



Leonardo Melo de Lima

Síntese em sistemas microfluídicos de nanopartículas de CdTe e de Ag para estudo qualitativo de interação em fluxo e preparação de filmes finos desses nanomateriais

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Omar Pandoli

Rio de Janeiro
Abril de 2017



Leonardo Melo de Lima

Síntese em sistemas microfluídicos de nanopartículas de CdTe e de Ag para estudo qualitativo de interação em fluxo e preparação de filmes finos desses nanomateriais

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Omar Pandoli

Orientador

Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Ricardo Queiroz Aucélio

Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Jiang Kai

Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Tomasso Del Rosso

Departamento de Física - PUC-Rio

Prof. Márcio da Silveira Carvalho

Coordenador Setorial do Centro

Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 03 de abril de 2017

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Leonardo Melo de Lima

Graduou-se em Bacharelado Química pela Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO) em 2013. Possui experiência em controle de qualidade de matéria-prima.

Ficha Catalográfica

De Lima, Leonardo Melo

Síntese em sistemas microfluídicos de nanopartículas de CdTe e de Ag para estudo qualitativo de interação em fluxo e preparação de filmes finos desses nanomateriais / Leonardo Melo de Lima; orientador: Omar Pandoli. – 2017.

174f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2017.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Química em Fluxo. 3. Microfluídica. 4. Ponto Quânticos. 5. Nanopartículas de Prata. 6. Filmes finos. I. Pandoli, Omar. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

CDD: 540

Dedico este trabalho a Deus.

Agradecimentos

A Deus, primeiramente, por ter me dado a vida, a paz que excede todo o entendimento e a oportunidade de cursar esse mestrado.

Ao professor PhD. Omar Pandoli, pela orientação concedida, incentivo, apoio, amizade e dedicação.

Aos membros da banca prof. Ricardo Aucélio, Jiang Kai e Tomasso Del Rosso pela disponibilidade e por terem aceitado o convite para participar da banca.

Aos meus pais, Sonia Melo de Lima e Marcos Antonio Pereira de Lima, irmãos e minha madrinha Marinha da Penha pelo apoio, amor, paciência e incentivo.

Aos meus sobrinhos Yan, Luan, Ana Eloisa, Paulo Arthur, Samira, Isaias que me trouxeram sorrisos em momentos difíceis.

Ao Jhonathan Chistopher A. de Lima por estar sempre ao meu lado.

À Ana Beatriz e Druval de Sá pelo amor, amizade e por ter me feito tio de Pedro Henrique de Sá. Agradeço a Deus por ter posto vocês em minha vida. O carinho foi fundamental para conclusão dessa dissertação.

Aos Professores Whei Oh Lin, Giseli Capaci e Luciano Freitas, pelas cartas de referência, e contribuição para minhas tomadas de decisões acadêmicas.

Aos meus amigos de graduação Raiane Lima, Anderson Chagas, Eduardo Mangefeste e Mauricio Limp que não me deixaram desistir dos primeiros passos acadêmicos.

A todos os amigos do curso de pós-graduação: Helmut Padilha, Luis Miguel Luíza, Marlin, Wendy, Wenndy, Toloza, Maria Fernanda, Mauricio, Evelina, Joseany, Verônica, Jefferson, Letícia Luz e Glaucia pelo apoio.

Aos meus amigos e irmãos de laboratório: Raquel Martins, Silvânia Lima, Leonardo Ewbank, Cecilia Siqueira, Rodrigo Dias, Juliana Brasil e Juliana Martins por estarem comigo em todos os momentos e por compartilharem o conhecimento e sentimentos, importantes para a vida.

À Fátima Almeida pelo cuidado e carinho dado durante estes 2 anos.

À PUC-Rio, pela oportunidade de realizar um curso de pós-graduação.

Ao laboratório de LEEA coordenado pelo prof. Ricardo Alcéllo e ao laboratório LOEM coordenado pelo prof. Marco Cremona por cederem os equipamentos.

Ao CNPq, FAPERJ e CAPES pela confiança e apoio financeiro concedido.

Resumo

De Lima, Leonardo Melo; Pandoli, Omar. **Síntese em sistemas microfluídicos de nanopartículas de CdTe e de Ag para estudo qualitativo de interação em fluxo e preparação de filmes finos desses nanomateriais.** Rio de Janeiro, 2017. 174p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Materiais nanoestruturados como nanocristais semicondutores de telureto de cádmio (QDs de CdTe) e nanopartículas metálicas de prata (NPsAg) têm sido utilizados como nanosondas analíticas, explorando suas propriedades de luminescência e de ressonância de superfície plasmônica localizada (LSPR), respectivamente, sejam em dispersão coloidal ou em filmes finos. Em função das suas configurações experimentais, sistemas microfluídicos podem ser utilizados tanto para síntese de materiais nanoestruturados quanto para análise de analitos de interesses biológicos. No presente estudo, QDs-CdTe encapados com ácido tioglicólico (TGA) foram sintetizados em batelada e em regime de fluxo contínuo a partir da injeção dos precursores de cádmio e telúrio por bombas-seringas para um sistema de tubos de aço passando por fornos tubulares horizontais com controladores de temperatura (110-140 °C). Para otimizar os parâmetros experimentais foram variados a taxa de vazão volumétrica (0,15 - 0,03 mL min⁻¹) e a razão molar de Cd:Te (1:0,3 - 1:1,5). Os resultados demonstraram que o efeito da razão molar na síntese de QDs apresentou ser mais significativo em comparação à variação da temperatura, obtendo QDs com FWHM de 64 – 86 nm. Filmes luminescentes poliméricos de PVA e PDMS foram desenvolvidos pelas técnicas de impregnação, mistura de QDs na matriz polimérica e por *spin coating*. Pela técnica de *spin coating* foram produzidos filmes de 58,7 nm. Filmes de QDs sobre substrato de vidro foram obtidos pelo processo de silanização da superfície do vidro. Todos os filmes apresentaram instabilidade de luminescência ao longo do tempo. Dispersões coloidais de NPsAg revestidas com ligantes orgânicos citrato e tartarato, nas razões Ag⁺:ligante (1:1 e 1:0,5), foram sintetizadas a partir

da injeção dos ligantes e nitrato de prata por bombas-seringas em um microrreator tubular polimérico. As NPsAg-citrato e NPsAg-tartarato apresentaram cargas superficiais negativas e tamanhos médios de 12,5 nm. As bandas LSPR foram observadas para monitorar a interação entre as nanosonda de prata e os fármacos aminoglicosídico em fluxo contínuo mediante um fotômetro acoplado a uma cela de fluxo. Nas concentrações iguais ou maior que $2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, produziu uma mudança no perfil espectral da nanosonda de NPsAg, com o decaimento do sinal no comprimento de onda 404 nm e o surgimento de uma nova banda em 480 nm, resultante da aglomeração das nanopartículas. Além disso, as NPsAg-tartarato foram depositadas sobre substrato de vidro para realização de filmes fino com objetivo de desenvolver, em parceria com a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), um biosensor baseado na ressonância plasmônica localizada (LSPR) para determinação do antígeno *Candida albicans*.

Palavras-chave

Química em fluxo; microfluídica; pontos quânticos; nanopartículas de prata; filmes finos.

Abstract

De Lima, Leonardo Melo; Pandoli, Omar (Advisor). **Synthesis of CdTe and Ag nanoparticles in microfluidic systems aiming a qualitative study of interaction in flow and the preparation of thin films of these nanomaterials.** Rio de Janeiro, 2017. 174p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Nanostructured materials such as cadmium telluride semiconductor nanocrystals (QDs-CdTe) and silver nanoparticles (NPsAg) have been used as analytical nanoprobes, exploiting their luminescence properties and localized plasmonic surface resonance (LSPR), respectively, both in colloidal suspension or on thin solid films. Due to their experimental set-up, microfluidic systems can be used, both, for synthesis of nanostructured materials and for the analytic detection of biological and pharmaceutical compounds. In the present study, thioglycolic acid (TGA) coated QDs-CdTe were synthesized in batch and in a continuous flow regime from the injection of cadmium and tellurium precursors by syringe pumps into a steel tubes through horizontal tubular furnaces with temperature controllers (110 - 140 °C). To optimize the experimental conditions, we modulate the volumetric flow rate (0.15 - 0.03 mL min⁻¹) and the Cd:Te molar ratio (1:0.3 - 1:1.5). The results showed that the effect of the molar ratio on the synthesis of QDs was more significant compared to the temperature variation, obtaining QDs with FWHM of 64 - 86 nm. Polymeric luminescent films with PDMS e PVA were developed with impregnation, mixing QDs-TGA in PDMS and PVA and spin coating techniques. By the spin coating technique we produced luminescent film of 58.7 nm thickness. QDs-TGA film on glass substrate were obtained by means of surface silanization. All the film showed luminescence instability over time. Colloidal dispersions of NPsAg coated with the organic citrate and tartrate ligands in the Ag⁺/ligand ratios (1:1 and 1:0.5) were synthesized from the injection of organic ligands and silver nitrate by syringe pumps into a polymeric tubular micro-reactor. NPsAg-citrate and NPsAg-tartrate presented negative surface charges and average sizes of 12.5. The SPR band was

monitored to follow the interaction between the silver nanoprobe with kanamycin and neomycin drugs by means of a flow cell coupled to a photometry. At concentrations equal or greater than 2×10^{-7} mol L⁻¹ the LSPR band changed its spectral profile. LSPR maximum band, centered at 404 nm, decayed and appeared a new band at 480 nm resulting from the agglomeration of the nanoparticles. Moreover, in a partnership with the Federal University of Pernambuco (UFPE), NPsAg-tartrate were deposited on glass for the realization of thin film with the object to development a biosensor based on localized plasmon resonance (LSPR) for determination of *Candida albicans* antigen.

Keywords

Flow chemistry; microfluidic; quantum dots; silver nanoparticles; thin films.

Sumário

1. Contextualização do trabalho e objetivos	26
1.1 Contexto	26
1.1.2. Estrutura da dissertação	27
1.2. Objetivos	29
1.2.1. Objetivo geral	29
1.2.2. Objetivos específicos	29
1.3. Introdução	30
1.3.1. Tecnologia de reatores químicos em microescala (MRT, Micro Reactor Technology)	30
1.3.1.1. Fabricação de dispositivos microfluídicos	33
1.3.1.2. Instrumentação integrada ao Microrreator	33
1.3.1.3. Aplicação sintética em fluxo contínuo com monitoramento on-line	34
1.3.1.4. Microssistemas para análises totais (microTAS)	36
1.3.2. Espectroscopia de fluorescência/luminescência associado aos QDS	38
1.3.2.2. Nanomateriais semicondutores	38
1.3.2.3. Propriedades elétricas	41
1.3.2.4. Quantum dots(QDs)	43
1.3.2.5. Síntese de quantum dots em fluxo	43
1.3.2.6. Aplicações analíticas de nanosondas semicondutoras, quantum dots	45
1.3.3. Espectroscopia UV-VIS associado aos fenômeno SPR e LSPR de nanopartículas metálicas	48
1.3.3.1. Nanopartículas Metálicas e Estabilizadores	48

1.3.3.2. Nanopartículas de prata (NPsAg)	52
1.3.3.3. Ressonância Plasmônica de Superfície - SPR	53
1.3.3.4. Ressonância plasmônica de superfície localizada - LSPR	54
1.3.3.5. Síntese de Nanopartículas metálicas em fluxo	55
1.3.3.6. Aplicações de Sensores SPR / LSPR	57
1.3.4. Filmes poliméricos funcionalizado com materiais nanoestruturados, nanocompósito.	60
 2 Materiais, Instrumentação e Procedimentos Experimentais.	 63
2.1. Materiais e Reagentes	63
2.1.1. Reagentes	63
2.1.2. Materiais	64
2.2. Equipamentos	64
2.3. Configurações experimentais	65
2.4. Procedimento Experimental - parte I	72
2.4.1. Síntese de QDs-TGA em batelada	72
2.4.2. Síntese de QDs-TGA em fluxo contínuo	74
2.4.3. Medição espectrofotométrica dos QDs-TGA	76
2.4.4. Análise para carga superficial dos QDs-TGA por potencial zeta	76
2.4.5. Determinação da eficiência quântica dos QDs-TGA	77
2.4.6. Análise fluorimétrica e efeito da vazão volumétrica em fluxo contínuo	77
2.4.7. Filmes finos de QDs-TGA em matrizes poliméricas para prototipagem de substrato analítico utilizado como nanosondas.	78
2.4.7.1. Impregnação de QDs-TGA em PDMS	78
2.4.7.2. Preparação do compósito de PDMS-QDs-TGA	79
2.4.7.3. Compósito PVA-QD-TGA sobre substrato de vidro	80

2.4.7.4. Estudo de solubilidade das películas de PVA-QDs-TGA	81
2.4.7.5. Película de PVA-QDs-TGA por <i>spin-coating</i> sobre lâmina de vidro	82
2.4.8. Filme de QDs-TGA sobre substrato de vidro limpos, hidroxilados e silanizados com APTS ou AEAPTS	83
2.4.8.1. Limpeza dos vidros	83
2.4.8.2. Hidroxilação dos vidros	84
2.4.8.3. Silanização dos vidros com APTS, AEAPTS ou MPTS.	85
2.4.8.4. Funcionalização das lâminas silanizadas-AEAPTS com QDs-TGA-EDC-NHS	85
2.4.8.5. Funcionalização das lâminas silanizadas-AEAPTS com QD-TGA-EDC	86
2.4.8.6. Modificação da superfície dos QDs-TGA com APTS/AEAPTS para funcionalização das lâminas de vidro limpas e hidroxiladas	86
2.4.9. Estudo de estabilidade das lâminas funcionalizadas com QDs-TGA	88
2.5. Procedimento Experimental - parte II	88
2.5.1. Síntese NPsAg-ligante em fluxo contínuo	88
2.5.2. Medição espectrofotométrica das NPsAg-ligante em fluxo contínuo	89
2.5.2.1. Medição espectrofotométrica do efeito da vazão volumétrica das NPsAg-ligante em fluxo contínuo	89
2.5.2.2. Medição espectrofotométrica do efeito da diluição das NPsAg-ligante em fluxo contínuo.	90
2.5.2.3. Análise em UV-Vis para a determinação dos fármacos com NPsAg-ligante em batelada	90

2.5.2.4. Análise em UV-Vis para a determinação dos fármacos com NPsAg-ligante em fluxo contínuo	90
2.5.3. Filmes finos de NPsAg-ligante depositadas sobre substrato de vidro silanizados com MPTS.	91
3 Resultados e discussão – Parte I	93
3.1. Comparação entre a síntese de QDs-TGA em batelada e a síntese de QDs-TGA em fluxo contínuo	93
3.1.1. Síntese de QDs de CdTe-TGA em batelada	93
3.2. Síntese de QDs CdTe-TGA em fluxo	97
3.2.1. Efeito da variação da temperatura e vazão de injeção	97
3.2.2. Efeito da variação da razão molar Cd:Te	102
3.3. Caracterização espectrofotométrica dos QDs-TGA (batelada)	105
3.4. Análise fluorimétrica dos QDs e efeito da vazão volumétrica em fluxo contínuo	106
3.5. Determinação da carga superficial dos QDs-TGA sintetizados em batelada	108
3.6. Filmes finos de QDs-TGA em matrizes polimérica	108
3.7. Compósito de PVA-QDs-TGA sobre substrato de vidro	112
3.8. PVA-QDs-TGA por Spin-Coating sobre lâmina de vidro	115
3.9. Caracterização da superfície dos substratos de vidro para silanização e criação de filme de nanopartículas	119
3.9.1. Limpeza dos vidros e hidroxilação dos vidros	119
3.9.2. Silanização dos vidros com APTS, AEAPTS e MPTS.	122
3.10. Funcionalização das lâminas com QDs-TGA	124
3.10.1. Funcionalização das lâminas silanizadas-AEAPTS com QDs-TGA-EDC-NHS	125
3.10.2. Funcionalização das lâminas silanizadas-AEAPTS com QD-TGA-EDC	125

3.10.3. Modificação da superfície dos QDs-TGA com APTS/AEPTS para funcionalização das lâminas de vidro limpas e hidroxiladas	127
4 Resultados e discussão – Parte II	130
4.1. Síntese e caracterização das NPsAg-ligante.	130
4.2. Análises em fluxo contínuo	132
4.3. Efeito da vazão volumétrica em UV-vis das NPsAg-citrato em fluxo contínuo	133
4.4. Efeito da diluição das NPsAg-citrato 1:1 em UV-vis em fluxo contínuo	134
4.5. Medição espectrofotométrica em UV-vis da interação das NPsAg-citrato em fluxo contínuo com fármaco.	136
4.5.1. Interação das NPsAg-citrato1:1 com a neomicina	137
4.5.2. Interação das NPsAg-citrato1:1 com a canamicina	143
4.5.3. Substrato de vidro funcionalizado com NPsAg-tartarato	148
5 Conclusões	152
6 Etapas futuras	154
7 Referências bibliográficas	155
8 Apêndice	171

Lista de figuras

Figura 1. Visão geral da proposta da presente dissertação	
Visão geral da proposta da presente dissertação	27
Figura 2. Tipos de fluxo de acordo com o regime de mistura	32
Figura 3. Estrutura de bandas para materiais semicondutores	39
Figura 4. Excitação de um elétron por um fóton de energia superior ou igual a E_g , indo da BV para a BC	40
Figura 5. Bioconjugação de QDs-MPA com proteína, utilizando o catalizador EDC (1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, para amidação	47
Figura 6. Representação da redução e estabilização de uma NP-Ag a partir de um redutor forte (NaBH_4) e um estabilizador	50
Figura 7. Representação dos tipos de estabilização de NPs. A) estabilização por forças eletrostáticas; ou por B) efeito estérico	51
Figura 8. Estrutura molecular do citrato trissódico	52
Figura 9. Estrutura molecular do tartarato de sódio e potássio tetra hidratado	52
Figura 10. LSPR <i>versus</i> SPR	54
Figura 11. Esquemas do princípio de detecção para os sistemas SPR (esquerda) e LSPR (direita)	58
Figura 12. O setup experimental para obtenção dos espectros de UV-vis em fluxo contínuo: 1) Bombas-seringas e conectores; 2) Tubulações de 30 cm, 3) micromisturador-T; 4) Tubulações de 90 cm com coil; 5) Cella de fluxo-Z; 6) fonte de UV-vis; 7) Cabo de fibra ótica 20 cm; 8) Cabo de fibra ótica 2 m; 9) Detector USB2000+; 10) descarte; 11) Mesa óptica; 12) cabo USB para conexão ao PC com software SpectraSuite	66

Figura 13. Esquema da cela óptica para medida de absorvância em fluxo	67
Figura 14. Setup para obtenção dos espectros de fotoluminescência em fluxo contínuo. 1) Bombas-seringas e conectores; 2) Tubo de 30 cm; 3) Micromisturador-T e flangeless; 4) Tubo 90 cm com coil; 5) Cela de fluxo de fotoluminescência; 6) Fibra ótica 20 cm; 7) Espectrômetro USB 2000+; 8) Fibra ótica 1 m; 9) Fonte 365 nm; 10) Descarte; 11) Mesa óptica; 12) Computador	68
Figura 15. Esquema da cela óptica para medida de fotoluminescência em fluxo	68
Figura 16. Setup C - análise fluorimétrica em porta-cubeta A) Fonte de luz LED LSS; B) Fibra ótica 25 cm; C) Porta-cubeta (CUV-ALL-UV); D) Fibra ótica 1 m; E) Espectrômetro USB 2000+; F) Cabo USB; G) Porta-cubeta aberto; H) Cubeta de quartzo; I) Tampa; J) Suporte para lâmina	69
Figura 17. L) Projeto do suporte de lâmina de vidro; M) suporte de lâmina de vidro com lâmina funcionalizada com QDs-TGA	70
Figura 18. Setup D - Síntese de QDs de CdTe-TGA em fluxo contínuo 1 e 2) Bombas-seringas e conectores; 3 e 10) Tubo de aço de 40 cm; 4) Tubo de PFA de 20 cm, 5) Conector-T em aço; 6 e 7) Fornos tubulares com janelas comunicantes; 8 e 9) Controladores de temperatura; 11) Vial de 5 mL	71
Figura 19. Fornos alinhados com os tubos conectados no "T", passando pelas cavidades internas dos fornos e também os flanges removíveis. A – visão externa 1) Tubo de aço inoxidável; 2) Longarinas de alumínio; 3) Conectar em "T"; 4) Flanges de alumínio 5) Tubo e conectores de aço inoxidável; 6) Pedestais de alumínio; 7) Base de alumínio B – Visão interna 8) Resistência; 9) Tubo de aço inoxidável; 10) Tubo de alumina	72

Figura 20. Síntese de CdTe-TGA. (A – balão contendo NaHTe, B – balão contendo CdCl ₂ .TGA, C – bomba peristáltica	74
Figura 21. Sistema de síntese em fluxo de NPsAg-ligante. A) Bomba seringa contendo de AgNO ₃ 1,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ B) Bomba seringa contendo ligante 0,5 ou 1,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ C) micromisturador-T para complexação Ag-Ligante, D) Vial com NaBH ₄ 1,25 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹	89
Figura 22. Processo de redução do telúrio metálico com NaBH ₄ . A) Suspensão de telúrio; B) Solução de NaHTe	94
Figura 23. A) Dispersão aquosa final de CdTe-TGA. B) Dispersão aquosa CdTe-TGA sob irradiação de LED 365 nm	95
Figura 24. Espectro de emissão de QDs-TGA lote4 antes da centrifugação λ _{excitação} : a e a') 365 nm; b) 405 nm e c) 310 nm após a centrifugação λ _{excitação} 365 nm	96
Figura 25. Espectro de absorção de CdTe-TGA 1,29 × 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	96
Figura 26. Espectros com a intensidade de emissão normalizada CdTe-TGA sintetizados em fluxo contínuo. Variando o fluxo 0,03 - 0,15 mL min ⁻¹ e variando a temperatura do forno 2 em: A) 110 °C; B) 120 °C; C) 130 °C e D) 140 °C	99
Figura 27. Espectros dos QDs com a intensidade normalizada e gráfico FWHM <i>versus</i> razão molar Cd:Te (1:0,3 – 1:1,5), em fornos a 110 °C (A e B); e a 140 °C (C e D), respectivamente	103
Figura 28. Variação do comprimento de onda de emissão das suspensões de QDs em função da variação da razão molar entre Cd:Te experimentados em diferentes taxa de vazão das soluções entre 0,05 - 0,25 mL min ⁻¹ experimentado o forno 2 a duas diferentes temperaturas: 110 °C e 140 °C	105
Figura 29. Espectro de transmissão de infravermelho de TGA e CdTe-TGA sintetizada em batelada	106

Figura 30. Espectro de emissão de fotoluminescência de QDs CdTe-TGA em diferentes vazões volumétricas 0,01 a 0,07 mL min ⁻¹	107
Figura 31. Disposição dos CdTe-TGA na superfície do PDMS após jatos de N ₂ sob fonte de LED 365 nm	109
Figura 32. Compósito PDMS-CdTe-TGA sob LED 365 nm	109
Figura 33. Posição do compósito em cubeta sem supote	110
Figura 34. Espectro da intensidade de fotoluminescência do compósito C ao longo do tempo	111
Figura 35. C) lâminas com filme de PVA-QDs-TGA sem tratamento térmico a / b 0,05 mL de PVA-QDs-TGA c/d 2 mL de PVA-QDs-TGA ; D) lâminas com filme de PVA-QDs-TGA com tratamento térmico e / f 0,05 mL de PVA-QDs-TGA g/h 2 mL de PVA-QDs-TGA. Sob fonte de LED 365 nm	113
Figura 36. A) Película de PVA-QD-TGA feita com 2 mL PVA-QDs-TGA sem tratamento térmico vista sobre LED 365 nm, B) – Película em suporte para sólidos de fluorímetro Perkin Elmer LS45	114
Figura 37. Est de estabilidade ao longo do tempo de 15 dias da película QDs-PVA com 2 mL depositado sobre placa de petri e curada sem tratamento térmico. Utilizado filtro atenuador deixando passar 10% da intensidade	115
Figura 38. Espectro de emissão normalizado dos compósitos PVA-QDs-TGA em diferentes razões (p/v) PVA/QDs-TGA	117
Figura 39. Ângulo de contato (θ) formado pela interface vapor/líquido e líquido/sólido	120
Figura 40. Teste de molhabilidade após limpeza da lâmina de vidro segundo o método 2 de limpeza (solvente orgânicos). A média do ângulo de contato é 18.2°	120

Figura 41. Ângulo de contato, teste de molhabilidade após silanização com APTS 2,5% em tolueno por 2 horas	123
Figura 42. Gotas de água sobre lâminas de vidro silanizadas com AEAPT 2,5% em etanol por 6 horas	124
Figura 43. Lâmina de vidro silanizada com AEAPTS 2,5% e imersa em suspensão de QD-TGA-EDC sob LED 365nm	125
Figura 44. Lâmina funcionalizada com CdTe-TGA por EDC. 1) lâmina irradiada em de LED 365 nm em setup C 2) lâmina sob LED 365 nm, UV-modelo M405L2	127
Figura 45. Esquema dos métodos testados para formação de filmes A) Funcionalização da lâmina de vidro silanizada-AEAPTS e posterior imersão em suspensão de QD-TGA-EDC com Formação de filme. B) Funcionalização da lâmina de vidro silanizada-AEAPTS imersão em suspensão de QD-TGA-EDC-NHS sem formação de filme. C) Funcionalização da lâmina de vidro hidroxilada por plasma cleaner, imersa em suspensão de QD-TGA-AEAPTS sem formação de filme	128
Figura 46. Perfis espectrais de ressonância plasmônica medidos das dispersões de NPsAg-citrato sintetizados em diferentes razões molares Ag ⁺ /citrato (a) 1:1 e (b) 1:0,5	132
Figura 47. A) Perfil espectral de ressonância plasmônica NPsAg-citrato 1:1 diluída em água 1:4 (v/v) em diferentes taxas de vazão volumétrica de 0,1-0,6 mL min ⁻¹ ; B) Linearização das taxas de vazões volumétricas em função da absorvância	134
Figura 48. Espectro do efeito da diluição em fluxo das NPsAg-citrato-1:1 diluídas (1:4) na medida em que aumenta a vazão volumétrica da água a) vazão 0 mL L ⁻¹ ; b) linha em vermelha – retorno; c-f) vazão 0,10-0,40 mL min ⁻¹	135
Figura 49. Espectros da interação das NPsAg-citrato-1:1 com neomicina 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min ⁻¹ ,	

somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min⁻¹, neomicina 0,20 × 10⁻⁸ mol L⁻¹ c) vazão 0,2 mL min⁻¹, neomicina 0,33 × 10⁻⁸ mol L⁻¹; d) vazão 0,3 mL min⁻¹, neomicina 0,43 × 10⁻⁸ mol L⁻¹; e) vazão 0,4 mL min⁻¹, neomicina 0,50 × 10⁻⁸ mol L⁻¹

138

Figura 50. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com neomicina 10⁻⁷ mol L⁻¹ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min⁻¹, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min⁻¹, neomicina 0,20 × 10⁻⁷ mol L⁻¹ c) vazão 0,2 mL min⁻¹, neomicina 0,33 × 10⁻⁷ mol L⁻¹; d) vazão 0,3 mL min⁻¹, neomicina 0,43 × 10⁻⁷ mol L⁻¹; e) vazão 0,4 mL min⁻¹, neomicina 0,50 × 10⁻⁷ mol L⁻¹

139

Figura 51. Espectro da interação das NPsAg-citrato 1:1 com neomicina 10⁻⁶ mol L⁻¹ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min⁻¹, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min⁻¹, neomicina 0,20 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ c) vazão 0,2 mL min⁻¹, neomicina 0,33 × 10⁻⁶ mol L⁻¹; d) vazão 0,3 mL min⁻¹, neomicina 0,43 × 10⁻⁶ mol L⁻¹; e) vazão 0,4 mL min⁻¹, neomicina 0,50 × 10⁻⁶ mol L⁻¹

140

Figura 52. Espectro de diferentes vazões e diferentes concentrações de neomicina

141

Figura 53. Espectros do efeito da diluição das NPsAg-citrato-1:0,5 (1); e interação das NPsAg-citrato-1:0,5 com neomicina 10⁻⁶ mol L⁻¹ em diferentes vazões (2): a) vazão 0 mL min⁻¹, somente NPsAg-citrato-1:0,5 b) vazão 0,10 mL min⁻¹, neomicina 0,29 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ c) vazão 0,15 mL min⁻¹, neomicina 0,38 × 10⁻⁶ mol L⁻¹; d) vazão 0,20 mL min⁻¹, neomicina 0,44 × 10⁻⁶ mol L⁻¹; e) vazão 0,25 mL min⁻¹, neomicina 0,50 × 10⁻⁶ mol L⁻¹

142

Figura 54. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com canamicina 10⁻⁸ mol L⁻¹ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min⁻¹, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min⁻¹, canamicina 0,20 × 10⁻⁸ mol L⁻¹ c) vazão 0,2 mL min⁻¹, canamicina 0,33 × 10⁻⁸ mol L⁻¹; d) vazão 0,3 mL min⁻¹, canamicina 0,43 × 10⁻⁸ mol L⁻¹; e) vazão 0,4 mL min⁻¹, canamicina 0,50 × 10⁻⁸ mol L⁻¹

144

- Figura 55. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com canamicina 10^{-7} mol L⁻¹ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min⁻¹, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min⁻¹, canamicina $0,20 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ c) vazão 0,2 mL min⁻¹, canamicina $0,33 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹; d) vazão 0,3 mL min⁻¹, canamicina $0,43 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹; e) vazão 0,4 mL min⁻¹, canamicina $0,50 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ 145
- Figura 56. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com canamicina 10^{-6} mol L⁻¹ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min⁻¹, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min⁻¹, canamicina $0,20 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ c) vazão 0,2 mL min⁻¹, canamicina $0,33 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; d) vazão 0,3 mL min⁻¹, canamicina $0,43 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; e) vazão 0,4 mL min⁻¹, canamicina $0,50 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ 146
- Figura 57. Espectro de diferentes vazões e diferentes concentrações de canamicina na presença de NPsAg-citrato-1:1 147
- Figura 58. Perfil espectral de ressonância plasmônica: a) NPsAg-citrato 1:1 (linha preta); efeito da diluição da água nas vazões em b) 0,1; c) 0,2 e) 0,3 e f) 0,4 mL min⁻¹ (linhas vermelhas) e efeito da interação das NPsAg-citrato com neomicina nas concentrações finais de d) 0,20, g) 0,33, h) 0,43 e i) $0,50 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (linhas verdes) 148
- .Figura 59. Processo de formação de camada de NPsAg no vidro funcionalizado 149
- Figura 60. Perfil espectral de ressonância plasmônica da dispersão da NPsAg-tartarato diluída em água 1:4 149
- Figura 61. Imagem MEV do substrato de vidro funcionalizado com NPsAg-tartarato com uma análise estatística feito por uma análise de digitalização da imagem MEV através de um software 150

Lista de tabelas

Tabela 1 Exemplos de nanopartículas sintetizadas em plataformas microfluídicas para aplicações biomédicas	56
Tabela 2. Esquema para síntese de compósitos de PVA-QDs-TGA variando a concentração de QDs-TGA e PVA	83
Tabela 3. Comprimentos de onda de emissão das soluções de QDs e relativas FWHM em função da temperatura de trabalho dos dois fornos e vazão volumétrica dos precursores de Cd e Te	101
Tabela 4. Variação do $\lambda_{\text{emissão}}$ e FWHM em função da temperatura e razão molar conforme a variação da vazão volumétrica dos precursores Cd e Te. Forno 1 na temperatura constante de 110 °C, enquanto o forno 2 foi fixado em 110 °C e 140 °C	104
Tabela 5. Compósito D, intensidade da emissão e porcentagem do decaimento da intensidade	111
Tabela 6. FWHM e comprimento de onda dos compostos de PVA-QDs-TGA	116
Tabela 7. Perfilometria dos filmes formados por deposição em <i>spin coating</i> utilizando o compósito 3 e 6 (PVA-QD-TGA) variando o tempo e a velocidade de rotação. * lâminas hidroxiladas em plasma de oxigênio	118
Tabela 8. Teste de molhabilidade em vidro hidroxilados sem plasma cleaner: em diferentes tempos	121
Tabela 9. Medição do ângulo de contato para os seguintes vidros: A) sem suporte após 3 horas da hidroxilação; B) com suporte após 3 horas da hidroxilação	121
Tabela 10. Silanização com APTS 2,5% em tolueno em diferentes tempos	123
Tabela 11. Intensidade de emissão dos filmes em lâminas silanizadas com AEAPTS ao longo do tempo de imersão 10, 20, 40 e 60 minutos em suspensão de QD-TGA-EDC	126

Tabela 12. Taxa de fluxo das NPsAg-citrato 1:1, dos fármacos e concentrações finais dos fármacos a partir das concentrações de partida 137

Tabela 13. Taxa de fluxo das NPsAg-citrato 1:0,5, dos fármacos e concentrações finais dos fármacos a partir da concentração de partida $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ 142

Lista de abreviaturas

λ	Comprimento de onda
u. a.	Unidades arbitrárias
Ø	Diâmetro interno
NpsAg	Nanopartícula de prata
PDMS	Polidimetilsiloxano
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Coil	Microrreator tubular em forma de bobina
UV-visível	Ultravioleta visível
LED	Light Emitting Diode
AEPTS	[3-(2-aminoetilamino)propil]trimetoxissilano
APTS	3-aminopropiltrimetoxissilano
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
LEEA	Laboratório de Espectroanalítica e Eletroanalítica Aplicada da PUC-Rio
pH	Potencial Hidrogeniônico
MPTS	Mercaptopropiltrimetoxissilano
NPs	Nanopartículas
PDMS	Polidimetilsiloxano
PEEK	Poliéter-éter-cetona
PVA	Álcool polivinílico
PFA	Perfluoroalcoxi alcanos
NHS	N-hidroxisuccinimida
QDs	Quantum Dots (pontos quânticos)
SMA	Sistema de conexão de equipamentos terminais de fibra ótica
SPR	Surface Plasmon Resonance
LSPR	Surface Plasmon Resonance localized
FWHM	Largura Total à Meia Altura
TGA	Ácido Tioglicólico
IV-TF	Infravermelho por Transformada de Fourier
PBS	Tampão Fosfato Salino

*“Ebenézer: Até aqui nos ajudou o Senhor.”
(1 Samuel 7:12).*

Contextualização do trabalho e objetivos

1.1. Contexto

A microfluídica pode ser uma ferramenta para métodos sintéticos e analíticos simples, rápidos e baratos. Nesse contexto foi desenvolvido o conceito de microssistemas para análises totais (microTAS). Os microTAS, são laboratórios miniaturizados também conhecidos pelo termo *lab-on-chip* (LOC) (NOUVELLET *et al.*, 2015).

A miniaturização primeiramente foi desenvolvida para aumentar o desempenho analítico e/ou sintético devido à escala reduzida de macro para micro. Com isso foi observado também algumas vantagens tais como: a redução do volume de reagentes e amostras, baixo custo no processo de fabricação dos dispositivos miniaturizados e redução no tempo de análise e síntese (COLTRO *et al.*, 2007). Em tal sentido a miniaturização é explorada em diversas áreas da Ciência com intenção de respeitar os princípios básicos da química verde.

A tecnologia de microrreator (TMR) busca desenvolver técnicas de fabricação de aparatos mianuturizados com a possibilidade de serem acoplados a sistemas de monitoramento contínuo dos produtos e reagentes dentro da mistura reacional. Assim como na miniaturização o uso de TMR pode promover o desenvolvimento de métodos simples, rápidos e baratos para determinação analítica de substâncias de interesse biológico.

A proposta do presente trabalho, conforme o Esquema 1, é avaliar o potencial uso da tecnologia de reatores microfluídicos na síntese de semicondutores de CdTe (telureto de cádmio) encapsados com ácido tioglicólico (TGA) em comparação a estabelecida síntese em batelada. Com o mesmo objetivo foi implementado um sistema em fluxo para síntese de nanopartículas metálicas de prata estabilizadas com os ligantes citrato trissódico e tartarato de sódio e potássio. O segundo obeitivo é avaliar o potencial desempenho analítico das nanosondas NPsAg–citatro com os fármacos: trissulfato de neomicina e sulfato de canamicina, através do monitoramento da banda LSPR (superfície de ressonância plasmônica localizada) por espectrofotometria de absorção UV-visível em fluxo contínuo. Terceiro objetivo foi desenvolver filmes finos

luminescentes em substratos de vidro e em matrizes poliméricas visando potenciais sensores luminescentes e filmes finos de NPsAg-tartarato substratos de vidro como potenciais biosensores LSPR.

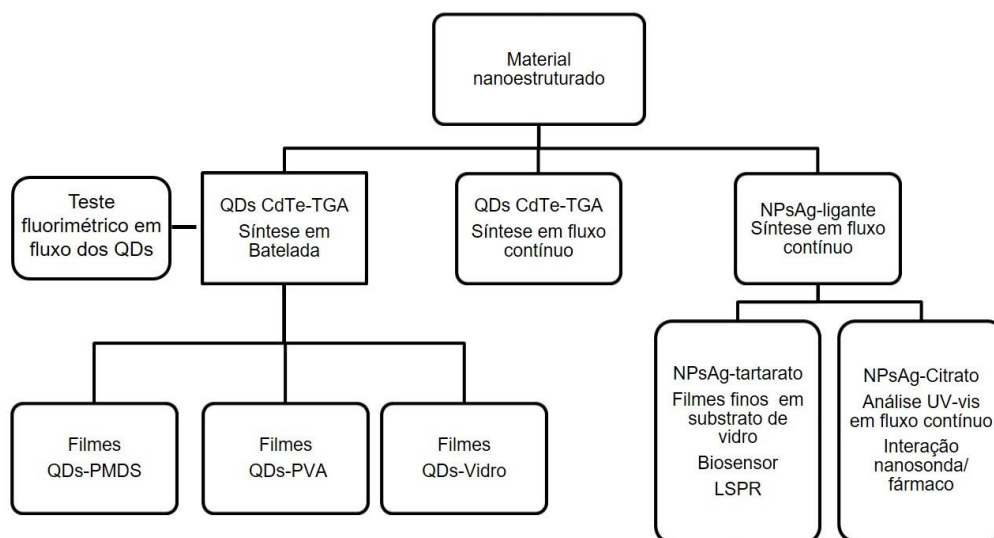


Figura 1. Visão geral da proposta da presente dissertação. Visão geral da proposta da presente dissertação.

1.1.2. Estrutura da dissertação

A presente dissertação está estruturada em 7 capítulos. No Capítulo 1 são apresentados os objetivos e uma revisão bibliográfica, na qual se faz um apanhado das informações pertinentes a respeito da microfluídica tendo como base a tecnologia de microrreator (TMR), e a importância da miniaturização nos processos químicos sintéticos e analíticos. Seguidamente é relatada uma breve fundamentação teórica sobre espectroscopia de fotoluminescência associado aos QDs e espectroscopia de absorção no UV-Visível associada aos fenômenos de superfície de ressonância plasmônica (SPR) e superfície de ressonância plasmônica localizada (LSPR) de nanopartículas metálicas. Relata-se informações e o estado da arte das aplicações sintéticas e analíticas utilizando os *quantum dots* (QDs) e nanopartículas metálicas (NPsM) em fluxo contínuo, sendo este objeto principal dessa dissertação. Ainda neste capítulo é ressaltada a importância para formação de filmes finos como nanosondas analíticas em substratos sólidos como vidro e em matrizes poliméricas.

No Capítulo 2 são descritos os materiais e reagentes utilizados nos procedimentos experimentais usados na realização desse trabalho. Também são

relatadas as configurações instrumentais advindas de dispositivos microfluídicos para sínteses e análises em fluxo contínuo. Os procedimentos experimentais estão divididos em duas partes. Na parte experimental I são descritos os procedimentos abordados para síntese de QDs de CdTe-TGA (fluxo e em batelada) e formação de filmes luminescentes em matrizes poliméricas e sobre substratos de vidro. Na parte experimental II são descritos os procedimentos abordados para síntese e utilização como nanosaonda de NPsAg em fluxo contínuo. Também é descrito o procedimento para formação de filmes finos de NPsAg-tartarato sobre substratos de vidro.

No Capítulo 3 (Resultados e discussão parte I) são descritos os resultados obtidos na síntese de QDs de CdTe-TGA (em batelada e em fluxo), assim como a caracterização e utilização dos mesmos em filmes luminescentes.

No Capítulo 4 (Resultados e discussão parte II) são descritos os resultados obtidos na síntese de NPsAg-ligante em fluxo, e a aplicação como nonosonda analítica em fluxo contínuo com os aminoglicosídeos trissulfato de neomicina e sulfato de canamicina.

No Capítulo 5 são reportadas as conclusões relacionadas com os objetivos pretendidos neste trabalho. O Capítulo 6 descreve as intenções de trabalhos futuros. E finalmente o capítulo 7 reúne as referências bibliográficas utilizadas como base para presente dissertação. No apêndice, encontra-se o trabalho publicado nos anais do evento, Microwave and Optoelectronics Conference (IMOC), 2015 SBMO/IEEE MTT-S International, no qual foi apresentada a lâmina de vidro silanizada e funcionalizada com NPsAg-tartarato produzida neste trabalho.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral sintetizar nanopartículas semicondutoras (QDs de CdTe-TGA) e metálicas (NPsAg) em fluxo contínuo, mediante o auxílio de microreatores tubulares para formação de filmes finos em diferentes substratos, e avaliar a interação dessas nanopartículas em fluxo contínuo.

1.2.2. Objetivos específicos

- ✓ Estabelecer uma nova linha de pesquisa em microfluídica na PUC-Rio.
- ✓ Instalar sistemas microfluídicos para síntese e análise em fluxo contínuo.
- ✓ Sintetizar QDs de CdTe-TGA em batelada e caracterizar-los por espectroscopia de fotoluminescência, espectroscopia UV-vis, medição de potencial Zeta e Infravermelho (IV-TF).
- ✓ Ajustar as condições de síntese de QDs CdTe-TGA em fluxo contínuo.
- ✓ Avaliar a formação de filmes finos luminescentes em matrizes poliméricas a partir de QDs sintetizados em batelada.
- ✓ Avaliar diferentes métodos de limpeza, hidroxilação e silanização de substratos de vidro através da caracterização pelo teste do ângulo de contato do substrato funcionalizado.
- ✓ Ajustar as condições de síntese de NPsAg-citrato e NPsAg-tartarato em fluxo contínuo.
- ✓ Caracterizar NPsAg-citrato e NPsAg-tartarato por medição de potencial Zeta, e espectroscopia UV-vis.
- ✓ Estudar o efeito da interação entre canamicina e neomicina com NPsAg-citrato com o auxílio de uma cela de fluxo acoplada a um espectrofotômetro.

- ✓ Produzir filmes finos de NPsAg-tartarato para potenciais biosensores LSPR.

1.3. Introdução

1.3.1. Tecnologia de reatores químicos em microescala (MRT, Micro Reactor Technology)

A tecnologia de microrreator (TMR) e a correspondente microfluídica são tecnologias de manipulação e controle preciso de fluídos de baixo volume entre 10 nL até 1 mL. O volume reduzido permite o estudo do comportamento da mistura dos fluídos em dispositivos com canais de espessuras micrométricas (10 - 1000 μm), esses dispositivos são denominados de microrreatores fluídicos (WHITESIDES, 2006).

O surgimento da microfluídica na década 1980 despertou atenção da comunidade científica tendo um crescente avanço em seu desenvolvimento. A microfluídica pode ser qualquer linha de investigação gerada a partir de dispositivos que possuam microcanais, podendo envolver sua fabricação, manipulação de fluidos e outras utilizações práticas tanto no âmbito analítico (sensores, *point-of-care*, microTAS), como na síntese química (*Lab-on-Chip*) (YAO *et al.*, 2015). Machado e colaboradores classificam os dispositivos de fluxo contínuo segundo o volume de operação: macrorreatores (10 mL – 1L), mesorreatores (100 μL – 10 mL), microrreatores (10 μL – 100 μL) e nanorreatores (15 nL – 10 μL) (De Souza, 2014; Machado, 2014). Em geral, microrreator é um termo genérico para micromisturadores estáticos e dinâmicos (*micromixer*), unidades de microaquecimento, microsensores e outros dispositivos que se utilizem de microcanais. (ZHANG *et al.*, 2016). Diversas áreas do conhecimento são abrangidas por essa tecnologia, tais como a Física, Química Analítica e Sintética, Biologia, Biomedicina, Nanotecnologia, entre outras (SUN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2016).

O uso de pequenos volumes faz com que a TMR seja muito atrativa, por proporcionar menor custo de solventes e reagentes, rápida resposta dos sensores acoplados aos microrreatores, maior rendimento e seletividade nas reações, maior controle do processo químico, transferência rápida de calor e massa, menor

energia/catalizador proporcionados ao sistema, e consequentemente, maior segurança/economia do processo em desenvolvimento. A facilidade e rapidez de variar os parâmetros reacionais em tempo real, como por exemplo, concentrações de substratos e reagentes, tempo de residência, volume e taxa de vazão, temperatura e pressão permite diminuir o tempo e os custos de otimização do processo reacional (RASHEED e WIRTH, 2011).

O uso de TMR associada ao sistema de fluxo contínuo gera inúmeras vantagens, dentre elas destacam-se: (i) maior eficiência no controle de parâmetros de reação e na mistura dos reagentes; (ii) menor custo na otimização das condições de reação; (iii) menor número de etapas do processo; (iv) eficiência na mistura; (v) menor número de operações no isolamento do produto, e (vi) tempos curtos para análise (DEMELLO, 2006; JANASEK *et al.*, 2006; ELVIRA *et al.*, 2013; DE SOUZA, 2014).

Entender os vários fenômenos dentro do ambiente microfluídico é de extrema importância, pois os mesmos afetam diretamente o resultado da reação. A tensão superficial, os efeitos elétricos, as interações de Van der Waals e a rugosidade superficial das paredes laterais do canal, tornam-se mais significativos, e em sua maioria, dominam o movimento das partículas, particularmente as de tamanho nanométrico (SONG *et al.*, 2008). Alguns fenômenos que ocorrem em dispositivos microfluídicos são explicados por alguns números adimensionais, como por exemplo, número de Peclet (Pe), número de capilar (Ca), número de Reynolds (Re), ver equação 1, entre outros.

$$Re = \frac{\text{Forças Inerciais}}{\text{Viscosidade}} = \frac{\rho v D_h}{\mu} \quad (1)$$

Na equação de Reynolds, ρ é a densidade do fluido, v é a velocidade de escoamento, D_h é diâmetro hidráulico da tubulação e μ é a viscosidade do fluido (SQUIRES e QUAKE, 2005; ÖZBEY *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2016).

O número de Reynolds é a razão entre a força inercial e a viscosidade, sendo frequentemente utilizado em mecânica dos fluidos para determinar o regime de escoamento do fluido dentro de um tubo ou sobre uma superfície. A parte fundamental do microrreator está intimamente relacionada com o regime de mistura, podendo ser regime pistão, laminar ou turbulento conforme mostra a Figura 2. (DE SOUZA, 2014; MACHADO, 2014).

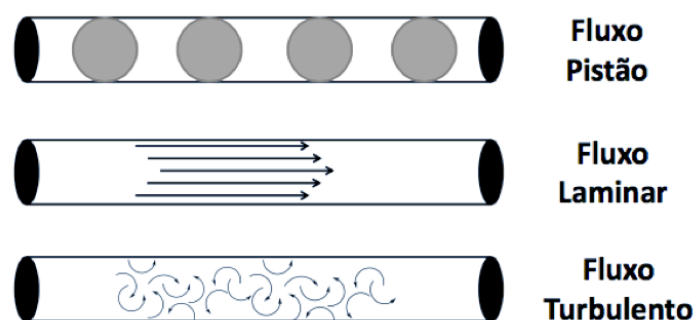


Figura 2. Tipos de fluxo de acordo com o regime de mistura. Adaptado de MACHADO et al (2014).

O regime de escoamento turbulento ocorre quando as partículas em um fluido se movimentam de maneira aleatória, com uma trajetória irregular ao longo dos canais. O escoamento turbulento propicia uma melhor eficiência da mistura, sendo favorecido pelo aumento da velocidade do fluxo, do número de Reynolds ($Re > 10$) e da viscosidade do fluido (MÁTÉ, 2014).

O regime de escoamento laminar (monofásico) ocorre quando um fluido se movimenta ao longo de uma trajetória em camadas. A mistura é favorecida por difusão sendo esse o principal mecanismo de mistura. O regime laminar é favorecido pela baixa velocidade do fluxo, viscosidade elevada do fluido, e $Re < 10$, resultando em longos tempos de mistura. Em sistemas microfluídicos o tempo de difusão é menor em comparação com sistemas em batelada mesmo em regime laminar, devido ao espaço muito curto em que o fluido está confinado. Para aplicações que requerem mistura rápida, estratégias como a adição de obstáculos ou geometrias 3D são necessárias para incrementar a eficiência da mistura (SUN et al., 2016; MA et al., 2017).

O regime de escoamento pistão (multifásico ou segmentado) ocorre em condições de fluidos imiscíveis onde ocorrem sistemas bifásicos (fase orgânica/fase aquosa ou fase gasosa/fase líquida), levando a formação de microbolhas equidistantes entre si. Isso possibilita que reações aconteçam na interface dos microambientes (espaço entre as microbolhas), devido principalmente à agitação do tipo vórtice apresentada no interior de esses microambientes (MACHADO, 2014). Uma vantagem adicional de um sistema multifásico é que o contato direto do líquido com o microcanal é impedido evitando

o risco de entupimento do canal causado pela deposição de reagentes ou produtos (MA *et al.*, 2017).

1.3.1.1.

Fabricação de dispositivos microfluídicos

A pesquisa na área de microfabricação de dispositivos teve considerável crescimento no final da década de 1980. Desde então, pesquisas importantes começaram a ser desenvolvidas com a produção de *microchips* em materiais alternativos e baratos, tais como, o polímero elastômero de polidimetilsiloxano (PDMS) (GUIJT, 2017).

Dispositivos microfluídicos podem ser fabricados por diversas técnicas, tais como: (i) fotolitografia; (ii) modelagem; (iii) ablação a laser; e (iv) impressão direta. Podendo ser fabricados a partir de polímeros, vidro, silício, cerâmica e aço. A escolha dos materiais para a fabricação está intrinsecamente relacionada com as propriedades químicas dos componentes dos fluídos, as condições de operação e a viabilidade de fabricação. Os dispositivos de vidro são os mais utilizados em função de sua transparência e propriedades ópticas, favorecendo as análises ou aplicações em fotoquímica. Também possuem resistência interna, estabilidade química e compatibilidade com solventes orgânicos e vários reagentes agressivos. (DITTRICH, 2005; WHITESIDES, 2006; COLTRO *et al.*, 2007). Um dos grandes desafios da microfabricação é conseguir projetar um reator microfluídico com geometria adequada para otimizar a eficiência de mistura e a transferência de massa e calor com base nas características de uma reação específica. (SONG *et al.*, 2008; LAURINO *et al.*, 2011; REN *et al.*, 2013; TIAN *et al.*, 2016).

1.3.1.2.

Instrumentação integrada ao Microrreator

O microrreator miniaturizado apenas não caracteriza um sistema microfluídico de análise ou de síntese, requerendo que após a etapa de fabricação do microrreator alguns instrumentos podem ser acoplados para o funcionamento adequado ao sistema microfluídico de acordo com o tipo de aplicação. O sistema pode ser integrado a componentes, tais como, trocadores de calor com controladores de temperatura, misturadores, bombas de injeção e sensores (HARTMAN e JENSEN, 2009; ILLG *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2016).

Um grande desafio é a adaptação desses aparatos instrumentais ao dispositivo para microsistemas de análise ou sínteses. Idealmente, todas as

etapas analíticas ou sintéticas do processo deveriam estar integradas no dispositivo (COLTRO *et al.*, 2007). Por exemplo, cabos de fibra ótica podem ser adaptados aos dispositivos microfluídicos de material transparente e a detectores e fontes de luz para análises espectroscópicas em fluxo contínuo. (YUE *et al.*, 2013). A injeção das amostras para dentro do microrreator é de extrema importância, geralmente, é realizada por bombas seringas ou bomba peristálticas, o que possibilita o controle do regime de escoamento e o tempo de residência. Diversos estudos biológicos são relatados utilizando microrreatores fabricados em polidimetilsiloxano (PDMS), onde bombas seringas são adaptadas para controle do fluido, e técnicas espectroscópicas como espectroscopia de massa, UV-Vis, fotoluminescência e sensores SPR, são utilizadas como retroalimentação (*feedback*) para otimização de uma síntese química, ou pela detecção de analitos de interesse biológicos (SIA e WHITESIDES, 2003).

