



Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Física
Programa de Pós-Graduação em Física

**Pontos Quânticos Semicondutores Sintetizados via Soluções Coloidais
Aquosas: Estudos e Aplicações Nanobiotecnológicas**

Anielle Christine Almeida Silva

Uberlândia
30 de abril de 2014

Anielle Christine Almeida Silva

**Pontos Quânticos Semicondutores Sintetizados via Soluções Coloidais
Aquosas: Estudos e Aplicações Nanobiotecnológicas**

Uberlândia
30 de abril de 2014

Anielle Christine Almeida Silva

**Pontos Quânticos Semicondutores Sintetizados via Soluções Coloidais
Aquosas: Estudos e Aplicações Nanobiotecnológicas**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Física, sob orientação do Prof. Dr. Noelio Oliveira Dantas.

Uberlândia
30 de abril de 2014

Anielle Christine Almeida Silva



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA



ANIELLE CHRISTINE ALMEIDA SILVA

Tese apresentada a coordenação do
Programa de Pós-graduação em física,
do Instituto de Física da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
título de Doutor em Física.

Uberlândia, 30 de Abril de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Noelio Oliveira Dantas
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Prof. Dr. Andris Figueiroa Bakuzis
Universidade Federal de Goiás - UFG

Prof. Dr. Sérgio Carlos Zilio
Universidade Federal de São Carlos – USP-SC

Prof. Dr. Augusto Miguel Alcalde Milla
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Profa. Dra. Raígna Augusta da Silva Zadra Armond
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela vida, pelas várias oportunidades, por colocar em meu caminho pessoas que me ajudaram e acreditaram em mim, aos meus Pais por terem investido na minha formação pessoal e acadêmica desde o meu primeiro dia de vida, pelo apoio e incentivo ao longo de todas as minhas etapas. Ao meu orientador, Prof. Dr. Noelio Oliveira Dantas, minha eterna gratidão, por ele me mostrar à beleza da pesquisa em nanomateriais, pela oportunidade em trabalhar nesta nova linha, ao mesmo tempo interessante e desafiadora, que me possibilitar trabalhar paralelo com outras linhas de pesquisa no grupo, assim como, pelo grande apoio e confiança ao longo desses sete anos, pelos ensinamentos, tanto profissionais como para a vida. Além disso, o agradeço por sempre acreditar em minha capacidade e me indicar como primeira aluna para realizar o doutorado direto. São tantos os motivos para agradecer ao meu orientador que não caberia nesta tese. Meus agradecimentos se estendem ao Prof. Dr. Sebastião William da Silva, do Instituto de Física da UnB, em Brasília, pelo apoio nas medidas de Espectroscopia Raman; ao Prof. Dr. Paulo César de Moraes do Instituto de Física da UnB em Brasília, pela disponibilidade do equipamento para as medidas de Espectroscopia Raman; pela confiança e amizade de ambos os professores.

Ao Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart, do Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Genética e Bioquímica, da UFU, agradeço pelo convite em participar da REDE NANOBIOTEC–CAPES, pela colaboração científica que originou os resultados que estão em fase de submissão, mostrados nas seções III.4. e III.5.; ao Prof. Dr. Marcelo José Barbosa Silva, do Laboratório de Imunoparasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, pela colaboração científica que resultou no primeiro artigo de nanobiotecnologia publicado na *Sensors and Actuators* (seção III. 2) e os resultados que estão em fase de submissão, mostrados na seção III.5; ao Prof. Dr. Adriano Mota Loyola, da Faculdade de Odontologia da UFU, pela colaboração científica com a qual realizei a síntese, caracterização e análise de nanocristais de ZnO e TiO₂, porém os resultados e publicação não são incorporados nesta tese; ao Prof. Dr. Cássio José Alves de Sousa da Faculdade de Odontologia da UFU, também pela colaboração científica da qual resultou a síntese, caracterização e análise de nanocristais de ZnO e TiO₂, resultados e publicação também não foram incorporados nesta tese.

Ao Prof. Dr. Acácio Aparecido de Castro Andrade e Prof.^a Dra. Viviane Pilla, do Instituto de Física da UFU, sou grata pela colaboração científica que resultou em um artigo (*Fluorescence Quantum Efficiency of CdSe/CdS Magic-Sized Quantum Dots Functionalized with Carboxyl or Hydroxyl Groups. Chemical Physics Letters, v. 580, p. 130-134, 2013*) e capítulo de

livro (*Photothermal Spectroscopic Characterization in CdSe/ZnS and CdSe/CdS Quantum Dots: a Review and new Applications. Quantum Dots/Book 2. 1ed.Ameenah Al-Ahmadi: Intech, 2012, v. 2, p. 1-30*) publicados, mas que não foram adicionados nesta tese.

Meu sincero reconhecimento pelas colaborações científicas em que os resultados e publicações não foram adicionados nesta tese dos professores: Dr. Sidney Alves Lourenço, do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná; Dr. José R. Siqueira do Grupo de Nanomateriais e Sensores (GNMS) do Instituto de Ciências Exatas, Naturais e Educação da Universidade Federal do Triângulo Mineiro; Dr. Luiz H. S. Gasparotto, do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Enfim, agradeço a todos os Professores mencionados e a todos os que pertencem ao Instituto de Física da UFU pelos ensinamentos e amizade.

Agradeço aos alunos, amigos, funcionários e instituições: Dra. Ana Paula Peres Freschi, do Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Genética e Bioquímica da UFU, pelos ensinamentos biológicos, ajuda no desenvolvimento dos processos de acoplamento e bioconjugação; Samantha Luara Vieira de Deus, aluna do curso de Biotecnologia da UFU e aluna de iniciação do Prof. Dr. Noelio Oliveira Dantas, co-orientada pelo Prof. Dr. Marcelo José Barbosa Silva, pela amizade e realização dos ensaios biológicos que gerou o primeiro artigo de nanobiotecnologia desta tese que foi publicado na *Sensors and Actuators*; Cláudia Mendonça Rodrigues; Bruna França Matias e Larissa Prado Maia, do Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Genética e Bioquímica da UFU, pela amizade e realização dos testes de citotoxicidade, imunogenicidade e as imagens de confocal mostrados nas seções III.4. e III.5.; Rayla C. Gabriel, aluna do curso de Química da UFTM e orientanda do Prof. Dr. José R. Siqueira, pela amizade e colaboração científica desenvolvida; ao tecnólogo Guilherme de Lima Fernandes, do Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia, pelas medidas de AFM; aos meus amigos desde o início da graduação Física de Materiais até a Pós Graduação: Augusto, Fernando e Gustavo; aos amigos do LNMIS, Alessandra, Élisson, Guilherme de Lima, Marlon, Valdeir, Ernesto (Professor Efetivo em Universidade Federal de Itajubá), Elias (Professor Efetivo em Universidade Federal do Triângulo Mineiro), Ricardo (Professor Efetivo em Universidade Federal do Triângulo Mineiro), Fabiana, Franciellen, João Paulo, Rodrigo, Fernando, Luismar e Guilherme Augusto; aos funcionários do Instituto de Física da UFU, Tassiana, Jussara, Flávia, Fernanda, Euzébio, Rosália, André, Rui e Edimar; ao CNPq, CAPES e a FAPEMIG quanto à aprovação dos projetos de pesquisa para o LNMIS e apoio a Pós Graduação em Física da UFU; e por fim a REDE NANOBIOTEC pela concessão da minha bolsa de doutorado e recursos financeiros para o desenvolvimento desta tese.

Lista de Figuras

Figura I. 1 Região de controle do gap de energia de vários semicondutores em função do tamanho do ponto quântico. Em ● o gap do bulk, em ▲ o gap de pontos quânticos com raio de 10 nm e em ▼ gap de pontos quânticos com raio de 3 nm. As retas tracejadas horizontais compreendem a região de comunicação óptica. (HARRISON <i>et al.</i> , 2000). Os materiais destacados pelos retângulos na cor vermelha são os que serão abordados nessa pesquisa e os na cor azul são comentados em outras dissertações/ teses do grupo.....	3
Figura I. 2 Variação da energia do exciton em função do tamanho para nanocristais com propriedades de confinamento quântico e de bulk.....	4
Figura I. 3 Comparação da fotoestabilidade entre PQ 630-estreptavidina e Alexa 488 (fluoróforo). A marcação em verde representa Alexa 488 e a em vermelho o PQs 630- esteptavidina. A iluminação foi mantida contínua por 3 min a partir de uma lâmpada de mercúrio (100 W). Utilizou-se um filtro de excitação de 485 ± 20 nm para ambos, de emissão 535 ± 10 nm e 635 ± 10 nm, para monitorar os sinais do Alexa 488 e PQ 630, respectivamente (WU <i>et al.</i> , 2002).....	5
Figura I. 4 Modelo de LaMer que descreve a nucleação e crescimento de nanocristais como função do tempo de reação e concentração de átomos precursores (SUN, 2013).....	7
Figura I. 5 Modelo clássico de nucleação mostrando o diagrama de energia livre de Gibbs para a nucleação (SUN, 2013)	8
Figura I. 6 Diagrama esquemático do processo de nucleação e crescimento contendo cinco etapas e a dependência da energia livre de Gibbs (G) com o tamanho do nanocristal. r^* é o raio crítico e os processos reversível e irreversível ocorrem quando $r < r^*$ e $r > r^*$, respectivamente (LEITEL; RIBEIRO, 2012).....	10
Figura I. 7 Esquema representativo de diferentes tipos de estabilizantes na superfície dos PQs com diferentes tipos de grupamentos externo (SPERLING; PARAK, 2010).....	14
Figura I. 8 Processos de acoplamento de PQs com diferentes tipos de proteínas (XING <i>et al.</i> , 2007)	16
Figura I. 9 Evolução temporal dos espectros absorção no UV-Vis das amostras contendo PQs de CdSe com tamanhos mágicos e ultra pequenos. As setas indicam as bandas de absorção de PQs de CdSe ultra pequenos (ZOU <i>et al.</i> , 2007).....	19
Figura I. 10 Evolução temporal da emissão de PQs de CdSe de tamanhos mágicos e ultra pequenos. As setas indicam as bandas de emissão de PQs de CdSe ultra pequenos (ZOU <i>et al.</i> , 2007).....	19
Figura I. 11 Evolução temporal de espectros UV-Vis de nanocristais de CdTe de tamanhos mágico crescidos a 190 °C em ácido oléico, concentração de 0,1 mol kg ⁻¹ . O inseto mostra a emissão dos nanocristais de CdTe (ZOU <i>et al.</i> , 2007).....	20
Figura II. 1 Esquema representativo utilizado em todas as metodologias de sínteses desta pesquisa	32
Figura II. 2 Diagrama esquemático de uma medida de espectro de absorção (CHUI, 2011).....	35
Figura II. 3 Esquema representativo da intensidade e detalhes experimentais em uma medida de espectro de absorção.....	35
Figura II. 4 Esquema representativo do processo de absorção (AO) e emissão (PL).....	38
Figura II. 5 Espectros de absorção e emissão de PQs de CdSe com tamanhos diferentes (MICHALET <i>et al.</i> , 2005).....	38
Figura II. 6 Esquema representativo da emissão excitônica e de níveis metaestáveis originados de defeitos de superfície (E_{SDL}) e defeitos de divacâncias, por exemplo, (E_{V1} e E_{V2}).....	39

Figura II. 7 Representação esquemática de um artefato da imagem AFM que é causado por efeitos de convolução entre a ponta de sondagem e o nanocristal (NC). No painel (a), uma parte do NC esférico está inserida dentro da superfície vítreia, em que sua altura é equivalente ao raio R. No painel (b), o NC esférico está depositado sobre a superfície de um substrato, de maneira que sua altura corresponde ao diâmetro $D = 2R$ (DANTAS et al., 2012) 41

Figura II. 8 Esquema representativo (a) da interação de uma molécula diatômica com o campo elétrico da onda eletromagnética (b) níveis de energia de um oscilador não harmônico e o processo de absorção no infravermelho.' 43

Figura II. 9 Esquema representativo do processo de difração de raios-x em um material cristalino. O parâmetro d é distância entre os planos, λ comprimento da radiação incidente. 44

Figura II. 10 Ilustração de um espectro Raman típico de um material. A componente Stokes corresponde ao espalhamento onde a freqüência espalhada apresenta energia menor que a incidente. A componente Anti-Stokes corresponde ao espalhamento onde a freqüência espalhada apresenta energia maior que a incidente. A freqüência absoluta é relacionada ao espalhamento e a relativa corresponde a energias elementares do material. O pico mais intenso refere-se ao espalhamento Rayleigh (PEREIRA, 2009). 46

Figura II. 11 A função circunferência $y = (r^2 - x^2)^{1/2}$ é representada pelos círculos abertos no topo do painel; as linhas azuis correspondem a função peso de fôons $W(\vec{r}) = e^{-(\vec{r}^2/2\sigma^2)}$ (a) $\sigma = d/2$ proposto por Richter et al. (2010), e representado pela linha tracejada; (b) $\sigma = d/\sqrt{20}$; (c) $\sigma = d/4\pi$ proposto por Campbell e Fauchet (1986) e representado pela linha pontilhada e tracejada. 54

Figura II. 12 Esquema representativo da função peso da casca esférica. 56

Figura III. 1 Espectros de AO das amostras S0 (MSPQs de CdSe com raio médio $R = 0,68$ nm); S1 e S2 (MSPQs de CdSe/CdS onde a correspondente espessura da casca de CdS (t) é indicada em cada espectro). 62

Figura III. 2 Imagens de AFM a temperatura ambiente dos MSPQs de CdSe e CdSe/CdS depositados no substrato de mica: (a) amostra S0; (b) amostra S1; (c) amostra S2. 64

Figura III. 3 Padrões de DRX à temperatura ambiente de nanocristais presentes nas amostras: (S0) MSPQs CdSe, (S1) e (S2) MSPQs de CdSe/CdS. Padrões do CdS (topo) e CdSe (inferior) com estruturas wurtzita (W) e zincblende (ZB) para comparação. 66

Figura III. 4 Espectros Raman a temperatura ambiente (círculos) dos MSPQs: (a) CdSe; (b) e (c) CdSe/CdS. A freqüência de cada modo vibracional (SO1, LO1, HFS, SO2, ou LO2) foi indicada por números. O ajuste do espectro Raman foi mostrado pela linha sólida vermelha, com as subcomponentes nomeadas como: linha verde vibrações do núcleo, linha azul vibrações da casca, linha preta para o modo HFS apenas na amostra S0 (painei (a)). S3 e S4 foram espectros Raman simulados pelo modelo modificado de confinamento de fôons proposto nessa pesquisa..... 69

Figura III. 5 Esquema ilustrativo de um nanocristal de CdSe/CdS esférico com estrutura wurtzita hexagonal. As esferas vermelhas, amarelas e azuis representam, respectivamente, os íons de Se^{2-} , S^{2-} e Cd^{2+} . O R é o raio do núcleo do CdSe, t é a espessura da casca de CdS, que estão destacadas, além da liga interfacial de CdS_xSe_{1-x} . 73

Figura III. 6 (a) Modelo simplificado dos MSPQs de CdSe-OH (b) evolução temporal dos espectros de AO dos MSPQs de CdSe na solução coloidal aquosa. A curva azul e verde são os espectros obtidos após a síntese (a) e após 6 meses (b). As setas pretas representam as linhas de excitação e a transição excitônica dos PQs..... 77

Figura III. 7 Evolução temporal dos espectros de fotoluminescência (a) e fluorescência (b) dos MSPQs de CdSe na solução coloidal aquosa utilizando duas linhas de excitação. As curvas azul e verde são os espectros obtidos após a síntese (a) e após 6 meses (b). 79

Figura III. 8 Imagem de AFM dos MSPQs de CdSe após 6 meses depositados sobre a mica imagem bidimensional, tridimensional e o histograma de altura. 80

Figura III. 9 Padrões de DRX a temperatura ambiente dos MSPQs de CdSe após 6 meses. Os padrões do CdSe na fase wurtzita (acima) e zinblend (inferior)	80
Figura III. 10 Caracterização morfológica usando microscopia de contraste de fase das células HeLa (A) sem nada incubado e (B) incubado com os MSPQs de CdSe. Irregularidade na forma e descolamento celular (células redondas), (C) em células tratadas de Etoposide como controle positivo de citotoxicidade. Setas pretas indicam a formação de bolhas na superfície das células resultantes do processo de morte final. As setas azuis indicam a ruptura das células da membrana. Barra de Escala = 200 μ m.	82
Figura III. 11 Imagens de fluorescência (A) após 24 h de incubação com 0.05 μ M of MSPQs de CdSe. (B) Após 36 h, a fluorescência ainda é visível. As setas brancas indicam MSPQs interagindo com a membrana celular. Cabeça de setas indicam os MSPQs de CdSe no interior das células. Barra de Escala = 200 μ m.	83
Figura III. 12 Espectros de AO e FL normalizado dos USPQs de CdSe com concentração crescente de 1-tioglycerol.....	86
Figura III. 13 Espectros de fluorescência de USPQs de CdSe com o aumento da concentração de 1-tioglycerol. O inseto mostra a intensidade da fluorescência como função da concentração de 1-tioglycerol.	88
Figura III. 14 Padrões de DRX dos USPQs de CdSe com concentrações crescentes de 1-tioglycerol. Os cartões padrões das fases de zinblend e wurtzita do CdS (superior) e CdSe (inferior) foram colocados para comparação. Os ajustes de cada banda de DRX em torno de 20-35° foram representados pelas linhas brancas pontilhadas, e as linhas azuis sólidas e pontilhadas correspondiam às bandas de DRX do CdSe e CdS, respectivamente.....	90
Figura III. 15 Espectros de FT-IR do 1-thioglycerol, das amostras de USPQs de CdSe e CdS bulk.	92
Figura III. 16 Espectros Raman a temperatura ambiente (círculos) dos USPQs de CdSe sintetizados com concentrações crescentes de 1-tioglycerol (a) CdSe:1T; (b) CdSe:3T; (c) CdSe:5T; (d) CdSe:7T; (e) CdSe:9T; (f) CdSe:11T. A frequência de cada modo vibracional (SO1, LO1, SO2, ou LO2) é indicada por números. O ajuste do espectro Raman é mostrado pela linha sólida vermelha, com as subcomponentes nomeadas como: linha azul vibrações do núcleo, linha verde vibrações da casca.....	94
Figura III. 17 Espectros de AO e FL e imagem de AFM (inset) dos MSPQs-CS de CdSe/CdS. A região destacada do espectro eletromagnético demonstra o comprimento de onda de excitação na região do UV, e a ampla largura da banda de emissão de 450-750 nm, com maior emissão em 560 nm.	99
Figura III. 18 Espectros de FT-IR dos MSPQs-CS de CdSe/CdS antes e pós bioconjugação com o anticorpo Fab.	100
Figura III. 19 Viabilidade Celular de células do tipo macrófagos J774A-1 e PBMCs de indivíduos saudáveis para o ensaio colorimétrico MTT após incubação com MSPQs-CS de CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS. Os resultados são expressos como médias \pm SD (desvio padrão) de três experiências independentes.* Significância estatística foi considerada quando p < 0,05 em relação ao controle de culturas (ANOVA com pós-teste de Bonferroni).....	101
Figura III. 20 Citocinas de efeito (a) anti-inflamatório (IL-4, IL-10 e TGF-beta) ou (b) pró-inflamatório (IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha, IFN-gamma e IL-17A). Células PBMCs de humano incubadas com 50 ng/mL de MSPQs-CS de CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS por 6, 24, 72 e 120 horas.	102
Figura III. 21 Imagens de Microscopia Confocal de células de macrófagos J774A-1 adquiridas 4 h após a exposição <i>in vitro</i> ao MSPQs-CS. a) células J774A-1 (controle); b) 1 g / mL de; c) 10 g / mL; d) 50g / mL; e) 100 g / mL de MSPQs-CS. As imagens foram obtidas em Microscópio Confocal Meta LSM 510 Zeiss com emissão laser em ~ 700 nm (canal vermelho).....	104
Figura III. 22 Representação esquemática das reações para bioconjugar MSPQs-CS CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS a um anticorpo específico para câncer de mama. Os MSPQs-CS foram funcionalizados com o complexo NTA • Ni ²⁺ que interagiu com a cauda de histidina do anticorpo Fab.	105
Figura III. 23 Marcação específica ao câncer de mama (BC) de células de linhagem de MDA-MB-231 dos MSPQs-CS (NTA • Ni ²⁺) bioconjungados com um anticorpo específico Fab, analisadas por microscopia confocal. As células foram incubadas com MSPQD durante 1h. a) células MDA-MB (controle); b) células MDA-MB	

incubadas MSPQs-CS; c) MSPQs-CS bioconjugados com anticorpo Fab. As imagens foram obtidas em Microscópio Confocal Meta LSM 510 Zeiss com emissão laser ~ 530 nm (canal verde).....	107
Figura III. 24 Esquema representativo dos MSPQs-CS CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS a um anticorpo específico no interior de células de câncer de mama.....	108
Figura III. 25 A evolução temporal dos espectros de AO e FL dos MSPQs de CdSe em soluções aquosas.	110
Figura III. 26 A imagem de AFM (450 x 450 nm) dos MSPQs de CdSe após 18 meses.....	111
Figura III. 27. (a) Avaliação da atividade metabólica celular de macrófagos da linhagem celular J774.1 sob diferentes concentrações (1, 10, 50, 100 ng/mL e 1 , 10, 50, 100 µg /ml) de MSPQs de CdSe/CdS. (b) Imagens de confocal dos MSPQs de CdSe/CdS com macrófagos. (c) Imagens de confocal tridimensional. (d) Administração dos MSPQs de CdSe/CdS em mouse tipo Balb/ c.....	112
Figura III. 28 Espectros de absorção óptica dos MSPQs de CdSe com concentração crescente de Se em soluções coloidais aquosas.....	114
Figura III. 29 Espectros de fluorescência (FL) dos MSPQs de CdSe com o aumento da concentração de selênio em soluções coloidais aquosas.	116
Figura III. 30 A citotoxicidade ao longo de diferentes concentrações de Se de MSPQs de CdSe expostos a células HeLa, durante 24 h. A viabilidade celular foi calculada como uma porcentagem da viabilidade das células (não tratadas) de controle. A viabilidade das células de controle foi considerada como sendo 100% (linha pontilhada). Os resultados foram expressos como média ± SE de dois experimentos independentes.....	116
Figura III. 31 Esquema simplificado dos MSPQs de CdSe com o aumento da concentração de selênio (Se).	117

Lista de Tabelas

Tabela III. 1 Dimensões médias (todas em nm) dos MSPQs (amostras S0, S1 e S2) calculadas pelas técnicas de Raman e AFM: diâmetro do núcleo (D_{core}), espessura da casca (t) e diâmetro total ($D_{Total} = D_{core} + t$). A última coluna mostra a dispersão de tamanho (ξ) obtida a partir das imagens de AFM. As dimensões mostradas para S3 e S4 (simulações) foram calculadas a partir do modelo de confinamento de fônon.....	65
Tabela III. 2 Parâmetros (todos em cm^{-1}) obtidos a partir dos ajustes dos espectros Raman das amostras S0, S1 e S2. Todos os parâmetros mostrados nas simulações S3 e S4 foram baseados no modelo modificado de confinamento de fônon.....	70
Tabela III. 3 Razão das Intensidades dos modos SO com relação ao LO (SO/LO) para CdSe-núcleo e CdS-casca.....	74
Tabela III. 4 Parâmetros obtidos a partir do ajuste dos dados de DRX dos USPQs de CdSe com o aumento da concentração de 1-tioglycerol.....	91
Tabela III. 5 Parâmetros (todos em cm^{-1}) obtidos a partir dos ajustes dos espectros Raman dos USPQs de CdSe com concentração crescente de 1-tioglycerol.....	96
Tabela III. 6 Dimensões médias (todas em nm) do núcleo do USPQs de CdSe e a espessura da casca de CdS calculados com base nos resultados de Raman e AO.....	97

Lista de Símbolos

AFM: Microscopia de Força Atômica

AO: Absorção Óptica

CK-10: Citoqueratina 10

DRX: Difração de Raios-X

EDC: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida

FL: Fluorescência

FT-IR: Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

FWHM: Largura a Meia Altura

HFS: Ombro de alta Freqüência

J774A.1: Linhagem de Células de Macrófagos

LNMSI: Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores

LO: Óptico Longitudinal

MBE: Epitaxia por Feixe Molecular

MDA-MB-231 BC: Células de Linhagem de Câncer de Mama Humano

MSPQs: Pontos Quânticos de Tamanhos Mágicos

MSPQs-CS: Pontos Quânticos de Tamanhos Mágicos de Estrutura tipo Núcleo e Casca

NCs: Nanocristais

NTA: Ácido Nitriloacético

PBMCs: Células Mononucleares de Sangue Periférico

PL: Fotoluminescência

PQs: Pontos Quânticos

RS: Espectroscopia Raman

SO: Óptico de Superfície

USPQs: Pontos Quânticos Ultrapequenos

Lista de Termos Técnicos

Bandgap: Região proibida para elétrons em semicondutores e isolantes.

Bulk: Material que não apresenta propriedades de confinamento quântico.

Strain: Deformação.

HeLa: Esta é a linhagem celular humana mais antiga e mais utilizada. Essa linhagem foi derivada a partir de células obtidas de um câncer cervical coletadas em 8 de fevereiro de 1951.

Uptake celular: Entrada dos pontos quânticos nas células.

Resumo

Nesta pesquisa sintetizou-se pontos quânticos de CdSe e CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS de tamanhos mágicos, além de CdSe e CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS de tamanhos ultra pequenos em soluções aquosas. As propriedades físicas dos pontos quânticos foram investigadas através de várias técnicas experimentais e modelos teóricos. Foram realizadas modificações no modelo de confinamento de fônon Gaussiano a fim de realizar uma descrição mais real da casca e efeitos da liga em pontos quânticos de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS nos espectros Raman. Duas metodologias foram desenvolvidas, uma que sintetiza pontos quânticos de tamanhos mágicos MSPQs, a qual permite controlar a espessura da casca de CdS ao redor dos MSPQs em função da temperatura de síntese, e a outra obtida através dos pontos quânticos de tamanhos ultra pequenos, em que a espessura da casca de CdS foi controlada em função da concentração de estabilizante. Além destes resultados, foram funcionalizados os MSPQs com grupamentos químicos para a bioconjugação. Demonstrou-se que os MSPQs apresentam baixa citotoxicidade e nenhuma resposta imunogênica. Dessa forma, foram acoplados covalentemente os MSPQs a um anticorpo específico de câncer de mama visando a sua utilização com uma sonda luminescente.

Palavras-Chave

Pontos Quânticos; Modelo Modificado de Confinamento de Fônon; Espectroscopia Raman; Absorção Óptica; Fluorescência; Microscopia de Força Atômica; Bioconjugação; Sondas Luminescentes.

Abstract

This work is based on the synthesis of CdSe e CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS magic sized quantum dots, as well as CdSe e CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS ultrasmall quantum dots in aqueous solutions. The physics properties of quantum dots were investigated using various experimental techniques and theoretical models. The modifications in the phonon confinement Gaussian model were done to perform a more realistic description of the shell and the alloy effects in quantum dots CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS in the Raman Spectra. Two methods were developed, one synthesized a quantum dot magic size (MSPQs) and it was able to control the shell thickness CdS around the MSPQs depending on the synthesis temperature, and the second was obtained through the quantum dots ultrasmall, which the thickness of the shell CdS was monitored as a function of the stabilizer concentration. In addition, the results the MSPQs were functionalized with chemicals groups that may be bioconjugated. It was demonstrated that the MSPQs were not immunogenic and did not exhibit cytotoxic effects. Thus, the MSPQs were covalently bond to aspecific antibody for breast cancer targeting its use with a luminescent probe.

Keywords

Quantum Dots; Modified Model of Confinement of Phonons; Raman Spectroscopy; Optical Absorption; Fluorescence; Atomic Force Microscopy; Bioconjugation; Luminescent probes.

Conteúdo

Capítulo I.....	1
I. 1. Breve Histórico da Pesquisa Científica no LNMIS sobre Pontos Quânticos	1
I. 2. Pontos Quânticos Semicondutores	3
I. 3. Vantagens dos Pontos Quânticos em Relação aos Corantes Orgânicos em Aplicações Biológicas e Biomédicas.....	4
I. 4. Cinética de Nucleação e Crescimento de Cristais em Solução	6
I. 5. Metodologias de Sínteses de Pontos Quânticos em Solução.....	11
I. 6. Processos de Funcionalização	13
I. 7. Processos de Purificação	14
I. 8. Processos de Bioconjugação.....	15
I. 9. Toxicidade dos Pontos Quânticos.....	17
I. 10. Pontos Quânticos Ultra pequenos e de Tamanhos Mágicos.....	18
I. 11. Objetivos dessa Pesquisa.....	23
Referências.....	24
Capítulo II	32
II. 1. Síntese de Pontos Quânticos de Tamanhos Mágicos e Ultrapequenos de CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS	32
II.2. Técnicas de Caracterizações	34
II.2.1. Transições Eletrônicas de Absorção e Emissão	34
II.2.2. Microscopia de Força Atômica (AFM)	40
II.2.3. Transições de Absorção no Infravermelho.....	41
II.2.4. Difração de Raios-X.....	44
II.2.5. Processos de Espalhamento.....	45
II.2.6. Espalhamento Raman de Primeira Ordem em Nanocristais	47
II.2.6.1. Modelo Modificado de Confinamento de Fônons	51
Referências.....	58
Capítulo III.....	61
III. 1. Resultados e Discussões	61
III.1. Modelo Modificado de Confinamento de Fônons e sua Aplicação a Pontos Quânticos de CdSe/CdS de Tamanhos Mágico por uma Nova Rota em Solução Aquosa.	61
III.2 Luminescência Altamente Estável de Pontos Quânticos de CdSe de Tamanhos Mágicos em Células HeLa.....	76

III.3 Modulação da Espessura da Casca em Pontos Quânticos de CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS Ultrapequenos via 1-Tioglycerol	85
III.4. Pontos Quânticos de CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS de Tamanhos Mágicos: Uma Nova Sonda para Marcação de Alvos Biológicos	98
III. 5. Pontos Quânticos de CdSe/CdS _x Se _{1-x} /CdS Altamente Estáveis por Anos e Biocompatíveis.	109
III.6. Controle da Citotoxicidade de Pontos Quânticos de CdSe de Tamanhos Mágicos como Função da Densidade de Níveis de Defeitos de Superfície.	114
Referências.....	118
Capítulo IV.....	123
IV. Conclusões Finais	123
Lista de Artigos Publicados e Submetidos dessa Tese de Doutorado	124
Futuros Trabalhos	124

Capítulo I

I. 1. Breve Histórico da Pesquisa Científica no LNMIS sobre Pontos Quânticos

A pesquisa científica sobre pontos quânticos semicondutores e/ou semimagnéticos crescidos em sistemas vítreos começou em 2000, no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores (LN MIS). As pesquisas iniciais foram uma alternativa ao objetivo principal da implantação do LN MIS em 1994, o qual era realizar caracterizações ópticas de heteroestruturas semicondutoras (poços quânticos) crescidos por Epitaxia por Feixe Molecular (MBE), tanto no Instituto de Física da USP (São Paulo – IFUSP) como na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

No período de 2000 a 2002, foram desenvolvidos os três primeiros projetos de pesquisas em níveis de iniciação científica sobre estudos e otimizações de metodologias de crescimentos de nanocristais semicondutores, com propriedades de confinamento quântico em vidros sintetizados pelo método de fusão, após submetê-los a tratamentos térmicos pré-determinados. (JÚNIOR, 2002, 2004b; SILVA, 2002)

No período de 2002 a 2004 foram desenvolvidos três projetos de pesquisas junto ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), resultando nas primeiras dissertações, duas experimentais e uma teórica sobre pontos quânticos semicondutores (JÚNIOR, 2004a, 2004b; SILVA, 2004). Além dessas dissertações, o desenvolvimento desses primeiros projetos de pesquisas em níveis de iniciação científica e de mestrado resultou nos primeiros artigos publicados em revistas internacionais sobre pontos quânticos crescidos em vidros (DANTAS; SILVA; QU, 2002; DANTAS et al., 2002, 2004, 2012; MENDES JUNIOR et al., 2003; QU; SILVA; DANTAS, 2002). Dentre esses artigos o primeiro foi publicado na *Journal Chemistry Physics B* (DANTAS et al., 2002) e até abril de 2014 possuía 46 citações.

Doravante, após 2004, vários outros projetos de iniciação científica, mestrado, doutorado e pós-doutorado foram desenvolvidos no âmbito do LN MIS. Em 2005, implantou-se outra linha de pesquisa sobre pontos quânticos em forma de nanopós sintetizados pelo método de co-precipitação, resultando em quatro artigos publicados em revistas internacionais, um deles sobre nanocristais semicondutores magnéticos diluídos (NCs DMS) $Zn_{1-x}Mn_xO$ (DANTAS et al., 2005, 2008b, 2008c; QU et al., 2004).

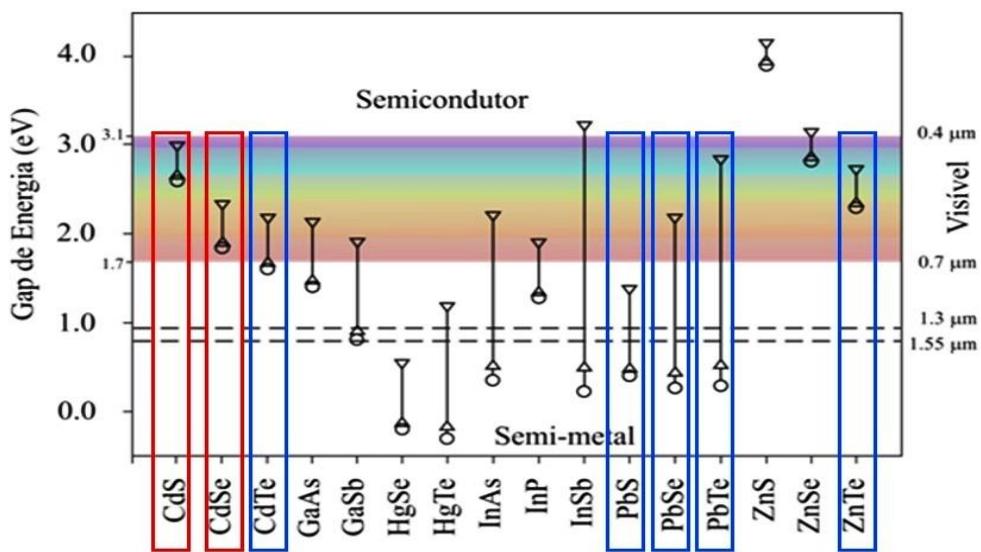
Em 2007, provavelmente, pela primeira vez, cresceu-se nanocristais semicondutores magnéticos diluídos, sintetizados em vidros pelo método de fusão, após submetê-los a energias térmicas favoráveis ao crescimento dessas nanoestruturas, resultando em um artigo publicado na *Applied Physics Letters* (SILVA *et al.*, 2007). Nos anos de 2007, 2008, e 2009 foram publicados cinco artigos sobre NCs DMS em vidros (DANTAS *et al.*, 2008a; SILVA; MORAIS, 2007; SILVA *et al.*, 2007, 2008, 2009).). Implantou-se, também no LNMIS ,durante o ano de 2007, uma linha de pesquisa sobre pontos quânticos crescidos em soluções aquosas, a qual foi intensificada no LNMIS, em 2010, mediante o projeto de doutorado desta tese, e da grande demanda da Rede NANOBIOTEC-CAPES-Brasil por sondas fluorescentes na faixa do espectro eletromagnético visível e biocompatíveis. De 2010 a 2012 publicaram-se quatro capítulos de livros internacionais a convite de editoras (DANTAS; NETO; SILVA, 2010; DANTAS; NETO, 2012; DANTAS *et al.*, 2012; SILVA; NETO; DANTAS, 2012).

Esta tese de doutorado é um dos resultados da linha de pesquisa sobre pontos quânticos crescidos em soluções aquosas, e acrescenta referenciais aos estudos apresentados em quatro artigos publicados. O primeiro artigo foi baseado na proposição de modificar o modelo de confinamento de fôons, considerando a casca (CdS) como esférica, e os resultados obtidos foram publicados na revista *Journal of Physical Chemistry C* (SILVA *et al.*, 2013). O segundo artigo abordava as aplicações nanobiotecnológicas, e foi publicado *Sensors and Actuators B: Chemical* (SILVA *et al.*, 2014b). O terceiro artigo reunia sínteses de pontos quânticos ultra pequenos (USPQs) de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS e aplicação do modelo modificado de confinamento de fôons para determinar diferentes espessuras de casca de CdS, além do tamanho do núcleo de CdSe, e foi publicado na revista *ACS Nano* (SILVA *et al.*, 2014a). Inicialmente, o enfoque principal desta tese era em sínteses, funcionalizações, acoplamentos, caracterizações físicas e aplicações nanobiotecnológicas de pontos quânticos de CdSe sintetizados via soluções aquosas. Porém, durante o desenvolvimento das pesquisas, resultados surpreendentes foram observados, como, por exemplo, a formação de pontos quânticos de CdSe/CdS (núcleo/casca) de tamanhos extremamente pequenos.

Assim, esta tese complementa as pesquisas anteriores, publicadas nos quatro artigos mencionados anteriormente, assim como os outros resultados de pontos quânticos de CdSe/CdS_xSe_{1-x} e CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS como sondas luminescentes nas áreas biológicas e biomédicas. Diante dos resultados científicos considerados promissores para a pesquisa básica e aplicada, o LNMIS irá intensificar e ampliar colaborações nacionais e internacionais, visando às aplicações tecnológicas e nanobiotecnológicas.

I. 2. Pontos Quânticos Semicondutores

Pontos quânticos (PQs) semicondutores são nanocristais (NCs) que apresentam confinamento quântico em três dimensões. Essas dimensões devem ser maiores que o parâmetro de rede e menores ou iguais ao raio de Bohr do exciton do correspondente material *bulk*. O raio de Bohr do exciton (r_{Bexc}) é a distância do par elétron-buraco, a qual é inversamente proporcional à massa efetiva dos portadores (elétrons e buracos). A massa efetiva leva em conta a massa do portador (elétron ou buraco) mais as interações entre ele e os íons da rede cristalina do material ((KITTEL, 1968)). Cada material apresenta uma massa efetiva dos seus portadores e consequentemente um dado raio de Bohr, assim, a depender do material têm-se diferentes faixas de tamanhos de nanocristais que apresentam propriedades de confinamento quântico, como mostra a [Figura I. 1](#). Observa-se que o antimoneto de índio (InSb) apresenta a maior variação no tamanho dos pontos quânticos em comparação aos outros semicondutores. Isto ocorre, uma vez que ele tem o maior raio de Bohr ($a_B = 65$ nm) (LAI, 2011). Os semicondutores CdS e CdSe ($a_B = 3,1$ nm e $a_B = 6,1$ nm (GRAHN, 1999)) absorvem e emitem na faixa do espectro eletromagnético visível, sendo ferramentas de grande interesse na área de marcação biológica. Portanto, é possível sintonizar os espectros de absorção e emissão em uma faixa predeterminada do espectro eletromagnético em função do tamanho dos pontos quânticos (ADAMS; SWEENEY; JAEGER, 2010; BRUS, 1984)



[Figura I. 1](#) Região de controle do gap de energia de vários semicondutores em função do tamanho do ponto quântico. Em ● o gap do bulk, em ▲ o gap de pontos quânticos com raio de 10 nm e em ▼ gap de pontos quânticos com raio de 3 nm. As retas tracejadas horizontais compreendem a região de comunicação óptica. (HARRISON *et al.*, 2000). Os materiais destacados pelos retângulos na cor vermelha são os que serão abordados nessa pesquisa e os na cor azul são comentados em outras dissertações/teses do grupo.

A Figura I. 2 mostra uma representação esquemática de nanocristais esféricos que apresentam propriedades de confinamento quântico (pontos quânticos) e de bulk, bem como, a variação da energia do exciton com o tamanho do nanocristal. A partir de um determinado raio, maior do que o de Bohr do exciton (r_{Exc}), o nanocristal não apresenta propriedade de confinamento quântico e sim de bulk. Em nanocristais com propriedades de bulk, os níveis de energia são próximos uns dos outros formando bandas. Já, em pontos quânticos os níveis de energia são quantizados, o que assemelha-se a um átomo artificial. Assim, nos PQs a energia do gap é alterada com o tamanho, permitindo sintonizar as suas propriedades ópticas. Quanto menor o tamanho do PQ maior será a energia de ligação de exciton.

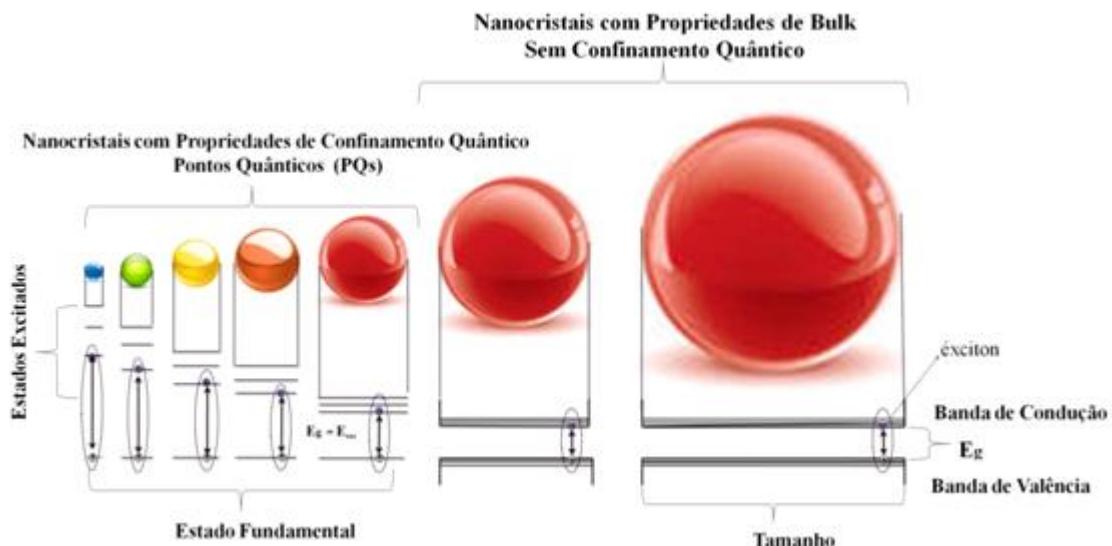
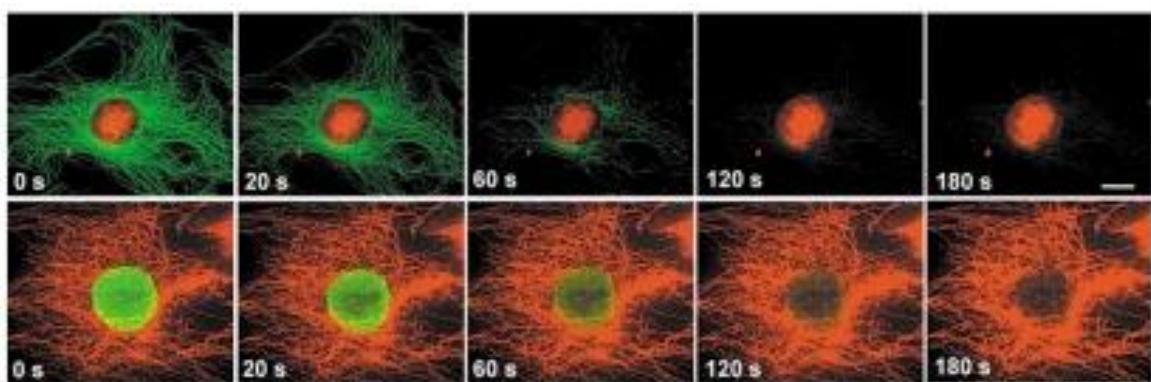


Figura I. 2 Variação da energia do exciton em função do tamanho para nanocristais com propriedades de confinamento quântico e de bulk.

I. 3. Vantagens dos Pontos Quânticos em Relação aos Corantes Orgânicos em Aplicações Biológicas e Biomédicas.

Pontos quânticos semicondutores de calcogenetos de cádmio (CdSe, CdS e CdTe) absorvem e emitem no espectro eletromagnético visível e por isso são utilizados em diversas aplicações de marcação biológica e biomédicas, tais como, sondas fluorescentes, biosensores, e outros (JENNINGS *et al.*, 2011; ZHANG; YEE; WANG, 2008; ZHANG; GUO; CUI, 2009). Na área de marcação biológica, a grande aplicabilidade dos PQs ocorre por apresentarem diversas vantagens em relação aos fluoróforos orgânicos tradicionais, tais como, longo tempo de vida de fluorescência, ~100 vezes maior, o que permite distingui-lo do sinal de fundo, visto que a autofluorescência tem tempo de vida de fluorescência bem mais curto

(ALIVISATOS, 2004; RESCH-GENGER *et al.*, 2008); espectros de absorção e emissão sintonizáveis; alta resistência a foto e quimo-degradação; e alta intensidade de fluorescência (DEERINCK, 2008; RESCH-GENGER *et al.*, 2008). Entretanto, essa comparação da intensidade de fluorescência dos PQs foi realizada em solventes não aquosos, com PQs não conjugados e em meios não biológicos, uma vez que a intensidade da fluorescência pode ser menor quando os PQs são conjugados e utilizados em experiências de marcação biológica (WU *et al.*, 2002). Wu *et al.* (2002) realizaram estudos da intensidade de fluorescência de PQs de CdSe, quando bioconjugados e utilizados em aplicações de marcação, e verificaram que a sensibilidade de detecção era determinada pela intensidade de emissão dos PQs em contato com o meio biológico e não isolados. A fim de realizar a comparação da intensidade de fluorescência foi realizado, simultaneamente, o monitoramento das mudanças na intensidade de fluorescência de PQs bioconjugados com estreptavidina e do corante orgânico Alexa Fluor 488 durante 3 minutos (WU *et al.*, 2002). A intensidade dos PQs bioconjugados com estreptavidina (PQ 535, PQ 560, e PQ 630) embora diferentes, foram duas a quatro vezes maiores do que a do Alexa 488. O corante orgânico Alexa 488 foi utilizado no experimento por ser mais fotoestável em comparação aos demais corantes (PANCHUK-VOLOSHINA *et al.*, 1999). Ainda de acordo com os estudos de Wu *et al.* (2002) verificou-se, também, a fotoestabilidade do PQ 630 bioconjugado com estreptavidina em comparação ao Alexa 488, mostrado na [Figura I. 3](#), confirmando que a intensidade do PQ 630- estreptavidina foi mais estável contra a fotodegradação do que Alexa 488, que não foi mais observada após 120 minutos.

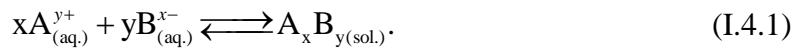


[Figura I. 3](#) Comparação da fotoestabilidade entre PQ 630-estreptavidina e Alexa 488 (fluoróforo). A marcação em verde representa Alexa 488 e a em vermelho o PQs 630- estreptavidina. A iluminação foi mantida contínua por 3 min a partir de uma lâmpada de mercúrio (100 W). Utilizou-se um filtro de excitação de 485 ± 20 nm para ambos, de emissão 535 ± 10 nm e 635 ± 10 nm, para monitorar os sinais do Alexa 488 e PQ 630, respectivamente (WU *et al.*, 2002).

I. 4. Cinética de Nucleação e Crescimento de Cristais em Solução

As duas últimas décadas apresentaram um progresso impressionante do estudo e desenvolvimento de nanomateriais, particularmente a respeito da síntese química de nanocristais inorgânicos através do processo coloidal, uma vez que esses nanocristais são freqüentemente utilizados em aplicações biotecnológicas (YIN; ALIVISATOS, 2005). A teoria da formação de cristais em solução não é um assunto muito simples e envolve análises de diversos parâmetros utilizados no processo de síntese. Esta seção propõe uma visão geral de processos de nucleação e crescimento de cristais, com base nos principais aspectos da teoria clássica da formação de cristais em solução, na relevância e na aplicabilidade para nanocristais.

As reações químicas usadas para representar a precipitação em solução apresentam várias formas. Por ilustração, consideramos o caso de uma reação de adição simples para a formação de um sólido A_xB_y (CUSHING; KOLESNICHENKO; O'CONNOR, 2004).



A relação de equilíbrio entre o produto e os reagentes é expressa pela constante de produto de solubilidade K_{sp} :

$$K_{sp} = (a_A)^x (a_B)^y, \quad (\text{I.4.2})$$

onde a_A e a_B são as atividades do cátion A e do ânion B em solução aquosa. Os valores de K_{sp} tendem a serem muito baixos para vários hidróxidos, carbonatos, oxalatos e calcogenetos em solução aquosa.

O pré-requisito para a precipitação de todo o sólido a partir de uma solução homogênea é a ocorrência de supersaturação (CUSHING; KOLESNICHENKO; O'CONNOR, 2004). Supersaturação (S) é definida como:

$$S = \frac{a_A a_B}{K_{sp}} = \frac{C}{C_{eq}}, \quad (\text{I.4.3})$$

onde C e C_{eq} são as concentrações de soluto na saturação e no equilíbrio, respectivamente. O soluto será denominado como monômero que é gerado pelos precursores da reação, correspondendo à menor unidade crescente do cristal.

