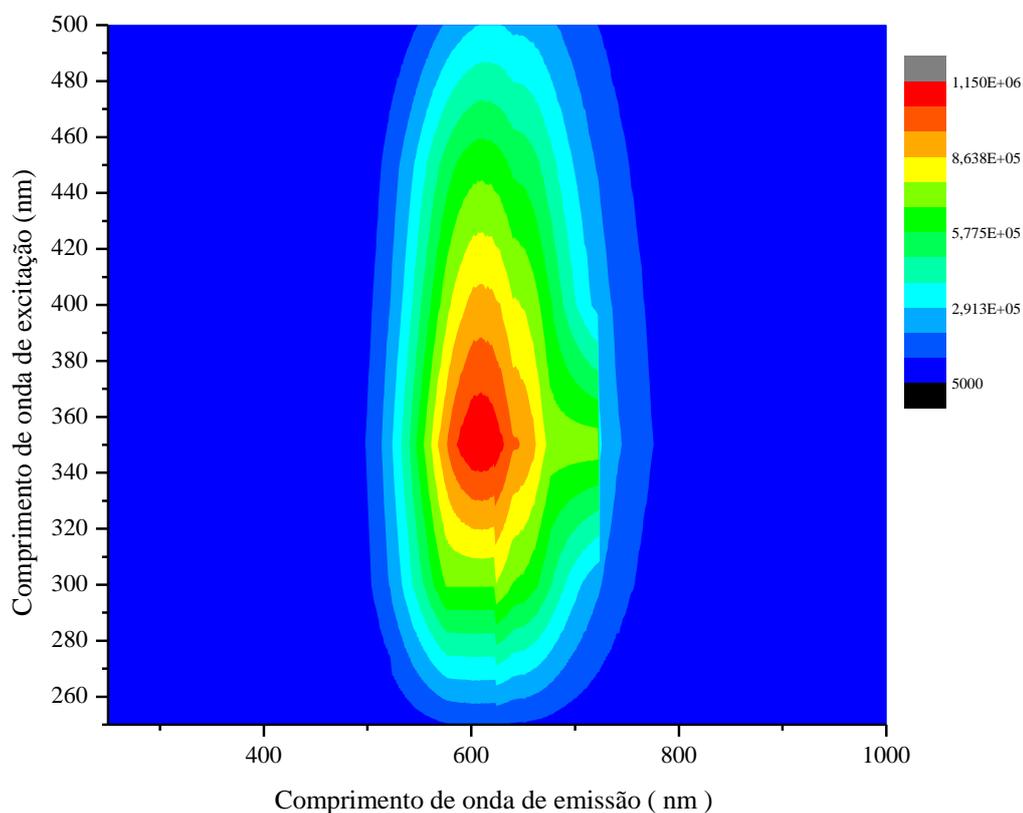


Figura 5-37: Superfície gerada pela variação do λ_{exc} versus λ_{em} versus intensidade de PL para ZAIS/CMC DS 1,2/pH 7,0.

Este 3D traz a possibilidade de comprimentos de onda de excitação que se pode trabalhar para emissão dos PQ de ZAIS. A região de excitação entre 370 (3,4 eV) e 340 nm (3,6 eV) é aquela que apresenta maior intensidade de PL, sendo que será emitido comprimentos de onda entre 588 (2,1 eV) e 632 nm (2,0 eV), compreendendo a região do

amarelo no visível, corroborando a cor da solução evidenciada pela foto digital em luz UV. Entretanto, pode-se ver que significativa emissão pode ser obtida entre 500 (2,5 eV) e 750 nm (1,7 eV). Similarmente ao AIS, o ZAIS se apresenta como um material com grande potencial de aplicação tanto na área biomédica, quanto na área ambiental, ressaltando-se a melhora significativa das propriedades óticas.

Acredita-se que a situação decorrida no processo de deposição do ZnS possa ser retratada pelo esquema da figura 5-38. Ou seja, houve tanto a formação de uma camada externa de ZnS, quanto difusão dos íons Zn^{2+} para o interior do núcleo de AIS, devido ao tratamento térmico.

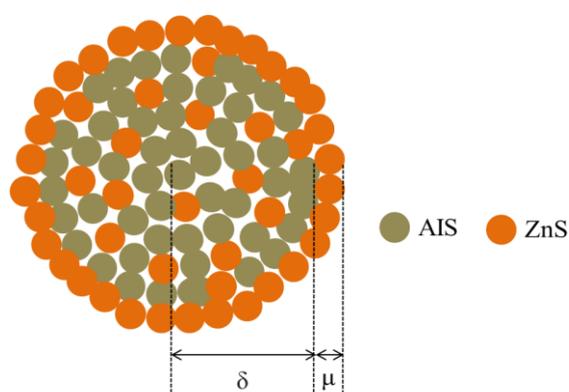


Figura 5-38: Esquema de PQ de AIS recoberto com camada de ZnS (δ), evidenciando também a interdifusão para o núcleo de raio μ .

Os tempos de vida das amostras de AIS e ZAIS foram medidos com $\lambda_{exc} = 620$ nm, obtendo-se a figura 5-39:

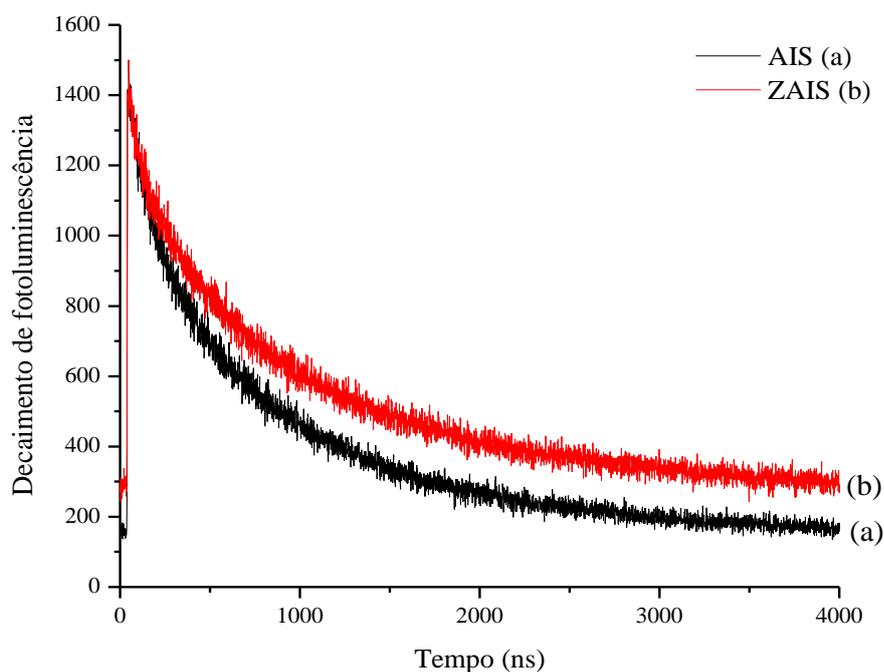


Figura 5-39: Curvas de decaimento de PQ de AIS e ZAIS estabilizadas pela CMC DS 1,2.

Tais curvas podem ser ajustadas por uma função tri exponencial (equação 5-7):

$$I(t) = A_1 \exp(-t/\tau_1) + A_2 \exp(-t/\tau_2) + A_3 \exp(-t/\tau_3) \quad (\text{Equação 5-7})$$

Em que: $I(t)$: decaimento em função do tempo, A_1 , A_2 e A_3 : amplitudes dos componentes de decaimento em $t = 0$, t : tempo, τ_1 , τ_2 e τ_3 : tempos de decaimento da intensidade de fotoluminescência.

Tal ajuste resultou em três tempos de decaimento, conforme tabela 5-7:

Tabela 5-7: Tempos de decaimento estimados para as amostras de AIS e ZAIS.

Amostra	τ_1 (ns)	A_1	τ_2 (ns)	A_2	τ_3 (ns)	A_3	Tempo de vida (ns)
AIS	341	92,69	48	5,32	9	1,99	325
ZAIS	381	95,86	46	3,77	1	0,35	369

O tempo τ_1 , sendo o maior tempo, pode ser associado a processos de recombinação de elétrons e buracos presos em pares doador-aceptor ou a mecanismos de recombinação de defeitos internos. Já o tempo menor, τ_2 , pode ser atribuído a processos de recombinação

intrínsecos a estados inicialmente presentes no núcleo e estados de superfície causados por defeitos ^(91,92). Com relação ao tempo τ_3 , como esse apresentou baixo valor e baixa amplitude, o mesmo foi desconsiderado da análise. Nota-se ainda que o tempo de vida para a amostra com Zn é superior àquele da amostra de AIS, indicando que parte dos defeitos de superfície, responsáveis por emissões não radioativas, foram passivados pela introdução do material com maior *band gap* (ZnS). Ressalta-se ainda que tais tempos são superiores aos corantes orgânicos comumente utilizados ($\cong 1 - 5$ ns), alguns PQ de elementos dos grupos II-VI ($\cong 25 - 40$ ns) e PQ de carbono ($\cong 5 - 10$ ns) ^(91,92,93).