1.3.1.3.

Aplicação sintética em fluxo contínuo com monitoramento on-line

A TMR tem grande potencial na realização de reações químicas (ILLG *et al.*, 2016). A integração *online* aos sistemas microfluídicos de técnicas de análise química instrumental cromatográfica (MA *et al.*, 2009), eletroquímica (LIN *et al.*, 2015) e espectroscópica (WANG, N. *et al.*, 2016) permite o controle direto do processo sintético, possibilitando a automatização e otimização da reação (KRISHNAN *et al.*, 2001; WAGNER e KÖHLER, 2005; DITTRICH e MANZ, 2006; HARTMAN e JENSEN, 2009; YUE *et al.*, 2012; COUTO *et al.*, 2015; MACEICZYK *et al.*, 2015)

As vantagens da TMR integrada às técnicas de monitoramento em tempo real permitem o controle preciso das condições do processo, com uma taxa de fluxo bem definida, mistura eficiente, distribuição de temperatura uniforme e operação segura em uma ampla janela de processo. Além disso, torna-se um meio atraente para a extração de informações cinéticas e rápida aquisição de dados (TAKAHASHI *et al.*, 2007; SWAIN *et al.*, 2017).

O monitoramento *online* da reação pode revelar a presença de espécies de curta duração ou intermediários instáveis que podem não ser observados através de análise *off-line* (YUE *et al.*, 2012). Um dispositivo em fluxo contínuo com monitoramento *online* permite o controle das variáveis (concentração, volume, temperatura e pressão) durante o processo reacional, corrigindo-as, caso seja

necessário, de maneira segura e inteligente (KRISHNADASAN *et al.*, 2004). Uma vez ajustados os parâmetros durante o processo, as amostras requerem bem menos etapas de purificação. Todavia, podem ser integrados aos processos de multietapas, em série ou em paralelo, com microrreatores desenhados especificadamente para eliminar subprodutos da reação, via extração líquido/líquido, ou cromatografia (VIOL *et al.*, 2011).

A síntese química em fluxo evoluiu muito nas últimas décadas, no entanto, ainda possui algumas limitações, tais como: (i) baixa compatibilidade e termossensibilidade ($> 80\text{ }^{\circ}\text{C}$) dos substratos poliméricos, dos quais os dispositivos são fabricados, com os solventes utilizados; (ii) entupimento dos canais nos casos de fluidos com alta densidade, e precipitação ou sedimentação de produtos e reagentes; (iii) microrreatores de alta qualidade, ainda possuem alto custo de fabricação; (iv) pouca integração de técnicas de caracterização em tempo real devido ao custo de miniaturização dos dispositivos espectroscópicos integrados; (v) Dificuldade na purificação em linha (MA *et al.*, 2017).

Zhang *et al.* (2016), fizeram uma revisão bibliográfica fornecendo informações pertinentes e atualizadas sobre a aplicação da química em fluxo contínuo na separação e extração de compostos inorgânicos e na síntese de estruturas organometálicas, polioxometalatos e compostos organometálicos. Os autores indicaram como principais desafios neste tipo de técnica: a dificuldade na separação do catalisador do meio reacional, e o entupimento dos canais microfluídicos pelos materiais inorgânicos, que embora sejam minimizados por novas geometrias e modulações, ainda são recorrentes.

Takahashi *et al.* (2007) desenvolveram um microchip de interface de RMN com o monitoramento em tempo real de reações químicas. O dispositivo de microchip, denominado MICCS (*Micro Channeled Cell for Synthesis monitoring*), foi inserido num tubo de amostra de RMN de 5 mm. A temperatura de reação e o tempo de reação no dispositivo puderam ser facilmente alterados, ajustando a temperatura da sonda de RMN e alterando as taxas de fluxo, respectivamente. Segundo os autores, o dispositivo desenvolvido pode ser facilmente utilizado como método de detecção qualitativo para a síntese baseada em microchip.

Yue e colaboradores (2013) utilizaram um chip microfluídico, desenvolvido por guias de onda TriPleX (baseada no empilhamento de camadas alternadas de SiO_2 e Si_3N_4 , usando deposição de vapor químico de baixa pressão), com guias de onda integradas na detecção em linha de UV/Vis sob fluxo segmentado. Nesse sistema, o fluido é transportado através de um microcanal tipo U gravado em sílica fundida. Os experimentos com o sistema de integração Microchip-UV/vis

mostraram que a concentração da fase líquida e os detalhes do fluxo segmentado podem ser determinados a partir dos espectros UV/Vis que foram adquiridos em alta resolução temporal (2 ms).

Liu *et al.* (2014) demonstraram com sucesso a síntese de fluxo contínuo de um importante material aluminofosfato microporoso cristalino, $\text{AlPO}_4\text{-5}$. O desenvolvimento de um processo de fluxo contínuo para síntese de materiais microporosos cristalinos é extremamente desafiador devido à cristalização lenta dos materiais microporosos. A síntese contínua de $\text{AlPO}_4\text{-5}$ foi conseguida combinando o método por nucleação, com um reator de fluxo contínuo. Os resultados mostraram que a fase única $\text{AlPO}_4\text{-5}$ foi obtida após a síntese de 1 min no reator de fluxo contínuo. Durante a reação, um processo contínuo estável foi mantido para minimizar quaisquer falhas hidrodinâmicas provocadas pela precipitação de produtos sólidos. Essa nova metodologia de produção de cristais mesoporosos com microrreatores mostrou-se promissora para escala industrial, visto que, apresenta baixo custo de produção, rendimento significativos e pouco gasto energético.

Swain *et al.* (2017) demonstraram a reprodutibilidade para síntese recombinada de nanopartículas de CdSe acoplando os microrreatores a um sistema de HLPC constituído de quatro bombas peristálticas e detectores fotométricos de absorção e fotoluminescência no UV-vis. Foi utilizado um reator microfluídico de controle programável e detectores online. Três parâmetros operacionais foram otimizados: o tempo de reação, a razão de concentração molar dos precursores cádmio e selênio (Cd/Se) e as concentrações dos ligantes foram otimizados pelas características ópticas. Os diâmetros das partículas sintetizadas aumentaram com um aumento no tempo de reação e com a concentração de precursores. O tempo médio correspondente para cada condição de reação para se obter os foi de aproximadamente 10 min. O sistema combinatório (controle da concentração do precursor, da taxa de fluxo e outros parâmetros físicos e instrumentais) foi considerado promissor, podendo ser usado para sintetizar QDs-CdSe sem usar equipamentos caros.

1.3.1.4.

Microssistemas para análises totais (microTAS)

Definido pela primeira vez em 1990, o microssistemas para análises totais (μTAS do inglês: *Micro Total Analysis System*) enfatiza a função analítica de um chip microfluídico (Dittrich e Manz, 2006). Segundo Valera et al., (2010), os

reatores microfluídicos são conhecidos como laboratórios miniaturizados (LOC do inglês *lab-on-chip*). São sistemas/dispositivos com estruturas tridimensionais construídos a partir de vidro, quartzo, polímeros, ou metais, contendo microcanais na qual os fluidos podem ser manipulados por eletrocinética, pressão ou por fluxo de bombeamento.

Esses dispositivos *lab-on-chip*, também conhecidos como sistemas (μ TAS), podem integrar as funções de laboratório de maneira miniaturizada. Tais funções podem ser de separação, reações químicas, degradação, análise de componentes de uma mistura ou sensores analíticos. Os LOC/ μ TAS podem ser acoplados a dispositivos eletrônicos que, transformam impulsos eletrônicos e ópticos em informações, possibilitando uma fácil automação dos sistemas em interesse. A utilização desses dispositivos no campo ambiental e clínico originou o termo pontos de cuidado (POC do inglês *point-of-care*), o que impulsionou desenvolvimento de sistemas analíticos na microescala, permitindo a miniaturização de técnicas convencionais (COLTRO *et al.*, 2007; FAN *et al.*, 2008). Pontos de cuidado baseiam-se em testes de diagnósticos rápidos e simples. O teste rápido poderia permitir a triagem precoce dos pacientes, reduzindo substancialmente o tempo e custo de diagnóstico. O tempo reduzido pode ser determinante para uma decisão fatal na escolha da terapia ou a contenção de uma epidemia. A detecção antecipada de agentes infecciosos é fundamental para o diagnóstico precoce e para o tratamento de doenças infecciosas. (NOUVELLET *et al.*, 2015).

A Nanotecnologia proporciona aplicação no âmbito diagnósticos médicos e biossensores relacionados a ciências da saúde (TOKEL *et al.*, 2015; YOCKELL-LELIEVRE *et al.*, 2015; VANDER WIEL *et al.*, 2017). Uma forma de diagnósticos simples e de baixo custo são os dispositivos do tipo *Dipstick* (varetas de fluxo lateral), e dispositivos microfluídico analíticos feitos de papel (μ PADs) (WANG *et al.*, 2012). Feitos de papel refere-se a materiais celulósicos (KOEV *et al.*, 2010; YETISEN *et al.*, 2013). A microfluídica baseada em papel emergiu como uma plataforma de pontos de cuidado para análise qualitativa (Balu *et al.*, 2009; Ballerini *et al.*, 2012). Atualmente, a microfluídica à base de papel é considerada uma tecnologia de baixo custo, simples e biodegradável. Li *et al.* (2017) desenvolveram um dispositivo microfluídico baseado em papel utilizando pontos quânticos fotoluminescentes (QDs) combinados com polímeros. O dispositivo foi utilizado para reconhecimento específico e detecção sensível, baseados na supressão de fotoluminescência dos QDs na presença de ficocianina. Os

resultados revelaram que o método exibiu uma resposta dinâmica à ficocianina na faixa de 10 a 50 mg L⁻¹ com um limite de detecção de 2 mg L⁻¹.

1.3.2.

Espectroscopia de fluorescência/luminescência associado aos QDS

1.3.2.2.

Nanomateriais semicondutores

Os nanomateriais ganharam crescente atenção devido ao excelente desempenho baseado em suas diferentes características químicas e físicas. (SUN et al., 2000; CHEN et al., 2017). A formação de um material nanoestruturado ocorre a partir do empacotamento de vários átomos em uma rede ordenada. Nessa nova configuração os orbitais moleculares são sobrepostos e rearranjados energeticamente, levando a uma nova estrutura eletrônica, que é semelhante aos orbitais moleculares precursores, denominada de estrutura de bandas (FREITAS, 2015).

Na estrutura de bandas (Figura 3), a banda de menor energia é chamada de Banda de Valência (BV), onde nenhum elétron presente pode transitar, enquanto a banda de maior energia é chamada de Banda de condução (BC), onde os elétrons estão livres para se moverem. Existe uma diferença de energia entre as novas bandas, chamada de lacuna de energia ou “bandgap” (E_g). A classificação dos materiais cristalinos é dada de acordo com os valores de E_g . Quando E_g é igual a zero, os elétrons se movimentam livremente de BV para BC, o material é chamado de condutor ou metálico. Quando $E_g \geq 4$ eV, o material é isolante. Quando E_g encontra-se entre 0 – 4 eV, o material é classificado como semicondutor (FREITAS, 2015; SALGADO; VALENTINI, 2015).

Os semicondutores são geralmente definidos como materiais que possuem resistência elétrica no intervalo entre $10^{-2} - 10^9 \Omega \text{ cm}^{-1}$. Esses materiais apresentam uma banda de condução vazia e uma banda de valência preenchida, ambas possuem energias próximas (Figura 3). Alternativamente, são definidos como materiais que possuem E_g entre 0 e 4 eV. Excedendo à esta definição, o diamante que é considerado um semicondutor ($E_g = 6$ eV) e o arseneto de gálio (GaAs), considerado um semi-isolante ($E_g = 1,5$ eV) (YU; CARDONA, 2010).

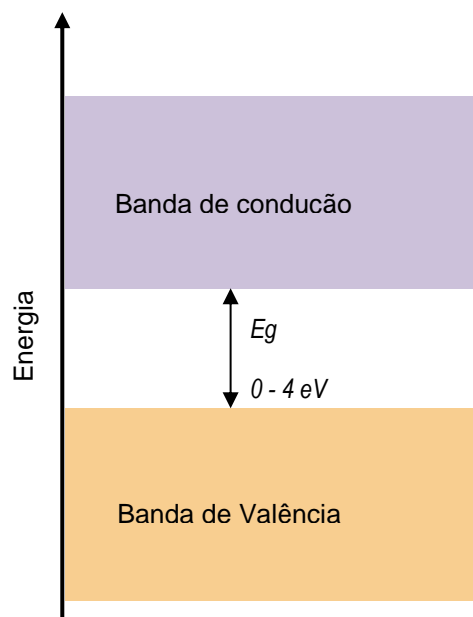


Figura 3. Estrutura de bandas para materiais semicondutores. Adaptado de Atkins e Jones (2006).

Quando um semicondutor é aquecido, elétrons são excitados de BV para BC, podendo se deslocar por todo o material. Por esse motivo, a resistência desse tipo de material diminui com o aumento da temperatura (ATKINS e JONES, 2006). A forte dependência da condutividade em relação ao aumento de temperatura deriva de uma dependência exponencial do tipo Boltzman, da população de elétrons na banda superior. Que pode ser representada por uma expressão exponencial do tipo Arrhenius, Equação 2 (SHRIVER e ATKINS, 2008).

$$\sigma = \sigma_0 e^{-E_g/2kT} \quad (2)$$

Na equação 2, σ é a condutividade elétrica, k é a constante de Boltzmann, E_g é o valor da energia de *gap*, e T é a temperatura termodinâmica. Fazendo-se uma aproximação, a condutividade de um semicondutor pode ser expressa com a energia de ativação (E_a) igual à metade da separação energética (E_g), conforme a equação 3 (SHRIVER e ATKINS, 2008).

$$E_a \approx \frac{1}{2} E_g \quad (3)$$

Quando um fóton é absorvido por um material semicondutor, um elétron é promovido para a banda de condução, deixando um buraco na banda de valência. Um éxciton, uma *quasi*-partícula, tem um estado de energia no intervalo de banda de semicondutores devido à atração Coulômbica entre o elétron e o buraco, Figura 4 (SMYDER e KRAUSS, 2011).

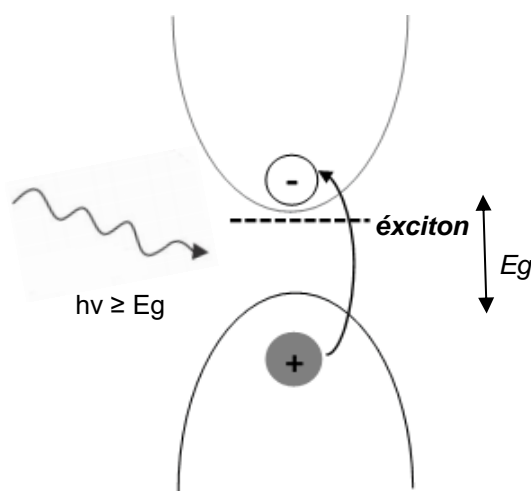


Figura 4. Excitação de um elétron por um fóton de energia superior ou igual a E_g , indo da BV para a BC. Adaptado de Smyder e Krauss (2011) e Freitas (2015).

Várias espécies químicas apresentam semicondutividade, como por exemplo, óxidos (TiO_2 , ZnO , MoO_3 , WO_3 , V_2O_5 , SnO_2 , Ag_2O , Fe_2O_3 , NiO), sulfetos (ZnS , CdS , MoS_2 , PbS , Ag_2S), selenetos (CdSe , PbSe , HgSe) e iodetos (AgI). Alguns elementos dos grupos V e VI da tabela periódica, tais como fósforo (P), enxofre (S), selênio (Se) e telúrio (Te), são também semicondutores. Os átomos nestes cristais podem ser três vezes (P), duas vezes (S, Se, Te) ou quatro vezes coordenado. A família dos semicondutores forma uma das mais versáteis classes de materiais conhecidos (YU e CARDONA, 2010).

Ao reduzir o tamanho dos materiais semicondutores para a escala nanométrica pode-se ajustar diretamente os estados eletrônicos e as propriedades ópticas associadas (SMYDER e KRAUSS, 2011). Quanto menor o nanocristal, maior o *bandgap* efetivo e maior a energia de emissão óptica resultante da recombinação de elétron-buraco (KIRCHOFF, 2003).

1.3.2.3. Propriedades elétricas

Em semicondutores na escala macroscópica, raramente são observados éxcitons à temperatura ambiente, devido à baixa energia de ligação do elétron ao buraco (ALIVISATOS, 1996). Quando o tamanho físico do semicondutor é reduzido abaixo do Raio de Bohr do éxciton (a_B), este não é mais livre para se mover e, devido ao seu caráter ondulatório, sente os efeitos dos limites físicos do cristal. Este efeito é chamado de confinamento quântico, pois expõe a natureza quântica do éxciton ao tamanho do cristal (YU, 2010). O confinamento quântico ocorre quando os elétrons se movem numa região muito pequena, tais como pontos de quantum de menos de 10 nm. Este efeito faz com que as propriedades eletrônicas e ópticas dos pontos quânticos sejam determinadas pelo seu tamanho (YERGA, 2012).

Os fenômenos físicos básicos de confinamento quântico surgem por mudanças na densidade de estados eletrônicos e podem ser entendidos considerando a relação entre posição e momento em partículas livres e confinadas, descrita na Equação 4 (ALIVISATOS, 1996):

$$\Delta p \Delta x \geq \hbar/2 \quad (4)$$

onde: Δp e Δx são as incertezas na posição e do momento de uma partícula, respectivamente; e \hbar é a constante de Planck reduzida.

Para uma partícula livre ou uma partícula em um potencial periódico, tanto a energia quanto o momento do cristal $\hbar k$ podem ser precisamente definidos, enquanto a posição não. Para uma partícula livre, a dependência da energia no vetor de onda é quadrática, Equação 5 (ALIVISATOS, 1996).

$$E = \hbar^2 k^2 / 2m \quad (5)$$

Na aproximação de massa efetiva, supõe-se que essa relação se mantenha para um elétron ou buraco no potencial periódico do semicondutor, com uma

massa reduzida que é inversamente proporcional à largura da banda (ALIVISATOS, 1996).

À medida que a escala de comprimento do sistema é reduzida para a nanoescala, o tamanho e as propriedades dos semicondutores são alterados. Existem dois efeitos principais que ocorrem com a variação de tamanho: (1) o efeito quântico, onde devido ao confinamento de elétrons as bandas de energia são substituídas por estados de energia discretos, levando a casos em que os materiais condutores podem se comportar como semicondutores ou isolantes, e (2) o efeito clássico, em que o caminho livre médio para dispersão inelástica torna-se comparável com o tamanho do sistema, levando a uma redução nos eventos de dispersão (SCHODEK *et al.*, 2009).

Quando os semicondutores possuem as três dimensões espaciais acima da nanoescala são definidos como “bulk”. Quando alguma das dimensões é reduzida a um tamanho inferior a 100 nm, os semicondutores são classificados como nanomateriais. Em nanomateriais 2D com uma dimensão na nanoescala, classificados como nanofilmes, o confinamento quântico ocorrerá ao longo da dimensão da espessura. À medida que a espessura é reduzida para a nanoescala, ocorre uma redução no número de estados de energia disponíveis para a condução de elétrons ao longo da direção da espessura. No caso dos nanomateriais 1D, classificados como nanotubos, hastes ou nanofios, o confinamento quântico ocorre em duas dimensões, enquanto o movimento irrestrito ocorre somente ao longo do eixo longo do nanotubos. Para nanomateriais 0D, denominados de *quantum dots* (QDs), o movimento de elétrons está totalmente confinado ao longo das três dimensões em escala nanométrica (SCHODEK *et al.*, 2009; FREITAS, 2015).

Em QDs semicondutores, a formação do cristalito é extremamente pequeno a ponto do elétron excitado e o buraco ficam fisicamente confinados a uma separação menor do que seu raio de Bohr, fornecendo um sistema de materiais reais para o modelo de função de energia potencial da mecânica quântica, denominado modelo de “partícula em uma caixa” (ALIVISATOS, 1996; SMYDER e KRAUSS, 2011). Em QDs planares e verticais, o confinamento eletrostático leva tipicamente a dimensões em torno de 100 nm e o confinamento estrutural é da ordem de 10 nm. Entretanto, as dimensões desses nanomateriais dependem principalmente dos precursores usados para prepará-los (Wang, P. *et al.*, 2006; SOUAF *et al.*, 2015)

1.3.2.4. Quantum dots(QDs)

Quantum Dots (QDs), também conhecidos como pontos quânticos ou nanocristais semicondutores luminescentes são uma classe de luminóforos inorgânicos com propriedades fotofísicas únicas. QDs são compostos por elementos dos grupos II a VI, III a IV, ou IV a VI, com os tamanhos que variam de 1 a 10 nm, podendo conter de 100 a 100.000 átomos por nanopartícula. (GOLDMAN *et al.*, 2004; MEDINTZ *et al.*, 2006; PARRA *et al.*, 2013). Esses nanocristais possuem grande fotoestabilidade, valores de tempo de vida que variam de 10 a 100 ns, grande deslocamento de Stokes (> 50 nm) e valores de rendimento quântico que chegam à 80% (SMYDER e KRAUSS, 2011). Esses nanomateriais fluoróforos estão entre os materiais de nanoescala que mais têm sido investigados nas últimas duas décadas, tanto do ponto de vista fundamental quanto da sua exploração como materiais ativos em uma ampla variedade de aplicações (DORFS *et al.*, 2011).

1.3.2.5. Síntese de quantum dots em fluxo

Devido às propriedades ópticas fortemente dependentes do tamanho, as técnicas mais usadas para a caracterização de QDs são a espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e fotoluminescência (PL). A principal banda nos espectros UV-Vis é devida à transição eletrônica fundamental e, experimentalmente, se observa que a largura da banda é dependente da distribuição de tamanhos das nanopartículas (NPs) e sua posição fortemente dependente do seu tamanho (VIOL *et al.*, 2011).

A tradicional síntese coloidal de QDs usam condições muito hidrofóbicas (produzindo QDs solúveis em solventes não-polares, tais como, clorofórmio ou tolueno). No entanto, quase todas as aplicações biológicas requerem a utilização de soluções aquosas. Os QDs devem ser modificados com ligantes de cadeia curta de superfície que contem grupos tióis ou aminas para aumentar a sua solubilidade em água. A natureza dos ligantes influencia fortemente nas propriedades ópticas dos QDs aquosos (WENG *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012; ESTEVE-TURRILLAS e ABAD-FUENTES, 2013; GUI *et al.*, 2013). Em meios aquosos, Silva e colaboradores, (2012), compararam a influência dos ligantes do tipo tiol (ácido mercaptopropiônico (MPA), o ácido tioglicólico

(TGA), e glutationa (GSH)) em QDs de telureto de cádmio. A taxa de crescimento, distribuição de tamanho e rendimento quântico depende fortemente do tipo de ligante de superfície utilizado. Por exemplo, enquanto TGH se liga muito fortemente à superfície do nanocristal inibindo o crescimento, o uso de GSH resulta na cinética de crescimento mais rápido. Esta modificação da superfície dos QDs torna fácil uma futura conjugação com biomoléculas, desta forma é determinante a escolha do ligante (GE *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2012; ESTEVE-TURRILLAS e ABAD-FUENTES, 2013; VALE *et al.*, 2015).

A obtenção dos QDs tem uma etapa de nucleação e outra de crescimento. Os *quantum dots* obtidos são estáveis em meio orgânico.

Nanopartículas de distribuição de tamanho desejados só podem ser obtidas se, e somente se, o crescimento parar no momento certo, ou seja, quando as nanopartículas ainda estão na faixa de tamanho nanométrico desejado. Nesse contexto, o controle de agregação das nanopartículas de modo a obter uma distribuição de tamanho de partícula estreita deve ser feito. Para tal, a reação deve ser controlada para assegurar que a nucleação tenha um período tão curto quanto possível e não mais ocorra agregação e coagulação de partículas individuais durante o crescimento. (NAKAMURA *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2009; MARRE e JENSEN, 2010; LIU *et al.*, 2014; LIN *et al.*, 2015; WATT *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2017; SWAIN *et al.*, 2017)

A microfluídica é utilizada para obter nanopartículas com maior monodispersão em comparação a métodos tradicionais, que requerem etapas posteriores de purificação para este fim. (SONG *et al.*, 2008; HARTMAN e JENSEN, 2009; YANG *et al.*, 2009)(DITTRICH, 2005; MA *et al.*, 2017).

Krishnadasan e colaboradores (2004) descreveram um sistema de síntese de CdSe em reatores microfluídicos de fluxo contínuo e monitoramento em tempo real pela detecção da fotoluminescência, utilizando cabos de fibra óptica e o Espectrômetro (S2000, Ocean Optics) conectados diretamente ao microrreator, demonstrando um sistema simples para monitoração da síntese de QDs-CdTe em fluxo.

Lignos *et al.* (2014) realizaram a integração de uma plataforma microfluídica a um sistema de detecção de fotoluminescência para a síntese controlada e reprodutível de *quantum dots* de calcogeneto de chumbo (QDs-PbS, QDs-PbSe). O estudo mostrou pela primeira vez que o monitoramento em tempo real do processo sintético permite uma otimização rápida das condições de reação e a síntese de nanocristais de PbS de alta qualidade com emissão no intervalo de 765

a 1600 nm, sem qualquer processamento pós-sintético, e nanocristais de PbSe emitindo de 860 a 1600 nm, mostrando controle e estabilidade do reator.

Wang *et al.* (2005) e colaboradores demonstraram que a síntese de QDs-CdSe recobertos com ZnS em microrreator tubular ($\varnothing_{\text{interno}} = 200 \mu\text{m}$ e 80 cm de comprimento) com injeção por bomba-seringa, alcançou um rendimento quântico de fotoluminescência acima de 50% e um pico de fotoluminescência de largura total à meia altura (FWHM) de cerca de 32 nm. A superfície dos QDs-CdSe/ZnS sintetizados obteve alta hidrofiliabilidade, mantendo o rendimento quântico elevado. Os autores mostraram que o controle preciso do tempo, conseguido utilizando um microrreator, é de fundamental importância para evitar a formação de muitas partículas isoladas e a deterioração da luminescência.

Yang e colaboradores (2009) reportaram a eficiência e reprodutibilidade na síntese de CdSe em fluxo contínuo. Resumidamente, o sistema microfluídico compreendeu-se de um microaquecedor convectivo e um capilar em forma de serpentina de politetrafluoroetileno (PTFE) com $\varnothing_{\text{interno}}$ de 300 micrometros. Os fenômenos observados facilitaram a preparação de uma série de tamanhos de nanopartículas de CdSe somente pela variação do tempo de residência 2-160 segundos, produzindo alta eficiência quântica (35-55%) e mantendo uma faixa de FWHM estreita (26 - 31 nm), importante para uma distribuição monodispersa.

Vários fatores influenciam a nucleação e o crescimento dos *quantum dots*, dentre eles, a temperatura é a mais influente (Yen *et al.*, 2005). Nessa perspectiva, Tian *et al.* (2016) demonstraram a viabilidade na síntese rápida de *quantum dots* de $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$ com alta qualidade, utilizando microrreator sob vazão e temperatura adequadamente controladas. Os nanocristais QDs- CuInS_2 e QDs- $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$ exibiram fotoluminescência com rendimento quântico (QY) de 20 a 30% e 50 a 60%, respectivamente.

1.3.2.6.

Aplicações analíticas de nanosondas semicondutoras, quantum dots

Os QDs possuem pequenas mudanças de Stokes (a diferença entre o comprimento de onda máximo de fotoluminescência e o comprimento de onda máximo de absorção), podendo ser excitados em energias muito acima de seu *bandgap*, o que os torna muito mais versáteis para algumas aplicações. Seus

amplios espectros de emissão permitem a excitação simultânea de diferentes tamanhos de partículas em um único comprimento de onda com emissão em múltiplos comprimentos de onda. O que os tornam excelentes no desenvolvimento de sensores (GOLDMAN *et al.*, 2004; VALE *et al.*, 2015). A cor emitida pelos QDs pode ser alterada controlando-se o seu tamanho. Os pontos quânticos pequenos emitem luz azul, verde ou amarela e os pontos maiores brilham nas cores laranja, vermelha ou cinza (OLSSON *et al.*, 2011). O alto brilho e a fotoestabilidade extrema dos QDs permitem a detecção ultrasensível ao nível de uma única molécula durante períodos de excitação prolongados (SUMMERS *et al.*, 2010).

Um dos motivos da grande utilização de QDs em biosistemas é a capacidade de adaptar as suas propriedades de superfície com ligantes para alcançar hidrofiliabilidade e estabilidade aquosa e orientar QDs para biomoléculas ou organelas específicas, tais como núcleos de células. Nesse sentido, Shen *et al.* (2010) desenvolveram uma metodologia de síntese de *quantum dots* seleneto de cádmio QDs-CdS coloidais estáveis, utilizando um ligante bidentado a base de 1,2,3-triazol (TA) com polietilenoglicol (PEG). Os novos tipos de QDs-CdS coordenados superficialmente com TA foram submetidos a testes de coloração das células cancerígenas: carcinoma cervical humano (HeLa), carcinoma pulmonar humano (A549) e carcinoma hepático humano (HEP G2) e apresentaram forte afinidade inesperada com núcleos das células cancerígenas, fornecendo pistas interessantes sobre a concepção de novos fármacos antivirais (SHEN *et al.*, 2010).

Recentemente, alguns grupos de pesquisa desenvolveram QDs com modificações superficiais para utilizar em aplicações biológicas, dentre eles, nanocristais de CdSe/ZnS dopados com Cu (SUN *et al.*, 2000); CuInS₂/ZnS revestido por sílica (FODA *et al.*, 2014); CuInS₂/ZnS funcionalizado com glutatona (GSH) (ZHAO *et al.*, 2015); pontos quânticos CuInZn_xS_{2+x} funcionalizado com peptídeo como nanosondas (MICHALSKA *et al.*, 2016)

A natureza semicondutora e a fotoluminescência têm possibilitado a aplicação desses nanomateriais em várias áreas de interesse tecnológico como dispositivos optoeletrônicos, amplificadores de mídia para telecomunicações, (SMITH *et al.*, 2008; VIOL *et al.*, 2011; ESTEVE-TURRILLAS e ABAD-FUENTES, 2013)

Na nanomedicina tem-se destacado por apresentar uma excelente interação com amostras biológicas (CONDE *et al.*, 2014), o que os torna úteis para aplicações em imagens biomédicas e diagnósticas (OLSSON *et al.*, 2011; WENG e NEETHIRAJAN, 2016). Os QDs são superiores, aos corantes orgânicos por

serem mais brilhantes e mais resistentes à degradação fotoquímica, tem mais estabilidade química e apresentam sinais de fotoluminescência eficientes e estáveis (WENG e NEETHIRAJAN, 2016). A interação direta do analíto na superfície dos QDs provoca o aumento ou extinção da luminescência. As primeiras aplicações analíticas de QDs foram baseadas na sua utilização como sondas e sensores (ESTEVE-TURRILLAS e ABAD-FUENTES, 2013).

Os QDs podem ser conjugados com diferentes biomoléculas, tais como: proteínas, anticorpos, aptâmeros, oligonucleótidos, etc., obtendo uma nanopartícula única com propriedades de ambos os materiais, isto é, propriedades ópticas dos QDs e as propriedades biológicas da biomolécula, como mostra a Figura 5. A bioconjugação atribui a sonda especificidade, por exemplo reconhecimento antígeno-anticorpo (WENG *et al.*, 2006; CHOUHAN *et al.*, 2010).

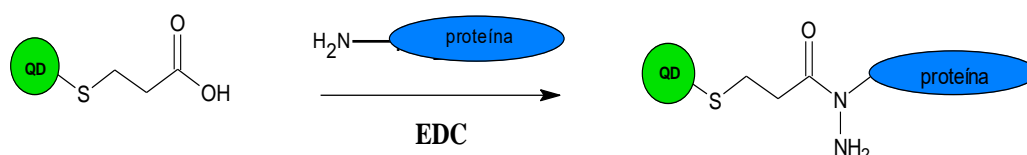


Figura 5. Bioconjugação de QDs-MPA com proteína, utilizando catalizador EDC (1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, para amidação. Adaptado de Weng *et al.* (2006)

As vantagens da microfluídica, mencionadas anteriormente, foram integradas aos biosensores fluorescentes (TAVARES *et al.*, 2012; NOOR *et al.*, 2013; STANISAVLJEVIC *et al.*, 2015). Chouhan e colaboradores, (2010) propuseram um imunossensor em fluxo contínuo, para a quantificação do pesticida metil paration. A alta sensibilidade do imunossensor foi devido à reação imunológica de alta especificidade antígeno-anticorpo. A análise quantitativa do pesticida foi monitorada por fluoroimunoensaio competitivo entre o pesticida livre e o pesticida conjugado com QDs por meio do ligante albumina bovina (BSA) em um sistema de injeção de fluxo simples (FIA). Neste sistema FIA, uma coluna de imunorreator (comprimento 3 cm e $\varnothing_{\text{interno}} = 0,2$ cm) foi revestida com anticorpos anti-MPIgY (concentração de anticorpos de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$). A coluna foi condicionada com 2 mL de tampão fosfato salino (PBS) a uma vazão de $50 \mu\text{L min}^{-1}$ durante 6 minutos utilizando uma bomba peristáltica. Foi possível detectar MP em um intervalo linear de $0,1 - 1,0 \text{ ng mL}^{-1}$ com um coeficiente de regressão $R^2 = 0,9905$, com alta sensibilidade (LOD $0,1 \text{ ng mL}^{-1}$ em água). Weng e Neethirajan (2016), funcionalizaram nanotubos com quantum dots de óxido de grafeno (OG) como nanossensor para detecção rápida, simples e sensível de alérgenos (A h1) de

alimentos. Para o biosensor foi utilizado como nanosonda um complexo de Qds-aptâmero-OG. A alteração na fotoluminescência ocorreu após aproximadamente 10 min de interação do alérgeno com a nanosonda, com um limite de detecção de 56 ng mL^{-1} .

Aucelio *et al.* (2017), estudaram e compararam as interações entre 14 flavonoides com QDs de CdTe-MPA em meio aquoso e a importância do CTAB como mediador dessas interações. O estudo mostrou que da interação entre QDs e flavonoides, na ausência de CTAB, os grupos hidroxila no anel-B flavonoide e a extensão eletrônica de conjugação são determinantes para permitir a interação que leva à extinção da fotoluminescência (de natureza estática). A sensibilidade das curvas determinadas pelo modelo de Stern-Volmer (K_s) indicou que a quercetina interage mais fortemente com QDs. Utilizando a mesma metodologia, Khan e colaboradores (2017) demonstraram a eficácia do método para determinação de histamina em amostras de atum com a diminuição da fotoluminescência emitida a partir de QDs CdTe-TGA. A interação entre os QDs CdTe-TGA com a histamina parece ser de natureza eletrostática, resultando numa extinção do sinal. A supressão da luminescência do tipo estática ocorre quando há formação de um complexo nanosonda-analito (MOLINA-BOLÍVAR *et al.*, 2016; KHAN *et al.*, 2017).

1.3.3.

Espectroscopia UV-VIS associado aos fenômeno SPR e LSPR de nanopartículas metálicas

1.3.3.1.

Nanopartículas Metálicas e Estabilizadores

Nanopartículas metálicas (NPM) têm sido utilizadas há séculos, principalmente por suas propriedades ópticas. Os primeiros relatos do uso de nanopartículas metálicas datam de épocas bem anteriores à ciência moderna, onde nanopartículas (NPs) de cobre, prata e ouro eram usados por produzir efeitos coloridos em vidros e cerâmicas (WILCOXON, 2012).

Estudos mostraram que o tamanho, morfologia, estabilidade e propriedades físico-químicas das nanopartículas metálicas são fortemente influenciados pelas condições experimentais, pela cinética de interação de íons metálicos com agentes redutores e por processos de adsorção de agente estabilizante com

nanopartículas metálicas (IRAVANI, 2014). O desenvolvimento de uma metodologia de síntese que controle a morfologia de nanopartículas metálicas tem sido um dos principais desafios dos pesquisadores da área de nanotecnologia, uma vez que muitas das propriedades das NPs são determinadas por esses parâmetros (GURUNATHAN *et al.*, 2009).

A síntese de estruturas metálicas é normalmente baseada em técnicas químicas ou físicas. As técnicas físicas envolvem frequentemente a deposição de um metal diretamente a partir da mesma fonte de metal que é evaporada e depois depositada em substratos apropriados ou por meio da técnica da ablação laser (ROSSO *et al.*, 2016). Geralmente as nanopartículas metálicas são produzidas por métodos químicos que envolvem a redução de sal do metal nobre por um agente redutor, tais como, tartarato de sódio de potássio, citrato de sódio ou borohidreto de sódio, com mencionado anteriormente (LI e Liu, 2008; PANDOLI *et al.*, 2011; CONDE *et al.*, 2014; NAIR *et al.*, 2014). A síntese de nanopartículas de metal acontece em dois estágios: nucleação (ou pequena formação de "semente") e crescimento (Henglein, 1993). Na fase de crescimento, o material pode ser recoberto com um ligante de superfície. Uma grande variedade de nanopartículas pode ser estabilizada por uma variedade de estabilizantes (surfactantes, polímeros, dendrímeros, biomoléculas) que são muito importantes também na determinação do tamanho e da forma das nanopartículas (CONDE *et al.*, 2014). A estabilidade do sistema provém do fato que as nanopartículas formadas permanecem em suspensão evitando agregação (MELO Jr. *et al.*, 2012). Se o material estiver fracamente adsorvido ao metal haverá pouca ou nenhuma proteção, e as nanopartículas continuarão a crescer em cristais muito grandes até se aglomerarem. No entanto, se o material de revestimento for fortemente ligado à superfície, pode limitar ou parar o crescimento. Os ligantes de superfície conferem a nanopartícula estabilidade, devido à carga superficial, o que provocará repulsão entre as nanopartículas evitando a aglomeração. O citrato, por exemplo, é fracamente ligado à superfície, sendo ligado principalmente por ligação eletrostática (ZHANG e NOGUEZ, 2008)

Recentemente, uma grande variedade de NPs com formas variadas já foram relatadas, dentre elas, nanoesferas (PENG *et al.*, 2017), nanofitas (ZHANG *et al.*, 2008), nanoplacas (XIAO *et al.*, 2016), nanobastões (LANH *et al.*, 2015), e até algumas formas complexas como nanoprismas (SHEN *et al.*, 2017) e nanoflores (HUANG *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2017)

Outra dificuldade na realização da síntese de nanopartículas metálicas é a obtenção de suspensões coloidais estáveis, pois NPs possuem uma alta energia

superficial, favorecendo termodinamicamente a imediata agregação para a formação de ligações metálicas (MELO JR. *et al.*, 2012). O método sintético mais simples e, mais comumente usado, é a redução química de sais metálicos. Nesse método a redução de um sal iônico ocorre na presença de um agente redutor forte por exemplo, o borohidreto de sódio (NaBH_4) (LI e LIU, 2008; MELO JR. *et al.*, 2012; CONDE *et al.*, 2014), citrato de sódio e ácido ascórbico (redutores fracos). A estabilidade das suspensões resultantes é de extrema importância para a observação de fenômenos físicos relacionados à presença de nanopartículas no meio. Dessa forma, outro agente necessário neste tipo de reação é um agente estabilizante, como tartarato de potássio ($\text{K}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$) (GU *et al.*, 2006), ou tartarato de sódio e potássio (LI *et al.*, 2004), podendo ser o próprio agente redutor, polímero ou um sal. Os estabilizadores se adsorvem nas superfícies das NPs, formando uma camada auto-organizada que impede a aglomeração das nanopartículas (IJAZ HUSSAIN *et al.*, 2011; MELO JR. *et al.*, 2012), Figura 6. Neste contexto, a escolha do estabilizante influencia fortemente na qualidade das NPs sintetizadas.

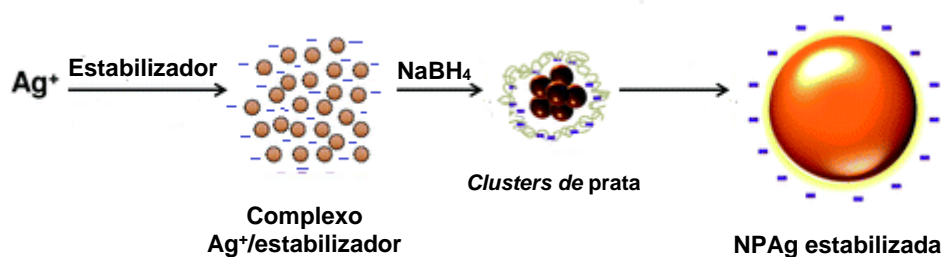


Figura 6. Representação da redução e estabilização de uma NP-Ag a partir de um redutor forte (NaBH_4) e um estabilizador. Adaptado de Agnihotri, Mukherji e Mukherji (2014).

O uso de agentes redutores fracos requer aumento da temperatura para que o processo ocorra, podendo produzir nanopartículas grandes e com larga distribuição de tamanhos. No entanto, o uso de agentes redutores fortes como NaBH_4 não requer elevação da temperatura e permite a obtenção de nanopartículas pequenas e com estreita distribuição de tamanhos (DUAN *et al.*, 2015).

A estabilidade das NPsAg pode ser atingida de duas formas: a primeira por meio de interação eletrostática, na qual a estabilização ocorre por meio de cargas da nanopartícula (Figura 7A); a segunda por efeito estérico, na qual há presença de grandes moléculas ligadas à NP, Figura 7B, (BERNI NETO, 2010).

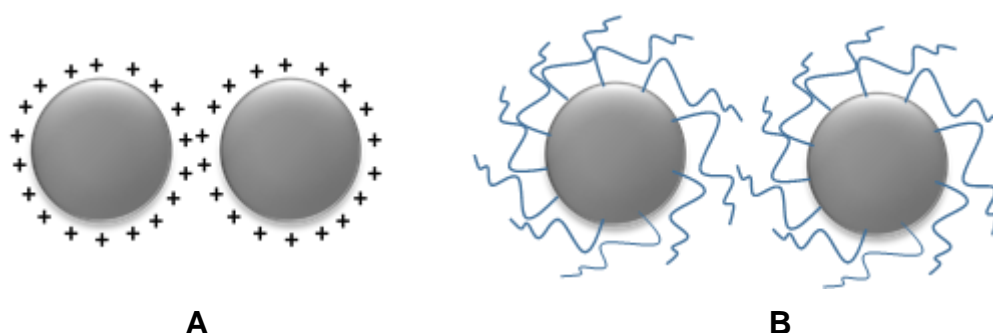


Figura 7. Representação dos tipos de estabilização de NPs. A) estabilização por forças eletrostáticas; ou por B) efeito estérico. Adaptado de Berni Neto (2010).

Os estabilizadores mais eficazes são os poliméricos, como por exemplo, o poli(vinilpirrolidona) (PVP), o poli(álcool vinílico) (PVA) e ácido poliacrílico (PAA), que possuem, em suas estruturas, sítios básicos de Lewis com alta afinidade pelas nanopartículas, e cadeias orgânicas suficientemente compridas que criam um impedimento estérico, evitando interações entre as mesmas (ZHANG *et al.*, 1996; MELO JR. *et al.*, 2012; IRAVANI, 2014). Além destes, alguns sais, como citrato trissódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) (BASTÚS *et al.*, 2014), e tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (GU *et al.*, 2006), também são utilizados.

O citrato trissódico (Na_3Cit), Figura 8, é um ligante orgânico frequentemente utilizado como agente estruturante na síntese de NPs. A molécula de Na_3Cit possui três grupos carboxílicos ($-\text{COO}$) e um grupo hidroxila ($-\text{OH}$). Tanto o grupo $-\text{COO}$ como o $-\text{OH}$ podem servir como locais de ligação para coordenar com íons metálicos. Essa característica fornece ao Na_3Cit uma forte capacidade quelante, que é útil para a formação de complexo nanoestruturado (CORZO LUCIONI, 2012; KHODASHENAS e GHORBANI, 2015; HUANG *et al.*, 2017). O íon citrato, como observado em sua estrutura química (Figura 8), desempenha uma dupla função no processo de síntese das NPs. A primeira é promover a redução metálica e a segunda, estabilizar a estrutura, fornecendo uma geometria esférica e conferindo carga global negativa à superfície impedindo aglomeração das nanopartículas formadas (ANTUNES, NICOLLE DAL'ACQUA e CARLOS, 2013).

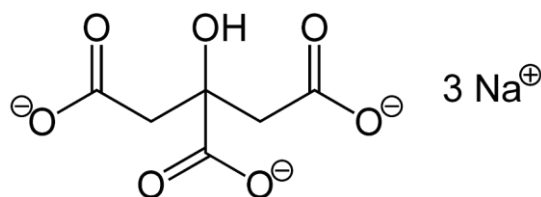


Figura 8. Estrutura molecular do citrato trissódico. Adaptado de Antunes (2013).

O tartarato de sódio e potássio, Figura 9, também conhecido como sal de Rochelle, é um sal duplo de ácido tartárico (BEEVERS e HUGHES, 1941). A molécula possui dois grupos carboxílicos ($-\text{COO}^-$) e dois grupos hidroxila ($-\text{OH}$). Tanto o grupo $-\text{COO}^-$ como o $-\text{OH}$ podem servir como locais de ligação para coordenar com íons metálicos (SHAO E ZHAO, 2010; CORZO LUCIONI, 2012). Há poucos registros na literatura sobre a síntese de nanopartículas metálicas estabilizadas com este tipo de sal (KHODASHENAS e GHORBANI, 2015).

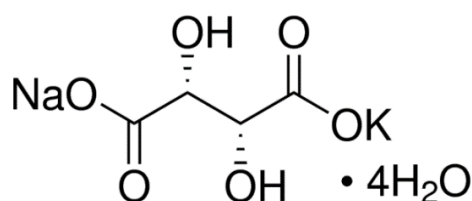


Figura 9. Estrutura molecular do tartarato de sódio e potássio tetrahidratado.

1.3.3.2. Nanopartículas de prata (NPsAg)

As NPs de prata são de interesse devido às propriedades únicas que podem ser incorporadas em aplicações antimicrobianas, materiais biossensores, fibras compostas, produtos cosméticos e componentes eletrônicos. As nanopartículas apresentam uma relação superfície/volume mais elevada com diminuição no tamanho das partículas. A área de superfície específica é relevante para a atividade catalítica e outras propriedades relacionadas, como a atividade antimicrobiana de NPsAg (PANDOLI *et al.*, 2016). À medida que a superfície específica das nanopartículas aumenta, a sua eficácia biológica pode também

aumentar devido a um aumento da energia superficial (GURUNATHAN *et al.*, 2009; LATEEF *et al.*, 2016).

A síntese de NPs metálicas utilizando o citrato trissódico como estabilizador foi a mais usada durante anos, por fornecer NPs estáveis, monodispersas e relativamente inofensivas ao meio ambiente (ANTUNES, NICOLLE DAL'ACQUA e CARLOS, 2013).

1.3.3.3.

Ressonância Plasmônica de Superfície - SPR

Uma das propriedades ópticas das NPs_{Ag} e filmes nanométricos de prata é gerar bandas de ressonância plasmônica de superfície (SPR - do *inglês*: *Surface Plasmon Resonance*), que é um fenômeno da área da fotônica. A ressonância plasmônica de superfície é uma oscilação da densidade de carga que pode existir na interface de dois meios com constantes dielétricas de sinais opostos gerada pela radiação eletromagnética, ou seja, a interação da luz com a matéria, neste caso filmes finos de metais nobres, por exemplo, Au e Ag. O campo eletromagnético da luz incidente excita coletivamente os elétrons, gerando o plasmon de propagação, como mostra a Figura 10. Plasmon de propagação, também são conhecidos como polaritons de plasmon de superfície (SPP – do *inglês*: *Surface Plasmon Polariton*) (KATHERINE, 2007; PETRYAYEVA e KRULL, 2011; MAXIMINO, 2014). Os plasmons propagam-se nas direções x e y ao longo da interface metal-dielétrico, percorrendo distâncias na ordem de dezenas a centenas de microns, e logo decaem evanescentemente na direção z.

A interação entre a onda eletromagnética confinada na superfície metálica e uma camada superficial molecular de interesse leva a mudanças na condição de ressonância plasmônica podendo ser observada por sensores, por exemplo, baseando-se na refletividade da luz a partir da superfície do metal em função do ângulo de incidência (KATHERINE, 2007; SANTOS *et al.*, 2016).

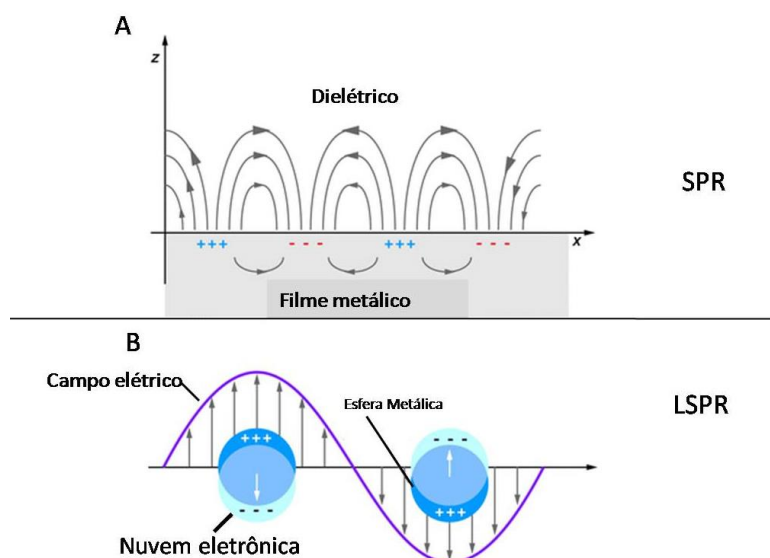


Figura 10. LSPR *versus* SPR adaptado de Katherine (2007).

1.3.3.4.

Ressonância plasmônica de superfície localizada - LSPR

Quando o acoplamento é feito com uma nanopartícula metálica com diâmetro muito menor que o comprimento de onda incidente; isto leva a um *plasmon* que oscila localmente da nuvem eletrônica em torno da nanopartícula, Figura 10B, este é chamado de ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR – do inglês: *Localized surface plasmon resonance*) (KATHERINE, 2007; MAIER, 2007; BROLO, 2012; WEI *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2016).

A LSPR é influenciada por muitos fatores devido a sua interação ser com partículas muito pequenas (NPs). Os fatores mais importantes para o desempenho de um sensor LSPR são: o tamanho das NPs, a forma das NPs e o ambiente circundante, (solventes e interação com analitos) (PETRYAYEVA e KRULL, 2011). Por exemplo, nanopartículas de ouro com um diâmetro aproximado de 10 nm apresenta um máximo de extinção LSPR em torno de 520 nm, no entanto, quando as nanopartículas de ouro entre 10 - 40 nm, eles mostram uma banda de extinção LSPR em torno de 520 - 530 nm (WANG e ASTRUC, 2014).

As faixas LSPR para ouro e prata estão dentro da faixa do visível do espectro eletromagnético. Por exemplo, a LSPR de nanopartículas esféricas de ouro de tamanho de aproximadamente 50 nm, encontra-se em torno de 530 nm, de forma semelhante, a LSPR de nanopartículas esféricas de prata a 50 nm está a

aproximadamente a 430 nm. A localização exata da banda LSPR é altamente dependente das características do metal nobre, do tamanho, forma e agregação da nanopartícula (MAXIMINO, 2014; WEI *et al.*, 2015).

A aglomeração das nanopartículas causa o acoplamento eletrônico entre elas gerando uma nova banda espectral alargada e deslocada para o vermelho, isso influencia de maneira significativa na oscilação do *plasmon* de superfície (MIRANDA-ANDRADES *et al.*, 2017).

Com a mudança da geometria da superfície das nanopartícula, alterando sua forma, conseqüentemente, há uma mudança na densidade do campo elétrico na superfície. A frequência de oscilação resultante dos elétrons também muda, gerando assim diferentes seções transversais e longitudinais das propriedades LSPR. (WANG e ASTRUC, 2014; SANTOS *et al.*, 2016).

Por exemplo, com os nanobastões de ouro duas bandas espectrais tornaram-se aparentes, associadas com as ressonâncias de *plasmon* transversais e longitudinais, em contraste com uma única banda de *plasmon* para nanopartículas esféricas. A banda espectral transversal coincide com a esférica, em torno de 520 - 530 nm, enquanto a ressonância do modo longitudinal é deslocada para o vermelho, esta banda surge à medida que a nanopartícula esférica de ouro se alonga formando nanobastões, normalmente aparecendo acima de 700 nm (TOMA *et al.*, 2010; MIRANDA-ANDRADES *et al.*, 2017)(KATHERINE, 2007; MAIER, 2007).

1.3.3.5.

