UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

CAMILA SOLEDADE DE LIRA PIMENTEL

Quantum Dots de CdTe: Obtenção, Caracterização e Marcação frente a Larvas de *Aedes aegypti*

RECIFE-PE
2015

CAMILA SOLEDADE DE LIRA PIMENTEL*

Quantum Dots de CdTe: Obtenção, Caracterização e Marcação frente a Larvas de *Aedes aegypti*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciência de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Navarro
Orientadora Externa: Profª. Dra. Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro
Co-orientadora: Dra. Jéssica Maria Monteiro Dias

*Bolsista FACEPE

RECIFE-PE
2015

Catalogação na fonte
Bibliotecário Jefferson Luiz Alves Nazareno CRB4-1758

P644q Pimentel, Camila Soledade de Lira.
Quantum Dots de CdTe: obtenção, caracterização e marcação frente a larvas de Aedes Aegypti. / Camila Soledade de Lira Pimentel. – Recife: O Autor, 2015.
69 f.: fig., tab.

Orientador: Marcelo Navarro.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Ciência de Materias, 2015.
Inclui referências

1. Luminescência. 2. Nanomateriais. 3. Larvicidas . I. Navarro, Marcelo. (Orientador). II. Titulo.

620.11295 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2016-01

CAMILA SOLEDADE DE LIRA PIMENTEL

QUANTUM DOTS DE CdTe: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MARCAÇÃO FRENTE A LARVAS DE *AEDES AEGYPTI*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 16 / 10 / 2015.

BANCA EXAMINADORA

_____

Profº. Dr. Marcelo Navarro (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profo. Dr. Fernando Jaime Rodríguez-Macias (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profo. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Drª. Rosângela Maria Rodrigues Barbosa (Examinadora Externa)
Fundação Oswaldo Cruz

Dedico este trabalho aos meus pais, Naercio e Valdilene, por serem meu porto seguro. À minha irmã, Ana Gregória, por todo apoio e amor incondicional. À minha sobrinha, Mariah Cecília, por trazer tanta alegria a minha vida.
Ao Carlos por todo o amor e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Marcelo, pela oportunidade de ingressar em seu grupo de pesquisa, por toda a orientação e paciência no desenvolvimento desse projeto. À professora Daniela pelo carinho, confiança e ensinamentos, por me incentivar e acreditar na realização deste trabalho. A Jéssica, por sua disponibilidade e paciência em me ajudar, pelas inúmeras discussões que tanto contribuíram na escrita deste trabalho e por seu bom humor, que nos garantiram boas risadas.

A todos que fazem parte do LES: Ray, Sérgio, Pedro, Jadson, Cris, Danilo... e principalmente a Deni, pelo apoio, incentivo, contatos, ajudas e alto astral.

As meninas do LEQ: Paty, Ray, Milla, Gê, Bhia, Sú, Lais, Jéssica e Fernanda, pelo apoio constante, pelos inúmeros sorrisos e conversas, por me ajudarem sempre, e principalmente pela nossa união e companheirismo. Ao Marcelo, pela sua disposição em ajudar e pelos vários concertos.

A Janaína e Diego do Cetene, pela compreensão e imagens realizadas no microscópio de Fluorescência.

Aos professores do Pós-Graduação em Ciência de Materiais, e as meninas da secretaria Heloísa e Ingrid por toda ajuda e paciência.

Aos meus pais, Valdilene e Naercio, pelo amor incondicional, dedicação e compreensão, por me apoiarem e serem meu porto seguro. À minha irmã Ana Gregória, por ser minha companheira sempre, por seu amor e apoio, por dividir comigo alegrias, esperanças, angústias, incertezas e sonhos e por estar sempre disposta a me ajudar. À minha sobrinha Mariah Cecília, por toda felicidade e amor transmitido. A Carlos, por todo amor, ajuda, opiniões e conselhos, por seu companheirismo, paciência ....

À toda minha família pelo amor e torcida, em especial aos meus tios, Carlos, Catarina, Leda, Virginia, Lú pelo apoio, carinho e torcida. A Rodrigo Nicéas, Rique, Thiago e Bela, pelo convívio, carinho e incentivo. E a todos os meus amigos cativados durante a vida, Raquel, Tati, Juli, Andra, Karol, Elis, Keyllinha e Rodrigo, obrigada pelo afeto e torcida.

E a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma com a realização deste trabalho, muito obrigada!

“Cada pessoa é aquilo que crê, fala do que gosta, retém o que procura, ensina o que aprende, tem o que dá e vale o que faz”

(Chico Xavier)

RESUMO

Neste trabalho, quantum dots (QDs) de CdTe com diferentes estabilizantes (ácido 3-mercaptopropiônico - AMP, hidrocloreto de cisteamina - CA e L-cisteína - Cis) foram sintetizados por via eletroquímica e foram caracterizados por espectros de absorção, emissão e DRX (apenas para CdTe-Cis). Os compostos AMP, CA e Cis, foram testados nas larvas de *Aedes aegypti* no quarto ínstar larval (L4), apresentando ação larvicida. Larvas de *A. aegypti* foram expostas ao controle (água destilada), QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA por cerca de 2 horas. Para CdTe-Cis, as larvas foram expostas por cerca de 30 min, já que quando submetidas a um tempo superior a este as larvas morreram. Após a exposição, as larvas foram fixadas em gel comercial (GPF), impedindo assim que se movimentasse, para a realização das imagens feitas através de microscópio de fluorescência. Por meio das imagens, observaram-se diferenças entre as larvas submetidas ao controle e as larvas submetidas aos QDs, o que significa que as marcações realizadas pelos QDs se diferenciam da autoluminescência das larvas. Pode-se dizer também que os compostos larvicidas AMP, CA e Cis atuaram no sistema digestório das larvas de *A. aegypti*, no entanto, o AMP agiu apenas em uma parte do sistema digestório, enquanto que a CA e a Cis, atuaram em todo sistema digestório das larvas. Diante de tudo o que foi exposto é possível afirmar que os QDs de CdTe-AMP, CdTe-CA e CdTe-Cis agem como bons marcadores luminescentes para detecção de sítios de ação dos compostos avaliados.

Palavras-chave: Quantum dots. Marcador. Larvicida. *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

In this work, Quantum Dots (QD) with different CdTe stabilizers (3-mercaptopropionic acid - AMP, cysteamine hydrochloride - CA and L-cysteine - Cis) were synthesized via electrochemical and characterized by absorption and emission spectra, and XRD (only for CdTe-Cis). AMP, CA and Cis compounds, were tested for lethality towards *Aedes aegypti* (A. *aegypti*) larvae in the L4 stage, showing larvicidal activity. A. *aegypti* larvae were exposed to control (distilled water), CdTe-AMP and CdTe-CA for about 2 hours and CdTe-Cis for about 30 minutes, for a time greater than this the larvae died. After exposure, preventing the larvae movimentation, they were fixed in a commercial gel (GPF) for the image capture, made by fluorescent microscope. By means of the images, a difference was observed between the control and larvae subjected to the QDs, which means that the markings carried by the QDs differentiate self-luminescence larvae. It can also be said that the larvicida compounds AMP, CA and Cys act in digestive system of *A. aegypti* larvae, however, the AMP acts only on a part of the digestive system, while CA and Cys act in all the larvae digestive system. In conclusion the QDs of CdTe-AMP, CA-CdTe and CdTe-Cis act as good luminescent markers.

Keywords: Quantum dots. Marker. Larvicidal. *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação da estrutura de bandas com valência e banda de condução, da energia de band-gap e do éxciton (par elétron-buraco), onde elétron (e^-) e buraco (h^+)..... 16

Figura 2 Representação da redução do tamanho de partículas semicondutoras dentro do regime de confinamento quântico..... 17

Figura 3 Ciclo de vida do *A. aegypti*..... 27

Figura 4 Estágio larval do *A. aegypti*..... 28

Figura 5 Célula eletroquímica utilizada para redução de Te^0 em pó..... 32

Figura 6 Esquema das etapas de síntese dos QDs..... 33

Figura 7 Esquema ilustrativo das etapas de redução do telurioTe^0, onde (a) representa a formação de íons Te^{2-}; (b) representa a formação de Te_2^{-2} e (c) representa o consumo total de telúrio elementar e a formação de Te^{2-} 38

Figura 8 Representação da estrutural do AMP (a), CA (b) e Cis (c)..... 39

Figura 9 Foto da solução no final da eletrólise (A) e após formação dos QDs de CdTe-AMP (B)..... 40

Figura 10 Foto da solução no final da eletrólise a) e após formação dos QDs de CdTe-CA b)..... 41

Figura 11 Amostra de QDs CdTe-AMP e CdTe-CA respectivamente, na concentração de 100% após o tratamento térmico (a) e as mesmas amostras sob UV λ 365 nm (b)..... 41

Figura 12 Espectro de absorção e emissão, com o valor de FWHM dos QDs de CdTe-AMP (A) e CdTe-CA (B) na concentração de 100%..... 42

Figura 13 Espectro de absorção das diferentes concentrações de QDs de CdTe-AMP (A) e CdTe-CA (B) na concentração de 100% e suas diluições..... 44

Figura 14 Foto da solução no final da eletrólise a) e após formação dos QDs de CdTe-Cis b)..... 46

Figura 15 Alíquotas retiradas com tratamento termico de 15 a 105 min a) e as mesmas alíquotas sob UV λ 365 nm b)..... 46

Figura 16 Espectros de absorção a), emissão b) e o crescimento das nanopartículas c) com o tempo de aquecimento dos QDs de CdTe-Cis.. 47

Figura 17 Espectro de absorção e emissão, com o valor de FWHM dos QDs de CdTe-Cis na concentração de 100% e com tratamento térmico de 30 min de reação..... 48

Figura 18 Espectro de absorção das diluições dos QDs de CdTe-Cis em 30 min de reação..... 49

Figura 19 Difratograma de Raios-X de pós para a amostra de CdTe-Cis depositada em substrato de vidro..... 50

Figura 20 Gráficos Concentração (stimulus) *versus* mortalidade (response) dos testes larvicidas para o AMP (a) e CA (b)..... 53

Figura 21 (a) representa imagens óticas das larvas no controle, (b) índica larva no controle com o filtro AF, (c) mostra larvas expostas ao CdTe-AMP com filtro AF e (d) exibe larvas expostas ao CdTe-CA com filtro AF. O índice 1 representa parte da cabeça e tórax das larvas, o 2 mostra parte do abdômen das larvas e 3 indica parte das papilas anais e sifão respiratório..... 56

Figura 22 Larva exposta ao CdTe-Cis, onde (a) representa imagem ótica da cabeça da larva no controle, (b) representa a cabeça da larva no controle com o filtro AF, (c) representa parte do abdômen da larva com filtro AF e (d) representa parte das papilas anais e sifão respiratório da larva com filtro AF..... 57

Figura 23 (a) representa imagens de larvas no controle, (b) índica larva exposta ao CdTe-CA, (c) mostra larva exposta ao CdTe-AMP e (d) exibe larva exposta ao CdTe-Cis. O índice 1 representa imagens realizadas com a luz branca e o 2 indica imagens realizadas com lâmpada de UV de comprimento de onda de 365 nm..... 57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Proporções e massas dos precursores para a síntese de QDs Te:Cd:Cis..... 34

Tabela 2 Valores do comprimento de onda da primeira absorção excitônica, diâmetro, FWHM (largura à meia altura), concentração em porcentagem e concentração em nanopartículas por mol para os QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA..... 44

Tabela 3 Valores do comprimento de onda, diâmetro e concentração em nanopartículas por mol dos QDs de CdTe-Cis em tempos diferentes, com a mesma temperatura de 130° C. 47

Tabela 4 Valores do comprimento de onda da primeira absorção excitônica, diâmetro, FWHM, concentração em porcentagem e concentração em nanopartículas por mol para os QDs de CdTe-Cis..... 49

Tabela 5 Mortalidade em teste larvicida preliminar das larvas em estágio L4 de *A. aegypti* dos compostos AMP e CA..... 52

Tabela 6 Concentrações letais para 50% (CL_{50}) das larvas em estágio L4 de *A. aegypti* do AMP e CA..... 53

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

QDs.....	Quantum dots
λ.....	Comprimento de Onda
DRX.....	Difratometria de raios X
UV.....	Ultravioleta
BV.....	Banda de Valência
BC.....	Banda de Condução
Eg.....	Banda de Energia Proibida
CA.....	Cisteamina
AMP.....	Ácido 3-mercaptopropiônico
Cis.....	L-cisteína
L4.....	4º Ínstar Larval
CL_{50}.....	Concentração Letal para Matar 50%
CdTe-AMP.....	Telureto de Cádmio Estabilizado com Ácido 3-Mercaptopropiônico
CdTe-CA.....	Telureto de Cádmio Estabilizado com Cisteamina
CdTe-Cis	Telureto de Cádmio Estabilizado com L-cisteína
FWHM.....	Full Width At Half Heigh (Largura à Meia Altura)
AF.....	Alexa Flúor 488
Dp.....	Dapi
GPF.....	Gel Comercial da Marca P. Fill

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 15

1.1 Quantum Dots..... 15

1.2 Síntese de QDs..... 18

1.3 Quantum dots como Marcadores Biológicos..... 21

1.4 Dengue..... 23

1.5 *Aedes aegypti*..... 26

2. OBJETIVOS..... 30

2.1 Objetivo Geral..... 30

2.2 Objetivos Específicos..... 30

3. PARTE EXPERIMENTAL..... 31

3.1 Produtos Químicos e Equipamentos..... 31

3.2 Metodologia de Redução do Telúrio Elementar (Te^0)..... 31

3.3 Metodologia de Síntese de QDs..... 32

3.3.1 Síntese de CdTe tendo como Estabilizante o Ácido 3-mercaptopropionico (proporção – Te:Cd:AMP/ 1:2:2,4)..... 33

3.3.2 Síntese de CdTe tendo como Estabilizante o Hidrocloreto de Cisteamina (CA) (proporção – Te:Cd:CA/ 1:5:12)..... 33

3.3.3 Síntese de CdTe tendo como Estabilizante a L-cisteína (Cis)..... 34

3.4 Técnicas de Caracterização..... 34

3.5 Obtenção e Cultivo de Larvas..... 35

3.6 Bioensaio Larvicida..... 35

3.7 Aplicação dos QDs como Marcadores de Larvas de *A. aegypti*..... 36

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 37

4.1 Síntese dos QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA..... 37

4.1.1 Redução do Te^0..... 37

4.1.2 Determinação dos Compostos Estabilizantes..... 38

4.1.3 Síntese dos QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA..... 39

4.2 Síntese e Caracterização dos QDs de CdTe-Cis..... 45

4.2.1 Caracterização Estrutural do QD de CdTe-Cis..... 50

4.3 Atividade Larvicida do AMP, CA e Cis..... 51

4.4 Experimentos Preliminares de Marcações de Larvas de *A. aegypti*..... 54

4.4.1 Escolha do Fixador para as Larvas de *A. aegypti*..... 54
4.4.2 Marcação Preliminar..... 54
5. CONCLUSÕES..... 59
6. PERSPECTIVAS..... 60
REFERÊNCIAS..... 61

1. INTRODUÇÃO

1.1 Quantum Dots

Quantum dots (QDs) ou pontos quânticos são nanocristais de semicondutores que apresentam diâmetro entre 1 a 10 nm. Devido a esta escala nanométrica, esses semicondutores nanocristalinos estão submetidos a um forte confinamento quântico, fazendo com que as suas propriedades ópticas se tornem dependentes do tamanho do nanocristal e sejam significativamente diferentes se comparadas aos mesmos semicondutores macroscópicos (bulk) (MEDINTZ *et al.*, 2005; WANG; CHEN, 2011).

Assim como os semicondutores macroscópicos, os QDs têm suas propriedades eletrônicas descritas simplificadamente pela teoria de bandas. A banda de valência (BV) é um conjunto de orbitais ligantes de menor energia completamente preenchidos e a banda de condução (BC) é o conjunto de orbitais antiligantes, comumente vazios. A diferença de energia entre essas bandas é denominada de *band-gap* (banda proibida - Eg), que corresponde ao valor mínimo de energia para promover um elétron da BV para a BC (MORRISON; ESTLE; LANE, 1976; SWART, 2008).

A banda de valência e banda de condução são separadas por uma faixa proibida de energia com valor não muito elevado (entre 0 e 4 eV), o valor de Eg para o semicondutor de CdTe é 1,43 eV. Em determinadas condições tais como, aumento de temperatura, tensão elétrica ou quando um fóton com energia maior que E_g é absorvido, os elétrons da BV podem ser promovidos para a BC, gerando um par elétron-buraco, chamado de éxciton (Figura 1), que é um estado ligado entre um elétron e um buraco devido a atração Coulombiana. O éxciton formado apresenta tempo de vida de alguns nano-segundos e o processo de decaimento energético para BV é denominado de recombinação excitônica (GAPONENKO, 1998).

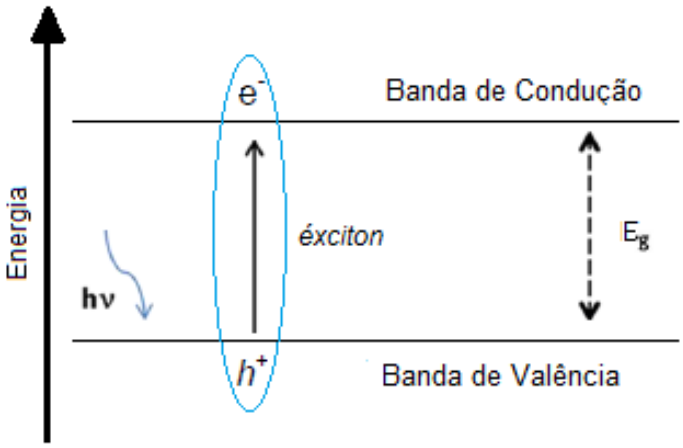

Figura 1. Representação da estrutura de bandas de valência e banda de condução, da energia de band-gap (Eg) e do éxciton (par elétron-buraco), onde e^- representa o elétron e h^+, representada o buraco.

O forte regime de confinamento quântico nos QDs ocorre quando o éxciton está confinado tridimensionalmente nas dimensões do nanocristal, causando assim, uma diminuição do grau de liberdade do movimento do elétron em uma ou todas as dimensões (BRUS, 1984; EKIMOV; EFROS; ONUSHCHENKO, 1985). Em 1984, Brus, obtive uma expressão aproximada para calcular a energia *band-gap* de quantum dots (equação 1):

$$E_{QD} = E_g + \left\{\frac{\hbar^2 \pi^2}{2R^2}\left[\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*}\right]\right\} - \frac{1{,}8\, e^2}{4\pi\varepsilon_0 \varepsilon R} \qquad (1)$$

Onde, E_{PQ} representa a energia de *band-gap* do QD, Eg representa a energia de *band-gap* do material *bulk*, m_e^* representa a massa efetiva do elétron, m_h^* representa a massa efetiva do buraco, R representa o raio do nanocristal, ε_0 refere-se à permissividade no vácuo e ε representa a constante dielétrica do sólido. O termo em destaque refere-se à aproximação da partícula na caixa para o éxciton, de modo que explicita a relação entre a energia do *band-gap* e o raio da nanopartícula encontrada nos QDs e o terceiro termo da equação refere-se à atração coulombiana entre o par elétron-buraco (BRUS, 1984).

