



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Departamento de Química Fundamental

Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

Frederico Duarte de Menezes

Recife-PE, Brasil

Agosto/2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Departamento de Química Fundamental

Programa de Pós-Graduação em Química

**Desenvolvimento de uma nova metodologia para a detecção de
pesticidas aromáticos em meio aquoso, utilizando β -
ciclodextrinas e quantum dots de CdTe incorporados em
hidrogéis de agarose.**

Frederico Duarte de Menezes

**Tese apresentada ao Programa de
Pós- Graduação em Química da UFPE
como parte dos requisitos necessários
para a obtenção do título de Doutor em
Química.**

Orientador: Prof. Severino Alves Júnior.

Co-orientador: Prof. André Galembeck.

Recife-PE, Brasil

Agosto/2011

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc L. Salvador, CRB 4-572

Menezes, Frederico Duarte de.

Desenvolvimento de uma nova metodologia para a detecção de pesticidas aromáticos em meio aquoso, utilizando β -ciclodextrinas e quantum dots de CdTe incorporados em hidrógels de agarose / Frederico Duarte de Menezes. - Recife: O Autor, 2011.

ix, 79 f.: fig. tab.

Orientador: Severino Alves Júnior.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química Fundamental, 2011.

Inclui bibliografia e apêndice.

1.Colóides. 2.Nanopartículas. 3.Semicondutores.
4.Pesticidas. I.Alves Júnior, Severino (orientador).
II. Título.

541.345 (22. ed.)

FQ 2011-047

Tese submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

Aprovado:

Prof.^o Severino Alves Júnior (Orientador)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dulce Maria de Araújo Melo
Departamento de Química
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof.^a Dalci José Brandani
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^o Ricardo Oliveira da Silva
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^o Marcelo Oliveira Rodrigues
Instituto de Química
Universidade de Brasília

"Desenvolvimento de uma Nova Metodologia para a Detecção de Pesticidas Aromáticos em Meio Aquoso, Utilizando β -ciclodextrinas e quantum dots de CdTe incorporados em Hidrogéis de Agarose"

Por

Frederico Duarte de Menezes

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife -PE- Brasil
23 de Setembro de 2011

**“Qual o valor do conhecimento se nos preocuparmos em não
compartilhá-lo?”**

À minha mãe, porque só sendo mãe pra me agüentar de vez em quando...

Agradecimentos

Como sempre, agradeço primeiramente a Deus, sem classificação por religião, por ter me permitido superar mais esse degrau da minha vida.

Ao meu orientador Júnior, que me aceitou de olhos fechados e depositou uma grande confiança em mim. Obrigado.

Ao professor André Galembeck que me deu total apoio para o desenvolvimento dos meus trabalhos em seu laboratório. Terei sempre uma dívida de gratidão com o senhor.

À minha filha Antônia, que ainda está chegando, mas já mudou a minha vida. Sem ela, finalizar esse trabalho seria uma tarefa um pouco mais árdua.

À minha família: Dona Nilza, meu irmão “amigo”.

À mulher que vem me acompanhando, não sei pra onde e até quando, me dando força como ela nem imagina. Te amo e obrigado por me amar Juli.

À minha ninhada de sobrinhos: Bia, Clara e Heitor. E minha cunhada, Ale.

A Márcio Vilar, meu irmão de dificuldades e vitórias. É raro ter amigos como você.

A André Câmara, meu brother de idéias, cervejadas filosóficas e projetos no gerúndio.

À galera do CHICO: Rodrigo “muchila” (mais amigo do que imagina), Euzébio (didi mocó), Macarrão, Débora e Fernanda. Turma boa essa aí.

A todos os meus colegas técnicos do DQF: Eliete, Érida, Elias e Celso.

Aos meus novos, porém não menos importantes amigos: Raquel, Daniel e Ana Cláudia.

A minha sempre amiga Clau Chaves.

A professora Beate Santos, por ter me ensinado a caminhar com minhas próprias pernas.

Ao CNPq pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste trabalho.

Obrigado a todos!!

Sumário

CAPÍTULO 1- Introdução	1
1.1 - Pesticidas: uma breve introdução.....	1
1.2 – Pesticidas organofosforados: estudo do clorpirifós.....	2
1.3 - Sensores aplicados a detecção de pesticidas	4
1.4 - Pontos quânticos: propriedades e efeito de confinamento quântico.....	6
1.4.1 – Confinamento quântico	8
1.5 - Ciclodextrina: Fundamentos e Aplicações.....	12
1.5.1 – Complexos de inclusão e ciclodextrinas.....	14
1.6 - Hipótese a ser verificada na Tese:	16
1.7 - Bibliografia.....	17
CAPÍTULO 2 - Nova metodologia de obtenção de Qds de CdTe em meio aquoso, obtidos através do uso de ultrassom.....	20
2.1 - Introdução.....	20
2.1.1 - Processos químicos assistidos por ultrassom.....	22
2.2 - Proposta	24
2.3 - Metodologia experimental.....	24
2.3.1 - Reagentes:.....	24
2.3.2 - Processo de redução de telúrio sob ação de ultrassom de alta frequência:	24
2.3.4 - Síntese dos Qds de CdTe:.....	25
2.3.5 - Crescimento controlado dos Qds em condições hidrotérmicas, utilizando microondas:.....	26
2.3.6 - Caracterização dos Qds obtidos:	26
2.4 - Resultados e Discussão	27
2.5 - Conclusão.....	36
2.6 - Bibliografia.....	37

CAPÍTULO 3 – Análise do comportamento de Qds de CdTe incorporados em hidrogéis de agarose.....	40
3.1 – Introdução.....	40
3.2 - Proposta.....	43
3.3 – Metodologia experimental:.....	43
3.3.1 – Reagentes:.....	43
3.3.2 – Preparação dos hidrogéis contendo Qds de CdTe:	43
3.3.3 – Estudos de fotoestabilidade dos Qds incorporados ao hidrogéis:	44
3.3.4 – Estudos de difusão dos Qds através de hidrogéis com diferentes concentrações de agarose:	44
3.3.4 – Caracterização Espectroscópica dos hidrogéis:.....	45
3.4 – Resultados e Discussão:	46
3.5 – Conclusão:.....	53
3.6 - Bibliografia.....	54
CAPÍTULO 4 – Detecção de clorpirifos em meio aquoso, utilizando Qds e β -CD imersos em hidrogel de agarose.	56
4.1 – Introdução.....	56
4.2 - Proposta.....	58
4.3 - Metodologia Experimental:	58
4.3.1 - Reagentes:.....	58
4.3.2 - Confecção dos experimentos:.....	59
4.3.2.1 – Estudo da complexação do CPF com β -CD em meio aquoso:	59
4.3.2.2 - Detecção em solução aquosa:.....	59
4.3.2.3 - Detecção em hidrogéis de agarose:.....	60
4.3.3 - Caracterização espectroscópica das amostras:.....	61
4.4 - Resultados e Discussão:	61
4.5 – Conclusão.....	72
4.6 - Bibliografia.....	74
CAPÍTULO 5 – Conclusões e perspectivas.....	76
Apêndices – Artigos Publicados e Participações em Eventos durante o período de Doutorado.....	78

Artigos Publicados:	78
Trabalhos em Congresso:.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 – Estrutura molecular do pesticida clorpirifós	3
Figura 1.2 - Esquema do sensor baseado em quantum dots e calixarenos	5
Figura 1.3 - Geração do confinamento quântico	8
Figura 1.4 – Ilustração do processo de criação de um éxciton, através da promoção de um elétron (e-) da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC), com o surgimento de um buraco (h+).	9
Figura 1.5 - Representação bidimensional (acima) e tridimensional (abaixo) da β -ciclodextrina	13
Figura 2.1 – Viraria conectada a sonda de irradiação por ultrassom	25
Figura 2.2 – Micrografias de MEV de grãos de telúrio antes (A) e após a irradiação (B) com ultrassom. A amplificação das imagens é de X 10.000.	28
Figura 2.3 – Espectro de absorbância dos Qds de CdTe em meio aquoso	29
Figura 2.4 – Espectros de fluorescência e excitação da suspensão de Qds obtidas após a síntese.	31
Figura 2.5– Emissões das amostras tratadas termicamente em condições hidrotermais.	32
Figura 2.6– Espectros de absorbâncias de Qds de CdTe não tratados e tratados com microondas	33
Figura 2.7 - Espectros de fluorescência de Qds de CdTe não tratados e tratados com microondas	34
Figura 2.8– Micrografia de MET dos Qds de CdTe. Imagem de alta resolução de uma nanopartícula de CdTe (destaque).	35
Figura 2.9 – Difratoograma de Raio-X de pó das nanopartículas de CdTe sinetizadas	36
Figura 3.1 – Espectros de fluorescência das amostras de Qds de CdTe livres e incorporados em hidrogéis de agarose	47
Figura 3.2 - Espectros de fluorescência corrigidos das amostras de Qds de CdTe livres e incorporados em hidrogéis de agarose	47

Figura 3.3 – Curvas de intensidade das amostras de Qds expostas a uma excitação constante durante duas horas.....	49
Figura 3.4 – Imagens dos hidrogéis analisados. Da esquerda para direita: hidrogéis recém preparados e sob luz ambiente e hidrogéis sob luz UV após 1, 24 e 48 horas do preparo, respectivamente	51
Figura 3.5 – Espectros de fluorescência das amostras Gel 1 e Gel 2 após 1, 24 e 48 horas após o preparo dos hidrogéis	51
Figura 4.1 – Possíveis alterações espectroscópicas de nanopartículas modificadas com ciclodextrinas: (a) fluorescência natural de uma nanopartícula na ausência de analito; (b) Aumento ou supressão da fluorescência podem ocorrer na presença do analito complexado.....	57
Figura 4.2 – Espectros de absorbância da solução de CPF, com diferentes concentrações de β -CD.....	62
Figura 4.3 – Aumento na intensidade da banda de absorbância relacionada os grupo piridínico do pesticida, em diferentes concentrações de β -CD.....	63
Figura 4.4 – Dados experimentais e ajuste linear da relação entre o recíproco de $[\beta\text{-CD}]$ com o recíproco da variação de absorbância das amostras	64
Figura 4.5 – Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe na presença de diferentes concentrações de CPF e na ausência de β -CD.....	66
Figura 4.6 - Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe na presença de diferentes concentrações de CPF e na presença de β -CD	66
Figura 4.7 – Valores dos máximos de intensidade nas emissões das amostras em suspensão	67
Figura 4.8 - Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe, incorporados em hidrogéis de agarose, na presença de diferentes concentrações de CPF e na ausência de β -CD.....	69
Figura 4.9 - Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe, incorporados em hidrogéis de agarose, na presença de diferentes concentrações de CPF e na presença de β -CD	69
Figura 4.10 - Valores dos máximos de intensidade nas emissões das amostras incorporadas nos hidrogéis.....	70

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 – Propriedades gerais de ciclodextrinas nativas.....	13
Tabela 2.1 – Condições hidrotermais utilizadas para o crescimento dos Qds de CdTe	26

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CPF – Clorpirifós

LMR – Limite máximo residual

Qds – *Quantum dots*

NCs – Nanocristais

Eg – *band gap*

BV – Banda de valência

BC – Banda de condução

CDs - Ciclodextrinas

CdS – Sulfeto de Cádmio

CdSe – Seleneto de Cádmio

CdTe – Telureto de Cádmio

NaBH₄ – Borohidreto de sódio

MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

DRX – Difração de Raios-X

UV-vis – Ultravioleta visível

RESUMO

Os organofosforados caracterizam-se como uma classe importante de pesticidas, atuando como inibidores da atividade enzimática da acetil colinesterase (AChE). Dentre os organofosforados de uso permitido no Brasil, destacamos o clorpirifós (CPF).

Neste trabalho, desenvolveu-se novas metodologias para a obtenção de Qds de CdTe, em meio aquoso, utilizando-se ultrassom de alta potência para acelerar o processo de obtenção dos NCs. Em seguida, os Qds obtidos foram incorporados em hidrogéis de agarose, para avaliação do comportamento de suas propriedades espectroscópicas em diferentes concentrações do polissacarídeo desta matriz. Por fim, avaliou-se a capacidade de detecção dos Qds de CdTe incorporados em hidrogéis de agarose a 0,50 % (m/v), na presença de diferentes concentrações de CPF (0.1, 0.5 e 1.0 ppm), complexados nas cavidades de moléculas de β -CD.

As amostras de Qds sintetizadas foram caracterizadas estruturalmente e espectroscopicamente pelas técnicas de MET e DRX (estrutural) e Absorbância UV-vis e espectroscopia de fluorescência e excitação. As amostras incorporadas nos hidrogéis de agarose e os experimentos de detecção dos pesticidas foram caracterizados por espectroscopia de fluorescência.

Os resultados obtidos mostraram a viabilidade das metodologias desenvolvidas, tanto para a obtenção dos Qds com tamanho médio abaixo de 5 nm e com boa fluorescência e fotoestabilidade, quanto para a detecção dos pesticidas em meio aquoso, comprovando que é possível o desenvolvimento de sensores baseados em Qds e ciclodextrinas, sem a necessidade de processos complicados de conjugação covalente entre estes compostos, para a aplicação na detecção de CPF em concentrações abaixo de 1 ppm, em meio aquoso.

Palavras chave: nanopartículas, CdTe, *quantum dots*, pesticidas, hidrogéis, ciclodextrinas.

ABSTRACT

Organophosphates are characterized as an important class of pesticides, acting as inhibitors of the enzymatic activity of acetylcholinesterase (AChE). Among the permitted use of organophosphates in Brazil, we highlight the chlorpyrifos (CPF).

In this work, we developed new methods for obtaining CdTe QDs in aqueous medium, using high power ultrasound to accelerate the process of obtaining the QDs. Then the QDs obtained so embedded in agarose hydrogels to evaluate the behavior of their spectroscopic properties in different concentrations of the polysaccharide matrix. Finally, we evaluated the detection ability of CdTe QDs embedded in agarose hydrogel 0.50% (w/v) in the presence of different concentrations of CPF (0.1, 0.5 and 1.0 ppm), complexed in the cavity of β -CD molecules.

QDs synthesized samples were characterized spectroscopically and structurally by TEM and XRD techniques (structural) and UV-vis absorbance and fluorescence spectroscopy and excitation. The samples embedded in agarose hydrogels and pesticide detection experiments were characterized by fluorescence spectroscopy.

The results showed the feasibility of the methodologies developed, both to obtain the QDs with an average size below 5 nm and good fluorescence and photostability, and for the detection of pesticides in water, proving that it is possible to develop sensors based on QDs and cyclodextrins, without the need for complicated processes covalent conjugation between these compounds for the application in the detection of CPF concentrations below 1 ppm in water.

Keywords: nanoparticles, CdTe, quantum dots, pesticides, hydrogels, cyclodextrins.

CAPÍTULO 1- Introdução

1.1 - Pesticidas: uma breve introdução

Pesticidas podem ser definidos como substâncias sintéticas ou naturais, utilizadas para controlar ou destruir pragas que possam ocasionar prejuízos à produção de alimentos ou produtos de origem vegetal, sendo por isso de suma importância para a agricultura mundial [1]. No que diz respeito ao termo “pragas”, este pode ser relacionado a fungos, vírus, insetos, plantas parasitas, etc. que se alimentem e/ou causem patologias a plantas e, conseqüentemente, inviabilizem o consumo de produtos oriundos da agricultura.

O termo pesticida engloba uma vasta classe de substâncias, que são subdivididas em: inseticidas, fungicidas, bactericidas, herbicidas e etc. Por sua vez, cada subdivisão dos pesticidas é representada por uma vasta quantidade de classes de compostos orgânicos, onde podemos destacar: organofosforados, organoclorados, carbamatos e tiocarbamatos, dentre tantos outros [2,3].

Devido a sua vasta utilização nos mais diversos cultivos agrícolas os pesticidas situam-se como um dos principais elementos tóxicos ambientais e ocupacionais no mundo. Isto ocorre, principalmente, devido ao uso indiscriminado destas substâncias, aliado a deficientes fiscalizações quanto ao seu uso e descarte no ambiente e monitoramento da contaminação ambiental.

De uma forma geral, os pesticidas caracterizam-se por um elevado tempo de meia vida no ambiente. Ou seja, após a sua aplicação em cultivos agrícolas, estes se mantêm ativos por um tempo maior do que o do cultivo dos alimentos. Isto ocasiona um acúmulo crescente destas substâncias no ambiente, resultando em concentrações tóxicas de resíduos, que são consumidos por diversos seres vivos, até chegar ao homem [1]. Além disso, a grande maioria dos pesticidas se caracteriza por possuir uma considerável lipossolubilidade, o que facilita a absorção rápida destes compostos, quando em contato com a pele e mucosas [1, 2, 4]. Estas características justificam um maior controle, conscientização e

monitoramento rigoroso do manuseio e dos resíduos oriundos da utilização dos pesticidas no mundo.

A contaminação dos humanos pode ocorrer de forma direta, durante o manejo incorreto dos pesticidas durante sua aplicação, ou de forma indireta, através de ingestão de alimentos contaminados com estas substâncias. No primeiro caso, os sintomas ocasionados pela intoxicação são perceptíveis em um curto espaço de tempo, visto que o acúmulo de pesticidas no organismo se dá de forma acelerada, atingindo níveis tóxicos em pouco tempo, caracterizando-se normalmente em quadros de intoxicação aguda. Este tipo de contaminação se restringe aos indivíduos que trabalham diretamente com os pesticidas, como os pequenos agricultores, por exemplo. No segundo caso, que atinge em maior grau toda população, os sintomas normalmente só são percebidos após décadas de contaminação ou, em vários casos, nunca detectados. Por isso, caracterizam-se como intoxicações crônicas. Os danos causados pelas intoxicações agudas ou crônicas de pesticidas estão intimamente relacionados com o mecanismo de ação toxicodinâmico de cada tipo de pesticida [1].

1.2 – Pesticidas organofosforados: estudo do clorpirifós.

Os organofosforados caracterizam-se como uma classe importante de pesticidas, atuando como inibidores da atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE). A acetilcolinesterase caracteriza-se como uma enzima capaz de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina, que atua em vários processos farmacológicos no sistema nervoso central de vários organismos. Neste caso, os principais efeitos toxicológicos de contaminações agudas por estes pesticidas são: miose acentuada, diminuição da visão, náuseas, vômitos, cólicas abdominais; após a absorção pela pele, temos o surgimento de sudorese, salivação excessiva, hipotensão e bradicardia; por fim, as ações mais sistêmicas caracterizam-se por fadiga muscular generalizada, contrações involuntárias, ataxia, perda de reflexos, convulsões generalizadas, coma e paralisia respiratória central [1,4].

Dentre os organofosforados de uso permitido no Brasil, destacamos o clorpirifós (CPF). Este organofosforado, cuja estrutura molecular encontra-se exibida na Figura 1.1, é classificado como inseticida, formicida e acaricida, segundo monografia da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) [5]. Segundo a mesma monografia, o CPF é pode ser utilizado na aplicação foliar nas culturas de algodão, batata, café, cevada, citros, feijão, maçã, milho, pastagem, soja, sorgo, tomate e trigo. Além dessas aplicações, ainda pode ser utilizado no solo nas culturas de batata e milho.

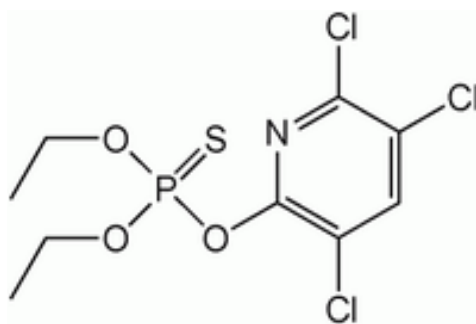


Figura 1.1 – Estrutura molecular do pesticida clorpirifós.

A sua ingestão diária aceitável é de 0,01 mg/Kg de peso corporal, o que pode ser expresso como 0,01 ppm (m/m) de peso corporal. Contudo, para muitas culturas agrícolas nas quais é permitido o uso do CPF, os valores do limite máximo residual (LMR) deste pesticida pode chegar a valores permitidos de até 2,0 mg/Kg de peso dos produtos agrícolas [5]. Logo, estes valores demonstram que não é difícil atingir valores superiores ao limite de ingestão diária aceitável, devido ao consumo de alimentos contaminados com este pesticida, juntamente com o consumo de fontes de água contaminadas, tendo em vista que embora o CPF tenha uma elevada lipossolubilidade, o valor de sua solubilidade em água (1 mg/L) [6].

Desta forma, fica clara a importância do desenvolvimento de metodologias de detecção deste pesticida em concentrações da ordem de partes por milhão (mg/Kg) em amostras sólidas e em meio aquoso, com o objetivo de identificar e,

principalmente, reduzir o consumo de alimentos e fontes de água contaminadas por parte de animais e seres humanos.

1.3 - Sensores aplicados a detecção de pesticidas

O termo sensor pode ser definido como um dispositivo ou sistema capaz de responder a um estímulo físico ou químico, para produzir um sinal detectável, qualitativamente ou quantitativamente, referente a este estímulo [7]. Dentro desta definição, temos que os sensores classificados como quimiosensores são aqueles capazes de reconhecer e responder a presença de compostos químicos que denominaremos de analitos [8]. No contexto de riscos ocasionados pela exposição direta ou indireta a pesticidas, vários grupos de pesquisa no mundo vem desenvolvendo quimiosensores capazes de identificar e quantificar quantidades ínfimas de pesticidas em diferentes tipos de amostras [3,7-15]. Cada trabalho desenvolvido nesta área baseia-se em diferentes tipos de tecnologias para a detecção dos pesticidas. Porém, em sua grande maioria, os sensores desenvolvidos utilizam a especificidade de enzimas imobilizadas para a complexação seletiva com determinados pesticidas. Neste caso, a grande maioria dos trabalhos utilizam colinesterases imobilizadas sobre materiais sensores, para a detecção e quantificação de organofosforados [3,7,11,12], um dos pesticidas mais utilizados mundialmente.

