

UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
E BIOTECNOLOGIA

**DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMA FUNCIONALIZADA COM
CdSe/CdS: ASSOCIANDO *QUANTUM DOTS* COM A
ELETROQUÍMICA**

CAIO CÉSAR LIMA DE FRANÇA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Campus A. C. Simões

Tabuleiro dos Martins

57072-970 - Maceió - AL

CAIO CÉSAR LIMA DE FRANÇA

Desenvolvimento de plataforma funcionalizada com CdSe/CdS: associando *quantum dots* com a eletroquímica.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração: Físico-Química.

Orientadora: Prof^a. Dra. Fabiane Caxico de Abreu Galdino

Maceió – AL

2016

Catlogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

F814d França, Caio César Lima de.
Desenvolvimento de plataforma funcionalizada com CdSe/CdS:
Associado quantum dots com a eletroquímica / Caio César Lima de
França. – 2015.
66 f. : il., grafs., tabs.

Orientadora: Fabiane Caxico de Abreu Galdino.
Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade
Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de
Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2015.

Bibliografia: f. 62-66.

1. Quantum dot. 2. Mangiferina. 3. Estrutura núcleo casca de
seleneto de cádmio e sulfeto de cádmio (CdSe/CdS). 4. β-ciclodextrina.
5. Microsistema. I. Título.

CDU:544.6.018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone/Fax: (82) 3214-1144
email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação de Mestrado de **Caio César de Lima França**, intitulada: **“DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMA FUNCIONALIZADA COM CdSe/CdS: ASSOCIANDO QUANTUM DOTS COM A ELETROQUÍMICA”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 18 de janeiro de 2016, às 14h, na Sala de Multimeios do Bloco 13 da Universidade Federal de Alagoas.

COMISSÃO JULGADORA


Profa. Dra. Fabiane Caxico de Abreu Galdino
Orientadora (PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Diógenes Meneses dos Santos
(UFAL - Penedo)


Prof. Dr. Wander Gustavo Botero
(UFAL - Arapiraca)

“No dia em que eu clamei tu me atendestes e alentastes a força de minha alma”.
Salmos 138. 3.

Dedico este trabalho ao meu DEUS e aos meus pais João Bosco Nascimento de França e Gilcélia Alves Lima de França, pois eles foram e sempre serão o meu alicerce e meu porto seguro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço antes de tudo ao meu DEUS, criador dos céus e da terra, por ter me dado o fôlego de vida e por me dar forças para prosseguir esta jornada que está somente no início. Agradeço aos meus pais, João Bosco e Gilcélia e a minha irmã Caroline, pelo amor incondicional, pelo incentivo, pela criação e formação de meu caráter cristão.

Agradeço à professora Dra. Fabiane Caxico pelo acolhimento e boa vontade comigo, mesmo sem me conhecer, abrindo as portas para que este trabalho pudesse ser desenvolvido, ao professor Dr. Diógenes Meneses pelos ensinamentos de microfluídica. Ao professor Dr. Marcos Dias Vermelho e à professora Dra. Anielle Christinne por terem cedido a amostra de CdSe/CdS.

Agradeço aos meus colegas de laboratório Emanuelle Gomes, Sara Nascimento, Jéssica e Laíne que me acompanharam mais de perto no desenvolvimento do trabalho. Agradeço, também, ao Angladis pela amizade e boas gargalhadas aos sábados, ao Cleylton por ter me ensinado a utilizar o NOVA®. Agradeço também à minha amiga de graduação Sarah Cavalcante pelo auxílio antes da seleção, agradeço também ao Elyson David por me ajudado quando eu muito precisei; também gostaria de fazer uma menção honrosa ao meu camarada Antenor Barbosa, se durante a minha vida acadêmica eu sempre encontrasse amigos como você seria muito mais prazeroso estudar físico-química.

Agradeço também ao meu amigo do peito que hoje se encontra na UFRJ Rafael Ferreira pelo incentivo e pelas palavras que alimentaram meus ânimos quando estive desanimado. Serei também eternamente grato ao meu amigo do ensino médio Jhones Steffanny pois durante o 3º ano quando mais precisei de sua ajuda ele me estendeu a mão.

Gostaria de agradecer à minha amiga Rosicleide Viturina pelo amor, carinho e auxílio antes de entrar no programa e durante o início do meu trabalho. Agradeço a Cristina Patriota pelo ombro amigo durante todo o desenvolvimento deste trabalho, por ter me dado suporte quando mais precisei e pela correção ortográfica.

Agradeço à UFAL e ao IQB por manter o Programa de Pós Graduação em Química e Biotecnologia. Por fim, agradeço ao CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO

Sistemas moleculares com alta sensibilidade e especificidade têm sido buscados em eletroquímica. Para isso, procura-se inovação para o desenvolvimento de camadas auto montadas. O objetivo de se modificar a superfície de um eletrodo é aumentar sua estabilidade físico-química e interação com um analito específico. Neste âmbito, sistemas hóstede-hospedeiro são uma boa alternativa para tais sistemas. O uso de *quantum dots* em eletroquímica tem aumentado consideravelmente, em vista às suas propriedades ópticas e eletrônicas. Os *quantum dots* são extensivamente estudados em suas propriedades ópticas, no entanto, suas propriedades elétricas são deficientes de literatura rebuscada quando comparado com o volume e qualidade da literatura existente sobre as propriedades ópticas. No presente estudo, buscou-se desenvolver um sensor eletroquímico testado inicialmente com a mangiferina (MGN), um composto químico natural com amplo aspecto biológico, utilizando eletrodo de ouro modificado com β -ciclodextrina (β -CD) e o *quantum dot* de estrutura núcleo casca, seleneto de cádmio/sulfeto de cádmio (CdSe/CdS). Esse sistema foi caracterizado frente às propriedades eletroquímicas utilizando-se as técnicas de voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e espectroscopia de impedância eletroquímica. Para caracterização frente às suas propriedades ópticas, utilizou-se espectroscopia de UV-Vis e Fluorescência. Posteriormente, desenvolveu-se o sistema eletroquímico em um microdispositivo microfluídico para a detecção de mangiferina. Conseguiu-se obter detecção eletroquímica pela técnica de voltametria cíclica na faixa de concentração de $3 \mu\text{molL}^{-1}$ a $30 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina faixa menor que a reportada em estudos anteriores, vale ressaltar que obteve-se pico de corrente maior; calculou-se a constante de interação pela derivada da isoterma de Langmuir obtendo-se um valor de $1,66 \times 10^5 \text{ Lmol}^{-1}$ enquanto que em estudos anteriores a constante teve o valor de $7,75 \times 10^4 \text{ Lmol}^{-1}$ ou seja um valor 2,15 vezes maior. Utilizando a voltametria de pulso diferencial obteve-se detecção de $1 \mu\text{molL}^{-1}$ a $30 \mu\text{molL}^{-1}$. Utilizando espectroscopia de UV-Vis houve um deslocamento da banda de 368 nm para 380 nm, ou seja para um comprimento de onda onde a energia necessária é menor. Já na espectroscopia de fluorescência em presença de CdSe/CdS, houve um aumento de 8 vezes na intensidade da banda quando comparado às análises realizadas na ausência de CdSe/CdS. No microdispositivo, obteve-se detecção eletroquímica na concentração de $50 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina.

Palavras chaves: *Quantum dot*. Mangiferina. CdSe/CdS. β -ciclodextrina. Microsistema.

ABCSTRAT

Molecular systems with high sensitivity and specificity have been searched in electrochemistry. Therefore, looking innovation in the development of self assembled layers. The purpose of modifying the surface of an electrode is to increase its physical and chemical stability and interaction with a specific analyte. In this context, host-guest systems are a good alternative for such systems. The use of quantum dots in electrochemistry has increased considerably, due to their optical and electronic properties. The quantum dots are studied extensively in their optical properties, however, its electrical properties are deficient in flowery literature when compared to the volume and quality of literature on the optical properties. In the present study, we sought to develop an electrochemical sensor initially tested with mangiferin (MGN), a natural chemical compound with broad biological aspect, using gold electrode modified with β -cyclodextrin (β -CD) and the quantum dot core structure bark, cadmium selenide/cadmium sulfide (CdSe/dS). This system was characterized opposite the electrochemical properties using the techniques of cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. For characterization front of their optical properties, we used a UV-Vis and fluorescence. Subsequently, it was developed a microfluidic electrochemical system for detecting microdevice mangiferin. We managed to get electrochemical detection by cyclic voltammetry technique in the concentration range of $3 \mu\text{molL}^{-1}$ to $30 \mu\text{molL}^{-1}$ mangiferin smaller range that reported in previous studies, it is noteworthy that we obtained higher peak current; was calculated at constant interaction by the derivative of isotherm Languimur yielding a value of $1.66 \times 10^5 \text{ Lmol}^{-1}$, whereas in previous studies was the constant value of $7.75 \times 10^4 \text{ Lmol}^{-1}$ that is a value 2.15 times greater. Using differential pulse voltammetry was obtained detection of $1 \mu\text{molL}^{-1}$ to $30 \mu\text{molL}^{-1}$. Using UV-Vis there was a shift in the band 368 nm to 380 nm, or a wavelength to which the required energy is lower. In the fluorescence spectroscopy in the presence of CdSe / CdS, an increase of 8 times the intensity of the band compared to the analyzes carried out in the absence of CdSe / CdS. In the microdevice, electrochemical detection was obtained at the concentration of $50 \mu\text{molL}^{-1}$ mangiferin.

Key words: *Quantum dot*. Mangiferin. CdSe/CdS. β -cyclodextrin. Microsystem.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Estrutura molecular da mangiferina</i>	12
Figura 2: <i>Ciclodextrinas</i>	13
Figura 3: <i>Interação entre mangiferina e -ciclodextrina</i>	14
Figura 4: <i>CdSe/CdS</i>	16
Figura 5: <i>Representação das diferentes habilidades das análises espectroscópicas e eletroquímicas para o estudo de nanopartículas</i>	21
Figura 6: <i>Voltamograma cíclico para um sistema reversível de $K_3Fe(CN)_6$ a 6 mmol L^{-1} e KNO_3 a 1 mol L^{-1}, com destaque para os parâmetros mais importantes</i>	23
Figura 7: <i>Voltametria de pulso diferencial</i>	25
Figura 8: <i>Representação estrutural da mono camada organizada</i>	35
Figura 9: <i>Microdispositivo utilizado nas análises</i>	36
Figura 10: <i>Voltamograma de voltametria cíclica registrada com 1 mmol L^{-1} de CdSe/CdS em DMF / TBAP $0,1\text{ mol L}^{-1}$ no eletrodo de carbono vítreo. Efeito da taxa de digitalização. A inserção mostra o pico catódico</i>	37
Figura 11: <i>Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro modificado (aminoetanotiol / MUA / CdSe/CdS / β-CDSH) em $0,2\text{ mol L}^{-1}$ a 1 mmol L^{-1} de NaH_2PO_4/Na_2HPO_4</i>	39
Figura 12: <i>Diagramas de Nyquist de EIS obtidos no eletrodo de ouro modificado: (a) eletrodo limpo, (b) Tiol/MUA, (c)Tiol/MUA/CdSe(CdS), (d) Tiol/MUA/CdSe/CdS/β-CD-SH. A faixa de frequência é entre 1 e 100 kHz, com amplitude do sinal de 5 mV</i>	40
Figura 13: <i>Sistema interagindo com a mangiferina ($100\text{ }\mu\text{mol/L}^{-1}$)</i>	41
Figura 14: <i>Sistema em linhas sólidas e preto, mangiferina à $70\text{ }\mu\text{molL}^{-1}$ em linhas tracejadas de vermelho</i>	42
Figura 15: <i>Sobreposição dos voltamogramas cíclicos com a variação das concentrações do analito</i> . 43	43
Figura 16: <i>Curva de calibração para as correntes de VC</i>	43
Figura 17: <i>$[MGN] / I_{pa}$ vs $[MGN]$</i>	46
Figura 18: <i>Sobreposição dos voltamogramas de VPD com a variação das concentrações do analito</i> . 47	47
Figura 19: <i>Curva de calibração para a VPD</i>	48
Figura 20: <i>Espectros de UV-vis na presença de CdSe/CdS</i>	49
Figura 21: <i>Espectros de UV-vis na ausência de CdSe/CdS</i>	50
Figura 22: <i>Espectros de UV-vis com excesso de CdSe/CdS</i>	51
Figura 23: <i>Espectros de fluorescência em presença de CdSe/CdS</i>	52
Figura 24: <i>Espectros de fluorescência na ausência de CdSe/CdS</i>	53
Figura 25: <i>Amperometria do microssistema</i>	54
Figura 26: <i>Representação estrutural da monocamada auto organizada</i>	55
Figura 27: <i>Caracterização eletroquímica do sistema aminotiol / CdSe/CdS / β-CDSH</i>	56
Figura 28: <i>Sobreposição dos voltamogramas cíclicos de mangiferina no sistema aminotiol / CdSe/CdS / β-CDSH</i>	57
Figura 29: <i>Curva de calibração de voltametria cíclica para o sistema aminotiol / CdSe/CdS / β-CDSH</i>	57
Figura 30: <i>$[MGN] / I_{pa}$ vs $[MGN]$</i>	58
Figura 31: <i>Sobreposição dos voltamogramas de voltametria de pulso diferencial para o sistema Aminotiol / CdSe/CdS / β-CDSH</i>	59
Figura 32: <i>Curva de calibração para a voltametria de pulso diferencial</i>	59

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

K_F = constante de formação
 λ = comprimento de onda
eV = elétron volt
 μ = micro
nm = nanômetro
 β -CD = beta ciclodextrina
 β -CDSH = beta ciclodextrina tiolada
A = ampere
 C_d = capacidade do condensador
d = diâmetro
E = potencial
I = corrente
 R_Ω = resistência
 R_{ct} = resistência de carga
 R_S = resistência
V = volt
 Z_f = impedância do processo
CdSe/CdS = estrutura núcleo casca de seleneto de cádmio e sulfeto de cádmio
CdTe/CdSe = estrutura núcleo casca de telureto de cádmio e selenito da cádmio
CdSe/CdTe = estrutura núcleo casca de selenito da cádmio e telureto de cádmio
DMF = Dimetilformamida
EIE = espectroscopia de impedância eletroquímica
EQMs = eletrodo quimicamente modificado
Histidina = $C_6H_9N_3O_2$
HOMO = *Highest Occupied Molecular Orbital*
LUMO = *lowest unoccupied molecular orbital*
MES = 2-(N-morfolino) etanossulfônico
MGN = mangiferina
MSQDs = magic small quantum dot
MUA = ácido 11-mercaptoundecanóico ($HOOC(CH_2)_{10}SH$)
PDMS = Polidimetilsiloxano
QD = *quantum dot*
RMN = ressonância magnética nuclear
TBAP = Tetrabutilamonio fosfato monobásico
UV-vis = ultraviolet na região do visível
USQDs = ultra small quantum dot
VC = voltametria cíclica
VPD = voltametria de pulso diferencial

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: *Testes diagnósticos em VC para os processos reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis*

22

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
1.1	Mangiferina	12
1.2	Ciclodextrina	13
1.3	Interação entre Mangiferina e β-Ciclodextrina	14
1.4	CdSe/CdS	15
1.5	Eletrodos modificados com monocamadas auto organizadas	16
1.6	Eletroquímica	21
1.6.1	Métodos eletroquímicos	21
1.6.1.1	Voltametria cíclica	22
1.6.1.2	Voltametria de pulso diferencial	24
1.6.1.3	Espectroscopia de impedância eletroquímica.....	25
1.6.1.4	Amperometria	26
1.7	Espectroscopia	26
1.7.1	Espectroscopia molecular de fluorescência.....	26
1.7.2	Espectroscopia molecular de UV-Vis	28
1.8	Microfluidica	29
2.	OBJETIVOS	31
2.1	Gerais	31
2.2	Específicos	31
3	Materiais e métodos	32
3.1	Reagentes e soluções	32
3.2	Métodos eletroquímicos	32
3.3	Métodos espectroscópicos molecular de fluorescência e UV-vis	33
3.4	Desenvolvimento do sensor	34
3.5	Microsistemas de análises	35
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	Desenvolvimento e estudo eletroquímico do sistema CdSe/CdS/β-CDHS	37
4.2	Interação do sistema aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β-CDSH com a mangiferina através da voltametria cíclica	41
4.3	Cálculo da Constante de Formação (K_F) de MGN na monocamada auto organizada de Aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β-CDSH	45
4.4	Interação do sistema com a mangiferina através da voltametria de pulso diferencial	46

4.5	Análises espectroscópicas	48
4.5.1	Espectroscopia UV-Vis	48
4.5.2	Espectroscopia de fluorescência.....	52
4.6	Desenvolvimento do microsistema	54
4.7	Desenvolvimento e caracterização eletroquímica do sistema CdSe/CdS/β-CDSH sem a presença de 11-MUA	55
4.8	Interação do sistema com a mangiferina através da voltametria cíclica	56
4.9	Calculo da Constante de Formação (K_F) de MGN na monocamada auto organizada de Aminotiol / CdSe/CdS / β-CDS.....	58
4.10	Interação do sistema com a mangiferina através da voltametria de pulso diferencial	58
5.	CONCLUSÕES	60
6.	REFERÊNCIAS	62

1. INTRODUÇÃO

Os *quantum dots* (QD) (do inglês, em livre tradução para o português pontos quânticos) são nanocristais semicondutores que apresentam suas dimensões na ordem de nanômetros; e nesta escala de tamanho passam a exibir diferentes propriedades ópticas e eletrônicas dependendo do confinamento quântico da luz e de seus efeitos fotofísicos; são investigados desde os primeiros estudos após a sua descoberta (ZHAO *et al.*, 2014, DRADRACH, BARTKIEWICZ, MINIEWICZ, 2014; ZENG *et al.*, 2015; JUHO *et al.*, 2011; CHENG *et al.*, 2014). Particularmente, os espectros de absorção e emissão de CdSe/CdS, bem como o de qualquer QD, pode ser sintonizado de azul para vermelho no espectro eletromagnético, dependendo do seu tamanho e da sua forma (DROZDOV *et al.*, 2013; LIANG-SHI *et al.*, 2001). Isso os torna um material adequado para utilização em sensores químicos e biológicos, especialmente como carreadores de drogas e imagiologia celular, a memória óptica de alta densidade, e exibe LED (DROZDOV *et al.*, 2013; ROQUES-CARMES *et al.*, 2011; SHIRIN, RAMESH, SEIFALIAN 2011; JIN, HILDEBRANDT, 2012).

Nanocristais mágicos (MSQDs) são *quantum dots ultrasmall* (ultra pequenos) (USQDs) que apresentam propriedades físicas melhores em comparação com os *quantum dots* tradicionais. Esses MSQDs têm estrutura estável termodinamicamente, amplo espectro de emissão, eficiência quântica de fluorescência e absorvidade molar maior do que QDs tradicionais (BERI *et al.*, 2011, CHEN, SAMIA, BURDA, 2005) e luminescência altamente estável em culturas de células uterinas (SILVA *et al.*, 2013). Silva *et al.* (2013) demonstraram que estas MSQDs são vantajosas na área biológica (SILVA *et al.*, 2013) e, além disso, é possível controlar a citotoxicidade em função do efeito de superfície (SILVA *et al.*, 2014). Portanto, a fim de verificar a aplicabilidade dessas MSQDs em dispositivos, neste trabalho, nós investigamos o comportamento eletroquímico de CdSe/CdS MSQDs ponto quântico livres em meio aprótico utilizando eletrodo de carbono vítreo e imobilizado em um eletrodo de ouro modificado com ciclodextrina automontados em monocamada.

A eletroquímica dos QDs mais estudados são, em particular, os nanocristais de CdSe e CdTe, porém em menor grau se comparado aos estudos das propriedades ópticas. Medidas voltamétricas podem ser utilizadas para sondar os níveis redox disponíveis para os nanocristais, que é uma peça de informação muito valiosa se estes sistemas estão envolvidos em processos de transferência de elétrons. Dados eletroquímicos também podem favorecer a interpretação das propriedades espectroscópicas de QDs e dar informações detalhadas sobre

as suas propriedades, composição e dimensão de superfície. Assim, métodos eletroquímicos constituem, em princípio, uma ferramenta eficaz para investigar a qualidade das amostras de QD em termos de pureza, tamanho e defeitos de superfície (AMELIA *et al.*, 2012; PINWATTANA *et al.*, 2010; DEBGUPTA, SHINDE, PILLAI, 2012).

Métodos eletroquímicos são técnicas sensíveis de detecção, e em combinação com os *quantum dots*, já foram utilizadas para inúmeras aplicações, tais como substrato imobilizado em eletrodos de carbono vítreo (YANG *et al.*, 2015, MAZLOUM-ARDAKANI *et al.*, 2015) e/ou modificação da superfície de eletrodos de ouro (LI *et al.*, 2012). Em especial, monocamadas automontadas de derivados de ciclodextrinas tioladas foram frequentemente preparados para a construção de sistemas de modelos de receptores de membrana e sensores químicos (PINWATTANA *et al.*, 2010) e complexos de inclusão de ciclodextrina imobilizado na superfície do eletrodo de ouro com vários compostos foi investigado pela voltametria cíclica (CHOI *et al.*, 2005).