Síntese de Nanopartículas metálicas em fluxo

A microfluídica tem se mostrado uma poderosa ferramenta para sintetizar e otimizar várias nanopartículas, incluindo nanopartículas de metais e nanopartículas orgânico-inorgânico. Devido à sua capacidade de separar os estádios de nucleação e crescimento na formação de nanopartículas de modo controlado. Nanopartículas com maior uniformidade e menor índice de polidispersividade podem ser preparadas dentro de plataformas microfluídicas com desempenho melhorado, como mencionamos anteriormente (HARTMAN e JENSEN, 2009; YANG *et al.*, 2009; WATT *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2017). Na Tabela 1 pode-se observar a variedade de formas e métodos para síntese de nanopartículas metálicas em plataformas microfluídicas para facilitar a comparação entre os seus tipos, tamanho, forma e o substrato da plataforma microfluídica. (SONG *et al.*, 2008; ZHANG e NOGUEZ, 2008; MA *et al.*, 2017).

Tabela 1 Exemplos de nanopartículas sintetizadas em plataformas microfluídicas para aplicações biomédicas. Adaptado de Ma et al. (2017).

Substrato de microrreatores	Metal precursor	Reagentes	Tamanho (nm)	Forma	Potenciais aplicações biomédicas/referência
Termoplástico (PEEK)	Au	HAuCl ₄ + ácido ascórbico + CTAB + AgNO ₃ + NaBH ₄ + PEG-SH	Ø = 10 - 20 L = 20 - 50	Nanobastões	Biosensores (USON <i>et al.</i> , 2016)
PDMS	Au	Au sementes + HAuCl ₄ + ácido ascórbico + CTAC + NaBr	50	supra partículas	Biosensores (FU <i>et al.</i> , 2015)
Termoplástico (PE)	Au/Ag	Ácido mercapto-hexanóico / CTAB / citrato + HAuCl ₄ + NaBH ₄ + AgNO ₃ + ácido Ascórbico	2 - 40	Esferas, nanobastões	Biosensores (LOHSE <i>et al.</i> , 2013)
Vidro	Ag	Diethylene glycol + NaSH + CF ₃ COOAg + PVP	30 – 100	Cubos Octaedros	Biosensores (ZHANG, L. <i>et al.</i> , 2013)
Híbrido (silício-Pyrex)	Au	AuCl ₄ + Na TTAB	3 – 15	Esferas	Biosensores LSPR (SEBASTIAN CABEZA <i>et al.</i> , 2012)
PDMS	Au	HAuCl ₄ / 1-metilimidazole e NaBH ₄ em BMIM-BF ₄	4	Esferas	Biosensores Bionanotecnologia, catálise química (LAZARUS <i>et al.</i> , 2010)
PDMS	Ag	AgNO ₃ + cloridrato de hidroxilamina + NaOH	10 – 20	Cubos	Biosensores - Determinação do pigmento natural da scytonemin das cianobactérias (WILSON <i>et al.</i> , 2010)
Vidro	Au	Oligômero de tiolato ou polímero + HAuCl ₄ + NaBH ₄	3 – 4	Esferas	Biosensores LSPR (SHALOM <i>et al.</i> , 2007)

Ø = diâmetro, L = comprimento

Yue e colaboradores (2013), descreveram o uso de uma cela de fluxo segmentado, do tipo cruzada, integrado a microrreatores e espectroscópica UV-visível para monitoramento em tempo real da síntese de AuNPs sob fluxo segmentado. O tamanho médio das nanopartículas foi de 36, 26 e 24 nm para os tempos de reação de 13,3, 8,8 e 6,6 s, com a taxa de vazão de 4,6 e 8 mL min⁻¹ e apresentando as bandas SPR em 559, 557 e 544 nm respectivamente. Nesse estudo foi mostrado que a concentração em fase líquida e os detalhes do fluxo

segmentado podem ser determinados a partir dos espectros UV-Visível adquiridos em alta resolução temporal (2 ms).

1.3.3.6.

Aplicações de Sensores SPR / LSPR

A excitação óptica de plasmon de superfície pelo método de reflexão foi demonstrada por Kretschmann e Ottoem em 1960 (CARVALHO *et al.*, 2003). Desde então houve um avanço significativo no desenvolvimento de sensores e biossensores ópticos para determinações de espécies de interesse químico e biológico. O primeiro sensor com transdução químico óptico foi baseado na medida de mudanças no espectro de absorção e foi desenvolvido para determinações de CO₂ e O₂. A partir disso uma variedade de sistemas ópticos de detecção está sendo desenvolvidos para biossensores (HOMOLA *et al.*, 1999; CARVALHO *et al.*, 2003).

A configuração de Kretschmann, Figura 11 esquerda baseia-se no fenômeno de reflexão interna total. Quando a luz polarizada atravessa um meio óptico denso (ex. vidro, polímero transparente) e alcança uma interface entre este meio e um meio de densidade óptica menor (ex. ar), e é refletida de volta para o meio mais denso. As ondas de plasmon numa fina camada metálica são excitadas pela iluminação das películas metálicas no seu lado posterior ligado a um prisma.(SANTOS *et al.*, 2016) A excitação dos polaritons plasmônicos de superfície requerem condições de iluminação específicas, tais como, comprimentos de onda, e ângulos de incidência. Estas excitações são fortemente sensíveis na presença das moléculas que interagem na superfície e, portanto, ocorre mudanças na excitação do plasmon indicando eventos de adsorção entre o metal e molecular de interesse (CARVALHO *et al.*, 2003; JATSCHKA *et al.*, 2016; JI *et al.*, 2017)

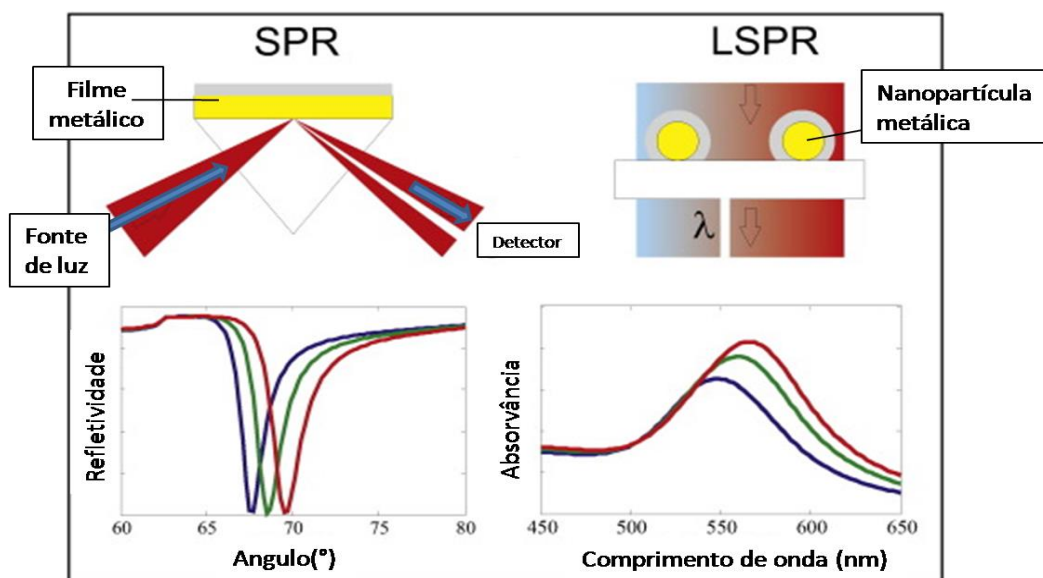


Figura 11. Esquemas do princípio de detecção para os sistemas SPR (esquerda) e LSPR (direita). Adaptado de Jatschka *et al.* (2016).

Como mencionado anteriormente, na SPR a radiação eletromagnética da luz polarizada interage com um filme metálico, enquanto a LSPR a luz interage em nanoestruturas metálicas com dimensões muito menores que o comprimento de onda da luz incidente, para as quais as oscilações plasmônicas são localizadas (SANTOS *et al.*, 2016). Nanopartículas metálicas que estão juntas aos materiais dielétricos exibem uma forte extinção (absorção + espalhamento) (MAXIMINO, 2014).

A miniaturização dos biossensores a base de LSPR e SPR é possível por possibilitar que os substratos plasmônicos sejam integrados com sistemas microfluídicos e sistemas ópticos simples. Nesse contexto a busca por fabricação de biossensores miniaturizados com alta sensibilidade e baixo limite de detecção (LOD, do inglês *Limit of Detection*) tem sido um desafio (KATHERINE, 2007; YOCKELL-LELIEVRE *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2016).

Nesse contexto Ji *et al.* (2017) propuseram um sensor microfluídico de índice de refração compacto baseado na interação de ressonância entre o modo de polaritons de plasmon de superfície (SPP) e o modo de guia de polímero. O guia de ondas plasmônico híbrido consiste em polímero sensível SU-8 (5 mm) e um filme de ouro fino em uma camada de sílica. O canal microfluídico é usado para o escoamento das soluções orgânicas através da área de detecção. Bombas peristálticas foram usadas para injetar a amostra, e cabos de fibra ótica foram

usados para transmitir a luz entre a fonte/guia de onda/detector. Foi utilizado um design simples de fácil fabricação com alta sensibilidade.

A integração de plataformas microfluídicas com sistemas ópticos como SPR e LSPR tem várias vantagens na tecnologia de diagnóstico, tais como, fabricação barata, adaptabilidade e resultados rápidos baseadas no conceito de pontos de cuidado (POC do inglês *point-of-care*) mencionados anteriormente. Tokel e colaboradores (2015) apresentaram uma plataforma de ressonância de plasmon de superfície (SPR) integrada à microfluídica, portátil, utilizada para detecção e quantificação rápida de bactérias do tipo *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*). A plataforma apresentou captura e detecção confiáveis de *E. coli* em concentrações variando de aproximadamente 10^5 a $3,2 \times 10^7$ CFUs mL⁻¹. A plataforma SPR demonstrou um potencial dispositivo microfluídico POC. Neves *et al.* (2015), avaliaram uma plataforma LSPR como um sensor de antígenos de *Candida albicans*, para identificação de diferentes concentrações de antígenos. A plataforma consiste em uma lamina de vidro silanizada com MPTS (mercaptopropiltrimetoxisilano) e funcionalizada com NPs_{Ag}-glicina-anticorpos *candida*. Os espectros de extinção foram observados em UV-visíveis, de 350 nm a 800 nm, com resolução espectral de 0,2 nm. Os resultados mostram a capacidade do sistema de identificar concentrações de antígeno de *Candida albicans* superiores a 50 ng mL⁻¹. Foi observado um deslocamento para o vermelho de 8 nm indicando a possibilidade do uso da plataforma como imunossensor para *Candida albicans*. Recentemente biossensores baseados no fenômeno de ressonância de plasmon de superfície localizada (LSPR) de nanopartículas metálicas vem recebendo muita atenção em sua fabricação e aplicações. Nanopartículas de ouro e prata são as mais sintetizadas para biossensores LSPR, a síntese de outras nanopartículas de metal tais como Pt e Cu também já foram testadas (LIAU E LIN, 2017; MA *et al.*, 2017).

Miranda-Andrades *et al.* (2017) demonstraram o uso das propriedades ópticas da dispersão aquosas de AuNPs para o desenvolvimento de métodos quantitativos para determinação de gentamicina. Foram comparadas duas dispersões aquosas diferentes uma de nanopartículas esféricas, sintetizada utilizando citrato de sódio monobásico AuNP se outra com nanobastões sintetizadas com CTAB (AuNRs). As análises foram feitas comparando os espectros UV-vis. Os melhores resultados, em termos de sensibilidade, foram obtidos utilizando AuNPs com monitoramento do sinal da banda de acoplamento de plasmon. Todos os métodos demonstrados permitiram a detecção até 0,02 ng de GEN usando as AuNPs (LOD de 0,4 ng mL⁻¹ na dispersão). O método de

detecção é simples para interação com AuNPs ou AuNRs e não requer nenhum reagente tóxico do uso para derivatização química.

1.3.4.

Filmes poliméricos funcionalizado com materiais nanoestruturados, nanocompósito

Filmes finos são camadas muito finas de um determinado material compreendida entre 10^{-9} m a 10^{-6} m. Um filme fino pode ser produzido por dois processos: no primeiro o filme fino se forma através da reação da superfície do substrato com as substâncias presentes no ambiente do processo (Cruz e De AVILLEZ, 2000; SESTAK *et al.*, 2010; CRUZ e SAN MIGUEL, 2012; SUBRAMANI *et al.*, 2012; WEI *et al.*, 2016). No segundo, o filme fino é produzido por deposição sobre o substrato (KANG *et al.*, 2011; TRIPATHI *et al.*, 2015).

Uma propriedade essencial da nanotecnologia é o aumento da razão entre a área e o volume do nanomaterial conferindo propriedades especiais (FERREIRA E RANGEL, 2009). Muito esforço tem sido empreendido para produzir filmes homogêneos e ultrafinos que possam ser explorados como dispositivos óptico-eletrônicos, sensores químicos e biológicos (KANG *et al.*, 2011; SANTONICOLA *et al.*, 2014) e como células fotovoltaicas, pois é um dos candidatos mais promissores para substituir os materiais de fósforo convencionais atualmente usados em diodos emissores de luz (LEDs) (BODAS e KHAN-MALEK, 2007; LIN e LIU, 2011; TAO *et al.*, 2013; LIANG *et al.*, 2017). A integração de QDs em superfícies sólidas é fundamental para desenvolvimento de dispositivos em estado sólido.

A incorporação de NPs em polímeros para a formação de um compósito proporciona novas propriedades físicas e químicas, tais como, solubilidade e reatividade. As aplicações diretas das NPs são limitadas porque se agregam facilmente devido à sua elevada energia superficial e rápida oxidação. Compósitos são materiais formados pela combinação de dois ou mais diferentes materiais, produzindo propriedades únicas e sinérgicas, diferentes daquelas de seus componentes individuais (ZARBIN, 2007). Os nanocompósitos apresentam melhor estabilidade e menor toxicidade fornecendo a proteção eficaz de NPs nas matrizes de polímeros (LI *et al.*, 2007; TRIPATHI *et al.*, 2015). Filmes nanoestruturados de materiais orgânicos são estudados extensivamente, principalmente devido ao possível controle de suas propriedades em nível molecular. Algumas técnicas de deposição são utilizadas para formação desses

filmes, tais como revestimento *Langmuir-Blodgett*, *drop casting* e *spin coating* (FERREIRA *et al.*, 2005).

Materiais nanoestruturados em polímeros (nanocompósitos) possibilitam uma gama de aplicações integradas à microfluídica com todas as vantagens mencionadas anteriormente. O polidimetilssiloxano (PDMS) tem sido o pilar da prototipagem rápida na comunidade científica, por causa de seu baixo custo, robustez e fabricação simples, que são particularmente vantajosos nas fases exploratórias da pesquisa (SOLLIER *et al.*, 2011). O PDMS possui características essenciais como a natureza elastomérica, transparência óptica (230 - 700 nm), inércia química, biocompatibilidade e permeabilidade a gases (MORARKA *et al.*, 2011).

Morarka *et al.* (2011), descreveram uma nova técnica de fabricação rápida e simples para a construção de microcanais 3D de diâmetro variando de 40 a 500 μm , a base de elastômero PDMS. Esses microcanais foram utilizados para a detecção rápida de antigénios (*E. coli*) pela abordagem baseada em QDs luminescentes de CdTe.

Apesar do PDMS apresentar muitas vantagens e sua ampla utilização em laboratórios acadêmicos, seu baixo módulo de elasticidade torna-se uma questão importante para a operação de alta pressão, pois leva a uma grande alteração da geometria do canal, consequentemente influenciando o regime de escoamento do fluido. (SOLLIER *et al.*, 2011). Em alternativa ao PDMS, alguns polímeros também são explorados como nanocompósitos, tais como, PMMA (polidimetilmetacrilato), por apresentar alta flexibilidade e alta transparência à luz podendo ser utilizado em sensores LSPR (ZHONG *et al.*, 2014), e PVA (polivinilalcool) (Li *et al.*, 2010; TRIPATHI *et al.*, 2015; CHAKRAVARTY *et al.*, 2016; LIAU E LIN, 2017).

Compósitos a base de polímeros e QDs podem ser utilizados como biosensores. Chakravarty e colaboradores, (2016), desenvolveram um biossensor baseado em hidrogel híbrido à base de PVA para detecção ultrasensível de ácido fólico por extinção de fotoluminescência. Este novo biossensor PVA-triptofano-CdTe QDs (PTQ) apresentou uma melhor eficiência de detecção com um excelente limite de detecção ($0,57 \text{ pg ml}^{-1}$), em comparação aos kits ELISA comercial. A excelente sensibilidade foi atribuída a uma combinação de um forte processo de transferência de elétrons fotoinduzidos e um efeito de filtro interno na interação sensor-ácido fólico. A detecção em tempo real do sensor foi investigada pelo rastreamento de ácido fólico presente nas amostras de soro sanguíneo de camundongo saudáveis e infectados com câncer e de humanos saudáveis. O sensor apresentou alta sensibilidade para o ácido fólico nas amostras de soro

sanguíneo com leucemia mieloide aguda, LOD de 42,29 ng ml⁻¹, e pacientes com câncer de ovário, LOD de 365 ng ml⁻¹.

Além da forma de hidrogéis, nanocompósitos podem ser utilizados na forma filmes finos como potenciais biosensores. (LI *et al.*, 2010; KANG *et al.*, 2011; ZHONG *et al.*, 2014; TRIPATHI *et al.*, 2015; CHAKRAVARTY *et al.*, 2016; LIAU e LIN, 2017).

O crescente interesse pelo desenvolvimento de sondas analíticas luminescentes é atribuído às características intrínsecas deste fenômeno que facilita a detecção sensível de espécies químicas de interesse clínico-biológico, ambientais, entre outras. As propriedades ópticas dos *quantum dots* podem ser associadas às vantagens dos dispositivos “*point-of-care*” (POC), que são simples e rápidos como dispositivos analíticos de papel microfluídico (μPADs) (YETISEN *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2017). Isso é um desafio na produção de filmes finos luminescentes para potenciais biosensores desse tipo. Nesse contexto, foram realizadas tentativas de formação de filmes finos com espessura controlada e alta qualidade de luminescência em substratos poliméricos.

2

Materiais, Instrumentação e Procedimentos Experimentais

O presente capítulo contém a metodologia detalhada de todos os procedimentos desenvolvidos na pesquisa, os materiais e reagentes, assim como os equipamentos utilizados e as suas especificações.

2.1.

Materiais e Reagentes

2.1.1.

Reagentes

Água ultrapura, resistividade inferior a 18 Ω , produzida por um ultrapurificador de água marca Millipore (EUA, modelo Mili-Q A10 Gradiente); ácido tioglicólico 99% (Isofar); cloreto de cádmio monohidratado 99%, e glicerina 100% (Vetec); hidróxido de sódio (Merck); gás de N₂ 99,9% (Linde); telúrio metálico (Alfa Aesar); hidróxido de sódio (Merck); EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide) e NHS (N-hidroxysuccinimide) 98%; álcool metílico (99,8%), álcool isopropílico (99,5%) e clorofórmio (99,8%), acetona (98%), foram de grau analítico adquiridos da Isofar (Brasil), Álcool etílico (99,5%), foram de grau analítico da marca (Vetec-Brasil). O corante orgânico rodamina B (>95%) (Sigma-Aldrich). PVA (alcoolpolivinílico puríssimo, 98,0% - ISO FAR), o silicone elastômero base e o agente curador (catalisador) Sylgard® 184, foram da Dow Corning Corporation (EUA). A solução de Extran® diluído a 5% (v/v) adquirido da (Merk-Alemanha), ácido nítrico de pureza analítica (Vetec-Brasil) foram utilizados na limpeza da vidraria, foram utilizados para silanização das lâminas de vidro aminopropil-trimetoxissilano (APTS) 97%, [3-(2-aminoetilamino) propil] trimetoxissilano], (AEAPTS) 95% e mercaptopropil-trimetoxissilano (MPTS) 95% todos da Sigma Aldrich (Brasil). Para síntese de nanopátulas de prata foram utilizados nitrato de prata 99,0% (AgNO₃), citrato de trissodiosódico diidratado (C₆Na₃O₇·2H₂O) 99,0%, borohidreto de sódio (NaBH₄) 99,0%, todos da Sigma

Aldrich, tartarato de sódio e potássio tetraidratato ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$), 99,0% (ISO FAR).

2.1.2. Materiais

Os materiais utilizados foram: vials de vidro de 5, 10 e 20 mL; cubeta de acrílico e de quartzo com caminho óptico 10 mm, balão de fundo redondo 25 e 50 mL, com duas vias; balão de fundo redondo 25 e 50 mL, com 3 vias; 1 balão de fundo redondo 100 mL, septos de borracha; agulhas de aço de 30 cm; seringas de vidro 1 e 5 mL, luer-lock (Hamilton) de 1 e 5 mL, barras magnéticas; tubos Eppendorf de microcentrífuga de polipropileno; bastão de vidro; lâminas de vidro tipo Glass Microscope Slide (Corning®), de dimensões 25 x 70 x 1 mm, 25 x 70 x 2 mm e 75 x 50 x 1 mm, transparentes ao UV-vis; bisturi de aço adquirido da Golgran Ltda (São Caetano do Sul); seringa de plástico luer-lock de 5, 10 e 20 mL (Becton Dickinson, Brasil), seringas de vidros Gastight de 5 e 10 mL (future chemistry, Alemanha). As micropipetas reguláveis de 10 a 100 µL, 50 a 200 µL e 200 a 1000 µL foram da Kasvi. Micromisturador-T em PEEK, tubulações em PTFE/PFA, conector flangeless ¼-28 e conectores cônico 10/32 (Up-Church), tubulação de aço de diâmetro interno 1,6 mm e diâmetro externo 0,5 mm e um conector a T de aço inoxidável (Swalog).

2.2. Equipamentos

Bombas seringa modelo NE-1000G (Future Chemistry - Holanda); fornos tubulares horizontais com janelas comunicantes modelo DBLFRNC, (Microtube Araraquara SP Brasil) com controlador de temperatura digital (Novus N1040); balança analítica (Bel-Engineering); chapa aquecedora com termopar, modelo RCT basic (IKA); bomba de vácuo (Primatec); pHmetro (sensoglass); espectrofluorímetro modelo LS45 (Perkin Elmer), espectrômetro USB Ocean Optics UV-Visível e fluorímetro modelo USB 2000+ (Ocean Optics). As análises espectroscópicas em cubeta foram executadas com um suporte de aço (CUV-ALL-UV) para cubeta de caminho óptico de 1 cm. Para análise em fluxo contínuo, o espectrômetro UV-Visível foi acoplado à célula de fluxo-Z de caminho ótico de 10 mm em resina Utem (SMA-Z-Cell-FIALab), enquanto, o espectrômetro de

fotoluminescência é acoplado a uma célula de fluxo-W; goniometro (Raméhartinstrument); espalhamento dinâmico da luz e potencial zeta, modelo SZ-100 (HORIBA); espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR); modelo two spectrum (Perkin Elmer); espectrofotômetro UV-Visível cary-50–Varian; banho ultrassônico modelo USC-1400A (Unique); sistema de LED para uma fonte monocromática a 365 nm, UV-modelo M405L2 100 mW cm⁻² (25 mW cm⁻² a 3,1 cm de distância) (THORLABS-EUA); Plasma Cleaner usado na hidroxilação das superfícies dos vidros e PDMS modelo PCDC-001 (Harrick Plasma - EUA);bomba peristáltica (Gilson). Os filmes de PVA-QDs-TGA foram depositados em spin-coating modelo EC101DT-R485 (Herd Way - EUA) e a espessura mensurada em perfilometro, Veeco modelo DCKTAC 150, resolução vertical máxima de 1A°.Para a confecção do suporte de lâmina foi utilizada Impressora 3D modelo profissional Projet® 3510-HD plus 3D Systems (EUA);

2.3. Configurações experimentais

Setup A – A configuração experimental para obtenção dos espectros de absorção UV-Visível em fluxo contínuo (OceanOptics) é composto basicamente por duas bombas seringas (Future Chemistry), duas seringas de vidro, 5 mL, luer-lock (Hamilton), tubulações (PFA ou PTFE), conetores, um misturador a forma de T, uma célula de fluxo-Z de caminho ótico de 10 mm em resina Utem (SMA-Z-Cell-FIALab), uma fonte de luz contínua modelo DH mini (Ocean Optics), um espectrômetro USB2000+ (Ocean Optics) conectado à um PC fornecido de software (Spectra Suite) para processamento on-line dos dados Figura 12.

As soluções em exame foram injetadas por meios de duas bombas seringas no misturador-T e logo a mistura é analisada pela cela de fluxo conectada por fibras óticas ao espectrômetro. Em detalhe, as seringas são conectadas às tubulações por adaptadores tipos rosca luer-fêmea, para cone macho 10-32, pressão máxima de 45 psi / 3.1 bar, e adaptadores cone macho para cone fêmea 10-32, pressão máxima 1000 psi /69 bar, diâmetro interno 0,75 mm. Os adaptadores são conectados a dois tubos de 30 cm de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm, diâmetro externo de 0,75 mm para um volume interno total de 15,0 µL. As outras extremidades dos tubos são adaptadas com conectores flangeless, compostos de ferrule e nut, ambos 1/4-28 de polipropileno. Os conectores flangeless são inseridos nas duas entradas do micromisturador-T em material PEEK, que possui volume interno de 11.4 µL, pressão máxima 1000 psi

/ 69 bar. Na saída do misturador, um tubo PTFE (ou PFA) de 90 cm de comprimento e diâmetro interno de 0.25 mm (volume interno de 44,0 μL), foi enrolado para formação de um coil de 5 anéis com diâmetro de 5 cm cada anel. A extremidade adaptou-se com um conector flangeless, à célula de fluxo-Z (SMA-Z-Cell-FIALab). Na saída da célula de fluxo adaptou-se um conector flangeless com um tubo PTFE (ou PFA) (20 cm de comprimento e $\varnothing=0.250$ mm) encerrando-o em um erlenmeyer para descarte do resíduo. A célula de fluxo-Z (SMA-ZCell-FIALab) (Figura 13), tem duas janelas de quartzo que se comunicam com a fonte e o detector por cabos de fibra ótica. A fibra ótica (modelo SR $\varnothing=600$ μm) de 20 cm de comprimento e diâmetro interno de 600 μm é adaptado a fonte de UV-VIS-NIR, modelo DH mini, e a fibra ótica (modelo UV-VIS $\varnothing=50$ μm) de 2 m é adaptada ao espectrofotômetro UV-Visível, modelo USB2000+(OceanOptics). Os espectros de absorbância UV-Visível são processados pelo software SpectraSuite funcionando no computador, conectado ao espectrômetro. Os cabos de fibra ótica, cela de fluxo-z e espectrômetro USB2000+ fixados em mesa óptica.

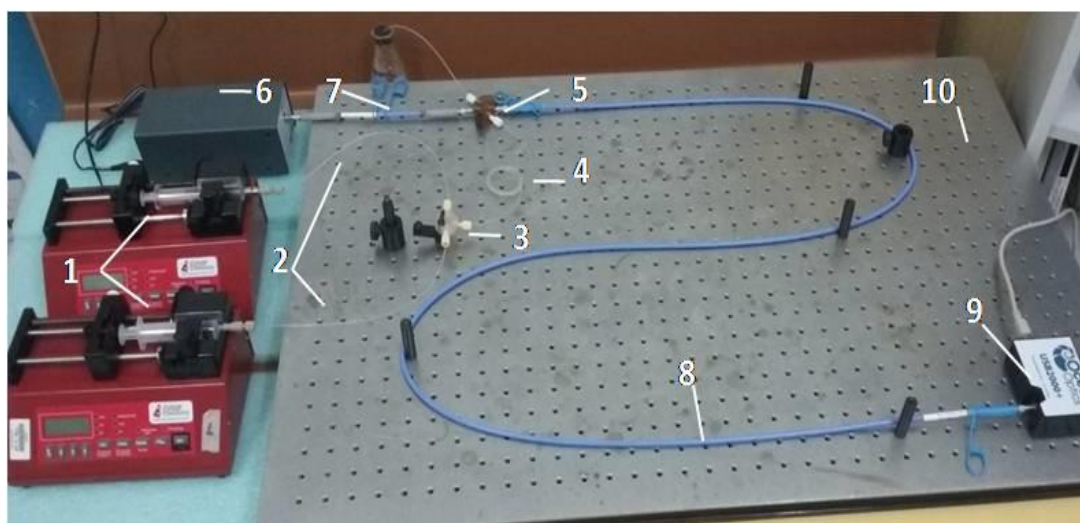


Figura 12. O setup experimental para obtenção dos espectros de UV-vis em fluxo contínuo: 1) Bombas-seringas e conectores; 2) Tubulações de 30 cm, 3) micromisturador-T; 4) Tubulações de 90 cm com coil; 5) Cella de fluxo-Z; 6) fonte de UV-vis; 7) Cabo de fibra ótica 20 cm; 8) Cabo de fibra ótica 2 m; 9) Detector USB2000+; 10) descarte; 11) Mesa óptica; 12) cabo USB para conexão ao PC com software SpectraSuite.

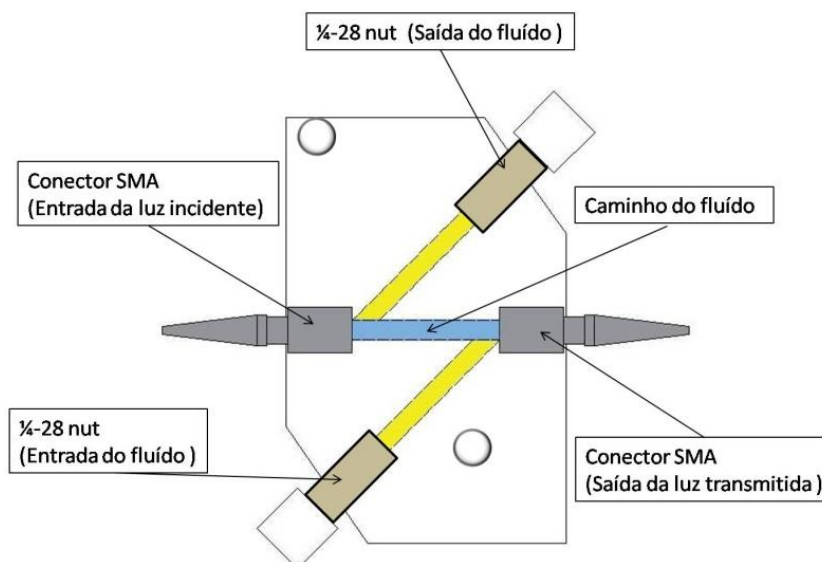


Figura 13. Esquema da cela óptica para medida de absorvância em fluxo

Setup B - A configuração experimental para obtenção dos espectros de fotoluminescência em fluxo contínuo é composta basicamente de duas bombas-seringas, micromisturador-T, uma espira de 90 cm de comprimento, uma cela de fluxo-W de fotoluminescência (SMA-FLCell-FIALab), uma fonte de luz monocromática a 365 nm, um espectrômetro USB2000+ (OceanOptics) conectado a um PC fornecido de software (Spectra Suite) para processamento on-line dos dados (Figura 14). Em detalhe, a cela de fluxo tem volume interno de 30 μL , pressão máxima 100 psi, feita em Ultem preto, possui duas janelas de sílica SMA, onde foram conectados à fibra ótica. A fibra ótica (modelo SR $\varnothing=600\text{ }\mu\text{m}$) de 1 m de comprimento e diâmetro interno de 600 μm é conectada à fonte de excitação, 365 nm. A segunda fibra ótica (modelo UV-SR $\varnothing=600\text{ }\mu\text{m}$) de 20 cm e mesmo diâmetro interno, é conectada ao espectrômetro USB2000+. A cela de fluxo-W (Figura 15) como indicado em apresenta um caminho do fluido na forma de W, entre tanto as fibras óticas de excitação e transmissão do sinal de fotoluminescência foram orientadas à 90° de forma que tenha interferência.

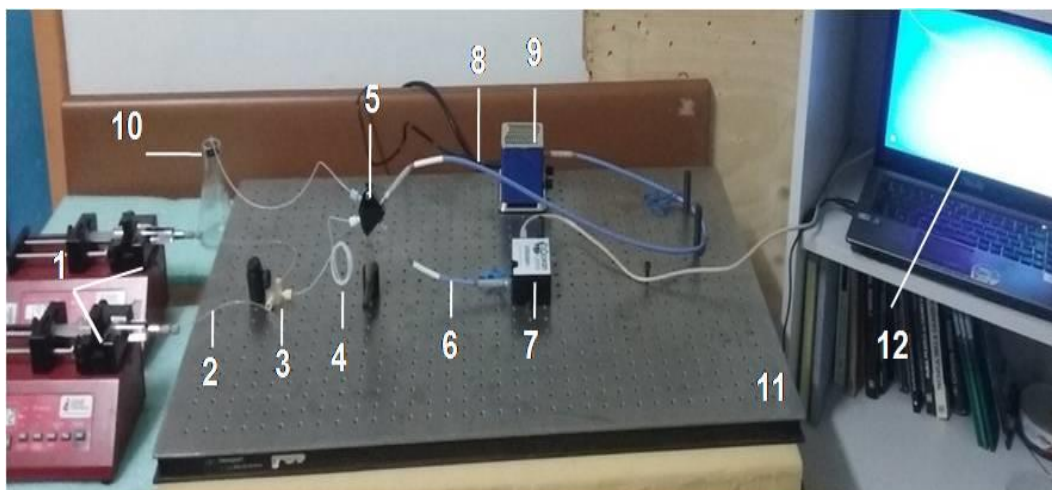


Figura 14. Setup para obtenção dos espectros de fotoluminescência em fluxo contínuo.

1) Bombas-seringas e conectores; 2) Tubo de 30 cm; 3) Micromisturador-T e flangeless; 4) Tubo 90 cm com coil; 5) Cella de fluxo de fotoluminescência; 6) Fibra ótica 20 cm; 7) Espectrômetro USB 2000+; 8) Fibra ótica 1 m; 9) Fonte 365 nm; 10) Descarte; 11) Mesa óptica; 12) Computador.

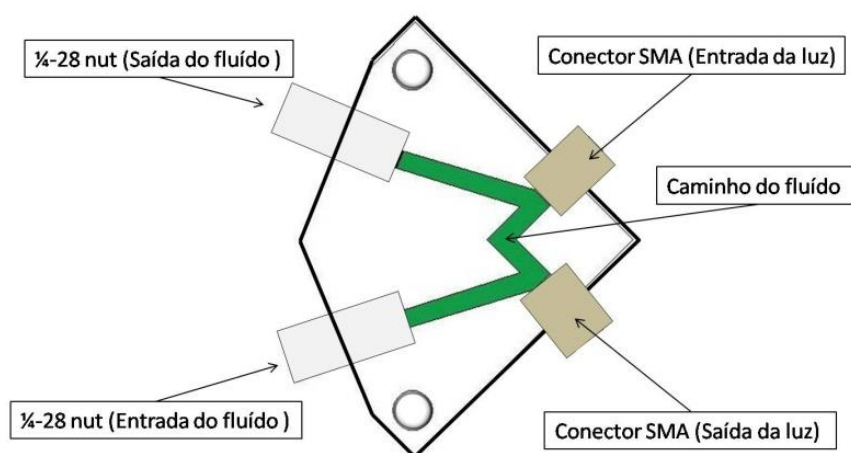


Figura 15. Esquema da cela óptica para medida de fotoluminescência em fluxo

Setup C – A configuração experimental para análise fluorimétrica das soluções coloidais de QDs e dos filmes luminescentes em cubeta foi constituída de uma fonte de luz LED LSS (310 nm, 365 nm e 405 nm); cabos de fibra ótica de 25 cm e 1 m de comprimento ambos com diâmetro interno de 600 μm ; um suporte de aço (CUV-ALL-UV) para cubeta de caminho óptico de 1 cm com lentes de acoplamento para fibra ótica nas quatro vias ortogonais entre elas. Um

espectrômetro USB2000+; um cabo USB e um PC para monitoramento on-line mediante com software Spectra Suite (Figura 16).

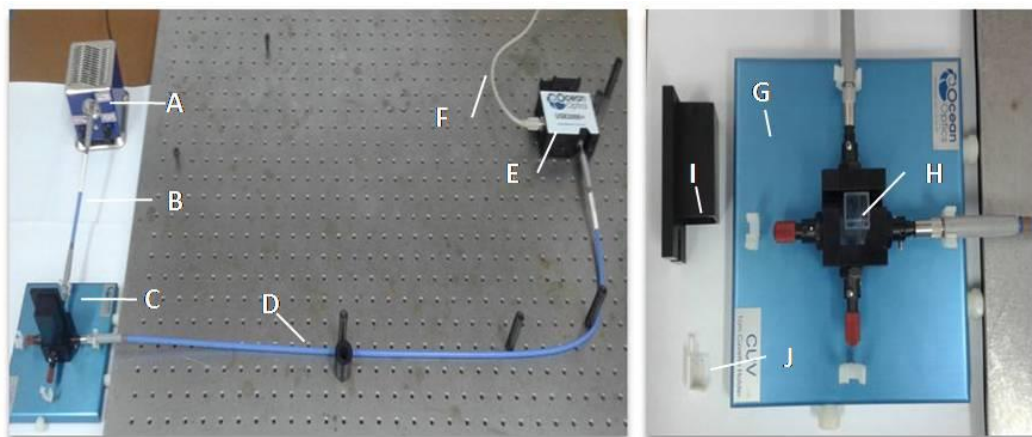


Figura 16. Setup C - análise fluorimétrica em porta-cubeta A) Fonte de luz LED LSS; B) Fibra óptica 25 cm; C) Porta-cubeta (CUV-ALL-UV); D) Fibra óptica 1 m; E) Espectrômetro USB 2000+; F) Cabo USB; G) Porta-cubeta aberto; H) Cubeta de quartzo; I) Tampa; J) Suporte para lâmina.

Com impressora 3D, em colaboração com o Departamento de Design da PUC-RIO foi confeccionado um suporte de poliacidolático (PLA) para lâminas de vidro luminescentes (Figura 16). O suporte é utilizado para fixar a lâmina dentro da cubeta de quartzo de maneira que ela fique alinhada a 90° do feixe de luz da fonte de emissão e a 0° em respeito à fibra ótica conectada ao espectrômetro USB2000+.

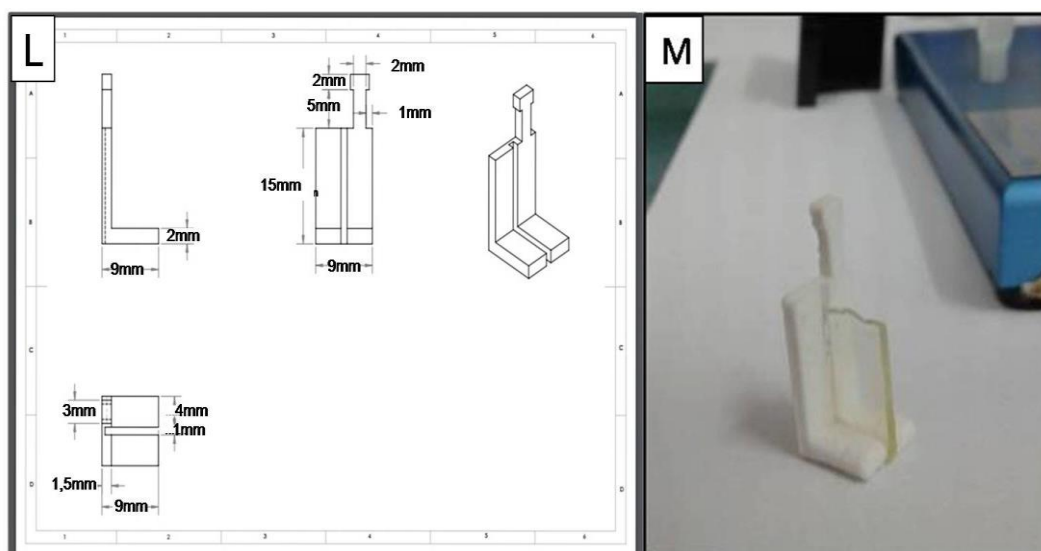


Figura 17. L) Projeto do suporte de lâmina de vidro; M) suporte de lâmina de vidro com lâmina funcionalizada com QDs-TGA.

Setup D – A configuração experimental da síntese de quantum dots de CdTe-TGA em fluxo contínuo é composta basicamente de dois fornos tubulares horizontais com controladores de temperatura, duas bombas-seringas, duas seringas de vidro (Hamilton) com os reagentes precursores, um sistema de tubulação e um conector em T, ambos de aço inoxidável, para mistura em fluxo dos precursores utilizados. O sistema de bombas-seringas e conectores tem sido usado na mesma condição já descrita no setup A (Figura 12). O conector da bomba-seringa 1 é adaptado diretamente a um tudo de aço de 40 cm de comprimento e diâmetro interno de 250 μm , que passa pelo interior do forno 1. O conector da bomba-seringa 2 é adaptado a um tubo de 20 cm de comprimento e diâmetro interno de 250 μm , em PFA. Na outra extremidade desse mesmo tudo é adaptada uma união de plástico e um conector do tipo cone macho 10-32. Um conector 'T', em aço, interliga os tubos de aço dos dois fornos e o tubo de PFA que provém da bomba-seringa 2. No cilindro interno do forno 2 passa um tubo de aço com as mesmas dimensões do tubo do forno 1. Cada forno possui um controlador de temperatura para manter uma temperatura constante entre 70 e 500°C. (Figura 18)



Figura 18. Setup D - Síntese de QDs de CdTe-TGA em fluxo contínuo 1 e 2) Bombas-seringas e conectores; 3 e 10) Tubo de aço de 40 cm; 4) Tubo de PFA de 20 cm, 5) Conector-T em aço; 6 e 7) Fornos tubulares com janelas comunicantes; 8 e 9) Controladores de temperatura; 11) Vial de 5 mL.

Cada forno tubular possui as seguintes dimensões: 40 cm de comprimento, 25 cm de diâmetro externo. Internamente um cilindro oco de 5 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento revestido por material refratário cerâmico integrado com um sistema de aquecimento elétrico e isolado com lã de vidro do revestimento externo de aço inoxidável. Os fornos são suportados por flange de aço sob uma placa de 30 x 25 cm. As cavidades internas dos fornos são protegidas por flanges removíveis de aço com furos passantes pela integração do sistema de tubulação de aço (Figura19). O sistema de aquecimento é controlado com um termopar e um regulador de temperatura dotado de um display digital.

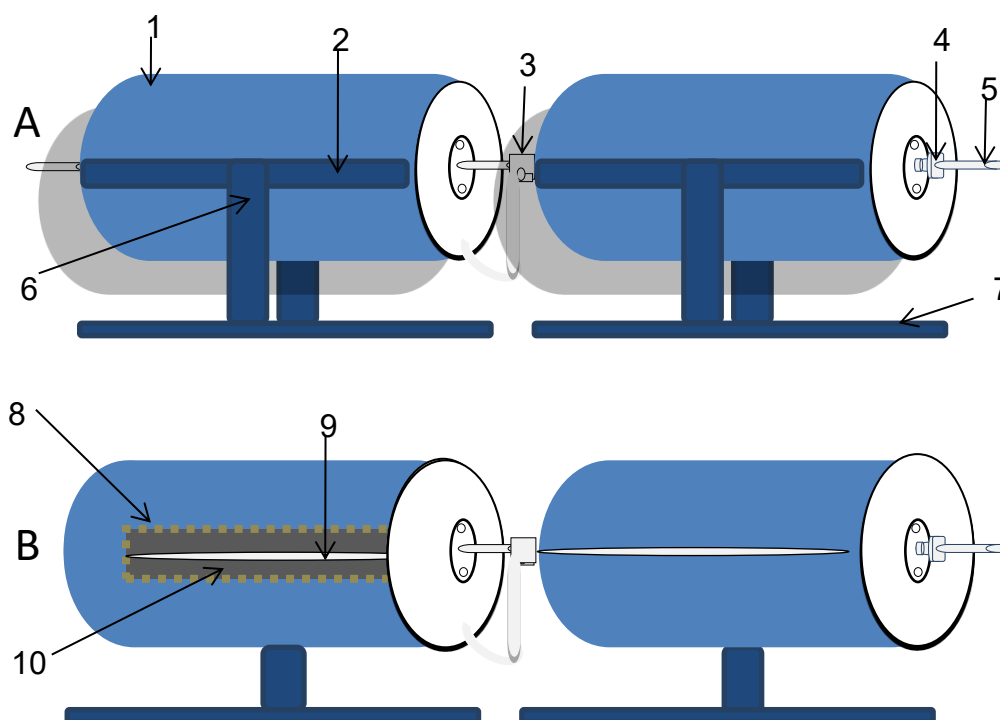


Figura 19. Fornos alinhados com os tubos conectados no “T”, passando pelas cavidades internas dos fornos e também os flanges removíveis. A – visão externa 1) Tubo de aço inoxidável; 2) Longarinas de alumínio; 3) Conectar em “T”; 4) Flanges de alumínio 5) Tubo e conectores de aço inoxidável; 6) Pedestais de alumínio; 7) Base de alumínio B – Visão interna 8) Resistência; 9) Tubo de aço inoxidável; 10) Tubo de alumina.

2.4. Procedimento Experimental - parte I

2.4.1. Síntese de QDs-TGA em batelada

A síntese de quantum dots de telureto de cádmio encapsados com ácido tioglicólico (CdTe-TGA) foi realizada em batelada e procedeu em cinco etapas principais: (1) desoxigenação de água ultrapura; (2) preparação e ajuste do pH da solução de cloreto de cádmio (CdCl_2); (3) preparação da dispersão de hidrogenotelureto de sódio (NaHTe); (4) Imersão em banho de glicerina; (5) transferência de telureto de sódio e hidrogênio, seguindo o modelo de síntese de QDs relatado na literatura (TRIPATHI *et al.*, 2015) com alguns ajustes importantes.

Etapla 1. Desoxigenação da água ultrapura. Em um balão de 200 mL com duas vias, foram colocados 200 mL de água ultrapura com agitação magnética 800 rpm. Uma via foi conectada a uma torneira de teflon e vidro de três vias que

estava acoplada a uma bomba de vácuo e a linha de N₂. Após vácuo por 1 minuto, logo foi inflado N₂ por 10 segundos, o procedimento foi repedido 5 vezes.

Etapa 2. Ajuste do pH da solução de cloreto de cádmio. Em um becker de 100 mL foram adicionados 0,04 g de CdCl₂.H₂O (1.99×10^{-4} mol) e 50 mL de água ultrapura, obtendo uma solução 3.98×10^{-3} mol L⁻¹. Em seguida, foram adicionados 0.015 mL de TGA, observando uma coloração branca opaco da solução de cloreto de cádmio. Em seguida a dispersão foi colocada em agitação magnética a 800 rpm e ajustada o pH para 9 com solução NaOH 1,0 mol L⁻¹, observando uma mudança da coloração, de opaco à translúcido, da solução de CdCl₂-TGA. A Solução foi transferida para um balão de fundo redondo de 100 mL de 3 vias. A via central foi acoplada a um condensador em refluxo de saída central 24:40, a segunda via de saída 14:20 foi acoplada a uma torneira de três vias acoplada a um sistema de vácuo/N₂, e a terceira via foi vedada com um septo de borracha. Como mostrado em Figura 20B, uma tubulação de borracha flexível com duas agulhas de aço inoxidável nas extremidades, inserida na bomba peristáltica (Gilson), foi necessária para transferência controlada da solução de NaHTe (Balão A) na solução de CdCl₂ (Balão B) (Figura 20)

Etapa 3. Para a preparação da dispersão de hidrogenotelureto de sódio(NaHTe) foram pesados 0.038 g de telúrio metálico e 0,051 g de sódio borohidreto diretamente transferidos para o balão A (balão com duas saídas de 14:20). Rapidamente, uma via do balão foi conectada a um sistema vácuo/N₂ e a outra foi fechada com um septo de borracha. Com auxílio de uma seringa e uma agulha de metal, previamente condicionada com nitrogênio, foram transferidos 10 mL de água desoxigenada obtida na etapa 1.

Etapa 4. A imersão dos balões (A e B) em banho de glicerina foi realizada a partir de duas chapas previamente aquecidas, uma a 120 °C e outra a 90 °C. Esperou-se 10 minutos para que o primeiro reservatório atingisse a temperatura interna ideal de 120 °C e, 30 minutos para que o segundo reservatório atingisse 90 °C, após a temperatura constante, os dois balões foram imersos em banho de glicerina ao mesmo tempo, estimando a temperatura interna nos balões A e B em 70 e 100 °C, respectivamente. As dispersões foram mantidas em agitação magnética a 630 rpm e sob atmosfera de nitrogênio. No balão A observou-se mudança na coloração na suspensão de telureto, de cinza para violeta com formação de gás H₂. Para despressurização foi necessário inserir uma agulha no septo de borracha.

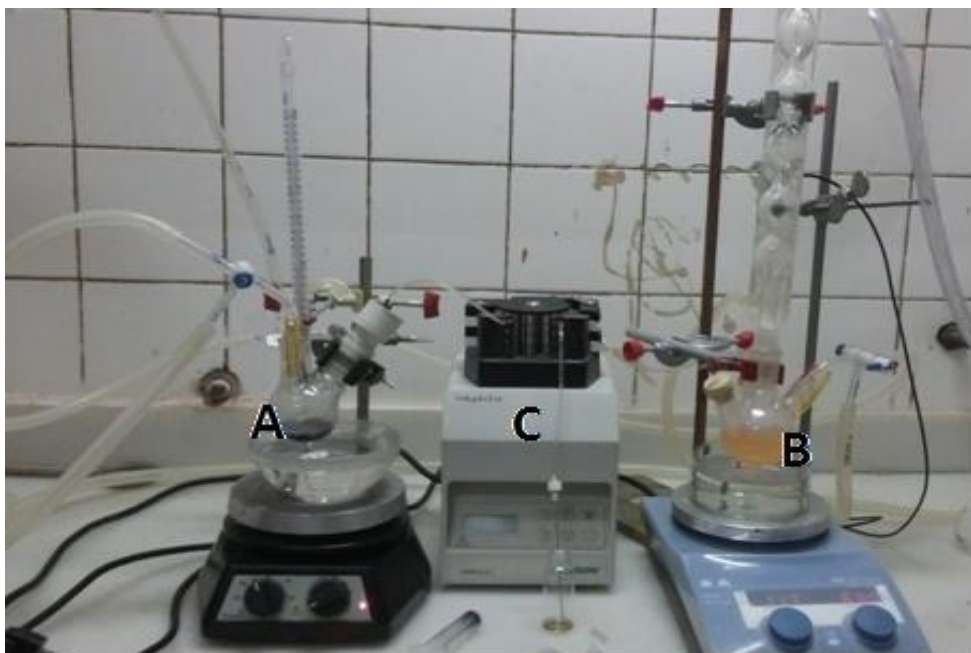


Figura 20. Síntese de CdTe-TGA. (A – balão contendo NaHTe, B – balão contendo CdCl₂.TGA, C – bomba peristáltica.

Com o auxílio de uma bomba peristáltica operando a uma taxa de fluxo de 2 mL min^{-1} , foram transferidos 2 mL da solução de NaHTe contida no balão A para o balão B contendo CdCl₂. No balão observou-se uma mudança de coloração da suspensão do balão B, de transparente para amarelo cítrico. O balão B foi mantido em refluxo por 30 minutos, sendo em seguida retirado do banho de glicerina e resfriado a temperatura ambiente. Após 24 horas a amostra foi centrifugada a 2400 rpm por 5 minutos e recuperado o sobrenadante, repetiu-se o processo 2 vezes. Posteriormente os QDs de CdTe-TGA foram identificados e armazenados na geladeira a 8° C.

2.4.2. Síntese de QDs-TGA em fluxo contínuo

A síntese em fluxo contínuo de quantum dots de CdTe-TGA foi realizada em quatro etapas principais: (1) Desoxigenação da água; (2) Preparação e ajuste do pH da solução de cloreto de cádmio; (3) Preparação da solução de hidrogenotelureto de sódio(NaHTe); (4) injeção dos precursores de cádmio e telúrio por bomba-seringa em sistema de forno tubular com janelas comunicantes, variando a temperatura e a taxa de fluxo de injeção variando a razão molar entre os precursores Cd:Te.

Etapa 1. Desoxigenação da água ultrapura ocorreu idêntica ao processo descrito na síntese de QDs em batelada (ver no item 2.4.1. Etapa 1).