Como consequência do confinamento quântico, o tamanho das partículas de semicondutores é reduzido, alcançando o valor de limite onde as propriedades (óticas, eletrônicas, mecânicas e magnéticas) são drasticamente alteradas. Ou seja, para a maioria dos semicondutores, a redução do tamanho de partícula provoca uma divisão na distribuição de energia de banda, gerando uma maior energia na banda proibida (E_g) (MANSUR, 2010).

O controle do tamanho dos QDs, é efeito do confinamento quântico e está relacionado ao comprimento de onda de emissão. Quando um fóton de energia maior que E_g atinge esses materiais, elétrons da BV são excitados e passam para a BC. Contudo, sua permanência no estado excitado é curta, e os elétrons acabam retornando ao seu estado inicial. Neste processo de retorno, o elétron libera parte da energia que foi adquirida em forma de fluorescência. O valor de E_g varia de acordo com o tamanho da partícula para um mesmo material, ou seja, quanto maior o valor de E_g, menor será o comprimento de onda de emissão das partículas e vice-versa, assim, partículas menores emitem em regiões próximas ao azul (maior energia), já as partículas maiores possuem luminescência em regiões próximas ao vermelho (menor energia) (Figura 2) (DRBOHLAVOVA *et al.*, 2009; JAMIESON *et al.*, 2007; MANSUR, 2010).

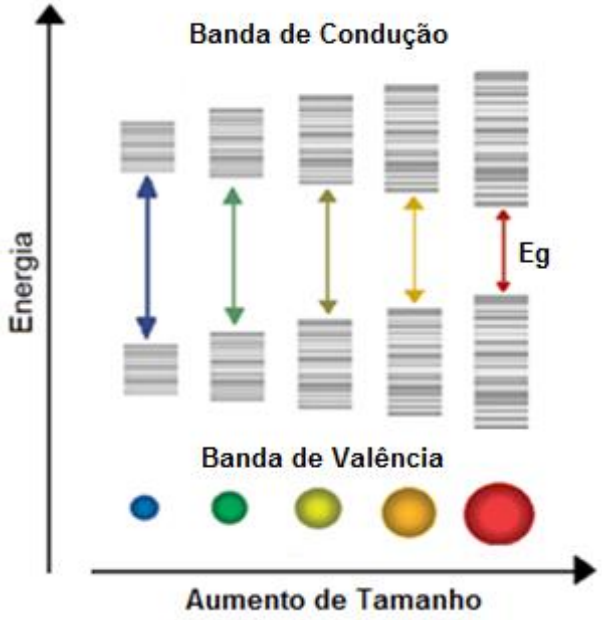

Figura 2. Representação da redução do tamanho de partículas semicondutoras dentro do regime de confinamento quântico.

Devido às propriedades ópticas e eletrônicas, e a capacidade de monitorá-las através de sua síntese, os QDs têm sido bastante estudados e aplicados em diversas áreas, de eletrônica a biologia. Como exemplos, pode-se citar: trabalhos de marcação de antígenos como proteínas e carboidratos, em imunoensaios (DRBOHLAVOVA *et al.*, 2009), utilização em células solares (PAN *et al.*, 2014), como marcador tumoral (KERMAN *et al.*, 2007), em biossensores (BOENEMAN *et al.*, 2012; SZENT-GYORGYI *et al.*, 2008), entre outras aplicações.

1.2 Síntese de QDs

Em geral, a síntese dos QDs abarca duas etapas, a etapa de formação dos núcleos e o crescimento dos nanocristais. A formação de nanocristais depende necessariamente da junção de moléculas e pequenos íons que possuem um ou mais átomos imprescindíveis para o desenvolvimento do nanocristal. Estas moléculas (íons) são conhecidas como precursores, e quando são introduzidos na reação se degradam, originando novas espécies reativas, denominadas como monômeros, que são responsáveis pelos processos de nucleação e crescimento de nanocristais. Alguns fatores como: concentração dos precursores, valor de pH, temperatura e tempo de aquecimento interferem na cinética dos processos de nucleação e crescimento dos nanocristais, originando variações nas propriedades desses materiais (DAGTEPE; CHIKAN, 2008; SANTOS *et al.*, 2008).

As sínteses de QDs são realizadas de duas maneiras: *bottom-up* e *top-down*. No caso do *top-down*, parte-se de um material macroscópico e esse vai sendo desgastado, utilizando-se técnicas físicas (ultrassom, irradiação de laser, entre outras) para chegar a estrutura e tamanho almejado. Por outro lado, no *bottom-up*, o material é construído agregando-se íons ou moléculas através de reações químicas em meio coloidal, a fim de se formar os nanocristais objetivados. Como benefício deste último método, pode citar: a utilização dos nanocristais em aplicações biológicas, e a facilidade de realizar esta síntese coloidal em grande escala, em comparação com outros métodos de síntese de nanopartículas (SANTOS *et al.*, 2008; SCHMID, 2003). Os QDs utilizados nesta dissertação são produzidos através da síntese coloidal classificada como *bottom-up*.

A estabilidade dos sistemas coloidais abrange interações eletrostáticas ou não-coulombianas (forças de Van der Waals), as quais estão relacionadas com a manutenção do sistema coloidal, agregação e coagulação das partículas. A dispersão coloidal proporciona uma certa tendência de minimização da área interfacial (entre a fase dispersa e a fase dispersante) e agregação das partículas, a fim de diminuir essa tendência pode-se utilizar moléculas orgânicas conhecidas como estabilizantes (DHONT, 1996).

Na síntese dos nanocristais, pode ser adicionado um agente estabilizante, que além de impedir a agregação e precipitação das nanopartículas, também atua controlando a cinética de síntese, fornecendo estabilidade no meio de síntese, que pode ser aquoso ou orgânico, e funcionalizando a superfície dos nanocristais (através de seus grupos funcionais). Atualmente a utilização de grupos tióis como estabilizantes é extensivamente aplicada para vários

nanocristais em diferentes metodologias de síntese de QDs: CdSe, CdTe, entre outros (ZHANG *et al.*, 2003; ZHAO *et al.*, 2013). Como exemplos de agentes estabilizantes podemos citar a cisteamina (CA) e o ácido mercaptopropiônico (AMP) bastante relatados na literatura por fornecerem alta estabilidade e boa intensidade de luminescência aos QDs sintetizados (ZHANG *et al.*, 2003).

As primeiras sínteses de QDs foram relatadas em 1982, por Alfassi e colaboradores, que propuseram a síntese de CdS e CdS-ZnS usando técnicas de química coloidal. No mesmo ano, Ekimov e colaboradores, descreveram a obtenção de nanocristais crescidos em matrizes de vidro tendo como precurssores compostos metálicos e calcogenetos. A partir desse método foi possível obter nanocristais no sistema II-VI, exemplo CdTe e CdSe, com baixa densidade, porém em ambos os casos não foram relatados o controle e o tamanho das nanopartículas (ALFASSI; BAHNEMANN; HENGLEIN, 1982; EKIMOV; EFROS; ONUSHCHENKO, 1985).

Em 1990, Murray e colaboradores propuseram um novo método para produzir CdS, CdSe e CdTe, através da injeção rápida dos precursores organometálicos (dimetilcádmio e bis(trimetilsilil)selênio), usando solventes, em altas temperaturas (300°C), resultando em nanocristais altamente monodispersos, com nanopartículas que variavam entre 2 a 12 nm e, quando comparados ao padrão Rodamina B, obtiveram rendimento quântico de fluorescência de 80% (MURRAY; NORRIS; BAWENDI, 1993).

Em geral, as metodologias organometálicas permitem a produção de QDs com valores altos de rendimento quântico, dispersão de tamanho, uma maior estabilidade química e a possibilidade de síntese em escala maior. No entanto, possuem alta toxicidade, por este motivo não podem ser aplicados em sistemas biológicos, necessitando de processos de purificação pós-síntese, além de possuírem custo de produção elevado. Diante disso, é necessário que haja novas metodologias de síntese de QDs, que possuam boas propriedades e que seus precursores não sejam tão tóxicos, viabilizando assim possíveis aplicações biológicas (SRINIVASAN; PAINTER, 2007).

Um estudo de grande relevância para síntese de QDs em meio aquoso foi realizado por Rogach e colaboradores. Eles sintetizaram nanocristais de CdTe de alta qualidade em meio aquoso utilizando estabilizantes com grupos tiol, além disso eles compararam diferentes concentrações dos precursores e variaram a temperatura, a fim de produzirem nanocristais estáveis e com boas propriedades óticas, compatíveis com os dos métodos organometálicos (ROGACH *et al.*, 1999).

Atualmente, o método mais tradicional de síntese em meio aquoso de QDs é a partir da redução do calcogênio em pó e dos agentes redutores em excesso (borohidreto de sódio ou hidrato de hidrazina). Contudo, essa metodologia é bastante tóxica devido aos fortes agentes redutores utilizados, também necessitando de processos de purificação pós-síntese para aplicações biológicas (MURRAY; KAGAN; BAWENDI, 2000).

Os métodos de síntese em meio aquoso conferem baixo custo e menor toxicidade. Porém, apresentam baixa eficiência quântica e pouca reprodutibilidade em alguns casos. Por esta razão, muitos estudos com intuito de desenvolver novas metodologias de síntese em meio aquoso são realizados como, por exemplo, utilizando métodos eletroquímicos (SCHÄFER, 2011).

Metodologias eletroquímicas para síntese de QDs possuem certas vantagens como não precisar utilizar agente redutor, proporcionando uma reação mais limpa e biocompatível, possibilitando sua aplicação na área biológica e biomédica. No emprego dessas metodologias é preciso observar se os nanocristais possuem reprodutibilidade e qualidade semelhantes aos produzidos pelos métodos orgânicos ou métodos tradicionais de síntese em meio aquoso (GE *et al.*, 2008; LI; ZHAO; TIAN, 2013).

As primeiras metodologias eletroquímicas produzidas para síntese de QDs foram baseadas na geração dos precursores calcogenados (H_2Te e H_2Se) em meio aquoso. Este processo pode ser dividido em duas etapas (LI; ZHAO; TIAN, 2013). Na primeira etapa ocorre a preparação do eletrodo calcogenado misturando-o ao grafite (selênio ou telúrio/ grafite), sendo aquecido a uma temperatura de 50°C acima do ponto de fusão do calcogêneo utilizado na pressão de 10^{-1} mbar, seguida pela redução do calcogêneo para produção de H_2Te ou H_2Se e síntese dos nanocristais. Essa metodologia foi empregada para a formação de nanocristais de HgTe e CdSe, conferindo ótima qualidade de nanocristais e boa reprodutibilidade. Contudo, esse método apresentou certas desvantagens tais como: temperatura e pressão específica para produção dos eletrodos de selênio e telúrio, gerando dificuldade em realizar o processo em larga escala (KOVALENKO et al., 2006; LI; ZHAO; TIAN, 2013).

Uma metodologia de preparação de calcogenetos (Te^{2-}, Se^{2-} e S^{2-}) simples, barata e eficiente, foi descrita recentemente pelo nosso grupo de trabalho, onde os calcogenetos preparados foram utilizados como precursores para a síntese de QDs via eletroquímica. Esta metodologia se apresentou vantajosa já que formou QDs altamente luminescentes, com superfícies positivamente e negativamente carregadas (dependendo do estabilizante utilizado),

podendo ser reproduzida em larga escala, além de não fazer uso de agentes redutores, sendo um processo que contribui para a química verde (FREITAS *et al.*, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2013).

1.3 Quantum dots como Marcadores Biológicos

Nos últimos anos, os marcadores de nanocristais têm sido testados em diversas aplicações biológicas e biotecnológicas que utilizam técnicas baseadas em fluorescência.

A utilização dos QDs como marcadores fluorescentes está associada ao processo natural conhecido como endocitose, onde a célula absorve um material através da membrana o qual não provoca efeitos graves na fisiologia habitual (SZENT-GYORGYI *et al.*, 2008).

Os primeiros trabalhos que exploram as características dos QDs para fins de utilização como marcadores biológicos, foram publicados simultaneamente em 1998 (BRUCHEZ *et al.*, 1998; CHAN; NIE, 1998), onde é descrito o uso de CdSe no sistema core-shell. Bruchez e colaboradores produziram nanocristais de semicondutores para serem usados como sondas fluorescentes na coloração biológica e diagnóstica. Já Chan e Nie, acoplaram os QDs em biomoléculas para a detecção ultrassensível de materiais biológicos específicos. Desde então, surgiram diversas aplicações de diferentes QDs como marcadores de estruturas biológicas. Esses novos métodos vêm apresentando inúmeras vantagens em relação aos corantes orgânicos, que podem ser tóxicos e sofrer rápida degradação, além de serem excitados em curto comprimento de onda. Entre as vantagens para utilização de QDs como marcadores pode-se citar: emissão em diversos comprimentos de onda para o mesmo material; elevada fotoestabilidade; marcação simultânea de diversos componentes e estruturas celulares; o material biológico pode ser analisado no próprio meio de cultura e podem se dirigir a alvos moleculares específicos no interior das células (MARSH *et al.*, 2007; SZENT-GYORGYI *et al.*, 2008).

Os estudos de aplicações biológicas de QDs como marcadores biológicos concentram-se em três frentes principais: produção de biofármacos, os associando a nanocarreadores, para melhorar a cinética de liberação e atingir um determinado alvo; pesquisa na área de biocompatibilidade e de biossegurança de nanomateriais; aplicação de nanotecnologias (nanomedicamentos) na prevenção e tratamento de doenças de grande impacto econômico e social (OLSSON *et al.*, 2011).

Wu e colaboradores foram os primeiros a demostrar que QDs podiam ser usados para rotular, com eficiência e especificidade, alvos moleculares em nível sub-celular. Nesse estudo, os QDs foram encapsulados dentro de um polímero de casca e foram biofuncionalizados com moléculas (imunoglobulina e estreptavidina) e aplicados ao alvo receptor de superfície celular, componentes do citoesqueleto (actina e microtúbulos) e o antígeno nuclear, ambas as células foram fixadas vivas. Foram utilizados simultaneamente QDs de duas cores diferentes (630 nm e 535 nm), os quais foram comparados com o corante comercial Alexa. Os resultados demonstraram que os QDs eram consideravelmente mais fotoestáveis que o corante Alexa. As propriedades ópticas únicas dos QDs, incluindo a fotoestabilidade estendida e a excitação multicolor, indicam sua capacidade como novos fluoróforos para serem aplicados *in vivo* e *in vitro* (JIN *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2003; XING; RAO, 2008).

Estudos iniciais de imagens *in vitro* utilizando QDs em rotulagem de células, forma desenvolvidos, usando PbS e PbSe estabilizados com grupos carboxílicos que foram obtidos em solução aquosa por troca de ligantes de modo a marcar especificamente células alvo (HYUN *et al.*, 2007). QDs de CdS estabilizado com ácido 3- mercaptopropiônico (AMP) foram utilizados como ferramenta de imagem para marcar células de *Salmonella typhimurium* (LI; SHIH; SHIH, 2007). Duan e Nie desenvolveram QDs revestidos com polietileno glicol (PEG) enxertados por polietilenimina (PEI), que foram capazes de penetrar nas membranas celulares, interrompendo organelas endossomas em células (DUAN; NIE, 2007).

Além da sua utilização em estudo de rotulagem e nanossondas para imagiologia *in vitro*, os QDs têm sido amplamente usados como agentes de imagiologia *in vivo* (WENG *et al.*, 2008). No entanto, a profundidade de alvos faz com que as imagens de QDs *in vivo* sejam desafiadoras. Para este tipo de aplicação, os QDs precisam ser de baixa toxicidade, alto contraste, alta sensibilidade e fotoestáveis. Em 2002, Dubertret e colaboradores produziram um tipo de QD CdSe/ZnS que foram encapsulados individualmente em micelas de fosfolipídios de copolímero em bloco. Após modificação adicional do DNA, o sistema QD-micela foi desenvolvido para obter imagens fluorescentes de embrião de *Xenopus*. Além disso, após a injeção em embriões, o sistema QD-micelas mostraram alta estabilidade e não toxicidade (DUBERTRET *et al.*, 2002). Outro estudo desenvolvido por Ballou e colaboradores mostrou que QDs de CdSe/ZnS podem apresentar alto contraste e profundidade de imagem em microscopia confocal, chegando até a visualizar vasos sanguíneos em ratos vivos. Eles confirmaram que os revestimentos de PEG sobre as superfícies dos QDs reduziam ainda mais a sua toxicidade e acumulação no fígado dos ratos (BALLOU *et al.*, 2004).

Outro trabalho importante com testes *in vivo*, foi relatado por Yong e colaboradores, onde QDs de CdSe/CDS/ZnS revestidos com fosfolipídios/PEG (Polietileno glicol-enxertado) e peptídeos RGM (Arg-Gli-Asp) foram utilizados para segmentação de tumor. Esta conjugação apresentou boa luminescência, fotoestabilidade e biocompatibilidade para o diagnóstico precoce do câncer de pâncreas (YONG *et al.*, 2009).

Os QDs podem ser observados utilizando qualquer microscopia fluorescente (confocal e multifocal), diferentemente dos fluoróforos convencionais, uma vez que com apenas um único comprimento de onda pode-se excitar diversos tipos de QDs. A microscopia de fluorescência baseia-se nas propriedades que algumas substâncias possuem de emitirem fluorescência após absorverem energia (JARES-ERIJMAN; JOVIN, 2006; SIMBERG *et al.*, 2007).

1.4 Dengue

A dengue é uma doença infecciosa febril aguda, causada por um vírus a qual pode se apresentar na forma benigna ou na forma grave (anteriormente conhecida por hemorrágica). Seu agente etiológico[1] é um arbovírus (vírus transmitido por artrópodes[2]) pertencente à família Flaviviridae, do gênero *Flavivírus* e são conhecidos quatro sorotipos[3] distintos do vírus: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. Quando uma pessoa é infectada por um desses sorotipos adquire imunidade vitalícia para o mesmo e imunidade parcial e temporária contra os outros três. Atualmente a dengue é considerada o principal problema de Saúde Pública nos países tropicais e subtropicais do mundo, pois condições como temperatura e umidade favorecem o desenvolvimento e proliferação do mosquito vetor (GUBLER, 1998; WHO, 2009).

