

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA - MESTRADO

WALTER MUNIZ DOS SANTOS JÚNIOR

Luminescência de Carbon Dots derivados de
Cloreto de Dansil: Efeitos térmicos e geração
de oxigênio reativo

Maceió - Brasil

Março - 2021

WALTER MUNIZ DOS SANTOS JÚNIOR

Luminescência de Carbon Dots derivados de
Cloreto de Dansil: Efeitos térmicos e geração
de oxigênio reativo

Dissertação apresentada no Instituto de Física da
Universidade Federal de Alagoas como requisito
necessário para a obtenção do título de
Mestre em Física.

Orientador: Prof. Italo Marcos Nunes de Oliveira

Maceió - Brasil

Março - 2021

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S2371 Santos Júnior, Walter Muniz dos.

Luminescência de carbon dots derivados de cloreto de dansil: efeitos térmicos e geração de oxigênio reativo / Walter Muniz dos Santos Júnior. – 2021.

85 f. : il. color.

Orientador: Italo Marcos Nunes de Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Física. Programa de Pós-Graduação em Física. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 78-85.

1. Carbon Dots (CB). 2. Nanopartículas. 3. Luminescência. I. Título.

CDU: 53



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Física

Programa de Pós Graduação em Física

BR 104 km 14. Campus A.C. Simões
Cidade Universitária
Tabuleiro dos Martins
57072-970 Maceió - AL, Brasil
FONE : (82) 3214-1423/FAX 3214-1645

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

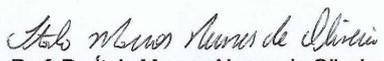
**“Luminescência de *Carbon Dots* derivados de Cloreto de Dansil: Efeitos
térmicos e geração de oxigênio reativo”**

por

Walter Muniz dos Santos Júnior

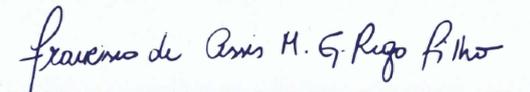
A Banca Examinadora composta pelos professores Ítalo Marcos Nunes de Oliveira (orientador e presidente da banca), do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; Maria Socorro Seixas Pereira, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; André de Lima de Moura, do Campus Arapiraca da Universidade Federal de Alagoas e Francisco de Assis Martins Gomes Rego Filho, do Campus Penedo do Instituto Federal de Alagoas, consideram o candidato aprovado com grau “A”.

Maceió, 11 de março de 2021.


Prof. Dr. Ítalo Marcos Nunes de Oliveira


Prof.^a. Dr.^a. Maria Socorro Seixas Pereira


Prof. Dr. André de Lima de Moura


Prof. Dr. Francisco de Assis Martins Gomes Rego Filho

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a mim mesmo, por não desistir, mesmo quando a única solução parecia ser essa.

Aos meus pais, Maria e Walter, pelo apoio e amor incondicional; às minhas irmãs, Wanessa e Wivian, pelo companherismo e por acreditarem em mim; ao meu sobrinho, Manoel, por fazer minha vida mais feliz; à tia Doda, minha segunda mãe, por sempre me incentivar a crescer.

Ao meu orientador, Ítalo, pela paciência em me guiar pelos caminhos da academia.

Às minhas amigas e amigos do GLAP, pelo acolhimento na sala 6 e na vida de cada um.

Aos demais amigos do IF, alunos e professores, que fizeram a jornada até aqui ser possível.

Aos meus amigos fora do IF, em especial Tháfyne e Vanessa, por serem meu apoio diário, me ajudando a passar por todos os surtos e desânimos, principalmente durante a pandemia.

À CAPES e ao Instituto de Física, pelo suporte financeiro e estrutural.

“O sucesso é o tropeço entre um fracasso e outro sem perder o entusiasmo.”

Winston S. Churchill

Resumo

Pontos de carbono (PC), comumente conhecidos na literatura como carbon dots (CD), constituem uma nova classe de nanomateriais à base de carbono que vem sendo objeto de um número cada vez mais crescente de pesquisas desde a sua descoberta em 2004. Apresentado como uma alternativa ao uso de nanoestruturas metálicas e inorgânicas, suas propriedades fluorescentes, biocompatibilidade e baixo custo de produção possibilitam seu uso em diversas áreas. No presente estudo, um método sintético hidrotérmico foi utilizado para produzir carbon dots derivados de 5-(dimetilamino)naftaleno-1-sulfonilo (Cloreto de Dansil) co-dopados com Nitrogênio e Enxofre. Através de caracterização morfológica, foi possível identificar a estrutura cristalina do núcleo e os grupos funcionais presentes na superfície da nanopartícula. A espectroscopia revelou uma fluorescência dependente da excitação para comprimentos de onda maiores que 400 nm. Investigando o comportamento da emissão do material sob variação de temperatura, foi identificada uma dependência térmica caracterizada pelo aumento da intensidade de emissão em resposta ao aumentando na temperatura; esse comportamento aponta para um cruzamento intersistema reverso entre os estados excitados do material, promovendo uma fluorescência atrasada termicamente ativada. A sensibilidade térmica absoluta foi determinada em $1,04^{\circ}C^{-1}$ e a sensibilidade absoluta exibiu um crescimento de $0,45^{\circ}C^{-1}$ para $0,55^{\circ}C^{-1}$ no intervalo de temperaturas $20^{\circ}C - 60^{\circ}C$. A possibilidade de aplicação dessa estrutura como sensor térmico ratiométrico foi investigada através da variação contínua de temperatura da amostra em ciclos de aquecimento e resfriamento. Adicionalmente, foi estudado o rendimento quântico de geração de oxigênio singleto pelos pontos de carbono com o intuito de propor seu uso em técnicas como a Terapia fotodinâmica. O rendimento foi medido com o auxílio do 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF), como sequestrador de oxigênio, e do Azul de Metileno (AM), como corante referência, investigando o espectro de absorção do DPBF quando na presença dos PCs ou do AM sob iluminação contínua de luz laser em 532 nm.

Palavras-chave: 1. Nanopartícula 2. Sensor térmico 3. Oxigênio singleto

Abstract

Carbon dots constitute a new class of carbon-based nanomaterials that have been the subject of an increasing number of researches since its discovery in 2004. Presented as an alternative to the use of metallic and inorganic nanostructures, its fluorescent properties, biocompatibility and low production cost allow its use in several areas. In the present study, a hydrothermal synthetic method was used to produce carbon dots derived from 5 - (dimethylamino) naphthalene- 1 -sulfonyl (Dansil Chloride) co-doped with Nitrogen and Sulfur. Through morphological characterization, it was possible to identify the core crystalline structure and the functional groups attached to the surface of the nanoparticle. Spectroscopy revealed an excitation-dependent fluorescence for wavelengths greater than 400 nm. Investigating the behavior of the emission of the material under temperature change, a thermal dependence was identified, characterized by an increase in the intensity of the emission in response to the increase in temperature; this behavior points to a reverse intersystem crossing between the excited states of the material, promoting a thermally activated fluorescence. The absolute thermal sensitivity was determined as $1.04^{\circ}C^{-1}$ and the absolute sensitivity exhibited an increase from $0.45^{\circ}C^{-1}$ to $0.55^{\circ}C^{-1}$ in the temperature range $20^{\circ}C - 60^{\circ}C$. The possibility of applying this structure as a ratiometric thermal sensor was investigated through the continuous thermal variation in heating and cooling cycles. Additionally, the quantum yield of singlet oxygen generation by carbon dots was studied in order to propose its use in techniques such as Photodynamic therapy. The yield was measured with the aid of the 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF), as the oxygen scavenger, and Methylene Blue (MB), as a reference dye, investigating the absorption spectrum of DPBF when in the presence of PCs or MB under continuous laser irradiation at 532 nm.

Keywords: 1. Nanoparticle . 2. Thermal sensor. 3. Singlet oxygen

Lista de Figuras

1.1	Fotoluminescência de soluções aquosas de pontos quânticos de carbono acoplados a PEG_{1500N} obtidas por Sun e colaboradores em 2006. (a) A excitação ocorreu em $400nm$ e as fotografias foram tiradas através de um filtro passa-faixa calibrado para os comprimentos de onda indicados em cada foto. (b) Aqui, cada fotografia foi tirada quando a amostra estava sob excitação dos comprimentos de onda indicados.	16
1.2	Levantamento do número de publicações envolvendo a palavra chave <i>Carbon dot</i> de acordo com a categoria (a) Tópico e (b) Título na plataforma <i>Web of Science</i>	17
1.3	Ilustração das estruturas identificadas no texto como GQD, CND, CQD e CPD	21
1.4	Representação dos nanotubos de carbono de parede única - <i>single walled carbon nanotube</i> (SWCNT) - e de paredes múltiplas - <i>multi walled carbon nanotube</i> (MWCNT)	22
1.5	(a) AFM das nanopartículas. No detalhe, o perfil de distribuição de altura e tamanho médio. (b) TEM. A distribuição do tamanho das partículas é mostrada no detalhe. (c) Espectro <i>Raman</i> e, no detalhe, o padrão XRD. (d) Espectro FTIR.	25
1.6	(a) Fotoluminescência dos PCs variando com o comprimento de onda de excitação no intervalo $330 - 600nm$. (b) Imagens dos PCs quando excitados por diferentes comprimentos de onda (mostrados em cada quadro). O último quadro é uma sobreposição dos anteriores. (c) Fotografias dos PCs registradas para as fluorescências referentes às excitações mostradas na figura 1.6a.	27
1.7	(a) Processo de síntese mostrando a separação das partículas e a formação de grupos com as diferentes fluorescências, evidenciado pelos espectros de emissão e as fotos correspondentes. (b) As quatro soluções de trabalho e seus respectivos espectros de absorção e emissão.	28
1.8	Ilustração do Termômetro de Filão de Bizâncio, que faz parte da obra <i>Philosophia Moysaica</i> (1638) de Robert Fludd.	36

1.9	(a) Decrescimento da intensidade de Fluorescência dos N-CDs com o aumento da temperatura. (b) Variação da intensidade de fluorescência relativa(I/I_0) com a temperatura. (c) Esquematização da quebra de ligações de hidrogênio com o N-CD explicando o decrescimento da intensidade de fluorescência com o aumento da temperatura.	38
1.10	Representação de uma molécula de oxigênio.	39
1.11	Distribuição eletrônica nos orbitais moleculares do O_2 a partir dos átomos de oxigênio.	40
1.12	Diagrama de Jablonski representando os processos de transferência de energia entre moléculas fotossensibilizadoras e oxigênio molecular.	42
2.1	Preenchimento eletrônico dos orbitais atômicos dos 10 primeiros átomos da tabela periódica.	45
2.2	Esquematização geral da formação dos orbitais moleculares σ e π a partir dos orbitais atômicos s e p, levando em consideração a degenerescência de p. Observe que a sobreposição frontal dos lobos dos orbitais p origina orbitais σ , enquanto que a sobreposição lateral origina orbitais π	46
2.3	Representação genérica de um sistema conjugado π	49
2.4	Diagrama de nível de energia para uma transição vibrônica ilustrando o princípio de Franck-Condon para uma molécula diatômica. O eixo x mostra a coordenada genérica Q para um modo vibracional arbitrário do sistema. A energia crescente (vertical) mostra os dois estados de energia envolvidos nas transições vibrônicas	52
2.5	Esquematização das trocas energéticas entre estados excitados singleto e tripleto e o estado fundamental singleto em um sistema que executa cruzamento intersistema reverso.	57
3.1	Esquema ilustrando a oxidação sofrida pelo DPBF em reação com o oxigênio singleto e subsequente formação de DBB.	58
3.2	(a) Esquema do processo de síntese das nanoestruturas de carbono a partir do Cloreto de Dansil. Amostra de PC-DsCl (b) em luz ambiente, (c) sob incidência de luz UV (lâmpada) com centro em 365nm e (d) sob irradiação de laser em 488 nm.	59
3.3	(a) Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão mostrando a estrutura cristalina dos PCs-DsCl. (b) HR-TEM das amostras revelando a estrutura paracristalina	60
3.4	Distribuição de tamanho dos pontos de carbono derivados de Cloreto de Dansil.	61
3.5	Espectro FTIR dos PCs-DsCl	61

3.6	Espectro de absorção dos pontos de carbono derivados do Cloreto de Dansil.	62
3.7	Espectros de emissão do PC-DsCl para excitação nos intervalos (a) 340 nm a 400 nm e (b) 440 a 560nm. (c) Relação entre a posição dos picos de emissão e os comprimentos de onda de excitação.	63
3.8	Aparato experimental para as medidas de rendimento quântico de geração de oxigênio singleto pelas amostras de PC-DsCl. A cubeta (1) com uma das faces foscas voltadas para o feixe que atravessa a lente convergente (4) é irradiado por luz branca via fibra de incidência (2) e a luz que atravessa a amostra chega até a fibra de coleta (3), acoplada a um espectrômetro (não mostrado na imagem)	65
4.1	Curvas de fluorescência do PC-DsCl para diferentes temperaturas: $T = 20^{\circ}\text{C}$ (linha preta sólida), $T = 40^{\circ}\text{C}$ (linha vermelha tracejada) e $T = 60^{\circ}\text{C}$ (linha azul de traço e ponto)	68
4.2	Tempo de vida do estado excitado singleto na amostra de PC-DsCl	69
4.3	Dependência térmica do rendimento quântico do PC-DsCl. A linha tracejada é a regressão linear obtida através da equação 4.4	70
4.4	Diagrama de cromaticidade CIE 1931 para a emissão dos PCs-DsCl para as temperaturas de $T = 20^{\circ}\text{C}$ e $T = 60^{\circ}\text{C}$	71
4.5	Dependência térmica de dois dos picos de intensidade de emissão, λ_{397} (círculos cinzas) e λ_{496} (quadrados azuis). As linhas tracejadas foram produzidas com o auxílio da equação 4.6.	72
4.6	$\frac{I_{397}}{I_{496}}$ variando em função da temperatura.	73
4.7	Sensibilidade térmica Relativa dos PCs-DsCl no intervalo $20^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$	73
4.8	Variação da razão $\frac{I_{397}}{I_{496}}$ com a temperatura no intervalo de 20°C a 60°C em processos contínuos de aquecimento e resfriamento.	74
4.9	Espectros de absorção do (a) DPBF e do (b) Azul de metileno.	75
4.10	(a) Degradação do DPBF na presença de Azul de metileno sob irradiação constante de luz em 532nm para as intensidades de $I_0 = 0,0\text{mW}/\text{cm}^2$ (círculos cinzas), $I_0 = 3,2\text{mW}/\text{cm}^2$ (quadrados azuis), $I_0 = 6,5\text{mW}/\text{cm}^2$ (losangos magentas) e $I_0 = 13,0\text{mW}/\text{cm}^2$ (triângulos verdes). (b) Decaimento do espectro de absorção da solução contendo DPBF e Azul de metileno sob irradiação em $6,5\text{mW}/\text{cm}^2$	76
4.11	(a) Degradação do DPBF na presença de PC-DsCl sob irradiação constante de luz em 532nm para as intensidades de $I_0 = 0,0\text{mW}/\text{cm}^2$ (círculos cinzas), $I_0 = 3,2\text{mW}/\text{cm}^2$ (quadrados azuis), $I_0 = 6,5\text{mW}/\text{cm}^2$ (losangos magentas) e $I_0 = 13,0\text{mW}/\text{cm}^2$ (triângulos verdes). (b) Gráfico tridimensional mostrando o decaimento do espectro de absorção da solução contendo DPBF e PC-DsCl sob irradiação em $6,5\text{mW}/\text{cm}^2$	77

4.12	Rendimento quântico de geração de oxigênio singlete dos PCs-DsCl variando com a potência.	78
------	---	----

Lista de Tabelas

1.1	Total de publicações por área de pesquisa com o termo " <i>Carbon dots</i> " nos títulos, resumos e/ou palavra-chave de cada trabalho de acordo com a plataforma <i>Web of Science</i>	18
1.2	Rotas de síntese mais comumente usadas para a produção de pontos de carbono.	32

SUMÁRIO

Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas	12
1 Pontos de carbono	15
1.1 Histórico e estado da arte	15
1.2 Estrutura dos pontos de carbono	20
1.2.1 Nanoestruturas de carbono	20
1.2.2 Técnicas de Caracterização	23
1.2.3 Origem da fotoluminescência dos pontos de carbono	25
1.3 Processos de síntese	30
1.4 Pontos de carbono e a nanotermometria	35
1.5 Interação fotodinâmica com o oxigênio molecular	39
1.5.1 Estrutura molecular do O_2	40
1.5.2 Oxigênio singleto	41
2 Fenômenos Físicos	44
2.1 Estrutura Molecular	44
2.1.1 Sistemas conjugados e domínios π	48
2.1.2 Excitons	49
2.2 Interação luz-matéria	51
2.2.1 Transições vibrônicas	51
2.2.2 Fotoluminescência	54
3 MATERIAIS E MÉTODOS	58
3.1 Reagentes e compostos	58
3.2 Síntese dos pontos de carbono	59
3.3 Caracterização	60
3.4 Análise térmica	64
3.5 Geração de Oxigênio Singleto	64
4 RESULTADOS	67
4.1 Efeitos de variação térmica nos pontos de carbono	67

4.2 Fotoatividade do PC-DsCl e geração de ROS.	74
5 Considerações finais	79
Bibliografia	81

Pontos de carbono

Materiais nanoestruturados são um marco inegável dentro do processo de avanço científico e tecnológico das últimas décadas. Em termos de propriedades físicas e químicas, síntese, caracterização e aplicação, nanoestruturas representam um elo entre o cenário atômico/molecular e os sistemas macroscópicos. Diante do crescente desenvolvimento da nanociência, novas estruturas são descobertas, estudadas e aplicadas nas mais diversas áreas como medicina, engenharia, tecnologia da computação e várias outras, e algumas características são protagonistas nos efeitos observados provenientes desses materiais. O controle do tamanho, forma e morfologia (do núcleo e da superfície) são de essencial importância para que determinados efeitos e fenômenos sejam obtidos e a resposta à estímulos externos, como incidência de luz, por exemplo, desencadeie reações com intentos bastante específicos. No presente capítulo, vamos discutir as características estruturais e propriedades, bem como as aplicações de uma nanoestrutura que vem sendo destaque de diversas pesquisas nos últimos dezesseis anos. Os pontos quânticos de carbono (do inglês *carbon dots* - CDs) revolucionaram o escopo da nanociência em termos de síntese, aplicação, variedade e possibilidade de uma maneira irreversível. E ainda tem muito a se estudar.

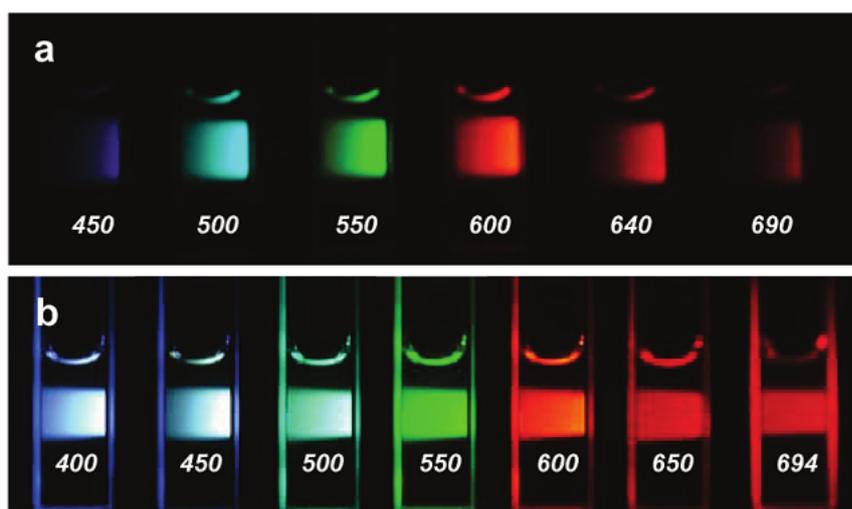
1.1 Histórico e estado da arte

As estruturas conhecidas na literatura como *carbon dots* - no presente texto, vamos nos referir a essas estruturas como pontos de carbono (PC) ou pontos quânticos de carbono (PQC), deixando o termo original para situações específicas, como citação de algum trabalho - compreendem uma família de nanopartículas com características fluorescentes que foram reportadas pela primeira vez em 2004. Xiaoyou Xu e colaboradores [1] investigavam um método eletroforético de purificação de nanotubos de carbono de paredes simples (*single-walled carbon nanotubes* - SWNTs) produzidos a partir da fuligem resultante de descarga por arco. Eles observaram, com surpresa, a produção de duas categorias de material residual no processo, cada uma referente à mistura de nanoestruturas com características distintas. Um conjunto dos resíduos formados eram estruturas tubulares de tamanhos variados e formatos irregulares. O outro conjunto era composto por nanopartículas, mais tarde identificadas como pontos quânticos de carbono, que fluoresciam

sob excitação de radiação UV em 365nm com coloração azul-esverdeada, amarela e laranja. Os autores reconheceram o potencial dessas novas estruturas, mas não realizaram estudos mais aprofundados. Nenhum outro trabalho foi publicado naquele ano nem no ano seguinte a respeito dessas novas nanopartículas.

Um artigo de setembro de 2004 [2] reporta a impressão, através de litografia, de padrões de carbono em superfície de sílica em escalas menores que 10 nm ; os autores se referem a essas estruturas como *carbon dots*, mas não se tratam de nanopartículas e nenhuma alusão é feita às propriedades ópticas observadas por Xu *et al.* Existe, entretanto, referência ao trabalho de Xu *et al* em dois artigos de revisão de 2005: [3, 4]. Foi apenas em 2006 que os pontos de carbono receberam maior atenção em um trabalho de Sun e colaboradores [5] que foi pioneiro em investigar as suas características ópticas. Eles observaram algumas propriedades nas nanopartículas comuns a uma outra classe de nanomateriais já conhecidos e bem estabelecidos: os *quantum dots* ou pontos quânticos inorgânicos. Dentre essas propriedades, destaca-se a sua fotossensibilidade, com intervalo de absorção na região do ultravioleta e fluorescência dependente da excitação. O trabalho ressaltou a importância de se realizar mais investigações nessas nanoestruturas, com a possibilidade de torná-las uma alternativa ao uso de pontos quânticos inorgânicos, e é o primeiro a usar o termo *carbon dot* para se referir a elas. Na figura 1.1 são mostradas fotografias dos materiais produzidos e analisados por Sun e colaboradores.

Figura 1.1: Fotoluminescência de soluções aquosas de pontos quânticos de carbono acoplados a PEG_{1500N} obtidas por Sun e colaboradores em 2006. (a) A excitação ocorreu em 400nm e as fotografias foram tiradas através de um filtro passa-faixa calibrado para os comprimentos de onda indicados em cada foto. (b) Aqui, cada fotografia foi tirada quando a amostra estava sob excitação dos comprimentos de onda indicados.

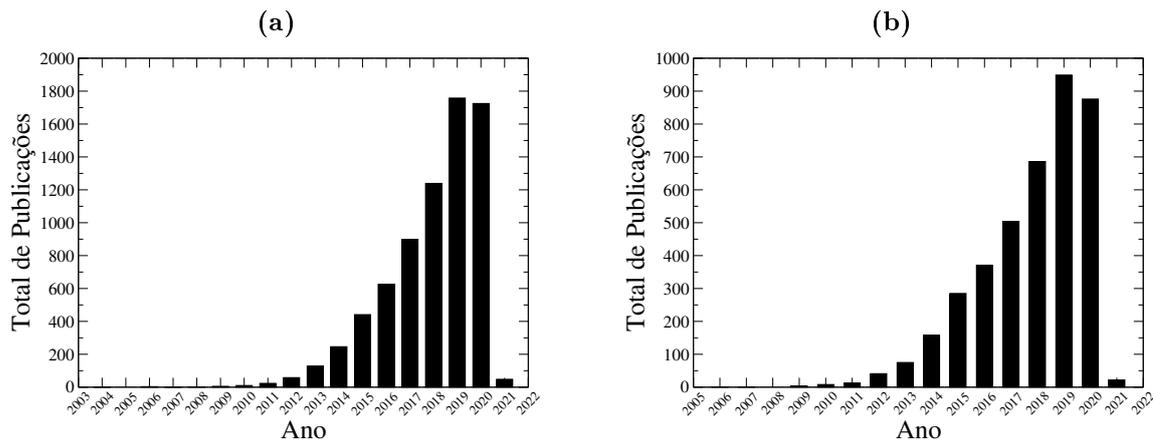


Fonte: Ref. [5], 2020.

Desde então, o número de trabalhos sobre esse material só cresce. Utilizando a base de dados da plataforma *Web of Science*, encontramos 3998 publicações com a palavra-chave

"*Carbon dot*" no **Título** (o que se refere a título de artigos de jornais, *paper*, livros e capítulos de livros), desde 2006 [6]. Usando a mesma palavra-chave com o filtro **Tópico** (referente a títulos de trabalhos, resumos e palavras-chave), são 7212 publicações desde 2004 [7]. Na Fig.1.2 são mostrados dois gráficos com a quantidade de publicações por ano para as duas categorias mencionadas.

Figura 1.2: Levantamento do número de publicações envolvendo a palavra chave *Carbon dot* de acordo com a categoria (a) **Tópico** e (b) **Título** na plataforma *Web of Science*



Fonte: Ref. [6, 7], 2020.

Nos gráficos da figura 1.2, pode-se constatar o aumento expressivo de trabalhos publicados contendo o termo *Carbon dots* no título, resumo ou palavras-chave a partir de 2011/2012. Nos últimos anos, o interesse em produzir e aplicar essas nanoestruturas em campos diversos como biomedicina, fabricação de diodos emissores de luz (LED), sensores químicos e térmicos, bioimagem, carregadores de fármacos, segurança alimentar, dentre outros, tem forte motivação. Suas propriedades ópticas, como forte banda de absorção, alta fotoestabilidade, total ou quase total ausência de degradação, além de baixa toxicidade, baixo custo de produção, excelente biocompatibilidade, solubilidade em água e zero impacto ao meio ambiente conferem aos PCs um destaque ímpar dentre todas as nanoestruturas, especialmente as inorgânicas, como os pontos quânticos à base de Zinco e Cádmio [8, 9, 10]. Em termos de produção, uma gama enorme de precursores já foram reportados na literatura, assim como vários caminhos de síntese que serão discutidos mais adiante. As pesquisas de estudo e aplicação de PCs abrangem mais de vinte áreas distintas, desde a química e física até trabalhos em nutrição e recursos hídricos. Isso mostra a relevância da pesquisa com esses materiais cujas aplicações são inúmeras. A tabela 1.1 resume a quantidade de trabalhos por área que tem o termo "*Carbon dots*" nos seus títulos, resumos e/ou palavras-chave. Os dados exibidos são referentes ao levantamento feito na plataforma *Web of Science* levando em conta a soma de trabalhos encontrados na categoria **Tópico**.

Tabela 1.1: Total de publicações por área de pesquisa com o termo "*Carbon dots*" nos títulos, resumos e/ou palavra-chave de cada trabalho de acordo com a plataforma *Web of Science*.

Área de pesquisa	Nº
Química	4647
Ciência de materiais	2603
Ciência, Tecnologia e outros tópicos	1591
Física	1068
Engenharia	550
Eletroquímica	490
Instrumentação	348
Espectroscopia	277
Bioquímica Molecular, Biologia	269
Ótica	199
Ciência e Tecnologia de alimentos	174
Biofísica	173
Ciência de Polímeros	169
Biotecnologia aplicada à Microbiologia	137
Energia e Combustíveis	123
Ciências do Meio Ambiente, Ecologia	109
Farmacologia, farmácia	98
Metalurgia, Engenharia Metalúrgica	53
Dietética de Nutrição	33
Agricultura	30
Toxicologia	23
Medicina Experimental	19
Biologia Celular	15
Recursos Hídricos	12
Cristalografia	10

Fonte: Ref. [7], 2020.