Etapa 2. Ajuste do pH da dispersão de $\text{CdCl}_2\text{-TGA}$ – Em um backer de 100 mL foi adicionado: 0,04 g de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($1,99 \times 10^{-4}$ mol), e dissolvidos em 0,04 L de água ultrapura, obtendo-se $4,975 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, foram adicionados 0,015 mL de TGA, observando a mudança de coloração da solução de cloreto de cádmio para branco opaco. Em seguida a dispersão foi colocada em agitação magnética a 800 rpm e ajustado o pH para 9,0 com solução de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, observando também a coloração da solução de $\text{CdCl}_2\text{-TGA}$ tornando-se límpida e incolor. A Solução obtida foi transferida para um balão de fundo redondo de 50 mL e 3 vias. A primeira via de saída 14:20 foi acoplada a um sistema de N_2 para eliminar traços de O_2 .

Etapa 3. Preparação da solução de NaHTe. Em um balão de fundo redondo de duas vias foram pesados 0,0076 g de telúrio metálico ($5,956 \times 10^{-5}$ mol) e 0,0122 g de sódio borohidreto ($3,23 \times 10^{-4}$ mol), em seguida uma via do balão foi conectada a um sistema de N_2 e a outra fechada com septo de borracha, com o auxílio de uma seringa de plástico de 20 mL e agulha de metal de 20 cm, previamente rinsados com N_2 e água desoxigenada, foram transferidos 20 mL de água desoxigenada para o balão contendo telúrio metálico e sódio borohidreto. Sob agitação magnética o balão foi imediatamente imerso em banho de glicerina previamente aquecido a 80°C , após 8 minutos retirou-se do banho de glicerina e esperaram-se mais 12 minutos para resfriar a amostra, observando-se uma coloração roxa claro. Em seguida foram adicionados mais 20 mL de água desoxigenada e observando-se uma menor liberação de gás de hidrogênio. A solução de NaHTe permaneceu-se em agitação por mais 10 minutos, em seguida utilizada. Obtendo-se $1,489 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaHTe.

Etapa 4. Com auxílio de uma seringa de vidro (Hamilton) de 5 mL e agulha de aço previamente rinsados com N_2 , foram retirados 5,0 mL da solução CdCl_2 ($4,975 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e levados à bomba-seringa 1. Do mesmo modo, foram retirados 5,0 mL ($1,489 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) da solução de NaHTe e levados à bomba-seringa 2. O forno tubular 1, conectado a bomba-seringa 1, foi previamente aquecido e fixado a temperatura em 110°C . Pelo forno tubular 2, variou-se a temperatura em 110, 120, 130 e 140°C . Para cada teste, variando a temperatura de trabalho, uma nova solução de NaHTe foi preparada conforme a etapa 3.

Inicialmente, as duas bombas-seringas foram ajustas para uma idêntica vazão volumétrica de $0,10 \text{ mL min}^{-1}$ para que os precursores Cd e Te sejam injetados com a razão molar de (1:0,3). As tubulações foram condicionadas por 5

minutos e desprezado um volume de 1 a 2 mL expurgados. Por cada temperatura de exercício foi variada também a vazão volumétrica de ambas as bombas-seringas em 0,03; 0,05; 0,10 e 0,15 mL min⁻¹ e coletadas alíquotas de 1 mL total.

Outros testes foram realizados variando as vazões das bombas para permitir de experimentar sínteses em fluxo com diferentes razões molares entre Cd e Te. Fixando a bomba-seringa 1, contendo o precursor de cádmio, em 0,05 mL min⁻¹ e foi alterada a vazão da bomba-seringa 2, contendo o precursor de telúrio, em 0,05, 0,10, 0,15 e 0,25 mL min⁻¹.

2.4.3. Medição espectrofotométrica dos QDs-TGA

As amostras de QDs CdTe-TGA sintetizadas em batelada foram diluídas com água ultrapura na razão 1:59 e os QDs-TGA sintetizados em fluxo contínuo diluídos na razão 1:5,7 e analisadas pelo espectrômetro de fotoluminescência USB2000+ (OceanOptics), com tempo de integração de 800 milissegundos, box car 5, scanaverage 5. Utilizando-se cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm e volume 3,5 mL. As fontes de luz monocromática utilizadas para medição de luminescência foram de 310, 365 e 405 nm.

As amostras de QDs-TGA sintetizadas em batelada foram precipitadas com etanol na razão 1:1 (v/v) em um vial de 3 mL e mantidas em temperatura ambiente ao abrigo de luz por 24 horas, em seguida foram transferidas para tubos de microcentrífuga de 1,5 mL. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 18.000 rpm, retirado o sobrenadante e repetido o procedimento. O precipitado foi levado à estufa a 60°C, por 1 hora. O precipitado foi analisado em aparelho de espectroscopia infravermelho (IV-TF), modelo two spectrum da Perkin Elmer.

2.4.4. Análise para carga superficial dos QDs-TGA por potencial zeta

A carga superficial está diretamente ligada à estabilidade da dispersão coloidal (Hanaor *et al.*, 2012). A carga superficial dos QDs-TGA em batelada foi obtida a partir da análise por potencial zeta, com equipamento SZ-100 da HORIBA, a 25°C, sendo utilizada célula com eletrodos de carbono descartável para medição em meio aquoso. Com uma seringa de plástico 5,0 mL do tipo luer-lock preencheu-se a célula com 0,10 mL de dispersão coloidal de QDs-TGA concentrada com pH 8,0 e mediu-se o potencial zeta da solução em exame.

2.4.5.

Determinação da eficiência quântica dos QDs-TGA

A eficiência quântica de fotoluminescência (ϕ) é um parâmetro que quantifica a capacidade de um determinado fluoróforo de emitir radiação e foi estimada pelo método comparativo com um fluoróforo orgânico padrão (emissão de fotoluminescência de rodamina B em etanol. Uma amostra concentrada de QDs-TGA sintetizada em batelada foi levada ao UV-Visível e mediu-se o espectro de absorvância. A partir da solução concentrada de CdTe-TGA ($1,29 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) foram feitas cinco diluições com água ultrapura com o objetivo de se obter absorvâncias em torno de 0,08, 0,06, 0,04, 0,02 e 0,01 u.a, com as mesmas amostras diluídas foram feitos os espectros de emissão de fotoluminescência em Fluorímetro Perkin Elmer LS45, com excitação fixa em 365 nm. O mesmo procedimento foi realizado com rodamina B, porém diluiu-se a rodamina B em etanol. O valor da eficiência quântica de fotoluminescência pode ser calculado pela equação 6 (Kelly G. *et al.*, 1988).

$$\phi_x = \phi_{ST} \left[\frac{Grad_x}{Grad_{ST}} \right] \left[\frac{\eta_x^2}{\eta_{ST}^2} \right] \quad (6)$$

Onde: ϕ é a eficiência quântica; $Grad$ é o coeficiente angular; η é o índice de refração do solvente; x e ST são utilizados para amostra e o padrão, respectivamente (Kelly G. *et al.*, 1988).

2.4.6.

Análise fluorimétrica e efeito da vazão volumétrica em fluxo contínuo

A análise fluorimétrica dos QDs-TGA em batelada foi testada em um sistema de fluxo contínuo (Setup B - análise fluorimétrica em fluxo contínuo), onde utilizou-se primeiramente água para avaliar a presença de vazamento do sistema. Em seguida uma amostra de QDs-TGA sintetizada em batelada foi diluída em água ultrapura 1:59 e transferida para uma seringa de vidro lock-luer de 1 mL e diâmetro interno de 4,607 mm, e posta em bomba-seringa. Para avaliar o comportamento

do efeito da vazão volumétrica, a solução em exame foi injetada no sistema de medição com uma vazão volumétrica variável de 0,01 a 0,07 mL min⁻¹. As configurações de contorno para obtenção de uma melhor resolução espectral foram otimizadas no software *Spectra Suit* em: tempo de integração de 800 milissegundos, suavização do espectro (*box car width*) de 5 e aquisição espectral (*scan average*) de 5 fonte com de excitação fixa em 365 nm.

2.4.7.

Filmes finos de QDs-TGA em matrizes poliméricas para prototipagem de substrato analítico utilizado como nanosondas

2.4.7.1.

Impregnação de QDs-TGA em PDMS

Foram realizados testes com o objetivo de funcionalizar a superfície do polímero elastômero PDMS com QDs-TGA (batelada) por método de impregnação a fim de formar um filme fino luminescente, e posteriormente utiliza-lo como sonda analítica para substâncias de interesse biológicos.

Para o primeiro teste foi hidroxilada a superfície de um reservatório, de dimensão 1,0 x 2,0 x 0,5 cm, cujas paredes são de PDMS e fundo de vidro. Os reservatórios foram limpos com álcool etílico e secos em estufa, em seguida hidroxilados em plasma cleaner (2 minutos de vácuo e 3 minutos de plasma) (PANDOLI *et al.*, 2015). Em um dos reservatórios foram depositados 50,0 µL de QDs-TGA concentrado, no outro reservatório, foram depositados 50,0 µL de QDs-TGA diluído (1:14). Após as deposições ambos foram secos em estufas, repetindo-se o processo com mais 50 µL em cada reservatório. Posteriormente, preencheram-se totalmente os dois reservatórios com uma mistura de elastômero base e agente de cura 10:1 (v/v), previamente desgaseificada. O sistema foi levado para curar em estufa a 60°C por 1 hora. Com auxílio de um bisturi o compósito foi delicadamente cortado e retirado do reservatório.

Em um segundo teste aproximadamente 2 mL da mistura de PDMS (10:1) foi vertida sobre dois reservatórios limpos. A mistura foi desgaseificada e curada em estufa a 60 °C por apenas 15 minutos para obter um PDMS parcialmente polimerizado. Sob o PDMS ainda pegajoso, 0,10 mL de dispersão de QDs-TGA concentrada foram adicionados por gotejamento. Em seguida foi posto na estufa a 60 °C durante 1 hora para completar o processo de cura do polímero.

Em um terceiro teste, foi preparada uma mistura de PDMS (10:1), desgaseificada em vácuo e curada em estufa a 60 °C por 15 minutos. Com a mistura parcialmente polimerizada, depositou-se 50,0 µL de QDs-TGA sobre o PDMS e espalhou-se com jato de N₂. Posteriormente, o polímero foi levado à estufa a 60 °C por 45 minutos para o processo completo de cura.

Um quarto teste foi realizado com o objetivo de deixar a superfície do PDMS mais hidrofílica para interagir com a dispersão aquosa de QDs-TGA. Primeiramente, preparou-se uma mistura de PDMS (10:1) e transferiu-se para um reservatório limpo, onde foi desgaseificada e curada em estufa à 60 °C durante 1 hora. O PDMS curado foi cortado com bisturi e transferido para uma lâmina de vidro previamente hidroxilada. Em seguida, o PDMS sobre a lâmina de vidro foi levado ao plasma cleaner por 3 minutos para hidroxilar a superfície exposta do PDMS. Após hidroxilação foi subdividido em três partes distintas. Sobre a primeira parte depositou-se 0,050 mL de QDs-TGA e espalhou-se com corrente de N₂. Na segunda parte depositou-se 0,050 mL de QDs-TGA e espalhou-se com espátula. A terceira parte foi inclinada a um ângulo de 45°, e depositado, 50,0 µL de QDs-TGA com objetivo de escorrer e formar filme fino sobre o PDMS. As três partes foram secas em estufa 60°C, em seguida observadas previamente a luminescência sob fonte de LED 365 nm.

2.4.7.2.

Preparação do compósito de PDMS-QDs-TGA

Com o propósito de formar uma película de QDs-TGA (batelada) em matriz de PDMS procedeu-se adicionando 0,30 mL de QDs-TGA concentrado, em uma mistura de PDMS (0,80 g elastômero base e 0,08 g agente de cura). A mistura foi homogeneizada e desgaseificada a vácuo. Observando-se opalescência e luminescente em LED 365 nm a olho nu. Essa mistura foi depositada em um reservatório de PMDS com fundo de vidro de 2,5 x 7,0 cm, previamente limpo com etanol e seca do em estufa. A mistura foi espalhada de maneira a cobrir toda a superfície do vidro disponível e formar uma fina camada de 1-2 nm. Em seguida o sistema foi curado em estufa a 60 °C por 1 hora e recoberto com uma segunda nova mistura de PDMS/agente de cura (10:1) previamente desgaseificada. O compósito foi desgaseificado em vácuo e curado por 1 hora em estufa a 60 °C (MAZUREK *et al.*, 2016). Em seguida o compósito foi dividido em cinco partes e identificado como **A**, **B**, **C**, **D** e **F** como mostra a Figura 32 (item 3.6). A parte C (Figura 32, item 3.6). foi realizado teste de estabilidade ao longo do tempo. A parte

D foi imersa em água ultrapura por 2-80 minutos e medido a fotoluminescência. Para o estudo em água utilizou-se a lâmina D, o espectro de fotoluminescência foi obtido a partir da lâmina seca recém funcionalizada, e observada após 2 e 80 minutos imersa em água. A lâmina C foi utilizada para avaliar a estabilidade do compósito de PDMS-QDs-TGA ao longo do tempo em temperatura ambiente. Ambos os compósitos C e D foram postos em cubeta de quartzo, caminho óptico de 1 cm, de modo que ficassem a 90° em respeito à fonte de excitação e 0° ao espectrômetro. As análises de fotoluminescência foram feitas num espectrofluorímetro Perkin Elmer, modelo LS-45, em uma taxa de varrimento de 1000 nm min⁻¹. A fonte de luz de excitação foi a 320 nm. Os espectros de luminescência foram adquiridos pelo software FL Winlab®.

2.4.7.3.

Compósito PVA-QD-TGA sobre substrato de vidro

Em alternativa ao PDMS, o PVA foi testado para obtenção de um filme fino luminescente sobre substrato de vidro. O nanocompósito polimérico foi sintetizado pela técnica *ex situ*, a técnica consiste na síntese do compósito em dois passos. Primeiramente ocorre a síntese dos QDs-TGA, e posteriormente, é introduzida à matriz polimérica (TRIPATHI *et al.*, 2015). Inicialmente preparou-se uma dispersão de PVA, onde foram pesados 0,30 g e solubilizados em 10,0 mL de água ultrapura, sob agitação magnética 400 rpm a 60°C até dissolução total em uma amostra transparente e viscosa, conforme a literatura (OHM E OBER, 2013; SHARMA *et al.* TRIPATHI, 2013; TRIPATHI *et al.*, 2015) com algumas modificações importantes. A amostra foi resfriada em temperatura ambiente, e adicionados 0,05 mL de QDs-TGA concentrado previamente sintetizado, agitando-se por mais 10 minutos a 60 °C, identificado como dispersão 1. Tomou-se 2,0 mL dessa dispersão 1 e adicionou-se mais 0,2 mL de QDs-TGA, agitou-se por 10 minutos, identificado como dispersão 2.

Posteriormente foram limpas duas lâminas de vidro 2,5 x 2,5 cm com água, sabão, etanol, acetona e água, cada um em ultrassom por 10 minutos, respectivamente, e secadas em estufa. Sob uma lâmina foi adicionado 2,0 mL da dispersão 1 e na outra 2,0 mL da dispersão 2, gota a gota de maneira a cobrir toda a lâmina. Os vidros foram identificados como A e B, respectivamente e ficaram secando-se em temperatura ambiente por 72 horas. A dispersão 1, do vidro A,

escorreu pelas bordas, A dispersão 2, do vidro B apresentou grande luminescência em LED 365 nm a olho nu.

Como o objetivo de melhorar a espessura da película, foi preparada uma nova dispersão 2, porém ao adicionar QDs-TGA não foi mais aquecido, somente agitado. Oito lâminas de vidro 2,5 x 2,5 cm foram limpas nas mesmas condições anteriores. Sobre 2 lâminas foram depositados 0,50 mL de dispersão 2. Em outras 2 lâminas depositado (Figura 35C) mL da dispersão 2, essas 4 lâminas foram secas em temperatura ambiente em outras 4 lâminas foram depositadas da mesma forma, porém secas em estufa a 60 °C por 1 hora (Figura 35C).

Um outro teste foi realizado, uma placa de petri com diâmetro interno de 7,5 cm, foi limpa com etanol, e seca em estufa, sobre ela depositou-se 0,50 mL de dispersão 2 de PVA-QDs-TGA, a qual foi espalhada ao máximo com auxílio de uma ponteira, não sendo possível cobrir toda a área da placa. A placa foi levada à estufa 60°C por 1 hora. Formando-se uma película muito fina e luminescente em sob LED 365 nm a olho nu.

Em outra placa de petri com 10 cm de diâmetro interno, foi depositado 2 mL da dispersão 1, espalhada da mesma maneira e levada à estufa 60°C por 1 hora observou-se que O PVA-QDs-TGA concentrou-se nas bordas onde ficou mais espessa e o centro da placa formou-se uma película mais fina, podendo ser observado luminescência sob LED 365 nm a olho nu. Essa película se aderiu-se à placa e não foi possível ser retirada.

Em um novo teste utilizando 2 mL da dispersão 2, placa de petri de 10 cm, e espalhada com ponteira, seca por 24 horas em temperatura ambiente (Figura 35C).

Realizou-se um estudo de estabilidade do decaimento da intensidade de fotoluminescência da película de PVA-QDs-TGA, sendo acompanhado ao longo de 15 dias. A amostra foi posta em suporte para sólidos de fluorímetro Perkin Elmer (Figura 37). Os espectros foram obtidos fluorímetro Perkin com uma fonte de excitação a 320 nm. Um filtro atenuador se fez necessário, deixando passar somente 10% da emissão, para não saturar o detector.

2.4.7.4.

Estudo de solubilidade das películas de PVA-QDs-TGA

O PVA pode absorver grandes quantidades de água, mas é pouco solúvel em etanol e insolúveis na maioria dos solventes orgânicos (Baker *et al.*, 2012; Liao e Lin, 2017). As películas de PVA-QDs-TGA preparada sem tratamento térmico,

foram submetidas a testes qualitativos de solubilidade com diferentes solventes orgânicos, tolueno, etanol, DMSO, acetona, acetato de etila, álcool isopropílico, clorofórmio e tricloreto de etileno. Em vials de 3 mL foram postos pequenos pedaços das películas e 0,5 mL dos solventes mencionado em cima.

2.4.7.5.

Película de PVA-QDs-TGA por *spin-coating* sobre lâmina de vidro

Com a finalidade de controlar a espessura do compósito PVA-QDs-TGA sobre o substrato de vidro para formar filmes finos de compósitos, foi utilizada técnica de deposição por *spin coating* e caracterizada a espessura das lâminas por perfilometria.

Primeiramente foi preparado os compósitos poliméricos variando as concentrações de QDs-TGA e PVA para aumentar a viscosidade e a concentração de QDs-TGA na matriz do PVA. Procedeu-se segundo as quantidades descritas na Tabela 2. Em 6 vials de 3 mL foram pesados o PVA (54 ou 108 mg) e solubilizados com seus respectivos volumes de água (1,2-1,8 mL), a 60°C e sob agitação magnética a 800 rpm até atingir total solubilização, o que levou aproximadamente 20 minutos. Em seguida esperou-se esfriar e adicionou os respectivos volumes de QDs-TGA (0,2-0,8 mL) como indicados na Tabela 2 e agitou-se por mais 5 minutos com a mesma velocidade e temperatura ambiente.

Os espectros de emissão de fotoluminescência das amostras de compósitos PVA-QDs-TGA indicadas na Tabela 2. foram obtidos em fluorímetro portátil Ocean Optics USB2000+, utilizando um suporte de cubeta com fendas intercambiáveis com conectores SMA (Setup-C, item 2.3.), uma fonte monocromática de excitação de LED LSS 365 nm e cubeta de acrílico de 1 mL.

Tabela 2. Esquema para síntese de compósitos de PVA-QDs-TGA variando a concentração de QDs-TGA e PVA.

Amostra (Compósito)	PVA (mg)	QDs-TGA (mL)	Água (mL)
1	54	0,200	1,800
2	54	0,400	1,600
3	54	0,800	1,200
4	108	0,200	1,800
5	108	0,400	1,600
6	108	0,800	1,200

Para deposição dos filmes foram cortadas 10 lâminas de vidro 2,5 x 2,5 cm e limpas com água e sabão e levadas ao ultrassom por 10 minutos com etanol e logo em acetona, secas em corrente de N₂ e estufa. Duas dessas lâminas foram hidroxiladas em plasma de oxigênio por 3 min. As lâminas foram introduzidas no equipamento de *spin coating*.

2.4.8. Filme de QDs-TGA sobre substrato de vidro limpos, hidroxilados e silanizados com APTS ou AEAPTS

2.4.8.1. Limpeza dos vidros

No presente trabalho utilizou-se dois métodos para limpeza dos substratos de vidro, um método utilizando solução piranha (FLINK *et al.*, 2001) e o outro com solventes orgânicos descritos por Hiroki *et al.* (2000) com algumas modificações. No método de limpeza 1, após as lâminas serem cortadas no tamanho desejado (1,0 x 2,5 cm), foram limpas com água destilada e detergente neutro 5%. Nessa etapa foi utilizado um pano macio para remover particulados e uma pinça de teflon para manipular as lâminas. Em seguida elas foram enxaguadas com abundantes jatos de água destilada. As lâminas foram transferidas para uma cuba com suporte de teflon, e postas em banho de ultrassom com água ultrapura por 10 minutos,

trocou-se a água e repetiu-se o banho. Transferiram-se os vidros para outra cuba de teflon contendo solução piranha para hidroxilação (NEUPANE *et al.*, 2014).

No método de limpeza 2, seguiu-se o mesmo procedimento que o método de limpeza 1, sem utilização de solução piranha. Após o banho em ultrassom as lâminas foram secas em corrente de N_2 e estufa $100^\circ C$, resfriadas em temperatura ambiente, e postas em banho de ultrassom por 10 minutos com tricloroetileno, acetona e etanol respectivamente, repetiu-se o banho com etanol (HIROKI *et al.*, 2000) logo receberam jatos de N_2 para remover possíveis particulados e foram secas em estufa a $100^\circ C$. Após resfriadas, em temperatura ambiente, foram hidroxiladas em plasma cleaner.

2.4.8.2.

Hidroxilação dos vidros

Neste trabalho foram utilizados dois procedimentos para a hidroxilação da superfície das lâminas de vidro. Um método utilizando-se solução piranha e o outro utilizando plasma de O_2 (MCINTIRE *et al.*, 2006). A solução piranha por ser um forte agente oxidante é usada para remover resíduos orgânicos ou quaisquer impurezas da superfície de substratos de vidro, assim como a hidroxilação da superfície dos mesmos. (PALLAVICINI *et al.*, 2010; NEUPANE *et al.*, 2014). É preparada a partir de 3 partes de H_2SO_4 para 1 de H_2O_2 (3:1), cuidadosamente em banho de gelo. (VASHIST, 2011).

As lâminas de vidros após a limpeza com água e sabão conforme método 1 (ver item 2.4.8.1.) foram transferidas para uma cuba com suporte de teflon contendo solução piranha recém preparada, onde as lâminas permaneceram por 40 minutos a $70^\circ C$ (BERTIN e SCHLAAD, 2009). Após essa etapa, os vidros foram transferidos para outra cuba de teflon e postos em banho de ultrassom por 2 minutos, com água ultrapura para remover o excesso de solução piranha, a água foi trocada e repetiu-se a lavagem em ultrassom por quatro vezes. Em seguida os vidros foram enxaguados abundantemente com jatos de água ultrapura, secos com N_2 e postos na estufa a $100^\circ C$ durante 5 minutos.

A hidroxilação dos vidros por plasma de O_2 prosseguiu da seguinte maneira: As lâminas de vidro, após o método de limpeza 2 descrito na seção 2.4.8.1., foram secas e postas no plasma cleaner para hidroxilação da superfície. O aparelho de plasma foi previamente limpo com álcool isopropílico, e condicionado com um ciclo de 2 minutos de vácuo e 3 minutos de plasma. Em seguida foram introduzidas as lâminas e feito um ciclo de vácuo e plasma respectivamente. Um estudo foi

realizado para avaliar o melhor tempo em vácuo e plasma, e as melhores condições de hidroxilação, como mostra item 3.9.1.. A hidroxilação foi monitorada através da medida do ângulo de contato de uma gota de água através de um goniômetro com medida digital (*Ramé-hart instrument co.*).

2.4.8.3.

Silanização dos vidros com APTS, AEAPTS ou MPTS.

O processo de silanização com APTS, AEAPTS ou MPTS é baseado na metodologia de Pallavicini *et al.* (2009) com algumas adaptações. Esse protocolo foi estabelecido após um estudo do tempo e concentração ideal para sinalização da superfície de vidro com MPTS.

Silanização Método 1 – Preparou-se uma solução 2,5% APTS, AEAPT ou MPTS em tolueno e transferiu para uma cuba de teflon, onde foram inseridos os vidros hidroxilados, mantidos a 40°C por 2 horas sob agitação magnética 600 rpm. Ao término, os vidros foram postos em banho de ultrassom com tolueno, etanol-tolueno (1:1) e etanol respectivamente, durante 5 minutos cada. Repetiu-se um banho com etanol. Em seguida foram secos em corrente N₂ e postos na estufa a 100° C durante 5 minutos para condensação dos grupos silanos (-Si-OH) até formação dos grupos condensados siloxanos (-Si-O-Si-) (QUEIROZ *et al.*, 2012).

Silanização Método 2 – A fim de minimizar a toxicidade do processo de silanização, substitui-se o tolueno por etanol. Após o processo de hidroxilação por plasma, os vidros foram imersos em uma cuba de teflon contendo uma solução de APTS ou AEAPTS 2,5% em etanol, sob agitação magnética por 6 horas a temperatura ambiente. Em seguida foram lavados em banho de etanol em ultrassom por 5 min (2 vezes), secos em N₂ e condensados em estufa a 100°C por 5 minutos. (WANG, Y. *et al.*, 2006; VAKARELSKI *et al.*, 2007)

2.4.8.4.

Funcionalização das lâminas silanizadas-AEAPTS com QDs-TGA-EDC-NHS

A imobilização dos QDs de CdTe na superfície do vidro foi testada por dois procedimentos experimentais. A primeira técnica de imobilização quis explorar a interação eletrostática entre o grupo amino terminal presente no vidro com o grupo carboxilato do TGA ligado na superfície dos QDs. Os vidros silanizados-AEAPTS

foram mergulhados em uma dispersão de QDs-TGA concentrada durante 12 horas.

A segunda técnica de imobilização quis explorar a formação de uma ligação covalente, entre o AEPTS e o QDs utilizando os catalisadores EDC e NHS. Em dois tubos de ensaio graduados de vidro foram adicionados 0,500 mL de QDs-TGA e 0,500 mL de EDC ($2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), mantidos sob agitação magnética, 1200 rpm por 10 minutos, em seguida adicionados 0,500 mL de NHS ($2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) e mantidas em agitação por mais 30 min.

Uma lâmina de $1,0 \times 2,5 \text{ cm}$, limpa conforme o método de limpeza 2 (solventes orgânicos), hidroxilada em plasma cleaner e silanizada com AEPTS 2% em etanol conforme método 2 a lâmina ficou imersa por 12 horas na dispersão coloidal aquosa previamente preparada para obter a reação de amidação. Depois, os vidros foram lavados com jato de água ultrapura e levados ao ultrassom com água ultrapura por 1 minuto, em seguida secos em corrente de N_2 .

2.4.8.5.

Funcionalização das lâminas silanizadas-AEPTS com QD-TGA-EDC

Primeiramente foram sintetizado QDs-TGA com EDC em seguida imersa a lâmina silanizada com AEPTS da seguinte maneira: Em dois tubos de ensaio graduados de vidro foram adicionados 0,500 mL de QDs-TGA e 0,500 mL de EDC ($2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), mantidos em agitação magnética, 1200 rpm por 10 minutos, logo em um tubo foi imerso uma lâmina $1,0 \times 2,5 \text{ cm}$, limpa conforme o método de limpeza 2 (solventes orgânicos), hidroxilada em plasma e silanizada com AEPTS 2% em etanol conforme método 2, para obter a reação de amidação somente com EDC. A dispersão com a lâmina permaneceu em agitação por 10-20, 40, e 60 minutos. Os vidros foram lavados com jato de água ultrapura e levados ao ultrassom com água ultrapura por 1 minuto, em seguida secos em corrente de N_2 . (ARNOLD *et al.*, 2008; AGNIHOTRI *et al.*, 2013).

2.4.8.6.

Modificação da superfície dos QDs-TGA com APTS/AEPTS para funcionalização das lâminas de vidro limpas e hidroxiladas

A modificação da superfície de QDs-TGA encapados com grupos carboxílicos terminais pode ser adquirida com auxílio de reagentes como EDC e NHS, favorecendo ligações covalentes por amidação dos grupos aminas terminais

contidos nos seguintes reagentes: APTS e AEAPTS (SUSUMU *et al.*, 2009; GUI *et al.*, 2013).

Preparou-se uma solução mãe de EDC, solubilizando 0,1001 g num balão 10 mL com água ultrapura, obtendo $5,22 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Para uma solução filha de EDC, uma alíquota de 1,915 mL da mãe foi transferida para um balão de 5 mL e avolumado com água ultrapura obtendo uma solução $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Preparou-se uma solução mãe de NHS, solubilizando 0,1003 g num balão de 10 mL com água ultrapura, obtendo $4,62 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Para uma solução filha de NHS, uma alíquota de 2,165 mL da solução mãe foi transferida para um balão de 5 mL e avolumado com água ultrapura obtendo uma concentração final de $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Preparou-se uma solução de APTS, em um balão volumétrico de 10 mL adicionando 0,106 mL de APTS (97%), em seguida avolumado com água ultrapura, obtendo $6,01 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Preparou-se uma solução de AEAPTS em um balão volumétrico de 10 mL em um balão volumétrico de 10 mL adicionando 0,1299 mL de AEAPTS (95%) e avolumando com água ultrapura para uma solução de concentração final de $6,01 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (XING *et al.*, 2007; MAGALHÃES, 2014).

Em dois tubos de ensaio graduado de vidro foram adicionados 0,500 mL de QDs-TGA concentrados e 0,500 mL de EDC ($2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) e mantidos em agitação magnética 600 rpm por 20 minutos. Posteriormente foram adicionados 0,500 mL de NHS ($2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) e mantidos em agitação por mais 10 minutos. Em um tubo foram adicionados 0,20 mL de solução AEAPTS ($6,01 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) e no outro tudo 0,20 mL de solução APTS ($6,01 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) ambos ficaram em agitação 600 rpm por 30 minutos.

QDs-TGA-AEAPTS e QDs-TGA-APTS sendo acrescentados 2 mL de água ultrapura para melhor a dispersão das partículas precipitadas. 2 lâminas de 1,0 x 2,5 cm foram limpas conforme método de limpeza 2 (4.3.9.1) e hidroxiladas em plasma cleaner (4.3.9.2), porém não silanizadas. Cada lâmina foi imersa em um tubo de ensaio graduado, um contendo QDs-TGA-AEAPTS e o outro QDs-TGA-APTS. Ambas as lâminas ficaram em agitação magnética a 600 rpm por 6 horas. Os vidros foram retirados e limpos com jatos de água ultrapura, posteriormente levados ao ultrassom por 1 minutos com água ultrapura e secos em correntes de N_2 .

2.4.9.

Estudo de estabilidade das lâminas funcionalizadas com QDs-TGA

As lâminas funcionalizadas com QDs-TGA utilizando somente com catalisador EDC, foram analisadas em fluorímetro Ocean Optics com o setup-C. As lâminas foram adaptadas ao suporte de lâmina e introduzidas em uma cubeta de quartzo para análise. Os parâmetros de contorno foram ajustados no software (*Spectra Suite*) para uma melhor resolução espectral com tempo de integração de 800 milissegundos, largura (*box car*) 5 e aquisição espectral (*scan average*) de 5 com fonte de excitação monocromática em 365 nm.

2.5.

Procedimento Experimental - parte II

2.5.1.

Síntese NPsAg-ligante em fluxo contínuo

Inicialmente foram preparadas soluções mãe de AgNO_3 e ligante orgânico (citrato trissódico, ou tartarato de sódio e potássio) na concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, a partir delas as soluções filhas diluídas de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Preparou-se uma solução mãe de NaBH_4 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, a partir dela as soluções filhas diluídas $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

O método de síntese em fluxo contínuo de NPsAg-ligante consistiu em duas bombas-seringas (Figura 21-A e B). Em uma bomba foi introduzido 5,0 mL da solução de AgNO_3 ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), e na outra 5,0 mL do precursor do ligante orgânico ($0,5$ ou $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). As soluções foram injetadas com a mesma taxa de vazão de $0,25 \text{ mL min}^{-1}$ para obter a razão molar 0,5:1 ou 1:1 ($\text{Ag}^+/\text{ligante}$). As soluções foram injetadas para um micromisturador-T (Figura 21C), em seguida passando por uma tubulação de 90 cm enrolado (*coil*), onde ocorreu a complexação. Posteriormente o complexo formado recolheu-se em um vial contendo 5,0 mL do agente redutor NaBH_4 ($1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), recém preparado, mantidos em agitação 500 rpm, a 25° C (Figura 21D). Para cada síntese foi obtido um volume total de 15 mL com as seguintes proporções de Ag/Ligante/Boroidreto 1:1:1,25 e 1:0,5:1,25. As amostras foram armazenadas ao abrigo da luz e sob refrigeração 8° C . Um novo teste também foi realizado, ajustando-se o pH da água para 8,0 com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida preparou-se a solução mãe e filha de NaBH_4 .

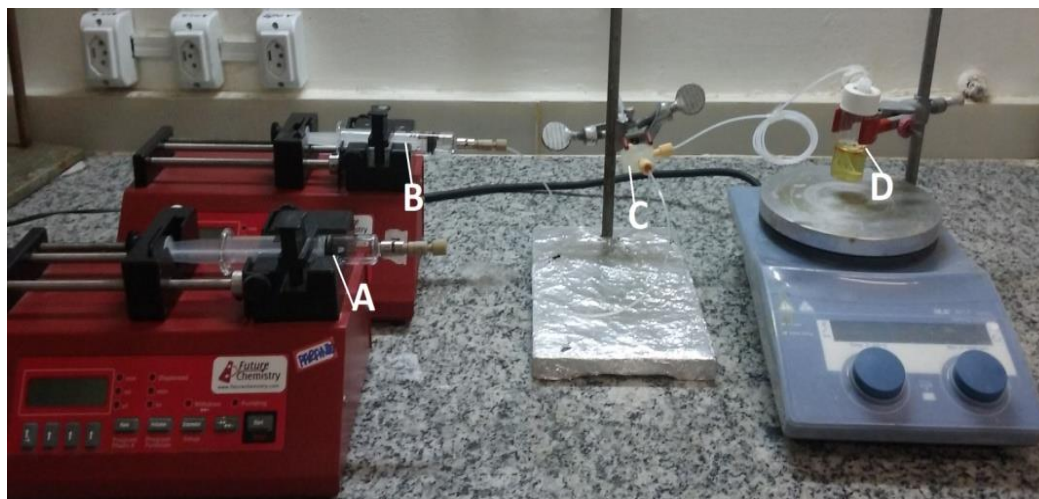


Figura 21. Sistema de síntese em fluxo de NPsAg-ligante. A) Bomba seringa contendo de AgNO_3 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ B) Bomba seringa contendo ligante $0,5$ ou $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ C) micromisturador-T para complexação Ag-Ligante, D) Vial com NaBH_4 $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

2.5.2.

Medição espectrofotométrica das NPsAg-ligante em fluxo contínuo

2.5.2.1.

Medição espectrofotométrica do efeito da vazão volumétrica das NPsAg-ligante em fluxo contínuo

O efeito da taxa da vazão em fluxo contínuo foi analisado utilizando a configuração experimental setup-A. Uma seringa de vidro de 10 mL foi preenchida com NPsAg-citrato, e injetado em diferentes taxas de vazões ($0,1 - 0,6 \text{ mL L}^{-1}$), com a finalidade de avaliar alguns efeitos como: aumento, diminuição ou deslocamento do sinal da absorvância em função da vazão volumétrica. Primeiramente as soluções coloidais de NPsAg-citrato foram diluídas 1:4 (v/v) com água ultrapura de maneira a obter um sinal de absorvância próximo a 0,6 u.a. Inicialmente, as soluções diluídas foram injetadas com uma taxa de vazão de $0,10 \text{ mL L}^{-1}$, após estabilização do sinal, a vazão foi aumentada até $0,6 \text{ mL L}^{-1}$ e registrada como mostra a Figura 47.

2.5.2.2.

Medição espectrofotométrica do efeito da diluição das NPsAg-ligante em fluxo contínuo.

A análise do efeito da diluição em fluxo contínuo foi realizada com setup-A. As NPsAg-citrato foram diluídas (1:4) com água ultrapura, a fim de obter um sinal de absorvância próximo a 0,6 u.a, com essa solução preencheu-se uma seringa de vidro de 10 mL, em outra seringa preencheu-se somente com água ultrapura. Ambas foram colocadas nas respectivas bombas-seringas.

A solução coloidal de NPsAg-citrato foi fluxada com uma taxa de vazão fixa de 0,40 mL min⁻¹. Primeiramente avaliou-se o sinal sem água, logo se variou a vazão da água de 0,10 - 0,40 mL min⁻¹, como mostra a Figura 48.

2.5.2.3.

Análise em UV-Vis para a determinação dos fármacos com NPsAg-ligante em batelada

A medição espectroscópica em batelada para análise com os fármacos trissulfato de neomicina mono hidratado e canamicina procedeu-se da seguinte maneira. A solução coloidal NPsAg-citrato foi diluída 1:9 com água ultrapura e as NPsAg-tartarato 1:4, a fim de obter absorvância próxima a 0,3 u.a. Em um microtubo de centrifugação de 2 mL, foram depositados 1,80 mL de NPsAg-ligante, em seguida 0,20 mL de fármaco para que as concentrações finais dos fármacos fossem de 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ e 10⁻⁹ mol L⁻¹, respectivamente. Esperou-se 10 minutos para reagir e analisou o espectro de absorvância, numa faixa de 200-700 nm. O branco foi realizado com água para corrigir o efeito da diluição.

2.5.2.4.

Análise em UV-Vis para a determinação dos fármacos com NPsAg-ligante em fluxo contínuo

A determinação do fármaco com as NPsAg-citrato foi realizada em sistema de análise em fluxo conforme o setup A. A solução coloidal de NPsAg-citrato foi dispensada constantemente com uma vazão volumétrica de 0,40 mL min⁻¹, enquanto a solução de fármaco (10⁻⁶-10⁻⁸ mol L⁻¹) foi dispensada com vazão variada entre 0,1-0,4 mL min⁻¹, ambas foram dispensadas por meio de tubulações no micromisturador-T", e seguiram por um *coil* para aumentar a eficiência da

mistura e interação entre o fármaco e as AgNPs-citrato. Em seguida a solução coloidal na presença do fármaco em análise foi monitorada pelo espectrômetro UV-visível USB2000+ passando pela cela de fluxo com caminho óptico 10 mm.

2.5.3.

Filmes finos de NPsAg-ligante depositadas sobre substrato de vidro silanizados com MPTS.

Com a finalidade de funcionalizar lâminas de vidro com NPsAg-ligante, para serem posteriormente utilizadas como sensores LSPR (Localized Surface Plasmon Resonance) (PETRYAYEVA E KRULL, 2011; MAURER *et al.*, 2014). Um estudo do melhor método de limpeza, hidroxilação, silanização com MPTS e tempo de imersão das lâminas em dispersão de NPsAg-ligante, foi realizado estabelecendo um protocolo em nosso laboratório.

As lâminas de vidro foram utilizadas como sensores LSPR para a detecção do antígeno da *Candida albican*. O sensor corresponde a lâmina de vidro com nanopartículas de prata aderidas à superfície e funcionalizadas com anticorpos anti-candida da classe das imunoglobulinas, Este trabalho de funcionalização com anticorpos após a deposição das NPsAg-ligante foi desenvolvido em parceria com o departamento de Bio-engenharia da Universidade de Pernambuco (NEVES *et al.*, 2015).

As lâminas foram cortadas 1,0 x 2,5 cm, limpas pelo método 1 e hidroxiladas com solução piranha, posteriormente silanizadas com MPTS 2,5% em toluento como descrito anteriormente. As lâminas foram imersas em dispersão de NPsAg-tartarato, Ag : tartarato (1:1), durante 12 H, lavadas com jatos de água e sunicadas com água por 1 minuto e secas em correntes de N₂.

A funcionalização das lâminas com os anticorpos não fez parte das atividades desta dissertação, mas é aqui apresentada de forma a estabelecer um registro de todas as etapas de desenvolvimento do sensor. Posteriormente as lâminas de vidro com NPsAg-tartarato foram limpas com uma solução de ácido nítrico (0,2 mol L⁻¹), em seguida imersas por aproximadamente 2 horas em uma solução 0,05 mol L⁻¹ de cisteamina (2-aminoetanotiol) em etanol.

Para imobilizar os anticorpos da candida, as lâminas com NPsAg-tartarato-cisteamina foram imersas durante 1 hora em soluções salinas tamponadas com fosfato (PBS) com diferentes concentrações de anticorpos. Os grupos de amina livre da cisteamina que não se ligaram aos anticorpos foram bloqueados com glicina, as lâminas de vidro com NPsAg-tartarato-cisteamina-anticorpos foram

imersas durante 1 hora em uma solução aquosa de glicina a 0,050 mol L⁻¹. As laminas foram limpas com água.

Foram preparadas soluções de antígenos de *Candida albicans* de diferentes concentrações. Depositou-se um pequeno volume da solução de antígeno sobre a lâmina funcionalizada e deixou interagir por 1 hora depois esperou secar e foram analisadas por espectroscopia. Os espectros UV-visíveis de cada etapa da funcionalização foram obtidos em uma faixa de 350 nm a 800 nm, utilizando um espectrofotômetro da Thermo Scientific (modelo Evolution 600), com resolução espectral de 0,2 nm.

3

Resultados e discussão – Parte I

Neste capítulo são apresentados os resultados referentes à síntese em fluxo e caracterização de QDs de CdTe-TGA, formação de compósitos QDs-polímeros, formação de filmes finos de QDs-TGA em matrizes poliméricas, hidroxilação e silanização de superfícies de vidro para formação de filmes luminescentes.

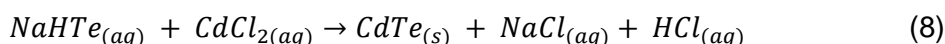
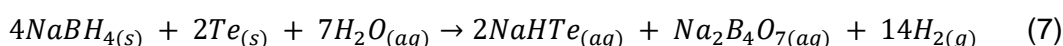
3.1.

Comparação entre a síntese de QDs-TGA em batelada e a síntese de QDs-TGA em fluxo contínuo

3.1.1.

Síntese de QDs de CdTe-TGA em batelada

A síntese em batelada ocorreu em duas etapas: (i) redução do telúrio metálico à hidrogenotelureto de sódio (NaHTe) em banho de glicerina, por ação do agente redutor borohidreto de sódio (NaBH₄) (Equação 7) e (ii) adição da solução recém-preparada de NaHTe à uma solução de cloreto de cádmio (CdCl₂), seguida de contínua agitação e aquecimento a 100°C (Equação 8) em refluxo por 40 min (VIOL *et al.*, 2011; DAI *et al.*, 2012).



Observa-se que na etapa (i), Equação 7, o NaBH₄ desempenha duas funções: a primeira, como agente redutor na rápida redução do Te⁰ a Te²⁻ para fornecer a nucleação rápida dos QDs, e a segunda como protetor para evitar a oxidação de Te²⁻ durante o crescimento dos QDs (WU *et al.*, 2012). Por esse motivo, o NaBH₄ sempre foi utilizado em excesso, tipicamente numa razão molar de NaBH₄/Cd²⁺/Te⁰ de 1,3 : 1,0 : 0,2 (VIOL *et al.*, 2011).

A redução do Te⁰ por NaBH₄ é o processo mais utilizado para preparação de QDs de CdTe-TGA (GAPONIK *et al.*, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2013). No entanto, durante o processo de síntese em batelada, observou-se que este procedimento apresenta aspectos experimentais de difícil reprodução, tais como, a coloração da

solução de telureto e o tempo necessário para redução de Te^0 para Te^{2-} . A produção de telureto é difícil de controlar, devido a alta sensibilidade das espécies formadas no processo (HTe^- ou Te^{2-}) ao oxigênio (DAI *et al.*, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2013).

No método em batelada, o tempo de redução do Te^0 com NaBH_4 , para NaHTe foi baseado na mudança da coloração da suspensão inicial de cinza (Figura 22A) para roxo/rosa/vinho (Figura 22B), o que levou em média 10 minutos para acontecer (GAPONIK *et al.*, 2002; YAN *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2012; VALE *et al.*, 2015). O tempo de redução indicado pela mudança da coloração, e a taxa de fluxo de injeção de NaHTe para o precursor de cádmio são parâmetros importantes no processo de síntese QDs de CdTe-TGA , no entanto, são pouco mencionados ou pouco detalhados nas literaturas (DAI *et al.*, 2012). Partindo desse princípio, o primeiro estudo dessa dissertação constou em avaliar a injeção de 2 mL de NaHTe (coloração roxa) no balão contendo CdCl_2/TGA de maneira controlada, utilizando bomba peristáltica, a uma taxa de vazão de 2 mL min^{-1} . Durante a injeção foi observada a formação de gás H_2 no circuito (tubos da bomba peristáltica) conforme a Equação (7), indicando que a redução de telúrio em NaHTe ainda estava em curso. Basear-se somente pela coloração da solução é muito relativo. Embora a solução estivesse roxa ainda havia espécies não reduzidas no meio e no circuito, e uma transferência da mesma levaria a uma mudança de razão molar, o que influenciaria na formação dos QDs (Manna *et al.*, 2003).

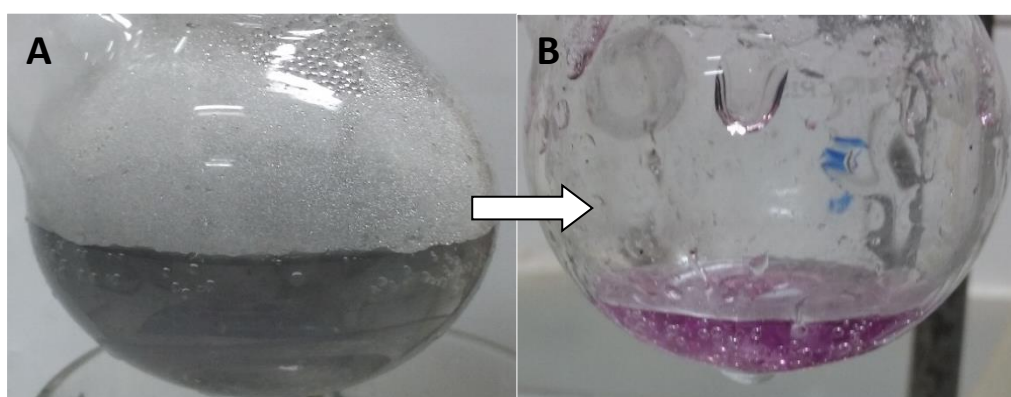


Figura 22. Processo de redução do telúrio metálico com NaBH_4 . A) Suspensão de telúrio; B) Solução de NaHTe .

A dispersão aquosa final de CdTe-TGA apresentou pH 10,0 e coloração laranja sob luz visível (Figura 22A) emitindo uma intensa luminescência verde-amarelo brilhante sob luz ultravioleta (365 nm , $12,5 \text{ mW cm}^{-2}$) (Figura 22A) e

eficiência quântica de 62%. O pH ajustado para 10 proporciona a desprotonação do ácido tioglicólico em carboxilato aumentando a carga superficial negativa conferindo maior estabilidade para dispersão. Características estas condizentes com a literatura (LIU e YU, 2009; GONG et al, 2016). Após 24 horas foi observada a formação de precipitado na mesma cor da dispersão.

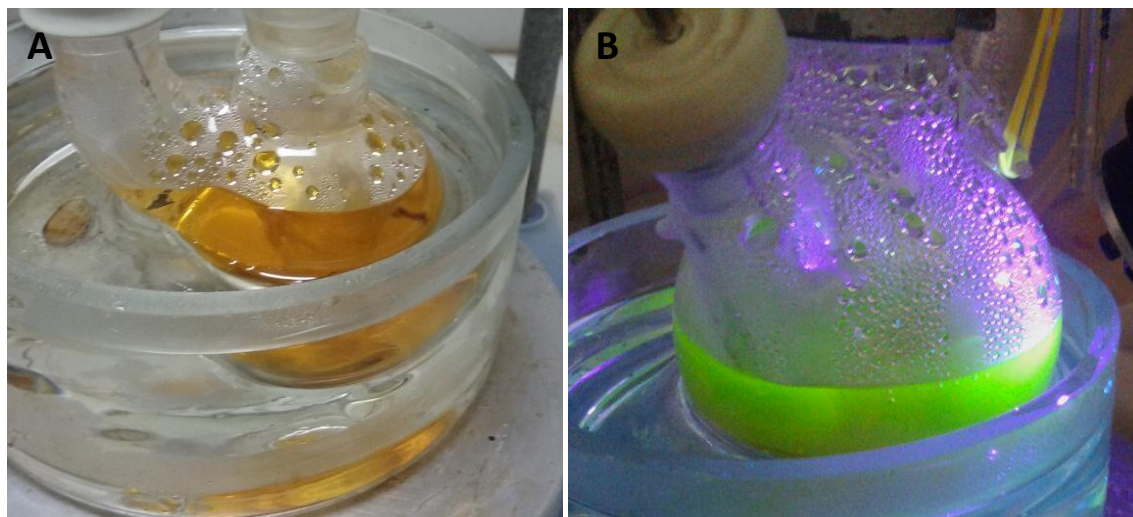


Figura 23. A) Dispersão aquosa final de CdTe-TGA. B) Dispersão aquosa CdTe-TGA sob irradiação de LED 365 nm.

Com fontes de excitação de 310, 365 e 405 nm, obtiveram-se comprimentos de onda máximos (λ_{max}) de emissão em 545, 552 e 541 nm, respectivamente, como demonstra a Figura 24A. Buscando obter QDs de tamanhos uniformes para diminuir a polidispersão da amostra foi realizada uma centrifugação a 2400 rpm. Após a centrifugação foram obtidos espectros com fonte de excitação fixa em 365 nm, apresentando λ_{max} de emissão em 540 nm (Figura 22B), e pH 9,7. A largura total à meia altura (FWHM), antes e após a centrifugação foram comparadas, obtendo-se λ_{max} de 48,5 e 47,5 nm, respectivamente.

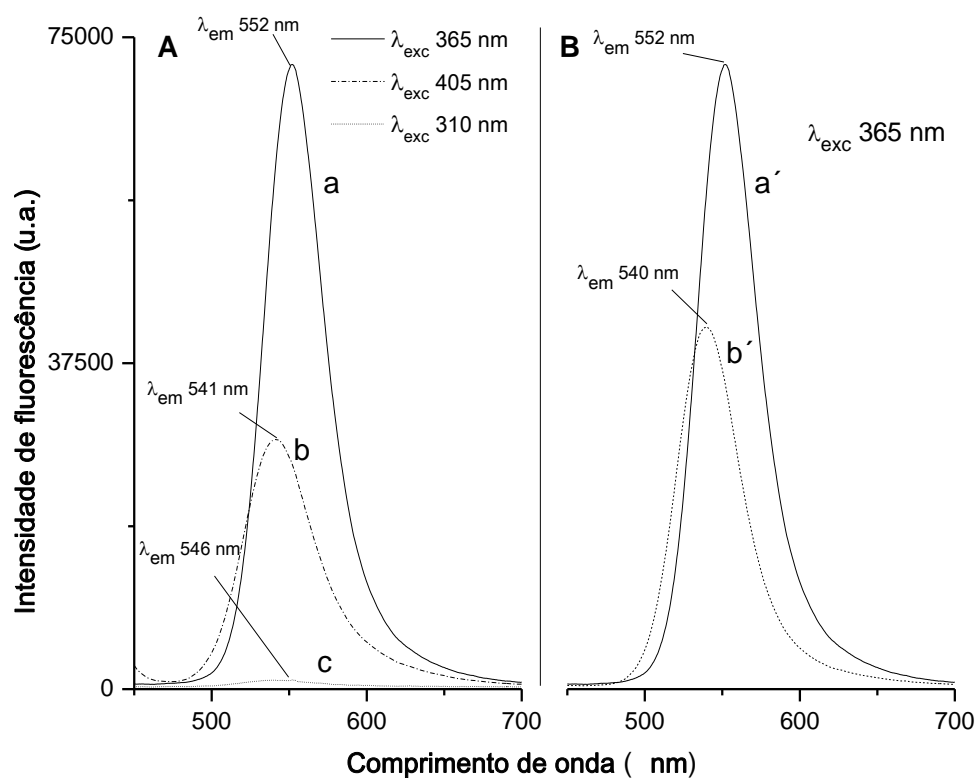


Figura 24. Espectro de emissão de QDs-TGA lote4 antes da centrifugação $\lambda_{excitação}$: a e a') 365 nm; b) 405 nm e c) 310 nm após a centrifugação $\lambda_{excitação}$ 365 nm.