O principal transmissor do vírus causador da dengue nas Américas é o mosquito *Aedes aegypti*. Outra espécie responsável pela transmissão da dengue é o *Aedes albopictus*, no entanto sua participação na transmissão do vírus é maior na Ásia. No Brasil encontra-se poucos casos que relatam o *A. albopictus* como vetor da dengue (CECÍLIO *et al.*, 2009; DE FIGUEIREDO *et al.*, 2010; MARTINS *et al.*, 2012). A transmissão do vírus da dengue ocorre pela picada do

[1] Nome dado ao agente causador de uma doença. Normalmente, este causador precisa de um vetor para proliferar a doença.
[2] Filo de animais invertebrados, que possuem exoesqueleto rígido e vários pares de apêndices articulados, cujo número varia de acordo com a classe (insetos, aracnídeos, crustáceos, entre outros).
[3] Refere-se a grupos de micro-organismos afins que causam a mesma doença. Cada sorotipo representa um conjunto de tipos de vírus que causam a mesma resposta imune no organismo. Assim, são reconhecidos 4 tipos semelhantes de vírus que causam o mesmo conjunto de sintomas que caracterizam a dengue.

mosquito fêmea infectada. Geralmente, a fêmea adquire o vírus ao se alimentar do sangue de um doente que se encontra na fase de viremia (fase na qual o vírus localiza-se circulando no sangue, e começa um dia antes do surgimento da febre e dura até o sexto dia da doença). O vírus fica localizado nas glândulas salivares do mosquito, onde se prolifera deixando o mosquito infectante durante toda sua vida. A fêmea infectada transmite o vírus a sua prole, por via vertical (quando o vírus infecta o óvulo ou ovo). O mosquito pode picar mais de uma pessoa para um mesmo lote de ovos que produz, conseguindo infectar várias pessoas rapidamente, sendo esta uma peculiaridade do mosquito da dengue conhecida como discordância gonotrófica (DIAS *et al.*, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; WHO, 2009).

A dengue se manifesta clinicamente em duas formas: a dengue clássica e a dengue grave. Os principais sintomas da dengue clássica se caracterizam por febre alta (39º C a 40º C), dor abdominal intensa e contínua, dores de cabeça, manchas na pele, náusea, vômitos, anorexia e sonolência. Na forma grave, além dos sintomas citados, ocorre extravasamento de plasma, acúmulo de líquido, dificuldade respiratória, insuficiência cardíaca, hemorragia grave e até mesmo falência dos órgãos (MARZOCHI, 1994; MS, 2013; WHO, 2015 (MARZOCHI, 1994; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013; WHO, 2015).

De acordo com a organização mundial da saúde (OMS), os casos de dengue cresceram drasticamente em todo mundo nas últimas décadas. O número real de casos da doença no mundo é incerto, já que muitos locais não notificam os casos e em outros a dengue é classificada de forma errônea. Estima-se que 390 milhões de pessoas são infectados pelo vírus da dengue por ano. Outro estudo aponta que cerca de 3,9 bilhões de pessoas distribuídas em 128 países estão em risco de infecção por dengue. Em 2008, somando-se os casos de dengue nas regiões das Américas, Sudoeste Asiático e Pacifico Ocidental, foram registrados cerca de 1,2 milhões de casos confirmados de dengue. Já em 2013 apenas nas Américas foram registrados cerca de 2,35 milhões de casos, caracterizando um aumento brusco. Na Europa os casos de dengue também estão aumentando; em 2012 houve um surto de dengue no arquipélago de Madeira em Portugal, foram mais de 2.000 casos relatados. O aumento de pessoas infectadas pelo vírus da dengue também está sendo registrado na China, Malásia e no Japão. Estima-se que 500.000 pessoas com dengue grave necessitam de internação todos os anos, destes uma grande parte são crianças. Cerca de 2,5% dos internados não resistem e chegam a falecer (BHATT *et al.*, 2013; BRADY *et al.*, 2012; WHO, 2015).

No Brasil, no período que compreende entre 04/01/2015 a 18/04/2015 foram registrados 745.957 casos notificados de dengue no país. Em 2014 no mesmo período foram registrados 223.2 mil casos da doença. Foram confirmados 404 casos de dengue grave, nesse mesmo

período em 2014, foram confirmados 270 casos graves. Em relação aos casos de óbito registrados no país em 2014, foram contabilizadas 158 mortes. Nesse mesmo intervalo, no ano de 2015 registrou-se 229 óbitos, ou seja, cerca de 45% de casos a mais. Havendo assim um aumento bastante significativo de pessoas infectadas em todo país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Até o presente momento não há disponibilidade comercial de vacina ou medicamento que previna a doença, sendo o controle do vetor o único método disponível para interromper a transmissão do vírus causador da dengue, seja pelo combate aos criadouros ou pela aplicação de inseticidas. Ações governamentais de esclarecimento e conscientização são importantes para que a população compreenda e adote medidas que interrompam o ciclo de transmissão e eliminem focos do vetor (DIAS *et al.*, 2010; GUBLER, 1998).

O controle do vetor é feito através do uso de inseticidas, sendo esta a forma mais antiga e também a mais utilizada para o combate de insetos. Compostos inseticidas podem ser de origem natural ou sintética. Os inseticidas são compostos químicos aplicados direta ou indiretamente sobre os insetos para diminuir a incidência em diferentes fases do seu ciclo de vida. Inseticidas que agem na fase de ovo são chamados de ovicida, já os que atuam na fase larval, são conhecidos como larvicida. Há também os pupicidas e adulticidas (que agem na fase pupal e na fase adulta respectivamente) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Parte dos estudos desse trabalho foi realizada com dois compostos larvicidas, visto que a fase larval é a mais suscetível, pois as larvas passam por todos os seus ínstas dentro da água e só param de se alimentar nas últimas horas do último ínstar larval (L4). Além disso, os compostos larvicidas podem agir por contado (são absorvidos por uma espécie de cutícula da larva) ou ingestão (são ingeridos pelas larvas). As pulpas apesar de viverem na água não se alimentam, assim só podem ser eliminadas através da absorção. Em relação aos mosquitos, é mais difícil de serem mortos, primeiro porque eles podem voar para lugares isentos de adulticidas, segundo que para abranger uma maior área na tentativa de matar os mosquitos é necessário a utilização de adulticidas em larga escala, o que acaba encarecendo o processo (BARRETO *et al.*, 2006; RAMOS *et al.*, 2009)

No Brasil, o larvicida mais utilizado até pouco tempo atrás era o organofosforado temefós. A utilização demasiada desse larvicida fez com que surgissem populações resistentes de larvas do mosquito *A. aegypti*. Desse modo é importante a busca por novos compostos larvicidas ou inseticidas para o controle do mosquito e da dengue consequentemente (FIOCRUZ, 2007).

Atualmente existem vários estudos sobre compostos que apresentam potencial larvicida, como exemplos pode-se citar: nanopartículas de prata sintetizadas usando látex da planta *Plumeria rubra*, onde o CL_{50} (concentração letal para matar 50%) foi de 1,82 ± 0,12 ppm. Pode-se destacar também os larvicidas obtidos de óleos de planta , a exemplo tem-se o óleo das folhas de *Piper aduncum* que obteve CL_{50} de 46 ± 2,99 ppm, e o óleo das folhas de *Piper arboreum* apresentou CL_{50} de 55 ± 3,52 ppm. Compostos isolados de planta também apresentam bons resultados, como o geraniol e o safrol que obtiveram CL_{50} de 81, 6 ± 4,1 e 49, 0 ± 1,5. Todos os resultados CL_{50} descritos foram realizados com larvas de *A. aegypti* no terceiro instar (PATIL *et al.*, 2012; SANTANA *et al.*, 2015; SIMAS *et al.*, 2004).

No entanto, a atuação destes larvicidas no organismo das larvas ainda é pouco pesquisado. O estudo da ação desses compostos é de fundamental importância, para se saber onde e como eles agem, assim a escolha de compostos larvicidas poderá ser feita de maneira mais consciente e adequada.

1.5 *Aedes aegypti*

Aedes aegypti é um mosquito, pertencente à classe Insecta, família Culicidae e gênero *Aedes*. Originário da África, é domesticado e adaptado ao ambiente urbano; utiliza-se de recipientes artificiais para depositar seus ovos e para o desenvolvimento de sua fase larvária, podendo ser recipientes abandonados pelo homem que são preenchidos pela água da chuva, como aqueles utilizados nos domicílios para depositar água. É considerado como sendo o vetor da dengue, febre amarela, febre zika e a chicungunha, sendo por este motivo o controle de suas populações considerado interesse de saúde pública (FIOCRUZ, 2007; FORATTINI, 1995; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

O ciclo de vida do *A. aegypti* (figura 3) compreende quatro fases: ovo, larva, pupa e adulto. Os ovos apresentam forma elíptica e são depositados pelas fêmeas individualmente nas paredes de depósitos próximos a superfície da água. O número de ovos depositados está relacionado com a quantidade de sangue ingerido pela fêmea. Em média, aproximadamente 3,5 mg de sangue é considerado suficiente para o desenvolvimento ovariano. A capacidade de resistên cia dos ovos de *A. aegypti* a dessecação é um sério problema para sua erradicação, pois após o amadurecimento completo, o ovo pode passar um período inativo (meses ou até anos),

mas vivo, eclodindo ao entrar em contato com a água (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; DIAS *et al.*, 2010).

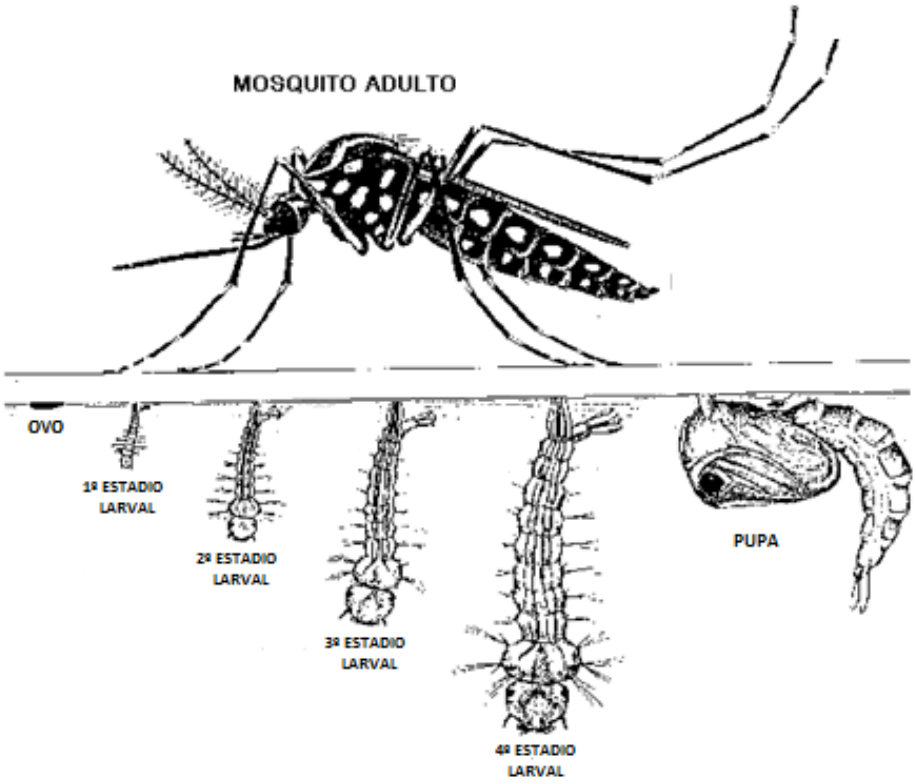

Figura 3. Ciclo de vida do *A. aegypti.* Adaptada do site: http://www.dengue.org.br/mosquito_aedes.html, data de acesso: 12/08/2015.

As larvas podem se desenvolver em meio aquático ou criadouros artificiais tais como pneus, garrafas, vasos, latas, caixas d'água, tonéis e cisternas destampados (os preferidos desses insetos) ou em ambientes naturais como, aberturas em árvores e bromélias. Alimentam-se de materiais orgânicos acumulados nas paredes e fundo dos depósitos ou partículas orgânicas que estão presentes na água. A filtração é a forma mais comum de alimentação, podendo filtrar até dois litros de água por dia (AHMAD *et al.*, 2004; CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

O corpo da larva (figura 4) pode ser dividido em cabeça, tórax e abdômen. Morfologicamente, as larvas são alongadas, vermiformes e esbranquiçadas. A cabeça possui um par de antenas, olhos e aparelho bucal mastigador-raspador. O tórax é mais largo que a cabeça com segmentos fundidos e revestidos por cerdas. O abdômen é dividido em oito segmentos, no último segmento localiza-se o sifão respiratório (tubo de ar para a respiração na superfície da água), que é curto, grosso e mais escuro que o corpo.

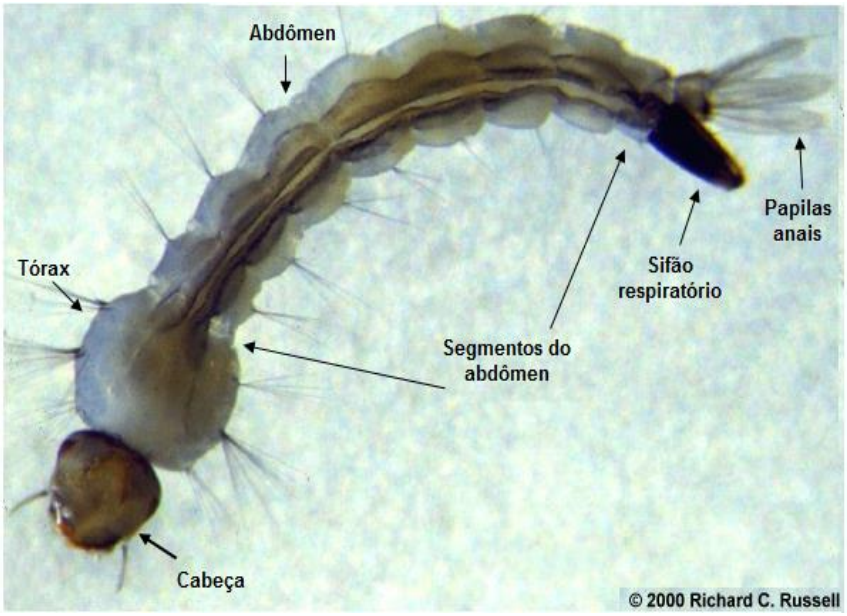

Figura 4. Estágio larval do *A. aegypti*, adaptada de: http://medent.usyd.edu.au/photos/larvae_photographs.htm#aedesaegypti, data de acesso: 12/08/2015.

Para respirar, a larva vai até a superfície, onde fica em posição quase vertical e movimenta-se em forma de serpente, fazendo um "S" em seu deslocamento. As larvas possuem também o lóbulo anal, onde termina o tubo digestório. No ápice do lóbulo anal, ao redor do ânus, encontram-se as papilas anais, com aparência de língua. As larvas são sensíveis a movimentos bruscos na água e são fotofóbicas, ou seja, sob feixe de luz, deslocam-se com rapidez buscando refúgio no fundo do recipiente (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 1995; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

As larvas eclodem e passam por quatro estádios ou ínstares (L1 - L4). A mudança entre esses ínstares leva cerca de aproximadamente 24 horas. No último ínstar larval (L4) as larvas param de se alimentar, devido a sua transformação para a nova fase (pupa). As pupas não se alimentam e seu estado pupal dura aproximadamente dois dias. É nessa fase que ocorre a metamorfose para a formação do mosquito adulto. As pupas se mantêm na superfície da água, flutuando, o que facilita a emergência do inseto adulto (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 1996).

Logo depois de emergir do estágio pupal, o inseto adulto pousa sobre as paredes do recipiente, podendo permanecer assim durante várias horas, permitindo o endurecimento do exoesqueleto e das asas, para ter forças e voar, deixando o sítio de oviposição. Os adultos de *A. aegypti* estão encarregados da fase reprodutora do inseto, e dentro de 24 horas após emergirem, os insetos já podem acasalar, o que vale para ambos os sexos. As fêmeas necessitam apenas de

um repasto sanguíneo[4] (3,5 mg de sangue) para o amadurecimento dos ovos e estima-se que uma fêmea pode colocar ovos de 4 a 6 vezes, chegando a colocar cerca de 100 ovos em cada vez. O *A. aegypti* adulto é escuro, com faixas brancas nas bases dos segmentos tarsais[5], apresentam antenas plumosas com palpos mais longos nos machos e pilos nas fêmeas, o que os difere morfologicamente. Medem cerca de 3 a 6 mm de comprimento e podem viver em média de 30 a 35 dias (BARATA *et al.*, 2001; FORATTINI, 1995; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

[4] Processo fisiológico fundamental no ciclo de vida de alguns mosquitos, onde as fêmeas necessitam de alimentação sanguínea para obtenção de nutrientes necessários ao desenvolvimento dos ovários e maturação dos ovos.

[5] É a penúltima porção da perna dos insetos, apresenta-se nos adultos com um número de artículos variando de um a cinco, os quais são denominados tarsômeros ou segmentos tarsais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar quantum dots derivados de cádmio e telúrio com diferentes estabilizantes e utilizá-los como marcadores luminescentes em larvas de *Aedes aegypti* em ínstar L4.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar e caracterizar QDs de CdTe-AMP, CdTe-CA e CdTe-Cis por via eletroquímica;
- Avaliar os QDs estabilizados com ácido 3-mercaptopropiônico, a cisteamina e a L-cisteína frente as larvas de *Aedes aegypti* no ínstar L4;
- Encontrar a concentração letal para matar 50% das larvas de *Aedes aegypti* dos compostos: ácido 3-mercaptopropiônico, cisteamina e L-cisteína;
- Marcar e realizar as imagens através do microscópio de fluorescência das larvas de *Aedes aegypti* em ínstar L4 com diferentes concentrações de QDs CdTe-AMP, CdTe-CA e CdTe-Cis;

3. PARTE EXPERIMENTAL

As metodologias descritas a seguir (3.2 e 3.3), foram desenvolvidas por Ribeiro e colaboradores (2013).

3.1 Produtos Químicos e Equipamentos

Para a realização das sínteses utilizou-se apenas reagentes comerciais: Telúrio elementar (Te^0) em pó (99,8%, 200 mesh, *Sigma Aldrich*), cloreto de cádmio ($CdCl_2$, 99,99%, PM 183,32 g mol^{-1}, *Sigma Aldrich*), Ácido 3-mercaptopropiônico (AMP) ($C_3H_6O_2S$, PM=106,05 g.mol^{-1}, d=1,22 g.mol^{-1}, 99+%, *Sigma Aldrich*) e Hidrocloreto de cisteamina (CA) ($C_2H_7NS.HCl$, 97%, *Fluka*). Gel comercial da marca P. Fill (GPF), foi utilizado, lote: 032, fabricado em setembro de 2014. O gel foi comprado no supermercado Extra bom. As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro modelo 744 pH (Metrohm).

3.2 Metodologia de Redução do Telúrio Elementar (Te^0)

As eletrólises do Te^0 em pó foram realizadas na célula eletroquímica descrita na figura 5, onde: (1) representa uma grade de aço inoxidável (0,5 x 40 cm) que foi usada como eletrodo auxiliar (ânodo) em um compartimento de vidro com solução eletrolítica de NaOH 0,2 mol.L^{-1} separada por um membrana Nafion®; (2) representa o eletrodo de trabalho, composto por uma grade de aço inoxidável com área de aproximadamente 2 cm^2; (3) representa a entrada do gás argônio e (4) representa a solução eletrolítica com solução de NaOH, 0,2 mol.L^{-1} e a massa de Te^0 para eletrólise.