Esse levantamento, apesar de rico, pode não refletir a realidade da pesquisa com pontos de carbono na sua totalidade, visto que o termo "*Carbon dot*" pode ser usado em trabalhos que não estudam, necessariamente, as estruturas tratadas na presente dissertação. Entretanto, a emergente demanda em nanociência e no desenvolvimento de nanoestruturas - em especial, de PCs - apontam para um cenário muito próximo do apresentado na tabela 1.1 e na figura 1.2. Uma rápida revisão no estado da arte mostra essa tendência. Em 2007, um estudo foi conduzido por Cao e colaboradores [11] para demonstrar a possibilidade de se observar fluorescência por dois fótons a partir de pontos de carbono sob excitação de radiação no infravermelho próximo. Foi constatado, estimando-se a seção de choque de absorção por dois fótons, que a eficiência dos PCs para esse tipo de fluorescência é comparável à eficiência de semicondutores nanoestruturados bastante conhecidos na literatura, como o Seleneto de Cádmio (CdSe) e outras nanopartículas do tipo núcleo-casca. O es-

tudo ainda contou com investigação *in vitro* da interação dos PCs com células humanas de câncer de mama demonstrando, através de imageamento, a sua eficácia para uso de localização de tumores via fluorescência por dois fótons.

Outro trabalho que explorou essa propriedade dos PCs foi executado por Wang *et al* [12], em 2014, ao usar pontos de carbono agregados ao 5,10,15,20-tetraquis (1-metil 4-piridínio) porfirina tetra (p-toluenossulfonato) (TMPyP), um fotossensibilizador derivado de porfirina, para o tratamento *in vitro* de células HeLa de cancer via Terapia Fotodinâmica (TFD). O TMPyP, apesar de ser solúvel em água e apresentar alto rendimento quântico de produção de oxigênio singleto, possui uma banda de absorção em 420 nm, uma região comum aos derivados de porfirina, o que é um limitante para aplicação em tecidos biológicos; essa é uma região correspondente à radiação de alta energia e baixa penetração nesses meios (existem outras bandas de absorção também na região do visível, próximo ao vermelho, mas que são bem mais fracas). Os PCs usados na pesquisa, no entanto, apresentam absorção na região do infravermelho próximo com altos valores de secção reta de absorção por dois fótons. Com emissão em uma região próxima à banda de absorção do TMPyP, os PCs foram usados como mediadores entre a radiação incidente e a fotossensibilização do TMPyP através de Transferência de Energia por Fluorescência Ressonante (do inglês, *Fluorescence Resonance Energy Transfer* - FRET) para geração de oxigênio singleto no substrato e subsequente destruição das células HeLa. O conjugado PC-TMPyP se mostrou mais eficiente que a aplicação isolada do TMPyP.

Xie e colaboradores [13], já em 2021, utilizaram PCs dopados com enxofre e nitrogênio ($S, N - CDs$) como fotossensibilizador para aumentar a eficiência fotocatalítica de nitreto de carbono grafítico ($g - C_3N_4$) no processo de produção de hidrogênio molecular (H_2) a partir de sulfeto de hidrogênio (H_2S). O $g - C_3N_4$ é um semicondutor não metálico com um alto poder fotocatalítico. A produção de hidrogênio a partir da separação das moléculas de H_2S tem uma energia de Gibbs de 33,7 KJ/mol que pode facilmente ser produzida a partir do efeito fotocatalítico do $g - C_3N_4$. Entretanto, o nitreto de carbono grafítico apresenta baixíssima absorção na região do visível, o que culmina em uma limitação nas aplicações desse material. A composição do nitreto de carbono grafítico com pontos de carbono dopados com nitrogênio e enxofre ($S, N - CDs/g - C_3N_4$) se mostrou uma alternativa eficaz para esse problema, com geração de oxigênio molecular 38 vezes maior que apenas o $g - C_3N_4$. O trabalho mostrou a eficácia de utilizar o H_2S , um gás altamente tóxico presente em reservatórios de gás natural e formulações sulfurosas de petróleo, dopado com pontos de carbono como matéria prima para geração de energia a partir da fotocatalise do hidrogênio, uma alternativa às questões energéticas encontradas pela indústria.

Inúmeras outras aplicações são reportadas na literatura, o que coloca os PCs como foco de pesquisas diversas, contribuindo com o desenvolvimento tecnológico e criação de técnicas e equipamentos para uso em muitas áreas, como a termometria, por exemplo. Mais adiante neste capítulo, discutiremos de forma mais detalhada a respeito dessa apli-

cação em particular. Antes disso, trataremos das estruturas dos PCs, suas rotas de síntese e propriedades que os fazem se destacar das demais nanopartículas.

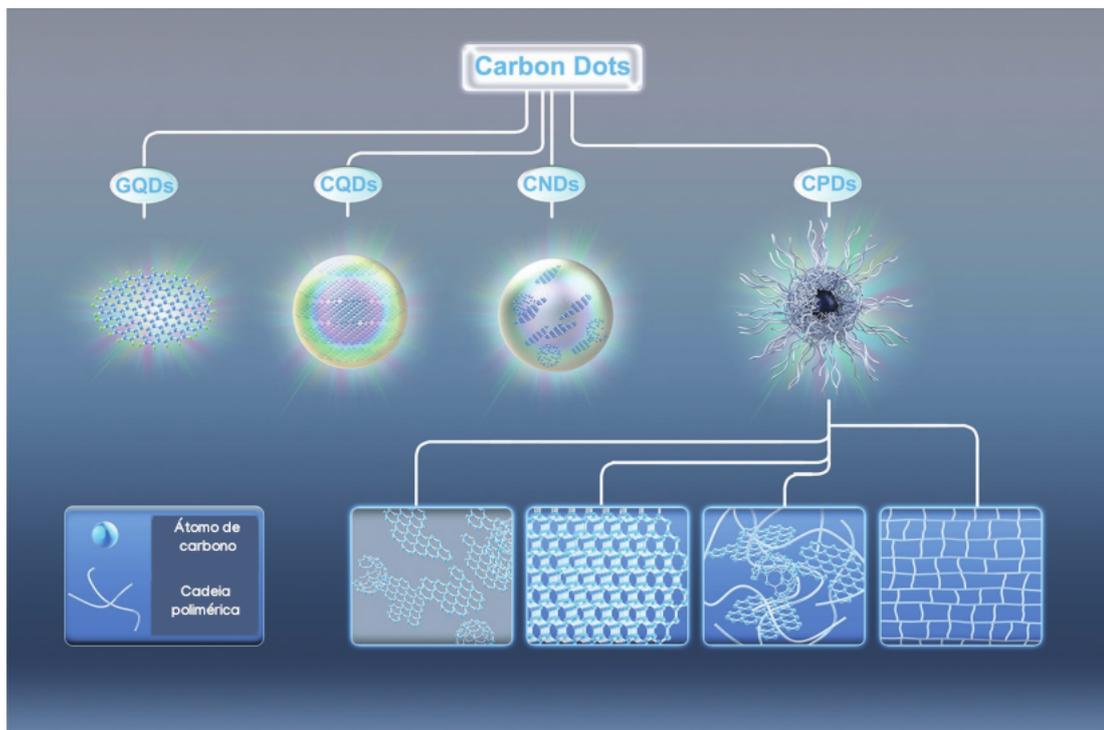
1.2 Estrutura dos pontos de carbono

1.2.1 Nanoestruturas de carbono

Na nanociência, a palavra *dot* ou *nanodot* se refere a partículas em escala nanométrica, enquanto que *quantum* faz uma alusão ao efeito de confinamento quântico experimentado por portadores de carga nessas nanopartículas em decorrência do seu tamanho diminuto. Essa escolha de palavras é apropriada para se referir aos semicondutores nanométricos, os pontos quânticos inorgânicos, mas necessita de uma abrangência maior quando se trata de nanoestruturas carbônicas. As discussões sobre as diferenças entre esses materiais - e dentro da família de pontos de carbono - podem começar na origem das suas propriedades fotoluminescentes. Enquanto os pontos quânticos inorgânicos apresentam o efeito de confinamento quântico como causa da sua característica emissiva, os pontos de carbono reúnem diversas outras fontes para explicar sua luminescência. Trataremos com mais detalhes sobre estas fontes adiante, mas cabe mencionar a estrutura cristalina do núcleo, bem como defeitos superficiais e presença de fluoróforos como as principais origens da fotoluminescência dos PCs [14].

Não existe um consenso na literatura a respeito da nomenclatura apropriada para se referir às diversas formas de nanoestruturas de carbono, e isso se deve à grande variedade em forma, composição e propriedades nas quais esses materiais se apresentam. Dessa maneira, se faz necessária uma breve discussão a respeito da diversidade em nanoestruturas carbônicas e sua relação com o que a literatura convencionou chamar de ponto de carbono [15, 16]. Em termos de estrutura, existem vários tipos de nanopartículas de carbono dependendo da sua síntese e geometria, dentre os quais podemos citar os pontos quânticos de grafeno (*graphene quantum dots* - GQD), nanopontos de carbono (*carbon nanodots* - CND), pontos quânticos de carbono (*carbon quantum dots* - CQD) e os pontos poliméricos de carbono (*carbon polymer dots* - CPD), mostrados na figura 1.3 [17, 9]; outra nanopartícula carbônica, objeto de vastos estudos e aplicações são os nanotubos de carbono (*carbon nanotubes* - CNTs), mas não se apresenta na forma esférica ou quase esférica como as demais nanopartículas.

Os nanopontos de carbono (CND) são usualmente as nanopartículas carbônicas com núcleo e superfície completamente amorfos, característica atribuída à formação desordenada de carbono sp^3 no seu núcleo, enquanto que os pontos quânticos de carbono (CQD) apresentam núcleo cristalino, em decorrência da presença de carbono sp^2 e sp^3 ordenadamente organizados, revestido por uma casca amorfa. Essas duas nanopartículas são esféricas ou quase esféricas e representam a primeira imagem que se tem quando se fala

Figura 1.3: Ilustração das estruturas identificadas no texto como GQD, CND, CQD e CPD

Fonte: Modificado de [9], 2021.

em pontos de carbono [17, 9]. Em ambas as estruturas, formam-se estados de superfície na casca que reveste o núcleo e essa casca é rica em átomos de oxigênio, hidrogênio e nitrogênio [14].

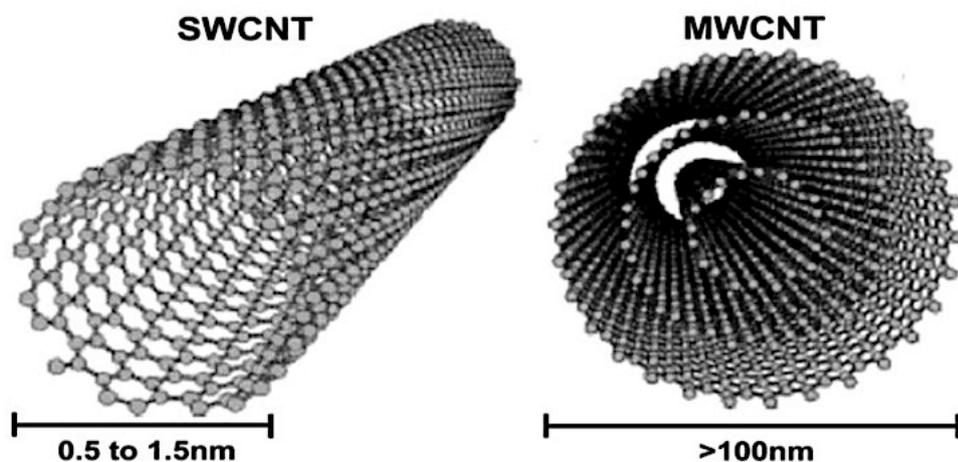
Os pontos poliméricos de carbono são agregados produzidos a partir de monômeros ou polímeros lineares em processos que envolvem carbonização. São um tipo diferente de ponto de carbono, com polímeros naturalmente adjuntos à estrutura. Como são híbridos entre polímeros e estruturas carbônicas, os CPDs apresentam características estruturais e ópticas das duas classes de materiais. Tendo estrutura essencialmente formada por um núcleo carbônico e uma casca polimérica, essas nanopartículas apresentam solubilidade aquosa, alto rendimento quântico de fluorescência e grande quantidade de oxigênio e hidrogênio [9]. Xia *et al* [18] produziu CPDs com sensibilidade à variação de pH, alta estabilidade em sistemas fisiológicos e boa biocompatibilidade, o que o torna um ótimo candidato à sensor de pH intracelular.

Os pontos quânticos de grafeno são formados por estruturas sp^3 , predominantemente, e constituídos de redes grafíticas indicando uma composição muito mais cristalina que as demais partículas. Sua estrutura é formada por uma ou algumas camadas de grafeno e dimensões laterais (menos de 20 nm) significativamente maiores que sua altura (cerca de 2.5 nm) com grupos químicos acoplados às bordas dessas camadas. Sua síntese ocorre, normalmente, a partir de moléculas de grafeno ou óxido de grafeno com a presença de anéis benzênicos, o que ressalta ainda mais a sua cristalinidade [19, 16]. Os pontos quânticos de

grafeno são a variação mais recente do grafeno, um material conhecido pela ciência desde a década de 1940, não sendo, portanto, considerados parte da família de pontos de carbono por muitos autores [20]. Ding e colaboradores [21] reportaram a produção de GQDs a partir de filmes de grafeno e dopados com nanopartículas de óxido de ferro (II, III) - Fe_3O_4 -, o que conferiu à nanopartícula final, característica paramagnética. Outro trabalho, desenvolvido por Li *et al* [22], mostrou a eficácia do uso de GQDs, sintetizados a partir de óxido de grafeno, como sensor de Cd^{2+} , um íon metálico altamente tóxico, que pode se acumular nos rins, glândula tireóide e pulmões, atuando como agente carcinogênico em mamíferos.

Nanotubos de carbono (CNT) 1.4 são uma classe de materiais que precede a descoberta dos pontos de carbono. São folhas de grafite enroladas para formar cilindros e podem ser produzidas com uma única parede (*Single Walled Nanotubes* - SWNTs), ou seja, apenas uma folha de grafite formando um tubo, ou com múltiplas paredes (*Multi-Walled Nanotubes* - MWNTs), que são basicamente cilindros concêntricos [23]. Sua descoberta foi reportada em um artigo de 1991 por Iijima [24] que observou a formação de cilindros carbônicos (agulhas de carbono gráfico, como o autor se referiu às estruturas no texto) com diâmetros variando de 4 a $30nm$ e comprimento de aproximadamente $1\mu m$. Como mencionado na seção anterior, os pontos de carbono foram primeiro observados em um experimento de purificação de nanotubos de parede única, em 2004, o que já é argumento suficiente para não incluir os CNTs na família de pontos de carbono.

Figura 1.4: Representação dos nanotubos de carbono de parede única - *single walled carbon nanotube* (SWCNT) - e de paredes múltiplas - *multi walled carbon nanotube* (MWCNT)



Fonte: [25], 2021.

Todas essas nanoestruturas contam com propriedades e aplicações diversas e todas representam avanços importantíssimos na nanociência. Na grande maioria dos trabalhos, é consenso a diferença que existe entre os pontos de carbono (CNDs, CQDs e CPDs, a

grosso modo) e as demais nanopartículas carbônicas, tanto no que diz respeito à composição estrutural, quanto no histórico de cada uma. O fato de todas essas estruturas se apresentarem em escala nanométrica poderia ser um ponto de discussão sobre o que deve ou não ser considerado ponto de carbono, mas o volumoso (e sempre crescente) número de trabalhos parece criar nichos bastante específicos na literatura que determina como categorizar cada uma dessas estruturas. Sendo assim, no decorrer do presente trabalho, nos ateremos ao termo ponto de carbono (ou PC) entendendo a sua abrangência a estruturas variadas, especificando, quando necessário, cada uma delas.

1.2.2 Técnicas de Caracterização

Dada a grande variedade de precursores e processos de síntese para a fabricação de PCs, processos rigorosos de caracterização precisam ser realizados antes de qualquer estudo a ser desenvolvido com esse material. As vibrações e comprimentos das ligações atômicas, os domínios π resultantes dessas ligações, o grau de desordem cristalina e as modificações que os processos de passivação e funcionalização promovem devem ser conhecidos e monitorados durante todo o processo de síntese. Cada conjunto de características resulta em PCs com propriedades ópticas distintas, podendo apresentar ou não fluorescência dependente da excitação, picos de absorção e emissão ocorrendo dentro do intervalo UV-vis em diferentes comprimentos de onda e valores altos ou baixos de rendimento quântico. Várias são as técnicas usadas para investigar diferentes partes e aspectos das estruturas dos PCs e vamos falar sobre algumas delas a seguir.

A morfologia - tamanho, formato e distribuição - é normalmente caracterizada através de Microscopia Eletrônica por Transmissão (*Transmission Electron Microscopy* - TEM), Microscopia Eletrônica de Varredura (*Scanning Electron Microscopy* - SEM) e Microscopia de Força Atômica (*Atomic Force Microscopy* - AFM). A SEM é utilizada normalmente em conjunto com a TEM para averiguar a distribuição de tamanho dos CDs e a sua dispersão. Essas técnicas são fundamentais para determinar se o processo de síntese produziu partículas com tamanhos adequados e se há ou não aglomerados dessas partículas. Através da varredura do material com um feixe focalizado de elétrons, a imagem formada por SEM é produto da interação desses elétrons com os átomos dos PCs e tem resolução de 1 a 20 nm. Com um princípio parecido, a TEM funciona a partir da aplicação de um feixe de elétrons de alta energia que permite a contagem do tamanho e distribuição dos PCs via transmissão eletrônica com uma resolução maior que a SEM, cerca de 0.2 nm. Além dessas, a Microscopia Eletrônica por Transmissão de Alta Resolução (*High Resolution TEM* - HR-TEM) oferece uma resolução ainda maior, cerca de dez vezes maior que a TEM. Essa técnica, usando os feixes de elétron transmitido e espalhado, é útil para mostrar o espaçamento de rede da estrutura cristalina dos PCs. Essas três técnicas produzem imagens bidimensionais da amostra em análise, mas com a AFM, é possível obter uma

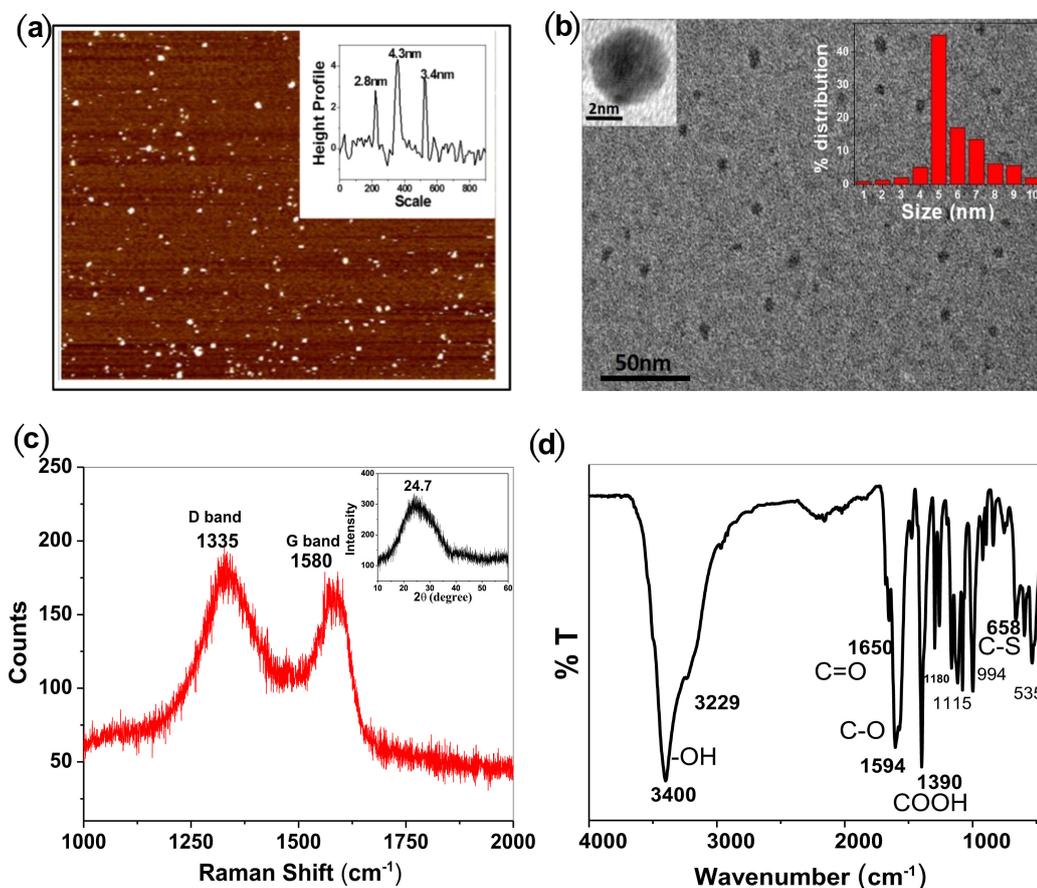
reprodução tridimensional da morfologia da amostra [26, 27].

Outra categoria de caracterização diz respeito à resposta da amostra à incidência de radiação eletromagnética; são as técnicas espectroscópicas. Medidas de absorção no intervalo UV-vis são utilizadas na análise de CDs, porque essas nanoestruturas contam com fortes bandas de absorção na região do ultravioleta, podendo se estender pelo visível com intensidades mais baixas. Como veremos adiante, os pontos de carbono são característicos por apresentar emissão dependente ou não da excitação. Nesse contexto, medidas de fotoluminescência são de fundamental importância para avaliar a forma como as estruturas das nanopartículas afetam suas propriedades ópticas; mudanças estruturais podem ser avaliadas através dos espectros de fotoluminescência. A espectroscopia, além de ser útil para investigar (muitas vezes, em tempo real) a resposta dos PCs a variações no substrato, também é usada para medir o tempo de vida de fluorescência. Com respeito a essas variações, mudanças na temperatura, salinidade e pH do substrato que abriga os PCs podem alterar os seus aspectos de absorção e fotoluminescência [26, 27].

A espectroscopia *Raman* é usada para determinar o grau de desordem da estrutura carbônica. Usualmente, para PCs, duas bandas específicas são analisadas. A banda D tem origem na desordem inserida na estrutura em decorrência do tamanho finito das partículas e/ou distorções na rede de carbono, indicando, normalmente, uma estrutura amorfa [28]. A banda G, por outro lado, identifica as ligações sp^2 em anéis e cadeias, e está ligada a uma estrutura cristalina mais ordenada. As regiões do espectro *Raman* correspondentes a essas bandas são 1500 a 1600cm^{-1} para a banda G e 1200 a 1400cm^{-1} para a banda D. A razão D/G é o parâmetro usado para determinar o grau de pureza cristalina da nanopartícula; um alto valor de D/G significa uma estrutura bastante amorfa, em oposição a uma estrutura cristalina, associada a um baixo valor de D/G . Os grupos químicos na superfície dos PCs podem ser investigados via Transformada de Fourier no Infravermelho (*Fourier Transform Infrared* - FTIR); essa técnica é usada para avaliar a dopagem de heteroátomos como o Nitrogênio (N), Enxofre (S), Sílica (Si), Fósforo (P) e Boro (B) nas ligações carbônicas dos PCs. Ela é útil para realizar comparações entre os espectros de uma amostra que passou por funcionalização de superfície e de uma amostra pura. A estrutura cristalina de uma nanopartícula pode ser estudada através de Difração por raio-X (*X-ray Diffraction* - XRD), uma técnica que usa o fenômeno de difração para determinar características como os parâmetros de rede, identificação da fase, periodicidade, tamanho das nanopartículas, orientação dos átomos na rede, dentre outras. O princípio da técnica consiste em irradiar a amostra com um feixe de raio-X (que tem comprimento de onda com tamanho similar ao espaçamento dos átomos que constituem a rede) e observar os padrões de difração que são formados [27]. Na figura 1.5 são mostrados os resultados de algumas técnicas usadas por Gupta e colaboradores [29] para caracterizar pontos quânticos de carbono dopados com enxofre.

Muitas outras técnicas podem ser usadas como a Espectroscopia Fotoeletrônica de

Figura 1.5: (a) AFM das nanopartículas. No detalhe, o perfil de distribuição de altura e tamanho médio. (b) TEM. A distribuição do tamanho das partículas é mostrada no detalhe. (c) Espectro *Raman* e, no detalhe, o padrão XRD. (d) Espectro FTIR.



Fonte: Ref. [29], 2021.

Raio-X (*X-Ray Photoelectron Spectroscopy* - XPS), Espectroscopia de Energia Dispersiva (*Energy Dispersive Spectroscopy* - EDS), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (*Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* - NMRS) e espectroscopias de massa, como a técnica de Plasma Indutivamente Acoplado (*Inductively Coupled Plasma* - ICP). Com o vasto número de técnicas disponíveis, os processos de síntese e modificações superficiais, além da resposta a mudanças no substrato, são sempre monitorados metodicamente para que se obtenha PCs com excelentes características.

1.2.3 Origem da fotoluminescência dos pontos de carbono

Assim como pontos quânticos inorgânicos, PCs são característicos por sua fluorescência dependente da excitação, tanto em termos de comprimento de onda, quanto de intensidade. Os espectros de fluorescência ocorrem predominantemente na região do visível e os picos de intensidade dependem fortemente da estrutura do material precursor, bem como da dopagem e modificações superficiais. Esses fatores produzem bandas de energia que variam de estrutura para estrutura, não havendo um perfil padrão de espectro de fluores-

cência que caracterize esse tipo de nanopartícula. Para a absorção, o intervalo típico está dentro da região do ultravioleta em aproximadamente 230-360 nm com um prolongamento do espectro que pode se estender por toda a região do visível (apresentando absorção bem mais baixa nessa região que no ultravioleta). Os tipos de transição eletrônica às quais os elétrons são submetidos quando sob excitação definem onde o pico de absorção vai estar. Transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ têm energias relacionadas a picos de absorção mais próximos de 230 nm e estão atrelados à ligações C-C, enquanto que ligações C=O promovem picos mais próximos de 300 nm referentes à transições $n \rightarrow \pi^*$ [10, 17]. A parte do espectro de absorção que abrange a região visível está associada à formação de defeitos de superfície.

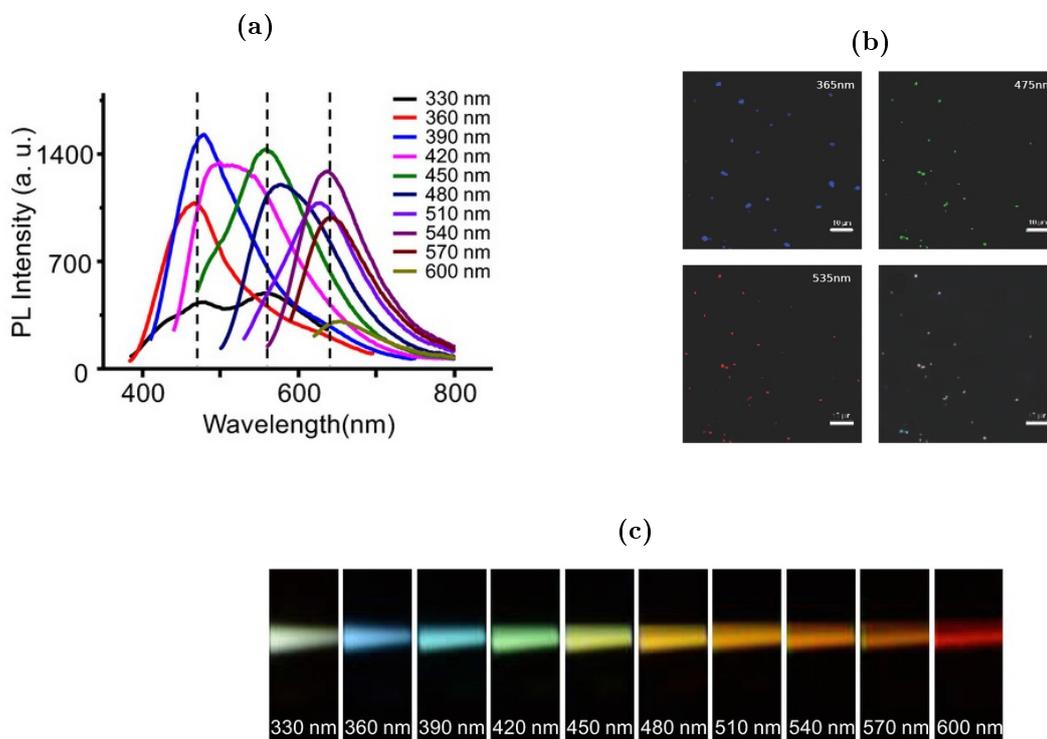
Defeitos de superfície (ou estados de superfície) são o conjunto de descontinuidades presentes na superfície dos pontos de carbono em decorrência da formação de grupos funcionais e a ligação desses grupos com a estrutura carbônica do núcleo. Eles afetam não só as propriedades ópticas das nanopartículas, mas também suas características químicas e eletrônicas. Os sistemas sp^2 e sp^3 conjugados, característicos das ligações de carbono com as outras moléculas que constituem os PCs, em interação com os grupos funcionais na superfície, criam armadilhas de energia que atuam como captadores de excitons ¹ (no capítulo 2, discutiremos com mais detalhes sobre a natureza dessas quase partículas). A rigor, a natureza dos defeitos de superfície é mais complexa em decorrência da diversidade de grupos funcionais superficiais e do grau de organização da estrutura de carbono que pode resultar em domínios π mais ou menos regulares. O controle desses estados é possível através de reações químicas que modificam a configuração de grupos funcionais, reorganizando as ligações. Os intervalos de energia criados por esses defeitos dependem fortemente da natureza do ponto de carbono (precursores e síntese) e podem explicar os efeitos de fotoluminescência dependente e independente da excitação; as armadilhas onde ocorrem as recombinações de excitons são formadas com intervalos de energia variados resultando em emissões possíveis em qualquer região do ultravioleta próximo e visível [30].