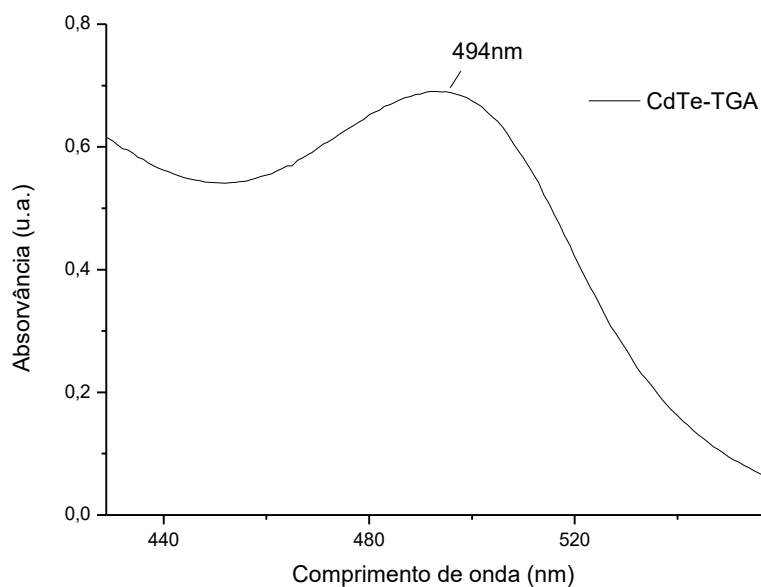


Figura 25. Espectro de absorção de CdTe-TGA $1,29 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

O tamanho dos QDs foi estimado por espectroscopia UV-vis segundo a Equação 9 (YU *et al.*, 2003). Onde D é tamanho do nanocrystal e λ é o primeiro pico do primeiro excitônico a 494 nm. Foi obtido o tamanho médio de 2,2 nm. A concentração da amostra foi estimada pela lei de Beer-Lambert (Equação 10). Onde A é a absorvância; C é a concentração; ϵ é o coeficiente de extinção molar e b é caminho óptico. ϵ pode ser calculado pela Equação 11 (YU *et al.*, 2003; AUCELIO *et al.*, 2017). Obtendo a concentração de $1,29 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

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

$$A = \epsilon C b \quad (10)$$

$$\epsilon = 10043 D^{2,12} \quad (11)$$

3.2.

Síntese de QDs CdTe-TGA em fluxo

A síntese de QDs de CdTe-TGA em fluxo foi realizada visando a redução da quantidade de reagentes e gasto de energia; aumento da segurança no processo de síntese e controle dos parâmetros de reação (temperatura, vazão e razão molar dos precursores).

3.2.1.

Efeito da variação da temperatura e vazão de injeção

Previamente foram preparadas duas soluções: (i) solução precursora de Cd^{2+} (CdCl_2) e (ii) solução de NaHTe preparada em banho de glicerina a 80°C . Diferentemente da síntese em batelada, o tempo de redução do telúrio metálico para Te^{2-} , indicado pela coloração roxa-escura, foi controlado e fixado em 8 minutos. Neste caso, o tempo de viragem da coloração da suspensão (de cinza

para roxa-escuro), sendo acrescentados mais 12 minutos para resfriamento da amostra e estabilização da solução (sem a formação de H_2 , com mudança da coloração da solução de roxa-escuro para roxa-clara). Como o crescimento dos QDs é influenciado pela temperatura (YANG, 2010; SILVA *et al.*, 2012), a injeção das soluções precursoras necessitou ser acompanhada de aquecimento, uma vez que as mesmas estavam armazenadas em temperatura ambiente (25°C) nos respectivos balões de 50 mL. Nesse contexto, o desenho e desenvolvimento da configuração experimental com dois fornos tubulares possibilitou controlar a temperatura do forno 1 para a injeção do $CdCl_2$, e do forno 2 para a injeção da mistura reacional no reator tubular (ver item 2.3. Setup D, configuração experimental da síntese de *quantum dots* de CdTe-TGA em fluxo contínuo).

A escolha de um intervalo de temperatura apropriado é uma das etapas fundamentais para a síntese de QDs. Temperatura muito baixa pode não levar a superação da barreira de energia necessária para formação das espécies reativas responsáveis pela nucleação e crescimento dos QDs. Enquanto que uma temperatura elevada pode resultar num crescimento descontrolado dos mesmos (YANG, 2010). O estudo da variação da temperatura foi realizado fixando-se a temperatura do forno 1 em 110°C, e variando a temperatura do forno 2 de 110 a 140°C. O forno 1 é fundamental para o pré-aquecimento em fluxo da solução de $CdCl_2$, a qual entra no forno 2 depois de se misturar com a solução de NaHTe através da junção “T” de aço. A mistura reacional (Cd:Te) teve um tempo de residência no forno 2 característico em função das velocidades de injeção dos precursores a partir da zona de mistura (junção “T”). Realizou-se a avaliação da influência da variação das vazões de injeção dos precursores de Cd e Te (0,030; 0,050; 0,100 e 0,150 mL min⁻¹), equivalentes aos respectivos tempos de residência de 32, 19,2, 9,6 e 6,4 s. A Figura 26 e a Tabela 3, mostram os resultados obtidos na avaliação desses parâmetros.

A variação da temperatura utilizando uma mesma taxa de fluxo para os dois precursores indicou uma leve influência nos comprimentos de emissão dos QDs produzidos (Tabela 3 e Figura 26). Utilizando a vazão de 0,030 mL min⁻¹, obtiveram-se valores de $\lambda_{emissão}$ de 535, 534, 533 e 527 nm para as temperaturas de 110, 120, 130 e 140°C, respectivamente. A mesma tendência ocorreu para as demais vazões, 0,050; 0,100 e 0,150 mL min⁻¹. O menor valor de $\lambda_{emissão}$, 519 nm, foi alcançado utilizando a maior temperatura (140°C) a 0,10 mL min⁻¹. Embora as diferenças entre os valores de $\lambda_{emissão}$ obtidos nas diferentes temperaturas sejam pequenas (1 - 18 nm), há uma tendência de deslocamento de $\lambda_{emissão}$ no sentido

do azul (tamanhos menores) à medida em que se aumenta a temperatura (120 - 140 °C) e a vazão de injeção (0,03 – 0,10 mL min⁻¹), com exceção a 110 °C e 0,15 mL min⁻¹ (Figura 26). Essa tendência está em desacordo com Yang *et al* (2010), que utilizaram temperaturas mais elevadas (200, 220, 240 e 280°C) e tempo de nucleação (residência) de 10 - 40 s para sintetizar QDs de CdSe em fluxo. Segundo os autores, a alta temperatura de reação resulta na formação de nanocristais irregulares devido a rápida nucleação e crescimento dos QDs, diferentemente, das respostas obtidas neste trabalho.

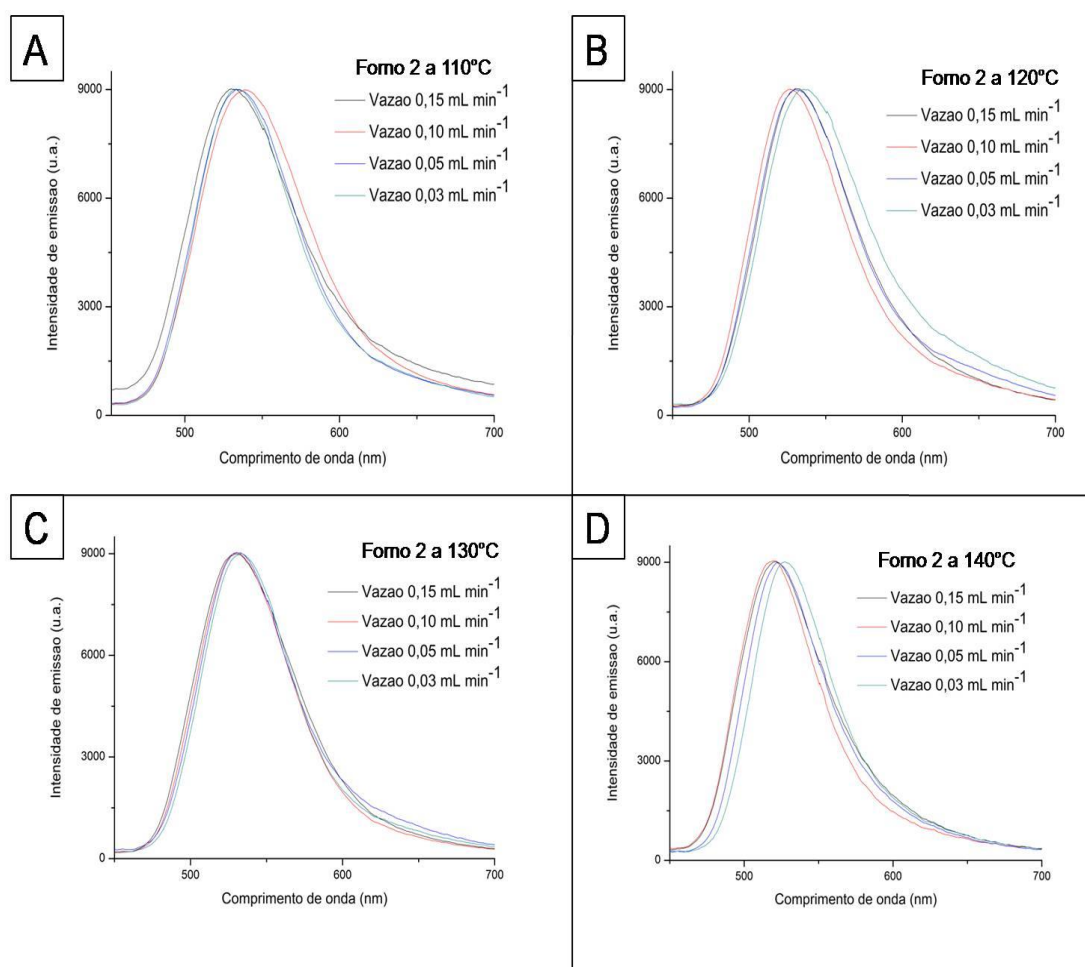


Figura 26. Espectros com a intensidade de emissão normalizada CdTe-TGA sintetizados em fluxo contínuo. Variando o fluxo 0,03 - 0,15 mL min⁻¹ e variando a temperatura do forno 2 em: A) 110 °C; B) 120 °C; C) 130 °C e D) 140 °C.

A polidispersividade e a eficiência quântica dos QDs estão diretamente relacionadas com a largura total à meia altura (FWHM). A redução do tempo de nucleação favorece a formação de QDs com comprimentos de onda e largura à

meia altura (FWHM) menores. Quanto menor for FWHM menor é a polidispersão da solução coloidal aquosa (YANG, 2010; CHEN *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2012). Os valores de FWHM encontrados nesse trabalho foram de 62, 65, 65 e 69 nm a 140 °C, para os respectivos tempos de residência de 32, 19,2, 9,6 e 6,4 s (Tabela 3). Valores estes, maiores que os encontrados por Yang *et al* (2010), que obtiveram FWHM de 32 nm na síntese de QDs de CdSe, com o tempo de residência de 10 s. A partir do espectro de emissão foi possível obter informações da distribuição do tamanho da amostra (polidispersividade).

Tabela 3. Comprimentos de onda de emissão das soluções de QDs e relativas FWHM em função da temperatura de trabalho dos dois fornos e vazão volumétrica dos precursores de Cd e Te.

Temperatura do forno 1	Temperatura do forno 2	Vazão (mL min ⁻¹)	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm)	FWHM (nm)
110 °C	110 °C	0,030	535	76
		0,050	536	78
		0,100	537	84
		0,150	530	84
110 °C	120 °C	0,030	534	79
		0,050	532	77
		0,100	528	72
		0,150	531	76
110 °C	130 °C	0,030	533	72
		0,050	532	69
		0,100	531	72
		0,150	531	77
110 °C	140 °C	0,030	527	62
		0,050	522	65
		0,100	519	65
		0,150	521	69

3.2.2.

Efeito da variação da razão molar Cd:Te

A estequiometria dos precursores influencia fortemente no tamanho (MANNA *et al.*, 2003) e na FWHM dos QDs (MORRIS-COHEN *et al.*, 2010; VALE *et al.*, 2015). Nesse contexto, o controle da estequiometria de reação de QDs CdTe, e a otimização do tamanho e rendimento dos QDs, são etapas importantes no desenvolvimento de uma metodologia eficiente para a síntese de QD de CdTe-TGA (ANDERSON *et al.*, 2013). Nesse trabalho, o estudo da variação da razão molar Cd:Te foi realizado pela variação da velocidade de vazão dos precursores na entrada do misturador em T de aço. A vazão da bomba-seringa 1, contendo o precursor de cádmio, na concentração de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi fixada em $0,05 \text{ mL min}^{-1}$, enquanto que a vazão da bomba-seringa 2, contendo o precursor de telúrio, na concentração de $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, foi variada de $0,05$ a $0,25 \text{ mL min}^{-1}$. A temperatura de trabalho do forno 1 foi mantida constante a 110°C , enquanto a do forno 2 em 110°C e 140°C . Os resultados preliminares desse estudo estão representados nas Figura 27A-D e Tabela 4.

Conforme mostrado na Tabela 4, um aumento crescente na razão molar de Cd:Te de (1:0,3 – 1:1,5) a 110°C , deslocou o pico de emissão dos QDs da região verde (533 nm) para a região do vermelho (571 nm) Figura 27A. Em termos de FWHM, Figura 27B, os QDs formados adquiriram maior polidispersão, com valores de largura à meia altura variando de 74 a 90 nm. A 140°C , os valores de $\lambda_{\text{emissão}}$ foram de 520 (verde) a 570 nm (vermelho), Figura 27C, com FWHM expressando redução da monodispersão da solução coloidal aquosa, variando de 64 a 86 nm Figura 27D. Esses resultados preliminares indicam uma relação proporcional entre a razão estequiométrica dos precursores Cd^{2+} e Te^{2-} e o tamanho das amostras de QDs. Uma possível explicação para essas alterações é que o excesso de telúrio pode provocar um rápido crescimento no processo de nucleação influenciando o tamanho dos QDs, tornando-os maiores, o que provoca o deslocamento da banda de emissão para a região do vermelho (LI e LI, 2014; LIANG *et al.*, 2014).

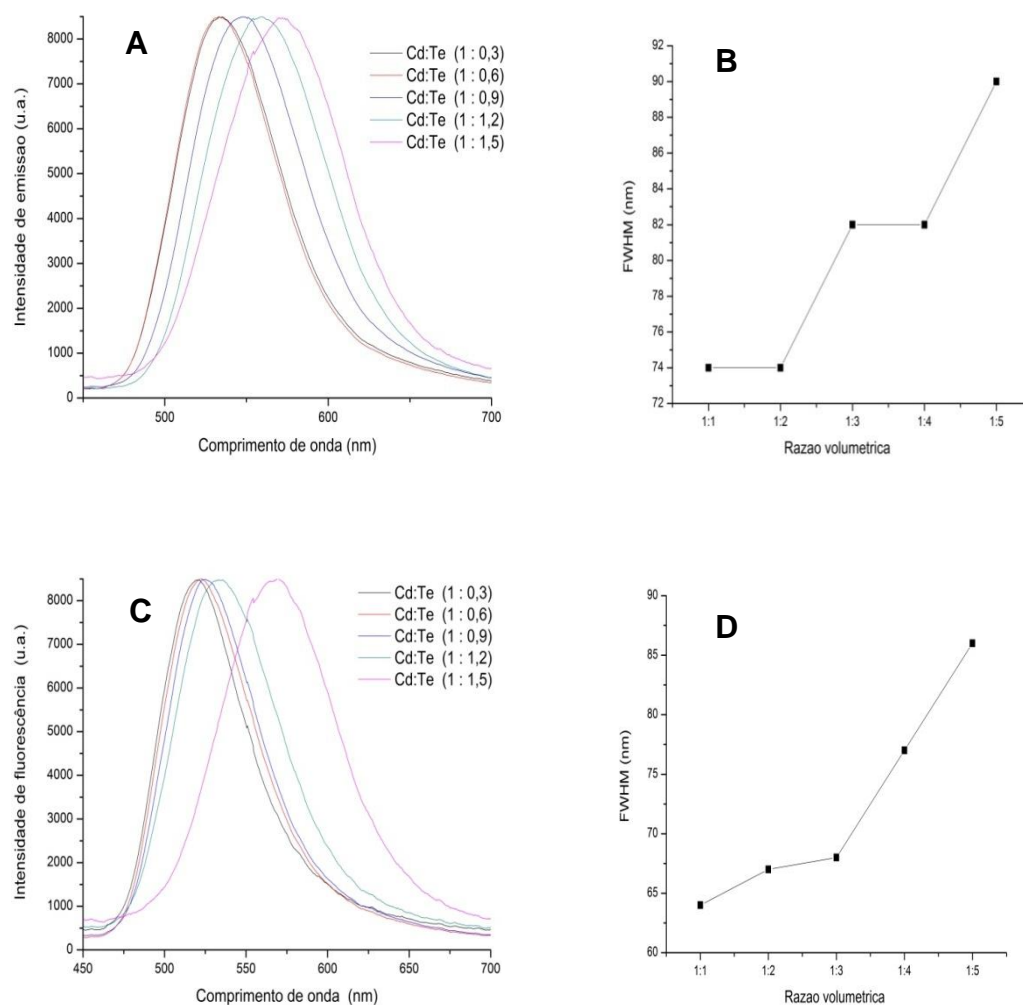


Figura 27. Espectros dos QDs com a intensidade normalizada e gráfico FWHM *versus* razão molar Cd:Te (1:0,3 – 1:1,5), em fornos a 110 °C (A e B); e a 140 °C (C e D), respectivamente.

Tabela 4. Variação do $\lambda_{\text{emissão}}$ e FWHM em função da temperatura e razão molar conforme a variação da vazão volumétrica dos precursores Cd e Te. Forno 1 na temperatura constante de 110 °C, enquanto o forno 2 foi fixado em 110 °C e 140 °C.

QDs lote 6				QDs lote 5			
Forno 2 a 110 °C				Forno 2 a 140 °C			
Razão da vazão volumétrica Cd:Te (mL min ⁻¹)	Razão molar Cd:Te	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm)	FWHM (nm)	Razão da vazão volumétrica Cd:Te (mL min ⁻¹)	Razão molar Cd:Te	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm)	FWHM (nm)
0,05 : 0,05 (1 : 1)	1 : 0,3	534	74	0,05 : 0,05 1 : 1	1 : 0,3	520	64
0,05 : 0,10 (1 : 2)	1 : 0,6	533	74	0,05 : 0,10 1 : 2	1 : 0,6	522	67
0,05 : 0,15 (1 : 3)	1 : 0,9	547	82	0,05 : 0,15 (1 : 3)	1 : 0,9	525	68
0,05 : 0,20 (1 : 4)	1 : 1,2	559	81	0,05 : 0,20 (1 : 4)	1 : 1,2	533	77
0,05 : 0,25 (1 : 5)	1 : 1,5	571	90	0,05 : 0,25 (1 : 5)	1 : 1,5	570	86

Um perfil gráfico com a variação do comprimento de onda de emissão das suspensões de QDs em função da variação da razão molar entre Cd:Te foi traçado, (Figura 28) apresentando um perfil crescente de comprimento de onda não linear para a variação molar (1:0,3 – 1:1,5) a 140 °C. Entretanto, utilizando a temperatura de 110 °C, há um perfil linear de aumento de $\lambda_{\text{emissão}}$ em função do aumento da quantidade de telúrio a partir da razão molar 1:0,6 (Cd:Te), correspondendo a taxa de vazão 0,05 : 0,10 mL min⁻¹ e a razão volumétrica de 1:2 (v/v).

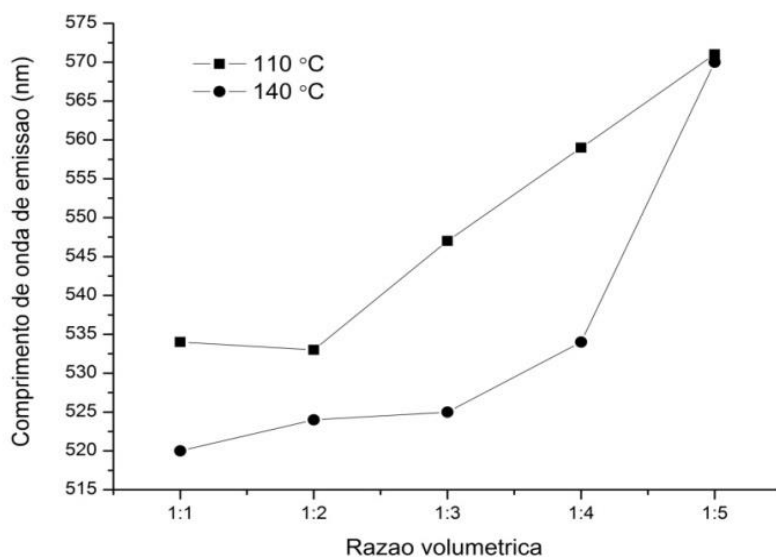


Figura 28. Variação do comprimento de onda de emissão das suspensões de QDs em função da variação da razão molar entre Cd:Te experimentados em diferentes taxa de vazão das soluções entre 0,05 - 0,25 mL min⁻¹ experimentado o forno 2 a duas diferentes temperaturas: 110 °C e 140 °C.

3.3. Caracterização espectrofotométrica dos QDs-TGA (batelada)

Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (IV-TF) do ácido tioglicólico e CdTe-TGA em batelada são apresentados na Figura 29 com suas respectivas bandas: vibração de deformação (ν) vibração de deformação axial assimétrica (ν_{as}) e vibração de deformação axial simétrica (ν_s). No espectro de TGA livre, as bandas mais evidentes foram: 3500 a 3000 cm⁻¹ (ν_{OH}), 2950 cm⁻¹ (ν_{C-H_2}), 2574 cm⁻¹ (ν_{S-H}), 1707 cm⁻¹ ($\nu_{C=O}$), 1222 cm⁻¹ (ν_{C-O}). No espectro de CdTe-TGA as bandas mais evidentes são: 1562 cm⁻¹ ($\nu_{ass}COO^-$), 1397 cm⁻¹ (ν_sCOO^-), correspondendo ao fato do pH 10.0 desprotonar o grupo ácido carboxílico a carboxilato. As vibrações S-H em 2574 cm⁻¹ não são pronunciadas, o que é esperado quando ocorre ligações covalentes de grupos tióis à superfície de nanocristais. Esses resultados concordam com os encontrados por Silva *et al.* (2012); Vale *et al.* (2015); Abdelbar *et al.* (2016); Gong *et al.* (2016), que também caracterizaram CdTe-TGA por IV-TF.

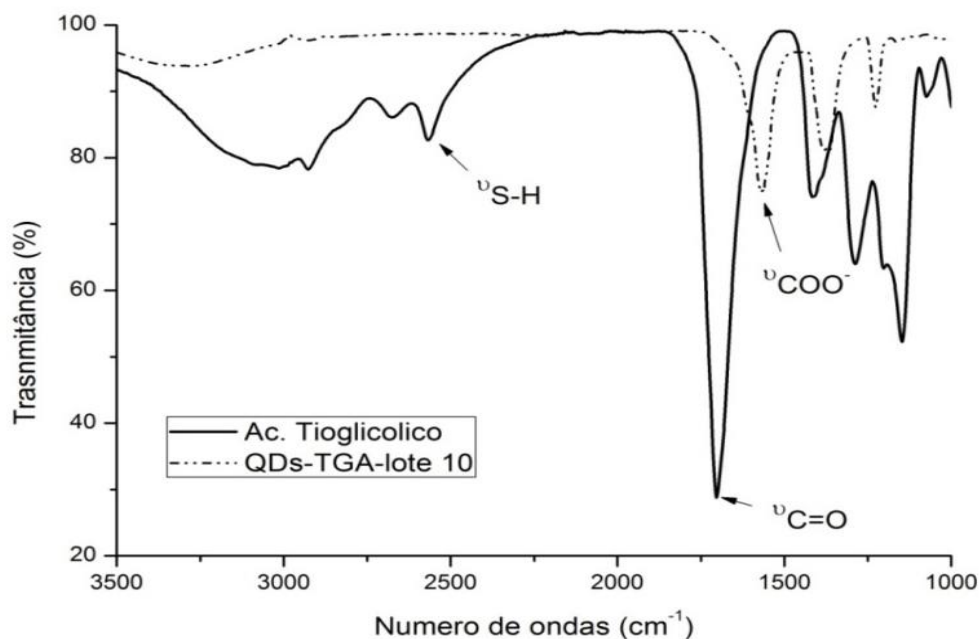


Figura 29. Espectro de transmissão de infravermelho de TGA e CdTe-TGA sintetizada em batelada.

3.4.

Análise fluorimétrica dos QDs e efeito da vazão volumétrica em fluxo contínuo

O Setup B (ver item 2.3., configuração experimental para obtenção dos espectros de fotoluminescência em fluxo contínuo) foi utilizado para caracterização fluorimétrica dos quantum dots em fluxo contínuo. Os QDs de CdTe-TGA utilizados foram sintetizados em batelada e cedidos pelo laboratório LEEA-PUC-RIO. Um teste preliminar foi realizado para avaliar a estabilidade do sinal no setup B utilizando como parâmetro o comportamento do efeito da vazão volumétrica. A suspensão em exame foi injetada na cela de fluxo acoplada ao fotômetro USB com uma vazão volumétrica variável de 0,01 a 0,07 mL min⁻¹ (Figura 30). Os resultados das análises mostraram uma flutuação dos espectros, inviabilizando a caracterização pelo setup montado, visto que, uma flutuação do espectro provocaria a incerteza na análise.

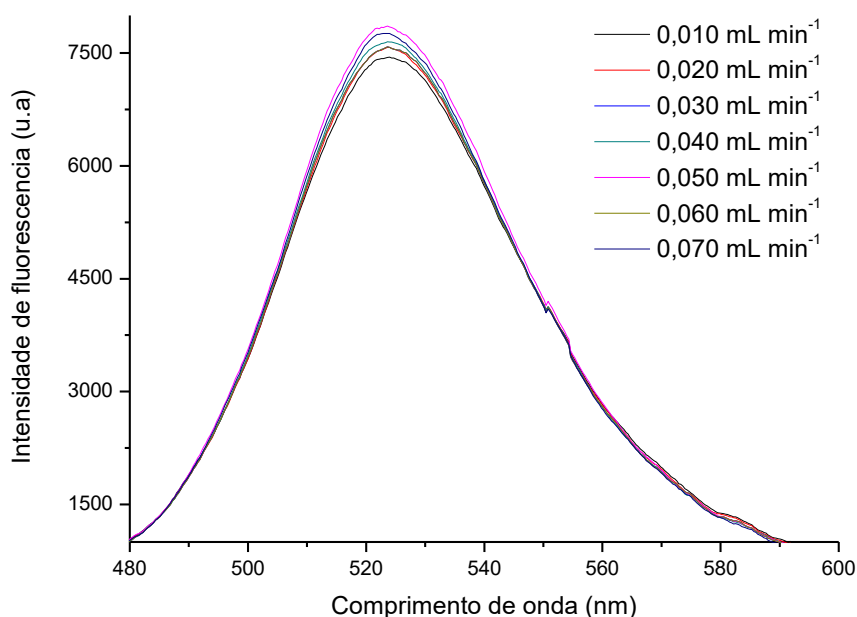


Figura 30. Espectro de emissão de fotoluminescência de QDs CdTe-TGA em diferentes vazões volumétricas 0,01 a 0,07 mL min⁻¹.

A flutuação nos sinais pode estar relacionada com a sensibilidade do setup às vibrações externas. Por exemplo, a sensibilidade dos cabos de fibra ótica à movimentação, influência da trepidação causada pelas bombas e demais condições da sala onde foi montado o setup B. Outro fator muito comum nesse tipo de sistema é a formação de microbolhas na cela de fluxo em formato de W (ver item 2.3. Figura 15). A montagem desse setup é importante para medições em tempo real (*on-line*). Outro fator importante é ligado aos números de nanopartículas por unidade de tempo que emitem luz para o fotodetector. Ao aumentar a velocidade, aumentam os objetos luminescente por unidades de tempo, registrando um aumento da intensidade do espectro de emissão de fotoluminescência dos QDs de CdTe-TGA.

3.5.

Determinação da carga superficial dos QDs-TGA sintetizados em batelada

O potencial zeta confere uma medida indireta de estabilidade da dispersão de nanopartícula. As amostras com valores de carga superficial maiores que 30 mV fazem com que as cargas das partículas vizinhas se repelem evitando a aglomeração e a sedimentação, aumentando a velocidade de movimento das partículas (VALE *et al.*, 2015). Quanto maior o potencial zeta, maior a estabilidade (HEURTAULT *et al.*, 2003; HANAOR *et al.*, 2012). O potencial zeta medido de QDs CdTe-TGA sintetizados em batelada sob refluxo por 40 min foi de $-32.8 \pm 3.52 \text{ mV}$, concordando com valores encontrados na literatura. A carga negativa foi atribuída ao ácido carboxílico desprotonado em pH 10, na forma de carboxilato, derivado do ácido tioglicólico (CONROY *et al.*, 2008; ABDELBAR *et al.*, 2016).

3.6.

Filmes finos de QDs-TGA em matrizes polimérica

A tentativa de formação de fino luminescente de QDs de CdTe-TGA na superfície do PDMS pelo método de impregnação, conforme métodos utilizados para semicondutor de dióxido de titânio descrito por Lamberti (2015) e De Sá *et al.* (2016) não foi bem-sucedida. A suspensão de CdTe-TGA aderiu ao vidro no fundo dos reservatórios, impossibilitando a imobilização dos QDs pelo PDMS.

A deposição direta dos QDs sobre a superfície do PDMS (hidroxilada, não hidroxilada e sobre PDMS parcialmente curado) e espalhado com jatos e N_2 , também não foi satisfatória devido à alta hidrofobicidade da superfície do PDMS levando a formação de bolhas (SEETHAPATHY e GÓRECKI, 2012) conforme a Figura 31. Os QDs depositados diretamente sobre a superfície do PDMS e espalhado com uma espátula apresentou uma camada não uniforme com concentração de QDs nas bordas, onde apresentou mais intensidade de fotoluminescência sobre luz de LED 365 nm (Figura 31).

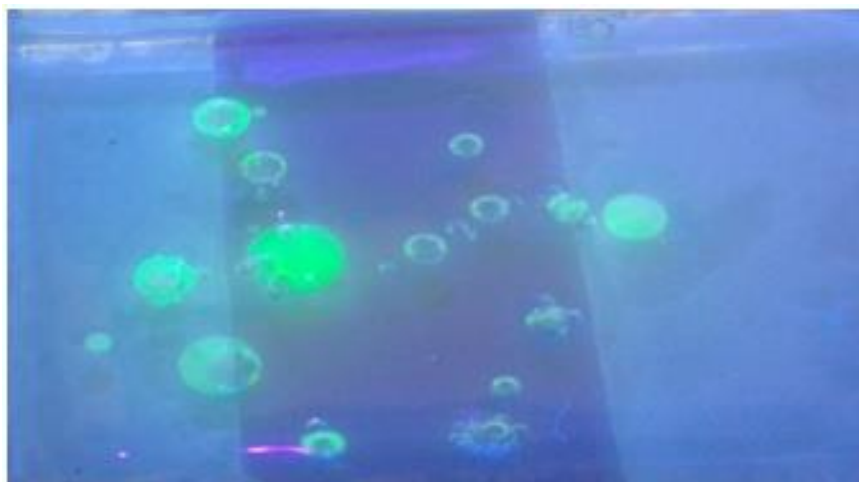


Figura 31. Disposição dos CdTe-TGA na superfície do PDMS após jatos de N₂ sob fonte de LED 365 nm.

Compósitos de PDMS com QDs podem ser preparados com o propósito de formar uma película homogênea, como as películas de QDs de carbono em matrizes de PDMS preparadas por Bhunia *et al.* (2016). Partindo desse princípio, 0,30 mL QDs de CdTe-TGA concentrado, foram misturados à matriz de PDMS (0,80 g elastômero base e 0,080 g agente de cura). A mistura opalescente apresentou luminescência sobre luz de LED 365 nm a olho nu. Essa mistura foi depositada em um reservatório de PMDS com fundo de vidro e curada como descrito anteriormente. Como resultado desse processo, obteve-se um compósito PDMS-QDs que apresentou luminescência sobre luz de LED 365 nm. O compósito foi dividido em cinco partes, identificadas como A, B, C, D e F, como mostra a Figura 32.

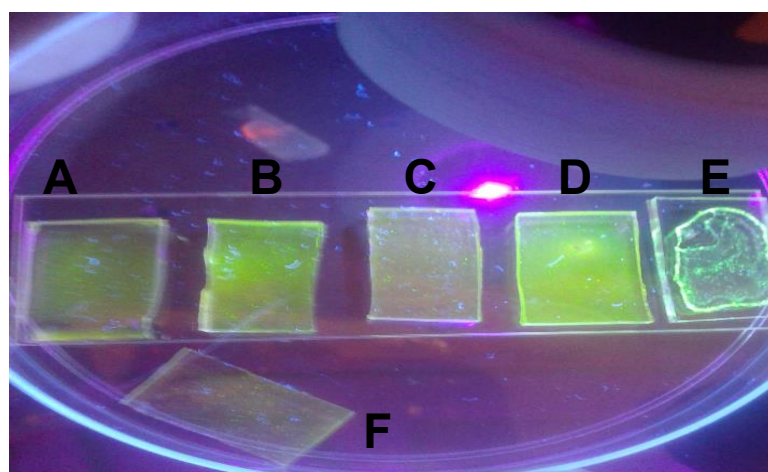


Figura 32. Compósito PDMS-CdTe-TGA sob LED 365 nm.

As estabilidades dos compósitos C e D foram testadas ao longo do tempo e imersas em água, respectivamente. Os compósitos foram postos em cubeta de quartzo de modo que ficassem a 90° em relação à fonte de excitação e 0° ao espectrômetro, como ilustra a Figura 33.

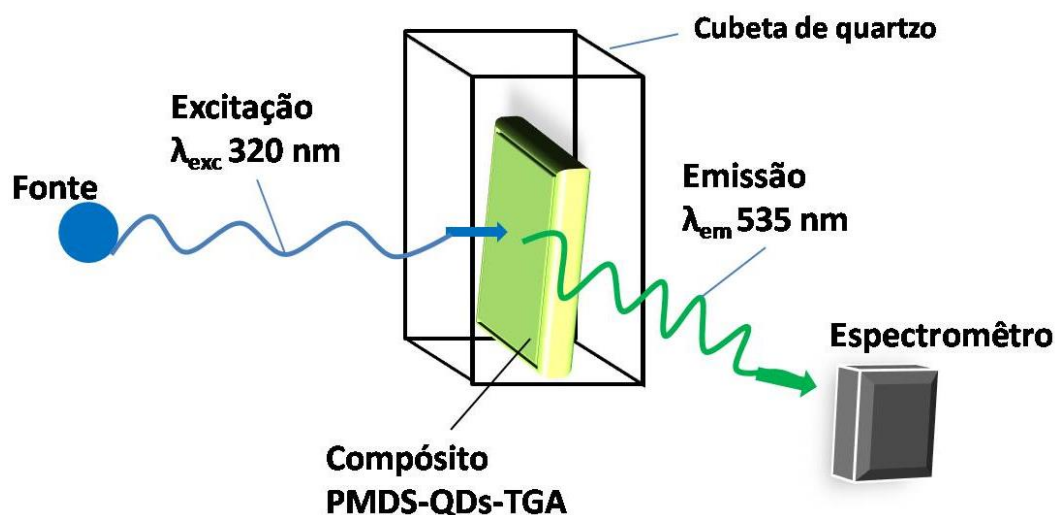


Figura 33. Posição do compósito em cubeta sem suporte.

As análises de fotoluminescência foram obtidas em espectrofluorímetro Perkin Elmer com fonte de luz de excitação a 320 nm. Observou-se um decaimento na intensidade de luminescência em ambos os compósitos (Figura 34). O compósito C (Figura 33 parte C) foi avaliado em temperatura ambiente ao longo de 13 dias, observando-se um deslocamento para o vermelho e uma supressão significativa na intensidade (Figura 34), provavelmente por um processo de oxidação pelo oxigênio do ar. Devido a impossibilidade temporária ao acesso à sala do equipamento de leitura não foi possível realizar análises intermediárias.

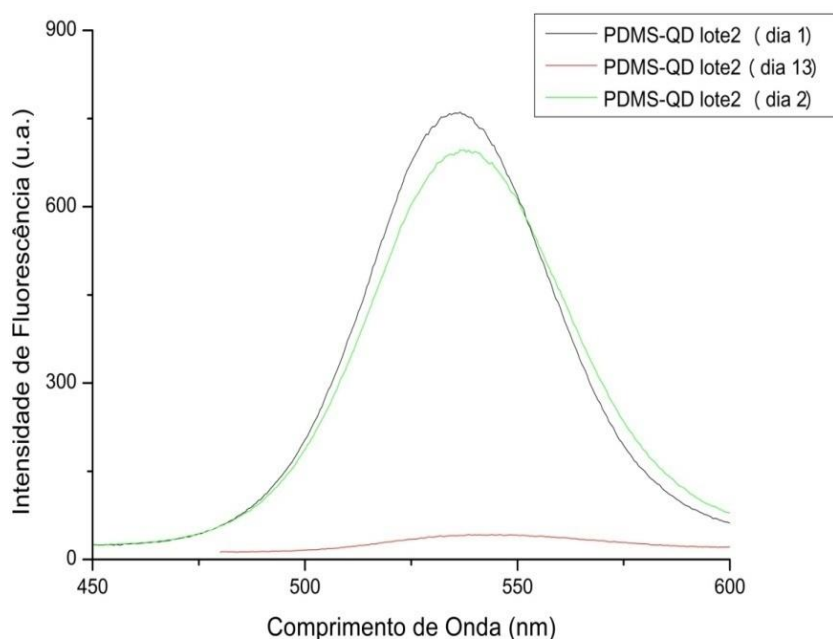


Figura 34. Espectro da intensidade de fotoluminescência do composto C ao longo do tempo.

O Compósito D (Figura 33 parte D) apresentou supressão da intensidade de fotoluminescência de 61.4% após 80 min imerso em água como mostra a tabela 5. Ao secar a lâmina em corrente de nitrogênio e analisar na mesma posição de leitura inicial, houve um pequeno aumento da intensidade de emissão de 20.3%. O aumento da intensidade pode ser atribuído ao efeito do reposicionamento do compósito na cubeta ou ressolubilização dos QDs. O que levou a prototipagem de um suporte para lâminas em cubeta (ver item 2.3., Figura 17).

Tabela 5. Compósito D, intensidade da emissão e porcentagem do decaimento da intensidade.

Lâmina de PDMS-QD-TGA	Intensidade (u.a.)	%
Seca	669	100.0
2 min em água	436	65.0
80 min em água	285	38.6
Seca com N ₂	394	58.9

De forma similar Bhunia e colaboradores (2016) indicaram a formação de filmes luminescentes de QDs de carbono em matriz de PDMS, entretanto não foram feitos testes de estabilidade. Esperava-se que QDs sintetizados fossem mais estáveis na forma de compósito PDMS-QDs do que na forma de dispersão coloidal. Segundo Liang e colaboradores (2017), a mistura com polímeros pode melhorar ainda mais a estabilidade da emissão de fotoluminescência dos nanocompósitos protegendo-os de oxidação com atmosfera ambiente e influencia térmica.

3.7.

Compósito de PVA-QDs-TGA sobre substrato de vidro

Em alternativa ao compósito de PDMS-QDs-TGA, compósito de PVA-QDs-TGA foi testado para obtenção de filme fino luminescente sobre substrato de vidro. O PVA-QDs-TGA foi gotejado (drop cating) sobre o vidro. Duas dispersões (1 e 2) foram preparadas: a dispersão 1 do compósito PVA-QDs-TGA foi preparada a partir de 10,0 mL de PVA ($0,03 \text{ g mL}^{-1}$) com 0,05 mL de QDs-TGA e dispersão 2 do compósito PVA-QDs-TGA preparada a partir de 2,0 mL de PVA ($0,03 \text{ g mL}^{-1}$) com 0,20 mL de QDs-TGA concentrado conforme mencionado no item 2.4.7.3. Segundo Tripathi *et al.* (2015) o mecanismo possível de reação para formação desse compósito se deve pela interação do carboxilato na interface dos QDs com os grupos OH presentes nas cadeias de PVA por ligação de hidrogênio, melhorando a dispersão na matriz polimérica.

A dispersão 1 (2mL) foi depositada sobre lâmina de vidro limpa (A), mas a formação do filme foi inviabilizada devido ao escoamento da solução pelas bordas. Alternativamente, 2 mL da dispersão 2 foi depositado sobre lâmina de vidro (B) em temperatura ambiente por 72 horas, essa metodologia permitiu a formação de uma película fluorescente sob LED 365 nm a olho nu.

Uma nova dispersão 2 foi preparada, porém ao adicionar QDs-TGA, a mesma não foi aquecida, somente agitada. Ao aquecer após a adição dos QDs foi observada uma mudança na coloração de verde para laranja. Em 8 lâminas de vidro foram depositados 0,50 mL da dispersão 2. Quatro dessas lâminas foram curadas em temperatura ambiente (Figura 35C), e outras quatro curadas em estufa a 60°C por 1 hora (Figura 35C).

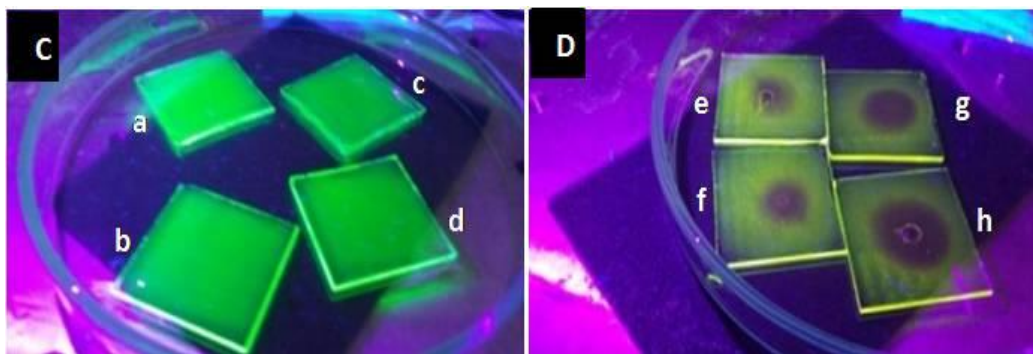


Figura 35. C) lâminas com filme de PVA-QDs-TGA sem tratamento térmico a / b 0,05 mL de PVA-QDs-TGA c/d 2 mL de PVA-QDs-TGA ; D) lâminas com filme de PVA-QDs-TGA com tratamento térmico e / f 0,05 mL de PVA-QDs-TGA g/h 2 mL de PVA-QDs-TGA. Sob fonte de LED 365 nm.

As lâminas curadas com tratamento térmico apresentaram um halo não fluorescente sob LED 365 nm, indicando possivelmente um processo oxidativo pela exposição à temperatura (GORBACHEV *et al.*, 2016). As lâminas sem tratamento térmico apresentaram luminescência homogênea em todo o substrato.

Foram produzidas películas com 0,50 mL de dispersão 1 e, 2 mL de dispersão 2, depositadas sobre placas de petri com diâmetros de 7,5 e 10 cm, respectivamente. Os compósitos foram espalhados uniformemente sobre a superfície da placa de petri, a fim de se obter uma película bem fina. Em seguida, foram curados em estufa a 60°C por 1 hora. As películas apresentaram luminescência sob LED 365 nm a olho nu. As películas não apresentaram homogeneidade, e aderiram às placas de petri de forma que não foi possível removê-las. Com o mesmo princípio um novo teste foi realizado utilizando 2 mL da dispersão 2, com etapa de secagem por 24 horas em temperatura ambiente (Figura 36). Sem o tratamento térmico, obteve-se uma película mais homogênea e possível de ser removida da placa de petri. A remoção do filme é interessante devido à produção de filmes luminescentes flexíveis que possam ser utilizados como potenciais sensores analíticos na detecção *in situ* de analito em objetos irregulares (ZHONG *et al.*, 2014).

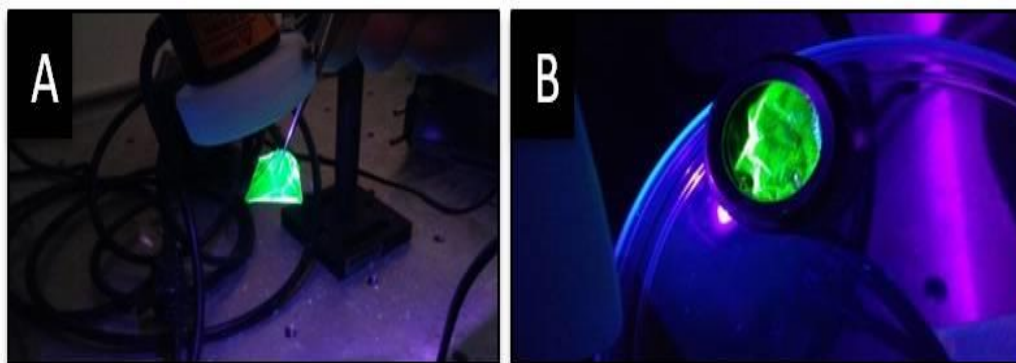


Figura 36. A) Película de PVA-QD-TGA feita com 2 mL PVA-QDs-TGA sem tratamento térmico vista sobre LED 365 nm, B) – Película em suporte para sólidos de fluorímetro Perkin Elmer LS45.

A amostra foi posta em suporte para sólidos (Figura 36B). Os espectros foram obtidos em espectrofluorímetro com fonte de excitação de 320 nm. Um filtro atenuador se fez necessário, deixando passar somente 10% da emissão, para não saturar o detector como mostra a Figura 37. A supressão da intensidade de fotoluminescência da película de PVA-QDs-TGA sem tratamento térmico foi acompanhada ao longo de 15 dias apresentando um decaimento na intensidade de 46.9% e um deslocamento para o vermelho de 3 nm (535-538). A supressão da intensidade de fotoluminescência pode estar relacionada à oxidação da superfície com o oxigênio da atmosfera ambiente.

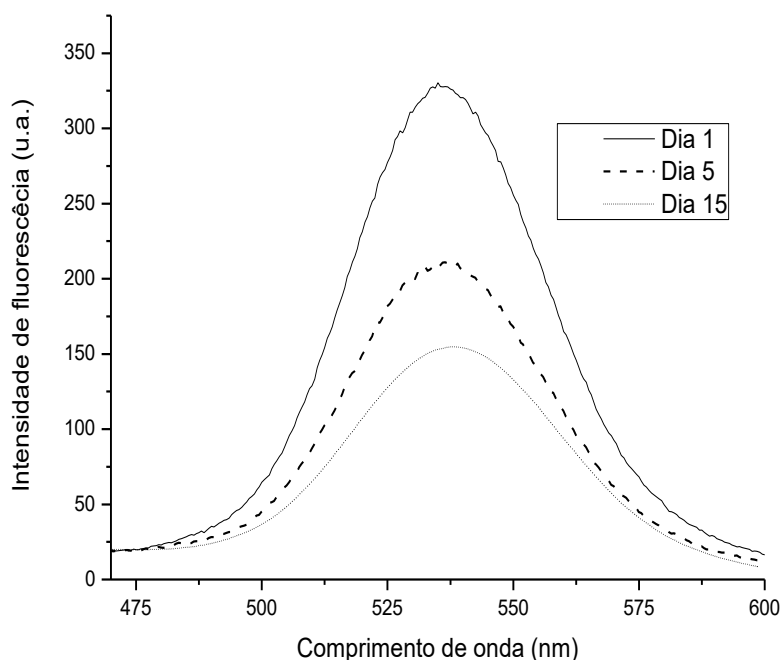


Figura 37. Est de estabilidade ao longo do tempo de 15 dias da película QDs-PVA com 2 mL depositado sobre placa de petri e curada sem tratamento térmico. Utilizado filtro atenuador deixando passar 10% da intensidade.

A solubilidade das películas de PVA-QDs-TGA sintetizadas e secas sem tratamento térmico foram analisadas após 24 horas imersas em diferentes solventes orgânicos (tolueno, etanol, DMSO, acetona, acetato de etila, álcool isopropílico, clorofórmio e tricloreto de etileno). A solubilização imediata da película foi observada em etanol e DMSO, nos demais solventes houve pouca ou nenhuma solubilização. Este teste nos permite considerar a possibilidade de utilizar os filmes luminescentes como sonda em solventes orgânicos, pois há impossibilidade de utilizar o filme de PVA em solvente hidrofílico devido à sua total dissolução em água.

3.8. PVA-QDs-TGA por Spin-Coating sobre lâmina de vidro

A formação de filmes finos com a espessura controlada para biosensores é algo que desperta grande interesse, por esse motivo foi testado a formação de filmes finos de compósitos de PVA-QDs-TGA sobre substratos de vidros através da técnica de *spin-coating*. A deposição ocorreu em 3 etapas: (i) preparo do

compósito PVA-QDs-TGA, (ii) limpeza do substrato de vidro e (iii) deposição por *spin coating* (como descrito no item 2.4.7.5.).

Os espectros dos compósitos de PVA-QDs-TGA utilizados para formação dos filmes foram obtidos por espectrofluorímetro (Setup C) com luz monocromática de excitação a 365 nm (Figura 38). Observou-se uma variação dos comprimentos de onda das amostras 1 - 3 de 550 - 542 nm e das amostras 4 - 6 de 551 - 542 nm, resumidos na Tabela 6. Observa-se uma tendência do aumento de FWHM e um deslocamento para o vermelho com a diminuição da concentração de QDs na matriz do PVA, tendência observada nos compósitos preparados tanto com 54 mg como com 108 mg de PVA, fator esse que deve estar associado à interação matriz polimérica/QDs (LI *et al.*, 2010; OHM e OBER, 2013; SHARMA e TRIPATHI, 2013).

Tabela 6. FWHM e comprimento de onda dos compósitos de PVA-QDs-TGA.

Amostra (Compósito)	PVA (mg)	QDs-TGA (mL)	Água (mL)	FWHM (nm)	Emissão (nm)
1	54	0,200	1,800	63	550
2	54	0,400	1,600	50	541
3	54	0,800	1,200	52	542
4	108	0,200	1,800	57	551
5	108	0,400	1,600	55	546
6	108	0,800	1,200	51	542

Os compósitos utilizados para o teste de formação de filmes finos por técnica *spin coating* correspondem aos compósitos 3 e 6 da Tabela 6, por obterem maior viscosidade, maior concentração de QDs na matriz e menores valores de FWHM (52 e 51 nm).

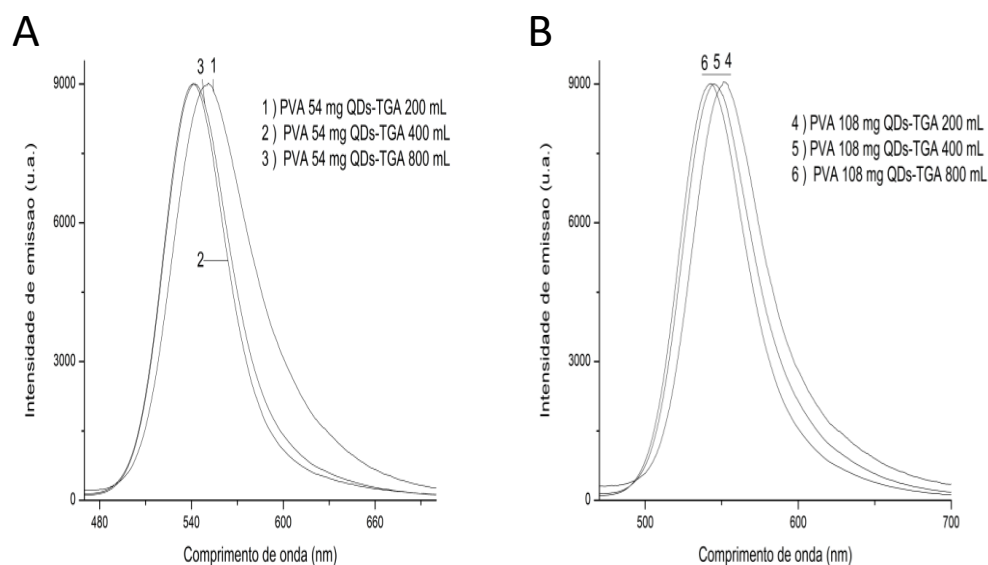


Figura 38. Espectro de emissão normalizado dos compósitos PVA-QDs-TGA em diferentes razões (p/v) PVA/QDs-TGA.