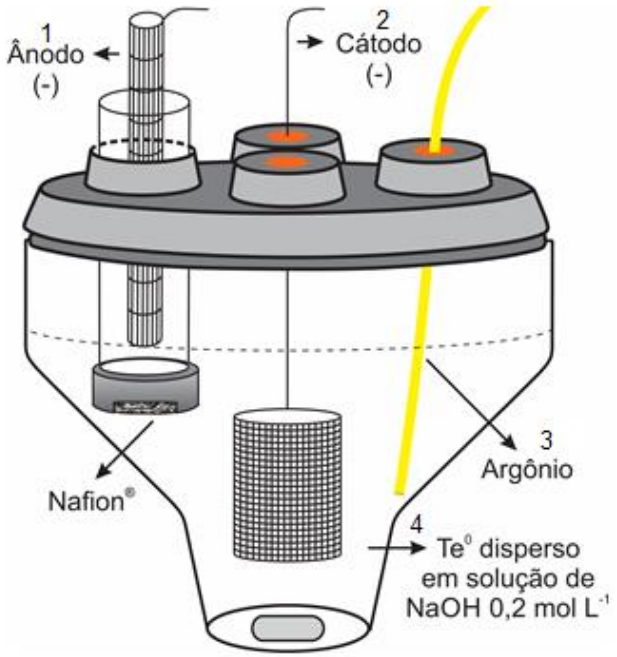

Figura 5: Célula eletroquímica utilizada para redução de Te^0 em pó (adaptado de Freitas *et al*., 2014).

Na eletrólise de Te^0 em pó, uma massa de 6,5 mg (0,05 mmol) de telúrio em pó foi adicionada à 30 mL de NaOH 0,2 mol L^{-1}. A eletrólise foi considerada completa quando a solução passou da coloração roxa intermediária para uma coloração completamente transparente garantindo a presença de íons telureto (Te^{2-}) em solução.

3.3 Metodologia de Síntese de QDs

Os QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA, foram sintetizados de acordo com o esquema exemplificado na Figura 6. Na primeira etapa do esquema, tem-se a mistura do cloreto de cádmio e o estabilizante, na segunda etapa a solução foi adicionada a cela eletroquímica contendo telúrio reduzido e na terceira etapa os QDs sintetizados foram deixados sob tratamento térmico.

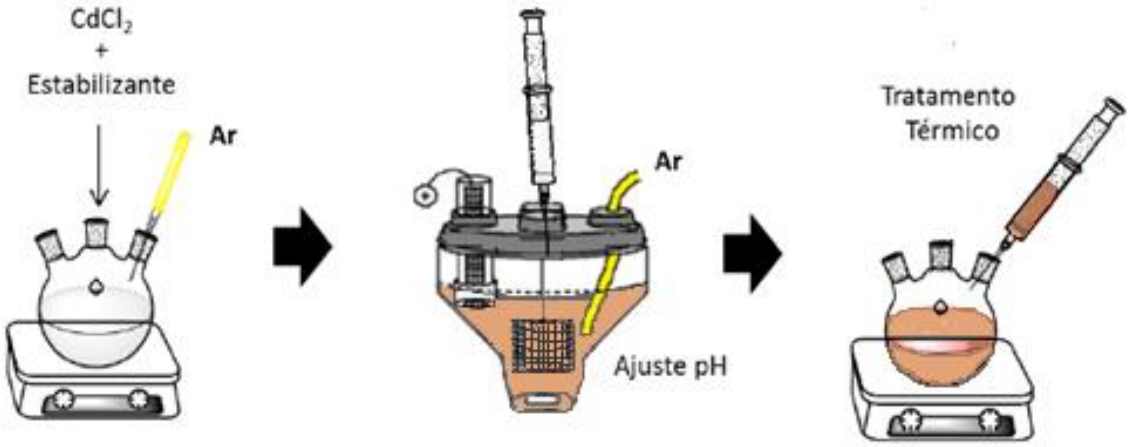

Figura 6: Esquema das etapas de síntese dos QDs.

3.3.1 Síntese de CdTe tendo como Estabilizante o Ácido 3-mercaptopropionico (proporção – Te:Cd:AMP/ 1:2:2,4)

Foi adicionado a um béquer de 50 mL 18,8 mg de $CdCl_2$, dissolveu-se em 10 mL de água e acrescentou-se 10 µL de AMP. O pH foi ajustado para 11 com auxílio de uma solução de NaOH 1M. Toda essa solução foi colocada em um balão de 100 mL sob atmosfera de argônio durante o período de 5 min. Decorrido o tempo, esta solução foi adicionada na solução de telúrio reduzido com NaOH com auxílio de uma seringa, havendo a formação de QDs. A solução de QDs foi deixada no balão de 100 mL sob tratamento térmico a uma temperatura de 130°C por um período de 2h.

3.3.2 Síntese de CdTe tendo como Estabilizante o Hidrocloreto de Cisteamina (CA) (proporção – Te:Cd:CA/ 1:5:12)

Foi adicionado 46 mg de $CdCl_2$ e 68 mg de CA a um balão de 125 mL. A solução foi deixada sob atmosfera de argônio durante 5 min. Após esse tempo, essa solução foi adicionada a solução de telúrio reduzido (descrita anteriormente). Observou-se uma coloração alaranjada referente a formação de QD. O pH da solução de CdTe-CA foi ajustado para 6, com uma

solução de HCl 1mol.L^{-1}, depois a solução foi deixada sob aquecimento na temperatura de 130°C por um período de 2h.

3.3.3 Síntese de CdTe tendo como Estabilizante a L-cisteína (Cis)

Em um béquer de 50 mL, foi adicionado $CdCl_2$ e Cis, em seguida a mistura foi dissolvida em 10mL de água. O pH da solução foi ajustado com uma solução de NaOH 1M. Posteriormente, essa solução foi colocada em um balão de 125 mL sob atmosfera de argônio durante o período de 5 min. Transcorrido esse tempo, a essa solução foi adicionada com auxílio de uma seringa a solução de telúrio reduzido com NaOH. As quantidades de $CdCl_2$ e Cis, bem como o pH estão descritos na Tabela 1. Cada solução foi deixada sob aquecimento na temperatura de 130°C, por cerca de aproximadamente 2h.

Tabela 1: Proporções e massas dos precursores para a síntese de QDs Te:Cd:Cis.

Síntese	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
Proporção	Te:Cd:Cis 1:2:5	Te:Cd:Cis 1:2:5	Te:Cd:Cis 1:2:5	Te: Cd:Cis 1:5:10	Te: Cd:Cis 1:5:10	Te:Cd:Cis 1:5:10
pH	9,0	11,0	13,0	9,0	11,0	13,0
Massa de $CdCl_2$	18,3 mg	18,3 mg	18,3 mg	45,7 mg	45,7 mg	45,7 mg
Massa de l-cisteína	30,2 mg	30,2 mg	30,2 mg	60,5 mg	60,5 mg	60,5 mg

3.4 Técnicas de Caracterização

A caracterização óptica dos materiais sintetizados foi realizada através de espectros de absorção realizado no Laboratório de Eletrossíntese – LES no DQF-UFPE, em um espectro

Varian/Cary 50 com lâmpada de xenônio. Já as medidas de fluorescência foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas –LAQIS na UFRPE, em um espectofluorímetro Shimadzu RF-5301PC com lâmpada de xenônio utilizando fenda de emissão de 5 nm, fenda de excitação de 5 nm e incremento 1. Para a caracterização estrutural, foi realizada no CETENE (Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste) a análise por difratograma de Raios-X de pó, em um difratômetro de Raios-X (DRX) Bruker modelo D8 Advance com fonte de Cu(Ka) nas condições de 2θ de 15° a 60° na taca de 0,03°. min^{-1} . Foi adicionado isopropanol na amostra de QD para análise de DRX, na proporção de Álcool:CdTe 1:1. Posteriormente a amostra foi centrifugada, em centrifuga Scilogex (modelo DM0412E) com 4500 rpm durante cerca de 10 min. Depois da centrifugação o precipitado foi depositado em substrato de vidro e seco sob vácuo, para realização de DRX de pó.

3.5 Obtenção e Cultivo das Larvas

As larvas que foram utilizadas no trabalho são originárias da colônia do *A. aegypti* Linneaus (cepa Rockefeller) do insetário do Laboratório de Ecologia Química da UFPE. A temperatura do insetário foi mantida constante em 28°C, umidade relativa de 58% e fotoperiodismo de 14D:10N. A cepa Rockefeller é cultivada e utilizada em diversos laboratórios de entomologia, uma vez que é referência de suscetibilidade, o que permite uma padronização e sua aplicação em bioensaios para comparação de resistência com populações locais (FIOCRUZ, 2007).

3.6 Bioensaio Larvicida

A atividade larvicida dos compostos estudados neste trabalho foi avaliada segundo uma adaptação descrita por Navarro e colaboradores do método recomendado pela OMS. Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecologia Química, do DQF –UFPE (NAVARRO *et al.*, 2003; WHO, 1981).

Para a realização do teste larvicida preliminar, que determina a faixa de concentração de atuação de substância ativa, uma solução estoque de 100 ppm foi preparada diluindo 0,005

g dos compostos (AMP e CA) e completada a um volume de 50 mL com água destilada. A partir desse estoque, por meio de diluição com água destilada, prepararam-se três soluções com concentrações 10, 50 e 100 ppm.

Os ensaios foram realizados para diferentes concentrações da amostra e, para cada ensaio, um controle foi realizado com água destilada. Vinte larvas do mosquito *A. aegypti* no quarto instar inicial (L-4) foram colocadas em copos de plástico descartáveis (50 mL) contendo 20 mL da solução. A mortalidade das larvas, assim como possíveis alterações morfológicas e comportamentais, foram registrados após um período de 24 e 48 horas a partir do início do experimento. As larvas foram consideradas mortas quando não responderam a estímulos ou quando não mantiveram um movimento de imergir e emergir até a superfície da solução.

Através dos resultados obtidos nos testes preliminares foi possível determinar as concentrações que seriam testadas nos ensaios seguintes. Os bioensaios seguiram a mesma metodologia utilizada nos testes preliminares, no entanto foram realizados em triplicata para manter a confiabilidade dos resultados. Realizou-se vários testes com o mesmo composto, para definir os pontos que foram utilizados no cálculo da CL_{50}, calculada através da análise de Probit (FINNEY, 1971) com o emprego do software Statplus® 2008 for Windows.

3.7 Aplicação dos QDs como Marcadores de Larvas de *A. aegypti*

A marcação de larvas de *A. aegpyti* em ínstar L4 ocorreu inicialmente no Laboratório de Ecologia Química, no DQF-UFPE, onde larvas sob diferentes concentrações (100, 50, 25 e 15%) foram expostas por 2h a QDs de CdTe-CA e CdTe-AMP. Os QDs de CdTe-Cis foram expostos por 30 min. Transcorrido esse período, foi verificado se as larvas luminesciam através de uma lâmpada de UV (ultravioleta) de comprimento de onda de 365 nm. Em seguida, foram realizadas imagens no Microscópio de fluorescência - ZEISS Observer Z.1 Apo Tome, da marca Zeiss e modelo AXIO OBSERVER Z1. As imagens foram obtidas com as larvas de *A. aegypti* vivas, mas imobilizadas pelo GPF. O GPF foi depositado sob uma lâmina, logo depois, uma larva foi colocada sob o mesmo e coberta com uma lamínula para realização das microscopias. As imagens de microscopia de fluorescência foram realizadas com as larvas expostas ao controle e aos diferentes QDs.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese dos QDs de CdTe- AMP e CdTe-CA

4.1.1 Redução do Te^0

O processo de eletrorredução de Telúrio elementar (Te^0) para telureto (Te^{2-}) foi realizado segundo Ribeiro e colaboradores (RIBEIRO *et al.*, 2013) e posteriormente aplicado na síntese de QDs de CdTe com diferentes estabilizantes. Para a redução eletroquímica do Te^0, não foi utilizado um agente redutor químico em solução a fim de diminuir a toxicidade dos QDs, visando aplicações biológicas e na perspectiva da química verde.

A eletrorredução do Te^0 para íons de telureto (Te^{2-}), ocorreu à corrente constante (-70 mA) e atmosfera inerte com borbulhamento de argônio para manter a solução livre de oxigênio, evitando assim, oxidação das espécies formadas. A célula eletroquímica (Figura 5) utilizada apresenta eletrodos de baixo custo, é de fácil manipulação e pode ser facilmente aplicada em larga escala. Esta é uma célula tradicional, com eletrodo de trabalho (cátodo) de rede de aço inoxidável e um eletrodo auxiliar (ânodo) feito do mesmo material colocado em um compartimento de vidro separado, com solução de NaOH 0,2 $mol.L^{-1}$ (pH 13). O meio reacional com pH fortemente básico é necessário para a obtenção da espécie Na_2Te, evitando a formação das espécies NaHTe e H_2Te, que ocorrem em pHs mais baixos.

O telúrio elementar foi disperso em solução aquosa de NaOH 0,2 mol L^{-1}, que foi eletrorreduzido formando o íon Te^{2-} (equação 2). No transcorrer da eletrólise, observa-se uma mudança de coloração da solução, passando de cinza turvo, devido ao telúrio elementar disperso, para o violeta (Figura 5a e 5b) que indica a formação do ditelureto (Te_2^{-2}). O íon ditelureto é formado a partir da reação de comproporcionamento entre o íon Te^{2-} e o telúrio elementar (equação 3). Após o consumo total do Te^0 e do Te_2^{-2} presente em solução (equação 4), a mesma fica transparente (Figura 5b), o que caracteriza a formação de íons Te^{2-} (já que o íon telureto é incolor na faixa do visível) representando o final da eletrorredução do telúrio, caracterizando um processo total de $2e^-$ (MURRAY; KAGAN; BAWENDI, 2000; MYERS, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2013).

$$Te^{0}_{(s)} + 2e^{-} \rightarrow Te^{2-}_{(aq)} \quad (2)$$

$$Te^{2-}_{(aq)} + Te^{0}_{(s)} \rightarrow Te^{2-}_{2(aq)} \quad (3)$$

$$Te^{2-}_{2(aq)} + 2e^{-} \rightarrow 2Te^{2-}_{(aq)} \quad (4)$$

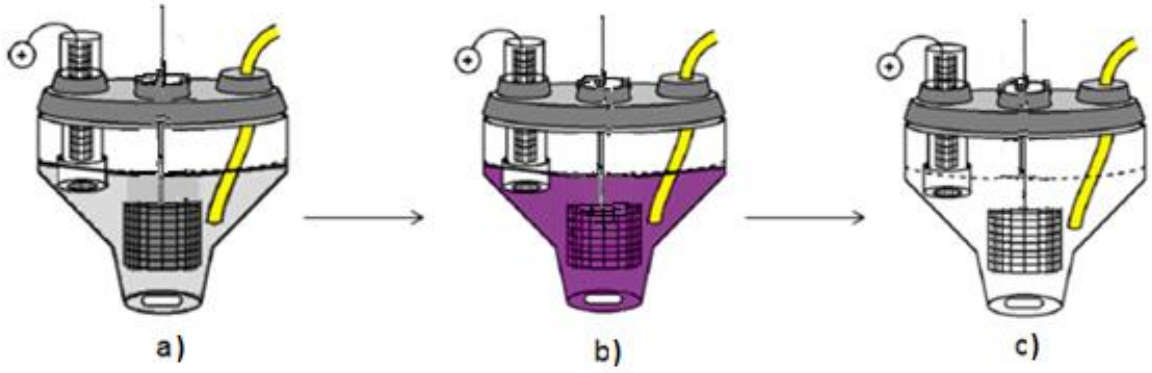

Figura 7: Esquema ilustrativo das etapas de redução do telurioTe^{0}, onde (a) representa a formação de íons Te^{2-}; (b) representa a formação de Te_2^{-2} e (c) representa o consumo total de telúrio elementar e a formação de Te^{2-}.

4.1.2 Determinação dos Compostos Estabilizantes

Foram selecionados compostos estabilizantes com diferentes grupos funcionais com possível atividade larvicida, a fim de identificar como os mesmos atuam no organismo de larvas de *A. aegypti,* através de marcação biológica utilizando QDs de CdTe.

Na literatura, encontram-se estudos que apontam compostos derivados de óleos essenciais, que possuem em sua constituição ácidos graxos, exibindo atividade inseticida, larvicida e de repelência (ALI *et al.*, 2012). Oliveira e colaboradores averiguaram a atividade larvicida de ácidos carboxílicos sintéticos em larvas de *A. aegypti,* os quais indicaram que o aumento da cadeia carbônica, aliado às alterações nas funções orgânicas adicionais, promoveu uma melhoria na atividade larvicida dos compostos testados (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Desta forma, é possível afirmar que compostos com a função (-COOH) podem ser promissores em estudos de atividade larvicidas e mecanismo de ação.

Dentre os compostos ácidos utilizados como estabilizantes em QDs de CdTe destacam-se o ácido 3-mercaptopropiônico (AMP) presente na Figura 8a, já amplamente utilizado como estabilizante, proporcionando QDs com alta estabilidade e ótimas propriedades ópticas (CHO *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2015). Além disso, em um estudo desenvolvido por Mayer e colaboradores, a atividade do AMP contra o crescimento de *Acinetobacter baumannii* foi

avaliada, onde o mesmo inibiu o desenvolvimento bacteriano das cepas analisadas (MAYER *et al.*, 2012).

Alguns estudos mostram que certos compostos bactericidas também podem apresentar atividade larvicida. Karthikeyan e colaboradores sintetizaram nanopartículas de prata utilizando folhas de *Melia dubia*, com atividade bactericida contra *Bacillus subtilis, Proteus mirabilis, Klebsieilla pneumoniae, Escherichia coli,* e *Vibrio cholerae*. Além disso, essas nanopartículas apresentaram boa atividade frente às larvas do 4º instar de *Culex quinquefasciatus* (KARTHIKEYAN *et al.*, 2014). Com isso, acredita-se que o AMP, possa desencadear algum estímulo frente as larvas de *A. aegypti.*

Com o objetivo de comparar a atuação de diferentes larvicidas, frente às larvas de *A. aegypti*, decidiu-se mudar a função ácida mantendo o grupo tiol (-SH) com alta interação com a superfície inorgânica dos QDs. Uma pesquisa realizada por Cline, que testou vários tipos de aminas (polares e não polares), indicou que as mesmas possuem atividade larvicida contra as larvas no 4º ínstar de *A. aegypti*. Desse modo, optou-se por utilizar o CA presente na Figura 8b, que apresenta uma estrutura similar ao AMP, onde o grupo ácido é substituído para função amina (-NH_2), sabendo que este composto já é descrito como estabilizante em QDs com alta qualidade (CLINE, 1972).