Nos últimos anos, alguns grupos de pesquisa vêm desenvolvendo metodologias para a detecção de pesticidas organofosforados utilizando sensores baseados em nanopartículas de semicondutores (ver descrição mais detalhada na próxima seção) conjugadas a enzimas capazes de interagir especificamente com estes tipos de moléculas [16-18]. O que todos os trabalhos citados possuem em comum é a utilização de enzimas imobilizadas aos sensores para permitir a especificidade de reconhecimento dos analitos desejados. Contudo, a imobilização de enzimas é um trabalho relativamente complexo, tendo em vista que a formação de novas ligações covalentes pode modificar a conformação da estruturas destas proteínas, o que pode resultar na sua inativação e perda de função. Além disso, em determinadas condições de aplicação, a obtenção de amostras de enzimas

com alto grau de pureza possui um custo razoável, o que acarreta no encarecimento do custo de produção dos sensores que utilizam estas enzimas.

Em 2007, Li e Qu [15] publicaram resultados mostrando a aplicação de um sistema utilizando *quantum dots* de CdTe, combinados com calixarenos (no caso em questão foram utilizados os calixarenos do tipo C[4]) [19] (Figura 1.2), para a detecção de pesticidas, o que indica a viabilidade de utilização de outros sistema baseados em nanopartículas de semicondutores, sem a presença de enzimas, no desenvolvimento destes sensores para a análise deste tipo de contaminante ambiental.

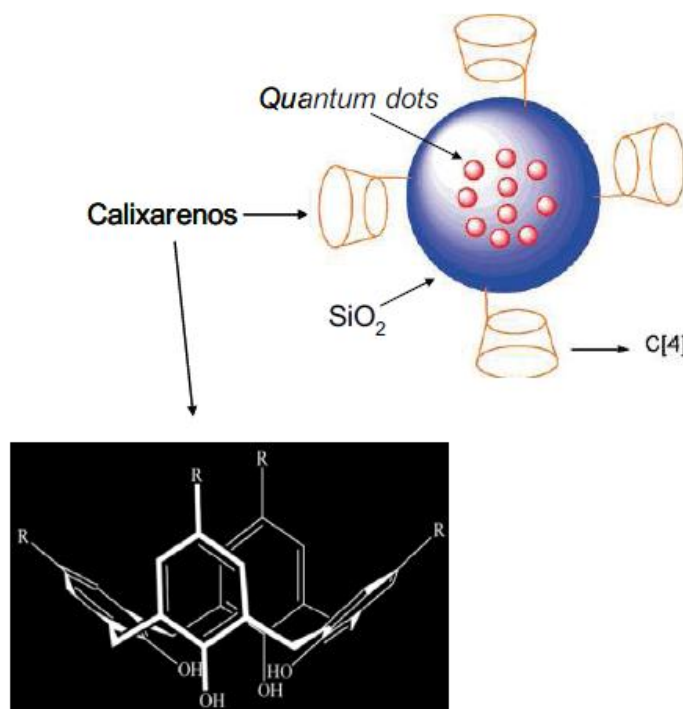


Figura 1.2 - Esquema do sensor baseado em quantum dots e calixarenos [15].

1.4 - Pontos quânticos: propriedades e efeito de confinamento quântico

Quantum dots (Qds) é a designação dada aos nanocristais (NCs) de semicondutores que se encontram dentro de uma faixa de tamanho dos cristalitos entre 1 e 10 nm de diâmetro médio [20-23]. Dentro desta faixa, as propriedades físico-químicas dos cristais variam com o aumento ou diminuição de suas dimensões, sendo este efeito conhecido como “efeito de confinamento quântico” [20,21,23]. Graças a este fenômeno é possível obter-se experimentalmente materiais semicondutores de mesma composição química, mas com propriedades físico-químicas distintas entre si, variando-se apenas as dimensões do material utilizado.

Como consequência, atualmente uma das grandes vertentes de estudo dos Qds é a sua aplicação como sensores químicos e biológicos [24-34]. Isto se deve principalmente às seguintes vantagens, em relação aos fluoróforos orgânicos comumente utilizados para estes tipos de estudos:

- Largo espectro de excitação, em relação aos fluoróforos orgânicos, possibilitando uma maior opção de comprimentos de onda de excitação para a promoção da luminescência dos NCs;
- Maior fotoestabilidade, permitindo que os sistemas biológicos possam ser excitados por períodos longos sem ocorrer foto-escurecimento;
- Diversas possibilidades de conjugação a biomoléculas, sem que a fotoluminescência seja significativamente suprimida, permitindo o desenvolvimento de protocolos para estudos de vários sistemas biológicos;
- Possuem estreitas bandas de fluorescência, em comparação aos fluoróforos orgânicos, possibilitando estudos com marcações de fluorescência múltipla, utilizando NCs com emissões em diferentes comprimentos de onda, sem que haja sobreposição considerável das bandas de fluorescência.

Devido ao reduzido tamanho dos *quantum dots*, o número de átomos em sua superfície é expressivo em relação aos átomos em seu interior. Com isso, a contribuição dos estados eletrônicos dos átomos de superfície na formação das bandas de valência e de condução não pode ser desprezada, ao contrário do que acontece com estas estruturas em seu estado de *bulk* [35]. Logo, espécies químicas capazes de interagir com estes átomos de superfície, acabam por interferir drasticamente nos estados eletrônicos dos Qds, sendo estas interferências passíveis de serem detectadas por técnicas de espectroscopia eletrônica de absorção e de fotoluminescência. Estas interferências podem agir basicamente por dois mecanismos: (i) aumento da eficiência de luminescência dos Qds (*enhancing*); (ii) ou diminuição desta luminescência (*quenching*).

Como a interação de pequenas quantidades de espécies químicas com a superfície dos Qds são suficientes para a geração das alterações descritas acima, experimentos que comprovam a sensibilidade destas nanopartículas em detectar compostos químicos em concentrações da ordem de nanomolar em amostras de água, são factíveis de serem realizados com certa facilidade [31].

Outra grande vantagem que justifica a utilização dos Qds como sensores químicos é a labilidade de sua superfície. Entenda-se labilidade como a capacidade de modificação química sem alterações drásticas de propriedades, sendo esta modificação restrita a um pequeno número de moléculas orgânicas e biomoléculas (proteínas, carboidratos, etc.), as quais denominamos de funcionalizantes [28]. A utilização de funcionalizantes tem por objetivo melhorar a seletividade dos Qds em interagir com determinadas substâncias de interesse, como metais pesados [31], pesticidas [33], etc. Trabalhos diversos mostram a funcionalização dos Qds com anticorpos [28], enzimas, ciclodextrinas [36,37], etc. Estas moléculas possuem uma natureza química de serem altamente seletivas de interagir com determinados compostos e, conseqüentemente, a funcionalização dos Qds com estas moléculas é capaz de aumentar a sua seletividade de detecção daqueles compostos.

1.4.1 – Confinamento quântico

Quando se encontram em dimensões macroscópicas (ou no estado de *bulk*) os materiais semicondutores cristalinos possuem suas propriedades físicas e químicas determinadas principalmente pelos átomos que compõem o núcleo do cristal (*core*), onde os átomos da superfície possuem uma menor participação para a determinação destas propriedades. Em um material no estado *bulk*, qualquer variação nas dimensões do cristal não interfere significativamente nas suas propriedades [21,23].

Entretanto, quando o número de átomos de um cristal semiconductor se reduz a algumas dezenas de milhares, seus átomos de superfície passam a fazer parte de uma fração significativa do material, participando efetivamente em suas propriedades físicas [20]. Segundo o modelo de orbitais moleculares, a redução drástica do número de átomos no cristal reduz a sobreposição dos seus orbitais moleculares, fazendo com que o rearranjo energético destes seja menor, resultando numa configuração de bandas de valência e de condução mais semelhantes à orbitais atômicos. Neste caso, o cristal obtido possui propriedades intermediárias entre o material *bulk* e os íons que o constituem. Este fenômeno é conhecido como **Confinamento Quântico** (Figura 1.3)[20,21,23,35], sendo fundamental para a aplicabilidade dos Qds.

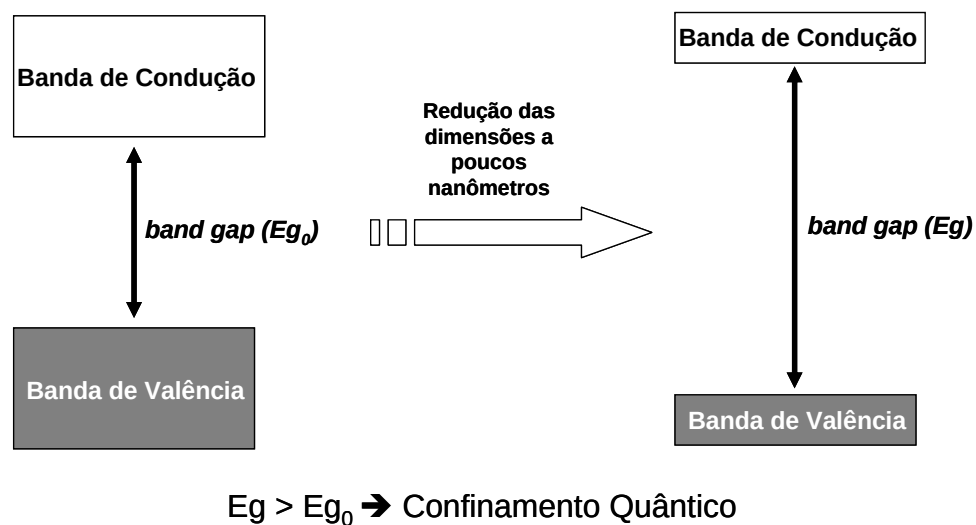


Figura 1.3 - Geração do confinamento quântico.

Em um semicondutor no estado de *bulk*, a energia mínima requerida para a excitação de um elétron da camada de valência para a camada de condução é denominada de *band gap* (E_g) [20,21,23]. Neste tipo de excitação, os elétrons promovidos para a camada de condução do semicondutor produzem vacâncias na camada de valência, tendo estas vacâncias um comportamento de uma partícula de carga positiva, sendo denominada de buraco. Contudo, nesta condição tanto o elétron na camada de condução quanto o buraco na camada de valência apresentam movimento livre de condução na estrutura cristalina do semicondutor. Contudo, quando a excitação do elétron resulta em sistema onde haja uma considerável atração coulômbica entre este e o buraco gerado na camada de valência, estas entidades não possuem o mesmo grau de liberdade do caso anterior, sendo esta nova estrutura ligada elétron-buraco denominada de *éxciton*. (Figura 1.4). Devido aos valores relativamente altos das constantes dielétricas dos materiais semicondutores, a energia de interação entre os componentes do *éxciton* (elétron e buraco) são baixas, permitindo uma distância de separação entre estes da ordem de nanômetros. No seu estado *bulk*, cada tipo de semicondutor apresenta um valor próprio da distância entre o elétron e o buraco formadores do *éxciton*, sendo esta distância denominada de raio de Bohr do *éxciton* [20, 21,23,35].

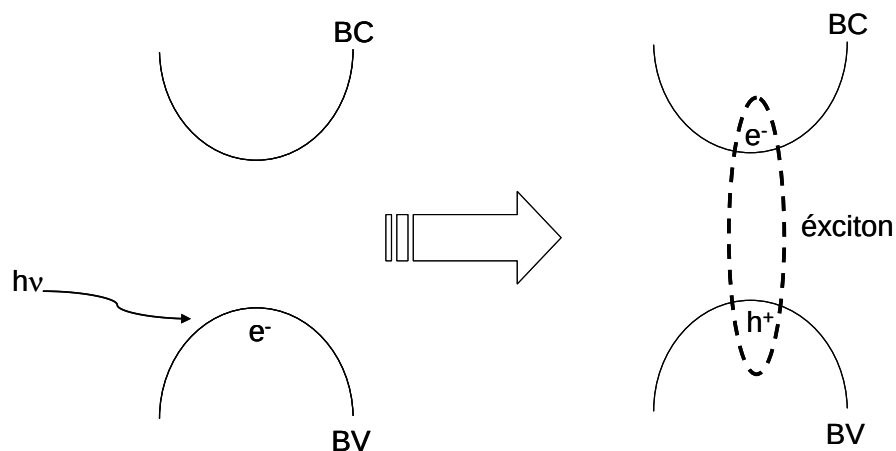


Figura 1.4 – Ilustração do processo de criação de um éxciton, através da promoção de um elétron (e^-) da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC), com o surgimento de um buraco (h^+).

Quando as dimensões de um material semiconductor se reduzem de tal forma que os seus valores sejam próximos ou menores do que as dimensões do raio de Bohr do seu respectivo éxciton, os elétrons de valência tornam-se confinados à superfície do cristal, quando excitados por um fóton de alta energia. Isto ocorre porque o material não mais se comporta como uma rede cristalina, onde os elétrons podem transladar em diversas direções sofrendo perturbações mínimas dos núcleos dos átomos. Neste estado, os elétrons se comportam como se percebessem as “bordas” do cristal, tornando-se mais atraídos pelos núcleos próximos [21,23]. Isto faz com que as energias vinculadas às funções de onda que descrevem o deslocamento de cada elétron se aproximem de valores atômicos, mais altos do que as energias envolvidas no cristal *bulk*.

Este confinamento pode ser interpretado de forma simples utilizando-se o modelo de partícula na caixa. Segundo este modelo, um elétron encontra-se confinado dentro de uma caixa virtual, onde as funções de onda do elétron se restringem ao interior da caixa, não permitindo o seu deslocamento para além das limitações de suas paredes. Quanto menor forem as dimensões da caixa, maior a separação energética entre os diferentes níveis associados cada um a uma função de onda. Fazendo-se uma analogia ao cristal de um semiconductor e definindo as bandas de valência (BVs) e de condução (BCs) por funções de onda quaisquer, quando as dimensões do cristal se reduzem a poucos nanômetros, há um distanciamento energético entre as bandas, que se reflete no aumento do valor energético de seu E_g . Além disso, ocorre uma discretização das BV e da BC que, em outras palavras, é a diminuição dos intervalos energéticos que determinam as bandas, podendo ocorrer o surgimento de novas bandas durante o processo de quantização [21, 35].

Outro modelo bastante utilizado para descrever o efeito de confinamento quântico é o modelo de massa efetiva [20,21,23]. Este modelo leva em consideração para os cálculos dos níveis energéticos do cristal que os elétrons e

os buracos formados no surgimento de éxcitons possuem uma massa considerada diferente do que os elétrons e buracos no *bulk*. Esta diferença nas massas não deve ser interpretada como uma mudança na quantidade de matéria do elétron, mas sim como o elétron se comporta quando perturbado por uma força externa. Isto é ilustrado pela clássica fórmula da segunda Lei de Newton (Equação 1.1)[23]:

$$m^* \cdot a = F \quad (1.1)$$

Esta mudança de comportamento ocorre, pois, nas dimensões reduzidas do cristal nanométrico, um elétron ou um buraco pode possuir uma massa efetiva (m^*) diferente da mesma entidade produzida no material *bulk*. Neste modelo, o cálculo da energia do éxciton no material confinado pode ser realizado, utilizando-se a seguinte fórmula (Equação 2.2) [38]:

$$E = E_g + \frac{\pi^2 \hbar^2}{2m_0 R^2} \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \frac{1.8e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_\infty R} \quad (1.2)$$

Na Equação 1.2, o primeiro termo é o valor da energia do *band gap* do *bulk*; o segundo termo diz respeito a aproximação do confinamento ao modelo de partícula na caixa, dando ao novo éxciton uma dependência proporcional a $1/R^2$ em relação ao raio no material e o terceiro termo diz respeito às interações coulômbicas do material, tendo uma dependência proporcional a $1/R$. Esta é uma fórmula bastante útil nos cálculos envolvendo semicondutores sob efeito de confinamento fraco, porém, sofrendo consideráveis desvios nos resultados para materiais sob confinamento forte.

Podemos ter dois tipos de confinamento quântico de um material: o confinamento fraco e o forte [21]. O confinamento fraco ocorre quando o raio do material nanométrico está muito próximo do valor do raio de Bohr do éxciton, ou seja, $r \cong a_B$. Neste caso, a variação do raio do material contribui com um fator de

$1/R^2$ para a variação do *band gap*. Por outro lado, quando o raio do material é muito menor do que a_B temos o confinamento forte, que contribui sob um fator de $1/R^3$ para a variação do *band gap* do material [39].

Com o efeito de confinamento quântico, todas as propriedades do semiconductor se modificam, algumas mais significativamente do que outras. As propriedades ópticas tais como absorção eletrônica e fotoluminescência [20, 21, 35, 39], por exemplo, alteram-se drasticamente com a quantização de semicondutores. Com o aumento do confinamento quântico elétrons excitados com alta energia decaem por recombinação excitônica emitindo fótons que podem ter energias em praticamente qualquer região do espectro visível, até mesmo no infravermelho. Contrastando com o *bulk*, onde o processo de relaxação ocorre praticamente pela geração de fônons no cristal, o processo de fotoluminescência em semicondutores de dimensões no regime de confinamento quântico encontra-se bastante pronunciado.

1.5 - Ciclodextrina: Fundamentos e Aplicações

Ciclodextrinas (CDs) são derivados oligoméricos de α -D-glicose, resultantes da ação enzimática de glicosiltransferases sobre amido [40-44]. Estes oligossacarídeos apresentam-se como macrociclos, onde cada unidade de α -D-glicose liga-se a outras unidades através de ligações glicosídicas do tipo α -1,4 [41,42]. Dentre as CDs existentes, as mais conhecidas são: (i) α -CD, formada por seis unidades de α -D-glicose; (ii) β -CD, formada por sete unidades de α -D-glicose e; (iii) γ -CD, formada por oito unidades de α -D-glicose. Estas três são normalmente denominadas como formas nativas de CDs, pois ocorrem em condições normais de ação das enzimas citadas [41]. A organização cíclica das CDs resulta em uma conformação preferencial de um toróide [42] (Figura 1.5), que geram propriedades bem peculiares as ciclodextrinas [42-44]. A Tabela 4.1 mostra algumas propriedades destas ciclodextrinas.

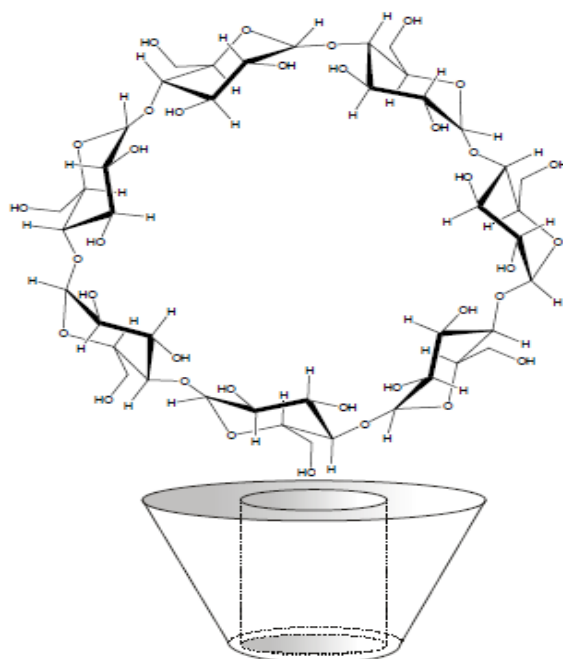


Figura 1.5 - Representação bidimensional (acima) e tridimensional (abaixo) da β -ciclodextrina.

Tabela 1.1 – Propriedades gerais de ciclodextrinas nativas [45].

Propriedades	α -ciclodextrina	β -ciclodextrina	γ -ciclodextrina
Unidades de glucopirranose	6	7	8
PM (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidade em água (25°C, %m/m)	14,5	1,85	23,2
Diâmetro externo (Å)	14,6	15,4	17,5
Diâmetro da cavidade (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Altura do toróide (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume da cavidade (Å ³)	174	262	427

A disposição das hidroxilas primárias e secundárias das ciclodextrinas, respectivamente nas circunferências de menor e de maior diâmetro, resulta em uma solubilidade apreciável destas moléculas em solução aquosa [43]. Esta estrutura tridimensional é mantida estável por interações de hidrogênio intramoleculares existentes entre as hidroxilas secundárias. Em contrapartida, a disposição dos grupos éteres e metilenos nas porções laterais das ciclodextrinas, produzem um ambiente menos polar no interior do toróide, propiciando um ambiente favorável para a complexação de moléculas apolares no interior desta cavidade, ao qual alguns autores denominam “ambiente microheterogêneo”[43]. Além disso, devido à estereoquímica das ciclodextrinas, a cavidade formada pela

conformação de toróide possui uma alta seletividade a complexação com diferentes moléculas orgânicas, compostos organometálicos e biomoléculas, justificando a diversidade de pesquisas envolvendo este peculiar oligossacarídeo [40-44].

1.5.1 – Complexos de inclusão e ciclodextrinas

Em vários sistemas biológicos, assim como em determinados sistemas químicos, a interação entre duas ou mais espécies moleculares se dá pela combinação de um conjunto complexo de interações intermoleculares fracas entre as moléculas em questão. Salienta-se a importância da combinação entre estas interações, visto que individualmente cada interação não possui energia suficiente para manter a associação entre as moléculas. No caso das ciclodextrinas, que denominaremos como moléculas “hospedeiras”, o conjunto de interações entre os grupos éteres no interior de sua cavidade e determinadas moléculas com baixa polaridade, ditas como “hóspedes”, pode resultar no encapsulamento dos hóspedes nas cavidades dos hospedeiros, formando estruturas denominadas de complexos de inclusão.

No caso das ciclodextrinas, a configuração espacial da cavidade interna do toróide faz com que estas moléculas possuam uma elevada seletividade, no que diz respeito a inclusão de moléculas nestas cavidades. Por isso a grande gama de aplicações das ciclodextrinas nas áreas de síntese orgânica e análise de substâncias [44].

Como uma das conseqüências mais importantes da formação de complexos de inclusão entre ciclodextrinas e diferentes moléculas hóspedes temos que a acessibilidade da molécula complexada às moléculas de solvente, ou outras moléculas do meio no qual ocorre a complexação, diminui consideravelmente. Isto pode resultar em mudanças drásticas das características eletrônicas tanto das moléculas hospedeiras, quanto da própria ciclodextrina, sendo estas mudanças alvo de técnicas espectroscópicas de absorção e fluorescência, que são capazes de correlacionar estas mudanças com o nível de

afinidade das moléculas pelas ciclodextrinas, justificando a aplicação de ciclodextrinas em vários sistemas sensores [46-48].