As lâminas limpas foram posicionadas no equipamento de *spin coating* e sobre o centro da lâmina foram depositados 0,10 mL de compósito PVA-QDs-TGA. Variou-se a velocidade de rotação em 5000, 600 e 7000 rpm e os tempos fixados em 30 e 60 segundos, conforme a Tabela 7. Os filmes depositados por *spin coating* foram riscados com bisturi para obter uma linha média e caracterizados por perfilometro mecânico da Veeco, modelo DCKTAC 150, com comprimento varrido de 2000 μm , velocidade de varredura de 6,66 $\mu\text{m/s}$. A rugosidade média (R_a) é usualmente analisada em duas dimensões e a medida é representada pela média das alturas dos picos e dos vales em relação a uma linha média. Foram realizadas 3 medidas na superfície de cada lâmina e feito o valor médio.

Tabela 7. Perfilometria dos filmes formados por deposição em *spin coating* utilizando o compósito 3 e 6 (PVA-QD-TGA) variando o tempo e a velocidade de rotação. * lâminas hidroxiladas em plasma de oxigênio.

Amostra (Lâmina)	rpm	T (s)	Espessura (nm)
Compósito 3 (54 mg de PVA – 800 µLQDs-TGA - 1,2 mL água)			
A	5000	30	79.3
B	6000	30	79.8
C	7000	30	58.7
D	7000	60	58.5
E*	7000	30	158.9
Compósito 6 (108 mg de PVA – 800 µLQDs-TGA - 1,2 mL água)			
F	5000	30	309.8
G	6000	30	263.4
H	7000	30	520.7
I	7000	60	267.2
J*	7000	30	208.2

Os filmes produzidos com a amostra 3 (54 mg de PVA – 800 µL QDs-TGA - 1,2 mL água) apresentaram espessuras mais finas em relação aos filmes produzidos com a amostra 6 (108 mg de PVA – 800 µL QDs-TGA - 1,2 mL água). O filme produzido com lâmina hidroxilada (E*) obteve maior espessura comparada ao filme produzido com lâmina não hidroxilada (C). Os melhores parâmetros para obtenção de filmes finos foram obtidos a partir de uma dispersão de 54 mg de PVA – 800 µL QDs-TGA - 1,2 mL água depositados sobre lâminas limpa, não hidroxilada, por técnica de *spin coating* a 7000 rpm e 30 segundos. Foi possível obter filmes de 58.7 nm.

3.9.

Caracterização da superfície dos substratos de vidro para silanização e criação de filme de nanopartículas

3.9.1.

Limpeza dos vidros e hidroxilação dos vidros

A preparação adequada dos substratos de vidro é de fundamental importância para a eficiência da sua subsequente funcionalização. A limpeza constitui de um procedimento para remoção de particulados ou quaisquer impurezas na superfície dos vidros que afetam a sua funcionalização. O método de limpeza de vidro por solução piranha é um método eficaz, e bastante utilizado. Além de remover a matéria orgânica, a solução piranha hidroxila a superfície do vidro. Esse método tem alguns pontos críticos, tais como: a manipulação da solução que requer bastante cuidado, pois é uma solução extremamente exotérmica e oxidante, e por ser um forte agente oxidante pode deformar a superfície do vidro causando rugosidades indesejáveis. Tais rugosidades podem comprometer a uniformidade dos filmes. Nesse contexto foi proposto um método de limpeza por solventes orgânicos baseado no método de Hiroki e colaboradores (ver item 2.4.8.1) e hidroxilação por plasma de oxigênio (ver item 2.4.8.2.) em substituição ao processo de limpeza e hidroxilação por solução piranha.

A hidroxilação por plasma de oxigênio é realizada através do uso de um plasma energético criado a partir de espécies gasosas, sendo um método eficaz, seguro e econômico (MATIN *et al.*, 2016). A técnica do plasma geralmente é utilizada para inserir grupos funcionais aos substratos fazendo com que as suas superfícies sejam mais reativas em respeito à condição original (SLOW *et al.*, 2006). A hidroxilação consiste na presença de grupos (-OH) na superfície dos substratos que servem como locais de ligação para os silanos a serem depositados.

O ângulo de contato (θ) (Figura 39) é uma das maneiras de estudar a hidrofobicidade ou a hidrofiliabilidade da superfície de um material devido a interação entre as fases. Sobre a superfície plana do material é depositado uma gota de um líquido e medido o ângulo de contato (θ) que é formado pela interface líquido/sólido e tangente à interface vapor/líquido (LAZGHAB *et al.*, 2005; LUZ *et al.*, 2008)



Figura 39. Ângulo de contato (θ) formado pela interface vapor/líquido e líquido/sólido/.

A superfície após a hidroxilação em plasma adquiriu caráter hidrofílico. O ângulo de contato foi analisado antes e depois da hidroxilação em plasma de oxigênio em diferentes tempos, 1 - 4 minutos, proporcionando um estudo para avaliar a hidroxilação em função do tempo (Tabela 8).

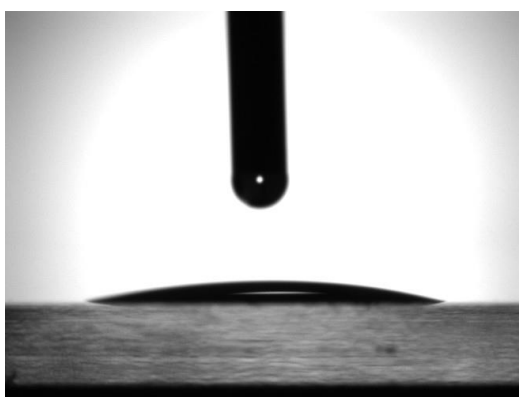


Figura 40. Teste de molhabilidade após limpeza da lâmina de vidro segundo o método 2 de limpeza (solvente orgânicos). A média do ângulo de contato é 18.2°.

Os dados obtidos apontam que o tempo mais adequado para a exposição em plasma é de 3 minutos, já que neste tempo obteve-se o menor ângulo de contato após limpeza (Tabela 8 e Figura 40), indicando que, pela sua alta hidrofiliicidade, a superfície foi hidroxilada com maior sucesso, concordando com os resultados mencionados por Martin *et al.* (2016).

Tabela 8. Teste de molhabilidade em vidro hidroxilados sem plasma cleaner: em diferentes tempos.

Tempo em plasma	Ângulo de contato (graus)
0 min	18,2°
1 min	8,8°
2 min	6,3°
3 min	4,9°
4 min	10.0°

Alguns fatores podem influenciar na eficiência da hidroxilação. Os vidros podem ser postos diretamente na câmara do equipamento de plasma cleaner ou em um suporte para lâminas. Nesse sentido foi avaliado o efeito do uso de suporte para lâminas no processo de hidroxilação. Foi utilizado um suporte de Teflon que permite de manter as lâminas em posição vertical com a exposição das duas faces de vidro. Como o plasma também tem função de limpeza (HIROKI *et al.*, 2000; MATIN *et al.*, 2016), é interessante garantir que as duas faces da lâmina estejam limpas. Outro fator que pode influenciar a hidrofobicidade ou a hidrofiliidade é a exposição da lâmina aos contaminantes voláteis do ar após a hidroxilação.

Um teste foi realizado para avaliar a influência desses dois fatores. 3 lâminas foram hidroxiladas com suporte e 3 sem suporte, por 2 minutos de vácuo e 3 minutos de plasma. Após a hidroxilação todas as lâminas foram expostas ao ar (atmosfera ambiente) por 3 horas. Foi observado que o ângulo de contato aumentou com a utilização do suporte de teflon, comparando os vidros A e B da Tabela 9.

Tabela 9. Medição do ângulo de contato para os seguintes vidros: A) sem suporte após 3 horas da hidroxilação; B) com suporte após 3 horas da hidroxilação.

Laminas	1	2	3
Vidros A- sem suporte de teflon	9.4°	8.9°	7.7°
Vidros B- com suporte de teflon	33.0°	24.2°	23.5°

Vidros recém hidroxilados em 3 minutos de plasma apresentaram ângulo de contato em torno de 4,9° (Tabela 8), evidenciando que a exposição ao ar por 3 horas diminui a hidrofilicidade como mostrado nos vidros A da Tabela 9. Provavelmente esse aumento foi devido a interação da lâmina com os contaminantes orgânicos voláteis no ar, de acordo com Yuan e Lee (2013) esses contaminantes geralmente aumentam a hidrofobicidade superficial.

3.9.2.

Silanização dos vidros com APTS, AEAPTS e MPTS.

O processo de silanização visa a ancoragem dos nanomateriais (QDs ou nanopartículas de Ag) à superfície do vidro. Os metoxisilanos utilizados (APTS, AEAPTS ou MPTS) contêm diferentes grupos funcionais, tais quais, $-NH_2$, $-NHCH_2CH_2-NH_2$ e $-SH$, respectivamente. Cada grupo metoxisilano dos precursores utilizados reage com os grupos hidroxila ($-OH$) presentes na superfície do vidro limpo e hidroxilado (FLINK *et al.*, 2001; VISTAS *et al.*, 2013) liberando os grupos funcionais que se necessitam sob a superfície para sucessivas reações de interesse. O protocolo descrito de silanização método 1 (item 2.4.8.3.) foi estabelecido após um estudo do tempo e concentração ideal para sinalização da superfície de vidro com 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTS), baseados na metodologia utilizada por Pallavicini (2009). Esse protocolo de silanização das lâminas de vidro com MPTS 2,5% em tolueno obteve ângulo de contato em torno de 61,2° e foi utilizado para a síntese de filme de nanopartículas de prata.

Em um segundo estudo foi testada a silanização de APTS 2,5% em tolueno com diferentes tempos de contato com os vidros hidroxilados, de 2 e 4 horas. Os ângulos de contato de uma gota de água na superfície de vidro após a hidroxilação e após sinalização foram medidos (Tabela 10). O estudo mostrou que o método de silanização com APTS 2,5% em tolueno em 2 horas mostrou-se mais eficiente em relação ao de 4 horas, por apresentar maior ângulo de contato.

Tabela 10. Silanização com APTS 2,5% em tolueno em diferentes tempos.

Tempo de silanização em APTS 2,5%.	Ângulo de contato em graus (°)			
2 horas	60.5	60.9	64.7	65.1
4 horas	48.1	50.3	56.7	53.6



Figura 41. Ângulo de contato, teste de molhabilidade após silanização com APTS 2,5% em tolueno por 2 horas.

A fim de minimizar a toxicidade do processo de silanização, substituiu-se o tolueno por etanol como descrito no método de silanização 2 (item 2.4.8.3.). O processo de silanização em etanol não utiliza aquecimento sendo um processo mais lento (de 6 horas) (WANG, Y. *et al.*, 2006; VAKARELSKI *et al.*, 2007). Os vidros silanizados com APTS 2,5% em etanol apresentaram ângulo de contato menor em relação ao tolueno, em torno de 34°. Após 24 horas exposto à atmosfera ambiente o ângulo de contato passou a 63°, e após 48 horas a 77°. O ângulo de contato aumenta ao longo do tempo devido os contaminantes orgânicos voláteis do ar já mencionados. O ângulo de contato das lâminas silanizadas com AEPTS 2,5% em etanol não pode ser mensurado devido a manutenção do Goinômetro. A observação da hidrofobicidade após silanização com AEPTS 2,5% em etanol se fez de maneira visual como demonstrado na Figura 42.



Figura 42. Gotas de água sobre lâminas de vidro silanizadas com AEAPT 2,5% em etanol por 6 horas.

3.10. Funcionalização das lâminas com QDs-TGA

O presente trabalho avaliou a imobilização química dos QDs de CdTe na superfície de lâminas de vidro. Foram testados quatro procedimentos: (i) por ligação eletrostática, (ii) utilizando reagente EDC e NHS, (iii) utilizando somente EDC e (iv) modificando a superfície dos QDs-TGA com AEAPTS ou APTS para depois fixar à superfície do vidro hidroxilado como procedimentos descritos no item 2.4.8.

O primeiro procedimento foi por interação eletrostática entre o grupo amino terminal presente no vidro com o grupo carboxilato do TGA disposto na superfície dos QDs. Os vidros silanizados com AEAPTS foram mergulhados em uma dispersão de QDs-TGA concentrada durante 12 horas. Após imersão as lâminas foram levadas com jatos de água e levadas ao ultrassom. A interação eletrostática não foi suficiente para imobilização, ocorrendo lixiviação dos *quantum dots* pela água.

3.10.1.

Funcionalização das lâminas silanizadas-AEAPTS com QDs-TGA-EDC-NHS

O segundo procedimento para imobilização foi através de uma reação de amidação pelos reagentes EDC e NHS (SEHGAL e VIJAY, 1994; NAKAJIMA e IKADA, 1995; MAGALHÃES, 2014; AHMAD *et al.*, 2015). No preparo da suspensão EDC-NHS-QDs-TGA houve formação de precipitados, quando adicionava o NHS à solução, provavelmente por subprodutos e efeito do pH 9,7. Geralmente as reações utilizando EDC e NHS são realizadas em pH próximo ao neutro. A mudança do pH poderia favorecer a reação, porém ocasionar supressão da intensidade dos *quantum dots* pelo efeito do pH (Sehgal e Vijay, 1994; Khan *et al.*, 2014). A lâmina silanizada com AEAPTS 2% em etanol imersa nesta suspensão apresentou pontos luminescentes não uniformes.

3.10.2.

Funcionalização das lâminas silanizadas-AEAPTS com QD-TGA-EDC

No terceiro procedimento o NHS foi retirado da síntese procedendo somente com EDC (NAKAJIMA e IKADA, 1995; WANG, Y. *et al.*, 2016) como descrito no item 3.10.2. A suspensão não apresentou precipitados. A suspensão com a lâmina silanizada permaneceu em agitação por 10 minutos. A lâmina silanizada com AEAPTS 2,5% em etanol apresentou fotoluminescência sob LED 365 nm após 10 min de imersão conforme mostra a Figura 43.

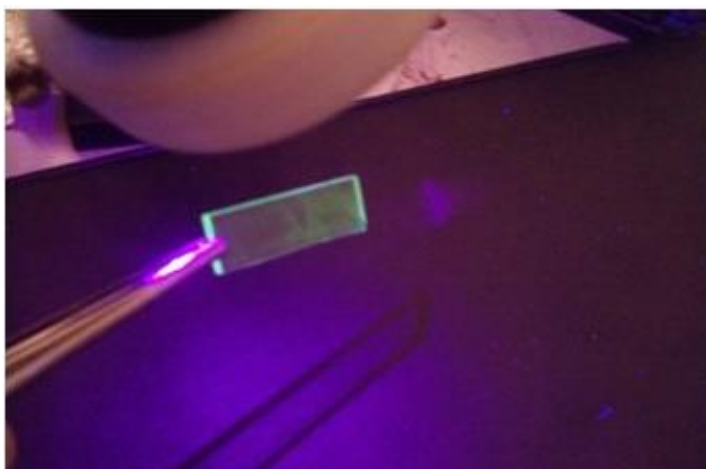


Figura 43. Lâmina de vidro silanizada com AEAPTS 2,5% e imersa em suspensão de QD-TGA-EDC sob LED 365nm.

Com o propósito de aumentar a intensidade do filme, um novo teste foi realizado variando o tempo de imersão das lâminas silanizadas QDs-TGA-EDC, variando em 10, 20, 40 e 60 minutos como mostra a Tabela 11. Os resultados foram obtidos em espectrofluorímetro, com fonte de excitação de 365 nm. A prototipagem de um suporte para lâmina dentro da cubeta se fez necessária para manter a lâmina na mesma posição ao longo da medição. O suporte foi fabricado em poliacidolático (PLA) por impressora 3D, em colaboração com o Departamento de Design da PUC-Rio, conforme a Figura 15. O suporte é utilizado para fixar a lâmina dentro da cubeta de quartzo de maneira que o filme formado fique alinhando a 90° do feixe de luz de excitação da fonte e a 0° em respeito ao detector.

Tabela 11. Intensidade de emissão dos filmes em lâminas silanizadas com AEPTS ao longo do tempo de imersão 10, 20, 40 e 60 minutos em suspensão de QD-TGA-EDC.

Lâmina	Tempo (min)	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm)	Intensidade (u.a.)
1	10	535	800
2	20	538	885
3	40	537	1182
4	60	535	1137

Os resultados mostraram que o tempo de imersão das lâminas em suspensão QDs-TGA-EDC influencia na intensidade de fotoluminescência. Houve um aumento da intensidade de emissão de fotoluminescência das lâminas funcionalizadas entre 10 e 60 minutos de imersão de 800 a 1137 u.a. As lâminas irradiadas para testes de estabilidade apresentaram um halo castanho, exatamente no ponto que estavam sendo irradiadas, como mostra a Figura 44. Provavelmente, ocorreu uma reação de oxidação com o oxigênio do ar ou uma fotoxidação por excitação da luz UV (Derfus *et al.*, 2004; Tsay e Michalek, 2005), levando a uma supressão da fotoluminescência, impossibilitando alguns testes.

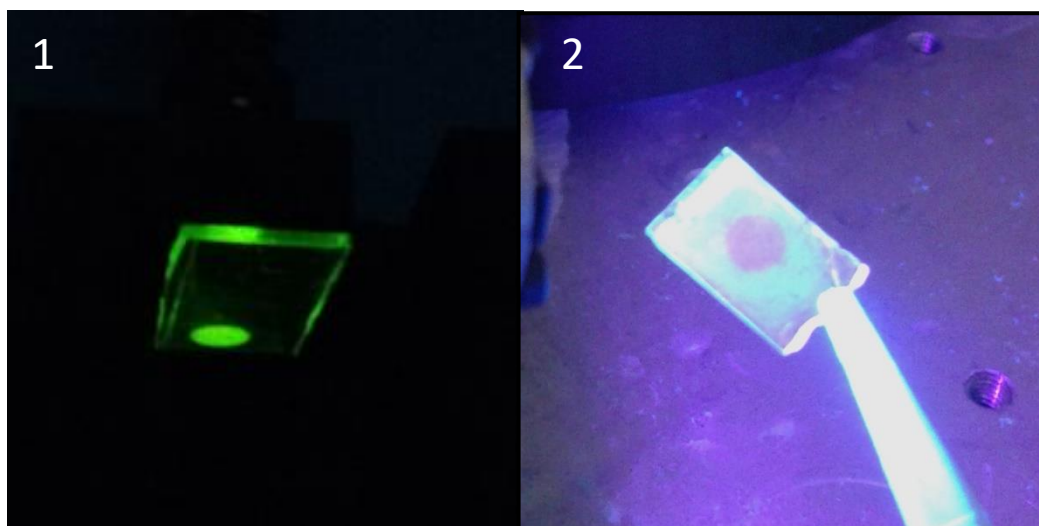


Figura 44. Lâmina funcionalizada com CdTe-TGA por EDC. 1) lâmina irradiada em de LED 365 nm em setup C 2) lâmina sob LED 365 nm, UV-modelo M405L2

3.10.3.

Modificação da superfície dos QDs-TGA com APTS/AEAPTS para funcionalização das lâminas de vidro limpas e hidroxiladas

O quarto procedimento para formação de filmes luminescentes consistiu na modificação da superfície de QDs-TGA com APTS ou AEAPTS e posterior ligação ao vidro hidroxilado. Os grupos carboxilatos terminais dos QDs podem reagir com as aminas primárias APTS e AEAPTS e formar amidas. Os reagentes EDC e NHS foram utilizados para este processo (XING *et al.*, 2007; SUSUMU *et al.*, 2009; GUI *et al.*, 2013; MAGALHÃES, 2014).

A suspensão de QDs-TGA-AEAPTS e QDs-TGA-AEAPTS apresentou formação de precipitado. Ao adicionar APTS e AEAPTS nas soluções de QDs-TGA-EDC-NHS houve formação de precipitados nos primeiros 5 minutos de agitação da síntese. A suspensão apresentou fotoluminescência sob excitação com uma fonte LED a 365 nm a olho nu. A suspensão de QDs-TGA-APTS ficou ligeiramente amarela enquanto a suspensão com QDs-TGA-AEPTS manteve-se verde.

Foram acrescentados 2 mL de água ultrapura para melhor a dispersão das partículas na suspensão de QDs-TGA-AEAPTS e QDs-TGA-APTS. 2 lâminas de 1,0 x 2,5 cm foram limpas conforme método de limpeza 2 (solventes orgânico, item 2.4.8.1.) e hidroxiladas em plasma cleaner (2.4.8.2.), porém não silanizadas. Cada lâmina foi imersa em um tubo de ensaio graduado, um contendo QDs-TGA-AEAPTS e o outro QDs-TGA-APTS esperando-se obter a reação conforme o

esquema da Figura 45. As suspensões contendo as lâminas ficaram em agitação magnética a 600 rpm por 6 horas, afim de que os grupos metoxisilanos dos QDs-TGA modificados reagissem com os grupos OH⁻ ativos da superfície do vidro. Os vidros foram retirados e limpos com jatos de água ultrapura, e posteriormente levados ao ultrassom por 1 minutos com água ultrapura, finalmente secos em correntes de N₂. Sob fonte de LED 365 nm, foram observados pontos luminescentes isolados de modo não uniforme sob LED 365 nm,

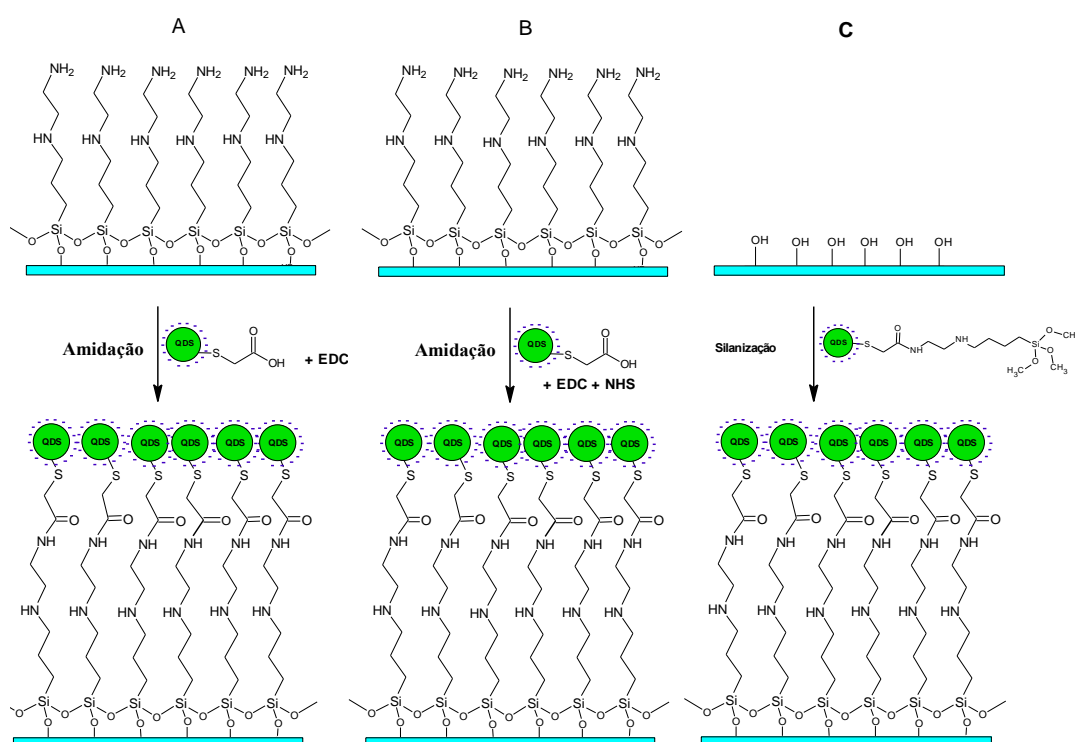


Figura 45. Esquema dos métodos testados para formação de filmes A) Funcionalização da lâmina de vidro silanizada-AEAPTS e posterior imersão em suspensão de QD-TGA-EDC com Formação de filme. B) Funcionalização da lâmina de vidro silanizada-AEAPTS imersão em suspensão de QD-TGA-EDC-NHS sem formação de filme. C) Funcionalização da lâmina de vidro hidroxilada por plasma cleaner, imersa em suspensão de QD-TGA-AEAPTS sem formação de filme.

As suspensões de QDs-TGA-APTS e QDs-TGA-AEAPTS foram sintetizadas novamente com o intuito de transferi-las para fases orgânicas por (i) extração líquido-líquido ou por (ii) centrifugação e ressolubilização. Os Solventes testados foram: (ciclohexano, tolueno, clorofórmio, DMSO, acetato de etila,

tricloroetileno, diclorometano, tetracloreto de etileno). Esses QDs-modificados poderiam posteriormente ser misturados a matrizes poliméricas insolúveis em água para filmes finos.

As amostras de QDs-TGA-APTS e QDs-TGA-AEAPTS foram tratadas da mesma maneira. Em um vial de 5 mL adicionou-se 1 mL de amostra e 0,500 mL de solvente, homogeneizado por 2 minutos e adicionado mais 2,5 mL de solvente. Em seguida as fases foram separadas por decantação. Porém em nenhum dos solventes apresentou fotoluminescência sob LED 365 nm. Os QDs-TGA-APTS e QDs-TGA-AEPTS foram centrifugados a 2000 rpm por 5 min. O sobrenadante desprezado e o precipitado lavado com água ultrapura, repetindo o processo 3 vezes. Os precipitados foram secos em estufa a 60°C e observados sob LED 365 nm, o precipitado de QDs-TGA-APTS estava avermelhado e o precipitado com AEAPTS emitindo em verde. Os precipitados foram misturados com clorofórmio, mas não se solubilizaram. Repetiu-se o processo de centrifugação e secagem e testado a solubilização com os outros solventes orgânicos, porém não houve solubilização. Esses testes foram preliminares requerendo caracterização da superfície modificada dos QDs-TGA com APTS e AEAPTS.

4

Resultados e discussão – Parte II

Neste capítulo são apresentados os resultados referentes à síntese em fluxo e caracterização de NPsAg com os ligantes citrato e tartarato, análise em fluxo contínuo, Estudo do efeito da variação volumétrica e efeito da diluição das NPs-Ag-citrato em fluxo contínuo, interações das NPsAg-citrato com fármacos e filmes de NPsAg-tartarato.

4.1.

Síntese e caracterização das NPsAg-ligante

A síntese de NPsAg-ligante usando o método de redução da prata por citrato é conhecido como o método de Turkevich (TURKEVICH *et al.*, 1951; PILLAI e KAMAT, 2004; FROST *et al.*, 2017), onde o AgNO_3 fornece íons Ag^+ que são reduzidos pelo citrato. O citrato trissódico pode ser utilizado como agente redutor ou estabilizante, revestindo as partículas através dos grupos carboxilato. Esse revestimento pode limitar o crescimento das NPs e agregação com partículas vizinhas. O citrato é um agente redutor fraco contribuindo para a formação de nanopartículas de prata relativamente grandes (>50 nm), tendo uma distribuição de tamanhos da amostra mais larga (DONG *et al.*, 2009; AGNIHOTRI *et al.*, 2014). A produção de NPs < 10 nm pode ser obtida com um excesso de agente redutor forte, neste caso, o borohidreto de sódio (NaBH_4), devido ao processo de nucleação rápida dos íons Ag^+ . O método de coredução proposto por Dong et al (2009) utiliza dois reagentes: borohidreto de sódio e citrato trissódico. Isso proporciona um maior controle e uniformidade na fase de nucleação obtendo partículas esféricas entre 10 e 50 nm, além da síntese ser feita em temperatura ambiente, o que corrobora para química verde. No presente estudo foi avaliado a síntese de citrato trissódico e tartarato de sódio e potássio como agente estabilizante principal e borohidreto de sódio como agente redutor primário (AGNIHOTRI *et al.*, 2014). A escolha desses estabilizantes foi estratégica, além dos fatores mencionados sobre a contribuição no tamanho e forma das NPs, são moléculas relativamente pequenas, com pouco impedimento estérico. Outro fator importante é a presença de mais de um grupo carboxílico disponível nesse tipo de molécula que pode se adsorver na superfície metálica das NPs deixando livre

externamente grupos funcionais carboxilato ($-\text{COO}^-$) capazes de se complexar as moléculas biológicas de interesse (GU *et al.*, 2006).

As nanopartículas de prata estabilizadas por ligantes orgânicos (NPsAg-ligante) foram sintetizadas por um método similar ao método proposto por Baber e colaboradores (2015), com algumas modificações importantes. Eles utilizaram um sistema em fluxo contínuo com bombas-seringas e um misturador em T coaxial, utilizando citrato trissódico e borohidreto de sódio como agente estabilizante e agente redutor, respectivamente. Baber e colaboradores (2005) utilizaram uma solução de Ag^+ /citrato na bomba-seringa A, e NaBH_4 na bomba-seringa B, variando a taxa de vazão em $1 - 14 \text{ mL min}^{-1}$ obtendo tamanhos de NPs, respectivamente entre $3,1 - 5,4 \text{ nm}$. Eles demonstraram que os menores tempos de residência influenciam em menos consumo de nitrato de prata, o que resulta em formação de NPs maiores. Nesse contexto foi adotado taxas de vazão mais baixas ($0,25 \text{ mol L}^{-1}$) e algumas adaptações de concentração dos ligantes. No presente trabalho foi utilizado um sistema de bombas-seringas, misturador em T e um reator tubular em formato de *coil* de 90 cm de comprimento, detalhado no item 2.5.1., Figura 21. Na síntese utilizou-se citrato de trissódico ou tartarato de sódio e potássio como agente estabilizante e borohidreto de sódio como agente redutor forte, tudo em temperatura ambiente.

Os precursores de prata ($\text{AgNO}_3 - 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foram introduzidos na bomba-seringa A, e os precursores do ligante (citrato trissódico, ou tartarato de sódio e potássio $0,5$ ou $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) na bomba-seringa B conforme Figura 21. As soluções foram injetadas ao mesmo tempo, ambas com uma vazão volumétrica de $0,25 \text{ mL min}^{-1}$, sendo dispensadas em um micromisturador T. Inicialmente a complexação do ligante com Ag^+ ocorreu no micromisturador T, prosseguindo pelo microrreator tubular (diâmetro interno = $250 \mu\text{m}$ e comprimento = 2 cm) para aumentar a eficiência da mistura. 10 mL do complexo de Ag^+ /citrato foi dispensado por gotejamento em vial contendo 5 mL de NaBH_4 , onde ocorreu a redução em temperatura ambiente e sobre agitação a 500 rpm . As proporções de Ag^+ /Ligante/ NaBH_4 foram de $1:1:1,25$ e $1:0,5:1,25$.

As dispersões sintetizadas neste estudo apresentaram aspecto amarelo brilhante sob a luz visível. As dispersões de NPsAg-citrato (1:1) tiveram pH em torno de $8,30$, e após diluição com água ultrapura (1:4) o pH caiu para $7,43$. A carga superficial das NPs foi medida por potencial zeta obtendo uma média de -40 mV confirmando a modificação da superfície das nanopartículas pela presença de íons citrato, carregados negativamente. Obteve-se nanopartículas de prata de tamanho médio de $12,5 \text{ nm}$ determinadas por DLS.

As NPs sintetizadas com concentrações de citrato $0,5$ e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ na seguinte razão molar de $\text{Ag}^+/\text{citrato}$, $1:0,5$ e $1:1$, apresentaram valores de FWHM de 77 e 80 nm respectivamente, demonstrando que a concentração de citrato não influenciou significativamente na distribuição do tamanho das amostras. Essa pequena diferença no tamanho da amostra pode estar relacionada ao fato de ter menos citrato, tendo uma ação maior no borohidreto de sódio. Ambas as amostras apresentaram banda de ressonância plasmônica com comprimento de onda máximo em 404 nm (Figura 46). As NPs Ag sintetizadas na razão molar de $\text{Ag}^+/\text{citrato}$ $1:05$ apresentaram maior intensidade $0,68 \text{ (u.a.)}$ em comparação às NPs sintetizadas $1:1$ em $0,55 \text{ (u.a.)}$.

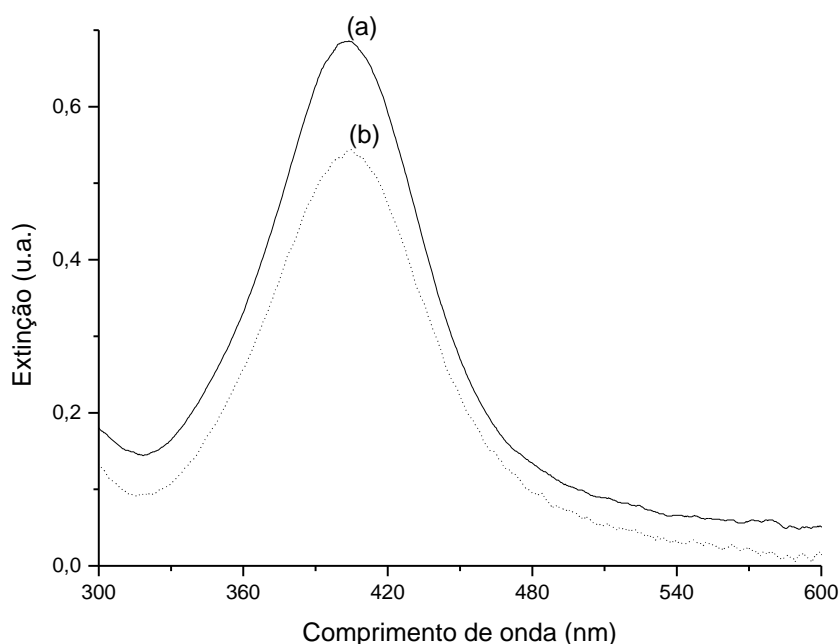


Figura 46. Perfis espectrais de ressonância plasmônica medidos das dispersões de NPs Ag -citrato sintetizados em diferentes razões molares $\text{Ag}^+/\text{citrato}$ (a) $1:1$ e (b) $1:0,5$.

4.2. Análises em fluxo contínuo

A interação das NPs Ag -citrato com os aminoglicosídeos trissulfato de neomicina e dissulfato de canamicina foi avaliada em fluxo utilizando a configuração experimental descrita no setup-A. A interação foi monitorada em tempo real por espectroscopia UV-Vis com auxílio de uma cela de fluxo acoplada

a um fotômetro *Ocean Optics*. A concentração dos fármacos foi variada em função da taxa de vazão volumétrica, enquanto a taxa de fluxo das dispersões de NPsAg-citrato mantiveram-se fixas. As concentrações das soluções de partidas dos fármacos foram 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} mol L⁻¹. As dispersões de NPsAg-citrato sintetizadas com razão molar de Ag⁺/citrato 1:0,5 e 1:1 foram diluídas diluída 1:4 (v/v) com água ultrapura de maneira a obter um sinal de absorvância próximo a 0,6 u.a. No entanto, para avaliar a interação das NPsAg-citrato com os aminoglicosídeos foi necessário verificar dois parâmetros que poderiam influenciar na análise espectroscópica, e na estabilidade das NPs em fluxo: os efeitos da vazão volumétrica e da diluição das NPsAg-citrato.

4.3.

Efeito da vazão volumétrica em UV-vis das NPsAg-citrato em fluxo contínuo

A dispersão de trabalho (diluída a partir de NPsAg-citrato 1:1) foi injetada em diferentes taxas de vazão volumétrica (0,1 – 0,6 mL min⁻¹) no setup-A, a fim de avaliar a estabilidade das NPs mediante à variação da taxa de fluxo no sistema. Para esse estudo foi utilizado somente uma bomba-seringa que foi preenchida com 10 mL da dispersão em exame. Inicialmente, as dispersões em exames foram injetadas com uma taxa de fluxo de 0,10 mL min⁻¹, após estabilização do sinal, o que levou aproximadamente 2 min, a vazão foi aumentada gradativamente até 0,6 mL min⁻¹. O perfil espectral foi monitorado em tempo real com λ máximo em 404 nm, como mostrado da Figura 47. Não foi observado mudanças significativas com a variação da taxa de vazão, o que favorece a diminuição de erros na análise com os fármacos. O sinal manteve-se constante em diferentes vazões volumétrica. A variação da vazão poderia influenciar na mudança do comprimento de onda máximo, parâmetro esse, utilizado para identificar a interação da NPs com os fármacos. A redução do sinal, o deslocamento e a formação de uma nova banda poderiam ocorrer por influência da vazão em vez da interação com a canamicina e neomicina.

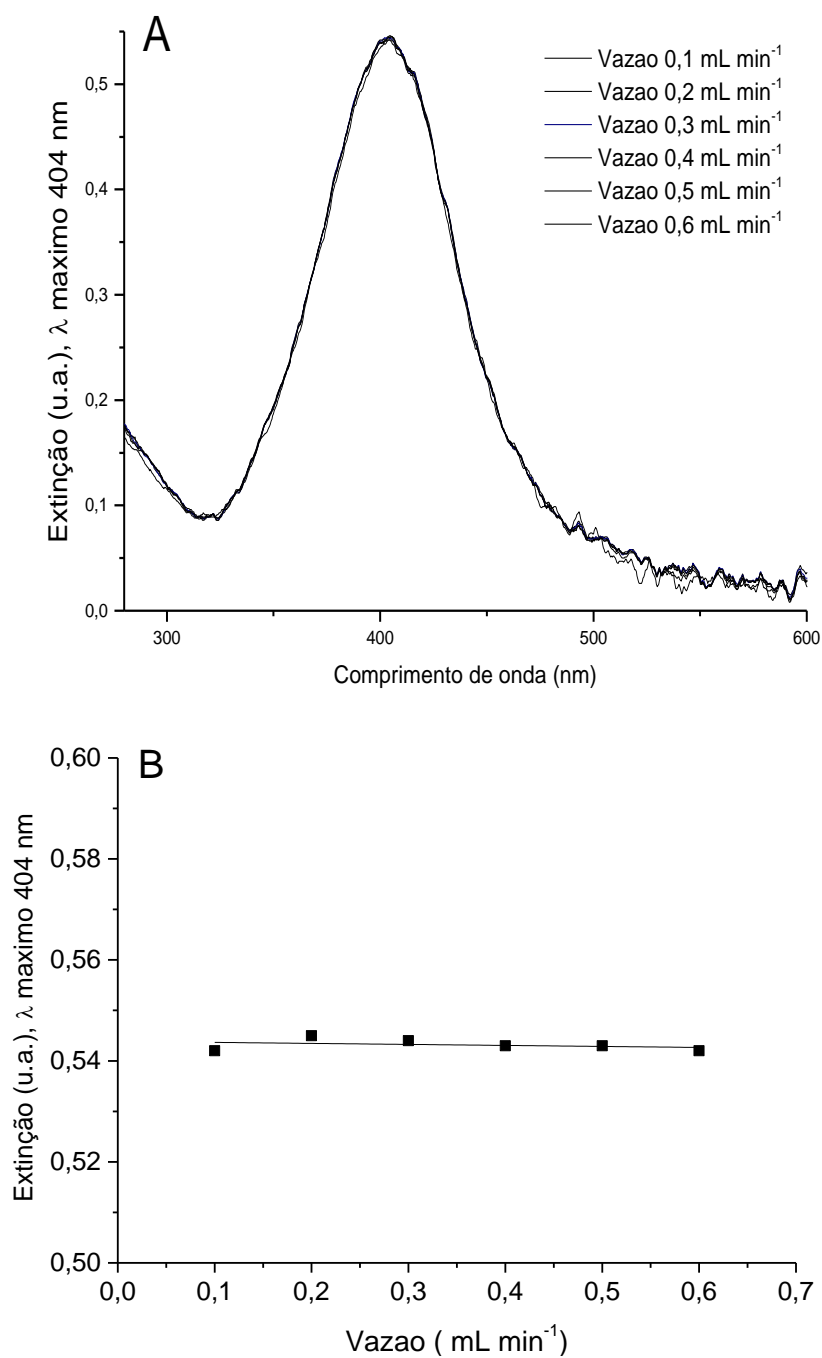


Figura 47. A) Perfil espectral de ressonância plasmônica NPsAg-citrato 1:1 diluída em água 1:4 (v/v) em diferentes taxas de vazão volumétrica de 0,1-0,6 mL min⁻¹; B) Linearização das taxas de vazões volumétricas em função da absorvância.

4.4.

Efeito da diluição das NPsAg-citrato 1:1 em UV-vis em fluxo contínuo

Na bomba-seringa A foi introduzida a dispersão de trabalho (diluída a partir de NPsAg-citrato 1:1) e na bomba-seringa B água ultrapura. A dispersão de trabalho foi injetada com uma taxa de fluxo fixa de $0,40 \text{ mL min}^{-1}$, primeiramente avaliou-se o sinal sem água, logo variou-se a taxa de fluxo da água de $0,10$ a $0,40 \text{ mL min}^{-1}$, como mostra a Figura 48.

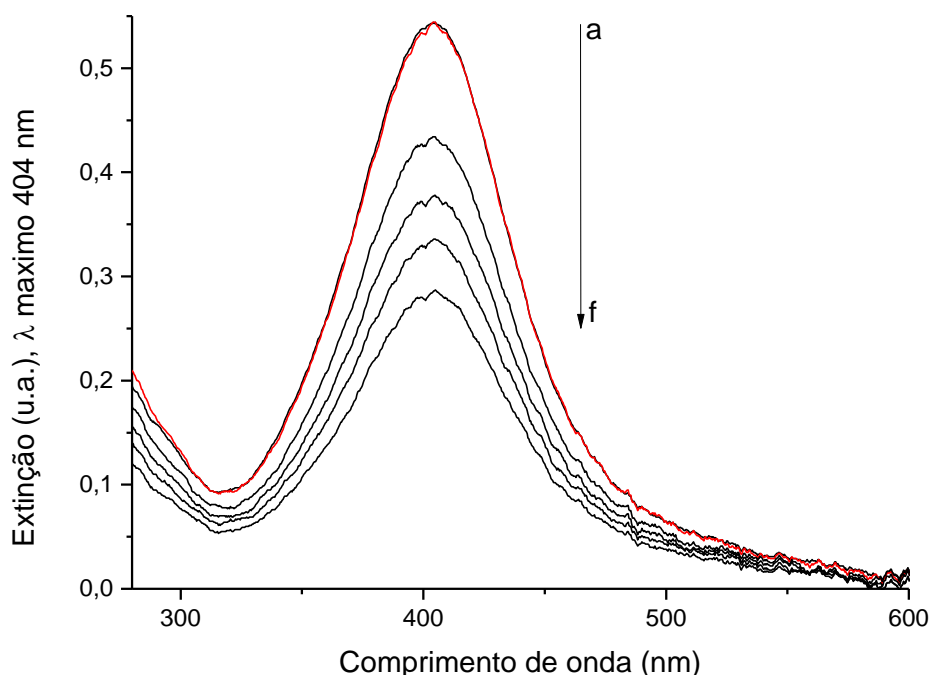


Figura 48. Espectro do efeito da diluição em fluxo das NPsAg-citrato-1:1 diluídas (1:4) na medida em que aumenta a vazão volumétrica da água a) vazão 0 mL L^{-1} ; b) linha em vermelha –retorno; c-f) vazão $0,10$ - $0,40 \text{ mL min}^{-1}$.

À medida que a vazão percorria na bomba-seringa B contendo água aumentava a intensidade da banda diminuía devido o efeito da diluição. Em f (Figura 48) a vazão percorria nas duas bombas-seringas se iguala, ou seja, $0,40 \text{ mL min}^{-1}$, esperando que a intensidade da banda seja a metade do valor inicial. A vazão percorria na bomba-seringa B contendo a água, foi parado e manteve-se somente a vazão da dispersão de trabalho ($0,40 \text{ mL min}^{-1}$), a intensidade da banda retornou ao início sem mudança no perfil espectral (linha vermelha da figura 48 Espectro b).

4.5.

Medição espectrofotométrica em UV-vis da interação das NPsAg-citrato em fluxo contínuo com fármaco

Na presente dissertação a neomicina e a canamicina (na forma de sultato) foram selecionadas como analitos de interesse para testar a sensibilidade de NPsAg metálica através da utilização de dispositivos microfluídico em fluxo contínuo. A neomicina e canamicina são aminoglicosídeos utilizados amplamente como antibióticos (APYARI *et al.*, 2013; ZHANG, X. *et al.*, 2013). O interesse em métodos para detecção de antibióticos vem crescendo cada vez mais devido à preocupação com o descarte indevido de seus resíduos e o uso abusivo de antibióticos pela pecuária contaminando os alimentos (CARVALHO e SANTOS, 2016; CHEN *et al.*, 2017). Esse tipo de molécula é considerado de natureza policatiônica. A interação entre as cargas dos aminoglicosídeos e as nanopartículas faz com que formem agregados, e isso pode ser detectado através de um deslocamento característico da banda LSPR dessas nanopartículas (MCKEATING *et al.*, 2016). O presente estudo explora a natureza policatiônica desses aminoglicosídeos com grupos aminas perante nanopartículas carregadas negativamente, neste caso, a carga negativa das NPsAg que provém do revestimento do citrato na forma de carboxilato. Alguns trabalhos ressaltam a alta sensibilidade do método colorimétrico para determinação da neomicina e canamicina utilizando nanopartículas de ouro (APYARI *et al.*, 2013; ZHANG, X. *et al.*, 2013; MIRANDA-ANDRADES *et al.*, 2017). No entanto, a utilização dos precursores de ouro torna o método mais caro. Neste sentido, a utilização da prata visa contribuir para um método mais acessível sem perder a alta sensibilidade.

A neomicina e a canamicina foram testadas com o mesmo procedimento. Primeiramente prepararam-se soluções de partida dos fármacos com concentrações de 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} mol L⁻¹. Testes individuais de cada solução de partida foram realizados introduzindo as soluções na bomba-seringa B.

Na bomba-seringa A foi introduzida a dispersão de trabalho (diluída a partir de NPsAg-citrato-1:1), e injetada com uma taxa de fluxo fixa de 0,40 mL min⁻¹. Na bomba-seringa B foi introduzido o fármaco e a taxa de fluxo foi variada (0,10 - 0,40 mL min⁻¹).

O fármaco ao ser injetado no sistema pela bomba B foi diluído devido à dispersão de trabalho das NPsAg-citrato provinda da bomba-seringa A. Dessa forma as concentrações finais do fármaco foram obtidas pela mistura automatizada do próprio sistema. O processo de mistura operado em fluxo contínuo com o auxílio de bomba seringa, um misturador em T e um microreator

tubular permite de eliminar e/o diminuir eventual erro operacional de diferentes operadores. A automação permite uma maior reprodutibilidade do processo independentemente do operador que executa a operação. A Tabela 12 mostra as concentrações finais dos fármacos.

Tabela 12. Taxa de fluxo das NPsAg-citrato 1:1, dos fármacos e concentrações finais dos fármacos a partir das concentrações de partida.

Vazão bomba A NPsAg-citrato (mL min ⁻¹)	Vazão bomba B contendo fármaco (mL min ⁻¹)	Concentração final do fármaco		
		a partir de 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	a partir de 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	a partir de 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹
0,40	0,0	0,0	0,0	0,0
0,40	0,1	0,20 × 10 ⁻⁶	0,20 × 10 ⁻⁷	0,20 × 10 ⁻⁸
0,40	0,2	0,33 × 10 ⁻⁶	0,33 × 10 ⁻⁷	0,33 × 10 ⁻⁸
0,40	0,3	0,43 × 10 ⁻⁶	0,43 × 10 ⁻⁷	0,43 × 10 ⁻⁸
0,40	0,4	0,50 × 10 ⁻⁶	0,50 × 10 ⁻⁷	0,50 × 10 ⁻⁸

4.5.1.

Interação das NPsAg-citrato1:1 com a neomicina

Inicialmente avaliou-se o sinal sem a presença do fármaco (trissulfato de neomicina), logo foi variada a taxa de fluxo da bomba-seringa B. O tempo de estabilização de cada espectro foi de aproximadamente 2 min. Os primeiros testes foram realizados com a concentração de partida neomicina: (i) 10⁻⁸ mol L⁻¹ (Figura 49), (ii) 10⁻⁷ mol L⁻¹ Figura 50 e (iii) 10⁻⁶ mol L⁻¹ Figura 51.

(i) Ao variar a vazão, e consequentemente a concentração de neomicina de 0,20 a 0,50 × 10⁻⁸ mol L⁻¹, partindo de uma solução de neomicina de 10⁻⁸ mol L⁻¹, a banda característica de NPsAg-citrato em 404 nm sofreu uma redução na intensidade de 0,56 a 0,29 u.a. (Figura 49 a – f.). A redução observada foi atribuída ao efeito da diluição provocada pela solução de neomicina inicial 10⁻⁸ mol L⁻¹ e não pela formação de agregados NPAg-citrato-neomicina. Este resultado não foi significativo para detecção de neomicina nestas concentrações.

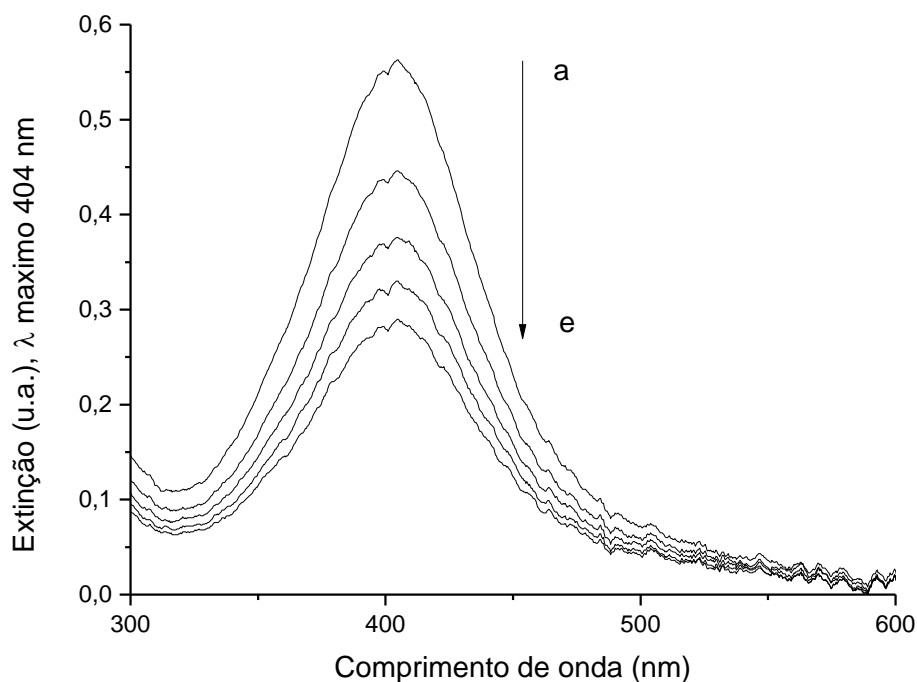


Figura 49. Espectros da interação das NPsAg-citrato-1:1 com neomicina $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min^{-1} , somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão $0,1 \text{ mL min}^{-1}$, neomicina $0,20 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ c) vazão $0,2 \text{ mL min}^{-1}$, neomicina $0,33 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$; d) vazão $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, neomicina $0,43 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$; e) vazão $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, neomicina $0,50 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

(ii) Ao variar a vazão, e consequentemente a concentração de neomicina de $0,20$ a $0,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, partindo de uma solução de neomicina de $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a banda característica de NPsAg-citrato em 404 nm teve o mesmo comportamento de redução observado no item (i). Este resultado também não foi significativo para detecção de neomicina nestas concentrações, (Figura 50).

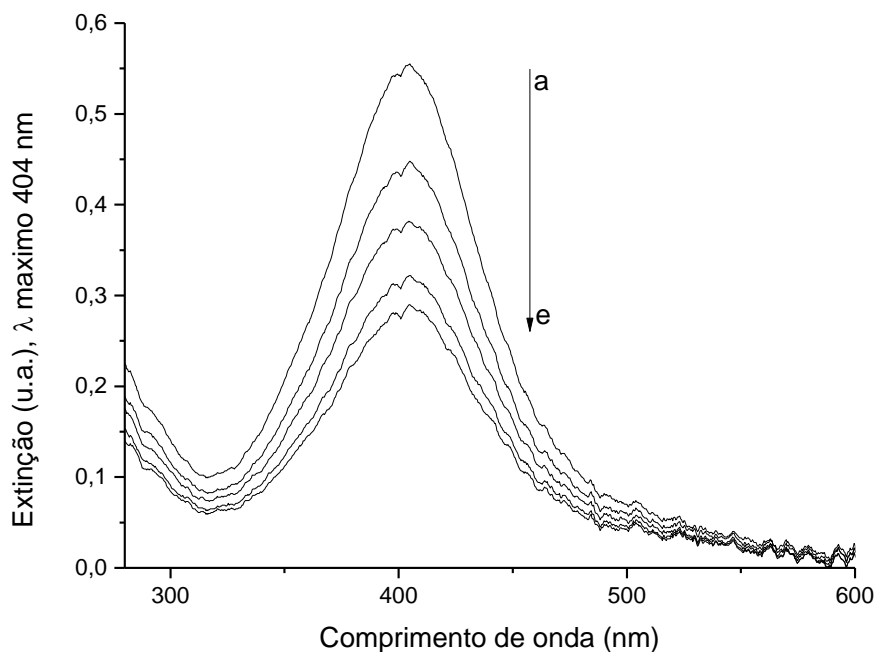


Figura 50. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com neomicina 10^{-7} mol L $^{-1}$ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min $^{-1}$, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min $^{-1}$, neomicina $0,20 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$ c) vazão 0,2 mL min $^{-1}$, neomicina $0,33 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$; d) vazão 0,3 mL min $^{-1}$, neomicina $0,43 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$; e) vazão 0,4 mL min $^{-1}$, neomicina $0,50 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$.