Outro composto, comumente utilizado como estabilizante em QDs, selecionado para ser testado foi a Cis (Figura 8 c). A Cis apresenta em sua estrutura um grupo ácido como o AMP e um grupo amina como a CA, além de um grupo tiol, presente em ambos, podendo assim ser utilizada a fim de comparação estrutural. Este composto apresenta baixa toxicidade em seres humanos, já que é um aminoácido presente no organismo humano.

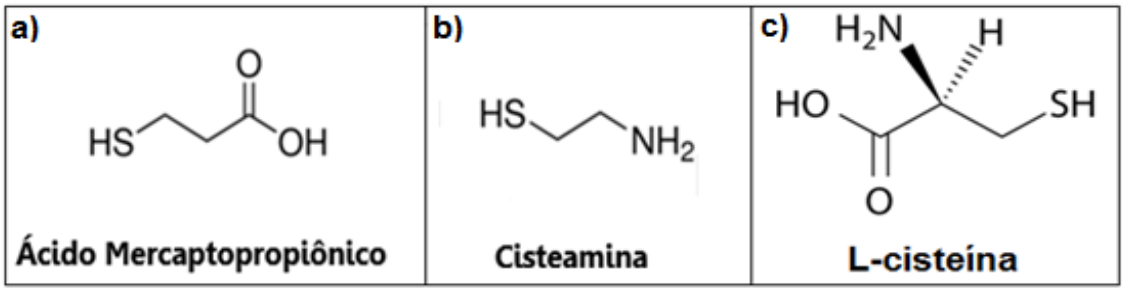

Figura 8. Representação da estrutural do AMP (a), CA (b) e Cis (c).

4.1.3 Síntese dos QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA

O procedimento utilizado para a síntese dos nanocristais de CdTe com os estabilizantes AMP e CA, foi baseado na metodologia descrita por Ribeiro e colaboradores (RIBEIRO *et al.*, 2013), com algumas modificações. A síntese de CdTe-AMP foi realizada na proporção de 1Te:2Cd:2,4AMP, partindo de 0,05 mmol de Te^0.

Após a eletrorredução do telúrio, foi preparada a solução contendo o $CdCl_2$ e o estabilizante AMP. O pH da solução foi ajustado para 11 com auxílio de uma solução NaOH 1M, com o intuito de desprotonar o grupo tiólico, para reagir com os íons Cd^{2+} presentes na solução formando o complexo $Cd^{2+}(SCH_2CH_2COO)^{2-}$, o qual foi mantido sob argônio durante 5 min. Posteriormente, à solução contendo o complexo (Cd-AMP) foi adicionada a solução de Te^{2-} eletroreduzido em solução de NaOH, onde foi observado uma coloração avermelhada (Figura 9), referente a formação dos QDs de CdTe-AMP.

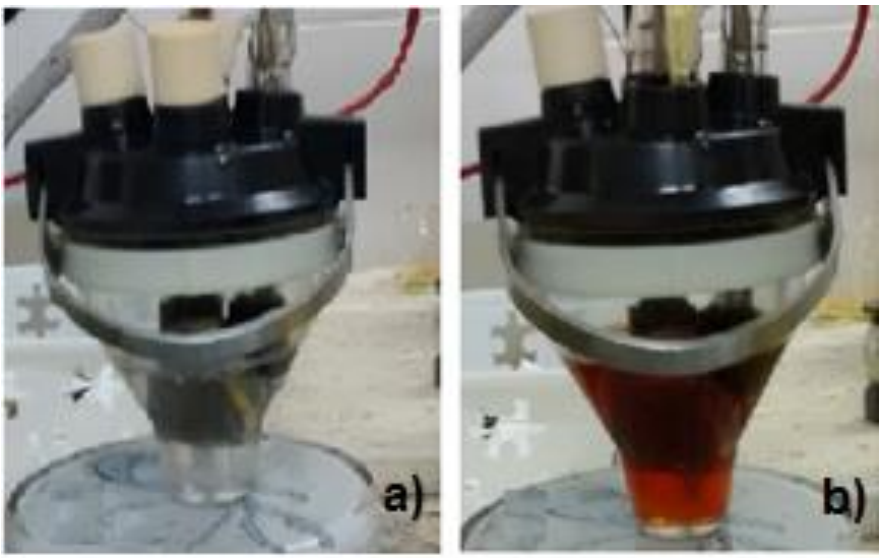

Figura 9: Foto da solução no final da eletrólise (a) e após formação dos QDs de CdTe-AMP (b).

Em relação à síntese de CdTe-CA, a proporção utilizada foi de 1Te:5Cd:12CA, também partindo de 0,05 mmol de Te^0. A solução formada por $CdCl_2$, estabilizante e água, foi adicionada à solução de Te^{2-} formando rapidamente o CdTe-CA de cor alaranjada, como observado na figura 10. O pH da solução foi ajustado depois da formação dos nanocristais, com intuito de estabilizá-los devido á protonação do grupo NH_2 da CA para dispersão dos nanocristais. O pH final dos nanocristais foi igual a 6.

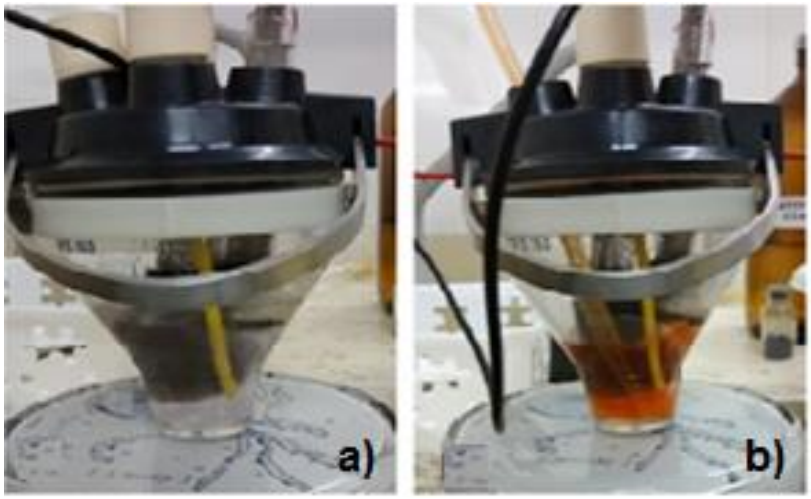

Figura 10: Foto da solução no final da eletrólise (a) e após formação dos QDs de CdTe-CA (b).

As soluções de CdTe-AMP e CdTe-CA foram deixadas sob aquecimento (130°C) por um período de 2 horas, para crescimento dos nanocristais. Os QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA apresentaram emissões no vermelho e amarelo, respectivamente, quando submetidos à luz UV com comprimento de onda de 365 nm.

Figura 11: Amostra de QDs CdTe-AMP e CdTe-CA respectivamente, na concentração de 100% após o tratamento térmico (a) e as mesmas amostras sob UV λ 365 nm (b).

Os QDs sintetizados de CdTe-AMP e CdTe-CA foram caracterizados por espectroscopia de absorção e emissão (Figura 12).

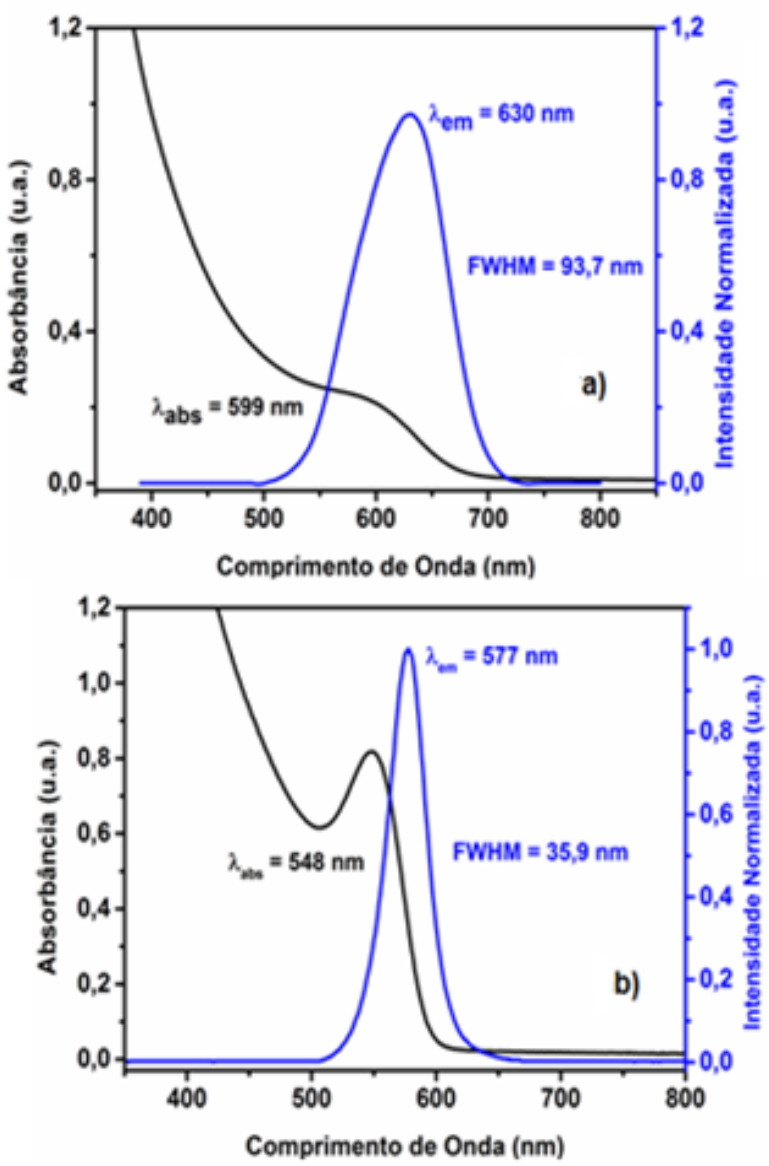

Figura 12: Espectro de absorção e emissão, com o valor de FWHM dos QDs de CdTe-AMP (a) e CdTe-CA (b) na concentração de 100%.

Através do espectro de absorção, em 2003, Yu e colaboradores desenvolveram a equação empírica (equação 5) para calcular o tamanho médio das partículas dos nanocristais de CdTe (YU *et al.*, 2003).

$$D(CdTe) = (9{,}8127\ x\ 10^{-7})\lambda^3 - (1{,}7147\ x\ 10^{-3})\lambda^2 + (1{,}0064)\lambda\ - 194{,}84 \qquad (5)$$

onde, D (nm) representa o diâmetro dos QDs e λ (nm) representa o comprimento de onda da primeira absorção excitônica dos nanocristais de CdTe.

Também através do espectro de absorção, segundo a lei de Lambert-Beer (equação 6) é possível calcular a concentração das amostras em nanopartículas por mL.

$$A = \varepsilon.c.l \qquad (6)$$

Onde A, representa a absorbância, c é a concentração da amostra e l, representa o caminho ótico que nesse caso é o comprimento da cubeta de quartzo de 1 cm. O coeficiente de extinção por mol de partícula (ε) foi calculado por Yu, e colaboradores para nanocristais de CdTe, através da energia de transição que corresponde ao primeiro pico de absorção ΔE em eV, bem como o diâmetro da partícula (equação 7). O valor de ε para nanocristais não é afetado pelas condições experimentais, método de síntese, troca de ligantes na superfície ou por solventes, sendo um método válido sob qualquer variação experimental de síntese de QDs (YU *et al.*, 2003). O ΔE, representa a energia de transição correspondente a primeira transição óptica do primeiro estado excitado em eV e r é o diâmetro do nanocristal em nm.

$$\varepsilon = 3450\ \Delta E(r)^{2,4} \qquad (7)$$

Foram realizadas diluições das soluções de QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA (50, 25 e 15%), a fim de encontrar a menor concentração possível para marcar as larvas de *A. aegypti*. Na figura 13 encontram-se os espectros de absorção das diferentes concentrações de CdTe-AMP e CdTe-CA.

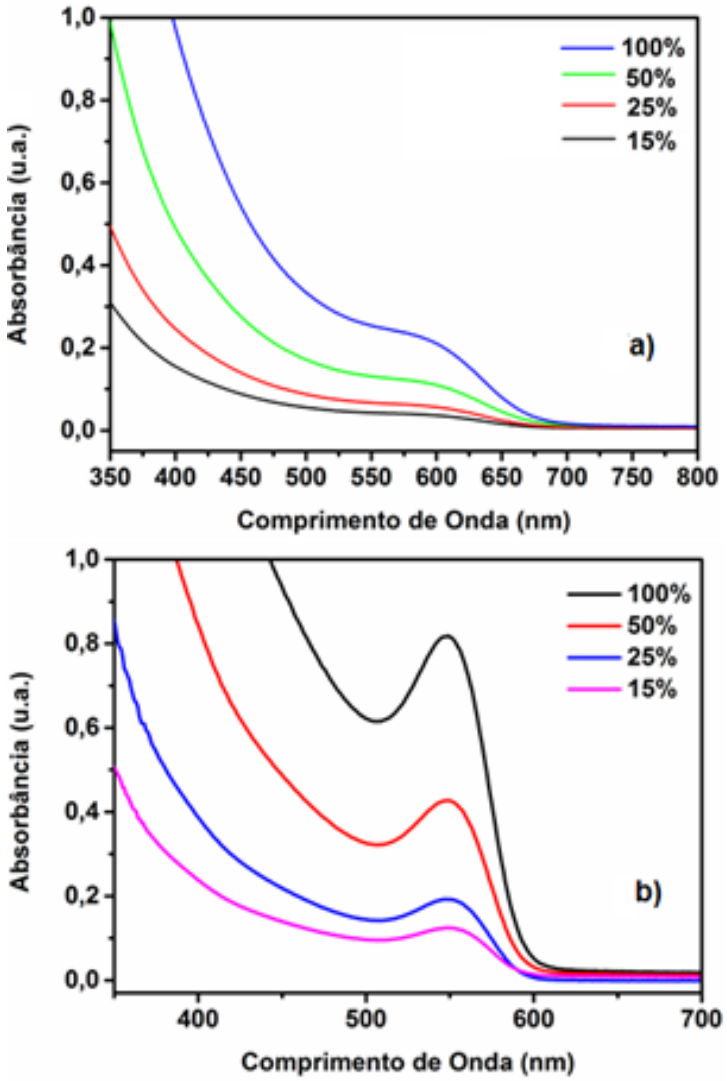

Figura 13: Espectro de absorção das diferentes concentrações de QDs de CdTe-AMP (a) e CdTe-CA (b) na concentração de 100% e suas diluições.

De acordo com os dados obtidos pelos espectros de absorção utilizando a equação de Yu, foi possível calcular o tamanho dos nanocristais e as concentração de nanopartículas por mol dos QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA, pelos espectros de emissão foi medido o valor da largura à meia altura (full width at half height- FWHM) para os QDs, estas informações estão descritas na Tabela 2 (YU *et al.*, 2003).

Tabela 2. Valores do comprimento de onda da primeira absorção excitônica, diâmetro, FWHM (largura à meia altura), concentração em porcentagem e concentração em nanopartículas por mol para os QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA.

QDs	λ_{abs} (nm)	D (nm)	λ_{em} (nm)	FWHM (nm)	Concentração (%)	Concentração (nanopartículas/mol)
CdTe-AMP	599	3,60	630	93,7	100	$1,34 \times 10^{-6}$
					50	$7,02 \times 10^{-7}$
					25	$3,64 \times 10^{-7}$
					15	$2,30 \times 10^{-7}$
CdTe-CA	548	3,22	577	35,9	100	$6,75 \times 10^{-6}$
					50	$3,58 \times 10^{-6}$
					25	$1,58 \times 10^{-6}$
					15	$1,0 \times 10^{-6}$

Os QDs sintetizados apresentaram o diâmetro de 3,60 nm para o CdTe-AMP e 3,22 nm para o CdTe-CA mostrando que o crescimento do nanocristal de ambos foi acentuado com o aumento da temperatura. O CdTe-AMP e CdTe-CA luminesceram em 630 nm (vermelho) e 577 nm (amarelo) e apresentaram espectros de emissão simétricos, com valores de FWHM de 93,7 e 35,9 nm respectivamente, estando de acordo com os valores de FWHM de QDs encontrados na literatura que variam aproximadamente entre 30 a 100 (RESCH-GENGER *et al.*, 2008). Os valores de FWHM encontrados para CdTe-AMP e CdTe-CA indicam formação de nanopartículas com poucos defeitos. Os resultados obtidos nesse trabalho para as sínteses de QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA estão de acordo com os da literatura (GAPONIK *et al.*, 2002; LI; QIAN; REN, 2005).

4.2 Síntese e Caracterização dos QDs de CdTe-Cis

A síntese eletroquímica de QDs de CdTe estabilizados com L-Cisteína é inédita na literatura, então foram testadas diferentes condições reacionais para atingir as melhores propriedades ópticas. Foram sintetizados QDs de CdTe-Cis nas proporções de 1Te:2Cd:5Cis e 1Te:5Cd:10Cis, partindo de 0,05 mmol de Te^0, com pH 9, 11 e 13, o pH das soluções foram modificados com auxílio de uma solução de NaOH 1M. Sendo a proporção inicial baseada no artigo de Li e colaboradores (LI; SHIH; SHIH, 2010), que sintetizaram CdTe-Cis com

metodologia tradicional utilizando o agente redutor $NaBH_4$. A solução de precursor de $CdCl_2$ e Cis em água, foi preparada em pH 10-11 para desprotonação dos grupos tiol (- SH) e carboxilato (- COO^-), em seguida esta solução foi deixada sob argônio durante 10 min e então adicionada à solução de Te^{2-} formando o CdTe-Cis de cor laranja escuro, como observado na figura 14.

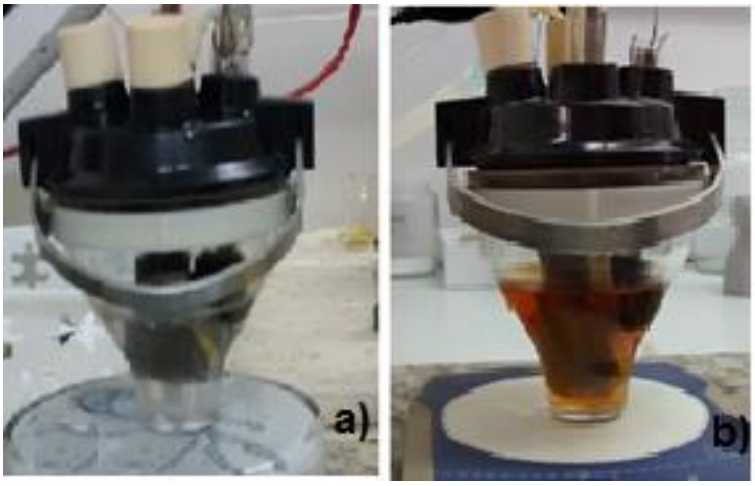

Figura 14: Foto da solução no final da eletrólise (a) e após formação dos QDs de CdTe-Cis (b).