LaMer e Dinegar (1950) propuseram uma descrição da cinética de nucleação e crescimento de cristais em solução com base na formação de sois (partículas sólidas muito pequenas presentes na solução) de enxofre a partir da decomposição de tiosulfato de sódio em ácido clorídrico(LAMER; DINEGAR, 1950). O diagrama de LaMer é dividido em três fases:

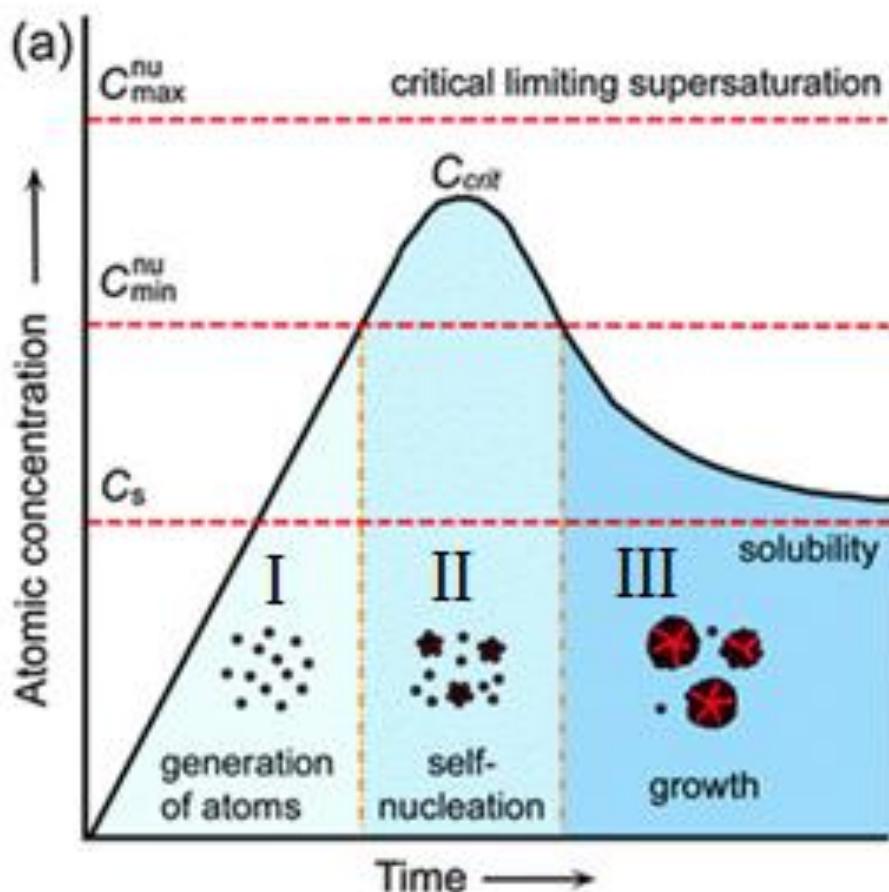


Figura I. 4 Modelo de LaMer que descreve a nucleação e crescimento de nanocristais como função do tempo de reação e concentração de átomos precursores (SUN, 2013).

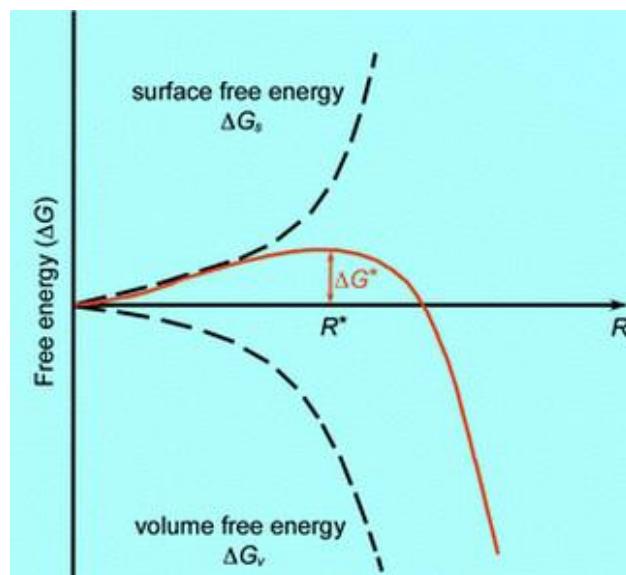
Na fase I a concentração de monômeros foi constantemente aumentada, mas não houve formação de NCs. Quando uma concentração crítica C_{crit} é atingida, na fase II, ocorre uma explosão de núcleos, diminuindo a supersaturação. A supersaturação tem um limite natural, em que a concentração de monômeros atingiu o seu valor máximo e a posterior adição de monômeros só conduz a um aumento na taxa de nucleação. Quando a concentração de monômeros, constantemente consumida pela nucleação, cai abaixo de C_{min}^{nu} não forma mais núcleos e os NCs começam a se formar na fase III. A taxa de crescimento chega a zero quando se esgotam os precursores e a concentração de monômeros se aproxima do produto de solubilidade ($C_{eq.} = C_s$), correspondendo a $S = 1$. O crescimento moderado dos NCs durante a supersaturação é controlado principalmente pela reação de precursores, uma vez que uma

concentração alta de monômeros limita a taxa de crescimento pela difusão de monômeros para a superfície do NCs. No entanto, a concentração de monômeros não pode exceder S_N , a fim de evitar uma segunda nucleação, porque a separação rápida e eficaz dos processos de nucleação e crescimento é uma etapa chave na síntese de NCs dispersos. Portanto, as condições iniciais, tais como temperatura e concentração influenciam fortemente no equilíbrio entre a nucleação e o crescimento, sendo parâmetros importantes para controlar a distribuição e o tamanho dos nanocristais.

A verdadeira dinâmica de nucleação e crescimento envolve taxas complicadas entre embriões (monômeros agregados) de vários tamanhos, bem como possíveis processos de reestruturação interna, os quais são poucos estudados experimentalmente e teoricamente (ROBB; PRIVMAN, 2008). A energia de formação de um nanocristal esférico de raio r pode ser descrita pela seguinte fórmula da energia livre de Gibbs (ΔG) (DONEGÁ; LILJEROTH; VANMAEKELBERGH, 2005; PARK *et al.*, 2007):

$$\Delta G = \frac{4\pi r^3}{3} \Delta G_v + 4\pi r^2 \Delta G_s, \quad (\text{I.4.4})$$

onde ΔG_v (< 0) é a diminuição da energia livre de Gibbs por unidade de volume devido à formação do nanocristal, e ΔG_s (> 0) é a energia livre de Gibbs por unidade de área de superfície. A [equação \(I.4.4\)](#) representa o modelo de nucleação clássica, que pode ser representada de acordo com a [Figura I. 5](#).



[Figura I. 5](#) Modelo clássico de nucleação mostrando o diagrama de energia livre de Gibbs para a nucleação (SUN, 2013).

A energia de formação dos NCs (ΔG) é mostrada na [Figura I. 5](#). Para NCs muito pequenos a energia de formação é positiva e aumenta com o tamanho até atingir um máximo. Para NCs maiores que o raio crítico (R^*), a energia livre de Gibbs diminui com o tamanho. Os NCs com energia livre de Gibbs máxima correspondem a um “estado de transição” em linguagem química. Assim, o raio crítico do núcleo possui uma variação igual para decompor reagentes ou para o crescimento de nanocristais. O raio crítico é obtido a partir do cálculo do ponto de máximo, ou seja, $d\Delta G/dr = 0$:

$$r_c = \frac{2\Delta G_s}{\Delta G_v}, \quad (\text{I.4.5})$$

onde ΔG_v está correlacionado com a supersaturação S de acordo com a [equação \(I.4.6\)](#), e V_m representa o volume molar do nanocrystal, R é a constante universal dos gases e T é a temperatura absoluta.

$$\Delta G_v = \frac{(RT \ln S)}{V_m}. \quad (\text{I.4.6})$$

Ao substituir [equação \(I.4.6\)](#) na [equação \(I.4.5\)](#) obtém-se o raio crítico em função da supersaturação S :

$$r_c = \frac{2V_m \Delta G_s}{RT \ln S}. \quad (\text{I.4.7})$$

Assim, a cristalização em soluções homogêneas só ocorre com a supersaturação, ([equação \(I.4.7\)](#)) quando $S > 1$. Com o aumento da supersaturação diminui a formação de núcleos de tamanho crítico e consequentemente ocorrerá a diminuição da concentração dos monômeros, os quais são constantemente consumidos pela nucleação e crescimento de nanocristais. Como consequência, nanocristais com raio menor que o raio crítico são dissolvidos, enquanto que nanocristais com $r > r_c$ crescem devido à incorporação de mais monômeros (maturação de Ostwald). No processo de síntese via solução utilizam-se estabilizantes para limitar o crescimento dos nanocristais. Assim, o processo de crescimento e nucleação de nanocristais é exemplificado com base na [Figura I. 6](#).

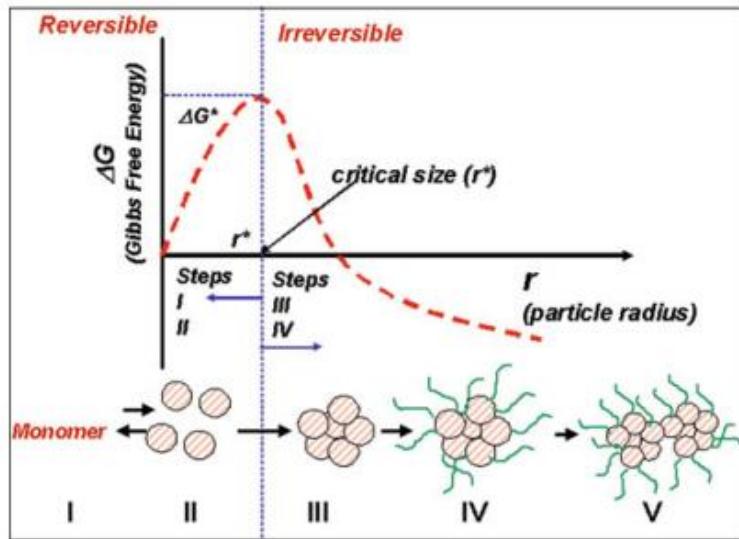


Figura I. 6 Diagrama esquemático do processo de nucleação e crescimento contendo cinco etapas e a dependência da energia livre de Gibbs (G) com o tamanho do nanocristal. r^* é o raio crítico e os processos reversível e irreversível ocorrem quando $r < r^*$ e $r > r^*$, respectivamente (LEITEL; RIBEIRO, 2012).

O mecanismo de crescimento que favorece ao aumento do embrião não é estabelecido nas etapas I e II, os processos são reversíveis. Quando um conjunto de monômeros atinge um tamanho crítico (etapa III) o processo torna-se irreversível e o tamanho dos nanocristais é controlado com o auxílio de estabilizantes (etapa IV). Os estabilizantes se ligam na superfície dos NCs, o que dificulta o crescimento e permite a sua dispersão na solução. Em uma primeira aproximação, a forma do nanocristal é controlada por processos energéticos. De fato, o nanocristal cresce em um arranjo geométrico que minimiza a energia de superfície. O estabilizante adsorve de forma preferencial na superfície dos nanocristais, o que resulta em um nanocristal anisotrópico (ALIVISATOS, 2004). Então, a forma e o tamanho dos nanocristais são controlados através de combinações adequadas de estabilizantes e solventes. A última etapa (etapa V) consiste na interação dos nanocristais formados na etapa IV, e produzindo nanoestruturas maiores. O processo acima descrito é ideal, pois um dos principais obstáculos para alcançar um bom controle da síntese coloidal de nanocristais constitui em separar o evento de nucleação do de crescimento (LEITEL; RIBEIRO, 2012).

Diversos modelos vêm sendo utilizados para descrever a cinética de crescimento e nucleação de nanocristais em solução. O modelo de Lifshitz-Slyozov-Wagner descreve muito bem a evolução da distribuição e do tamanho de nanocristais de CdSe maiores que 20 nm, mas falha para raios menores que 10 nm (LIFSHITZ; SLYOZOV, 1961). Portanto, modelos mais sofisticados que descrevem a cinética de nucleação e crescimento de NCs com diâmetros menores que 10 nm foram desenvolvidos, considerando efeitos diversos, tais como, os de

dependência dos estabilizantes, energia de ativação dependente do tamanho e a energia de ativação da conversão do precursor para monômero. (PUZDER *et al.*, 2004; SIY; BARTL, 2010; TALAPIN *et al.*, 2001b; VAN EMBDEN *et al.*, 2009; XIE; LI; PENG, 2009). Além disso, sabe-se que NCs com tamanhos menores que o raio crítico podem ser bem estabilizados na solução e não necessariamente se dissolvem. Essa observação contradiz a teoria clássica de cristalização. (PENG; WICKHAM; ALIVISATOS, 1998; QU; PENG, 2002; XIE; LI; PENG, 2009)

Donegá, Liljeroth; Vanmaekelbergh (2005) afirmam que a teoria clássica de nucleação é um modelo duvidoso a ser aplicado na formação de nanocristais via solução (DONEGÁ; LILJEROTH; VANMAEKELBERGH, 2005). Existe razões para isso, primeiro, o tamanho dos embriões de (CdSe)_nTOPO é bem pequeno, e assim ΔG_v não pode ser considerado como constante, mas pode variar consideravelmente com o tamanho e a estrutura do nanocristal. Os NCs de tamanhos mágicos (veja a [seção I. 9](#)) são extremamente estáveis mesmo ultra pequenos. Segundo, a tensão superficial ΔG_s depende do arranjo dos átomos na superfície e da ligação com os estabilizantes, isto é, a priori, não é independente do tamanho do nanocristal. A interação entre as moléculas do estabilizante deve ser adicionada na ΔG_s (DONEGÁ; LILJEROTH; VANMAEKELBERGH, 2005). Portanto, o processo de nucleação e crescimento dos NCs de tamanhos mágicos é tema relevante para pesquisas. (BOWERS; MCBRIDE; ROSENTHAL, 2005; DUKES; MCBRIDE; ROSENTHAL, 2010; KUDERA *et al.*, 2007; NGUYEN; DAY; PACTER, 2010; OUYANG, 2008; RIEHLE *et al.*, 2009; YU; LIU, 2009)

[I. 5. Metodologias de Sínteses de Pontos Quânticos em Solução](#)

Diversos métodos de síntese de PQs (HAN; SHENG; LIANG, 2006; LIU; WANG; LI, 2009; QU; PENG; PENG, 2001; YANG *et al.*, 2009) são utilizados para controlar tanto o intervalo de luminescência como a biocompatibilidade, o que os tornam ferramentas interessantes em diversas aplicações biológicas, tais como em imagem celular (JIN Z, 2012), no diagnóstico de câncer de próstata (SANNA V, 2012), a detecção inicial de câncer cervical (NIDA *et al.*, 2005), o estudo de migração de células tumorais *in vivo* (SUKHANOVA *et al.*, 2012), e outras aplicações (CHU *et al.*, 2012; SHAO *et al.*, 2012; YUKAWA *et al.*, 2012). O foco principal desta pesquisa é em pontos quânticos sintetizados via rotas químicas de solução, que se tornaram mais populares devido a utilização de PQs na área biológica e biomédicas. Além disso, existem vários métodos de síntese utilizados para formar

nanocristais. O método de síntese coloidal é um processo em que as partículas são formadas a partir de compostos precursores dissolvidos em soluções, contendo basicamente três componentes no sistema: precursores, surfactantes orgânicos (estabilizantes) e solventes. Os surfactantes orgânicos são utilizados a fim de manter as partículas dispersas, evitando aglomeração. Para a formação de PQs são utilizadas diversas metodologias como a organometálica e a solução aquosa, sendo a primeira a mais utilizada.

Na metodologia organometálica os PQs são formados em uma mistura quente de tri-n-octilfosfina (TOP) e óxido tri-n-octilfosfina (TOPO) (MURRAY; KAGAN; BAWENDI, 2000). Essa mistura funciona tanto como solvente quanto como ligante de estabilização. Inicialmente, certa quantidade de TOPO é mantida sob atmosfera de nitrogênio ou argônio e aquecida a 200°C ~ 300°C. A alta temperatura é utilizada para decompor os reagentes formando uma supersaturação de solutos na solução, que serão usados na nucleação dos PQs. Em seguida, soluções de estoque de dimetil-cádmio (Me_2Cd) e seleneto de tri-n-octilfosfina (TOPSe) são adicionados no balão de três bocas e misturados sob agitação. Durante os primeiros segundos após a injeção, as partículas de nucleação homogênea esgotam os reagentes e ocorre o crescimento dos PQs (maturação de Ostwald) e saturação da solução. Esse procedimento foi o primeiro a resultar em PQs com elevada eficiência quântica, entre 10 e 20%, e com estreita distribuição de tamanhos (ANGELL, 2011). Outros procedimentos baseado na metodologia organometálica foram utilizados, os solventes e precursores foram alterados com o objetivo de aumentar a eficiência quântica, obter a dispersão, bem como um maior controle no processo. No entanto, essa metodologia é prejudicial tanto para o ambiente, quanto para a saúde humana, pois as matérias-primas, especialmente os precursores organometálicos são extremamente tóxicos, caros, instáveis, explosivos, e/ou pirofóricos (entram em ignição quando em contato com a umidade do ar). Além disso, para que os PQs sintetizados pela metodologia organometálica sejam utilizados em aplicações biológicas e biomédicas é necessário a modificação da superfície para torná-los dispersos em meios biocompatíveis.

Existem, em geral, dois métodos para tornar os PQs dispersos em água. O primeiro é trocar a monocamada hidrofóbica de ligantes na superfície de PQs por ligantes hidrofílicos. Porém, essa estratégia pode provocar agregação das partículas e diminuição da eficiência quântica (CHAN; NIE, 1998) Além disso, a possível dessorção (oposto a adsorção) de ligantes instáveis na superfície dos PQs pode aumentar a toxicidade devido à exposição de elementos tóxicos (PQs de calcogenetos de cádmio são os íons de cádmio, veja a [seção I. 8.](#)). O segundo método é manter os ligantes hidrofóbicos, na superfície dos PQs, dispersos em

água através de adsorção de polímeros anfifílicos com segmentos hidrofóbicos. Existem vários polímeros que são utilizados, como o ácido poliacrílico modificado-octilamina (WU *et al.*, 2002) e PEG (DUBERTRET *et al.*, 2002). Dessa forma, este processo envolve várias etapas para alterar o solvente orgânico para o aquoso (LI, 2008). A complexidade da síntese orgânica faz com que o preço dos PQs comerciais seja extremamente alto.

Na síntese de PQs, diretamente em solução aquosa, não é necessário a modificação de superfície, pois os PQs já estão dispersos em um meio biocompatível (água ultra-pura). Os PQs são formados via reação entre os íons de cádmio (Cd^{+2}) e $NaHX$ ($X = Se$ e Te) juntamente com o estabilizante. Essa metodologia é muito interessante, uma vez que os PQs obtidos são monodispersos em água ultra-pura, o que evita processos de modificação de superfície. Nos PQs extremamente pequenos (USPQs), devido a alta razão superfície volume a maioria dos átomos estão localizados na superfície e modificações interferem tanto nas propriedades ópticas, como na estabilidade dos USPQs.

Na metodologia de síntese, dos PQs via solução, parâmetros como, por exemplo, temperatura de síntese, tempo de reação, concentração de precursores, pH, tipo de gás inerte, ordem das soluções precursoras e tipo de estabilizante são fatores que influenciam no tamanho, estabilidade e forma dos nanocristais. Durante o crescimento dos nanocristais os surfactantes (ou estabilizantes) na solução podem ser adsorvidos na superfície dos nanocristais, proporcionando cascas orgânicas (também chamada como camada de revestimento). Essa camada de revestimento pode estabilizar os nanocristais na solução e controlar o seu crescimento. Assim, os surfactantes que se ligam na superfície do núcleo podem retardar a taxa de crescimento, resultando em nanocristais de tamanhos, relativamente, menores (WANG, 2009). Nessa pesquisa, as seções III.1 e III.3 descrevem duas metodologias de síntese de PQs de CdSe/CdS via solução aquosa, a primeira controlou a espessura da casca de CdS em função da temperatura de reação e a segunda em função da concentração do estabilizante 1-tioglycerol, que apresentou resultados surpreendentes e não existentes na literatura.

I. 6. Processos de Funcionalização

Para que PQs possam ser acoplados a moléculas biológicas são realizados processos de funcionalização. O processo de funcionalização de PQs consiste em revestir a sua superfície por moléculas orgânicas que apresentam grupamentos químicos específicos, tais como ácido carboxílico, tiol, amina, maleimida, aldeído, epóxi, dentre outros (MAZUMDER *et al.*, 2009; SPERLING; PARAK, 2010). A superfície de PQs contém

grupamentos químicos específicos utilizados não só para permitir a sua dispersão em fluidos biológicos, como também, para facilitar a sua conjugação com moléculas biológicas, visando a sua utilização como sondas luminescentes, de acordo com a Figura I. 7. Em geral, os pontos quânticos são funcionalizados com grupamentos químicos do tipo carboxila (-COOH), tiol (-SH) e amina (-NH₃) que estão prontos para se conjugar a biomoléculas sem muitas modificações adicionais. Dada a grande diversidade de ligantes disponíveis, utilizou-se nessa pesquisa o 1-tioglycerol (que contém dois grupamentos hidroxila e um tiol), uma vez que é pouco investigado na literatura e apresenta grupamento hidroxila raramente utilizado em bioaplicações.

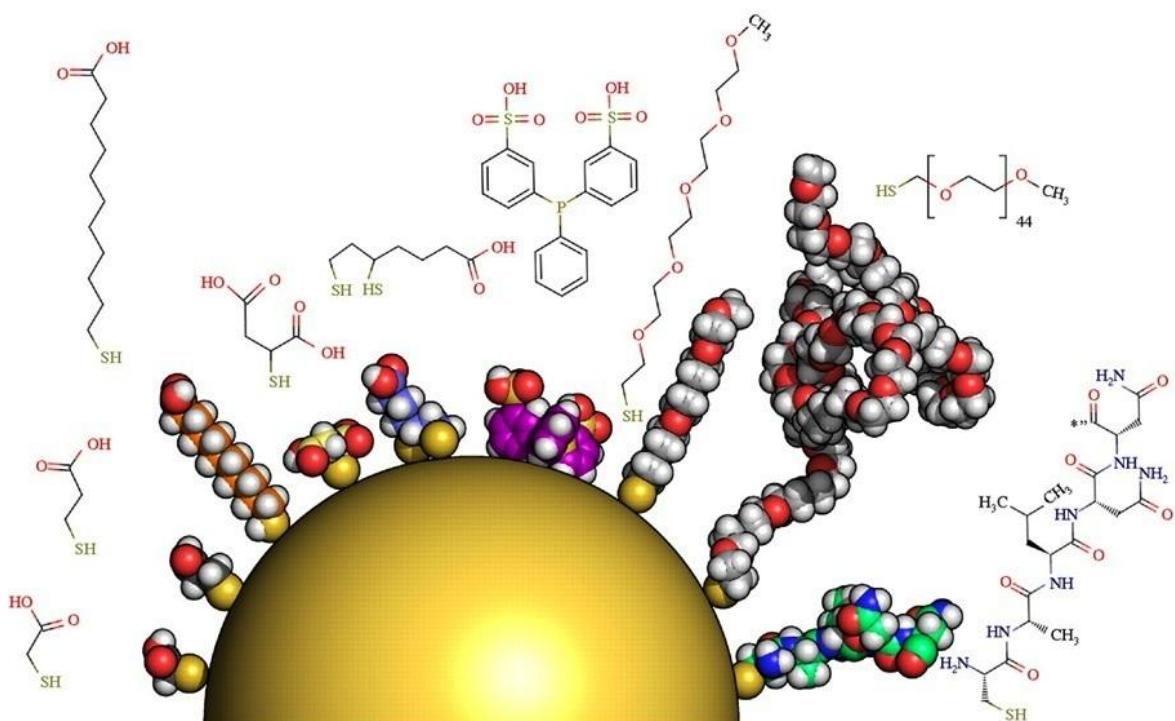


Figura I. 7 Esquema representativo de diferentes tipos de estabilizantes na superfície dos PQs com diferentes tipos de grupamentos externo (SPERLING; PARAK, 2010).

I. 7. Processos de Purificação

O processo de purificação da solução de PQs é extremamente necessário quando se utiliza PQs em aplicações biológicas e biomédicas, uma vez que excesso de íons ou moléculas orgânicas na solução influencia nos resultados de citotoxicidade ou imunogenicidade. O processo de purificação da solução coloidal consiste em retirar excesso de íons, sais e moléculas orgânicas presentes na solução dos PQs após a síntese. Além disso, esse procedimento é utilizado também para diminuir a dispersão de tamanho dos PQs formados. A depender do tipo de solvente utilizado no processo de síntese utiliza-se um solvente

específico, como, por exemplo, álcool metílico (sínteses TOP), etílico (sínteses em água ultra-pura ou em TOP), isopropílico (sínteses em água ultra-pura) e acetona (síntese em água ultra-pura). Goteja-se na solução dos PQs o solvente específico até que a solução turve. A solução turavada é centrifugada e o sobrenadante é descartado. Esse processo pode ser realizado várias vezes, dependendo da qualidade da passivação (revestimento) dos PQs. Após este processo, o precipitado é separado em duas partes, uma para as caracterizações que utilizam pó, e a outra é dispersa em água ultra-pura (ou em outro tipo de solvente) em uma concentração específica. Entretanto, caso o processo de purificação seja realizado em excesso os PQs podem não dispersar novamente. Assim, nessa pesquisa diversos parâmetros foram variados (velocidade de rotação, tempo de rotação, tipo de solvente específico, vezes de purificação) para se descobrir os que melhor se aplicariam a metodologia proposta.

I. 8. Processos de Bioconjugação

Para permitir o uso dos PQs como sondas específicas em aplicações biológicas e biomédicas diversas metodologias de funcionalização vêm sendo utilizadas. A depender do tipo de grupamento externo a superfície dos PQs é possível permitir a fixação de uma diversidade de biomoléculas, incluindo ácidos nucléicos, proteínas (avidina / estreptavidina, albumina e anticorpos), polissacarídeos, e peptídeos. Assim, após a funcionalização são realizados processos de bioconjugação que visam por ligações químicas ou interações acoplar os pontos quânticos a moléculas biológicas.

Diversos métodos de bioconjugação vêm sendo utilizados, contudo deve-se ter conhecimento sobre as características da molécula biológica que pretende acoplar, vejam alguns destes tipos na [Figura I. 8](#). As biomoléculas são geralmente conjugadas na superfície dos PQs através das seguintes metodologias de bioconjugação: 1) ligação covalente cruzada: liga os grupos carboxílicos na superfície dos PQs aos grupamentos amina presente na biomolécula ao utilizar 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) (WU *et al.*, 2002) ou N-hydroxysulfosuccinimide (NHS) (HAN *et al.*, 2008); 2) adsorção ou automontagem não covalente, utilizando engenharia de proteínas (polihistidina (His) (HAINFELD *et al.*, 1999; MATTOUSSI *et al.*, 2000; SLOCIK; MOORE; WRIGHT, 2002). Além disso, devido à alta razão superfície volume é possível acoplar várias biomoléculas de diferentes tipos em um único PQ, onde cada uma delas apresenta uma função específica que garante a multi-funcionalidade do PQ (MICHALET *et al.*, 2005).

No nosso recente trabalho acoplamos com sucesso os nossos MSPQs de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS-COOH a um anticorpo específico de câncer de mama visando a sua

utilização como sonda biológica. Além disso, verificamos que os nossos MSPQs de CdSe/CdS apresentaram baixa citotoxicidade e nenhuma resposta imunológica, o que possibilita o seu uso em aplicações *in vivo*. Este assunto será comentado em detalhes no Capítulo III. 4.

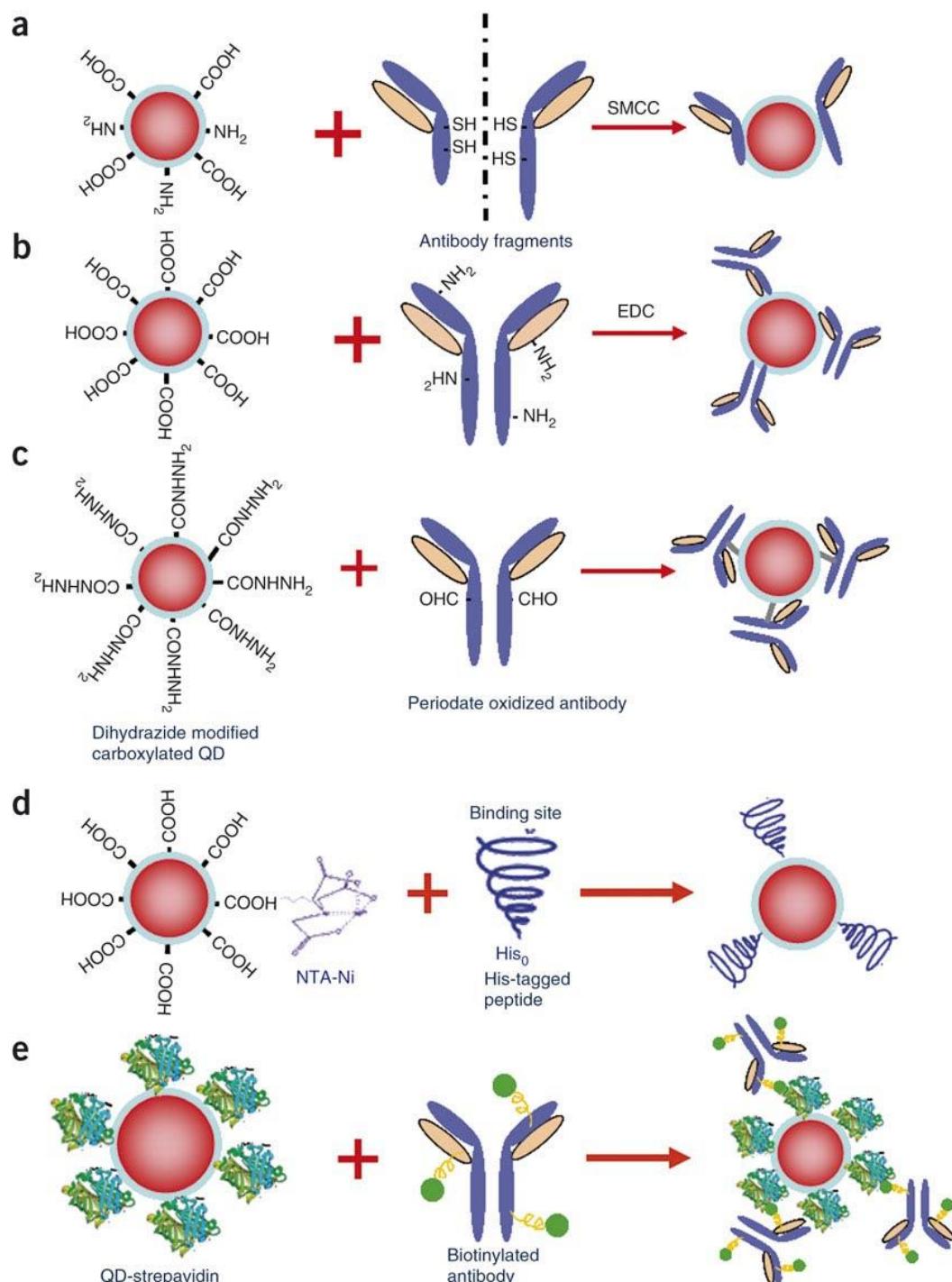


Figura I. 8 Processos de acoplamento de PQs com diferentes tipos de proteínas (XING *et al.*, 2007)

I. 9. Toxicidade dos Pontos Quânticos

No estudo de processos biológicos, os PQs devem ser dispersos em meio celular, terem baixa toxicidade, com alta estabilidade e ter alta eficiência quântica. No entanto, cada tipo de PQ tem suas propriedades físico-químicas que determina a sua citotoxicidade. Tamanho, concentração, ligantes de revestimento e estabilidade (oxidação, interação e mecânica) tem sido fatores que mostram ser determinantes na toxicidade de PQs. (HARDMAN, 2006). Além disso, os PQs podem interagir com as componentes intracelulares levando a uma perda das funcionalidades intracelulares essenciais (TEKLE *et al.*, 2008). Tendo em mente estas diversas aplicações biológicas, vários pesquisadores observaram que a citotoxicidade de PQs de calcogenetas cádmio está associada com a oxidação intracelular. Este processo de oxidação é devido à presença de íons de cádmio (Cd^{+2}) adsorvidos na superfície de pontos quânticos que interagem com moléculas de oxigênio nas células. Para superar esses problemas, materiais inertes, tais como a sílica pode ser usada para revestir os PQs e prevenir a oxidação (SHIOHARA *et al.*, 2004).

A síntese de PQs com baixa toxicidade é de extrema importância para diversas aplicações biológicas e biomédicas. A toxicidade dos PQs é associada com a inibição da atividade metabólica celular que conduz a apoptose, interferindo com as suas aplicações *in vivo* como sondas luminescentes (CHEN *et al.*, 2012). Assim, as alterações químicas de superfície dos PQs são de fundamental importância e deve ser realizadas a fim de eliminar a citotoxicidade e atingir a estabilidade físico-química (GUO *et al.*, 2007). Além disso, modificações nos PQs como composição do núcleo e/ou casca, tamanho, moléculas de revestimento, métodos de sínteses, podem diminuir os efeitos nocivos devido a adsorção de Cd^{+2} .

A citotoxicidade não está apenas associada à presença de íons de cádmio, podendo ser relacionada também a moléculas de revestimento e ao tamanho dos PQs. A modificação da superfície dos PQs é uma prática largamente usada para solubilização em água e evitar a liberação de íons tóxicos, tornando-os citocompatíveis. O tipo de grupamento químico que estas nanopartículas apresentam externamente na superfície pode aumentar ou diminuir os efeitos tóxicos. Por exemplo, recentes estudos verificaram que o grupamento carboxílico apresenta taxas de citotoxicidade relativamente altas em comparação a outros tipos de grupamentos (HOSHINO *et al.*, 2004; RYMAN-RASMUSSEN; RIVIERE; MONTEIRO-RIVIERE, 2007). O tamanho dos PQs também influenciar na citotoxicidade, quanto menor o PQ maior a citotoxicidade. Isto pode ocorrer pelo fato de partículas menores podem entrar nas

células mais rapidamente interferindo, assim, a um grau mais elevado na maquinaria celular (PRASAD *et al.*, 2012; RYMAN-RASMUSSEN; RIVIERE; MONTEIRO-RIVIERE, 2007), ou ainda, pelas diferenças entre as áreas de superfície, partículas menores, com mesma composição química, apresentam maiores áreas de superfície podendo aumentar a quantidade de substâncias tóxicas reativas, incluindo íons Cd²⁺ ou outros estabilizantes, o que aumenta a toxicidade. Entretanto, nesta tese sintetizamos PQs extremamente pequenos que apresentaram baixa citotoxicidade e nenhuma resposta imunológica. Este assunto será comentado detalhadamente no [Capítulo III](#).

I. 10. Pontos Quânticos Ultra pequenos e de Tamanhos Mágicos

Os PQs ultra pequenos (USPQs) são nanocristais com tamanhos extremamente pequenos, apresentando fortes efeitos de confinamento quântico, em que a maioria dos seus átomos estão localizados na superfície (WISE, 2000; ZOU *et al.*, 2007). A grande quantidade de átomos na superfície e a presença de várias ligações pendentes originam mudanças nas propriedades dos nanocristais, podendo ser observado nos espectros de fluorescência (MURRAY; KAGAN; BAWENDI, 2000). Os pontos quânticos de tamanhos mágicos (MSPQs) são nanocristais com tamanhos extremamente pequenos (< 2 nm) e que apresentam propriedades físicas completamente diferentes dos PQs tradicionais (CHEN *et al.*, 2005). Embora os MSPQs apresentem propriedades semelhantes aos USPQs incluindo a composição e tamanho, algumas propriedades fundamentais colocam esses PQs em classes diferentes.

As propriedades características dos MSPQs são as: estruturas termodinamicamente estáveis, o amplo intervalo de luminescência, a alta estabilidade do tamanho com o tempo, os espectros de absorção relativamente estreitos e/ou crescimento heterogêneo (descontinuo) (CHEN *et al.*, 2005; DUKES; MCBRIDE; ROSENTHAL, 2010; NGUYEN; DAY; PACTER, 2010; RIEHLE *et al.*, 2009; XIA; ZHU, 2008b). As estruturas termodinamicamente estáveis são formadas a partir do arranjo de um determinado número de átomos, que lhe confere uma alta estabilidade. Nguyen, Day e Pachter (2010) realizaram previsões teóricas de diversos tipos de estruturas de MSPQs de CdSe que estão de acordo com os resultados experimentais na literatura(NGUYEN; DAY; PACTER, 2010). O termo tamanho mágico está relacionado a um número (mágico) de átomos na estrutura que faz com que os PQs sejam extremamente estáveis (NGUYEN; DAY; PACTER, 2010). O espectro de luminescência largo ocorre devido aos MSPQs terem defeitos atômicos internos (ausência ou presença extra de átomos) (DUKES; MCBRIDE; ROSENTHAL, 2010; NGUYEN; DAY; PACTER, 2010; RIEHLE *et al.*, 2009).

As Figura I. 9 e Figura I. 10 mostram, respectivamente, os espectros de absorção e luminescência de PQs e MSPQs de CdSe. Observa-se na Figura I. 9 que as bandas de absorção representadas pelas setas deslocam-se para maiores comprimentos de onda com o aumento no tempo, exemplificando os PQs de CdSe. As bandas estreitas e que praticamente não se deslocam com o tempo são características de MSPQs (ZOU *et al.*, 2007). Nos espectros de luminescência (Figura I. 10) observa-se que as bandas largas são relacionadas aos MSPQs e as estreitas aos PQs.

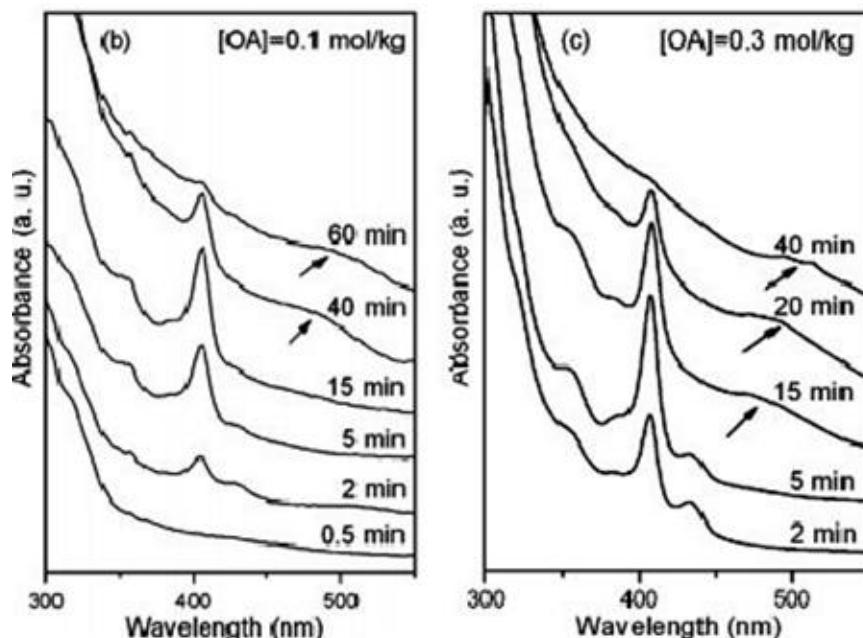


Figura I. 9 Evolução temporal dos espectros absorção no UV-Vis das amostras contendo PQs de CdSe com tamanhos mágicos e ultra pequenos. As setas indicam as bandas de absorção de PQs de CdSe ultra pequenos (ZOU *et al.*, 2007).

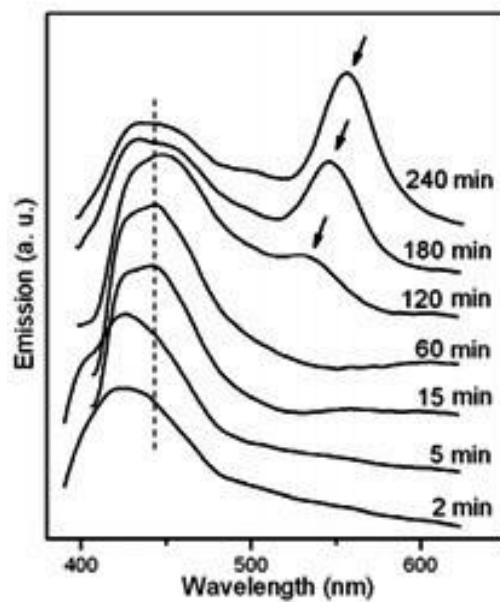


Figura I. 10 Evolução temporal da emissão de PQs de CdSe de tamanhos mágicos e ultra pequenos. As setas indicam as bandas de emissão de PQs de CdSe ultra pequenos (ZOU *et al.*, 2007).

A Figura I. 11 exemplifica os espectros de absorção de luminescência (inset) de nanocrstais de CdTe de tamanhos mágico em função do tempo. Todas essas amostras apresentam espectros de absorção e luminescência relativamente estreitos e largos, respectivamente, os quais são característicos de MSPQs.

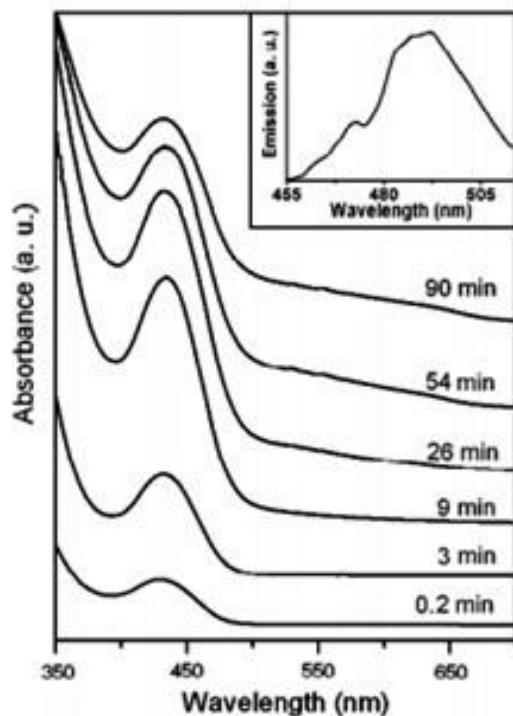


Figura I. 11 Evolução temporal de espectros UV-Vis de nanocrstais de CdTe de tamanhos mágico crescidos a 190 °C em ácido oléico, concentração de 0,1 mol kg⁻¹. O inseto mostra a emissão dos nanocrstais de CdTe (ZOU *et al.*, 2007).

Os pontos quânticos ultra pequenos e os de tamanhos mágicos são em grande maioria sintetizados via protocolos de síntese, utilizam percussores organometálicos, meios não aquosos, altas temperaturas, e reagentes extremamente caros (QU; PENG; PENG, 2001). Entretanto, para que possa se utilizar esses pontos quânticos em aplicações biológicas, é necessária a modificação da sua superfície, a fim de torná-los dispersos em meio biocompatíveis, como, por exemplo, água ultra-pura. Contudo, essas modificações afetam a estabilidade físico-química e as propriedades ópticas de USPQs e MSPQs (ODA *et al.*, 2007). Então, a fim de evitar a manipulação da superfície dos PQs e métodos onerosos, eles são sintetizados diretamente em soluções aquosas, ainda há poucos relatos da síntese de USPQs e MSPQs via solução coloidal aquosa (PARK *et al.*, 2010).

A nova classe de PQs de CdSe denominados como pontos quânticos de tamanhos mágicos (MSPQs) tem destaque em várias pesquisas científicas, por apresentar tamanhos extremamente pequenos, alta estabilidade com o tempo, amplo espectro de emissão e alta

eficiência quântica em comparação com os tradicionais. (CHEN et al., 2005; XIA; ZHU, 2008a; ZHANPEISOV, JOSE et al., 2006)

Nos resultados dessa pesquisa observou-se que os MSPQs são materiais excelentes para aplicações biológicas, pois apresentam alta estabilidade de luminescência com o tempo, em meio biológico, e amplo espectro de emissão. O amplo espectro de emissão permite a visualização dos MSPQs em vários canais de detecção, facilitando o acompanhamento de estudos de processos biológicos. Essas propriedades foram confirmadas no artigo publicado na *Sensors and Actuators B 2013*, comentado na [seção III.2](#). Os tamanhos extremamente pequenos dos MSPQs lhes conferem a habilidade de atravessar facilmente diversos tipos de membranas celulares, o que não podem ser alcançado com corantes convencionais (PRASAD et al., 2012). Isso confirma que os MSPQs podem ser excelentes ferramentas para o estudo de migração de tumores *in vivo*, tráfego intracelular de proteínas e sondas estáveis para monitorar vários processos celulares.

Os estudos *in vivo* e *ex vivo*, com PQs dependem de mecanismos de absorção celular, que podem ocorrer por meio de endocitose ou por translocação direta através de membranas. O último é o mais vantajoso, porque PQs estão disponíveis para ligação imediata com os seus alvos sem estar confinado em vesículas endossomais (REVON et al., 2013). Portanto, os MSPQs de CdSe podem ser extremamente preferidos para aplicações gerais biológicas e biomédicas, devido à sua difusão passiva em células e dispersão rápida; recentemente, foi demonstrado que os MSPQs de CdSe podem ser incorporados em células HeLa, mantendo a sua fluorescência mesmo após 36 horas; maiores detalhes sobre a incorporação de MSPQs de CdSe são comentados na [seção III.2](#).

As nanoestruturas núcleo/casca os melhores nanomateriais para utilização em um amplo intervalo de aplicações biológicas, porque as suas propriedades podem ser moduladas em função da composição núcleo/casca e espessura da casca. Essas nanoestruturas apresentam diferentes propriedades ópticas, a depender do tipo de nanoestrutura semicondutora que se utiliza tanto no núcleo como na casca, modificando as posições relativas dos níveis de energia do elétron e buraco. Basicamente três tipos de alinhamentos de bandas podem ser distinguíveis, denominados como tipo I, tipo I reverso e tipo II (REISS; PROTIÈRE; LI, 2009). Pontos quânticos de CdSe revestidos com cascas de ZnS (DABBOUSI et al., 1997; TALAPIN et al., 2001a) CdS (GREYTAK et al., 2012; TALAPIN et al., 2007) são chamadas de estruturas de alinhamento tipo I. Essa configuração melhora a eficiência da luminescência e a estabilidade química e fotoquímica (HINES; GUYOT-SIONNEST, 1996). A diferença de rede entre o CdSe e CdS (~3.9%), é muito pequena quando comparada com o CdSe e ZnS

(~12%) , o que facilita o crescimento epitaxial da casca de CdS ao redor do núcleo de CdSe e melhora a acessibilidade eletrônica (PENG *et al.*, 1997).

Os pontos quânticos núcleo/casca são usualmente produzidos através de duas metodologias, uma que se envolve “dois passos” e outra de apenas “um passo”. Na metodologia de “dois passos”, inicialmente, sintetizam-se os núcleos, depois se realiza o processo de purificação desses núcleos e em seguida adiciona-se a solução de íons do material em que se forme a casca (REISS; PROTIÈRE; LI, 2009). A metodologia de “um passo” ocorre a formação das nanoestruturas núcleo/ casca em apenas uma síntese (MEKIS *et al.*, 2003). Recentemente, Deng *et al* (2010) sintetizaram MSPQs CdTe/CdS, variaram a composição do núcleo e a composição da casca, e providenciaram uma ampla possibilidade de propriedades de modulação. A luminescência pode ser sintonizada do visível (480 nm) até o infravermelho próximo (820 nm) pelo revestimento de nanocristais de CdTe de tamanhos mágico com diferentes espessuras de casca de CdS (DENG *et al.*, 2010). Nessa pesquisa as metodologias de síntese desenvolvidas permitem formar uma casca de CdS ao redor de PQs de CdSe a partir do estabilizante tiol no processo de síntese. A primeira síntese controlou a espessura da casca de CdS ao redor de MSPQs de CdSe em função da temperatura de síntese em solução aquosa (*Journal Physical Chemistry C*) (SILVA *et al.*, 2013). Outra metodologia cresceu USPQs de CdSe/CdS em solução aquosa com espessuras de casca de CdS controlada em função da concentração de 1-tioglycerol (ACS Nano) (SILVA *et al.*, 2014a). Essas metodologias possibilitaram a diminuição de Cd⁺² na superfície, minimizando a citotoxicidade e os tornando sondas fluorescentes extremamente interessantes em aplicações biológicas e biomédicas, comentado no [Capítulo III](#).

Nesse trabalho, sintetizou-se diferentes MSPQs e USPQs de apenas núcleo, núcleo/liga e núcleo/liga/casca, avaliou-se os seus efeitos biológicos em contato com macrófagos, células cancerígenas, e *in vivo* e foram utilizados como sondas biológicas específicas.

I. 11. Objetivos dessa Pesquisa

Os objetivos gerais da pesquisa são: (i) sintetizar pontos quânticos semicondutores e nanoestruturas núcleo/casca de alta estabilidade quanto ao tamanho, de estreita dispersão de tamanho, eficiência quântica relativamente alta e biocompatíveis via soluções aquosas; (ii) funcionalizar os pontos quânticos a depender do tipo de aplicação com grupamentos específicos, como hidroxila e ácido carboxílico; (iii) acoplar estes pontos quânticos a moléculas biológicas, visando a sua utilização como sondas fluorescentes; (iv) estudar estes pontos quânticos com a utilização de diversas técnicas experimentais, visando obter um entendimento comprehensivo das suas propriedades fundamentais.

Referências

- ADAMS, L. L. A.; SWEENEY, W. R.; JAEGER, H. M. Growth of Cadmium Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 14, p. 6304–6310, 5 mar. 2010.
- ALIVISATOS, P. The use of nanocrystals in biological detection. **Nature biotechnology**, v. 22, n. 1, p. 47–52, jan. 2004.
- ANGELL, J. J. Synthesis and Characterization of CdSe-ZnS Core-Shell Quantum Dots for Increased Quantum Yield.** [s.l.] California Polytechnic State University, 2011.
- BOWERS, M. J.; MCBRIDE, J. R.; ROSENTHAL, S. J. White-Light Emission from Magic-Sized Cadmium Selenide Nanocrystals. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 44, p. 15378–15379, 18 out. 2005.
- BRUS, L. Electron-electron and electron-• hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. **The Journal of Chemical Physics**, v. 07974, n. January, 1984.
- CHAN, W. C. W.; NIE, S. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. **Science**, v. 281 , n. 5385 , p. 2016–2018, 25 set. 1998.
- CHEN, N. et al. The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots. **Biomaterials**, v. 33, p. 1238–1244, 2012.
- CHEN, X. et al. Investigation of the Crystallization Process in 2 nm CdSe Quantum Dots. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 12, p. 4372–4375, 1 mar. 2005.
- CHU, M. et al. The therapeutic efficacy of CdTe and CdSe quantum dots for photothermal cancer therapy. **Biomaterials**, v. 33, n. 29, p. 7071–7083, out. 2012.
- CUSHING, B. L.; KOLESNICHENKO, V. L.; O'CONNOR, C. J. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. **Chemical reviews**, v. 104, n. 9, p. 3893–946, set. 2004.
- DABBOUSI, B. O. et al. (CdSe)ZnS Core–Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. In: **The Journal of Physical Chemistry B**. [s.l.] American Chemical Society, 1997. v. 101p. 9463–9475.
- DANTAS, N.; NETO, E.; SILVA, R. Diluted magnetic semiconductor nanocrystals in glass matrix. In: YOSHITAKE MASUDA (Ed.). **Nanocrystals**. [s.l: s.n.]. p. 143–169.
- DANTAS, N. O. et al. Anti-Stokes Photoluminescence in Nanocrystal Quantum Dots. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 30, p. 7453–7457, 9 jul. 2002.
- DANTAS, N. O. et al. Energy transfer in PbS quantum dots assemblies measured by means of spatially resolved photoluminescence. **Applied Surface Science**, v. 238, n. 1-4, p. 209–212, nov. 2004.