(iii) Ao variar a concentração de neomicina de $0,20$ a $0,50 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$, partindo de uma solução de neomicina de 10^{-6} mol L $^{-1}$, a banda característica de NPsAg-citrato em 404 nm sofreu uma redução na intensidade de 0,56 a 0,16 u.a. Figura 51 (a – f.). Houve o surgimento de uma banda larga em 480 nm, atribuída aos agregados de NPAg-citrato-neomicina. A intensidade dessa banda foi monitorado entre 0,102 a 0,195 u.a.. A interação entre a NPsAg-citrato e a neomicina começou a ser observada de maneira significativa a partir de $0,20 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$.

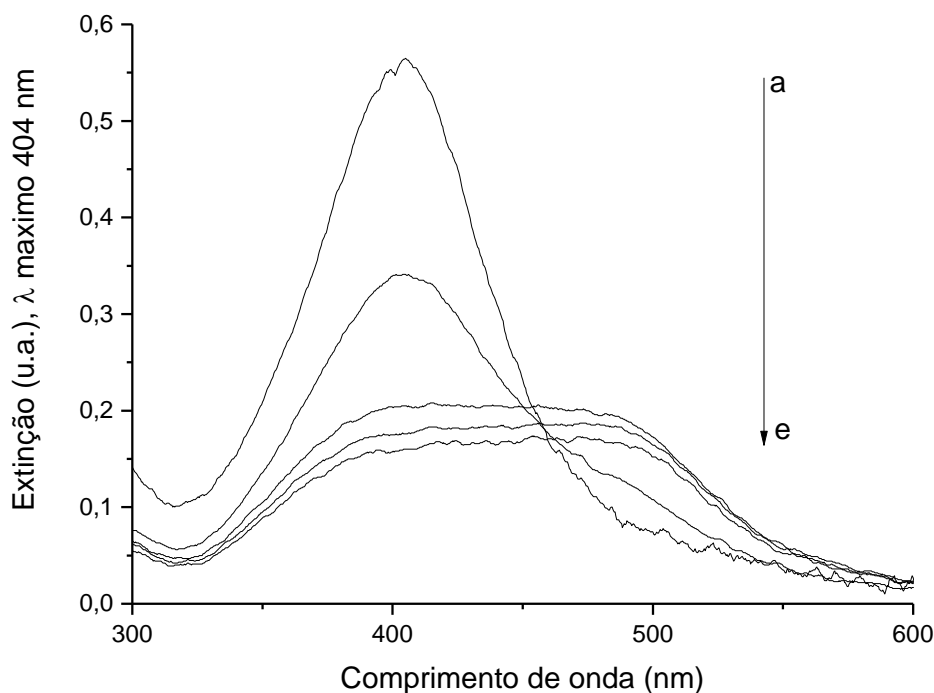


Figura 51. Espectro da interação das NPsAg-citrato 1:1 com neomicina 10^{-6} mol L $^{-1}$ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min $^{-1}$, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min $^{-1}$, neomicina $0,20 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ c) vazão 0,2 mL min $^{-1}$, neomicina $0,33 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$; d) vazão 0,3 mL min $^{-1}$, neomicina $0,43 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$; e) vazão 0,4 mL min $^{-1}$, neomicina $0,50 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$.

Na Figura 52. Os resultados obtidos com as concentrações de partida 10^{-7} e 10^{-8} mol L $^{-1}$ não mostraram decaimento na intensidade pelo surgimento de uma banda de agregação. Os resultados mostram que à medida que aumentava a concentração de neomicina na presença das nanopartículas, com as concentrações finais de 0,20 ; 0,33 ; 0,43 e 0,50 $\times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$, os sinais monitorados em 404 nm decresciam em decorrência da aglomeração de NPsAg-citrato.

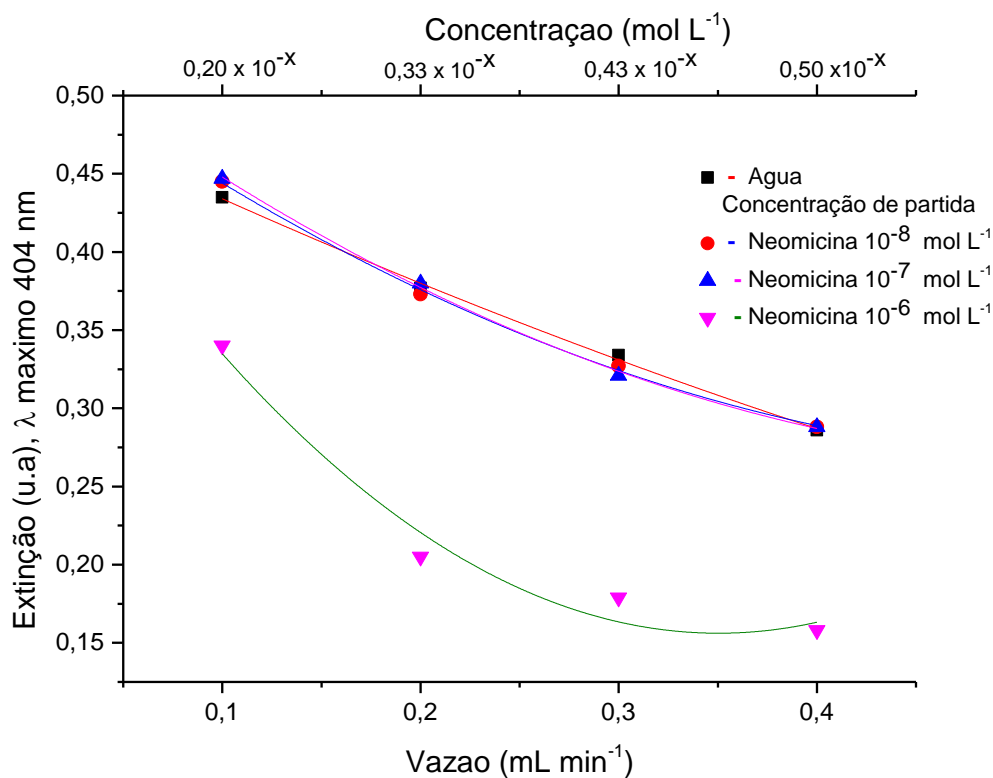


Figura 52. Espectro de diferentes vazões e diferentes concentrações de neomicina

Mudando-se os parâmetros da vazão conforme a Tabela 13 e utilizando NPsAg-citrato 1:0,5, um novo teste foi realizado. A vazão foi fixada em 0,25 mL min⁻¹ e variou-se a vazão do fármaco neomicina $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de 0,1 a 0,25 mL min⁻¹. As menores vazões volumétricas aumentam o tempo de residência, o que pode influenciar em um tempo maior de interação entre os aminoglicosídeos e as NPsAg-citrato. Para esse teste foi utilizada a dispersão de trabalho NPsAg-citrato 1:0,5 diluída 1:4 em água.

Tabela 13. Taxa de fluxo das NPsAg-citrato 1:0,5, dos fármacos e concentrações finais dos fármacos a partir da concentração de partida 10^{-6} mol L⁻¹.

Vazão da bomba A NPsAg-citrato1:0,5 (mL min ⁻¹)	Vazão da bomba B contendo fármaco (mL min ⁻¹)	Concentração final do fármaco a partir de 10^{-6} mol L ⁻¹
0,25	0,0	0,0
0,25	0,1	$0,29 \times 10^{-6}$
0,25	0,15	$0,38 \times 10^{-6}$
0,25	0,20	$0,44 \times 10^{-6}$
0,25	0,25	$0,50 \times 10^{-6}$

A mesma tendência do decaimento do sinal em 404 nm e o surgimento da banda em torno de 480 nm devido a formação de agregados devido a interação NPsAg-citrato e neomicina 10^{-6} mol L⁻¹ pode ser observado nas NPs sintetizadas com Ag⁺:citrato 1:0,5 com as vazões volumétricas fixas e 0,25 mL min⁻¹ (Figura 53).

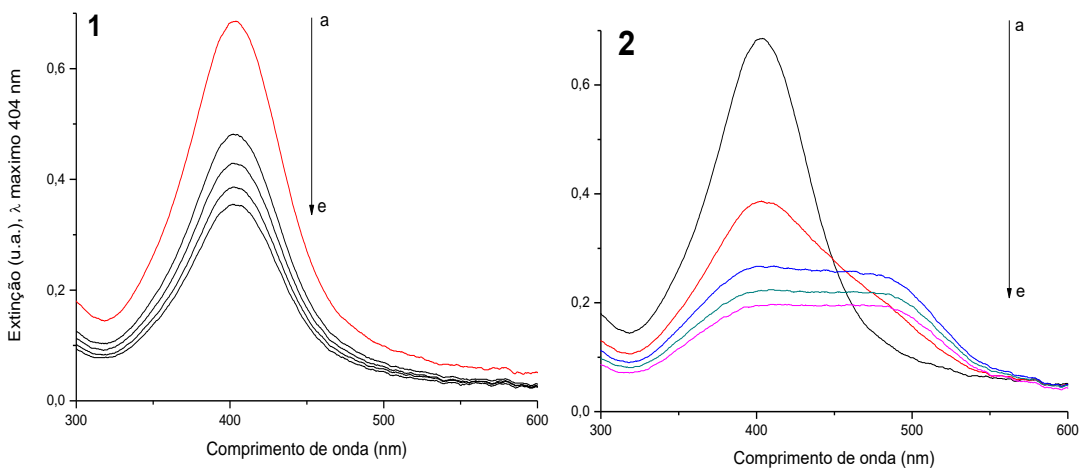


Figura 53. Espectros do efeito da diluição das NPsAg-citrato-1:0,5 (1); e interação das NPsAg-citrato-1:0,5 com neomicina 10^{-6} mol L⁻¹ em diferentes vazões (2): a) vazão 0 mL min⁻¹, somente NPsAg-citrato-1:0,5 b) vazão 0,10 mL min⁻¹, neomicina $0,29 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹

c) vazão $0,15 \text{ mL min}^{-1}$, neomicina $0,38 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; d) vazão $0,20 \text{ mL min}^{-1}$, neomicina $0,44 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; e) vazão $0,25 \text{ mL min}^{-1}$, neomicina $0,50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

A diferença da intensidade entre a dispersão de trabalho inicial e a interação com o fármaco na concentração final de neomicina $0,50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ é maior nas NPsAg 1:0,5 em comparação NPsAg 1:1, 0,495 (u.a.) e 402 (u.a.) respectivamente. Indicando que as NPsAg com menos citrato ($\text{Ag}^+/\text{citrato}$ 1:0,5) são mais sensíveis.

4.5.2.

Interação das NPsAg-citrato1:1 com a canamicina

O experimento utilizado para canamicina foi repetido da mesma maneira na dispersão de trabalho NPsAg citrato1:1 contendo canamicina (iv) $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 54), (v) $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 55) e (vi) $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 56).

(iv) Ao variar a vazão, e conseqüentemente a concentração de canamicina de $0,20$ a $0,50 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, partindo de uma solução de neomicina de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, a banda característica de NPsAg-citrato em 404 nm sofreu uma redução na intensidade de $0,56$ a $0,29 \text{ u.a.}$ (Figura 54 / a – f). A redução observada foi atribuída ao efeito da diluição provocada pela solução de canamicina $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e não pela formação de agregados NPAg-citrato-canamicina. Este resultado não foi significativo.

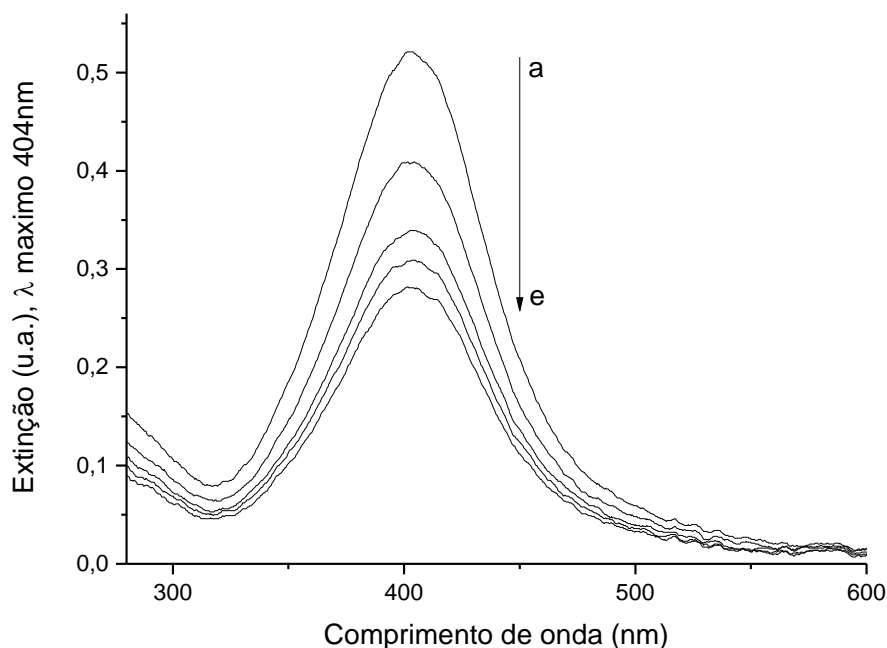


Figura 54. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com canamicina $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min^{-1} , somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão $0,1 \text{ mL min}^{-1}$, canamicina $0,20 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ c) vazão $0,2 \text{ mL min}^{-1}$, canamicina $0,33 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$; d) vazão $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, canamicina $0,43 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$; e) vazão $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, canamicina $0,50 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

(v) Ao variar a vazão, e consequentemente a concentração de canamicina de $0,20$ a $0,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, partindo de uma solução de canamicina de $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a banda de NPsAg-citrato em 404 nm foi monitorada e observado uma pequena redução na intensidade a partir de $0,44 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Essa redução não passou a uma ordem de grandeza.

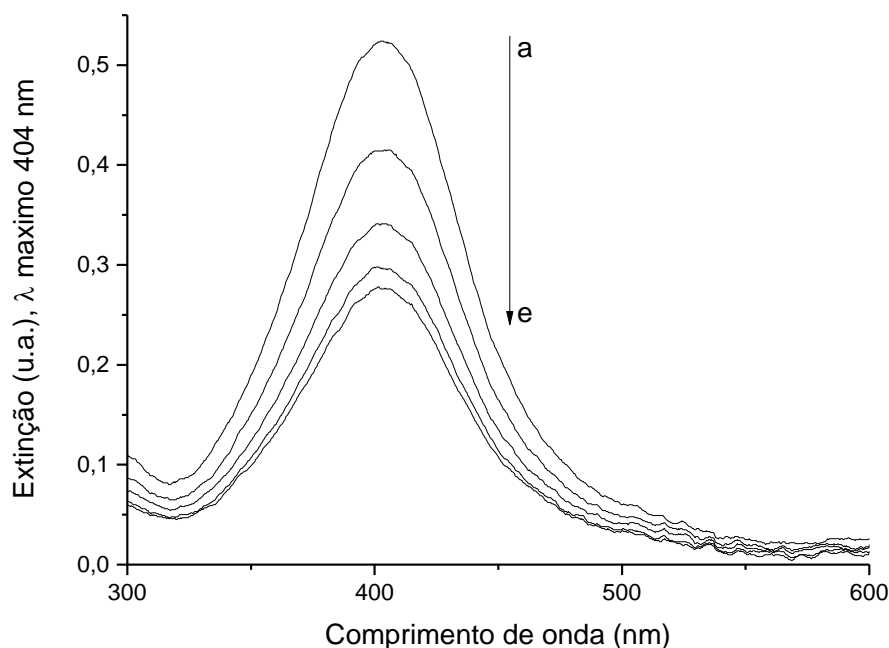


Figura 55. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com canamicina 10^{-7} mol L $^{-1}$ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min $^{-1}$, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min $^{-1}$, canamicina $0,20 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$ c) vazão 0,2 mL min $^{-1}$, canamicina $0,33 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$; d) vazão 0,3 mL min $^{-1}$, canamicina $0,43 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$; e) vazão 0,4 mL min $^{-1}$, canamicina $0,50 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$.

(iii) Ao variar a concentração de canamicina de $0,20$ a $0,50 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$, partindo de uma solução de canamicina de 10^{-6} mol L $^{-1}$, (Figura 56 / a – f) a banda característica de NPsAg-citrato em 404 nm sofreu uma redução na intensidade de 0,56 a 0,16 u.a. O surgimento de uma banda larga em 483 nm, foi atribuída aos agregados de NPAg-citrato com canamicina. O aumento da intensidade dessa banda foi monitorado de 0,08 a 0,20 u.a..

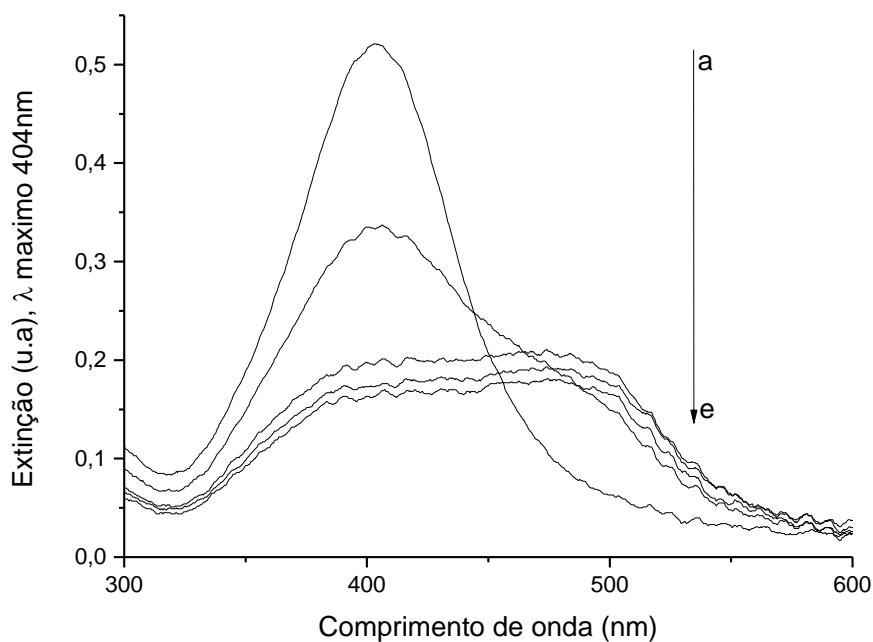


Figura 56. Espectro da interação das NPsAg-citrato-1:1 com canamicina 10^{-6} mol L $^{-1}$ em diferentes vazões: a) vazão 0 mL min $^{-1}$, somente NPsAg-citrato-1:1 b) vazão 0,1 mL min $^{-1}$, canamicina $0,20 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ c) vazão 0,2 mL min $^{-1}$, canamicina $0,33 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$; d) vazão 0,3 mL min $^{-1}$, canamicina $0,43 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$; e) vazão 0,4 mL min $^{-1}$, canamicina $0,50 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$.

Na Figura 57 os resultados obtidos com as concentrações de partida 10^{-8} não mostraram decaimento por surgimento de banda de aglomeração. Os resultados mostram que à medida que aumentava a concentração de canamicina na NPAg, com as concentrações finais de $0,43$ e $0,50 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$ observou-se um pequeno decaimento. Nas concentrações finais de $0,20$; $0,33$; $0,43$ e $0,50 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$. Houve a formação de banda de agregação. Os sinais monitorados em 404 nm decresciam, e em 483 nm aumentaram decorrente da aglomeração de NPsAg-citrato com a canamicina.

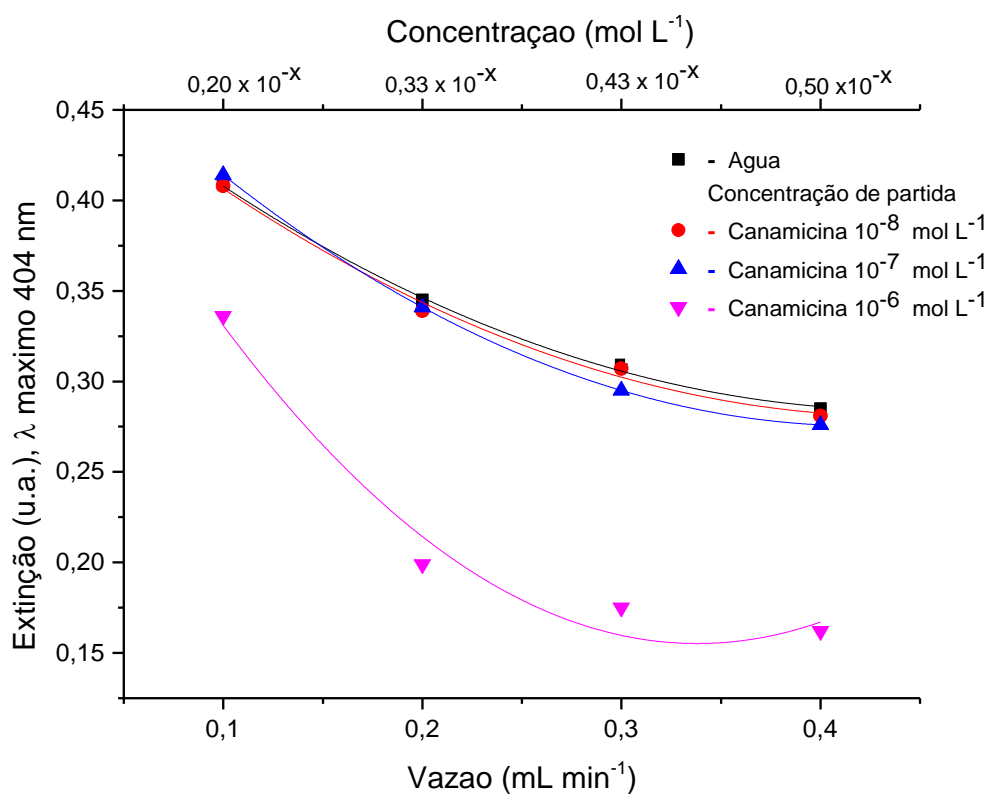


Figura 57. Espectro de diferentes vazões e diferentes concentrações de canamicina na presença de NPsAg-citrato-1:1.

Os espectros na Figura 57 traçam um perfil geral da interação das NPsAg com a canamicina em fluxo contínuo. Em linhas vermelhas pode-se observar o efeito da diluição com a água, que foi utilizado como dispersão-branco. Em linhas verdes a interação nas NPsAg-citrato com as concentrações finais da canamicina a partir de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ observando formação de agregados em 480 nm.

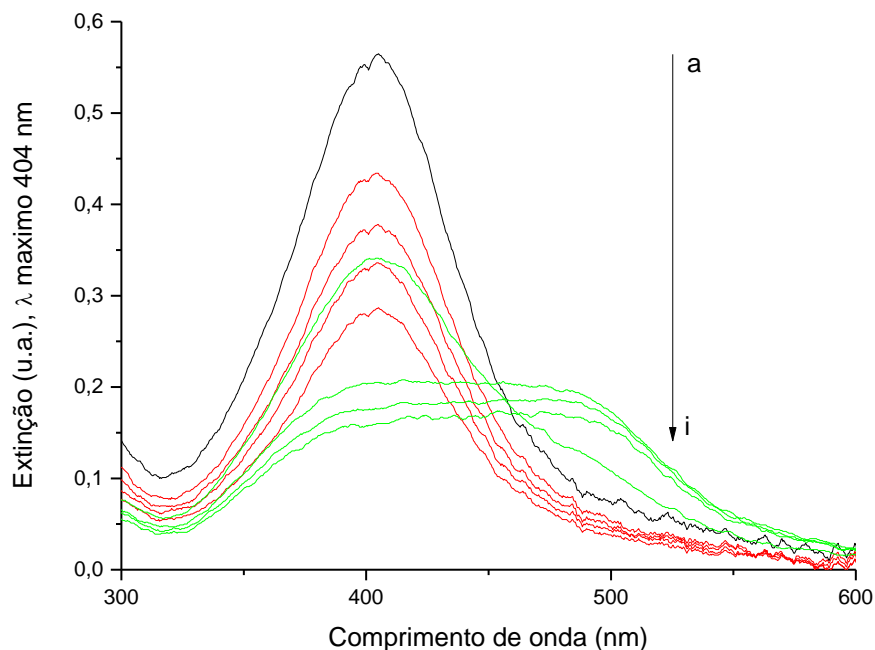


Figura 58. Perfil espectral de ressonância plasmônica: a) NPsAg-citrato 1:1 (linha preta); efeito da diluição da água nas vazões em b) 0,1; c) 0,2 e) 0,3 e f) 0,4 mL min⁻¹ (linhas vermelhas) e efeito da interação das NPsAg-citrato com neomicina nas concentrações finais de d) 0,20, g) 0,33, h) 0,43 e i) 0,50 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ (linhas verdes).

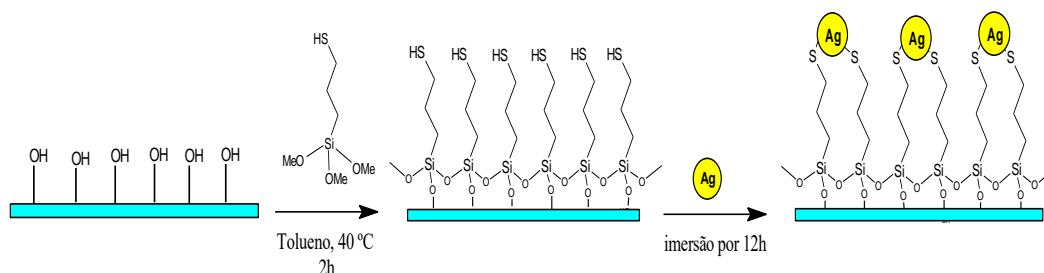
4.5.3.

Substrato de vidro funcionalizado com NPsAg-tartarato

As NPsAg apresentam ressonância plasmônica localizada de superfície tanto em suspensão quanto em filmes finos (BURDA *et al.*, 2005; PALLAVICINI *et al.*, 2010) podendo ser potenciais biosensores. Nesse contexto foram funcionalizadas lâminas com NPsAg-tartarato. O processo se fez em quatro etapas: (i) limpeza, (ii) hidroxilação, (iii) silanização, (iv) e imersão das lâminas em dispersão de NPsAg-tartarato.

A silanização e funcionalização das lâminas de vidro seguiram um método proposto por Pallavicini e colaboradores (2009; 2010) com pequenas modificações, tais como, concentração do MPTS em tolueno e o tempo de incubação das lâminas em MPTS. As lâminas de vidro foram limpas e hidroxiladas com solução piranha, em seguida silanizadas com MPTS 2,5% por 2 horas a 40°C como descrito no item 2.4.8.3. Após silanização as lâminas foram imersas em dispersão concentrada de NPsAg-tartarato (Ag/tartarato 1:1) durante 12 horas em temperatura ambiente para criar uma monocamada por automontagem de nanopartículas mais homogênea possível. No caso da funcionalização do vidro

com MPTS, os grupos $-SH$ ficam expostos podendo se ligar às nanopartículas (PALLAVICINI *et al.*, 2010). Os grupos tióis são quimicamente ligados com a prata através de ligação de sulfeto ($S-Ag$) por terem forte afinidade química pela superfície metálica das NPsAg (RAVINDRAN *et al.*, 2013) como demonstrado na Figura 59. As lâminas apresentaram coloração amarelada característica da presença de NPsAg na superfície do vidro.



.Figura 59. Processo de formação de camada de NPsAg no vidro funcionalizado Adaptado de Pallavicini *et al.* (2010).

A análise espectroscópica de absorção das NPsAg-tartarato em solução (antes da deposição na lâmina de vidro) foi realizada com uma dispersão da NPsAg-tartarato 1:1 diluída em água 1:4 onde obteve-se um espectro de extinção com a intensidade no comprimento de onda máximo em 403 nm, (Figura 60) o que indica a existência de nanopartículas de prata.

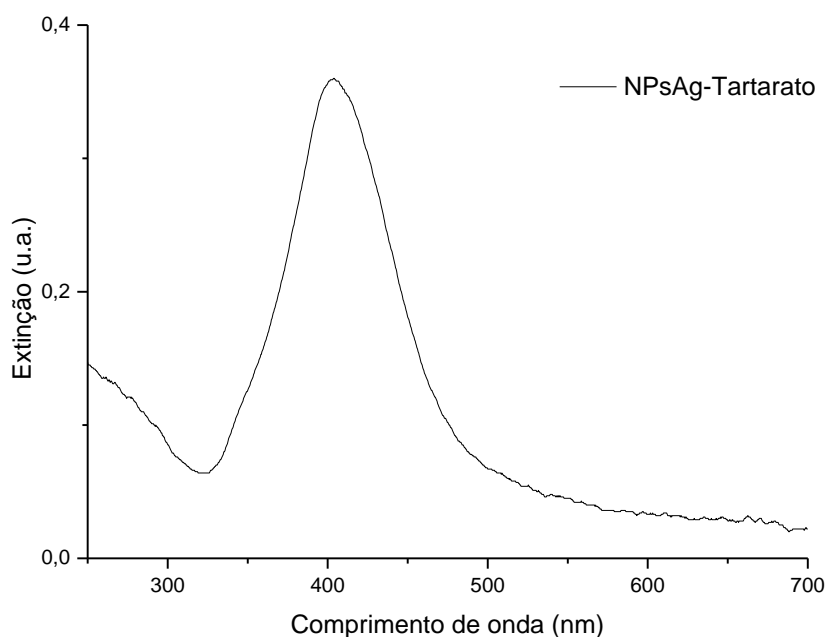


Figura 60. Perfil espectral de ressonância plasmônica da dispersão da NPsAg-tartarato diluída em água 1:4.

As lâminas de vidro funcionalizadas foram posteriormente caracterizadas através da microscopia de varredura eletrônica (MEV) como mostrado na Figura 61. Através de um software de digitalização da imagem MEV foi possível fazer a análise estatística da distribuição dos diâmetros das NPsAg-tartarato. A curva de distribuição gaussiana evidencia que a maioria das NPsAg-tartarato apresenta um diâmetro no máximo de distribuição centrado a 12 nm. Também foi observado por microscopia a formação de um grande número de nanopartículas, tendendo a maioria ao formato esférico.

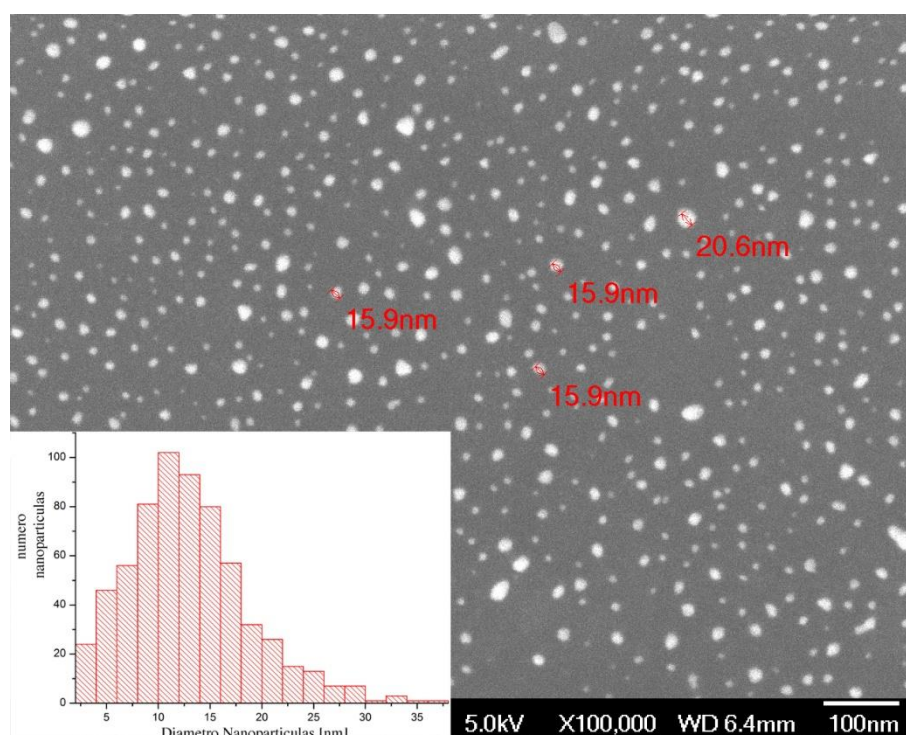


Figura 61. Imagem MEV do substrato de vidro funcionalizado com NPsAg-tartarato com uma análise estatística feita por uma análise de digitalização da imagem MEV através de um software.

As lâminas de vidro com NPsAg-tartarato objeto de estudo dessa dissertação foram funcionalizadas com anticorpo de *Candida albicans* pelo departamento de Bio-engenharia da Universidade de Pernambuco e utilizadas como sensores LSPR para a detecção do antígeno da *Candida albicans*. (Neves *et al.*, 2015). As plataformas de vidro funcionalizadas com NPsAg-tartarato

demonstraram ser eficientes como biosensores LSPR sendo sensíveis a pequenas concentrações de soluções de antígeno equivalente a 50 ng mL^{-1} .

5 Conclusões

As Instalações dos sistemas microfluídicos tubulares em aço e PTF pela síntese de QDs e NPsAg em fluxo contínuo apresentaram-se ser sistemas seguros, simples e rápidos, e de baixo impacto ambiental pela redução de insumos.

Quantum dots CdTe-TGA foram sintetizados em batelada e caracterizados por espectroscopia de fotoluminescência, UV-vis, potencial Zeta e espectroscopia de Infravermelho (IV-TF). Este método obteve QDs com FWHM de 47,5 nm com $\lambda_{\text{emissão}}$ de 540 nm. Entretanto, o mesmo demonstrou ser um processo de difícil controle dos parâmetros da redução do telúrio. A utilização de sistemas em fluxo levou à síntese de QDs de CdTe-TGA com valores de FWHM na faixa de 62 a 86 nm. O ajuste das condições preparo de QDs em fluxo em relação à variação de temperatura e da proporção molar a partir da mudança de vazão dos precursores demonstrou que o aumento da temperatura e da razão molar de Cd:Te, influencia no tamanho dos QDs, sendo esta última mais acentuada. Os QDs com menores valores de FWHM (62 - 69 nm) foram obtidos mantendo o forno da mistura reacional na temperatura de 140 °C. Na razão molar de Cd:Te 1:0,3 e 1:1,5 foram obtidos QDs com valores de FWHM de 64 e 86 nm, respectivamente. Conforme aumenta a quantidade de telúrio, aumenta o $\lambda_{\text{emissão}}$ da dispersão de 520 a 575 nm. Esse estudo indica um potencial método para otimização da síntese de QDs de CdTe-TGA em fluxo, em função da razão molar dos precursores e da temperatura, utilizando volumes e tempos reduzidos. Entretanto, o mesmo ainda precisa ser otimizado e validado.

A avaliação da formação de filmes finos em matrizes poliméricas (PVA e PDMS) com diferentes técnicas de deposição (impregnação, *drop casting* e *spin coating*) destacou que a técnica de *spin coating* com PVA permite de obter película de espessura nanométrica de $58,7 \pm 3,3$ nm de baixa intensidade em comparação a com o filme obtido por *drop casting*. A melhor condição para a formação de filmes luminescentes, sobre substratos de vidro, foi utilizando o catalisador EDC. No entanto, ocorreu fotoxidação de todos os filmes obtidos, gerando a impossibilidade de utilização das mesmas como sonda analítica.

NPsAg-citrato e NPsAg-tartarato foram sintetizadas em fluxo contínuo com razões molares de Ag⁺/citrato, 1:0,5 e 1:1. A interação dos fármacos

aminoglicosídeos em exame com as nanosondas de NPsAg-citrato foi monitorada com o auxílio de uma cela de fluxo acoplada a um fotômetro. O sistema se mostrou sensível nas concentrações igual ou maior que $2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, produzindo uma mudança no perfil espectral (LSPR) da sonda de NPsAg, com o decaimento do sinal no comprimento de onda de 404 nm e o surgimento de uma nova banda em 480 nm, atribuída à aglomeração das nanopartículas.

Lâminas de vidro foram silanizadas com MPTS (2,5% em tolueno) e funcionalizadas com nanopartículas para formação de filmes de NPsAg-tartarato. Este último em parceria com o grupo de pesquisa orientado pelo Professor Renato Araújo (Universidade Federal de Pernambuco) foi funcionalizada com anticorpos *Candida albicans* e utilizadas para detecção dos patógenos *Candida albicans*. O biosensor LSPR foi sensível a pequenas concentrações de soluções de antígeno equivalente a 50 ng mL^{-1} .

6

Etapas futuras

- ✓ Otimizar as condições de síntese em fluxo de QDs CdTe-TGA de forma integrada ao Fluorímetro *Ocean Optics* para monitoramento fluorimétrico em tempo real da síntese.
- ✓ Sintetizar QDs com precursores menos tóxicos, tal como, fosfeto de índio (InP).
- ✓ Caracterizar os QDs CdTe-TGA sintetizados em fluxo por DLS, RAMAN, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Microscopia de Força Atômica (AFM) e IV-TF.
- ✓ Sintetizar NPs de prata em fluxo contínuo, integrando o NaBH_4 ao reator microfluídico e testar novos *designs* de microrreatores de forma a obter maior controle de todo o processo sintético em fluxo.
- ✓ Testar filmes em substratos de vidro para sensores LSPR com nanopartículas sintetizadas a partir de diferentes ligantes, tais como: oxalato, citrato e quitosana.
- ✓ Otimizar as configurações experimentais dos equipamentos espectrofotométricos (UV-vis e Fluorímetro *Ocean Optics*) para medições analíticas online.

ABDELBAR, M. F. et al. Photo-induced interaction of thioglycolic acid (TGA)-capped CdTe quantum dots with cyanine dyes. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 168, p. 1-11, 11/5/ 2016. ISSN 1386-1425.

AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Immobilized silver nanoparticles enhance contact killing and show highest efficacy: elucidation of the mechanism of bactericidal action of silver. **Nanoscale**, v. 5, n. 16, p. 7328-7340, 2013. ISSN 2040-3364.

AGNIHOTRI S, MUKHERJI S, MUKHERJI S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **RSC Advances**, v. 4, n. 8, p. 3974-3983, 2014.

AHMAD, Z. et al. Effect of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and N-hydroxysuccinimide concentrations on the mechanical and biological characteristics of cross-linked collagen fibres for tendon repair. **Regenerative Biomaterials**, v. 2, n. 2, p. 77-85, 05/1603/20/received 04/02/revised 04/02/accepted 2015. ISSN 2056-3418/2056-3426.

ALIVISATOS, A. P. Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 31, p. 13226-13239, 1996/01/01 1996. ISSN 0022-3654.

ANDERSON, N. C. et al. Ligand Exchange and the Stoichiometry of Metal Chalcogenide Nanocrystals: Spectroscopic Observation of Facile Metal-Carboxylate Displacement and Binding. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 49, p. 18536-18548, 2013. ISSN 0002-7863.

ANTUNES.; NICOLLE DAL'ACQUA.; CARLOS, P., B.; MARCELO, G.,. Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. **ETEC estudos tecnológicos de engenharia**, 2013. ISSN 1808-7310.

APYARI, V. V. et al. Label-free gold nanoparticles for the determination of neomycin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 115, p. 416-420, 11// 2013. ISSN 1386-1425.

ARNOLD, S. et al. MicroParticle photophysics illuminates viral bio-sensing. **Faraday Discussions**, v. 137, n. 0, p. 65-83, 2008. ISSN 1359-6640.

AUCELIO, R. Q. et al. Study of the interaction of flavonoids with 3-mercaptopropionic acid modified CdTe quantum dots mediated by cetyltrimethyl ammonium bromide in aqueous medium. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 172, p. 147-155, 2/5/ 2017. ISSN 1386-1425.

BABER, R. et al. Synthesis of silver nanoparticles in a microfluidic coaxial flow reactor. **RSC Advances**, v. 5, n. 116, p. 95585-95591, 2015.

BAKER, M. I. et al. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 100B, n. 5, p. 1451-1457, 2012. ISSN 1552-4981.

BALLERINI, D. R.; LI, X.; SHEN, W. Patterned paper and alternative materials as substrates for low-cost microfluidic diagnostics. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 13, n. 5, p. 769-787, 2012. ISSN 1613-4990.

BALU, B. et al. Patterning of superhydrophobic paper to control the mobility of micro-liter drops for two-dimensional lab-on-paper applications. **Lab on a Chip**, v. 9, n. 21, p. 3066-3075, 2009. ISSN 1473-0197.

BASTÚS, N. G. et al. Synthesis of Highly Monodisperse Citrate-Stabilized Silver Nanoparticles of up to 200 nm: Kinetic Control and Catalytic Properties. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 9, p. 2836-2846, 2014. ISSN 0897-4756/1520-5002.

BERNI NETO, Elias Antonio. Desenvolvimento de nanobiocompósitos contendo nanopartículas de prata para aplicações bactericidas. 2010. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

BERTIN, A.; SCHLAAD, H. Mild and Versatile (Bio-)Functionalization of Glass Surfaces via Thiol-Ene Photochemistry. **Chemistry of Materials**, v. 21, n. 24, p. 5698-5700, 2009/12/22 2009. ISSN 0897-4756.

BHUNIA, S. K. et al. Tuneable light-emitting carbon-dot/polymer flexible films prepared through one-pot synthesis. **Nanoscale**, v. 8, n. 6, p. 3400-3406, 2016. ISSN 2040-3364.

BODAS, D.; KHAN-MALEK, C. Direct patterning of quantum dots on structured PDMS surface. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 128, n. 1, p. 168-172, 12/12/ 2007. ISSN 0925-4005.

BROLO, A. G. Plasmonics for future biosensors. **Nat Photon**, v. 6, n. 11, p. 709-713, 11//print 2012. ISSN 1749-4885.

BURDA, C. et al. Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 4, p. 1025-1102, 2005/04/01 2005. ISSN 0009-2665.

CARVALHO, I. T.; SANTOS, L. Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. **Environment International**, v. 94, p. 736-757, 9// 2016. ISSN 0160-4120.

CARVALHO, R. M. D.; RATH, S.; KUBOTA, L. T. SPR: Uma nova ferramenta para biossensores. **Química Nova**, v. 26, p. 97-104, 2003. ISSN 0100-4042.

CHAKRAVARTY, S. et al. PVA-based nanobiosensor for ultrasensitive detection of folic acid by fluorescence quenching. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 232, p. 243-250, 9// 2016. ISSN 0925-4005.

CHEN, L. et al. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 399, p. 133, 2011.

CHEN, Y. et al. High sensitive detection of penicillin G residues in milk by surface-enhanced Raman scattering. **Talanta**, v. 167, p. 236-241, 2017. ISSN 0039-9140.

CHOUHAN, R. S.; VINAYAKA, A. C.; THAKUR, M. S. Thiol-stabilized luminescent CdTe quantum dot as biological fluorescent probe for sensitive detection of methyl parathion by a fluoroimmuno chromatographic technique. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 4, p. 1467-1475, 2010. ISSN 1618-2650.

COLTRO, W. K. T. et al. Microssistemas de análises químicas: introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações. **Química Nova**, v. 30, p. 1986-2000, 2007. ISSN 0100-4042.

CONDE, J. et al. Revisiting 30 years of biofunctionalization and surface chemistry of inorganic nanoparticles for nanomedicine. **Frontiers in Chemistry**, v. 2, n. 48, 2014. ISSN 2296-2646.

CONROY, J. et al. CdTe Nanoparticles Display Tropism to Core Histones and Histone-Rich Cell Organelles. **Small**, v. 4, n. 11, p. 2006-2015, 2008. ISSN 1613-6829.

CORZO LUCIONI, A. Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H[AuCl₄]. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 78, p. 79-90, 2012. ISSN 1810-634X.

COUTO, R. et al. Microfluidic supercritical antisolvent continuous processing and direct spray-coating of poly(3-hexylthiophene) nanoparticles for OFET devices. **Chemical Communications**, v. 51, n. 6, p. 1008-1011, 2015. ISSN 1359-7345.

CRUZ, L. R.; DE AVILLES, R. R. The formation of CdTe thin films by the stacked elemental layer method. **Thin Solid Films**, v. 373, n. 1-2, p. 15-18, 2000. ISSN 0040-6090.

CRUZ, L. R.; SAN MIGUEL, Q. G. S. Propriedades óticas e microestruturais de filmes finos eletrodepositados de CdTe. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 17, p. 961-972, 2012. ISSN 1517-7076.

DAI, M.-Q. et al. Aqueous phase synthesis of widely tunable photoluminescence emission CdTe/CdS core/shell quantum dots under a totally ambient atmosphere. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 32, p. 16336-16345, 2012. ISSN 0959-9428.

DE SÁ, D. S. et al. Prototyping of meso- and microfluidic devices with embedded TiO₂ photocatalyst for photodegradation of an organic dye. **Journal of Flow Chemistry**, v. 6, n. 2, p. 101-109, 2016. ISSN 2062-249X.

DE SOUZA, R. O. M. A. M., L. S. M. . Reações sob fluxo contínuo: Da química verde a um processo verde. **Revista Virtual de Química**, p. v. 6, p. p.34-43, 2014. ISSN 1984-6835.

DEMELLO, A. J. Control and detection of chemical reactions in microfluidic systems. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 394-402, 2006. ISSN 0028-0836.

DERFUS, A. M.; CHAN, W. C. W.; BHATIA, S. N. Probing the Cytotoxicity of Semiconductor Quantum Dots. **Nano Letters**, v. 4, n. 1, p. 11-18, 2004. ISSN 1530-6984.

DITTRICH, P. S.; MANZ, A. Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery. **Nat Rev Drug Discov**, v. 5, n. 3, p. 210-218, 03/print 2006. ISSN 1474-1776.

DITTRICH, P. S. M., ANDREAS. Single-molecule fluorescence detection in microfluidic channels—the Holy Grail in μ TAS? **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 8, p. 1771-1782, 2005. ISSN 1618-2650.

DONG, X. et al. Shape Control of Silver Nanoparticles by Stepwise Citrate Reduction. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 16, p. 6573-6576, 2009. ISSN 1932-7447.

DORFS, D. et al. 1.08 - Quantum Dots: Synthesis and Characterization A2 - Andrews, David L. In: SCHOLLES, G. D. e WIEDERRECHT, G. P. (Ed.). **Comprehensive Nanoscience and Technology**. Amsterdam: Academic Press, 2011. p.219-270. ISBN 978-0-12-374396-1.

DUAN, H.; WANG, D.; LI, Y. Green chemistry for nanoparticle synthesis. **Chem Soc Rev**, v. 44, n. 16, p. 5778-92, 2015. ISSN 1460-4744 .

ELVIRA, K. S. et al. The past, present and potential for microfluidic reactor technology in chemical synthesis. **Nat Chem**, v. 5, n. 11, p. 905-915, 2013. ISSN 1755-4330.

ESTEVE-TURRILLAS, F. A.; ABAD-FUENTES, A. Applications of quantum dots as probes in immunosensing of small-sized analytes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 41, p. 12-29, 3/15/ 2013. ISSN 0956-5663.

FAN, R. et al. Integrated barcode chips for rapid, multiplexed analysis of proteins in microliter quantities of blood. **Nat Biotech**, v. 26, n. 12, p. 1373-1378, 2008. ISSN 1087-0156.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. D. C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, p. 1860-1870, 2009. ISSN 0100-4042.

FERREIRA, M. et al. Técnicas de caracterização para investigar interações no nível molecular em filmes de Langmuir e Langmuir-Blodgett (LB). **Química Nova**, v. 28, p. 502-510, 2005. ISSN 0100-4042.

FLINK, S.; VAN VEGGEL, F. C. J. M.; REINHOUDT, D. N. Functionalization of self-assembled monolayers on glass and oxidized silicon wafers by surface reactions. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 14, n. 7, p. 407-415, 2001. ISSN 1099-1395.

FODA, M. F. et al. Biocompatible and Highly Luminescent Near-Infrared CuInS₂/ZnS Quantum Dots Embedded Silica Beads for Cancer Cell Imaging. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 3, p. 2011-2017, 2014. ISSN 1944-8244.

FREITAS, D. V. **Eletrossíntese e Caracterização de Quantum Dots de CdTe e CdSe**. 2015. 70f. Dissertação (Mestrado em Química)). Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco.

FROST, M. S.; DEMPSEY, M. J.; WHITEHEAD, D. E. The response of citrate functionalised gold and silver nanoparticles to the addition of heavy metal ions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 518, p. 15-24, 2017. ISSN 0927-7757.

FU, Q. et al. Growth Mechanism Deconvolution of Self-Limiting Supraparticles Based on Microfluidic System. **ACS Nano**, v. 9, n. 1, p. 172-179, 2015. ISSN 1936-0851.

GAPONIK, N. et al. Thiol-Capping of CdTe Nanocrystals: An Alternative to Organometallic Synthetic Routes. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 29, p. 7177-7185, 2002/07/01 2002. ISSN 1520-6106.

GE, C. et al. Facile synthesis and application of highly luminescent CdTe quantum dots with an electrogenerated precursor. **Chemical Communications**, n. 4, p. 450-452, 2008. ISSN 1359-7345.

GOLDMAN, E. R. et al. Multiplexed Toxin Analysis Using Four Colors of Quantum Dot Fluororeagents. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 3, p. 684-688, 2004. ISSN 0003-2700.

GONG, T. et al. A sensitive and selective sensing platform based on CdTe QDs in the presence of L-cysteine for detection of silver, mercury and copper ions in water and various drinks. **Food Chemistry**, v. 213, p. 306-312, 2016. ISSN 0308-8146.

GORBACHEV, I. A.; GORYACHEVA, I. Y.; GLUKHOVSKOY, E. G. Investigation of Multilayers Structures Based on the Langmuir-Blodgett Films of CdSe/ZnS Quantum Dots. **BioNanoScience**, v. 6, n. 2, p. 153-156, 2016. ISSN 2191-1649.

GU, X. et al. Synthesis of silver nanobastões and nanowires by tartrate-reduced route in aqueous solutions. **Materials Chemistry and Physics**, v. 96, n. 2-3, p. 217-222, 2006. ISSN 02540584.

GUI, R.; WAN, A.; JIN, H. Facile synthesis of quantum dots/mesoporous silica/quantum dots core/shell/shell hybrid microspheres for ratiometric fluorescence detection of 5-fluorouracil in human serum. **Analyst**, v. 138, n. 20, p. 5956-5964, 2013. ISSN 0003-2654.

GUIJT, R. M. Lab on a Chip – Future Technology for Characterizing Biotechnology Products. In: (Ed.). **Reference Module in Life Sciences**: Elsevier, 2017. ISBN 978-0-12-809633-8.

GURUNATHAN, S. et al. Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 74, n. 1, p. 328-35, 2009. ISSN 1873-4367.

HANAOR, D. et al. The effects of carboxylic acids on the aqueous dispersion and electrophoretic deposition of ZrO₂. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 32, n. 1, p. 235-244, 2012. ISSN 0955-2219.

HARTMAN, R. L.; JENSEN, K. F. Microchemical systems for continuous-flow synthesis. **Lab on a Chip**, v. 9, n. 17, p. 2495-2507, 2009. ISSN 1473-0197.

HENGLEIN, A. Chemical and Optical Properties of Small Metal Particles in Aqueous Solution. **Israel Journal of Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 77-88, 1993. ISSN 1869-5868.

HEURTAULT, B. et al. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. **Biomaterials**, v. 24, n. 23, p. 4283-4300, 2003. ISSN 0142-9612.

HIROKI, M. et al. Improved properties of polycrystalline GaN grown on silica glass substrate. **Journal of Crystal Growth**, v. 209, n. 2-3, p. 387-391, 2000. ISSN 0022-0248.

HOMOLA, J.; YEE, S. S.; GAUGLITZ, G. Surface plasmon resonance sensors: review. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 54, n. 1-2, p. 3-15, 1999. ISSN 0925-4005.

HUANG, P. et al. Chiral guanosine 5'-monophosphate-capped gold nanoflowers: Controllable synthesis, characterization, surface-enhanced Raman scattering activity, cellular imaging and photothermal therapy. **Nano Research**, v. 5, n. 9, p. 630-639, 2012. ISSN 1998-0000.