Várias técnicas podem ser utilizadas para a obtenção de informações sobre a formação de complexos de inclusão baseados em ciclodextrinas, tais como ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia infravermelho (IV), técnicas termoanalíticas como análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria diferencial exploratória (DSC), e técnicas espectroscópicas tais como absorbância UV-Vis e fluorescência [44,46]. Contudo, excetuando-se as duas últimas técnicas citadas, as demais técnicas possuem aplicação pouco práticas, pois esbarram em limitações diversas para sua utilização, tais como: (i) concentração molar mínima para análise; (ii) estabilidade térmica das moléculas hóspedes; e (iii) pré-tratamento para purificação dos complexos de inclusão.

Com isso, a grande parte dos grupos de pesquisa que estuda a formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas fazem uso de técnicas espectroscópicas de absorbância UV-vis e/ou fluorescência para obtenção de informações sobre a formação destes complexos [44-47]. Um dos formalismos mais utilizados para interpretar os dados espectroscópicos de complexos de inclusão de ciclodextrinas baseia-se no trabalho desenvolvido por Benesi e Hildebrand [49]. Neste formalismo considera-se que alterações espectroscópicas de uma solução de concentração conhecida da molécula hóspede, com concentrações variadas da molécula hospedeira podem ser tratadas através de um ajuste linear, onde a equação final obtida nos fornece informações importantes sobre a formação dos complexos de inclusão, tais como a estequiometria entre hóspede:hospedeiro, assim como valores estimados da constante de formação dos complexos. A vantagem dessa abordagem espectroscópica é que pode-se trabalhar com concentrações baixíssimas das moléculas analisadas, assim como é possível o trabalho com moléculas termolábeis, o que contorna as limitações de outras técnicas citadas anteriormente.

1.6 - Hipótese a ser verificada na Tese:

O foco principal desta tese é avaliar a veracidade da seguinte hipótese proposta:

Tendo em vista a complexidade de preparação e aplicação de determinadas técnicas utilizadas para a detecção de pesticidas, podemos desenvolver uma metodologia simples, do ponto de vista experimental, mas suficientemente aplicável para a detecção de organofosforados aromáticos em meio aquoso, utilizando quantum dots e ciclodextrinas não ligados covalentemente.

Para a avaliação final da hipótese acima, determina-se atingir as seguintes metas:

- Desenvolver uma nova metodologia de obtenção de nanopartículas de CdTe em meio aquoso, com boa luminescência e estabilidade. Esta metodologia deve ser prática e de baixo custo;
- Obter uma matriz polimérica compatível com as nanopartículas sintetizadas e o pesticida analisado, com o intuito de se ter um suporte para a imobilização do material sensor e dos analitos;
- Estudar as condições que permitam uma boa compatibilidade entre as nanopartículas de CdTe e complexos de inclusão entre as ciclodextrinas e os pesticidas, tendo como um material sensor com luminescência estável;
- Realizar estudos de sensibilidade da luminescência do dispositivo sensor, a amostras, em meio aquoso, de organofosforados em diferentes concentrações, na presença e ausência dos complexos de inclusão pesticida:ciclodextrina.

1.7 - Bibliografia

- [1] Jørgen, S. Chemical pesticides: mode of action and toxicology. Florida, CRC Press, 2004.
- [2] Waxman, M. F. Agrochemical and pesticide safety handbook. Florida, CRC Press, 1998.
- [3] Trojanowicz, M. e Hitchman, M. L. Trends Anal. Chem. 15:1 (1996) 38.
- [4] Goodman, A. G. As bases farmacológicas da terapêutica. 10^a ed., Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2003.
- [5] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Monografia C20 – Clorpirifós. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c9d402004119dd3a9d83bdb6afdc46c4/C20++Clorpirif%C3%B3s.pdf?MOD=AJPERES>>. Acessado em 25 de julho de 2011.
- [6] PAN Pesticides Database – Chemicals. Chlorpyrifos. Disponível em: <http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33392>. Acessado em 25 de julho de 2011.
- [7] Campanella, L., Colapicchioni, C., Fávero, G., Sammartino, M. P. e Tomassetti, M. Sens. Actuat. B 33 (1996) 25.
- [8] Patel, P. D. Trends Anal. Chem. 21:2 (2002) 96.
- [9] Ramamurthy, V. e Schanze, K. S. Molecular and Supramolecular Photochemistry – Volume 7: Optical Sensors and Switches. New York, Marcel Dekker. 2001.
- [10] Chegel, V. I., Shirshov, Y. M., Piletskaya, E. V. e Piletsky, S. A. Sens. Actuat. B 48 (1998) 456.
- [11] Wan, K., Chovelon, J. M., Jaffrezic-Renault, N. e Soldatkin, A. P. Sens. Actuat. B 58 (1999) 399.
- [12] Ivanov, A. N., Lukachova, L. V., et. Al. Bioelectrochem. 55 (2002) 75.
- [13] Huang, X., Liu, J., Shao, D., Pi, Z. e Yu, Z. Sens. Actuat. B 96 (2003) 630.
- [14] Simonian, A. L., Good, T. A., Wang, S. S. e Wild, J. R. Anal. Chim. Acta. 534 (2005) 69.

- [15] Li, H. e Qu, F. Chem. Mater. 19 (2007) 4148.
- [16] Du, D., Chen, W., Zhang, W., Liu, D., Li, H., Lin Y. Biosens. Bioelectron. 25 (2010) 1370.
- [17] Constatine, C. A., Gattás-Asfura, K. M., Mello, S. V., Crespo, G., Rastogi, V., Cheng, T., DeFrank, J. J., Leblanc, R. M. J. Phys. Chem. B. 107 (2003) 13762.
- [18] Ji, X., zheng, J., Xu, J., Rastogi, V. K., Cheng, T., DeFrank, J. J., Leblanc, R. M. J. Phys. Chem. B. 109 (2005) 3793.
- [19] Vicens, J., Harrowfield, J. e Baklouti, L. Calixarenes in the Nanoworld. Dordrecht, Springer, 2007.
- [20] Alivisatos, A. P. J. Phys. Chem. 100 (1996) 13226.
- [21] Gaponenko, S. V. "Optical properties of semiconductor nanocrystals". Cambridge, Cambridge University Press, 1998.
- [22] Murray, C. B., Kagan, C. R. e Bawendi, M. G. Annu. Rev. Matter. Sci. 30 (2000) 545.
- [23] Schmid, G (Ed.). "Nanoparticles From Theory to Application". Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2002.
- [24] Bruchez, M., Moronne, M., Gin, P., Weiss, S., Alivisatos, A. P. Science. 281 (1998) 2013.
- [25] Chan, W. C. W., Nie, S. Science. 281 (1998) 2016.
- [26] Penn, S. G., He, L., Natan, M. J. Curr. Opin. Chem. Biol. 7 (2003) 609.
- [27] Rosi, N. L., Mirkin, C. A. Chem. Rev. 105 (2005) 1547.
- [28] Medintz, I. L., Uyeda, H. T., Goldman, E. R., Matoussi H. Nature Mater. 4 (2005), 435-446.
- [29] Wolfbeis, O. S. J. Mater. Chem. 15 (2005) 2657.
- [30] Fortina, P., Kricka, L. J., Surrey, S. e Grodzinski, P. Trends Biotechnol. 23: 4 (2005) 168.
- [31] Costa-Fernández, J., Pereiro, R. e Sanz-Medel, A. Trends Anal. Chem. 25:3 (2006) 207.
- [32] Zhelev, Z., Bakalova, R., Ohba, H., Jose, R., Imai, Y. e Baba, Y. Anal. Chem. 78 (2006) 321.

- [33] Li, H. e Qu, F. Chem. Mater. 19 (2007) 4148.
- [34] Somers, R. C., Bawendi, M. G. E Nocera, D. G. Chem. Soc. Rev. 36 (2007) 579.
- [35] El-Sayed, M. A. Acc. Chem. Res. 37 (2004) 326.
- [36] Palaniappan, K., Hackney, S. A. e Liu, J. Chem Commun. (2004) 2704.
- [37] Palaniappan, K., Xue, C., et. al. Chem. Mater. 18 (2006) 1275.
- [38] Bol, A. Luminescence of Doped Semiconductor Quantum Dots. Utrecht University, 2001.
- [39] Henglein, A. J. Phys. Chem. 86 (1982) 2291.
- [40] Li, S. e Purdy, W. C. Chem. Rev. 92 (1992) 1457.
- [41] Connors, K. A. Chem. Rev. 97 (1997) 1325.
- [42] Szejtli, J. Chem. Rev. 98 (1998) 1743.
- [43] Saenger, W., Jacob, J., et. Al. Chem. Rev. 98 (1998) 1787.
- [44] Dodziuk, H. Cyclodextrins and Their Complexes. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006.
- [45] Del Valle, E. M. M. Proces. Biochem. 39 (2004) 1033.
- [46] Li, S.e Purdy, W. C. Chem. Rev. 92 (1992) 1457.
- [47] Douhal, A., Cyclodextrin Materials Photochemistry, Photophysics and Photobiology. Amsterdam, Elsevier, 2006.
- [48] Badía, R. e Díaz-García, M. E. J. Agric. Food Chem. 47 (1999) 4256.
- [49] Benesi, H. A., Hildebrand, J. H. J. Am. Chm. Soc. 71 (1949) 2703.

CAPÍTULO 2 - Nova metodologia de obtenção de Qds de CdTe em meio aquoso, obtidos através do uso de ultrassom.

2.1 - Introdução

As propriedades de Qds de semicondutores do tipo II-VI vem sendo extensivamente investigados e vários artigos de revisão e livros vem sendo publicados contendo informações nessa área [1-4]. Devido ao alto potencial de aplicabilidade destes materiais, uma gama de rotas de síntese vem sendo desenvolvidas e aperfeiçoadas, com o intuito de se obter partículas de alta qualidade [3,5-15]. Estas metodologias permitem o controle fino do tamanho, morfologia, distribuição de tamanho e estabilidade destas nanopartículas. A principal consequência desses esforços na melhoria das rotas de síntese é o grande número de aplicações dos Qds em diversas áreas de pesquisa [16-26].

Quando comparados com outros Qds do tipo II-VI, como o CdSe e o CdS, as rotas de síntese e caracterização de Qds de CdTe em meio aquoso ainda não são bem desenvolvidas. A produção de íons telureto estáveis em meio aquoso é o grande empecilho para o desenvolvimento das rotas de síntese deste tipo de nanopartículas. Isto se dá devido a alta reatividade do telúrio a processos oxidativos, tendo este uma facilidade de produção de cátions sob condições normais e a baixa reatividade para processos redutores, necessários para a produção de íons telureto, nas mesmas condições. O telúrio reage facilmente com o oxigênio para produzir o seu respectivo óxido (TeO), sendo este óxido bem mais estável a processos envolvendo agentes redutores utilizados para a produção dos íons telureto.

As rotas de síntese mais conhecidas na literatura para a produção de Qds do tipo II-VI, particularmente sistemas do tipo CdX (X = S, Se ou Te), baseiam-se

no uso de química coloidal, através da injeção rápida de reagentes organometálicos em solventes coordenados aos cátions metálicos, em condições de temperatura acima de 150°C. É reportado na literatura que Qds de CdTe podem ser obtidos utilizando-se reagentes organometálicos na presença de trioctil fosfinóxido (TOPO), ou utilizando-se aminas primárias, e trioctil fosfina (TOP) a 200°C [9]. Embora obtenham-se nanopartículas com excelente qualidade, do ponto de vista estruturas e de propriedades óticas, os reagentes $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$, Al_2Te_3 e outros reagentes utilizados nestas rotas de síntese possuem elevada toxicidade, são pirofóricos, explosivos e relativamente caros [27-29]. Estas desvantagens vêm encorajando vários grupos de pesquisa a desenvolver rotas que utilizem fontes alternativas de cádmio e telúrio, no lugar de $\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$ e Al_2Te_3 , com o intuito de obter Qds de CdTe utilizando-se reagentes mais “amigáveis” [30,31].

Uma alternativa mais segura para a obtenção de Qds de CdTe é através de metodologias em meio aquoso. Neste caso, o telúrio pode ser reduzido a íons telureto utilizando-se reagentes redutores consideravelmente menos perigosos, como é o caso do borohidreto de sódio (NaBH_4), em condições de atmosfera inerte [14, 32-36]. Contudo, as metodologias descritas na literatura são bastante lentas, no que diz respeito a obtenção dos íons telureto, devido a baixa reatividade do telúrio a processos redutores (como já discutido anteriormente) [36,37]. Isto torna-se uma desvantagem para a utilização destas metodologias para a produção em larga escala de Qds em meio aquoso.

Recentemente, a utilização do ultrassom para a produção de nanopartículas monodispersas foi proposta por alguns autores [4, 38-40]. Nestes estudos, a utilização do ultrassom limita-se a melhorar a homogeneização dos reagentes utilizados na síntese, apesar de que o título desses artigos sugerirem que os Qds foram obtidos graças a irradiação do ultrassom, dando a entender erroneamente que estas irradiações seriam cruciais para a obtenção das nanopartículas.

2.1.1 - Processos químicos assistidos por ultrassom

Ultrassom pode ser definido como ondas mecânicas, que se propagam em diferentes meios, com uma frequência de oscilação acima de 16kHz, tendo utilidade para processos químicos, ondas na faixa de frequência entre 20 e 1000 kHz [41,42]. Estas ondas mecânicas, quando propagadas em meio líquido, geram estados de alta pressão, seguidos rapidamente por estados de rarefação, em vários ciclos por segundo. O encadeamento destes estados resulta em aproximações e distanciamentos críticos das moléculas do meio de propagação, ocasionando a formação de microcavidades, que são preenchidas por moléculas do meio no estado de vapor. Em um segundo momento, com o desenvolvimento do estado de rarefação, estas microcavidades tendem a se expandir, aumentando a quantidade de moléculas no estado de vapor, em seu interior. Com o surgimento do próximo estado de alta pressão, estas cavidades não possuem energia suficiente para manter sua estrutura, resultando em um colapso implosivo destas cavidades, liberando grandes quantidades de energia em pequenos volumes do ambiente. Ao processo descrito acima, denomina-se “efeito de cavitação acústica” [41,42].

As energias liberadas durante o processo de cavitação acústica desencadeiam diversas conseqüências interessantes:

- O aumento de temperatura local pode chegar a centenas de graus Celsius, podendo produzir a fusão ou decomposição de diversos compostos;
- As ondas de choque geradas pela combinação das implosões com as próprias ondas de ultrassom auxiliam no aumento das taxas de transferência de massas no meio, o que resulta em uma excelente homogeneidade de substâncias dissolvidas ou suspensas no meio de propagação;
- As ondas de choque são ainda capazes de aumentar a taxa de colisões entre partículas sólidas suspensas no meio, o que resulta em uma

diminuição destas partículas e no conseqüente aumento significativo do potencial químico na superfície destas partículas;

- Em processos utilizando ultrassom de alta frequência em meio aquoso, temos ainda a possibilidade de geração de radicais $\text{OH}\cdot$ e $\text{H}\cdot$, que são capazes de catalisar processos de oxirredução de diversos compostos químicos.

Todos os efeitos descritos acima justificam a utilização do ultrassom para a melhoria de processos químicos, visando a diminuição do tempo de reação, a não utilização de elevadas temperaturas durante o desenvolvimento destes processos e aumento do rendimento geral das reações.

2.2 - Proposta

A proposta desta parte da tese é o desenvolvimento de uma metodologia nova, simples e rápida para a obtenção de Qds de CdTe em meio aquoso, utilizando irradiações com ultrassom para acelerar o processo de redução do telúrio, através do aumento da reatividade do metal ao reagente borohidreto de sódio e, conseqüentemente, diminuindo drasticamente o tempo necessário para o processo de redução. Além disso, propõe-se uma metodologia simples para o crescimento rápido das nanopartículas sintetizadas, com o intuito de obter Qds com propriedades ópticas distintas, derivados de uma mesma amostra.

2.3 - Metodologia experimental

2.3.1 - Reagentes:

Em todos os experimentos descritos nesta seção, utilizaram-se os seguintes reagentes, utilizados sem tratamento prévio:

Telúrio em pó, borohidreto de sódio (NaBH_4) e ácido mercaptoacético (AMA) (HSCH_2COOH) foram obtidos da Sigma Aldrich. As soluções utilizadas de perclorato de cádmio ($\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$) e de hidróxido de sódio (NaOH) foram preparadas utilizando-se água deionizada, com uma resistividade nominal de 18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$.

2.3.2 - Processo de redução de telúrio sob ação de ultrassom de alta frequência:

O processo de redução do telúrio a telureto foi realizado em duas etapas.

Primeiro, foram adicionados 4 mL de água deionizada e 0,2 mmols de telúrio em pó, em um tubo de vidro específico para a realização de irradiações de ultrassom, onde o tubo foi conectado a sonda de irradiação, como mostrado na Figura 2.1. Em seguida, a mistura foi irradiada com um ultrassom de alta

freqüência (Sonics & Materials VCX 130PB, 20 kHz, 130 W/cm², 1 cm², sonda de titânio de imersão direta) com uma amplitude de irradiação de 50%, durante cinco minutos.



Figura 2.1 – Vidraria conectada a sonda de irradiação por ultrassom.

Segundo, após a primeira irradiação, 0,4 mmols de NaBH₄ foram adicionados a dispersão de telúrio irradiada, e a segunda mistura foi novamente irradiada por dez minutos, nas mesmas condições. Por fim, uma solução violeta e límpida foi obtida (a cor violeta é devido a formação do Na₂Te₂, uma forma de telúrio reduzido). Todo processo de redução foi conduzido sob atmosfera inerte de nitrogênio (N₂).

2.3.4 - Síntese dos Qds de CdTe:

Para a síntese dos Qds de CdTe, 40 mL de uma solução 0,02M de Cd(ClO₄)₂ (0,8 mmol) foram diluídos em 150 mL de água deionizada e 1,6 mmol de AMA foi adicionado sob agitação constante, sendo o pH final da mistura ajustado para 10,5 através da adição gota a gota de uma solução 2M de NaOH.

Por fim, a solução previamente obtida de Na_2Te_2 foi injetada rapidamente a solução de Cd/AMA e, após agitação manual, uma suspensão límpida e alaranjada de Qds de CdTe foi obtida. A proporção final, em mols, dos componentes do sistema foi de 4:1:8 para Cd:Te:AMA.

2.3.5 - Crescimento controlado dos Qds em condições hidrotérmicas, utilizando microondas:

Como metodologia rápida para a obtenção de Qds de CdTe com diferentes energias de *band gap* e, conseqüentemente, de fluorescência, submeteu-se alíquotas dos Qds de CdTe recém sintetizados a diferentes condições de temperatura e pressão, através da utilização de reatores solvotermiais submetidos a irradiação de microondas. Para o crescimento controlado dos Qds, utilizou-se o sistema de síntese por microondas Discover I da CEM. O volume de amostra utilizado nos experimentos foi de 3,5 mL de suspensão de Qds. As condições experimentais para o crescimento foram:

Tabela 2.1 – Condições hidrotermais utilizadas para o crescimento dos Qds de CdTe

Amostra	Tempo de Irradiação (min)	Temperatura (°C)
Amostra 1	1	100
Amostra 2	1	120
Amostra 3	2	120

As amostras obtidas foram caracterizadas através de espectroscopia de absorção eletrônica e fluorescência.

2.3.6 - Caracterização dos Qds obtidos:

Após a obtenção da suspensão de nanopartículas de CdTe, realizou-se a caracterização do processo de síntese por espectroscopia de absorção UV/Visível, para a verificação da qualidade da suspensão coloidal, isto é, para verificar-se a ausência total de partículas ou contaminantes fora do regime coloidal, além de

confirmar se o tamanho das partículas recém sintetizadas encontravam-se no regime de confinamento quântico. Para isso, utilizou-se um espectrofotômetro de absorção da marca HR 4000 CG, Ocean Optics. A região analisada foi entre 190 até 900 nm. Realizou-se a caracterização espectroscópica (espectroscopia de fluorescência e excitação) da suspensão de CdTe obtida, com o intuito de se identificar a região exata da banda de fluorescência das nanopartículas, assim como o comportamento das bandas de excitação da suspensão, utilizando-se para isso um espectrofluorímetro ISS K2, com resolução de 0,5 nm e lâmpada de Xenônio de 300 W como fonte de excitação, fazendo-se uma varredura entre 400 até 650 nm. As configurações de fendas utilizadas foram: 2 mm / 2 mm para excitação e 1 mm / 1mm para fluorescência.

A caracterização estrutural foi realizada através de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de campo claro, com o intuito de se avaliar o tamanho das partículas obtidas, assim como a morfologia destas. As medidas foram realizadas utilizando-se o equipamento Tecnai 20, fabricado pela FEI, com tensão do feixe de 80 kV. Coletaram-se micrografias de campo claro, nas quais o feixe de elétrons utilizado é difratado para todas as direções através de um processo de colisão elástica, o que permite estudos sobre a morfologia do material. As medidas de MET foram realizadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). A análise de difração de raio-X foi realizada no Departamento de Física da UFPE, através de difratômetro Siemens Nixdorf D5000 digital (com biblioteca cristalográfica), com radiação $K\alpha(\text{Cu}) = 1,544\text{\AA}$.

2.4 - Resultados e Discussão

O efeito da irradiação de ultrassom no processo de redução do telúrio pode ser dividido em duas componentes: (i) a irradiação inicial de ultrassom foi utilizada para reduzir as dimensões dos grãos de telúrio, tendo como resultado a fragmentação dos grãos de telúrio em partículas com dimensões reduzidas, o que representa uma maior área superficial para a mesma massa de material irradiado,

o que ocasiona um aumento na reatividade do telúrio ao agente redutor NaBH_4 , quando comparamos aos grãos com suas dimensões originais. A diferença entre as dimensões dos grãos de telúrio antes e depois da primeira irradiação pode ser vista nas micrografias apresentadas na Figura 2.2; (ii) após a adição do NaBH_4 ao meio reacional, a segunda irradiação de ultrassom propicia uma alta taxa de transferência de massa na interface entre as partículas fragmentadas de telúrio e a solução contendo o agente redutor, o que age como um catalisador do processo de redução ocorrido (ver Equações 2.1 e 2.2 para uma melhor compreensão).