O carregamento de drogas à base de nanopartículas emergiu como uma abordagem promissora para melhorar a eficácia dos medicamentos existentes e possibilitar o desenvolvimento de novas terapias. Muitos estudos têm demonstrado o potencial desses sistemas para alcançar uma toxicidade reduzida das drogas, a melhoria da bio-disponibilidade, aumento dos tempos de circulação, liberação controlada das drogas, e direcionamento de nanopartículas fluorescentes "pontos quânticos" têm sido discutidos como potencial veículo de carreadores de drogas com possível redução da sua inerente toxicidade antes da aplicação clínica (PROBST *et al.*, 2013; ADELI *et al.*, 2011; TANG *et al.*, 2013).

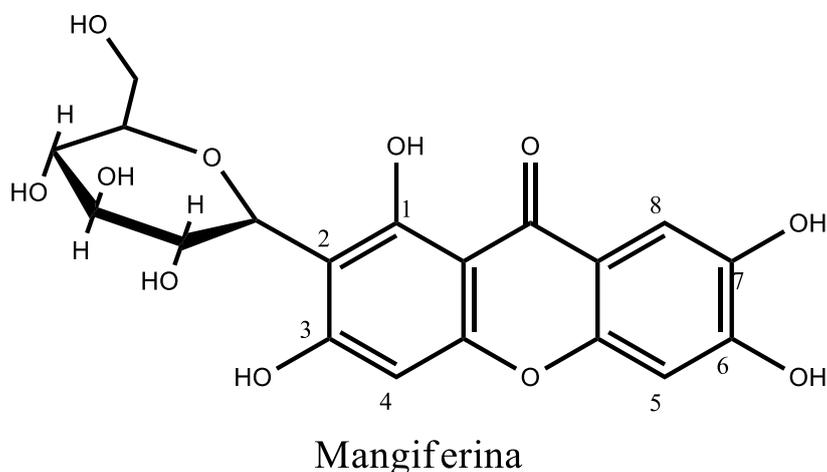
Dessa forma, neste estudo relatamos sobre a inclusão de um complexo de mangiferina (MGN), um composto natural antioxidante, com β -ciclodextrina por voltametria cíclica utilizando uma monocamada auto organizada de β -ciclodextrina e um QD de estrutura núcleo-casca imobilizado na superfície de um eletrodo de ouro. Para analisar a possibilidade desse sistema ser usado como plataforma de fluorescência/eletroquímico para a criação de nanocarreadores, esse modelo pode ser aplicado para aplicações de entrega de drogas, pois estes nanocristais são bons biomarcadores moleculares (FONTES, SANTOS, 2014).

Geralmente, tais sistemas são utilizados com análises em solução ou sistemas moleculares em sanduíche. No presente trabalho, foi desenvolvido um sensor com o QD imobilizado na superfície do eletrodo de ouro.

1.1 Mangiferina

A mangiferina, que é a molécula modelo utilizada para analisar a influência do QD, (Figura 1) (2-β-D-glicosil-1,3,6,7-tetraidroxixantona) é uma C-glicosilxantona que ocorre naturalmente em muitos vegetais e principalmente na *Mangifera indica* L. (nome comum: mangaueira), cujo fruto é a manga. *Mangifera indica* L., é uma planta muito utilizada na medicina tradicional da Índia com um amplo número de ações farmacológicas. E é justamente este o interesse que ela desperta na comunidade acadêmica, por suas propriedades farmacológicas; a mangiferina exerceu atividade antidiabética em ratos, diminuindo a resistência à insulina. A mangiferina é um ótimo antioxidante que atua sequestrando o ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e com isto pode se tornar útil no tratamento de desordens imunopatológicas caracterizadas pela produção em excesso de $NO/O_2^{\cdot-}$, que resultam em doenças inflamatórias. Logo, a mangiferina pode ser utilizada na prevenção de carcinogênese, inibindo o crescimento de tumores ou proteger contra doenças auto-imunes (FERREIRA, 2009).

Figura 1: Estrutura molecular da mangiferina



Fonte: elaborado pelo autor, 2016.

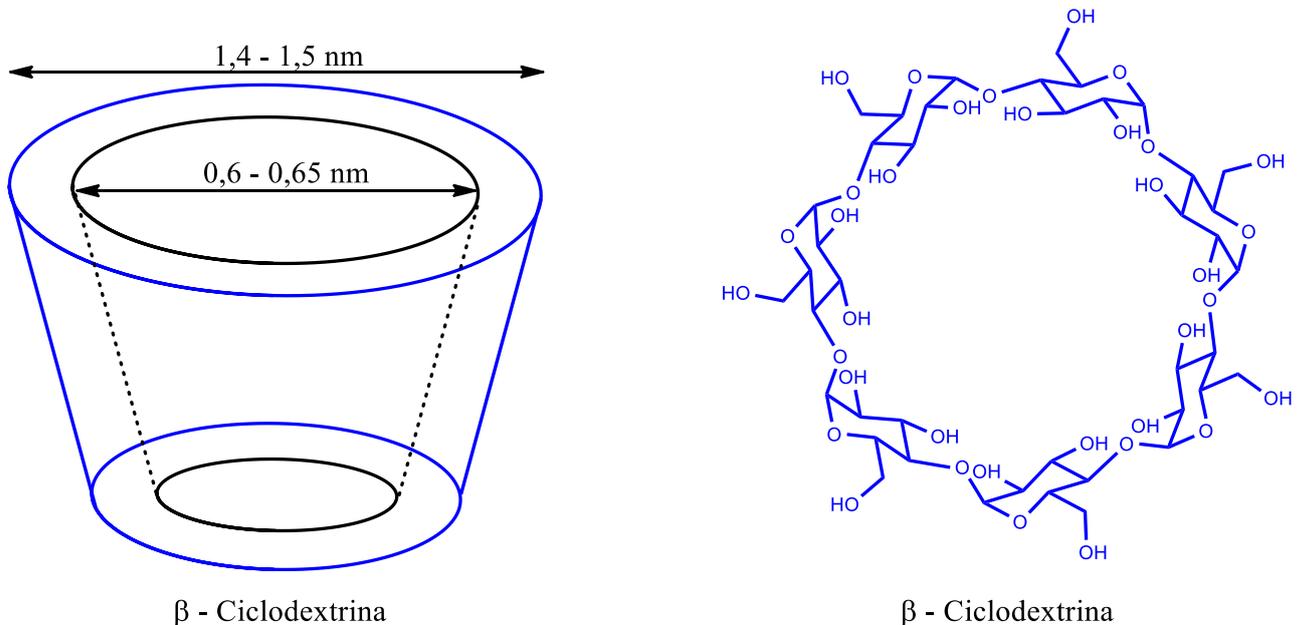
Em um estudo realizado por NA et al 2015, um grupo de pacientes com sobrepeso receberam 150 mg por dia durante 12 semanas. Foi notado que houve uma redução dos níveis de triglicerídeos, colesterol e diminuição da resistência à insulina (NA et al., 2015). Em um outro estudo, Zhang et al (2014) chegou à conclusão de que a mangiferina é um ativador do elemento de resposta antioxidante, fator nuclear 2 (Nrf2), conferindo inibição ao estresse oxidativo causado por fármacos utilizados no tratamento contra o câncer (ZHANG et al.,

2015). Estudos na parte de ciências da saúde buscam aprimorar as propriedades farmacêuticas da mangiferina – existe a possibilidade de, no futuro, ela ser muito utilizada por suas propriedades farmacológicas, sendo assim, ela foi escolhida como a nossa molécula modelo.

1.2 Ciclodextrina

A busca por sistemas moleculares de reconhecimento hóspede-hospedeiro como calixarenos e ciclodextrinas (MAEDA *et al.*, 1997) (Figura 2) tem crescido e tais sistemas estão sendo aplicados com sucesso em sensores químicos devido à sua ótima estabilidade físico-química, pela possibilidade ampla de aplicações e por levar à construção de dispositivos de baixo custo (BOUZITON *et al.*, 2006; BOUZITON *et al.*, 2007). Particularmente, as ciclodextrinas (CDs) têm surgido como um tipo de molécula ideal para esta busca, devido à sua cavidade molecular extremamente bem definida e a sua capacidade de acomodar uma variedade de moléculas hóspedes (BOUZITON *et al.*, 2007). FERREIRA (2009) estudou a encapsulação de mangiferina com eletrodos modificados com ciclodextrina e obteve um sensor altamente seletivo e eficiente para o tal composto (FERREIRA, 2009).

Figura 2: β -ciclodextrinas



Fonte: elaborado pelo autor, 2016.

As ciclodextrinas são oligômeros cíclicos de glicose. Esses oligossacarídeos cíclicos têm baixa toxicidade em animais e seres humanos. As ciclodextrinas são utilizadas em

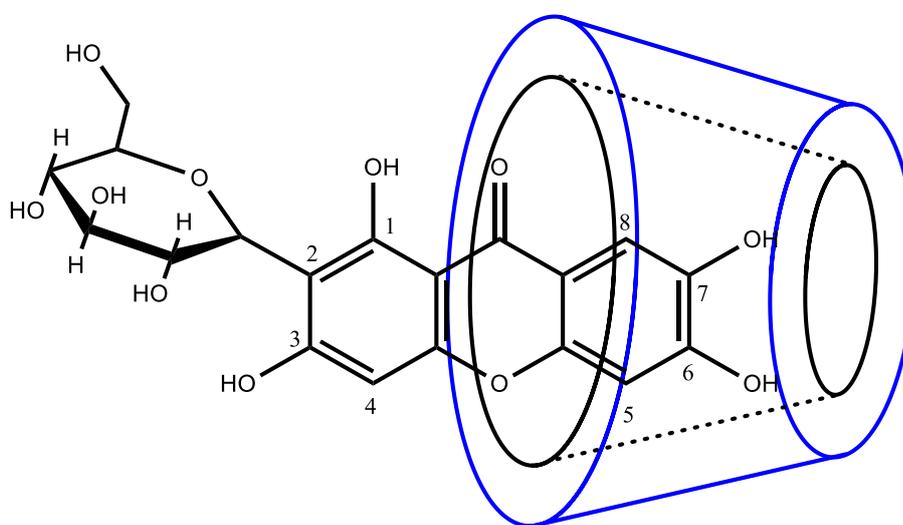
aplicações farmacêuticas para fins diversos, incluindo o carregamento de drogas. Devido ao grande número de grupamento hidroxila nas ciclodextrinas, elas são solúveis em água e o seu interior é relativamente apolar, isso cria um microambiente hidrofóbico. As ciclodextrinas têm o exterior hidrofílico e o interior da cavidade hidrofóbica, essas propriedades são responsáveis por sua solubilidade em água e capacidade de encapsular porções hidrofóbicas dentro de suas cavidades; a incorporação de moléculas hóspedes em complexos de inclusão de ciclodextrinas em meio aquoso tem sido a base para a maioria das aplicações farmacêuticas (DAVIS, BREWSTER, 2004).

1.3 Interação entre Mangiferina e β -Ciclodextrina

A mangiferina possui uma baixa solubilidade em água e as ciclodextrinas interagem (encapsulam) com compostos pouco solúveis em água, aumentando assim a sua solubilidade e disponibilidade em meio aquoso (FERREIRA 2009; DAVIS, BREWSTER 2004; GÓMEZ-ZALETA *et al.*, 2006; BREWSTER, LOFTSSON, 2007).

Com o intuito de investigar o sistema de complexação MGN - β -CDSH, FERREIRA e colaboradores (2010) utilizaram a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), pois esta técnica é muito útil em investigar e desvendar a estequiometria e a estabilidade de complexos pois permite observar diretamente e detalhadamente núcleos individuais da estrutura e dinâmica do sistema. Os resultados obtidos deste estudo indicam que a inclusão de MGN na cavidade de β -CDSH ocorre através do grupo aromático (FERREIRA *et al* 2010; FERREIRA *et al* 2013).

Figura 3: Interação entre mangiferina e β -ciclodextrina



Fonte: elaborado pelo autor, 2016.

1.4 CdSe/CdS

Quantum Dots são nanocristais semicondutores que exibem propriedades da mecânica quântica. Por possuírem propriedades ópticas e eletrônicas únicas, determinadas por seus efeitos de confinamento quântico, têm sido objeto de extensas investigações e buscas de aplicações em diferentes áreas da ciência e da tecnologia nas últimas duas décadas. O comportamento eletroquímico dos QDs, particularmente para CdSe e CdTe, tem sido pouco explorado, em comparação às propriedades ópticas. Medidas voltamétricas podem ser utilizados para sondar os níveis redox disponíveis para os nanocristais. As análises eletroquímicas podem trazer um aprofundamento na interpretação das propriedades espectroscópicas de QDs e dar informações detalhadas sobre a sua composição química, dimensão, e as propriedades da superfície. Uma vez que tais respostas são alteradas pela composição, dimensão e defeitos na superfície do QD (AMELIA *et al.*, 2012).

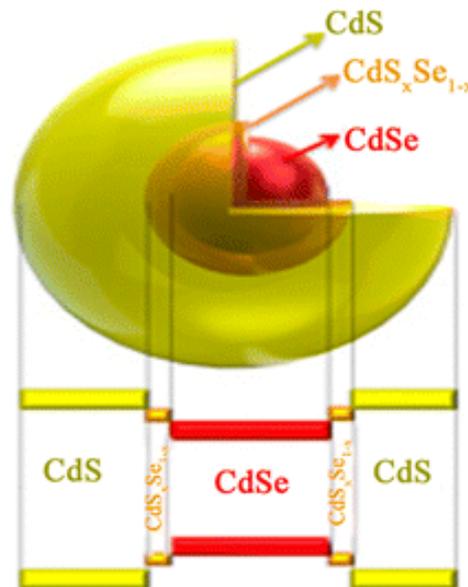
Um escudo inorgânico de um segundo composto semiconductor no núcleo dos nanocristais remove as discontinuidades e defeitos na superfície do núcleo e protege-o da interação com o meio ambiente. Esses pontos quânticos de núcleo-revestimento geralmente apresentam melhores propriedades físico-químicas e estabilidade – tais compostos são chamados de *core-shell* ou núcleo-casca (DABBOUSI *et al.*, 1997; HINES, GUYOT-SIONNEST, 1996).

QDs têm sido utilizados para estudos diversificados em aplicações biológicas, como a rotulagem celular, detecção genômica, sensores ópticos, bioimaging (imagem de exames) e assim por diante (WANG *et al.*, 2011). Wang *et al.*, estudou a interação de CdSe/CdS com dsDNA e ssDNA.

Estruturas compósitas de materiais semicondutores em escala nanométrica são utilizadas em muitas aplicações: tais como células solares, fotodetectores, sensores de gases, entre outros. Os QDs, por absorverem a luz de forma eficaz nas regiões espectrais do visível e do infravermelho, podem ser utilizados como sensibilizadores, amplificadores de sinal, em tais estruturas. Isso acontece por que os QDs possuem a capacidade de transferir elétrons fotoexcitados com um gap largo onde são incorporados. As características espectroscópicas dos QDs podem ser sintonizadas em uma ampla faixa de variação do seu tamanho e forma (MA, MEWS, KIPP, 2013). Drozdov e colaboradores, em 2013, estudaram os efeitos da fotocondutividade de SnO₂ nanocristalino sensibilizados com CdSe/CdS, para examinar o efeito da espessura da casca sobre a eficiência de transferência de carga entre os nanocristais em uma matriz (DROZDOV, *et al.*, 2013).

No presente estudo, foi utilizado a estrutura de núcleo-casca CdSe/CdS (Figura 4) sintetizado conforme o procedimento descrito por SILVA, *et al.* (2013); SILVA, *et al.* (2014). Tal composto foi gentilmente cedido pelo laboratório de materiais semicondutores do instituto de física da Universidade Federal de Uberlândia. Para caracterizar o QD, foram utilizadas as técnicas de espectroscopia de UV-vis, espectroscopia Raman, microscopia de força atômica e difração de raios X. Já existem modelos matemáticos bem definidos que correlacionam o resultado dessas técnicas com o tamanho dos nanocristais (SILVA, *et al.*, 2013; SILVA, *et al.*, 2014). O composto cedido tinha 1,6 nm de diâmetro de CdSe recoberto com uma casca de 0,8 nm de CdS (SILVA, *et al.*, 2013; SILVA, *et al.*, 2014).

Figura 4: CdSe/CdS.



Fonte: Adaptado de SILVA, *et al.*, 2014.

1.5 Eletrodos modificados com monocamadas auto organizadas

O interesse por eletrodos quimicamente modificados tem aumentado nos últimos anos, esses eletrodos contêm espécies quimicamente ativas immobilizadas em sua superfície e passam a ser chamados de sensores. Quando se modifica a natureza físico-química da superfície de um eletrodo o objetivo é aumentar a reatividade e seletividade para um analito em específico. Nesse âmbito, busca-se desenvolver sensores para diversas aplicações em reações orgânicas e inorgânicas, bem como aumentar a transferência de elétrons entre as

espécies envolvidas, resultando assim, em um sinal de corrente maior e conseqüentemente aumentando a sensibilidade e gerando uma resposta melhor que os eletrodos convencionais, ou seja, sem modificação (FERREIRA, 2009; PEREIRA, SANTOS, KUBOTA, 2002). Logo, tem-se estudado exaustivamente para desenvolver sensores que não sejam apenas sensíveis, seletivo e confiável, mas também simples, prático e econômico em campos biológicos, farmacológicos e toxicológicos (HUANG, *et al.*, 2014).

As ciclodextrinas possuem uma boa estabilidade físico-química e tem um cavidade muito bem definida que pode acomodar uma variedade de compostos orgânicos e outras moléculas (BOUZITOUN *et al.*, 2007). FERREIRA *et al* 2009, desenvolveu um sensor com β -ciclodextrina imobilizada em sua superfície para uma melhor detecção de mangiferina; a grande complexidade deste tipo de experimento é justamente conseguir ancorar com organização as ciclodextrinas em um eletrodo, para isso na maioria das vezes recorre-se ao eletrodo de ouro visto que o ouro é capaz de formar ligações covalentes com grupos orgânicos. Para tal objetivo modifica-se as ciclodextrinas com grupos organo-tiólicos (SH).

Vários estudos descrevem as aplicações de ciclodextrinas com os grupos tiólicos para imobilizar a superfície do eletrodo de ouro e como técnica de detecção para espécies orgânicas eletroativas como: dopamina, ácido úrico, ácido ascórbico, catecol; a voltametria cíclica e de pulso diferencial (AGUILERA-SIGALAT *et al.* 2013; MEDINA-SANCHEZ *et al.* 2014). Sendo assim, procura-se direcionar os estudos para desenvolver monocamadas auto organizadas que são desenvolvidos por imersão do eletrodo em soluções dos compostos em questão; ao formar tais monocamadas procura-se organizá-las o máximo possível pois assim obtêm-se uma melhor resposta (FERREIRA, 2009). Para formar camadas auto organizadas os grupamentos orgânicos mais empregados e estudados são os tióis e os alcanotióis sobre a superfície do eletrodo de ouro, porque a estabilidade da ligação Au-SR ocasiona/gera uma estrutura extremamente ordenada (FERREIRA, 2009).

Monocamadas auto organizadas proporcionam um meio para a sensibilização molecular sobre uma superfícies bio-inerte com funções específicas; logo, técnicas para desenvolver monocamadas auto organizadas sobre eletrodos de ouro, tornaram-se o objetivo de muitos estudos recentes. As monocamadas auto organizadas estão sendo constantemente aplicadas em camadas de imobilização para o reconhecimento molecular de compostos específicos através de técnicas eletroquímicas, como por exemplo biossensores baseados em microbalança de cristal de quartzo, bem como para a modificação da superfície de vários biomateriais. Portanto, metodologias de imobilização em monocamadas auto organizadas, particularmente aqueles de alcanotióis sobre eletrodos de ouro, tornaram-se o objetivo de

muitas pesquisas. Tem sido relatado o desenvolvimento de monocamadas auto organizadas com grupamentos orgânicos funcionalizados com alcanotióis terminais em eletrodo de ouro para modular a ligação de células dependente de matriz extracelular e para o neurotransmissor dopamina (DING *et al.*, 2005).

Uma monocamada auto organizada com grupamentos terminais de ácido mercaptocarboxílico em eletrodos de ouro foi utilizada para detectar o neurotransmissor dopamina, isso deixa claro que uma monocamada auto organizada com ácido mercaptocarboxílico é uma base boa para a imobilização de biomoléculas. Monocamadas auto organizadas funcionalizadas com grupamentos terminais de: CH₃, OH, COOH e NH₂ podem alterar o domínio de ligação e de especificidade (DING *et al.*, 2005).

DING e colaboradores (2005) estudaram a passagem de corrente com vários comprimentos de cadeias diferentes utilizando alcanotióis terminados em carboxilo, incluindo: ácido 4,4-ditiodibutírico ([-S(CH₂)₃COOH]₂, 4-DTBA), ácido 11-mercaptopundecanóico (HS(CH₂)₁₀COOH, 11-MUA), e ácido 16- mercaptohexadecanoico (HS(CH₂)₁₅COOH, 16-MHA).

A automontagem é um dos métodos mais eficientes e utilizados para a síntese, funcionalização e aplicação de nanomateriais em substratos condutores. Sistemas moleculares automontados em superfícies sólidas são fornecidos pela interação específica entre as moléculas e o substrato. Um exemplo de fenômenos de automontagem é a formação de monocamadas de moléculas orgânicas em superfícies. Essas monocamadas automontadas na superfície de um metal ou de um eletrodo semicondutor, quando feitas, são sintetizadas para melhorar o potencial eletroquímico dos materiais modificados (MAZLOUM-ARDAKANI *et al.*, 2015).