HUANG, Z. et al. Trisodium citrate assisted synthesis of flowerlike hierarchical Co₃O₄ nanostructures with enhanced catalytic properties. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 516, p. 106-114, 2017. ISSN 09277757.

HUBENTHAL, F. Noble Metal Nanoparticles: Synthesis and Optical Properties. In: (Ed.). **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**: Elsevier, 2016. ISBN 978-0-12-803581-8.

IJAZ HUSSAIN, J. et al. Silver Nanoparticles: Preparation, Characterization, And Kinetics. **Advanced Materials Letters**, v. 2, n. 3, p. 188-194, 2011. ISSN 09763961.

ILLG, T.; KNORR, A.; FRITZSCHE, L. Microreactors—A Powerful Tool to Synthesize Peroxycarboxylic Esters. **Molecules**, v. 21, n. 1, p. 5, 2016. ISSN 1420-3049.

IRAVANI, S. K. M., S, V.; ZOLFAGHARI. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. **Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 6, p. 385-406, 2014. PMCID: PMC4326978.

JAIN, P. K. et al. Review of Some Interesting Surface Plasmon Resonance-enhanced Properties of Noble Metal Nanoparticles and Their Applications to Biosystems. **Plasmonics**, v. 2, n. 3, p. 107-118, 2007. ISSN 1557-19551.

JANASEK, D.; FRANZKE, J.; MANZ, A. Scaling and the design of miniaturized chemical-analysis systems. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 374-380, 2006. ISSN 0028-0836.

JATSCHKA, J. et al. Propagating and localized surface plasmon resonance sensing — A critical comparison based on measurements and theory. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 7, p. 62-70, 2016. ISSN 2214-1804.

Jl, L. et al. Surface plasmon resonance refractive index sensor based on ultraviolet bleached polymer waveguide. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 244, p. 373-379, 2017. ISSN 0925-4005.

KANG, Z. et al. CdTe quantum dots and polymer nanocomposites for x-ray scintillation and imaging. **Applied Physics Letters**, v. 98, n. 18, p. 181914, 2011.

KATHERINE, A., WILLETS; RICHARD, P, VAN, DUYNE. Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing. **Annual Review of Physical Chemistry** v. 58, p. 267-297, 2007.

KELLY, G. et al. Effect of solvent polarity on nonradiative processes in xanthene dyes: Rhodamine B in normal alcohols. **Journal Physical Chemistry.**, 1988, 92 (23), pp 6590–6594

KHAN, S. **Fluorescent semiconductors nanoparticles as optical probes for the determination of captopril, histamine, aminoglycosides and thyroxine** 2013. 182f. Tese (Dotorado em Química). Pontificia Universidade Catolica do Rio de Janeiro, Brasil, Rio de Janeiro.

KHAN, S. et al. Determination of captopril using selective photoluminescence enhancement of 2-mercaptopropionic modified CdTe quantum dots. **Materials Research Express**, v. 1, n. 2, p. 026202, 2014. ISSN 2053-1591.

KHAN, S. et al. Determination of histamine in tuna fish by photoluminescence sensing using thioglycolic acid modified CdTe quantum dots and cationic solid phase extraction. **Journal of Luminescence**, v. 182, p. 71-78, 2017. ISSN 0022-2313.

KHODASHENAS B, GHORBANI HR.. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. **Arabian Journal of Chemistry**, 2015. ISSN 1878-5352.

KOEV, S. T. et al. Chitosan: an integrative biomaterial for lab-on-a-chip devices. **Lab on a Chip**, v. 10, n. 22, p. 3026-3042, 2010. ISSN 1473-0197.

KRISHNADASAN, S. et al. On-line analysis of CdSe nanoparticle formation in a continuous flow chip-based microreactor. **Journal of Materials Chemistry**, v. 14, n. 17, p. 2655-2660, 2004. ISSN 0959-9428.

KRISHNAN, M. et al. Microfabricated reaction and separation systems. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 92-98, 2001. ISSN 0958-1669.

LAMBERTI, A. Microfluidic photocatalytic device exploiting PDMS/TiO₂ nanocomposite. **Applied Surface Science**, v. 335, p. 50-54, 2015. ISSN 0169-4332.

LANH, L. T. et al. Shape and size controlled synthesis of Au nanobastões: H₂S gas-sensing characterizations and antibacterial application. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 635, p. 265-271, 2015. ISSN 09258388.

LATEEF, A.; OJO, S. A.; OLADEJO, S. M. Anti-candida, anti-coagulant and thrombolytic activities of biosynthesized silver nanoparticles using cell-free extract of *Bacillus safensis* LAU 13. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 10, p. 1406-1412, 2016. ISSN 13595113.

LAURINO, P.; KIKKERI, R.; SEEBERGER, P. H. Continuous-flow reactor-based synthesis of carbohydrate and dihydrolipoic acid-capped quantum dots. **Nat. Protocols**, v. 6, n. 8, p. 1209-1220, 2011. ISSN 1754-2189.

LAZARUS, L. L. et al. Flow-focused synthesis of monodisperse gold nanoparticles using ionic liquids on a microfluidic platform. **Lab on a Chip**, v. 10, n. 24, p. 3377-3379, 2010. ISSN 1473-0197.

LAZGHAB, M. et al. Wettability assessment of finely divided solids. **Powder Technology**, v. 157, n. 1-3, p. 79-91, 2005. ISSN 0032-5910.

LI, B. et al. Quantum Dot-Based Molecularly Imprinted Polymers on Three-Dimensional Origami Paper Microfluidic Chip for Fluorescence Detection of Phycocyanin. **ACS Sensors**, v. 2, n. 2, p. 243-250, 2017. ISSN 2379-3694.

LI, M. et al. CdTe nanocrystal-polymer composite thin film without fluorescence resonance energy transfer by using polymer nanospheres as nanocrystal carriers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 346, n. 2, p. 330-336, 2010. ISSN 0021-9797.

LI, M. et al. Electrospinning: A Facile Method to Disperse Fluorescent Quantum Dots in Nanofibers without Förster Resonance Energy Transfer. **Advanced Functional Materials**, v. 17, n. 17, p. 3650-3656, 2007. ISSN 1616-3028.

LI, Y.; LI, B. Q. Use of CdTe quantum dots for high temperature thermal sensing. **RSC Advances**, v. 4, n. 47, p. 24612-24618, 2014.

LI, Y.; LIU, M. Fabrication of chiral silver nanoparticles and chiral nanoparticulate film via organogel. **Chemical Communications**, n. 43, p. 5571-5573, 2008. ISSN 1359-7345.

LI, Y. et al. Preparation of surface bound silver nanoparticles on polyimide by surface modification method and its application on electroless metal deposition. **Applied Surface Science**, v. 233, n. 1-4, p. 299-306, 2004. ISSN 0169-4332.

LIANG, S. et al. Preparation of quantum dots-montmorillonite nanocomposites with strong photoluminescence for light-emitting diodes. **RSC Advances**, v. 7, n. 13, p. 7774-7779, 2017.

LIANG, Y. et al. Synthesis and optimization of CdTe quantum dots with the help of erythorbic acid and ethanol. **RSC Advances**, v. 4, n. 90, p. 48967-48972, 2014.

LIAU, L. C.-K.; LIN, Y.-H. Effects of electric fields on the conduction of polyvinyl alcohol (PVA)/ZnO films by photoluminescence analysis. **Journal of Luminescence**, v. 181, p. 217-222, 2017. ISSN 0022-2313.

LIN, C. C.; LIU, R.-S. Advances in Phosphors for Light-emitting Diodes. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 2, n. 11, p. 1268-1277, 2011. ISSN 1948-7185.

LIN, Y.; YU, P.; MAO, L. A multi-enzyme microreactor-based online electrochemical system for selective and continuous monitoring of acetylcholine. **Analyst**, v. 140, n. 11, p. 3781-3787, 2015. ISSN 0003-2654.

LIU, B.; YANG, M.; LI, H. Synthesis of gold nanoflowers assisted by a CH-CF hybrid surfactant and their applications in SERS and catalytic reduction of 4-nitroaniline. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 520, p. 213-221, 2017. ISSN 09277757.

LIU, Z. et al. Ultrafast Continuous-Flow Synthesis of Crystalline Microporous Aluminophosphate AlPO₄-5. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 7, p. 2327-2331, 2014. ISSN 0897-4756.

LOHSE, S. E. et al. A Simple Millifluidic Benchtop Reactor System for the High-Throughput Synthesis and Functionalization of Gold Nanoparticles with Different Sizes and Shapes. **ACS Nano**, v. 7, p. 4135-4150, 2013. ISSN 1936-0851.

LUZ, A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V. C. Artigo revisão: uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. **Cerâmica**, v. 54, p. 174-183, 2008. ISSN 0366-6913.

MA, J. et al. Controllable synthesis of functional nanoparticles by microfluidic platforms for biomedical applications - a review. **Lab on a Chip**, v. 17, p. 209-226, 2017. ISSN 1473-0197.

MACEICZYK, R. M.; LIGNOS, I. G.; DEMELLO, A. J. Online detection and automation methods in microfluidic nanomaterial synthesis. **Current Opinion in Chemical Engineering**, v. 8, p. 29-35, 2015. ISSN 2211-3398.

MACHADO, A. H. L. P., O.; MIRANDA, L. S. M.; DE SOUZA, R. O. M. A. Micro Reatores: Novas Oportunidades em Síntese Química. **Revista Virtual de Química**, v. 6, p. 1076-1085, 2014. ISSN 1984-6835.

MAGALHÃE, M. J. M. **Síntese e modificação da superfície de nanocristais semicondutores para aplicação como sondas fluorescentes em meio não-aquoso**. 2014. 84f. Dissertação (Mestre em Controle de Qualidade). faculdade de farmacia faculdade do porto porto, Portugal

MAIER, S. A. **Plasmonic: Fundamentals and Application** Springer US, 2007. XXVI, 224 ISBN 978-0-387-37825-1.

MANNA, L. et al. Controlled growth of tetrapod-branched inorganic nanocrystals. **Nat Mater**, v. 2, p. 382-385, 2003. ISSN 1476-1122.

MARRE, S.; JENSEN, K. F. Synthesis of micro and nanostructures in microfluidic systems. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 1183-1202, 2010. ISSN 0306-0012.

MÁTÉ, N. S. J. B. Microreactors: a new concept for chemical synthesis and technological feasibility **midra**, v. 39, p. 89 - 101, 2014. ISSN 2063-6792,

MATIN, A.; MERAH, N.; IBRAHIM, A. Superhydrophobic and self-cleaning surfaces prepared from a commercial silane using a single-step drop-coating method. **Progress in Organic Coatings**, v. 99, p. 322-329, 2016. ISSN 0300-9440.

MAURER, T. et al. Enhancing LSPR Sensitivity of Au Gratings through Graphene Coupling to Au Film. **Plasmonics**, v. 9, , p. 507-512, 2014. ISSN 1557-1963.

MAXIMINO, F. L. **Caracterização de Plasmons de Superfície em filmes de metais nobres através de tunelamento ótico**. 2014, 103f. dissertação de mestrado (Mestrado em Ciências). Intituto de física Universidade de São Paulo (USP)

MAZUREK, P.; HVILSTED, S.; SKOV, A. L. Green silicone elastomer obtained from a counterintuitively stable mixture of glycerol and PDMS. **Polymer**, v. 87, p. 1-7, 3/22/ 2016. ISSN 0032-3861.

MCINTIRE, T. M. et al. Substrate Changes Associated with the Chemistry of Self-Assembled Monolayers on Silicon. **Langmuir**, v. 22, p. 5617-5624, 2006/06/01 2006. ISSN 0743-7463.

MCKEATING, K. S. et al. High throughput LSPR and SERS analysis of aminoglycoside antibiotics. **Analyst**, v. 141, p. 5120-5126, 2016. ISSN 0003-2654.

MEDINTZ, I. L. et al. Proteolytic activity monitored by fluorescence resonance energy transfer through quantum-dot-peptide conjugates. **Nat Mater**, v. 5, , p. 581-589, 2006. ISSN 1476-1122.

MELO JR., M. A. et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, p. 1872-1878, 2012. ISSN 0100-4042.

MICHALSKA, M. et al. Peptide-functionalized ZCIS QDs as fluorescent nanoprobe for targeted HER2-positive breast cancer cells imaging. **Acta Biomaterialia**, v. 35, p. 293-304, 2016. ISSN 1742-7061.

MIRANDA-ANDRADES, J. R. et al. Spherical gold nanoparticles and gold nanobastões for the determination of gentamicin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 172, p. 126-134, 2017. ISSN 1386-1425.

MOLINA-BOLÍVAR, J. A. et al. Simultaneous presence of dynamic and sphere action component in the fluorescence quenching of human serum albumin by diphthaloylmaslinic acid. **Journal of Luminescence**, v. 178, p. 259-266, 2016. ISSN 0022-2313.

MORARKA, A. et al. Quantum dot based immunosensor using 3D circular microchannels fabricated in PDMS. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 6, p. 3050-3053, 2011. ISSN 0956-5663.

MORRIS-COHEN, A. J. et al. Organic Surfactant-Controlled Composition of the Surfaces of CdSe Quantum Dots. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 1, n. 7, p. 1078-1081, 2010. ISSN 1948-7185.

NAIR, G. et al. Plasmonic Interactions at Close Proximity in Chiral Geometries: Route toward Broadband Chiroptical Response and Giant Enantiomeric Sensitivity. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 118, p. 4991-4997, 2014. ISSN 1932-7447.

NAKAJIMA, N.; IKADA, Y. Mechanism of Amide Formation by Carbodiimide for Bioconjugation in Aqueous Media. **Bioconjugate Chemistry**, v. 6, p. 123-130, 1995/01/01 1995. ISSN 1043-1802.

NAKAMURA, H. et al. Application of a microfluidic reaction system for CdSe nanocrystal preparation: their growth kinetics and photoluminescence analysis. **Lab on a Chip**, v. 4, n. 3, p. 237-240, 2004. ISSN 1473-0197.

NEUPANE, G. P. et al. Simple method of DNA stretching on glass substrate for fluorescence imaging and spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 19, p. 51210-51210, 2014. ISSN 1083-3668.

NEVES, W. W. et al. Development of a localized surface plasmon resonance platform for Candida albicans antigen identification. 2015 SBMO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference (IMOC),. 2015. p.1-4.

NOOR, M. O.; SHAHMURADYAN, A.; KRULL, U. J. Paper-Based Solid-Phase Nucleic Acid Hybridization Assay Using Immobilized Quantum Dots as Donors in

Fluorescence Resonance Energy Transfer. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 1860-1867, 2013/02/05 2013. ISSN 0003-2700.

NOUVELLET, P. et al. The role of rapid diagnostics in managing Ebola epidemics. **Nature**, v. 528, n. 7580, p. S109-S116, 2015. ISSN 0028-0836.

OHM, C.; OBER, C. K. From surface coatings to polymer nanofilms: lifting off polymer brushes. **RSC Advances**, v. 3, p. 18482-18488, 2013.

OLSSON, D. C. et al. Marcadores fluorescentes coloidais: conceitos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1043-1050, 2011. ISSN 0103-8478.

ÖZBEY, A. et al. Inertial Focusing of Microparticles in Curvilinear Microchannels. **Scientific Reports**, v. 6, p. 38809, 2016.

PALLAVICINI, P. et al. Spectroscopic evaluation of surface functionalization efficiency in the preparation of mercaptopropyltrimethoxysilane self-assembled monolayers on glass. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 332, , p. 432-438, 4/15/ 2009. ISSN 0021-9797.

PANDOLI, O. et al. Colloidal silver nanoparticles: an effective nano-filler material to prevent fungal proliferation in bamboo. **RSC Advances**, v. 6, , p. 98325-98336, 2016.

PANDOLI, O. et al. Circular dichroism and UV-Vis absorption spectroscopic monitoring of production of chiral silver nanoparticles templated by guanosine 5[prime or minute]-monophosphate. **Analyst**, v. 136, p. 3713-3719, 2011. ISSN 0003-2654.

PANDOLI, O. et al. Prototipagem de microrreatores fotocatalíticos e testes de fotodegradação de corantes orgânicos. **Química Nova**, v. 38, p. 859-863, 2015. ISSN 0100-4042.

PARRA, J. et al. Carbon nanotube-protein carriers enhance size-dependent self-adjuvant antibody response to haptens. **Journal of Controlled Release**, v. 170, p. 242-251, 2013. ISSN 0168-3659.

PENG, J. et al. A flow-batch manipulated Ag NPs based SPR sensor for colorimetric detection of copper ions (Cu²⁺) in water samples. **Talanta**, v. 167, p. 310-316, 2017. ISSN 00399140.

PETRYAYEVA, E.; KRULL, U. J. Localized surface plasmon resonance: Nanostructures, bioassays and biosensing—A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, n. 1, p. 8-24, 2011. ISSN 0003-2670.

PILLAI, Z. S.; KAMAT, P. V. What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method? **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 108, n. 3, p. 945-951, 2004. ISSN 1520-6106.

QUEIROZ, J. R. C. et al. Surface characterization of feldspathic ceramic using ATR FT-IR and ellipsometry after various silanization protocols. **Dental Materials**, v. 28, p. 189-196, 2012.

RASHEED, M.; WIRTH, T. Intelligent Microflow: Development of Self-Optimizing Reaction Systems. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, p. 357-358, 2011. ISSN 1521-3773.

RAVINDRAN, A.; CHANDRAN, P.; KHAN, S. S. Biofunctionalized silver nanoparticles: Advances and prospects. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 105, p. 342-352, 2013. ISSN 0927-7765.

REN, K.; ZHOU, J.; WU, H. Materials for Microfluidic Chip Fabrication. **Accounts of Chemical Research**, v. 46, p. 2396-2406, 2013/11/19 2013. ISSN 0001-4842.

RIBEIRO, R. T. et al. Electrochemical synthetic route for preparation of CdTe quantum-dots stabilized by positively or negatively charged ligands. **Green Chemistry**, v. 15, p. 1061-1066, 2013. ISSN 1463-9262.

ROSSO, T. D. et al. Synthesis of oxocarbon-encapsulated gold nanoparticles with blue-shifted localized surface plasmon resonance by pulsed laser ablation in water with CO₂ absorbers. **Nanotechnology**, v. 27, p. 255602, 2016. ISSN 0957-4484.

RYCENGA, M. et al. Controlling the synthesis and assembly of silver nanostructures for plasmonic applications. **Chem Rev**, v. 111, n. 6, p. 3669-712, 2011. ISSN 1520-6890.

SANTONICOLA, M. G. et al. Graphene/DNA nanostructured films for bioinspired sensing of UV radiation effects. Proceedings of the International Astronautical Congress, IAC, 2014. p.6313-6317.

SANTOS, J. F. L. et al. Ressonância de plasmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares. **Química Nova**, v. 39, p. 1098-1111, 2016. ISSN 0100-4042.

SCHODEK., D.; FERREIRA., P.; ASHBY., M. **Nanomaterials, Nanotechnologies and Design**. Elsevier., 2009. ISBN 9780750681490.

SEBASTIAN CABEZA, V. et al. Size-Controlled Flow Synthesis of Gold Nanoparticles Using a Segmented Flow Microfluidic Platform. **Langmuir**, v. 28, p. 7007-7013, 2012. ISSN 0743-7463.

SEETHAPATHY, S.; GÓRECKI, T. Applications of polydimethylsiloxane in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 750, p. 48-62, 2012. ISSN 0003-2670.

SEHGAL, D.; VIJAY, I. K. A Method for the High Efficiency of Water-Soluble Carbodiimide-Mediated Amidation. **Analytical Biochemistry**, v. 218, p. 87-91, 1994. ISSN 0003-2697.

SESTAK, M. N. et al. Effects of as-deposited CdTe microstructure on solar cell performance. 2010 35th IEEE Photovoltaic Specialists Conference, 2010. p.000873-000877.

SHALOM, D. et al. Synthesis of thiol functionalized gold nanoparticles using a continuous flow microfluidic reactor. **Materials Letters**, v. 61, p. 1146-1150, 2007. ISSN 0167-577X.

SHAO, W.; ZHAO, Q. Influence of reducers on nanostructure and surface energy of silver coatings and bacterial adhesion. **Surface and Coatings Technology**, v. 204, p. 1288-1294, 2010. ISSN 0257-8972.

SHARMA, M.; TRIPATHI, S. K. Photoluminescence study of CdSe nanobastões embedded in a PVA matrix. **Journal of Luminescence**, v. 135, p. 327-334, 2013. ISSN 0022-2313.

SHEN, J.; SUN, C.; WU, X. Silver nanoprisms-based Tb(III) fluorescence sensor for highly selective detection of dopamine. **Talanta**, v. 165, p. 369-376, 2017. ISSN 1873-3573 .

SHEN, R. et al. Multifunctional Conjugates To Prepare Nucleolar-Targeting CdS Quantum Dots. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, p. 8627-8634, 2010. ISSN 0002-7863.

SIA, S. K.; WHITESIDES, G. M. Microfluidic devices fabricated in Poly(dimethylsiloxane) for biological studies. **ELECTROPHORESIS**, v. 24, p. 3563-3576, 2003. ISSN 1522-2683.

SILVA, F. O. et al. Effect of surface ligands on the optical properties of aqueous soluble CdTe quantum dots. **Nanoscale Research Letters**, v. 7, n. 1, p. 536, 2012. ISSN 1556-276X.

SILVA, F. O. et al. O estado da arte da síntese de semicondutores nanocristalinos coloidais. **Química Nova**, v. 33, p. 1933-1939, 2010. ISSN 0100-4042.

SLOW, K. S. et al. Plasma Methods for the Generation of Chemically Reactive Surfaces for Biomolecule Immobilization and Cell Colonization - A Review. **Plasma Processes and Polymers**, v. 3, p. 392-418, 2006. ISSN 1612-8869.

SKOOG, D. A. W., D. M.; HOLLER, F. J. **Fundamentals of analytical Chemistry**. New York: 1996.

SMITH, A. M. et al. Bioconjugated quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 11, p. 1226-1240, 2008. ISSN 0169-409X.

SMYDER, J. A.; KRAUSS, T. D. Coming attractions for semiconductor quantum dots. **Materials Today**, v. 14, n. 9, p. 382-387, 2011. ISSN 1369-7021.

SOLLIER, E. et al. Rapid prototyping polymers for microfluidic devices and high pressure injections. **Lab on a Chip**, v. 11, p. 3752-3765, 2011. ISSN 1473-0197.

SONG, Y.; HORMES, J.; KUMAR, C. S. S. R. Microfluidic Synthesis of Nanomaterials. **Small**, v. 4, n. 6, p. 698-711, 2008. ISSN 1613-6829.

SOTOMAYOR, M. D. P. T. et al. Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas. **Química Nova**, v. 31, p. 1755-1774, 2008. ISSN 0100-4042.

SOUAF, M. et al. Investigation of the InAs/GaAs Quantum Dots' Size: Dependence on the Strain Reducing Layer's Position. **Materials**, v. 8, p. 4699, 2015. ISSN 1996-1944.

SQUIRES, T. M.; QUAKE, S. R. Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale. **Reviews of Modern Physics**, v. 77, p. 977-1026, 2005.

STANISAVLJEVIC, M. et al. Quantum dots-fluorescence resonance energy transfer-based nanosensors and their application. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 74, p. 562-574, 2015. ISSN 0956-5663.

SUBRAMANI, S.; DEVARAJAN, M.; IBRAHIM, K. Properties of Ag layered in Te/Cd stack prepared by stacked elemental layer method. **Electronic Materials Letters**, v. 8, p. 263-268, 2012. ISSN 2093-6788.

SUMMERS, H. D. et al. Analysis of quantum dot fluorescence stability in primary blood mononuclear cells. **Cytometry Part A**, v. 77A, n. 10, p. 933-939, 2010. ISSN 1552-4930.

SUN, B. et al. Application of microfluidics technology in chemical engineering for enhanced safety. **Process Safety Progress**, v. 35, n. p. 365-373, 2016. ISSN 1547-5913.

SUN, Y.-P. et al. Preparation of Nanoscale Semiconductors through the Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS) into Liquid Solution. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 4663-4669, 2000. ISSN 0888-5885.

SUSUMU, K.; MEI, B. C.; MATTOUSSI, H. Multifunctional ligands based on dihydrolipoic acid and polyethylene glycol to promote biocompatibility of quantum dots. **Nat. Protocols**, v. 4, p. 424-436, 2009. ISSN 1754-2189.

SWAIN, B. et al. Optimization of CdSe nanocrystals synthesis with a microfluidic reactor and development of combinatorial synthesis process for industrial

production. **Chemical Engineering Journal**, v. 308, p. 311-321, 2017. ISSN 1385-8947.

TAKAHASHI, Y. et al. Development of an NMR Interface Microchip “MICCS” for Direct Detection of Reaction Products and Intermediates of Micro-syntheses Using a “MICCS-NMR”. **Analytical Sciences**, v. 23, p. 395-400, 2007.

TAO, P. et al. Transparent luminescent silicone nanocomposites filled with bimodal PDMS-brush-grafted CdSe quantum dots. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 1, p. 86-94, 2013. ISSN 2050-7526.

TAVARES, A. J. et al. On-Chip Transduction of Nucleic Acid Hybridization Using Spatial Profiles of Immobilized Quantum Dots and Fluorescence Resonance Energy Transfer. **Analytical Chemistry**, v. 84, p. 312-319, 2012. ISSN 0003-2700.

TIAN, S. et al. Reaction engineering studies of the continuous synthesis of CuInS₂ and CuInS₂/ZnS nanocrystals. **Chemical Engineering Journal**, v. 289, p. 365-373, 2016. ISSN 1385-8947.

TOKEL, O. et al. Portable Microfluidic Integrated Plasmonic Platform for Pathogen Detection. **Scientific Reports**, v. 5, p. 9152, 2015. ISSN 2045-2322.

TOMA, H. E. et al. The coordination chemistry at gold nanoparticles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 1158-1176, 2010. ISSN 0103-5053.

TRIPATHI, S. K.; KAUR, R.; SHARMA, M. Synthesis and characterization of TGA-capped CdTe nanoparticles embedded in PVA matrix. **Applied Physics A**, v. 118, p. 1287-1295, 2015. ISSN 0947-8396.

TSAY, J. M.; MICHALET, X. New Light on Quantum Dot Cytotoxicity. **Chemistry & Biology**, v. 12, p. 1159-1161, 2005. ISSN 1074-5521.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951. ISSN 0366-9033.

USON, L. et al. Continuous microfluidic synthesis and functionalization of gold nanobastões. **Chemical Engineering Journal**, v. 285, p. 286-292, 2016. ISSN 1385-8947.

VAKARELSKI, I. U.; MCNAMEE, C. E.; HIGASHITANI, K. Deposition of silica nanoparticles on a gold surface via a self-assembled monolayer of (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 295, n. 1-3, p. 16-20, 2007. ISSN 0927-7757.

VALE, B. R. C. et al. Efeito da estrutura molecular de ligantes de superfície em pontos quânticos de cdte dispersos em água. **Química Nova**, v. 38, p. 22-29, 2015. ISSN 0100-4042.

VANDER WIEL, J. B. et al. Characterization of Chlorella vulgaris and Chlorella protothecoides using multi-pixel photon counters in a 3D focusing optofluidic system. **RSC Advances**, v. 7, p. 4402-4408, 2017.

VASHIST, S. K. A highly-sensitive and rapid Surface Plasmon Resonance immunoassay procedure based on the covalent-orientated immobilization of antibodies. v. 9, p. 1569-1574, 2011. ISSN 2043-0116.

VIOL, L. C. D. S. et al. Precipitação seletiva de tamanhos em nanopartículas semicondutoras coloidais de CdTe e CdSe: um estudo por espectroscopia UV-VIS. **Química Nova**, v. 34, p. 595-600, 2011. ISSN 0100-4042.

VISTAS, C. R.; ÁGUAS, A. C. P.; FERREIRA, G. N. M. Silanization of glass chips—A factorial approach for optimization. **Applied Surface Science**, v. 286, p. 314-318, 2013. ISSN 0169-4332.

WAGNER, J.; KÖHLER, J. M. Continuous Synthesis of Gold Nanoparticles in a Microreactor. **Nano Letters**, v. 5, n. 4, p. 685-691, 2005. ISSN 1530-6984.

WANG, C.; ASTRUC, D. Nanogold plasmonic photocatalysis for organic synthesis and clean energy conversion. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 20, p. 7188-7216, 2014. ISSN 0306-0012.

WANG, H. et al. Highly Luminescent CdSe/ZnS Nanocrystals Synthesized Using a Single-Molecular ZnS Source in a Microfluidic Reactor. **Advanced Functional Materials**, v. 15, n. 4, p. 603-608, 2005. ISSN 1616-3028.

WANG, N. et al. Optofluidic UV-Vis spectrophotometer for online monitoring of photocatalytic reactions. **Scientific Reports**, v. 6, p. 28928, 2016.

WANG, P. et al. Direct measurement of composition of buried quantum dots using aberration-corrected scanning transmission electron microscopy. **Applied Physics Letters**, v. 89, n. 7, p. 072111, 2006. ISSN 0003-6951.

WANG, S. et al. Paper-based chemiluminescence ELISA: Lab-on-paper based on chitosan modified paper device and wax-screen-printing. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 31, n. 1, p. 212-218, 2012. ISSN 0956-5663.

WANG, Y. et al. Exchange of (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane with alkanethiol and co-adsorption on silver powder. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 287, n. 1–3, p. 226-231, 2006. ISSN 0927-7757.

WANG, Y. et al. A Biomimetic Silk Fibroin/Sodium Alginate Composite Scaffold for Soft Tissue Engineering. **Scientific Reports**, v. 6, p. 39477, 2016.

WATT, J. et al. Effect of Seed Age on Gold Nanorod Formation: A Microfluidic, Real-Time Investigation. **Chemistry of Materials**, v. 27, n. 18, p. 6442-6449, 2015. ISSN 0897-4756.

WEI, H.; HOSSEIN ABTAHI, S. M.; VIKESLAND, P. J. Plasmonic colorimetric and SERS sensors for environmental analysis. **Environmental Science: Nano**, v. 2, n. 2, p. 120-135, 2015. ISSN 2051-8153.

WEI, W. et al. Preparation of quantum dot luminescent materials through the ink approach. **Materials & Design**, v. 91, p. 165-170, 2016. ISSN 0264-1275.

WENG, J. et al. Highly luminescent CdTe quantum dots prepared in aqueous phase as an alternative fluorescent probe for cell imaging. **Talanta**, v. 70, n. 2, p. 397-402, 2006. ISSN 0039-9140.

WENG, X.; NEETHIRAJAN, S. A microfluidic biosensor using graphene oxide and aptamer-functionalized quantum dots for peanut allergen detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 85, p. 649-656. ISSN 0956-5663..

WHITESIDES, G. M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 368-373, 2006. ISSN 0028-0836.

WILCOXON, R. J. J. **Metal Nanoparticles e Nanoalloys**. Elsevier Science, 2012. v. 3. p. 312. ISBN 9780080982113.

WILSON, R. et al. Signal Enhancement of Surface Enhanced Raman Scattering and Surface Enhanced Resonance Raman Scattering Using in Situ Colloidal Synthesis in Microfluidics. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 5, p. 2119-2123, 2010. ISSN 0003-2700.

WU, S. et al. A simple and economical one-pot method to synthesize high-quality water soluble CdTe QDs. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 29, p. 14573-14578, 2012. ISSN 0959-9428.

XIAO, J. et al. Ferric ion-assisted in situ synthesis of silver nanoplates on polydopamine-coated silk. **J Colloid Interface Sci**, v. 479, p. 244-50, 2016. ISSN 1095-7103.

XING, Y. et al. Bioconjugated quantum dots for multiplexed and quantitative immunohistochemistry. **Nat. Protocols**, v. 2, n. 5, p. 1152-1165, 2007. ISSN 1754-2189.

YAN, C. et al. Synthesis of Aqueous CdTe/CdS/ZnS Core/shell/shell Quantum Dots by a Chemical Aerosol Flow Method. **Nanoscale Research Letters**, v. 5, n. 1, p. 189, 2009. ISSN 1556-276X.

YANG, H. et al. Synthesis of Monodisperse Nanocrystals via Microreaction: Open-to-Air Synthesis with Oleylamine as a Coligand. **Nanoscale Research Letters**, v. 4, n. 4, p. 344, 2009. ISSN 1556-276X.

YANG, H. W., LUAN.; SHAN-TUNG ,TU AND ZHIMING, M, WANG. High-Temperature Synthesis of CdSe Nanocrystals in a Serpentine Microchannel: Wide Size Tunability Achieved under a Short Residence Time. **Crystal Growth & Design**, v. 9, p. 1569–1574, 2010. ISSN 1528-7483.

YAO, X. et al. Review of the applications of microreactors. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 47, p. 519-539, 2015. ISSN 1364-0321.

YEN, B. K. H. et al. A Microfabricated Gas–Liquid Segmented Flow Reactor for High-Temperature Synthesis: The Case of CdSe Quantum Dots. **Angewandte Chemie**, v. 117, n. 34, p. 5583-5587, 2005. ISSN 1521-3757.

YETISEN, A. K.; AKRAM, M. S.; LOWE, C. R. Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices. **Lab on a Chip**, v. 13, n. 12, p. 2210-2251, 2013. ISSN 1473-0197.

YOCKELL-LELIEVRE, H. et al. Plasmonic sensors for the competitive detection of testosterone. **Analyst**, v. 140, n. 15, p. 5105-5111, 2015. ISSN 0003-2654.

YU, P., CARDONA, MANUEL. **Fundamentals of Semiconductors**. 4. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 2010. XXII, 778 ISBN 978-3-642-00710-1.

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, 2003. ISSN 0897-4756.

YUAN, Y.; LEE, T. R. Contact Angle and Wetting Properties. In: BRACCO, G. e HOLST, B. (Ed.). **Surface Science Techniques**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. p.3-34. ISBN 978-3-642-34243-1.

YUE, J. et al. Microreactors with integrated UV/Vis spectroscopic detection for online process analysis under segmented flow. **Lab on a Chip**, v. 13, n. 24, p. 4855-4863, 2013. ISSN 1473-0197.

YUE, J.; SCHOUTEN, J. C.; NIJHUIS, T. A. Integration of Microreactors with Spectroscopic Detection for Online Reaction Monitoring and Catalyst Characterization. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 45, p. 14583-14609, 2012. ISSN 0888-5885.

ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. **Química Nova**, v. 30, p. 1469-1479, 2007. ISSN 0100-4042.

ZHANG, J. et al. Continuous flow chemistry: New strategies for preparative inorganic chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 324, p. 39-53, 2016. ISSN 0010-8545.

ZHANG, J. Z.; NOGUEZ, C. Plasmonic Optical Properties and Applications of Metal Nanostructures. **Plasmonics**, v. 3, n. 4, p. 127-150, 2008. ISSN 1557-1963..

ZHANG, L. et al. Seed-Mediated Synthesis of Silver Nanocrystals with Controlled Sizes and Shapes in Droplet Microreactors Separated by Air. **Langmuir**, v. 29, n. 50, p. 15719-15725, 2013. ISSN 0743-7463.

ZHANG, Q.; CHAKRABORTY, A. K.; LEE, W. I. Preparation of titania nanotape array and its photocatalytic property. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 69, n. 5-6, p. 1450-1453, 2008. ISSN 00223697.

ZHANG, X.-F.; ZHANG, Y.; LIU, L. Fluorescence lifetimes and quantum yields of ten rhodamine derivatives: Structural effect on emission mechanism in different solvents. **Journal of Luminescence**, v. 145, p. 448-453, 2014.

ZHANG, X. et al. Highly sensitive and selective colorimetric sensing of antibiotics in milk. **Analytica Chimica Acta**, v. 778, p. 63-69, 2013. ISSN 0003-2670.

ZHANG, Z.; ZHAO, B.; HU, L. PVP Protective Mechanism of Ultrafine Silver Powder Synthesized by Chemical Reduction Processes. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 105-110, 1996. ISSN 0022-4596.

ZHAO, C. et al. Small GSH-Capped CuInS₂ Quantum Dots: MPA-Assisted Aqueous Phase Transfer and Bioimaging Applications. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 32, p. 17623-17629, 2015. ISSN 1944-8244.

ZHONG, H. et al. Synthesis of Type II CdTe–CdSe Nanocrystal Heterostructured Multiple-Branched Rods and Their Photovoltaic Applications. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 17, p. 6538-6543, 2007. ISSN 1932-7447.

ZHONG, L.-B. et al. Self-Assembly of Au Nanoparticles on PMMA Template as Flexible, Transparent, and Highly Active SERS Substrates. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 13, p. 6262-6267, 2014. ISSN 0003-2700.

ZHOU, W.; COLEMAN, J. J. Semiconductor quantum dots. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 20, n. 6, p. 352-360, 2016. ISSN 1359-0286.

Trabalho publicado na Microwave and Optoelectronics Conference (IMOC), 2015 SBMO/IEEE MTT-S International

Development of a localized surface plasmon resonance platform for Candida albicans antigen identification

Wendell W. Neves, Rosa F. Dutra, Renato E. de Araujo
Universidade Federal de Pernambuco
Recife, Brazil
renato.earaujo@ufpe.br

Omar Pandoli, Tommaso del Rosso, Cecilia G. Siqueira, Leonardo M. de Lima, Juliana Pinheiro.
Pontificia Universidade Católica do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro, Brazil

Abstract—The incidence of hospital infections caused by the fungus *Candida albicans* has increased substantially in the past decades. Specific tests for the diagnosis of sepsis due to *Candida albicans* have high cost and require a long time to obtain results. Given this situation and considering the need for constant search for alternatives in the diagnosis of septicemia by *Candida albicans*, in this work was developed and evaluated a new sensing platform for an optical immunosensor based on localized surface plasmon resonance. The sensing platform corresponds to a glass slide with nanoparticles of silver adhered on its surface and functionalized with monoclonal anti-candida antibodies of the immunoglobulins class. Cysteine molecules were used as ligand in the antibodies functionalization process and glycine as blockers of non-functionalized sites of the platform. On the preparation of the sensing platform, different concentrations of antibodies were explored. In the evaluation of the platform as a *Candida albicans* antigens sensor, the identification of different antigen concentrations was demonstrated. The results show the system ability to identify *Candida albicans* antigen concentrations greater than 50ng/mL, indicating the possibility of the use of the platform as immunosensor for *Candida*.

Keywords— plasmon resonance; nanoparticle; optical sensor; diagnostic device

I. INTRODUCTION

The occurrence of invasive infections caused by yeasts in intensive care unit has increased substantially in the past decades. Hospital infections by pathogenic fungi have become a major cause of mortality in immunodeficient patients or individuals under immunosuppressive treatment [1, 2, 3]. In particular, *Candida albicans* is the most common species involved in a variety of hospital yeast infections. Yeast infections caused by *Candida* species are known as Candidemia. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Polymerase chain

reaction (PCR), electrophoresis and solid phase radioimmunoassay (RIA) are technics explored on the identification of human antibodies to *Candida albicans* [4], which require highly skilled personnel, laborious procedure and are time consuming. Candidemia diagnosis is thus complex and current commercial solutions are not completely satisfactory. Therefore the development of new diagnostic methods and devices can introduce a new perspective on clinical procedures.

In that context, optical based sensors can be explored as fast, reliable and fairly simple method for diagnostic medical devices. In particular, Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) phenomenon can be explored in order to obtain a cheap, and accurate label-free molecular sensing [5]. Localized surface plasmon resonance is associated to a collective oscillation of the conduction electrons in the metal. It is known that metallic nanoparticles (NPs) scatter light elastically with remarkable efficiency at the plasmon resonance frequency [6]. Moreover, the plasmon resonance frequency is dependent of the size, material and shape of the NP, and its environment [6]. Metal nanostructures are increasingly receiving attention as important starting points for the development molecular biosensors for medical diagnosis as cancer-related biomolecules [7], Alzheimer disease [8], influenza virus [9], HIV-1 virus [10], Dengue virus [11], hepatitis B virus [12] and preeclampsia [13]. Basically, all LSPR molecular sensors are base on the evaluation of the Plasmon Resonance peak shift, due to the adhesion of molecules on the NPs surface.

Here, in this work we developed and evaluated a new optical platform for *Candida albicans* antigen identification, base on LSPR.

II. MATERIAL AND METHOD

The sensing platform corresponds to a glass slide with nanoparticles of silver adhered on its surface and functionalized with monoclonal anti-candida antibodies of the IgG class. The development procedure of the platform involve the synthesis of Ag NPs and its deposition on a glass slide, and the immobilizing of *Candida albicans* antibodies on the NPs.

A. Preparation of glass slide with Ag NPs

Silver nanoparticles were synthesized by mean of sol-gel method for chemical reduction of AgNO_3 in the presence of potassium sodium tartarate with NaBH_4 at the molar ratio of 1:1:1,5, respectively. The self-assembled monolayer (SAM) of Ag-NPs on glass was prepared with a procedure adapted from the reference [14].

After cleaning, a glass substrate were hidroxilated using a Piranha solution ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2=1:3$), and incubated for 2 hours into a 2,5% solution of mercaptopropyl-triethoxysilane (MPTS) on toluene. The chemical bonding of MPTS exposed the terminal mercapto groups on the surface of glass enabling the immobilization of the Ag-NPs. This was accomplished by exposing (overnight) the MPTS modified substrate to a colloidal solution of Ag-NPs. Then, the surface of the film was rinsed with water to be finally dried with a gentle nitrogen flow. Wettability studies, carried out on automated goniometer with drop image advanced V2.5, were made in each step of the preparation of Ag NPs film on glass. UV-VIS and Scanning Electron Microscopy (SEM) characterization of the film.

B. Preparation of LSPR platform

The glass slide with Ag NPs was cleaned with a 0.2 M solution of nitric acid (HNO_3). The slide was immersed for approximately 2 hours in a 50 mM solution of Cysteamine (2- aminoethanethiol) in ethanol. The amine group (N_2H) of the Cysteamine allows the binding of the *Candida* antibodies carboxyl group to the sensing platform [15].

To immobilize the *Candida* antibodies, the slide with Ag NPs and Cysteamine was immersed for 1 hour in phosphate buffered saline (PBS) solutions with different antibodies concentrations. Monoclonal anti-candida antibodies of immunoglobulins class from rabbits (GenWayBio) were explored. On the platform development the free-amine groups of Cysteamine were blocked with Glycine, to ensure that the antigens will bind only with *Candida* antibodies. For that the glass slide with NPs and antibodies was immersed for 1 hour in a 50mM aqueous solution of Glycine. After cleaning the platform with MiliQ water, the platform was ready to identify *Candida albicans* antigen.

C. *Candida albicans* antigen detection

Different concentrations of *Candida albicans* antigens solution, from GenWayBio, were prepared in PBS. To evaluate if the platform could detect the presence of *Candida albicans* antigen, a small volume of the antigen solution was dropped on its surface, for one hour. After that, the platform was dry and optical extinction spectroscopy was performed. UV-Visible spectra, from 350nm to 800nm, were obtained using a spectrophotometer from Thermo Scientific (model Evolution 600), with 0.2nm spectral resolution.

III. RESULTS AND DISCUSSION

Fig. 1 shows SEM image of the prepared Ag NPs. NPs with diameter of approximately $12 \pm 5\text{nm}$ were use on the platform structure. The inset in Fig. 1 indicates the NPs diameter distribution. The optical extinction spectrum of the NPs on the glass slides shows an LSPR peak at 420nm. The LSPR spectrum peak-shift indicates the adhesion of molecules on the system surface. With the immobilization of *Candida albicans* antibodies on the glass slide with NP, a red shift of the LSPR peak were observed. The use of antibodies solution with different concentration induced changes on the extinction spectrum. Fig. 2 indicates the LSPR peak wavelength of the NP on glass slide after antibodies immobilization. The increase of antibodies solution concentration allows an expansion of the number of immobilization sites on the NPs surface, and therefore a longer spectrum shift. The use of

solution with 300ng/mL antibody concentration induced a significant shift (~31nm) of the LSPR peak. After the immobilization of *Candida albicans* antibodies, using 300ng/mL antibodies solution, on the NPs aggregated on a glass slide, Glycine was used blocking the Cysteamine free-amine groups. In Fig. 3 a schematic diagram of the platform is presented. In the schematics of Fig. 3 the Ag NPs are represented as gray spheres, the ligand (Gysteamine) is shown as orange lines, the Glycine are indicated as green stars and the of *Candida albicans* antibodies are presented as green/blue Ys.

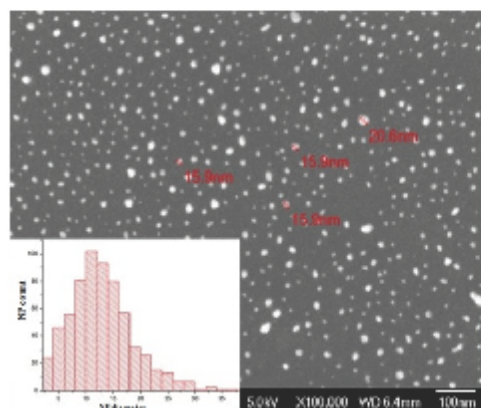


Fig.1: Ag NPs SEM Image on glass substrate.

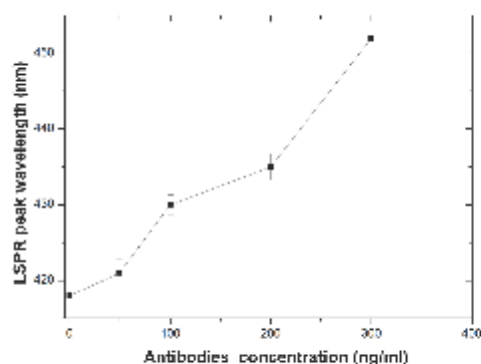


Fig. 2: LSPR peak wavelength obtained with the use of different antibodies solution concentration

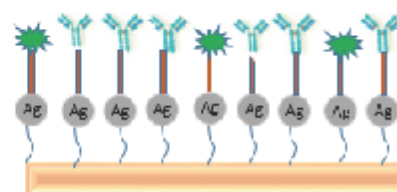


Fig. 3: LSPR platform for *Candida albicans* antigen detection; Ag NPs (gray spheres); Cysteamine (orange lines); Glycine (green stars); *Candida albicans* antibodies (green/blue Ys).

Spectral shift was observed after every step of platform manufacturing procedure, as presented on Fig. 4. The LSPR peak, initially at 425 nm (black line in Fig. 4), move 10nm after Cysteamine binding to the Ag NPs (red line in Fig. 4). In Fig. 4, the green spectrum presents a LSPR peak at 438nm after the immobilization of antibodies (300ng/mL) and Glycine. Another significant spectrum shift was observed when *Candida albicans* antigen was identified by the platform (purple line in Fig. 4). A 25nm red shift indicating an antigen-antibody bounding was observed when a 300ng/mL solution of antigen were dropped and dried on the platform.

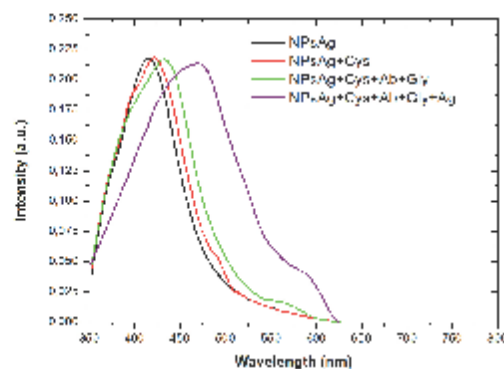


Fig. 4: Extinction spectrum of the LSPR systems

In Fig. 5 the shifts of the LSPR peak are indicated for all platform manufacturing steps and antigen detection procedure, with 300ng/mL *Candida albicans* solution. The spectrum shift observed when antigen is detected indicates the possibility of using the platform in a biosensor device. An 8nm shift was also observed when using a lower antigen concentration (50ng/mL).

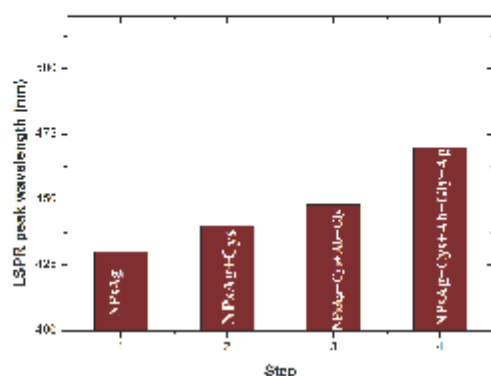


Fig. 5: LSPR peak wavelength for each manufacturing steps and antigen detection.

IV. CONCLUSION

Candida albicans is one of the most common microorganism involved hospital infections. Candidemia diagnosis is complex, and there is no inexpensive, fast, and free-label commercially available diagnostic device for *Candida albicans* identification.

Here, we presented a new optical platform for a *Candida albicans* antigen, base on LSPR. The developed sensing platform consists of a glass slide with silver nanoparticles on its surface and functionalized with monoclonal anti-candida antibodies.

The platform development procedure was evaluated using optical transmission spectroscopy, and LSPR spectrum shift were perceived, resulting from the adhesion of molecules on the NPs surface.

The sensing platform was able to identify small concentration (50ng/mL) of *Candida albicans* antigen in a solution dropped on the platform. The results indicated the viability of exploring LSPR effect on *Candida albicans* antigen biosensor. Future development toward the establishment of this sensor involves the identification the system sensibility in serum samples.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thanks the supported from the Center of Excellence in Nanophotonics and Biophotonics (PRONEX/FACEPE/CNPq), INCT Fotônica (CNPq) and FAPERJ.

REFERENCES

- [1] B. Almirante, D. Rodriguez, and B.J. Park, "Epidemiology and predictor of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 43, pp. 1829-1835, 2005.
- [2] J.A. Abelson, et al. "Frequency of fungemia in hospitalized pediatric inpatients over 11 years at a tertiary care institution," *Pediatrics*, vol. 116, pp.61-67, 2005.
- [3] H. Alonso-Villa, H. et al. "Candidemia in tertiary care hospital: epidemiology and factors influencing mortality," *Europ Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 22, pp. 254-7, 2003.
- [4] w. Karwowska 1984] L. D. Repentigny, "Serological techniques for diagnosis of fungal infection," *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 8, pp. 362-375, 1989.
- [5] K.M. Mayur, J. H. Hafner, "Localized Surface Plasmon Resonance Sensors," *Chem. Rev.*, vol. 111, pp. 3828-3857, 2011.
- [6] C.D. Geddes, J.R. Lakowicz "Metal-enhanced fluorescence," *J Fluoresc.*, vol. 12, pp.121- 129, 2002.
- [7] Y. Hong, Y.M. Huh, D.S. Yoon, J. Yang, "Nanobiosensors Based on Localized Surface Plasmon Resonance for Biomarker Detection," *Journal of Nanomaterials*, col. 2012, pp. 1-13, 2012
- [8] A.J. Haas, W.P. Hall, L. Chang, W.L. Klein, R.P. van Druyn, "Detection of a biomarker for Alzheimer's disease from synthetic and clinical samples using a nanoscale optical biosensor," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127, pp. 2264-2271, 2005.
- [9] T.J. Park, S.J. Lee, D.K. Kim, N.S. Hao, J.Y. Park, S.Y. Lee, "Development of label-free optical diagnosis for sensitive detection of influenza virus with genetically engineered fusion protein," *Talanta*, vol. 89, pp. 246-252, 2012.
- [10] J.H. Lee, B.C. Kim, B.K. Oh, J.W. Choi, "Highly sensitive localized surface plasmon resonance immunosensor for label-free detection of HIV-1," *Nanomedicine*, vol. 9, pp. 1018-1026, 2013.
- [11] A.R. Camara, A.C.M. Dias, P.M. Gouveia, A.M. Braga, R. F. Dutra, R.E. Araujo, I.C. Carvalho, Dengue immunoassay with an LSPR fiber optic sensor," *Opt Express*, vol. 22, pp. 27023-31, 2013.
- [12] S. Zheng, D.K. Kim, T.J. Park, S.J. Lee, and S.Y. Lee, "Label- free optical diagnosis of hepatitis B virus with genetically engineered fusion proteins," *Talanta*, vol. 82, pp. 803- 809, 2010.
- [13] B.L. Goodall, A.M. Robinson, C.L. Brosseau, "Electrochemical-surface enhanced Raman spectroscopy (E-SERS) of uric acid: A potential rapid diagnostic method for early gout/clampsis detection," *Phy. Chem. Chem. Phys.*, vol. 15, pp.1382-1388, 2013.
- [14] J.C.R. Vistas, A. C.P. Aguiar, G.N.M. Ferreira, "Silanization of glass chips—A factorial approach for optimization," *Applied Surface Science* vol. 286, pp 314-318, 2013.
- [15] B.V. Silva, I.T. Cavalcanti, M.M. Silva, R.F. Dutra, "A carbon nanotube screen-printed electrode for label-free detection of the human cardiac troponin T," *Talanta*, vol. 117, pp. 431-437, 2013.