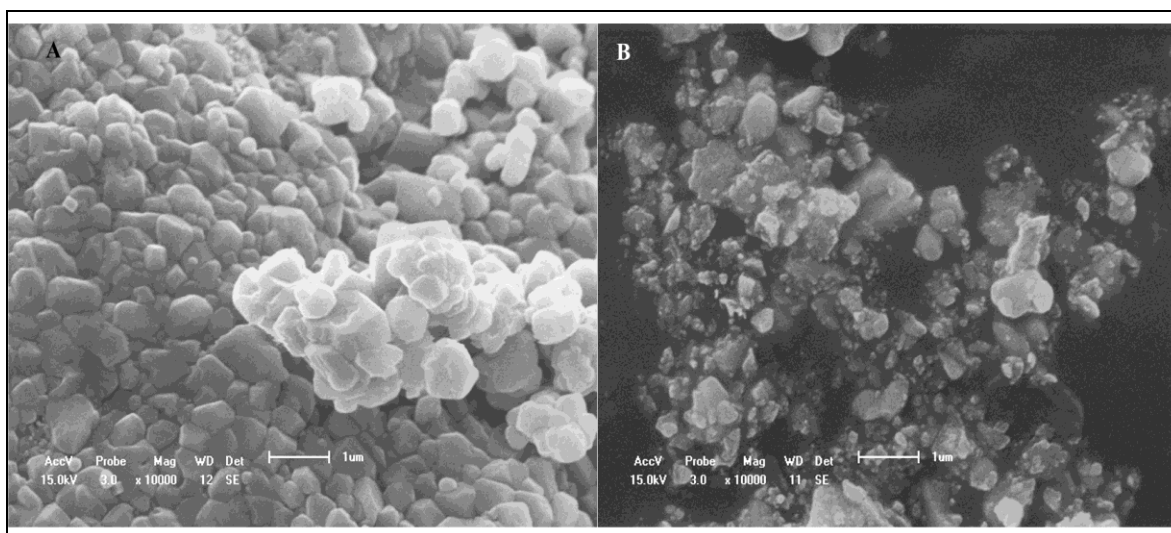
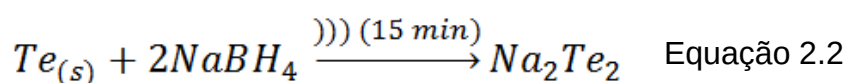
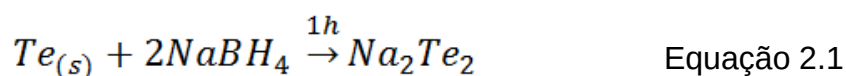


Figura 2.2 – Micrografias de MEV de grãos de telúrio antes (A) e após a irradiação (B) com ultrassom. A amplificação das imagens é de X 10.000.

O processo de redução do telúrio em meio aquoso, cujos artigos da literatura não expõem com tanta clareza, foi melhorado consideravelmente, do ponto de vista da diminuição drástica no tempo de redução do metal (15 minutos no total). Alguns trabalhos na literatura [32,33,35,37] mencionam que o tempo necessário para a redução do telúrio é da ordem de algumas horas, tempo bem

superior ao obtido pelo procedimento apresentado. Esta drástica redução no tempo mostra a grande viabilidade da metodologia desenvolvida para a produção em larga escala de Qds de CdTe, em meio aquoso. No contexto do trabalho apresentado nesta tese, a metodologia de redução desenvolvida apresentou-se como uma via prática para a obtenção dos Qds de CdTe utilizados nos experimentos de sensoriamento desenvolvido (ver no Capítulo 3).

A Figura 2.3 exibe o espectro de absorbância da suspensão obtida de Qds de CdTe, utilizando a metodologia proposta. Através da extração da primeira derivada do espectro de absorbância, na região localizada no início da banda de absorção apresentada [43], foi possível calcular-se o *band gap* ótico dos Qds obtidos, sendo o valor de $E_g = 2,3$ eV, aproximadamente. Este valor é bem superior ao *band gap* do CdTe em seu estado *bulk* ($E_g = 1,6$ eV) [2,44] e comprova que as nanopartículas obtidas apresentam-se em regime de confinamento quântico forte [2,14,33,45].

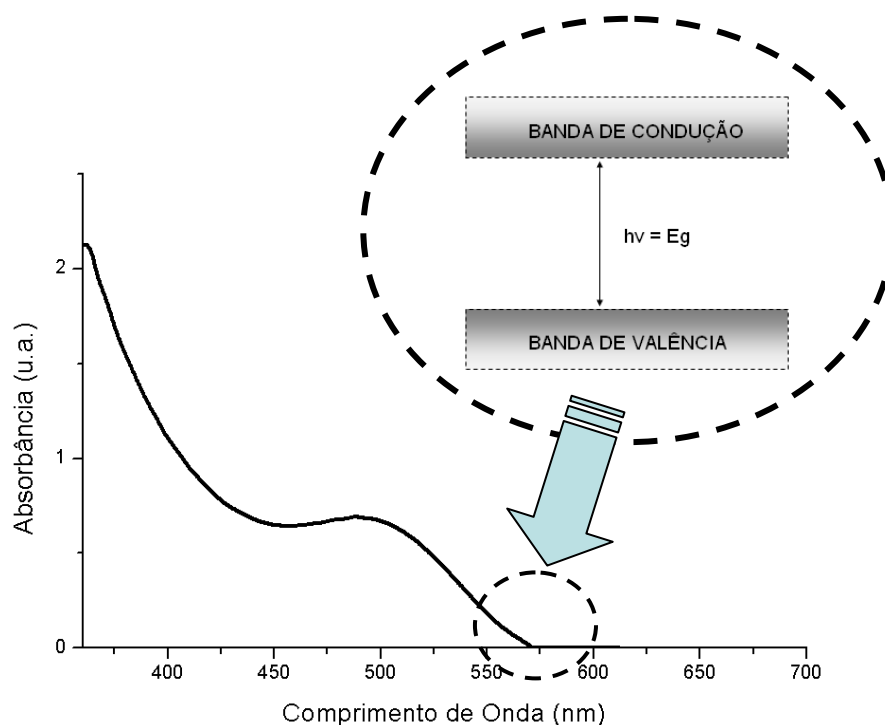


Figura 2.3 – Espectro de absorbância dos Qds de CdTe em meio aquoso.

Ainda analisando a Figura 2.3, observamos a presença de um ombro no espectro, com um máximo de absorbância localizado em 490 nm, que é atribuído a transição de excitônica de menor energia (E_{1S1s}) dos Qds sintetizados [1,2]. A formação de éxcitons em semicondutores no estado de *bulk* se dá com a absorção de pacotes de energia com valores ligeiramente mais baixos do que o valor do respectivo *band gap*. Contudo, para sistemas cujas dimensões são menores do que o raio de Bohr do éxciton (a_b) para o semicondutor em questão ($a_b = 7.5$ nm, para o CdTe [2]), a energia necessária para a formação de éxcitons em Qds torna-se maior, devido ao aumento da atração coulômbica entre o elétron excitado e o buraco resultante na camada de valência. Com isso, a transição excitônica ocorrerá em valores de energia superiores ao do *band gap* das nanopartículas, como visto na Figura 2.3, o que corrobora com a afirmativa de que as partículas obtidas encontram-se dentro do regime de confinamento quântico.

A Figura 2.4 exibe os espectros de excitação e fluorescência das nanopartículas obtidas. O espectro de fluorescência foi obtido com excitação em 337 nm. Como primeira análise dos espectros apresentados, destacamos a ampla faixa de comprimentos de onda coberta pelo espectro de excitação, que podem ser utilizados para produzir o mesmo espectro de fluorescência apresentado. Para fluoróforos orgânicos, a faixa de comprimentos de onda de excitação normalmente é estreita e apresenta-se bem próxima da banda de fluorescência desses compostos. No caso dos Qds, esta ampla faixa de comprimentos de onda de excitação é uma das grandes vantagens que justifica a utilização dos Qds como sensores fluorescentes, tendo em vista que fluoróforos orgânicos convencionais apresentam deslocamentos de Stokes mais estreitos. No caso dos Qds sintetizados, por exemplo, o valor do deslocamento de Stokes é de aproximadamente 66.5 nm. Esta distância representa a diferença entre o máximo da banda de fluorescência (556.5 nm) e o máximo da banda de absorbância (490 nm), considerando-se uma excitação direta através da primeira transição excitônica. Contudo, podemos excitar os Qds em qualquer dos comprimentos de onda cobertos pelo espectro de excitação, obtendo-se o mesmo espectro de fluorescência, com intensidades variáveis.

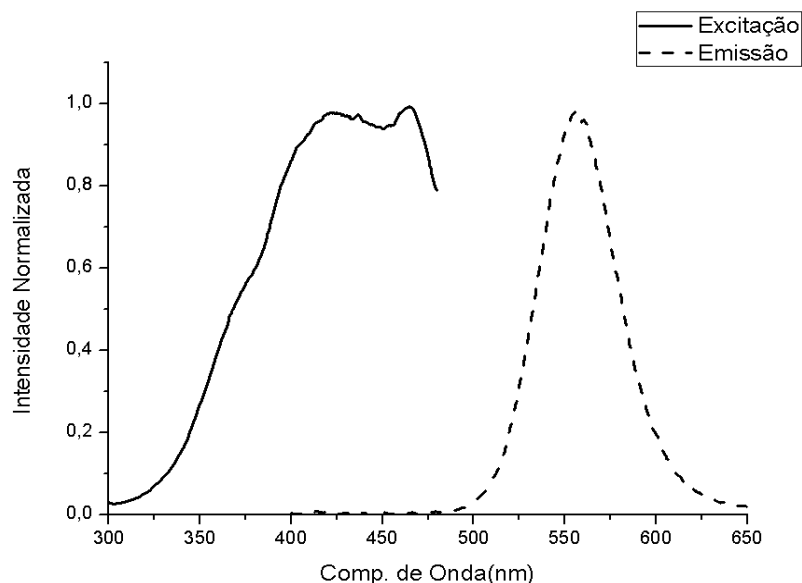


Figura 2.4 – Espectros de fluorescência e excitação da suspensão de Qds obtidas após a síntese.

Como mostrado no espectro de fluorescência, as nanopartículas possuem apenas uma única banda de fluorescência, com o máximo de fluorescência localizado em $\lambda_{\text{máx}} = 556.5$ nm e uma largura de banda a meia altura (FWHM) de 49 nm. Este valor obtido de FWHM representa uma boa homogeneidade na distribuição de tamanho das nanopartículas obtidas [10,23,26,28] e que garante uma fluorescência restrita numa determinada região visível do espectro eletromagnético. Além disso, o formato simétrico do espectro de fluorescência indica um número reduzido de defeitos de superfície nas nanopartículas. Estes defeitos, quando presentes em quantidade razoável, comprometem as recombinações radiativas dos éxcitons formados nos Qds, devido a formação de estados eletrônicos que funcionam como armadilhas, o que pode ocasionar uma diminuição da intensidade de luminescência das nanopartículas, assim como um alargamento da banda de fluorescência do sistema. A eliminação desses defeitos de superfície é fundamental para a melhoria da eficiência do decaimento radioativo durante a recombinação excitônica, o que garante uma boa intensidade

de fluorescência dos Qds, permitindo a sua aplicação como quimiosensores fluorescentes [23,26].

A redução dos defeitos de superfície dos Qds sintetizados é justificado pela natureza química do tipo de estabilizante utilizado. Como já demonstrado previamente na literatura [33], estabilizantes do tipo tiol, como é o caso do AMA, são passíveis de sofrerem hidrólise, durante o crescimento das nanopartículas. Como resultado desta hidrólise, o grupamento tiol ligado a superfície das partículas é liberado na forma de íon sulfeto, que se combina com os átomos de cádmio superficiais e livres em solução, resultando na formação de uma “casca” de CdS sobre as nanopartículas. Esta camada externa composta de um semicondutor de valor superior ao do “caroço” de CdTe, funciona como uma camada de passivação *in situ*, o que melhora a qualidade da fluorescência do Qds sintetizados.

Como forma de obter Qds com emissões em regiões distintas do espectro visível, avaliou-se a viabilidade de utilização dos Qds sintetizados para a obtenção de nanopartículas com tamanhos maiores, mas ainda em confinamento quântico, executando-se, para este fim, tratamentos térmicos em condições hidrotermais. As Figuras 2.5, 2.6 e 2.7 exibem, respectivamente, as emissões das amostras, os espectros de absorbância e de fluorescência das amostras de Qds originais e tratadas com microondas. Como se pode observar nas figuras, o tratamento térmico em diferentes condições de tempo e temperatura permitiu a obtenção de Qds com características espectroscópicas distintas, o que mostra a viabilidade desta metodologia para a indução do crescimento controlado das nanopartículas.



Figura 2.5– Emissões das amostras tratadas termicamente em condições hidrotermais. Da esquerda para a direita: Amostra 1, Amostra 2 e Amostra 3.

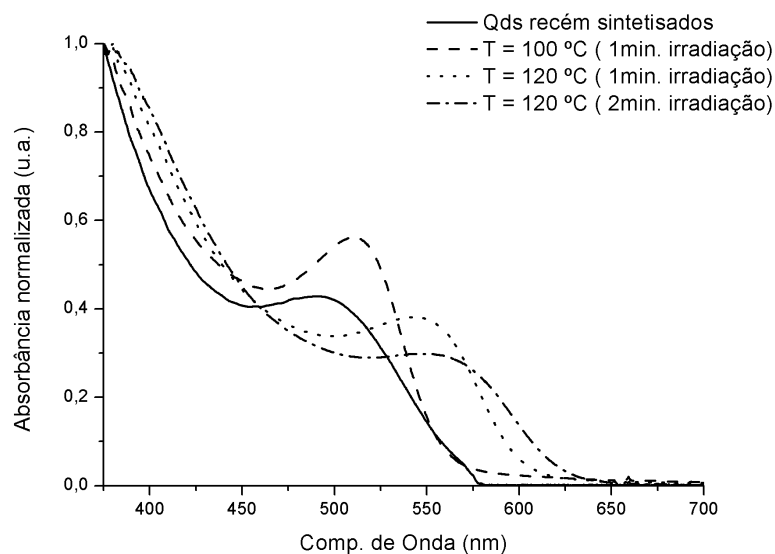


Figura 2.6– Espectros de absorvâncias de QDs de CdTe não tratados e tratados com microondas.

As condições extremas de temperatura e pressão as quais as amostras de QDs foram submetidas, utilizando-se condições hidrotermais através de irradiação de microondas, permite uma taxa de aquecimento da amostra em um intervalo de tempo muito curto, o que acelera a taxa de crescimento das nanopartículas, sem que haja a formação significativa de novas sementes de cristalização. Em outras palavras, os QDs crescem de forma acelerada e uniforme, sem que haja um significativo aumento na dispersão de tamanho dos QDs ou nanopartículas resultantes com pronunciado número de defeitos de superfície. Isto fica claro nos espectros apresentados nas Figuras 2.5 e 2.6, onde não se observa alargamentos significativos nas bandas de absorção das amostras tratadas termicamente, assim como nas bandas de fluorescência das respectivas amostras, onde os valores de FWHM situam-se abaixo de 50 nm, excetuando-se a amostra 3, onde o valor de FWHM foi igual a 56 nm. Vale ressaltar que os tratamentos tiveram uma duração de tempo abaixo de 3 minutos, o que mostra a viabilidade desta metodologia de crescimento para a obtenção rápida e controlada de QDs com propriedades espectroscópicas distintas.

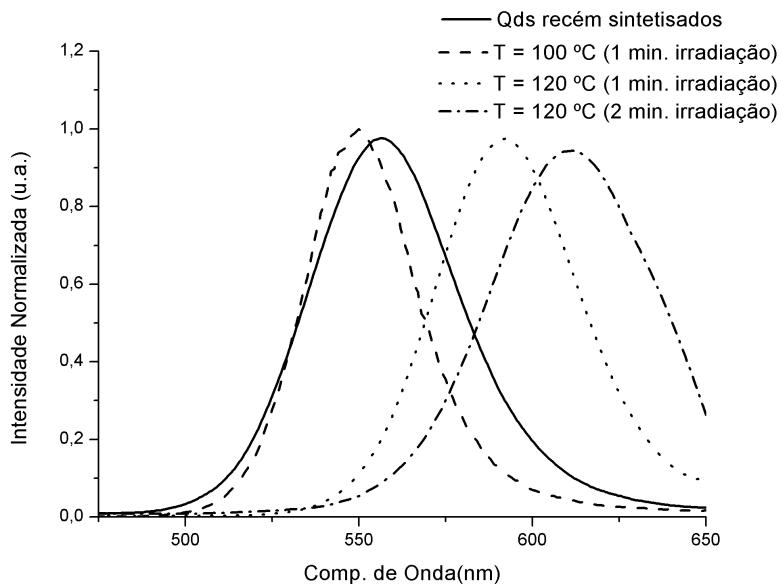


Figura 2.7 - Espectros de fluorescência de QDs de CdTe não tratados e tratados com microondas.

A Figura 2.8 exibe uma micrografia de MET das nanopartículas recém sintetizadas. Pode-se observar a presença de nanopartículas com diâmetro médio abaixo de 5.0 nm. Partículas de CdTe com estas dimensões estão em consistência com os dados espectroscópicos apresentados previamente, e corroboram a afirmativa a respeito do regime de confinamento quântico sob o qual encontram-se as nanopartículas analisadas. As nanopartículas apresentam uma boa cristalinidade, como pode ser visto na imagem de alta resolução em destaque.

Além disso, as nanopartículas aparentam ser monodispersas, o que novamente está em concordância com os resultados de fluorescência discutidos previamente. A imagem de alta resolução exibe um padrão de franjas relacionado aos planos [2 0 0], apresentando-se com uma distância interplanar de 0.32 nm, indicando que as nanopartículas de CdTe possuem um sistema cristalino do tipo cúbico blenda de zinco [46].

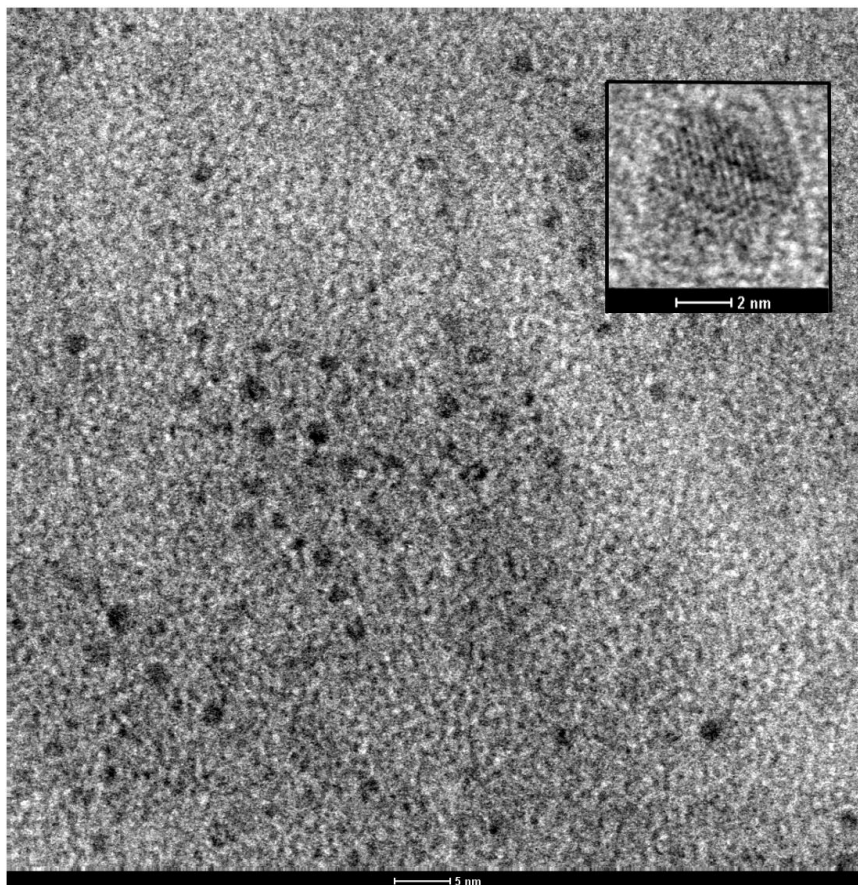


Figura 2.8– Micrografia de MET dos Qds de CdTe. Imagem de alta resolução de uma nanopartícula de CdTe (destaque).

Por fim, a Figura 2.9 exibe o padrão de DRX das nanopartículas obtidas. Uma análise comparativa do padrão obtido com dados da literatura [47] comprova a presença do sistema cristalino cúbico nas partículas, o que corrobora com os dados interpretados da imagem de MET de alta resolução.

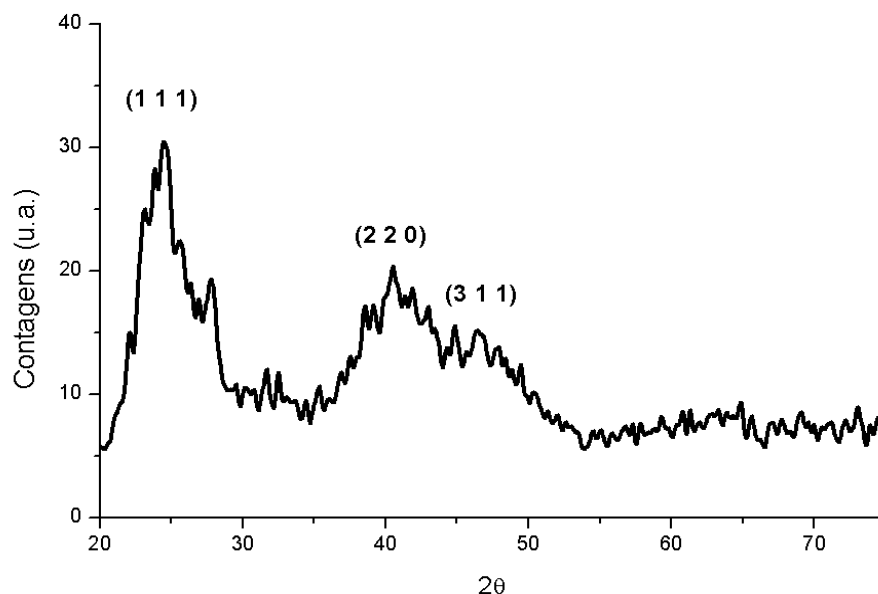


Figura 2.9 – Difratoograma de Raio-X de pó das nanopartículas de CdTe sintetizadas.