Técnicas eletroquímicas têm inúmeras vantagens para uso em desenvolvimento de biossensores por serem, relativamente baratas, consideravelmente simples e adequadas para a instrumentação com potencial de ser miniaturizável com baixo consumo de energia (PINWATTANA *et al.*, 2010). A combinação das técnicas eletroquímicas associadas com a nanotecnologia fornece plataformas eletroquímicas/fluorescentes muito adequada para o avanço no desenvolvimento de biossensores extremamente sensíveis e específicos. Um exemplo prático disto são os processos de amplificação de sinal e conseqüentemente maior limite de detecção que têm sido relatados para aumentar a intensidade do sinal eletroquímico/fluorescente e levar a bioensaios ultrasensíveis. Os *quantum dots* ganharam grande interesse para ensaios bioanalíticos, imagens de células, carreamento de drogas e em

animais *in vivo* de segmentação devido às suas propriedades únicas dependente do tamanho (DU *et al.*, 2008).

Sistemas baseados na utilização de *quantum dots* são extensivamente estudados para aplicações em áreas biológicas e da saúde, devido ao seu tamanho e conseqüentemente controlável emissão do comprimento de onda, fotoluminescência de altamente definida e boa estabilidade físico química. Nesse campo, CdSe *quantum dots* sempre foram objeto de intenso estudo por causa de suas propriedades luminescentes e custo relativamente baixo. Apesar do potencial sucesso dos *quantum dots* em aplicações biológicas, eles possuem pouca biocompatibilidade comparando com outros amplificadores de sinais convencionais, o que limita as aplicações de *quantum dots* em bioanálises. Portanto, é importante explorar métodos eficazes para melhorar e aprimorar a biocompatibilidade dos *quantum dots* (WANG *et al.*, 2012).

Por uma questão de suas ótimas propriedades ópticas e eletrônicas, e a depender de uma boa síntese possuir uma boa estabilidade físico química (SILVA *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2014), sensores baseados em QDs atingiram um nível considerável de sofisticação e são promissores para aplicações em análises com matrizes reais. Embora a maioria dos sistemas investigados dependam de transdução óptica (DROZDOV *et al.*, 2013; DRADRACH, BARTKIEWICZ, MINIEWICZ, 2014; CHEN, *et al.*, 2014; ZHAO *et al.*, 2014), alguns exemplos com base em sinais eletroquímicos foram também relatados (DU *et al.*, 2008; PINWATTANA *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2013).

Exemplos de sensores baseados em QDs, que operem somente e exclusivamente através da eletroquímica, são raros na literatura – isso se deve por causa das dificuldades associadas com experimentos eletroquímicos em nanocristais semicondutores, como discutido anteriormente, baixa solubilidade etc, sendo assim eles na maioria das vezes tem que estar ancorado a compostos orgânicos (cadeia carbonílica). Logo, não é de estranhar que a maioria dos sensores eletroquímicos que exploram as propriedades dos *quantum dots*, os nanocristais, sejam um componente integrado, capaz de aumentar o sinal eletroquímico, em vez de explorar a resposta eletroquímica do *quantum dot* isoladamente. Tais sensores são normalmente utilizados para detectar moléculas com atividade biológica (DU, *et al.*, 2008; PINWATTANA, *et al.*, 2010; AMELIA, *et al.*, 2012; HUANG, *et al.*, 2013).

Com o intuito de detectar dopamina, HUANG e colaboradores (2014) desenvolveram uma metodologia para auto montar uma monocamada auto organizada de nanopartículas de ouro em um eletrodo de carbono vítreo. Porém uma das etapas de tal metodologia consiste em deixar o eletrodo dentro de uma estufa a 60 °C por 30 minutos. Tal desvantagem é o fato de

que com o passar do tempo esse tipo de procedimento acaba degradando o eletrodo, pelo fato do material dilatar e contrair constantemente.

Para desenvolver um biossensor para detectar neutravidina, DU e colaboradores (2008) fizeram uma camada organizada de cisteamina no eletrodo de ouro para então depois fazer outra camada de biotina, para identificar CdTe funcionalizado com neutravidina. Depois por uma dissolução os íons de Cd^{+2} foram detectados. Pela facilidade da biotina em reconhecer a neutravidina, as moléculas acopladas ao CdTe obtiveram uma melhor interação que as não acopladas mostrando, assim, que os QDs têm um amplo poder de aumentar o limite de detecção (DU *et al.*, 2008). Uma metodologia de análise semelhante foi desenvolvida por PINWATTANA e colaboradores (2010), com o intuito de detectar albumina bovina fosforilada que demonstrou um melhor nível de detecção quando comparado ao método convencional de ELISA.

HANSEN e colaboradores (2006) imobilizaram aptâmeros tiolados, sobre a superfície de um eletrodo de ouro e, após isso, colocaram proteínas marcadas com QD para que as moléculas conjugadas fossem atraídas afim de monitorar o deslocamento da transdução dos sinais eletroquímicos dos QDs. Tais transduções eletroquímicas das interações aptamer-proteína foram extremamente atraentes para atender à baixa potência, tamanho e custo que são requisitos dos sistemas de diagnóstico descentralizadas. Se comparados aos ensaios em sanduíche, onde mais de uma etapa é realizada para detectar os compostos a alta sensibilidade, é um reflexo do elevado número de moléculas dos QDs em cada proteína (HANSEN *et al.*, 2006).

FERREIRA (2009) desenvolveu uma metodologia para a detecção de mangiferina utilizando β -CDSH. Foi utilizado o eletrodo de ouro, utilizou também ácido 11-mercaptoundecanóico (11-MUA) para cobrir as vacâncias e isolar áreas de contato diretamente com o ouro. Com base nessa metodologia e com tudo que foi anteriormente exposto, resolveu-se associar a capacidade de encapsulamento das β -CD com as propriedades fotônicas dos QDs e modificar a superfície de um eletrodo de ouro com 2-aminoetanotiol ($\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), ácido 11-mercaptoundecanóico ($\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{10}\text{SH}$, MUA), CdSe/CdS e β -CDSH.

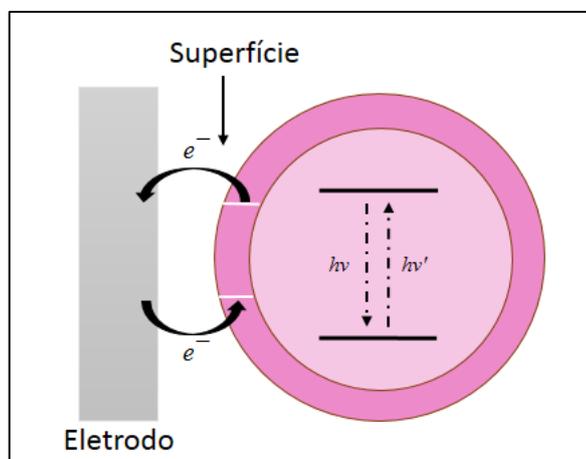
1.6 Eletroquímica

1.6.1 Métodos eletroquímicos

Análises eletroquímicas são geralmente empregadas para estudar a energia dos níveis HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*, em livre tradução para o português orbital molecular ocupado de mais alta energia) e LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*, em livre tradução para o português orbital molecular desocupado de mais baixa energia) de espécies moleculares eletroativas. Também fornecem informações sobre a cinética de transferência de elétrons e dão acesso a outros parâmetros, como por exemplo: coeficientes de difusão, propriedades superficiais do material em questão, constantes termodinâmicas e cinéticas das reações ligadas aos processos de oxirredução. Uma característica importante dos métodos eletroquímicos, e de crucial importância para o estudo dos QDs, é a capacidade de sondar a superfície do material, uma vez que as medições espectroscópicas estão geralmente relacionadas aos processos que ocorrem no interior do analito, ou seja transição eletrônica (Figura 5). Nesse âmbito, as análises eletroquímicas relacionadas às análises espectroscópicas podem fornecer informação sobre as bandas de condução e de valência do material. Por isso, métodos eletroquímicos representam um complemento poderoso para as técnicas de caracterização padrão de QDs (AMELIA *et al.*, 2012).

MA, MEWS e KIPP (2013) determinaram os níveis de energia eletrônica para CdTe/CdSe e CdSe/CdTe com diferentes espessuras de casca. Para isso, utilizaram medidas espectroscópicas, eletroquímicas e modelagem computacional.

Figura 5: Representação das diferentes habilidades das análises espectroscópicas e eletroquímicas para o estudo de nanopartículas.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

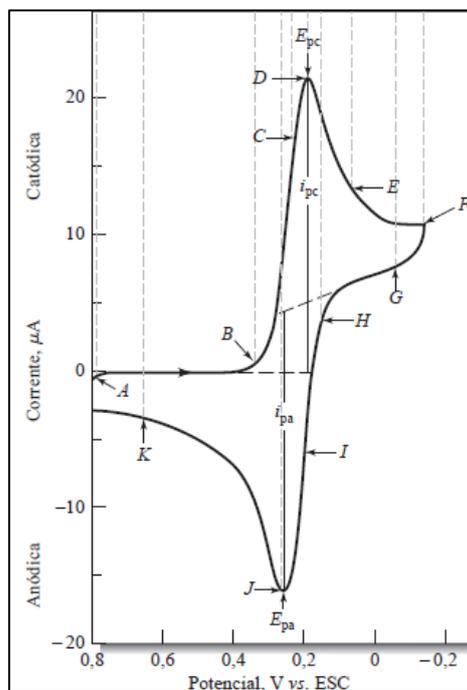
1.6.1.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica eletroquímica muito usada para obtenção de informações qualitativas e principalmente mecanísticas sobre os processos eletroquímicos, por causa de sua facilidade de aplicação e interpretação tornou-se uma das principais técnicas não espectrométricas mais empregadas, inclusive por não eletroquímicos, ela também quantifica compostos eletroativos porém com uma sensibilidade menor se comparada a voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada (PACHECO *et al.*, 2013).

A técnica de voltametria cíclica gera gráfico de corrente (I) vs potencial (V), denominado voltamograma cíclico, no qual a intensidade da corrente obtida pela transferência de elétrons durante um processo de oxirredução geralmente relaciona a quantidade/concentração do analito eletroativo presente na interface do eletrodo e consequentemente, na cela eletroquímica (PACHECO *et al.*, 2013).

Para obtenção do voltamograma, o potencial inicialmente aplicado ($E_{inicial}$) é aquele no qual nenhuma redução ocorre. Com a variação de potencial para regiões mais negativas (catódica) ocorre a redução do composto em solução, gerando um pico de corrente (pico catódico) proporcional à concentração desse composto. Quando o potencial alcança um valor no qual nenhuma reação de redução ocorre, o potencial é varrido no sentido inverso até o valor inicial. No caso de uma reação reversível (Figura 6), os produtos que tiverem sido gerados no sentido direto (redução) e se localizam ainda próximos à superfície do eletrodo serão oxidados, gerando um pico (pico anódico) simétrico ao pico da redução. O ciclo pode ser repetido quantas vezes forem necessárias (HARRIS, 2001; BRETT, BRETT, 1996; SKOOG, 2006).

Figura 6: Voltamograma cíclico para um sistema reversível de $K_3Fe(CN)_6$ a 6 mmol L^{-1} e KNO_3 a 1 mol L^{-1} , com destaque para os parâmetros mais importantes.



Fonte: SKOOG, 2006

Existem basicamente dois tipos principais de reações que podem ocorrer no eletrodo, a transferência difusional de massa do analito para a superfície do eletrodo e a transferência heterogênea de carga entre o analito e o eletrodo; pode ainda ocorrer reações químicas paralelamente a alguns destes processos, sendo assim os sistemas são classificados/denominados como: reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis (PACHECO *et al.*, 2013).

Em um sistema eletroquímico que opera de modo reversível, a velocidade da reação de transferência de carga é alta e somente a etapa de transferência de massa controla o processo. Nesse tipo de sistema eletroquímico, o voltamograma de varredura na direção catódica e anódica originam o mesmo número de picos e no mesmo local, ou seja onde entra também sai elétrons. Os sistemas eletroquímico irreversíveis são caracterizados por possuírem uma corrente controlada somente pela transferência de carga do analito. Esse tipo de reação, a velocidade de transferência de carga do analito, é lenta quando comparada à velocidade de varredura (v), sendo assim, as concentrações das espécies oxidadas e/ou reduzidas não são somente funções do potencial. Nesses sistemas eletroquímicos não há pico reverso (BRETT, BRETT, 1996; PACHECO *et al.*, 2013).

Em um sistema eletroquímico quase-reversível, a corrente é controlada pela transferência de massa e pela transferência de carga. Esses sistemas eletroquímico são reversíveis a baixas velocidades de varredura e irreversíveis em altas velocidades de varredura, logo; o processo quase-reversível é acontece em valores de velocidade de varredura intermediários. Nos sistemas eletroquímicos quase-reversíveis há uma separação crescente entre E_{pa} (potencial de pico anódico) e E_{pc} (potencial de pico catódico) quando ocorre o aumento da velocidade de varredura, ou seja, o valor de ΔE_p (diferença entre o potencial de pico anódico e o potencial de pico catódico) aumenta juntamente com o aumento da velocidade de varredura (BARD, FAULKNER, 2001; PACHECO *et al.*, 2013). A Tabela 1 mostra os testes diagnósticos que devem ser aplicados para classificar um determinado sistema eletroquímico.

Tabela 1: Testes diagnósticos em VC para os processos reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis.

Processo reversível	Processo irreversível	Processo quase-reversível
1. $ I_{pa}/I_{pc} = 1$	1. Ausência do pico reverso	1. $ I_{pa}/I_{pc} = 1$, se $\alpha = 0,5$
2. $\Delta E = 59/n$ (mV)	2. $I_{pc} \propto v^{1/2}$	2. $I_{pc} \propto v$
3. E_p independe de v	3. E_p independe de v	3. E_{pc} diminui com o aumento de v
4. I_p depende de v	4. $ E_p/E_{p2} = 48/\alpha n$ (mV)	4. $\Delta E > 59/n$ (mV) e aumenta com v .
5. $I_p \propto v^{1/2}$		

Fonte: SANTOS, 2014

No presente trabalho a voltametria cíclica foi utilizada para caracterizar o sistema eletroquímico/fluorescente, pois no desenvolvimento da monocamada auto organizada a cada composto ancorado no eletrodo de ouro fazia-se uma varredura para analisar o comportamento eletroquímico das espécies envolvidas. Terminada a caracterização eletroquímica foi realizada a quantificação do analíto em ordem crescente de concentração.

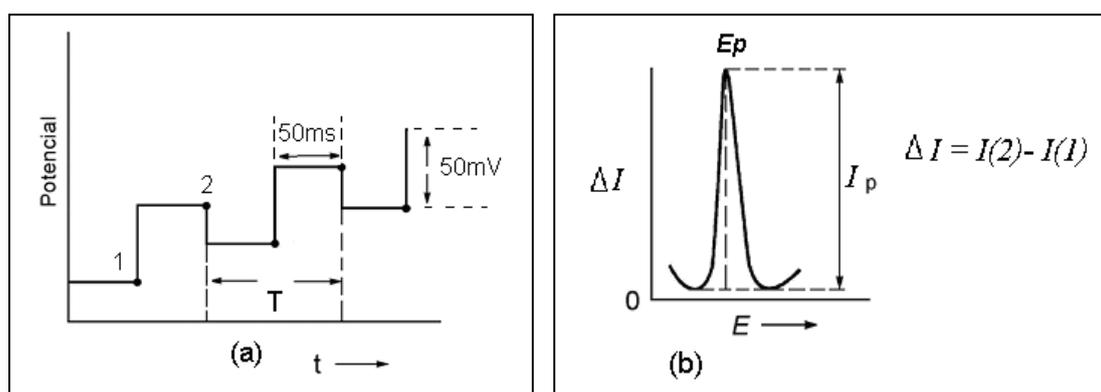
1.6.1.2 Voltametria de pulso diferencial

A voltametria de pulso diferencial (VPD) é uma técnica eletroanalítica, mais sensível, e apresenta limites de detecção significativamente menores se comparado com a voltametria cíclica (PINWATTANA *et al.*, 2010; MEDINA-SANCHEZ *et al.*, 2014), devido a uma melhora da corrente faradaica ou uma diminuição na corrente de carga não-faradaica na VPD. Na VPD escolhe-se uma faixa de valor de potencial onde normalmente não ocorre

reação faradaica, e aplica-se no eletrodo. A partir dessa faixa de potencial, aplicam-se pequenos pulsos de amplitude crescentemente, sendo que o aumento de amplitude é rigorosamente constante, a corrente é medida no fim de cada pulso e o resultado final é o somatório dessas correntes (BRETT, BRETT, 1996; SKOOG, 2005).

A corrente é quantificada instantaneamente antes da aplicação do pulso e registra-se a diferença entre as duas correntes – isso diminui a interferência da corrente capacitiva. A duração de cada pulso varia normalmente entre 5 – 50 ms. O intervalo entre os pulsos é de 0,5 – 4s. Os pulsos de potencial são superpostos em uma rampa de potencial em forma de degraus com potencial linearmente crescente, quando é utilizado instrumento digital, conforme figura 7. Após a realização da quantificação do analíto pela técnica de voltametria cíclica realizou-se a quantificação pela técnica de voltametria de pulso diferencial em ordem crescente de concentração do analíto.

Figura 7: Voltametria de pulso diferencial.



Fonte: SKOOG, 2006.

1.6.1.3 Espectroscopia de impedância eletroquímica

Sistemas eletroquímicos podem ser estudados com métodos baseados em medições de impedância. Nestes métodos ocorre a aplicação de uma pequena perturbação, a resposta à esta perturbação pode diferir em fase e amplitude quando comparado ao sinal aplicado e geralmente é sinusoidal. Com isso, é possível a análise do processo de eletrodo em relação as contribuições de difusão, da cinética, da dupla camada e de reações homogêneas acopladas, ou seja pode-se definir e explicar detalhadamente o processo que está ocorrendo na superfície do eletrod ou do sistema eletroquímico estudado. A comparação é geralmente feita entre a célula eletroquímica e um circuito elétrico equivalente que contém combinações de resistências e capacitâncias (BRETT, BRETT, 1996), este circuito é desenvolvido com base nos dados obtidos das medidas de impedância.

Qualquer célula eletroquímica pode ser representada em termos de um circuito elétrico equivalente que inclui a combinação de resistências e capacitâncias. O circuito deve conter componentes para representar:

- A dupla camada: um condensador de capacidade C_a
- A impedância do processo Z_f
- A resistência não compensada, R_Ω , que é a resistência da solução entre eletrodos de trabalho e de referência.

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), que é um método eficaz e já muito bem definido e estabelecido para explorar as características da superfície de eletrodos modificados, o diâmetro semicírculo em frequências mais altas corresponde à resistência de transferência de elétrons e a parte linear com menores frequências, corresponde para a resistência a difusão da solução (WANG *et al.*, 2012; MAZLOUM-ARDAKANI *et al.*, 2015).

No presente estudo a EIE foi utilizada para caracterizar o sistema eletroquímico/fluorescente, onde a cada composto da monocamada auto organizada que era ancorada ao eletrodo de ouro era realizada uma medida.

1.6.1.4 Amperometria

A amperometria mede a intensidade da corrente ao ser aplicado um potencial constante; sendo assim, a grandeza da corrente elétrica é determinada pela concentração da espécie analisada. Esta técnica pode ser usada para monitorar o acompanhamento da variação da concentração de um dado analito, a corrente de difusão é proporcional à concentração do material eletroativo presente na solução. Quando se remove o material eletroativo pela interação com um reagente, a corrente de difusão diminui. Esse é o princípio fundamental da amperometria (BRETT, BRETT, 1996; BARD, FAULKNER 2001).

Enquanto que a voltametria é realizada com o analito estático, a amperometria detecta o analito em movimento – razão pela qual é utilizada em microssistemas onde o analito percorre um capilar até reagir com o sensor.

1.7 Espectroscopia

1.7.1 Espectroscopia molecular de fluorescência

A fluorescência é um processo físico químico de fotoluminescência no qual excita-se átomos ou moléculas em um comprimento de onda característico da espécie analisada, onde

elas absorvem radiação eletromagnética tornando-se excitada. Quando essas espécies excitadas relaxam e voltam ao seu estado fundamental, liberam seu excesso de energia absorvida na forma de fótons. Para que uma espécie química emita fótons, ela deve ser excitada (absorver energia) em determinado comprimento de onda específico, conhecido como comprimento de onda de excitação. A fluorescência, então, é emitida em outro comprimento de onda, chamado comprimento de onda de emissão, este é sempre maior, quando comparado ao comprimento de onda da luz usado para a excitação da molécula, deslocando-se geralmente entre 50 e 150 nm; a emissão de fluorescência é de curta duração e nem todas as espécies emitem um valor de intensidade apreciável para uma boa detecção (SKOOG, 2006; SOTOMAYOR *et al.*, 2008).

Nem todas as espécies químicas retornam ao estado fundamental emitindo fótons, a fluorescência é um dos muitos mecanismos pelos quais a molécula retorna ao seu estado fundamental original após ter sido excitada pela absorção de radiação. Apesar de todas as moléculas absorventes terem a capacidade para fluorescerem, muitos compostos não o fazem porque suas estruturas proveem de caminhos alternativos para a relaxação não-radiativa mais rápida que a emissão fluorescente. O que determina se uma espécie química irá fluorescer ou não é o seu rendimento quântico de fluorescência molecular, que é simplesmente a razão entre o número de moléculas que fluorescem e o número total de moléculas excitadas, ou a razão entre os fótons emitidos e os fótons absorvidos. Moléculas fluorescentes apresentam rendimento quântico próximo à unidade e este está relacionado à estrutura da molécula. Compostos com alto número de anéis aromáticos condensados e rigidez molecular apresentam, em geral, bons valores de rendimento quântico (SKOOG, 2006).