- DANTAS, N. O. et al. Growth and characterisation of ZnO quantum dots in polyacrylamide. **Microelectronics Journal**, v. 36, n. 3-6, p. 234–236, mar. 2005.
- DANTAS, N. O. et al. Evidence of Cd_{1-x}Mn_xS nanocrystal growth in a glass matrix by the fusion method. **Applied Physics Letters**, v. 93, n. 19, p. 193115, 2008a.
- DANTAS, N. O. et al. Raman investigation of ZnO and Zn_{1-x}Mn_xO nanocrystals synthesized by precipitation method. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 354, n. 42-44, p. 4827–4829, nov. 2008b.
- DANTAS, N. O. et al. Structural and magnetic properties of ZnO and Zn_{1-x}Mn_xO nanocrystals. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 354, n. 42-44, p. 4727–4729, nov. 2008c.
- DANTAS, N. O. et al. Atomic and Magnetic Force Microscopy of Semiconductor and Semimagnetic Nanocrystals Grown in Colloidal Solutions and Glass Matrices. In: NAKAMURA, B.; TANAKA, A. (Ed.). **Optical Imaging: Technology, Methods and Applications**. [s.l.] Nova Science Publishers, 2012. p. 109–132.
- DANTAS, N. O.; NETO, E. S. DE F. Carrier Dynamics and Magneto-Optical Properties of Cd_{1-x}Mn_xS Nanoparticles. In: **Nanocrystals - Synthesis, Characterization and Applications**. [s.l: s.n.].
- DANTAS, N. O.; SILVA, R. S.; QU, F. Optical Properties of PbSe and PbS Quantum Dots Embedded in Oxide Glass. **Physica Status Solidi (B)**, v. 232, n. 1, p. 177–181, jul. 2002.
- DEERINCK, T. J. The application of fluorescent quantum dots to confocal, multiphoton, and electron microscopic imaging. **Toxicologic pathology**, v. 36, n. 1, p. 112–6, jan. 2008.
- DENG, Z. et al. Aqueous synthesis of zinc blende CdTe/CdS magic-core/thick-shell tetrahedral-shaped nanocrystals with emission tunable to near-infrared. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 16, p. 5592–3, 28 abr. 2010.
- DONEGÁ, C. M.; LILJEROTH, P.; VANMAEKELBERGH, D. Physicochemical evaluation of the hot-injection method, a synthesis route for monodisperse nanocrystals. **Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)**, v. 1, n. 12, p. 1152–62, dez. 2005.
- DUBERTRET, B. et al. In Vivo Imaging of Quantum Dots Encapsulated in Phospholipid Micelles. **Science**, v. 298 , n. 5599 , p. 1759–1762, 29 nov. 2002.
- DUKES, A. D.; MCBRIDE, J. R.; ROSENTHAL, S. J. Synthesis of Magic-Sized CdSe and CdTe Nanocrystals with Diisooctylphosphinic Acid. **Chemistry of Materials**, v. 22, n. 23, p. 6402–6408, 17 nov. 2010.
- GREYTAK, A. B. et al. Alternating layer addition approach to CdSe/CdS core/shell quantum dots with near-unity quantum yield and high on-time fractions. **Chemical Science**, v. 3, n. 6, p. 2028, 2012.
- GUO, G. et al. Probing the cytotoxicity of CdSe quantum dots with surface modification. **Materials Letters**, v. 61, p. 1641–1644, 2007.

- HAINFELD, J. F. et al. Ni-NTA-gold clusters target His-tagged proteins. **Journal of structural biology**, v. 127, n. 2, p. 185–98, set. 1999.
- HAN, H.; SHENG, Z.; LIANG, J. A novel method for the preparation of water-soluble and small-size CdSe quantum dots. **Materials Letters**, v. 60, n. 29-30, p. 3782–3785, dez. 2006.
- HAN, Y. et al. NHS-mediated QDs-peptide/protein conjugation and its application for cell labeling. **Talanta**, v. 75, p. 1008–1014, 2008.
- HARDMAN, A. Toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors. **Environ. Health Perspect.**, n. 114, p. 165–172, 2006.
- HARRISON, M. T. et al. Colloidal nanocrystals for telecommunications . Complete coverage of the low-loss fiber windows by mercury telluride quantum dots. **Pure Appl. Chem.**, n. 72, p. 295, 2000.
- HINES, M. A.; GUYOT-SIONNEST, P. Synthesis and Characterization of Strongly Luminescing ZnS-Capped CdSe Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 468–471, jan. 1996.
- HOSHINO, A. et al. Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on Their Surface Modification. **Nano Letters**, v. 4, n. 11, p. 2163–2169, nov. 2004.
- JENNINGS, T. L. et al. Simplistic attachment and multispectral imaging with semiconductor nanocrystals. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 11, p. 10557–70, jan. 2011.
- JIN Z, H. N. Semiconductor quantum dots for in vitro diagnostics and cellular imaging. **Trends Biotechnol.**, p. 394–403, 2012.
- JÚNIOR, D. R. DOS S. **Heterojunções com Dopagem Delta e Modulada: Tipo-p e Tipo-n.** [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2002.
- JÚNIOR, D. R. DOS S. **Aplicação do Método dos Elementos Finitos no Estudo da Estrutura Eletrônica e Interação Elétron-Fônons em Pontos Quânticos.** [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2004a.
- JÚNIOR, D. R. M. **Crescimento e Caracterização de Nanocristais Semicondutores em Matrizes Vítreas.** [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2004b.
- KITTEL, C. **Introduction to Solid State Physics.** [s.l.] John Wiley and Sons, 1968.
- KUDERA, S. et al. Sequential Growth of Magic-Size CdSe Nanocrystals. **Advanced Materials**, v. 19, n. 4, p. 548–552, 19 fev. 2007.
- LAI, K. W. C. **Nano-optoelectronic Sensors and Devices: Nanophotonics from Design to Manufacturing.** [s.l.] William Andrew, 2011.
- LAMER, V. K.; DINEGAR, R. H. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. **J. Amer. Chem. Soc.**, v. 72, p. 4847–4854, 1950.

LEITEL, E. R.; RIBEIRO, C. **Crystallization and Growth of Colloidal Nanocrystals**. New York: Springer, 2012.

LI, H. **Synthesis and Characterizationof Aqueous Quantum Dots for Biomedical Applications**. [s.l.] Drexel University, 2008.

LIFSHITZ, I. M.; SLYOZOV, V. V. THE KINETICS OF PRECIPITATION FROM SUPERSATURATED SOLID SOLUTIONS. **Journal of Physical Chemistry Solids**, v. 19, n. 1, p. 35–50, 1961.

LIU, P.; WANG, Q.; LI, X. Studies on CdSe/l-cysteine Quantum Dots Synthesized in Aqueous Solution for Biological Labeling. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 18, p. 7670–7676, 7 abr. 2009.

MATTOUSSI, H. et al. Self-Assembly of CdSe–ZnS Quantum Dot Bioconjugates Using an Engineered Recombinant Protein. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 49, p. 12142–12150, 22 nov. 2000.

MAZUMDER, S. et al. Review: Biofunctionalized Quantum Dots in Biology and Medicine. **Journal of Nanomaterials**, v. 2009, p. 1–17, 2009.

MEKIS, I. et al. One-Pot Synthesis of Highly Luminescent CdSe / CdS Core - Shell Nanocrystals via Organometallic and “ Greener ” Chemical Approaches. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, p. 7454–7462, 2003.

MENDES JUNIOR, D. R. et al. Photoluminescence and optical absorption in CdS_xSe_{1-x} nanocrystals. **Microelectronics Journal**, v. 34, n. 5-8, p. 643–645, maio 2003.

MICHALET, X. et al. Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics. **Science** , v. 307 , n. 5709 , p. 538–544, 28 jan. 2005.

MURRAY, C. B.; KAGAN, C. R.; BAWENDI, M. G. Synthesis and Characterization of Monodisperse Nanocrystals and Close-Packed Nanocrystal Assemblies. **Annu. Rev.Mater**, v. 30, p. 545, 2000.

NGUYEN, K. A.; DAY, P. N.; PACTER, R. Understanding Structural and Optical Properties of Nanoscale CdSe Magic-Size Quantum Dots: Insight from Computational Prediction. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 39, p. 16197–16209, 9 set. 2010.

NIDA, D. L. et al. Fluorescent nanocrystals for use in early cervical cancer detection. **Gynecologic oncology**, v. 99, n. 3 Suppl 1, p. S89–94, dez. 2005.

ODA, M. et al. Photoluminescence behaviors of single CdSe/ZnS/TOPO nanocrystals: Adsorption effects of water molecules onto nanocrystal surfaces. **Journal of Luminescence**, v. 127, n. 1, p. 198–203, nov. 2007.

OUYANG, J. ET AL. Multiple families of magic-sized CdSe nanocrystals with strong bandgap photoluminescence via noninjection one-pot syntheses. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, p. 13805–13811, 2008.

- PANCHUK-VOLOSHINA, N. et al. Alexa dyes, a series of new fluorescent dyes that yield exceptionally bright, photostable conjugates. **J Histochem Cytochem.**, v. 47, p. 1179–88, 1999.
- PARK, J. et al. Synthese monodisperser sphärischer Nanokristalle. **Angewandte Chemie**, v. 119, n. 25, p. 4714–4745, 18 jun. 2007.
- PARK, Y. et al. Size-Selective Growth and Stabilization Solution. **ACS Nano**, v. 4, n. 1, p. 121–128, 2010.
- PENG, X. et al. Epitaxial Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility. **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, n. 30, p. 7019–7029, 1 jul. 1997.
- PENG, X.; WICKHAM, J.; ALIVISATOS, A. P. Kinetics of II-VI and III-V Colloidal Semiconductor Nanocrystal Growth : “ Focusing ” of Size Distributions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 7863, n. 98, p. 5343–5344, 1998.
- PRASAD, B. R. et al. Effects of long-term exposure of gelatinated and non-gelatinated cadmium telluride quantum dots on differentiated PC12 cells. **Journal of nanobiotechnology**, v. 10, n. 1, p. 4, jan. 2012.
- PUZDER, A. et al. The Effect of Organic Ligand Binding on the Growth of CdSe Nanoparticles Probed by Ab Initio Calculations. **Nano Letters**, v. 4, p. 2361–2365, 2004.
- QU, F. et al. Effects of nanocrystal shape on the physical properties of colloidal ZnO quantum dots. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, v. 23, n. 3-4, p. 410–415, jul. 2004.
- QU, F.; SILVA, R.; DANTAS, N. Optical absorption and photoluminescence in PbS quantum dots. **physica status solidi (b)**, v. 99, n. 1, p. 95–99, 2002.
- QU, L.; PENG, X. Control of photoluminescence properties of CdSe nanocrystals in growth. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 9, p. 2049–55, 6 mar. 2002.
- QU, L.; PENG, Z. A.; PENG, X. Alternative Routes toward High Quality CdSe Nanocrystals. **Nano Letters**, v. 1, n. 6, p. 333–337, 1 jun. 2001.
- REISS, P.; PROTIÈRE, M.; LI, L. Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. **Small**, v. 5, n. 2, p. 154–168, 19 jan. 2009.
- RESCH-GENGER, U. et al. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. **Nat Methods.**, v. 5, p. 763–75, 2008.
- REVON, L. B. et al. Cellular Internalization of Quantum Dots Mediated by Cell-Penetrating Peptides. **Pharmaceutical Nanotechnology**, v. 1, n. 2, p. 151–161, 2013.
- RIEHLE, F. S. et al. Blue Luminescence and Superstructures from Magic Size Clusters of CdSe. **Nano Letters**, v. 9, n. 2, p. 514–518, 13 jan. 2009.

- ROBB, D. T.; PRIVMAN, V. Model of Nanocrystal Formation in Solution by Burst Nucleation and Diffusional Growth. **Langmuir**, v. 24, n. 26-35, 2008.
- RYMAN-RASMUSSEN, J. P.; RIVIERE, J. E.; MONTEIRO-RIVIERE, N. A. Surface coatings determine cytotoxicity and irritation potential of quantum dot nanoparticles in epidermal keratinocytes. **The Journal of investigative dermatology**, v. 127, n. 1, p. 143–53, jan. 2007.
- SANNA V, S. M. Nanoparticle therapeutics for prostate cancer treatment. **Maturitas**, p. 27–32, 2012.
- SHAO, D. et al. Monitoring HSV-TK/ganciclovir cancer suicide gene therapy using CdTe/CdS core/shell quantum dots. **Biomaterials**, v. 33, n. 17, p. 4336–44, jun. 2012.
- SHIOHARA, A. et al. On the cyto-toxicity caused by quantum dots. **Microbiology and Immunology**, v. 48, p. 669–675, 2004.
- SILVA, A. C. A. et al. Modified Phonon Confinement Model and Its Application to CdSe/CdS Core–Shell Magic-Sized Quantum Dots Synthesized in Aqueous Solution by a New Route. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, n. 4, p. 1904–1914, 4 jan. 2013.
- SILVA, A. C. A. et al. Shell Thickness Modulation in Ultrasmall CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS Core/Shell Quantum Dots via 1-Thioglycerol. **ACS Nano**, v. 8, n. 2, p. 1913–1922, 27 jan. 2014a.
- SILVA, A. C. A. et al. Highly stable luminescence of CdSe magic-sized quantum dots in HeLa cells. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 191, p. 108–114, fev. 2014b.
- SILVA, R. S. DA. **Crescimento e Caracterização Óptica de Pontos Quânticos Semicondutores de PbS e PbSe e PbTe em Vidros Óxidos**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2002.
- SILVA, R. S. DA. **Crescimento, Caracterização Óptica e Estrutural e Estudo de Pontos Quânticos Semicondutores de PbS e PbSe em Matrizes Vítreas**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2004.
- SILVA, R. S. DA; NETO, E. S. DE F.; DANTAS, N. O. Optical, Magnetic, and Structural Properties of Semiconductor and Semimagnetic Nanocrystals. In: **Nanocrystals - Synthesis, Characterization and Applications**. [s.l: s.n.].
- SILVA, R.; MORAIS, P. Optical and electron paramagnetic resonance spectroscopies of Mn-doped PbS nanocrystals. **Magnetics, IEEE ...**, v. 43, n. 6, p. 3124–3126, jun. 2007.
- SILVA, R. S. et al. Synthesis process controlled magnetic properties of Pb[_{1-x}Mn[_x]S nanocrystals. **Applied Physics Letters**, v. 90, n. 25, p. 253114, 2007.
- SILVA, R. S. et al. Synthesis and magnetic characterization of Pb_{1-x}Mn_xS nanocrystals in glass matrix. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 41, n. 16, p. 165005, 21 ago. 2008.

- SILVA, R. S. et al. Magnetic and optical characterization of Mn-doped PbS nanocrystals supported in oxide glass matrix. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 483, n. 1-2, p. 204–206, ago. 2009.
- SIY, J. T.; BARTL, M. H. Insights into Reversible Dissolution of Colloidal CdSe Nanocrystal Quantum Dots. **Chemistry of Materials**, v. 22, n. 21, p. 5973–5982, 13 out. 2010.
- SLOCIK, J. .; MOORE, J. .; WRIGHT, D. . Monoclonal Antibody Recognition of Histidine-Rich Peptide Encapsulated Nanoclusters. **Nano Letters**, v. 2, n. 3, p. 169–173, 8 fev. 2002.
- SPERLING, R. A; PARAK, W. J. Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. **Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences**, v. 368, n. 1915, p. 1333–83, 28 mar. 2010.
- SUKHANOVA, A. et al. **Oriented conjugates of single-domain antibodies and quantum dots: toward a new generation of ultrasmall diagnostic nanoprobe**s. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine* Elsevier, , 1 maio 2012.
- SUN, Y. Controlled synthesis of colloidal silver nanoparticles in organic solutions: empirical rules for nucleation engineering. **Chemical Society reviews**, v. 42, p. 2497–2511, 2013.
- TALAPIN, D. V et al. Seeded growth of highly luminescent CdSe/CdS nanoheterostructures with rod and tetrapod morphologies. **Nano letters**, v. 7, n. 10, p. 2951–9, out. 2007.
- TALAPIN, D. V. et al. Highly Luminescent Monodisperse CdSe and CdSe/ZnS Nanocrystals Synthesized in a Hexadecylamine–Trioctylphosphine Oxide–Trioctylphosphine Mixture. **Nano Letters**, v. 1, n. 4, p. 207–211, abr. 2001a.
- TALAPIN, D. V. et al. Evolution of an Ensemble of Nanoparticles in a Colloidal Solution: Theoretical Study. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 105, n. 49, p. 12278–12285, dez. 2001b.
- TEKLE, C. et al. Cellular trafficking of tum dot-ligand bioconjugates and their induction of changes in normal routing of unconjugated ligands. **Nano Letters**, v. 8, p. 1858–1865, 2008.
- VAN EMBDEN, J. et al. Evolution of Colloidal Nanocrystals: Theory and Modeling of their Nucleation and Growth. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 37, p. 16342–16355, 17 set. 2009.
- WANG, L. **Applications Of Gel Electrophoresis In Quantum Dot Conjugates' Separation And Purification**. [s.l.] University of Missouri, 2009.
- WISE, F. W. Lead salt quantum dots: the limit of strong quantum confinement. **Accounts of chemical research**, v. 33, p. 236803, 2000.
- WU, X. et al. Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. **Nature Biotechnology**, v. 21, p. 41 – 46, 2002.
- XIA, Y. S.; ZHU, C. Q. Aqueous synthesis of luminescent magic sized CdSe nanoclusters. **Materials Letters**, v. 62, p. 2103–2105, 2008a.

- XIA, Y.-S.; ZHU, C.-Q. Aqueous synthesis of luminescent magic sized CdSe nanoclusters. **Materials Letters**, v. 62, n. 14, p. 2103–2105, maio 2008b.
- XIE, R.; LI, Z.; PENG, X. Nucleation kinetics vs chemical kinetics in the initial formation of semiconductor nanocrystals. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 42, p. 15457–66, 28 out. 2009.
- XING, Y. et al. Bioconjugated quantum dots for multiplexed and quantitative immunohistochemistry. **Nature protocols**, v. 2, n. 5, p. 1152–65, jan. 2007.
- YANG, H. et al. High-Temperature Synthesis of CdSe Nanocrystals in a Serpentine Microchannel: Wide Size Tunability Achieved under a Short Residence Time. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 3, p. 1569–1574, 4 fev. 2009.
- YIN, Y.; ALIVISATOS, A. P. Colloidal nanocrystal synthesis and the organic-inorganic interface. **Nature**, v. 437, n. 664-670, 2005.
- YU, Q.; LIU, C.-Y. Study of Magic-Size-Cluster Mediated Formation of CdS Nanocrystals: Properties of the Magic-Size Clusters and Mechanism Implication. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 29, p. 12766–12771, 23 jul. 2009.
- YUKAWA, H. et al. Monitoring transplanted adipose tissue-derived stem cells combined with heparin in the liver by fluorescence imaging using quantum dots. **Biomaterials**, p. 2177–86, 2012.
- ZHANG, H.; YEE, D.; WANG, C. Quantum dots for cancer diagnosis and therapy: biological and clinical perspectives. **Nanomedicine**, n. 3, p. 83–91, 2008.
- ZHANG, X.; GUO, Q.; CUI, D. Recent advances in nanotechnology applied to biosensors. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 2, p. 1033–53, jan. 2009.
- ZHANPEISOV, JOSE, R. et al. M. Structure-property correlation of CdSe clusters using experimental results and first-principles DFT calculations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, p. 629–636, 2006.
- ZOU, Q. D. et al. Facile synthesis of magic-sized CdSe and CdTe nanocrystals with tunable existence periods. **Nanotechnology**, v. 18, n. 40, p. 405603, 2007.

Capítulo II

II. 1. Síntese de Pontos Quânticos de Tamanhos Mágicos e Ultrapequenos de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS

A Figura II. 1 mostra o esquema representativo utilizado em todas as metodologias de sínteses dessa pesquisa. Nas etapas (a) a (c) utilizou-se um balão de três bocas conectado a fluxos contínuos de água gelada e gás argônio ultra-puro. Na etapa (a) ocorreu a redução de selênio metálico ao adicionar o redutor borohidreto de sódio (NaBH_4). Na etapa (b), após a redução do selênio no balão de três bocas, injetou-se uma solução aquosa contendo íons de cádmio (Cd^{+2}) e o estabilizante 1-tioglycerol. Na etapa (c), instantaneamente, logo após a injeção de Cd^{+2} + 1-tioglycerol ocorreu à mudança de coloração da solução dando indícios da formação dos nanocristais de CdSe.

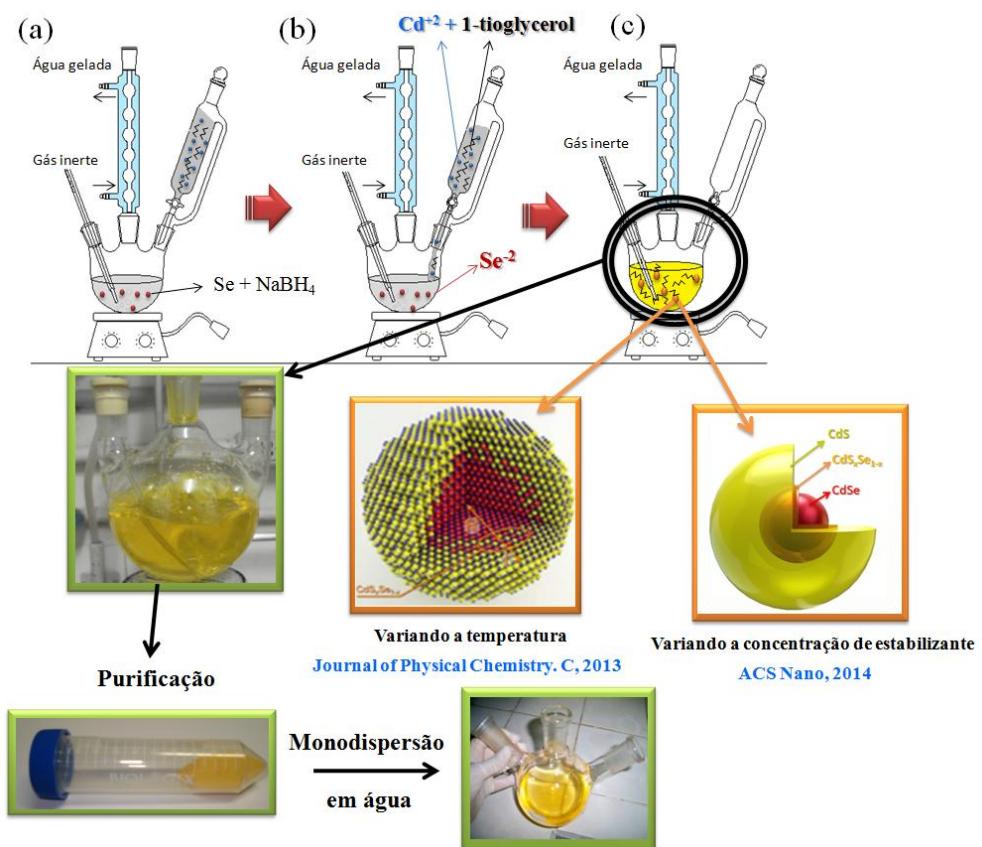


Figura II. 1 Esquema representativo utilizado em todas as metodologias de sínteses desta pesquisa

Duas metodologias de sínteses foram adotadas nessa pesquisa, uma em função da temperatura e outra em função da concentração de 1-tioglycerol, descritas com maiores detalhes a seguir.

- Metodologia para formação de MSPQs de CdSe e CdSe/CdS (*J. Phys. Chem. C* 2013, 117, 1904–1914).

Inicialmente preparou-se a solução de NaHSe em um balão de três bocas sob atmosfera de argônio adicionou-se 1 mmol de selênio metálico (Se, 99.999%) mais 2 mmol de borohidreto de sódio (NaBH₄, 98%) em 60 ml de água ultra-pura a 0°C sob agitação magnética; em seguida mais 4 mmol de perclorato de cádmio (Cd(ClO₄)₂, 99.999%) e 2 mmol de 1-tioglycerol (>97%) em 20 ml de água ultra-pura; ajustou-se o pH para 4 (1M de NaOH foi utilizado) a 0°C. Injetou-se a segunda solução (Cd⁺² + 1-thioglicerol) na primeira (NaHSe), a qual foi mantida sob agitação por 30 min e 30 ml de uma alíquota foi retirada (amostra S0). Adicionou-se a solução formada do balão 4 mmol de 1-tioglycerol em 20 mol de água ultra-pura, a qual permaneceu sob agitação por 30 minutos e retirou-se uma outra alíquota (amostra S1). Em seqüência, a temperatura da solução do balão foi aquecida para 80°C e mantida sob agitação por 30 minutos, novamente uma alíquota de 30 ml (amostra S2) foi obtida. As soluções foram purificadas com etanol e centrifugadas, realizou-se esse mesmo procedimento três vezes. Os precipitados foram dispersos em 50 ml de água ultra-pura.

- Metodologia para formação de MSPQs de CdSe (*Sensors and Actuators B* 2014, 191, 108 – 114).

Os MSPQs de CdSe foram sintetizados a 60 °C. Primeiro, preparou-se uma solução com 1 mmol de selênio (Se, 99.999%) e 2 mmol de borohidreto de sódio (NaBH₄, 98%) em 40 mol de água ultra pura e em atmosfera de argônio. Uma segunda solução foi preparada contendo 2 mmol de perclorato de cádmio (Cd(ClO₄)₂·6H₂O, 99.999%) e 3 mmol de 1-tioglycerol (>97%) e 10 ml de água ultra-pura. A segunda solução foi injetada na primeira da qual os MSPQs de CdSe foram produzidos instantaneamente. Esse processo de síntese formou somente os MSPQs de CdSe com a liga de CdS_xSe_{1-x}. A solução foi armazenada a temperatura ambiente durante as caracterizações.

- Metodologia para formação de USPQs de CdSe e CdSe/CdS (*ACS Nano* 2014, 8, 1913–1922).

Os nanocristais foram crescidos em soluções aquosas a temperatura ambiente de acordo com os seguintes passos: 1 mmol de selênio metálico (Se, 99.999%) e 2 mmol de borohidreto de sódio (NaBH₄, 98%) foram dispersos em 20 ml de água ultra-pura em um balão de três bocas, sob atmosfera de argônio. Posteriormente, preparou-se um solução contendo 2 mmol de perclorato de cádmio (Cd(ClO₄)₂·6H₂O, 99.999%) e x mmol de 1-tioglycerol (>97%) em 40 ml de água ultra-pura, o pH foi ajustado para 11 pela adição de 0.1 M de NaOH. As concentrações x de 1-tioglicocerol foram 1, 3, 5, 7, 9 e 11 mmol. A solução dos íons de cádmio foi injetada na solução de íons de selênio sob agitação magnética, ocorrendo a formação instantânea dos nanocristais. A solução foi mantida por agitação magnética por 30 min. As soluções foram precipitadas com etanol e centrifugadas quatro vezes a 6.000 rpm por 10 min. Os nanopós foram secos a vácuo, temperatura ambiente e dispersos em água ultra-pura com concentração de 1.4 mg/ml. As amostras foram nomeadas como CdSe:1T, CdSe:3T, CdSe:5T, CdSe:7T, CdSe:9T e CdSe:11T.

II.2. Técnicas de Caracterizações

As técnicas de caracterização utilizadas nesse trabalho, visaram investigar as propriedades ópticas, morfológicas, estruturais e vibracionais dos PQs sintetizados via solução aquosa.

II.2.1. Transições Eletrônicas de Absorção e Emissão

A absorção da radiação na faixa do visível (VIS) e ultravioleta (UV) é associada a excitação dos elétrons, em átomos ou moléculas, que partem do estado fundamental para um estado excitado. Em materiais isolantes ou semicondutores a excitação ocorre entre a banda de valência e de condução. Nesse processo ocorre a criação de um elétron na banda de condução e um buraco, com carga oposta à carga do elétron, na banda de valência. Esse par elétron-buraco é conhecido como éxciton, no qual existe uma interação colombiana mútua entre estas partículas (CHEMISTRY, 2009). A Figura II. 2. mostra um diagrama esquemático de uma medida de absorção, e é possível observar que quando o comprimento de onda da radiação incidente coincide com a diferença de energia entre o estado fundamental e o excitado, ocorre o processo de absorção. A fim de detectar o processo de absorção os

espectrômetros são baseados no princípio de transmissão de luz. Após a detecção é gerado um espectro que relaciona os fótons absorvidos/transmitidos em função do comprimento de onda de excitação.



Figura II. 2 Diagrama esquemático de uma medida de espectro de absorção (CHUI, 2011).

Para melhor compreensão da medida de absorção instrumental foi realizada a dedução da lei de Beer – Lambert (SKOOG et al., 2013). Considera-se um feixe de luz monocromática paralelo com intensidade I_0 incidindo na superfície de uma amostra, como exemplificado na Figura II. 3 de forma perpendicular à superfície. Depois de atravessar a amostra de comprimento b , contendo N moléculas/cm³, a intensidade da luz reduz a I_T .

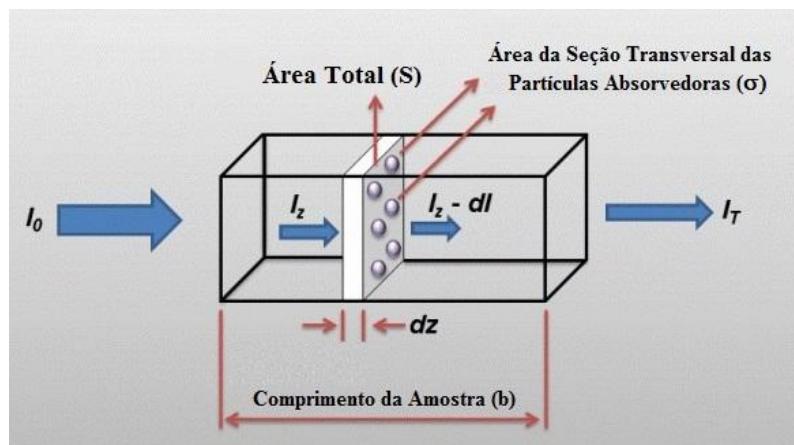


Figura II. 3 Esquema representativo da intensidade e detalhes experimentais em uma medida de espectro de absorção.

Se cada molécula apresentar uma área de seção transversal (σ), na qual os fótons de luz são absorvidos, então, devido a cada partícula absorvedora a fração da área total onde a luz for absorvida é σ/S . Assim, a área total fracionária para todas as partículas absorvedoras da amostra, onde a luz é absorvida, será $(NSdz) \times (\sigma / S) = \sigma N dz$.

Se I_z é a luz que penetra na amostra infinitesimal e a luz absorvida devido às partículas absorvedoras é dI ; a luz que sai da amostra será $I_z - dI$. Portanto, a fração de luz absorvida é dI/I_z .

A probabilidade de absorção na amostra de espessura dz é igual a área total fracionária para todas as partículas absorvedoras da amostra, onde a luz é absorvida, é obtida por $dI / I_z = -\sigma N dz$. Se realizar o processo de integração em todo o comprimento da amostra ($z = 0$ e $z = b$):

$$\int_{I_o}^{I_T} \frac{dI}{I_z} = - \int_0^b \sigma N dz, \quad (\text{II.2.1})$$

$$\ln(I_T) - \ln(I_o) = -\sigma Nb, \quad (\text{II.2.2})$$

$$\ln(I_T/I_o) = -\sigma Nb. \quad (\text{II.2.3})$$

Pode-se correlacionar o número de partículas/cm³ da amostra com a concentração (mols/ litro) utilizando a relação $c = N \times 1000 / (6,023 \times 10^{23})$, isolando o N e o substituindo na equação (II.2.3) (SKOOG et al., 2013):

$$\ln(I_T/I_o) = -\sigma 6.023 \times 10^{20} cb. \quad (\text{II.2.4})$$

Para simplificar essa equação é possível converter ln para \log_{10} da seguinte maneira: $2.303 \log(x) = \ln(x)$. Portanto, tem-se:

$$-\log(I_T/I_o) = (\sigma 6.023 \times 10^{20} cb) / 2.303, \quad (\text{II.2.5})$$

$$\log(I_o/I_T) = (6.023 \times 10^{20} / 2.303) \sigma cb. \quad (\text{II.2.6})$$

A absorbância A (ou densidade óptica) tem como definição: $A = \log(I_o/I_T)$ (MENDES; BENFATO, 2009). O termo dentro dos parênteses é uma constante chamada de absorvidade molar $\varepsilon = (6.023 \times 10^{20} / 2.303) \sigma$ (SKOOG et al., 2013). Assim, pode-se reescrever a equação (II.2.6) como (YU et al., 2003):

$$A = \varepsilon bc. \quad (\text{II.2.7})$$

A relação do coeficiente de absorção linear α com o coeficiente da absorvidade molar é dada por (GARRETT, 2008):

$$\alpha = \varepsilon c. \quad (\text{II.2.8})$$

Ao reescrever a [equação \(II.2.6\)](#) em função do coeficiente de absorção linear α , se obtém:

$$\log(I_o/I_T) = \alpha b. \quad (\text{II.2.9})$$

Dessa forma, verificou-se que a intensidade de um feixe incidente diminui ao atravessar um meio absorvente, de acordo com a seguinte equação exponencial, conhecida como lei de Beer – Lambert (LAKOWICZ, 2006):

$$I = I_0 e^{-\alpha x}, \quad (\text{II.2.10})$$

Em que I_0 e I_T são, respectivamente, as intensidades do feixe incidente e do feixe transmitido, α é o coeficiente de absorção (cm^{-1}), e x é a espessura do meio absorvente (cm). A energia está relacionada com o comprimento de onda pela seguinte expressão $E(\text{eV}) = 1239,8/\lambda(\text{nm})$.

A linearidade da Lei de Beer – Lambert é limitada por fatores químicos e instrumentais (BEER-LAMBERT, 2002; PATNAIK, 2004):

- desvios nos coeficientes de absorvidade em elevadas concentrações ($> 0,01\text{M}$), devido às interações eletrostáticas entre moléculas causadas pela proximidade.
- mudanças no índice de refração à alta concentração.
- mudanças de equilíbrios químicos, que são causados por variações no pH e a força iônica do sistema.
- radiação não monocromática

Os átomos, moléculas ou materiais semicondutores e isolantes podem emitir luz de forma espontânea quando o elétron realiza a transição da banda de condução para a banda de valência (materiais isolantes e semicondutores) ou do estado excitado para o fundamental (átomos ou moléculas). Este processo é conhecido como transição interbanda.

O processo de luminescência é constituído de três passos: excitação (criação do par elétron-buraco por uma fonte externa), termalização (elétrons e buracos relaxam para o fundo da banda de condução e de valência, respectivamente) e recombinação (elétrons e buracos se recombinam produzindo a emissão de fôtons).

A Figura II. 4 ilustra o processo de absorção de fótons, para a criação do par elétron-buraco, seguido da thermalização, que posiciona os portadores nas extremidades das bandas e da recombinação radiativa, na qual ocorre a emissão de fótons em nanocristais com propriedades de bulk e de confinamento quântico. Observa-se, também, na Figura II. 4 que a diminuição no tamanho dos pontos quânticos aumenta a energia de transição entre as bandas de energia.

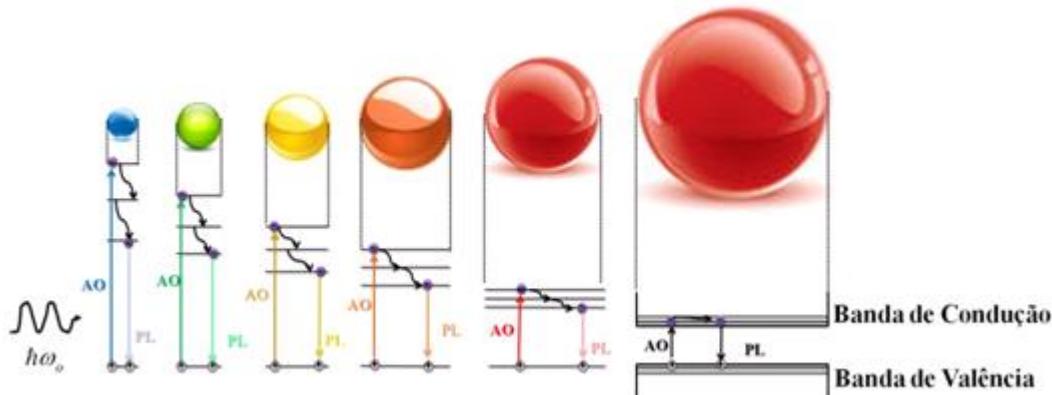


Figura II. 4 Esquema representativo do processo de absorção (AO) e emissão (PL).

As propriedades de confinamento quântico presente nos pontos quânticos podem ser observadas nos espectros de absorção e emissão, mostrado na Figura II. 5. Se a banda de absorção estiver localizada em comprimentos de onda menores que o correspondente material bulk ($\text{CdSe} = 708 \text{ nm}$) indica a formação de PQs. O deslocamento para maiores comprimentos de onda das bandas de absorção e emissão ocorre devido a diminuição da energia de gap causada pelo aumento no tamanho dos PQs. Portanto, com base nos espectros de absorção e emissão é possível confirmar se os PQs cresceram e acompanhar a cinética desse crescimento. Além disso, de acordo com o que foi descrito no Capítulo I sobre a diferença dos USPQs e MSPQs, confirma-se que crescidos USPQs e MSPQs com base nos espectros de AO e PL.

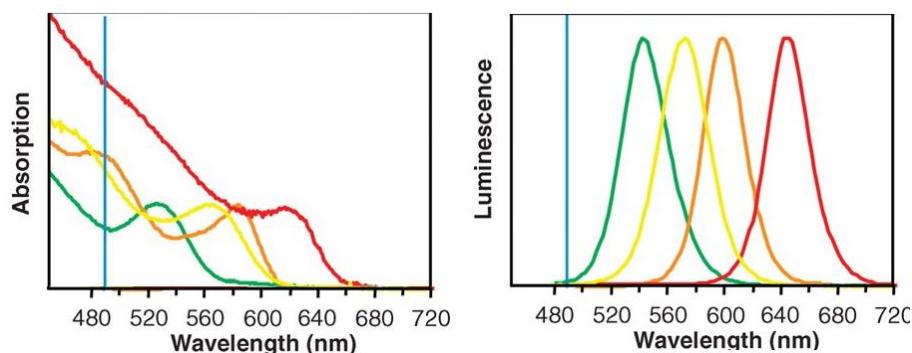


Figura II. 5 Espectros de absorção e emissão de PQs de CdSe com tamanhos diferentes (MICHALET *et al.*, 2005).

Na [Figura II. 4](#) o esquema representativo dos processos de AO e PL em NCs não tem a presença de defeitos intrínsecos ou de superfície no material. Esses defeitos criam níveis metaestáveis dentro do gap, que diminuem a intensidade da emissão excitônica, veja a [Figura II. 6](#). A presença desses níveis de defeitos é confirmada nos espectros de PL. Além disso, medidas de luminescência em função da temperatura confirmam se as observadas nos espectros são realmente de defeitos, uma vez que em baixas temperaturas as transições não radiativas diminuem, favorecendo a transição excitônica.

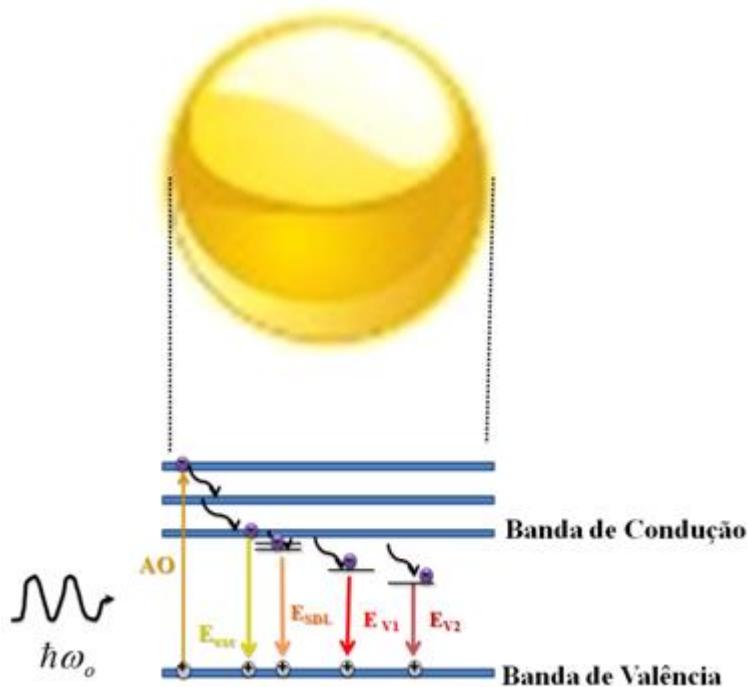


Figura II. 6 Esquema representativo da emissão excitônica e de níveis metaestáveis originados de defeitos de superfície (E_{SDL}) e defeitos de divacâncias, por exemplo, (E_{V1} e E_{V2}).

Yu *et al.* (2003) obtiveram expressões empíricas baseadas em resultados de imagens de microscopia de transmissão, que relacionam o tamanho de nanocristais de CdSe, CdS e CdTe com a banda de absorção excitônica (YU *et al.*, 2003). Essas expressões empíricas são utilizadas em diversos trabalhos para obter o tamanho de nanocristais de CdSe, CdS e CdTe, uma vez que apresentam valores mais próximos aos resultados experimentais para nanocristais extremamente pequenos e de tamanhos mágicos (PU *et al.*, 2006; RIEHLE *et al.*, 2009; ZOU *et al.*, 2007).

As equações abaixo foram obtidas a partir de ajustes polinomiais no gráfico do tamanho em função da posição de máximo da banda excitônica dos nanocristais de CdTe, CdSe e CdS, respectivamente.

$$D = (9.8127 \times 10^{-7})\lambda^3 - (1.7147 \times 10^{-3})\lambda^2 + (1.0064)\lambda - (194.84) \quad (\text{II.2.11})$$

$$D = (1.6122 \times 10^{-9})\lambda^4 - (2.6575 \times 10^{-6})\lambda^3 + (1.6242 \times 10^{-3})\lambda^2 - (0.4277)\lambda + (41.57) \quad (\text{II.2.12})$$

$$D = (-6.6521 \times 10^{-8})\lambda^3 + (1.9557 \times 10^{-4})\lambda^2 - (9.2352 \times 10^{-2})\lambda + (13.29) \quad (\text{II.2.13})$$

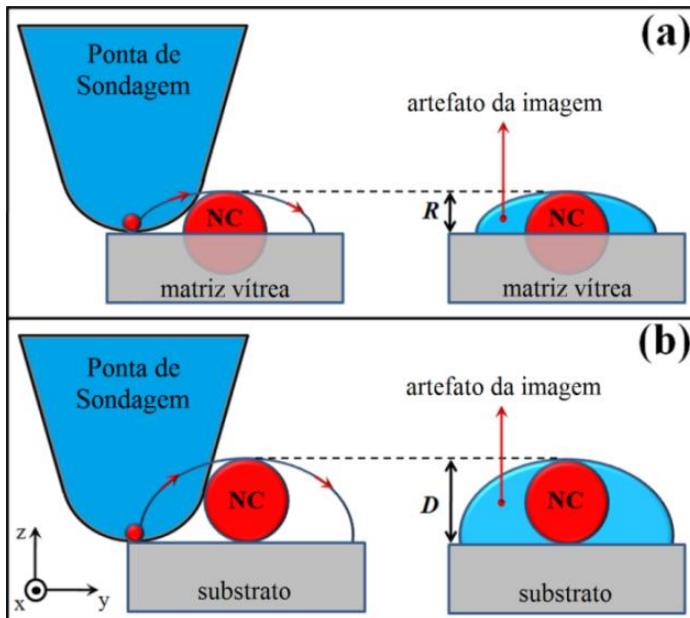
Nessas equações, D (nm) é o tamanho do nanocristal, λ (nm) é o comprimento de onda do primeiro pico da absorção excitônica correspondente da amostra. É importante comentar que essas funções são ajustes polinomiais dos dados experimentais, assim, as equações se tornam inválidas nos intervalos de tamanhos que não são registrados (YU *et al.*, 2003).

Os espectros de absorção óptica, obtidos nessa pesquisa, foram registrados através de um Espectrofômetro UV-VIS-NIR (Shimadzu, UV-3600), que opera de 190 a 3300 nm, com resolução de 1 nm. Essas medidas foram realizadas no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores, do Instituto de Física, da Universidade Federal e Uberlândia. Os espectros de fluorescência foram registrados utilizando um Espectrofluorímetro (Cary Eclipse) também localizado no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores, do Instituto de Física, da Universidade Federal de Uberlândia disponibilizado pelo Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart coordenador do Laboratório de Biotecnologia, do Instituto de Genética e Bioquímica, da Universidade Federal e Uberlândia.

II.2.2. Microscopia de Força Atômica (AFM)

A Microscopia de Força Atômica é uma técnica fundamental para a análise da estrutura de superfícies com alta resolução e precisão. A partir dessa técnica é possível determinar em uma determinada área nanométrica o tamanho médio de nanocristais crescidos em matrizes vítreas ou depositados em um substrato (mica). O princípio fundamental da microscopia de força atômica (AFM) é a medida das deflexões de um braço (*cantilever*: de 100 a 200 μm de comprimento) cuja extremidade livre está montada uma sonda extremamente fina (~ 100 Å de diâmetro) que varre a superfície da amostra. Essas deflexões são causadas pelas forças atrativas e repulsivas que agem entre sonda e amostra. Usualmente, as medidas AFM são realizadas em conjuntos (ensembles) de nanopartículas, aproximadamente esféricas, de maneira que a partir da distribuição de altura na imagem é possível avaliar o tamanho médio dos NCs: (i) raio médio R dos NCs inseridos dentro da

superfície vítreo, como mostrado na [Figura II. 7 \(a\)](#) ou (ii) diâmetro médio D dos NCs depositados sobre a superfície do substrato, como ilustrado na [Figura II. 7 \(b\)](#).



[Figura II. 7](#) Representação esquemática de um artefato da imagem AFM que é causado por efeitos de convolução entre a ponta de sondagem e o nanocristal (NC). No painel (a), uma parte do NC esférico está inserida dentro da superfície vítreo, em que sua altura é equivalente ao raio R. No painel (b), o NC esférico está depositado sobre a superfície de um substrato, de maneira que sua altura corresponde ao diâmetro $D = 2 R$ (DANTAS et al., 2012)

As imagens de AFM foram realizadas utilizando um microscópio de força atômica (Shimadzu, SPM-9600) no modo contato, para obter a topografia da superfície da amostra, confirmando a formação dos PQs ultra pequenos. As medidas foram realizadas no equipamento multiusuário no Instituto de Física (INFIS), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) suportado pelo projeto Pró-equipamento da CAPES.

II.2.3. Transições de Absorção no Infravermelho

Em uma molécula poliatômica genérica contendo N átomos, nem todos os modos normais de vibração darão origem a transições vibracionais no espectro infravermelho (IR). Para que uma molécula absorva radiação eletromagnética na região do infravermelho é necessário que ela tenha momento de dipolo elétrico intrínseco e que este momento mude durante a vibração com a radiação incidente, sendo esta a regra de seleção para a espectroscopia no infravermelho. Portanto, a molécula pode absorver a radiação apenas quando tem a mesma freqüência dos seus modos de vibração fundamentais, ou seja, a amplitude de vibração de uma pequena parte da molécula é aumentada (OSWALDO SALA, 2008).

O parâmetro responsável pela intensidade das transições espectroscópicas, tanto eletrônicas como vibracionais (IR), é o momento de dipolo elétrico de transição. O momento de transição pode ser interpretado como a medida do dipolo associado com o movimento dos elétrons durante a transição entre os dois estados envolvidos. Esse momento é causado pela perturbação do operador hamiltoniano pelo campo da radiação incidente. O campo elétrico \vec{E} atua no momento de dipolo μ produzindo uma variação, $\vec{E}\mu$, que é adicionada à energia do sistema. Então, os grupamentos que apresentam ligações bastante polarizadas darão origem a valores apreciáveis na variação do momento de dipolo ($\partial\mu/\partial Q_i$, em que Q_i é a coordenada normal) cujo quadrado é diretamente proporcional à intensidade da correspondente banda de absorção (IR) (STUART, 2004).

O alargamento das bandas de IR ocorre devido às colisões entre moléculas e a limitação do tempo de vida dos estados envolvidos na transição (HOLLAS, 2002). Na mecânica quântica, quando a equação Schrödinger é resolvida por um sistema que está mudando com o tempo, os estados de energia do sistema não são definidos com precisão e isso leva a ampliação no tempo de vida dos estados. Existe uma relação entre o tempo de vida de um estado excitado e da largura da banda de absorção associado à transição para o estado excitado, ou seja, é uma consequência do princípio da incerteza de Heisenberg ($\Delta E \Delta t \geq \hbar$). Essa relação mostra que quanto menor o tempo de vida de um estado não se pode conhecer a sua energia (HOLLAS, 2002).

A [Figura II.8](#) mostra um esquema representativo (a) da interação de uma molécula diatômica com o campo elétrico da onda eletromagnética (b) dos níveis de energia de um oscilador não harmônico e o processo de absorção no infravermelho. A região do infravermelho é dividida em três sub-regiões: infravermelho próximo, médio e distante. O infravermelho próximo é localizado aproximadamente $13000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ($0.76 - 2.5 \mu\text{m}$ comprimento de onda), sendo possível excitar vibrações harmônicas. O infravermelho médio, a aproximadamente $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ($2.5 - 25 \mu\text{m}$) é utilizado para estudar vibrações fundamentais e associadas a vibracional-rotacional. O infravermelho distante $400 - 100 \text{ cm}^{-1}$ ($25 - 10 \mu\text{m}$), próximo a região do microondas, tem baixa energia e é utilizado para estudar espectroscopia rotacional (STUART, 2004).