2.5 - Conclusão

Demonstramos o desenvolvimento de uma metodologia simples, rápida e segura para a preparação de Qds monodispersos de CdTe em meio aquoso, através da utilização de irradiação por ultrassom. Este recurso permitiu acelerar o processo de redução do telúrio, considerado o “gargalo” deste processo de síntese. Além disso, a metodologia utilizada permitiu um controle aceitável da morfologia das partículas, assim como da qualidade destas, no que diz respeito às suas propriedades espectroscópicas. Por fim, a utilização de condições hidrotermais através da utilização de irradiação por microondas permitiu um controle fino do crescimento dos Qds sintetizados, produzindo partículas com propriedades espectroscópicas distintas, em um curto intervalo de tempo.

2.6 - Bibliografia

- [1] Alivisatos, A. P. J. Phys. Chem. 100 (1996) 13226.
- [2] Gaponenko, S. V. Introduction to Nanophotonics. Cambridge, Cambridge University Press, 2010.
- [3] Murray, C. B., Kagan, C. R., Bawendi, M. G. Annu. Rev. Matter. Sci. 30 (2000) 545.
- [4] Schmid, G. (Ed.). Nanoparticles From Theory to Application. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2002.
- [5] Alfassi, Z., Bahnemann, D., Henglein, A. J. Phys. Chem. 86 (1982) 4656.
- [6] Baral, S., Fojtik, A., Weller, H., Henglein, A. J. Am. Chem. Soc. 108 (1986) 375.
- [7] Murray, C. B., Norris, D. J., Bawendi, M. G. J. Am. Chem. Soc. 115 (1993) 8706.
- [8] Pillai, V., Kumar, P., Hou, M. J., Ayyub, P., Shah, D. O. Adv. Colloid Interface Sci. 55 (1995) 241.
- [9] Pickett, N. L., Lawson, S., Thomas, W. G., Riddell, F. G., Foster, D. F., Cole-Hamilton, D. J., Fryer, J. R. J. Mater. Chem. 8 (1998) 2769.
- [10] Song, K., Lee, S. Curr. Appl. Phys. 1 (2001) 169.
- [11] Gaponik, N., Talapin, D. V., Rogach, A. L., Hoppe, K., Shevchenko, E. V., Kornowski, A., Eychmüller, A., Weller, H. J. Phys. Chem. B. 106 (2002) 7177.
- [12] Masala, O., Seshadri, R. Annu. Rev. Mater. Res. 34 (2004) 41.
- [13] Reiss, P., Quemard, G., et. al. Mater. Chem. Phys. 84 (2004) 10.
- [14] Menezes, F. D., Brasil Jr., A. G., et. al. Microelec. J. 36 (2005) 989.
- [15] Murcia, M. J., Shaw, D. L., et. al. Chem. Mater. 18 (2006) 2219.
- [16] Bruchez, M., Moronne, M., Gin, P., Weiss, S., Alivisatos, A. P. Science. 281 (1998) 2013.
- [17] Chan, W. C. W., Nie, S. Science. 281 (1998) 2016.
- [18] Penn, S. G., He, L., . Natan, M. J Curr. Opin. Chem. Biol. 7 (2003) 609.
- [19] Rosi, N. L., Mirkin, C. A. Chem. Rev. 105 (2005) 1547.

- [20] Medintz, I. L., Uyeda, H. T., Goldman, E. R., Matoussi, H. *Nature Mater.* 4 (2005), 435-446.
- [21] Wolfbeis, O. S. *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 2657.
- [22] Fortina, P., Kricka, L. J., Surrey, S., P. Grodzinski, *Trends Biotechnol.* 23: 4 (2005) 168.
- [23] Costa-Fernández, J., Pereiro, R., Sanz-Medel, A. *Trends Anal. Chem.* 25:3 (2006) 207.
- [24] Zhelev, Z., Bakalova, R., Ohba, H., Jose, R., Imai, Y., Baba, Y. *Anal. Chem.* 78 (2006) 321.
- [25] Li, H., Qu, F. *Chem. Mater.* 19 (2007) 4148.
- [26] Somers, R. C., Bawendi, M. G., Nocera, D. G. *Chem. Soc. Rev.* 36 (2007) 579.
- [27] Rajh, T., Miéié, O. I., Nozik, A. J. *J. Phys. Chem.* 97 (1993) 11999.
- [28] Hambrock, J., Birkner, A., Fischer, R. A. *J. Mater. Chem.* 11 (2001) 3197.
- [29] Chen, H., Lo, B., et. al. *J. Phys. Chem. B* 108(2004) 17119.
- [30] Qu, L., Peng. X. *J. Am. Chem. Soc.* 124(2002) 2049.
- [31] Peng, Z.A., Peng. X. *J. Am. Chem. Soc.* 123(2001) 183.
- [32] Kapitonov, A. M., Stupak, A. P., Gaponenko, S. V., Petrov, E. P., Rogach, A. L., Eychmüller, A. *J. Phys. Chem. B.* 103 (1999) 10109.
- [33] Zhang, H., Zhou, Z., Yang, B., Gao, M. *J. Phys. Chem. B.* 107 (2003) 8.
- [34] Liu, Y., Yu, J., *J. Colloid and Interface Sci.* 333 (2009) 690.
- [35] Goodman, M. M., Knapp Jr., F. F. *Organometal.* 2 (1983) 1106.
- [36] Kirsch, G., Goodman, M. M., Knapp Jr, F. F. *Organometal.* 2 (1983) 357.
- [37] Klayman, D. L., Griffin., T. S. *J. Am. Chem. Soc.* 95(1973) 197.
- [38] Murcia, M. J., Shaw, D. L., et. al. *Chem. Mater.* 18 (2006) 2219.
- [39] Liu, B., Ren, T., Zhang, J., Chen, H., Zhu, J., Burda, C. *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 551.
- [40] Wang, C., Zhang, H., Zhang, J., Li, M., Sun, H., Yang, B. *J. Phys. Chem. C.* 111 (2007) 2465.
- [41] Suslick, K. S. *Sci. Am.* (1989) 80.

- [42] Ince, N. H., Tezcanli, G., Belen, R. K. e Apikyan, I. G. Appl. Catalys. B: Env. 29 (2001) 167.
- [43] Ariel, V., Garber, V., Rosenfeld, D., Bahir, G. Appl. Phys. Lett. 66 (1995) 2101.
- [44] Trindade, T., O'Brien, P. Chem. Mater. 9 (1997) 523.
- [45] Jose, R., Biju, V., et al. Appl. Phys. A. 79 (2004) 1833.
- [46] Alejo-Armenta, L.N., Espinoza-Beltrán, F.J., Alejo-Armenta, C.A., Vázquez-López, C., Arizpe-Chávez, H., Ramírez-Bon, R., et. al. J. Phys. Chem. Solids. 60 (1999) 807.
- [47] JCPDS-ICDD Card No. 15-0770, International Centre for Diffraction Data, Newton Square, PA.

CAPÍTULO 3 – Análise do comportamento de Qds de CdTe incorporados em hidrogéis de agarose.

3.1 – Introdução

Hidrogéis podem ser definidos como materiais que se apresentam na forma de redes reticuladas, onde as cadeias que formam estas redes interagem entre si por ligações químicas e/ou interações físicas, capazes de formar géis que conseguem absorver, e manter em sua estrutura, grandes quantidades de água [1]. Textura “soft”, capacidade de responder a estímulos externos, biocompatibilidade e a capacidade de armazenamento de água, classificam os hidrogéis como materiais ímpares, sendo por isso utilizados para diversas aplicações, que vão desde a indústria alimentícia, até aplicações nas áreas de biotecnologia [1-5].

A grande capacidade de absorção de água dos hidrogéis é derivada da presença de grupos funcionais hidrofílicos presentes em estruturas que não se dissolvem na água, ou dissolvem-se em determinadas condições, o que permite o aprisionamento das moléculas de água em estruturas confinadas no “esqueleto” dos hidrogéis, sendo estes compartimentos interconectados ou não [1,6,7].

Os hidrogéis podem ser classificados de diferentes formas, no que diz respeito as suas propriedades químicas e físicas. Dentre as classificações mais utilizadas, podemos destacar:

- **Quanto ao método de obtenção:** nesta classificação, temos os hidrogéis do tipo homo-poliméricos, co-poliméricos, ou ainda multi-poliméricos, onde nos dois últimos casos, diferentes combinações e proporções entre os polímeros utilizados para a preparação dos hidrogéis resultam em sistemas com propriedades distintas. Ainda nesta classificação, temos os sistemas do tipo “redes interpenetrantes”, que diferentemente dos sistemas anteriores, são formados pela polimerização de um polímero qualquer A, na

presença de um polímero B, resultando no entrelaçamento das redes poliméricas presentes [8].

- **Quanto à presença de cargas:** nesta classificação, temos a divisão dos hidrogéis em catiônicos, aniônicos, anfotéricos e neutros. Esta classificação baseia-se na predominância ou não destas cargas, o que não significa que alterações no meio possam modificar as características dos grupos funcionais dos hidrogéis, o que pode acarretar em mudanças na presença de determinado tipo de carga nas estruturas.
- **Quanto à estabilidade química:** nesta classificação, temos a divisão dos hidrogéis em estáveis e passíveis de degradação. Hidrogéis estáveis conservam suas propriedades independentemente das condições do meio em que é formado. Por outro lado, os hidrogéis degradáveis sofrem decomposição de sua estrutura, em determinadas condições, como variação de temperatura, pH e incidência de irradiações de alta energia, por exemplo.

Quando as moléculas de água confinadas nos hidrogéis situam-se localizadas em estruturas do tipo canais, este ambiente permite a difusão de moléculas hidrossolúveis dentro da estrutura do hidrogel, com diferentes graus de liberdade que dependem da afinidade das moléculas de água em se manterem “aprisionadas” aos grupos funcionais presentes nas paredes dos hidrogéis. Esta capacidade de aprisionamento de moléculas de água através de seus grupos funcionais permite aos hidrogéis modular a difusibilidade de moléculas em suas estruturas. Isto permite aplicações nas áreas de liberação de fármacos, utilização como meios reacionais, etc [9,10]. Além disso, a diminuição da fração de moléculas de água livre faz com que haja uma diminuição da solubilidade de moléculas pouco solúveis em água, no interior dos hidrogéis. Isto pode resultar em uma migração facilitada destas moléculas para fora da estrutura do hidrogel, o que é de grande valia para pesquisas envolvendo liberação controlada de fármacos, assim como na migração destas moléculas para porções menos hidrofílicas presentes na estrutura do hidrogel. Por fim, a diminuição da difusão de estruturas

maiores como macromoléculas ou nanopartículas resulta em uma reduzida taxa de agregação destas estruturas, em comparação aos sistemas livres em meio aquoso, o que é de grande importância na preparação de compósitos ou blends homogêneas, envolvendo estes elementos. Dentre os vários tipos de polímeros utilizados para a obtenção de hidrogéis, para as mais diversas aplicações, a agarose apresenta-se como um dos que possuem um baixo custo de obtenção, excelente biocompatibilidade, estabilidade química e, por isso, se apresenta como um dos mais utilizados.

Agarose é um polissacarídeo linear que consiste de unidades repetidas de agarobiose (β -D-galactopiranoose, com ligações do tipo 1,3, e 3,6-anidro- α -L-galactopiranoose, com ligações do tipo 1,4) que é extraído do Agar obtido de algas marinhas vermelhas (*Rhodophyta*). Apresenta-se como um polímero não iônico, embora alguns tipos de agarose vendidos comercialmente possam apresentar, principalmente, quantidades variáveis de grupamentos sulfonatos e piruvatos [1,3]. A presença destas “impurezas” pode afetar consideravelmente as propriedades físico-químicas dos hidrogéis derivados deste polissacarídeo.

O mecanismo de formação de hidrogéis de agarose foi primeiramente proposto por Rees [11] e comprovado posteriormente por Arnott e colaboradores [12]. Durante o processo de resfriamento de uma solução a quente de agarose, ocorre uma migração das cadeias do polissacarídeo para fora da solução, onde estas cadeias passam a se organizar em duplas hélices. Com o andamento do processo de gelificação, estas duplas hélices se organizam em arranjos maiores, resultando na formação de cavidades no hidrogel resultante, onde a água fica confinada em poros interligados cujos diâmetros podem variar de 1 a 900 nanômetros, dependendo da concentração final do polissacarídeo [13].

3.2 - Proposta

A proposta desta etapa do trabalho de tese é o estudo espectroscópico dos Qds de CdTe, obtidos pela metodologia descrita no Capítulo 2, na matriz de hidrogéis de agarose, no que diz respeito ao efeito da concentração do polissacarídeo na fluorescência dos Qds, assim como na sua fotoestabilidade, além de se avaliar o comportamento difusional das nanopartículas na matriz do hidrogel. Estas informações serão cruciais para validar a viabilidade da utilização deste sistema para a detecção do pesticida CPF em meio aquoso (ver Capítulo 4 para maiores detalhes).

3.3 – Metodologia experimental:

3.3.1 – Reagentes:

Para a preparação dos hidrogéis, utilizou-se agarose com baixo teor de grupamentos iônicos e elevada transmitância na região de fluorescência dos Qds (530 nm, T > 99%) (Agarose NA, Amersham Biosciences). Para a preparação dos hidrogéis utilizou-se água deionizada, com uma resistividade nominal de 18.2 MΩ.cm.

3.3.2 – Preparação dos hidrogéis contendo Qds de CdTe:

Para a observação do comportamento da fluorescência dos Qds de CdTe em diferentes matrizes de agarose, preparou-se hidrogéis do polissacarídeo em três concentrações finais diferentes: 0.25, 0.50 e 1.00 % (m/v). Para cada amostra, misturou-se 1 mL de suspensão recém preparada de Qds de CdTe para um determinado volume de solução de agarose a 2.00 % e completou-se o volume de cada amostra para um volume final de 2 mL de amostra. Para a obtenção de

amostras homogêneas, com uma boa distribuição de nanopartículas em toda a extensão do hidrogel, a mistura das amostras de Qds com as alíquotas de solução de agarose foi realizada com as amostras na temperatura de 50 °C, acima da temperatura de gelificação da agarose utilizada, o que permitiu uma excelente homogeneização das amostras obtidas. Por fim, as soluções contendo agarose e Qds foram vertidas em tubos de vidro com diâmetro interno de 1 cm, que foram mantidos em repouso e protegidos da exposição de luz até o estágio final de formação dos hidrogéis, aproximadamente 20 minutos.

3.3.3 – Estudos de fotoestabilidade dos Qds incorporados ao hidrogéis:

Para a observação do efeito dos grupos funcionais presentes nas paredes dos hidrogéis de agarose, sobre a fluorescência dos Qds, realizou-se um experimento de fotoestabilidade dos Qds em suspensão e incorporados nos hidrogéis. As amostras foram preparadas com diluições iguais das nanopartículas, sendo que a amostra contendo agarose foi preparada para uma concentração final do polissacarídeo de 0,50% (m/v). As amostras foram expostas a irradiação direta de luz no comprimento de onda de 365 nm, sendo coletados os valores de intensidade em 520 nm (máximo de fluorescência dos Qds utilizados). A irradiação foi realizada durante duas horas, sendo os valores de intensidade coletados a cada 30 segundos.

3.3.4 – Estudos de difusão dos Qds através de hidrogéis com diferentes concentrações de agarose:

Como forma de avaliar o grau de interação entre os grupos funcionais hidrofílicos dos hidrogéis de agarose com a superfície dos Qds de CdTe, realizou-se um experimento simples de difusão dos Qds incorporados nos hidrogéis em

função de uma segunda fase, composta por hidrogéis de mesma composição, mas sem a presença dos Qds. Desta forma, inicialmente foram preparados duas amostras de hidrogéis de agarose, com concentrações de 0,50 (**Gel 1**) e 1,00% (**Gel 2**) de agarose (m/v), sem Qds incorporados. As soluções a quente de agarose foram vertidas em tubos de vidro com diâmetro interno de 1 cm, que foram mantidos em repouso e protegidos da exposição de luz até o estágio final de formação dos hidrogéis, aproximadamente 20 minutos. Em seguida, sobre os hidrogéis já formados, foram vertidas 0,5 mL de solução contendo agarose e Qds, preparadas pelo procedimento descrito na Seção 3.3.2. Novamente, as amostras foram mantidas em repouso para a finalização do processo de gelificação desta segunda camada de hidrogel. Por fim, a fluorescência das amostras foram medidas na região da interface entre os dois hidrogéis recém-preparados, com e sem Qds, em intervalos de tempo distintos após a preparação: 1 h, 24h e 48h.

3.3.4 – Caracterização Espectroscópica dos hidrogéis:

Os estudos de fluorescência, difusão e fotoestabilidade foram realizados utilizando-se um espectrofluorímetro ISS K2, com resolução de 0,5 nm e lâmpada de Xenônio de 300 W como fonte de excitação, fazendo-se uma varredura entre 400 até 650 nm. As configurações de fendas utilizadas foram: 2 mm / 2 mm para excitação e 1 mm / 1mm para fluorescência.

3.4 – Resultados e Discussão:

A escolha da agarose utilizada nos experimentos realizados teve por objetivo a redução de interações indesejáveis entre os Qds de CdTe e as paredes dos hidrogéis formados. Além disso, a agarose escolhida para a realização dos experimentos possui uma elevada transmitância na região de fluorescência dos Qds utilizados, o que aumenta a sensibilidade da detecção das emissões das amostras estudadas.

A Figura 3.1 exibe os espectros de fluorescência das amostras de Qds em suspensão e incorporados nos hidrogéis de agarose com diferentes concentrações do polissacarídeo. Como podemos avaliar inicialmente, não se observa deslocamentos da banda de fluorescência das nanopartículas contidas nos hidrogéis, o que indica, a princípio, a não formação de novos estados eletrônicos na superfície dos Qds, por parte de interações com as paredes do hidrogel. Estas interações poderiam ocasionar desativações no processo de formação e/ou recombinação dos éxcitons formados após excitação dos Qds, resultando no deslocamento da fluorescência para regiões de comprimentos de onda maiores (de menos energia). Contudo, observando-se o início das bandas de fluorescência, entre 450 e 475 nm, das amostras de Qds incorporados nos hidrogéis, pode-se observar um aumento considerável da linha de base dos espectros, que associamos ao espalhamento do feixe de excitação das amostras devido à estrutura do próprio hidrogel. Diferenças entre o índice de refração do polissacarídeo e da água dispersa no hidrogel resultam no aumento da difração não direcionada do feixe de excitação, ocasionando um aumento da linha de base dos espectros de fluorescência obtidos. Este fenômeno de espalhamento é bastante conhecido e útil para a estimativa indireta do diâmetro dos poros em hidrogéis de agarose [14].

Como forma de eliminar o efeito do espalhamento devido a refrações nos hidrogéis, corrigiu-se os espectros de fluorescência através da subtração das

intensidades, em cada comprimento de onda, pelo valor da intensidade da fluorescência em 460 nm. Os espectros corrigidos estão exibidos na Figura 3.2.

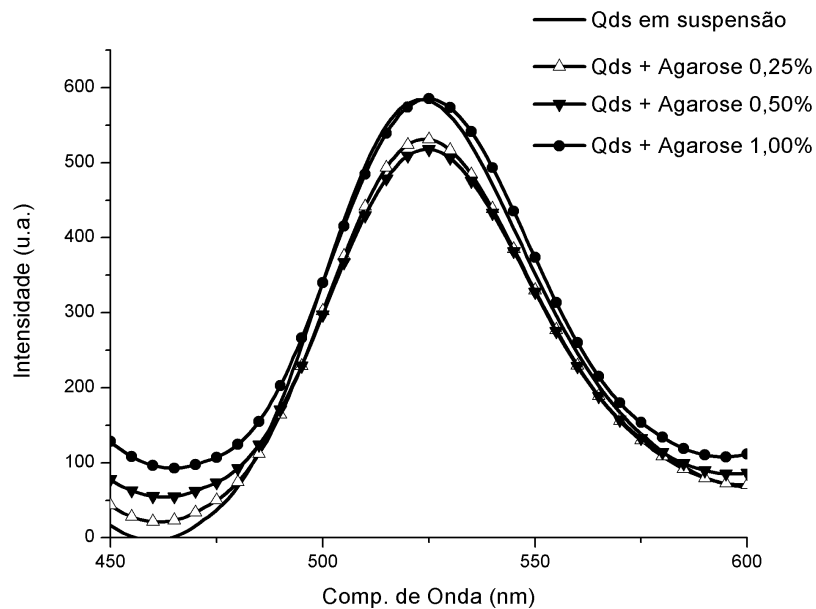


Figura 3.1 – Espectros de fluorescência das amostras de Qds de CdTe livres e incorporados em hidrogéis de agarose.

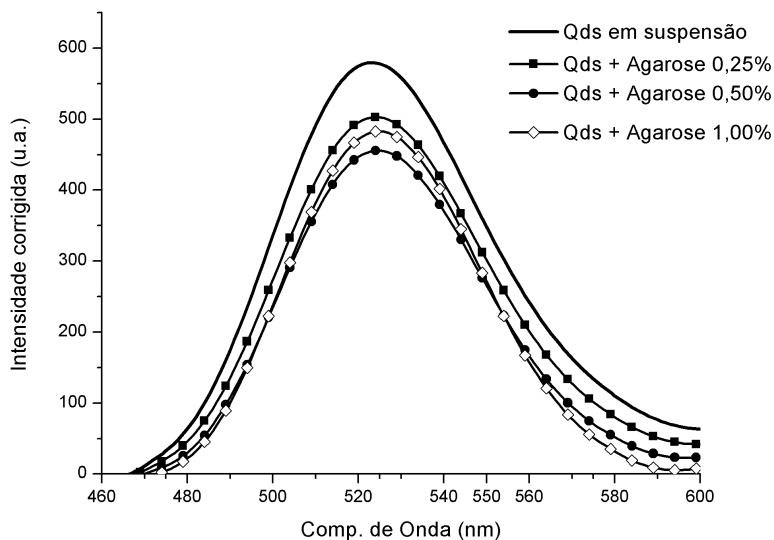


Figura 3.2 - Espectros de fluorescência corrigidos das amostras de Qds de CdTe livres e incorporados em hidrogéis de agarose.