Em aplicações biomédicas, tempos maiores de vida são interessantes para superar a autofluorescência de tecidos e melhorar a razão sinal/ruído na realização de imagens *in vivo*, por exemplo ⁽⁸⁰⁾. Melhora-se também a qualidade do estudo de processos fisiológicos e bioquímicos que são dependentes do tempo, como em eventos celulares ^(94,95). Em aplicações ambientais, quanto mais elevado o tempo de vida, melhor a eficiência da transferência de transportadores de carga fotoinduzidos no semicondutor, permitindo reações eletroquímicas, como na fotocatalise de poluentes ^(96,97).

Para se verificar a estrutura cristalina presente nos PQ de ZAIS, foi realizada análise via XRD (figura 5-40):

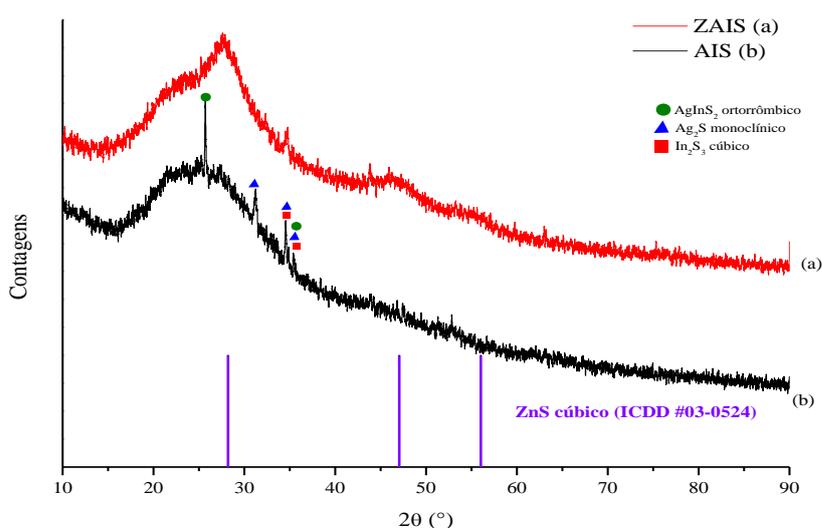
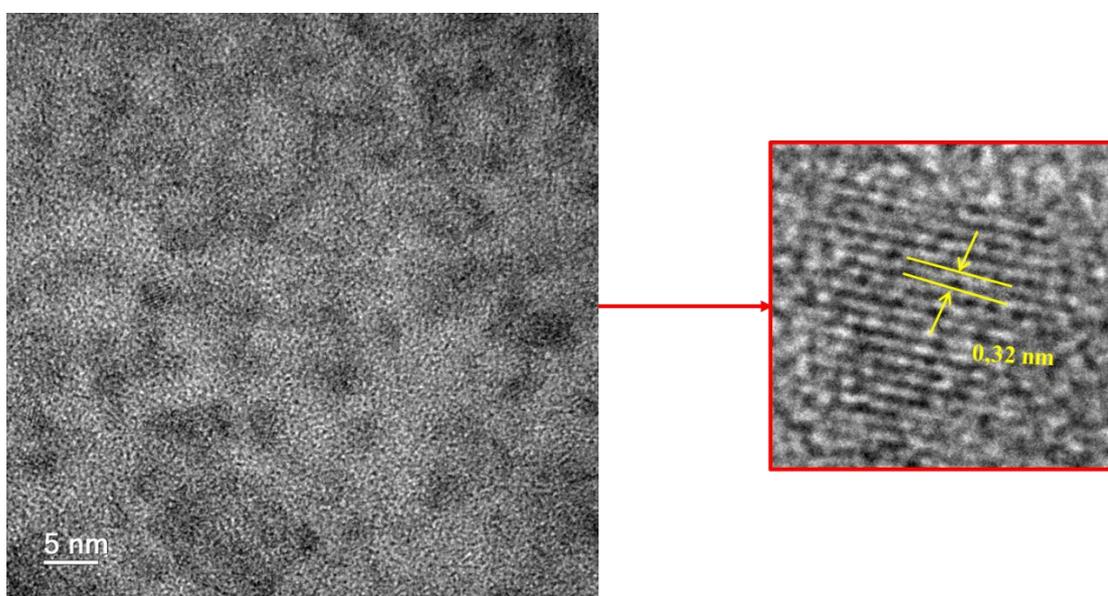


Figura 5-40: Difratomogramas de PQ de ZAIS (a) em comparação aos de AIS (b) estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 7,0.

Observa-se que o difratograma correspondente aos PQ de ZAIS apresenta poucas reflexões, sendo as mesmas alargadas. Quando comparado ao difratograma do AIS (*vide* seção 5.1.4), aparentemente, as bandas elucidadas se encontram deslocadas do composto ZnS cúbico (ICDD #03-0524), o que sugere a formação de uma solução sólida entre o AIS ortorrômbico e o ZnS, ao invés de uma simples mistura entre os dois materiais (12).

Por fim, foi realizada TEM e EDS afim de se verificar composição e morfologia do sistema conjugado AIS/ZnS (figura 5-41):



(A)

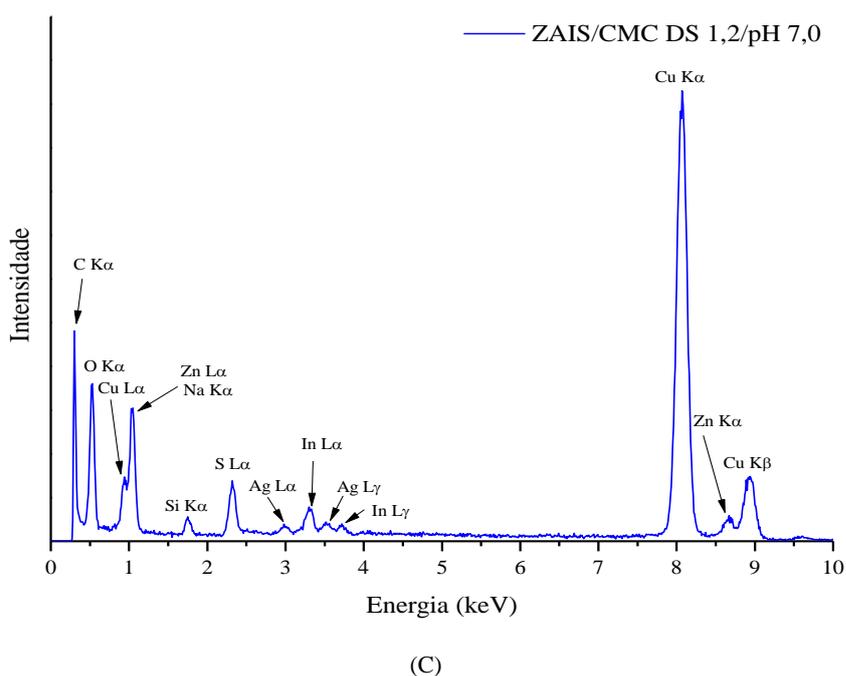
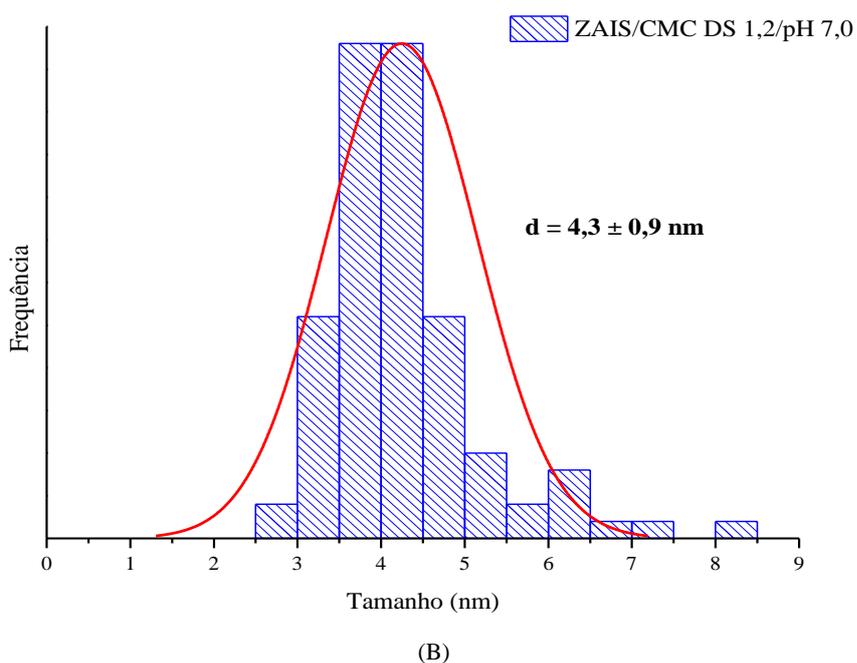


Figura 5-41: Imagem de TEM (A), distribuição de tamanhos (B) e espectro de EDS (C) para PQ de ZAIS estabilizados pela CMC DS 1,2 em pH 7,0.