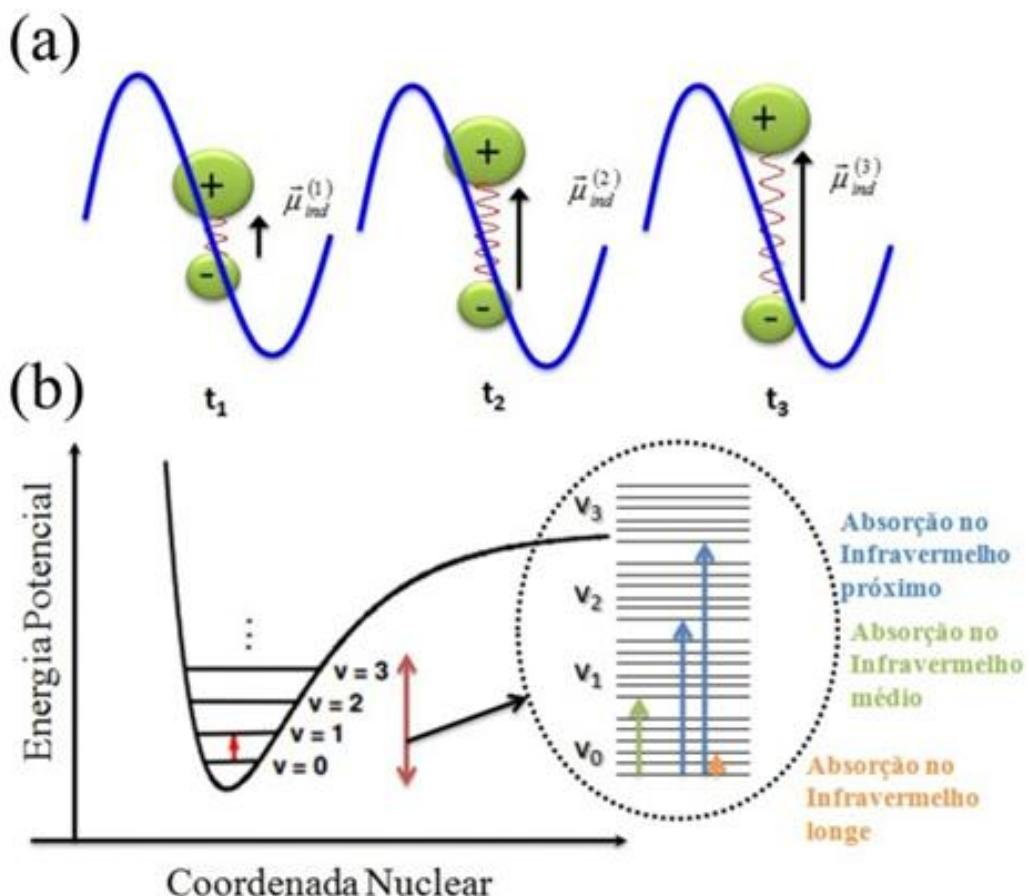


Figura II. 8 Esquema representativo (a) da interação de uma molécula diatômica com o campo elétrico (b) níveis de energia de um oscilador não harmônico e o processo de absorção no infravermelho.

A espectroscopia de infravermelho foi utilizada nessa pesquisa para confirmar a funcionalização e o tipo de grupamento químico do estabilizante que se ligou na superfície do PQs, e qual está externo a ela; assim como, a formação da casca de CdS ao redor de PQs de CdSe e a bioconjugação realizada entre os PQs e o anticorpo Fab (câncer de mama), o que é melhor detalhado no [Capítulo III](#).

Os espectros de infravermelho foram obtidos por um espectrofotômetro FT-IR (Prestige-21, Shimadzu), operando na faixa de 450 a 4600 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , suportado pela Shimadzu Brasil, localizado no Laboratório de Novos Materiais Isolantes e Semicondutores, do Instituto de Física, da Universidade Federal de Uberlândia.

II.2.4. Difração de Raios-X

Os efeitos de difração são observados quando a radiação eletromagnética que incide nas estruturas periódicas tem a mesma escala de comprimento que a distância interatômicas dos materiais. As distâncias interatômicas em cristais e moléculas estão na faixa de 0.15 – 0.4 nm, que corresponde no espectro eletromagnético ao comprimento de onda de raios-X. Conseqüentemente, fenômenos como interferência construtiva e destrutiva tornam-se observáveis quando as estruturas cristalinas e moleculares são expostas aos raios-X (BIRKHOLZ, 2006).

A Figura II. 9 mostra o esquema representativo do processo de difração de raios-X em um material cristalino. O primeiro zoom (linha preta) na estrutura apresenta o processo de difração da radiação, na qual o ângulo de incidência (θ) é igual ao de reflexão. O segundo zoom (linha vermelha) demonstra a diferença de caminho entre os feixes, após a reflexão, uma vez que a interferência construtiva ocorre quando a diferença de caminho é um número inteiro do comprimento de onda da radiação incidente (Lei de Bragg).

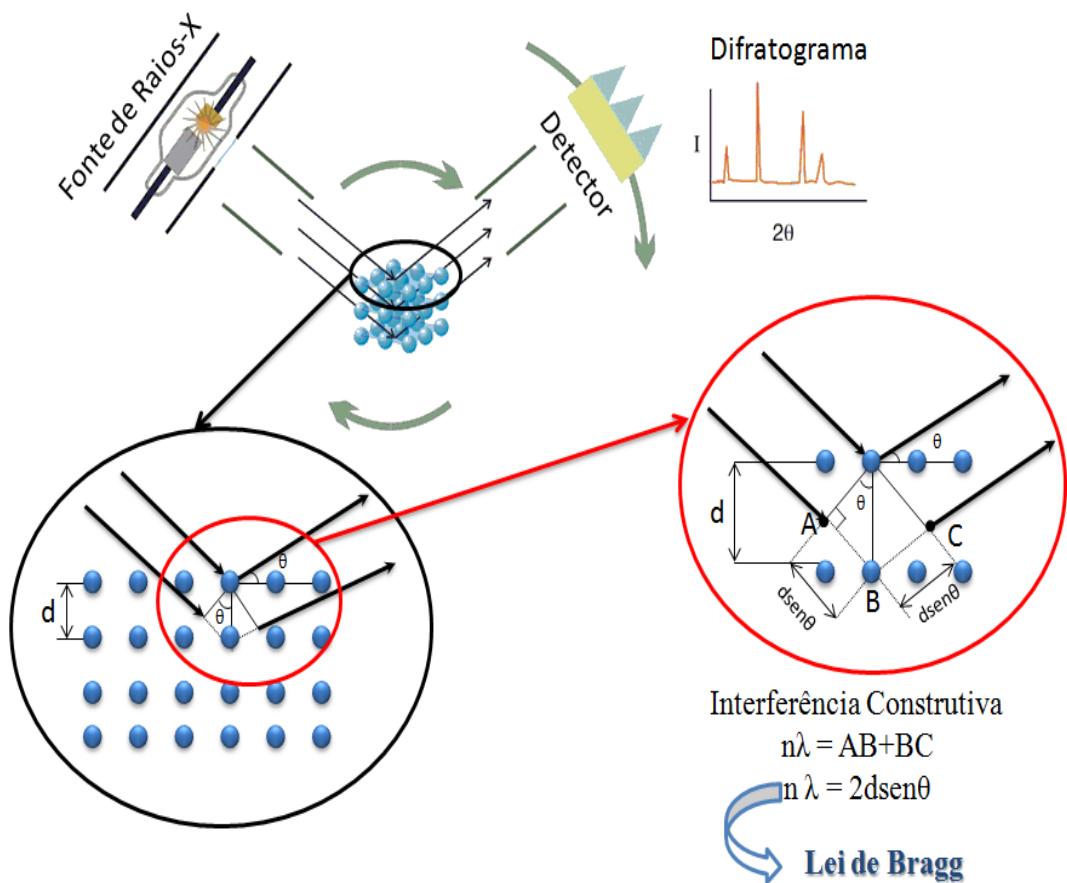


Figura II. 9 Esquema representativo do processo de difração de raios-x em um material cristalino. O parâmetro d é distância entre os planos, λ comprimento da radiação incidente.

A difração de raios-X foi utilizada para verificar o tipo de estrutura cristalina, além de dar indícios do tipo de material formado. Os difratogramas de raios – X foram obtidos a partir de um difratômetro de raios - X (XRD-6000 Shimadzu), com radiação monocromática Cu-K_{α1} ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), no modo fixo e passo angular de 0.02°. Os difratogramas reforçaram os indícios do aumento da espessura da casca de CdS ao redor dos USPQs de CdSe e dos MSPQs de CdSe ([seção III.3](#)).

II.2.5. Processos de Espalhamento

O processo em que a luz espalhada tem a mesma freqüência que a radiação eletromagnética incidente (processo elástico) é denominado como espalhamento [Rayleigh](#). O processo inelástico pode ser classificado de duas formas: [Stokes](#) e [Anti-Stokes](#). O primeiro ocorre quando a freqüência da radiação espalhada tiver freqüência menor que a radiação incidente; o segundo quando, quando a freqüência da radiação espalhada tiver freqüência maior que a radiação incidente. É interessante comentar que, diferente da espectroscopia de IR (dipolo elétrico intrínseco), o espalhamento Raman gera um momento de dipolo induzido observado quando ocorre variação na polarizabilidade.

O espalhamento Rayleigh foi proposto em 1871 por Lord Rayleigh, que apresentou uma formulação clássica do espalhamento elástico de luz, ou seja, sem alteração da freqüência da radiação incidente. Esse modelo foi capaz de elucidar uma série de fenômenos, como, por exemplo, a cor azul do céu (CARDOSO, 2001).

O efeito Raman foi previsto teoricamente por Adolf Gustav Stephan Smekal (1923) e comprovado experimentalmente por Chandrasekhara Venkata Raman (1928). Os trabalhos experimentais dessa época se limitavam a obtenção de espectros Raman. Nos anos sessenta, com a descoberta do laser, a utilização da espectroscopia Raman começou a ser mais interessante. Destacando-se a participação do físico brasileiro Dr. Sergio Pereira da Silva Porto, pioneiro no uso do laser como fonte de radiação na realização de experimentos de Espectroscopia Raman. Mas, nas décadas de setenta e oitenta que ocorreram os maiores desenvolvimentos na utilização da Espectroscopia Raman (COUTO, 1981; GUIMARÃES, 2011).

A [Figura II. 10](#) mostra um exemplo de um espectro Raman de uma determinada amostra. O espectro Raman é geralmente um gráfico da intensidade da luz espalhada pela amostra em função da diferença entre as freqüências da radiação incidente e da radiação espalhada. Essa diferença é chamada de freqüência (ou deslocamento) Raman, e seu valor é

geralmente obtido em unidades de número de onda (cm^{-1}). A freqüência Raman pode então ser relacionada diretamente às freqüências das excitações elementares no material que deu origem ao espalhamento. O pico central é o espalhamento Rayleigh, no qual a diferença da freqüência da radiação incidente e espalhada (freqüência relativa) é nula. As freqüências relativas maiores (componentes Anti-Stokes) e menores (componentes Stokes) são do espalhamento Raman.

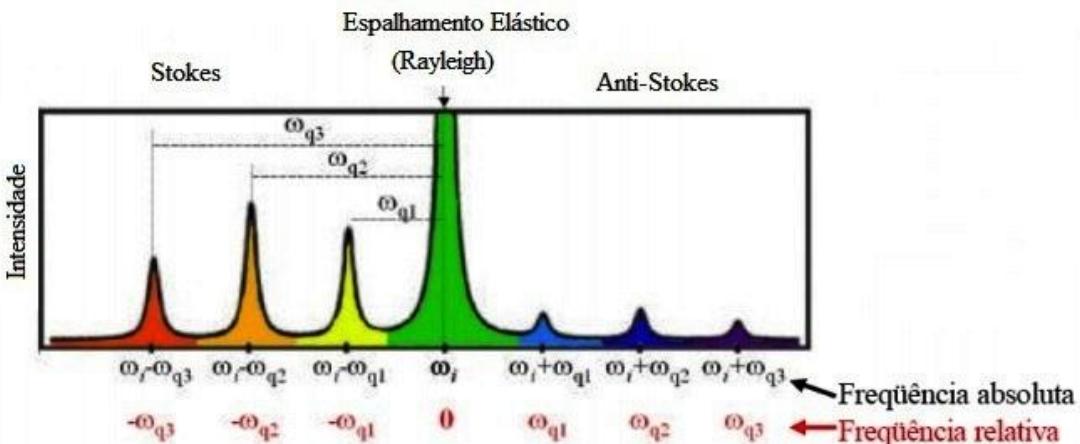


Figura II. 10 Ilustração de um espectro Raman típico de um material. A componente Stokes corresponde ao espalhamento onde a freqüência espalhada apresenta energia menor que a incidente. A componente Anti-Stokes corresponde ao espalhamento onde a freqüência espalhada apresenta energia maior que a incidente. A freqüência absoluta é relacionada ao espalhamento e a relativa corresponde a energias elementares do material. O pico mais intenso refere-se ao espalhamento Rayleigh (PEREIRA, 2009).

A espectroscopia Raman foi utilizada para confirmar o tipo de material presente na amostra, uma vez que é possível detectar os modos vibracionais característicos de cada material. Utilizamos essa técnica para verificar o tipo de material formado, ou seja, se realmente foi formado PQs de CdSe. Interessantemente, observou-se a presença de dois modos vibracionais, um característico a nanocristais de CdSe com propriedades de confinamento quântico, e outro a casca de CdS, confirmando que através da metodologia proposta nessa pesquisa foram formadas nanoestruturas do tipo CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS. A fim de calcular o tamanho do núcleo e a espessura da casca dessas nanoestruturas foram estudados diversos modelos teóricos, comentados a seguir.

Os espectros Raman foram obtidos a temperatura ambiente e registrados no espetrômetro micro-Raman JY-T64000, com um laser de Ar⁺ ([Seção III.1.](#) linha 488 nm – [Seção III.3.](#) linha 514 nm) na geometria backscattering. Utilizou-se uma objetiva de 50 x para focalizar o laser com spot de 1.5 μm em diâmetro. Assim, a potência e a densidade de potência foram de 5 mW e 3 x 10⁵ W/cm², respectivamente. Portanto, qualquer efeito de aquecimento no espectro vibracional das amostras foi negligenciado.

II.2.6. Espalhamento Raman de Primeira Ordem em Nanocristais

Para sistemas perfeitamente ordenados, os estados dos elétrons na presença de um potencial periódico são dados pelas equações de Schroedinger, na qual $U(\vec{r})$ é o potencial periódico que atua sobre um elétron na posição \vec{r} :

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + U(\vec{r}) \right) \psi = E\psi. \quad (\text{II.2.14})$$

Os átomos estão organizados periodicamente, o que implica uma periodicidade do potencial $U(\vec{r})$, assim, escreve-se a relação: $U(\vec{r} + \vec{R}) = U(\vec{r})$. Além disso, todos os pontos da rede de Bravais são equivalentes, sendo intuitivo pensar que as funções de onda só diferem do fator de fase global, e então se escreve-se:

$$\psi_k(\vec{r} + \vec{R}) = e^{i\vec{k}\cdot\vec{R}} \psi_k(\vec{r}). \quad (\text{II.2.15})$$

Essa equação é o Teorema de Bloch, em geral escrita com $\psi_k(\vec{r}) = u_k(\vec{r})$. Esse teorema demonstra a simetria de translação refletiva na função de onda ψ do cristal, que apresenta uma dinâmica regular e periódica, logo seu Hamiltoniano é invariante sob translação.

É importante mencionar que materiais reais sempre apresentam certo grau de desordem, devido à presença de defeitos, ou átomos diferentes na rede e até mesmo distorções. Essa desordem sempre quebra alguma simetria, uma vez que a ordem de longo alcance é destruída. Assim, os autoestados do fônon não são mais ondas planas devido a localização, o que resulta na quebra da regra de seleção do espalhamento Raman ($\vec{q}_{ph} = 0$). A relaxação da regra de seleção pode ser expressa como uma função de correlação gaussiana ($\exp(-2r^2/L^2)$), a qual sido utilizada com sucesso para estimar desordem estrutural. Portanto, para $\vec{q}_{ph} \neq 0$ a transição torna-se parcialmente permitida o que contribui para o alargamento dos espectros Raman devido a dispersão de fônon (NETO, 2010).

Anderson (1958) apresentou uma explicação dos efeitos de desordem para diversas estruturas sólidas (ANDERSON, 1958). Ele demonstrou que, na presença de desordem em cristais, a natureza das funções de onda pode mudar de estendidas, como os

estados de Bloch, para razoavelmente localizadas, centradas nos pontos da rede. Esse modelo é bastante utilizado em sistemas desordenados. Shuker e Gammon (1970) explicaram que o efeito da quebra de seleção estaria relacionado com a invariância translacional do cristal, independente da natureza (fronteiras de um grão, defeitos, dentre outros) (SHUKER; GAMMON, 1970).

Richter, Wang e Ley (1981) propuseram um modelo que leva em conta o deslocamento e o alargamento do espectro Raman de microcristais de silício(RICHTER; WANG; LEY, 1981). Nesse modelo, eles supõem a relaxação da conservação do momento do cristal e decaimentos de fônon em microcristais.

A função de onda de um fônon (quase-partícula) com vetor de onda \vec{q}_o em um cristal infinito é:

$$\phi(\vec{q}_o, \vec{r}) = u(\vec{q}_o, \vec{r}) e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}}, \quad (\text{II.2.16})$$

e $u(\vec{q}_o, \vec{r})$ tem a periodicidade da rede. Eles consideram cristais esféricos com diâmetro L , sendo o fônon restrito ao volume do cristal, impondo a localização em uma maneira mais simples, que é reescrever ϕ por uma nova função ψ :

$$\psi(\vec{q}_o, \vec{r}) = W(\vec{q}_o, \vec{r}) u(\vec{q}_o, \vec{r}), \quad (\text{II.2.17})$$

$$\psi(\vec{q}_o, \vec{r}) = A e^{-(r^2/2(L/2)^2)} e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}} u(\vec{q}_o, \vec{r}), \quad (\text{II.2.18})$$

tendo amplitude de:

$$|\psi(\vec{q}_o, \vec{r})| = A^2 e^{-(r^2/(L/2)^2)}. \quad (\text{II.2.19})$$

Sendo que ψ está localizado a $|\vec{r}| \approx L$ na forma de distribuição gaussiana.

A função W pode ser escrita como:

$$W(\vec{q}_o, \vec{r}) = \int d^3 q C(\vec{q}_o, \vec{q}) e^{i\vec{q}\cdot\vec{r}}, \quad (\text{II.2.20})$$

em que os coeficientes de Fourier são dados por:

$$C(\vec{q}_o, \vec{q}) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int d^3 q W(\vec{q}_o, \vec{r}) e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}}. \quad (\text{II.2.21})$$

Substituindo $W(\vec{q}_o, \vec{r})$ da equação (II.2.18):

$$C(\vec{q}_o, \vec{q}) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int d^3 q e^{-(r^2/2(L/2)^2)} e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}}, \quad (\text{II.2.22})$$

$$C(\vec{q}_o, \vec{q}) = \frac{AL}{(2\pi)^{3/2}} e^{-\left(\frac{1}{2}\left(\frac{L}{2}\right)^2(\vec{q}-\vec{q}_o)^2\right)}. \quad (\text{II.2.23})$$

A forma da linha Raman é construída por uma superposição de lorentzianas centradas em $\omega(\vec{q})$, ponderada pela a incerteza do vetor de onda causado pelo confinamento (AGER; VEIRS; ROSENBLATT, 1991):

$$I(\omega) \cong \int \frac{|C(0, \vec{q}_o)|^2}{(\omega - \omega(\vec{q}))^2 + (\Gamma_o/2)^2} d^3 q, \quad (\text{II.2.24})$$

onde \vec{q} é o vetor de onda expresso em unidades de $2\pi/a$, no qual a é o parâmetro de rede e Γ_o a largura a meia altura (FWHM) da banda Raman.

Todas as informações de confinamento das excitações coletivas na rede direta estão contidas na função peso $W(\vec{r})$, na qual o tipo de decaimento que melhor se adapta é o gaussiano (RICHTER; WANG; LEY, 1981). As freqüências adicionais que contribuem para o espectro Raman têm suas freqüências definidas pela relação de dispersão do fônon LO a qual se baseia no modelo da cadeia linear unidimensional:

$$\omega^2(\vec{q}) = A + \{A^2 - B[1 - \cos(\pi\vec{q})]\}^{1/2}. \quad (\text{II.2.25})$$

Campbell e Fauchet (1986) estenderam o modelo de Richter para outras formas, como, por exemplo, filmes finos e cilindros (CAMPBELL; FAUCHET, 1986). Eles realizaram o mesmo procedimento do modelo de Richter, mas modificaram a função peso por $e^{-(r^2/2(d/4\pi)^2)}$ e a amplitude para $e^{-4\pi^2}$ para esfera. Em um filme fino e um cilindro eles mantiveram a função peso inalterada e modificaram as condições de contorno, obtendo os seguintes coeficientes de Fourier.

$$|C(0, q_1, q_2)|^2 \cong e^{-q_1^2 L_1^2 / 16\pi^2} e^{-q_2^2 L_2^2 / 16\pi^2} \left| 1 - \operatorname{erf} \left(\frac{i q_2 L_2}{\sqrt{32\pi}} \right) \right|^2, \quad \text{cilindro} \quad (\text{II.2.26})$$

$$|C(0, q_1)|^2 \cong e^{-q_1^2 L_1^2 / 16\pi^2} \left[1 - \operatorname{erf} \left(\frac{i q_1 L_1}{\sqrt{32\pi}} \right) \right], \quad \text{filme fino} \quad (\text{II.2.27})$$

Portanto, Richter (1981), Campbell e Fauchet (1986) obtiveram um modelo teórico que descreve o deslocamento do pico e a forma espectral, além de obterem o tamanho do nanocrystal. Este modelo é conhecido como modelo de correlação espacial, no qual o parâmetro L é o comprimento de correlação das vibrações de um material, sendo relacionado diretamente com o tamanho do nanocrystal.

Em cristais muito pequenos, considerando que sejam esféricos, foi analizada a razão superfície-volume (Z), definida como: $Z = \text{área da superfície/volume}$. Substituiu-se a área da superfície e o volume de uma esfera: $Z = 4\pi R^2 / (4\pi R^3 / 3)$, e obteve-se $Z = 3/R$. Em nanocristais, a razão superfície-volume é relativamente muito grande e depende do tamanho. Os efeitos de confinamento quântico são fortemente dependentes do tamanho e afetam as propriedades ópticas dos materiais, principalmente devido ao aparecimento de polarização na superfície do nanocrystal e formação de estados de superfície (BANYAI, L. AND KOCH, 1993).

A função peso de fônon $W(\vec{r})$ é usada para descrever um fônon óptico em um nanocrystal com tamanho finito e pode ser reescrita da seguinte forma (ROODENKO *et al.*, 2010):

$$W(\vec{r}) = e^{-(\vec{r}^2 / 2\sigma^2)}, \quad (\text{II.2.28})$$

em que o desvio padrão σ é uma constante relacionada a um padrão de medição particular e ao material de acordo com as dimensões da amostra. A função peso também pode ser entendida como uma função de confinamento, localizando o fônon na região limitada pelo confinamento do nanocrystal. A escolha do parâmetro σ na função peso gaussiana define a amplitude do fônon confinado nos contornos do material. Dois exemplos, tradicionais, são encontrados para nanocristais esféricos com diâmetro d :

- (i) Richter, Wang e Ley (1981) escolheram $\sigma = d/2$ resultando em uma amplitude de fônon e^{-1} no contorno do nanocrystal (RICHTER; WANG; LEY, 1981).
- (ii) Campbell e Fauchet (1986) escolheram $\sigma = d/4\pi$ resultando em uma amplitude de fônon de $e^{-4\pi^2}$ no contorno do nanocrystal (CAMPBELL; FAUCHET, 1986).

Roodenko *et al.* (2010) demonstraram que o modelo de confinamento gaussiano pode fitar qualquer resultado se o parâmetro σ é variado (ADU *et al.*, 2005). Eles intuitivamente propuseram uma função de onda quadrada para ser usada como função peso de fônon a fim de representar um nanofio no sistema de coordenadas cartesianas. Assim como, demonstraram que para à função de onda quadrada ser ajustada a uma função gaussiana (em especial depois de uma transformada de Fourier) o desvio padrão σ deve ser igual a distância de todos os pontos na onda quadrada a partir do centro, normalizada para um número de pontos.

Semicondutores, normalmente, apresentam dispersão de fônons negativa, próximo ao centro da zona de Brillouin (ZB), ou seja, a freqüência do fônon diminui em função do número de onda, o que conduz a um deslocamento da banda Raman para menores freqüências com o aumento do nanocrystal. Chamberlain, Trallero-Giner e Cardona (1995) desenvolveram uma descrição completa da freqüência dos modos normais de vibração de estruturas esféricas crescidas em um material hospedeiro com dispersão negativa em função do tamanho, sendo

expressa como: $\omega(R) = \left(\omega_L^2 + \beta_L^2 \left(\mu_{n_p}/R \right)^2 \right)^{1/2}$, na qual ω_L é a freqüência de fônon óptico longitudinal (LO) do material *bulk*, β_L é o parâmetro que descreve a dispersão do fônon (assumida como sendo parabólica); μ_{n_p} é a n_p -ésima raiz da equação $\tan \mu = \mu$; e R é o raio do microcristal ou de um ponto quântico (CHAMBERLAIN; TRALLERO-GINER; CARDONA, 1995). Essa equação comprova que o *red shift* da banda Raman em relação ao material *bulk* está relacionado com a diminuição do raio do ponto quântico.

Diversos autores utilizam o modelo do filme fino proposto por Campbell e Fauchet (1986) para descrever fônons confinados dentro de materiais de casca em nanocristais core/shell de forma esférica, assumindo a similaridade entre um filme fino bidimensional e a casca de forma esférica (LU *et al.*, 2007; SINGHA *et al.*, 2005).

Entretanto, enfatiza-se que o confinamento de fônons descrito pela aproximação é mais realista para nanocristais maiores. Em outras palavras, a curvatura pronunciada da superfície da casca em um nanocrystal pequeno com grande razão superfície-volume limita o uso da aproximação.

II.2.6.1. Modelo Modificado de Confinamento de Fônons

Várias propriedades dos materiais semicondutores podem ser amplamente compreendidas a partir da análise do seu espectro vibracional empregando espectroscopia

Raman. Assim, por causa da simplicidade e eficiência desta técnica, em muitos casos, a espectroscopia Raman é utilizada para investigar nanoestruturas semicondutoras, como nanofios (ADU *et al.*, 2005; LOPEZ *et al.*, 2011), pontos quânticos (KAMBHAMPATI, 2011; ROGACH, 2008; SAGAR *et al.*, 2008). No que diz respeito a materiais bulk, há uma forte alteração no espectro de Raman de uma nanoestrutura com grande razão superfície-volume, devido à localização dos fôons na região limitada pela dimensão de tamanho que pode ser convenientemente descrito por um modelo gaussiano confinamento fenomenológico (ARORA *et al.*, 2007). Esse modelo de confinamento Gaussiano tem sido amplamente utilizado para ajustar espectros Raman, a fim de avaliar as dimensões de tamanho de sistemas de baixa dimensionalidade (ADU *et al.*, 2005; CAMPBELL; FAUCHET, 1986; RICHTER; WANG; LEY, 1981; ROODENKO *et al.*, 2010), incluindo nanocristais núcleo/casca, onde a espessura da casca não pode ser avaliada por difração de raios-X, fotoluminescência, e microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (para tamanhos de núcleo desconhecido (LU *et al.*, 2007; SINGHA *et al.*, 2005). Além disso, o espectro de Raman é também alterado pela formação de liga na interface núcleo-casca (DZHAGAN *et al.*, 2007, 2009; TSCHIRNER *et al.*, 2012) e a influência desse efeito adicional sobre o modelo gaussiano de confinamento não foi considerado ainda.

O espectro Raman de um nanocristal mostra diferenças em relação ao seu correspondente bulk, que são geralmente intensificadas quando a razão superfície-volume aumenta. No modo LO um ombro largo característico que contribui para a cauda de freqüência mais baixa, é atribuída a efeitos de confinamento quântico (KASUYA *et al.*, 2004; SOLOVIEV *et al.*, 2000) e fôons ópticos de superfície de nanocristais esféricos (COMAS; TRALLERO-GINER, 2003)

Nessa pesquisa realizou-se modificações no modelo de confinamento de fôons gaussiano para descrever melhor os fôons confinados dentro de materiais de casca em nanocristais núcleo/casca de forma esférica. Conforme mencionado anteriormente, Roodenko *et al.* (2010) demonstraram que a função gaussiana pode ser ajustada pela função de onda quadrada para descrever os fôons confinados em nanofios (ROODENKO *et al.*, 2010). Assim, para descrever os fôons confinados em nanocristais esféricos sugeriu-se que a função gaussiana fosse ajustada por uma circunferência de raio r e descrita por:

$$y = (r^2 - x^2)^{1/2}, \quad (\text{II.2.29})$$

em que o plano x-y foi arbitrariamente orientado no espaço, mas posicionado através do centro da esfera, como mostrado na [Figura II. 11](#).

O desvio padrão σ da função gaussiana $W(\vec{r}) = e^{-(\vec{r}^2/2\sigma^2)}$ deve ser igual as distâncias de todos os pontos da circunferência ao centro, normalizado pelo número de pontos. Em outras palavras, o σ para qualquer forma confinada com tamanho característico é dado por (ROODENKO *et al.*, 2010):

$$\sigma = \sqrt{\frac{\langle x^2 \rangle - \langle x \rangle^2}{\langle N \rangle}}, \quad (\text{II.2.30})$$

Realizaram-se os cálculos:

$$\langle x \rangle^2 = \left(\int_{-d/2}^{d/2} \left(\frac{d^2}{4} - x^2 \right)^{1/2} x \left(\frac{d^2}{4} - x^2 \right)^{1/2} dx \right)^2 = 0; \quad (\text{II.2.31})$$

$$\langle x^2 \rangle = \int_{-d/2}^{d/2} \left(\frac{d^2}{4} - x^2 \right)^{1/2} x^2 \left(\frac{d^2}{4} - x^2 \right)^{1/2} dx = \frac{d^5}{120}; \quad (\text{II.2.32})$$

$$\langle N \rangle = \int_{-d/2}^{d/2} \left(\frac{d^2}{4} - x^2 \right)^{1/2} \left(\frac{d^2}{4} - x^2 \right)^{1/2} dx = \frac{d^3}{6}; \quad (\text{II.2.33})$$

As [equações \(II.2.31\), \(II.2.32\)](#), e [\(II.2.33\)](#) foram substituídas na [\(II.2.30\)](#) temos:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\frac{d^5}{120} - 0}{\frac{d^3}{6}}} = \frac{d}{\sqrt{20}}. \quad (\text{II.2.34})$$

O painel superior da [Figura II. 11](#) mostra a circunferência ajustada pela função peso de fônon $W(\vec{r}) = e^{-(\vec{r}^2/2\sigma^2)}$ com desvio padrão calculado pela [equação \(II.2.35\)](#), $\sigma = d / \sqrt{20}$ e uma comparação com outras funções gaussianas propostas para nanocristais esféricos (CAMPBELL; FAUCHET, 1986; RICHTER; WANG; LEY, 1981). No contorno dos nanocristais esféricos a função peso gaussiana proposta ($\sigma = d / \sqrt{20}$), tem amplitude de fônon de $|W(r = d/2)|^2 = e^{-5}$, um valor próximo à zero. Portanto, a fim de descrever o

confinamento de fônlons em nanocristais esféricos em bom acordo com resultados experimentais utilizou-se a função peso gaussiana com $\sigma = d / \sqrt{20}$.

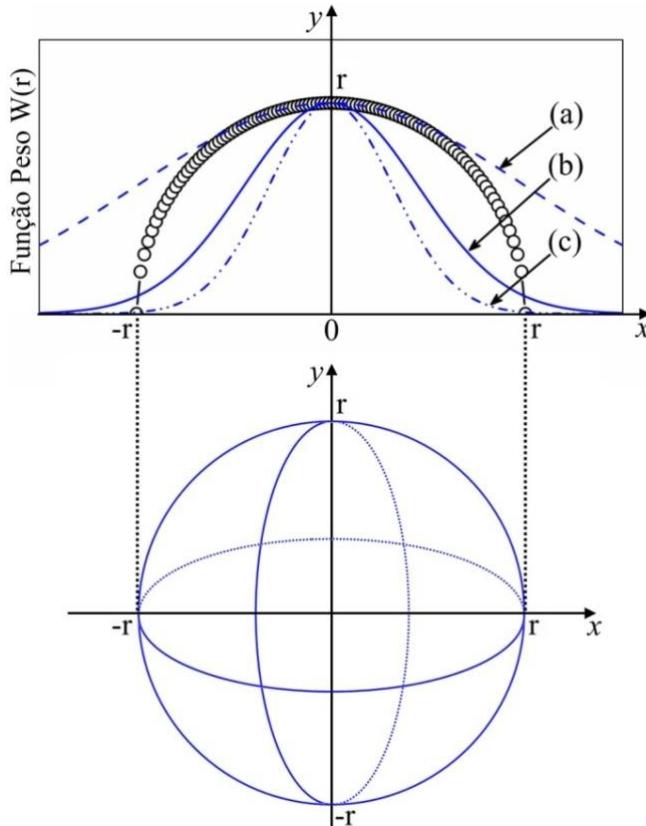


Figura II. 11 A função circunferência $y=(r^2-x^2)^{1/2}$ é representada pelos círculos abertos no topo do painel; as linhas azuis correspondem a função peso de fônlons $W(\vec{r})=e^{-(\vec{r}^2/2\sigma^2)}$ (a) $\sigma=d/2$ proposto por Richter *et al.* (2010), e representado pela linha tracejada; (b) $\sigma=d/\sqrt{20}$ calculado na equação (II.2.34); (c) $\sigma=d/4\pi$ proposto por Campbell e Fauchet (1986) e representado pela linha pontilhada e tracejada.

O espectro Ramam LO de primeira ordem é obtido pela seguinte expressão.

$$I^i_{LO}(\omega) \equiv \int \frac{|C(0, \vec{q}_o)|^2}{(\omega - \omega(\vec{q}))^2 + (\Gamma_o/2)^2} d^3 q, \quad (\text{II.2.36})$$

na qual os coeficientes para a função gaussiana são dados por $|C(0, \vec{q}_o)|^2 \approx e^{-q_o^2 \sigma_i^2}$ e $d^3 q \approx q^2 dq$, devido aos nanocristais serem esféricos. O índice i é útil quando esse modelo de confinamento de fônlons for aplicado a heteromateriais contendo diferentes nanocristais tipo núcleo. Então, cada i -ésimo material pode ser representado pelo número inteiro i .

No modelo de confinamento de fônonos assumiu-se que a dispersão de fônonos LO $\omega_i(\vec{q})$ em nanoestruturas foi a mesma que o correspondente material bulk. Assim, as dimensões de tamanho dos pontos quânticos dots esféricos foram equivalentes em todas as dimensões, uma média de $\omega_i(\vec{q})$ foi certamente uma boa aproximação para materiais com dispersão de fônonos LO quase isotrópica. Portanto, para materiais isotrópicos, a dispersão de fônonos média $\omega_i(\vec{q})$ no cristal bulk pode ser expressa como $\omega_{(i)}(\vec{q}) = \omega_{o(i)} - \Delta\omega q_{(i)}^2$, na qual $\omega_{o(i)}$ e $\Delta\omega$ foram, respectivamente, a freqüência de fônonos LO no ponto Γ ($q=0$), e a largura da banda relacionada ao Ramo LO. O vetor de onda de fônonos $q_{(i)}$ foi representado em unidades de $2\pi/\bar{a}_{(i)}$ isto é $q_{(i)} = (q_{(i)} / (2\pi/\bar{a}_{(i)}))$, e que $\bar{a}_{(i)}$ foi o parâmetro de rede médio do i -th material bulk. $\Gamma_{(i)}$ é a largura a meia altura (FWHM) do centro da zona do fônon óptico (ARORA et al., 2007; ROCA; TRALLERO-GINER; CARDONA, 1994; SINGHA et al., 2005; THOMSEN, 2009). É importante comentar que a largura de linha $\Gamma_{(i)}$ pode também sofrer um novo alargamento quando as medições de Raman forem realizadas em conjuntos de nanocristais por causa da sua dispersão de tamanho.

A representação da dispersão de fônonos para materiais anisotrópicos deve ser realizada em três dimensões da função de fônon $\omega(q_1, q_2, q_3)$, como recentemente demonstrado por Roodenko *et al.* (2010). Como os correspondentes materiais bulk dos pontos quânticos de CdSe/CdS, de tamanhos extremamente pequenos, apresentam uma dispersão de fônonos LO quase isotrópica não utiliza-se a representação tridimensional da função de fônon.

A cauda de baixa freqüência do modo LO apresenta também contribuições de fônonos de superfície, como comentado anteriormente, que são levados em conta no espectro Raman pelo uso de uma função lorentziana (SINGHA *et al.*, 2005):

$$I^i_{SO}(\omega) = \frac{B_{(i)} \Gamma_{SO(i)}}{(\omega - \omega_{SO(i)})^2 + (\Gamma_{SO(i)})^2}, \quad (II.2.37)$$

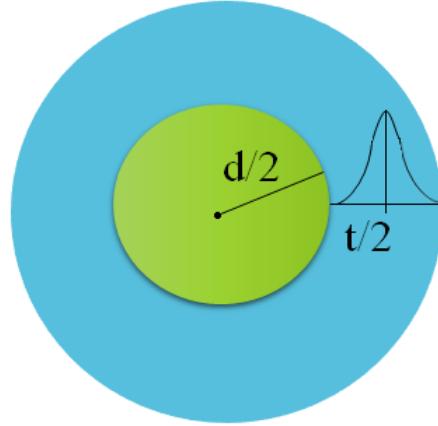
em que $B_{(i)}$, $\Gamma_{SO(i)}$ e $\omega_{SO(i)}$ são, respectivamente, uma constante arbitrária, a FWHM e a freqüência do fônon ópticos de superfície (SO). Dessa forma, a intensidade $I^i(\omega)$ associada com os fônonos ópticos de nanocristais de forma esférica pode ser ajustada adequadamente pela combinação de duas funções: $I^i(\omega) = I^i_{LO}(\omega) + I^i_{SO}(\omega)$. Essa relação foi estendida para

estruturas de formas não esféricas, tais como, nanofios (ROODENKO *et al.*, 2010) e filmes finos (CAMPBELL; FAUCHET, 1986). Portanto, o modelo modificado descrito pode ser utilizado para determinar o tamanho de nanocrystal com uma melhor descrição do contorno da forma esférica do que os outros propostos anteriormente.

A fim de resolver a questão da aproximação de supor a casca como um filme fino, foi considerada a casca como sendo uma esfera, o que é mais realista. O nosso modelo foi expandido para j cascas. Foi suposto que a função peso para a casca esférica seria semelhante a proposta para o nanocrystal esférico, contudo, deslocada em relação ao centro da esfera, e escrita como:

$$W_j(r) = e^{-((r-r_j)^2/2\sigma_j^2)}, \quad (\text{II.2.38})$$

em que r_j definiu o centro de todas as cascas esféricas. Por exemplo, o centro da parede da primeira casca (r_j com $j=1$) com espessura t ao redor no núcleo de diâmetro d foi dado por $r_1 = ((d+t)/2)$, como mostrado na [Figura II. 12](#).



[Figura II. 12](#) Esquema representativo da função peso da casca esférica.

Assumi-se, razoavelmente que a amplitude de fôtons $|W_j(r)|^2$ no limite de cada j -ésima casca com espessura t_j deve decair para e^{-5} , o qual é o mesmo valor obtido pela função gaussiana com $\sigma = d / \sqrt{20}$ para nanocrystal de núcleo esférico. Para que não ocorra confusão entre as funções peso do núcleo e da casca, adotou-se $j=2$ para a primeira casca com espessura t , e a amplitude foi calculada por:

$$|W_2(r)|^2 = e^{-((r-(d+t/2))^2/\sigma_j^2)}. \quad (\text{II.2.39})$$

A amplitude da função peso deverá decair para e^{-5} no contorno interno da primeira casca ($r = d/2$), assim:

$$\begin{aligned} e^{-((r-(d+t/2))^2/\sigma_2^2)} &= e^{-5}, \\ e^{-((d/2)-(d+t/2))^2/\sigma_2^2} &= e^{-5}. \end{aligned} \quad (\text{II.2.40})$$

Dessa forma, encontrou-se $\sigma_2 = t/\sqrt{20}$ para a primeira casca, que pode ser generalizada para qualquer j -ésima casca com espessura t_j , nomeada como $\sigma_j = t_j/\sqrt{20}$.

Os coeficientes de Fourier para a j -ésima casca são dados por:

$$C(0, \vec{q}) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int d^3 q a e^{-(r-r_j)^2/2\sigma_j^2} e^{-i\vec{q}\cdot\vec{r}}; \quad (\text{II.2.41})$$

$$|C_{(j)}(0, \vec{q})| \approx \left\{ 2\pi \sigma_{(j)}^2 \left[\sigma_{(j)}^2 + r_{(j)}^2 \right]^2 - 2\sigma_{(j)}^6 q^2 + 2\sigma_{(j)}^4 r_{(j)}^2 q^2 + \sigma_{(j)}^8 q^4 \right\} \exp(-\sigma_{(j)}^2 q^2). \quad (\text{II.2.42})$$

Observa-se que na posição $r_{(j)}$, para uma m -th casca ($j = m$) depende do diâmetro do núcleo, bem como da espessura das cascas internas, dadas por $r_{(j=m)} = [(d + \sum_{k=1}^m t_{(k)})/2]$, onde k é um número inteiro associado a todas as cascas. Portanto, houve uma boa descrição dos espectros Raman para estruturas extremamente pequenas do tipo núcleo / casca, núcleo/multi-cascas.

Os valores do tamanho do núcleo e da espessura da casca foram obtidos através das relações:

$$\sigma_1 = (d/\sqrt{20})(2\pi/\bar{a}_{CdSe}), \quad (\text{II.2.43})$$

$$d = \bar{a}_{CdSe} \sigma_1 \sqrt{20}/2\pi. \quad (\text{II.2.44})$$

$$\sigma_2 = (t/\sqrt{20})(2\pi/\bar{a}_{CdS}), \quad (\text{II.2.45})$$

$$t = \bar{a}_{CdS} \sigma_1 \sqrt{20}/2\pi, \quad (\text{II.2.46})$$

em que $\bar{a}_{(1=CdSe)} = 0.608$ nm e $\bar{a}_{(2=CdS)} = 0.582$ nm para a estrutura wurtzita (SINGHA *et al.*, 2005).

Referências

- ADU, K. W. et al. Confined Phonons in Si Nanowires. **Nano Letters**, v. 5, n. 3, p. 409–414, 28 jan. 2005.
- AGER, J. W.; VEIRS, D. K.; ROSENBLATT, G. M. Spatially resolved Raman studies of diamond films grown by chemical vapor deposition. **Physical Review B**, v. 43, n. 8, p. 6491–6499, 15 mar. 1991.
- ANDERSON, P. W. Absence of Diffusion in Certain Random Lattices. **Physical Review**, v. 109, n. 5, p. 1492–1505, 1 mar. 1958.
- ARORA, A. K. et al. Raman spectroscopy of optical phonon confinement in nanostructured materials. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 38, p. 604–617, 2007.
- BANYAI, L. AND KOCH, S. W. **Semiconductor Quantum Dots**. Singapore: World Scientific, 1993.
- BEER-LAMBERT. **Beer-Lambert Law, University of Adelaide, South Australia**.
- BIRKHOLZ, M. **Thin Film Analysis by X-Ray Scattering**. Weinheim: WILEY-VCH, 2006.
- CAMPBELL, I. H.; FAUCHET, P. M. The effects of microcrystal size and shape on the one phonon Raman spectra of crystalline semiconductors. **Solid State Communications**, v. 58, n. 10, p. 739–741, jun. 1986.
- CARDOSO, A. DE O. **ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO APLICADO NO ESTUDO DE SISTEMAS MICELARES**, 2001.
- CHAMBERLAIN, M. P.; TRALLERO-GINER, C.; CARDONA, M. Theory of one-phonon Raman scattering in semiconductor microcrystallites. **Physical Review B**, v. 51, n. 3, p. 1680–1693, 15 jan. 1995.
- CHEMISTRY, R. S. OF. **Introduction to Ultraviolet - Visible Spectroscopy (UV) 1**. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2009. p. 1–5
- CHUI, J. **Spectroscopy overview**. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Spectroscopy_overview.svg>. Acesso em: 9 fev. 2014.
- COMAS, F.; TRALLERO-GINER, C. Interface optical phonons in spherical quantum-dot/quantum-well heterostructures. **Physical Review B**, v. 67, n. 11, p. 115301, 3 mar. 2003.
- COUTO, R. M. O. **Espalhamento Raman Eletrônico Do Sm₂₊ Em Caf₂**. [s.l.] Universidade Estadual De Campinas, 1981.
- DANTAS, N. O. et al. Atomic and Magnetic Force Microscopy of Semiconductor and Semimagnetic Nanocrystals Grown in Colloidal Solutions and Glass Matrices. In: NAKAMURA, B.; TANAKA, A. (Ed.). **Optical Imaging: Technology, Methods and Applications**. [s.l.] Nova Science Publishers, 2012. p. 109–132.
- DZHAGAN, V. M. et al. Resonant Raman scattering study of CdSe nanocrystals passivated with CdS and ZnS. **Nanotechnology**, v. 18, n. 28, p. 285701, 18 jul. 2007.
- DZHAGAN, V. M. et al. The influence of shell parameters on phonons in core-shell nanoparticles: a resonant Raman study. **Nanotechnology**, v. 20, n. 36, p. 365704, 9 set. 2009.
- GARRETT, P. **Absorption and Transmission of light and the Beer-Lambert Law**, 2008.

GUIMARÃES, C. **Espectroscopia Raman e Infravermelho na molécula (4E)-4((E)-3-fenilalilidenomanino)-1,2-dihidro-2,3-dimetil-1-fenilpirazol-5-ona.** [s.l.] Universidade Federal De Mato Grosso, 2011.

HOLLAS, J. M. **Basic Atomic and Molecular Spectroscopy.** Chichester: Wiley, 2002.

KAMBHAMPATI, P. Unraveling the structure and dynamics of excitons in semiconductor quantum dots. **Accounts of chemical research**, v. 44, n. 1, p. 1–13, 18 jan. 2011.

KASUYA, A. et al. Ultra-stable nanoparticles of CdSe revealed from mass spectrometry. **Nature materials**, v. 3, n. 2, p. 99–102, fev. 2004.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy.** [s.l.] Springer, 2006. p. 1255

LOPEZ, F. J. et al. Silicon Nanowire Polytypes: Identification by Raman Spectroscopy, Generation Mechanism, and Misfit Strain in Homostructures. **ACS Nano**, v. 5, p. 8958–8966, 2011.

LU, L. et al. Raman analysis of CdSe/CdS core–shell quantum dots with different CdS shell thickness. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 19, n. 40, p. 406221, 2007.

MENDES, M. F. A.; BENFATO, M. S. **Espectrofotometria.** Disponível em: <http://www.ufrgs.br/leo/site_espec/>. Acesso em: 1 set. 2013.

MICHALET, X. et al. Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics. **Science** , v. 307 , n. 5709 , p. 538–544, 28 jan. 2005.

NETO, A. M. B. **Estudo Do Efeito Da Anarmonicidade E Desordem Induzida Em Filmes De Gaas1–Xnx, Por Espectroscopia Raman.** [s.l.] Universidade De Brasília, 2010.

OSWALDO SALA. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e Infravermelho.** [s.l.] Editora Unesp, 2008.

PATNAIK, P. **Dean's Analytical Chemistry Handbook.** [s.l.] McGraw Hill Professional, 2004.

PEREIRA, A. P. G. **Estudo Da Interação Elétron-Fonôn Em Nanotubos De Carbono Por Espectroscopia Raman Ressonante.** [s.l.] Universidade Federal De Minas Gerais, 2009.

PU, S.-C. et al. The Empirical Correlation Between Size and Two-Photon Absorption Cross Section of CdSe and CdTe Quantum Dots. **Small**, v. 2, n. 11, p. 1308–1313, 1 nov. 2006.

RICHTER, H.; WANG, Z. P.; LEY, L. The one phonon Raman spectrum in microcrystalline silicon. **Solid State Communications**, v. 39, n. 5, p. 625–629, ago. 1981.

RIEHLE, F. S. et al. Blue Luminescence and Superstructures from Magic Size Clusters of CdSe. **Nano Letters**, v. 9, n. 2, p. 514–518, 13 jan. 2009.

ROCA, E.; TRALLERO-GINER, C.; CARDONA, M. Polar optical vibrational modes in quantum dots. **Physical Review B**, v. 49, n. 19, p. 13704–13711, 15 maio 1994.

ROGACH, A. L. **Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots: Synthesis, Assembly, Spectroscopy and Applications.** [s.l.] Springer, 2008.

ROODENKO, K. et al. Modified phonon confinement model for Raman spectroscopy of nanostructured materials. **Physical Review B**, v. 82, n. 11, p. 115210, 20 set. 2010.

- SAGAR, D. et al. Size dependent, state-resolved studies of exciton-phonon couplings in strongly confined semiconductor quantum dots. **Physical Review B**, v. 77, n. 23, p. 235321, jun. 2008.
- SHUKER, R.; GAMMON, R. W. Raman-Scattering Selection-Rule Breaking and the Density of States in Amorphous Materials. **Physical Review Letters**, v. 25, n. 4, p. 222–225, 27 jul. 1970.
- SINGHA, A. et al. Electron and phonon confinement and surface phonon modes in CdSe–CdS core–shell nanocrystals. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 17, n. 37, p. 5697, 2005.
- SKOOG, D. A. et al. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. [s.l.] Cengage Learning, 2013. v. 9th Ed.
- SOLOVIEV, V. N. et al. Molecular Limit of a Bulk Semiconductor: Size Dependence of the “Band Gap” in CdSe Cluster Molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 11, p. 2673–2674, 1 mar. 2000.
- STUART, B. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2004.
- THOMSEN, M. M. AND C. Phonons in bulk CdSe and CdSe nanowires. **Nanotechnology**, v. 20, n. 11, p. 115707, 2009.
- TSCHIRNER, N. et al. Interfacial Alloying in CdSe/CdS Heteronano crystals: A Raman Spectroscopy Analysis. **Chemistry of Materials**, v. 24, n. 2, p. 311–318, 24 jan. 2012.
- YU, W. W. et al. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 14, p. 2854–2860, 7 jun. 2003.
- ZOU, Q. D. et al. Facile synthesis of magic-sized CdSe and CdTe nanocrystals with tunable existence periods. **Nanotechnology**, v. 18, n. 40, p. 405603, 2007.

Capítulo III

III. 1. Resultados e Discussões

Neste capítulo foram apresentados e discutidos os resultados obtidos durante o doutorado. Esses resultados foram organizados em diferentes subseções, contendo os diversos estudos realizados sobre os pontos quânticos semicondutores ultra pequenos (USPQs) e de tamanhos mágicos (MSPQs) de CdSe e nanoestruturas núcleo/casca do tipo CdSe/CdS_xSe_{1-x} e CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS.