Pan e colaboradores [31] reportaram a produção de PCs a partir de ácido cítrico e formamida que apresentaram fluorescência dependente da excitação com bandas de emissão que abrangiam quase todo o espectro visível. Os autores registraram um deslocamento das bandas de emissão na direção do vermelho desde 400 nm, correspondente à excitação em 330 nm, até 800 nm, cuja excitação foi em 600 nm. A figura 1.6a mostra essas bandas e a predominância de três picos principais destacados com as linhas tracejadas. Com o intuito de investigar esses três picos de fluorescência, foi registrada a fluorescência da amostra de PC quando sob excitação em 365 nm, 454 nm e 535 nm, como pode ser observado na figura 1.6b. A sobreposição das imagens referentes a cada comprimento de onda de excitação (último quadro da figura 1.6b) mostrou que todos os picos de emissão são provenientes das mesmas partículas e não de uma mistura de partículas, cada uma

¹Exciton é um par elétron-buraco formado quando um elétron absorve energia, deixa a camada de valência, cria nessa camada um "buraco" e fica ligado a esse buraco por forças eletrostáticas coulombianas

emitindo em intervalos distintos. Esses resultados evidenciaram a capacidade de multi-emissão dos PCs dependente da radiação de excitação. Os autores propõem que a origem dessa fotoluminescência está nas múltiplas transições eletrônicas de absorção associadas à formação dos grupos funcionais $C = O$, $C = N$ e $C - N$ durante o processo de síntese; o tempo de reação de 1 hora e a temperatura de 160°C foram determinantes para a produção das nanopartículas com essa estrutura e propriedades ópticas específicas.

Figura 1.6: (a) Fotoluminescência dos PCs variando com o comprimento de onda de excitação no intervalo $330 - 600\text{nm}$. (b) Imagens dos PCs quando excitados por diferentes comprimentos de onda (mostrados em cada quadro). O último quadro é uma sobreposição dos anteriores. (c) Fotografias dos PCs registradas para as fluorescências referentes às excitações mostradas na figura 1.6a.



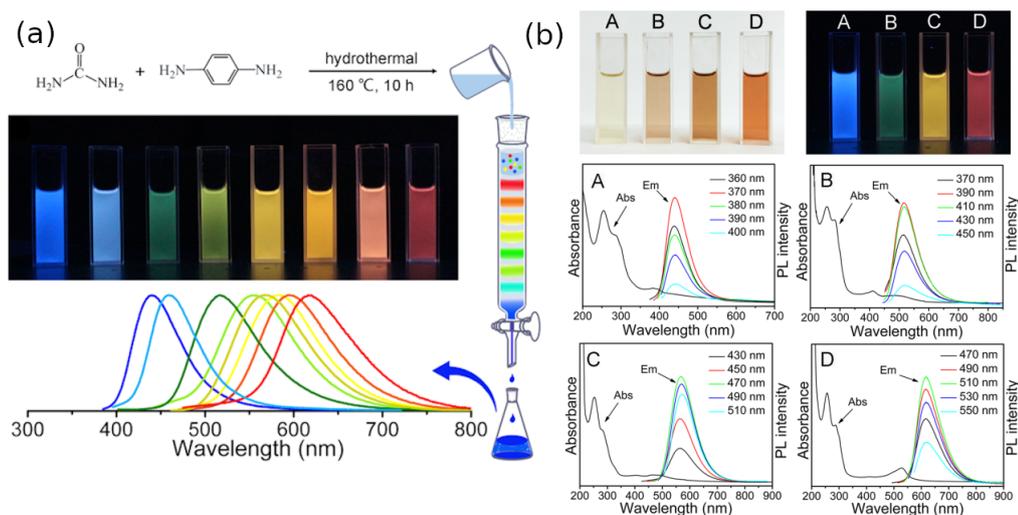
Fonte: Modificado de [31], 2020.

Apesar da fluorescência com dependência da emissão ser uma forte característica dessas nanoestruturas, na literatura, pesquisadores tem reportado a produção de pontos de carbono com picos de fluorescência fixos. Esse comportamento foi observado por Ding e colaboradores [32] em um interessante trabalho onde ureia e p-fenilenodiamina foram usados como precursores de carbon dots com diferentes regiões de fluorescência. Os pesquisadores realizaram uma separação das nanopartículas via cromatografia por coluna de sílica que criteriosamente produziu oito conjuntos de PCs, cada um emitindo em uma cor do espectro visível. Quatro conjuntos, correspondentes às cores azul, verde, amarelo e vermelho, foram selecionados para análises espectroscópicas e foi verificado que, apesar dos picos de emissão serem diferentes para cada amostra, a excitação em diferentes

comprimentos de onda provocou, em cada conjunto, apenas diminuição de intensidade de fluorescência, mas não o deslocamento desses picos, como pode ser verificado na figura 1.7.

Ainda nesse trabalho, a Microscopia Eletrônica de Transição (TEM) e a TEM de alta resolução mostraram que as nanopartículas nos quatro grupos verificados tinham mesma distribuição de tamanhos com mesma estrutura gráfica de rede, o que descarta a possibilidade do tamanho ser o responsável pelas diferentes regiões de fluorescência. Os autores sugerem, baseados nos resultados de Espectroscopia Raman, FTIR e XPS, que a origem de fluorescências tão díspares em nanoestruturas com a mesma síntese e mesma composição e tamanho está na sua estrutura amorfa e no grau de oxidação da superfície das partículas. Com o aumento de oxigênio nas superfícies, a diminuição na energia de emissão é observada, ou seja, um deslocamento para o vermelho, em decorrência da formação de defeitos de superfície.

Figura 1.7: (a) Processo de síntese mostrando a separação das partículas e a formação de grupos com as diferentes fluorescências, evidenciado pelos espectros de emissão e as fotos correspondentes. (b) As quatro soluções de trabalho e seus respectivos espectros de absorção e emissão.



Fonte: Ref. [32], 2020.

Muitos trabalhos sugerem, como a origem do fenômeno de fluorescência, os defeitos de superfície mencionados acima que criam armadilhas de energia superficiais e alteram, em algumas regiões do PC, os saltos de banda ou a estrutura dos núcleos. Tepliakov e colaboradores [33] desenvolveram um trabalho semi-analítico que modelou CDs como nanopartículas poliméricas contendo domínios na sua superfície preenchidos com híbridos sp^2 de átomos de carbono. Eles verificaram que essa estrutura apresenta um comportamento muito parecido com o dos PCs, de possuir intervalos discretos de absorção e emissão, com os intervalos de emissão se deslocando para regiões de maior ou menor energia de acordo com variações nos intervalos de absorção.

Alguns grupos de pesquisa estudam a origem da fotoluminescência dos pontos de carbono a partir de três modelos que têm sido propostos na literatura. Em um modelo, atribui-se a fotoluminescência dos PCs aos intervalos de banda de transições nos domínios π , que constituem o núcleo; em outro, atém-se aos defeitos de superfície dos PCs, como os mencionados acima; e, por fim, a formação de centros de luminescência presentes na estrutura das nanopartículas e que são resultado direto do material precursor utilizado (com forte influência do processo de síntese) [32, 34]. Os domínios π são resultado das ligações entre carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, principais constituintes dos PCs em sistemas conjugados, que criam *gaps* de energia no núcleo com valores correspondente às energias do intervalo UV-Vis do espectro eletromagnético. No capítulo seguinte, falaremos com mais detalhes sobre esses sistemas. Esses domínios são formados no processo de síntese dos PCs e estão diretamente ligados aos defeitos de superfície que podem ser modificados em processos de passivação [32, 35, 36]. Os centros de luminescência são fluoróforos que se formam no processo de síntese e acabam dominando as outras fontes de luminescência na nanopartícula. PCs produzidos a partir de glicose ou frutose apresentaram agregados de derivados de 5-hidroximetilfurfural como unidade de fluorescência, em um trabalho desenvolvido por Gude e colaboradores [34]; Fang *et al* [37] observou a formação de derivados de piridina que foram os responsáveis pela luminescência dos PCs produzidos a partir de ácido cítrico e de moléculas contendo grupos amino.

Como mencionado no início da seção, os pontos de carbono tem propriedades ópticas similares a pontos quânticos, outra classe de nanoestruturas bastante estudadas. A semelhança entre esses dois tipos de materiais está na sua escala de tamanho e na capacidade de fluorescer. Os pontos quânticos são nanocristais semicondutores compostos por um único elemento dentre metais, metais de transição e não metais (como silício e germânio) ou produzidos a partir de ligações iônicas desses elementos (como o Seleneto de Cádmio - CdSe - e Seleneto de Chumbo - PbSe) agregando desde algumas centenas até alguns milhares de átomos. Pontos quânticos são muitas vezes chamados de átomos artificiais porque apresentam estados eletrônicos discretos, similar a átomos e moléculas. Além disso, por ser uma estrutura semicondutora, um fenômeno comum, resultado da absorção de energia por elétrons, é a formação de excitons (que ocorre também em materiais macroscópicos e em pontos de carbono, como vimos anteriormente nessa seção). Entretanto, o comportamento dessas quase partículas (os excitons) é bastante diferente para materiais macroscópicos e nanoscópicos; quando o raio da nanopartícula é da ordem de grandeza, ou mesmo menor, que o raio de Bohr² do exciton, o movimento dos elétrons e dos buracos fica confinado espacialmente à nanopartícula. Esse é o fenômeno conhecido como confinamento quântico [38, 39].

Devido ao confinamento quântico, os pontos quânticos se comportam como poços de

²Distância entre o elétron excitado e o buraco formado na banda de valência pela ausência desse elétron.

potencial de dimensão zero, restringindo a movimentação dos excitons, em todas as direções, a uma região com tamanho similar ao comprimento de onda de de Broglie do elétron. Uma vez que o ponto quântico absorve energia e existe a formação de excitons, a energia de ligação excitônica ³, se torna fortemente dependente do tamanho do ponto quântico. Quanto menor a nanopartícula, maior essa energia. Nos processos de recombinação elétron-buraco (retorno do elétron ao seu estado fundamental), que culmina na aniquilação do exciton, a energia de ligação excitônica que é liberada está usualmente dentro do intervalo referente ao espectro visível da radiação eletromagnética. Portanto, o processo de fluorescência de pontos quânticos é resultado da liberação de energia quando ocorre a recombinação excitônica. E a variação no tamanho do ponto quântico afeta diretamente a cor da fluorescência porque influencia no tamanho (ou mais precisamente, na energia de ligação) dos excitons formados. Apesar do tamanho da nanopartícula ser o fator principal para determinar a cor da fluorescência, outros fatores também são levados em consideração, como os tipos de átomos que constituem a estrutura do ponto quântico. Assim, pontos quânticos pequenos (com cerca de 2 a 3 nm de diâmetro) fluorescem em regiões mais próximas do azul e violeta, que tem maior energia no espectro visível, enquanto que pontos quânticos maiores (5 a 6 nm) apresentam fluorescência mais próxima do vermelho [38, 39].

É consenso na literatura que os mecanismos responsáveis pelos fenômenos ópticos observados nos CDs, de absorção e emissão de luz e a dependência (ou não) com o comprimento de onda de excitação, ainda não são completamente conhecidos e/ou entendidos. Por um tempo, e pelas semelhanças com os pontos quânticos, acreditou-se que o confinamento quântico fosse a explicação para a luminescência dos pontos de carbono, mas atualmente essa teoria não tem força pela falta de evidências nesse sentido. Desde sua descoberta em 2004, várias teorias vem sendo formuladas por diversos grupos e pesquisadores, como já discutidos no texto [40]. Esse vasto número de explicações a respeito da origem da fluorescência se deve à grande variedade de precursores, naturais e sintéticos, disponíveis e às inúmeras rotas de síntese que são aplicadas. Na seção seguinte, trataremos de forma mais detalhada a respeito dessas rotas.

1.3 Processos de síntese

A enorme disponibilidade de matéria-prima para a produção de PCs é um fator determinante para o desenvolvimento de pesquisas a respeito da sua natureza e aplicações. Fabricados exclusivamente a partir de precursores à base de carbono (pó de carbono, grafite, fuligem), no início, os PCs apresentavam baixo rendimento quântico, com estrutura meramente formada por carbono, hidrogênio e oxigênio; entretanto, essa limitação foi sanada com as primeiras produções que inseriram processos de modificação superficial (com

³A energia que mantém o elétron e o buraco ligados

ênfase em passivação e funcionalização, que serão melhor abordadas no fim dessa seção) nas rotas de síntese utilizando polímeros, como poli (etilenimina), para agregar misturas orgânicas às superfícies dos PCs. Isso aumentou significativamente o rendimento quântico dessas nanoestruturas e o nitrogênio foi o primeiro elemento a ser inserido nos processos como agente passivante. O enxofre foi posteriormente adotado quando se percebeu que seu uso tinha efeito parecido no que diz respeito à maximização do rendimento quântico de fluorescência. Depois disso, outros elementos entraram na lista cada vez maior de dopantes, como boro, germânio, magnésio e mercúrio [41].

As primeiras produções do PCs a partir de produtos naturais, em 2012, ampliaram ainda mais o leque de opções de matéria prima e facilitaram os caminhos de síntese, tendo em vista que a maioria dos produtos naturais contém nitrogênio. Dentre os materiais comumente usados podemos citar suco de laranja, ovo, pimenta, mel e grãos de café, além de materiais residuais como cinzas de papel e óleo de fritura. [41]. As chamadas sínteses verdes rapidamente encontraram um lugar de destaque no cenário de produção de CDs pelos seus atrativos inegáveis como fácil aquisição de matéria prima, baixo custo de produção e metodologia sustentável. Três categorias podem ser identificadas no contexto de sínteses verdes com respeito à biomassa utilizada: organismos, material residual e produtos proteicos. Esses materiais se destacam por não exigirem temperaturas tão altas para os processos de sínteses, normalmente são processos mais simples de produção e são solúveis em água. As rotas de síntese de PCs são estratificadas em dois grandes grupos, de acordo com a escala de tamanho dos precursores, *top-down* e *bottom-up*, e essas rotas podem ter natureza física ou química, a depender do processo [42, 43, 40].

Nos processos de síntese *top-down*, o material precursor dos PCs utilizados geralmente tem dimensões macroscópicas [41] que passam por um processo de corte químico produzindo pontos de carbono com baixa fotoluminescência. Os materiais utilizados usualmente são fuligem obtida pela chama de vela, pó de carbono, nanotubos ou fibras de carbono, grafite, dentre outros. Eles possuem uma estrutura perfeita sp^2 e, apesar das rotas de síntese nessa categoria não permitirem um controle minucioso da geometria do ponto de carbono, processos de passivação e modificação superficial podem ser incorporados à síntese. O método de corte mais comum utiliza o ácido nítrico (HNO_3) ou uma mistura de ácido nítrico com ácido sulfúrico (HNO_3/H_2SO_4) que são ácidos oxidantes e modificam, via grupos baseados em oxigênio, as superfícies das porções da matéria prima previamente fragmentada [17, 44].

Abazar e Noorbakhsh [45] produziram PCs misturando a fuligem obtida da queima de vela com N,N-dimetilformamida (DMF) e quitosana e submeteram a solução a processos como ultrassom, centrifugação e secagem no intuito de produzir um sensor de insulina dentro de sêrum de sangue humano. Baig e Chen [46] usaram clara de ovo diluída em água deionizada como matéria prima para produzir CPCs. O processo envolveu a mistura dos materiais em sucessivas etapas intercaladas com aquecimento e centrifugação para obter

os PCs finais que foram usados como agentes fluorescentes de rotulagem ⁴ para *S. aureus* e *E. coli* e sensores para curcumina através de Transferência de Energia por Ressonância de Föster. No trabalho de Zheng e colaboradores [47], ácido cítrico e uréia foram diluídos em água deionizada e passaram por processos de autoclavagem, aquecimento, centrifugação e diálise para produzir PCs que aumentaram o efeito de um nanocompósito baseado em nitreto de carbono no combate ao efeito de hipóxia em tumores sólidos.

Enquanto esses processos partem de um precursor macroscópico que vai ser dividido para formar os PCs, nos procesos *bottom-up*, a matéria prima são materiais orgânicos, em escala menor que os PCs, que serão agrupados através de reações químicas e físicas, e condições como calor ou uso de microondas em atmosfera inerte, para a produção das nanopartículas. Essa rota de síntese se baseia na auto-organização de moléculas a partir de estruturas específicas sob certas configurações termodinâmicas. Os precursores mais comuns são o ácido cítrico, glicose e aminoácidos, mas no geral, as moléculas ou polímeros usados apresentam alguns dos grupos funcionais $-OH$, NH_2 , $-CO =$ e $-COOH$ e passam por processo de desidratação seguido de carbonização [17]. Apesar das dificuldades de se controlar o tamanho dos PCs através desse tipo de síntese, isso pode ser realizado com o uso adequado dos precursores [44, 41, 8].

Pillar-Little e colaboradores [48] utilizaram ácido cítrico para a produção de PCs através de processo de pirólise por 10 minutos sob aquecimento a $160^{\circ}C$, seguido de diálise por uma semana com o intuito de comparar o efeito fotodinâmico de citotoxicidade celular com aqueles de PCs produzidos por sínteses *top-down*. Com o intuito de investigar a forte emissão no azul de PCs à base de ácido cítrico, Schneider e colaboradores [49], utilizaram ácido cítrico e amino como precursores, submetendo-os a aquecimento via autoclave por 5 horas e subsequente filtragem e centrifugação por 10 minutos a 5000 rpm. Yu [50] estudou a dependência da fluorescência de CDs com a temperatura, desde 77 K até 300 K, usando como precursores uma mistura de ácido acético glacial, água e pentóxido de fósforo (P_2O_5). A tabela 1.2 mostra os principais métodos *top-down* e *bottom-up* utilizados por pesquisadores para a produção de pontos de carbono.

Tabela 1.2: Rotas de síntese mais comumente usadas para a produção de pontos de carbono.

<i>Top-down</i>		
Síntese	Descrição	Tipo de síntese

⁴Detecção e localização do microorganismo no substrato, em todo o seu processo metabólico

Ablação por laser	<p>Laser (normalmente pulsado) é usado para irradiar a superfície do material precursor com pulsos de alta energia. As altas temperatura e pressão atingidas pelo material induzem a sua evaporação, sublimação ou formação de plasma com subsequente cristalização formando as nanopartículas. Após o processo de ablação, as nanopartículas resultantes passam por tratamento químico com reagentes como ácido nítrico e polímeros para ativar as suas propriedades fotoluminescentes.</p>	Físico
Descarga de arco	<p>Em atmosfera inerte, duas hastes de grafite dispostas como um sistema ânodo-cátodo são submetidas a uma corrente elétrica contínua que promove a sublimação do carbono. As nanopartículas de carbono se condensam no eletrodo negativo ou nas paredes da câmara que contém o aparato.</p>	Físico
Método eletroquímico	<p>Em um sistema parecido com a descarga por arco, um eletrodo feito de material carbônico funcionando como ânodo é inserido em uma solução eletrolítica junto com um cátodo não carbônico e submetidos a uma descarga. Dentro da solução, o carbono sofre um processo de esfoliação que libera as nanopartículas. Processos de filtração e cromatografia são realizados subsequentemente para separar as partículas de diferentes tamanhos.</p>	

Bottom-up

Pirólise	Esse método consiste em promover uma reação química de decomposição de compostos orgânicos tais como ácidos ou alguma solução alcalina a altas temperaturas. Esse método, além de apresentar amplo número de precursores, permite controlar as propriedades estruturais do PC produzido através de variações nas condições experimentais como pH do substrato e temperatura de reação.	Químico
Microondas	O método por microondas é uma categoria de pirólise que acontece numa escala de tempo bem menor. A reação a altas temperaturas que resulta na solução contendo pontos de carbono pode ser realizada em aparelhos microondas domésticos, inclusive.	Químico
Síntese hidrotérmica	A solução precursora é formada por moléculas orgânicas ou polímeros dissolvidos no solvente apropriado e submetida a altas temperaturas em alto-clave de aço inoxidável revestida com teflon. É um dos métodos mais comuns e produz CDs com distribuição quase uniforme de tamanho e altos valores de rendimento quântico.	Químico
Oxidação química	Aqui, a oxidação do precursor de carbono ocorre na presença de ácido seguido ou simultaneamente a um processo hidrotérmico. Nessa rota de síntese, os PCs produzidos costumam ter alta taxa de solubilidade em água como consequência dos grupos hidrofílicos inseridos nos PCs pela solução ácida.	Químico

Fonte: Autor, 2021.

Os PCs naturalmente apresentam baixo rendimento quântico e isso se deve ao fato de não existir um controle rigoroso da morfologia e ligações químicas nos processos de síntese, especialmente os da classe *top-down*. Dessa forma, modificações superficiais muitas vezes são incluídas nas rotas de produção com o intuito de otimizar suas propriedades fotoluminescentes, aumentar o rendimento quântico, melhorar a estabilidade e biocom-

patibilidade, etc. A rigor, passivação superficial e funcionalização superficial são técnicas distintas usadas para se chegar no mesmo objetivo: otimizar os pontos de carbono.

As operações de passivação usualmente tem o efeito de estabilizar armadilhas de energia e defeitos superficiais. O processo envolve o revestimento da superfície com polímeros orgânicos; uma camada protetora que impede que os átomos de oxigênio e carbono reajam com moléculas orgânicas nos seus arredores. Essa camada, que normalmente não contém cromóforos, preserva a superfície dos CDs de exposição e promove estabilidade nas propriedades fotoluminescentes [30, 51]. O processo de funcionalização, por outro lado, promove a modificação superficial controlada dos PCs através da dopagem de grupos funcionais oxigenados, como carboxila, carbonila e hidroxila, e a introdução de defeitos com propósitos específicos. Algumas reações químicas envolvidas no processo de funcionalização são tratamentos acídicos, acilação, pirólise e processos hidrotérmicos e solvotérmicos. Apesar dessas diferenças, a possibilidade de inserir reações e elementos nas rotas de síntese de PCs permite que agentes passivantes funcionem como funcionalizadores também [52, 51].

Todas as possibilidades aqui mostradas embasam a existência de uma gama aparentemente interminável de estruturas identificadas como pontos de carbono. A riqueza dessas nanopartículas é refletida nas várias aplicações já apresentadas e nas propostas de aplicações que movimentam a ciência e tecnologia. Nas últimas duas seções desse capítulo, trataremos do uso de PCs dentro do cenário da nanotermometria e como agente gerador de oxigênio reativo, os dois tópicos de que se trata o presente trabalho. Na seção seguinte, um apanhado histórico sobre a termometria será realizado com o intuito de contextualizar a importância dos pontos de carbono nessa área de pesquisa.

1.4 Pontos de carbono e a nanotermometria

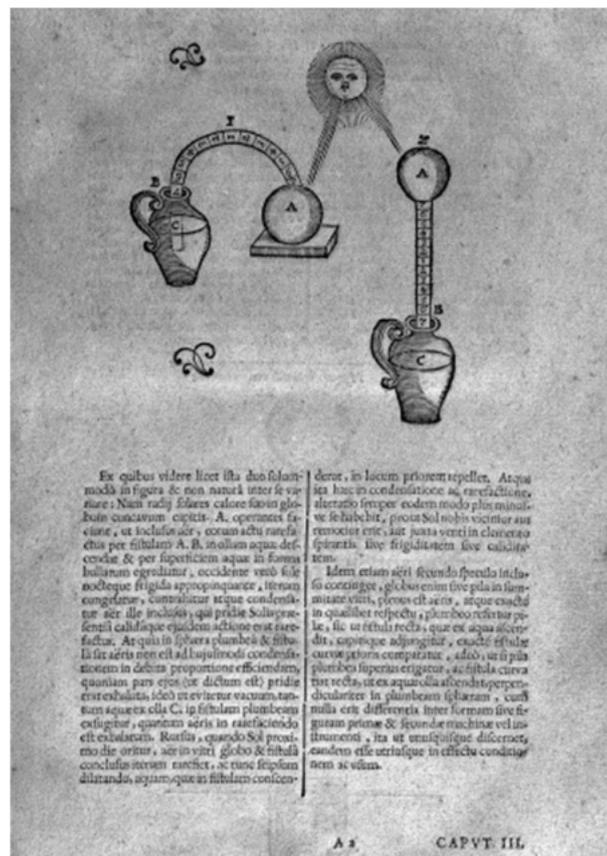
Nas mais diversas áreas da ciência e engenharia, a medição e controle da temperatura de um sistema é chave essencial para o sucesso e correta análise do experimento executado. Desde tempos imemoriais, a percepção do calor proveniente de organismos vivos é centro de muitos debates e crenças, fazendo parte dos aspectos tanto filosóficos e medicinais, como religiosos da cultura de um povo. Nos séculos VI e V a.c., em sociedades como a Babilônia e Mesopotâmia, o aumento da temperatura corporal, seja local ou generalizada, estava associado à inflamações que, por sua vez, eram atribuídas à vontade dos deuses ou presença de fantasmas.

Os gregos e romanos atribuíam as mudanças de temperatura em um indivíduo ao equilíbrio ou desequilíbrio de quatro elementos corporais que eles chamavam de humores: sangue, fleuma (secreção de mucosas), bílis amarelo e bílis negro. Já no primeiro século da Idade Média, Cláudio Galen estruturou a medicina baseado na teoria dos humores corporais greco-romano e introduziu a primeira padronização de temperatura, baseado na divisão de quatro graus de quente, quatro graus de frio e uma temperatura referência

(que seria o resultado do equilíbrio entre os graus quente e frio). Suas ideias inspiraram a criação de uma escala médica de temperatura corporal no século XIV por Hasler de Berne, o que foi referência médica por muito tempo [53].

Apesar dos estudos de Galen e Berne com respeito à temperatura terem dado forma à medicina por séculos, nenhuma análise quantitativa foi desenvolvida no que diz respeito à criação de instrumentos de medição térmica. Entretanto, há registros do século III a.c. de instrumentos usados para medição de temperatura que funcionavam à base de expansões pneumáticas. Filão de Bizâncio descreve em seus trabalhos um aparato que utilizava expansão do ar pela aplicação de calor para aferição de temperatura, o primeiro termômetro (ou, mais especificamente, termoscópio/baro termoscópio, já que seu funcionamento dependia tanto da temperatura como da pressão atmosférica) que se tem registro, Fig. 1.8.