As soluções de CdTe-Cis em diferentes proporções e pHs foram deixadas sob aquecimento (130°C) por um período de 2 horas para crescimento dos nanocristais. A proporção de 1Te:2Cd:5Cis nos três pHs testados e a proporção de 1Te:5Cd:10Cis nos pHs 9 e 11, apresentaram baixa luminescência, além de formarem precipitados. Assim, a proporção escolhida foi a de 1Te:5Cd:10Cis em pH 13, já que não houve formação de precipitado e apresentou boa luminescência. Durante a síntese de CdTe-Cis (1Te:5Cd:10Cis em pH 13) foram retiradas alíquotas de 3 mL a cada 15 min de reação para acompanhar o crescimento dos nanocristais, ambas apresentaram boa luminescência sob excitação com luz UV λ 365 nm, exceto a alíquota de 105 min, que foi descartada (Figura 15).

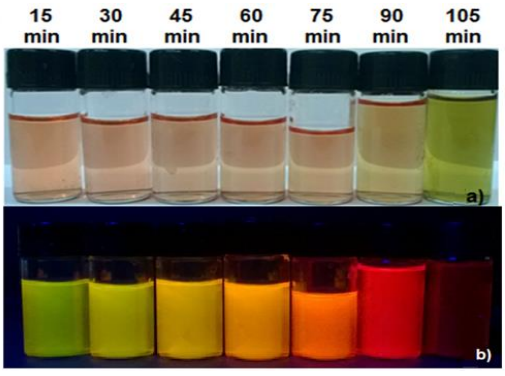

Figura 15: Alíquotas retiradas com tratamento termico de 15 a 105 min (a) e as mesmas alíquotas sob UV λ 365 nm (b).

As alíquotas foram caracterizadas por espectroscopia de absorção e emissão. O crescimento foi monitorado como mostrado na Figura 16.

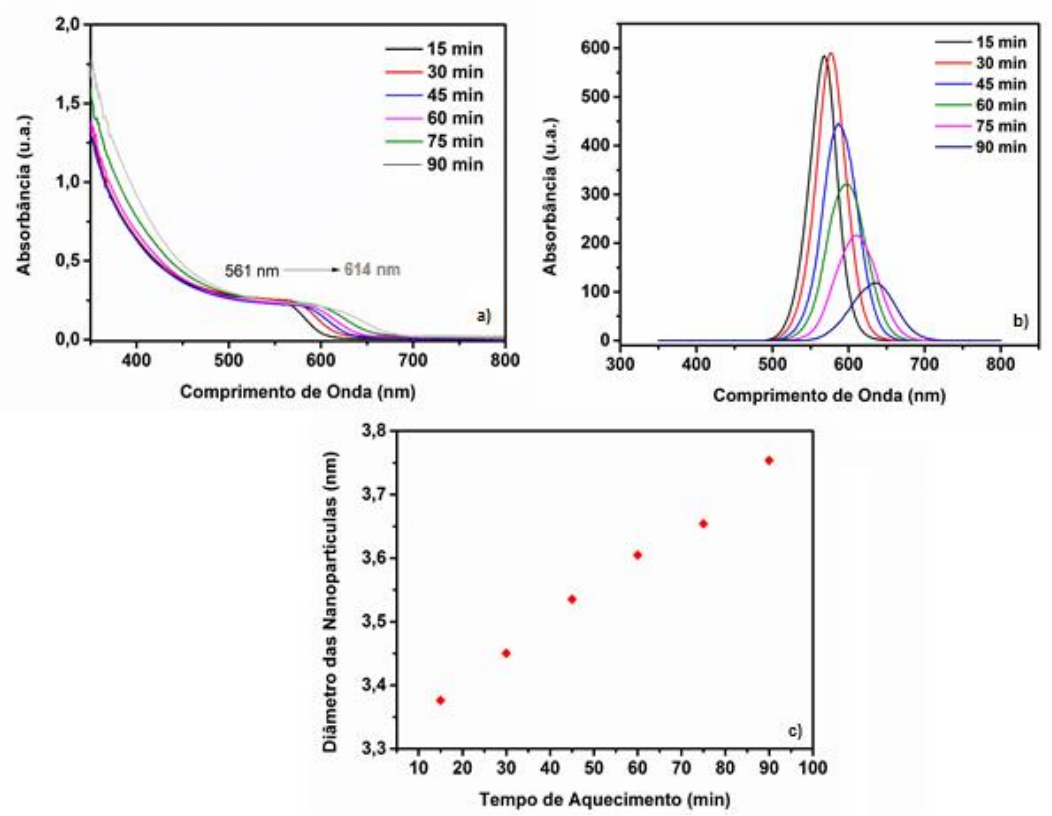

Figura 16: Espectros de absorção (a), emissão (b) e o crescimento das nanopartículas (c) com o tempo de aquecimento dos QDs de CdTe-Cis.

De acordo com os espectros de absorção e fazendo uso das equações de Yu, 5 e 6 (descritas anteriormente), foi possível calcular o diâmetro dos nanocristais (nm) e o valor da concentração das amostras (nanopartículas/mol) em diferentes tempos de tratamento térmico. Os dados obtidos encontram-se dispostos na Tabela 3.

Tabela 3. Valores do comprimento de onda, diâmetro e concentração em nanopartículas por mol dos QDs de CdTe-Cis em tempos diferentes, com a mesma temperatura de 130° C.

Tempo (min)	**λ (nm)**	**D (nm)**	**Concentração (nanopartículas/mol)**
15	561	3,34	$1{,}76 \times 10^{-6}$
30	574	3,45	$1{,}65 \times 10^{-6}$
45	581	3,51	$1{,}54 \times 10^{-6}$
60	592	3,59	$1{,}32 \times 10^{-6}$
75	604	3,69	$1{,}24 \times 10^{-6}$
90	614	3,79	$1{,}11 \times 10^{-6}$

É possível dizer que com o transcorrer do tempo entre 15 a 90 min, o diâmetro dos nanocristais aumenta rapidamente com uma taxa de crescimento praticamente constante, como é observado na Figura 16c. A concentração das nanopartículas em solução diminui devido à etapa de envelhecimento de Ostwald, onde as partículas menores se dissolvem alimentando as partículas maiores, diminuindo assim a concentração total de partículas (FLORES *et al.*, 2012).

Os espectros de emissão das alíquotas apresentaram um máximo de comprimento de onda que variou de 568 a 635 nm, foi possível notar ainda, que os espectros de emissão são simétricos, o que indica que as amostras são homogêneas. Um estudo realizado por Li e colaboradores, mostrou que o comprimento de onda dos espectros de emissão variou de 480 a 650 nm (do verde ao vermelho), para QDs de CdTe, vale ressaltar que a metodologia e parâmetros utilizados não foram os mesmos (temperatura 100°C, tempo de 1 a 5 horas e pH entre 7,2 – 9,0), justificando o fato de que em pouco tempo de tratamento térmico as nanopartículas já estivessem emitindo em comprimento de onda de 568 nm.

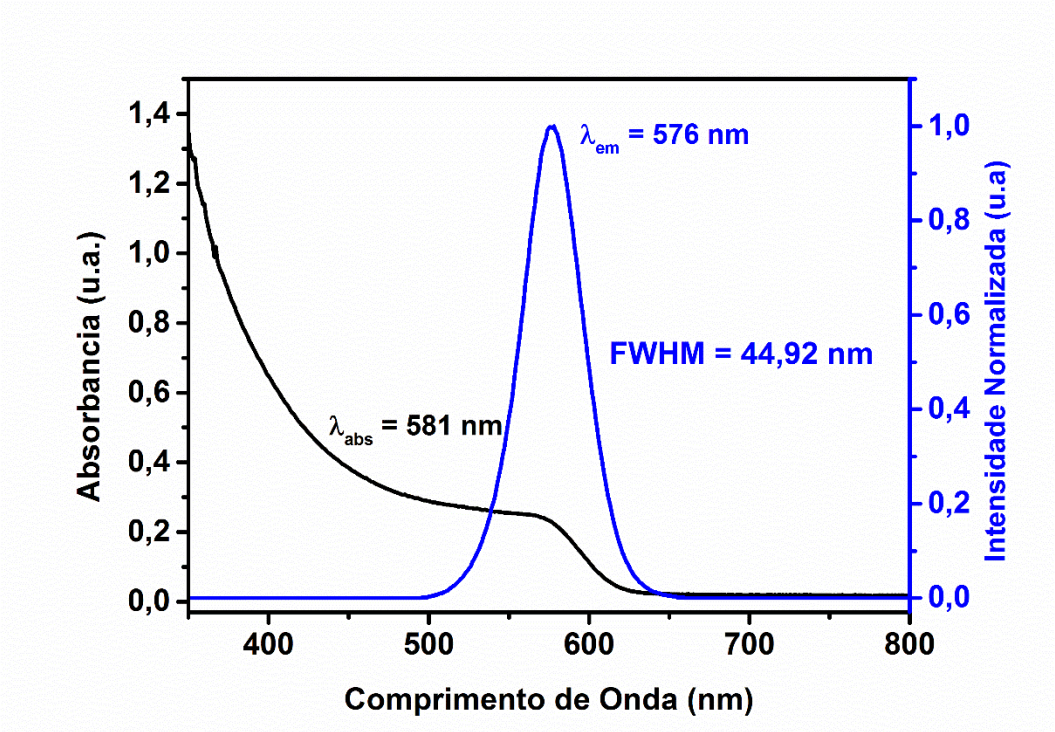

Figura 17: Espectro de absorção e emissão, com o valor de FWHM dos QDs de CdTe-Cis na concentração de 100% e com tratamento térmico de 30 min de reação.

Após 30 min de aquecimento, o espectro de absorção apresentou uma banda de absorção em 581 nm. No espectro de emissão foi observada uma banda com comprimento de onda máximo em 576 nm. Com relação à largura de banda, observa-se uma banda de emissão estreita

de 44,92 nm, ca racterizando um sistema de partículas com poucos defeitos de superfície (LI; SHIH; SHIH, 2010; ZHAO *et al.*, 2009).

Foram realizadas diluições da alíquota de 30 min dos QDs de CdTe-Cis (50, 25 e 15%), para encontrar a menor concentração possível para utilizar na marcação das larvas de *A. aegypti*. Na Figura 18, observa-se o espectro de absorção das diluições.

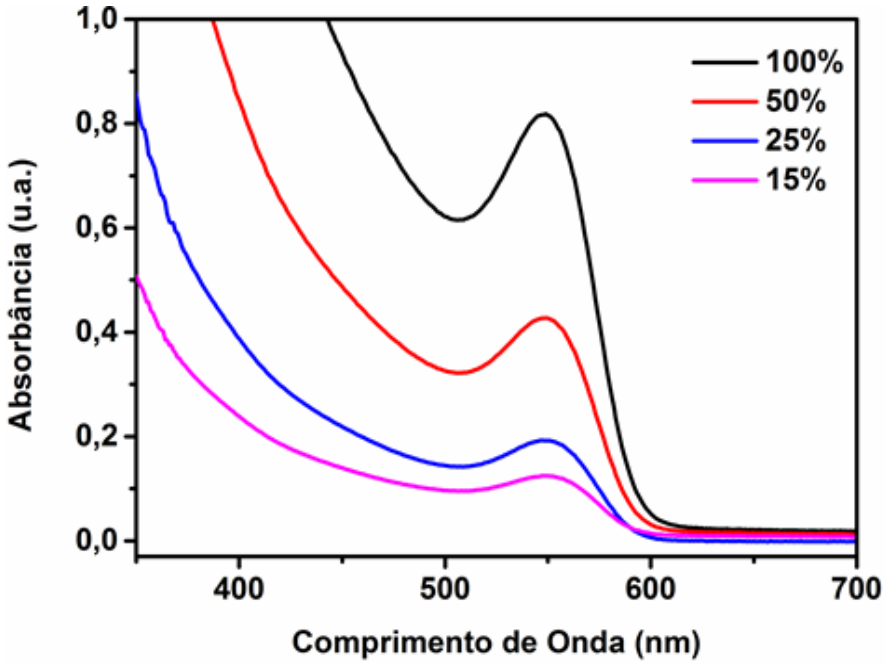

Figura 18: Espectro de absorção das diluições dos QDs de CdTe-Cis em 30 min de reação.

Através do espectro de absorção, foi calculado o tamanho do nanocristal e sua concentração em solução, ambos utilizando a equação de Yu (YU *et al.*, 2003), e por meio do espectro de emissão foi possível obter o valor de FWHM. Os dados estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Valores do comprimento de onda da primeira absorção excitônica, diâmetro, FWHM, concentração em porcentagem e concentração em nanopartículas por mol para os QDs de CdTe-Cis.

QDs	λ (nm)	D (nm)	FWHM (nm)	Concentração (%)	Concentração (nanopartículas/mol)
CdTe-Cis	581	3,51	44,92	100	$3,61 \times 10^{-6}$
				50	$1,80 \times 10^{-6}$
				25	$9,02 \times 10^{-7}$
				15	$3,88 \times 10^{-7}$

Como já era esperado, os valores da concentração de nanopartículas por mol diminuiu com as diluições realizadas a partir do QD CdTe-Cis.

4.2.1 Caracterização Estrutural do QD de CdTe-Cis

Por meio do difratograma de raios X de pó é possível obter informações sobre a estrutura cristalina dos QDs. Neste sentido, foi realizado DRX de pó para caracterização estrutural dos nanocristais de CdTe-Cis (Figura 19). A amostra de QD escolhida de CdTe-Cis foi aquela aquecida por 30 min. É valido destacar que o tempo de aquecimento e o tipo de ligante não interfere na estrutura observada no DRX (LIU; YU, 2009).

A preparação da amostra se dá através da adição de álcool isopropílico para desestabilização do sistema de CdTe seguindo pela sua centrifugação, onde ocorre a precipitação e agregação das partículas. Em seguida, a amostra é depositada em substrato de vidro para secar sob vácuo. Os detalhes da preparação da amostra encontram-se descritos no tópico 3.4.

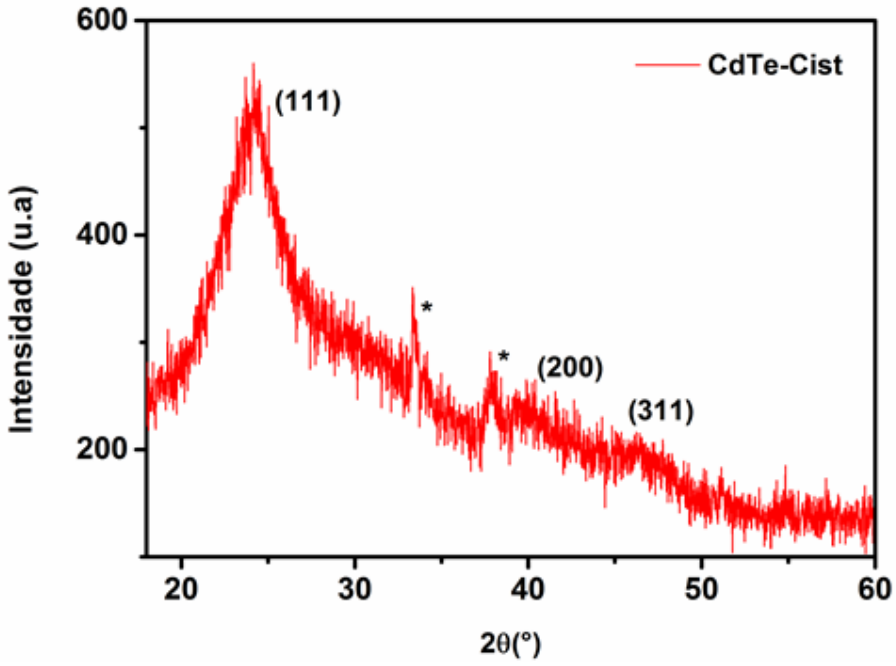

Figura 19: Difratograma de Raios-X de pós para a amostra de CdTe-Cis depositada em substrato de vidro.

De acordo com o difratograma, foi possível observar picos característicos relativos ao CdTe núcleo com 2θ = 24,27° referente ao plano (111), 40,45° ao plano (220) e 47,36° referente a (311) numa estrutura cristalina cúbica tipo blenda de zinco para os QDs sintetizados (LIU; YU, 2009).

No DRX dos materiais maciços (bulk) os picos se apresentam bastante finos, no entanto em 1918, Scherrer observou que a redução de tamanho do cristal leva a um alargamento dos picos, em cristais nanométricos os picos se apresentam bastante alargados, o que é frequentemente atribuído à dispersão de tamanho dos nanocristais (HOLZWARTH; GIBSON, 2011).

Os outros picos representados na Figura 17 por asterisco (*) estão relacionados a problemas de oxidação dos precursores, devido ao oxigênio, formando assim óxidos de cádmio e telúrio elementar na superfície da placa. Encontra-se na literatura, relatos de picos na obtenção de filmes finos de CdTe depositados sob diferentes condições, onde picos em regiões próximas a 33,47° e 37,94° representam respectivamente, $CdTeO_3$ e CdO (ISON; RAO; DUTTA, 2009; LIU; YU, 2009; TADJARODI; IMANI, 2011).

4.3 Atividade Larvicida do AMP, CA e Cis

As larvas utilizadas nos testes estavam em ínstar L4, pois é o ínstar larval mais resistente, assim se um composto apresentar atividade larvicida quando testado com larvas L4, o mesmo funcionará bem nos outros ínstares larvais. Estas larvas foram mantidas em diferentes concentrações de AMP, CA ou Cis (100%, 50%, 25% e 15%) e examinadas no período correspondente a 24 e 48 horas, onde foi possível averiguar mudanças morfológicas e motoras. Observou-se que os movimentos das larvas passaram de normal (agitado) para vagaroso, em seguida para parcialmente imóveis (só respondendo aos estímulos provocados por uma pipeta de Pasteur) e por fim, para totalmente imóveis (no caso das larvas mortas).

Também foi verificado que houve mudança na coloração de algumas larvas quando submetidas aos compostos. No caso das larvas expostas ao AMP, ao morrerem apresentaram mudança da cor branco transparente (habitual cor das larvas) para uma cor enegrecida em todas as partes do corpo. Em relação às larvas expostas à CA, observou-se que em um curto espaço de tempo as mesmas apresentaram mudança de cor branco transparente para uma cor branco opaca (esbranquiçadas), e que está coloração se estendeu por todo o corpo da larva. As larvas

submetidas à Cis, também exibiram mudança na coloração, ficando esbranquiçadas em pouco tempo de exposição ao composto, no entanto as larvas mortas apresentaram coloração enegrecida.

De acordo com essas observações, acredita-se que o clareamento das larvas está relacionado ao grupo amina, presente nos larvicidas CA e Cis, já que em ambos os compostos foi possível verificar a coloração esbranquiçada em todo corpo da larva. Em relação ao escurecimento do corpo das larvas nos compostos AMP e Cis, é possível pensar que tal mudança ocorra devido à presença do grupo ácido.

As soluções controle foram compostas apenas por água destilada, uma vez que não foi necessário o uso de co-solvente, pois os compostos testados solubilizam em água (estas soluções são importantes para se observar se existe alguma suscetibilidade das larvas mesmo quando expostas a água). Em todos os bioensaios referentes ao controle, não houve mortalidade e não foi observada nenhuma anomalia com as larvas testadas.