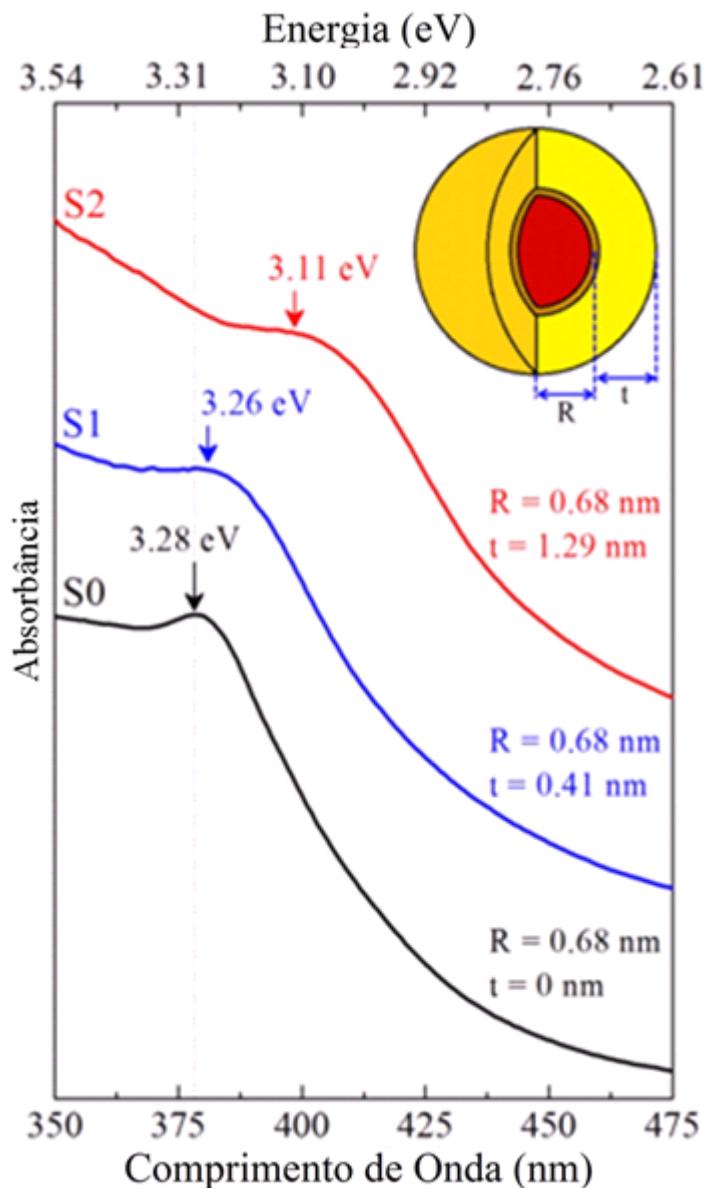
III.1. Modelo Modificado de Confinamento de Fônon e sua Aplicação a Pontos Quânticos de CdSe/CdS de Tamanhos Mágico por uma Nova Rota em Solução Aquosa.

(Journal of Physical Chemistry C, 2013, 117, 1904 - 1914)

Nesse estudo foram apresentadas modificações em um modelo de confinamento de fônon a fim de obter uma melhor descrição do espectro Raman de nanocristais esféricos, denominados: núcleo, núcleo/casca e núcleo/multicascas. As novas interpretações permitiram investigar as influências da liga interfacial e efeitos de *strain* nos modos vibracionais dos nanocristais núcleo/casca. A robustez do modelo modificado de fônon foi confirmado pela descrição precisa dos espectros Raman de pontos quânticos de CdSe/CdS núcleo/casca sintetizados diretamente em soluções aquosas por uma nova rota. A espessura da casca de CdS nos MSPQs de CdSe/CdS foi controlada em função da temperatura e utilizou-se o modelo modificado para ajustar os espectros Raman das amostras, visando obter as dimensões de tamanho do MSPQs núcleo/casca (diâmetro do núcleo e espessura da casca). Esses valores se apresentaram em excelente acordo com os resultados obtidos por microscopia de força atômica, e confirmou que a mudança na temperatura de síntese foi uma maneira simples e eficiente para controlar a espessura da casca de CdS durante o processo de crescimento. Além disso, se confirmou a formação de uma camada de liga (CdS_xSe_{1-x}) na interface dos MSPQs de CdSe/CdS núcleo/casca, e que os efeitos de *strain* podem ser negligenciados na estrutura wurtzita.

Os detalhes das modificações no modelo de confinamento de fônon foram descritas na [seção II.2.6.1](#).

Os espectros de absorção óptica (AO) das soluções coloidais contendo os MSPQs (S_0 = MSPQs CdSe, S_1 = MSPQs CdSe/CdS e S_2 = MSPQs CdSe/CdS) sintetizados por uma nova rota são apresentados na [Figura III. 1](#). As energias dos *bandgap* dos MSPQs foram (i) 3,28 eV para a amostra S_0 ; (ii) 3,26 eV para a amostra S_1 e (iii) 3,11 eV para a amostra S_2 . Esses valores de energia foram obtidos a partir de um ajuste gaussiano da banda de absorção. O intervalo dessas energias de *bandgap* confirmam que as nanoestruturas crescidas foram extremamente pequenas e pertencentes a classe de NCs de tamanho mágico (DUKES; MCBRIDE; ROSENTHAL, 2010; KUDERA et al., 2007; MCBRIDE et al., 2010; NGUYEN; DAY; PACTER, 2010; SOLOVIEV et al., 2000).



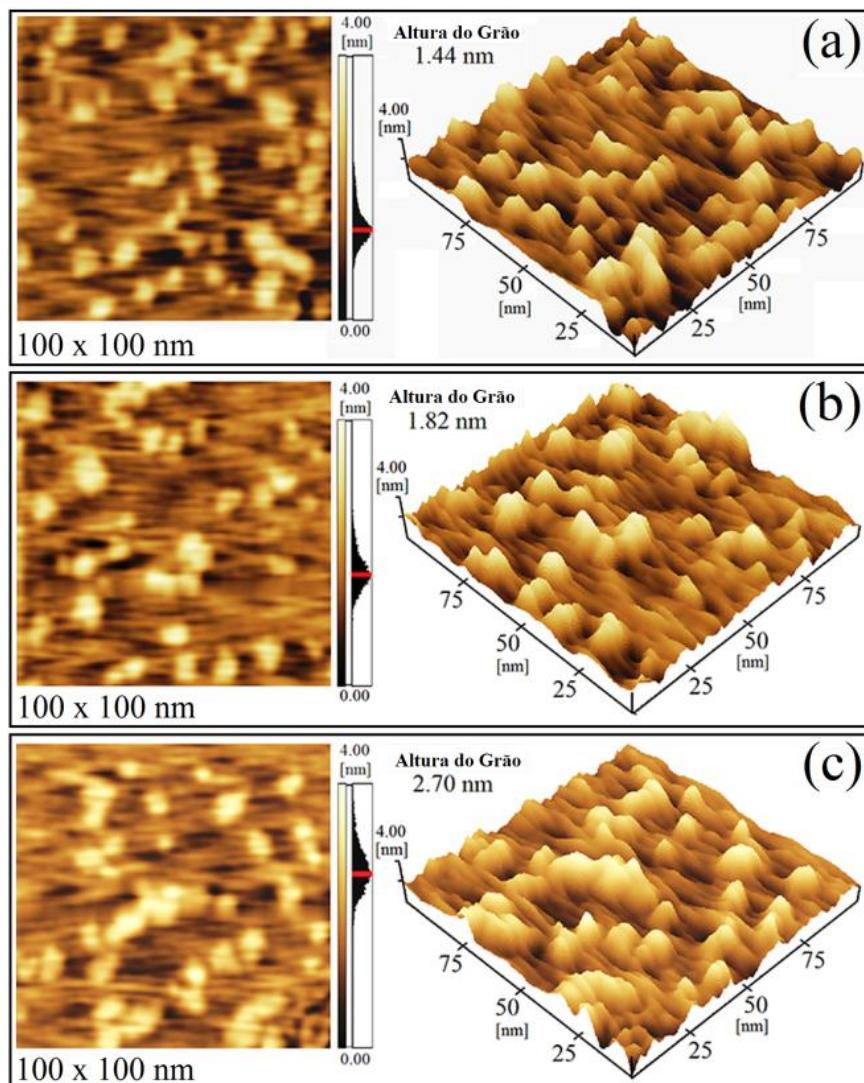
[Figura III. 1](#) Espectros de AO das amostras S_0 (MSPQs de CdSe com raio médio $R = 0,68 \text{ nm}$); S_1 e S_2 (MSPQs de CdSe/CdS onde a correspondente espessura da casca de CdS (t) é indicada em cada espectro).

A partir da energia do *bandgap* de $E_g = 3,28$ eV para a amostra S0 obtive-se o diâmetro de 1,35 nm ao utilizar a equação empírica ([equação \(II.2.47\)](#)). Notou-se que este valor obtido foi bem próximo ao $D \approx 1,39$ nm obtido através do modelo modificado de confinamento de fônlons para descrever os espectros Raman. A abordagem para avaliar o espectro de Raman de MSPQs também revelou um aumento controlável na espessura casca de CdS (t) a partir da amostra S0 para S2, como mostrado na [Tabela III. 1](#) (primeiras três linhas). Em adição, o mesmo valor do diâmetro médio do núcleo ($D \approx 1,39$ nm) foi, também, confirmado para os MSPQs CdSe/CdS identificados pelas amostras S1 e S2, uma vez que a casca de CdS foi crescida ao redor nos MSPQs de CdSe. Assim, na [Figura III. 1](#), o deslocamento da banda de AO, para o vermelho de 3,28 e V para 3,11 da amostra S0 a S2, pode ser atribuído ao aumento na espessura da casca de CdS. Esses deslocamentos da banda de AO, também, foram observados em nanocristais de CdSe/CdS (LI et al., 2003) e CdS/ZnS (PROTIÈRE; REISS, 2006), e foi associado com a delocalização das funções de onda de elétrons e buracos ao longo de toda a nanoestrutura núcleo/casca. Além disso, observou-se um alargamento da banda de absorção, que foi atribuído a um aumento na dispersão de tamanho dos MSPQs causado pelo aumento na dispersão da espessura da casca de CdS.

A [Figura III. 2](#) mostra as imagens de microscopia de força atômica (AFM) (100×100 nm) das amostras S0 (imagem [\(a\)](#)); S1 (imagem [\(b\)](#)) e S2 (imagem [\(c\)](#)). As correspondentes imagens bidimensionais e tridimensionais são mostrado ao lado esquerdo e direito de cada imagem, respectivamente. Visto que qualquer efeito de convolução não influencia na medida da direção z (vertical) da imagem de AFM (ABDELHADY et al., 2005; VALLIÈRES et al., 2007), foi possível avaliar o diâmetro médio de PQs pela distribuição de altura da imagem, mostrado ao lado direito da imagem bidimensional, em cada painel. A [Tabela III. 1](#) resumi os valores obtidos para o diâmetro total de cada amostra, bem como a técnica utilizada. Foi interessante notar que os diâmetros médios obtidos a partir das imagens de AFM estavam em excelente acordo com aqueles obtidos pelos ajustes nos espectros Raman utilizados no modelo de confinamento de fônlons modificado. Pequenas e negligenciáveis diferenças entre os valores foram atribuídas à formação de agregados de MSPQs, como observado nas imagens de AFM (BERRETTINI et al., 2004; MCBRIDE et al., 2010; NURBOSYN et al., 2006).

A [Tabela III. 1](#) mostra os valores obtidos para a espessura da casca de CdS (t), a partir dos dados de AFM quando subtraídos do diâmetro do núcleo ($D \approx 1,44$ nm) dos MSPQs de CdSe (amostra S0). Dessa forma, para cada amostra de MSPQs núcleo/casca (amostras S1 e S2) existiu um acordo entre os valores da casca de CdS obtidos por AFM e os calculados

com base nos espectros Raman. Todos esses resultados demonstraram que a espessura da casca de CdS pode ser efetivamente controlada modificando a temperatura de síntese de 0°C (amostra S1) para 80°C (amostra S2). Em conexão com o alargamento da banda de AO ([Figura III. 1](#)) quando a espessura da casca aumenta, um aumento na dispersão de tamanho dos MSPQs CdSe/CdS foi observado a partir da distribuição de altura. Esse efeito foi relacionado com o aumento da espessura da dispersão da casca de CdS em MSPQs de CdSe/CdS, uma vez que o tamanho do núcleo permaneceu fixo para todas as amostras. As distribuições de altura mostradas nas imagens de AFM foram ajustadas por uma função log-normal e, portanto, se confirmou a dispersão crescente de tamanho (ξ) de MSPQs com o aumento da espessura da casca de CdS. Comportamento semelhante também foi relatado para nanocristais de CdSe/CdS sintetizados via metodologia organometálica (ZHANG; ZHANG; ZHANG, 2010).



[Figura III. 2](#) Imagens de AFM a temperatura ambiente dos MSPQs de CdSe e CdSe/CdS depositados no substrato de mica: (a) amostra S0; (b) amostra S1; (c) amostra S2.

Tabela III. 1 Dimensões médias (todas em nm) dos MSPQs (amostras S0, S1 e S2) calculadas pelas técnicas de Raman e AFM: diâmetro do núcleo (D_{core}), espessura da casca (t) e diâmetro total ($D_{Total} = D_{core} + t$). A última coluna mostra a dispersão de tamanho (ξ) obtida a partir das imagens de AFM. As dimensões mostradas para S3 e S4 (simulações) foram calculadas a partir do modelo de confinamento de fônon.

Amostra ou Simulação	Raman			AFM		
	D_{core}	t	D_{Total}	D_{Total}	t	ξ (%)
S0	1,39	0,00	1,39	1,44	0	12
S1	1,39	0,41	1,80	1,82	0,38	13
S2	1,39	1,29	2,68	2,70	1,26	15
S3	15,15	1,29	16,44	###	###	###
S4	15,15	5,60	20,75	###	###	###

Os padrões de DRX dos MSPQs de CdSe (amostra S0) e CdSe/CdS (amostras S1 e S2) são mostrados na [Figura III. 3](#). Esses padrões foram comparados com os valores dos difratogramas padrões de cada calcogeneto, dado por: (i) CdSe (zincblende JCPDS no. 19-0191; wurtzita JCPDS no. 77-2307) e (ii) CdS (zincblende JCPDS no. 42-1411; wurtzita ICSD no. 620319). Embora uma porcentagem da fase dos MSPQs fosse mista, verificou-se que a fase predominante foi wurtzita. Resultados similares foram reportados de nanocristais de CdSe sintetizados tanto por solução coloidal aquosa (HAN; SHENG; LIANG, 2006; SINGHA et al., 2005) quanto por método organometálico (LU et al., 2007). Para as amostras S1 e S2 as bandas dos MSPQs de CdSe/CdS foram levemente deslocadas para maiores ângulos e mais alargadas do que os MSPQs de CdSe, o que evidenciou o crescimento da espessura da casca de CdS e confirmou a presença da fase wurtzita como dominante. Esse resultado foi também fortemente suportado pelos picos de difração (1 1 0) e (1 1 2) atribuído a estrutura wurtzita de CdS. Em adição, a maior intensidade do pico de difração (1 0 1) da fase wurtzita do CdS na amostra S2 com relação a amostra S1 foi atribuído a uma espessura maior da casca de CdS, em acordo com o deslocamento para o vermelho das bandas de AO ([Figura III. 1](#)).

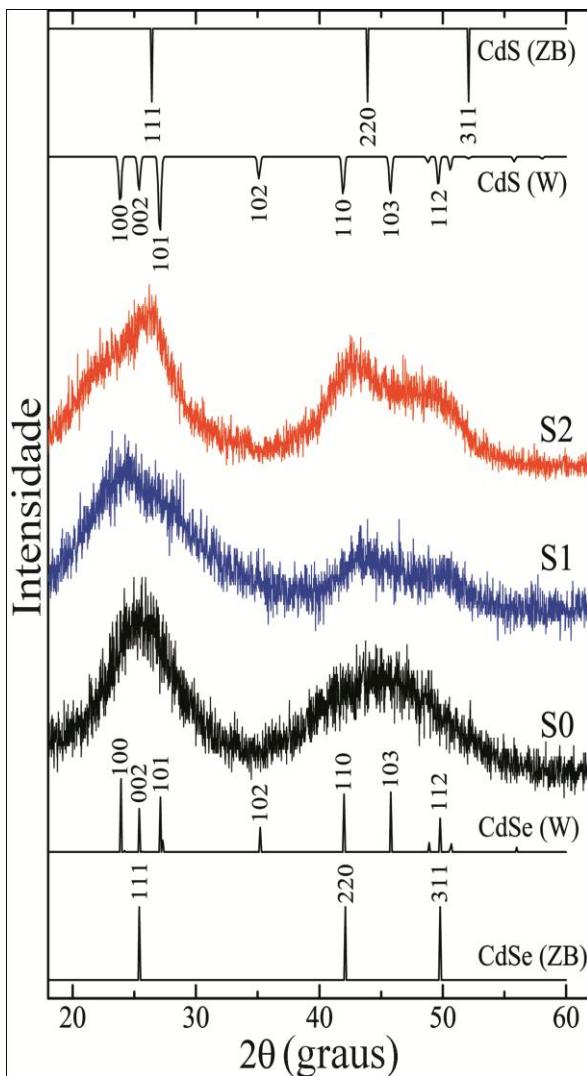


Figura III. 3 Padrões de DRX à temperatura ambiente de nanocristais presentes nas amostras: (S0) MSPQs CdSe, (S1) e (S2) MSPQs de CdSe/CdS. Padrões do CdS (topo) e CdSe (inferior) com estruturas wurtzita (W) e zincblende (ZB) para comparação.

A Figura III. 4. (a) mostra os espectros Raman à temperatura ambiente dos MSPQs de CdSe, em que a banda associada ao modo óptico longitudinal (LO) pode ser observada. A cauda de baixa freqüência do modo óptico longitudinal (LO), como mencionado anteriormente apresenta contribuições de fônon LO confinados bem como de modos ópticos de superfície (SO), de acordo com o esperado em nanocristais esféricos (CAMPBELL; FAUCHET, 1986; COMAS; TRALLERO-GINER, 2003; RICHTER; WANG; LEY, 1981). Além dessas duas freqüências características (LO e SO) dos MSPQs de CdSe, um ombro de alta freqüência (HFS) em torno de $\approx 226,8 \text{ cm}^{-1}$ foi visualizado no espectro. A origem desse modo HFS se deu devido a participação de fônonos acústicos no processo de espalhamento (isto é LO + fônonos acústicos) como inicialmente proposto por Dzhagan *et al.* (2009), que observaram o modo HFS em nanocristais de CdSe bem pequenos (DZHAGAN *et al.*, 2009a). Em suporte a essa explicação, Tschirner *et al.* (2012), também, observaram a presença do

modo HFS (em torno de $\approx 234 \text{ cm}^{-1}$) no espectro Raman de nanocristais de CdSe (TSCHIRNER et al., 2012). Entretanto, após o revestimento dos MSPQs de CdSe com uma casca de CdS (amostras S1 e S2), o modo HFS desapareceu no espectros Raman. Esse fenômeno estava, também, em excelente acordo com os resultados reportado por Tschirner *et al.* (2012) e Dzhagan *et al.* (2009) (DZHAGAN et al., 2009a; TSCHIRNER et al., 2012). O modelo modificado de confinamento de fônon proposto nessa pesquisa foi utilizado para descrever os espectros Raman das amostras S0, S1 e S2. Assim, a intensidade relacionada ao espectro Raman experimental dos MSPQs de CdSe foi ajustado pelas [equações \(\(II.2.36\) e \(II.2.37\)\)](#) mais uma função Lorentziana adicional que leva em conta o modo HFS (226.8 cm^{-1}), sendo $I(\omega) = I_{LO}^{(1)}(\omega) + I_{SO}^{(1)}(\omega) + I_{HFS}^{(1)}(\omega)$. Para a intensidade LO $I_{LO}^{(1)}(\omega)$ (veja [equação \(II.2.36\)](#)) foi utilizado os seguintes valores (SINGHA et al., 2005): $\omega_{0(1)} = 213 \text{ cm}^{-1}$ e $\Delta\omega_{(1)} = 118 \text{ cm}^{-1}$ a fim de descrever a dispersão de fônonos no CdSe *bulk*, $\omega_{(1)}(\mathbf{q}) = \omega_{0(1)} - \Delta\omega_{(1)} q_{(1)}^2$, não existindo a formação de qualquer liga interfacial nos MSPQs de CdSe. O vetor de onda $q_{(1)}$ foi representado em unidades de $2\pi/\bar{a}_{(1)}$, isto é $q_{(i)} \equiv [q_{(i)} / (2\pi/\bar{a})]$, com o parâmetro de rede médio da estrutura wurtzita dado por Singha *et al.* (SINGHA et al., 2005). Assim, a dispersão de fônonos média é descrita por uma função não periódica na [equação \(II.2.36\)](#) para equação de $I_{LO}^{(1)}(\omega)$ na primeira zona de Brillouin. Na [Figura III. 4 \(a\)](#) a qualidade dos ajustes teóricos (linha sólida vermelha) com os dados experimentais (círculos) foi excelente, a partir do qual se determinou o diâmetro médio de $D \approx 1,39$ para os MSPQs de CdSe, em excelente acordo com os valores obtidos a partir dos espectros de AO ($D \approx 1,35 \text{ nm}$) e as imagens de AFM ($D \approx 1,44 \text{ nm}$).

As [Figura III. 4 \(b\) e \(c\)](#) mostram os espectros das amostras de MSPQs de CdSe/CdS (amostras S1 e S2). Além da banda Raman em $\approx 204 \text{ cm}^{-1}$ apareceu uma banda adicional em $\approx 275,5 \text{ cm}^{-1}$ para a amostra S1 e em $\approx 280,7 \text{ cm}^{-1}$ para a amostra S2, o que confirmou o crescimento da casca de CdS ao redor dos MSPQs de CdSe. Os dados mostraram um excelente acordo com os espectros Raman experimental (círculos abertos) e as curvas de ajustes (linhas vermelha sólida), $I^{(i)}(\omega) = I_{LO}^{(i)}(\omega) + I_{SO}^{(i)}(\omega)$, para cada uma das bandas Raman. Nesse caso definiram-se os valores inteiros como: (i) $i = 1$ para as vibrações em torno do modo LO do CdSe e (ii) $i = 2$ para as vibrações em torno do modo LO da casca de CdS. Os coeficientes de Fourier usados para calcular a intensidade $I_{LO}^{(i)}(\omega)$ ([equação \(II.2.36\)](#)) são dados por $|C_{(1)}(0, \mathbf{q})|^2 \approx \exp(-q_{(1)}^2 \sigma_{(1)}^2)$. Os coeficientes de Fourier da casca de CdS ([equação](#)

(II.2.42)) foram definidos para $j = 2$, material da casca. Em acordo com as novas interpretações os parâmetros $\omega_{0(i)}$ e $\Delta\omega_{(i)}$, que descrevem a curva de dispersão do fônon LO do material *bulk* ($\omega_{(i)}(\mathbf{q}) = \omega_{0(i)} - \Delta\omega_{(i)} q_{(i)}^2$) foram obtidos a partir de procedimentos de ajustes, a fim de avaliar a possível existência da liga interfacial, bem como os efeitos de *strain* nos MSPQs de CdSe/CdS. O vetor de onda $q_{(i)}$ foi representado em unidades de $2\pi/\bar{a}_{(i)}$, ou seja, $q_{(i)} \equiv [q_{(i)}/(2\pi/\bar{a})]$, com parâmetro de rede médio da estrutura wurtzita dado por (SINGHA et al., 2005): $\bar{a}_{(1)} = 0.608$ nm para o CdSe e $\bar{a}_{(2)} = 0.582$ nm para o CdS.

A integração da equação, para $I_{LO}^{(i)}(\omega)$, foi realizada na primeira zona de Brillouin devido a não periodicidade da dispersão de fônon média. A partir dos procedimentos de ajustes realizados nos espectros Raman dos MSPQs (amostras S0, S1 e S2) calculou-se os valores médios associados com o diâmetro do núcleo e a espessura da casca como mostrado na Tabela III. 1, em comparação com os dados de AFM. A excelente concordância entre os dois conjuntos de resultados (Raman e AFM) em relação ao tamanho dos PQs, confirmou-se a robustez do modelo modificado de confinamento de fônons proposto nessa pesquisa. A Tabela III. 2 (primeiras três linhas) mostra os parâmetros (todos em cm^{-1}) obtidos a partir dos ajustes nos dados dos espectros Raman.

Foi observado que a freqüência de fônon ω_{LO1} associada com o núcleo de CdSe não foi alterada com o crescimento da casca de CdS nas amostras S1 e S2, demonstrando que qualquer efeito possível *strain* que ocorresse no núcleo poderia ser negligenciado. Efeitos semelhantes foram relatados para nanocristais de CdSe/CdS também com estrutura wurtzita, em que confirmou-se que o efeito de *strain* relacionado com a incompatibilidade de rede entre o CdSe-núcleo e o CdS-casca é muito pequeno para ser detectado através de medidas Raman (LU et al., 2007; SINGHA et al., 2005). Ao contrário, para nanocristais de CdSe/CdS com estrutura zincblende os efeitos de *strain* induzido pela incompatibilidade de rede foram confirmados devido ao deslocamento para o azul da freqüência de fônon do ω_{LO1} do CdSe-núcleo, com o aumento da casca de CdS (TSCHIRNER et al., 2012; ZHANG; ZHANG; ZHANG, 2010). Adicionalmente, é importante mencionar que os nanocristais de CdSe/CdS com estrutura cúbica apresentaram efeitos opostos de *strain* para o núcleo e casca como relatado por Tschirner et al. (2012), em que a diferença das constantes de rede originou um *strain* compressivo e tensivo no núcleo e na casca, respectivamente (Tschirner et al., 2012). Portanto, os efeitos de *strain* que foram negligenciáveis nos nanocristais de CdSe/CdS de

estrutura wurtzita, e considerados quando os nanocristais apresentaram estrutura zincblende. Assim, nenhum efeito de *strain* induzido no deslocamento da freqüência de CdS-casca ω_{LO2} foi observado nos espectros Raman dos nanocristais de CdSe/CdS com estrutura wurtzita. Observou-se que o deslocamento para o azul da freqüência ω_{LO2} de 275,5 cm⁻¹ (amostra S1) para 280,7 cm⁻¹ (amostra S2) foi diretamente resultado do enfraquecimento no confinamento do fônon LO2, o qual foi causado pelo aumento da espessura da casca de 0.41 nm para 1.29 nm.

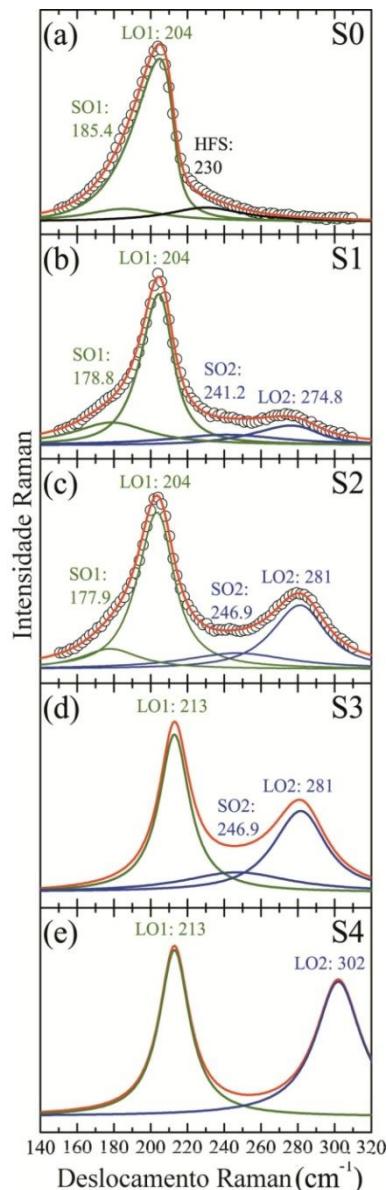


Figura III. 4 Espectros Raman a temperatura ambiente (círculos) dos MSPQs: (a) CdSe; (b) e (c) CdSe/CdS. A freqüência de cada modo vibracional (SO1, LO1, HFS, SO2, ou LO2) foi indicada por números. O ajuste do espectro Raman foi mostrado pela linha sólida vermelha, com as subcomponentes nomeadas como: linha verde vibrações do núcleo, linha azul vibrações da casca, linha preta para o modo HFS apenas na amostra S0 (painel (a)). S3 e S4 foram espectros Raman simulados pelo modelo modificado de confinamento de fônon proposto nessa pesquisa.

Na equação (II.2.36) o $\Gamma_{LO(i)}$ está associado à vibração em torno do modo LO confinado do CdSe-núcleo com $i = 1$, ou CdS-casca com $i = 2$, e é também influenciado pela formação da liga na interface dos MSPQs de CdSe/CdS. Esse efeito é causado pela proximidade (e até mesmo uma sobreposição parcial) entre modos LO a partir do material homogêneo (núcleo e casca) e a liga interfacial (camada de mistura). Nas amostras, a estimativa da espessura da liga interfacial é de 1-2 monocamadas de acordo com Dzhagan *et al.* (2009) (DZHAGAN *et al.*, 2009b). Dantas *et al.* (2011) verificaram que devido as vibrações da liga as freqüências do modo LO do CdSe deslocam-se para o vermelho em relação ao valor do material *bulk*. (NETO *et al.*, 2011). Naturalmente, um comportamento similar era esperado para as vibrações da liga CdS_xSe_{1-x} (com $x \approx 0,5$), da qual está localizada na interface dos MSPQs de CdSe/CdS. Entretanto, essa fina camada de liga interfacial é também influenciada pelo confinamento de fônon, do qual provoca um deslocamento adicional para o vermelho de ambas as freqüências da liga do modo do CdSe e do CdS (NETO *et al.*, 2011).

Tabela III. 2 Parâmetros (todos em cm^{-1}) obtidos a partir dos ajustes dos espectros Raman das amostras S0, S1 e S2. Todos os parâmetros mostrados nas simulações S3 e S4 foram baseados no modelo modificado de confinamento de fônon.

Amostra ou Simulação	CdSe-núcleo						CdS-casca					
	$\omega_{0(1)}$	$\Delta\omega_{(1)}$	ω_{LO1}	Γ_{LO1}	ω_{SO1}	Γ_{SO1}	$\omega_{0(2)}$	$\Delta\omega_{(2)}$	ω_{LO2}	Γ_{LO2}	ω_{SO2}	Γ_{SO2}
S0	213	118	204	8,0	185,0	25	###	###	###	###	###	###
S1	209,5	67	204	14,0	191,0	26	276,5	10	275,5	28	241,2	38
S2	208	55	204	16,9	189,4	26	282,9	30	280,7	40	242,0	37
S3	213	118	213	16,9	###	###	282,9	30	280,7	40	242,0	37
S4	213	118	213	16,9	###	###	302	102	302	40	###	###

Os efeitos da liga também foram explicados pela alteração de Γ_{LO1} e Γ_{LO2} induzido pelo crescimento da casca de CdS. Γ_{LO1} aumentou de $8,0 \text{ cm}^{-1}$ no MSPQs de CdSe (amostra S0) para os seguintes valores: $14,0 \text{ cm}^{-1}$ e $16,9 \text{ cm}^{-1}$ para as amostras S1 e S2, respectivamente. No entanto, para os MSPQs de CdSe/CdS Γ_{LO2} ampliou de 28 cm^{-1} (amostra S1) para 40 cm^{-1} (amostra S2), o que também ocorreu devido a influência do aumento da dispersão de tamanho da casca de CdS, como confirmado pelos dados de AO e AFM. Além disso, a camada mista de CdS_xSe_{1-x} com $x \approx 0,5$ (liga interfacial) nos MSPQs de

CdSe/CdS causou alterações na curva de dispersão de fônon LO do material *bulk*, que foi confirmado pelas variações dos parâmetros $\omega_{0(i)}$ e $\Delta\omega_{(i)}$ que para o *bulk* são $\omega_{0(1)} = 213 \text{ cm}^{-1}$ e $\Delta\omega_{(1)} = 118 \text{ cm}^{-1}$ para o CdSe *bulk* e $\omega_{0(2)} = 302 \text{ cm}^{-1}$ e $\Delta\omega_{(2)} = 102 \text{ cm}^{-1}$ para o CdS *bulk* (SINGHA et al., 2005). Mesmo para as mais finas cascas de CdS (amostra S1) se obteve os valores de $\omega_{0(1)} = 209,5 \text{ cm}^{-1}$ e $\Delta\omega_{(1)} = 67 \text{ cm}^{-1}$ para o núcleo e $\omega_{0(2)} = 276,5 \text{ cm}^{-1}$ e $\Delta\omega_{(2)} = 10 \text{ cm}^{-1}$ para a casca. Essas alterações mostraram a forte influência da liga interfacial na dispersão de fônons LO, o qual é mais intensificado na casca mais fina ($t = 0,41 \text{ nm}$). Quando a casca de CdS aumentou para $t = 1.19 \text{ nm}$ (amostra S2) um leve deslocamento foi observado tanto para o núcleo ($\omega_{0(1)} = 208 \text{ cm}^{-1}$) quanto para a casca ($\omega_{0(2)} = 282,9 \text{ cm}^{-1}$). Além disso, comportamentos opostos entre as larguras de banda $\Delta\omega_{(i)}$ relacionadas aos materiais do núcleo e da casca foram confirmados: $\Delta\omega_{(1)}$ diminuiu ($\Delta\omega_{(1)} = 55 \text{ cm}^{-1}$) enquanto $\Delta\omega_{(2)}$ aumentou ($\Delta\omega_{(2)} = 30 \text{ cm}^{-1}$). Em outras palavras, a variação de $\Delta\omega_{(i)}$ com relação ao valor do material *bulk* homogêneo foi levemente aumentada para o núcleo e diminuída para a casca. Novamente, esses resultados confirmaram a forte influência no núcleo induzida pelo pequeno crescimento da liga interfacial, a qual foi desconsiderada para a casca devido o aumento relativo da fração de material de CdS homogêneo.

A partir dos parâmetros $\omega_{0(i)}$ e $\Delta\omega_{(i)}$ obtidos para as amostras S1 e S2 pôde-se intuitivamente esperar que a influência da liga interfacial na dispersão de fônons do núcleo e da casca fosse negligenciada para nanocristais com grandes dimensões (diâmetro do núcleo e espessura de casca). Assim, a fim de calcular esses efeitos foi utilizado o modelo modificado de confinamento de fônons, apresentado nessa pesquisa, para simular os dois espectros (S3 e S4). Na [Figura III. 4 \(d\)](#), a simulação S3 foi obtida por extrapolação do diâmetro do núcleo para um valor, do qual a freqüência ω_{LO1} foi a mesma que o do correspondente *bulk* para o CdSe ($\omega_{LO1} = 213 \text{ cm}^{-1}$), considerando a espessura da casca fixa no valor da amostra S2 ($t = 1.29 \text{ nm}$) e mantendo os parâmetros de dispersão os mesmos ($\omega_{0(2)} = 282.9 \text{ cm}^{-1}$ e $\Delta\omega_{(2)} = 30 \text{ cm}^{-1}$). Os dados obtidos a partir das simulações foram adicionados nas duas últimas linhas da [Tabela III. 2](#). Na simulação S3 é interessante notar que o valor obtido para o tamanho do núcleo ($D = 15.15 \text{ nm}$) o nanocristal não apresenta efeitos de confinamento quântico, e ainda o da freqüência ω_{LO2} foi o mesmo valor da amostra S2 ($\omega_{LO2} = 280.7 \text{ cm}^{-1}$).

Esse resultado estava em excelente acordo, uma vez que utilizando a aproximação da massa efetiva verificou-se que nanocristais de CdSe maiores que 14 nm não apresentam mais efeitos de confinamento quântico, podendo ser chamados de nanocristais com propriedades de *bulk*. A Figura III. 4 (e) mostra a simulação S4, na qual os parâmetros do núcleo foram mantidos os mesmos da simulação S3, mas com uma espessura de casca extrapolada para o valor da freqüência ω_{LO2} igual ao do bulk de CdSe ($\omega_{LO2} = 302 \text{ cm}^{-1}$). Assim, a dispersão de fônlons LO do correspondente material bulk (CdSe ou CdS) foi obtida por extração do diâmetro do núcleo (simulação S3) e do núcleo e espessura da casca (simulação S4). Então, concluiu-se que para dimensões de tamanhos maiores, a influência da liga interfacial na dispersão de fônlons é certamente negligenciada.

Na Tabela III. 2 observa-se nos dados das S1 e S2 que ocorreu a diminuição da freqüência ω_{SO1} associada com alterações no ambiente dielétrico induzido pelo aumento da espessura da casca (COMAS; TRALLERO-GINER, 2003). O aumento na diferença entre as freqüências de fônlons ω_{LO1} e ω_{SO1} (LANGE et al., 2007; TSCHIRNER et al., 2012) é devido à liga interfacial. Entretanto, nas mesmas condições, o aumento na freqüência ω_{SO2} foi também explicado pela abordagem do dielétrico contínuo (COMAS; TRALLERO-GINER, 2003; LU et al., 2007). Vale ressaltar que, em nanopartículas núcleo/casca com grandes dimensões pode-se esperar uma redução na intensidade do modo SO induzida pela diminuição da razão superfície por volume. Esse efeito foi bem representado nas simulações S3 e S4 pela ausência do modo SO, quando a dimensão de tamanho (diâmetro do núcleo ou espessura da casca) de núcleo-casca nanocristais foi extrapolada até um determinado valor, em que a freqüência de LO foi igual a do correspondente material *bulk* (CdSe ou CdS).

As descobertas dessa pesquisa demonstraram que o modelo modificado de confinamento de fônlons proposto foi muito útil para avaliar as mudanças nas curvas de dispersão de fônlons de um nanocristal núcleo/casca induzida pela formação de uma liga interfacial. Em particular, para a liga interfacial, localizada na interface dos MSPQs de CdSe/CdS, não existia dados disponíveis para as curvas de dispersão de fônlons nos modos LO de CdSe e CdS da liga para comparar com os resultados obtidos. Assim, utilizou-se como analogia a liga de $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$, que foi muito similar a liga $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$, como demonstrado em trabalhos na literatura (BARONI; GIRONCOLI; GIANNOZZI, 1990; JUSSERAND; PAQUET; MOLLOT, 1989; NETO et al., 2011). Nessa correlação, além do deslocamento para o vermelho do modo LO com relação à fase pura, as larguras das bandas $\Delta\omega_{(i)}$ foram

estreitadas devido os efeitos de liga. Isto era consistente com os valores obtidos pelas amostras S1 e S2 (veja a Tabela III. 2), na qual os valores $\omega_{0(i)}$ e $\Delta\omega_{(i)}$ foram menores que os valores da fase pura de CdSe e CdS, dando assim suporte adicional as conclusões obtidas através do modelo proposto nessa pesquisa.

A fim de calcular a qualidade do ajuste, realizou-se a estimativa do erro, calculando o erro quadrático médio (MSE), o qual é definido pela seguinte expressão (JELLISON, 1991; RODENKO et al., 2010)

$$\text{MSE} = \sqrt{\frac{1}{N-M} \sum_{j=1}^N (I_j^{\text{fit}} - I_j^{\text{experimental}})^2}, \quad (\text{II.2.48})$$

onde N é o número de pontos do espectro Raman, M é o número de parâmetros de ajuste que variam, e I a intensidade de Raman em cada número de onda. Assim, em unidades de sinal Raman, obtive-se os valores do MSE de 0,012, 0,011 e 0,011 para as amostras de S0, S1 e S2, respectivamente. Na verdade, os pequenos valores de MSE encontrados confirmaram a excelente qualidade dos ajustes, reforçando a robustez das descobertas dessa pesquisa.

A Figura III. 5 ilustra um nanocristal pequeno de CdSe/CdS com fase wurtzita, em que a liga $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ localizada na interface foi destacada. De acordo com o modelo modificado de confinamento de fôons proposto nesse estudo, a Figura III. 5 mostra que cada metade da camada de liga $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ contribui para o comprimento total ou para o raio R do núcleo de CdSe, ou para a espessura t da casca de CdS. Em outras palavras, o núcleo e a casca não eram formados apenas pelos materiais homogêneos (CdSe ou CdS), mas também pela liga interfacial ($\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$). Nesse contexto, entendeu-se que a influência da liga $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ nas dispersões média de fôons do núcleo de CdSe e na casca de CdS seria mais forte para as dimensões menores (R ou T) do nanocristal, de acordo as análises apresentadas anteriormente.

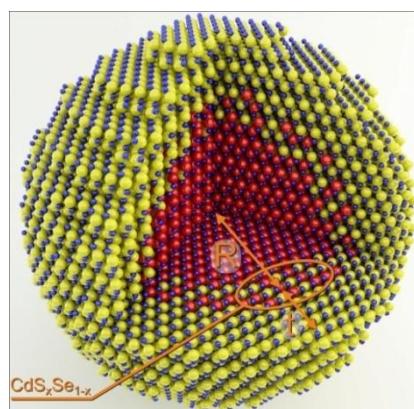


Figura III. 5 Esquema ilustrativo de um nanocristal de CdSe/CdS esférico com estrutura wurtzita hexagonal. As esferas vermelhas, amarelas e azuis representam, respectivamente, os íons de Se^{2-} , S^{2-} e

Cd^{2+} . O R é o raio do núcleo do CdSe, t é a espessura da casca de CdS, que estão destacadas, além da liga interfacial de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$.

Tabela III. 3 Razão das Intensidades dos modos SO com relação ao LO (SO/LO) para CdSe-núcleo e CdS-casca.

Amostra	[SO1/LO1] (± 0.02) CdSe-núcleo	[SO2/LO2] (± 0.02) CdS-casca
S0	0,05	###
S1	0,30	0,39
S2	0,39	0,21

A intensidade SO1 para a amostra S0 foi originada somente nos MSPQs de CdSe, uma vez que para as amostras S1 e S2 ambas as intensidades SO (SO1 e SO2) foram também atribuídas a contribuições das vibrações da liga interfacial $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$. Embora tenha utilizado somente duas funções Lorentzianas para descrever a intensidade SO em todo o nanocristal (núcleo e casca), uma possível mudança na intensidade relativa dos modos SO com relação ao modo LO poderia ser esperada. Assim, como demonstrado na Tabela III. 3, a razão de intensidade dos modos SO/LO para CdSe-núcleo (SO1/LO1) e CdS-casca (SO2/LO2), apresentou incerteza de $\approx 2\%$ devido ao excelente acordo entre os espectros Raman e os ajustes. Após o crescimento da casca de CdS com espessura de $t = 0.41 \text{ nm}$ na amostra S1 a razão entre SO1/LO1 foi aumentada para 0.30, a qual foi praticamente seis vezes mais do que para a amostra S0 (0,05), confirmando a forte contribuição da liga de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ nas vibrações de superfície. O aumento adicional da espessura da casca de CdS para $t = 1.29 \text{ nm}$ na amostra S2 levou a uma razão SO1/LO1 de 0,39, a qual pode ser explicada pelo pequeno crescimento da liga interfacial, como anteriormente comentado. A diminuição da razão superfície por volume foi usada para esclarecer, embora parcialmente, a diminuição da razão SO2/LO2 de 0,39 (amostra S1) até 0,21 (amostra S2). No entanto, a redução da proporção SO2/LO2 observada para a amostra S2 também foi induzida pela maior quantidade de CdS puro na casca que por sua vez aumentou a intensidade LO2.

Em conclusão, um passo importante para a produção de nanocristais semicondutores foi relatado nesse tópico, descrevendo a nova metodologia para crescer MSPQs de CdSe/CdS diretamente em solução aquosa, em que a mudança na temperatura de síntese pôde ser utilizada com êxito para controlar a espessura da casca de CdS. Essa abordagem permitiu fabricar diferentes estruturas MSPQs núcleo/casca da família II-VI controlando não apenas o tamanho do núcleo e a espessura da casca, mas também a presença

da liga na interface núcleo-casca. Além do crescimento com sucesso de MSPQs de CdSe/CdS com diferentes espessuras de casca, a espectroscopia de Raman foi profundamente explorada para proporcionar informações importantes sobre as dimensões do núcleo, espessura da casca, liga na interface núcleo-casca, e os efeitos de *strain*. A fim de proporcionar uma base sólida para o uso da espectroscopia Raman ao avaliar as informações de MSPQs foi proposto modificações no modelo de confinamento Gaussiano fenomenológico, tais como a variação da função peso de fônon para nanoestruturas esféricas com o objetivo de melhorar a descrição de fônons ópticos confinados. O modelo modificado proposto nessa pesquisa indicou as diferenças entre o confinamento de fônons no núcleo e no material da casca, de modo que ele pode ser utilizado para estudar nanocristais esféricos do tipo: apenas núcleo, núcleo/casca e núcleo/multicascas. Assim, o modelo modificado de confinamento de fônons também funcionou como uma ferramenta importante para avaliar as mudanças na dispersão média de fônon LO induzidas por uma liga interfacial ou efeitos de *strain* em nanocristais núcleo/casca. Esse modelo modificado foi testado em nanocristais esféricos de MSPQs de CdSe/CdS, em que o procedimento de ajuste dos espectros Raman permitiu avaliar as dimensões de tamanho de nanoestruturas (diâmetro do núcleo e espessura de casca) em excelente concordância com os obtidos por imagens de AFM. Como conclusão prática deste estudo, observamos que os efeitos de *strain* foram negligenciados para nanocristais de CdSe/CdS com estrutura wurtzita, mas devem ser considerados quando esses nanocristais forem estruturados na fase zincblende. Além disso, a formação de uma camada de liga de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ na interface dos MSPQs de CdSe/CdS com fase wurtzita foi claramente confirmada por vibrações de liga no espectro de Raman, resultando em assinaturas características do modelo de confinamento proposto modificado, ou seja, alterações na larguras de linha do modo LO, curvas de dispersão fônons LO, e razões de intensidade SO/LO. Acredita-se que o modelo modificado proposto nessa pesquisa também pode ser empregado com sucesso para investigar outras nanoestruturas esféricas.

III.2 Luminescência Altamente Estável de Pontos Quânticos de CdSe de Tamanhos Mágicos em Células HeLa.

(*Sensors and Actuators. B, Chemical*, v. 191, p. 108-114, 2014)

A luminescência altamente estável de pontos quânticos de CdSe de tamanhos mágicos (MSPQs) foi reportada em células HeLa. Os MSPQs de CdSe com diâmetro médio de 1.6 nm foram sintetizados em solução coloidal aquosa com um ligante de revestimento biocompatível. Os espectros de luminescência mostraram um amplo intervalo de luminescência e a presença de níveis profundos característicos de defeitos da estrutura wurtzita, essa fase foi confirmada por difração de raios-X. Imagens de microscopia de fluorescência, capturadas após 24 h e 36 h, mostraram que a luminescência dos MSPQs de CdSe foi altamente estável, indicando o seu potencial em estudos de migração de células tumorais em vivo.

Um modelo simplificado dos MSPQs de CdSe com ligante de revestimento 1-tioglycerol é mostrado na [Figura III. 6 \(a\)](#), na qual os grupos hidroxila estão localizados para fora da superfície e os grupos tiol formam uma fina camada sobre a superfície interna. Essa configuração estrutural foi recentemente reportada na literatura, em que os grupos tiol tem forte afinidade para se ligar à superfície de PQs. (ALDANA; WANG; PENG, 2001; SATHYAMOORTHY et al., 2010). Em aplicações tais como sondas biológicas esses cristais podem ser acoplados com várias biomoléculas por reações químicas com grupos hidroxila. Em adição, o 1-tioglycerol é uma curta cadeia de carbono, a qual permitiu uma interação maior dos MSPQs com as biomoléculas. Nesse trabalho, sintetizou-se MSPQs de CdSe com uma liga de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ ao seu redor.

A presença dessa liga previne a liberação de íons de cádmio (Cd^{+2}) da superfície dos MSPQs de CdSe e os tornam mais resistentes a oxidação. [Figura III. 6 \(b\)](#) mostra os espectros de AO a temperatura ambiente dos MSPQs de CdSe em solução coloidal aquosa. A curva (a) ([linha azul](#)) mostra o espectro de AO após a síntese. Já a curva (b) ([linha verde](#)) representa a amostra após 6 meses, período em que nenhum deslocamento da banda de AO com o tempo foi observado, porém, ocorreu no espectro da amostra, após seis meses, o aparecimento de uma aparente banda de AO em maiores comprimentos de onda, o que não foi observado no espectro após a síntese. Essa banda centrada em 396 nm dá evidências da formação de um segundo grupo de PQs de baixa densidade. O diâmetro médio dos PQs de CdSe foram calculados substituindo o comprimento de onda do pico da banda de AO na equação empírica obtendo o valor de $D = 1,58 \text{ nm}$ ([equação \(II.2.12\)](#)). Assim, o tamanho

extremamente pequeno, a elevada estabilidade do tamanho com o tempo e o crescimento descontínuo são fortes indícios de que se sintetizou PQs de CdSe de tamanhos mágicos (MSPQs) (DUKES; MCBRIDE; ROSENTHAL, 2010; RIEHLE et al., 2009).