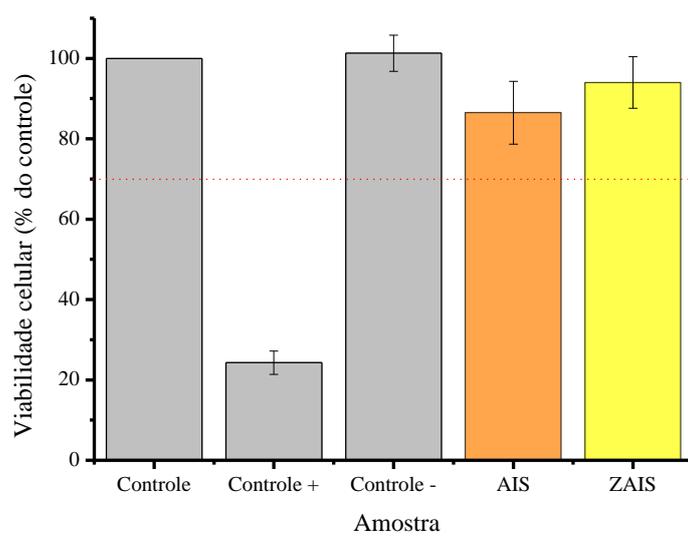
A amostra apresenta partículas com forma esferoidal. Além disso, através da alta resolução (HRTEM), evidenciou-se a presença de franjas, configurando o caráter cristalino do material. O valor encontrado para a distância interplanar de 0,32 nm pode tanto se referir ao plano (111) do composto ZnS com estrutura cúbica (ICDD #03-0524)

quanto ao plano (121) do AgInS_2 ortorrômbico (ICDD # 25-1328), correspondentes à casca e núcleo respectivamente. Observa-se aumento da média de tamanhos entre as amostras de AIS ($3,0 \pm 0,6$ nm) e ZAIS ($4,3 \pm 0,9$ nm). Tal comportamento, como projetado, foi devido à deposição de um novo material (ZnS) aos PQ de AIS. Os espectros de EDS mostraram a presença dos elementos Ag, In, Zn e S.

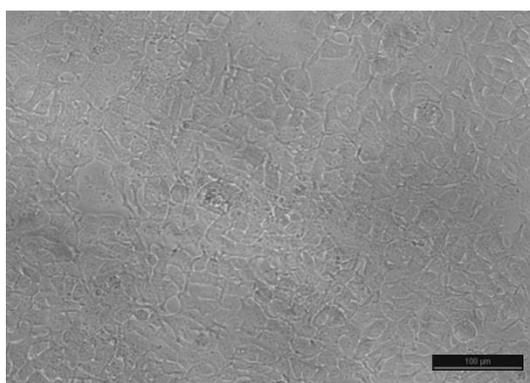
5.3. Ensaios biológicos

5.3.1. Avaliação da citotoxicidade via ensaio de viabilidade celular MTT

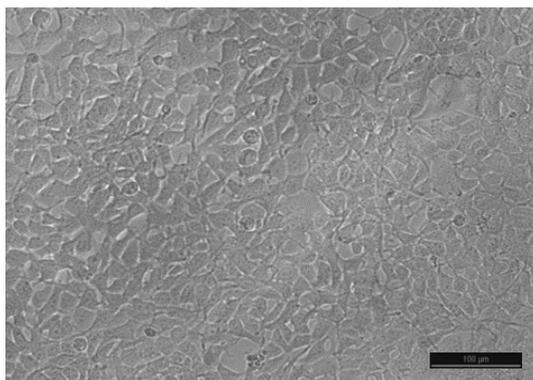
A citotoxicidade dos nanoconjugados de AIS e ZAIS foi analisada através do ensaio de MTT, um dos testes mais comuns para avaliação *in vitro* de nanomateriais para aplicações biomédicas⁽⁹⁸⁾. Duas linhagens celulares foram escolhidas para realizar os experimentos: uma de tecido normal e outro de tecido neoplásico. HEK 293 T é uma linhagem celular embrionária de rim humano, muito utilizada como modelo celular. U-87 MG é uma linhagem celular de glioblastoma humano, um tipo de célula comumente usada em pesquisas sobre o câncer no cérebro e com alta letalidade⁽⁹⁹⁾. Os resultados demonstraram não haver diferenças significativas na viabilidade celular das linhagens celulares HEK 293 T (figura 5-42 A) e U-87 MG (figura 5-43 A) incubadas com nanoconjugados AIS e ZAIS quando comparadas ao controle. Valores acima de 70% em relação à viabilidade celular indicam não-citotoxicidade das nanopartículas. Sabe-se que as células HEK 293 T tendem a ser mais afetadas pelas características físico-químicas dos nanoconjugados, devido à permeabilidade de suas membranas⁽¹⁰⁰⁾. No entanto, apresentaram viabilidade celular superior a 80%.



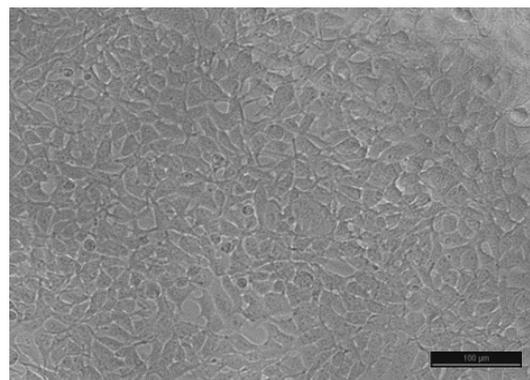
(A)



(B)

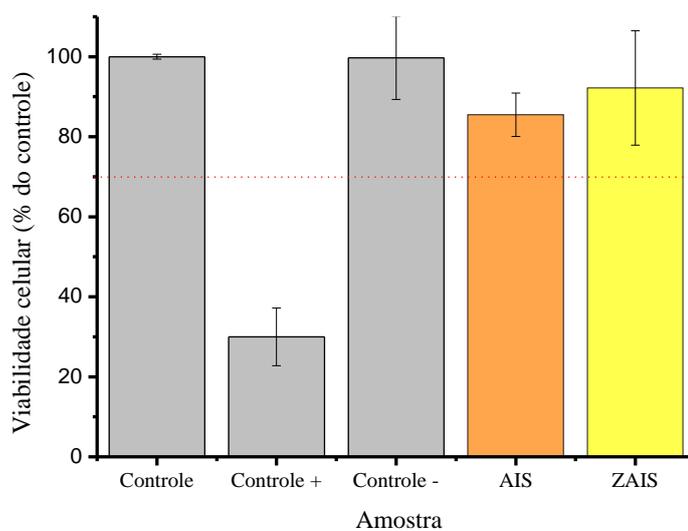


(C)

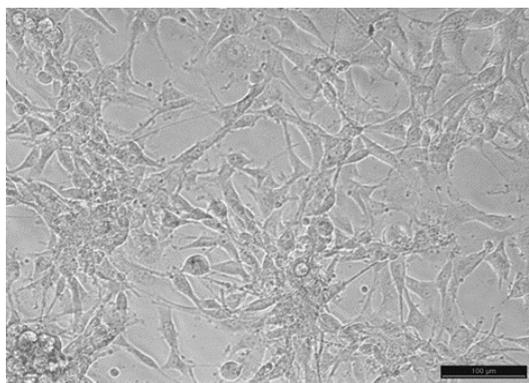


(D)

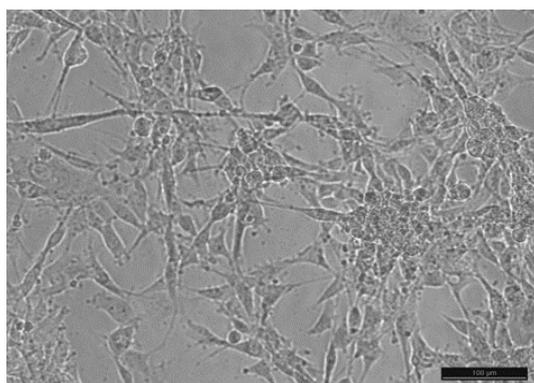
Figura 5-42: Resposta de viabilidade celular para HEK 293 T através do ensaio de MTT após 24 de incubação com os nanoconjugados (A). Imagens das células HEK 293 T no controle (B) e após incubação com PQ de AIS (C) e ZAIS (D) (escala = 100 μm)