Analisando-se os espectros corrigidos acima, pode-se avaliar de maneira mais confiável as variações nas intensidades de fluorescência das amostras estudadas. Verifica-se que há uma redução nas intensidades das emissões das amostras dos hidrogéis, comparando-se com a amostra de suspensão livre dos Qds. Associamos esta redução nas intensidades das amostras a determinados efeitos: (i) diminuição da excitação direta dos Qds dispersos nos hidrogéis, devido ao próprio efeito de espalhamento já observado; (ii) com o aumento da concentração de agarose nos hidrogéis, há uma diminuição no diâmetro das cavidades dos hidrogéis [14], assim como uma diminuição da água livre nestas cavidades, resultando em um aumento da concentração dos Qds na fase dispersa dos hidrogéis, o que ocasiona um efeito de auto-supressão da luminescência das nanopartículas; (iii) a diminuição da água livre com o aumento da concentração de agarose no hidrogel pode resultar na diminuição de moléculas de água capazes de se adsorver sobre a superfície dos Qds, diminuindo a estabilização de defeitos de superfície das nanopartículas comprometendo finalmente a fluorescência dos Qds. Trabalhos na literatura [15] mostram que o efeito do meio onde se encontram Qds solúveis em água é de suma importância para a melhoria ou o comprometimento de sua luminescência, sendo a presença de moléculas de água livre para adsorção sobre as nanopartículas o principal fator que ocasiona este efeito. Contudo, a amostra de hidrogel contendo 1,00% de agarose apresentou-se com uma intensidade de fluorescência superior a amostras de 0,50% de agarose. Neste caso, associamos este pequeno aumento na intensidade desta amostra a interações entre os grupos funcionais das paredes dos hidrogéis (preferencialmente grupos OH) e a superfície dos Qds. Estas interações podem atuar como um processo de passivação fraca dos Qds, mas capaz de melhorar discretamente a intensidade da fluorescência dos Qds. Ko e colaboradores [16] observaram efeito semelhante na melhoria da luminescência de Qds de CdSe/ZnS incorporados em hidrogéis de agarose a 1,00% sendo, neste caso, o efeito da matriz do hidrogel associado ao aumento do tempo no qual as nanopartículas

estão aptas para a geração de decaimentos radiativos, após excitação, em comparação ao tempo disponível para processos de decaimento não radiativos.

De um forma geral, com a realização dos experimentos descritos acima, podemos afirmar que as possíveis interações entre os hidrogéis de agarose e os Qds de CdTe não são significantes no que diz respeito ao comprometimento da fluorescências das nanopartículas utilizadas, o que reforça a viabilidade desta matriz como suporte para a utilização em experimentos de detecção de espécies capazes de interagir com os Qds.

Com o intuito de reforçar a aplicabilidade dos hidrogéis de agarose para a incorporação de Qds de CdTe e aplicação como sensores, realizou-se um estudo comparativo entre a fotoestabilidade dos Qds livres e incorporados em géis de agarose 0,50%, com o intuito de avaliar o efeito do hidrogel sobre a estabilidade dos Qds a processos fotooxidativos gerados pela excitação prolongada dos Qds. A Figura 3.3 exibe as curvas de intensidade máxima (em 520 nm) das amostras de Qds em suspensão e no hidrogel, expostas a uma excitação constante em 365 nm, durante um tempo total de duas horas.

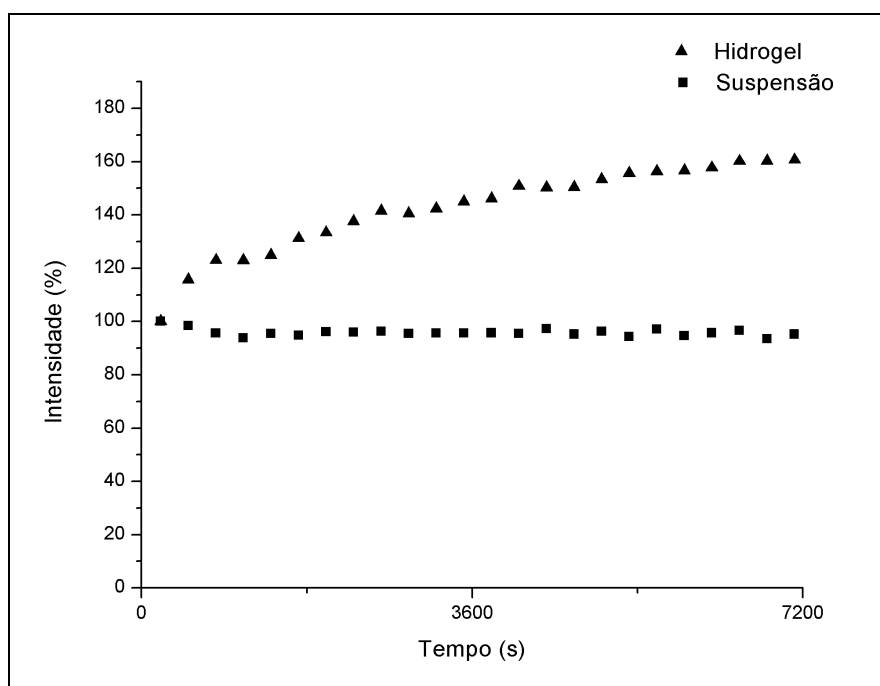


Figura 3.3 – Curvas de intensidade das amostras de Qds expostas a uma excitação constante durante duas horas.

Analisando-se as curvas apresentadas, inicialmente pode-se observar que a intensidade da amostra em suspensão praticamente não sofreu alterações durante toda a irradiação, o que demonstra a estabilidade dos Qds sintetizados frente a longos períodos de exposição a fótons de energia elevada, o que justifica a utilização destes materiais em substituição a fluoróforos orgânicos convencionais [17]. No caso do hidrogel, verifica-se um aumento gradativo da intensidade da amostra de Qds incorporados no hidrogel de agarose. Neste caso, o aumento na intensidade de fluorescência pode ser explicado como resultado da fotólise das moléculas de ácido mercaptoacético (AMA), utilizadas como estabilizantes das nanopartículas. Em condições alcalinas e sob excitação ultravioleta constante, as moléculas de tióis na superfície dos Qds e livres na suspensão sofrem uma quebra da ligação C-S [18], resultando na liberação de íons sulfeto no meio que ao combinar-se com o excesso de íons Cd^{+2} em solução produzem uma camada de CdS sobre a superfície dos Qds de CdTe. Esta camada externa de CdS atua como passivante, eliminando defeitos na superfície dos Qds e promovendo um aumento na intensidade da fluorescência das nanopartículas. Contudo, sabe-se que este processo ocorre nas duas situações estudadas, porém, no caso do hidrogel, as partículas sofrem uma redução drástica da sua mobilidade, sendo apenas os Qds localizados na seção de irradiação do feixe de excitação passíveis de sofrer o processo de passivação, enquanto que os Qds em suspensão possuem uma alta mobilidade, sendo o processo de passivação menos efetivo, pois há uma troca constante dos Qds localizados na seção do feixe de irradiação.

Por fim, como última metodologia para avaliar o grau de interação entre os Qds e os grupos funcionais na superfície dos canais dos hidrogéis, realizou-se a verificação da luminescência de Qds incorporados em hidrogéis de agarose na concentração de 0,50%, localizados na interface com amostras de hidrogéis 0,50 (**Gel 1**) e 1,00% (**Gel 2**), sem a presença de Qds incorporados. Os espectros das amostras foram coletados com o feixe de excitação incidindo na interface entre os hidrogéis contendo Qds e dos hidrogéis sem a incorporação inicial das nanopartículas, com o intuito de avaliar temporalmente a presença de migração de

nanopartículas de um compartimento para outro, devido a diferença de concentração de Qds entre os compartimentos, e estimar, de forma qualitativa a velocidade com que ocorre essa migração das partículas. As Figuras 3.4 e 3.5 exibem, respectivamente, imagens dos hidrogéis analisados temporalmente e os espectros de fluorescência obtidos nos respectivos intervalos de tempo.

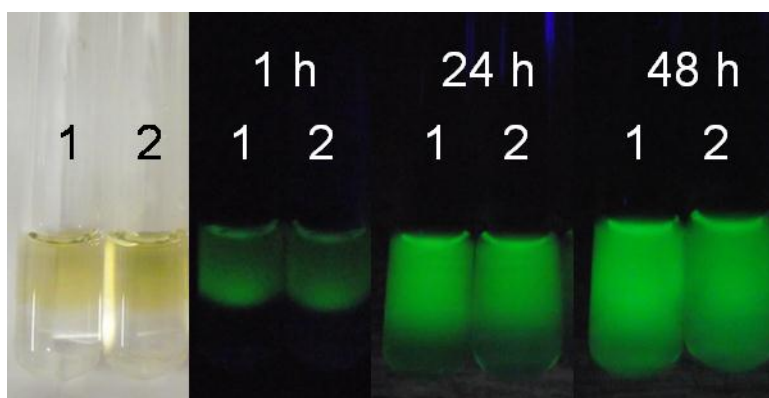


Figura 3.4 – Imagens dos hidrogéis analisados. Da esquerda para direita: hidrogéis recém preparados e sob luz ambiente e hidrogéis sob luz UV após 1, 24 e 48 horas do preparo, respectivamente.

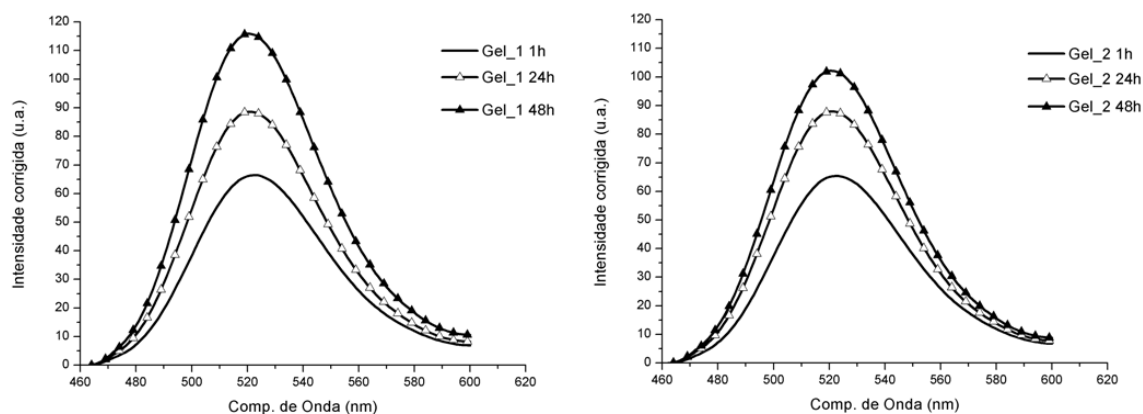


Figura 3.5 – Espectros de fluorescência das amostras Gel 1 e Gel 2 após 1, 24 e 48 horas após o preparo dos hidrogéis.

Como pode ser observado nas figuras acima, uma fração dos Qds incorporados inicialmente na porção superior dos hidrogéis analisados difunde lentamente para a porção inferior do hidrogel, como resultado da diferença de

concentração dos Qds entre as porções. Analisando-se os espectros das amostras com o decorrer do tempo verifica-se que a fluorescência obtida na interface entre as porções dos hidrogéis nas amostras estudadas apresentam praticamente o mesmo aumento da intensidade para os tempos de 1 e 24 horas, sendo que a amostra **Gel 1** possui um aumento mais significativo da fluorescência no tempo de 48 horas, em relação à amostra **Gel 2**.

Acredita-se que as observações acima apresentadas podem ser explicadas utilizando-se o seguinte formalismo: a fluorescência na interface entre os hidrogéis nas duas amostras estudadas é proporcional a concentração de Qds na secção de incidência do feixe de excitação. Inicialmente, para o tempo de 1 hora, não houve diferença significativa da intensidade de fluorescência das amostras analisadas, devido a velocidade inicial com que os Qds difundem para os hidrogéis com 0,50 e 1,00 % possuírem valores semelhantes. Com o decorrer do tempo, devido à diferença de concentração de Qds entre as porções dos hidrogéis das amostras, ocorre uma maior migração de Qds para a porção inferior dos hidrogéis, o que ocasiona um aumento na intensidade da fluorescência das amostras, como pode ser verificado para o tempo de 24 horas e 48 horas. Contudo, como a porosidade da porção de hidrogel a 1,00 % é inferior a porosidade do hidrogel a 0,50 %, há uma dificuldade maior de difusão das nanopartículas, com o decorrer de tempos mais longos, na amostra **Gel 2** em comparação a amostra **Gel 1**, o que explica a diferença de intensidade na fluorescência das amostras para o tempo de 48 horas. Com a explicação elaborada acima, podemos extrair algumas conclusões importantes; (i) Fica claro que a difusão dos Qds dentro da matriz dos hidrogéis é bastante reduzida, o que para aplicações de detecção de substâncias é importante, uma vez que a taxa de agregação de Qds dentro dos hidrogéis também fica reduzida, o que diminui efeitos de supressão de fluorescência inespecíficos, devido a formação de aglomerados de nanopartículas, e melhora a sensibilidade de detecção dos Qds, frente a interação com compostos diversos; (ii) Mais uma vez observa-se que a interação entre as paredes dos hidrogéis e os Qds não é significativa para o comprometimento da fluorescência das nanopartículas, o que indica novamente a utilização da agarose como matriz para

aplicações de detecção de compostos diversos utilizando-se os Qds como sensores, tendo em vista que observou-se, nas duas amostras estudadas, um aumento gradativo da fluorescência da porção dos hidrogéis que inicialmente não apresentavam a presença de Qds. Caso houvesse interações, entre os Qds e as paredes dos hidrogéis, capazes de produzir a supressão da fluorescência dos Qds, provavelmente não se observariam um aumento significativo na fluorescência das amostras com o tempo, como pode ser visto nas amostras estudadas.

3.5 – Conclusão:

Nesta etapa do trabalho de tese, desenvolvemos uma metodologia simples para analisar o comportamento da fluorescência dos Qds de CdTe incorporados em hidrogéis de agarose, sob diferentes aspectos. Pode-se observar que as características dos espectros de fluorescência dos Qds incorporados não sofrem alterações significativas devido a possíveis interações com as matrizes de agarose, o que justifica e embasa o estudo da viabilidade deste sistema como meio de detecção de analitos, como pode ser visto no Capítulo 4 desta tese, levando-se em consideração que as alterações espectroscópicas que venham a ser observadas durante os experimentos de detecção poderão ser relacionadas a presença dos analitos e não da contribuição inespecífica da interferência das matrizes de agarose utilizadas.

3.6 - Bibliografia

- [1] Gerlach, G., Arndt, K. Hydrogel Sensors and Actuators. Springer-Verlag, Berlin, 2009.
- [2] Bird, S. P., Baker, L. A. Analyst. 2011.
- [3] Barbucci, R. Hydrogels – Biological properties and applications. Springer-Verlag, Milan, 2009.
- [4] Richter, a., Paschew, G., Klatt, S., Lienig, J., Arndt, K.-F., Adler, H. P. Sensors. 8 (2008), 561.
- [5] Guenther, M., Kuckling, D., Corten, C., Gerlach, G., Sorber, J., Suchaneck, G., Arndt, K.-F. Sens. Actuat. B. 126 (2007), 97.
- [6] Müller-Plathe, F. Macromolecules. 31 (1998), 6721.
- [7] Gehrke, S. H., Fisher, J. P., Palasis, M., Lund, M. E. Annals of the New York Academy of Sciences. 831 (1997), 179.
- [8] Myung, D., Waters, D., Wiseman, M., Duhamel, P., Noolandi, J., Ta, C. N., Frank, C. W. Polym. Advn. Technol. 19 (2008), 647.
- [9] Qiu, Y., Park, K. Adv. Drug Deliver. Rev. 53 (2001), 321.
- [10] Mohan, Y. M., Lee, K., Premkumar, T., Geckeler, K. E. Polymer. 48 (2007), 158.
- [11] Rees, D.A. Biochem. J. 126 (1972), 257.
- [12] Arnott, S., et al. J. Mol. Biol. 90 (1974), 269.
- [13] Fatin-Rouge, N., Milon, A., Buffle, J., Goulet, R. R., Tessier, A. J. Phys. Chem. B. 107 (2003), 12126.
- [14] Narayanan, J., Xiong, J., Liu, X. J. Phys.: Conference Series. 28 (2006), 83.
- [15] Mandal, A., Nakayama, J., Tamai, N., Biju, V., Isikawa, M. J. Phys. Chem. B. 111 (2007), 12765.
- [16] Ko, H. C., Yuan, C. T., Lin, S. H., Tang, J. App. Phys. Lett. 96 (2010), 012104.
- [17] Resch-Genger, U., Grabolle, M., Cavaliere-Jaricot, S., Nitschke, R., Nann, T. Nat Meth. 5 (2008), 763.

- [18] Smith, A. M., Duan, H., Rhyner, M. N., Ruan, G., Nie, S. Phys. Chem. Chem. Phys. 8 (2006), 3895.

CAPÍTULO 4 – Detecção de clorpirifos em meio aquoso, utilizando Qds e β -CD imersos em hidrogel de agarose.

4.1 – Introdução

Hidrogéis apresentam-se como uma promissora classe de sistemas híbridos capazes de responder a diferentes estímulos externos como variação de temperatura, mudança de pH, presença de determinadas moléculas, etc e por este motivo vem sendo denominados como materiais "inteligentes" com grande aplicação na área de sensores físico-químicos [1-4]. A versatilidade de incorporação de novos grupos funcionais nos polímeros formadores de determinados hidrogéis, imobilização de biomoléculas e nanopartículas com propriedades distintas, permitem um aumento significativo de especificidade e sensibilidade de detecção de diversos tipos de analitos, o que justifica a utilização destes materiais para o desenvolvimento de novos sensores [2]. Além de propiciarem um ambiente cujas condições de força iônica, pH e difusibilidade possam ser controladas de forma fina, os hidrogéis ainda funcionam como um ambiente de estabilização de estruturas utilizadas no processo de detecção, cujas características de estabilidade não são tão favoráveis em condições adversas. Em outras palavras, os hidrogéis permitem uma melhor estabilidade de biomoléculas e nanoestruturas que atuam como elementos de reconhecimento e detecção de analitos, aumentando a robustez final do sistema sensor. Além disso, a diminuição da difusibilidade de espécies dentro da matriz dos hidrogéis reduz a taxa de agregação de nanoestruturas incorporadas, o que minimiza alterações inespecíficas nas propriedades destes elementos sensores, aumentando a resposta de detecção do sistema, quando comparada com a resposta destas nanoestruturas em suspensão livre, onde a taxa de agregação é bem superior.

Outra classe de novos sistemas híbridos que vem sendo utilizados para a detecção de diversos tipos de analitos são nanopartículas funcionalizadas com

ciclodextrinas modificadas, ligadas quimicamente a superfície de nanopartículas [5-12]. Nestes sistemas, as ciclodextrinas atuam como elemento de reconhecimento e encapsulamento dos analitos que, após complexação com a cavidade das ciclodextrinas, produzem mudanças, principalmente, nas propriedades espectroscópicas das nanopartículas, como absorbância, fluorescência, potenciais de oxidação e/ou redução, etc [5,6,8,11] (Figura 4.1). Trabalhos na literatura [7-12] mostram a viabilidade na utilização de Qds funcionalizados com ciclodextrinas modificadas com grupamentos tióis para a utilização como sensores de diversos tipos de analitos. Contudo, nestes trabalhos, não fica clara a estabilidade coloidal das nanopartículas funcionalizadas, na presença dos analitos, o que é de grande importância para evitar uma interpretação equivocada da supressão da fluorescência dos Qds, utilizada como resposta a presença dos analitos, ocasionada pela agregação das nanopartículas, devido a diminuição de sua estabilidade coloidal, e não pela interação específica com os analitos.

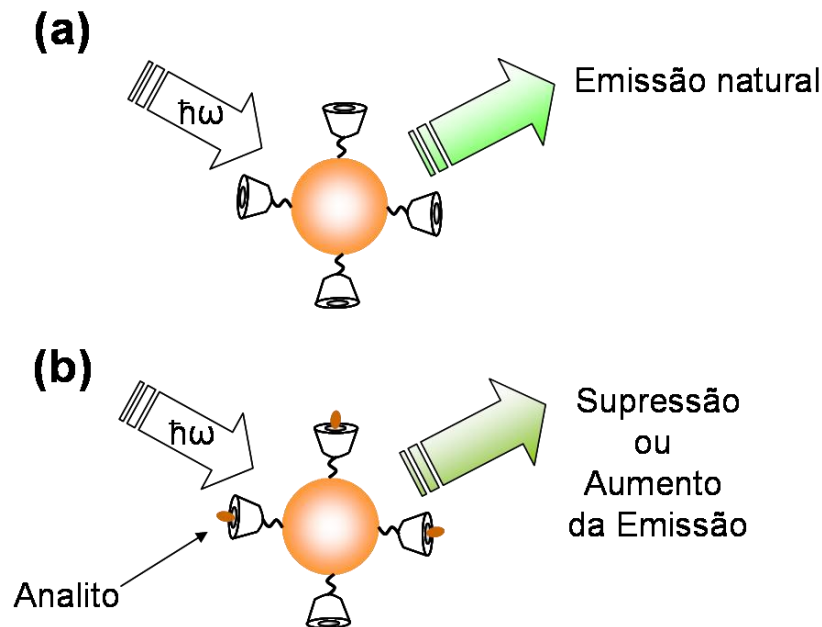


Figura 4.1 – Possíveis alterações espectroscópicas de nanopartículas modificadas com ciclodextrinas: (a) fluorescência natural de uma nanopartícula na ausência de analito; (b) Aumento ou supressão da fluorescência podem ocorrer na presença do analito complexado.

4.2 - Proposta

A proposta desta parte da tese é avaliar o comportamento espectroscópico dos Qds de CdTe obtidos pela metodologia proposta no Capítulo 2 na presença de diferentes concentrações de clorpirifós (CPF) em meio aquoso. O comportamento da fluorescência será feito na presença e ausência de β -CD complexada as moléculas do pesticida, em dois ambientes distintos: (i) suspensão aquosa; e (ii) em matriz de hidrogéis de agarose.