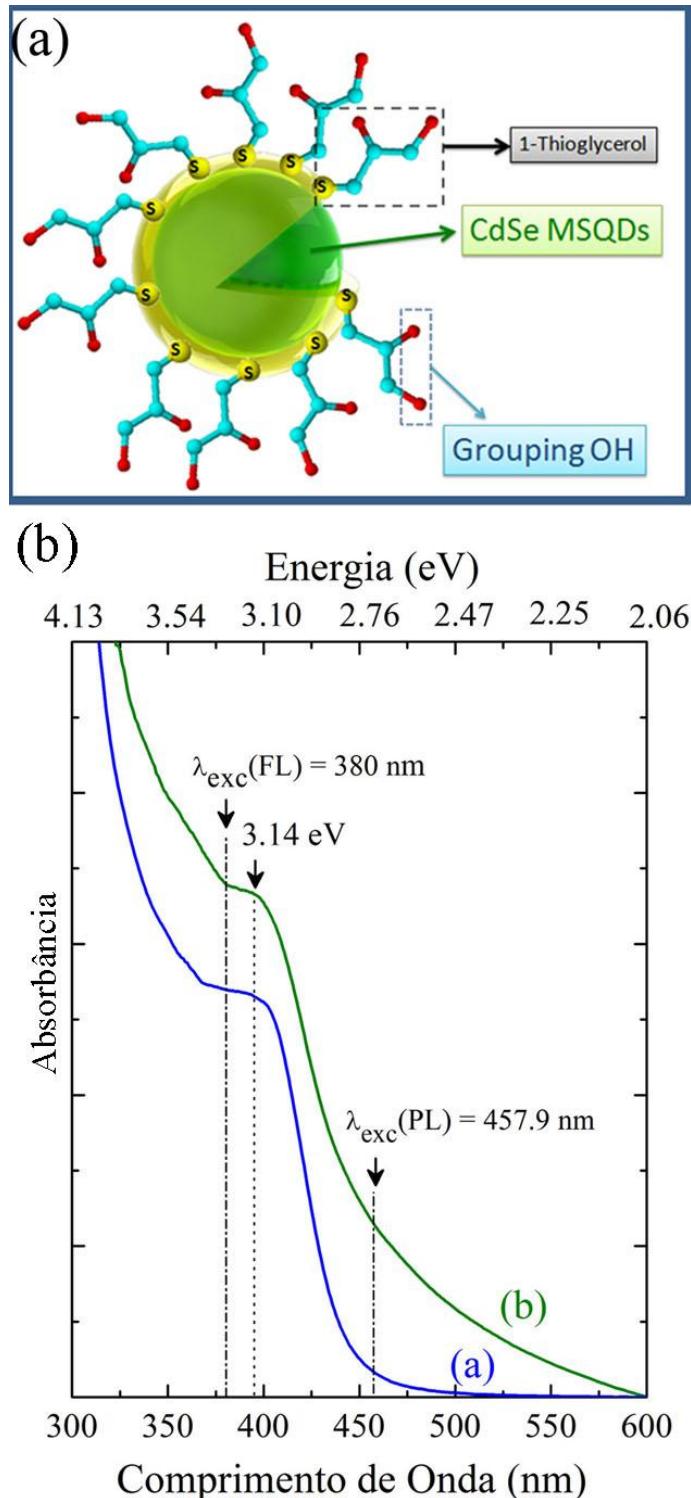


Figura III. 6 (a) Modelo simplificado dos MSPQs de CdSe-OH **(b)** evolução temporal dos espectros de AO dos MSPQs de CdSe na solução coloidal aquosa. A curva azul e verde são os espectros obtidos após a síntese (a) e após 6 meses (b). As setas pretas representam as linhas de excitação e a transição excitônica dos PQs.

Os espectros de luminescência dos MSPQs de CdSe em solução coloidal aquosa foram obtidos com duas linhas de excitação (457.9 nm e 380 nm) mostrados na [Figura III. 7](#), sendo os espectros de fotoluminescência (PL) (a) e de fluorescência (FL) (b). As curvas em azul e verde são os espectros obtidos após a síntese [\(a\)](#) e após 6 meses [\(b\)](#). Os espectros de luminescência foram relativamente largos, devido os PQs conterem defeitos atômicos internos (ausência de um átomo ou átomo em excesso), o que cria estados de armadilha não radiativos, outra característica de PQs de tamanho mágico de acordo com a literatura (DUKES; MCBRIDE; ROSENTHAL, 2010; RIEHLE et al., 2009). Além disso, o recente estudo, proposto nessa tese, verificou que os MSPQs de CdSe sintetizados pela metodologia sugerida, apresentou alta eficiência quântica, o que permite o seu uso em marcadores biológicos (PILLA et al., 2013). Observou-se, também, duas bandas de luminescência localizadas em torno de 624 nm (2 eV) e 769 nm (1.6 eV). Essas luminescências são associadas a níveis metaestáveis causados pela presença de defeitos profundos característicos da estrutura wurtzita, denominados como divacâncias de cádmio-selênio ($V_{Cd}-V_{Se}$). Existem dois tipos de divacâncias: uma orientada ao longo do eixo c e outra orientada ao longo da direção da ligação basal Cd-Se (BABENTSOV; SIZOV, 2008). A luminescência destes níveis metaestáveis foi mais perceptível nos espectros de PL, porque o detector da fotoluminescência apresenta uma resolução maior do que o do fluorímetro. Os espectros PL e FL dos MSPQs de CdSe foram obtidos com a linha excitação de 457.9 nm, a fim de fazer comparações com correspondentes imagens adquiridas por microscopia de fluorescência digital.

As imagens de AFM (300 x 300 nm) dos MSPQs de CdSe após 6 meses, em que as correspondentes bidimensional e tridimensional, são mostradas ao lado esquerdo ([Figura III. 8 \(a\)](#)) e direito ([Figura III. 8 \(b\)](#)), respectivamente. A fim de calcular o diâmetro médio dos PQs, observou-se a distribuição de altura obtida da imagem de AFM, uma vez que a altura não é influenciada pelos efeitos de deconvolução. O painel da direita mostra a distribuição de altura usada para determinar o diâmetro dos PQs de CdSe, obtendo $D = 1,6$ nm. Além disso, verificou-se no histograma que existe um pequeno ombro entre 1,6 e 3,46 nm com máximo em torno de 2 nm, o qual é correspondente ao segundo grupo de PQs de CdSe com baixa densidade, o que pode ser atribuído a aparente banda de AO localizada em 396 nm. Esse resultado confirma que os PQs foram estáveis em relação ao tamanho mesmo após 6 meses, com um crescimento descontínuo, reforçando que as estruturas crescidas foram MSPQs de CdSe. Notou-se também que os diâmetros obtidos pelas imagens de AFM estavam em acordo com os obtidos utilizando os espectros de AO.

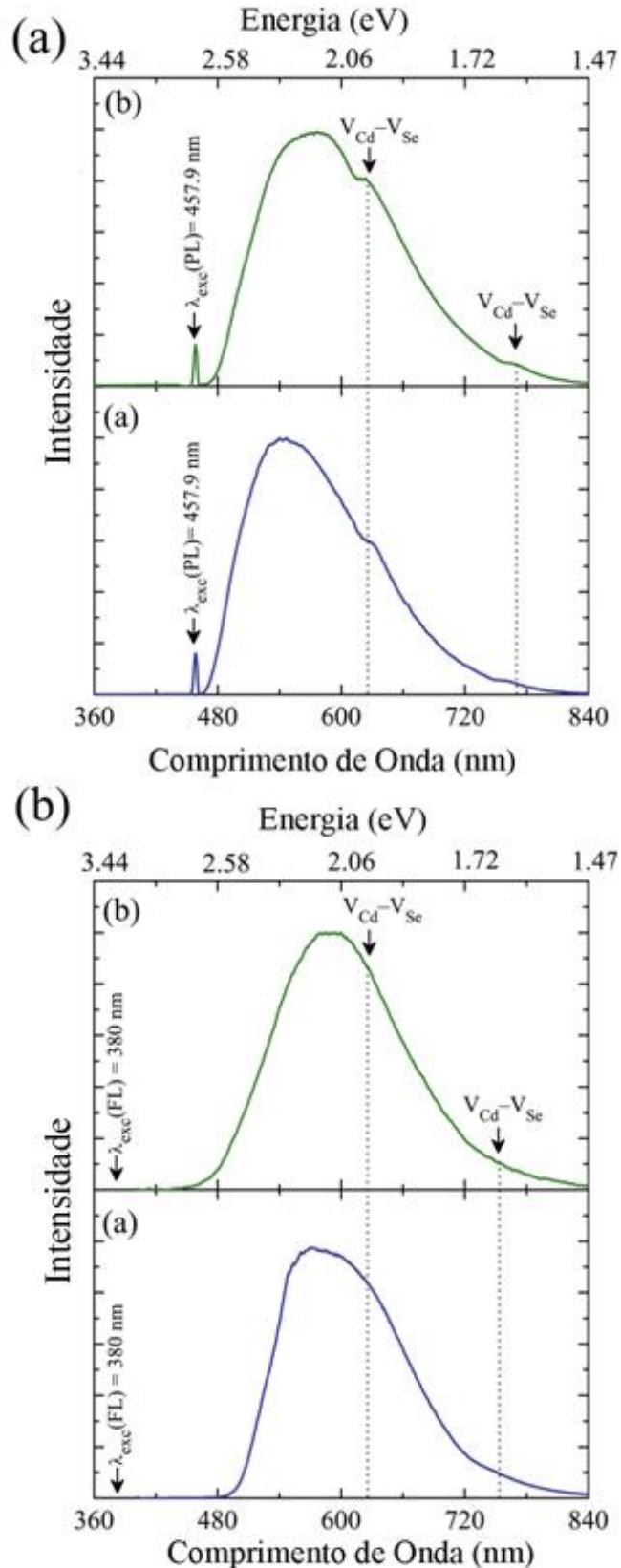


Figura III. 7 Evolução temporal dos espectros de fotoluminescência (a) e fluorescência (b) dos MSPQs de CdSe na solução coloidal aquosa utilizando duas linhas de excitação. As curvas azul e verde são os espectros obtidos após a síntese (a) e após 6 meses (b).

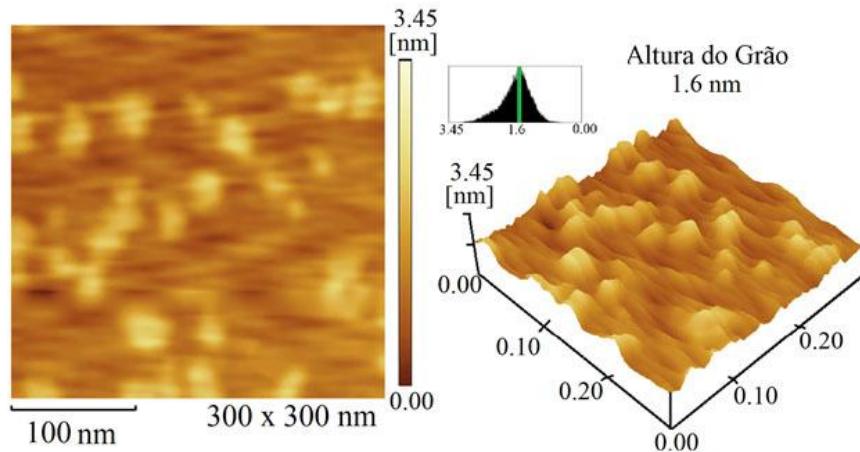


Figura III. 8 Imagem de AFM dos MSPQs de CdSe após 6 meses depositados sobre a mica imagem bidimensional, tridimensional e o histograma de altura.

Os padrões de DRX dos MSPQs de CdSe após a síntese são comparados com os padrões de difração em pó de CdSe na fase zincblende (JCPDS no. 19-0191) e wurtzita (JCPDS no. 77-2307), como mostrado na [Figura III. 9](#). Os largos picos confirmam que os nanocristais são bem pequenos. Além disso, no caso de nanocristais de CdSe bem pequenos não é possível distinguir entre as fases cúbica da hexagonal (TALAPIN et al., 2001). Portanto, os padrões do MSPQs exibem picos de difração de Bragg em posições correspondentes as estruturas zincblende e wurtzita. Esse resultado está em excelente acordo com as bandas de luminescência dos níveis de defeitos profundos na estrutura wurtzita, as quais podem ser melhor visualizadas no espectro PL ([Figura III. 7](#)). Resultados similares de padrões de DRX foram reportados para nanocristais de CdSe sintetizados por metodologia organometálica (LU et al., 2007) e solução aquosa (SINGHA et al., 2005).

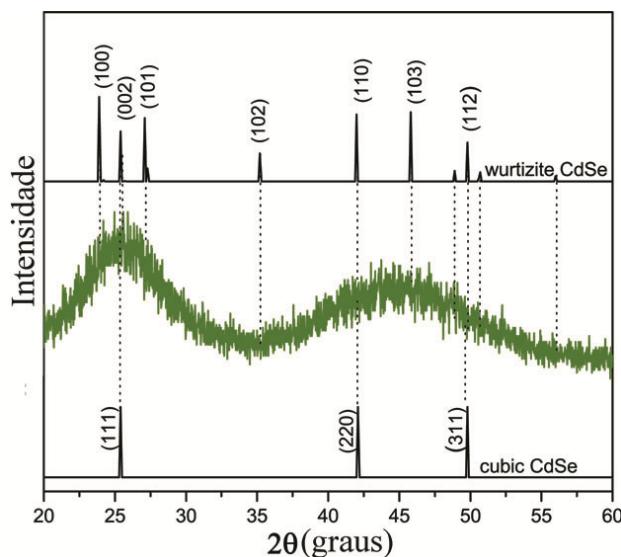


Figura III. 9 Padrões de DRX a temperatura ambiente dos MSPQs de CdSe após 6 meses. Os padrões do CdSe na fase wurtzita (acima) e zincblende (inferior).

A fim de avaliar o efeito dos pontos quânticos nas células HeLa, utilizou-se a microscopia de fluorescência. A [Figura III. 10](#) mostra a morfologia das células HeLa (**A**) incubadas com MSPQs de CdSe (**B**) e Etoposide (**C**). A citotoxicidade aguda nas células HeLa foi observada apenas após o tratamento com Etoposide (200 μ M). As células HeLa incubadas ou não com os MSPQs de CdSe, e observadas na microscopia de contraste de fase, são finas e alongadas, distribuídas homogeneamente ao longo da cultura e não apresentaram sinais de citotoxicidade. Os resultados na literatura dão indícios de que a citotoxicidade dos PQs estava correlacionada com a quantidade de Cd^{+2} liberados da superfície do núcleo de CdSe, induzindo a formação de espécie reativa de oxigênio, o que conduz a múltiplos danos em organelas e morte celular. Mesmo que o cádmio seja precursor dos MSPQs de CdSe, provavelmente, os íons de cádmio liberados a partir da superfície parecem não ser suficientes para causar efeitos danosos às células HeLa. Além disso, esses MSPQs de CdSe tem uma liga de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ ao redor deles (ver modelo simplificado da [Figura III. 6 \(A\)](#)), que evita a libertação de íons de cádmio e faz com que sejam mais resistentes à oxidação do que os outros pontos quânticos tradicionais, que apresentam reações entre oxigênio e os Cd^{+2} . Como esperado, a incubação com Etoposide levou a várias anormalidades morfológicas, tais como redução do tamanho nuclear, encolhimento celular (células redondas) e formação de bolha na superfície das células, o que indicou a apoptose terminal ([Figura III. 10 \(C\)](#)).

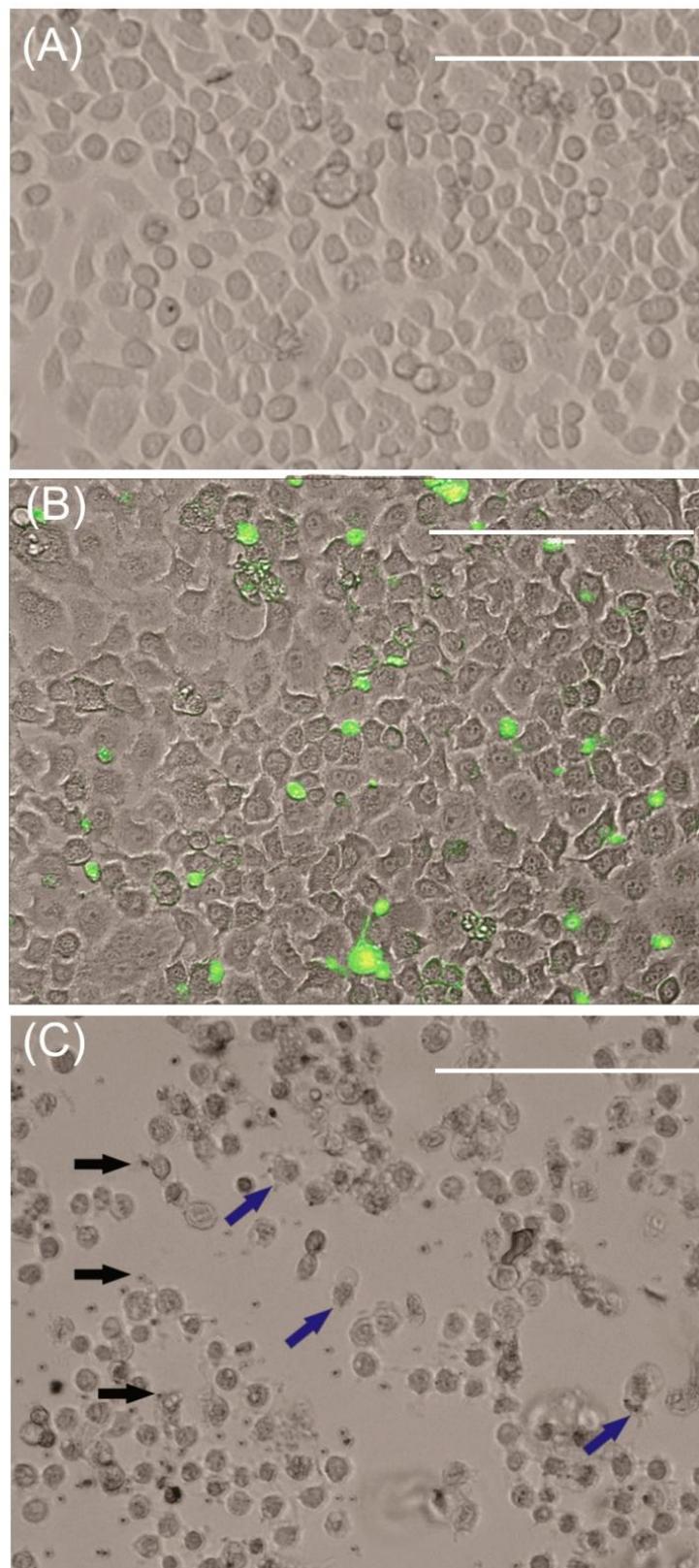
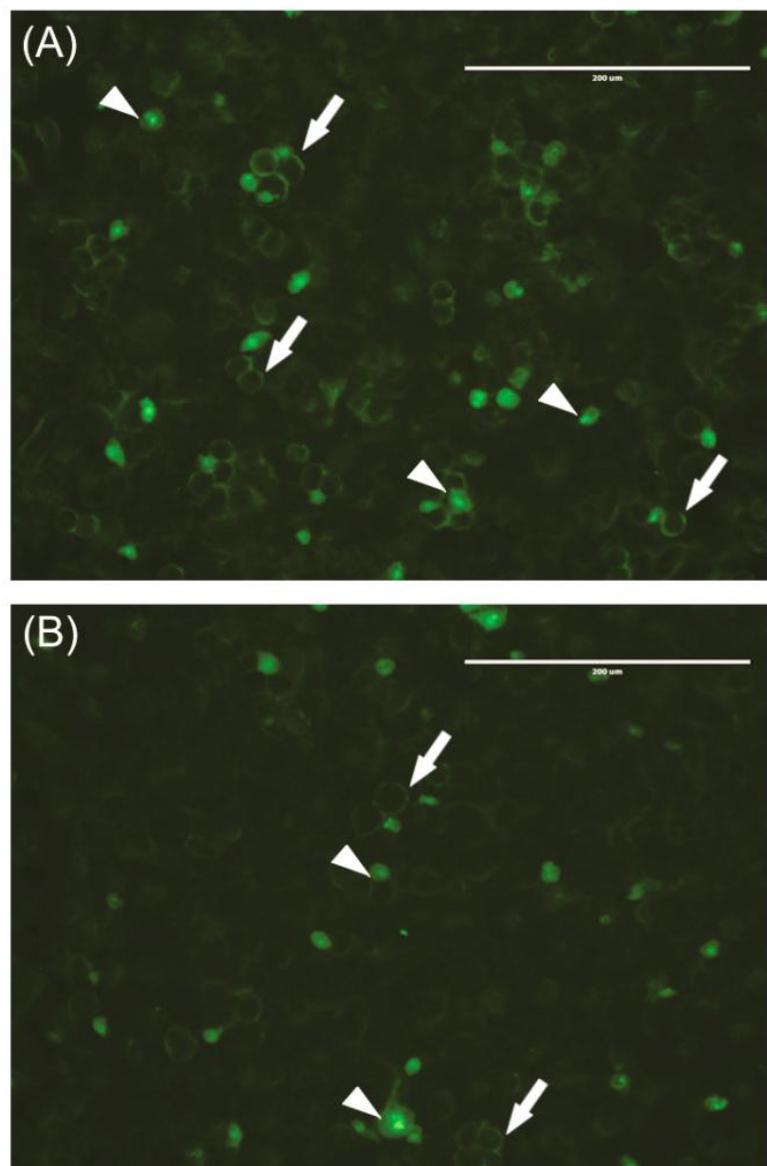


Figura III. 10 Caracterização morfológica usando microscopia de contraste de fase das células HeLa (**(A)** sem nada incubado e **(B)** incubado com os MSPQs de CdSe. Irregularidade na forma e descolamento celular (células redondas), **(C)** em células tratadas de Etoposide como controle positivo de citotoxicidade. Setas pretas indicam a formação de bolhas na superfície das células resultantes do processo de morte final. As setas azuis indicam a ruptura das células da membrana. Barra de Escala = 200 μ m.

As imagens de microscopia das células HeLa marcadas com os MSPQs de CdSe foram adquiridas após 24 h e 36 h de incubação, como mostrado na [Figura III. 11](#). Uma das grandes metas tecnológicas em relação aos PQs é melhorar a sua ligação com as superfícies celulares, facilitando a captação intracelular e retenção. Nesse estudo, nas imagens de microscopia de fluorescência se observou que os MSPQs de CdSe estão na superfície das células e nos compartimentos intracelulares, conforme mostrado na [Figura III. 11](#), observou-se, também, uma linha de fluorescência verde que indica a ligação de MSPQs de CdSe sobre a superfície das células. Além disso, a fluorescência difusa indicou a presença de MSPQs de CdSe nos compartimentos intracelulares das células.



[Figura III. 11](#) Imagens de fluorescência (A) após 24 h de incubação com 0.05 μM of MSPQs de CdSe. (B) Após 36 h, a fluorescência ainda é visível. As setas brancas indicam MSPQs interagindo com a membrana celular. Cabeça de setas indicam os MSPQs de CdSe no interior das células. Barra de Escala = 200 μm .

A presença dos MSPQs de CdSe na superfície das células e no espaço intracelular ocorreram, provavelmente, devido às interações com glicoproteínas e glicolipídeos (ONG, 2007). É interessante observar que MSPQs de CdSe permaneceram dentro das células e são, aparentemente, resistentes à degradação metabólica das células HeLa. Isso foi confirmado por meio de fluorescência de longo tempo, observada após 36 h de incubação ([Figura III. 11 \(B\)](#)). Portanto, pode afirmar que MSQDs são mais estáveis em função do tempo de sondas fluorescentes orgânicas. Observou-se que os MSPQs de CdSe estavam espalhados por todo o citoplasma, após incubação com células HeLa por 36 h, o que confirma a sua resistência à fotodegradação ([Figura III. 11 \(B\)](#)). Portanto, MSPQs de CdSe, sintetizados pela metodologia proposta nesse estudo, apresentam luminescência mais estável em meios biológicos, do que os tradicionais pontos quânticos. Isso prova que o MSPQs de CdSe podem ser utilizados para sondas fotoestáveis, o que estimula a diversos pesquisadores a utilizarem estes MSPQs de CdSe nos estudos biológicos .

Em conclusão, foram sintetizados MSPQs de CdSe diretamente em solução aquosa, biocompatíveis e com luminescência altamente estável mesmo após 36 h. Os espectros de AO e as imagens de AFM confirmaram o crescimento dos MSPQs de CdSe de 1.6 nm e com alta estabilidade do tamanho em função do tempo. Os espectros de PL e FL confirmaram o amplo intervalo de luminescência dos MSPQs de CdSe e a presença de níveis de defeitos profundos característicos de divacâncias na estrutura wurtzita, a presença dessa estrutura foi confirmada nos resultados de DRX. A liga interfacial de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ ao redor dos MSPQs de CdSe previu a liberação de íons de cádmio e os tornou mais resistentes a oxidação, que foi confirmado pela ausência de mudanças morfológicas nas imagens de microscopia. Assim, esse trabalho demonstrou que os MSPQs de CdSe são excelentes para acompanhar processos de migração de células tumorais em vivo.

III.3 Modulação da Espessura da Casca em Pontos Quânticos de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS Ultrapequenos via 1-Tioglycerol

(ACS Nano, v. 8, p. 1913-1922, 2014)

Nesse estudo reportou-se a síntese de pontos quânticos ultrapequenos (USPQs) de CdSe/CdS utilizando uma metodologia via solução aquosa. Na metodologia proposta utilizou o aumento da concentração de 1-tioglycerol para o crescimento da casca de CdS ao redor de USPQs de CdSe de maneira controlável. Observou-se que baixas concentrações de 1-tioglycerol (3 mmol) limitou o crescimento dos USPQs de CdSe enquanto que concentrações maiores (5 a 11 mmol) de 1-thioglicerol promoveram o crescimento da casca de CdS ao redor de USPQs de CdSe de maneira controlável, variando de 0.50 a 1.25 nm. O crescimento dos USPQs de CdSe foram confirmados através de diferentes técnicas, tais como, espectroscopia de absorção óptica (AO), fluorescência (FL), difração de raios-X (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e espectroscopia Raman (RS). Os espectros de AO foram utilizados para obter os valores médios do diametro do núcleo, e a espectroscopia Raman foi usada para avaliar os valores médios tanto do tamanho do núcleo quanto da espessura da casca de CdS.

A Figura III. 12 mostra os espectros de AO e FL de nanocristais de CdSe com concentração crescente de 1-tioglycerol. Em todos os espectros de AO as bandas excitônicas possuem energias maiores comparadas ao CdSe *bulk* (1.74 eV). Isso indica que todos os nanocristais de CdSe apresentam efeitos de confinamento quântico (NEELESHWAR et al., 2005). Em adição, as energias dessas bandas de AO estão localizadas no intervalo de pontos quânticos ultra pequenos (USPQs). A amostra CdSe:1T apresentou uma banda de AO deslocada para o vermelho em relação as outras amostras. Isso está relacionado com a baixa concentração de estabilizante utilizada que gerou um revestimento incompleto na superfície, o que facilitou o rápido crescimento dos PQs. Os espectros de FL da amostra CdSe:1T mostrou uma banda de fluorescência associada a transição excitônica localizada em 535 nm (2.31 eV) e duas adicionais em 577 e 604 nm, sendo essas duas últimas atribuídas aos defeitos de superfície, causados pelo revestimento incompleto da superfície dos USPQs de CdSe (WUISTER; MEIJERINK, 2003). Para uma concentração um pouco maior (3 mmol - amostra CdSe:3T) de 1-tioglycerol no processo de síntese, a banda excitônica de AO encontrou-se em comprimentos de onda menor do que a amostra CdSe:1T. Isso ocorreu devido uma concentração maior de 1-tioglycerol protege a superfície dos nanocristais de forma mais

eficiente, o que dificultou o crescimento PQs e resultou em nanocristais menores, apresentando menores densidades de níveis de defeitos (WUISTER; MEIJERINK, 2003). No entanto, observou-se um leve deslocamento para o vermelho, da banda de AO, para amostras com concentrações de 1-tioglycerol superior a 3 mmol, o que se opõe à limitação do crescimento dos PQs causado pelo estabilizante (PAL et al., 2012; UNNI; PHILIP; GOPCHANDRAN, 2008; WUISTER; MEIJERINK, 2003).

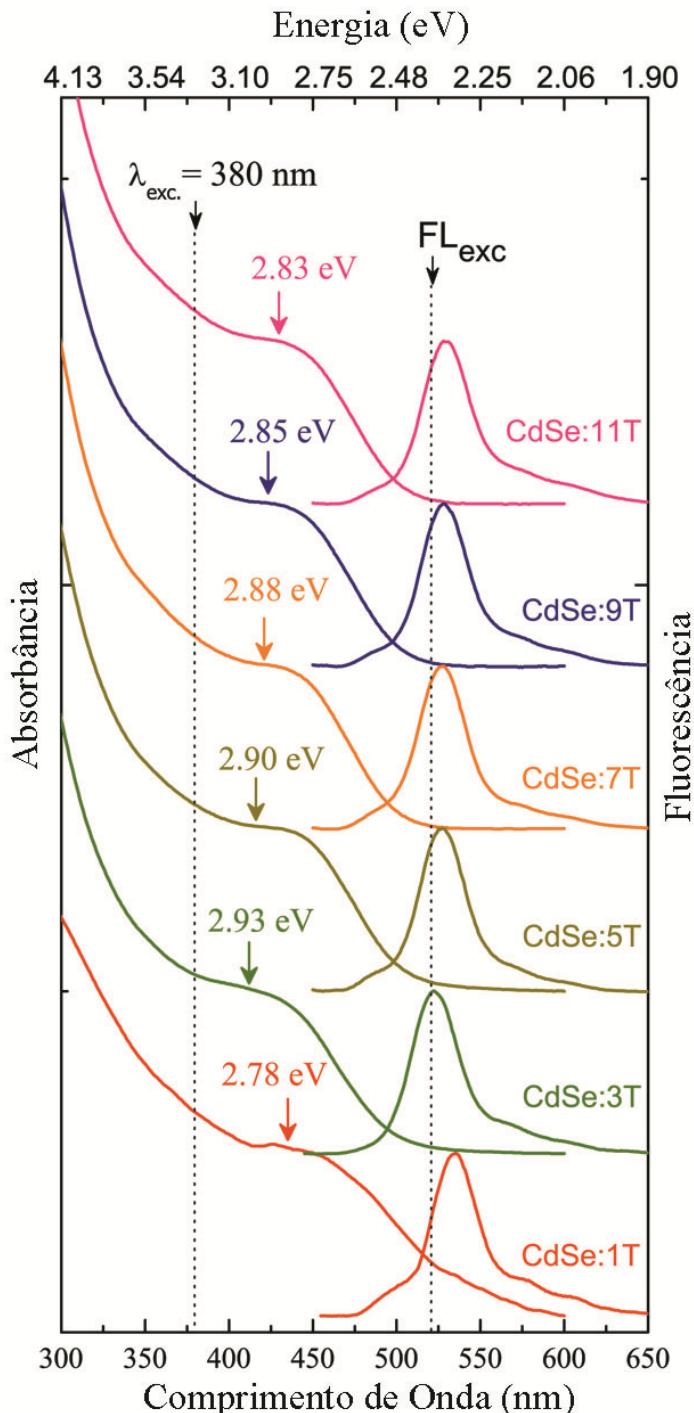


Figura III. 12 Espectros de AO e FL normalizado dos USPQs de CdSe com concentração crescente de 1-tioglycerol.

O deslocamento para o vermelho provou evidências do crescimento de estruturas núcleo-casca, (REISS; PROTIÈRE; LI, 2009) que estão associadas com o alto grau de mistura entre os orbitais moleculares desocupados mais baixos (LUMOS) do núcleo e da casca (modelo molecular-orbital) ou a perda dos efeitos de confinamento quântico (modelo da partícula em uma caixa) (PENG et al., 1997). Essas evidências da formação da estrutura núcleo-casca foram também reforçadas pelos espectros de FL. Notou-se que quando a concentração de 1-tioglycerol aumentou a emissão excitônica foi deslocada para o vermelho, com o aumento da espessura da casca de CdS, que reduziu-se o efeito de confinamento quântico. Nesse estudo foi observado que devido o ponto quântico ser bem pequeno o aumento da concentração de estabilizante promoveu além do revestimento da superfície uma casca de CdS. O tamanho médio dos USPQs foi calculado utilizando a equação empírica ([equação \(II.2.49\)](#)), resultando em 1,9 nm para a amostra CdSe:1T e 1,7 nm para a amostra CdSe:3T.

A [Figura III. 13](#) mostra os espectros de fluorescência dos USPQs de CdSe com o aumento da concentração de 1-tioglycerol. O inseto mostra a intensidade da fluorescência em função da concentração de 1-tioglycerol. Com o aumento da concentração de 1 para 3 mmol o revestimento da superfície melhorou, reduzindo ligações incompletas e níveis de defeitos, intensificando assim a fluorescência excitônica (PAL et al., 2012; WUISTER; MEIJERINK, 2003). Além disso, a emissão excitônica da amostra CdSe:3T deslocou-se para o azul em relação a amostra CdSe:1T, devido ao menor tamanho dos USPQs, como confirmado nos espectros de AO ([Figura III. 12](#)). A intensidade da emissão excitônica foi maior para as amostras produzidas com 5 e 7 mmol de 1-tioglycerol em comparação com a amostra com 1 mmol. Esse aumento da intensidade da emissão excitônica é associado com a formação da casca de CdS, a qual foi suportado pelo leve deslocamento para o vermelho das bandas de fluorescência das amostras CdSe:5T e CdSe:7T, em relação a amostra CdSe:3T, além dos deslocamentos das bandas de AO para o vermelho, mostrado na [Figura III. 12](#) (REISS; PROTIÈRE; LI, 2009). A intensidade de fluorescência excitônica apresentou o maior valor em 7 mmol de 1-tioglycerol, diminuindo para concentrações maiores de 1-tioglycerol (ver inseto da [Figura III. 13](#)). A redução da intensidade da fluorescência devido ao aumento da concentração de estabilizante no PQ, descrito na literatura (MURASE; GAPONIK; WELLER, 2007; WINTER et al., 2005), ocorreu devido ao aumento da interação entre as moléculas do estabilizante com a superfície do PQ, aumentando assim a probabilidade de recombinações não radiativas (LU et al., 2007).

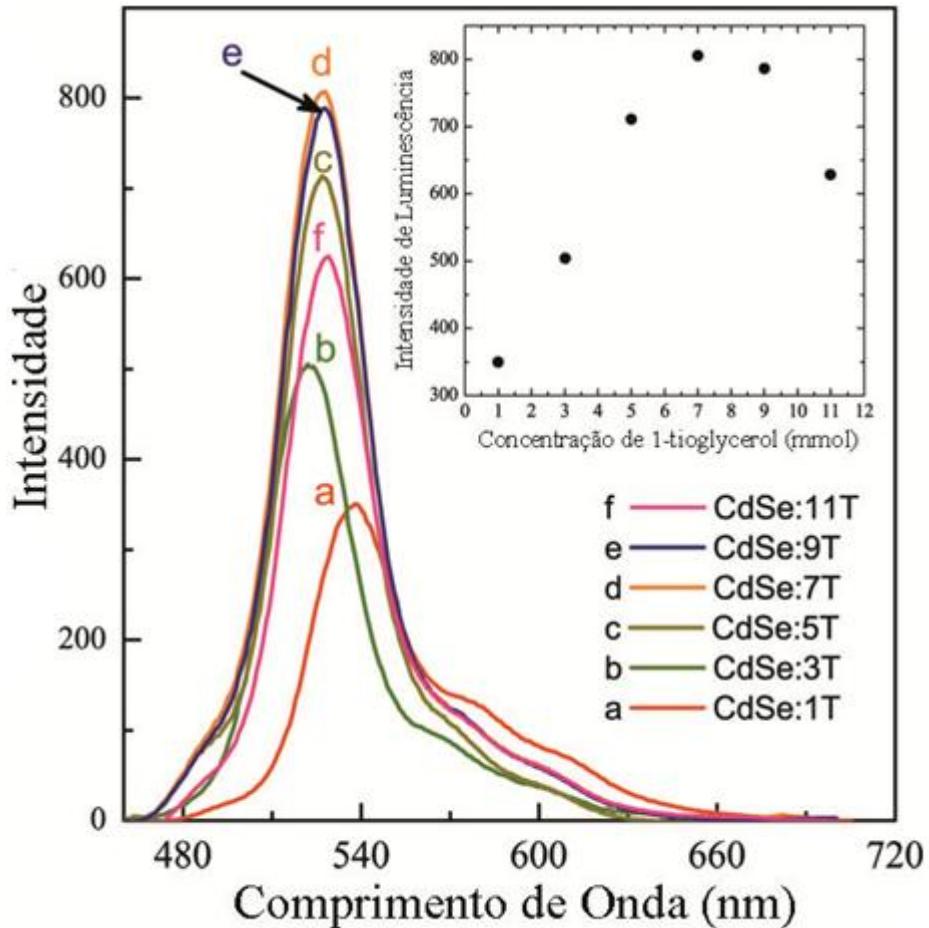


Figura III. 13 Espectros de fluorescência de USPQs de CdSe com o aumento da concentração de 1-tioglycerol. O inseto mostra a intensidade da fluorescência como função da concentração de 1-tioglycerol.

Os padrões de difração de raios-X (DRX) dos USPQs de CdSe com diferentes concentrações de 1-tioglycerol são mostrados na [Figura III. 14](#). Os padrões obtidos foram comparados com os valores dos cartões padrões dos seguintes calcogenetos de cádmio: (i) CdSe (zincblende JCPDS no. 19-0191; wurtzita JCPDS no. 77-2307) e (ii) CdS (zincblende JCPDS no. 42-1411; wurtzita ICSD no. 620319). As largas bandas nos difratogramas indicam que o tamanho dos nanocristais é extremamente pequeno (PAN et al., 2005; TALAPIN et al., 2001). Além disso, os USPQs apresentaram uma fração de fase mista ao analisar o pico (1 0 3), que é atribuído a estrutura wurtzita do CdSe, o que confirmou a fase dominante (HAN; SHENG; LIANG, 2006; SINGHA et al., 2005). As bandas dos difratogramas das outras amostras em comparação com a amostra CdSe:1T estão levemente deslocados para maiores ângulos, em sentido aos valores do CdS *bulk* com o aumento da concentração de 1-tioglycerol. Esse deslocamento corresponde a formação de uma liga de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ ou nanocristais núcleo/casca de CdSe/CdS (Mekis, Talapin, Kornowski, Haase, & Weller, 2003;

Peng, Schlamp, Kadavanich, & Alivisatos, 1997). A formação da liga $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ deve causar um deslocamento para o azul dos espectros de AO e FL devido ao aumento do bandgap de energia da liga em comparação ao bandgap do CdSe puro (STRECKERT; ELLIS, 1982). Esse efeito foi observado na amostra CdSe:3T, confirmando que esta concentração não só melhorou a proteção da superfície como também formou uma liga de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$ ao redor dos USPQs de CdSe.

O deslocamento para o vermelho nos espectros de AO e FL ([Figura III. 12](#)) nas amostras CdSe:5T, CdSe:7T, CdSe:9T e CdSe:11T deram forte evidencia da formação de CdSe/CdS núcleo/casca. Portanto, os dados de DRX em combinação com os espectros de AO e FL apresentaram fortes evidencias da formação da casca de CdS ao redor dos USPQs de CdSe. Além disso, o leve deslocamento das bandas de DRX para maiores ângulos confirmaram que a estrutura CdS wurtzita era a fase dominante ([Figura III. 14](#)). Esse resultado foi fortemente suportado pela maior intensidade do pico de difração (1 0 1) na amostra CdSe:11T quando comparado com a amostra CdSe:1T, devido ter apresentado a maior casca de CdS nos USPQs de CdSe. O crescimento e a espessura da casca de CdS foram avaliados utilizando componentes do tipo gaussiana para ajustar as bandas de DRX, uma correspondente ao CdSe com picos (1 0 0), (0 0 2) e (1 0 1) para a estrutura wurtzita, e (1 1 1) para a estrutura zinblend, uma outra correspondente ao CdS com picos (1 0 0), (0 0 2) e (1 0 1) para a estrutura wurtzita e (1 1 1) para a estrutura zinblend. Esses ajustes ([Tabela III. 4](#)) forneceram informações sobre o crescimento e a espessura da casca de CdS com o aumento da concentração de 1-tioglycerol, e levou a um aumento na intensidade do pico de DRX do CdS e redução da FWHM, uma vez que todos os outros parâmetros do DRX do CdSe foram mantidos fixos. Além disso, o leve deslocamento das bandas de DRX para maiores ângulos confirmaram que a fase wurtzita do CdS era dominante (veja as setas na [Figura III. 14](#)). Essa afirmação foi fortemente suportada pela maior intensidade do pico de difração hexagonal (1 0 1) observado na amostra CdSe:11T em comparação com CdSe:1T e pode ser atribuída à maior espessura da casca de CdS encontrada nos USPQs de CdSe.

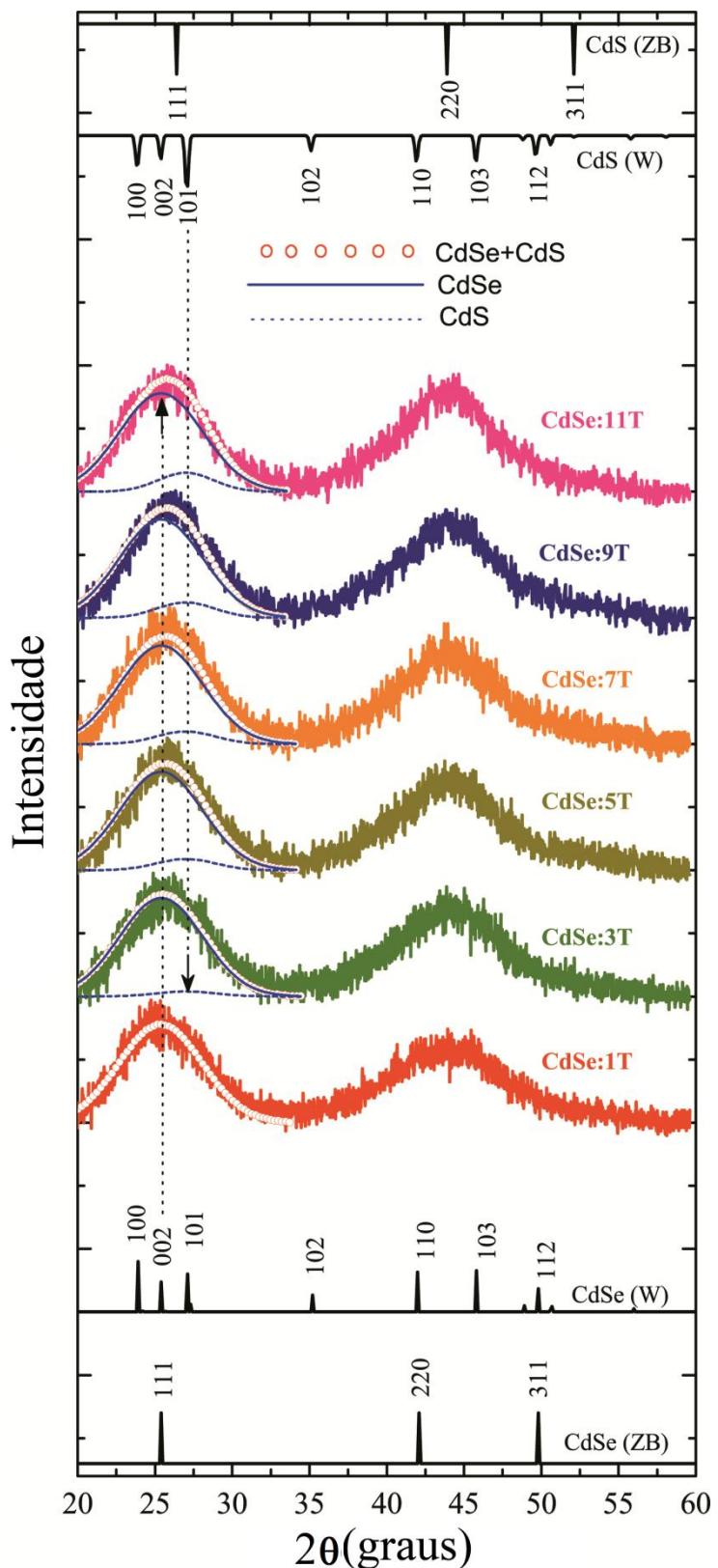


Figura III. 14 Padrões de DRX dos USPQs de CdSe com concentrações crescentes de 1-tioglycerol. Os cartões padrões das fases de zincblende e wurtzita do CdS (superior) e CdSe (inferior) foram colocados para comparação. Os ajustes de cada banda de DRX em torno de $20-35^\circ$ foram representados pelas linhas brancas pontilhadas, e as linhas azuis sólidas e pontilhadas correspondiam às bandas de DRX do CdSe e CdS, respectivamente.

Tabela III. 4 Parâmetros obtidos a partir do ajuste dos dados de DRX dos USPQs de CdSe com o aumento da concentração de 1-tioglycerol.

Amostra	CdSe-núcleo			CdS-casca		
	$x_{0(1)}$	$\Gamma_{(1)}$	$A_{(1)}$	$x_{0(2)}$	$\Gamma_{(2)}$	$A_{(2)}$
CdSe:1T	25.4	2.7	0.78	---	---	---
CdSe:3T	25.4	2.7	0.78	27	1.98	0.03
CdSe:5T	25.4	2.7	0.78	27	1.92	0.08
CdSe:7T	25.4	2.7	0.78	27	1.89	0.10
CdSe:9T	25.4	2.7	0.78	27	1.86	0.12
CdSe:11T	25.4	2.7	0.78	27	1.80	0.15

$x_{0(1)}$ e $x_{0(2)}$ representam as posições dos picos das bandas; $\Gamma_{(1)}$ e $\Gamma_{(2)}$ são as FWHM; e $A_{(1)}$ mais $A_{(2)}$ as intensidades das bandas.

Os espectros de FT-IR dos USPQs de CdSe com diferentes concentrações de 1-tioglycerol mais o CdS bulk são mostrados na Figura III. 15. Uma ampla banda no intervalo de 3423-3292 cm⁻¹ foi observada para todas as amostras contendo CdSe, a qual é associada aos grupos OH, além da adsorção de água na amostra. Entretanto, observou-se um deslocamento desta banda para as amostras de USPQs de CdSe, confirmando a presença dos grupos OH do 1-tioglycerol (Aldrich FTIR catálogo, no. M560-7) (ARTEMYEV et al., 2000). Assim, os espectros de FT-IR confirmaram que os grupos OH permaneceram intactos na superfície das amostras USPQs. O espectro do 1-tioglycerol puro mostra picos em 867 e 2600 cm⁻¹, os quais são dos modos de flexão e alongamento da ligação S-H, respectivamente (KIM et al., 2003). Adicionalmente, o espectro do 1-tioglycerol apresentou uma banda em 2850 cm⁻¹, correspondente a ligação CH₂-S (KOMADA et al., 2012; SOCRATES, 1980). Entretanto, nos espectros das amostras de USPQs de CdSe não encontrou-se o pico em 2600 cm⁻¹ e observou-se uma diminuição na intensidade da banda 2914 cm⁻¹. Essas observações confirmaram que ocorreu ligação covalente entre os íons de S (do tiol do 1-tioglycerol) e os íons de Cd²⁺ adsorvidos na superfície dos PQs, formando assim a casca de CdS ao redor dos USPQs de CdSe, que é confirmado também pela presença do modo do CdS em comparação ao CdS *bulk*. Isso está em excelente acordo com os resultados obtidos nos espectros de AO, FL e DRX, mostrando que o crescimento da casca de CdS em nanocristais de CdSe extremamente pequenos pode ser controlado via concentração de 1-tioglycerol, formando USPQs de CdSe/CdS.

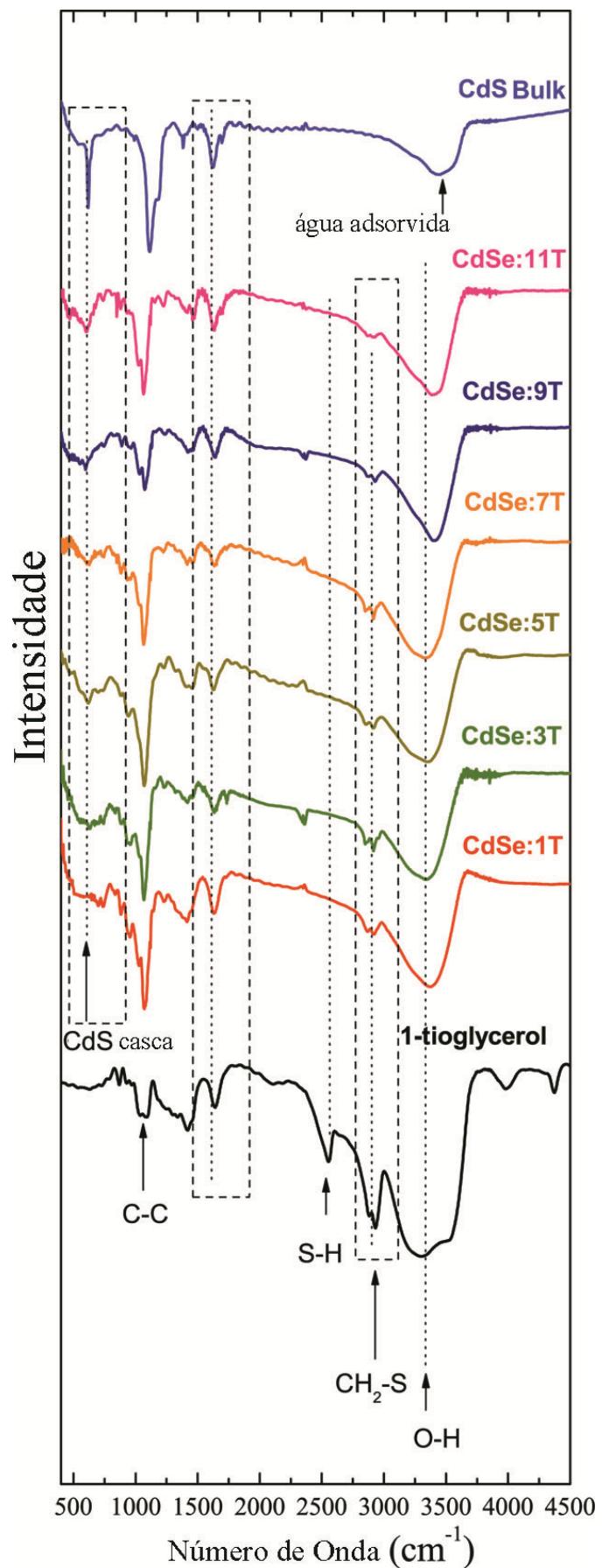


Figura III. 15 Espectros de FT-IR do 1-thioglycerol, das amostras de USPQs de CdSe e CdS bulk.

A fim de confirmar a evidência da formação e crescimento da casca de CdS ao redor dos USPQs de CdSe com o aumento da concentração de 1-tioglycerol, foi utilizada a espectroscopia Raman. Os espectros Raman das amostras de USPQs de CdSe com concentração crescente de 1-tioglycerol são mostrados na [Figura III. 16](#). Para descrever os espectros Raman e para calcular o tamanho do núcleo de CdSe e espessura da casca de CdS foi utilizado o modelo modificado de confinamento de fônon proposto nessa tese. Os dados apresentados na [Figura III. 16](#) mostraram excelente acordo entre os resultados experimentais (símbolos abertos) com as curvas de ajuste (linhas sólidas). As [Figura III. 16 \(a\)](#) e [\(b\)](#) mostram os espectros das amostras CdSe:1T e CdSe:3T, respectivamente, nos quais os modos LO (ω_{LO1}) e SO (ω_{SO1}) do CdSe foram observados. A intensidade do espectro Raman é ajustada como $I(\omega) = I_{LO}^{(1)}(\omega) + I_{SO}^{(1)}(\omega)$, em que a intensidade do modo LO é descrita pela [equação \(II.2.36\)](#), assim como o modo SO pela [equação \(II.2.37\)](#). Os coeficientes de Fourier são dados por $|C_{(i)}(0, \mathbf{q})|^2 \approx \exp(-q_{(i)}^2 \sigma_{(i)}^2)$, para o núcleo. Além disso, a dispersão de fônon é $\omega_{(1)}(\mathbf{q}) = \omega_{0(1)} - \Delta\omega_{(1)} q_{(1)}^2$ onde $\omega_{0(1)}$ a freqüência do fônon LO no ponto Γ ($\mathbf{q} = 0$) e Γ_{LO1} a largura a meia altura do fônon óptico do centro da zona. O vetor de onda $\mathbf{q}_{(1)}$ foi representado em unidades de $2\pi/\bar{a}_{(1)}$, isto é, $q_{(i)} \equiv [q_{(i)}/(2\pi/\bar{a})]$ com parâmetro de rede médio dado por Singha *et al.* (2005), como $\bar{a}_{(1)} = 0,608$ nm para CdSe (SINGHA *et al.*, 2005). Como a dispersão de fônon não é periódica, realizou-se a integração na primeira zona de Brillouin.