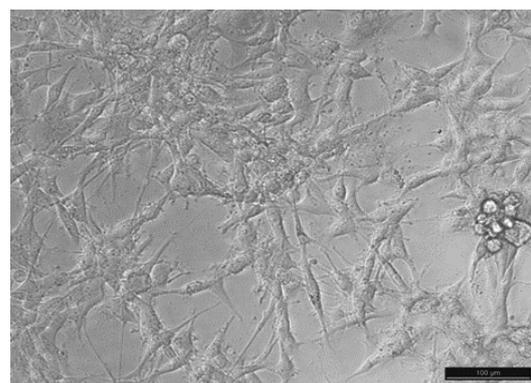
(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 5-43: Resposta de viabilidade celular para U-87 MG através do ensaio de MTT após 24 de incubação com os nanoconjugados (A). Imagens das células U-87 MG no controle (B) e após incubação com PQ de AIS (C) e ZAIS (D) (escala = 100 µm)

Imagens das células antes (figuras 5-42 B e 5-43 B) e após incubação com AIS (figuras 5-42 C e 5-43 C) e ZAIS (figuras 5-42 D e 5-43 D) estão de acordo com os resultados de viabilidade celular elucidados pelo ensaio MTT. Demonstrou-se 100% e 80% de

confluência celular para células HEK 293 T e U-87 MG, respectivamente. Além disso, a avaliação qualitativa das características morfológicas das células após a incubação com os PQ foi executada de acordo com a norma ISO 10933-5. As alterações celulares apresentadas podem ser atribuídas ao tipo 1 (leve): “não mais de 20% das células são redondas, fracamente fixadas e sem grânulos intracitoplasmáticos, ou apresentam alterações na morfologia; células com lise estão ocasionalmente presentes; apenas uma ligeira inibição de crescimento observável”. Esta classificação infere a não-citotoxicidade dos nanoconjugados de AIS e ZAIS com base na ISO 10993-5. Dessa forma, é mostrado o potencial desses nanocristais para serem utilizados em aplicações biomédicas, como bioimagem e direcionamento celular.

5.3.2. Ensaio de internalização celular dos nanoconjugados

Neste experimento, os nanoconjugados AIS e ZAIS foram utilizados como marcadores biológicos e para avaliação da internalização celular. As imagens foram registradas utilizando microscopia confocal de varredura a laser após incubação dos nanocristais com linhagens celulares HEK 293 T e U-87 MG. Segundo a literatura, os PQ são internalizados pelas células através de processos de endocitose e são expelidos via exocitose. Portanto, essas duas vias são afetadas pelas propriedades físico-químicas do nanomaterial, como tamanho, carga superficial e moléculas ligadas. Além disso, a quantidade de material internalizado está diretamente relacionada à citotoxicidade ^(101,102). Os PQ de AIS e ZAIS foram efetivamente internalizados pelas células HEK 293 T e U-87 MG, evidenciando emissões das cores vermelha e verde após 1 h de incubação (figuras 5-44 e 5-45). Devido à presença da CMC, os nanoconjugados não necessitaram de um vetor de direcionamento biológico para serem internalizados pelas células ^(12,52,76,103). A localização dos nanoconjugados foi avaliada e pode-se observar que a emissão de fluorescência está presente majoritariamente na região do citosol, quando comparada ao núcleo. Além disso, não há evidências claras de localização intracelular específica. Com base nesses resultados, é demonstrado o potencial de uso dos nanoconjugados AIS/ZAIS-CMC como sondas fluorescentes e para o direcionamento celular tanto para células de linhagem normal como para aquelas neoplásicas.

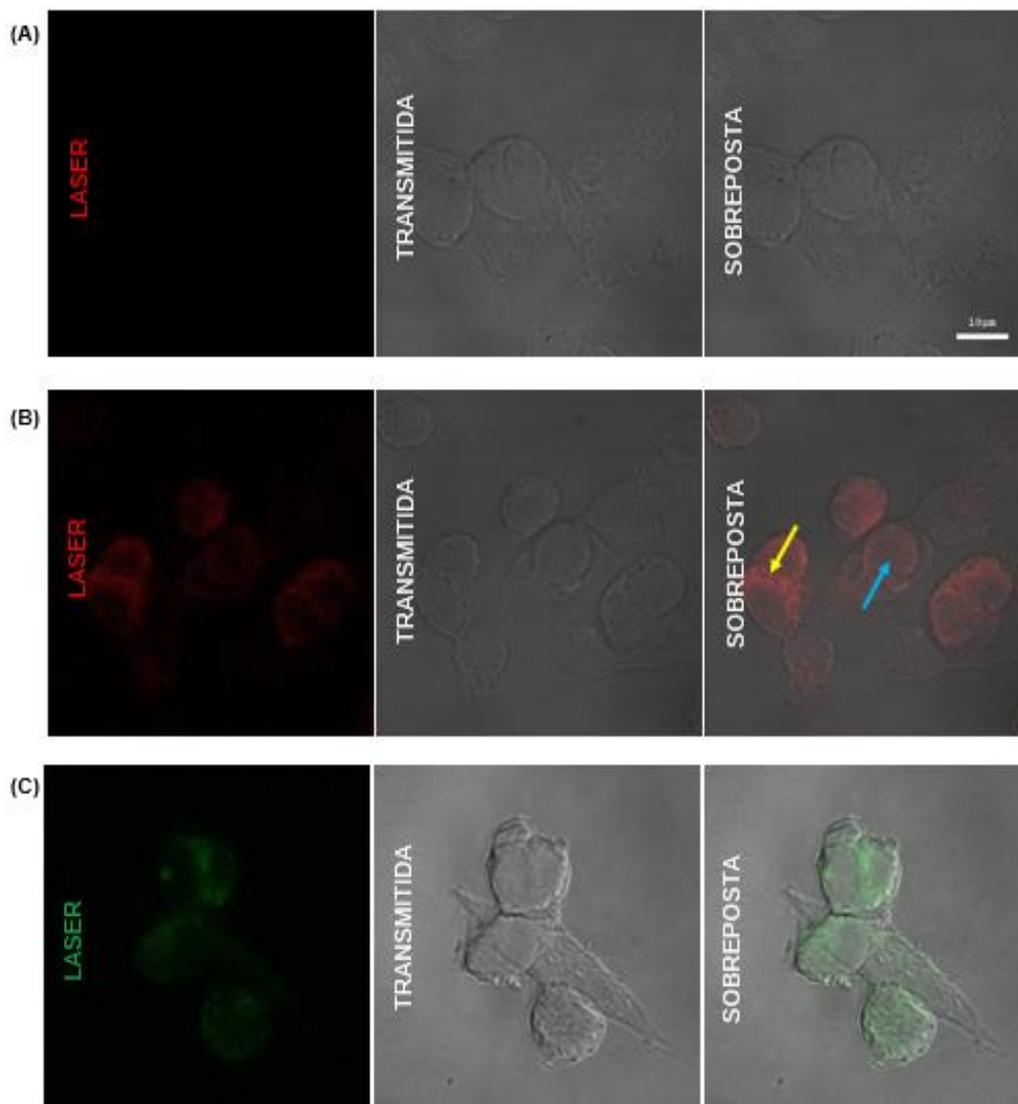


Figura 5-44 Imagens de microscopia confocal de células HEK 293 T sem a presença dos PQ (A) e após 1 h de incubação com os nanoconjugados AIS (B) e ZAIS (C) (seta amarela: citosol e seta azul: núcleo) (escala = 100 μm)