Devido ao número limitado de sistemas químicos que fluorescem com intensidade apreciável, os métodos de fluorescência são menos aplicados quando comparados ao UV-Vis. No entanto a sensibilidade intrínseca da fluorescência é maior quando comparada a espectroscopia de UV-Vis, a qual permite limites de detecção cerca de três ordens de grandeza menores, podendo chegar na faixa de ng mL^{-1} (SOTOMAYOR *et al.*, 2008). Outra vantagem é a faixa linear de concentração dos métodos de fluorescência, a qual é significativamente maior que aquela encontrada na espectrofotometria UV-Vis (SKOOG, 2006).

1.7.2 Espectroscopia molecular de UV-Vis

Espectroscopia é o estudo da interação entre a matéria e a radiação eletromagnética, ou seja a energia radiante que apresenta tanto as propriedades tanto de partícula quanto as de onda. A espectroscopia no ultravioleta/visível (UV-Vis) fornece informações importantes sobre substâncias contendo ligações duplas, pois a tanto a luz ultravioleta como a luz visível possui energia suficiente para excitar e gerar transições eletrônicas. Nessa técnica, utiliza-se radiação que abrange uma faixa de comprimentos de onda de 180 a 400 nm (UV), e de 400 a 800 nm (Visível). Uma espécie química absorverá luz (no UV ou Vis) dependendo da energia necessária para que ocorra transição eletrônica, ou seja, a absorção depende da variação de energia entre o orbital ocupado de mais alta energia (HOMO) e o orbital desocupado de mais baixa energia, (LUMO) (SILVERSTEIN, BASSLER, MORRIL, 1994; BRUICE, 2006).

Quanto menor o comprimento de onda maior será a energia necessária para gerar uma transição eletrônica. Sendo assim, a relação entre energia e comprimento de onda é inversamente proporcional, dessa forma, uma transição eletrônica que necessite de grande quantidade de energia se dará em um baixo comprimento de onda (no UV), enquanto que uma transição eletrônica que necessite de pouca energia ocorrerá em um comprimento de onda mais alto (no Visível) (SILVERSTEIN, BASSLER, MORRIL, 1994; BRUICE, 2006).

Ao trabalhar com absorção molecular, é fundamental definir o comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$) das espécies químicas em estudo, pois a absorbância medida depende do coeficiente de absorvidade molar, o qual varia com o comprimento de onda. Assim, trabalhar na região do espectro de máxima absorção além de garantir ao método máxima sensibilidade ainda pode reduzir erros instrumentais em função da radiação policromática, pois em comprimentos de onda próximos ao máximo de absorção o coeficiente de absorvidade molar é praticamente constante. Isso garante linearidade ao sinal de absorbância em relação à variação de concentração, evitando desvios da Lei de Beer (SKOOG, 2006).

O $\lambda_{\text{máx}}$ de cada molécula está diretamente relacionado à sua estrutura, uma vez que cromóforos e auxocromos são os responsáveis pela absorção da radiação, determinando a necessidade de energia necessária para a transição eletrônica e, dessa forma, estabelecendo o $\lambda_{\text{máx}}$ da espécie química. O cromóforo corresponde a parte insaturada da molécula que absorve luz (no UV ou Vis) e o auxocromo caracteriza-se por grupos ligados ao cromóforo que podem facilitar ou dificultar a transição eletrônica na molécula. Assim, dependendo do número, da natureza e da posição dos auxocromos, pode ocorrer diminuição ou aumento do $\lambda_{\text{máx}}$ e da

intensidade da(s) banda(s) de absorção (SILVERSTEIN, BASSLER, MORRIL, 1994; PAVIA, LAMPMAN, KRIZ, 2001; BRUICE, 2006).

No presente estudo a espectroscopia de UV-Vis e de fluorescência foram utilizadas para analisar o comportamento óptico do sistema eletroquímico/fluorescente, onde a cubeta era colocada no equipamento e sem ser retirada os compostos eram adicionados e o volume do analito era colocado conforme a concentração final desejada.

1.8 Microfluidica

Pode ser definida como a manipulação e análise de fluídos e suspensões em sistemas de dimensão micro, nano ou picométrica. O fluxo eletrosmótico é gerado no interior dos microcanais através da aplicação de potenciais elétricos. Na eletroforese em microchip, as reduções de volume, dimensões e economia de energia destes sistemas ocasionam o aumento de portabilidade, baixo custo de fabricação, menor consumo de reagentes e amostras e redução no tempo de análise (SEGATO, 2011).

A busca mundial pela portabilidade e conseqüente miniaturização é algo que já ocorre a bastante tempo. Hoje as pessoas demandam cada vez mais por dispositivos menores, mais portáteis e de fácil utilização, em diversas áreas da ciência isto é comum; e na eletroquímica não poderia ser diferente, por isto é notável cada vez mais o aumento de microdispositivos de detecção eletroquímica, uma prova de que o futuro da eletroquímica está entrando também neste ramo (SANTOS, 2014).

Avanços na área de tecnologia de sistemas micro-eleto-mecânicos ocasionaram no desenvolvimento de novos dispositivos microfluidicos para aplicações diversificadas como: a seleção específica e contagem de células, controle de poluentes ambientais, análise de íons em águas e outras mais. Uma série de estudos foram relatados que utilizaram microchips miniaturizados com eletrodos planares para detecção eletroquímica de bioamostras (CHIANG, LIN, 2014).

O interesse no desenvolvimento de microdispositivos eletroforéticos poliméricos tem apresentado crescimento. Os polímeros apresentam vantagens quando comparados a outros materiais convencionais, como o baixo custo, facilidade de fabricação, biocompatibilidade e alta flexibilidade. Dentre todos os materiais poliméricos, o Polidimetilsiloxano (PDMS) é o material mais popularmente utilizado e explorado em microfluidica. PDMS é um polímero elastômero barato e possui boa janela óptica. Apresenta também reversível ou irreversível capacidades de auto selagem, e também a vedação de outras superfícies planas, sem distorção

dos canais (COLTRO, SILVA, CARRILHO, 2011). Eletroforese é uma técnica que se fundamenta na diferença de mobilidade/migração de espécies carregadas e neutras baseadas em seu movimento em um fluido quando é aplicado um campo elétrico, fatores como o peso molecular, estrutura química, pK_a das espécies envolvidas e pH do fluido influenciam em tal mobilidade/migração. Espécies diferentes por possuírem mobilidade/migração diferentes são separadas, detectadas e quantificadas separadamente (SANTOS 2014).

Medina-Sanchez e colaboradores (2014) desenvolveram um microchip magnético que opera em fluxo para detectar apolipoproteína E, que é um biomarcador da doença de Alzheimer. Em tal microchip, os reagentes e o analito passavam pelos canais e as moléculas iam se ligando, o que é chamado de aglomerado sanduíche. Tal aglomerado era marcado com CdSe/Zn e depois os íons de Cd^{+2} são detectados e as moléculas de apolipoproteína são quantificadas.

2. OBJETIVOS

2.1 Gerais

Desenvolver um sistema eletroquímico/fluorescente para aplicações em compostos encapsulantes em ciclodextrinas e analisar a viabilidade do uso desse sistema como sensor eletroquímico em microssistemas eletroforéticos.

2.2 Específicos

- Avaliar o quantum dot como sensor eletroquímico para mangiferina.
- Fazer o estudo de caracterização do sensor e do sistema por: voltametria cíclica (VC) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE).
- Fazer o estudo de caracterização do sistema eletroquímico por métodos espectroscópicos de: UV-Vis e fluorescência.
- Quantificar a mangiferina por: voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial (VPD) e por espectroscopia de fluorescência e UV-Vis.
- Determinar a constante de complexação por método eletroquímico.
- Miniaturizar o sensor desenvolvido para aplicação em microssistema de análise.

3 Materiais e métodos

3.1 Reagentes e soluções

β -ciclodextrina (β -CD) e mangiferina (MGN) são reagentes comerciais, sendo adquiridas da Sigma-Aldrich. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Todas as soluções tampão, fosfato e MÊS/Histidina foram preparadas utilizando reagentes de grau analítico e água purificada em um sistema Milli-Q da Millipore (condutividade $< 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$). O CdSe/CdS foi sintetizado de acordo com a referência (SILVA *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2014) e gentilmente cedido pelo grupo de materiais semicondutores do instituto de física da Universidade Federal de Uberlândia. Per-7-tio- β -ciclodextrina (β -CDSH) foi sintetizado em duas fases a partir de β -ciclodextrina (Aldrich) de acordo com o procedimento publicado na literatura (CHOI *et al.*, 2005). Outros reagentes utilizados durante as análises foram:

- Hidróxido de potássio (KOH)
- Tampão fosfato ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$)
- Ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)
- Ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4)
- Hidróxido de sódio (NaOH)
- Dimetilformamida (DMF, $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$)
- Tetrabutilamonio perclorato (TBAP, $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{ClO}_4)$)
- Etanol P.A.
- MES (2-(N-morfolino) etanossulfônico)
- Histidina ($\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$)
- Propanona (acetona, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)

3.2 Métodos eletroquímicos

Voltametria cíclica, e voltametria de pulso diferencial foram realizadas utilizando um Autolab PGSTAT-30 potenciostato de Echo Chemie (Utrecht, Holanda) interfaceado a um computador com software NOVA 1.10 com três eletrodos convencionais na célula. Os eletrodos de trabalho eram de carbono vítreo ou ouro, ambos com ($d = 3 \text{ mm}$) adquiridos da Bioanalytical Sistema (BAS). O contra eletrodo era um fio de platina, e o eletrodo de referência de prata em cloreto de prata saturado (Ag/AgCl), todos contidas em uma cela eletroquímica de um compartimento, com uma capacidade volumétrica de 10 mL. O eletrodo de carbono vítreo foi polido com alumina de 0,3 e 0,05 μm de alumina sobre uma lixa de

polimento de veludo (kit de polimento BAS) e lavou-se com água. Após a limpeza mecânica, o pré-tratamento eletroquímico do eletrodo de carbono vítreo envolveu uma sequência de 10 varreduras cíclicas potenciais de -1,2 a +1,4 V uma solução a 0,5 mol L⁻¹ de H₂SO₄. Argônio foi usado purgar a solução durante os experimentos.

As medições de espectroscopia de impedância eletroquímica foram realizadas num sistema eletroquímico de três eletrodos, a 5 mV onda sinusoidal de amplitude, foi aplicado potencial de 0,15 V, na faixa de frequência de 1 Hz a 100 kHz, a 25 ° C. A solução a 50 mmolL⁻¹ de tampão MÊS continha 2,5 mmol L⁻¹ Fe (CN)₆^{-3/4} (1:1) par redox foi usada como eletrólito de suporte nas medições eletroquímicas.

Após a formação do sistema aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β-CDSH na superfície do eletrodo de ouro uma cela eletroquímica foi montada com eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, onde foi-se adicionando as concentrações de mangiferina em ordem crescente. O meio foi tampão fosfato pH 6,96.

As análises com o eletrodo de carbono vítreo foram realizadas em DMF/TBAP a 0,1 molL⁻¹, o gás inerte utilizado foi o argônio, a cela eletroquímica foi purgada por 15 minutos e durante as leituras o gás ainda era purgado na superfície da cela, de modo a evitar qualquer entrada de oxigênio.

3.3 Métodos espectroscópicos molecular de fluorescência e UV-Vis

Foi utilizado espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu) para medir e analisar a inclusão da mangiferina em CdSe/CdS / β-CDSH na cavidade da ciclodextrina. Uma solução aquosa de mangiferina 100 μmol L⁻¹ foi preparado em etanol, a mistura foi agitada a 170 rpm durante 1 h a 25 °C. As análises foram realizadas em tampão fosfato pH 6,96 a 5% (v/v) de etanol. A cubeta foi colocada no equipamento e aos poucos foi-se adicionando cada composto sem tirar a cubeta do lugar, de modo que o volume era determinado conforme a concentração final que era desejada para o analíto. Os valores de absorvância foram medidas na faixa de comprimento de onda de 240 - 368 nm.

Nos estudos de fluorescência (SHIMADZU), CdSe/CdS 1 μL (1% CdSe/CdS) foi colocado em 2 mL de uma solução aquosa a 5% etanol, em uma cubeta, com excitação em 380 nm e foi observada emissão entre 450 e 650 nm, em seguida, foi adicionado 20 μL de β-CDSH (1,0 mg/mL) enquanto que a concentração de mangiferina variou de 1 a 3 μmolL⁻¹. A inclusão de mangiferina em β-CDSH na ausência de CdSe/CdS foi avaliada e variou-se a concentração na faixa de 1 a 10 μmolL⁻¹, nas mesmas condições do estudo na presença de CdSe/CdS. Da mesma forma a cubeta foi colocada e foi-se adicionando os reagentes sem tirá-la

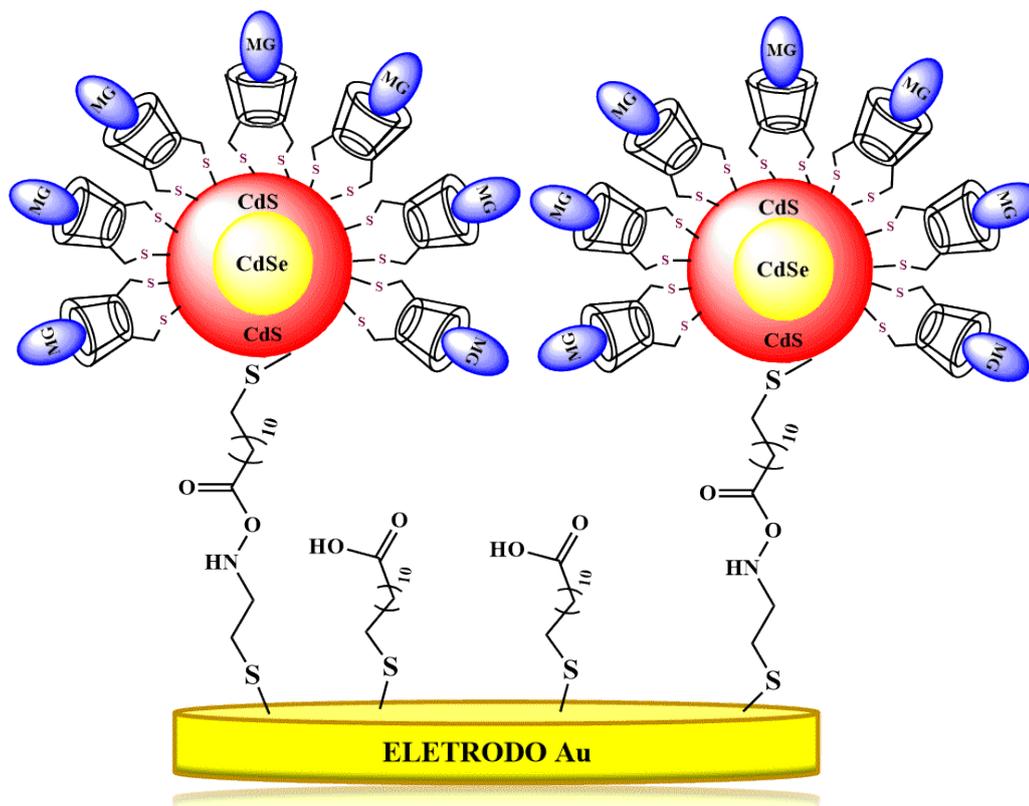
do lugar, o volume da solução de mangiferina adicionada foi calculado para a concentração final desejada.

3.4 Desenvolvimento do sensor

O eletrodo de ouro foi imerso em uma solução de 1:1 mg/mL de aminotiol em etanol por 1 hora, depois foi lavado com água, em seguida foi imerso em uma solução 1:1 mg/mL de MUA em etanol, então foi lavado com água e foi depositado em sua superfície 5 μ L de CdSe/CdS por 1,5 horas, depois foi lavado e imerso em uma solução de β -CDSH por 1 hora.

Na figura 8, é representado o esquema da monocamada auto organizada desenvolvida no presente trabalho; o ouro tem afinidade por grupamento tióis (BOUZITON *et al.*, 2007; DAMOS, LUZ, KOBOTA, 2007), no nosso estudo foi utilizado um aminotiol o grupamento tiol se ligou ao eletrodo de ouro e o amino ficou exposto, então adicionou-se a 11-MUA que se ligou ao grupamento amino e deixando um grupamento tiol exposto (DU *et al.*, 2008; FERREIRA, 2009), os QDs tem afinidade por grupamentos tiol e amino (HUANG *et al.*, 2013). Logo em seguida, depositou-se sobre a superfície do eletrodo o CdSe/CdS que se ligou ao grupo tiol após isto colocou-se a β -CDSH que se ligou ao CdSe/CdS (GIROLAMO *et al.*, 2008; PINWATTANA *et al.*, 2010; AMELIA *et al.*, 2012), formando assim a nossa monocamada auto organizada e, por fim, a mangiferina interage com a β -CDSH (FERREIRA 2009).

Figura 8: Representação estrutural da mono camada organizada.



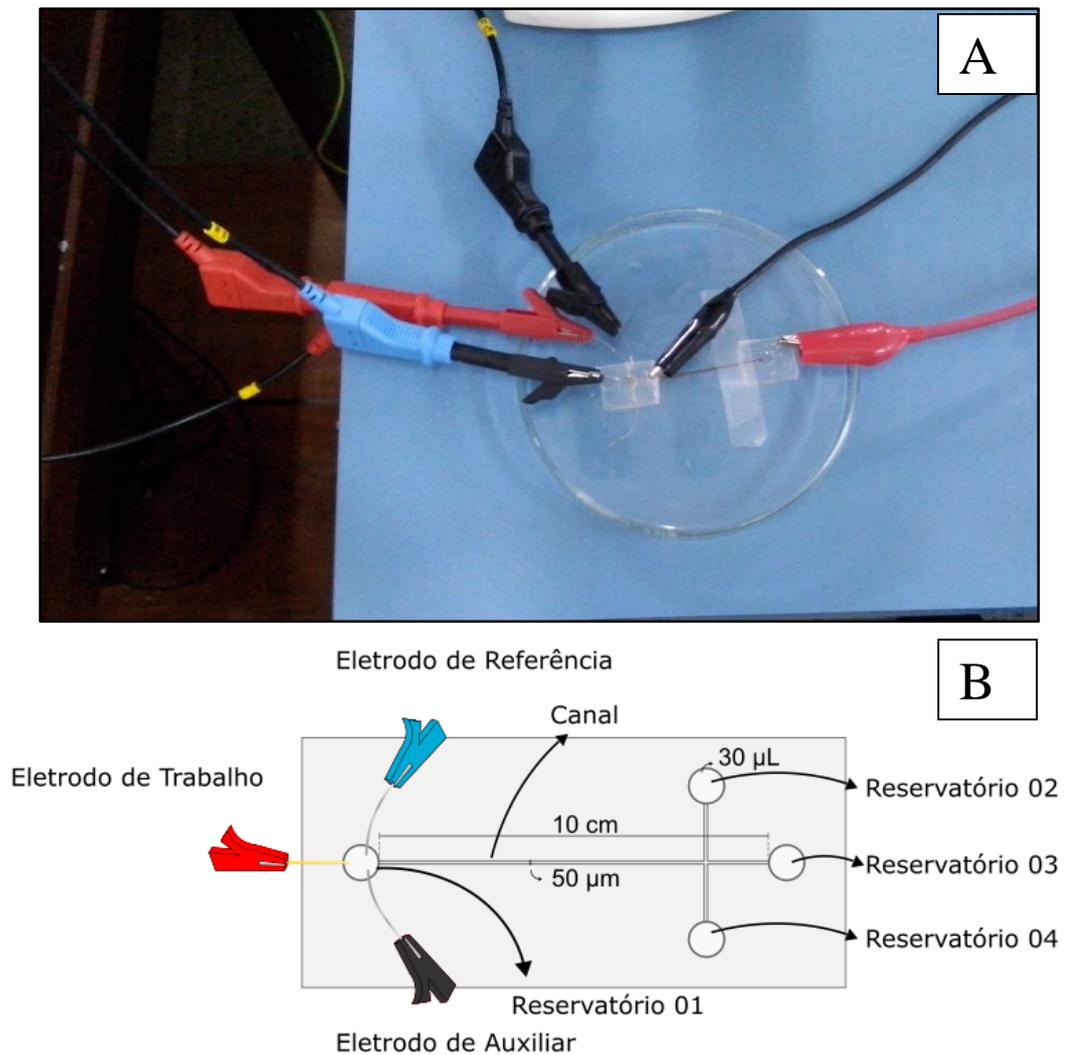
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

3.5 Microsistemas de análises

Os microdispositivos (Figura 9) foram fabricados utilizando-se gel elastomer polidimetilsiloxano (PDMS), onde o gel foi colocado em um molde e depois foi para uma estufa a 70 °C por 1 hora. Os microdispositivos possuem em seu corpo um eletrodo de ouro de 200 μm de espessura e 4 cm de comprimento. Utilizou-se o eletrodo de ouro porque esse possui uma alta pureza e uma ampla faixa de potencial de trabalho, aspectos importantes para a técnica de eletroforese capilar e para o desenvolvimento do sistema eletroquímico utilizado. Como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de platina e como eletrodo de referência um fio de prata. O eletrodo de ouro foi posicionado na saída do canal, detectando imediatamente a substância, ficando apenas as espécies separadas de acordo com a mobilidade eletroforética. Para gerar o fluxo eletrosmótico, foi utilizado uma fonte de alta tensão (1500 V) da marca Ultravolt. Uma monocamada auto organizada foi desenvolvida no eletrodo de ouro do microsistema da mesma forma como no eletrodo convencional e os reagentes utilizados seguiram as mesmas concentrações. No reservatório 2 é colocado o tampão, no reservatório 3

é colocado o analíto, e o reservatório 4 é o descarte. A amostra percorre o canal até chegar no reservatório 1 onde tem contato com o sistema eletroquímico (Figura 9 B). Em figura 9 A é mostrado o sistema real.