Na [Figura III. 16 \(a\)](#) observa-se que o ombro de alta freqüência (HFS) esperado em nanocristais esféricos (CAMPBELL; FAUCHET, 1986; COMAS; TRALLERO-GINER, 2003; RICHTER; WANG; LEY, 1981), não foi observado, confirmando que pela metodologia proposta nessa pesquisa, a concentração de 1 mmol (amostra CdSe:1T) permitiu a eliminação parcial dos níveis de defeitos de superfície com a formação da liga CdS_xSe_{1-x} ao redor dos USPQs de CdSe. A confirmação da liga foi suportada pela mudança na largura de banda relacionada ao ramo LO com relação ao CdSe *bulk*. Na [Figura III. 16 \(b\)](#) (amostra CdSe:3T) ambos os modos vibracionais LO e SO estão deslocados para menores freqüências em relação a amostra CdSe:1T ([Figura III. 16 \(a\)](#)). Isto evidencia que o tamanho médio dos USPQs de CdSe tem tamanhos menores na amostra CdSe:3T em comparação com a amostra CdSe:1T. Este resultado foi também confirmado a partir dos dados de AO e FL ([Figura III. 12](#)) mais o cálculo do tamanho dos USPQs de CdSe a partir do modelo modificado proposto nesse estudo.

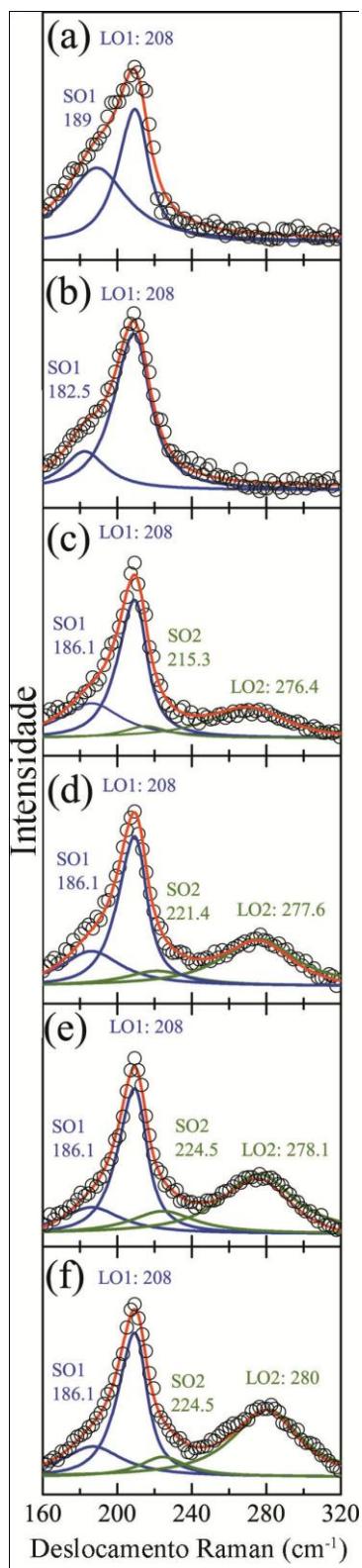


Figura III. 16 Espectros Raman a temperatura ambiente (círculos) dos USPQs de CdSe sintetizados com concentrações crescentes de 1-tioglycerol (a) CdSe:1T; (b) CdSe:3T; (c) CdSe:5T; (d) CdSe:7T; (e) CdSe:9T; (f) CdSe:11T. A freqüência de cada modo vibracional (SO1, LO1, SO2, ou LO2) é indicada por números. O ajuste do espectro Raman é mostrado pela linha sólida vermelha, com as subcomponentes nomeadas como: linha azul vibrações do núcleo, linha verde vibrações da casca.

As Figura III. 16 (c)-(f) mostram os espectros Raman dos USPQs de CdSe/CdS. Além do pico Raman (ω_{LO1}) em $\approx 208 \text{ cm}^{-1}$, observou-se um pico adicional (ω_{LO2}) em $\approx 276.4 \text{ cm}^{-1}$ para a amostra CdSe:5T (Figura III. 16 (c)); em $\approx 277.6 \text{ cm}^{-1}$ para a amostra CdSe:7T (Figura III. 16 (d)); em $\approx 278.1 \text{ cm}^{-1}$ para a amostra CdSe:9T (Figura III. 16 (e)); e em $\approx 280 \text{ cm}^{-1}$ para a amostra CdSe:11T (Figura III. 16 (f)), confirmando a formação da casca de CdS ao redor dos USPQs de CdSe. Para descrever esses espectros a intensidade do espectro Raman foi ajustada utilizando $I(\omega) = I_{LO}^{(1)}(\omega) + I_{SO}^{(1)}(\omega) + I_{LO}^{(2)}(\omega) + I_{SO}^{(2)}(\omega)$, sendo os coeficientes de Fourier para a casca são descritos pela equação (II.2.42). Além disso, o parâmetro de rede da estrutura wurtzita para a casca de CdS é dada por $\bar{a}_{(2)} = 0.582 \text{ nm}$. É importante notar que nas Figura III. 16 (c) - (f), a freqüência do fônon ω_{LO1} associada ao núcleo de CdSe não sofreu nenhum alteração com o crescimento da casca, demonstrando que qualquer efeito de *strain* envolvido nos USPQs de CdSe/CdS pode ser negligenciado. Isso é justificado pela presença da fase wurtzita, sendo que a intensidade da incompatibilidade de rede entre o CdSe do núcleo e o CdS da casca não pode ser detectada nas medidas Raman (LU et al., 2007; SINGHA et al., 2005).

A presença da fase wurtzita também foi confirmada nos difratogramas de raios-X (Figura III. 14). Assim, na Tabela III. 5, observou-se um deslocamento para o azul da freqüência ω_{LO2} devido ao enfraquecimento do confinamento de fônon LO na casca, causado pelo aumento na sua espessura. Esse resultado foi suportado pelo fato que concentrações de 1-tioglycerol maiores que 5 mmol, ocorre a formação da casca de CdS. Além disso, não se observou nenhuma mudança nos parâmetros $\omega_{0(1)}$ e Γ_{LO1} do núcleo e da casca ($\omega_{0(2)}$ e $\Delta\omega_{(2)}$), relacionados a liga interfacial de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$. Na seção III.1., reportou-se a síntese de MSPQs de CdSe/CdS e verificou-se que os efeitos da liga são muito maiores do que neste trabalho. Assim, baseado nesses resultados, confirma-se que tanto o aumento no tamanho dos pontos quânticos quanto à metodologia de síntese podem diminuir a influência da liga interfacial nas dispersões de fônon do núcleo e da casca. Outra característica importante é que o pH básico utilizado durante a síntese que favorece a anexação do 1-tioglycerol (formando uma liga a 1 mmol), e com o aumento da concentração de estabilizante a casca de CdS é mais homogênia (evidenciado pela diminuição de Γ_{LO2}). A redução da freqüência de fônon ω_{SO1} da amostra CdSe:1T para a amostra CdSe:3T ocorreu devido a redução do tamanho dos nanocristais. O aumento no tamanho do nanocristal levou a um deslocamento para o azul dos modos LO e SO

devido a redução do tamanho do nanocristal (CAMPBELL; FAUCHET, 1986). Entretanto, o aumento da freqüência de fônon ω_{SO1} da amostra CdSe:3T para a amostra CdSe:5T e a sua permanência para as outras amostras ocorreu devido a configuração de adsorção do ligante ser mais complicado do que simplesmente uma constante dielétrica (DZHAGAN et al., 2007). Finalmente, o deslocamento da freqüência de fônon ω_{SO2} é explicado pela abordagem do dielétrico contínuo (Comas & Trallero-Giner, 2003). Assim, nesse presente estudo provou-se as evidências do controle da casca de CdS ao redor de USPQs de CdSe utilizando uma nova metodologia.

Tabela III. 5 Parâmetros (todos em cm^{-1}) obtidos a partir dos ajustes dos espectros Raman dos USPQs de CdSe com concentração crescente de 1-tioglycerol.

Amostra	CdSe-núcleo						CdS-casca					
	$\omega_{0(1)}$	$\Delta\omega_{(1)}$	ω_{LO1}	Γ_{LO1}	ω_{SO1}	Γ_{SO1}	$\omega_{0(2)}$	$\Delta\omega_{(2)}$	ω_{LO2}	Γ_{LO2}	ω_{SO2}	Γ_{SO2}
CdSe:1T	214	69	209	15	189	20	###	###	###	###	###	###
CdSe:3T	214	60	208	18	182,5	14,1	###	###	###	###	###	###
CdSe:5T	214	60	208	18	186,1	19,5	282	60	276,4	47,5	215,3	17,9
CdSe:7T	214	60	208	18	186,1	19,5	282	60	277,6	44	221,4	21,3
CdSe:9T	214	60	208	18	186,1	19,5	282	60	278,1	43	224,5	20,7
CdSe:11T	214	60	208	18	186,1	19,5	282	60	280	40	224,7	19,5

ω_0 é a freqüência do fônon LO no ponto $\Gamma(\mathbf{q} = 0)$ enquanto que Γ_{LO1} e Γ_{LO2} são as FWHM para o CdSe e CdS, respectivamente.

Os valores médios calculados associados com os diâmetros do núcleo e as espessuras de casca são apresentados na **Tabela III. 6**. Os valores calculados (1,81 nm (CdSe: 1T) e 1,59 nm (CdSe: 3T até CdSe: 11T)) apresentados foram obtidos a partir dos procedimentos de ajuste usando o modelo de confinamento de fônons proposto nessa pesquisa nos espectros de Raman das amostras de USQD CdSe com o aumento da concentração de 1-tioglycerol. Estes valores estão associados com o parâmetro σ normalizado, sendo $\sigma = d/\sqrt{20}$ para o núcleo (d = tamanho do núcleo de CdSe normalizado) e $\sigma = t/\sqrt{20}$ para a casca (t = CdS espessura de casca normalizada), veja as [equações \(II.2.43\) e \(II.2.45\)](#). Adicionalmente, foram comparados esses valores calculados com os obtidos para o tamanho do núcleo utilizando a equação empírica ([equação \(II.2.50\)](#)) a partir dos espectros de AO. Os diâmetros médios obtidos pelos espectros de AO estão em excelente acordo com os valores

obtidos pelos ajustes nos espectros Raman utilizando o modelo de confinamento de fônons proposto nessa pesquisa. As leves diferenças observadas entre os dois procedimentos de cálculos são atribuídas à incerteza na posição de máximo da banda de AO devido à ampla largura de linha. Além disso, é interessante comentar que o valor obtido para o tamanho do núcleo de CdSe obtido com base no modelo não leva em conta a espessura da liga de $\text{CdS}_x\text{Se}_{1-x}$.

Tabela III. 6 Dimensões médias (todas em nm) do núcleo do USPQs de CdSe e a espessura da casca de CdS calculados com base nos resultados de Raman e AO.

Amostra	Tamanhos do núcleo de CdSe		Espessura da casca de CdS
	Raman	OA	Raman
CdSe:1T	1.81	1.90	###
CdSe:3T	1.59	1.70	###
CdSe:5T	1.59	###	0.50
CdSe:7T	1.59	###	0.83
CdSe:9T	1.59	###	1.04
CdSe:11T	1.59	###	1.25

Em conclusão, nesse estudo reportou a síntese, com sucesso, de USPQs de CdSe contendo diferentes espessuras de cascas de CdS controlável em função da concentração de 1-tioglycerol. Observou-se que baixas concentrações de 1-tioglycerol (3 mmol) limitaram o crescimento e concentrações maiores (5 a 11 mmol), promoveram o crescimento da casca de CdS ao redor dos USPQs de CdSe de maneira controlável de 0.5 nm a 1.25 nm. O crescimento das nanoestruturas núcleo/casca foi confirmado por diferentes técnicas tais como espectroscopia de absorção óptica, de fluorescência, infravermelho com transformada de Fourier, difração de raios-X e espectroscopia Raman. O aumento da concentração de 1-tioglycerol provocou o deslocamento para o vermelho das bandas excitônicas de AO e o deslocamento para maiores ângulos dos padrões de DRX dos USPQs. Essas observações provaram fortemente a formação de USPQs de CdSe/CdS. Os espectros de FT-IR mostraram absorções características do CdS e ausência de algumas absorções do 1-tioglycerol indicando que os íons de enxofre do tiol se ligaram covalentemente aos íons de cádmio adsorvidos na superfície dos USPQs de CdSe, formando uma casca de CdS. Além disso, os espectros Raman confirmaram o crescimento da casca de CdS com o aumento da concentração de 1-tioglycerol. O diâmetro médio dos USPQs de CdSe, bem como a espessura da casca foram calculados usando o modelo modificado de confinamento de fônons proposto nessa tese. A

metodologia de síntese apresentada nesse trabalho mostrou que a concentração de 1-tioglycerol, não apenas permitiu o controle do tamanho dos USPQs de CdSe, como também proporcionou um bom controle da espessura da casca de CdS durante o crescimento dos USPQs de CdSe/CdS. Essa metodologia foi altamente reproduzível e barata, podendo ser utilizada em diversos outros tipos de semicondutores da família II-IV. Além disso, os grupos hidroxila localizados externamente aos USPQs de CdSe/CdS permitem que as nanoestruturas sejam dispersas em meios aquosos, sendo materiais promissores em aplicações biotecnológicas.

[III.4. Pontos Quânticos de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS de Tamanhos Mágicos: Uma Nova Sonda para Marcação de Alvos Biológicos](#)

(Submetido na Advanced Functional Materials)

Nesse trabalho, sintetizou-se MSPQs núcleo/casca (CS) de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS com diâmetro de 2 nm, altamente estável, com baixa citotoxicidade, não imunogênico e com amplo intervalo de emissão (450 a 750 nm). Os MSPQs-CS foram conjugados com NTA·Ni²⁺ que se ligaram via cauda de histidina do anticorpo Fab, específico de câncer de mama, sendo utilizados para detecção *in vitro* de células linhagem de câncer de mama humano (MDA-MB-231 BC). Essa interface com sistemas biológicos provou uma ferramenta promissora para várias aplicações biológicas.

Os espectros de AO e FL das soluções coloidais, bem como a imagem de AFM são mostrados na [Figura III. 17](#). A banda de AO localizada em torno de 428 nm tem energia maior que o correspondente *bulk* do CdSe (1.74 eV), evidenciando o crescimento de nanoestruturas do tipo PQs de CdSe. O diâmetro médio dos PQs de CdSe foi calculado substituindo o comprimento de onda da banda excitônica na expressão empírica ([equação \(II.2.51\)](#)), obtendo o valor de 1,8 nm, o que sugere que os nanocristais são ultra pequenos. O espectro de fluorescência dos PQs foi relativamente largo, sendo uma característica importante dos MSPQs. Esse amplo intervalo de luminescência é de grande aplicabilidade em processos biológicos, permitindo a sua visualização em diferentes canais de detecção, variando do verde ao vermelho (veja [Figura III. 17](#)). A eficiência destes MSPQs foi de 0.49, obtida através de duas diferentes técnicas (PILLA et al., 2013). A imagem tridimensional de AFM e a distribuição de altura são mostradas acima dos espectros de AO e FL. O diâmetro foi obtido a partir da distribuição de altura da imagem de AFM, a qual era de aproximadamente 2 nm, o que confirmou o tamanho extremamente pequeno. O diâmetro médio das imagens de

AFM era relativamente maior do que o calculado utilizando a equação empírica ([equação II.2.52](#)) com base nos resultados de AO. As diferenças entre esses valores sugeriram a formação da casca de CdS, que foi confirmada nos espectros de FT-IR. Esse procedimento de síntese foi realizado com base no primeiro trabalho publicado referente a essa tese ([seção III.1](#)), a fim de obter MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS.

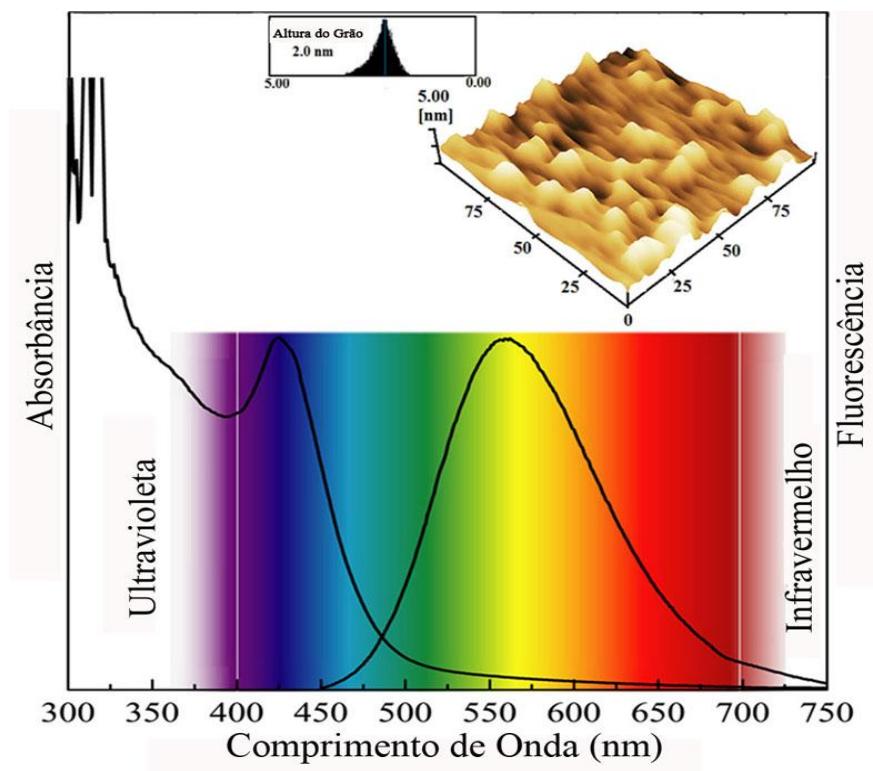


Figura III. 17 Espectros de AO e FL e imagem de AFM (inset) dos MSPQs-CS de CdSe/CdS. A região destacada do espectro eletromagnético demonstra o comprimento de onda de excitação na região do UV, e a ampla largura de banda de emissão de 450-750 nm, com maior emissão em 560 nm.

Os espectros de FT-IR dos MSPQs-CS de CdSe antes e pós bioconjugação com o anticorpo Fab são mostrados na [Figura III. 17](#). A presença dos picos em 1280 cm⁻¹, 1556 cm⁻¹, 1357 cm⁻¹ e 1713-1602 cm⁻¹ são associados a vibrações dos grupos hidroxila, antisimétrica vC=O, assimétrica vCOO⁻ e simétrica vCOO⁻, respectivamente (PEREZ-DONOSO et al., 2012). Esses picos confirmaram que os MSPQs-CS de CdSe/CdS eram funcionalizados com grupamento carboxílico. Observou-se, também, que o pico em 2600 cm⁻¹ dos modos de alongamento da ligação S–H desapareceu, confirmando a ligação covalente entre o íon de enxofre (S⁻²) do tiol com o íon de cádmio (Cd⁺²), formando uma casca de CdS. Além disso, os espectros dos MSPQs-CS apresentaram picos em 609 cm⁻¹ e 1622 cm⁻¹, o que reforçou a formação da casca de CdS ao redor dos MSPQs de CdSe. A casca de CdS previniu a liberação de íons de Cd⁺² da superfície dos MSPQs de CdSe, diminuindo a citotoxicidade que foi

confirmada pelos testes de atividade metabólica celular específica (MTT) sob estímulos dos MSPQs (Figura III. 19).

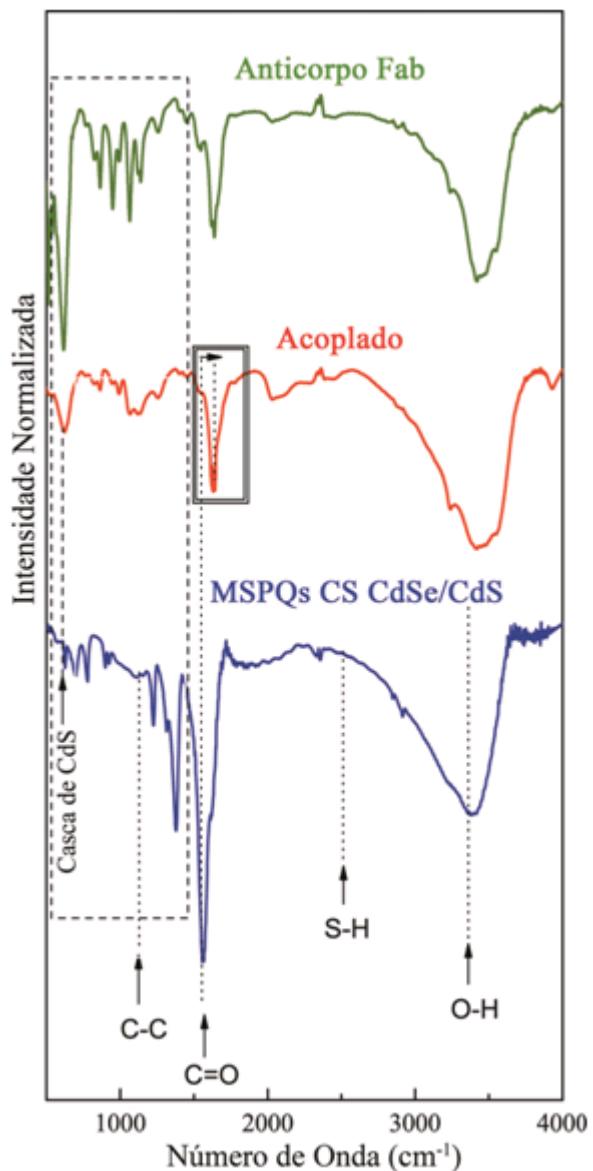


Figura III. 18 Espectros de FT-IR dos MSPQs-CS de CdSe/CdS antes e pós bioconjugação com o anticorpo Fab.

Os ensaios de MTT são usualmente utilizados para investigar efeitos de citotoxicidade de PQs, refletindo a atividade metabólica das células (Figura III. 19). Para testar o potencial de citotoxicidade dos MSPQs-CS de $\text{CdSe/CdS}_x\text{Se}_{1-x}/\text{CdS}$, foram examinadas a viabilidade celular através de ensaios com a linhagem de células de macrófagos (J774A.1) e com células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) de três indivíduos saudáveis com diferentes concentrações de MSPQs-CS (1, 10, 50, 100 ng/ml, e 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$). Não foi observado nenhum efeito citotóxico significante, exceto para concentrações \geq

50 µg/ml durante 24 h e 48 h de incubação, nas quais a atividade metabólica foi reduzida significativamente. Após incubação de 72 h, uma redução significativa da viabilidade celular foi observada para concentrações \geq 10 µg/ml. As células PBMCs mostraram maiores variações na viabilidade celular em comparação com as de macrófagos J774A.1, mas sem grandes diferenças. Entretanto, com o aumento da concentração, ocorreu a diminuição da viabilidade. Em geral, as células PBMCs mostraram uma maior viabilidade do que os macrófagos, isso, provavelmente, devido à população de células heterogêneas, que podem ser afetadas diferencialmente pelos MSPQs-CS. A citotoxicidade acima de 50 µg/ml foi justificada pela agregação desses MSPQs-CS em organelas, tais como mitocôndrias e lisossomos, alterando seus processos metabólicos, levando a uma perda funcional e posteriormente a morte.

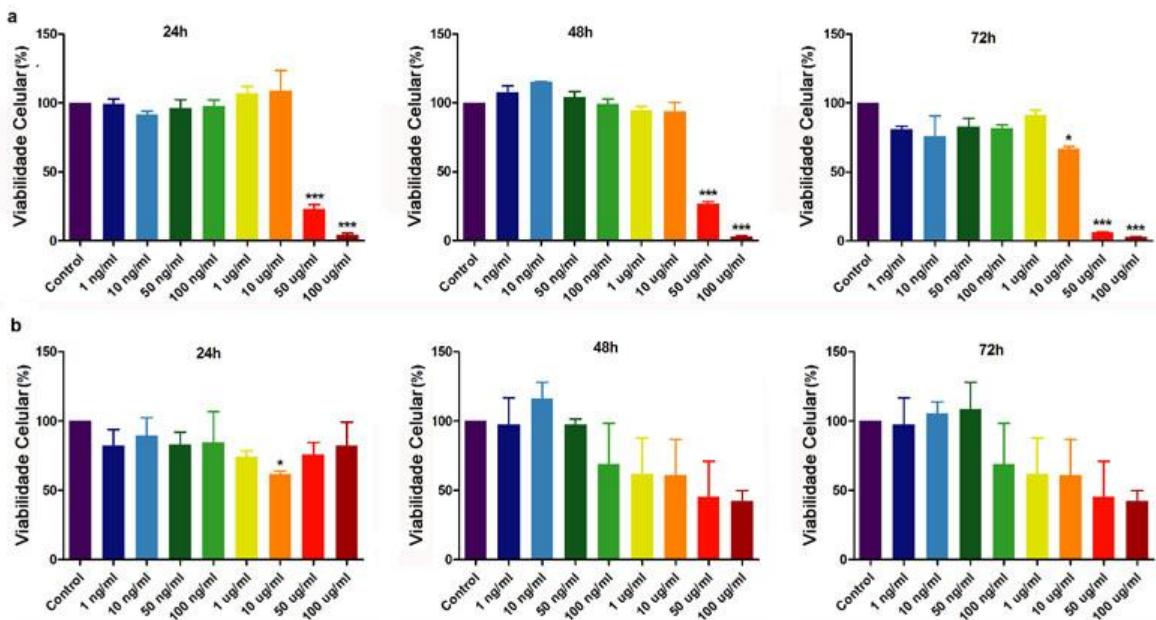


Figura III. 19 Viabilidade Celular de células do tipo macrófagos J774A-1 e PBMCs de indivíduos saudáveis para o ensaio colorimétrico MTT após incubação com MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS. Os resultados são expressos como médias \pm SD (desvio padrão) de três experiências independentes.* Significância estatística foi considerada quando $p < 0,05$ em relação ao controle de culturas (ANOVA com pós-teste de Bonferroni).

Os MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS foram sintetizados via solução aquosa, a qual permitiu o uso direto em sistemas biológicos sem modificações na superfície, permitindo um processo de obtenção rápido e reproduzível. Além disso, o processo de funcionalização com o grupo carboxílico durante a síntese também favoreceu a sua maior estabilidade e especificidade. Curiosamente, os MSPQ-CS foram autoclavados pós-síntese, e nenhuma das

propriedades ópticas foram alteradas, confirmando a robustez do processo de síntese. A baixa citotoxicidade dos MSPQs-CS ocorreu, provavelmente, devido a metodologia de síntese e a casca de CdS, que evita Cd⁺² na superfície, tornando-os biocompatíveis, altamente resistentes a oxidação, e mais estável do que os PQs convencionais. Os níveis de toxicidade apresentados pelos nossos MSPQs-CS foram muito menores do que os relatados em outros trabalhos (HOSHINO et al., 2004; RYMAN-RASMUSSEN; RIVIERE; MONTEIRO-RIVIERE, 2007) devido à síntese desenvolvida e também a presença da casca de CdS que estabilizou os PQs atuando como um antioxidante direto, reduzindo o estresse oxidativo das células (LI et al., 2009).

Esse foi, provavelmente, o primeiro trabalho sobre imunogenicidade de PQs. Foi analisada a resposta imunológica das células PBMCs, de voluntários saudáveis, em contato com os MSPQs-CS, com concentração máxima de 50 ng/ml, não apresentando nenhum efeito de citotoxicidade (**Figura III. 20**). Não houve efeito anti-inflamatório (IL-4, IL-10 e TGF-beta) (a) ou pró-inflamatório (IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha, IFN-gamma e IL-17A) (b) quando comparado com o controle negativo (sem tratamento) em todos os períodos de incubação.

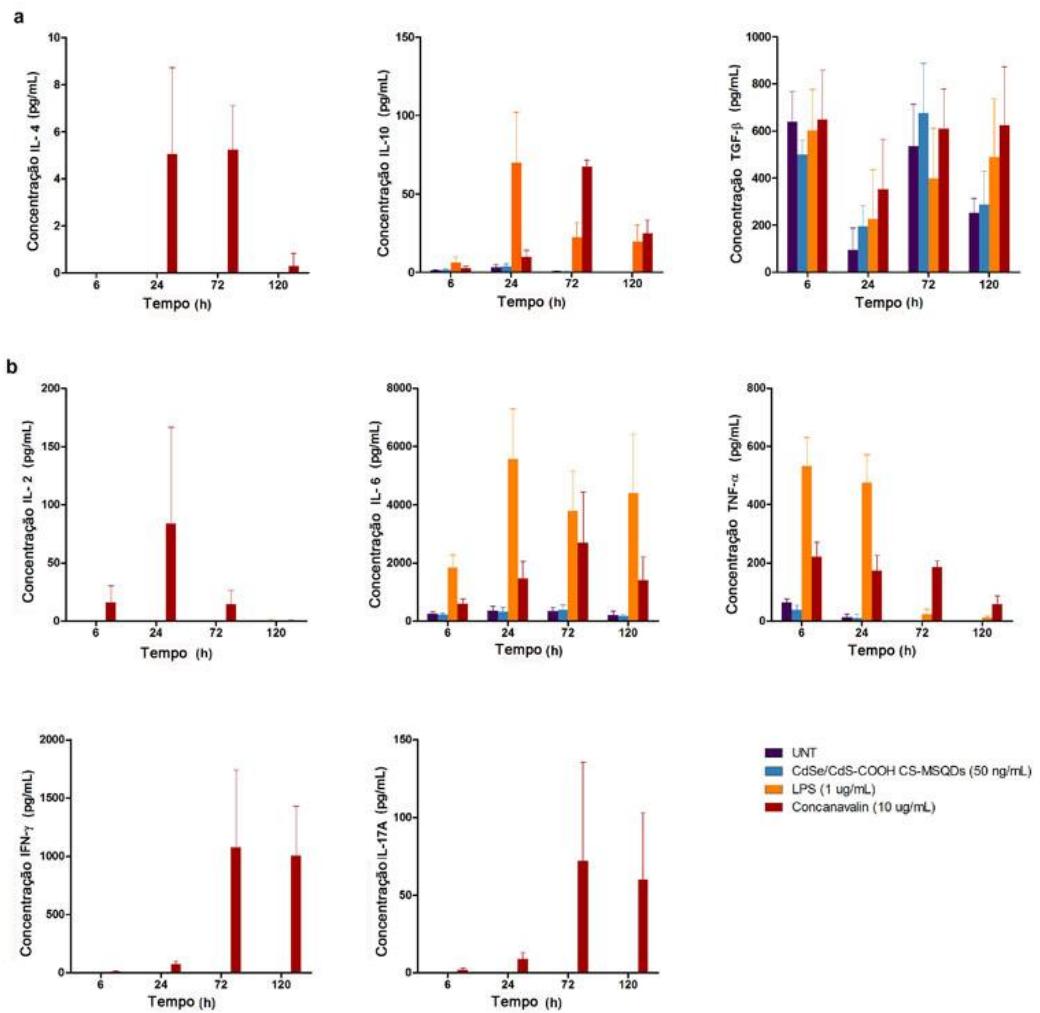


Figura III. 20 Cytokines de efeito (a) anti-inflamatório (IL-4, IL-10 e TGF-beta) ou (b) pró-inflamatório (IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha, IFN-gamma e IL-17A). Células PBMCs de humano incubadas com 50 ng/ml de MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS por 6, 24, 72 e 120 horas.

A falta de imunogenicidade confirmou a natureza biocompatível dos MSPQs-CS, que provavelmente, devido ao seu tamanho ultra pequeno, não podem ser reconhecidos por receptores, entrando nas células por difusão passiva. Essa foi uma característica interessante, porque permitiu monitorar processos biológicos *in vivo* ao utilizar os MSPQs-CS, que como demonstrado apresentaram baixa citotoxicidade e nenhuma resposta imunogênica.

A internalização dos MSPQs-CS foi observada por imagens em 3D via microscopia confocal ([Figura III. 21](#)). As análises das imagens indicaram que os MSPQs-CS estavam, predominantemente, localizados no citoplasma, e com agregados não específicos com concentrações acima de 10 g/ml ([Figura III. 21c, d e e](#)). A internalização dos PQs ocorreu de forma passiva, devido às propriedades físico-químicas; ou facilitada, pela utilização de moléculas transportadoras, como peptídeos, proteínas ou compostos químicos funcionais; ou

ainda ativa, através da manipulação da célula (DELEHANTY; MATTOUSSI; MEDINTZ, 2009; JIANG et al., 2012)

Os MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS foram facilmente capazes de entrar nas células por difusão passiva através da membrana e acumular-se em altas densidades no interior das células com o aumento da concentração. Esse efeito foi demonstrado na [seção III.2](#), em que se utilizou MSPQs de CdSe em células HeLa. Os MSPQs-CS foram sintetizados com grupos hidroxila, com alta fotoestabilidade e luminescência altamente estável com o tempo. Os MSPQs-CS funcionalizados com grupamento carboxílico mostraram uma melhor biocompatibilidade. Esses efeitos foram justificados uma vez que nos MSPQs de CdSe ocorreram apenas a formação da liga de CdS_xSe_{1-x} ao redor do núcleo, mas para os MSPQs dessa pesquisa, além da formação da liga de CdS_xSe_{1-x}, houve, também, a formação da casca de CdS. Os MSPQs-CS desse trabalho não apresentaram nenhuma especificidade às células de macrófagos, o que foi confirmado pela ausência de luminescência dos pontos quânticos no interior das células a baixas concentrações. Entretanto, para concentrações maiores que 10 µg/ml ocorreram a agregação de MSPQs-CS, devido as suas interações com sais e proteínas do citoplasma (RYMAN-RASMUSSEN; RIVIERE; MONTEIRO-RIVIERE, 2007)

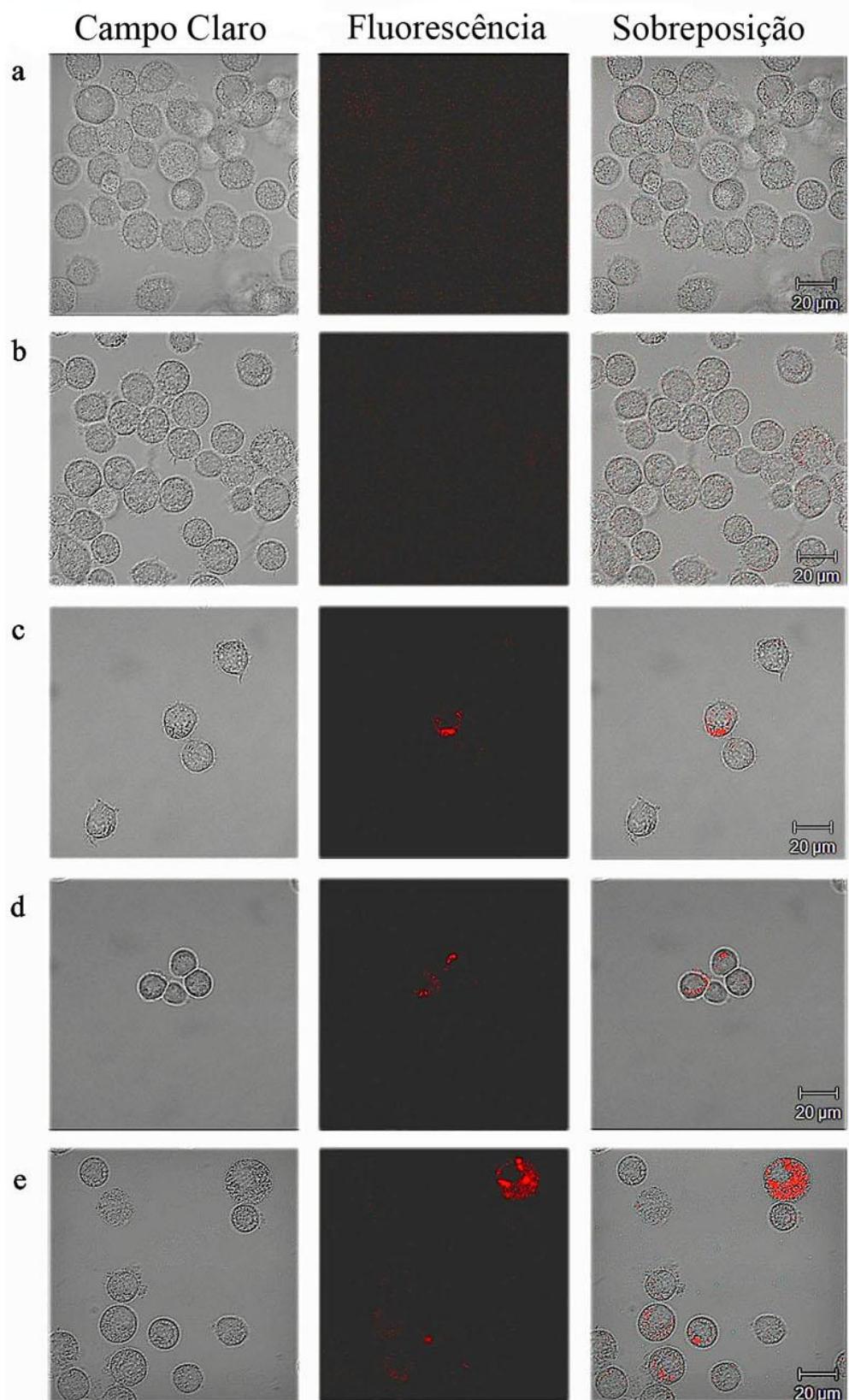
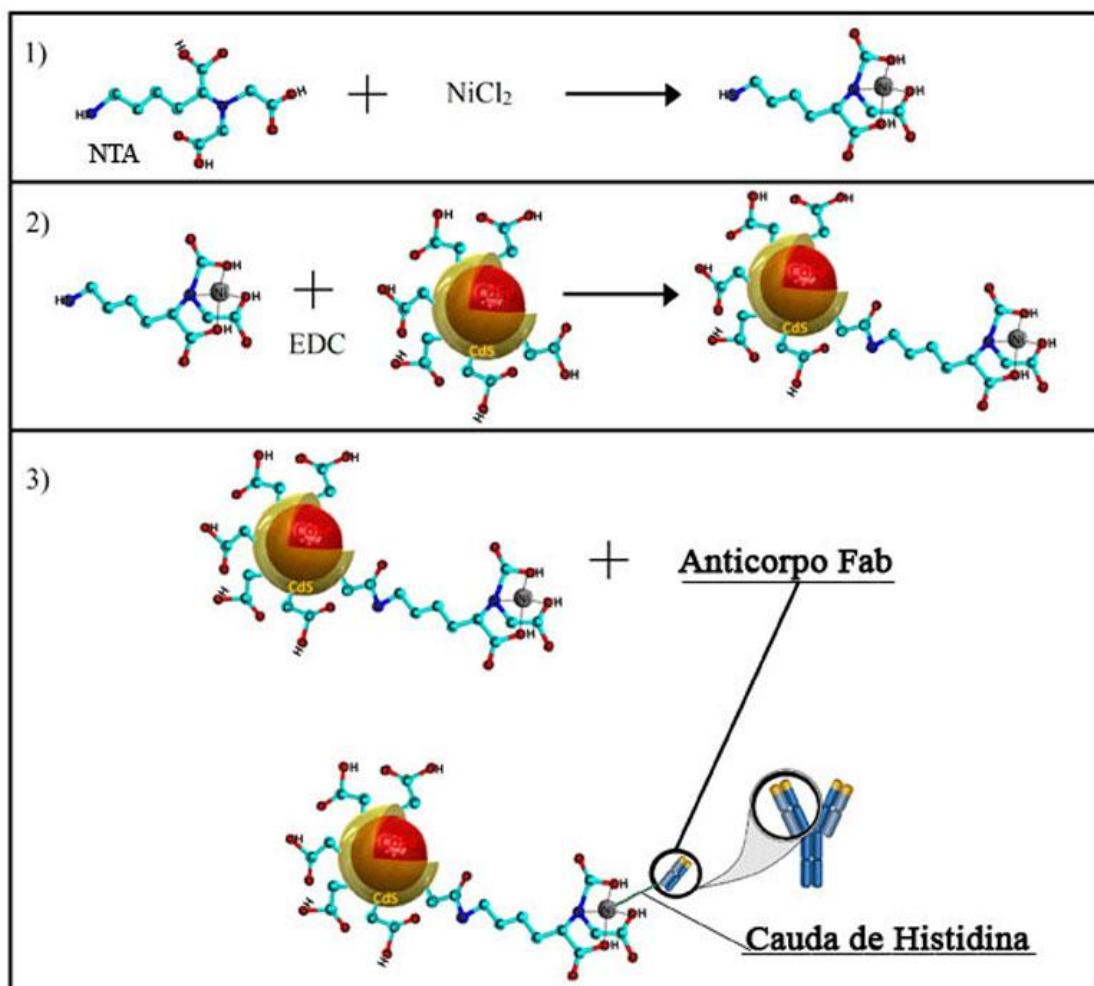


Figura III. 21 Imagens de Microscopia Confocal de células de macrófagos J774A-1 adquiridas 4 h após a exposição *in vitro* ao MSPQs-CS. **a)** células J774A-1 (controle); **b)** 1 μ g/ml de; **c)** 10 μ g/ml; **d)** 50 μ g/ml; **e)** 100 μ g/ml de MSPQs-CS. As imagens foram obtidas em Microscópio Confocal Meta LSM 510 Zeiss com emissão laser em \sim 700 nm (canal vermelho).

As imagens de fluorescência confocal dos MSPQs-CS demonstraram a sua localização predominante no citoplasma, o que pode também explicar a sua baixa toxicidade, porque a acumulação de MSPQs-CS em núcleos iria levar a danos no DNA, tal como demonstrado em outros trabalhos (CHEN et al., 2012; PRASAD et al., 2012). Uma das razões para a acumulação de MSPQs-CS no citoplasma foi à presença de cargas negativas na sua superfície, devido à desprotonação do grupo carboxílico, o que sugere que os MSPQs-CS eram aniónicos.

Descreve-se na [Figura III. 22](#) a bioconjugação do MSPQ-CS com o anticorpo FAb por intermédio do composto que contém íon de níquel (precursor cloreto de níquel NiCl_2) junto ao ácido nitriloacético (NTA • Ni^{2+}). Portanto, os MSPQs-CS foram capazes de reconhecer especificamente alvos que são marcados com histidina, como o caso do anticorpo Fab, sendo uma sonda específica para detectar células cancerígenas de mama.



[Figura III. 22](#) Representação esquemática das reações para bioconjugar MSPQs-CS CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS a um anticorpo específico para câncer de mama. Os MSPQs-CS foram funcionalizados com o complexo NTA • Ni^{2+} que interagiu com a cauda de histidina do anticorpo Fab.

O espectro de FT-IR ([Figura III. 18](#)) obtido dos MSPQs-CS acoplados com o anticorpo possuem bandas de vibrações de amida I e II em 1645 e 1555 cm⁻¹ (caixa quadrada), respectivamente, e mudanças N–H na região (3500–3000 cm⁻¹) (PAN et al., 2006). Isso demonstrou que os MSPQs-CS estavam ligados covalentemente ao NTA, através de uma ligação e não por meio da interação de ligação não específica. O acoplamento dos MSPQs-CS com o anticorpo Fab foi realizado através da interação de Ni²⁺ com a cauda de histidina presente no anticorpo, confirmando a bioconjugação (GUPTA et al., 2008). Observou-se, também, que os modos vibracionais correspondentes ao anticorpo (região de 550-1550 cm⁻¹) permaneceram inalterados, demonstrando que o acoplamento não afetou a configuração tridimensional do anticorpo Fab, não alterando nenhuma especificidade ao alvo biológico, citoqueratina 10 - CK-10 (ARAUJO et al., 2013).

A análise das imagens da eficiência da bioconjugação dos MSPQs-CS com o anticorpo Fab, específico de câncer de mama em ensaios de imunohistoquímica, mostrou a alta intensidade de fluorescência, demonstrando que os pontos quânticos foram eficientemente conjugados a anticorpos Fab, com alta especificidade para as células do câncer de mama, em comparação com os controles que não contêm os pontos quânticos ([Figura III. 23](#)). É importante enfatizar que, o amplo intervalo de emissão dos MSPQs-CS permitiu a observação de eventos em microscopia confocal no canal vermelho ([Figura III. 21](#)), e verde ([Figura III. 23](#)), como mostrado no espectro de FL da [Figura III. 17](#). Esse resultado, também, confirmou a entrada dos pontos quânticos nas células (*uptake* celular) via difusão passiva, e que os MSPQs-CS podem ser observados na forma de agregados em vesículas quando não bioconjugados, e utilizado em elevadas concentrações, ou como alvos específicos, em baixas concentrações, que nesse caso foi o CK-10 dentro da célula.

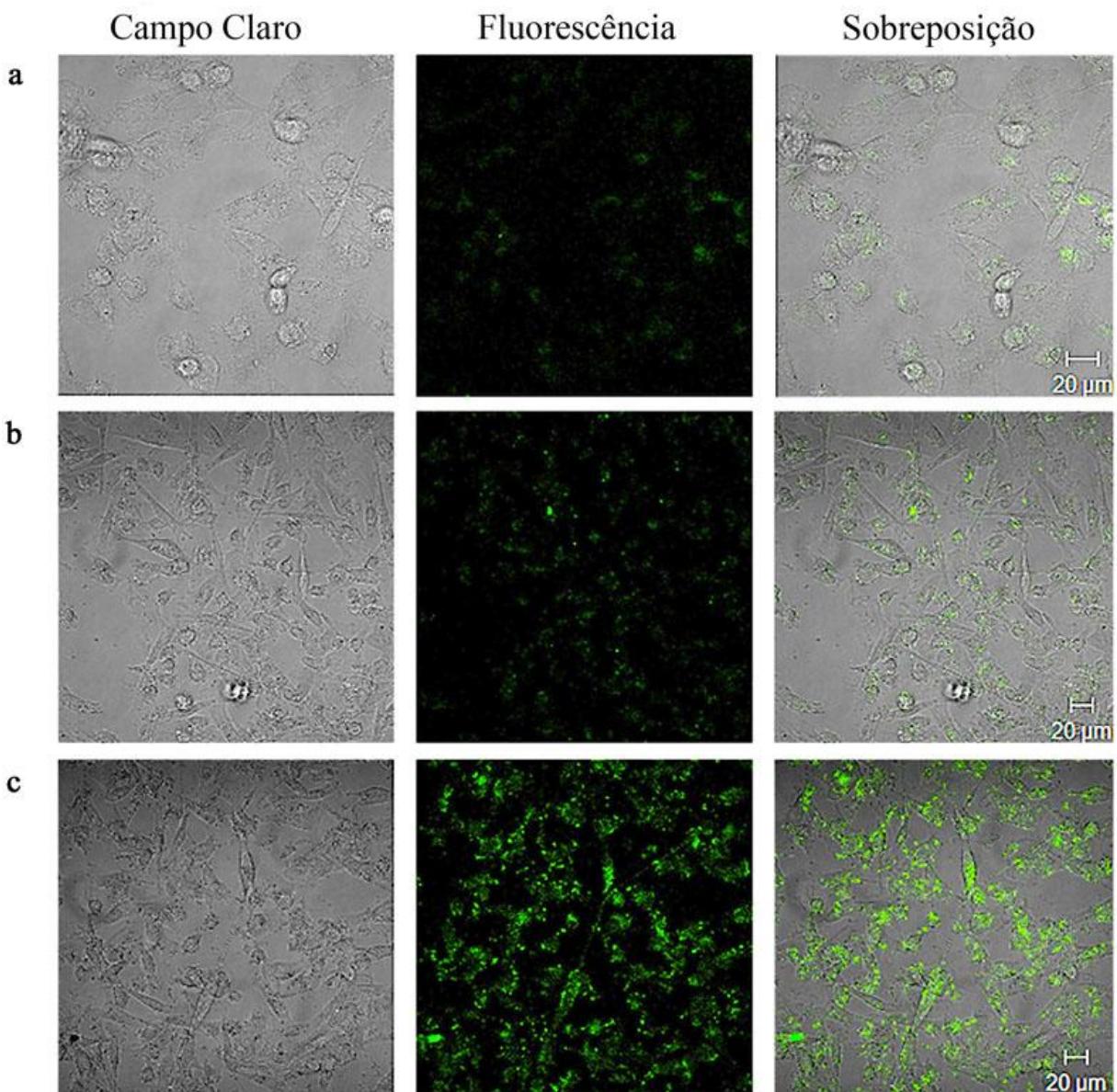


Figura III. 23 Marcação específica ao câncer de mama (BC) de células de linhagem de MDA-MB-231 dos MSPQs-CS ($\text{NTA} \cdot \text{Ni}^{2+}$) bioconjugados com um anticorpo específico Fab, analisadas por microscopia confocal. As células foram incubadas com MSPQD durante 1h. **a)** células MDA-MB (controle); **b)** células MDA-MB incubadas MSPQs-CS; **c)** MSPQs-CS bioconjugados com anticorpo Fab. As imagens foram obtidas em Microscópio Confocal Meta LSM 510 Zeiss com emissão laser ~ 530 nm (canal verde).

Os eventos de internalização na célula eram distintos a depender da concentração de MSPQs-CS, como mostrado nas [Figuras III. 21](#) (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) e [Figura III. 23](#) (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$), em vesículas quando a concentração era 100 vezes maior, em comparação ao ligado, especificamente, ao CK-10, indicando que a especificidade poderia ser visualizada mesmo em concentrações muito baixas de MSPQs-CS. Também é interessante ressaltar que nenhum tipo de agregado foi formado em 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, sem nenhuma toxicidade ou imunogenicidade. Portanto, o MSPQ-CS CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS também pode ser utilizado como uma sonda

luminescente específica para detecção de processos biológicos ou doenças ao ser bioconjugado a um anticorpo específico (Figura III. 24).