Figura 1.8: Ilustração do Termômetro de Filão de Bizâncio, que faz parte da obra *Philosophia Moysaica* (1638) de Robert Fludd.



Fonte: Ref. [53], 2020.

Esse aparato ficaria famoso séculos depois com a sua "reinvenção" por Galileu Galilei no final do século XVI, um instrumento que até hoje faz parte de experimentos escolares e é conhecido como Termômetro de Galileu. O desenvolvimento da termometria seguiu seu curso com as contribuições de Daniel Gabriel Fahrenheit e seu termômetro de mercúrio,

Anders Celsius, com a criação da escala Celsius de temperatura, Thomas Johann Seebeck, com a proposição e demonstração do efeito Seebeck, que é base para a termoeletricidade, e tantos outros nomes cujos estudos foram fundamentais para dar forma ao conhecimento contemporâneo [53, 54].

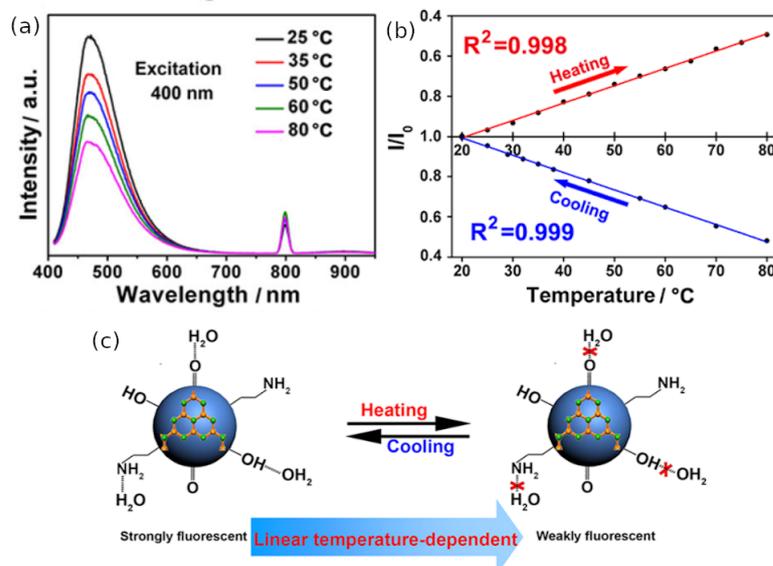
Acompanhando o avanço científico, a termometria precisou se adaptar às novas escalas, micrométrica e nanométrica, de experimentação e, portanto, um novo grande passo precisou ser dado nos estudos de medição de temperatura. A nanotermometria é um ramo da física e engenharia que utiliza materiais em escala nano que, interagindo com o meio onde está inserido e com agentes externos, informa localmente ou globalmente a temperatura desse meio. Os nanotermômetros são produzidos a partir da manipulação físico-química de materiais como polímeros, nanocristais e nanopartículas dopadas com terras-raras de maneira que algumas das suas propriedades sofram alterações, de forma controlada, em resposta a mudanças de temperatura [55]. A propriedade mais utilizada como quantificador de sensor térmico dessas partículas é a fluorescência, que sofre alterações (deslocamento e/ou deformação de banda, aumento ou decréscimo de intensidade) como resposta à variação térmica do substrato onde está inserida. A necessidade de se produzir materiais termosensíveis em escalas tão minúsculas é produto das mudanças drásticas que propriedades físicas sofrem quando atravessam a barreira que separa o cenário macroscópico do micro/nanoscópico [55].

Apesar de um vasto conjunto de nanocompostos, algumas dificuldades são encontradas nas suas aplicações como nanotermômetros, especialmente em sistemas biológicos. Nanopartículas metálicas podem apresentar baixa fotoestabilidade. Nanoestruturas poliméricas são desfavorecidas pela baixa solubilidade em água e por seu tamanho, em geral, maior que 60nm, o que impossibilita seu uso para imageamento térmico intracelular. Pontos quânticos inorgânicos, a despeito das inúmeras vantagens, ainda apresentam baixa biocompatibilidade e ausência de precursores naturais em abundância [56]. Na literatura, vários trabalhos tem demonstrado a eficácia do uso de PCs como nanotermômetros. Kalytchuk *et al* [57] verificou a estabilidade de PCs produzidos a partir de ácido cítrico anidro e L-cisteína dopados com Nitrogênio e Enxofre (N,S-CD) quando sob variação de temperatura. No intervalo de $15^{\circ}C$ a $45^{\circ}C$, o nanocomposto N,S-CD apresentou decaimento monoexponencial com a elevação da temperatura e reversibilidade depois de sete ciclos de aquecimento e resfriamento. Os autores realizaram medidas de monitoramento térmico intracelular *in vitro* em células de câncer HeLa e observaram uma excelente resposta fotoluminescente do composto com a variação da temperatura, demonstrando o seu uso como sensor térmico para sistemas biológicos.

Na Fig. 1.9, Yang *et. al.* mostra a resposta térmica dos seus pontos de carbono sintetizados com nitrogênio (N-CDs) através da diminuição da intensidade de fluorescência em cerca de 46%. Para atestar a reversibilidade da resposta térmica, o processo de aquecimento foi seguido de um processo de resfriamento no qual o comportamento da

intensidade de fluorescência relativa (I/I_0) foi investigado - com I_0 sendo determinado como a intensidade de fluorescência em $T = 20^{\circ}C$. Os autores ainda propuseram uma explicação para a diminuição da intensidade com o aumento da temperatura; uma das razões, mostradas esquematicamente na figura, é a perturbação nas ligações com hidrogênio que acompanha o aumento da temperatura.

Figura 1.9: (a) Decrescimento da intensidade de Fluorescência dos N-CDs com o aumento da temperatura. (b) Variação da intensidade de fluorescência relativa(I/I_0) com a temperatura. (c) Esquematização da quebra de ligações de hidrogênio com o N-CD explicando o decrescimento da intensidade de fluorescência com o aumento da temperatura.



Fonte: Ref. [58], 2021.

Outras pesquisas vem sendo realizadas em pontos de carbono produzidos a partir dos mais variados precursores, [59, 50, 58]. Macairan e colaboradores [60] investigaram o comportamento da fluorescência dupla de PCs produzidos a partir de glutatona e formamida. As nanopartículas apresentaram duas bandas de emissão (370 – 500 nm e 654 – 730 nm) quando excitadas com luz laser violeta em 405 nm e apenas uma banda de emissão (654 – 730 nm) quando a excitação era na região do vermelho, em 640 nm. O espectro de fluorescência do material sofreu aumento de intensidade por um fator de 3.5 quando a temperatura foi elevada de $5^{\circ}C$ a $60^{\circ}C$ para $\lambda_{exc} = 640$ nm. Um comportamento curioso, no entanto, foi observado para a resposta dos CDs à variação térmica no mesmo intervalo quando sob excitação de $\lambda_{exc} = 405$ nm; a primeira banda de emissão sofre decaimento por um fator de 1.3, enquanto que a segunda banda aumentou de intensidade por um fator de 3. Investigação *in vitro* em células HeLa foi executada e os PCs demonstraram comportamento similar aos observados nas medidas em cubetas, mostrando, ainda, estabilidade frente às variações de pH no ambiente intercelular. A estabilidade da resposta fotoluminescente dos PCs à variação térmica tanto em cubeta quanto em meio biológico

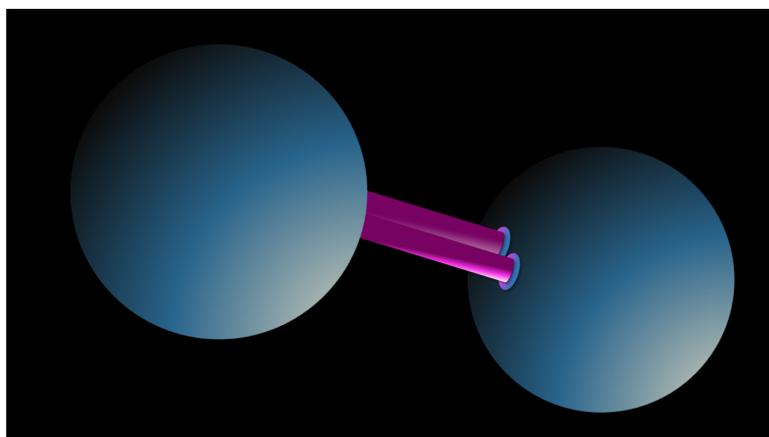
é conclusiva para sua aplicação como sensor térmico ratiométrico.

Diante do amplo espectro de possibilidades que se abre com o avanço em pesquisas com carbon dots, é imperativo entender a diversidade que essas nanoestruturas possuem no que diz respeito às sínteses, estruturas e matérias-primas precursoras. No presente trabalho, tivemos como um dos focos, o estudo da resposta térmica de pontos de carbono produzidos a partir de Cloreto de Dansil (PC-DsCl) e dopados com nitrogênio e enxofre. Com a verificação experimental de uma resposta linear do nosso material, reversibilidade e alta sensibilidade, nossos estudos apontam para possíveis aplicações térmicas do PC-DsCl. Na próxima sessão, abordaremos a produção de espécies reativas de oxigênio e como os PCs se inserem nesse contexto.

1.5 Interação fotodinâmica com o oxigênio molecular

O oxigênio é o elemento químico mais importante no ciclo de respiração celular de organismos aeróbicos, é o segundo elemento mais abundante na atmosfera terrestre, representando 21% da composição gasosa, o terceiro mais abundante do universo, além de tomar parte em processos de criação e destruição de compostos orgânicos. O oxigênio molecular, O_2 (Fig. 1.10), também chamado de dióxigênio, é formado através da ligação covalente de dois átomos de oxigênio. Diferente da maioria das estruturas moleculares, o O_2 apresenta estado fundamental com multiplicidade de spin do tipo tripleto, e isso lhe confere característica paramagnética; no presente texto, identificaremos esse estado como $^3\Sigma$ [61, 62]. Dentro do cenário de pesquisa e aplicações dos pontos de carbono, o oxigênio molecular tem importância indiscutível, já que nos processos de transferências de energia entre os PCs e o seu entorno, o O_2 - presente nesse entorno - pode desencadear reações químicas e físicas altamente reativas. No decorrer da seção, discutiremos a estrutura do oxigênio molecular e suas aplicações, com ênfase na interação com carbon dots.

Figura 1.10: Representação de uma molécula de oxigênio.

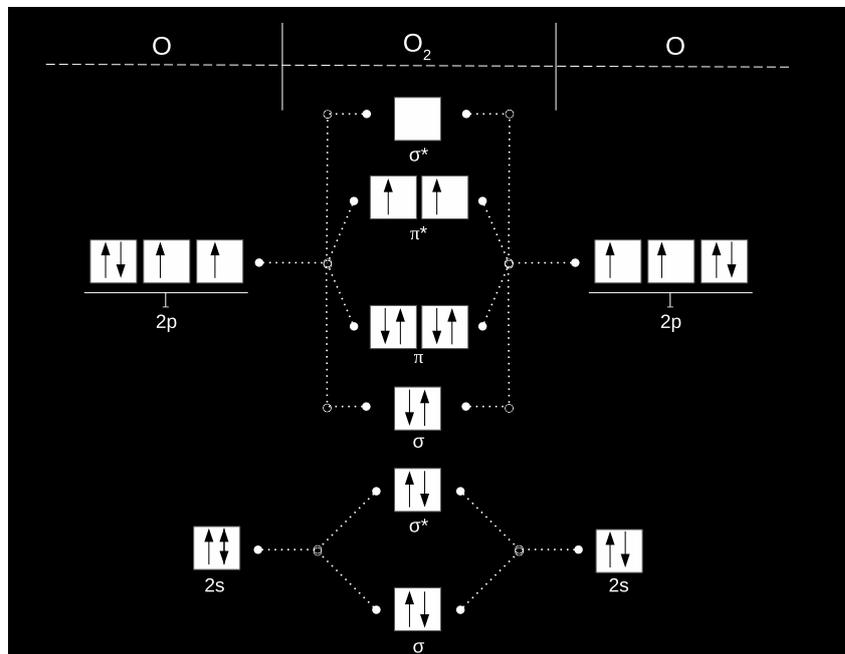


Fonte: Autor, 2020.

1.5.1 Estrutura molecular do O_2

O átomo de oxigênio tem 8 elétrons ocupando seus orbitais atômicos, com 6 deles na camada de valência. A distribuição eletrônica desses elétrons resulta na estrutura $1s^2 2s^2 2p^4$ com um par de elétrons no orbital $1s$, outro par em $2s$ e, no orbital $2p$ - como são três orbitais de mesma energia (degenerescência) - temos um dos orbitais completamente preenchidos (dois elétrons de spin opostos) e os outros dois orbitais parcialmente preenchidos. A molécula de oxigênio é formada a partir do compartilhamento de elétrons nos orbitais atômicos $2s$ e $2p$ em uma ligação dupla que preenche os orbitais moleculares como mostra a figura 1.11.

Figura 1.11: Distribuição eletrônica nos orbitais moleculares do O_2 a partir dos átomos de oxigênio.



Fonte: Autor, 2021.

Na figura temos que os orbitais $2s$ de cada átomo realizam ligação do tipo σ , e os orbitais moleculares resultantes, σ e σ^* , ficam completamente preenchidos. A ligação dos orbitais $2p$ de cada átomo culmina na formação dos orbitais moleculares σ e π , completamente preenchidos, π^* , parcialmente preenchido, e σ^* , vazio. Essa distribuição eletrônica resulta na configuração do oxigênio molecular no estado fundamental como

$$(\sigma_g 2s)^2 (\sigma_u 2s)^2 (\sigma_g 2p)^2 (\pi_u 2p)^4 (\pi_g 2p)^2 \quad (1.1)$$

onde os índices g e u se referem às palavras alemãs *gerade* e *ungerade*, que significam par e ímpar, respectivamente. Na química e física, elas se referem à inversão de simetria na molécula com relação ao seu centro e identificam a mudança de sinal da equação

de onda do elétron quando passa de uma região para outra do orbital molecular. Se a função de onda não mudar de sinal, o orbital molecular é par (*gerade*), caso contrário, é ímpar (*ungerade*). A configuração onde dois elétrons desemparelhados ocupam orbitais diferentes, mas de mesma energia (degenerados), é característica de um estado tripleto. Dessa forma, o oxigênio molecular é também conhecido como oxigênio tripleto e, em decorrência de seus estados mais energéticos e parcialmente preenchidos serem resultados de uma anti-ligação, sua reação com outras moléculas orgânicas, que apresentam elétrons pareados, é mais fraca.

1.5.2 Oxigênio singleto

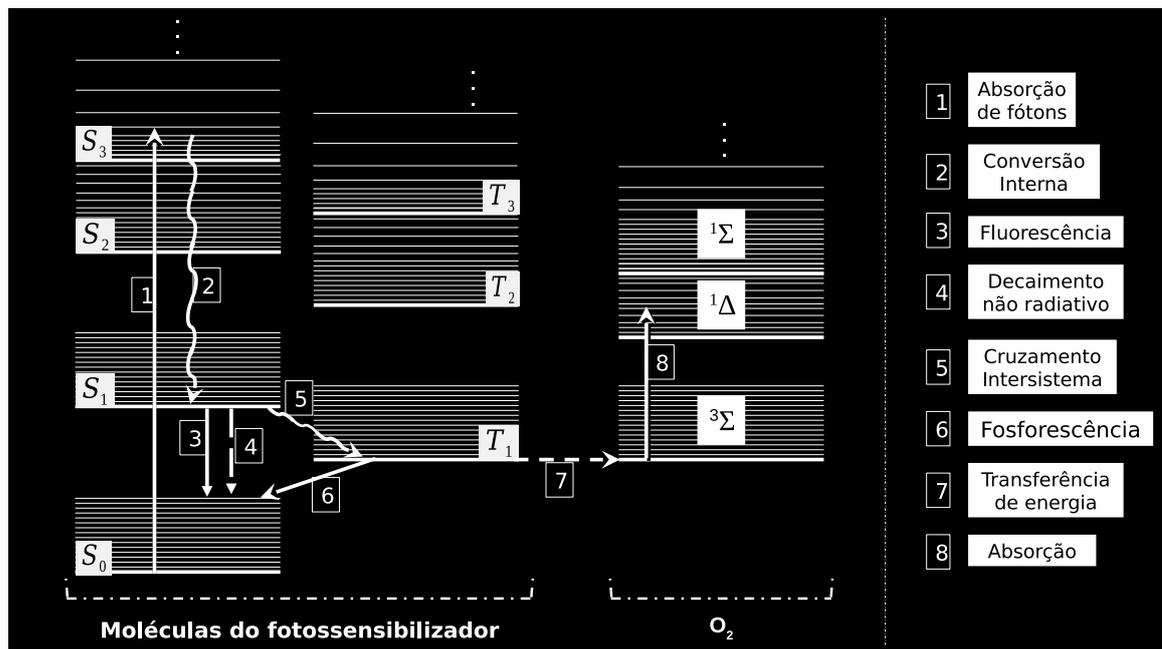
Tendo estabelecido essa estrutura para o oxigênio molecular, conjectura-se a possibilidade de um rearranjo eletrônico nos estados anti-ligantes π^* resultar em novas configurações eletrônicas da molécula de oxigênio. De fato, existem outras duas configurações que são instáveis, mas apresentam propriedades interessantes. Uma perturbação no estado fundamental com acréscimo de energia de 94,7 KJ/mol reorganiza a distribuição eletrônica, colocando os dois elétrons antiligantes emparelhados no mesmo orbital. Enquanto isso, 158 KJ/mol são suficientes para que os elétrons antiligantes fiquem emparelhados, mas cada um em um orbital π^* . Essas duas novas configurações apresentam característica diamagnética e tem multiplicidade 1 de spin, sendo caracterizadas como singleto. O primeiro desses estados é o mais estável e, normalmente é o mais estudado para aplicações [63].

Os processos de transição de energia do ambiente para a molécula de oxigênio, que culmina na formação das suas variações singleto, são inúmeros, mas focaremos aqui nas transferências de energia provenientes de radiação eletromagnética. A interação entre as moléculas de um fotossensibilizador - cromóforos que, ao interagir com a luz incidente, induzem a produção de espécies reativas de oxigênio no substrato onde está inserido - e o oxigênio molecular é um método eficaz de produção de oxigênio singleto. Sua alta reatividade é explorada em técnicas que promovem a morte celular em meios biológicos (*in vivo* e/ou *in vitro*), como a Terapia Fotodinâmica, a morte de micro-organismos, Inativação Fotodinâmica e a descontaminação de recursos hídricos através da destruição de compostos orgânicos poluentes [64].

Nesse contexto, é importante diferenciar dois mecanismos que envolvem a destruição celular induzida pelas transferências de energia entre fotossensibilizador e o meio sob irradiação. A energia recebida pelo cromóforo pode desencadear transferências de elétrons e hidrogênio entre esse cromóforo e as moléculas orgânicas presentes no substrato. Essas transferências resultam na formação de radicais livres, peróxidos e superóxidos, como o anion superóxido O_2^- e são chamadas coletivamente de Mecanismo Tipo 1. O Mecanismo Tipo 2 envolve a interação do oxigênio molecular com o cromóforo no seu estado excitado

e a subsequente formação de oxigênio singleto, como mostra o diagrama de Jablonski na figura 1.12). Os dois tipos de mecanismos podem acontecer (e normalmente acontecem) simultaneamente, de forma que é indispensável identificar se a origem da destruição celular local é produto, se não exclusivamente, pelo menos majoritariamente, de um ou outro mecanismo. Tanto o oxigênio singleto como os radicais e óxidos são conjuntamente chamados de espécies reativas de oxigênio (*Reactive Oxygen Species* - ROS) por apresentarem uma alta reatividade quando em contato com outras moléculas.

Figura 1.12: Diagrama de Jablonski representando os processos de transferência de energia entre moléculas fotossensibilizadoras e oxigênio molecular.



Fonte: Autor, 2020.

Para a identificação de formação de oxigênio singleto, algumas técnicas vem sendo usadas na literatura: a aplicação de sinalizadores de oxigênio singleto, como o 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF), cujo espectro de emissão sofre diminuição na intensidade quando na presença de oxigênio singleto; o uso de mistura dos isótopos H_2O/D_2O que promovem alteração no tempo de vida do oxigênio singleto permitindo um controle na sua desativação não radiativa; espectroscopia de fosforescência do oxigênio singleto na sua transição para o estado fundamental.

Nos processos de transição de energia dos quais pontos de carbono participam, a geração de espécies reativas de oxigênio, dentre elas o oxigênio singleto, é uma possibilidade e abre margem para o uso de PCs como fluoróforos em aplicações tais quais a Terapia Fotodinâmica. Li e colaboradores [65] fizeram uso de porfirina mono-hidroxilfenil trifenilporfirina (TPP) sintetizadas com pontos de carbono (TPP-CD) para tratamento tumoral via Terapia Fotodinâmica; o estudo mostrou a eficácia do composto tanto na geração de oxigênio singleto, como na destruição das células de carcinoma hepático hepatocelular

humano *in vitro* e Hepatocarcinoma 22 em ratos. A Terapia Fotodinâmica é caracterizada pela sua indução de geração de espécies reativas de oxigênio através da aplicação sinérgica de luz e fármaco para a destruição celular de tumores e micro-organismos. A presença do oxigênio molecular e subsequente formação do oxigênio singleto e/ou demais ROS é indispensável para a eficácia da TFD.

No contexto de pesquisas sobre TFD, uma tendência dos últimos anos aponta para a busca do que é conhecido na literatura como fotossensibilizadores de terceira geração. São compostos, sistemas e carregadores que apresentam características mais favoráveis que os fotossensibilizadores clássicos - como os derivados de hematoporfirinas - ou que aprimoram as suas performances. Nanoestruturas, especialmente pontos de carbono, vem sendo investigados com esse intuito. Um estudo para o tratamento de carcinoma de células escamosas nas vias orais foi conduzido por Zhou e colegas [66] usando pontos de carbono dopados com enxofre como nano-fotossensibilizadores com efeito fotodinâmico. O acúmulo observado dos PCs nos lisossomos das células alvo desencadeou processos de apoptose ⁵, a partir da alta produção de ROS, que promoveram a morte celular com mais eficácia do que o Ácido 5-Aminolevulínico também empregado como comparação.

Diante do exposto no presente capítulo, é irrefutável a importância que os pontos de carbono possuem dentro do cenário da nanociência. A relevância desse material para o desenvolvimento tecnológico e científico é fundamentada no enorme contingente de trabalhos que são elaborados e executados todos os anos. Os tópicos e exemplos discutidos aqui não chegam perto de traduzir fielmente o lugar que os PCs ocupam na ciência, mas expõem a nossa motivação para a realização desse trabalho. No próximo capítulo, discutiremos um pouco sobre os fenômenos comumente observados em PCs, bem como os mecanismos moleculares responsáveis por esses fenômenos.

⁵Uma forma de morte celular programada. A célula, ao detectar alguma anormalidade na sua estrutura, como a presença de vírus ou erro no DNA, libera sinais que induzem a sua destruição de maneira organizada [67].

Fenômenos Físicos

As propriedades luminescentes dos pontos de carbono têm despertado o interesse de cada vez mais cientistas ao longo dos anos e aberto um leque de possibilidades que só cresce. As complexas e diversas estruturas dessas nanopartículas são o resultado de interações atômicas e moleculares submetidas a reações químicas e físicas com um vasto espectro de precursores e processos de síntese. Nesse capítulo discutiremos um pouco sobre a física base para se compreender a formação e funcionamento dos pontos de carbono. A estrutura das moléculas e os processos que culminam na formação dos PCs, e como tudo isso permite que complexos moleculares à base de carbono, produzidos a partir de praticamente qualquer matéria orgânica, apresente propriedades ópticas tão ricas ao ponto de abrir novos e promissores caminhos para a nanociência.

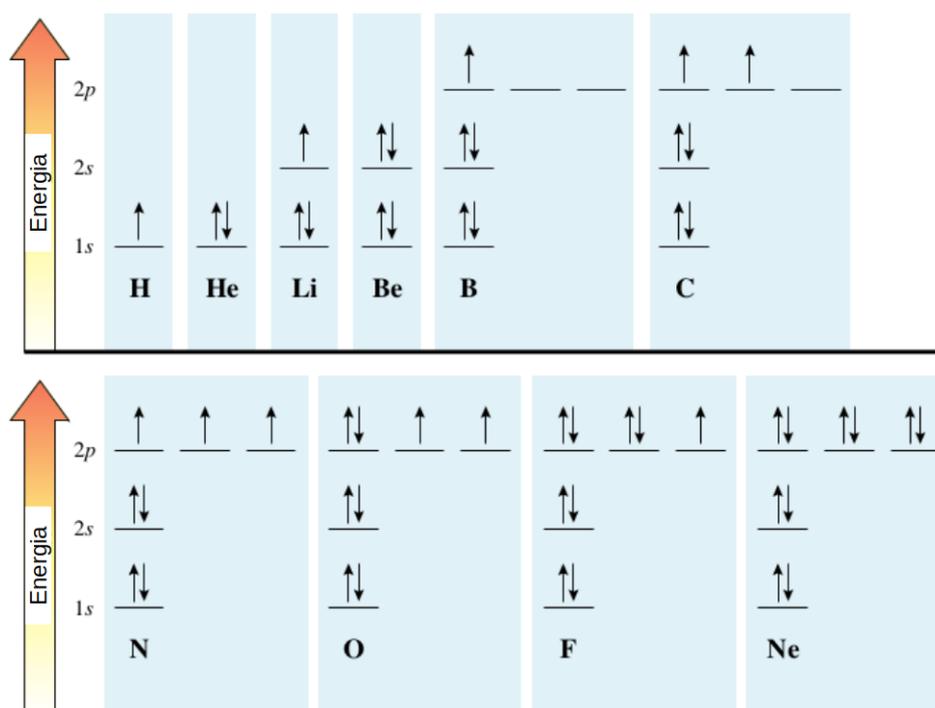
2.1 Estrutura Molecular

A mecânica quântica associa a cada elétron uma equação de onda que permite calcular as regiões ao redor do núcleo atômico em que é mais provável o elétron se encontrar. Essas regiões são chamadas de orbitais, cada um com formato característico que é fundamental para a formação de moléculas e, em uma escala maior, de aglomerados de moléculas e materiais macroscópicos, suas interações e propriedades. O orbital atômico de menor energia é identificado como $1s$. Ele localiza o elétron em uma região esférica ao redor do núcleo onde a função de onda associada tem sinal positivo. Aumentando a energia, o orbital $2s$ também tem formato esférico ao redor do núcleo atômico (como todos os orbitais do tipo s). No entanto, diferentemente do anterior, a função de onda é positiva em uma região e negativa em outra com um nodo - onde a função é nula - separando essas duas regiões; o nodo é o local onde o elétron nunca é encontrado [62].

O próximo orbital é da família p , que tem formato de haltere com duas seções simetricamente opostas, com relação ao núcleo atômico, onde a densidade eletrônica é maior. Esse tipo de orbital é formado por dois lobos (um onde a função assume sinal negativo e o outro, positivo) separados por um nodo planar que contém o núcleo. O orbital $2p$, o de menor energia na família p , é degenerado e suas três formas são identificadas como $2p_x$, $2p_y$ e $2p_z$ já que o eixo de cada orbital se localiza em uma das três direções, com o nodo no plano formado pelas outras duas. Outros tipos de orbitais ocorrem naturalmente, mas

como as estruturas tratadas nesse trabalho são majoritariamente compostas por carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, esses três são de maior relevância (Fig. 2.2). O sinal que a função de onda assume em cada região de localização do elétron diz respeito às combinações que os orbitais atômicos executam na formação de moléculas, e da probabilidade de encontrar o elétron em dada região - que é proporcional ao quadrado do valor da função de onda. O estudo de compostos orgânicos e inorgânicos depende da estrutura molecular que surge quando esses orbitais atômicos interagem entre si [68].

Figura 2.1: Preenchimento eletrônico dos orbitais atômicos dos 10 primeiros átomos da tabela periódica.