Conforme o procedimento metodológico descrito no item 3.6, foram realizados testes larvicidas preliminares a fim de determinar a faixa de CL_{50} (concentração letal necessária para matar 50% das larvas que estão sendo testadas) que os compostos testados estariam inseridos. Os resultados dos testes preliminares encontram-se listados na Tabela 5.

Tabela 5: Mortalidade em teste larvicida preliminar das larvas em estágio L4 de *A. aegypti* dos compostos AMP e CA.

Compostos	**Concentrações preliminares**		
-	**10 ppm**	**50 ppm**	**100 ppm**
AMP	30%	95%	100%
CA	55%	100%	100%
Cis	20%	85%	100%

A partir dos resultados preliminares foram realizados testes sucessivos para a determinação da CL_{50} dos compostos AMP e CA. As mortalidades para as concentrações em cada teste, bem como suas distribuições em gráfico de concentração versus mortalidade, geradas pelo software Probit encontram-se dispostos na Figura 20. Os testes para definir a CL_{50} da Cis ainda estão sendo realizados.

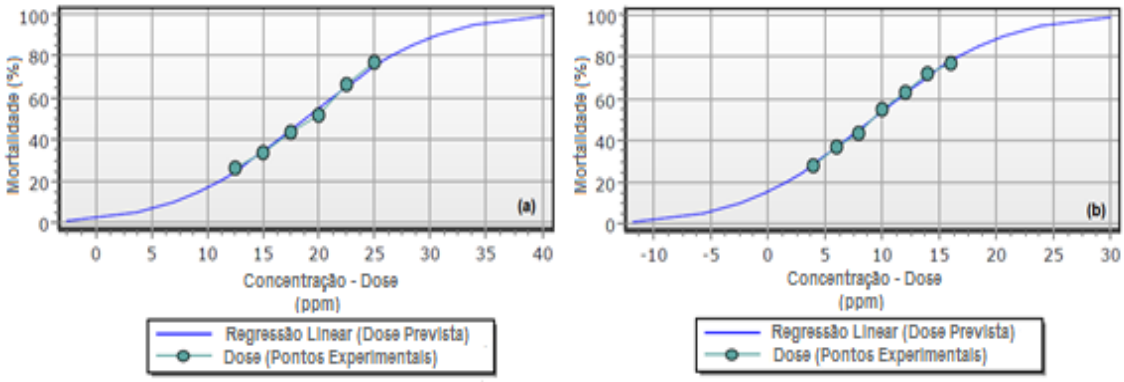

Figura 20: Gráficos Concentração (stimulus) *versus* mortalidade (response) dos testes larvicidas para o AMP (a) e CA (b).

Através do cálculo de sobrevivência Probit foi possível chegar ao valor de CL_{50} para os compostos AMP e CA, encontrando um valor de 18,34 ± 0,68 e 8,26 ± 0,58 ppm respectivamente. Os dados da CL_{50}, bem como os erros padrão e intervalo de confiança dos valores estão listados na tabela 6.

Tabela 6: Concentrações letais para 50% (CL_{50}) das larvas em estágio L4 de *A. aegypti* do AMP e CA.

Composto	CL_{50}[a]	Erro padrão	Valor-p	X^2
AMP	18,34	± 0,68	0,916	0,958
CA	8,26	± 0,58	0,965	0,968

[a] Valores médios de concentração letal (CL_{50}). $\chi 2$ = qui quadrado.

Segundo Cheng e colaboradores, óleo essenciais ou extrato vegetal que apresentem LC_{50} entre 50 e 100 ppm em bioensaios larvicidas podem ser considerados ativos, à medida que aqueles que apresentam CL_{50} inferior a 50 ppm são considerados altamente ativos (CHENG *et al.*, 2003). Tendo como base essa referência, tanto o AMP como a CA podem ser considerados como compostos altamente ativos frente às larvas de *A. aegypti* no quarto instar larval. A CA mostrou ser ainda mais ativa que o AMP, já que apresentou CL_{50} menor, ou seja, para matar 50% das larvas é necessária uma menor concentração de composto comparada ao AMP.

Silva e colaboradores desenvolveram um trabalho, onde utilizaram o parâmetro de óleo essencial e extratos de plantas para analisar a CL_{50} de compostos sintéticos. No trabalho, foi sintetizada uma série de compostos da classe tiossemicarbazida, esses compostos foram avaliados frente às larvas de *A. aegypti.* Alguns desses compostos foram classificados como inativos, pois exibiram CL_{50} maior que 200 ppm ($C_8H_8ON_3F$), houve compostos ativos que apresentaram CL_{50} entre 70 a 60 ppm ($C_8H_8SN_3F$ – 61,3 ppm) e o composto mais altamente ativo foi o $C_9H_9OSN_3C_{l2,}$ que apresentou CL_{50} igual a 5,8 ppm (SILVA *et al.*, 2015).

4.4 Experimentos Preliminares de Marcações de Larvas de *A. aegypti*

4.4.1 Escolha do Fixador para as Larvas de *A. aegypti*

A primeira etapa na preparação de amostras biológicas é a fixação, que objetiva estabilizar e preservar o material biológico. Um composto para ser um bom fixador, deve não destruir o material biológico e não apresentar toxicidade ou manter um tempo razoável entre a fixação e a morte (ABRAHÃO *et al.*, 2004).

Para a realização da marcação das larvas de *A. aegypti* foi necessário utilizar um fixador, já que as larvas precisavam ficar imóveis e permanecerem vivas. Experimentos foram realizados para se obter o fixador que melhor proporcionasse a integridade física e biológica das larvas.

Oliveira e colaboradores utilizaram etanol em gel para imobilizar larvas de *A. aegypti*. Partindo desta informação, realizou-se um teste com o álcool etílico em gel, além do etilenoglicol, óleo de silicone e gel comercial (GPF). Verificou-se que o álcool etílico e etilenoglicol imobilizaram as larvas, no entanto em pouco tempo (cerca de meia hora) as larvas morreram. O óleo de silicone não funcionou como fixador para larvas de *A. aegypti*, visto que as larvas não apresentaram imobilidade na presença deste óleo. Já o gel comercial, proporcionou uma boa imobilidade frente às larvas e não apresentou toxicidade, além de ser o produto mais acessível e barato (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

4.4.2 Marcação Preliminar

Larvas de *A. aegypti* no quarto instar larval foram submetidas aos QDs CdTe-AMP, CdTe-CA e CdTe-Cis na concentração de 25%, por duas horas (tempo necessário para as larvas luminescerem). Os pHs das soluções de CdTe-AMP e CdTe-CA na concentração de 25% foram 11 e 6, respectivamente. No entanto, as larvas expostas ao QDs CdTe-Cis morreram em menos de 30 min. De acordo com Clark e colaboradores, a faixa ideal de pH para as larvas se desenvolverem normalmente compreende de 4 até 11, sendo mortas quando expostas a pH 3 e 12, implicando assim, que a mortalidade das larvas frente a esses compostos não está

relacionada ao pH dos compostos larvicidas testados (CLARK; FLIS; REMOLD, 2004; CLINE, 1972). No caso da solução de CdTe-Cis o pH observado foi 13, que é considerado inapropriado para larvas de *A. aegypti.*

Após a exposição aos QDs, as larvas foram colocadas sob o fixador para a realização das imagens, as quais foram realizadas com diferentes larvas, submetidas ao controle (água destilada) e aos três QDs através do microscópio de fluorescência.

Para a realização das imagens foram testados dois filtros presentes no microscópio de fluorescência, Alexa flúor 488 (AF) e Dapi (Dp), esses filtros permitem a passagem de luz de um comprimento de onda conhecido para excitação do fluoróforo (componente que absorve energia de um comprimento de onda específico e em seguida, emite luz em outro comprimento de onda maior). O filtro Dp absorve aproximadamente em 358 nm e emite próximo a 461 nm e o AF absorve aproximadamente em 491 nm e emite próximo a 515 nm (ERIKSSON *et al.*, 1993; HÄRD; FAN; KEARNS, 1990; SUMNER; KOPELMAN, 2005). Com a utilização dos dois filtros foi possível diferenciar as larvas expostas aos QDs CdTe-AMP, CdTe-CA e CdTe-Cis e o controle. O filtro Dp apresentou melhor desempenho quando utilizado no controle, já o AF revelou-se melhor quando aplicado aos QDs. Desta forma, o Alexa flúor 488 foi o filtro escolhido para realização de todas as imagens.

As imagens das larvas de *A. aegypti* foram divididas em três partes (cabeça-tórax, abdômen e papilas anais-sifão respiratório). Não foi possível obter imagens das larvas inteiras, pois a magnificação do equipamento não permite a visualização das mesmas. As imagens observadas no equipamento são apenas das regiões que apresentam fluorescência. Na figura 21, encontram-se as imagens das larvas expostas ao controle e aos QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA. Todas as imagens foram realizadas com o filtro de AF, exceto a imagem ótica do controle.

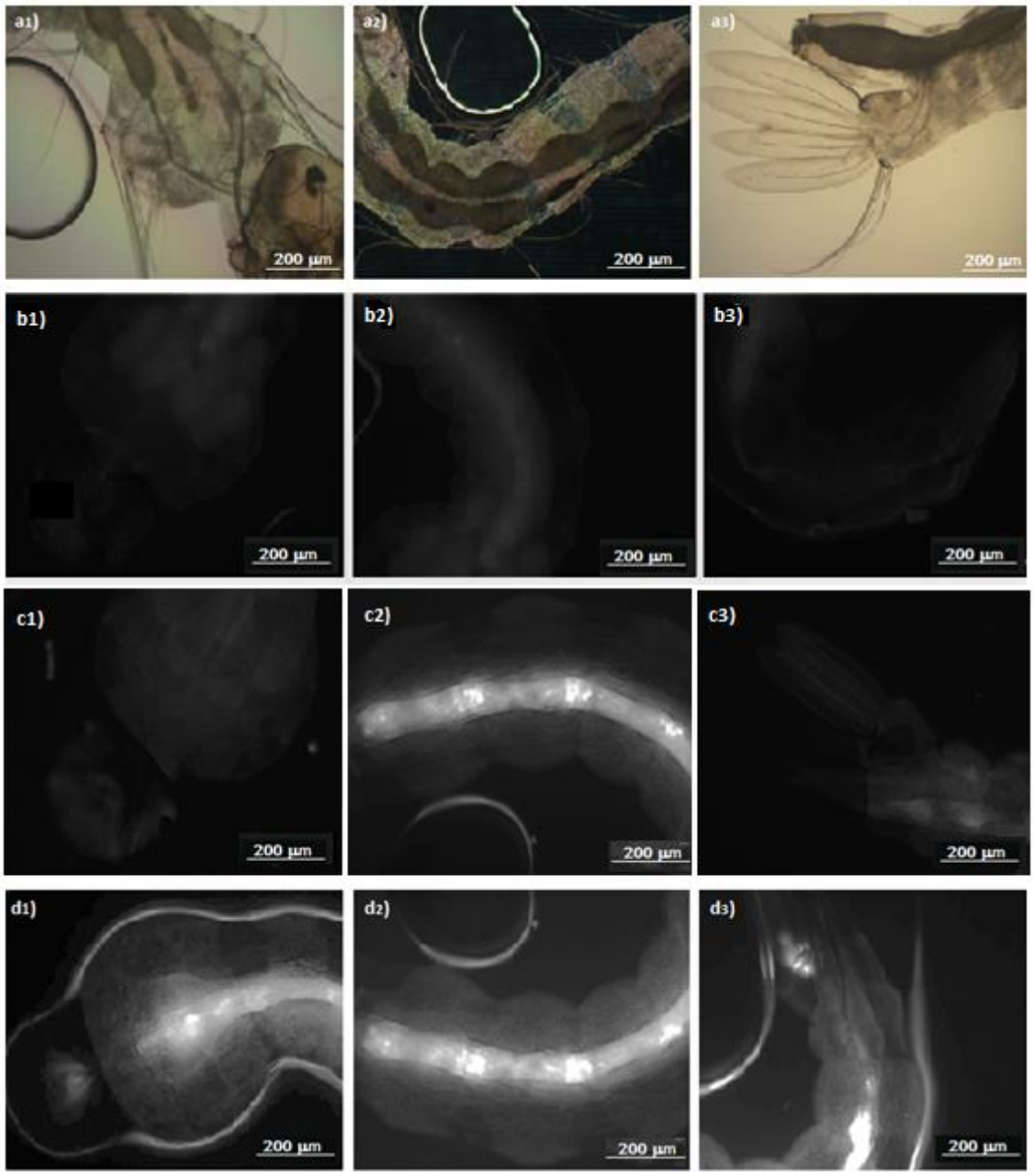

Figura 21: (a) representa imagens óticas das larvas no controle, (b) índica larva no controle com o filtro AF, (c) mostra larvas expostas ao CdTe-AMP com filtro AF e (d) exibe larvas expostas ao CdTe-CA com filtro AF. O índice 1 representa parte da cabeça e tórax das larvas, o 2 mostra parte do abdômen das larvas e 3 indica parte das papilas anais e sifão respiratório.

Não foi possível comparar as larvas submetidas ao QD de CdTe-Cis, devido ao menor tempo de exposição aos QDs. Através das imagens obtidas pelo microscópio de fluorescência, foi possível observar que as larvas expostas aos QDs de CdTe-AMP e CdTe-CA, foram marcadas no tubo digestório. Contudo, as larvas submetidas ao CdTe-AMP, foram marcadas apenas em parte do tubo digestório, diferentemente das larvas expostas ao CdTe-CA, que foram marcadas em todo tubo digestório. Esta diferença, pode ser atribuída ao fato dos nanocristais

de CdTe-AMP e CdTe-CA interagirem com as larvas de *A. aegypti* através dos diferentes grupos funcionais (ácido carboxílico e amina, respectivamente).

Foram realizadas imagens das larvas expostas ao QD de CdTe-Cis (Figura 22). Através das imagens obtidas, foi possível notar que as larvas foram marcadas em todo tubo digestório. Acredita-se que o pH tenha influenciado nos resultados da marcação do QD de CdTe-Cis, se assemelhando as imagens de marcação do QD de CdTe-AMP. Alguns estudos deverão ser posteriormente realizados, afim de investigar a influência do pH na marcação.

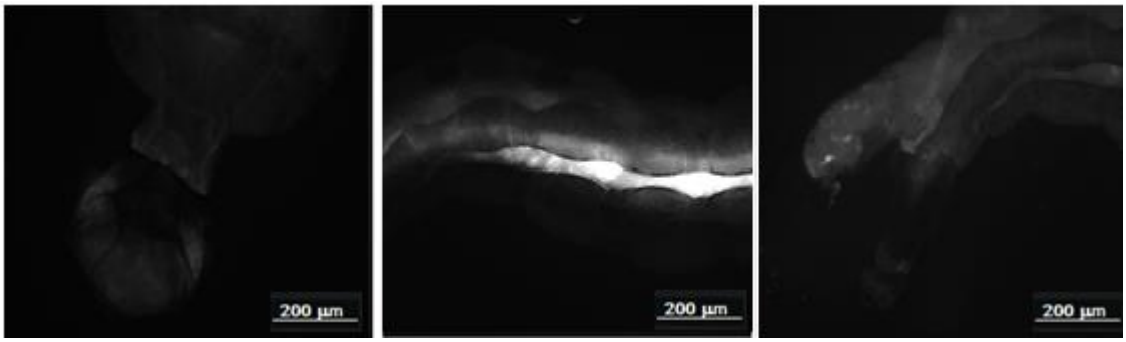

Figura 22: Larva exposta ao CdTe-Cis, onde (a) representa a cabeça e tarte do tórax da larva no controle com o filtro AF, (b) representa parte do abdômen da larva com filtro AF e (d) representa parte das papilas anais e sifão respiratório da larva com filtro AF.

Ainda foram realizadas imagens das larvas expostas ao controle e aos QDs de CdTe-AMP, CdTe-CA e CdTe-Cis, utilizando uma lupa com luz branca e lâmpada de UV de comprimento de onda de 365 nm (Figura 23).

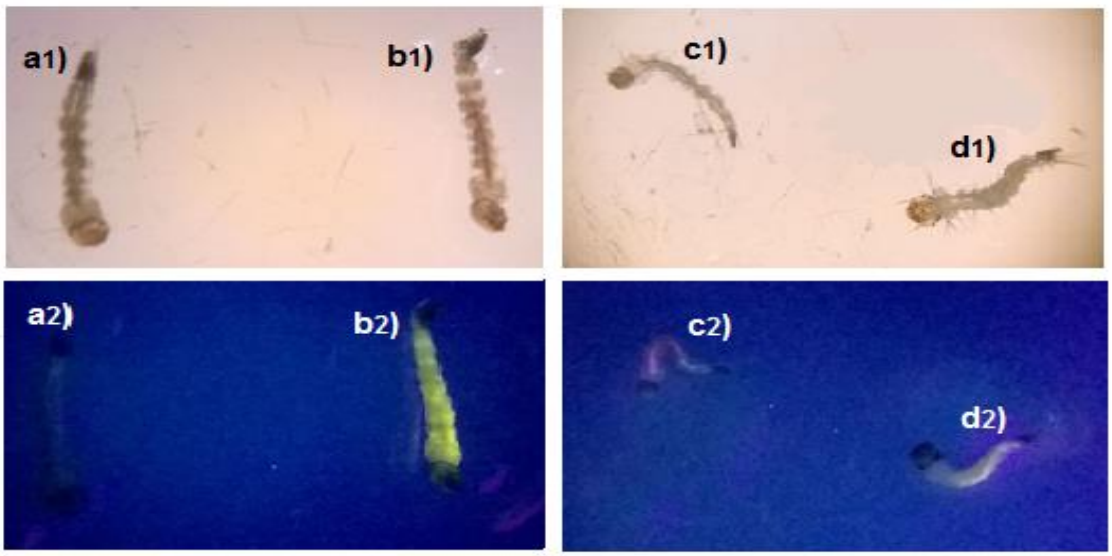

Figura 23: (a) representa imagens de larvas no controle, (b) indica larva exposta ao CdTe-CA, (c) mostra larva exposta ao CdTe-AMP e (d) exibe larva exposta ao CdTe-Cis. O índice 1 representa imagens realizadas com a luz branca e o 2 indica imagens realizadas com lâmpada de UV de comprimento de onda de 365 nm.

Observou-se que a larva exposta ao QD de CdTe-AMP apresentou luminescência em parte do tubo digestório, já as larvas submetidas aos CdTe-CA e CdTe-Cis mostraram luminescência em todo tubo digestório. A larva controle não apresentou luminescência, ressaltando assim, o que foi notado nas imagens feitas através do microscópio de fluorescência.

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho os compostos AMP e CA obtiveram CL_{50} igual a 18,34 e 8,26 ppm, respectivamente. Desta forma, podem ser considerados compostos altamente ativos frente a larvas de *A. aegypti* no terceiro ínstar larval. Através de testes preliminares, a Cis mostrou-se um composto com grande potencial larvicida.