4.3 - Metodologia Experimental:

4.3.1 - Reagentes:

Para a realização dos experimentos desta etapa, preparou-se previamente uma solução “mãe” do pesticida puro (Chlorpyrifos PESTANAL®, analytical standard, Fluka) em acetonitrila (Sigma Aldrich) pura, na concentração final de 100 ppm. Para avaliar a capacidade de complexação do pesticida com β -CD (98%, Sigma Aldrich), preparou-se uma amostra de 20 mL na concentração de 20 ppm em solução 4:1 de água:acetonitrila. Para os experimentos de detecção, foram retiradas alíquotas da solução “mãe” para a preparação das soluções em água deionizada, nas concentrações de 0,1 e 1,0 ppm.

A suspensão aquosa de Qds de CdTe foi obtida pela metodologia descrita no Capítulo 2.

4.3.2 - Confeção dos experimentos:

4.3.2.1 – Estudo da complexação do CPF com β -CD em meio aquoso:

Como primeiro experimento para mostrar a viabilidade da metodologia de detecção proposta, avaliou-se a capacidade de complexação entre o pesticida estudado e as moléculas de β -CD, para a formação de um complexo de inclusão.

Neste experimento, analisou-se as mudanças no espectro de absorbância de uma amostra de CPF, na concentração de 20 ppm na presença de diferentes concentrações de β -CD: 0.00, 0.176, 0.352, 0.529, 0.881 e 1.32 mM . As amostras de CPF e β -CD foram misturadas e após 1 hora foram coletados os espectros de absorbância de cada amostra.

4.3.2.2 - Detecção em solução aquosa:

Os experimentos de detecção em solução aquosa foram realizados, seguindo-se o seguinte procedimento:

- **Amostras na ausência de β -CD:** para 1,5 mL de água deionizada (branco de fluorescência), da solução de pesticida 0,1 ppm e da solução de pesticida 1,0 ppm, adicionou-se 0,5 mL da suspensão previamente sintetizada dos Qds de CdTe. Após homogeneização, as amostras foram mantidas sem agitação durante 10 minutos, antes das leituras de fluorescência;
- **Amostras na presença de β -CD:** inicialmente, para 20 mL de água deionizada (branco de fluorescência), da solução de pesticida 0,1 ppm e da solução de pesticida 1,0 ppm, adicionou-se 50 mg de β -CD (0,044 mmol) em cada amostra. Em um segundo momento, as amostras foram submetidas a um banho de ultrassom, durante 5 minutos, para a dissolução total da β -CD. Em seguida, as amostras foram mantidas sem agitação durante uma hora, para a formação dos complexos de inclusão entre os pesticidas e as ciclodextrinas. Por fim, para 1,5 mL de cada amostra contendo β -CD, adicionou-se 0,5 mL da suspensão previamente sintetizada

dos Qds de CdTe. Após homogeneização, as amostras foram mantidas sem agitação durante 10 minutos, antes das leituras de fluorescência.

4.3.2.3 - Detecção em hidrogéis de agarose:

Para a realização dos experimentos de detecção dentro do hidrogéis de agarose, inicialmente preparou-se uma solução de agarose a 1%, onde 250 mg de agarose para eletroforese, de alto peso molecular foi dissolvida em 25 mL de água deionizada, com a utilização de um microondas doméstico. A solução obtida foi adicionada rapidamente as soluções descritas abaixo, ainda com temperatura elevada, para garantir a formação de hidrogéis homogêneos, no que diz respeito a distribuição dos pesticidas e Qds, durante o processo de gelificação.

As amostras preparadas na presença de agarose foram obtidas seguindo-se o seguinte procedimento:

- **Amostras na ausência de β -CD:** para 1,5 mL de água deionizada (branco de fluorescência), da solução de pesticida 0,1 ppm e da solução de pesticida 1,0 ppm, adicionou-se 0,5 mL da suspensão previamente sintetizada dos Qds de CdTe. Após homogeneização, as amostras foram misturadas a 2 mL da solução ainda quente de agarose, para a obtenção de hidrogéis na concentração final de agarose de 0,5%. Após homogeneização, as amostras foram mantidos em repouso até a completa gelificação dos hidrogéis;
- **Amostras na presença de β -CD:** inicialmente, para 20 mL de água deionizada (branco de fluorescência), da solução de pesticida 0,1 ppm e da solução de pesticida 1,0 ppm, adicionou-se 50 mg de β -CD em cada amostra. Em um segundo momento, as amostras foram submetidas a um banho de ultrassom, durante 5 minutos, para a dissolução total da β -CD. Em seguida, as amostras foram mantidas sem agitação durante uma hora, para a formação dos complexos de inclusão entre os pesticidas e as ciclodextrinas. Por fim, para 1,5 mL de cada amostra contendo β -CD, adicionou-se 0,5 mL da suspensão previamente sintetizada dos Qds de

CdTe. Após homogeneização, as amostras foram misturadas a 2 mL da solução ainda quente de agarose, para a obtenção de hidrogéis na concentração final de agarose de 0,5%. Após homogeneização, as amostras foram mantidas em repouso até a completa gelificação dos hidrogéis.

4.3.3 - Caracterização espectroscópica das amostras:

As amostras preparadas foram caracterizadas quanto as mudanças espectroscópicas na fluorescência dos Qds de CdTe nas diferentes condições, na presença e ausência do CPF. Os espectros de fluorescência foram obtidos com a excitação em 365 nm. Como forma de corrigir os espectros, devido a flutuações na tensão da rede elétrica de alimentação do espectrofotômetro, a cada medição realizada, efetuou-se a medição da fluorescência de uma solução padrão de fluoresceína 0,1 mM (em 0,1% de NaOH), onde cada espectro de fluorescência das amostras analisadas foram normalizados pela divisão de cada espectro pelo máximo de intensidade da amostra de fluoresceína.

4.4 - Resultados e Discussão:

A primeira questão a ser respondida para a realização dos experimentos de detecção dos pesticidas é a capacidade de formação de complexos de inclusão entre moléculas do CPF frente a presença de β -CD no meio. Para responder a esta questão, executou-se a aquisição dos espectros de absorbância da solução de CPF, na presença de quantidades crescentes de β -CD. Como já explicitado no Capítulo 1, existem outras técnicas capazes de caracterizar a formação de complexos de inclusão. Contudo, devido a baixíssima solubilidade do pesticida estudado em meio aquoso, a utilização de técnicas como RMN, por exemplo, não apresentariam uma boa resposta para as condições e concentrações utilizadas de ciclodextrinas e analito. A Figura 4.2 exibe os espectros de absorbância das

amostras de CPF na presença de β -CD. Como primeira observação, pode-se observar que não houve deslocamento batocrômico ou hipsocrômico das bandas de absorbância do pesticida, na presença do complexante (β -CD). Contudo, como pode ser observado na Figura 4.3, que exibe uma ampliação das bandas de absorbância centradas em 287 nm, pode-se verificar um aumento discreto, mas significativo, na intensidade da banda com o aumento da concentração de β -CD no meio, o que indica a formação do complexo entre as moléculas de CPF e de β -CD. Esta banda é atribuída à presença do grupo piridínico na estrutura do CPF, sendo este o grupo mais favorável a complexação com as moléculas de β -CD.

Como já descrito na literatura [13-15], a formação de complexos de inclusão entre diversos tipos de moléculas e ciclodextrinas de diferentes dimensões resultam em alterações tanto na absorbância, quanto na fluorescência (quando existente), devido à alta densidade eletrônica presente no interior da cavidade das ciclodextrinas. Este ambiente diferenciado pode resultar tanto na melhoria quanto no comprometimento da formação dos estados excitados das moléculas hospedeiras o que é representado como aumentos ou diminuições nas intensidades das respectivas bandas de absorbância e/ou fluorescência.

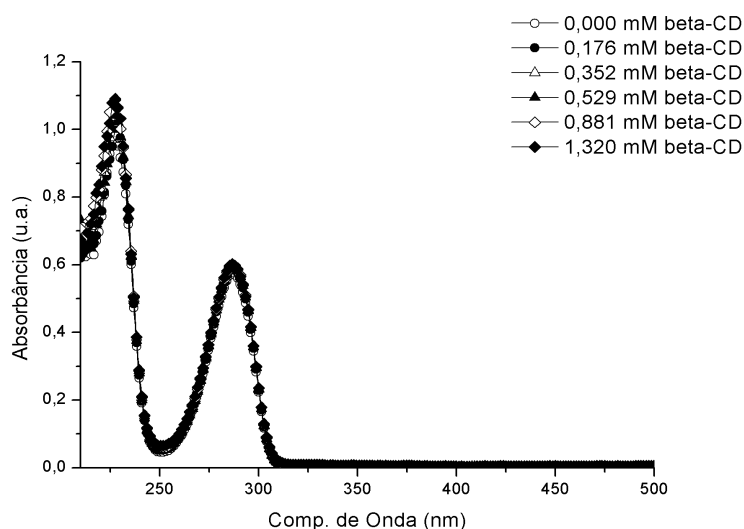


Figura 4.2 – Espectros de absorbância da solução de CPF, com diferentes concentrações de β -CD.

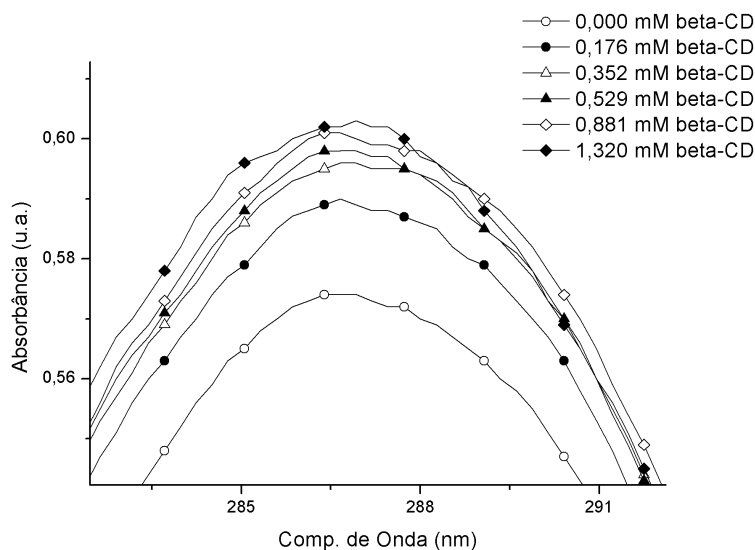
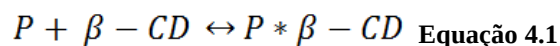


Figura 4.3 – Aumento na intensidade da banda de absorvância relacionada ao grupo piridínico do pesticida, em diferentes concentrações de β -CD.

O aumento na intensidade da absorvância pode ser utilizado para a obtenção da constante de formação do complexo ligante-hospedeiro (β -CD/P, onde P representa o pesticida), utilizando-se o formalismo desenvolvido por Benesi e Hildebrand [16]. Através desse formalismo, podemos representar a formação do complexo entre o pesticida e o β -CD através da equação geral:



Baseando-se na equação acima, podemos definir que a constante de formação do complexo de inclusão pode ser descrito como:

$$K_f = \frac{[P * \beta - CD]}{[P][\beta - CD]} \quad \text{Equação 4.2}$$

Se trabalharmos com as condições de que (i) $[P] \gg [P \cdot \beta\text{-CD}]$ e (ii) que o β -CD não possui absorvância na região do espectro atribuída ao hospedeiro, podemos derivar as relações entre concentrações das espécies no meio, representadas na Equação 4.2, e variações na absorvância, obtendo-se a seguinte relação:

$$\frac{[P]}{(A-A_0)} = \frac{1}{K_f * \epsilon_0} * \frac{1}{[\beta-CD]} + \frac{1}{\epsilon_0} \quad \text{Equação 4.3}$$

Na Equação 4.3, $(A-A_0)$ representa a diferença entre a absorbância das amostras com diferentes concentrações de β -CD, e da amostra sem β -CD, e ϵ_0 representa a absorvidade molar do pesticida livre. O gráfico de $[P]/(A-A_0)$ versus $1/[\beta-CD]$ está representado na Figura 4.4. O ajuste linear dos pontos resultando numa reta indica que nas condições experimentais utilizadas, a estequiometria da complexação entre as espécies é 1:1 [16-20]. A divisão entre o coeficiente linear e o angular nos fornece o valor de $K_f = 5667,63 \text{ mol}^{-1}\text{L}$.

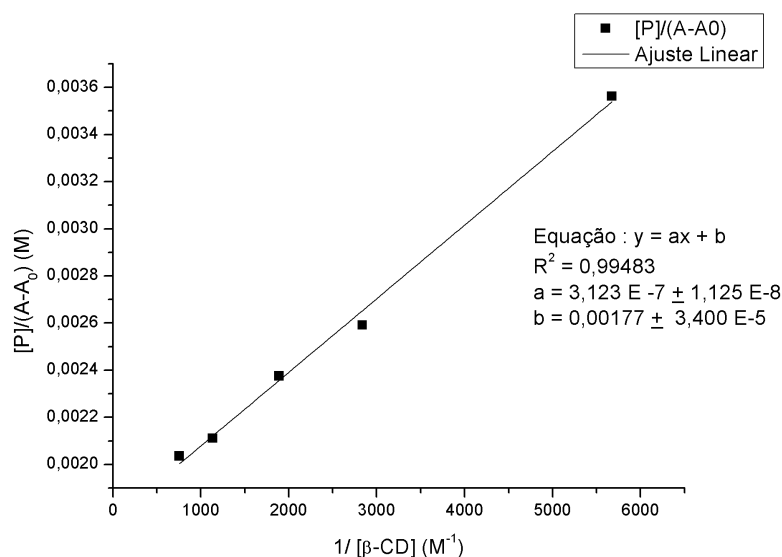


Figura 4.4 – Dados experimentais e ajuste linear da relação entre o recíproco de $[\beta-CD]$ com o recíproco da variação de absorbância das amostras.

O valor obtido para a constante de formação do complexo de inclusão confirma que houve a formação da inclusão da molécula de CPF com a cavidade da β -CD. Contudo, baseando-se nas dimensões do grupo piridínico do pesticida, assumimos que os átomos de cloro presentes no anel aromático resultam no aumento da sua hidrofobicidade, o que justificaria o valor elevado obtido para a constante de formação do complexo de inclusão. Contudo, as dimensões do próprio anel são, também, consideravelmente aumentadas, o que resultaria em

um impedimento estérico que comprometeria a formação do complexo. Com isso, acreditamos que a formação do complexo, demonstrada pelos espectros de absorbância apresentados, seja representada pelo encapsulamento parcial do anel piridínico na cavidade da β -CD. Embora se leve em consideração a parcialidade do encapsulamento, o aumento da hidrofobicidade deste grupo resulta em uma grande afinidade pela cavidade do hospedeiro, justificando dessa forma o valor encontrado para a constante K_f . Com a constatação experimental da formação dos complexos de inclusão, partiu-se para a realização dos experimentos de detecção do pesticida, em meio aquoso, com o intuito de verificar a participação da β -CD nas prováveis modificações espectrais dos Qds de CdTe utilizados como sondas luminescentes.

As Figuras 4.5 e 4.6 exibem, respectivamente, os espectros de fluorescência das amostras em suspensão na ausência e presença dos complexos entre o CPF e β -CD. Em ambos os grupos, observou-se uma redução na intensidade da fluorescência dos Qds com o aumento da concentração do CPF no meio. Contudo, a redução da intensidade das emissões apresentou-se mais pronunciada para as amostras sem β -CD. Esta diferença nas reduções das emissões é melhor visualizada na Figura 4.7, onde se pode observar o comportamento da intensidade da fluorescência de todas as amostras analisadas.

Fica claro nas figuras que a diferença nas intensidades das emissões entre as amostras contendo 0,1 e 1,0 ppm de CPF não é tão pronunciada, o que pode ser um indicativo de saturação dos sítios de ligação na superfície dos Qds, no que diz respeito a interações com as moléculas do pesticida, tendo em vista que o aumento em dez vezes na concentração do CPF não resultou em uma alteração proporcional da fluorescência dos Qds.

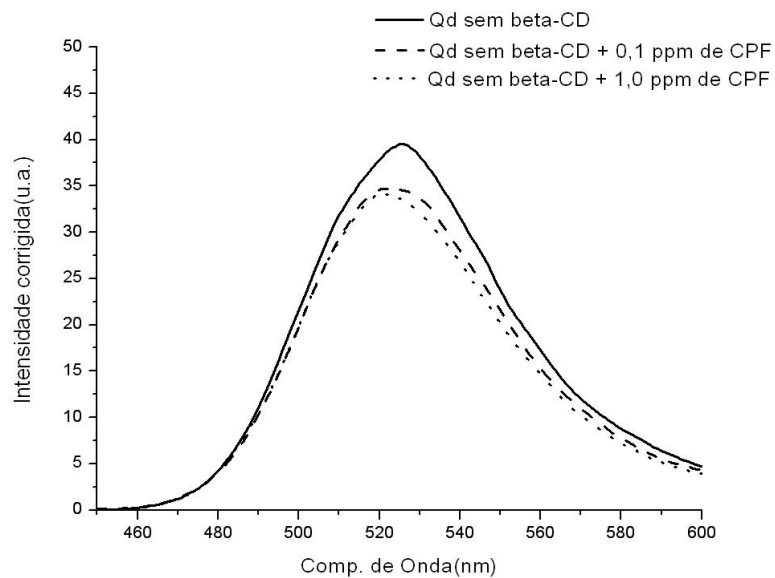


Figura 4.5 – Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe na presença de diferentes concentrações de CPF e na ausência de β -CD.

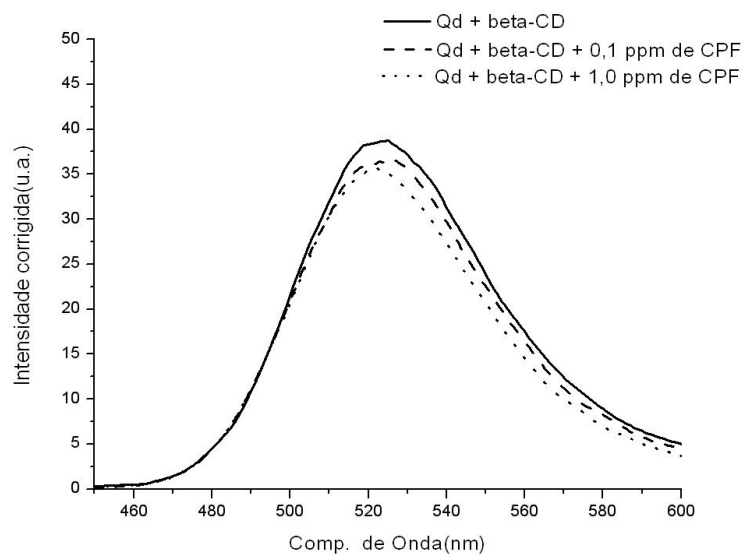


Figura 4.6 - Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe na presença de diferentes concentrações de CPF e na presença de β -CD.

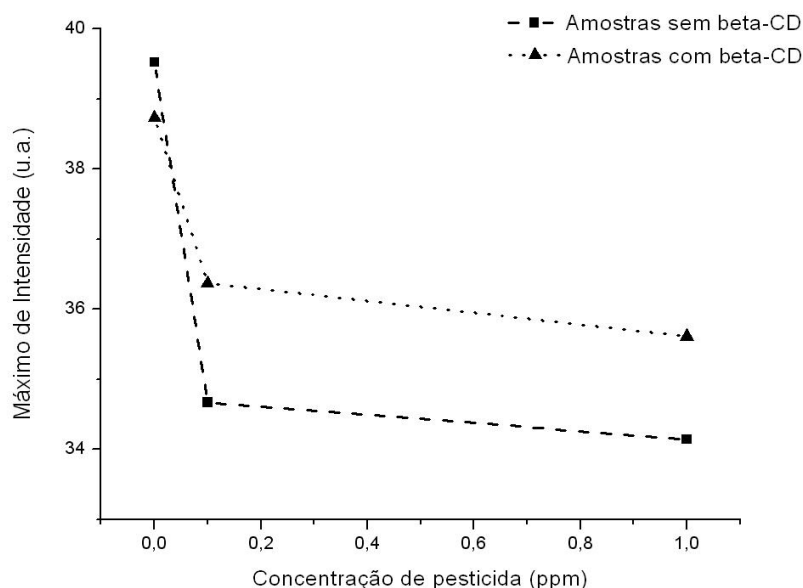


Figura 4.7 – Valores dos máximos de intensidade nas emissões das amostras em suspensão.

A proposta para a redução da intensidade de fluorescência das amostras pode ser explicado através da interação entre o grupamento piridínico do pesticida com a superfície dos Qds.

É conhecido da literatura [21-25] a capacidade da piridina, e seus derivados, de funcionar como um excelente aceptor de cargas, sendo por isso utilizado para melhorar a eficiência de células solares. Esta capacidade de captura de cargas pode resultar na supressão da fluorescência de sistemas luminescentes, como já demonstrado por Herbich e colaboradores [25] para sistemas fluorescentes orgânicos. Além disso, outros trabalhos já evidenciaram o efeito de supressão da fluorescência de Qds de CdTe resultante da adsorção de moléculas de piridina e de vitamina B6, um derivado de piridina com estrutura semelhante ao CPF, sobre a superfície das nanopartículas [26,27]. De uma forma geral, interpretamos que a adsorção destas moléculas resulta na aniquilação do éxciton formado após a excitação das nanopartículas, reduzindo assim a população de fótons produzidos pela recombinação excitônica dos Qds. Esta aniquilação se dá pela transferência eletrônica entre o éxciton localizado no Qds e as moléculas adsorvidas sobre sua superfície, forçando um decaimento não-

radiativo das partículas excitadas. Com isso, fica claro o efeito da redução da fluorescência dos Qds por parte da presença do CPF no meio. No caso das emissões das amostras com β -CD, esse efeito de supressão da fluorescência dos Qds é menos pronunciado devido à formação dos complexos de inclusão como já evidenciado anteriormente. Acreditamos que a formação do complexo de inclusão compromete a interação entre o grupamento piridínico dos pesticidas, parcialmente encapsulados nas ciclodextrinas, com a superfície dos Qds, o que reduziria o efeito de supressão de fluorescência. Os únicos grupamentos livres dos pesticidas complexados, passíveis de interagir com os Qds, seriam os grupamentos fosforotionatos, que atuariam apenas como passivantes de superfície e não teriam efeito de supressão da fluorescência. Contudo, como apenas uma pequena fração dos pesticidas encontram-se complexadas nas amostras contendo β -CD, a fração de pesticidas livres ainda atuariam como supressores de fluorescência, como pode ser visto nos espectros de emissões na Figura 4.6.