Figura 9: A) *Microdispositivo utilizado nas análises.* B) *Representação com as dimensões.*



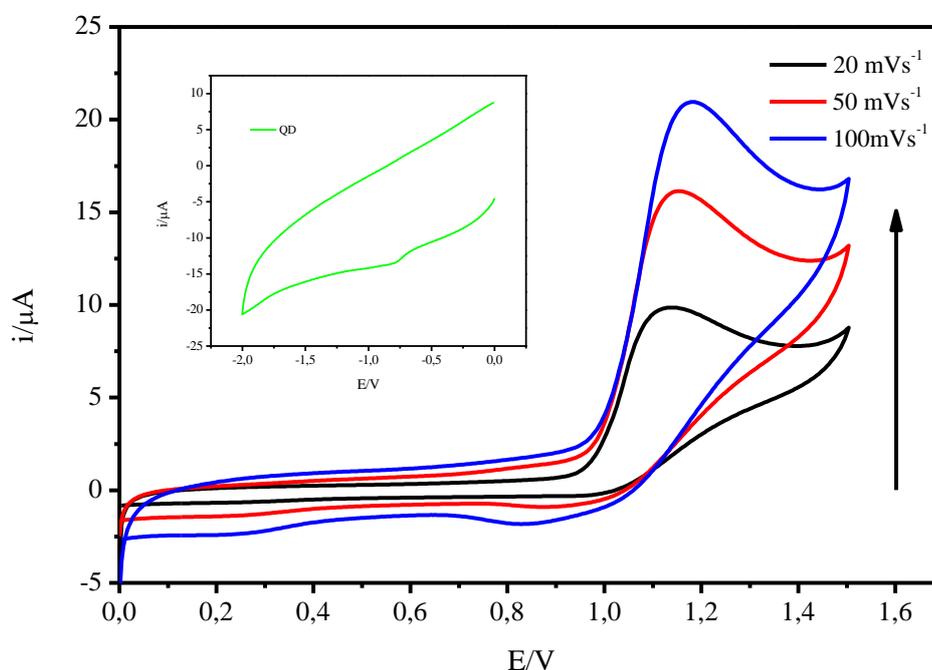
Fonte: elaborado pelo autor, 2016.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento e estudo eletroquímico do sistema CdSe/CdS/ β -CDHS

Os estudos eletroquímicos do núcleo-casca de CdSe/CdS foram realizadas em meio aprótico por voltametria cíclica utilizando eletrodo de carbono vítreo. Foram investigados os efeitos da velocidade de varredura ($0,020 - 0,10 \text{ Vs}^{-1}$). O voltamograma de CdSe/CdS livre exibiu uma única onda anódica em $E_{pa} + 1,100 \text{ V}$ a 100 mV/s , que se desloca para potenciais mais positivos com o aumento da velocidade de varredura (v) e pico inverso, em altas taxas de varredura (Figura 10). O pico de potencial (E_p) e o pico de corrente (I_p) variam linearmente com $v^{1/2}$. Tal comportamento é característico do processo de controle de corrente de difusão. O pico de oxidação é provavelmente para ser atribuído à oxidação de selênio localizados em diferentes fases de oxidação de nanocristais (SILVA *et al.*, 2014; DEBGUPTA, SHINDE, PILLAI, 2012). Um pico de redução também foi observado em $E_{pc} = -0,79 \text{ V}$, provavelmente, a redução de íons de cádmio.

Figura 10: Voltamograma cíclico registrado com 1 mmol L^{-1} de CdSe/CdS em DMF / TBAP $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ no eletrodo de carbono vítreo. Efeito da taxa de digitalização. A inserção mostra o pico catódico.



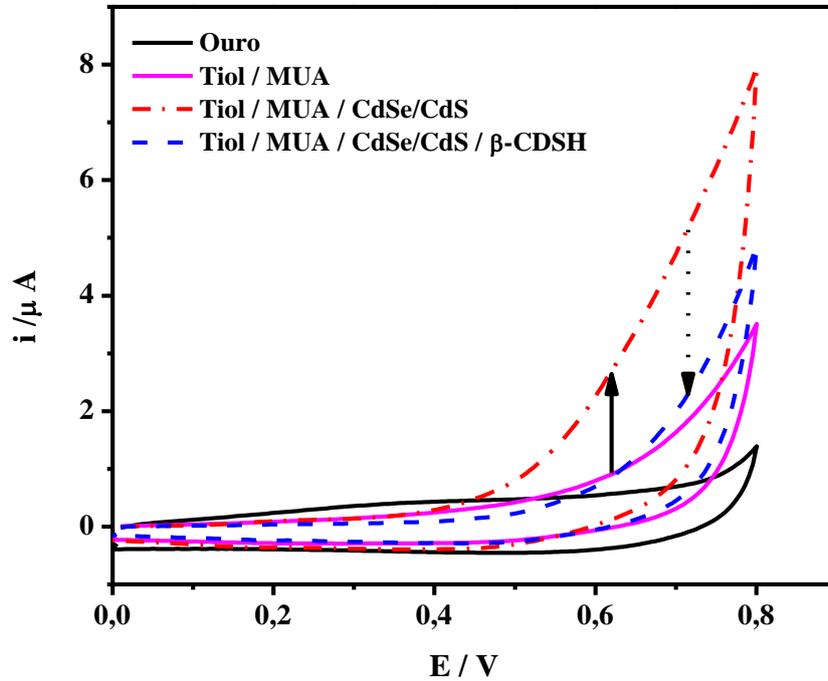
Fonte: elaborado pelo autor, 2016.

Para a formação da monocamada auto organizada, aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH são imobilizados através de ligações covalentes no eletrodo de ouro usando afinidade pelo grupo tiol (BOUZITON *et al.*, 2007; DAMOS, LUZ, KOBOTA, 2007; DU *et al.*, 2008;

GIROLAMO *et al.*, 2008; FERREIRA, 2009; PINWATTANA *et al.*, 2010; AMELIA *et al.*, 2012; HUANG *et al.*, 2013). Para esse efeito, no eletrodo de ouro foi imerso em uma solução diluída de cada um dos compostos (aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH) em etanol durante diferentes períodos de tempo. Para caracterizar esse eletrodo modificado, voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) foram utilizadas. A figura 11 mostra os voltamogramas de VC e os gráficos de EIE são apresentados na figura 12.

Na figura 11 em preto e linhas sólidas, observa-se o voltamograma do eletrodo de ouro limpo; em linhas sólidas e rosa é apresentado o voltamograma do eletrodo de ouro modificado com as monocamadas de aminotiol e 11-MUA. Observa-se uma área capacitiva maior quando comparado ao ouro limpo pelo fato de ficar exposto na superfície o grupamento tiol, gerando assim uma carga na superfície; para a formação da monocamada Tiol/MUA no eletrodo de ouro, pico de oxidação não foram observados. Por outro lado, para os CdSe/CdS – linhas pontilhadas e tracejadas em vermelho – um sistema de oxidação foi observada a +0,7 V, bem como observa-se uma área eletroativa muito maior. A adição de β -CDSH – linhas tracejadas em azul – na superfície do eletrodo ocasionou a diminuição da área capacitiva por causa da resistência da monocamada auto organizada pelo fato de β -CDSH não ser eletroativa, a representação da monocamada auto organizada é mostrada na figura 8 (pág. 35). Os dados de espectroscopia de impedância eletroquímica (Figura 12) também apresentam o aumento da passivação do eletrodo em forma de maior R_{ct} . Considerou-se que o tempo de deposição ótima foi 1h a fim de obter uma monocamada auto organizada que não passivasse completamente a superfície do eletrodo. O voltamograma de oxidação do eletrodo modificado com CdSe/CdS é significativamente diferente do voltamograma de CdSe/CdS na solução de DMF/TBAP (fig. 10) em parte por causa da variação de faixa de potencial e porque meios diferentes foram usados, também porque em DMF/TBAP o QD estava em solução, já na superfície do eletrodo ele está imobilizado, e em DMF/TBAP o objetivo era mostrar que CdSe/CdS é eletroativo. Os testes de comportamento provam que este sistema foi formado na superfície do eletrodo.

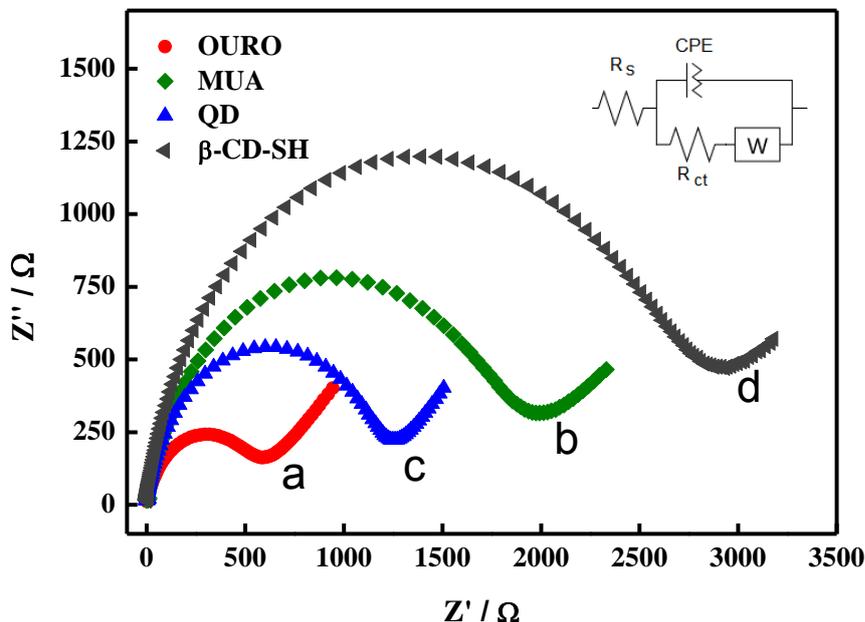
Figura 11: Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro modificado (aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH) a 1 mmol L^{-1} de $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$, em velocidade de 50 mVs^{-1} .



Fonte: elaborado pelo autor, 2016.

Espectroscopia de impedância eletroquímica é uma ferramenta poderosa no estudo de fenômenos na interface eletrodo-solução, em particular na modificação da superfície, uma vez que este pode promover o aumento ou diminuição da resistência de transferência de carga (WANG *et al.*, 2012). Os resultados das sucessivas mudanças de impedância do eletrodo são mostrados na figura 12, em que o diâmetro do semicírculo a frequências mais elevadas corresponde a resistência de transferência de carga (R_{CT}) e a parte linear a frequências mais baixas corresponde à resistência a difusão da solução (R_S) (DING, et al., 2005).

Figura 12: Diagramas de Nyquist de EIE obtidos no eletrodo de ouro modificado: (a) eletrodo limpo, (b) Tiol/MUA, (c) Tiol/MUA/CdSe(CdS), (d) Aminotiol/MUA/CdSe/CdS/ β -CDSH. A faixa de frequência é entre 1 Hz e 100 kHz, com amplitude do sinal de 5 mV.



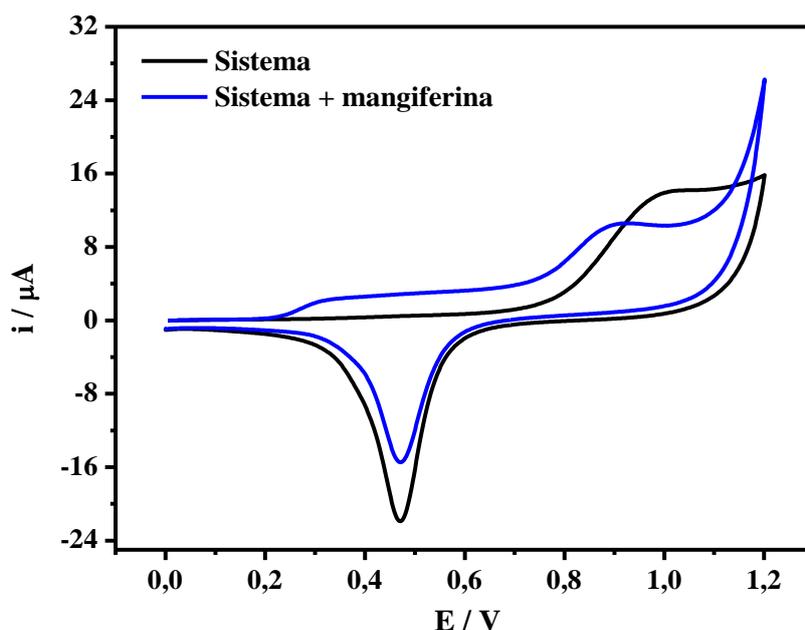
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

A impedância do eletrodo de ouro limpo –em vermelho no gráfico –, representado por diagramas de Nyquist (imaginária parte Z'' vs. A parte real Z'), apresentam diâmetros semicirculares muito menores do que as observadas em outras mudanças no eletrodo, isso é devido ao baixo R_{ct} , ou seja, o eletrodo de ouro limpo conduz carga facilmente. A partir dos espectros EIE, observa-se, o eletrodo de ouro – em vermelho –, eletrodo com aminotiol / 11-MUA – verde –, eletrodo com aminotiol / 11-MUA / CdSe/CdS – em azul –, eletrodo modificado com 11-MUA / CdSe/CdS / β -CDSH – em cinza –, as resistências à transferência de mudanças são de 554 Ω , 1850 Ω , 1170 Ω e 2680 Ω , respectivamente, e as resistências solução de difusão são de 1.411 Ω , 1560 Ω , 1314 Ω e 1943 Ω , respectivamente. Note-se que CdSe/CdS com propriedades semicondutoras pode aumentar a condutividade elétrica do eletrodo modificado com aminotiol / 11-MUA e que a condutividade é diminuída quando os pontos quânticos são funcionalizados com β -CDSH. A modificação do eletrodo de ouro proposto como o sensor tem maior resistência à difusão da solução, possivelmente porque a difusão das espécies eletroativas em solução só ocorre na interface da superfície do eletrodo.

4.2 Interação do sistema aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH com a mangiferina através da voltametria cíclica

Sendo a voltametria cíclica uma técnica para quantificar e investigar sistemas eletroquímicos (SKOOG, 2006) procedeu-se de início a investigação da faixa de reatividade da mangiferina, frente ao sistema e posterior quantificação com a técnica de voltametria cíclica. Conforme a figura 13, pode-se observar que a resposta eletroquímica da mangiferina deu-se em torno de +0,3 V; para obter-se tal gráfico foi realizada uma varredura nas mesmas condições anteriormente definidas e com velocidade de varredura de 50 mVs^{-1} , a concentração utilizada foi de $100 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina. Pode-se observar que a partir do ponto de encapsulamento da mangiferina há um aumento da onda.

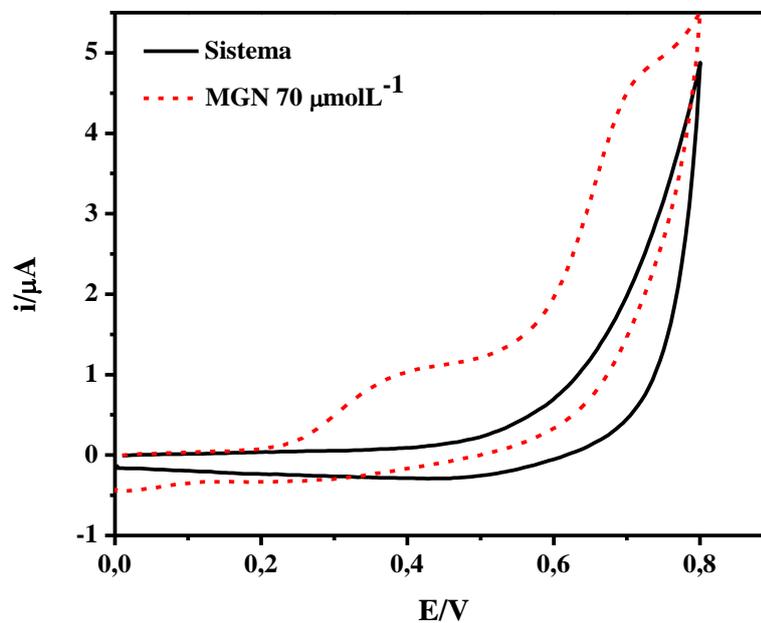
Figura 13: Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro modificado (aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH) interagindo com a mangiferina a uma concentração de $100 \mu\text{mol/L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,96 à 50 mVs^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Apesar de na figura 13 perceber-se muito nitidamente que a mangiferina aparece em torno de +0,3 tal voltamograma mostra o sinal do ouro em +0,5 V e +1 V, logo, fez-se a análise de maneira que o sinal do ouro não parecesse (Figura 14), onde diminuiu-se a faixa de potencial para de +0,1 V a +0,55 V com uma concentração de $70 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina, corrobora o que está demonstrado na figura 13, pois, o sinal da mangiferina aparece em torno de +0,3 V, onde se vê um aumento de onda e maior área eletroativa, comprovando que há uma interação entre o sistema e a mangiferina.

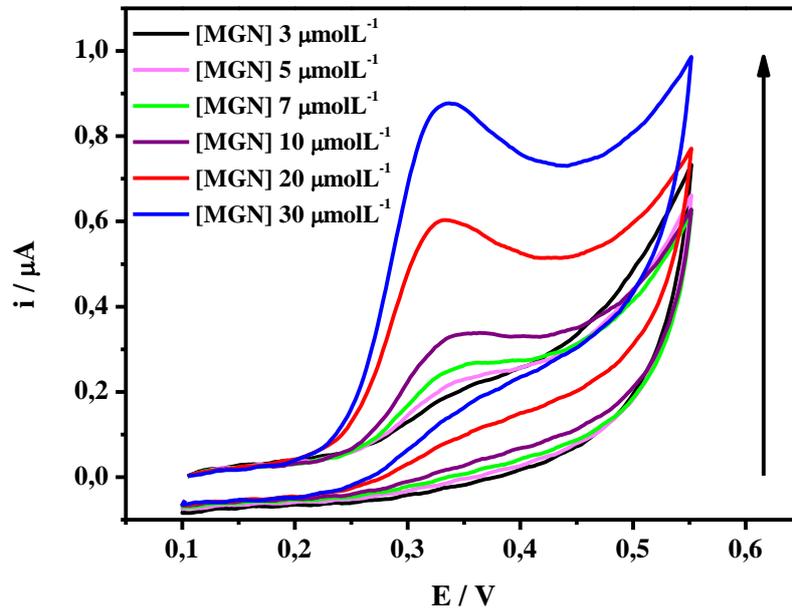
Figura 14: Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro modificado (aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH) interagindo com a mangiferina a uma concentração de $70 \mu\text{mol/L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,96 à 50 mVs^{-1}



Fonte: elaborada pelo autor, 2016.

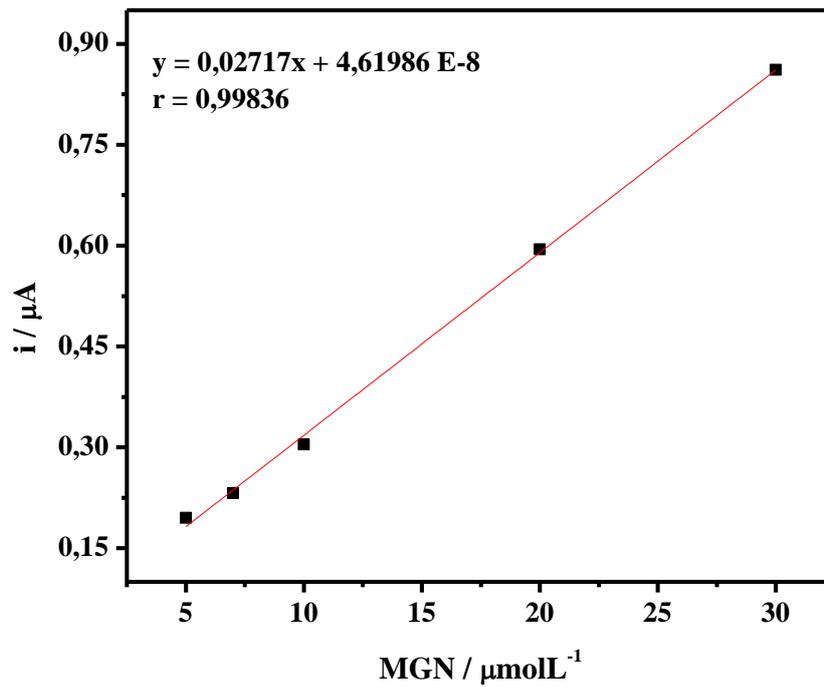
Sendo assim, a faixa de trabalho definida para a realização de análises específica da mangiferina foi de +0,1 até +0,55 V. Conforme a figura 15, pode-se observar que houve uma relação diretamente proporcional entre o aumento da intensidade da corrente e o aumento da concentração de mangiferina. Com o auxílio do software NOVA® pôde-se chegar a conclusão dos valores de corrente para cada concentração do analito para realizar a construção de uma curva de calibração (Figura 16).