Pode-se concluir também que conseguimos reproduzir a metodologia eletroquímica de síntese de QDs de CdTe estabilizados com AMP e CA, onde os nanocristais sintetizados apresentaram boas propriedades ópticas, com tamanho de 3,22 nm (CdTe-AMP), 3,51 nm (CdTe-CA) e com luminescência em comprimentos de onda de emissão próxima do vermelho (630 nm para CdTe-AMP e 577 nm para CdTe-CA) estando de acordo com os QDs da literatura.

A metodologia mostrou-se aplicável para a síntese de CdTe estabilizados com cisteína, onde a melhor proporção encontrada foi de 1Te:5Cd:10Cis. Os nanocristais de CdTe-Cis sintetizados apresentaram tamanho de 3,60 nm e emissão em comprimento de onda 576 nm estando de acordo com os QDs de CdTe-Cis sintetizados utilizando as metodologias tradicionais com $NaBH_4$. Por meio do DRX, foi possível afirmar que o QD de CdTe-Cis possui estrutura cristalina cúbica tipo blenda de zinco.

A marcação das larvas de *A. aegypti* por meio de QDs de CdTe sintetizados, mostrou-se eficiente, já que foi possível observar a diferença entre a autoluminescência das larvas e as regiões marcadas pelos QDs. Ainda por meio da marcação, foi possível observar que os diferentes QDs utilizados marcaram o tubo digestório das larvas, no entanto, os nanocristais de CdTe-AMP marcaram apenas parte do tudo, enquanto os QDs de CdTe-CA marcaram completamente o tudo digestório.

Os nanocristais de CdTe-Cis não foram comparados com os outros dois QDs, pois o tempo de exposição das larvas aos mesmos foi diferente. Acredita-se que a morte das larvas submetidas às soluções de CdTe-Cis esteja relacionada ao pH utilizado, que é inadequado para ser utilizado em l arvas de *A. aegypti*, já que a Cis não apresenta grau de toxicidade tão elevado.

6. PERSPECTIVAS

- Repetir a síntese do QD CdTe-Cis, modificando alguns parâmetros para obtenção de QDs com pH entre 4 e 11 (faixa ideal para serem usados em larvas de *A. aegypti*);
- Realizar os testes larvicidas para a Cis, a fim de obter o CL_{50} frente as larvas de *A. aegypti* (no terceiro instar larval);
- Obter as imagens definitivas da marcação dos QDs CdTe-AMP, CdTe-CA e CdTe-Cis nas larvas de *A. aegypti*;
- Sintetizar e caracterizar novos QDs de CdTe cujos estabilizantes possuam diferentes grupos funcionais, para identificar onde os mesmos atuam nas larvas de *A. aegypti.*

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, D. S. *et al.* Estudo comparativo com diversos fixadores para aplicação em microscopia eletrônica de transmissão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 63, n. 2, p. 248–254, 2004.

AHMAD, R. *et al.* Effect of ten chlorophytes on larval survival, development and adult body size of the mosquito *Aedes aegypti*. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 35, n. 1, p. 79–87, 2004.

ALFASSI, Z.; BAHNEMANN, D.; HENGLEIN, A. Photochemistry of Colloidal Sulfides. 3. Photoelectron Emission from CdS and CdS-ZnS Co-Colloids. **J. Phys. Chem.**, v. 86, n. 6, p. 4656–4657, 1982.

ALI, A. *et al. Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) biting deterrence: structure-activity relationship of saturated and unsaturated fatty acids. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 6, p. 1370–8, 2012.

BALLOU, B. *et al.* Noninvasive Imaging of Quantum Dots in Mice. **Bioconjugate Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 79–86, 2004.

BARATA, E. A. M. F. *et al.* População de *Aedes aegypti* (l.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, p. 237–242, 2001.

BARRETO, C. F. *et al.* Estudo Das Alterações Morfo-Histológicas Submetidas Ao Extrato Bruto Etanólico De. **Revista De Patologia Tropical**, v. 35, n. 1, p. 37–57, 2006.

BHATT, S. *et al.* The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504–7, 2013.

BOENEMAN, K. *et al.* Quantum Dots and Fluorescent Protein FRET-Based Biosensors. In: **Nano-Biotechnology for Biomedical and Diagnostic Research**. [s.l: s.n.]. v. 733p. 97–114.

BRADY, O. J. *et al.* Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, 2012.

BRUCHEZ, M. *et al.* Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. **Science (New York, N.Y.)**, v. 281, n. 5385, p. 2013–2016, 1998.

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

CECÍLIO, A. B. *et al.* Natural vertical transmission by Stegomyia albopicta as dengue vector in Brazil. **Brazilian journal of biology - Revista brasleira de biologia**, v. 69, n. 1, p. 123–127, 2009.

CHAN, W. C.; NIE, S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. **Science (New York, N.Y.)**, v. 281, n. 5385, p. 2016–2018, 1998.

CHENG, S.-S. *et al.* Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource technology**, v. 89, n. 1, p. 99–102, 2003.

CHO, S. J. *et al.* Long-Term Exposure to CdTe Quantum Dots Causes Functional Impairments in Live Cells Long-Term Exposure to CdTe Quantum Dots Causes Functional Impairments in Live Cells. **Langmuir**, n. 16, p. 1974–1980, 2007.

CLARK, T. M.; FLIS, B. J.; REMOLD, S. K. pH tolerances and regulatory abilities of freshwater and euryhaline Aedine mosquito larvae. **The Journal of experimental biology**, v. 207, n. Pt 13, p. 2297–2304, 2004.

CLINE, R. E. Lethal Effects of Aqueous Formulations Containing Fatty Amines. **Journal of economic entomology**, v. 65, 1972.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. DE. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. [s.l.] SciELO - Editora FIOCRUZ, 1994.

DAGTEPE, P.; CHIKAN, V. Effect of Cd/Te ratio on the formation of CdTe magic-sized quantum dots during aggregation. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 112, n. 39, p. 9304–9311, 2008.

DE FIGUEIREDO, M. L. G. *et al.* Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. **Virology journal**, v. 7, n. Table 1, p. 152, 2010.

DHONT, J. K. G. **An Introduction to Dynamics of Colloids**. [s.l.] Elsevier, 1996.

DIAS, L. B. D. A. *et al.* Dengue: Transmissão, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento. **Medicina**, v. 43, n. 2, p. 143–152, 2010.

DRBOHLAVOVA, J. *et al.* Quantum dots - characterization, preparation and usage in biological systems. **International journal of molecular sciences**, v. 10, n. 2, p. 656–73, fev. 2009.

DUAN, H.; NIE, S. Cell-penetrating quantum dots based on multivalent and endosomolytic surface coatings. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 233, n. 16, p. 3333–3338, 2007.

DUBERTRET, B. *et al.* In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. **Science (New York, N.Y.)**, v. 298, n. 5599, p. 1759–1762, 2002.

EKIMOV, A. I.; EFROS, A. L.; ONUSHCHENKO, A. A. Quantum size effect in semiconductor microcrystals. **Solid State Communications**, v. 56, n. 11, p. 921–924, 1985.

ERIKSSON, S. *et al.* Binding of 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) to AT regions of DNA: evidence for an allosteric conformational change. **Biochemistry**, v. 32, n. 12, p. 2987–2998, 1993.

FINNEY. **Probit Analysis**. 3rd editio ed.[s.l.] Cambridge, UK, 1971.

FIOCRUZ. Manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório. 2007.

FLORES, S. C. *et al.* The effects of hofmeister cations at negatively charged hydrophilic surfaces. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 9, p. 5730–5734, 2012.

FORATTINI, O. P. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. [s.l: s.n.]. v. 11

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia Vol. 2**. [s.l: s.n.].

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

GAPONENKO, S. V. **Optical Properties of Semiconductor Nanocrystals**. 2. ed. [s.l: s.n.].

GAPONIK, N. *et al.* Thiol-capping of CDTe nanocrystals: An alternative to organometallic synthetic routes. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 29, p. 7177–7185, 2002.

GE, C. *et al.* Facile synthesis and application of highly luminescent CdTe quantum dots with an electrogenerated precursor. **Chemical communications (Cambridge, England)**, n. 4, p. 450–452, 2008.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 3, p. 480–96, jul. 1998.

HÄRD, T.; FAN, P.; KEARNS, D. R. A fluorescence study of the binding of Hoechst 33258 and DAPI to halogenated DNAs. **Photochemistry and photobiology**, v. 51, n. 1, p. 77–86, 1990.

HOLZWARTH, U.; GIBSON, N. The Scherrer equation versus the "Debye-Scherrer equation". **Nature nanotechnology**, v. 6, n. 9, p. 534, 2011.

HYUN, B. R. *et al.* Near-infrared fluorescence imaging with water-soluble lead salt quantum dots. **Journal of physical chemistry B**, v. 111, n. 20, p. 5726–5730, 2007.

ISON, V. V.; RAO, A. R.; DUTTA, V. Characterization of spray deposited CdTe films grown under different ambient conditions. **Solid State Sciences**, v. 11, n. 11, p. 2003–2007, 2009.
JAMIESON, T. *et al.* Biological applications of quantum dots. **Biomaterials**, v. 28, n. 31, p. 4717–4732, 2007.

JARES-ERIJMAN, E. A.; JOVIN, T. M. Imaging molecular interactions in living cells by FRET microscopy. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, n. 5, p. 409–416, 2006.
JIN, S. *et al.* Application of Quantum Dots in Biological Imaging. **Journal of Nanomaterials**, v. 2011, p. 1–13, 2011.

KARTHIKEYAN, J. *et al.* Larvicidal and antibacterial efficacy of green synthesised silver nanoparticles using Melia Dubia. **Internacional Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 7, p. 395–399, 2014.

KERMAN, K. *et al.* Quantum dot-based immunosensor for the detection of prostate-specific antigen using fluorescence microscopy. **Talanta**, v. 71, n. 4, p. 1494–1499, 2007.

KOVALENKO, M. V. *et al.* Colloidal HgTe nanocrystals with widely tunable narrow band gap energies: From telecommunications to molecular vibrations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 11, p. 3516–3517, 2006.

LI, H.; SHIH, W. Y.; SHIH, W. H. Synthesis and characterization of aqueous carboxyl-capped CdS quantum dots for bioapplications. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 46, n. 7, p. 2013–2019, 2007.

LI, H.; SHIH, W. Y.; SHIH, W. H. Highly photoluminescent and stable aqueous ZnS quantum dots. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 2, p. 578–582, 2010.

LI, L.; QIAN, H.; REN, J. Rapid synthesis of highly luminescent CdTe nanocrystals in the aqueous phase by microwave irradiation with controllable temperature. **Chemical communications**, n. 4, p. 528–530, 2005.

LI, S.; ZHAO, H.; TIAN, D. Aqueous synthesis of highly monodispersed thiol-capped CdSe quantum dots based on the electrochemical method. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 16, n. 1, p. 149–153, 2013.

LIU, Y. F.; YU, J. S. Selective synthesis of CdTe and high luminescence CdTe/CdS quantum dots: The effect of ligands. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 333, n. 2, p. 690–698, 2009.

MANSUR, H. S. Quantum dots and nanocomposites. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 2, n. 2, p. 113–129, 2010.

MARSH, J. N. *et al.* Molecular Imaging With Targeted Perfluorocarbon Nanoparticles: Quantification of the Concentration Dependence of Contrast Enhancement for Binding to Sparse Cellular Epitopes. **Ultrasound in Medicine and Biology**, v. 33, n. 6, p. 950–958, 2007.

MARTINS, V. E. P. *et al.* Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. **Plos One**, v. 7, n. 7, p. 1–9, 2012.

MARZOCHI, K. B. F. Dengue in Brazil - situation, transmission and control: a proposal for ecological control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 2, p. 235–245, jun. 1994.

MAYER, L. E. *et al.* Evaluation of bacterial growth inhibition by mercaptopropionic acid in metallo-β-lactamase detection on multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 2, p. 253–254, abr. 2012.

MEDINTZ, I. L. *et al.* Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. **Nature materials**, v. 4, n. 6, p. 435–446, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dengue: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dengue. p. 1–22, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância em Saúde: dengue, esquistossomose, hanseníase, malária, tracoma e tuberculose.** 2ª. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Levantamento rápido de índices para *Aedes aegypti* – LIRAa – para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil. p. 84, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de dengue e febre de chikungunya até a Semana Epidemiológica 6, 2015. **Boletim Epidemiológico**, v. 46, n. 7, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. Nova classificação de caso de Dengue - OMS. 2014.

MORRISON, M. A.; ESTLE, T. L.; LANE, N. F. **Quantum States of Atoms, Molecules, and Solids**. [s.l.] Pearson Education Canada, 1976.

MURRAY, C. B.; KAGAN, C. R.; BAWENDI, M. G. Synthesis and characterization of monodisperse nanocrystals and close-packed nanocrystal assemblies. p. 545–610, 2000.

MURRAY, C. B.; NORRIS, D. J.; BAWENDI, M. G. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 19, p. 8706–8715, set. 1993.

MYERS, R. J. Second dissociation constant of H2Te and the absorption spectra of HTe-, Te2- and Te2 2- in aqueous solution. **Journal of Solution Chemistry**, v. 36, n. 3, p. 395–403, 2007.

NAVARRO, D. M. A. F. *et al.* The potential attractant or repellent effects of different water types on oviposition in *Aedes aegypti* L. (Dipt., Culicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 127, n. 1, p. 46–50, 2003.

OLIVEIRA, V. S. *et al.* The enzyme 3-hydroxykynurenine transaminase as potential target for 1,2,4-oxadiazoles with larvicide activity against the dengue vector *Aedes aegypti*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 22, p. 6996–7003, 2013.

OLSSON, D. C. *et al.* Marcadores fluorescentes coloidais: conceitos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1043–1050, 2011.

PAN, Z. *et al.* High-efficiency “green” quantum dot solar cells. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 25, p. 9203–9210, 2014.

PATIL, C. D. *et al.* Larvicidal activity of silver nanoparticles synthesized using Plumeria rubra plant latex against *Aedes aegypti* and Anopheles stephensi. **Parasitology Research**, v. 110, n. 5, p. 1815–1822, 2012.

RAMOS, M. V. *et al.* Potential of laticifer fluids for inhibiting *Aedes aegypti* larval development: Evidence for the involvement of proteolytic activity. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 6, p. 805–812, 2009.

RESCH-GENGER, U. *et al.* Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. **Nature methods**, v. 5, n. 9, p. 763–775, 2008.

RIBEIRO, R. *et al.* Electrochemical synthetic route for preparation of CdTe quantum-dots stabilized by positively or negatively charged ligands. **Green Chemistry**, v. 15, p. 1061–1066, 2013.

ROGACH, A. L. *et al.* Synthesis and Characterization of a Size Series of Extremely Small Thiol-Stabilized CdSe Nanocrystals. **J. Phys. Chem.**, p. 3065–3069, 1999.

SANTANA, H. T. *et al.* Essential oils of leaves of Piper species display larvicidal activity against the dengue vector , *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 17, p. 105–111, 2015.

SANTOS, B. S. *et al.* Semiconductor nanocrystals obtained by colloidal chemistry for biological applications. **Applied Surface Science**, v. 255, n. 3, p. 796–798, 2008.
SCHÄFER, H. J. Contributions of organic electrosynthesis to green chemistry. **Comptes Rendus Chimie**, v. 14, n. 7-8, p. 745–765, 2011.

SCHMID, G. **Nanoparticles: From Theory to Application**. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003.

SILVA, J. B. P. *et al.* Thiosemicarbazones as *Aedes aegypti* larvicidal. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 100, p. 162–175, 2015.

SIMAS, N. K. *et al.* Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue - Atividade larvicida de Myroxylon balsamum (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Quimica Nova**, v. 27, n. 1, p. 46–49, 2004.

SIMBERG, D. *et al.* Biomimetic amplification of nanoparticle homing to tumors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 3, p. 932–936, 2007.

SRINIVASAN, K.; PAINTER, O. Linear and nonlinear optical spectroscopy of a strongly coupled microdisk-quantum dot system. **Nature**, v. 450, n. 7171, p. 862–865, 2007.

SUMNER, J. P.; KOPELMAN, R. Alexa Fluor 488 as an iron sensing molecule and its application in PEBBLE nanosensors. **The Analyst**, v. 130, n. 4, p. 528–533, 2005.
SWART, J. W. **Semicondutores: Fundamentos, Técnicas e Aplicações**. [s.l.] UNICAMP, 2008.

SZENT-GYORGYI, C. *et al.* Fluorogen-activating single-chain antibodies for imaging cell surface proteins. **Nature biotechnology**, v. 26, n. 2, p. 235–240, 2008.

TADJARODI, A.; IMANI, M. A novel nanostructure of cadmium oxide synthesized by mechanochemical method. **Materials Research Bulletin**, v. 46, n. 11, p. 1949–1954, 2011.

WANG, Y.; CHEN, L. Quantum dots, lighting up the research and development of nanomedicine. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 7, n. 4, p. 385–402, 2011.

WENG, K. C. *et al.* Targeted tumor cell internalization and imaging of multifunctional quantum dot-conjugated immunoliposomes in vitro and in vivo. **Nano Letters**, v. 8, n. 9, p. 2851–2857, 2008.

WHO. **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides.** Geneva: WHO, 1981.

WHO. **Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control**. [s.l.] World Health Organization, 2009.

WHO. **Dengue and severe dengue**. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>. Acesso em: 15 ago. 2015.

WU, X. *et al.* Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. **Nature biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 41–46, 2003.
XING, Y.; RAO, J. Quantum dot bioconjugates for in vitro diagnostics & in vivo imaging. **Cancer Biomarkers**, v. 4, p. 307–319, 2008.

YONG, K. T. *et al.* Tumor targeting and imaging in live animals with functionalized semiconductor quantum rods. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 1, n. 3, p. 710–719, 2009.

YU, W. W. *et al.* Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe , CdSe , and CdS Nanocrystals Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe , CdSe , and CdS Nanocrystals. **Chemistry of Materials**, v. 125, n. 17, p. 2854–2860, 2003.

ZHANG, H. *et al.* Hydrothermal Synthesis for High-Quality CDTe Nanocrystals. **Advanced Materials**, v. 15, n. 20, p. 1712–1715, 2003.

ZHAO, D. *et al.* Synthesis and Characterization of High-Quality Water-Soluble Near-Infrared-Emitting CdTe / CdS Quantum Dots Capped by N-Acetyl- L -cysteine Via Hydrothermal Method. **J. Phys. Chem. C**, v. 113, p. 1293–1300, 2009.

ZHAO, Q. *et al.* Aqueous synthesis of CdSe and CdSe/CdS quantum dots with controllable introduction of Se and S sources. **Journal of Materials Science**, v. 48, n. 5, p. 2135–2141, 2013.

ZHAO, X. *et al.* Mn-doped ZnS quantum dots with a 3-mercaptopropionic acid assembly as a ratiometric fluorescence probe for the determination of curcumin. **RSC Advance**, v. 5, n. 28, p. 21504–21510, 2015.