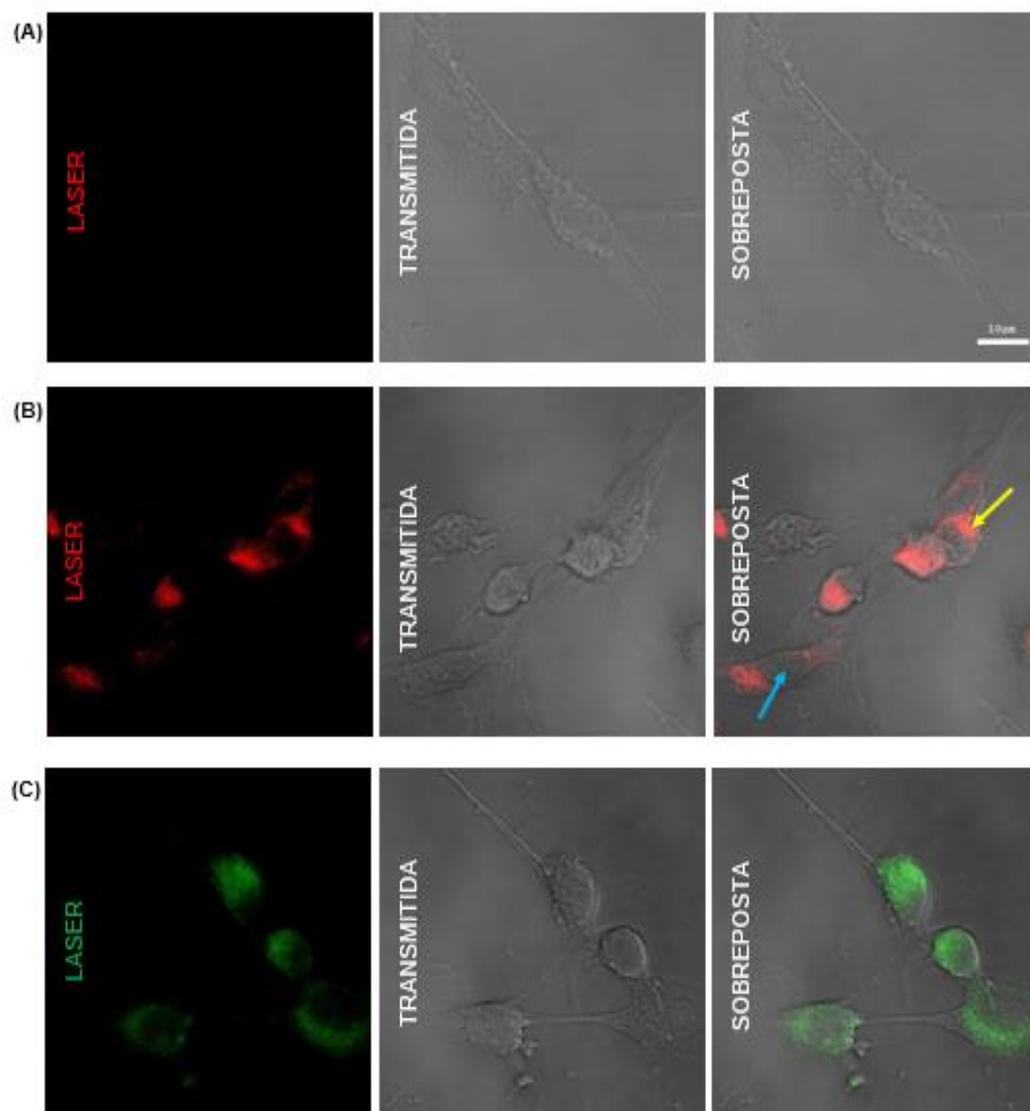


Figura 5-45: Imagens de microscopia confocal de células U-87 MG sem a presença dos PQ (A) e após 1 h de incubação com os nanoconjugados AIS (B) e ZAIS (C) (seta amarela: citosol e seta azul: núcleo) (escala = 100 μm)

6. CONCLUSÕES

- Foram obtidas nanopartículas de AIS sob regime de confinamento quântico e efetivamente estabilizadas pela CMC, que restringiu o crescimento das mesmas. O tamanho dos nanocristais sintetizados foi em torno de 3,0 nm. Verificou-se ainda que tanto o grau de substituição quanto o pH de síntese não influenciaram de maneira significativa o tamanho nem sua distribuição;
- Observou-se que além da formação do composto esperado (AIS), houve formação de compostos secundários, como Ag_2S e In_2S_3 . Porém, a presença desses materiais não impede a potencial aplicação dos PQ de AIS, visto que a propriedade de luminescência, por exemplo, se encontra pronunciada;
- A fotoluminescência foi a propriedade mais afetada pelas variações de DS e pH impostas, fazendo com que sua intensidade variasse, mas mantendo a mesma faixa de emissão. Verificou-se que a condição de síntese para se obter a melhor intensidade de PL é aquela com pH próximo a 7,0 e com CMC DS 1,2;
- A deposição do ZnS foi um método eficiente para melhorar a luminescência dos PQ de AIS. Obteve-se um aumento de quase 70 % no QY da amostra e o tempo de vida do material passou de 325 para 369 ns, o que é interessante para diversas aplicações;
- Os nanoconjugados AIS e ZAIS não apresentaram citotoxicidade *in vitro* para as células embrionárias de rim humano (HEK293 T) e de glioma humano (U-87 MG). Os nanoconjugados AIS e ZAIS também apresentaram padrões semelhantes de internalização com prevalência dos pontos quânticos nas regiões perinucleares das células.

Portanto, os sistemas estudados oferecem potenciais aplicações desses nanomateriais em áreas como a biomédica e a ambiental.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Aprofundamento no estudo das fases formadas na síntese de pontos quânticos de Ag-In-S;
- Realizar a dopagem do sistema AIS-CMC com o cobre e estudar o efeito nas propriedades óticas;
- Dopar os pontos quânticos de (Zn)AIS com Mn^{2+} e verificar a possibilidade de se conjugar propriedades óticas e magnéticas em um mesmo material;
- Estudo da utilização de mais de um estabilizante na síntese dos pontos quânticos de AIS e do efeito no balanceamento de reatividade dos precursores.

8. CONTRIBUIÇÕES PARA A LITERATURA

Paiva, A. E., Mansur, A. A. P., Mansur, H. S., Leonel, A. G. Síntese Verde de Pontos Quânticos Ternários de Ag-In-S Estabilizados por Carboximetilcelulose para Potencial Aplicação Biomédica. In: 23º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2018, Foz do Iguaçu. Anais do congresso. Foz do Iguaçu: Metallum Congressos Técnicos e Científicos, 2018. p. 3768-3779.

Mansur, A. A. P., Mansur, H. S., Tabare, C., **Paiva, A.**, Capanema, N. S. V. Eco-friendly AgInS₂/ZnS Quantum Dot Nano hybrids with Tunable Luminescent Properties Modulated by pH-Sensitive Biopolymer for Potential Solar Energy Harvesting Applications, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, p. 1-16, jan. 2019. (<https://doi.org/10.1007/s10854-019-00719-0>).

Paiva, A. E., Mansur, A. A. P., Mansur, H. S. Ag-In-S/ZnS Quantum Dots-Carboxymethylcellulose Nanoconjugates with Tunable Luminescent Properties Modulated by pH-sensitive Biopolymer for Potential Bioimaging Live Cells in Cancer Research. Artigo a ser submetido ao *Journal of Cluster Science* (ISSN: 1040-7278 (Impressa) e 1572-8862 (Online)).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Hulla, J., Sahu, S. C., Hayes, A. D. Nanotechnology: History and Future, *Human & experimental toxicology*, v. 34, n. 12, p. 1318-1321, dez. 2015.
- (2) Mansur, H. S. Quantum dots and Nanocomposites, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 2, n. 2, p. 113-129, mar. 2010.
- (3) StatNano. Publication of More than Half of Nanotechnology Articles in 2017 by Top Three Countries. *StatNano*, 07 jan. 2018. Disponível em: <<https://statnano.com/news/61353>>. Acesso em: 13 dez. 2018.
- (4) StatNano. A Statistical Report on Nanotechnology Research Publications. *StatNano*, 2018. 44p.
- (5) González, S. Evolução da Nanotecnologia no Brasil Requer Aproximação entre Universidade e Indústria. *Portal da Indústria*, 25 jan. 2018. Disponível em: <<https://noticias.portaldaindustria.com.br/noticias/inovacao-e-tecnologia/evolucao-da-nanotecnologia-no-brasil-requer-aproximacao-entre-universidade-e-industria/>>. Acesso em: 04 fev. 2019.
- (6) Rogach, A. Quantum Dots Still Shining Strong 30 Years On, *ACS Nano*, v. 8, n. 7, p. 6511-6512, jul. 2014.
- (7) AheadIntel. Quantum Dots Global Market and Patent Landscape Report. *AheadIntel*, 2017. Disponível em: <<https://www.aheadintel.com/product/quantum-dots-global-market-patent-landscape-report2018-2022/>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- (8) Ministério Da Economia. *Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI)*. Disponível em: <<http://www.inpi.gov.br>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- (9) Mansur, H. S., Mansur, A. A. P., Lobato, Z. I. P. *Imunoconjugados Fluorescentes Baseados na Associação de Pontos Quânticos, Quitosana e Anticorpos, Processo de Obtenção e Uso*. BR 10 2014 013191 4 A2, 30 mai. 2015, 05 dez. 2017.
- (10) Rocha, T. L., Mestre, N. C., Sabóia-Morais, S. M. T., Bebianno, M. J. Environmental Behaviour and Ecotoxicity of Quantum Dots at Various Trophic Levels: A Review, *Environment International*, v. 98, p. 1-17, jan. 2017.
- (11) Mansur, A. A. P., Ramanery, F. P., Borsagli, F. M., De Oliveira, L. C., Mansur, H. S. Eco-Friendly Nano-Photocatalysts Based on Bi-Doped ZnS Quantum Dots/Polysaccharide Hybrids for Environmental Applications: Towards Green

Nanotechnology, *Advanced Science, Engineering and Medicine*, v. 9, n. 9, p. 179-187, mar. 2017.