Figura 15: Sobreposição dos voltamogramas cíclicos com a variação das concentrações de mangiferina, em tampão fosfato pH 6,96 à 50 mVs^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Figura 16: Curva de calibração para as correntes de VC.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Através dos resultados apresentados na figura 16 pode-se afirmar que o referido sistema é eficiente, pois observa-se uma curva de calibração homogênea e retilínea com um coeficiente angular de 0,99836. Isso é corroborado pela alta sensibilidade do sistema, pois foi possível a quantificação a partir de $3 \mu\text{molL}^{-1}$. Vale ressaltar ainda que não houve adsorção do analito na superfície do eletrodo, pois é relatado a dificuldade de se conseguir homogeneidade e repetitividade com o analito em questão (FERREIRA, 2009). FERREIRA (2009) utilizando uma imobilização em eletrodo de ouro sem a presença de CdSe/CdS conseguiu níveis consideráveis de detecção a partir de uma concentração de $5 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina enquanto que no presente estudo obteve-se a partir de $3 \mu\text{molL}^{-1}$. Ainda neste mesmo estudo, Ferreira obteve um valor do pico de corrente de $0,25 \mu\text{A}$ e $0,45 \mu\text{A}$ para as concentrações de $30 \mu\text{molL}^{-1}$ e $60 \mu\text{molL}^{-1}$, respectivamente, enquanto que no presente trabalho obteve-se uma corrente de $0,85 \mu\text{A}$ para uma concentração de $30 \mu\text{molL}^{-1}$, ou seja, se compararmos as correntes obtidas para a concentração de $30 \mu\text{molL}^{-1}$ isso significa um aumento de 3,4 vezes, o que prova que o sistema desenvolvido neste trabalho foi mais eficiente. Mostrando, assim, que houve um ganho de sensibilidade significativo ao utilizar CdSe/CdS, o fato desses nanocristais estarem em escala nanométrica e serem materiais semicondutores gera tal efeito (CHEN *et al.*, 2014).

Comparando também o fato de que FERREIRA obteve o pico de corrente em um potencial em torno de $+0,6 \text{ V}$ enquanto que no presente estudo o potencial foi em $+0,32455 \text{ V}$, fato este que corrobora a facilidade e ganho de sensibilidade que houve ao utilizarmos um material semicondutor. Determinou-se o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) pelas equações:

Eq 1.

$$LD = \frac{3 \times S_B}{S}$$

Eq 2.

$$LQ = \frac{10 \times S_B}{S}$$

onde LD é o limite de detecção, LQ é o limite de quantificação, S_B é o desvio padrão do coeficiente angular da curva de calibração e S é o coeficiente angular da curva de calibração. Estas equações devem ser aplicadas a uma curva de calibração de 10 gráficos brancos; porém como não foi feito 10 gráficos brancos fez-se os cálculos com a curva de calibração para as

correntes de voltametria cíclica (Figura 16), o valor encontrado para LD foi de $0,06 \mu\text{molL}^{-1}$ e para LQ foi de $0,20 \mu\text{molL}^{-1}$.

Em estudos anteriores, PINWATTANA e colaboradores (2010), utilizando CdSe/ZnS obtiveram uma melhora significativa na detecção de serina bovina fosforilada em solução, bem como DU e colaboradores (2008) imobilizaram CdTe na superfície de um eletrodo de ouro para detectar neutravidina e o resultado também foi significativo. Já MEDINA-SÁNCHEZ e colaboradores (2014) utilizaram CdSe/ZnS em um sistema microfluídico em fluxo, para detectar apolipoproteína. Tais estudos deixam evidente que adicionar um nanocristal semiconductor amplifica o sinal de corrente em sistemas eletroquímicos.

4.3 Cálculo da Constante de Formação (K_F) de MGN na monocamada auto organizada de Aminotiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH

Foi construída uma curva para o complexo MGN: β -CDSH na monocamada auto organizada de aminotiol / 11-MUA / CdSe/CdS / β -CDSH utilizando a técnica de voltametria cíclica, para a faixa de concentração de $3 \mu\text{molL}^{-1}$ a $30 \mu\text{molL}^{-1}$ o aumento da concentração de mangiferina, ocasiona um aumento linear da corrente de pico, como já foi relatado isso significa que não houve adsorção do analito na superfície do eletrodo e em concentrações acima de $30 \mu\text{molL}^{-1}$, observa-se uma diminuição da corrente de pico significando que toda a β -CDSH imobilizada na superfície do eletrodo foi quase que totalmente encapsulada com mangiferina. Quando a corrente de pico começou a saturar, foi possível determinar a constante de formação (K_F) de mangiferina na monocamada auto organizada, utilizando uma derivada da isoterma de Langmuir (MAEDA, et al., 1997; FERREIRA, 2009) cujo os cálculos são realizados mediante a Equação 3:

Eq 3.

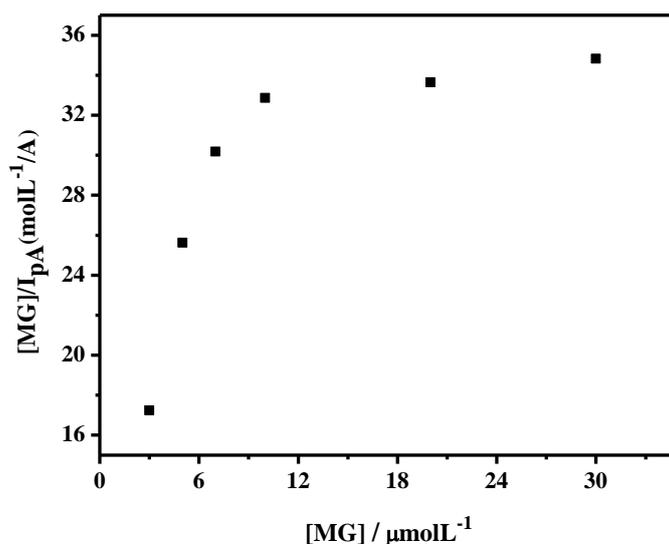
$$\frac{[H\acute{o}spede]_0}{I} = \frac{1}{K_{H\acute{o}spede} I_{m\acute{a}x}} + \frac{[H\acute{o}spede]_0}{I_{m\acute{a}x}}$$

onde em $[H\acute{o}spede]$ ocorre a concentração da espécie eletroativa, que no presente trabalho é a mangiferina I é a intensidade da corrente de pico medida para cada uma das concentrações da mangiferina que no caso é a molécula hóspede, $I_{m\acute{a}x}$ é a corrente de pico máxima, e $K_{H\acute{o}spede}$ é a

constante de formação da molécula hospedeira com β -CDSH imobilizada na superfície do eletrodo de ouro (MAEDA *et al.*, 1997; FERREIRA, 2009).

O gráfico de $[H\acute{o}spe] / I_{pa}$ vs. $[H\acute{o}spe]$ para a mangiferina obedece à derivada da isoterma de Langmuir o que pode ser observado na figura 17. O valor da constante de formação (K_F) foi de $1,67 \times 10^5$, mostrando que o referido sistema tem alta sensibilidade e seletividade pelo analito em questão fato este que se torna mais embasado quando comparado com o valor encontrado para K_F por Ferreira que foi de $7,75 \times 10^4$, ou seja houve um aumento de 2,15. Tal resultado pode ser explicado pelo fato de em um intervalo de concentração maior, Ferreira obteve sinais de corrente menores, e tal efeito se deve aos QDs aqui estudados, sendo assim mais sensível, o que comprova que houve uma melhor interação no sistema h\acute{o}spe-hospedeiro, ou seja β -CDSH – MGN.

Figura 17: $[MGN] / I_{pa}$ vs $[MGN]$



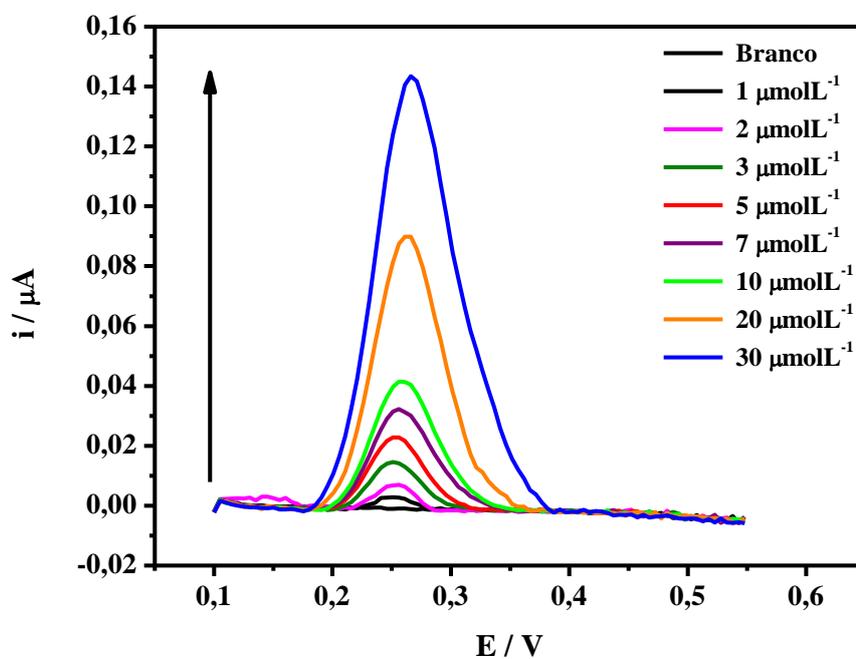
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

4.4 Interação do sistema com a mangiferina através da voltametria de pulso diferencial

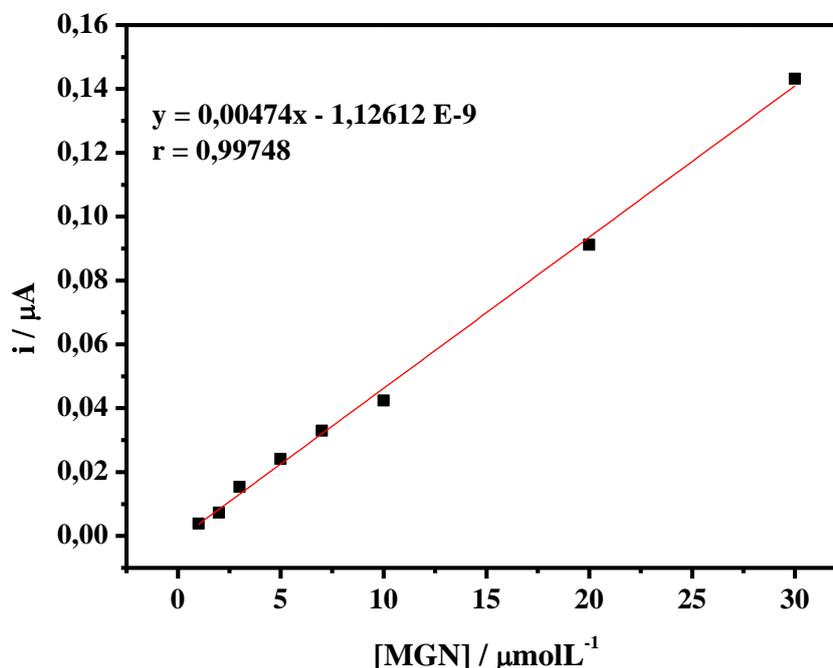
Estando a faixa de potencial bem definida frente as análises com a voltametria cíclica utilizou-se também para a voltametria de pulso diferencial a faixa de +0,1 até +0,55 V, foram também mantidas as mesmas condições de concentrações das soluções e velocidade de varredura. Conforme a figura 18 é notório que também houve uma relação diretamente

proporcional entre o aumento de intensidade da corrente e o aumento da concentração de mangiferina; como já era esperado houve uma resposta mais sensível quando comparado a técnica de voltametria cíclica, isto é observado pelo fato de ter se obtido resposta com as concentrações de 1 e 2 μmolL^{-1} de mangiferina; sendo que na voltametria cíclica houve resposta a partir de 3 μmolL^{-1} . Foi determinado o valor de LD e LQ para a técnica de voltametria de pulso diferencial de maneira análoga a técnica de voltametria cíclica; o valor encontrado para LD foi de 0,03 μmolL^{-1} e para LQ de 0,18 μmolL^{-1} .

Figura 18: Sobreposição dos voltamogramas de VPD com a variação das concentrações do analito.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Figura 19: Curva de calibração para a VPD.

Fonte: elaborado pelo autor, 2016.

A curva de calibração (Figura 19) obtida apresentou um coeficiente de correlação de 0,99748, o que comprova a alta sensibilidade do sensor para o analito em questão. Observa-se a boa relação do sistema eletroquímico com a mangiferina visto a curva de calibração apresentar-se homogênea, retilínea e com um coeficiente de correlação (linearidade) de 0,99748. Isso só vem a corroborar mais uma vez a alta eficiência do sistema visto que não houve uma adsorção na superfície do eletrodo. Houve boa correlação por duas técnicas eletroquímicas diferentes.

4.5 Análises espectroscópicas

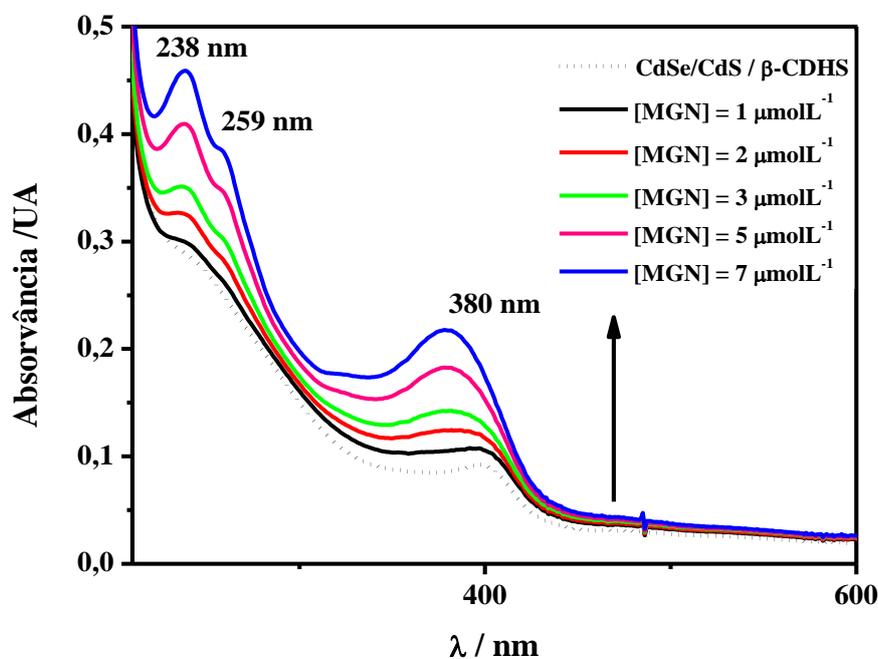
É de conhecimento prévio que os *quantum dots* apresentam propriedades ópticas, sendo assim, verificou-se a influência frente as técnicas de espectroscopia de UV-Vis e espectroscopia de fluorescência para corroborar com os resultados eletroquímicos.

4.5.1 Espectroscopia UV-Vis

Para as experiências de espectroscopia de UV-Vis, a mesma solução do eletrólito foi usada como no caso das análises de voltametria cíclica. As medições de UV-Vis foram feitas

num espectrômetro (faixa de comprimento de onda 180 - 1100 nm). A banda de absorção situado em torno de 397 nm (3,2 eV) está relacionada com a CdSe (SILVA, et al., 2013). O espectro de absorção da mangiferina neste meio mostrou quatro principais bandas de absorção no que pode ser descrito como: a primeira banda a $\lambda_{\text{máx}} = 240$ nm, pode ser atribuído a energia $\pi \rightarrow \pi^*$ transição médio do anel aromático, enquanto que a segunda no $\lambda_{\text{máx}} = 230 - 260$ nm, é devido a $\pi \rightarrow \pi^*$ transição no sistema enona s-trans pela presença β -dicetona cíclica. A terceira banda menos intensa em $\lambda_{\text{máx}} = 317$ nm é relacionada com os $n \rightarrow \pi^*$ transições do anel aromático. A última banda perto do intervalo visível pode ser atribuída a uma absorção de transferência de carga intramolecular (FERREIRA 2009). No experimento espectroeletroquímico da solução de aminotiol / 11-MUA / CdSe/CdS β -CDSH, são observados somente em bandas 246 e 380 nm. Após a adição de mangiferina, uma nova onda aparece em 238 nm e para as outras ondas, a intensidade aumenta muito, ou seja, há um ganho de precisão (Figura 20). Estas bandas estão relacionadas com a absorção dos grupos cromóforos presentes na estrutura de compostos antioxidantes e sugerem que o número de moléculas de mangiferina envolvidos na transferência de fase foi aumentada (FERREIRA, 2009).

Figura 20: Espectros de UV-vis na presença de CdSe/CdS.

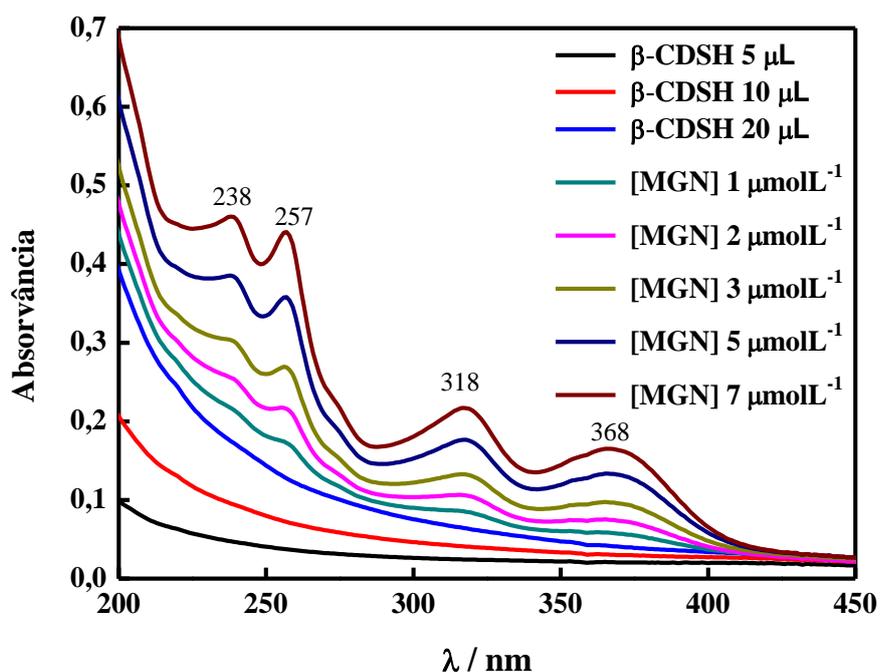


Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Uma comparação dos espectros de UV-Vis da mangiferina na presença de β -CDSH, sem CdSe/CdS (Figura 21), a banda a 318 nm ($n \rightarrow \pi^*$ transições) é significativamente suprimida. Esse comportamento demonstra forte interação entre o sistema e a mangiferina caracterizando um processo de encapsulamento. Comparando-se as figuras 20 e 21 outro fato chama a atenção, em presença de CdSe/CdS há um deslocamento de 368 para 380, ou seja, na região do vermelho, quanto maior o comprimento de onda menor a frequência, e quanto menor a frequência a intensidade de energia necessária para excitar a molécula. Isso mostra que ao adicionarmos CdSe/CdS e β -CDSH em solução, as β -CDSH são adsorvidas na superfície de CdSe/CdS e forma-se um complexo de estado fundamental. Daí o fato de o complexo formado ter absorção em 380 nm enquanto que na ausência de CdSe/CdS a absorção ser em 368 nm. Uma observação semelhante foi feita por WANG e colaboradores (2011) em estudos com DNA.

DABBOUSI e colaboradores (1997) estudando os efeitos ópticos de CdSe/ZnS observou que o aumento do diâmetro ocasiona um deslocamento da banda de absorvância para maiores comprimentos de onda, ou seja, menores energias, fato este que também corroboram com nossas conclusões baseadas em nossos resultados experimentais.

Figura 21: Espectros de UV-vis na ausência de CdSe/CdS.