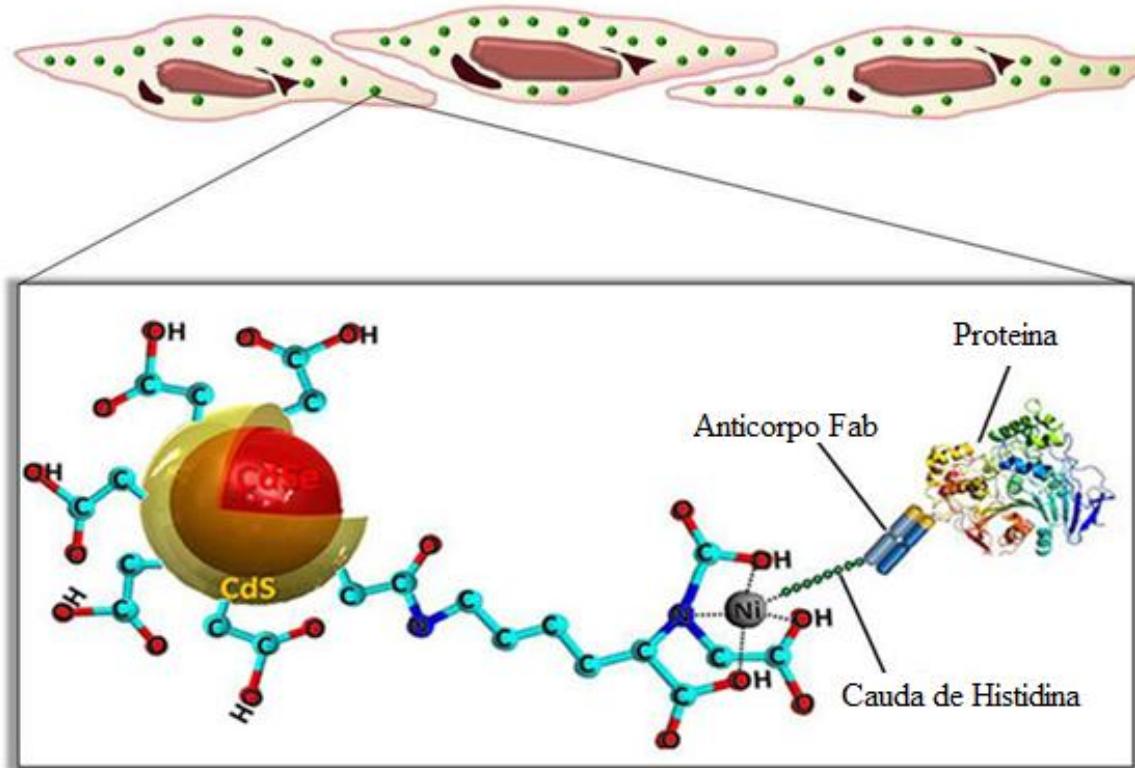


Figura III. 24 Esquema representativo dos MSPQs-CS CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS a um anticorpo específico no interior de células de câncer de mama.

Em conclusão, sintetizou-se MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS via solução aquosa a temperatura ambiente, com tamanho de 2 nm, acoplado com sucesso a NTA-Ni²⁺ e bioconjugado a um anticorpo Fab específico de câncer de mama. O tamanho extremamente pequeno favoreceu a difusão passiva sem nenhuma resposta citotóxica e imunogênica, podendo ser prontamente conjugado com outros biomarcadores de muitos outros métodos. As propriedades físicas dos MSPQs-CS tornam-os altamente apropriados para muitas estratégias de imagem, permitindo a sua utilização em muitos ensaios de detecção, terapêuticos e em aplicações de imagem *in vivo*.

III. 5. Pontos Quânticos de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS Altamente Estáveis por Anos e Biocompatíveis.

(Em fase de submissão)

Nesse trabalho, realizou-se um procedimento de síntese de MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS com tamanho altamente estável em função do tempo e biocompatível. Investigou-se as suas propriedades ópticas e morfológicas pelas técnicas de absorção óptica (AO), fluorescência (FL) e microscopia de força atômica (AFM) e as suas características biocompatíveis pelos testes de citotoxicidade, *uptake* celular *in vitro* e *in vivo*.

A evolução temporal dos espectros de AO e FL dos MSPQs de CdSe em soluções aquosas é mostrada na [Figura III. 25](#). Após a síntese observou-se no espectro de AO uma banda localizada em torno de 375,7 nm (3,30 e V) relacionada à transição excitônica de um grupo de nanocristais. As outras bandas foram atribuídas à formação de outros grupos de PQs com tamanho menor (OYANG, 2008). O intervalo de energia da banda de AO e a alta estabilidade do tamanho confirmaram que as nanoestruturas crescidas eram PQs de tamanhos mágico (MSPQs) (DUKES; MCBRIDE; ROENTHAL, 2010; NGUYEN; DAY; PAPTER, 2010; RIEHLE et al., 2009; SOLOVIEV et al., 2000). O diâmetro dos MSPQs foi calculado com base na equação empírica ([equação \(II.2.53\)](#)) obtendo o valor de D = 1,30 nm. Observou-se, também, na [Figura III. 25](#), que o espectro de emissão foi bastante amplo (450 nm to 750 nm), do qual é característicos de MSPQs (BOWERS; MCBRIDE; ROENTHAL, 2005). Nos espectros de AO e FL após 18, 24 e 36 meses verificou-se que não ocorrem mudanças na posição de máximo das bandas. Rogach *et al.* (1999) observaram o crescimento de PQs estabilizados com 1-tioglycerol após minutos (ROGACH et al., 1999). Entretanto, nesse trabalho pode-se afirmar que a partir da metodologia de síntese foi possível sintetizar PQs de tamanhos extremamente estáveis com o tempo, ou seja, MSPQs. O espectro de FL após 36 meses foi obtido utilizando a linha de excitação de 457,9 nm, para comparação com as imagens de confocal.

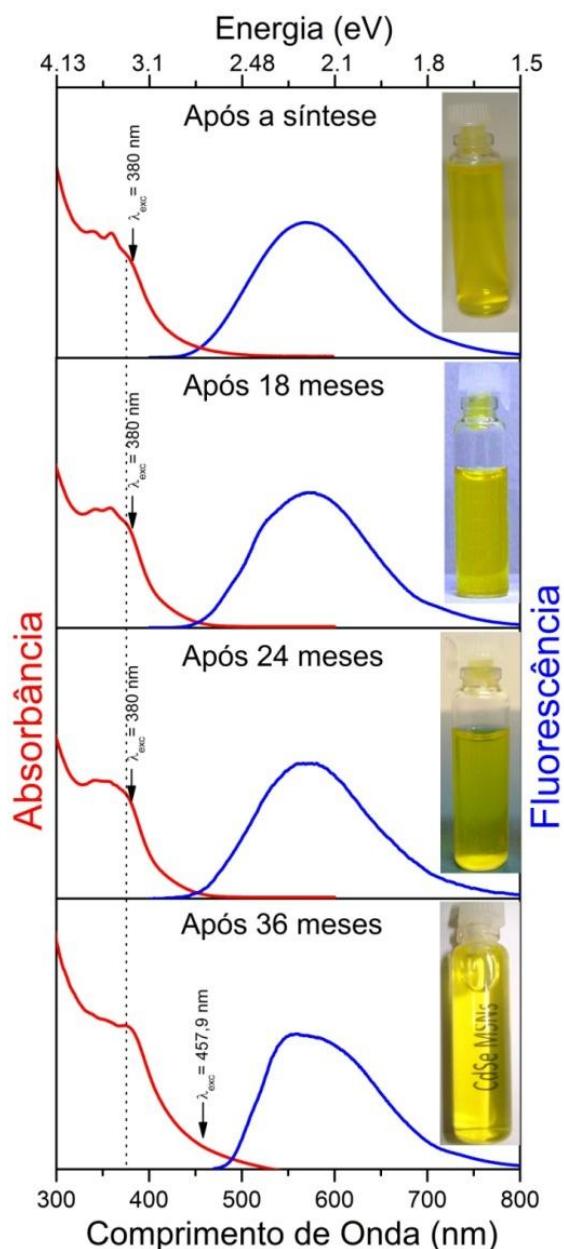


Figura III. 25 A evolução temporal dos espectros de AO e FL dos MSPQs de CdSe em soluções aquosas.

A imagem de AFM (450 x 450 nm) dos MSPQs de CdSe após 18 meses é mostrada na [Figura III. 26](#). As correspondentes imagens bidimensional e tridimensional são apresentadas do lado esquerdo e direito de cada painel, respectivamente. Além disso, a distribuição de altura está representada no inseto ao lado direito do painel, a partir da qual foi possível avaliar o diâmetro médio dos MSPQs de CdSe (ONG, 2007), sendo de $D = 1,40$. É interessante notar que o diâmetro médio obtido pelas imagens de AFM foi levemente maior que os calculados com base nos espectros AO, o que certamente ocorreu devido à formação da casca de CdS, uma vez que se baseou no procedimento de síntese descrito no primeiro artigo publicado referente a essa tese, mencionado em seções anteriores.

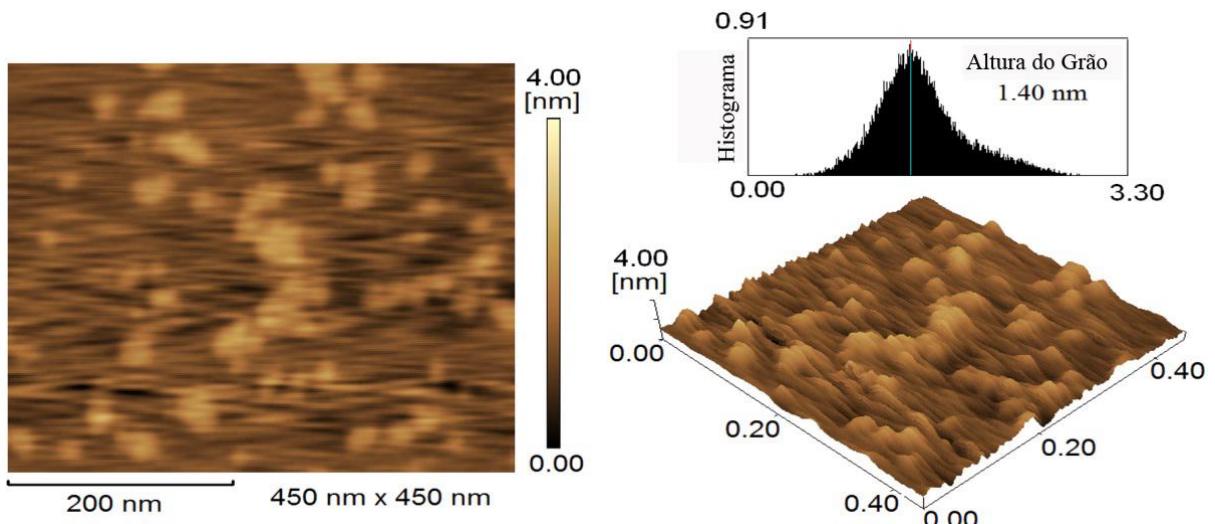


Figura III. 26 A imagem de AFM (450 x 450 nm) dos MSPQs de CdSe após 18 meses.

Os MSPQs-CS de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS não tiveram efeitos adversos sobre a fisiologia do animal hospedeiro ou células marcadas. O efeito de MSPQs de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS em diferentes concentrações (1, 10, 50, 100 ng / ml e 1 , 10, 50, 100 ug / ml) sobre a atividade metabólica celular da linha celular de macrófagos J774.1 foi realizado pelo ensaio de MTT, mostrado [Figura III. 27 \(a\)](#). Após 24 e 48 horas de incubação com os MSPQs de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS, a atividade metabólica dos macrófagos apresentou uma diminuição significativa nas concentrações de 50 ug/ml e 100 ug/ml. Após 72 horas de incubação, a redução significativa da viabilidade das células podia ser observada para concentrações de 10 ug/ml, 50 ug/ml e 100 ug/ml. Observou-se, também, que para concentrações maiores que 10 ug/ml a diminuição da viabilidade celular era muito grande em comparação com as concentrações inferiores. Chang *et al.* (2006) descobriram que PQs poderiam entrar nas células através de endocitose, e relacionaram a morte celular com a quantidade de absorção de PQs, independentemente do ligante de revestimento da superfície (CHANG et al., 2006). Pesquisadores observaram que os revestimentos de superfície de nanopartículas poderiam influenciar a forma de interação dos PQs com as células, bem como as consequências dessas interações (CLIFT, 2008). Além disso, Dun *et al.*(1977) e Kubbies et al. (1990) demonstraram que o thioglycerol poderia afetar a síntese de hemoglobina e a ativação dos linfócitos, mas a sua utilização como um ligante de revestimento dos PQs não foi investigada (DUNN et al., 1977) (KUBBIES et al., 1990). Foi mostrado que os MSPQs de CdSe/CdS estabilizados com thioglycerol não afetaram células ou animais tratados, exceto quando a dose letal citotóxica foi alcançada em concentrações acima de 10 ug/ml.

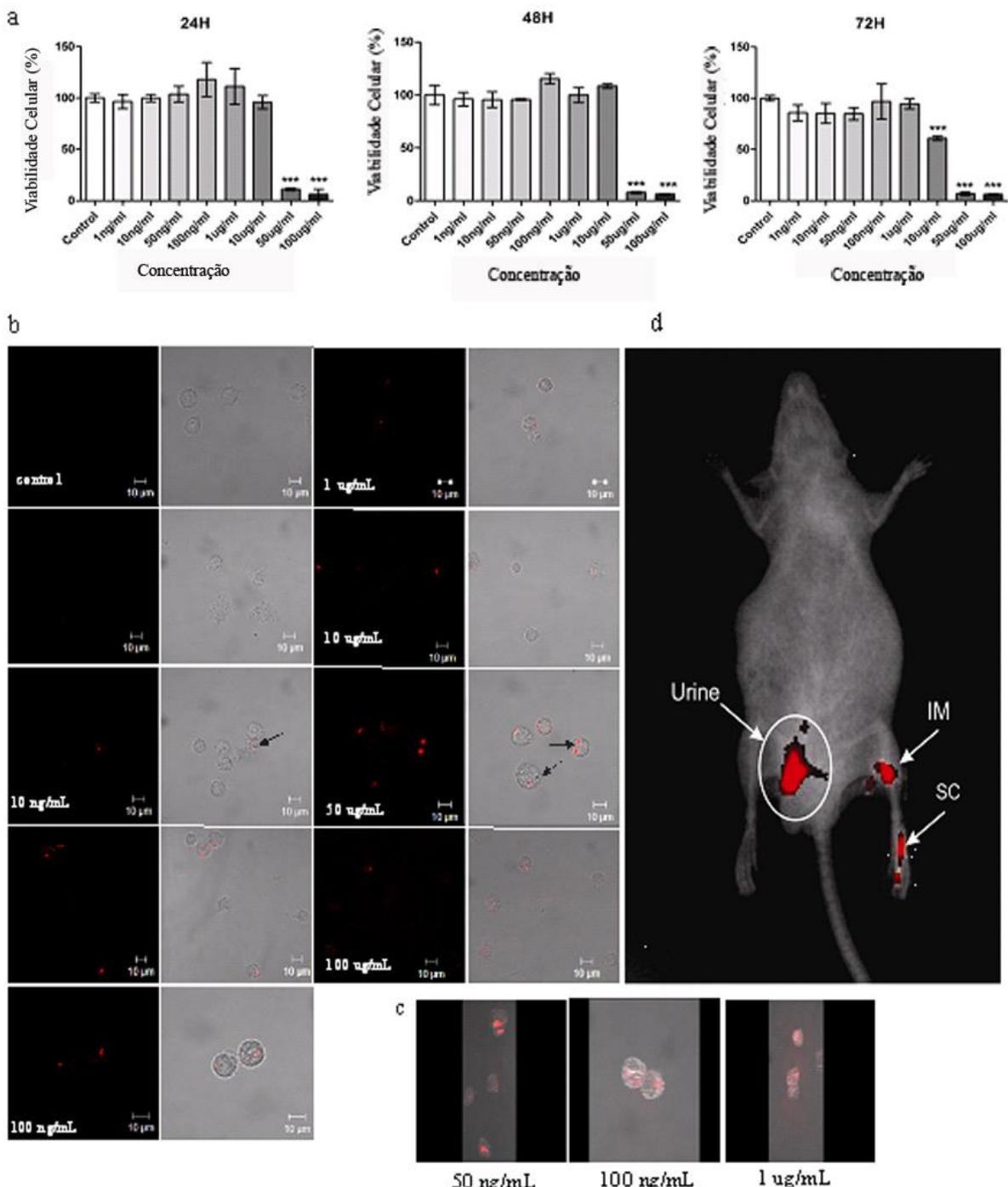


Figura III. 27 (a) Avaliação da atividade metabólica celular de macrófagos da linhagem celular J774.1 sob diferentes concentrações (1, 10, 50, 100 ng/ml e 1 , 10, 50, 100 µg /ml) de MSPQs de CdSe/CdS. (b) Imagens de confocal dos MSPQs de CdSe/CdS com macrófagos. (c) Imagens de confocal tridimensional. (d) Administração dos MSPQs de CdSe/CdS em mouse tipo Balb/ c.

A diminuição da viabilidade não foi dependente da dose e da concentração de 100 ng/ml e houve a um aumento não significativo na viabilidade das células, assim essa concentração parere ser ótima para a utilização em ensaios biológicos. Os MSPQs de CdSe/CdS também foram facilmente capturados quando incubados com linhagem de

macrófagos (J774. 1). Essas células foram mantidas em cultura sob concentrações diferentes de MSPQs de CdSe/CdS por 1 h. Em apenas uma hora de incubação observou-se, via imagens de microscopia confocal ([Figura III. 27 \(b\)](#)) a captura dos MSPQs de CdSe/CdS pelos macrófagos. Algumas imagens sugeriram a presença de aglomeração de MSPQs de CdSe/CdS dentro de vesículas endocíticas (mostrada pela seta), bem como um aumento na captura da fluorescência com o aumento da concentração de pontos quânticos. Nas imagens de confocal tridimensionais, obserrou-se que os pontos quânticos foram realmente internalizados ([Figura III. 27 \(c\)](#)). Assim, esses MSPQs de CdSe/CdS são uma ferramenta importante para a detecção de imagens em células vivas com rápida internalização.

Os MSPQs de CdSe/CdS foram administrados através de injeções subcutâneas e intramusculares em um mouse Balb/c e foi observada a alta intensidade da fluorescência no local de administração ([Figura III. 27 \(d\)](#)), independente do percurso, profundo ou superficial. Isso demonstrou a aplicação potencial dos marcadores *in vivo*, porque o MSPQs de CdSe/CdS podem penetrar no corpo do animal, emitirem luminescência relativamente alta, a qual pode ser detectada nas imagens *in vivo*. No estudo de Jiang *et al.* (2012) observou-se a emissão de nanocristais de Ag₂S pelo tecido subcutâneo e cavidade abdominal, em relação à autofluorescência do corpo do animal (JIANG et al., 2012). No entanto, esse estudo utilizou nanopartículas que emitem 910 nm (infravermelho), para visualizar as imagens. Nos MSPQs de CdSe/CdS a fluorescência variou de 500 a 750 nm, a qual foi facilmente detectada na maior parte dos equipamentos utilizados para capturar as imagens *in vivo*. Esses resultados mostraram que MSPQs de CdSe/CdS podem ser eficazes quando utilizados em ensaios para a detecção *in vivo*, não só devido à sua fluorescência estável, mas também devido a possibilidade de uso em conjunto com peptídeos, proteínas, anticorpos e outras moléculas pequenas, além da biocompatibilidade, que possibilita a utilização em o diagnóstico de certas doenças.

Em conclusão os pontos quânticos, especialmente, os de tamanho mágico, são uma nova ferramenta na área de imagens biológicas ou para detecção. Os resultados experimentais mostraram que esses MSPQs de CdSe/CdS são muito estáveis durante vários anos e têm um amplo intervalo de luminescência (500 a 750 nm), o que permite a sua utilização em diversas aplicações biológicas, tanto *in vitro* como *in vivo*. Além disso, são capazes de serem rapidamente capturados pelos macrófagos e não induzem citotoxicidade significativa, e são visualizados em imagens *in vivo*. Isso demonstra o potencial de MSPQs de CdSe/CdS e supera as expectativas em relação aos fluoróforos utilizados em sistemas de biomarcadores habituais.

III.6. Controle da Citotoxicidade de Pontos Quânticos de CdSe de Tamanhos Mágicos como Função da Densidade de Níveis de Defeitos de Superfície.

(Em fase de submissão)

Nesse trabalho, foram sintetizados e estudados os efeitos de citotoxicidade dos MSPQs de CdSe com diferentes densidades de níveis de defeitos de superfície. Estes MSPQs de CdSe foram sintetizados via solução coloidal aquosa variando a concentração de selênio no processo de síntese a temperatura ambiente. As propriedades ópticas foram investigadas utilizando as técnicas de absorção óptica e fluorescência (FL). Os efeitos citotóxicos foram analisados por ensaios de MTT.

Os espectros de absorção óptica (AO) dos nanocristais de CdSe com concentrações crescentes de selênio em soluções coloidais aquosas são mostradas na Figura III. 28. Todas as bandas de AO estão localizadas em energias maiores que o correspondente bulk do CdSe (1.74 eV), evidenciando que as nanoestruturas crescidas eram PQs de CdSe (NEELESHWAR et al., 2005). Em adição, esses comprimentos de onda estão localizados no intervalo de PQs extremamente pequenos (YU et al., 2003). Observou-se que o aumento na concentração de selênio favoreceu um leve aumento de tamanho e um crescimento descontínuo, gerando diversos grupos de PQs.

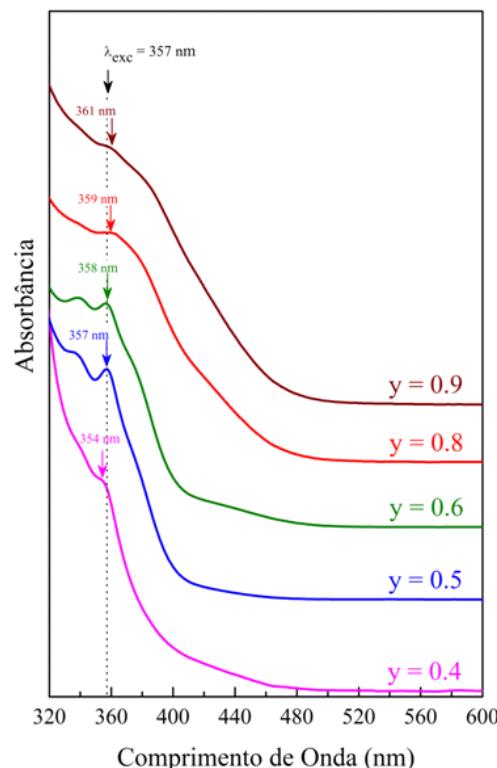


Figura III. 28 Espectros de absorção óptica dos MSPQs de CdSe com concentração crescente de Se em soluções coloidais aquosas.

Esse crescimento descontínuo foi característico de PQs de tamanhos mágico (MSPQs) (MSPQs) (DUKES; MCBRIDE; ROENTHAL, 2010; MCBRIDE et al., 2010; RIEHLE et al., 2009; SOLOVIEV et al., 2000). As bandas de AO das amostras com $y = 0.4$, 0.5 e 0.6 de Se apresentaram a largura à meia altura relativamente estreita, a qual representou outra característica dos MSPQs, como visto na literatura (DUKES; MCBRIDE; ROENTHAL, 2010). Entretanto, para as amostras com $y = 0.8$ e 0.9 não foi possível visualizar a largura, a meia altura da banda de AO, uma vez que o aumento na concentração de selênio favoreceu o aparecimento de vários grupos de PQs. O diâmetro médio dos MSPQs de CdSe foi calculado pela equação empírica ([equação \(II.2.54\)](#)) obtendo os seguintes valores $D = 1.13$ nm, 1.16 nm, 1.17 nm, 1.18 nm, 1.20 nm para $y = 0.4$, 0.5 , 0.6 , 0.8 e 0.9 , respectivamente.

Os espectros de fluorescência dos MSPQs de CdSe em solução coloidal aquosa usando a linha de excitação de 357 nm são mostrados na [Figura III. 29](#). Esses espectros foram relativamente largos, uma vez que os PQs apresentam defeitos de átomos internos e isso cria estados metaestáveis não radiativos, confirmando que esses PQs são de tamanhos mágicos. Esse amplo intervalo de luminescência é de grande aplicabilidade em processos biológicos, permitindo a sua visualização em diferentes canais de detecção (veja o espectro eletromagnético dentro dos espectros de FL). Foi possível, também, observar que a intensidade da fluorescência aumentou com o aumento da concentração de Se. Esse resultado demonstrou que quando a concentração de selênio aumentava durante a síntese, a densidade de íons de cádmio adsorvidos na superfície dos MSPQs de CdSe diminuía, reduzindo a densidade de defeitos de superfície, favorecendo transições radiativas e consequentemente aumentando a intensidade da luminescência. Isso também foi confirmado pela diminuição da largura à meia altura do espectro de FL. Além disso, verificou-se que o aumento na concentração de Se também favoreceu o aumento no tamanho dos MSPQs, o que foi confirmado pelo deslocamento para maiores comprimentos de onda das bandas de luminescência.

A viabilidade utilizando MTT, um instrumento indireto para acessar a viabilidade celular via integridade mitocondrial são representados na [Figura III. 30](#). O decréscimo da atividade metabólica de células HeLa tratadas com MSPQs de CdSe preparada com diferentes concentrações foi observada. A mais baixa concentração de Se (0,4) foi mais tóxica para as células HeLa, comparada a maiores concentrações, o que foi confirmado pela porcentagem de células viáveis. Como observado nessa pesquisa, a maior quantidade de selênio no MSPQs de CdSe, diminuiu os efeitos nocivos desses pontos.

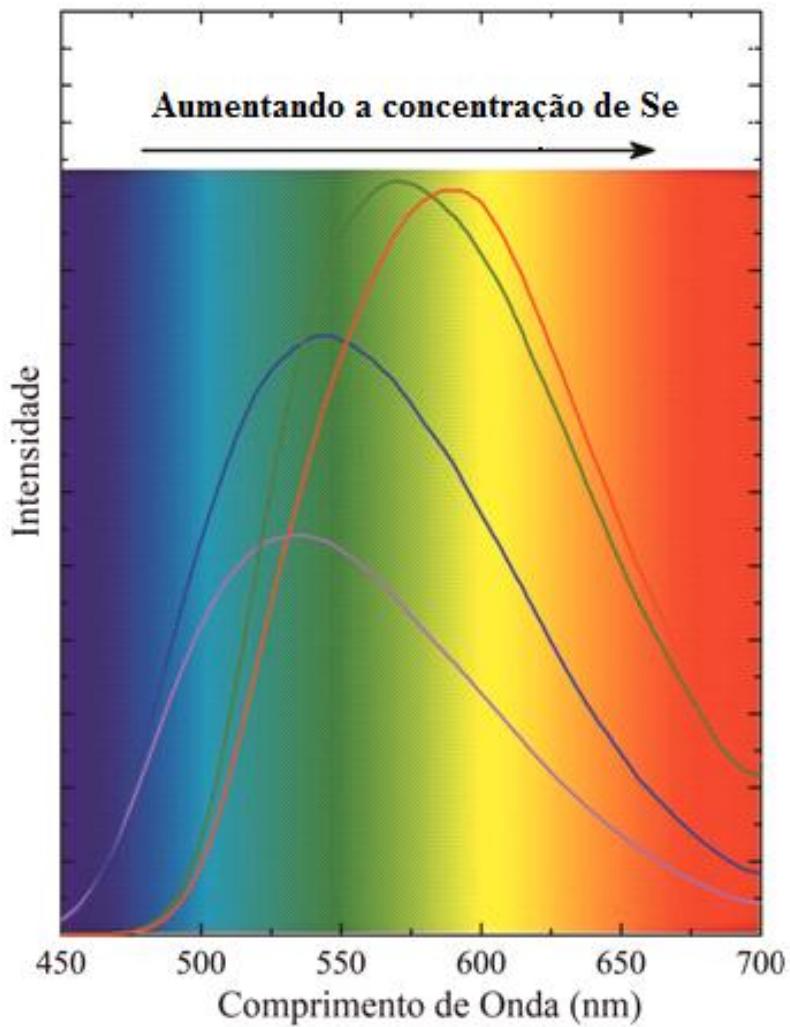


Figura III. 29 Espectros de fluorescência (FL) dos MSPQs de CdSe com o aumento da concentração de selênio em soluções coloidais aquosas.

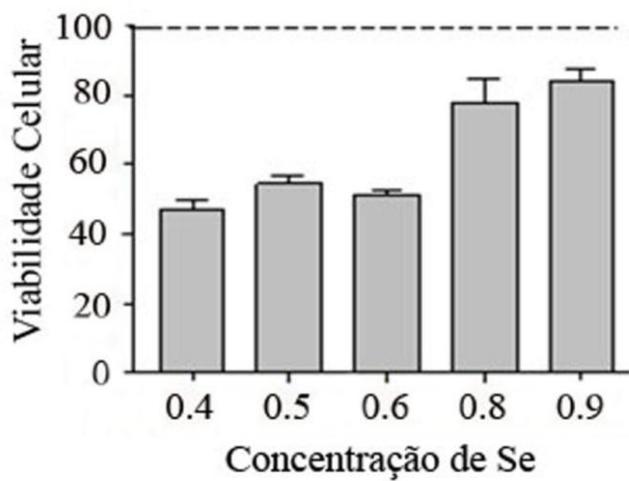


Figura III. 30 A citotoxicidade ao longo de diferentes concentrações de Se de MSPQs de CdSe expostos a células HeLa, durante 24 h. A viabilidade celular foi calculada como uma porcentagem da viabilidade das células (não tratadas) de controle. A viabilidade das células de controle foi considerada como sendo 100% (linha pontilhada). Os resultados foram expressos como média \pm SE de dois experimentos independentes.

O esquema simplificado do modelo dos MSPQs de CdSe com o aumento da concentração de Se é mostrado na Figura III. 31. À medida que aumentou a concentração de íons selênio (Se^{2-}), diminuiu a densidade de íons de cádmio (Cd^{2+}) na superfície dos MSPQs de CdSe. Isso consequentemente diminuiu a concentração de níveis de defeitos de superfície (SDL) (ligações pendentes de cádmio) e aumentou a intensidade da emissão excitônica (E_{exc}), sendo isso provado nos espectros de fluorescência (Figura III. 29). Além da redução dos níveis de defeitos de superfície ocorreu um leve aumento no tamanho dos MSPQs com o aumento da concentração de Se (Figura III. 28). O esquema representativo corresponde ao comportamento do espectro de fluorescência, que justificou os resultados biológicos, nos quais a citotoxicidade diminuiu com o aumento da concentração de selênio e, consequentemente, a diminuiu densidade de íons de cádmio adsorvidos na superfície dos MSPQs de CdSe.

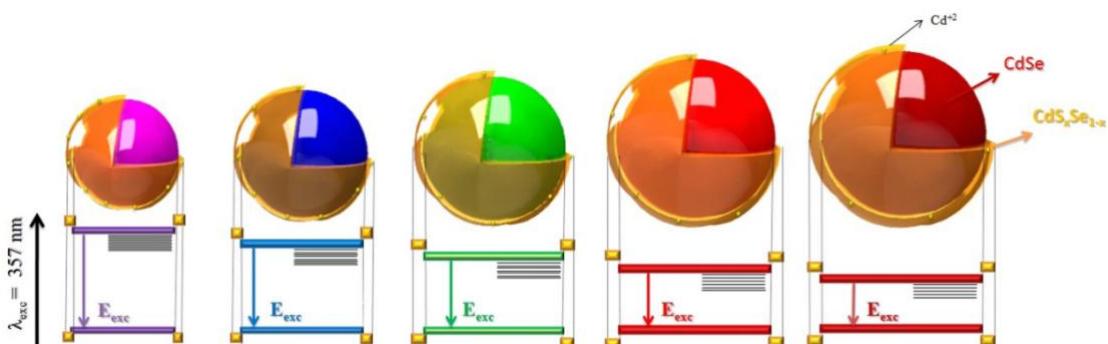


Figura III. 31 Esquema simplificado dos MSPQs de CdSe com o aumento da concentração de selênio (Se).

Em conclusão, controlou-se a citotoxicidade dos MSPQs de CdSe em função da densidade de íons de cádmio adsorvidos na superfície dos pontos quânticos. A densidade de íons de cádmio foi controlada a depender da concentração de íons de selênio no processo de síntese. Os testes de viabilidade comprovaram que o aumento na concentração de íons de selênio no processo de síntese, aumenta a viabilidade celular.

Referências

- ABDELHADY, H. G. et al. Towards nanoscale metrology for biomolecular imaging by atomic force microscopy. **Nanotechnology**, v. 16, p. 966–973, 1 jun. 2005.
- ALDANA, J.; WANG, Y. A.; PENG, X. G. Photochemical instability of CdSe nanocrystals coated by hydrophilic thiols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, n. 36, p. 8844–8850, 2001.
- ARAUJO, T. G. et al. A novel highly reactive Fab antibody for breast cancer tissue diagnostics and staging also discriminates a subset of good prognostic triple-negative breast cancers. **Cancer Letters**, p. 341, 2013.
- ARTEMYEV, M. V et al. Spectroscopic Study of Electronic States in an Ensemble of Close-Packed CdSe Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, n. 49, p. 11617–11621, 14 nov. 2000.
- BABENTSOV, V.; SIZOV, F. Defects in quantum dots of IIB–VI semiconductors. **Opto-Electronics Review**, v. 16, n. 3, p. 208–225, 10 jun. 2008.
- BARONI, S.; GIRONCOLI, S. DE; GIANNOZZI, P. Phonon dispersions in $\text{Ga}_{\text{x}}\text{Al}_{1-\text{x}}\text{As}$ alloys. **Physical Review Letters**, v. 65, n. 1, p. 84, 1990.
- BERRETTINI, M. G. et al. NMR analysis of surfaces and interfaces in 2-nm CdSe. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 22, p. 7063–70, 9 jun. 2004.
- BOWERS, M. J.; MCBRIDE, J. R.; ROSENTHAL, S. J. White-Light Emission from Magic-Sized Cadmium Selenide Nanocrystals. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 44, p. 15378–15379, 18 out. 2005.
- CAMPBELL, I. H.; FAUCHET, P. M. The effects of microcrystal size and shape on the one phonon Raman spectra of crystalline semiconductors. **Solid State Communications**, v. 58, n. 10, p. 739–741, jun. 1986.
- CHANG, E. et al. Evaluation of quantum dot cytotoxicity based on intracellular uptake. **Small**, v. 2, p. 1412–1417, 2006.
- CHEN, N. et al. The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots. **Biomaterials**, v. 33, p. 1238–1244, 2012.
- CLIFT, M. J. ET AL. The impact of different nanoparticle surface chemistry and size on uptake and toxicity in a murine macrophage cell line. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 232, p. 418–427, 2008.
- COMAS, F.; TRALLERO-GINER, C. Interface optical phonons in spherical quantum-dot/quantum-well heterostructures. **Physical Review B**, v. 67, n. 11, p. 115301, mar. 2003.
- DELEHANTY, J. B.; MATTOUSSI, H.; MEDINTZ, I. L. Delivering quantum dots into cells: strategies, progress and remaining issues. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, p. 1091–1105, 2009.

DUKES, A. D.; MCBRIDE, J. R.; ROSENTHAL, S. J. Synthesis of Magic-Sized CdSe and CdTe Nanocrystals with Diisooctylphosphinic Acid. **Chemistry of Materials**, v. 22, n. 23, p. 6402–6408, 14 dez. 2010.

DUNN, C. D. et al. The influence of alpha thioglycerol on erythropoiesis in fetal mouse liver cell cultures. **Biomedicine**, v. 27, p. 185–187, 1977.

DZHAGAN, V. M. et al. Resonant Raman scattering study of CdSe nanocrystals passivated with CdS and ZnS. **Nanotechnology**, v. 18, n. 28, p. 285701, 18 jul. 2007.

DZHAGAN, V. M. et al. Spectral features above LO phonon frequency in resonant Raman scattering spectra of small CdSe nanoparticles. **Journal of Applied Physics**, v. 106, n. 8, p. 084318, 2009a.

DZHAGAN, V. M. et al. The influence of shell parameters on phonons in core-shell nanoparticles: a resonant Raman study. **Nanotechnology**, v. 20, n. 36, p. 365704, 9 set. 2009b.

GUPTA, M. et al. Nitrilotriacetic Acid-Derivatized Quantum Dots for Simple Purification and Site-Selective Fluorescent Labeling of Active Proteins in a Single Step. **Bioconjugate Chemistry**, v. 19, p. 1964–1967, 2008.

HAN, H.; SHENG, Z.; LIANG, J. A novel method for the preparation of water-soluble and small-size CdSe quantum dots. **Materials Letters**, v. 60, n. 29-30, p. 3782–3785, dez. 2006.

HOSHINO, A. et al. Physicochemical Properties and Cellular Toxicity of Nanocrystal Quantum Dots Depend on Their Surface Modification. **Nano Letters**, n. 4, p. 2163–2169, 2004.

JELLISON, G. E. Use of the biased estimator in the interpretation of spectroscopic ellipsometry data. **Applied Optics**, v. 30, n. 23, p. 3354–60, 10 ago. 1991.

JIANG, P. et al. Pang, D. W. Water-soluble Ag₂S quantum dots for near-infrared fluorescence imaging in vivo. **Biomaterials**, v. 33, p. 5130–5135, 2012.

JUSSERAND, B.; PAQUET, D.; MOLLOT, F. Dispersive character of optical phonons in GaAlAs alloys from Raman scattering in superlattices. **Physical Review Letters**, v. 63, n. 21, p. 2397–2400, 1989.

KIM, D. I. et al. Contribution of the Loss of Nanocrystal Ligands to Interdot Coupling in Films of Small CdSe/1-Thioglycerol Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 26, p. 6318–6323, 5 jun. 2003.

KOMADA, S. et al. Optical properties of manganese-doped zinc sulfide nanoparticles classified by size using poor solvent. **Advanced Powder Technology**, v. 23, n. 6, p. 872–877, nov. 2012.

KUBBIES, M. et al. Improvement of human lymphocyte proliferation and alteration of IL-2 secretion kinetics by alpha-thioglycerol. **Lymphokine research**, v. 9, p. 95–106, 1990.

KUDERA, S. et al. Sequential Growth of Magic-Size CdSe Nanocrystals. **Advanced Materials**, v. 19, n. 4, p. 548–552, 19 fev. 2007.

LANGE, H. et al. Effect of ZnS shell on the Raman spectra from CdSe nanorods. **physica status solidi (RRL) – Rapid Research Letters**, v. 1, n. 6, p. 274–276, 1 nov. 2007.

- LI, J. J. et al. Large-scale synthesis of nearly monodisperse CdSe/CdS core/shell nanocrystals using air-stable reagents via successive ion layer adsorption and reaction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 41, p. 12567–75, 15 out. 2003.
- LI, K. G. et al. Intracellular oxidative stress and cadmium ions release induce cytotoxicity of unmodified cadmium sulfide quantum dots. **Toxicology In Vitro**, v. 23, p. 1007–1013, 2009.
- LU, L. et al. Raman analysis of CdSe/CdS core–shell quantum dots with different CdS shell thickness. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 19, n. 40, p. 406221, 2007.
- MCBRIDE, J. R. et al. On Ultrasmall Nanocrystals. **Chemical Physics Letters**, v. 498, n. 1-3, p. 1–9, 30 set. 2010.
- MEKIS, I. et al. One-Pot Synthesis of Highly Luminescent CdSe / CdS Core - Shell Nanocrystals via Organometallic and “ Greener ” Chemical Approaches. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, p. 7454–7462, 2003.
- MURASE, N.; GAPONIK, N.; WELLER, H. Effect of chemical composition on luminescence of thiol-stabilized CdTe nanocrystals. **Nanoscale research letters**, v. 2, n. 5, p. 230–4, jan. 2007.
- NEELESHWAR, S. et al. Size-dependent properties of CdSe quantum dots. **Physical Review B**, v. 71, n. 20, p. 201307, maio 2005.
- NETO, E. S. F. et al. Resonant Raman scattering in CdS_xSe_{1-x} nanocrystals: effects of phonon confinement, composition, and elastic strain. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 42, n. 8, p. 1660–1669, 2 ago. 2011.
- NGUYEN, K. A.; DAY, P. N.; PACTER, R. Understanding Structural and Optical Properties of Nanoscale CdSe Magic-Size Quantum Dots: Insight from Computational Prediction. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 39, p. 16197–16209, 9 set. 2010.
- NURBOSYN, J. et al. Structure-property correlation of CdSe clusters using experimental results and first-principles DFT calculations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 2, p. 629–36, 18 jan. 2006.
- ONG, I. S. Attachment of nanoparticles to the AFM tips for direct measurements of interaction between a single nanoparticle and surfaces. **J Colloid Interf Sci**, v. 310, p. 385–90, 2007.
- OUYANG, J. ET AL. Multiple families of magic-sized CdSe nanocrystals with strong bandgap photoluminescence via noninjection one-pot syntheses. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, p. 13805–13811, 2008.
- PAL, M. et al. A facile one-pot synthesis of highly luminescent CdS nanoparticles using thioglycerol as capping agent. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 14, n. 6, p. 916, 8 jun. 2012.
- PAN, B. F. et al. Covalent attachment of quantum dot on carbon nanotubes. **Chemical Physics Letters**, v. 417, p. 419–424, 2006.
- PAN, D. et al. Synthesis of Extremely Small CdSe and Highly Luminescent CdSe/CdS Core-Shell Nanocrystals via a Novel Two-Phase Thermal Approach. **Advanced Materials**, v. 17, n. 2, p. 176–179, 31 jan. 2005.

- PENG, X. et al. Epitaxial Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility. **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, n. 30, p. 7019–7029, 1 jul. 1997.
- PEREZ-DONOSO, J. M. et al. Biomimetic, Mild Chemical Synthesis of CdTe-GSH Quantum Dots with Improved Biocompatibility. **Plos One**, v. 7, 2012.
- PILLA, V. et al. Fluorescence quantum efficiency of CdSe/CdS magic-sized quantum dots functionalized with carboxyl or hydroxyl groups. **Chemical Physics Letters**, v. 580, p. 130–134, ago. 2013.
- PRASAD, B. R. et al. Effects of long-term exposure of gelatinated and non-gelatinated cadmium telluride quantum dots on differentiated PC12 cells. **Journal of nanobiotechnology**, v. 10, n. 1, p. 4, jan. 2012.
- PROTIÈRE, M.; REISS, P. Facile synthesis of monodisperse ZnS capped CdS nanocrystals exhibiting efficient blue emission. **Nanoscale Research Letters**, v. 1, n. 1, p. 62–67, 25 jul. 2006.
- REISS, P.; PROTIÈRE, M.; LI, L. Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. **Small**, v. 5, n. 2, p. 154–168, 19 jan. 2009.
- RICHTER, H.; WANG, Z. P.; LEY, L. The one phonon Raman spectrum in microcrystalline silicon. **Solid State Communications**, v. 39, n. 5, p. 625–629, ago. 1981.
- RIEHLE, F. S. et al. Blue Luminescence and Superstructures from Magic Size Clusters of CdSe. **Nano Letters**, v. 9, n. 2, p. 514–518, 13 jan. 2009.
- ROGACH, A. L. et al. Synthesis and Characterization of a Size Series of Extremely Small Thiol-Stabilized CdSe Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 16, p. 3065–3069, 1 abr. 1999.
- ROODENKO, K. et al. Modified phonon confinement model for Raman spectroscopy of nanostructured materials. **Physical Review B**, v. 82, n. 11, p. 115210, 20 set. 2010.
- RYMAN-RASMUSSEN, J. P.; RIVIERE, J. E.; MONTEIRO-RIVIERE, N. A. Surface coatings determine cytotoxicity and irritation potential of quantum dot nanoparticles in epidermal keratinocytes. **The Journal of investigative dermatology**, v. 127, n. 1, p. 143–53, jan. 2007.
- SATHYAMOORTHY, R. et al. Low temperature synthesis of thiol-functionalized CdTe nanoclusters with different tellurium contents. **Crystal Research and Technology**, v. 45, n. 1, p. 99–103, 1 jan. 2010.
- SINGHA, A. et al. Electron and phonon confinement and surface phonon modes in CdSe–CdS core–shell nanocrystals. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 17, n. 37, p. 5697, 2005.
- SOCRATES, G. **Infrared characteristic group frequencies**. [s.l.] Wiley, 1980.
- SOLOVIEV, V. N. et al. Molecular Limit of a Bulk Semiconductor: Size Dependence of the “Band Gap” in CdSe Cluster Molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 11, p. 2673–2674, 1 mar. 2000.

STRECKERT, H. H.; ELLIS, A. B. Mapping the efficiency of electron-hole pair separation for a semiconductor electrode. Luminescent properties of graded cadmium sulfoselenide electrodes. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 86, n. 25, p. 4921–4926, 1 dez. 1982.

TALAPIN, D. V. et al. Highly Luminescent Monodisperse CdSe and CdSe/ZnS Nanocrystals Synthesized in a Hexadecylamine-Trioctylphosphine Oxide-Trioctylphosphine Mixture. **Nano Letters**, v. 1, n. 4, p. 207–211, abr. 2001.

TSCHIRNER, N. et al. Interfacial Alloying in CdSe/CdS Heteronanocrystals: A Raman Spectroscopy Analysis. **Chemistry of Materials**, v. 24, n. 2, p. 311–318, 24 jan. 2012.

UNNI, C.; PHILIP, D.; GOPCHANDRAN, K. G. Studies on optical absorption and photoluminescence of thioglycerol-stabilized CdS quantum dots. **Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy**, v. 71, n. 4, p. 1402–7, 15 dez. 2008.

VALLIÈRES, K. et al. AFM imaging of immobilized fibronectin: does the surface conjugation scheme affect the protein orientation/conformation? **Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids**, v. 23, n. 19, p. 9745–51, 11 set. 2007.

WINTER, J. O. et al. Variation of cadmium sulfide nanoparticle size and photoluminescence intensity with altered aqueous synthesis conditions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 254, n. 1-3, p. 147–157, mar. 2005.

WUISTER, S. F.; MEIJERINK, A. Synthesis and luminescence of CdS quantum dots capped with a silica precursor. **Journal of Luminescence**, v. 105, n. 1, p. 35–43, set. 2003.

YU, W. W. et al. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 14, p. 2854–2860, 7 jun. 2003.

ZHANG, J.; ZHANG, X.; ZHANG, J. Y. Dependence of Microstructure and Luminescence on Shell Layers in Colloidal CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 9, p. 3904–3908, 15 fev. 2010.

Capítulo IV

IV. Conclusões Finais

Nesse estudo, inicialmente, foram propostas modificações no modelo de confinamento de fônons, tais como, a variação da função peso de fônon para nanoestruturas esféricas com o objetivo de melhorar a descrição de fônons ópticos confinados. O modelo modificado indicou as diferenças entre o confinamento de fônons no núcleo (CdSe) e no material da casca (CdS), de modo que ele pode ser utilizado para estudar nanocristais esféricos do tipo: apenas núcleo, núcleo/casca e núcleo/multicascas. Assim, o modelo modificado de confinamento de fônons, também, funciona como uma ferramenta importante para avaliar as mudanças na dispersão média de fônon LO induzida por uma liga interfacial ou efeitos de *strain* em nanocristais núcleo/casca. Comprovou-se por duas metodologias de síntese diferentes o controle da espessura da casca de CdS, a primeira foi dos MSPQs em função da temperatura de síntese e a outra dos USPQs em função da concentração de estabilizante. Com base, na primeira metodologia, foram sintetizados MSPQs de CdSe/CdS_xSe_{1-x} e analisados os seus efeitos em contato com células HeLa, em que foi demonstrada a luminescência altamente estável mesmo após 36 h. Posteriormente, sintetizou-se MSPQs de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS com grupamento hidroxila e outro com ácido carboxílico, foi e observado que eles apresentaram baixa citotoxicidade e nenhuma resposta imunogênica. O MSPQ funcionalizado com ácido carboxílico foi bioconjugado com um anticorpo específico ao câncer de mama, demonstrando a sua grande aplicabilidade como sensor biológico. Além desses resultados, controlou-se a citotoxicidade dos MSPQs de CdSe em função da densidade de íons de cádmio adsorvidos na superfície dos pontos quânticos.

Lista de Artigos Publicados e Submetidos dessa Tese de Doutorado

- Artigos Publicados

- Modified Phonon Confinement Model and its Application to CdSe/CdS Core-Shell Magic-Sized Quantum Dots Synthesized in Aqueous Solution by a New Route.
Anielle Christine Almeida Silva ; Ernesto Soares de Freitas Neto ; Sebastião William da Silva ; Paulo Cesar de Moraes ; Noelio Oliveira Dantas .**Journal of Physical Chemistry. C, v. 117, p. 1904-1914, 2013.**
- Highly Stable Luminescence of CdSe Magic-Sized Quantum Dots in HeLa Cells.
Anielle Christine Almeida Silva; Samantha Luara Vieira de Deus ; Marcelo José Barbosa Silva ; Noelio Oliveira Dantas.**Sensors and Actuators. B, Chemical, v. 191, p. 108-114, 2014.**
- Shell Thickness Modulation in Ultrasmall CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS Core/Shell Quantum Dots Via 1-Thioglycerol.
Anielle Christine Almeida Silva; Sebastião William da Silva ; Paulo Cesar de Moraes; Noelio Oliveira Dantas. **ACS Nano, v. 8, p. 1913-1922, 2014.**

- Artigos Submetidos

CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS Magic Sized Quantum dots: a New Probe for Labeling Biological Targets Submetido na Advanced Functional Materials.

- Artigos em Fase de Submissão

Pontos Quânticos de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS Altamente Estáveis por Anos e Biocompatíveis.

Controle da Citotoxicidade de Pontos Quânticos de CdSe de Tamanhos Mágicos como função da Densidade de Níveis de Defeitos de Superfície.

Futuros Trabalhos

- Sintetizar pontos quânticos de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS/A (A = ZnO,TiO₂, Fe₂O₃, Ag e Au) e controlar a espessura da casca, a fim de investigar mudanças nas propriedades físicas e biológicas. Padronização da síntese de CdSe/CdS_xSe_{1-x}/CdS/TiO₂, que apresentou resultados bastante interessantes, e que não foram incorporados nessa Tese.
- Funcionalizar os pontos quânticos com outros tipos de grupamentos químicos, tais como, amina e tiol, visando outros tipos de bioconjugação.