(12) Mansur, A. A. P., Mansur, H. S., Carvalho, S. M., Caires, A. J., Morales, M. P. One-Pot Aqueous Synthesis of Fluorescent Ag-In-Zn-S Quantum Dot/Polymer Bioconjugates for Multiplex Optical Bioimaging of Glioblastoma Cells, *Contrast Media & Molecular Imaging*, set. 2017.

(13) Mousavi-Kamazani, M., Salavati-Niasari, M., Hosseinpour-Mashkani, S. M., Goudarzi, M. Synthesis and Characterization of CuInS₂ Quantum Dot in the Presence of Novel Precursors and its Application in Dyes Solar Cells, *Materials Letters*, v. 145, p. 99-103, abr. 2015

(14) U.S. National Library of Medicine. *Toxnet - Toxicology Data Network*. Disponível em: <<https://toxnet.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

(15) Drbohlavova, J., Adam V., Kizek, R., Hubalek, J. Quantum Dots - Characterization, Preparation and Usage in Biological Systems, *International Journal of Molecular Sciences*, v. 10, n. 2, p. 656-673, fev. 2009.

(16) Smith, A., Ruan G., Rhyner, M., Nie, S. Engineering Luminescent Quantum Dots For In Vivo Molecular and Cellular Imaging, *Annals of Biomedical Engineering*, v. 34, n. 1, p. 3-14, jan. 2006.

(17) Jing, L., Kershaw, S. V., Li, Y., Huang, X., Li, Y., Rogach, A. L., Gao, M. Aqueous Based Semiconductor Nanocrystals, *Chemical Reviews*, v. 116, n. 18, p. 10623-730, set. 2016.

(18) Thanh, N. T. K., Maclean, N., Mahiddine, S. Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution, *Chemical Reviews*, v. 114, n. 15, p. 7610-7630, ago. 2014.

(19) Plank, J. Applications of Biopolymers and Other Biotechnological Products in Building, *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 66, n. 1, p. 1-9, nov. 2004.

(20) Mansur, A. A. P., De Carvalho, F. G., Mansur, R. L., Carvalho, S. M., De Oliveira, L. C., Mansur, H. S. Carboxymethylcellulose/ZnCdS Fluorescent Quantum Dot Nanoconjugates for Cancer Cell Bioimaging, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 96, p. 675-686, mar. 2017.

(21) Murphy, C. J., Coffey, J. L. Quantum Dots: A Primer, *Applied Spectroscopy*, v. 56, n. 1, p. 16A-27A, jan. 2002.

- (22) Wheeler, D. A., Zhang, J. Z. Exciton Dynamics in Semiconductor Nanocrystals, *Advanced Materials*, v. 25, n. 21, p. 2878-2896, abr. 2013.
- (23) Brundle, C. R.; Evans, C. A.; Wilson, S. *Encyclopedia of Materials Characterization: Surfaces, Interfaces, Thin Films*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1992. 800p.
- (24) Numai, T. Optical Transitions. In: Numai, T. *Fundamentals of Semiconductor Lasers*. Nova York: Springer-Verlag New York, 2004. V. 93, cap. 2, p. 25-41.
- (25) Dahan, P., Fleurov, V., Thurian, P., Heitz, R., Hoffmann, A. Broser, I. Properties of the Intermediately Bound α -, β - and γ -Excitons in ZnO:Cu, *Journal of Physics: Condensed Matter*, v. 10, n. 9, p. 2007-2019, dez. 1997.
- (26) Schatkoski, V. M. *Síntese E Caracterização de Nanopartículas Semicondutoras com Estrutura tipo "Núcleo/Casca" Cd_xMn_{1-x}S/CdSe Obtidas por Rota Coloidal Aquosa*. Belo Horizonte: Escola de Engenharia da UFMG, 2011. 106p. (Dissertação, Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas).
- (27) Bera, D., Qian, L., Tseng, T.-K., Holloway, P. Quantum Dots and Their Multimodal Applications: A Review, *Materials*, v. 3, n. 4, p. 2260-2345, mar. 2010.
- (28) Vasudevan, D., Gaddam, R. R., Trinchi, A., Cole, I. Core-Shell Quantum Dots: Properties and Applications, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 636, p. 395-404, jul. 2015.
- (29) Hildebrandt, N., Spillmann, C. M., Algar, W. R., Pons, T., Stewart, M. H., Oh, E., Susumu, K., Díaz, S. A., Delehanty, J. B., Medintz, I. L. Energy Transfer with Semiconductor Quantum Dot Bioconjugates: A Versatile Platform for Biosensing, Energy Harvesting, and Other Developing Applications, *Chemical Reviews*, v. 117, n. 2, p. 536-711, jun. 2017.
- (30) Brydson, R. M., Hammond, C. Generic Methodologies for Nanotechnology: Classification and Fabrication. In: Kelsall, R.; Hamley, I. W.; Geoghegan, M. *Nanoscale Science and Technology*. Estados Unidos: John Wiley & Sons, 2005. Cap. 1, p. 1-55.
- (31) Qian, H., Li, L., Ren, J. One-Step and Rapid Synthesis of High Quality Alloyed Quantum Dots (CdSe-CdS) in Aqueous Phase by Microwave Irradiation with Controllable Temperature, *Materials Research Bulletin*, v. 40, n. 10, p. 1726-1736, out. 2005.

- (32) Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L., O'Connor, C. J. Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles, *Chemical Reviews*, v. 104, n. 9, p. 3893-3946, set. 2004.
- (33) Cerrutti, B. M. *Biomacromoléculas Carboximetiladas: Atuação como Agentes de Estabilização de Suspensões Aquosas de Alumina*. São Carlos: Instituto de Química da USP, 2010. 139p. (Tese, Doutorado em Ciências).
- (34) Li, Z., Wang, Y., Pei, Y., Xiong, W., Xu, W., Li, B., Li, J. Effect of Substitution Degree on Carboxymethylcellulose Interaction with Lysozyme, *Food Hydrocolloids*, v. 62, p. 222-229, jan. 2017.
- (35) Chen, Y., Li, S., Huang, L., Pan, D. Green and Facile Synthesis of Water-Soluble Cu-In-S/ZnS Core/Shell Quantum Dots, *Inorganic Chemistry*, v. 52, n. 14, p. 7819-7821, jul. 2013.
- (36) Xu, G., Zeng, S., Zhang, B., Swihart, M. T., Yong, K.-T., Prasad, P. N. New Generation Cadmium-Free Quantum Dots for Biophotonics and Nanomedicine, *Chemical Reviews*, v. 116, n. 19, p. 12234-12327, out. 2016.
- (37) Sandroni, M., Wegner, K. D., Aldakov, D., Reiss, P. Prospects of Chalcopyrite-Type Nanocrystals for Energy Applications, *ACS Energy Letters*, v. 2, n. 5, p. 1076-1088, abr. 2017.
- (38) Coughlan, C., Ibáñez, M., Dobrozhan, O., Singh, A., Cabot, A., Ryan, K. M. Compound Copper Chalcogenide Nanocrystals, *Chemical Reviews*, v. 117, n. 9, p. 5865-6109, mai. 2017.
- (39) Kolny-Olesiak, J., Weller, H. Synthesis and Application of Colloidal CuInS₂ Semiconductor Nanocrystals, *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 5, n. 23, p. 12221-12237, dez. 2013.
- (40) Madelung, O., Rössler, U., Schulz, M. *Non-Tetrahedrally Bonded Elements and Binary Compounds I*. 1 ed. Berlim: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1998. 463p.
- (41) Hodes, G. *Chemical Solution Deposition of Semiconductor Films*. 1 ed. [S.l.]: CRC Press, 2002. 388p.
- (42) Vogel, R., Hoyer, P., Weller, H. Quantum-Sized Pbs, CdS, Ag₂S, Sb₂S₃, and Bi₂S₃ Particles as Sensitizers for Various Nanoporous Wide-Bandgap Semiconductors, *Journal of Physical Chemistry*, v. 98, n. 12, p. 3183-3188, jan. 1994.