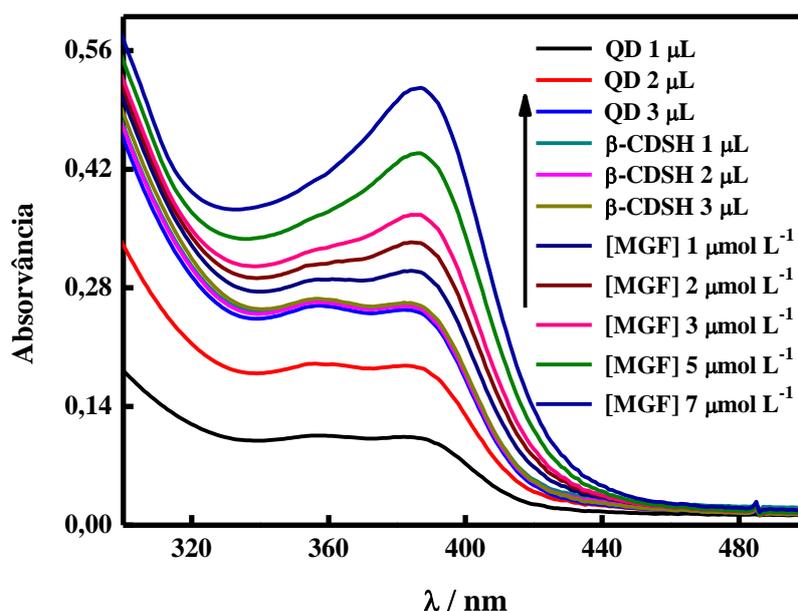


Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Em um estudo de fotocondutividade para avaliar os efeitos da espessura do núcleo de CdSe/CdS em uma matriz porosa de SnO₂ observou-se que os espectros são caracterizados por uma tendência geral, o aumento da espessura é acompanhado por um deslocamento do máximo de absorção para um comprimento de onda maior. O aumento da espessura da casca fornece um desvio para o vermelho de absorvância. A quantidade exata de elétrons transferidos em uma matriz sob iluminação é determinada pela concentração de *quantum dots* e a eficiência da transferência de elétrons a partir dos fótons que são excitados. Logo, o aumento da intensidade dos fótons esta relacionada apenas com a eficiência de transferência de elétrons (DROZDOV et al 2013). Quando se aumentou a concentração de CdSe/CdS (Figura 22) observou-se um aumento ainda maior da intensidade, e à medida que se aumentou a concentração de mangiferina na solução as bandas começaram a se sobrepor, o que está em concordância com relatos de estudos anteriores (DROZDOV *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2011).

Se compararmos a banda em 380 nm das figuras 20 e 22, pode-se confirmar que há um ganho muito grande e preciso de troca de energia entre as espécies envolvidas. Isso comprova as conclusões obtidas nas análises eletroquímicas onde obtivemos um deslocamento de pico para um valor de potencial menor e obtivemos um sinal de corrente maior quando comparado com estudos anteriores (pag. 40-41).

Figura 22: Espectros de UV-vis com excesso de CdSe/CdS.



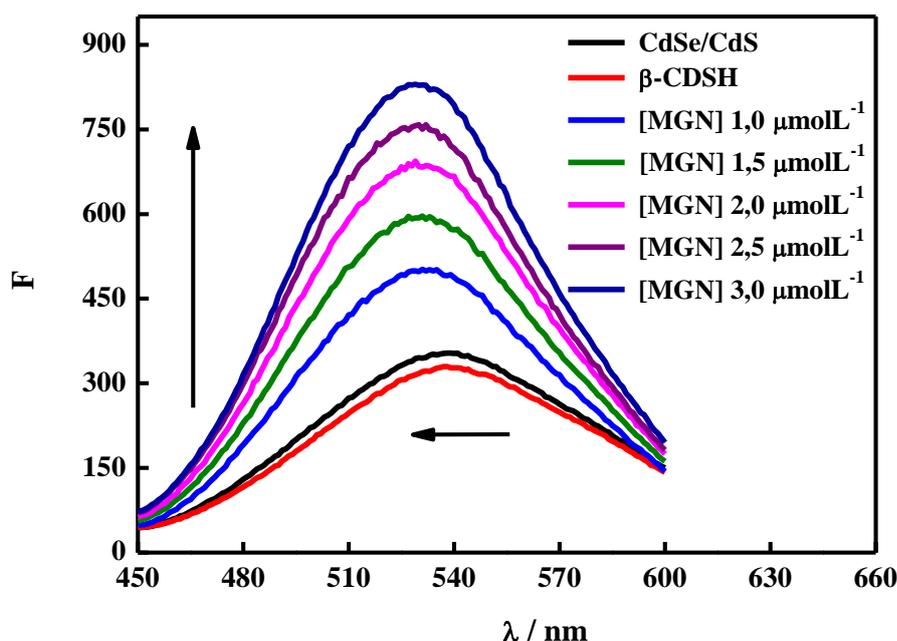
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

4.5.2 Espectroscopia de fluorescência

Estudos de fluorescência revelam que a estrutura núcleo-casca CdSe/CdS exibe luminescência na faixa de 450 - 600 nm (SILVA, et al., 2013), quando excitado pela fonte óptica de comprimento de onda de 350 nm houve uma melhoria significativa na intensidade de fluorescência que é observado a partir do núcleo do escudo CdSe/CdS quando adições de quantidades do composto tiolado (SH) β -CD foi realizada. Este comportamento é semelhante ao observado por outros ligantes tióis (AGUILERA-SIGALAT *et al.*, 2011; DE GIROLAMO *et al.*, 2008). Essa luminescência melhorada é muito maior quando mangiferina foi adicionado nesta solução (Figura 23).

Em um estudo para avaliar a fluorescência de CdSe/ZnS e CdSe foi observado que os espectros do composto núcleo-casca geravam uma banda com um pico mais bem definido, com uma área maior e sem a presença de uma cauda, CdSe apresentou uma cauda ampla devido às armadilhas de superfície, fato este que foi significativamente melhorado com a introdução de ZnS na superfície de CdSe (HINES; GUYOT-SIONNEST 1996). O sistema CdSe/CdS- β -CDSH-MGN (Figura 23) apresenta uma área maior sem a presença de cauda quando comparado ao espectro sem a presença de CdSe/CdS (Figura 24).

Figura 23: Espectros de fluorescência em presença de CdSe/CdS.

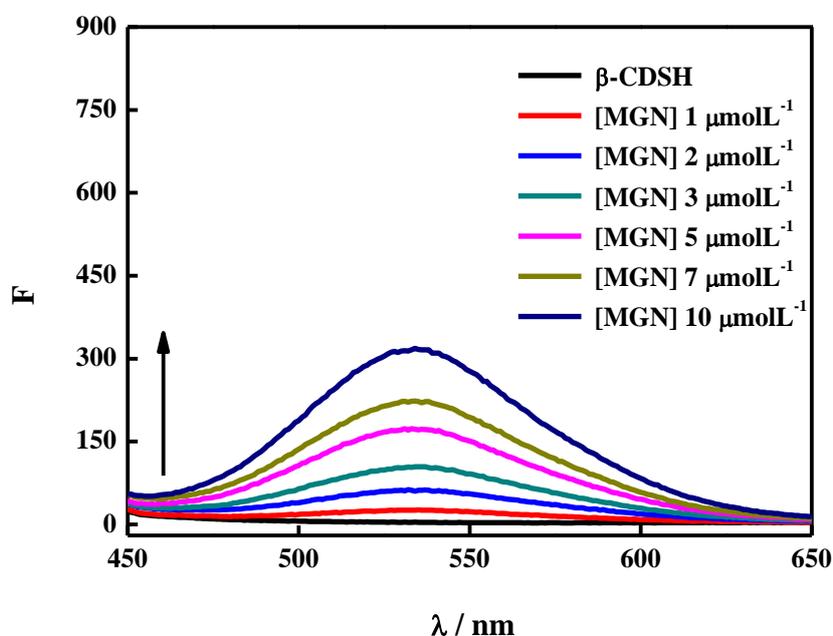


Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Essa intensidade foi de 8 vezes maior em concentrações de mangiferina variando de 1 a 3 μmolL^{-1} quando comparado a observada para mangiferina na presença somente de ciclodextrina (Figura 24). Assim como as análises de eletroquímica e UV-Vis, esses resultados sugerem também que mais moléculas de mangiferina estão associados à cavidade da ciclodextrina, mas também, na presença CdSe/CdS a transferência de energia provou ser mais eficaz mesmo com concentrações relativamente menores de mangiferina.

Estes resultados mostram um outro tipo de aplicação para CdSe/CdS, no caso eles podem servir como carreadores de droga rastreável, onde pode-se rotular um transportador de drogas com CdSe/CdS e β -ciclodextrina, que servem como marcadores fluorescentes bem fotoestáveis. A combinação dos dois componentes é potencialmente poderoso na identificação de alvos subcelulares preciso por co-localização de fluorescência e dispersão da luz de imagem. Assim como na espectroscopia de UV-Vis obtivemos uma resposta que corrobora com os resultados eletroquímicos comprovando que os nossos experimentos tiveram uma ótima correlação entre si e que um dá suporte ao resultado encontrado no outro.

Figura 24: Espectros de fluorescência na ausência de CdSe/CdS.

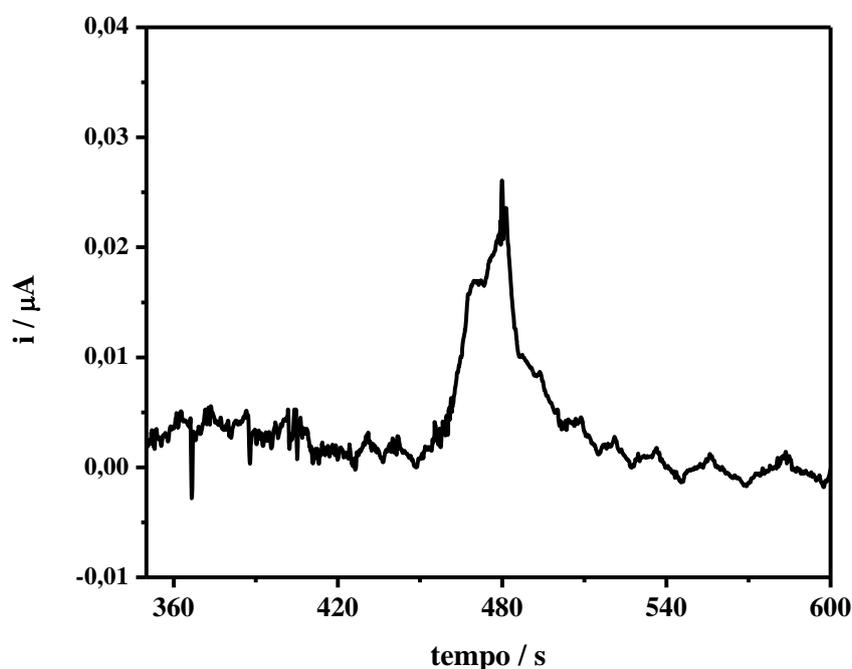


Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

4.6 Desenvolvimento do microssistema

Ficando evidente que o sistema eletroquímico apresentou uma resposta com o eletrodo tradicional; encaminhou-se para a etapa final do trabalho, que é a de desenvolver um microssistema de análise. Para isso, foram mantidas as mesmas condições anteriormente com exceção da técnica utilizada. A técnica em questão foi a amperometria, sendo os potenciais de referência para a curva de calibração da voltametria cíclica 0,32455 V e para a curva de calibração da voltametria cíclica 0,27618 V, para ambos próximos resolveu-se fazer uma média entre os dois potenciais e para utilização da amperometria, resultando em +0,3 V. Para ter uma garantia da análise foi realizado no potencial de +0,4 V. O tempo de retenção da amostra no canal foi de 1000 segundos. A corrida foi feita em 1400V e a injeção da amostra, [MGN] = 50 μmolL^{-1} , foi feita em 1600 V por 25 segundos. A figura 25 deixa claro que tal sistema detectou o analito, em estudos posteriores temos como meta variar as concentrações e o analito, pois o trabalho mostra-se bastante promissor visto que conseguimos em um sistema acoplar a nanotecnologia e a microflúidica.

Figura 25: Amperometria do microssistema.

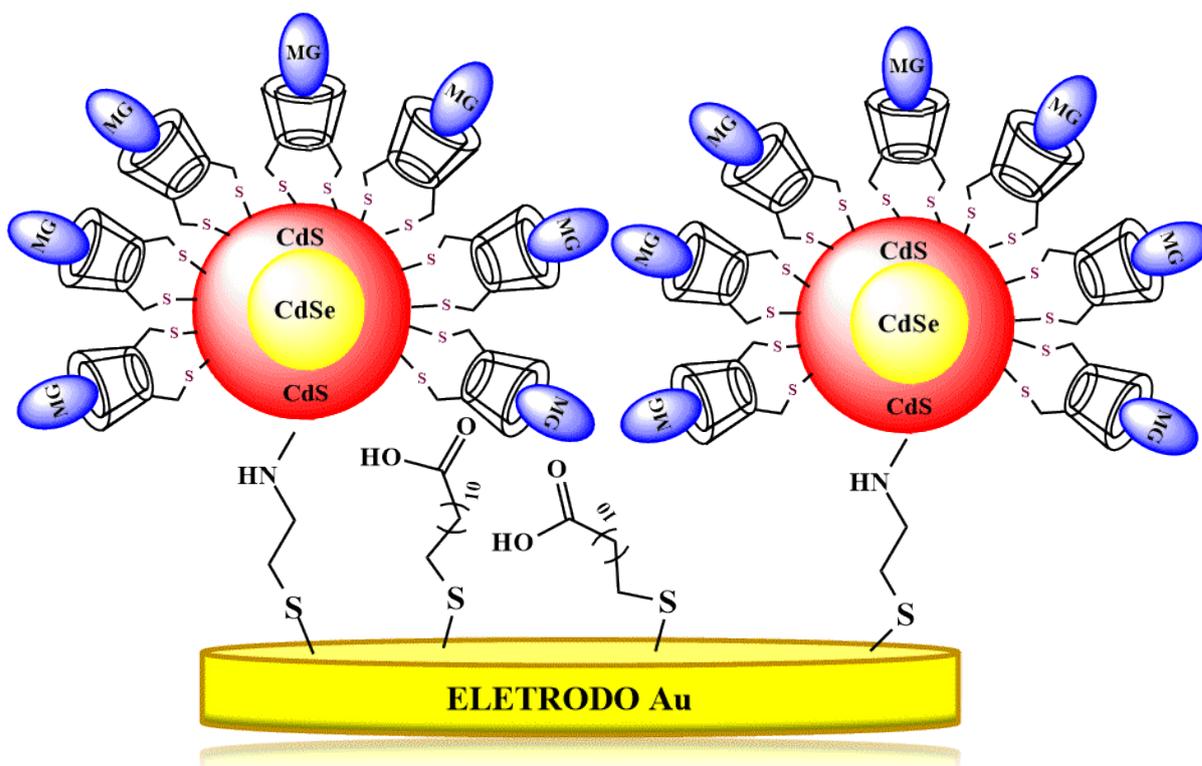


Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

4.7 Desenvolvimento e caracterização eletroquímica do sistema CdSe/CdS/ β -CDSH sem a presença de 11-MUA

Sabendo que os QDs também tem afinidade pelo grupamento amino, desenvolveu-se um sistema eletroquímico sem a presença de 11-MUA, ou seja, aminotiol / CdSe/CdS / β -CDSH (Figura 26), tais ligações e metodologia já foram descritos e detalhados na seção 3.5 páginas 31 e 32.

Figura 26: Representação estrutural da monocamada auto organizada.

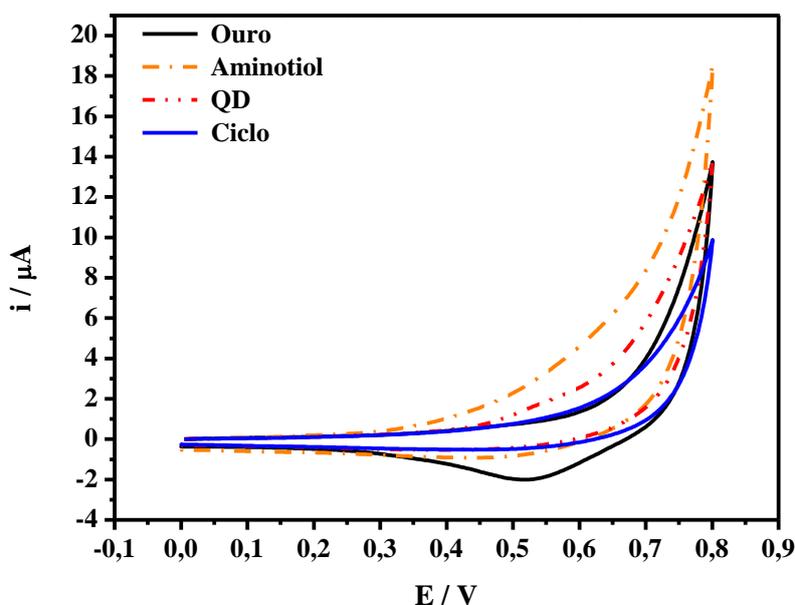


Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Fez-se então a caracterização do sistema eletroquímico pela voltametria cíclica (Figura. 27) em linhas sólidas e preto podemos observar o voltamograma do eletrodo de ouro limpo, ao adicionarmos o aminotiol – linha pontilhada em laranja – observa-se um aumento da área capacitiva pelo fato do grupamento amino estar exposto na superfície do eletrodo, ao adicionarmos o QD – linhas pontilhadas em vermelho – observa-se uma diminuição da área capacitiva, o que mostra que o CdSe/CdS teve menos afinidade pelo grupamento amino quando comparado ao grupamento tiol (pag. 36), pois pelo fato de ser um semiconductor deve-se esperar uma área eletroativa maior. Quando adicionou-se β -CDSH a área capacitiva foi

menor, fato este que já era esperado pois as ciclodextrinas não apresentam resposta eletroquímica.

Figura 27: Caracterização eletroquímica do sistema aminotiol / CdSe/CdS / β -CDSH em tampão fosfato a pH 6,96 e 50 mVs^{-1} .

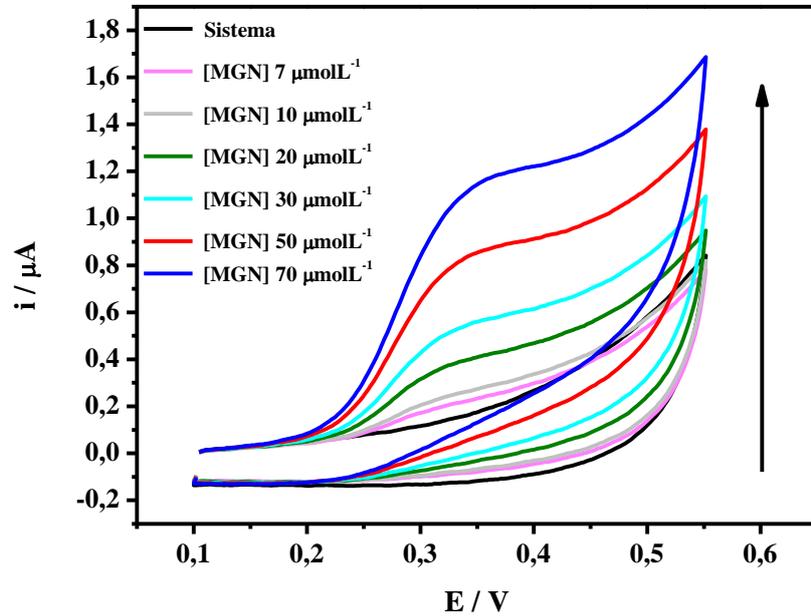


Fonte: Elaborado pelo autor, 2016

4.8 Interação do sistema com a mangiferina através da voltametria cíclica

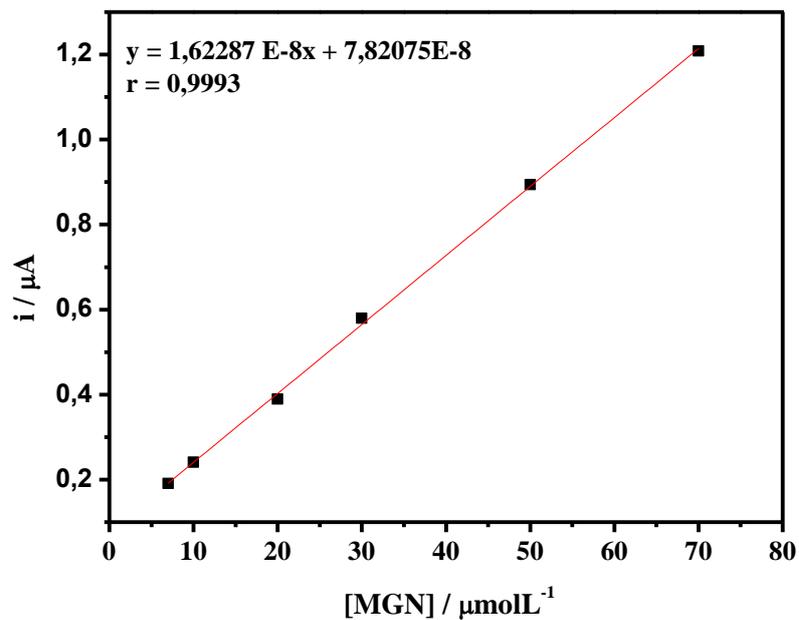
A mangiferina foi analisada da mesma forma que para a monocamada auto organizada de aminotiol / 11-MUA / CdSe/CdS / β -CDSH, onde foi adicionando-se o analito e a detecção foi realizada por voltametria cíclica da mesma forma que os outros experimentos, conforme a figura 28 pode-se perceber que houve um aumento linear da corrente ao aumentarmos a concentração de mangiferina, porém a sensibilidade deste sistema foi menor quando comparado ao outro; pois só foi possível caracterizar pico de corrente a partir de uma concentração de $7 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina enquanto que no outro sistema obtivemos picos a partir de uma concentração de $3 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina. Porém ainda continua a ser mais sensível que sistemas já relatados na literatura, ao compararmos os resultados de FERREIRA 2009, podemos ver que para uma concentração de $30 \mu\text{molL}^{-1}$ foi conseguido um pico de corrente de $0,25 \mu\text{A}$ enquanto que neste sistema para esta mesma concentração obtivemos um pico de corrente de $0,57 \mu\text{A}$.