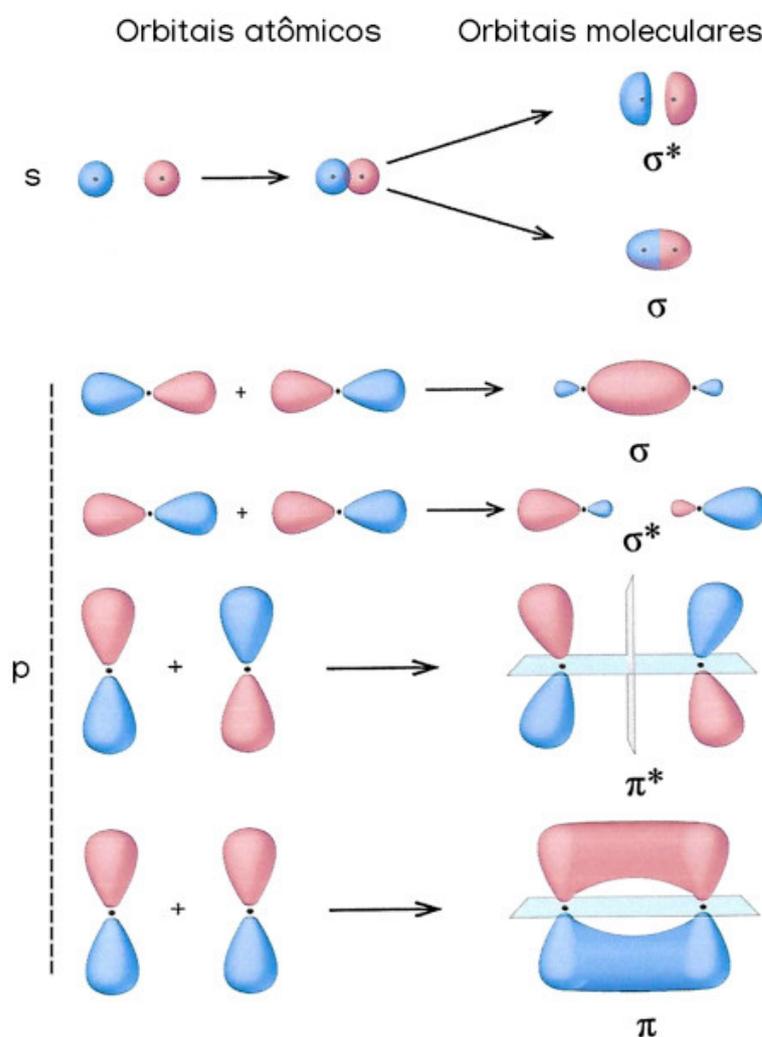


Fonte: Modificado de [68], 2021.

Os grupos funcionais na superfície dos PCs, o núcleo carbônico, as armadilhas emissivas dos estados de superfície e os fluoróforos presentes na estrutura são produtos das modificações pelas quais as estruturas moleculares passam sob as condições impostas pelos processos de síntese. A estrutura molecular surge da interação entre átomos participando de ligações covalentes através do compartilhamento de elétrons [28]. A teoria dos orbitais moleculares descreve a molécula como sendo uma cadeia de núcleos atômicos ligados covalentemente cercado por regiões de energia onde os elétrons podem ou não ser encontrados. Equivalentemente, a teoria da Combinação Linear de Orbitais Atômicos (*Linear Combination of Atomic Orbitals - LCAO*) descreve os elétrons nos orbitais atômicos como funções de onda base; essas funções se combinam para formar a função do orbital molecular, que representa a energia desse orbital e informa a probabilidade de encontrar esses elétrons em dadas regiões da molécula. A soma e subtração dessas funções base resulta nos orbitais moleculares ligantes e antiligantes, respectivamente. Um orbital molecular

ligante tem energia menor que os orbitais atômicos que o originou e representa um aumento na densidade eletrônica, ou seja, é a região na molécula com maior probabilidade de encontrar um elétron. Essa diminuição da energia é uma tendência natural com o intuito de estabilizar o sistema. Os orbitais antiligantes são as regiões com menor probabilidade de encontrar um elétron e, portanto, regiões com energia suficiente para desestabilizar a molécula [68, 69]. Na figura 2.2, uma esquematização geral mostra como os orbitais atômicos s e p produzem os orbitais moleculares σ e π .

Figura 2.2: Esquematização geral da formação dos orbitais moleculares σ e π a partir dos orbitais atômicos s e p , levando em consideração a degenerescência de p . Observe que a sobreposição frontal dos lobos dos orbitais p origina orbitais σ , enquanto que a sobreposição lateral origina orbitais π .



Fonte: Modificado de [70], 2021.

De forma análoga à distribuição eletrônica nos átomos, o preenchimento de elétrons nos orbitais moleculares obedece à três regras:

Princípio de Aufbau - estabelece que o preenchimento de orbitais menos energéticos deve acontecer antes dos mais energéticos;

Princípio de Exclusão de Pauli - *cada orbital só pode ter até dois elétrons e com spins opostos;*

Lei de Hund - *em caso de degenerescência, cada orbital é preenchido primeiro com um elétron (cada um com mesmo spin) para, em seguida, ser completado com os elétrons restantes (e spins opostos, como estabelece Pauli).*

Na representação de Lewis do compartilhamento de pares eletrônicos, para cada par compartilhado, existe um orbital ligante e um antiligante; dessa forma, a LCAO prevê que o número de orbitais moleculares é igual ao número de orbitais atômicos dos átomos que formaram aquela molécula. Quanto mais complexa a molécula, maior o número de orbitais moleculares formados. No entanto, as combinações lineares precisam levar em conta os tipos de orbitais que são envolvidos na ligação. Para uma molécula simples, como a molécula de hidrogênio, H_2 , os elétrons ocupando os orbitais atômicos $1s$ de cada átomo se combinam para formar dois orbitais moleculares: σ (ligante) e σ^* (antiligante). No entanto, para uma molécula um pouco mais complexa, como o metano (CH_4), a combinação eletrônica entre os orbitais $1s$ de cada hidrogênio e os orbitais $2s$ e $2p$ (considerando a degenerescência $2p_x$, $2p_y$ e $2p_z$) do carbono não parece ser adequada para satisfazer a disposição geométrica dos átomos na molécula. A tendência em minimizar a energia do sistema faz com que as forças interatômicas organizem os átomos em posições específicas que tornam o sistema mais estável; dessa forma, a correta disposição geométrica dos átomos é fundamental para manter a molécula coesa. Nesse caso, antes da ligação, ocorre um processo de hibridização entre os orbitais $2p$ e o orbital $2s$ do carbono dando origem a quatro novos orbitais, os híbridos sp^3 . Assim, o carbono compartilha os seus quatro elétrons de valência com os quatro elétrons dos átomos de hidrogênio, em ligações simples a partir da sobreposição dos seus orbitais sp^3 com os orbitais $1s$ dos hidrogênios [28].

Para a molécula de metano, as ligações entre o carbono e os hidrogênios é do tipo σ , igual em H_2 . Esse tipo de ligação acontece entre orbitais que apontam um para o outro e são o tipo mais forte de ligação covalente (Fig. 2.2). Em outras moléculas, onde ligações duplas e triplas entre os átomos acontecem, um novo tipo de hibridização surge. Na molécula de etileno, C_2H_4 , apenas dois dos três orbitais p dos carbonos participam do processo de hibridização. As ligações subseqüentes entre os orbitais híbridos do carbono e os orbitais $1s$ dos hidrogênios ocupam o mesmo plano, que é perpendicular ao orbital $2p$ restante (que não participa da hibridização). Cada carbono se liga a dois hidrogênios usando dois orbitais sp^2 . A ligação entre os dois átomos de carbono é dupla e consiste em uma ligação σ , que usa o híbrido sp^2 , e uma ligação π , formada pelos orbitais $2p$ que não participaram da hibridização. O orbital π surge da sobreposição lateral dos orbitais $2p$ de cada átomo de carbono (Fig. 2.2). Para moléculas com ligação tripla, o processo de hibridização é similar. Se tomarmos o acetileno, C_2H_2 , como exemplo, podemos observar que a ligação tripla ocorre entre os dois carbonos e é formada por duas ligações π , provenientes de 2 dos 3 orbitais $2p$ que não participam da hibridização, e uma

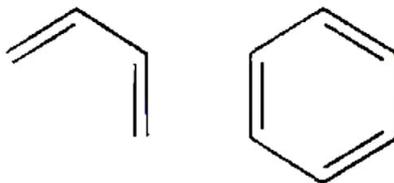
ligação σ , formada pela sobreposição dos orbitais sp , híbridos entre o $2s$ e o $2p$ restante.

Um vez realizada a ligação covalente (e não ocorrendo nenhuma excitação da molécula formada), a configuração eletrônica molecular corresponde ao estado fundamental dessa molécula. Análogo às camadas de valência e condução nos átomos, dois dos orbitais moleculares são importantes para as transições eletrônicas que produzem rearranjos na configuração dos elétrons na molécula. O orbital ocupado de maior energia (*Highest Occupied Molecular Orbital* - HOMO) e o orbital desocupado de menor energia (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital* - LUMO) estão no limite da fronteira energética que separa o estado fundamental da molécula dos seus estados excitados. Um orbital do tipo HOMO é normalmente um orbital ligante σ ou π ou um orbital não ligante, mas a ocorrência de uma orbital antiligante desse tipo é possível, como vimos na figura 1.11, que mostra a distribuição eletrônica da molécula de oxigênio. Os orbitais LUMO são comumente formados por orbitais antiligantes σ^* ou π^* . Quando a molécula absorve energia igual ou superior à energia do salto de banda (band gap) do intervalo HOMO-LUMO, há uma reconfiguração eletrônica e um ou alguns elétrons passam a ocupar o orbital LUMO e orbitais mais energéticos. Essa nova configuração caracteriza um estado excitado, que é instável e tende a se desfazer rapidamente [68].

2.1.1 Sistemas conjugados e domínios π

Dada a configuração eletrônica de uma molécula, é possível identificar algumas regiões específicas caracterizadas pelas ligações σ e π . Foi discutido acima os tipos de ligações atômicas que resultam nos orbitais moleculares, o formato desses orbitais e a energia associada a cada um. Nesse contexto, podemos visualizar uma molécula a partir de dois sistemas distintos: sistemas σ e sistema π . Um sistema sigma é composto por elétrons localizados em orbitais que se sobrepõe coaxialmente, ou seja, com as regiões superiores dos seus lobos, uma em direção a outra. Esse tipo de sistema se estende por toda a molécula, já que as ligações sigma estão presentes em todos os tipos de ligação covalente. Por outro lado, um sistema conjugado π é formado pela cadeia de átomos em uma molécula que alterna entre ligações simples e duplas e pares isolados de elétrons que não participam de ligações (Fig. 2.3). Os orbitais π que são formados nas hibridizações sp e sp^2 se sobrepõem uns aos outros lateralmente através das ligações simples contíguas formando uma região de elétrons delocalizados [71].

A separação da molécula em dois sistemas distintos é possível, em primeiro lugar, porque os elétrons em um orbital π são mais fracamente ligados que um elétron em σ , o que reduz a interação entre elétrons dos dois tipos de orbitais. Além disso, os dois possuem simetrias locais diferentes um do outro. Quando falamos de simetria local, estamos nos referindo à simetria do orbital com relação a apenas um eixo internuclear em detrimento à simetria global da molécula. Ainda, a geometria da molécula favorece o tratamento

Figura 2.3: Representação genérica de um sistema conjugado π .

Fonte: Modificado de [72], 2021.

separado dos dois cenários. Orbitais π normalmente ocorrem em moléculas planares, ou seja, moléculas em que os átomos estão no mesmo plano constituído pelos orbitais σ , deixando os orbitais π nos planos perpendiculares, acima e abaixo do plano da molécula. Um sistema π é uma construção que tem como base orbitais atômicos p que podem se apresentar de várias maneiras: orbitais vazios; orbitais com um elétron, que participam de ligações duplas; orbitais com dois elétrons, ou um par isolado, comumente representado por heteroátomos como o oxigênio e o nitrogênio presentes na cadeia [73].

Um sistema conjugado π é, portanto, um conjunto de ligações entre orbitais π que se estende por uma região da molécula produzindo elétrons delocalizados e estabilizando a molécula. Essa estabilização acontece porque esse tipo de conjugação favorece a estrutura híbrida ressonante. A ressonância é um conjunto de estruturas de Lewis usadas para descrever uma molécula; a estrutura real tem energia menor que as suas representações e pode ser melhor aproximada como a média dessas representações, por isso são chamadas de estruturas híbridas. Quanto mais representações a molécula possuir, mais estável ela é [74]. Dessa maneira, elétrons que não estão ligados a um átomo apenas, mas a um conjunto deles, possibilita a existência de várias estruturas de Lewis da mesma molécula. A conjugação, no entanto, pode não se estender por toda a molécula. Quando a estrutura conta com mais de uma ligação interatômica sucessiva que não forma um orbital π , como uma ligação sp_3 , por exemplo, o sistema conjugado é interrompido. Nessa situação, formam-se os domínios π , que são "ilhas" de conjugação π intercaladas por regiões sem estrutura conjugada [71, 72].

2.1.2 Excitons

Como mencionado no capítulo 1, um dos centros de luminescência de pontos de carbono são os estados de superfície formados a partir da interação dos grupos funcionais (presentes na superfície) e o núcleo carbônico. Esses estados funcionam como armadilhas de éxcitons com intervalos de energia correspondentes à radiação visível. Quando um elétron, acomodado na banda de valência de algum material semiconductor ou isolante, recebe energia suficiente para ser promovido à banda de condução, deixa para trás uma

"vaga" ou "buraco" na configuração eletrônica da banda de valência, onde originalmente se encontrava. Esse buraco é uma quantificação da alteração na carga líquida da banda que, ao perder um elétron, fica menos negativa. O buraco, representando a ausência do elétron, tem, portanto, carga positiva. Pelas interações eletrostáticas coulombianas, o elétron é atraído pelo buraco, mas essa atração é compensada pela repulsão que os elétrons vizinhos ao buraco na banda de valência produzem no elétron excitado na banda de condução. O equilíbrio entre as forças é atingido e o par elétron-buraco fica estável com um tempo de vida bastante curto e energia menor que a da banda de condução; esse par é conhecido na física de estado sólido como éxciton [75].

O éxciton é uma quase partícula com características similares ao hidrogênio, ou seja, um portador de carga positivo ligado a um portador de carga negativo. Além disso, esse par pode se deslocar pelo material transportando energia, mas sem transportar carga (tendo em vista que o par tem carga líquida neutra). Essa quase partícula possui dois graus de liberdade: um referente ao movimento do par elétron-buraco como uma única entidade de carga pelo material, e o outro correspondente ao movimento relativo entre o elétron e o buraco que dá origem ao espectro de energia do éxciton. Esse espectro é discreto e contém o estado fundamental (resultado da recombinação excitônica, ou seja, quando o elétron volta ao seu lugar na banda de valência e o par é aniquilado) e os possíveis estados excitados (com o elétron excitado e ligado ao buraco na banda de valência).

Esse modelo de éxciton foi primeiro proposto por Yakov Frenkel em 1931 e descreve o par elétron-buraco produzido em materiais em que os elétrons estão fortemente ligados aos seus átomos de origem (como cristais iônicos, por exemplo); nessas estruturas, o potencial coulombiano que mantém o elétron ligado ao buraco é grande e a distância entre os dois portadores de carga (também chamada de raio de Bohr do éxciton) é pequena, normalmente menor ou similar às distâncias interatômicas. Isso ocorre porque, quando o éxciton é formado, a energia combinada dos demais átomos e elétrons do cristal não é tão significativa quanto a energia total que o mantém preso ao seu átomo de origem. No modelo proposto por Mott e Wannier, em 1936, o raio do éxciton é várias ordens de grandeza maior e o potencial coulombiano é significativamente menor. Isso se deve ao fato de que Mott e Wannier consideraram a formação de éxcitons em estruturas onde as interações interatômicas são fortes, como em semicondutores e sólidos covalentes; nesses casos, os elétrons de valência não estão mais ligados exclusivamente a um átomo, mas compartilham vários átomos nas ligações covalentes que formam o sólido [76].

Os pontos de carbono são algumas vezes referidos na literatura como semicondutores quânticos de carbono (assim como os pontos quânticos inorgânicos) por apresentarem, dentre outras características, uma configuração eletrônica de semicondutor com formação de éxcitons na sua superfície. As transições eletrônicas que ocorrem nessas estruturas são a base para as propriedades ópticas desse tipo de material e a física que fundamenta essas transições será discutida na seção seguinte.

2.2 Interação luz-matéria

2.2.1 Transições vibrônicas

Como foi dito na sessão anterior, a absorção de energia por uma molécula reorganiza sua configuração eletrônica e a promove a estados excitados. As nanoestruturas estudadas no presente trabalho são aglomerados de moléculas que apresentam unidades, grupos ou defeitos de estado cujo comportamento, quando sob excitação radiante, é resultado das transições eletrônicas entre estados de energia. Desta feita, os fenômenos tratados nessa seção visam elucidar de uma maneira mais fundamental as propriedades discutidas no Capítulo 1. Inicialmente no seu estado fundamental, o elétron de uma molécula absorve a energia do fóton e é excitado para algum dos estados mais energéticos. Os estados excitados são as regiões ao redor do núcleo atômico ou molecular que podem acomodar elétrons e cujas distâncias ao núcleo são diretamente proporcionais à energia armazenada nos elétrons. São as regiões onde as forças que ligam os elétrons ao núcleo se estabilizam viabilizando a sua permanência por um período curto de tempo. Entre dois estados excitados (bem como entre o estado excitado de menor energia e o estado fundamental) existe uma região comumente chamada de intervalo de banda (do inglês *band gap*) que não é eletronicamente populada. Os intervalos de banda criam uma estrutura composta por camadas concêntricas ao redor do núcleo pelas quais os elétrons podem transitar quando participam de fenômenos de transferência de energia. Assim, a absorção e emissão de energia por elétrons é quantizada porque os estados excitados são discretos; cada um desses estados é composto por vários níveis vibracionais e, portanto, os fenômenos de transferência de energia envolvem vários tipos de transição.

No estado fundamental, a molécula é caracterizada por uma estrutura vibracional que mantém o seu núcleo estável com a separação entre os núcleos atômicos dada por R ¹. Quando os elétrons absorvem um fóton, a configuração eletrônica imediatamente se reorganiza para acomodar o elétron em um estado (e nível vibracional) diferente daquele anterior à absorção. Essa reorganização ocorre porque, uma vez que o elétron muda de estado, as forças coulombianas que o ligam ao núcleo são alteradas e o núcleo molecular começa, então, a vibrar mais fortemente como resposta. Para compreender melhor as transições eletrônicas, precisamos conhecer o princípio de Franck-Condon [71].

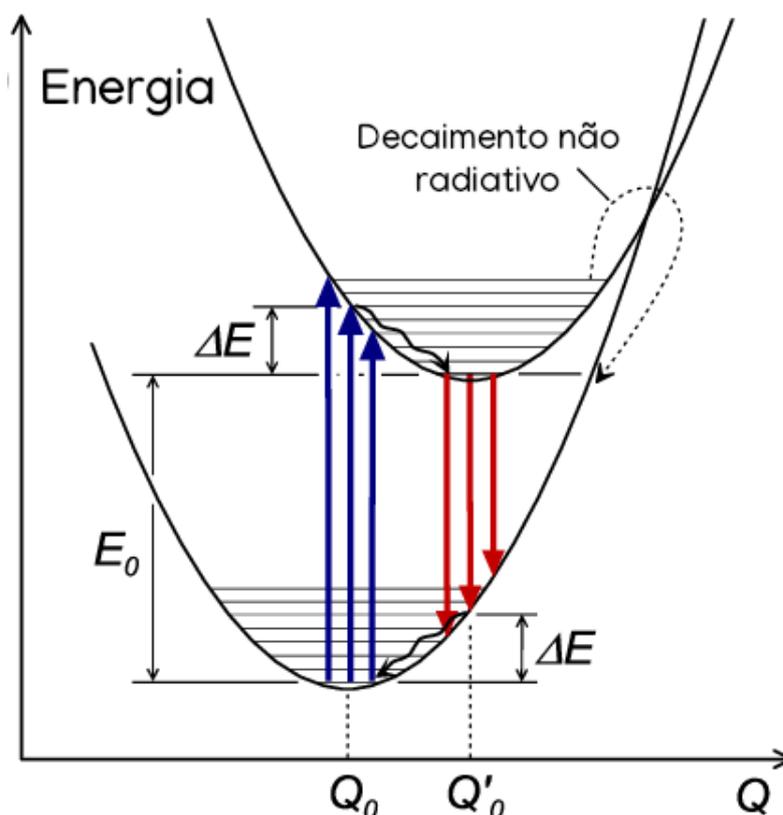
Em decorrência da massa dos elétrons ser muito menor que a massa do núcleo molecular, as transições eletrônicas acontecem numa escala de tempo também menor que o tempo de resposta do núcleo a essas transições.

Dessa forma, as transições eletrônicas são praticamente instantâneas na escala de tempo de vibração dos núcleos. A interpretação quântica do princípio de Franck-Condon

¹ R é o comprimento de ligação, ou distância de ligação, e representa a distância média entre dois núcleos atômicos em uma ligação covalente

estabelece que, no momento da transição, o núcleo está estático no seu ponto de equilíbrio, com comprimento de ligação R , no menor nível vibracional do estado fundamental. O elétron sai desse nível vibracional e se acomoda em um novo nível muito semelhante, porém em um estado mais energético; o estado dinâmico do núcleo é preservado (R não sofre alterações), uma vez que os níveis vibracionais inicial e final são muito parecidos. Apenas depois da acomodação do elétron no novo estado, o núcleo molecular começa a vibrar na energia desse novo estado - com os núcleos atômicos oscilando em torno dos seus pontos de equilíbrio - em resposta a nova configuração de forças que mantém a molécula coesa [71]. Às transições vibracionais e eletrônicas que ocorrem simultaneamente, dá-se o nome de transições vibrônicas e a Fig. 2.4 mostra uma esquematização dessas transições.

Figura 2.4: Diagrama de nível de energia para uma transição vibrônica ilustrando o princípio de Franck-Condon para uma molécula diatômica. O eixo x mostra a coordenada genérica Q para um modo vibracional arbitrário do sistema. A energia crescente (vertical) mostra os dois estados de energia envolvidos nas transições vibrônicas



Fonte: Modificado de [77], 2021.

As transições mencionadas acima não ocorrem exclusivamente entre dois níveis vibracionais. Franck-Condon também estabelece que, no estado excitado, vários níveis vibracionais têm diferentes probabilidades de acomodar a nuvem eletrônica e esse fenômeno pode ser observado nos espectros de absorção e emissão de compostos. Esses espectros normalmente abrangem vários comprimentos de onda, o que indica transições com valores diferentes de energia, e um pico, que representa a transição para o nível mais semelhante

àquele do qual o elétron saiu. Tais fenômenos mudam o formato da molécula quando sua nuvem eletrônica é remodelada a cada transição e, espectroscopicamente, investiga-se essas modificações através dos espectros de absorção e emissão da amostra. A absorção ocorre quando uma população de elétrons absorve energia e deixa o estado fundamental. Em um experimento de medida de absorção, um feixe de luz atravessa a amostra e é avaliado depois da transmissão. A absorbância é uma maneira de quantificar a intensidade e a região de absorção da amostra com relação à radiação incidente [68, 71]. Matematicamente, ela é dada por:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) \quad (2.1)$$

onde I_0 é a intensidade do feixe antes de atravessar a amostra e I é a intensidade logo após. A excitação promovida pela absorção de energia é seguida de fenômenos de depopulação dos estados excitados, onde a nuvem eletrônica libera a energia absorvida voltando ao seu estado vibrônico fundamental. Considerando inicialmente uma transição entre estados singleto, os mecanismos de depopulação para elétrons que absorveram energia luminosa podem ser radiativos ou não. Dentro de cada estado excitado S_n (onde $n > 0$ e S_0 é o estado fundamental), a população de elétrons decai para o nível vibracional mais baixo daquele estado de forma não radiativa (por vibração ou liberando parte da energia na forma de calor). Essa dissipação ocorre até toda a população de elétrons chegar ao nível vibracional mais baixo do estado S_1 , ou seja, o primeiro estado excitado. Esse processo é chamado de conversão interna (*Internal Conversion* - IC) e ocorre em um tempo médio de 10^{-12} s [78, 79].

Uma vez no menor nível vibracional de S_1 , o elétron pode seguir vários processos competitivos para chegar no estado fundamental, a saber:

- i.* Fluorescência \rightarrow emissão de um fóton a uma taxa constante k_f . Acontece entre estados singleto;
- ii.* Dissipação não radiativa na forma de calor a uma taxa constante k_c ;
- iii.* Transferência de energia para outras moléculas a uma taxa constante k_q , que representa uma degradação colisional (*collisional quenching*) onde a transferência de energia entre os sistema excitado e moléculas vizinhas ocorre por contanto, ou k_d , referente à transferência de energia à distância entre um par doador (molécula excitada) - receptor (moléculas vizinhas) ;

Em um outro processo dissipativo, existe uma inversão de spin do elétron e sua consequente passagem para o estado tripleto T_n , que tem energia menor que S_n . Essa passagem ocorre a uma taxa constante k_{isc} , onde *isc* se refere ao cruzamento intersistema (*intersystem crossing*), como é identificada a transição singleto \rightarrow tripleto. A partir desse novo estado, o retorno ao estado fundamental (singleto para a maioria das moléculas) pode acon-

tecer por processos não radiativos como os descritos em ii e iii ou por fosforescência, ou seja, a emissão de um fóton a uma taxa constante k_p . Uma vez no estado fundamental, o elétron decai para o nível vibracional menos energético de forma não radiativa. Esses processos são comumente ilustrados em um Diagrama de Jablonski, que é uma representação com linhas horizontais indicando os estados de energia e níveis vibracionais, e setas indicando as várias transições eletrônicas. No capítulo anterior, foi mostrado um diagrama desse tipo na figura 1.12 para as transferências de energia entre um fotossensibilizador e o oxigênio molecular. Uma importante diferença entre os processos competitivos de depopulação dos estados excitados está, entre outras coisas, no seu tempo de duração. Os processos de relaxação vibracional duram cerca de 10^{-12} s ou menos, enquanto que os processos radiativos são mais demorados com a fluorescência tendo tempo de vida de aproximadamente 10^{-8} s e a fosforescência podendo durar segundos, minutos ou horas [78, 79].

2.2.2 Fotoluminescência

A luminescência é o processo pelo qual elétrons em estados excitados de energia retornam ao estado fundamental liberando essa energia na forma de luz. Discutimos acima um pouco dos aspectos que governam as mudanças de estado eletrônico quando uma população de elétrons absorve ou libera energia. Vamos falar agora sobre um tipo específico de luminescência que é a propriedade mais interessante, do ponto de vista científico e tecnológico, dos pontos de carbono. A fotoluminescência é um fenômeno resultante da liberação de energia na forma de luz por elétrons que absorveram energia radiante e é dividida em dois tipos, a depender dos estados excitados envolvidos: fluorescência e fosforescência [78].

A fluorescência é o processo de decaimento eletrônico pelo qual o elétron passa quando emite energia em forma de fóton e acontece normalmente do estado S_1 para o estado S_0 (a ocorrência de fluorescência a partir de estados excitados de maior energia é conhecida), que são paralelos em termos de spin (transição singleto). Transições entre os níveis vibracionais acontecem simultaneamente às transições eletrônicas e, da mesma forma que ocorre para a absorção, o espectro de fluorescência se estende por um conjunto de comprimentos de onda (representando as energias dos diferentes níveis vibracionais). O pico do espectro, no entanto, representa a emissão do fóton, ou seja, a transição entre S_1 e S_0 e tem a maior energia do espectro. A energia emitida pela fluorescência (numa emissão por um fóton) é menor que a absorvida em decorrência das perdas energéticas não radiativas que ocorrem no processo de decaimento do elétron. Como consequência, o comprimento de onda emitido é maior que o absorvido. Essa diferença entre os dois tipos de espectro, com um deslocamento para maiores comprimentos de onda da emissão em comparação com a absorção, é chamado de deslocamento de Stokes em homenagem ao físico irlandês George Gabriel Stokes, que o observou pela primeira vez em 1852. Para que as origens

do deslocamento de Stokes fiquem claras, é necessário um entendimento de outras duas leis [78]. Uma delas é o princípio de Franck-Condon, que já foi apresentado nessa seção. A outra é a lei de Kasha, que estabelece que:

A luminescência de uma molécula poliatômica ocorre com rendimento apreciável apenas a partir do estado excitado de menor energia de dada multiplicidade.