- (43) Du, Y., Xu, B., Fu, T., Cai, M., Li, F., Zhang, Y., Wang, Q. Near-Infrared Photoluminescent Ag₂S Quantum Dots from a Single Source Precursor, *Journal of the American Chemical Society*, v. 132, n. 5, p. 1470-1471, fev. 2010.
- (44) Asikainen, T., Ritala, M., Leskelti, M. Growth of In₂S₃ Thin Films by Atomic Layer Epitaxy, *Applied Surface Science*, v. 82-83, p. 122-125, dez. 1994.
- (45) Liu, L., Xiang, W., Zhong, J., Yang, X., Liang, X., Liu, H., Cai, W. Flowerlike Cubic β-In₂S₃ Microspheres: Synthesis and Characterization, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 493, n. 1-2, p. 309-313, mar. 2010.
- (46) Robles, R., Barreau, N., Vega, A., Marsillac, S., Bernède, J. C., Mokrani, A. Optical Properties of Large Band Gap B-In₂S_{3-3x}O_{3x} Compounds Obtained by Physical Vapor Deposition, *Optical Materials*, v. 27, n. 4, p. 647-653, jan. 2005.
- (47) Raevskaya, A., Lesnyak, V., Haubold, D., Dzhagan, V., Stroyuk, O., Gaponik, N., Zahn, D. R. T., Eychemüller, A. A Fine Size Selection of Brightly Luminescent Water-Soluble Ag-In-S and Ag-In-S/ZnS Quantum Dots, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 121, n. 16, p. 9032-9042, abr. 2017.
- (48) Park, S., Lee, J. Y., Kim, J.-E., Park, H. Y., Park, H.-L., Lim, H.-J., Kim, W.-T. P-D Hybridization of the Valence Bands of Ag_xCu_{1-x}GaSe₂ Compounds, *Journal of Physics: Condensed Matter*, v. 4, n. 2, p. 579-586, 1992.
- (49) El Zawawi, I., Mahdy, M. Physical Characterization of Orthorhombic AgInS₂ Nanocrystalline Thin Films, *Journal of Electronic Materials*, v. 46, n. 11, p. 6430-6439, jul. 2017.
- (50) Rajeshwar, K., De Tacconi, N. R., Chenthamarakshan, C. R. Semiconductor-Based Composite Materials: Preparation, Properties, and Performance, *Chemistry of Materials*, v. 13, n. 9, p. 2765-2782, set. 2001.
- (51) Tran, T. K., Park, W., Tong, W., Kyi, M. M., Wagner, B. K., Summers, C. J. Photoluminescence properties of ZnS epilayers, *Journal of Applied Physics*, v. 81, n. 6, p. 2803-2809, mar. 1997.
- (52) Regulacio, M. D., Win, K., Lo, S., Zhang, S.-Y., Zhang, X., Wang, S., Han, M.-Y., Zheng, Y. Aqueous Synthesis of Highly Luminescent AgInS₂-ZnS Quantum Dots and their Biological Applications, *Nanoscale*, v. 5, n. 6, p. 2322-2327, fev. 2013.
- (53) Allen, M. W. *Measurement of Fluorescence Quantum Yields*. Thermo Fisher Scientific. Madison, WI, EUA, 2010. 4p.

- (54) Tsonopoulos, C.; Coulson, D. M.; Inman, L. B. Ionization Constants of Water Pollutants, *Journal of Chemical and Engineering Data*, v. 21, n. 2, p. 190-193, abr. 1976.
- (55) Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Toxicological Profile for Hydrogen Sulfide*. U. S. Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia, 2006. 253p.
- (56) Chang, J.-Y., Wang, G.-Q., Cheng, C.-Y., Lin, W.-X., Hsu, J.-C., Chang, J.-Y. Strategies for Photoluminescence Enhancement of AgInS₂ Quantum Dots and their Application as Bioimaging Probes, *Journal of Materials Chemistry*, v. 22, p. 10609-10618, mai. 2012.
- (57) Jagadeeswararao, M., Swarnkar, A., Markad, G. B., Nag, A. Defect-Mediated Electron-Hole Separation in Colloidal Ag₂S-AgInS₂, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 120, n. 34, p. 19461-19469, set. 2016.
- (58) Kobosko, S. M., Kamat, P. V. Indium-Rich AgInS₂-ZnS Quantum Dots-Ag-/Zn-Dependent Photophysics and Photovoltaics, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 122, n. 26, p. 14336-14344, jun. 2018.
- (59) Dumont, V. C., Mansur, A. A. P., Carvalho, S. M., Borsagli, F. G. L., Pereira, M. M. Mansur, H. S. Chitosan and Carboxymethyl-Chitosan Capping Ligands: Effects on the Nucleation and Growth of Hydroxyapatite Nanoparticles for Producing Biocomposite Membranes, *Materials Science & Engineering C*, v. 59, p. 265-277, fev. 2016.
- (60) Grubbs, R. B. Roles of Polymer Ligands in Nanoparticle Stabilization, *Polymer Reviews*, v. 47, n. 2, p. 197-215, jan. 2007.
- (61) Donegá, C. M. Synthesis and Properties of Colloidal Heteronanocrystals, *Chemical Society Reviews*, v. 40, n. 3, p. 1512-1546, out. 2010.
- (62) Zhang, Y., Liu, Y., Li, C., Chen, X., Wang, Q. Controlled Synthesis of Ag₂S Quantum Dots and Experimental Determination of the Exciton Bohr Radius, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 118, n. 9, p. 4918-4923, mar. 2014.
- (63) Yang, H.-Y., Zhao, Y.-W., Zhang, Z.-Y., Xiong, H.-M., Yu, S.-N. One-Pot Synthesis of Water-Dispersible Ag₂S Quantum Dots with Bright Fluorescent Emission in the Second Near-Infrared Window, *Nanotechnology*, v. 24, n. 5, p. 55706-55715, jan. 2013.

- (64) Ghosh, S., Saha, M., Ashok, V. D., Chatterjee, A., De, S. K. Excitation Dependent Multicolor Emission and Photoconductivity of Mn, Cu Doped In_2S_3 Monodisperse Quantum Dots, *Nanotechnology*, v. 27, n. 15, p. 155708-155725, mar. 2016.
- (65) Xiang, W., Zhao, H., Zhong, J., Luo, H., Zhao, X., Chen, Z., Liang, X., Yang, X. Synthesis and Third-Order Optical Nonlinearities of In_2S_3 Quantum Dots Glass, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 553, p. 135-141, mar. 2013.
- (66) Capanema, N. S. V., Mansur, A. A. P., Carvalho, S. M., Mansur, L. L., Ramos, C. P., Lage, A. P., Mansur, H. S. Physicochemical Properties and Antimicrobial Activity of Biocompatible Carboxymethylcellulose-Silver Nanoparticle Hybrids for Wound Dressing and Epidermal Repair, *Journal of Applied Polymer Science*, v. 135, n. 6, fev. 2018.
- (67) Tauc, J., Menth, A. States in the Gap, *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 8-10, p. 569-585, jun. 1972.
- (68) Hamanaka, Y., Ogawa, T., Tsuzuki, M., Kuzuya, T. Photoluminescence Properties and its Origin of AgInS_2 Quantum Dots with Chalcopyrite Structure, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 115, n. 5, p. 1786-1792, jan. 2011.
- (69) Green, M. The Nature of Quantum Dot Capping Ligands, *Journal of Materials Chemistry*, v. 20, n. 28, p. 5797-5809, abr. 2010.
- (70) Grandhi, G. K.; Arunkumar, M.; Viswanatha, R. Understanding the Role of Surface Capping Ligands in Passivating the Quantum Dots Using Copper Dopants as Internal Sensor, *Journal of Physical Chemistry C*, v. 120, n. 35, p. 19785-19795, set. 2016.
- (71) Takeno, N. *Atlas of Eh-pH diagrams - Intercomparison of Thermodynamic Databases*. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. [S.l.]. 2005. 287p.
- (72) Zhou, H., Alves, H., Hofmann, D. M., Kriegseis, W., Meyer, B. K., Kaczmarczyk, G., Hoffmann, A. Behind the Weak Excitonic Emission of ZnO Quantum Dots: $\text{ZnO}/\text{Zn}(\text{OH})_2$ Core-Shell Structure, *Applied Physics Letters*, v. 80, n. 2, p. 210-212, jan. 2002.
- (73) Fondriest. Solar Radiation & Photosynthetically Active Radiation. *Fundamental of Environmental Measurements*. Disponível em: <<https://www.fondriest.com/environmental->

measurements/parameters/weather/photosynthetically-active-radiation/#PAR3>. Acesso em: 12 jan. 2019.

(74) Kim, M. R., Ma, D. Quantum-Dot-Based Solar Cells: Recent Advances, Strategies, and Challenges, *The Journal of Physical Chemistry Letters*, v. 6, n. 1, p. 85-99, jan. 2015.

(75) Liu, H., Li, S., Chen, W., Wang, D., Li, C., Wu, D., Hao, J., Zhou, Z., Wang, X., Wang, K. Scattering enhanced quantum dots based luminescent solar concentrators by silica microparticles, *Solar Energy Materials and Solar Cells*, v. 179, p. 380-386, jun. 2018.