Figura 28: Sobreposição dos voltamogramas cíclicos de mangiferina no sistema aminotiol / CdSe/CdS / β -CDSH em tampão fosfato a pH 6,96 e 50 mVs^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor 2016.

Figura 29: Curva de calibração de voltametria cíclica para o sistema aminotiol / CdSe/CdS / β -CDSH.



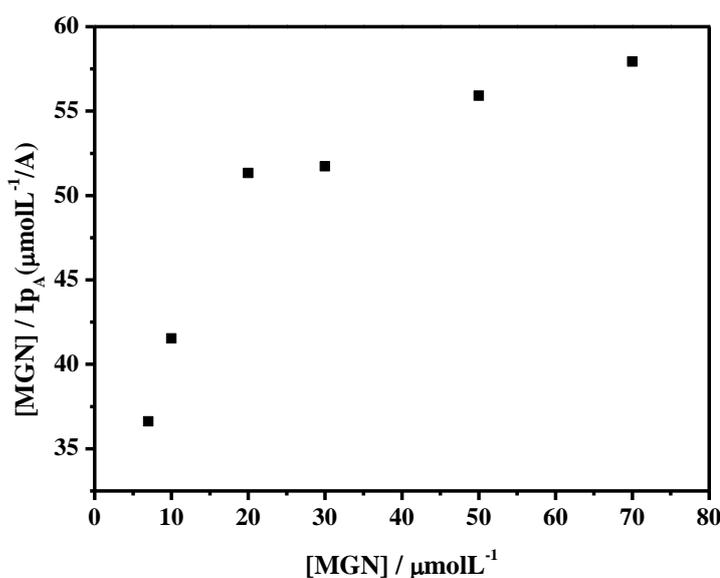
Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Foi construída uma curva de calibração (Figura 29) com os dados de voltametria cíclica do sistema aminotiol / CdSe/CdS / β -CDSH. A curva demonstra que houve uma boa correlação entre o sistema e o analíto pois obteve-se um coeficiente de relação de 0,9993 que demonstra que há uma interação muito boa entre o sistema eletroquímico e o analíto.

4.9 Cálculo da Constante de Formação (K_F) de MGN na monocamada auto organizada de Aminotiol / CdSe/CdS / β -CDS

Foi calculado a constante de formação (K_F) da mesma maneira que para o sistema aminotiol / 11-MUA / CdSe/CdS / β -CDSH, seção 4.3 páginas 41-43. O resultado obtido para a constante mediante o gráfico de $[MGN] / I_{pa}$ vs $[MGN]$ (Figura 30) foi de $3,6 \times 10^4$, quando comparado ao outro sistema mostrou ter uma menor interação.

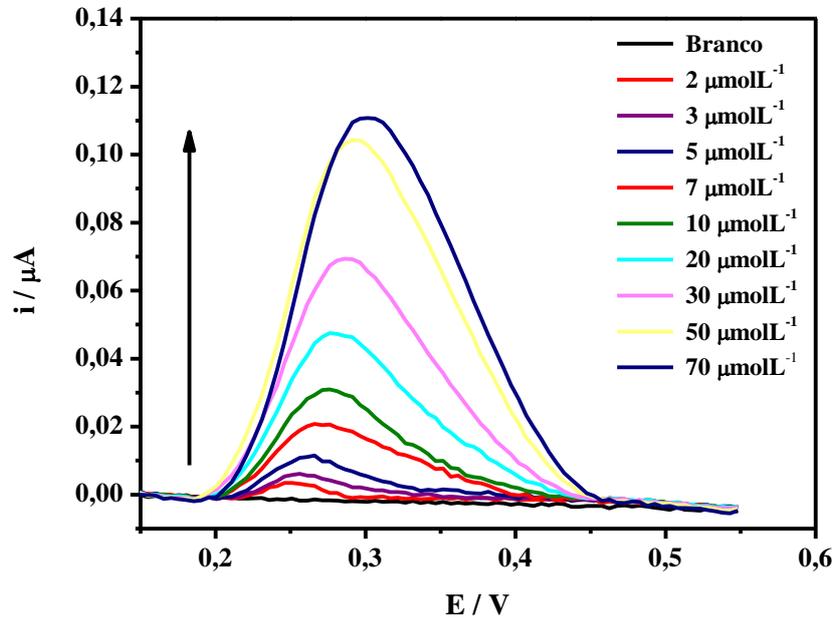
Figura 30: $[MGN] / I_{pa}$ vs $[MGN]$



4.10 Interação do sistema com a mangiferina através da voltametria de pulso diferencial

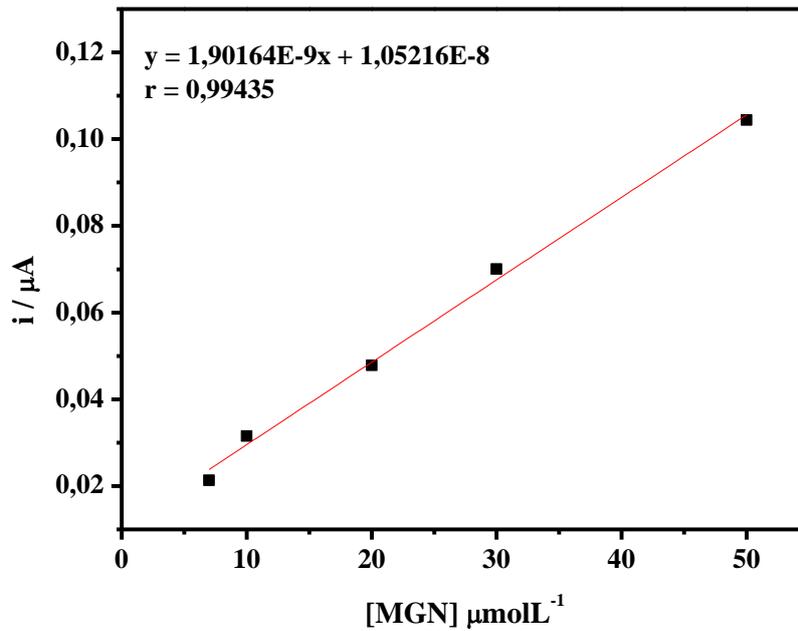
Fez-se a quantificação da mangiferina através da voltametria de pulso diferencial (Figura 31) e observa-se que houve um aumento linear do pico de corrente juntamente com o aumento da concentração de mangiferina. Bem como a curva de calibração (Figura 32) mostrou-se eficiente pois apresentou um coeficiente de correlação de 0,99435.

Figura 31: Sobreposição dos voltamogramas de voltametria de pulso diferencial para o sistema Aminotiol / CdSe/CdS / β -CDSH em tampão fosfato a pH 6,96 e 50 mVs^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

Figura 32: Curva de calibração para a voltametria de pulso diferencial.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

5. CONCLUSÕES

Ficou comprovado, tanto por técnicas eletroquímicas como por técnicas espectroscópicas, que o sistema Tiol / MUA / CdSe/CdS / β -CDSH / MGN apresentou uma boa resposta de interação, ficando evidente que há o encapsulamento de mangiferina em β -CDSH. Houve uma correlação nas respostas de todas as técnicas utilizadas. Ficando a ideia de que ao variar o QD pode-se obter respostas melhores bem como também variando o tamanho da cadeia carbonílica da monocamada auto organizada ancorada sobre a superfície do eletrodo de ouro.

- Conseguiu-se caracterizar o sistema por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica.
- Conseguiu-se quantificar a mangiferina pelas técnicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. Na voltametria cíclica analisou-se os picos de corrente nas concentrações de $3 \mu\text{molL}^{-1}$ a $30 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina, na voltametria de pulso diferencial analisou-se os picos de corrente nas concentrações entre $1 \mu\text{molL}^{-1}$ e $30 \mu\text{molL}^{-1}$ de mangiferina.
- Trabalhou-se em uma faixa de concentração menor que trabalhos relatados na literatura.
- Conseguiu-se uma ótima correlação com as análises de espectroscopia de UV-Vis e fluorescência.
- O valor da constante de formação (K_F) do primeiro sistema foi igual a $1,67 \times 10^5 \text{ Lmol}^{-1}$, um valor 2,15 maior que o relatado na literatura
- O microssistema desenvolvido interligou a nanotecnologia e a microfluídica, gerando uma boa resposta e conseguiu-se detectar a mangiferina em uma concentração de $50 \mu\text{molL}^{-1}$
- O microdispositivo mostrou ter um grande potencial para se transformar em um produto final e gerador de uma patente.
- O segundo sistema desenvolvido também teve uma resposta detecção eficiente, porém foi menor que o primeiro sistema. Conseguiu-se gerar uma resposta eletroquímica nas concentrações de $7 \mu\text{molL}^{-1}$ a $70 \mu\text{molL}^{-1}$ para a voltametria cíclica, e para voltametria de pulso diferencial conseguiu-se gerar uma resposta eletroquímica nas concentrações de $2 \mu\text{molL}^{-1}$ e $70 \mu\text{molL}^{-1}$.
- Para tal complemento do trabalho microscopia de MEV e MET viriam a embasar mais os dados obtidos

As perspectivas futuras do trabalho são variação da cadeia carbonílica ancorada ao eletrodo de ouro e variação do *quantum dot* utilizado, bem como variar a molécula modelo utilizada para analitos mais nobres como por exemplo: a dopamina, o ácido ascórbico e o ácido úrico. Posteriormente pretende-se realizar a submissão de um pedido de patente.

6. REFERÊNCIAS

- ADELI, M. *et al.* Quantum dot-pseudopolyrotaxane supramolecules as anticancer drug delivery systems. **Polymer**, v. 52, 2401-2413, 2011.
- AGUILERA-SIGALAT, J. *et al.* Fluorescence enhancement of amine-capped CdSe/ZnS quantum dots by thiol addition. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 89, 359-363, 2011.
- AMELIA, M. *et al.* Electrochemical properties of CdSe and CdTe quantum dots. **Chemical Society Review**, v. 41, 5728-5743, 2012.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2. ed. New York: Wiley, 2001.
- BERI, R. K.; KHANNA, P., SINGH V.; MEHTA, B. R., Yellow metting magic-size cadmium selenide nanocrystals via a simplified spray pyrolysis method. **Curr. Appl Phys.** v. 11, 809-811, 2011.
- BOUZITON, M. *et al.* Electrical and sensing properties of partially benzylated β -cyclodextrin: Effect of benzyl chain length. **Sensors and Actuators B**, v. 126, 91-96, 2007.
- BOUZITOUN, M. *et al.*, A non-water-soluble modified β -cyclodextrin for sensitive electrode. **Materials Science and Engineering C**, v. 26, 481 - 485, 2006.
- BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações**. Oxford University Press, 1996, v.5.
- BREWSTER, M.E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v. 59, 645-666, 2007.
- BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. v. 1.
- CHEN, X. *et al.* Synthesis and Unique Photoluminescence Properties of Nitrogen-Rich Quantum Dots and Their Applications. **Angewandte Chemie**, v.126, 12750 -12755, 2014.
- Chen, X.; Samia, A. C. S.; Y., Burda, C., Investigation of the Crystallization Process in 2 nm CdSe Quantum Dots. **Journal of the American Chemical Society**, v., 127, 4372-4375, 2005.
- CHIANG, T. Y.; LIN, C. H. A microfluidic chip for ammonium sensing incorporating ion-selective membranes formed by surface tension forces. **Journal of the Royal Society of Chemistry**, v. 4, 379-385, 2014.
- CHOI, S-W. *et al.* Characterization of self assembled thiolated β -cyclodextrin and tolane thioacetate mixed monolayer. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 31 257-258, 2005.
- COLTRO W. K. T.; SILVA, J. A. F.; CARRILHO, E. Rapid prototyping of polymeric electrophoresis microchips with integrated copper electrodes for contactless conductivity detection. **Analytical Methods**, v. 3, 168-172, 2011.
- DABBOUSI, B. O. *et al.* (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 101, 9463-9475, 1997.

DAMOS, F. S.; LUZ, R. C. S.; KUBOTA, L. T. *Electrochemical properties of self-assembled monolayer based on mono-(6-deoxy-6-mercapto)- β -cyclodextrin toward controlled molecular recognition.* **Electrochimica Acta**, v. 53, 1945–1953, 2007.

DAVIS, M. E., Brewster, M., *Cyclodextrin-Based Pharmaceuticals: Past, Present And Future.* **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3 1023 – 1035, 2004.

DAR, A., et al. *Analgesic and Antioxidant Activity of Mangiferin and Its Derivatives: the Structure Activity Relationship.* **Biol. Pharm. Bull.**, v. 28, n. 4, 596-600, 2005.

DE GIROLAMO, J. et al. *Layer-by-layer assembled composite films of side-functionalized poly(3-hexylthiophene) and CdSe nanocrystals: electrochemical, spectroelectrochemical and photovoltaic properties.* **Physical Chemistry Chemical Physics**, v.10, 4027–4035, 2008.

DEBGUPTA, J., SHINDE, D. B., PILLAI, V. K., *In situ electrochemical organization of CdSe nanoclusters on grapheme during unzipping of carbon nanotubes.* **Chemistry. Communications**, v. 48, 3088–3090, 2012.

DING, S. J. et al. *Impedance spectral studies of self-assembly of alkanethiols with different chain lengths using different immobilization strategies on Au electrodes.* **Analytica Chimica Acta**, v. 554, 43–51, 2005.

DRADRACH, K.; S. BARTKIEWICZ, S.; MINIEWICZ, A.. *Electrooptical properties of hybrid liquid crystalline systems containing CdSe quantum dots.* **Applied Physics Letters**, v. 105, 231903, 2014.

DROZDOV, K. A. et al. *Photoconductivity of structures based on the SnO₂ porous matrix coupled with core-shell CdSe/CdS quantum dots.* **Applied Physics Letters**, v. 103, 133115, 2013.

Du, D. et al. *CdTe nanocrystal-based electrochemical biosensor for the recognition of neutravidin by anodic stripping voltammetry at electrodeposited bismuth film.* **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24: 863–868, 2008.

FERREIRA, F. R. **Estudo do encapsulamento de compostos antioxidantes em β -ciclodextrina por métodos eletroquímicos e espectroscópicos.** 2009. 98 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

FERREIRA, F. R. et al. *Electrochemical investigations into host–guest interactions of a natural antioxidant compound with β -cyclodextrin.* **Electrochimica Acta** v. 56: 797–803, 2010.

FERREIRA et al. *Antioxidant activity of the mangiferin inclusion complex with β -cyclodextrin.* **Food Science and Technology**, v. 51: 129 – 134, 2013.

FONTES, A.; SANTOS, B. S. **Quantum dots: applications in biology.** Humana press, 2014, 2 ed.

GHADERI S., RAMESH B., SEIFALIAN A. M., *Fluorescence nanoparticles “quantum dots” as drug delivery system and their toxicity: a review.* **Journal of Drug Targeting**, v. 9 475–486, 2011.

- GIROLAMO, J. *et al.* Layer-by-layer assembled composite films of side-functionalized poly(3-hexylthiophene) and CdSe nanocrystals: electrochemical, spectroelectrochemical and photovoltaic properties. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 10, 4027–4035, 2008.
- GÓMEZ-ZALETA, B., UV/vis, ¹H, and ¹³C NMR spectroscopic studies to determine mangiferin pK_a values. **Spectrochim. Acta, Part A**, v. 64, 1002-1009, 2006.
- HANSEN, J. A. *et al.* Quantum-Dot/Aptamer-Based Ultrasensitive Multi-Analyte Electrochemical Biosensor. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n.7, 2228-2229, 2006.
- HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2001.
- HINES, M. A.; GUYOT-SIONNEST, P. Synthesis and Characterization of Strongly Luminescing ZnS-Capped CdSe Nanocrystals. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, 468-471, 1996.
- HUANG, Q. *et al.* A sensitive and reliable dopamine biosensor was developed based on the Au@carbon dots–chitosan composite film. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 52, 277–280, 2014.
- JIN, Z; HILDEBRANDT, N., Semiconductor quantum dots for in vitro diagnostics and cellular imaging. **Trends in Biotechnology**, v. 30, 394-403, 2012.
- JIANG, D. *et al.* Fluorescence single-molecule counting assays for protein quantification using epi-fluorescence microscopy with quantum dots labeling. **Analytica Chimica Acta**, v. 662, 170–176, 2010.
- JUHO, O. *et al.* Tetrahedral chalcopyrite quantum dots for solar-cell applications. **Applied Physics Letters**, v. 99, 111907-111909, 2011.
- LIANG-SHI L. *et al.* Band Gap Variation of Size- and Shape-Controlled Colloidal CdSe Quantum Rods. **Nano Letters**, v. 1: 349–351, 2001.
- LI, Y. *et al.* Simple and sensitive aptasensor based on quantum dot coated silica nanospheres and the gold screen-printed electrode. **Talanta** v. 99, 637-642, 2012.
- MA, X.; MEWS, A.; KIPP, T. Determination of Electronic Energy Levels in Type-II CdTe-Core/ CdSe-Shell and CdSe-Core/CdTe-Shell Nanocrystals by Cyclic Voltammetry and Optical Spectroscopy. **Journal of Physical Chemistry. C**, v. 117, 16698–16708, 2013.
- MAEDA, W. *et al.* Regio- and stereoselective complexation by a self-assembled monolayer of thiolated cyclodextrin on a gold electrode. **Langmuir**, v. 13, n. 16, 4187-4189, 1997.
- MAZLOUM-ARDAKANI, M. *et al.* Fabrication of modified glassy carbon electrode using graphene quantum dot, gold nanoparticles and 4-(((4-mercaptophenyl)imino)methyl)benzene-1,2-diol by self-assembly method and investigation of their electrocatalytic activities. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 738, 113–122, 2015.
- MEDINA-SANCHEZ, M. *et al.* On-chip magneto-immunoassay for Alzheimer's biomarker electrochemical detection by using quantum dots as labels. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 54, 279-284, 2014.

NA L. *et al.* *Mangiferin supplementation improves serum lipid profiles in overweight patients with hyperlipidemia: a double-blind randomized controlled trial.* **Nature: Scientific Reports**, doi: 10.1038/srep10344.

PACHECO, W. F. *et al.* Voltamétrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, 516 - 537, 2013.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. *Introduction to Spectroscopy*. 3. ed. Canada: Brooks / Cole, Thomson Learning, 2001.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, 1012-1021, 2002.

PINWATTANA, K. *et al.* *CdSe/ZnS quantum dots based electrochemical immunoassay for the detection of phosphorylated bovine serum albumin.* **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26: 1109–1113, 2010.

PROBST, C. E. *et al.* *Quantum dots as a platform for nanoparticle drug delivery vehicle design.* **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, 703–718, 2013.

ROQUES-CARMES T. *et al.* *Aqueous dispersions of core/shell CdSe/CdS quantum dots as nanofluids for electrowetting.* **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects** v. 377, 269-277, 2011.

SANTOS, R. V. **Avaliação de radicais cátions derivados de aminas aromáticas como sondas espectrofotométricas para determinação da capacidade antioxidante em amostras de bebidas.** 2014. 159 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

SANTOS, D. M. **MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS EM MATERIAIS POLIMÉRICOS DE DUPLO CANAL COM DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA.** 2014. 22 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

SEGATO, T. P. **Avanços no processo de fabricação de microdispositivos analíticos e em seu acoplamento com a detecção condutimétrica sem contato.** 2011. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SILVA, A. C. A. *et al.* *Controlling the Cytotoxicity of CdSe Magic-Sized Quantum Dots as a Function of Surface Defect Density.* **Nano Letters**, v. 14, 5452–5457, 2014.

SILVA, A. C. A. *et al.* *Modified Phonon Confinement Model and Its Application to CdSe/CdS Core–Shell Magic-Sized Quantum Dots Synthesized in Aqueous Solution by a New Route.* **Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, 1904–1914, 2013.

SILVA, A. C. A. *et al.* *Highly stable luminescence of CdSe magic-sized quantum dots in HeLa cells.* **Sensors and Actuators B**, v. 191, 108 – 114, 2013.

SILVERTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

SKOOG, D. A. **Fundamentos de Química Analítica.** 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2006.

SOTOMAYOR, M. D. P. T. *et al.* Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas, *Química. Nova*, v. 31, n. 7, 1755-1774, 2008.

TANG, Y. *et al.* *The role of surface chemistry in determining in vivo biodistribution and toxicity of CdSe/ZnS core-shell quantum dots.* ***Biomaterials***, v. 34, 8741-8755, 2013.

WANG, Q. *et al.* *Interactions between CdSe/CdS quantum dots and DNA through spectroscopic and electrochemical methods.* ***Applied Surface Science***, v. 257, 9747-9751, 2011.

WANG, T. *et al.* *Enhanced electrochemiluminescence of CdSe quantum dots composited with graphene oxide and chitosan for sensitive sensor.* ***Biosensors and Bioelectronics***, v. 31, 369-375, 2012.

ZENG, Zaiping *et al.* *Excitonic optical properties of wurtzite ZnS quantum dots under pressure.* ***The Journal of chemical physics***, v. 42, 114305, 2015.

ZHAO, J. *et al.* *Chlorine doped graphene quantum dots: Preparation, properties, and photovoltaic detectors.* ***Applied Physics Letters***, v. 105, 111116, 2014.

YANG, R., *et al.* *Ultrasensitive electrochemical sensor based on CdTe quantum dots-decorated poly(diallyldimethylammonium chloride)- functionalized graphene nanocomposite modified glassy carbon electrode for the determination of puerarin in biological samples.* ***Electrochimica Acta*** v. 173, 839-846, 2015.