Salvo algumas exceções, o que Michael Kasha propôs em 1950 estabelece que a fotoluminescência é independente da excitação uma vez que ela acontece a partir do estado excitado de menor energia (triplete ou singlete). Essa lei tem embasamento no fato de que as diferenças de energia entre estados excitados é consideravelmente menor que entre o estado fundamental e o primeiro estado excitado; uma sobreposição de níveis vibracionais entre os diferentes estados promove a relaxação dos elétrons via conversão interna, que tem um tempo de vida muito menor que a fluorescência e fosforescência [80]. Dessa maneira, com as transições acontecendo entre diferentes níveis vibracionais em um tempo muito curto, como estabelece Franck-Condon, e a fotoluminescência, sendo um processo de depopulação mais demorado, ocorrendo apenas entre o nível vibracional mais baixo do primeiro estado excitado e o nível mais alto do estado fundamental, segundo Kasha, o deslocamento de Stokes fica validado. Além disso, para espectros de absorção e/ou emissão com múltiplos picos, Stokes prevê que o deslocamento é calculado entre os picos de maior intensidade entre os dois espectros que, como vimos, representa a transição eletrônica com maior probabilidade; ou seja, entre os níveis vibracionais mais compatíveis [78, 81].

Os valores de energia envolvidos nas transições vibrônicas são utilizados para determinar algumas propriedades de fluoróforos, como o seu rendimento quântico, ϕ . O rendimento quântico é a razão entre a quantidade de fótons emitidos e a quantidade de fótons absorvidos. ϕ quantifica a contribuição da fotoluminescência em depopular os estados excitados dentre os outros processos de desativação. Matematicamente, para a fluorescência, o rendimento quântico é expresso como

$$\phi = \frac{I_f}{I_a} \quad (2.2)$$

onde I_f e I_a são as intensidade de fluorescência e absorção, respectivamente. Como $I_f < I_a$ em todas as situações de emissão e absorção por um fóton, então $\phi < 1$. Outra forma de representar ϕ envolve a relação entre as taxas de decaimento que depopulam os estados excitados, a saber: a taxa emissiva de fluoróforo k_f e a taxa não radiativa de decaimento $k_{nr} = k_c + k_q + k_d$, onde k_c representa a perda de energia na forma de calor, k_q representa o *quenching* colisional que surge do contato do fluoróforo com as moléculas vizinhas, e o k_d é uma perda de energia à distância. Em função dessas taxas, o rendimento quântico fica

$$\phi = \frac{k_f}{k_f + k_{nr}} \quad (2.3)$$

As rotas de síntese e os processos de passivação e funcionalização discutidos no capítulo 1 procuram sempre produzir e aperfeiçoar os pontos de carbono com altos valores de rendimento quântico. Como sinalizadores orgânicos, nanotermômetros ou geradores de oxigênio singlete, é importante que os CDs apresentem valores de ϕ apreciáveis. Assim, as reações físico-químicas às quais são submetidos visam modificar, de forma controlada, a estrutura dos CDs a nível molecular para esse fim.

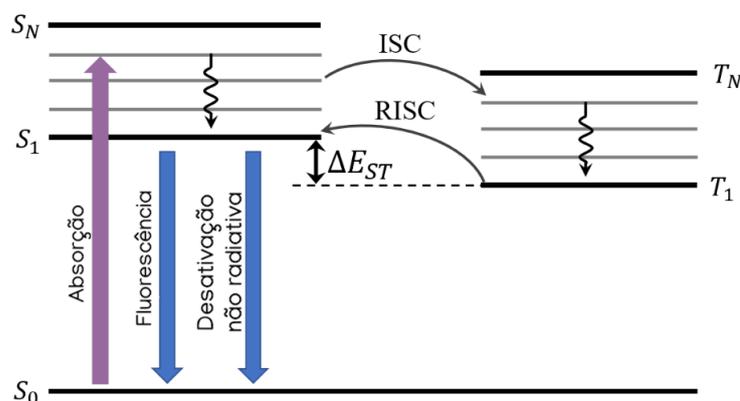
A fosforescência é um fenômeno que resulta de uma transição proibida de estados. Pelas regras de seleção, transições eletrônicas entre estados de energia com configurações incompatíveis de spin, como singeto-triplete, não podem acontecer porque violam a Lei de Pauli de que elétrons ocupando o mesmo orbital precisam ter spins pareados (com orientações opostas). No entanto, em muitas situações o acoplamento entre os momentos angulares orbital, \mathbf{L} , e de spin, \mathbf{S} , promove uma perturbação no sistema que favorece a transição. Nesse caso, um cruzamento intersistema leva o elétron do estado singlete excitado para o estado tripleto. Uma vez no estado tripleto, o elétron fica "preso" no nível vibracional mais baixo dissipando energia para o entorno a uma taxa bem menor que a análoga no estado singlete. O retorno para o estado fundamental singlete também é proibido pelas regras de seleção, mas acontece graças ao acoplamento spin-órbita. A dissipação de energia radiante nessa situação é a fosforescência [81].

Dentre as transições que os elétrons executam entre níveis vibracionais e estados de energia, uma tem um comportamento bastante peculiar. O cruzamento intersistema reverso (*Reverse Intersystem Crossing* - RISC), como o nome sugere, é o oposto do cruzamento intersistema convencional, ou seja, é a migração que o elétron faz de um estado tripleto para um estado singlete. Essa tendência é possível sob condições específicas, sendo a principal delas um valor muito pequeno do intervalo de energia entre os estados singlete e tripleto, ΔE_{ST} , menor 100 meV [82]. Como os estados singlete e tripleto apresentam certo grau de sobreposição dos seus níveis vibracionais, uma inversão de spin sempre ocorre para que o cruzamento intersistema (convencional e reverso) aconteça. No entanto, o intervalo de energia entre os dois estados ainda é grande o suficiente, em condições normais, para que o elétron, uma vez no estado tripleto, retorne para o estado singlete excitado. Esse processo normalmente ocorre quando existe uma variação apreciável na temperatura do sistema, que confere ao elétron uma energia de ativação maior ou igual ao intervalo de energia entre os dois estados [83].

A fluorescência atrasada termicamente ativada (*Thermally Activated Delayed Fluorescence* - TADF) é o tipo de fluorescência presente em um sistema que executa RISC e tem um tempo de vida mais longo que a fluorescência imediata (*prompt fluorescence* - PF). Como é um fenômeno que tem origem em um estado tripleto, sua ocorrência coexiste com

outros processos competitivos de desativação como a fosforescência, conversão interna e outros processos não radiativos. Entretanto, em sistemas que naturalmente apresentam estrutura favorável ao cruzamento intersistema reverso, a fosforescência quase não é observada porque, além de ter um tempo de vida mais longo, precisa ultrapassar um intervalo de energia ($T_1 - S_0$) maior que ΔE_{ST} . A figura 2.5 mostra uma esquematização das transferências de energia entre os estados singlete e tripleto quando a fluorescência atrasada termicamente ativada está presente [84].

Figura 2.5: Esquematização das trocas energéticas entre estados excitados singlete e tripleto e o estado fundamental singlete em um sistema que executa cruzamento intersistema reverso.



Fonte: Autor, 2021.

As propriedades aqui discutidas, as interações entre luz e matéria e as leis que governam as transições eletrônicas são observadas nos pontos de carbono, porém numa escala maior. Por serem, essencialmente, aglomerados de moléculas e rede cristalina de carbono, os mecanismos que governam suas propriedades ópticas agregam as características de cada parte da sua estrutura. Assim, a dependência da fotoluminescência com a excitação, por exemplo, apesar de não ser um fenômeno visto em abundância em moléculas, segundo a lei de Kasha, é explicado nos pontos de carbono pela presença de vários centros emissivos. Os diferentes saltos de banda nos grupos funcionais presentes na superfície ou nos domínios π , as armadilhas emissivas dos defeitos de superfície ou mesmo a presença de fluoróforos na composição do PC agrupam diferentes intervalos de energia correspondentes a diferentes regiões do intervalo UV-VIS, além de outras propriedades e características. No capítulo seguinte, trataremos da metodologia aplicada nesse estudo, os materiais e equipamentos utilizados.

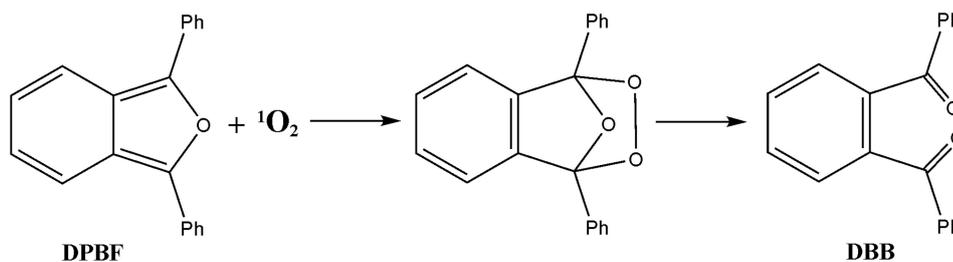
MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e compostos

Nesta seção, será exposto um pouco sobre os três compostos utilizados nessa pesquisa. O cloreto de 5-naftaleno-1-sulfonyl (fórmula química dada por $C_{12}H_{12}ClNO_2S$), ou Cloreto de Dansil (DsCl) é um cloreto de sulfonyl aromático que reage com grupos básicos comumente encontrados em proteínas e peptídeos como aminas primárias e secundárias [85]. A presença de nitrogênio e enxofre na sua estrutura química aponta para a formação de grupos funcionais contendo esses heteroátomos na superfície dos pontos de carbono sintetizados a partir desse reagente.

O 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) é um dieno com fórmula química dada por $C_{20}H_{14}O$ comumente usado como sinalizador de oxigênio singlete (1O_2). A sua estrutura, rica em ligações duplas entre átomos de carbono, é formada por abundância de domínios π . Opticamente, essa configuração resulta em um espectro largo de absorção com pico em torno de 413nm e emissão azulada com pico em 453nm. Quando na presença de oxigênio singlete, o DPBF sofre um processo irreversível de oxidação, em que os domínios π da sua estrutura são quebrados, produzindo o-dibenzoilbenzeno (DBB), como pode ser visto na figura 3.1. Por esse motivo, esse composto é usado como sinalizador (ou sequestrador) de 1O_2 nas medidas para quantificar a produção de oxigênio singlete por algum fotossensibilizador. Essa quantificação é feita medindo a degradação sofrida pelo composto através dos seus espectros de absorção ou fluorescência [86].

Figura 3.1: Esquema ilustrando a oxidação sofrida pelo DPBF em reação com o oxigênio singlete e subsequente formação de DBB.



Fonte: [86], 2021.

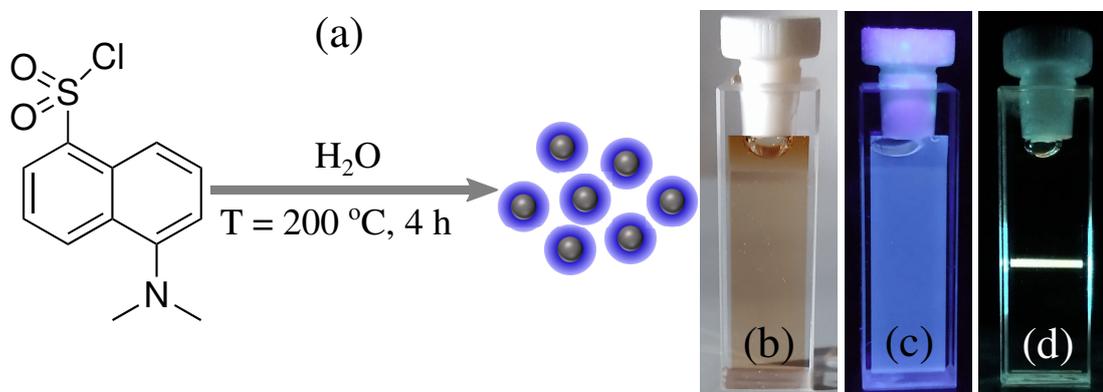
O azul de metileno (AM) é um corante derivado de fenotiazina bastante usado na

medicina em cirurgias cardíacas e que apresenta fórmula química $C_{16}H_{18}ClN_3S$. Suas características ópticas (em solução aquosa), como largo espectro de absorção (550nm - 700nm) com pico em 660nm e emissão em 685nm, permitem o seu uso como fotossensibilizador em Terapia Fotodinâmica. O seu rendimento quântico de produção de oxigênio singlete (Φ_{AM}) tem valor conhecido na literatura, 57%, e permite que esse corante seja utilizado como referência para a determinação do Φ de outros compostos e fotossensibilizadores [87, 88].

3.2 Síntese dos pontos de carbono

As nanoestruturas utilizadas nesse trabalho foram cordialmente fornecidas pela professora Cintya Barbosa, do Instituto de Química - UFAL. Toda a caracterização do material foi realizada pela equipe da professora Cintya, de maneira que apresentamos os resultados da caracterização no presente capítulo. O Cloreto de 5-(dimetilamino)naftaleno-1-sulfonilo, ou Cloreto de Dansil (Dansyl Chloride - DsCl), usado como precursor dos pontos de carbono no presente trabalho, foi comprado da Sigma-Aldrich e utilizado como fornecido. A síntese seguiu o esquema mostrado na figura 3.2 ; em um processo hidrotérmal (*bottom-up*), 10 mg (0,032 mol) de DsCl foi adicionado em 10 mL de água e a mistura foi acondicionada em um reator de Teflon[®] a 200°C por 4 horas. A solução resultante foi centrifugada a 1300 rpm por 10 minutos e filtrada por uma membrana de 0,22 μ m. A Fig.3.2 (b, c e d, respectivamente) mostra a solução sob iluminação ambiente, excitação de lâmpada UV em 365nm e laser em 488nm. Essa foi a solução estoque, identificada a partir daqui como PC-DsCl, armazenada a 4°C para as devidas análises.

Figura 3.2: (a) Esquema do processo de síntese das nanoestruturas de carbono a partir do Cloreto de Dansil. Amostra de PC-DsCl (b) em luz ambiente, (c) sob incidência de luz UV (lâmpada) com centro em 365nm e (d) sob irradiação de laser em 488 nm.

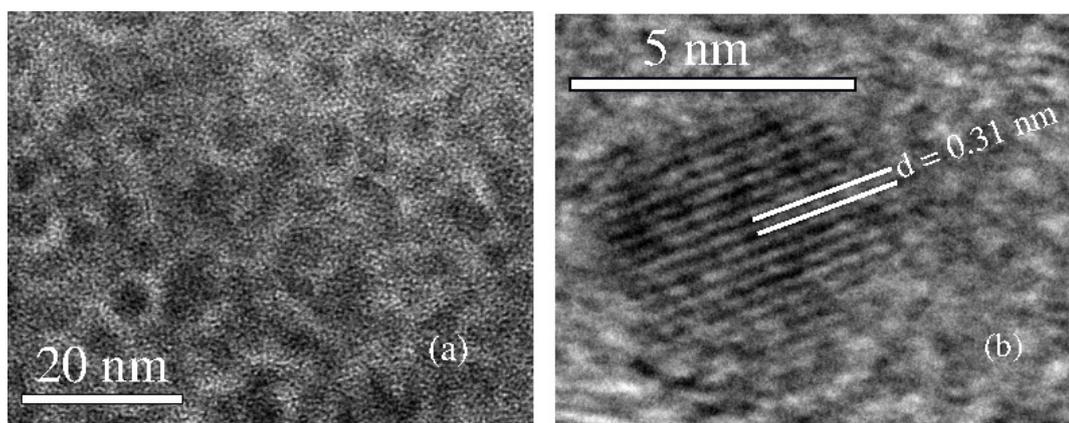


Fonte: Fornecido pela professora Cintya Barbosa, 2020.

3.3 Caracterização

Para determinar o tamanho e morfologia dos pontos de carbono derivados de cloreto de dansil (PC-DsCl), foi realizada Microscopia Eletrônica por Transmissão (*Transmission Electronic Microscopy* - TEM) utilizando um JEM-2100 (JEOL, Tokio, Japão). Para isso, a amostra de PC-DsCl, retirada da solução estoque, foi diluída em 200 vezes e submetida a banho ultrassom por 15 minutos. Em seguida, a solução foi depositada em uma grade de cobre revestida com malha 400 de carbono (Ted Pella Inc., Redding, CA, USA) e deixada para secar naturalmente. As imagens de TEM e TEM de alta resolução (HR-TEM) são mostradas na Fig.3.3 revelando a estrutura cristalina e a monodispersão dos PCs. É possível identificar o seu espaçamento de rede de aproximadamente 0,31 nm, correspondente ao plano $\langle 002 \rangle$ do núcleo grafítico, o que aponta para a formação de domínios π de sistemas conjugados associados à formação de orbitais híbridos sp^2 . Na imagem, pode-se observar o formato quase esférico dos PC-DsCl, com tamanho que varia entre 2 e 6 nm.

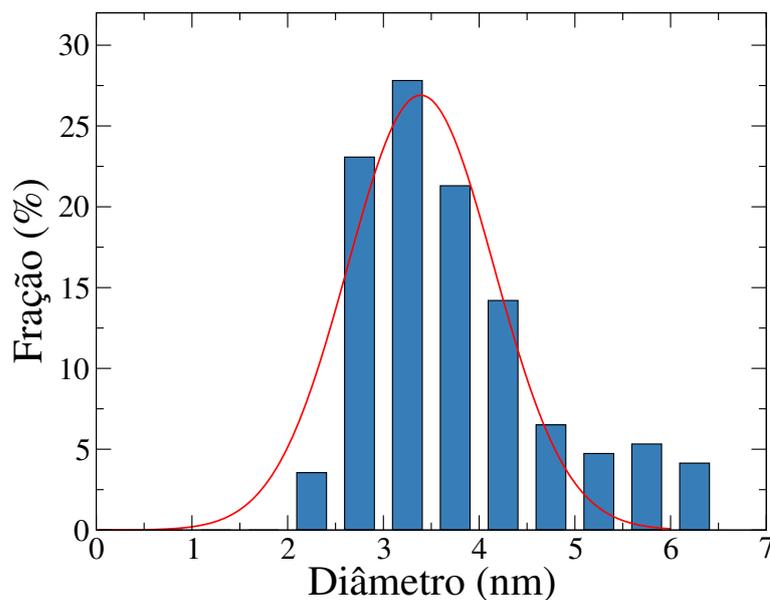
Figura 3.3: (a) Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão mostrando a estrutura cristalina dos PCs-DsCl. (b) HR-TEM das amostras revelando a estrutura paracristalina



Fonte: Fornecido pela professora Cintya Barbosa, 2020.

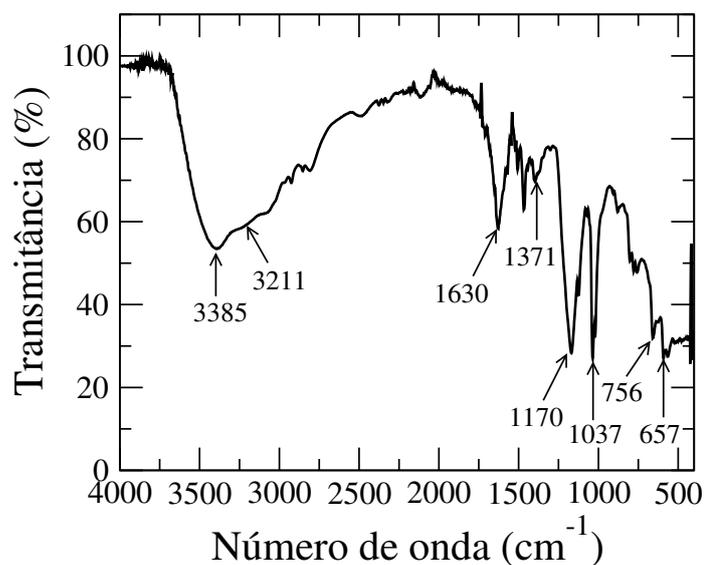
A figura 3.4 mostra a fração de distribuição de tamanho dessas nanopartículas com tamanho médio de 3 nm, o que está dentro dos valores típicos para tamanho de CDs encontrados na literatura (10 nm).

A análise dos grupos funcionais foi realizada através de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada (*attenuated total reflectance Fourier transformed infrared spectroscopy* - ATR-FTIR). A solução estoque foi aquecida até total evaporação da água ($100^{\circ}C$) e então as nanopartículas foram suspensas em 0,5 mL de acetona. Em seguida, essa solução foi cuidadosamente depositada no cristal de Seleneto de Zinco (ZnSe) usado para assegurar a reflexão total do feixe infravermelho incidente na amostra. Essas medidas foram realizadas em um espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige-21 operando entre 4000 e 400 cm^{-1} , com resolução espectral de 4

Figura 3.4: Distribuição de tamanho dos pontos de carbono derivados de Cloreto de Dansil.

Fonte: Autor, 2020.

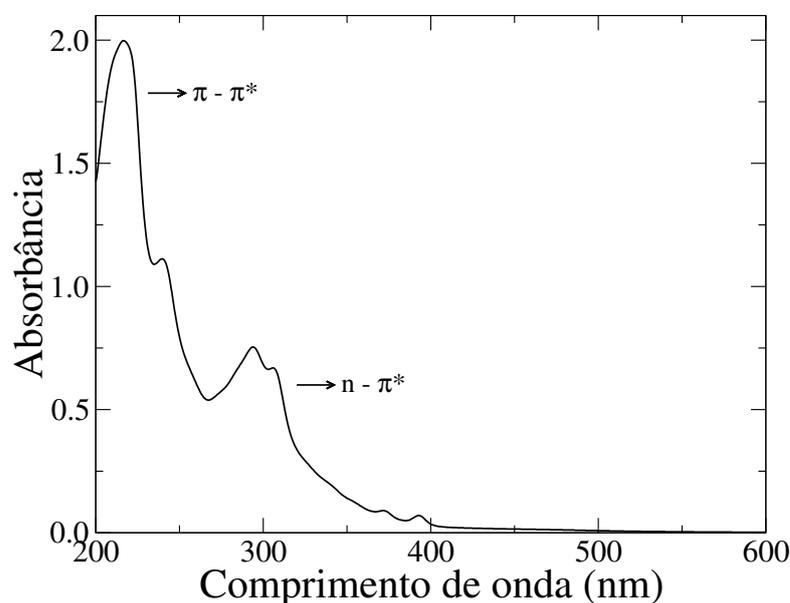
cm^{-1} e 70 varreduras. O espectro de ATR-FTIR (Fig. 3.5) revela as bandas características do alongamento nas ligações O-H e N-H, além das vibrações simétricas e anti-simétricas da ligação C-H (2966 cm^{-1} e 2800 cm^{-1}), do grupo funcional SO_2 (1371 cm^{-1} e 1170 cm^{-1}), os picos associados às ligações duplas C=O (1630 cm^{-1}) e S=O (1037 cm^{-1}). Cadeias alifáticas também foram observadas com picos associados às vibrações de S-O (657 cm^{-1}) e C-S (756 cm^{-1}). A incorporação dos heteroátomos N e S foram verificadas como esperado para estruturas derivadas de DsCl.

Figura 3.5: Espectro FTIR dos PCs-DsCl

Fonte: Fornecido pela professora Cintya Barbosa, 2020.

As medidas de absorção na faixa UV-vis do espectro foram realizadas via espectrofotômetro UV-vis-NIR Shimadzu UV-3600 no intervalo de 200 nm a 600 nm com a solução diluída em 100 vezes. Como pode ser evidenciado na figura 3.6, a nanoestrutura apresenta um pico em 218 nm, associado à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ no núcleo grafítico. Um segundo pico mais fraco em 295 nm, associado à transição $n \rightarrow \pi^*$ dos elétrons não ligantes nos heteroátomos presentes nas bordas dos domínios sp^2 , também pode ser observado. O espectro se estende até a região do visível em uma longa calda, como é comum a pontos de carbono, com picos bem mais fracos entre 320 nm e 550 nm referentes à estados de superfície.

Figura 3.6: Espectro de absorção dos pontos de carbono derivados do Cloreto de Dansil.



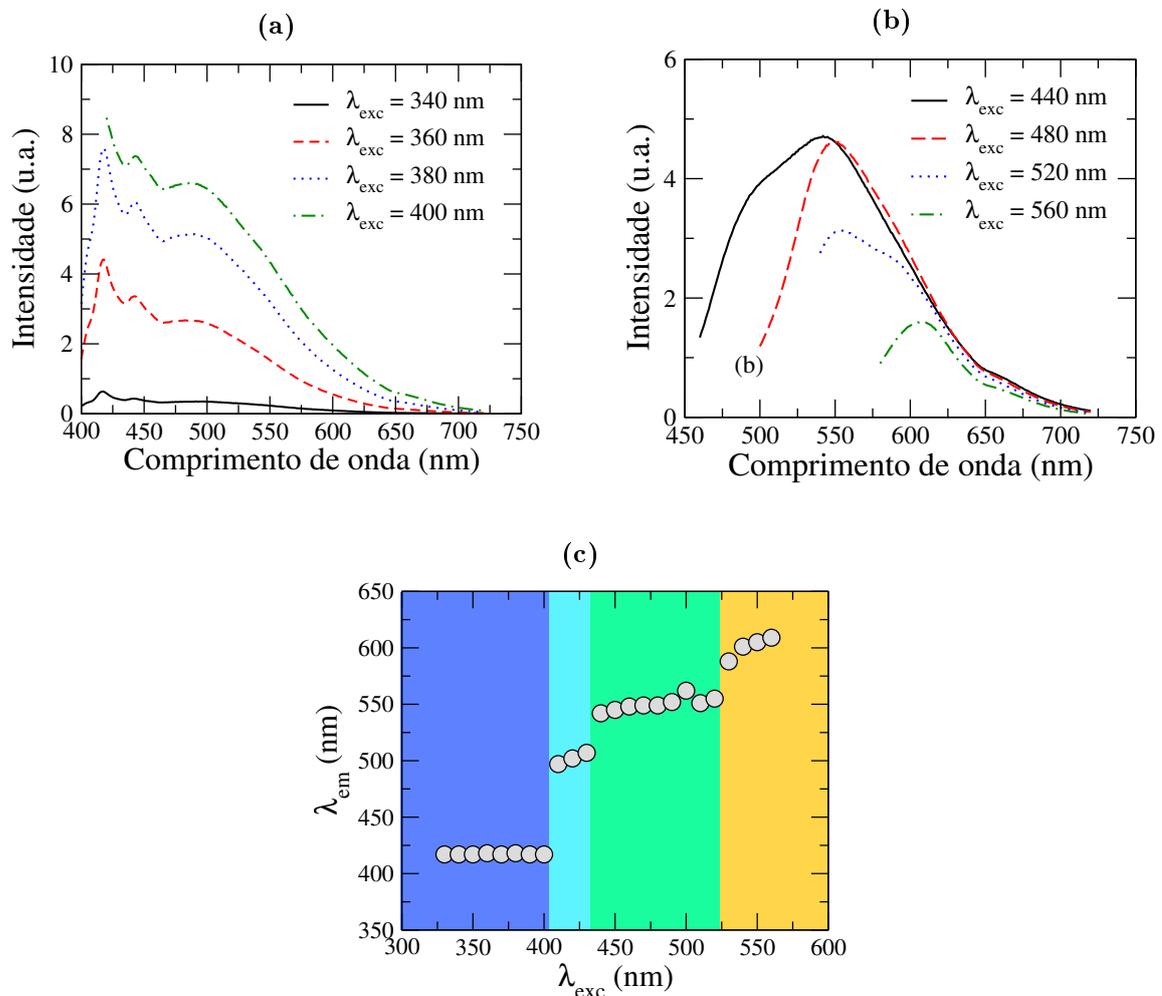
Fonte: Fornecido pela professora Cintya Barbosa, 2020.