(76) Mansur, A. A. P., Mansur, H. S., Mansur, R. L., De Carvalho, F. G., Carvalho, S. M. Bioengineered II–VI Semiconductor Quantum Dot-Carboxymethylcellulose Nanoconjugates as Multifunctional Fluorescent Nanoprobes for Bioimaging Live Cells, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 189, p. 393-404, jan. 2018.

(77) Clogston, J. D.; Patri, A. K. Zeta Potential measurement. In: Mcneil, S. E. *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery*. 1. ed. [S.l.]: Humana Press, 2011. Cap. 6, p. 63-70.

(78) Farrell, E.; Brousseau, J.-L. *Guide for DLS Sample Preparation*. Brookhaven Instruments. NY. 3p.

(79) Abbasi, E., Kafshdooz, T., Bakhtiary, M., Nikzamir, N., Nikzamir, N., Nikzamir, M., Mohammadian, M., Akbarzadeh, A. Biomedical and Biological Applications of Quantum Dots, *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, v. 44, n. 3, p. 885-891, abr. 2016.

(80) Ghaderi, S. *Development of Fluorescent Nanoparticles 'Quantum Dots' for Biomedical Application*. Londres: UCL Center for Nanotechnology and Regenerative Medicine - Division of Surgery & Interventional Sciences - University College London, 2012. 206p. (Tese, Doctor of Philosophy for the University College London).

(81) Choi, H. S., Liu, W., Misra, P., Tanaka, E., Zimmer, J. P., Ipe, B. I., Bawendi, M. G., Frangioni, J. V. Renal Clearance of Quantum Dots, *Nature Biotechnology*, v. 25, n. 10, p. 1165-1171, out. 2007.

(82) Sutton, C. C. R., Silva, G. D., Franks, G. V. Modeling the IR Spectra of Aqueous Metal Carboxylate Complexes: Correlation between Bonding Geometry and Stretching

Mode Wavenumber Shifts, *Chemistry - A European Journal*, v. 21, n. 18, p. 6801-6805, abr. 2015.

(83) Zeleňák, V., Vargová, Z., Györyová, K. Correlation of Infrared Spectra of Zinc (II) Carboxylates with their Structures, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 66, n. 2, p. 262-272, fev. 2007.

(84) Sunardi, F., Mutia, N., Junaidi, A. B. Preparation of Carboxymethyl Cellulose Produced from Purun Tikus (*Eleocharis Dulcis*), *American Institut of Physics Conference Proceedings*, v. 1868, n. 1, ago. 2018.

(85) Uskoković, V. Composites Comprising Cholesterol and Carboxymethyl Cellulose, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 61, n. 2, p. 250-261, fev. 2008.

(86) Ivashchenko, I. A., Danyliuk, I. V., Olekseyuk, I. D., Pankevych, V. Z., Halyan, V.V. Phase Equilibria in the Quasiternary System $\text{Ag}_2\text{S}-\text{Ga}_2\text{S}_3-\text{In}_2\text{S}_3$ and Optical Properties of $(\text{Ga}_{55}\text{In}_{45})_2\text{S}_{300}$, $(\text{Ga}_{54.59}\text{In}_{44.66}\text{Er}_{0.75})_2\text{S}_{300}$ Single Crystals, *Journal of Solid State Chemistry*, v. 227, p. 255-264, jul. 2015.

(87) Sachanyuk, V. P., Gorgut, G. P., Atuchin, V. V., Olekseyuk, I. D., Parasyuk, O. V. The $\text{Ag}_2\text{S}-\text{In}_2\text{S}_3-\text{Si}(\text{Ge})\text{S}_2$ Systems and Crystal Structure of Quaternary Sulfides $\text{Ag}_2\text{In}_2\text{Si}(\text{Ge})\text{S}_6$, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 450, n. 2, p. 348-358, mar. 2008.

(88) Sawai, H., Rahman, I. M. M., Tsukagoshi, Y., Wakabayashi, T., Maki, T., Mizutani, S., Hasegawa, H. Selective Recovery of Indium from Lead-Smelting Dust, *Chemical Engineering Journal*, v. 277, p. 219-228, out. 2015.

(89) Perman, C. A. Recovery of Silver from Silver Chloride Residues, *Talanta*, v. 26, n. 7, p. 603-604, jul. 1979.

(90) Hamanaka, Y., Ogawa, T., Tsuzuki, M., Ozawa, K., Kuzuya, T. Luminescence properties of chalcopyrite AgInS_2 nanocrystals: Their origin and related electronic states, *Journal of Luminescence*, v. 133, p. 121-124, jan. 2013.

(91) Mir, I. A., Radhakrishanan, V.S., Rawat, K., Prasad, T., Bohidar, H. B. Bandgap Tunable AgInS based Quantum Dots for High Contrast Cell Imaging with Enhanced Photodynamic and Antifungal Applications, *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 9322-9334, jun. 2018.

(92) Kang, X., Huang, L., Yang, Y., Pan, D. Scaling up the Aqueous Synthesis of Visible Light Emitting Multinary $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}$ Core/Shell Quantum Dots, *Journal of Physical Chemistry C*, v. 119, n. 14, p. 7933-7940, abr. 2015.

- (93) Resch-Genger, U., Grabolle, M., Cavaliere-Jaricot, S., Nitschke, R., Nann, T. Quantum Dots Versus Organic Dyes as Fluorescent Labels, *Nature Methods*, v. 5, n. 9, p. 763-776, out. 2008.
- (94) Le Gac, S.; Vermes, I.; Van Den Berg, A. Quantum Dots Based Probes Conjugated to Annexin V for Photostable Apoptosis Detection and Imaging, *Nano Letters*, v. 6, n. 9, p. 1863-1869, set. 2006.
- (95) Aswathi, M. K., Ajitha, A. R., Akhina, H., Lovely, P. M., Sabu, T. Quantum Dots: A Promising Tool for Biomedical application, *JSM Nanotechnology & Nanomedicine*, v. 6, n. 2, p. 1066-1075, jun. 2018.
- (96) Yuan, Y.-J., Chen, D.-Q., Xiong, M., Zhong, J.-S., Wang, Z.-Y., Zhou, Y., Liu, S., Yu, Z.-T., Yang, L.-X., Zou, Z.-G. Bandgap Engineering of $(\text{AgIn})_x\text{Zn}_{2(1-x)}\text{S}_2$ Quantum Dot Photosensitizers for Photocatalytic H_2 Generation, *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 204, p. 58-66, mai. 2017.
- (97) Luo, S., Ke, J., Yuan, M., Zhang, Q., Xie, P., Deng, L., Wang, S. CuInS_2 Quantum Dots Embedded in Bi_2WO_6 Nanoflowers for Enhanced Visible Light Photocatalytic Removal of Contaminants, *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 221, p. 215-222, fev. 2018.
- (98) Oh, E., Liu, R., Nel, A., Gemill, K. B., Bilal, M., Cohen, Y., Medintz, I. L. Meta-Analysis of Cellular Toxicity for Cadmium-Containing Quantum Dots, *Nature Nanotechnology*, v. 11, p. 479-486, fev. 2016.
- (99) Marie, A., Bjerke, M., Edlund, H., Nelander, S., Westermark, B. A. Origin of the U87MG Glioma Cell line: Good News and Bad News, *Science Translational Medicine*, v. 8, n. 354, p. 354re3, ago. 2016.
- (100) Vaidyanathan, S., Orr, B. G., Banaszak Holl, M. M. Detergent Induction of HEK 293A Cell Membrane Permeability Measured under Quiescent and Superfusion Conditions Using Whole Cell Patch Clamp. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 118, n. 8, p. 2112-2123, fev. 2014.
- (101) Al-Hajaj, N. A., Moquin, A., Neibert, K. D., Soliman, G. M., Winnik, F. M., Maysinger, D. Short Ligands Affect Modes of QD Uptake and Elimination in Human Cells. *ACS Nano*, v. 5, n. 6, p. 4909-4918, jun. 2011.

- (102) Clift, M. J. D., Brandenberger, C., Rothen-Rutishauser, B., Brown, D. M., Stone, V. The Uptake and Intracellular Fate of a Series of Different Surface Coated Quantum Dots In Vitro. *Toxicology*, v. 286, n. 1, p. 58-68, ago. 2011.
- (103) Song, J., Ma, C., Zhang, W., Yang, S., Wang, S., Lv, L., Zhu, L., Xia, R., Xu, X. Tumor Cell-Targeted $Zn_3In_2S_6$ and Ag-Zn-In-S Quantum Dots for Color Adjustable Luminophores. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 4, n. 48, p. 7909-7918, nov. 2016.