O segundo grupo de amostras estudadas foi incorporado em hidrogéis de agarose para a realização dos experimentos de detecção. A intenção da utilização do hidrogel de agarose como meio para a detecção do pesticida é minimizar a taxa de agregação dos Qds, reduzindo a chance de alterações inespecíficas da fluorescência das nanopartículas devido a diminuição da estabilidade coloidal dos Qds. Com isso, idealizamos um meio de detecção cuja resposta tenha uma melhor representatividade da presença de diferentes concentrações do analito estudado.

As Figuras 4.8 e 4.9 exibem, respectivamente, os espectros de fluorescência das amostras incorporadas nos hidrogéis na ausência e presença dos complexos entre o CPF e β -CD. A Figura 4.10 exhibe os valores máximos de intensidade das amostras analisadas com diferentes concentrações de pesticidas.

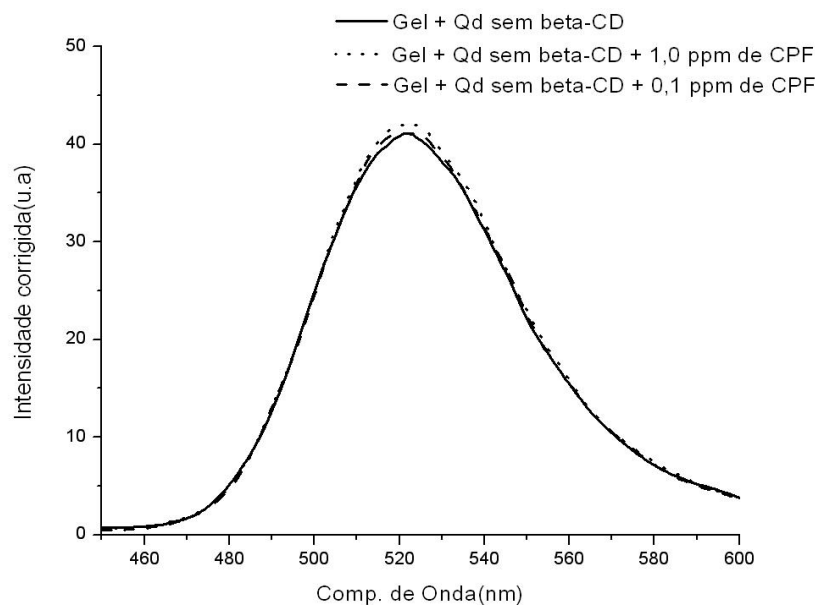


Figura 4.8 - Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe, incorporados em hidrogéis de agarose, na presença de diferentes concentrações de CPF e na ausência de β -CD.

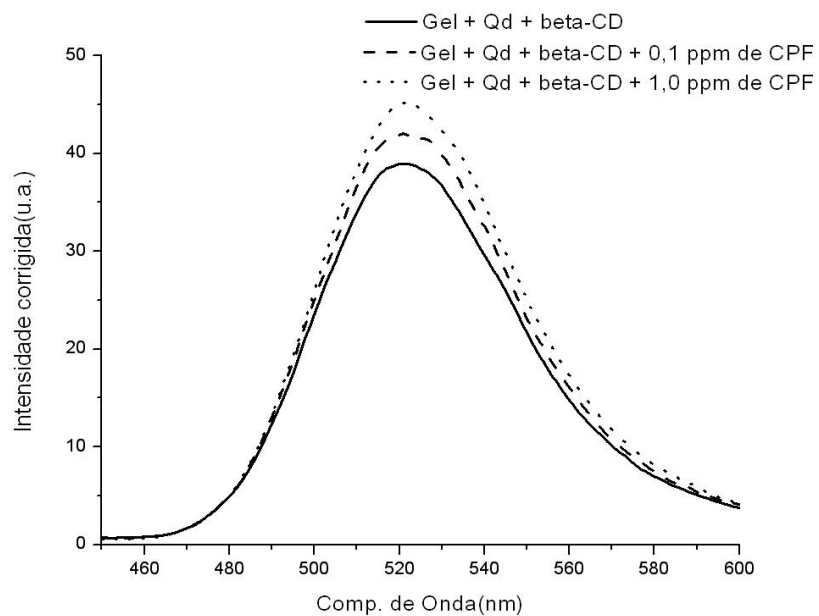


Figura 4.9 - Espectros de fluorescência dos Qds de CdTe, incorporados em hidrogéis de agarose, na presença de diferentes concentrações de CPF e na presença de β -CD.

Como pode ser visto nas Figuras 4.8 e 4.9 a fluorescência dos Qds incorporados nos hidrogéis, na presença de diferentes concentrações de CPF,

sofreu um aumento de sua intensidade, com o aumento da concentração dos pesticidas. Além disso, este efeito de aumento da fluorescência, curiosamente contrário ao comportamento das amostras em suspensão previamente analisadas, apresentou-se mais pronunciado para as amostras na presença dos complexos de inclusão do que nas amostras dos pesticidas livres (ver Figura 4.10 para melhor entendimento). Por fim, observamos que o aumento das intensidades nas amostras de pesticidas livres não ultrapassa 2,5% contra o aumento de 15,0% nas amostras com ciclodextrinas (comparando-se a fluorescência das amostras sem pesticidas e com 1,0 ppm de CPF).

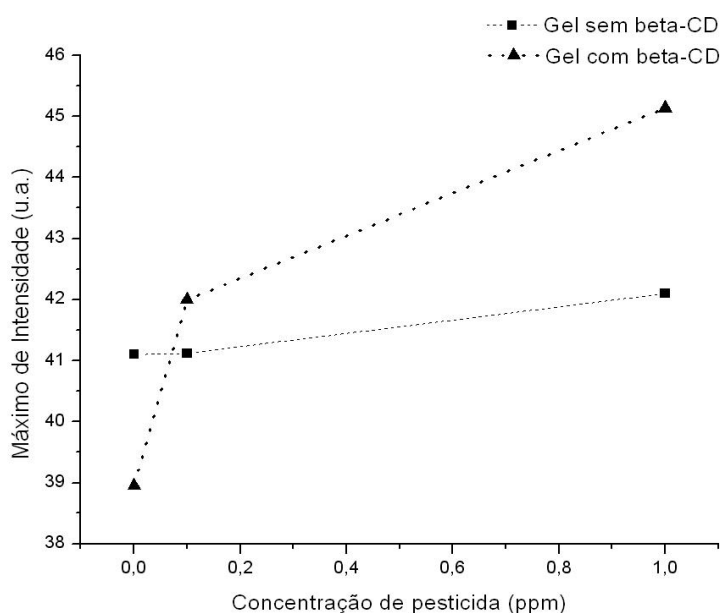


Figura 4.10 - Valores dos máximos de intensidade nas emissões das amostras incorporadas nos hidrogéis.

Este comportamento inverso na variação da fluorescência dos Qds, quando comparamos com as amostras em suspensão, pode ser explicado através das propriedades químicas das paredes do hidrogel de agarose combinadas as propriedades das ciclodextrinas de solubilização de espécies pouco polares em meio aquoso.

Como já discutido na introdução do Capítulo 3, a estrutura do hidrogel de agarose é composta por uma rede tridimensional de dupla-hélices que interagem entre si por interações do tipo ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, compartimentalizando a água do hidrogel em canais formados nesta rede tridimensional. Devido à presença de grupos hidrofílicos nas paredes destes canais, parte da água confinada interage fortemente com estes grupos diminuindo a quantidade de água livre disponível para a solvatação de espécies dissolvidas nesta fase dispersa do hidrogel. Com isso ocorre uma diminuição da solubilidade de espécies pouco polares confinadas na fase aquosa dos hidrogéis. Além disso, Itagaki e colaboradores [28] realizaram estudos de fluorescência em hidrogéis de agarose onde identificaram a presença de sítios de intercalação de aromáticos nas hélices formadas na estrutura dos hidrogéis, assim como regiões apolares resultantes da perda das estruturas das hélices distribuídas no sistema.

Baseando-se nas características apresentadas acima e na capacidade das ciclodextrinas de solubilização de espécies pouco polares por meio de complexos de inclusão em meio aquoso, chegamos a duas explicações para os comportamentos observados nos experimentos com hidrogéis: (i) Nas amostras sem a presença de β -CD acreditamos que a diminuição da solubilidade dos pesticidas em meio aquoso, aliada a existência de sítios de intercalação e regiões apolares no hidrogel resultam na migração das moléculas do pesticida para as paredes dos canais. Neste caso, os grupamentos piridínicos, responsáveis pela supressão da fluorescência dos Qds, tornam-se inacessíveis para interações com a superfície das nanopartículas. Com isso, apenas os grupamentos fosforotatonatos tornam-se acessíveis a adsorção sobre os Qds, atuando como passivantes e aumentando sutilmente a fluorescência das amostras. (ii) No caso das amostras com ciclodextrinas, a formação dos complexos de inclusão entre o CPF e β -CD aumenta a solubilidade destas moléculas dentro do hidrogel, permitindo que uma fração considerável de pesticidas permaneça disponível para interação com a superfície dos Qds. Contudo, como neste caso os grupos piridínicos encontram-se parcialmente encapsulados pelas β -CD há um impedimento estérico que compromete a interação destes grupos com a superfície

dos Qds e, novamente, os únicos grupos disponíveis para interações são os fosforotionatos que, atuando como passivantes, resultam numa melhoria da fluorescência dos Qds. Desta forma, podemos dizer que a combinação da capacidade de extração de moléculas pouco polares da fase aquosa do hidrogél de agarose, com a complexação entre as moléculas dos pesticidas com as moléculas de ciclodextrina auxilia no aumento da especificidade da detecção do CPF por parte dos Qds. Esta especificidade surge uma vez que a fração de moléculas de pesticidas livres, capazes de interagir inespecificamente com os Qds, é menos significativa do que a população de pesticidas complexados com as ciclodextrinas, cujo grupo fosforotionato é o único grupamento livre para realizar interações com a superfície das nanopartículas.

Por fim, a aplicabilidade da metodologia proposta com a utilização de hidrogéis é bastante viável do ponto de vista prático, uma vez que os valores de concentração do CPF detectados estão abaixo dos valores do LMR deste pesticida (ver Capítulo 1 para maiores detalhes).

4.5 – Conclusão

Quando analisamos os trabalhos da literatura, que utilizam ciclodextrinas modificadas em experimentos utilizando nanopartículas para a detecção de analitos constatamos que o objetivo principal é a aproximação das moléculas sobre a superfície das nanopartículas. Com isso, modificações espectroscópicas das propriedades das nanopartículas, derivadas desta aproximação, podem ser detectadas e relacionadas à presença das moléculas dos analitos. Contudo, etapas complexas de modificação química, purificação e acoplamento das ciclodextrinas modificados sobre as nanopartículas tornam estes trabalhos pouco atrativos para aplicações práticas em análises ambientais.

O que tentamos demonstrar com a metodologia utilizada neste trabalho é a viabilidade de utilização da seletividade de complexação de ciclodextrinas não modificadas e sua influência na modificação de propriedades espectroscópicas

dos Qds, através da utilização de ambientes confinados, como é o caso dos hidrogéis de agarose, nos quais a interferência dos analitos livres é praticamente eliminada e as únicas espécies capazes de interagir com os Qds são os complexos de inclusão entre os analitos e as ciclodextrinas. Com esta metodologia propomos a eliminação de etapas complexas e dispendiosas de modificação química e purificação de derivados de ciclodextrinas, aumentando a praticidade de utilização desta metodologia para aplicações em análises ambientais.

4.6 - Bibliografia

- [1] Gerlach, G., Arndt, K-F. *Hydrogels Sensors and Actuators*. Springer-Verlag, Berlin, 2009.
- [2] Bird, S. P., Baker, L. A. *Analyst*. (2011).
- [3] Guenther, M., Kuckling, D., Corten, C., Gerlach, G., Sorber, J., Suchaneck, G., Arndt, K-F. *Sensor. Actuat. B*. 126 (2007) 97.
- [4] Richter, A., Paschew, G., Klatt, S., Lienig, J., Arndt, K-F., Adler, H. P. *Sensors*. 8 (2008) 561.
- [5] Ogoshi, T., Harada, A. *Sensors*. 8 (2008) 4961.
- [6] Liu, J., Mendoza, S., Román, E., Lynn, M. J., Xu, R., Kaifer, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 4304.
- [7] Tang, B., Cao, L., Xu, K., Zhuo, L., Ge, J., Li, Q., Yu, L. *Chem. Eur. J.* 14 (2008) 3637.
- [8] Palaniappan, K. *Water-soluble, cyclodextrin-modified semiconductor quantum dots – a novel class of chemical and biological sensors*. Michigan Technological University, 2006.
- [9] Palaniappan, K., Hackney, S. A., Liu, J. *Chem. Comm.* 23 (2004) 2704.
- [10] Palaniappan, K., Xue, C., Arumugam, G., Hackney, S. A., Liu, J. *Chem. Mater.* 18 (2006) 1275.
- [11] Qu, F. Li, H. *Sensor. Actuat. B*. 135 (2009) 499.
- [12] Freeman, R., Finder, T., Bahshi, L., Willner, I. *Nano Lett.* 9 (2009) 2073.
- [13] Li, S. *Chem. Rev.* 92 (1992) 1457.
- [14] Dodziuk, H. *Cyclodextrins and Their Complexes*. Wiley-VCH, Weinheim, 2006.
- [15] Douhal, A. *Cyclodextrins Materials Photochemistry, Photophysics and Photobiology*. Elsevier, Amsterdam, 2006.
- [16] Benesi, H. A., Hildebrand, J. H. *J. Am. Chem. Soc.* 71 (1949) 2703.
- [17] Coly, A., Aaron, J. *Anal. Chim. Acta*. 360 (1998) 129.
- [18] Mbaye, M., Seye, M. D. G., Coly, A., Tine, A., Aaron, J. *Anal. Bioanal. Chem.* 394 (2009) 1089.

- [19] Indirapriyadharshini, V. K., Karunanithi, P., Ramamurthy, P. *Langmuir*. 17 (2001) 4056.
- [20] Verrone, R., Catucci, L., Cosma, P., Fini, P., Agostiano, A., Lippolis, V., Pascale, M. J. *Incl. Phenom. Macrocycl. Chm.* 57 (2007) 475.
- [21] Demuth, J. E., Sanda, P. N. *Phys. Rev. Lett.* 47 (1981) 57.
- [22] Jeong, S., Shim, H. C., Kim, S., Han, C. *ACS NANO*. 4 (2010) 324.
- [23] Yu, Z., Degang, F., Xin, W., Juzheng, L., Zuhong, L. *Coll. Surf. A: Phys. Eng. Aspects*. 181 (2001) 145.
- [24] Li, Q., Sun, B., Kinloch, I. A., Zhi, D., Sirringhaus, H., Windle, A. H. *Chem. Mater.* 18 (2006) 164.
- [25] Herbich, J., Kijak, M., Zielinska, A., Thummel, R. P., Waluk, J. J. *Phys. Chem. A*. 106 (2002) 2158.
- [26] Sun, J. F., Ren, C. L., Liu, L. H., Chen, X., G. *Chin. Chem. Lett.* 19 (2008) 855.
- [27] Trtzky, S., Kolny-Olesiak, J., Falke, S. M., Hoyer, T., Lienau, C., Tuszynski, W., Parisi, J. J. *Phys. D: Appl. Phys.* 41 (2008) 102004.
- [28] Itagaki, H., Fukiishi, H., Imai, T., Watase, M. J. *polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* 43 (2005) 680.

CAPÍTULO 5 – Conclusões e perspectivas.

No presente trabalho de tese, tentou-se demonstrar que o desenvolvimento e a utilização de novas metodologias de detecção de pesticidas aromáticos em meio aquoso, não necessitam serem complexas e/ou dispendiosas. O conhecimento das propriedades de cada componente do seu sistema sensor é que definirá a necessidade do aumento do grau de complexidade para a construção e aplicação do seu sistema. Tendo como foco manter a simplicidade, sem perder a confiabilidade e aplicabilidade, desenvolveu-se uma nova metodologia de detecção de pesticidas em meio aquoso utilizando ciclodextrinas juntamente com Qds de CdTe. Os resultados aqui apresentados validaram a hipótese que fundamentou este trabalho, tendo em vista que foi possível diferenciar a resposta dos Qds, no que tange a sua fluorescência, frente a presença de CPF sem ou com a utilização de ciclodextrinas.

De uma forma geral, obtivemos os seguintes resultados neste trabalho:

- Desenvolvimento de uma nova metodologia de obtenção de Qds em meio aquoso, de forma simples e rápida;
- Desenvolvimento de ensaios simples, com o intuito de avaliar a interferência de matrizes poliméricas, nas quais podemos incorporar os Qds obtidos pela nova metodologia de síntese, assim como de outras metodologias já existentes;
- Desenvolvimento de uma metodologia simples para a utilização de ciclodextrinas e Qds para a detecção de pesticidas aromáticos, em meio aquoso. Com estes resultados, ficou claro que ligações diretas entre ciclodextrinas e Qds não são cruciais para a interação destas estruturas entre si.

Contudo, tem-se claro que estes são resultados iniciais, que necessitam ser reproduzidos e analisados de forma gradativa, com o intuito de obter um sistema de detecção aplicável em condições reais, ou próximas da realidade, o que

acreditamos não diminuir a importância do conhecimento gerado neste trabalho de tese.

Têm-se como perspectivas concretas deste trabalho, a saber:

- Repetir os experimentos de detecção, com o intuito de aumentar o espaço amostral dos resultados e avaliar o erro de resposta da metodologia desenvolvida;
- Avaliar a resposta do sistema frente a outros pesticidas aromáticos, em meio aquoso;
- Estudar de forma mais detalhada as características hidrofílicas e hidrofóbicas dos hidrogéis de agarose, em diferentes condições.

Apêndices – Artigos Publicados e Participações em Eventos durante o período de Doutorado.

Artigos Publicados:

1. MENEZES, F. D., Galembeck, A., Alves Junior, S. **New methodology for obtaining CdTe quantum dots by using ultrasound.** *Ultrasonics Sonochemistry.* , v.18, p.1008 - 1011, 2011.
2. Lima, M, MENEZES, F. D., de Barros Neto, B., Navarro, M. **A factorial design analysis of (+)-pulegone electrocatalytic hydrogenation.** *Journal of Electroanalytical Chemistry.* , v.613, p.58 - 66, 2008.
3. Chaves, C, Fontes, A, Farias, P, Santos, B, MENEZES, F. D., Ferreira, R, Cesar, C, Galembeck, A, Figueiredo, R. **Application of core/shell PEGylated CdS/Cd(OH)₂ quantum dots as biolabels of Trypanosoma cruzi parasites.** *Applied Surface Science.* , v.255, p.728 - 730, 2008.
4. Farias, Patricia M. A., Santos, Beate S., de Thomaz, André A., Ferreira, Ricardo, MENEZES, F. D., Cesar, Carlos L., Fontes, A. **Fluorescent II-VI Semiconductor Quantum Dots in Living Cells: Nonlinear Microspectroscopy in an Optical Tweezers System.** *Journal of Physical Chemistry. B.* , v.112, p.2734 - 2737, 2008.
5. Santos, B, Farias, P, MENEZES, F. D., Brasil JR, A., Fontes, A, Romao, L, Amaral, J, Moura Neto, V, Tenorio, D, Cesar, C. L. **New highly fluorescent biolabels based on II-VI semiconductor hybrid organic-inorganic nanostructures for bioimaging.** *Applied Surface Science.* , v.255, p.790 - 792, 2008.
6. Santos, B, Farias, P, Fontes, A, Brasil JR, A, Jovino, C, Neto, A, Silva, D, MENEZES, F. D., Ferreira, R. **Semiconductor nanocrystals obtained by colloidal chemistry for biological applications.** *Applied Surface Science.* , v.255, p.796 - 798, 2008.
7. Leite, A, Moreira, D, Coelho, L, MENEZES, F. D., Brondani, D. **Synthesis of aryl-hydrazones via ultrasound irradiation in aqueous medium.** *Tetrahedron Letters.* , v.49, p.1538 - 1541, 2008.
8. Santos, B., Farias, P, MENEZES, F. D., Ferreira, R, Alves Jr., S., Figueiredo, R., Carvalho, L. B, Beltrão, E. **CdS-Cd(OH)₂ core shell quantum dots functionalized with Concanavalin A lectin for recognition of mammary**

tumors. *Physica Status Solidi. C, Conferences and Critical Reviews.* , v.3, p.4017 - 4022, 2006.

Trabalhos em Congresso:

1. MENEZES, Frederico Duarte de, LIMA, M. V. F., ALVES JÚNIOR, Severino
Modified electrode with zirconia functionilized with beta-cyclodextrin to detection of aromatic organophosphorus pesticides In: NANOAGRI - 2010, 2010, São Pedro.
2. MENEZES, Frederico Duarte de, AZEVEDO, W. M., ALVES JÚNIOR, Severino
A simple and fast synthesis route for preparing CdTe quantum dots in aqueous medium In: 11º International Conference on Advanced Materials ICAM 2009, VIII Encontro da SBPMat, 2009, Rio de Janeiro.
3. MENEZES, Frederico Duarte de, SCHNEIDER, R., LIMA, M. V. F., RIBEIRO, R. T.
Electrochemical synthesis of nanostructured Zirconia functionalized with beta-cyclodextrin In: 11º International Conference on Advanced Materials ICAM 2009, VIII Encontro da SBPMat, 2009, Rio de Janeiro.
4. MENEZES, Frederico Duarte de, ALVES JÚNIOR, Severino.
New methodology for synthesis of CdTe quantum dots assisted by ultrasound In: XV International Sol-Gel Conference, 2009, Ipojuca.
5. PEREIRA, Júlio César B, MENEZES, Frederico Duarte de, AZEVEDO FILHO, C. A., JESUS, V. S., NASCIMENTO, S. V., SANTOS, Beate Saegesser.
Avaliação da estabilidade de formulações parenterais contendo polifosfato de sódio por análise estatística multivariada In: VII Congresso Norte-Nordeste de Nutrição Parenteral e Enteral, VII Congresso Norte-Nordeste de Nutrição Clínica, I Simpósio de Nutrição em Pediatria e I Simpósio de Nutrição Esportiva, 2006, Natal.