A emissão do PC-DsCl foi investigada com o auxílio de um espectrofluorômetro FluoroLog[®] - 3 (CW 450W) e uma fotomultiplicadora (modelo R928P) no intervalo de 400 nm a 675 nm. Com o intuito de averiguar a dependência da emissão com o comprimento de onda de excitação, λ_{exc} a amostra foi irradiada no intervalo de 330 nm até 560 nm. Foram identificados dois regimes de fluorescência. No primeiro (Fig. 3.7a), com excitação de 340 nm a 400 nm, foi observado o aparecimento de três picos de intensidade em 418 nm, 440 nm e 497 nm em um espectro largo que se estende por quase toda a região do visível. Note que, apesar da amostra possuir um amplo espectro de absorção que enfraquece à medida que o comprimento de onda aumenta, a intensidade de fluorescência é maior para comprimentos de onda de excitação maiores, mas sem deslocamento horizontal.

No segundo regime de excitação, foi identificada a fluorescência dependente da excitação com um deslocamento para o vermelho do pico de emissão. Além disso, para excitação acima de 440 nm, o comportamento da banda de emissão é oposto ao visto anteriormente

com diminuição da intensidade, uma tendência que se torna bastante evidente a partir da excitação em 500 nm; tal comportamento se deve ao fato de que os comprimentos de onda de excitação cada vez maiores estão em uma região de baixa absorção da nanopartícula. Frente a um comportamento tão heterogêneo, foi avaliada a dependência da posição do pico de emissão com o comprimento de onda de excitação, λ_{exc} . A figura 3.7c mostra um gráfico dividido em quatro regiões distintas que identificam os diferentes centros de luminescência do PC-DsCl. Para excitação com $\lambda_{exc} < 400$ nm, a posição do pico se mantém constante, o que confirma os espectros mostrados na figura 3.7a. Entretanto, para $\lambda_{exc} > 400$ nm, são identificados três diferentes perfis de deslocamento para o vermelho, o que aponta para defeitos de superfície com diferentes energias de armadilhas de excitons, como resultado da presença de nitrogênio e enxofre.

Figura 3.7: Espectros de emissão do PC-DsCl para excitação nos intervalos (a) 340 nm a 400 nm e (b) 440 a 560nm. (c) Relação entre a posição dos picos de emissão e os comprimentos de onda de excitação.



Fonte: Fornecido pela professora Cintya Barbosa, 2020.

Nas seções seguintes serão apresentados os protocolos de trabalho para a investigação

térmica do material, assim como o estudo acerca da sua capacidade em produzir oxigênio reativo.

3.4 Análise térmica

A resposta térmica da fotoluminescência das amostras de CD-DsCl foi analisada via espectros de emissão com o auxílio de um espectrômetro UV-VIS (*USB2000*, Ocean Optics). As soluções de PC-DsCl foram irradiadas usando um laser de nitrogênio pulsado (MNL-103 PD LTB Lasertechnik Berlin) com comprimento de onda em 337 nm e largura de pulso de 3,0 ns. A taxa de repetição foi fixada em 30 Hz. As amostras foram colocadas em um forno com temperatura controlada e precisão de 0,1°C; a temperatura da amostra era variada em passos de 1,0°C, a uma taxa de 0,5°C/min. A análise dos efeitos térmicos restringiu-se à faixa de temperatura de sistemas biológicos (20°C - 60°C). Um período de 5 minutos de termalização foi fixado previamente a cada coleta de dados para garantir que o sistema tivesse atingido a configuração de equilíbrio.

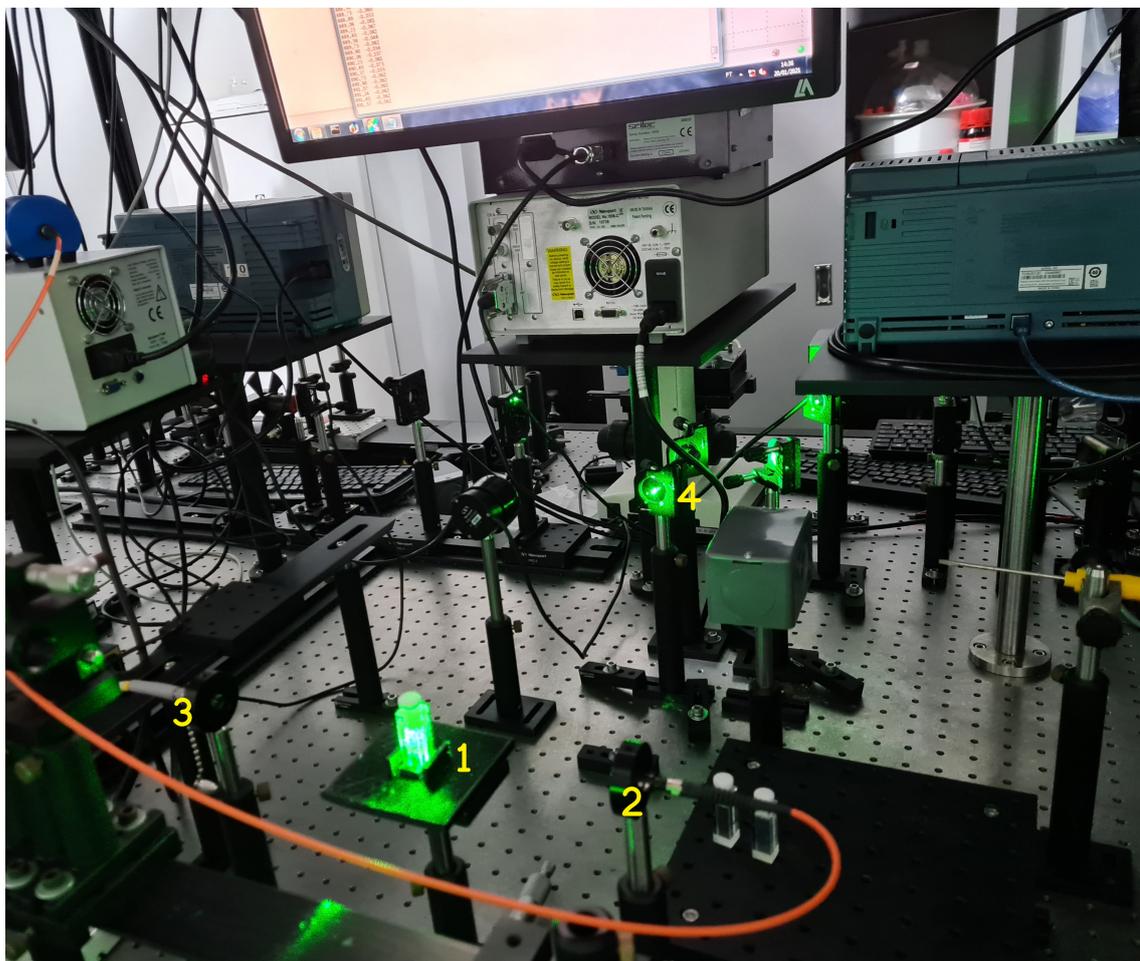
3.5 Geração de Oxigênio Singleto

A fotogeração de espécies reativas de oxigênio por PC-DsCl foi investigada usando 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) como agente de captura de oxigênio singleto. O DPBF foi adquirido da Sigma-Aldrich, sendo usado sem purificação adicional. Em um procedimento típico, uma solução estoque de DPBF em etanol (*EtOH* - 0,1 mM) foi diluída em água a 50/50 (v / v). Para a medição do rendimento quântico de geração de oxigênio singleto pelas amostras de CD-DsCl, o corante Azul de metileno (AM) foi utilizado como fluoróforo referência com solução estoque em 0,01 mM. As soluções de trabalho foram produzidas a partir da mistura de 1.4 mL de DPBF (solução estoque diluída em água a 50/50 (v / v)) e 100µL de PC-DsCl ou AM e foram irradiadas por laser de estado sólido CW bombeado com diodo com polarização linear a $\lambda = 532$ nm. O feixe do laser foi expandido por meio de lente convergente com comprimento focal de 5 cm, proporcionando assim uma irradiação homogênea da cubeta posicionada a uma distância de 40 cm da lente. Os espectros de absorção foram adquiridos usando um espectrômetro UV-VIS (*USB2000*, Ocean Optics) e fonte de luz halógena (*HL 2000*, Ocean Optics).

As soluções de trabalho foram acondicionadas em uma cubeta com duas faces foscas que foi posicionada no aparato sob incidência constante de radiação laser com as potências 20, 40, 60, 80 e 100 mW (e as respectivas intensidades em 3.2, 6.5, 9.7, 13 e 16.2 mW/cm²) por 10 minutos. A aquisição de dados de absorção foi realizada via espectrômetro (Ocean Optics, *USB4000 – UV – VIS*) com o auxílio de uma fibra de coleta (*QP230 – 1 – XSR*, Ocean Optics), com diâmetro de 235 micrômetros. A amostra foi iluminada por uma fonte luz branca (*HL 2000*, Ocean Optics) apenas no momento da coleta do espectro de

absorção, que aconteceu a intervalos regulares de tempo; nos primeiros 3 minutos, a coleta foi realizada a cada 30 segundos e em seguida, a cada 1 minuto (Fig. 3.8).

Figura 3.8: Aparato experimental para as medidas de rendimento quântico de geração de oxigênio singleto pelas amostras de PC-DsCl. A cubeta (1) com uma das faces foscas voltadas para o feixe que atravessa a lente convergente (4) é irradiado por luz branca via fibra de incidência (2) e a luz que atravessa a amostra chega até a fibra de coleta (3), acoplada a um espectrômetro (não mostrado na imagem)



Fonte: Autor, 2020.

Nas soluções contendo o DPBF e o fotossensibilizador (PC-DsCl ou AM), a luz irradiada é absorvida pelo fotossensibilizador que induz a formação de oxigênio singleto no substrato. Na presença do oxigênio singleto, o DPBF sofre um processo irreversível de oxidação que é observado a partir da degradação na sua banda de absorção. Os fotossensibilizadores, no entanto, não sofrem degradação. O uso do Azul de metileno foi necessário porque seu valor de rendimento quântico de geração de oxigênio singleto é conhecido. Dessa forma, as medidas realizadas que promoveram a degradação do DPBF em decorrência do oxigênio singleto produzido pelo PC-DsCl quando sob iluminação, também foram realizadas para o Azul de metileno, com os mesmos parâmetros, e os resultados foram comparados. O cálculo do rendimento quântico de geração de 1O_2 pelo PC-DsCl foi executado usando a seguinte equação

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{AM} \cdot \left[\frac{(k_{PC} - k_{PC}^0) \cdot F_{MB}}{k_{AM} \cdot F_{PC}} \right] \quad (3.1)$$

onde Φ_{Δ} é o rendimento do PC-DsCl, $\Phi_{AM} = 57\%$ é o rendimento do Azul de metileno, k_{PC} e k_{PC}^0 são as taxas de decomposição do DPBF na presença de PC-DsCl sob iluminação e no escuro, respectivamente, e $F = 1 - 10^{-A}$ é o fator de correção da absorbância.

RESULTADOS

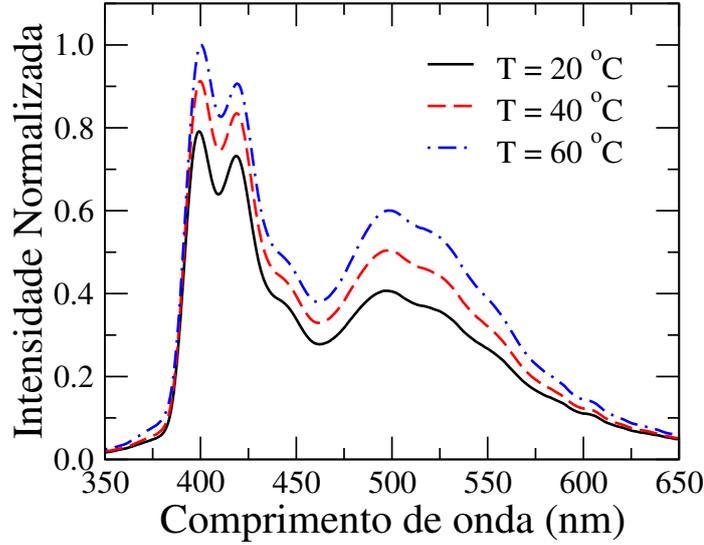
O presente estudo foi desenvolvido com o intuito de investigar os efeitos térmicos na fotoluminescência de pontos de carbono co-dopados com nitrogênio e enxofre e as suas propriedades ópticas na geração de oxigênio singleto. Usando Cloreto de dansil (DsCl) como um novo precursor na síntese hidrotérmica de nanopartículas, obtivemos PCs com uma emissão de banda múltipla que se estende por quase todo o espectro visível, como foi exposto no capítulo 3. O comportamento do material quando sob variação térmica foi estudado com o intuito de propor seu uso como sensor térmico ratiométrico, enquanto que a capacidade de geração de oxigênio singleto, principal características de fármacos usados em Terapia fotodinâmica, foi quantificada em um regime de baixa potência. As análises dos resultados serão apresentadas nas duas seções seguintes.

4.1 Efeitos de variação térmica nos pontos de carbono

A sensibilidade dos pontos de carbono à variações no seu entorno é uma característica bastante reportada na literatura. Em especial, a sensibilidade à temperatura já foi observada em diversas estruturas de PCs, com muitos trabalhos indicando uma supressão na intensidade de emissão das nanopartículas com o aumento da temperatura [50, 89, 57, 90]. No presente trabalho, foi estudado o comportamento da amostra quando submetida à variação térmica, analisando a resposta do espectro de fluorescência sob excitação em $\lambda_{exc} = 337$ nm. Trabalhando dentro da janela térmica biológica, 20°C - 60°C, foi observado um crescimento na intensidade de todo o espectro de emissão com o aumento da temperatura da amostra, Fig. 4.1.

Na maioria dos pontos de carbono, os defeitos de superfície que funcionam como armadilhas de excitons são modificados com o aumento da temperatura. Essa modificação induz a formação de defeitos não radiativos que acabam por suprimir a recombinação elétron-buraco na superfície, levando à atenuação da intensidade de fluorescência. Entretanto, o que foi observado no presente resultado aponta para um outro efeito que induz a um comportamento oposto. O acoplamento spin-órbita nas ligações covalentes de $C = O$ e $C = N$ facilita a transição eletrônica via cruzamento intersistema entre os estados singleto e tripleto de menor energia. No entanto, em sistemas que apresentam diferenças de energia significativamente baixas entre esses dois estados, é comum observar o efeito de cruzamento intersistema reverso (*Reverse Intersystem Crossing* - RISC). No RISC, os

Figura 4.1: Curvas de fluorescência do PC-DsCl para diferentes temperaturas: $T = 20^\circ\text{C}$ (linha preta sólida), $T = 40^\circ\text{C}$ (linha vermelha tracejada) e $T = 60^\circ\text{C}$ (linha azul de traço e ponto)



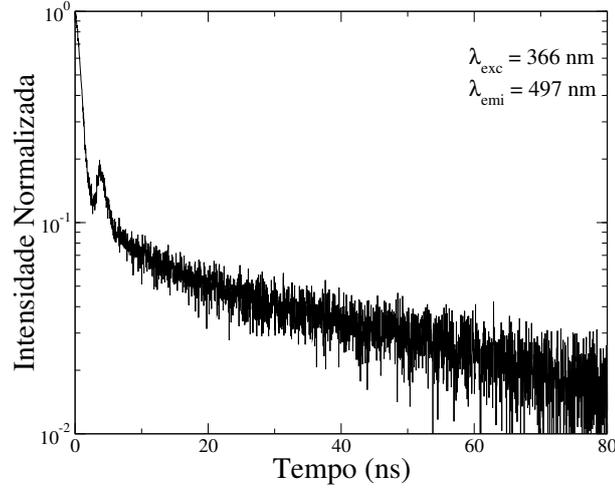
Fonte: Autor, 2020.

elétrons acomodados no estado tripleto, voltam para o estado singleto no lugar de decair para o estado fundamental, e isso promove um aumento na eficiência de fluorescência. O fenômeno conhecido como fluorescência atrasada termicamente ativada (*Thermally Activated Delayed Fluorescence* - TADF) é resultado desse cruzamento reverso e promoveu o aumento da intensidade de fluorescência na amostra de trabalho. A figura 4.2 mostra os resultados da medida de tempo de vida do PC-DsCl para excitação em 366nm e emissão em 497nm; essa medida exibe a depopulação do estado excitado singleto do PC-DsCl na forma de fluorescência (não considera a desativação não radiativa). Pode-se observar uma queda inicial nos primeiros nanosegundos, seguido de um aumento na população para, finalmente, ocorrer um decrescimento bem mais prolongado. Esse resultado mostra a repopulação do estado excitado singleto via RISC, induzindo um processo de fluorescência atrasada.

É possível estimar o comportamento da TADF através de uma relação entre o rendimento quântico da amostra em diferentes temperaturas. Se escrevermos o rendimento quântico de população do estado singleto a partir do tripleto, $\Phi_S(T)$, como [84]

$$\Phi_S(T) = \frac{k_{RISC}(T)}{k_P(T) + k_{nr}(T) + k_{RISC}(T)} \quad (4.1)$$

onde $k_{RISC}(T)$ é a taxa de transferência de elétrons por RISC (Cruzamento intersistema reverso), $k_P(T)$ é a taxa de fosforescência, $k_{nr}(T)$ é a taxa de desativação não radiativa e T é a temperatura, então, considerando a temperatura de referência $T_0 = 20^\circ\text{C}$, obtemos

Figura 4.2: Tempo de vida do estado excitado singleto na amostra de PC-DsCl

Fonte: Autor, 2021.

$$\begin{aligned}
\frac{\Phi_S(T)}{\Phi_S(T_0)} &= \frac{k_{RISC}(T)}{k_{RISC}(T_0)} \cdot \left[\frac{k_P(T_0) + k_{nr}(T_0) + k_{RISC}(T_0)}{k_P(T) + k_{nr}(T) + k_{RISC}(T)} \right] \\
&= \frac{k_{RISC}(T)}{k_{RISC}(T_0)} \cdot \frac{k_{nr}(T_0)}{k_{nr}(T)} \cdot \left[\frac{1 + \frac{k_{RISC}(T_0)}{k_{nr}(T_0)}}{1 + \frac{k_{RISC}(T)}{k_{nr}(T)}} \right] \\
&= \frac{k_{RISC}(T)}{k_{RISC}(T_0)}
\end{aligned} \tag{4.2}$$

Na equação 4.2, as taxas referentes à fosforescência vão a zero porque o seu tempo de vida é muito maior que o tempo de vida dos demais processos de desativação e o intervalo de energia entre os estados excitados singleto e tripleto é muito menor que o intervalo entre o estado tripleto e o estado singleto fundamental (condição necessária para que ocorra TADF). Além disso, para valores baixos de rendimento quântico, a razão $k_{nr}(T_0)/k_{nr}(T)$ se aproxima da unidade e $k_{RISC}(T)/k_{nr}(T)$ tende a zero para todas as temperaturas no regime adotado. Considerando que o RISC é um processo termicamente ativado, podemos escrever a sua taxa de transferência como uma equação de Arrhenius da forma

$$k_{RISC} = A \exp\left(-\frac{\Delta E_{ST}}{k_B T}\right) \tag{4.3}$$

onde ΔE_{ST} é a energia de ativação correspondente ao intervalo entre os estados singleto e tripleto excitados e k_B é a constante de Boltzmann. A constante A depende da densidade de estados dos níveis vibracionais envolvidos na transferência eletrônica entre os estados S_0 e T_0 (a taxa do cruzamento intersistema) e pode apresentar uma fraca

dependência térmica, mas que se torna insignificante em comparação à dependência da parte exponencial. Substituindo a equação 4.3 na equação 4.2 e aplicando a função $\ln(x)$, obtemos

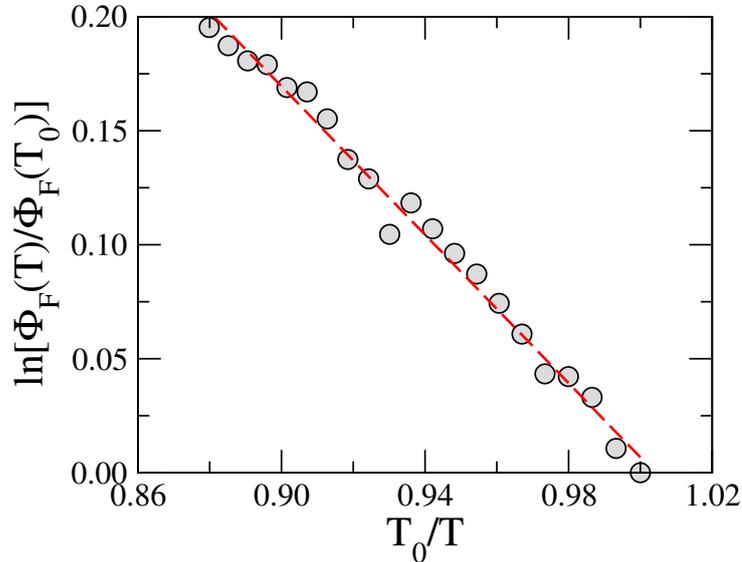
$$\ln\left(\frac{\Phi_S(T)}{\Phi_S(T_0)}\right) = \frac{\Delta E_{ST}}{k_B} \cdot \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T}\right) \quad (4.4)$$

A partir da equação 4.4 podemos calcular o valor de ΔE_{ST} se usarmos a relação do rendimento quântico com a intensidade de fluorescência do material [91].

$$I_{max}(T) = \gamma \cdot c \cdot I_{exc} \cdot \Phi_S(T) \quad (4.5)$$

onde γ é uma constante associada ao aparato de detecção, c é a concentração de fluoróforos e I_{exc} é a intensidade da excitação. Dessa relação obtemos a igualdade $\frac{I_{max}(T)}{I_{max}(T_0)} = \frac{\Phi_S(T)}{\Phi_S(T_0)}$, onde I_{max} é a intensidade dos picos de emissão do PC-DsCl referente a cada temperatura trabalhada. Com esses resultados, foi mostrado o ajuste teórico, usando a equação 4.4, para a dependência do rendimento quântico com a temperatura no gráfico da figura 4.3; o valor de 41 meV foi estimado para a energia de ativação ΔE_{ST} , o que está dentro do limite de 100 meV para que seja possível ocorrer RISC.

Figura 4.3: Dependência térmica do rendimento quântico do PC-DsCl. A linha tracejada é a regressão linear obtida através da equação 4.4

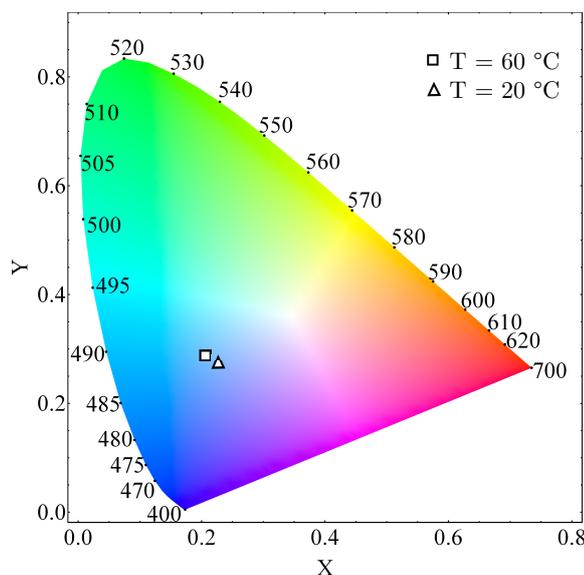


Fonte: Autor, 2020.

O efeito térmico no PC-DsCl não teve influência no formato da banda de emissão, nem tampouco provocou deslocamento horizontal da banda, como pode ser evidenciado na figura 4.1. Para confirmar esse comportamento, foi utilizado um diagrama de cromaticidade CIE 1931 para averiguar a localização do pico do espectro de acordo com a cor associada ao comprimento de onda. O diagrama de cromaticidade CIE 1931 foi criado

em 1931 como resultado de experimentos executados por William David Wrigh e John Guild na década anterior. Eles tiveram como objetivo, determinar uma associação entre os comprimentos de onda do espectro visível com a percepção fisiológica de cor pelo olho humano. O diagrama foi construído baseado na percepção de cor dos três tipos de células cone do sistema óptico humano, sensível a três regiões distintas do espectro visível [92]. Na figura 4.4, pode-se constatar que existe uma pequena mudança de coordenadas com o aumento da temperatura, mas nada significativamente pronunciado.

Figura 4.4: Diagrama de cromaticidade CIE 1931 para a emissão dos PCs-DsCl para as temperaturas de $T = 20^\circ\text{C}$ e $T = 60^\circ\text{C}$.



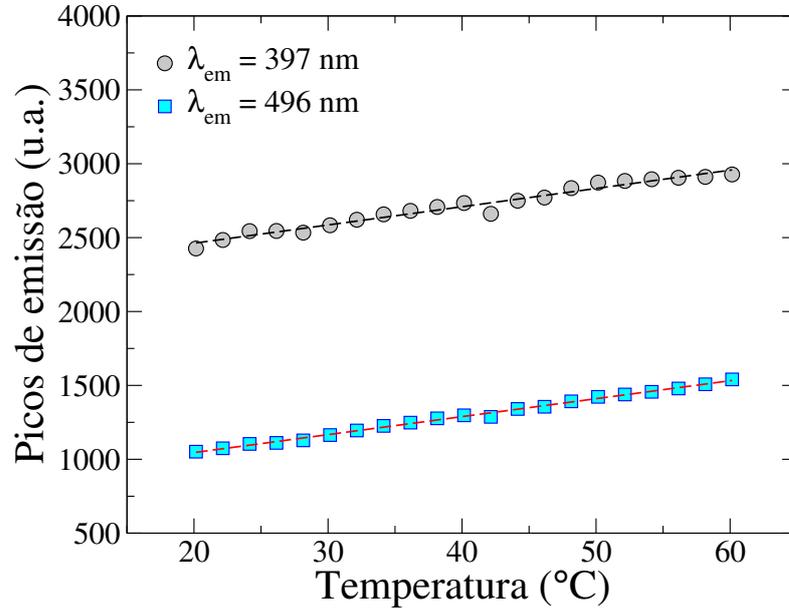
Fonte: Autor, 2020.

Esses resultados são um excelente indicativo da homogeneidade da resposta térmica do PC-DsCl, atestado tanto pela relação linear entre o rendimento quântico e a variação de temperatura, como pelo aumento da intensidade nos múltiplos picos de fluorescência. Diante disso, a investigação para uma possível aplicação do PC-DsCl como sensor térmico foi executada. Para tanto, foi avaliada a dependência térmica de dois picos de intensidade de fluorescência em regiões distintas do espectro, $\lambda_1 = 397 \text{ nm}$ e $\lambda_2 = 496 \text{ nm}$. Como mostra a figura 4.5, a dependência térmica é linear.

A similaridade na dependência linear desses dois picos com a temperatura aponta para um comportamento uniforme de todo o espectro como resposta à variação térmica. O ajuste teórico nos dois conjuntos de pontos mostrados na figura 4.5, através de uma regressão linear, permitiu escrever o comportamento da intensidade de emissão como uma função do comprimento de onda e da temperatura da amostra. Com um coeficiente de correlação de $R^2 = 0,988$, essa função é dada por 4.6.

$$I(\lambda, T) = I_0(\lambda) + \frac{T - T_0}{12.2^\circ\text{C}} \quad (4.6)$$

Figura 4.5: Dependência térmica de dois dos picos de intensidade de emissão, λ_{397} (círculos cinzas) e λ_{496} (quadrados azuis). As linhas tracejadas foram produzidas com o auxílio da equação 4.6.



Fonte: Autor, 2020.

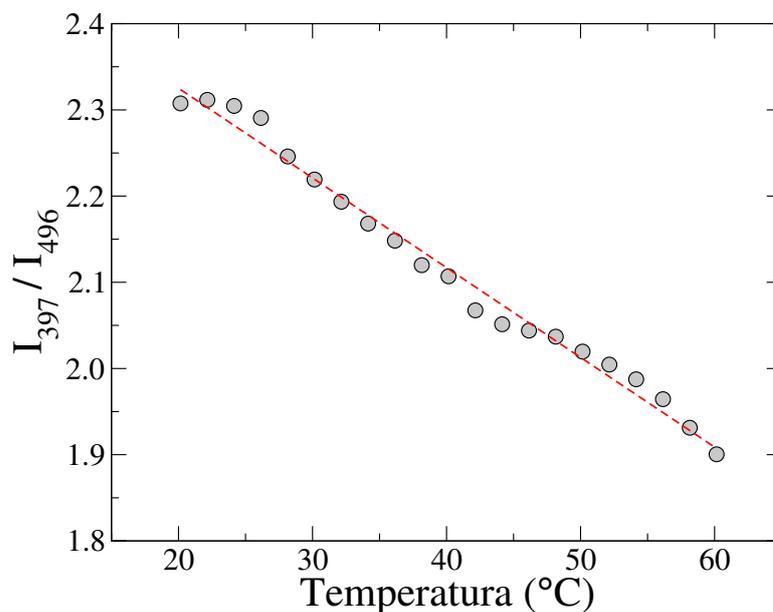
onde $I_0(\lambda)$ é a intensidade de emissão para o λ desejado à temperatura de referência $T = 20^\circ\text{C}$. Usando a equação 4.6, podemos definir uma nova variável, $\alpha = \frac{I_{397}}{I_{496}}$, como a razão entre os dois máximos de emissão. A análise da dependência térmica do PC-DsCl através do comportamento de α permite que a proposta para o seu uso como sensor térmico ratiométrico possa ser desenvolvida. Na figura 4.6, é observado que α decai com o aumento da temperatura em um comportamento linear que pode ser ajustado por uma regressão linear com coeficiente dado por $R^2 = 0.998$.

Como consequência desse comportamento, a sensibilidade térmica do material foi analisada usando as equações 4.7 e 4.8 para as sensibilidades térmicas absoluta e relativa, respectivamente. A sensibilidade térmica absoluta, no intervalo de temperaturas escolhido, é constante e tem valor de $1,04\%^\circ\text{C}^{-1}$. No gráfico da figura 4.7, podemos constatar que a sensibilidade relativa aumenta com o aumento da temperatura.

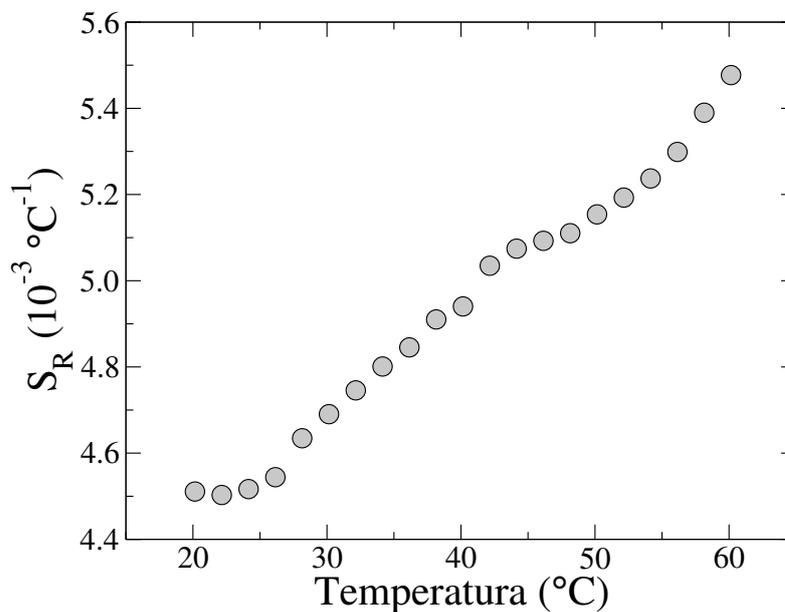
$$S_A = \left| \frac{\partial}{\partial T}(\alpha) \right| \quad (4.7)$$

$$S_R = \left| \frac{\partial}{\partial T} \ln(\alpha) \right| \quad (4.8)$$

Enquanto sensor térmico, é imprescindível que as propriedades e estrutura do material não sejam irreversivelmente modificadas com o aumento da temperatura, ou seja, que ele recupere suas características quando as condições iniciais forem atingidas. Assim, medidas foram executadas para avaliar a estabilidade do PC-DsCl em sucessivos processos de aquecimento e resfriamento. Cada ciclo começou com a amostra estável em 20°C , seguido

Figura 4.6: $\frac{I_{397}}{I_{496}}$ variando em função da temperatura.

Fonte: Autor, 2020.

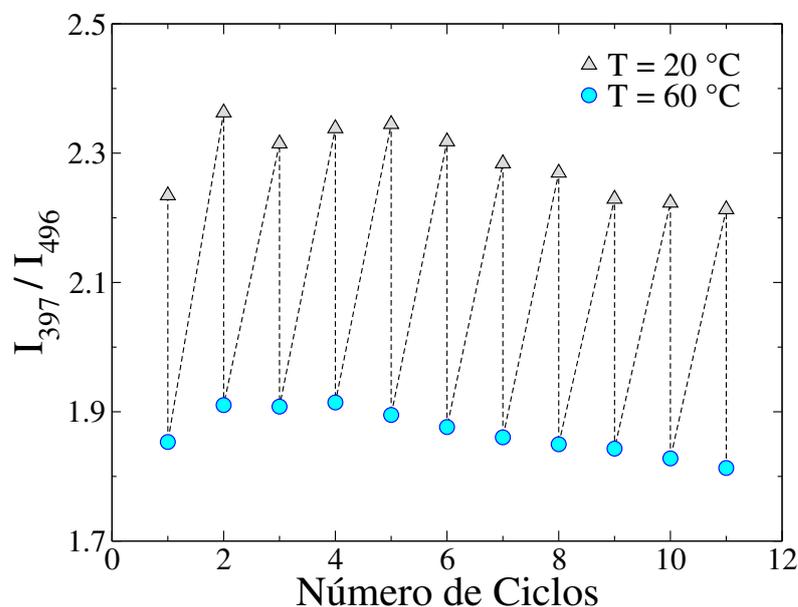
Figura 4.7: Sensibilidade térmica Relativa dos PCs-DsCl no intervalo 20°C - 60°C

Fonte: Autor, 2020.

de aquecimento até 60°C, e se repetiu ininterruptamente onze vezes. Em outras palavras, a amostra foi aquecida e resfriada continuamente dentro desse intervalo térmico e a sua estabilidade foi investigada através dos espectros de fluorescência em cada temperatura. É importante ressaltar que, para cada ciclo, um período de termalização foi estabelecido para que toda a amostra estivesse na dada temperatura quando o espectro de fluorescência fosse colhido. Na Fig.4.8 é exibido α como uma função do número de ciclos. A reversibilidade

e estabilidade de α mostrada na figura 4.8 é um bom indicador da aplicação do PC-DsCl como sensor térmico ratiométrico.

Figura 4.8: Variação da razão $\frac{I_{397}}{I_{496}}$ com a temperatura no intervalo de 20°C a 60°C em processos contínuos de aquecimento e resfriamento.



Fonte: Autor, 2020.

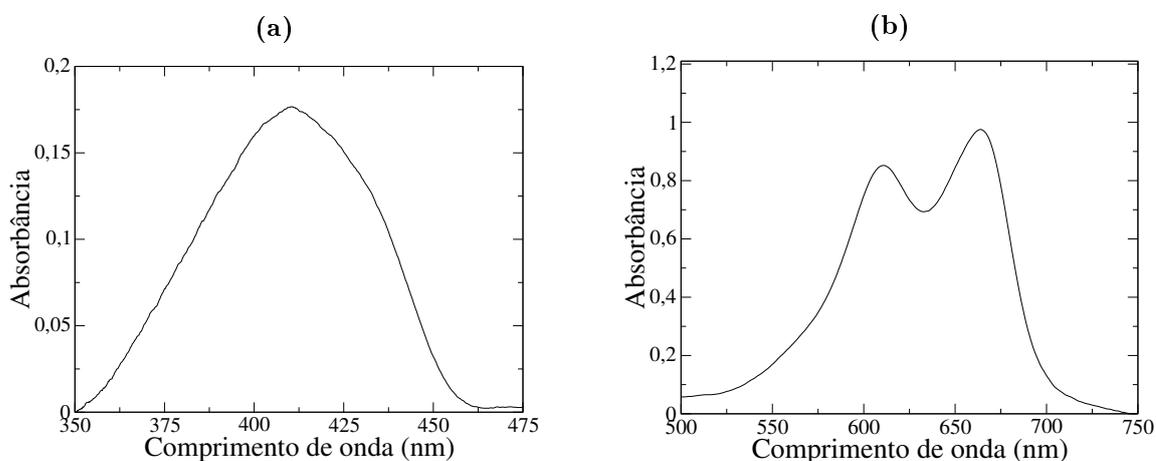
4.2 Fotoatividade do PC-DsCl e geração de ROS

Os resultados obtidos com as medidas de efeito térmico em PC-DsCl e a evidente população de estados tripleto nos motivaram a investigar a possibilidade de geração de oxigênio singleto pelas nanopartículas. Na literatura, é reportado a produção de pontos de carbono com propriedades fotoativas que permitem a sua interação com oxigênio molecular e subsequente produção de oxigênio singleto. Algumas aplicações foram exibidas no capítulo 1 e, apesar dessas estruturas não contarem, naturalmente, com altos valores de rendimento quântico de geração de $^1\text{O}_2$, em comparação à corantes largamente utilizados, essa propriedade pode ser bastante explorada. Modificações superficiais costumam aumentar significativamente o rendimento quântico de PCs, algumas vezes para valores maiores que os corantes tradicionais.

Com a intenção de investigar o rendimento quântico para a geração de oxigênio singleto do PC-DsCl, o Azul de Metileno (AM) foi usado como fármaco referência, e o 1,3 – *Difenilisobenzofurano* (DPBF), como sinalizador de $^1\text{O}_2$; seus espectros de absorção são mostrados na figura 4.9. O DPBF é um composto fluorescente com banda de emissão na região do azul e é utilizado, dentre outras coisas, como sinalizador de oxigênio singleto. Sua reação com a espécie reativa de oxigênio produz 1,2-dibenzoilbenzeno em um processo

de oxidação irreversível que pode ser quantificado através do seu espectro de absorção [93]. O Azul de metileno é um fármaco com propriedades fotodinâmicas bastante conhecidas na literatura. É comumente utilizado como fotossensibilizador em Terapia Fotodinâmica e Inativação Fotodinâmica e apresenta um rendimento quântico de geração de oxigênio singlete $\Phi = 57\%$ [94]. Seu espectro de absorção tem dois picos por volta de 600 nm e 660 nm, mas a banda se estende pelo intervalo do verde, de maneira que existe absorção no comprimento de onda de excitação utilizado. No presente trabalho, foi utilizado um laser de diodo em $\lambda_{exc} = 532$ nm como fonte de excitação e a degradação do DPBF foi monitorada observando o seu pico de absorção em 415 nm.

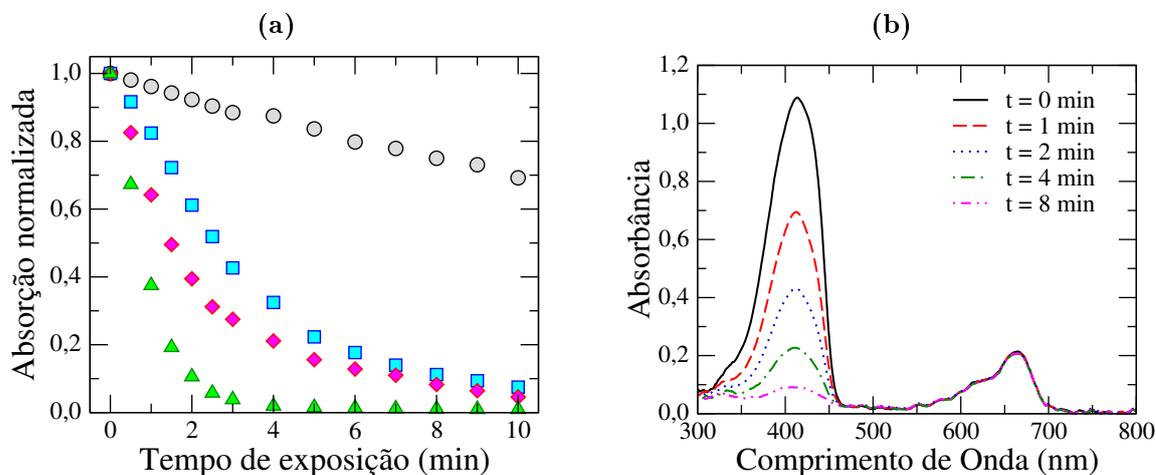
Figura 4.9: Espectros de absorção do (a) DPBF e do (b) Azul de metileno.



Fonte: Autor, 2021.

A determinação do rendimento quântico de geração de 1O_2 pelos PCs-DsCl (Φ_{Δ}) foi realizada através da quantificação da degradação do DPBF quando na presença de oxigênio singlete. Para os dois fotossensibilizadores utilizados, o PC-DsCl e o AM, os procedimentos foram idênticos, de maneira que foi possível comparar seus resultados e calcular Φ_{Δ} , como mostrado mais adiante. Inicialmente, uma solução com DPBF e Azul de metileno foi submetida a irradiação contínua por 10 minutos de luz laser com $\lambda_{exc} = 532$ nm e o seu espectro de absorção foi monitorado com coletas a cada 30s nos primeiros 3 minutos e a cada 1 minuto no tempo restante. Com essas aquisições periódicas do espectro, foi possível quantificar a degradação do DPBF em decorrência do oxigênio singlete gerado pelo Azul de metileno a partir das taxas de decomposição do material, ou graficamente, as taxas de decaimento dos picos de absorção. A figura 4.10a mostra a degradação dos picos de absorção nos espectros do DPBF, medido em 415 nm, para quatro intensidades diferentes da luz incidente. Na figura 4.10b, o efeito da degradação do DPBF no espectro da solução é exibido para a intensidade de $6,5 mW/cm^2$. Note que o pico próximo a 660 nm, referente ao Azul de metileno, não sofre alteração, o que indica que o AM não se degrada com a presença de oxigênio reativo na solução.

Figura 4.10: (a) Degradação do DPBF na presença de Azul de metileno sob irradiação constante de luz em 532nm para as intensidades de $I_0 = 0,0\text{mW}/\text{cm}^2$ (círculos cinzas), $I_0 = 3,2\text{mW}/\text{cm}^2$ (quadrados azuis), $I_0 = 6,5\text{mW}/\text{cm}^2$ (losangos magentas) e $I_0 = 13,0\text{mW}/\text{cm}^2$ (triângulos verdes). (b) Decaimento do espectro de absorção da solução contendo DPBF e Azul de metileno sob irradiação em $6.5\text{mW}/\text{cm}^2$.



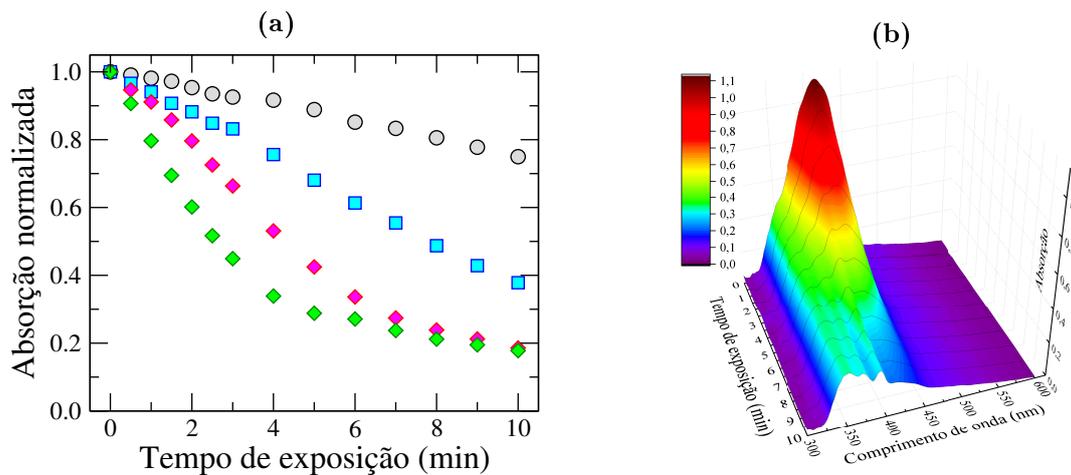
Fonte: Autor, 2021.

Medidas similares foram realizadas para uma solução contendo DPBF e PC-DsCl. Os resultados mostrados na figura 4.11 evidenciam a produção de $^1\text{O}_2$ pela nanopartícula. Note que, em ambos os gráficos, 4.10a e 4.11a, um conjunto de pontos (círculos cinza) representa a degradação do DPBF no escuro. Esse material apresenta sensibilidade à presença de oxigênio (que se torna absurdamente maior quando o oxigênio se encontra em sua forma singleto) e a solução de trabalho contém água como metade da sua composição. Mesmo preparando cada solução imediatamente antes de cada medida, não havia total garantia de que alguma porcentagem do DPBF fosse degradar na presença do oxigênio na água. Essas medidas no escuro foram realizadas para se observar a estabilidade do DPBF em solução aquosa sem fotoativação do oxigênio singleto. No período de 10 minutos, pouco mais de 20% do DPBF foi degradado em um comportamento quase linear; isso indica uma taxa de decomposição muito pequena do composto que, para os poucos instantes entre a preparação da amostra e o início das medidas, não tem influência apreciável no efeito de degradação pelo oxigênio singleto.

A degradação do DPBF, tanto na presença de AM, quanto na presença de PC-DsCl, é proporcional tanto à intensidade da luz incidente quanto ao tempo de exposição. Em Terapia fotodíâmica, técnica terapeutica que possui a dose (variável dependente da intensidade e do tempo) como principal parâmetro de aplicação, conhecer a dependência de geração de $^1\text{O}_2$ do fármaco com esses parâmetros é de fundamental importância. Na região do espectro mostrada no gráfico da figura 4.11b é possível observar o aparecimento de picos de absorbância a medida que o tempo vai evoluindo e a altura da curva vai diminuindo. Eles são referentes à absorção do PC-DsCl, que apresenta dois picos fracos

próximos a 400 nm referentes à estados de superfície. Assim como acontece com o azul de metileno, os picos de absorção do PC-DsCl não sofrem diminuição com a incidência de luz. Isso mostra a fotoestabilidade desse material, que não apresenta efeito de fotodegradação, uma característica importante a se considerar nas propostas de aplicação.

Figura 4.11: (a) Degradação do DPBF na presença de PC-DsCl sob irradiação constante de luz em 532nm para as intensidades de $I_0 = 0,0mW/cm^2$ (círculos cinzas), $I_0 = 3,2mW/cm^2$ (quadrados azuis), $I_0 = 6,5mW/cm^2$ (losangos magentas) e $I_0 = 13,0mW/cm^2$ (triângulos verdes). (b) Gráfico tridimensional mostrando o decaimento do espectro de absorção da solução contendo DPBF e PC-DsCl sob irradiação em $6,5mW/cm^2$.



Fonte: Autor, 2021

Dos resultados apresentados, as taxas de decomposição do DPBF (medidas a partir do decaimento do pico de absorção) nas soluções com PC-DsCl (k_{PC} e k_{PC}^0 - quando sob iluminação e no escuro, respectivamente), e AM (k_{AM}), foram medidas e seus valores foram usados na equação 4.9.

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{AM} \cdot \left[\frac{(k_{PC} - k_{PC}^0) \cdot F_{MB}}{k_{AM} \cdot F_{PC}} \right] \quad (4.9)$$

$\Phi_{AM} = 57\%$. F_{PC} e F_{MB} são os fatores de correção para as amostras com PC-DsCl e Azul de Metileno, respectivamente, associadas à absorção dessas amostras. Esses fatores são calculados usando a equação 4.10

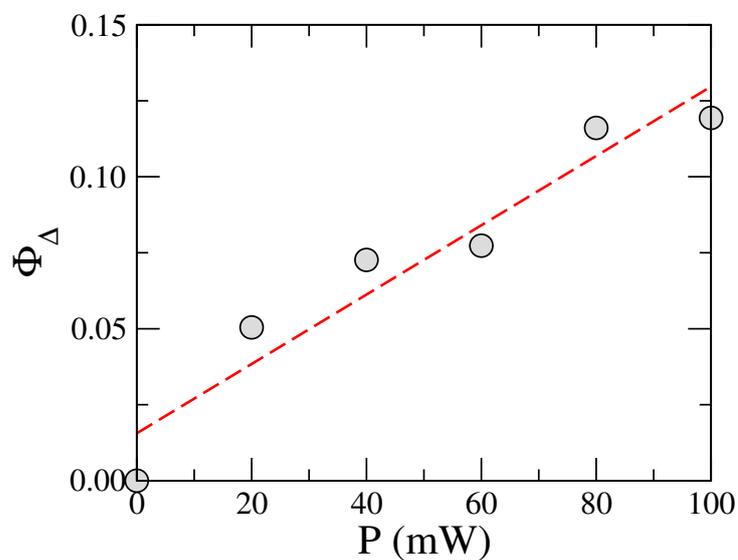
$$F = 1 - 10^{-A} \quad (4.10)$$

onde A é a absorbância do material no comprimento de onda incidente (532nm).

A propriedade de geração de oxigênio singleto apresentado pelo PC-DsCl é um forte atrativo para a sua aplicação como fármaco em Terapia Fotodinâmica. Por ser uma nanopartícula biocompatível, seu uso não oferece perigo em meio biológico, apesar de estudos de toxicidade, farmacocinética e farmacodinâmica serem necessários antes de qualquer aplicação. Além disso, a alta solubilidade em água dessa classe de materiais torna possí-

vel seu uso em conjunto com outros fármacos que apresentam solubilidade reduzida. Os resultados da equação 4.9 são apresentados abaixo. Foi verificado um crescimento de Φ_{Δ} junto com o aumento da intensidade da luz incidente (Fig. 4.12). Os valores obtidos variaram entre 5% e 11%, o que está de acordo com resultados encontrados na literatura para rendimento quântico de PCs puros na geração de oxigênio singleto. Processos de passivação e funcionalização são comumente usados para otimizar o rendimento quântico das nanopartículas, mas as nossas amostras foram utilizadas sem passar por esses processos químicos.

Figura 4.12: Rendimento quântico de geração de oxigênio singleto dos PCs-DsCl variando com a potência.



Fonte: Autor, 2020

Considerações finais

No presente trabalho, foram estudadas as características morfológicas, espectroscópicas e resposta à variação térmica de pontos de carbono derivados de Cloreto de Dansil. A estrutura cristalina do núcleo das nanopartículas foi identificada, bem como a presença de nitrogênio e enxofre na superfície, produto direto da síntese do Cloreto de Dansil. Com essas características, foi observada fluorescência dependente da excitação, com espectros cobrindo quase todo o intervalo visível e apresentando múltiplos picos de intensidade. As análises térmicas revelaram uma alta sensibilidade à temperatura do substrato com crescimento tanto da intensidade de fluorescência quanto da sensibilidade térmica relativa. Esse efeito é resultado de um baixo intervalo de energia entre os estados singleto e tripleto do composto, que favorece processos de cruzamento intersistemas reverso e que é termicamente ativado, resultando na maximização da eficiência de fluorescência do PC-DsCl. Além disso, a nanopartícula apresentou comportamento estável e reversível em ciclos contínuos de aquecimento e resfriamento, o que é um excelente indicativo para propor a sua aplicação como sensor térmico ratiométrico. Quanto a sua fotoatividade em geração de oxigênio singleto, os resultados apontam para um rendimento quântico moderado de 11% para intensidades de radiação incidente maiores que $10mW/cm^2$. Esse resultado é coerente, tendo em vista que o material aqui utilizado não passou por processos de passivação e/ou funcionalização, o que, de acordo com a literatura, maximizaria esse rendimento quântico, naturalmente baixo em pontos de carbono puros. Em suma, mostramos que pontos de carbono derivados de Cloreto de Dansil são ótimos candidatos à aplicações termo-ópticas e nanosensores térmicos para pesquisas dentro da janela biológica de variação térmica.

Até a data da apresentação dessa dissertação, esse trabalho estava sob análise dos avaliadores para publicação em revista científica. Enquanto o parecer da revista é aguardado com confiança em uma resposta positiva, outros trabalhos estão sendo desenvolvidos pelo nosso grupo com pontos de carbono sintetizados a partir de corantes, como Preto de Sudan B (*Sudan Black*), Vermelho de Metila (textitMethyl Red) e Vermelho do Congo (*Congo Red*). Como uma forma de maximizar alguns efeitos como a geração de oxigênio singleto, a ureia foi inserida na síntese desses pontos de carbono e os resultados iniciais apontam para um cenário promissor. Além da investigação das propriedades ópticas e da sua dependência com as variações do substrato onde esta inserido, o estudo com essas nanopartículas também incluirá aplicações. Em uma colaboração com o Instituto de

Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da UFAL, a ação antimicrobiana dessas estruturas será investigada tanto como agente isolado (produto antimicrobiano, antiseptico ou desinfetante), bem como fármaco em Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana. Os resultados dessa pesquisa foram de suma importância para estabelecer protocolos de trabalho e buscar novas possibilidades de estudo utilizando pontos de carbono.

Bibliografia

- [1] Xu X, Ray R, Gu Y, Ploehn HJ, Gearheart L, Raker K, and Scrivens WA. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, 126(40):12736–12737, 2004 set 18.
- [2] Guise O, Ahner J, Yates J, and Levy J. Formation and thermal stability of sub-10nm carbon templates on si(100). *Applied Physics Letters*, 85(12):2352–2354, 2004 set 24.
- [3] Birkett PR. 21 Å Å fullerenes. *Annual Reports Section A (Inorganic Chemistry)*, 101(0):429–451, 2005.
- [4] Valcárcel M, Simonet BM, Cárdenas S, and Suárez B. Present and future applications of carbon nanotubes to analytical science. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(8):1783–1790, 2005.
- [5] Sun YP, Zhou B, Lin Y, Wang W, Fernando KAS, and Pathak P. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. *Journal of the American Chemical Society*, 128(24):7756–7757, 2006.
- [6] Web of Science. Title: ("carbon dots").
- [7] Web of Science. Topic: ("carbon dots").
- [8] Gayen B, Palchoudhury S, and Chowdhury J. Carbon dots: A mystic star in the world of nanoscience. *Journal of Nanomaterials*, 2019:1–19, 2019 dez 11.
- [9] Xia C, Zhu S, Feng T, Yang M, and Yang B. Evolution and synthesis of carbon dots: From carbon dots to carbonized polymer dots. *Advanced Science*, 6(23):1–19, 2019 dez 4.
- [10] Wang J and Qiu J. A review of carbon dots in biological applications. *Journal of Materials Science*, 51(10):4728–4738, 2016, fev 10.
- [11] Cao L, Wang X, Meziani MJ, Lu F, Wang H, Luo PG, and et al. Carbon dots for multiphoton bioimaging. *Journal of the American Chemical Society*, 129(37):11318–11319, 2007 ago 28.

- [12] Wang J, Zhang Z, Zha S, Zhu Y, Wu P, Ehrenberg B, and Chen JY. Carbon nanodots featuring efficient fret for two-photon photodynamic cancer therapy with a low fs laser power density. *Biomaterials*, 35:9372–9381, 2014.
- [13] Xie Z, Yu S, Fan XB, Wei S, Yu L, Zhong Y, and et al. Wavelength-sensitive photocatalytic h₂ evolution from h₂s splitting over g-c₃n₄ with s,n-codoped carbon dots as the photosensitizer. *Nanoscale*, 52:234–242, 2021.
- [14] Cayuela A, Soriano ML, Carrillo-Carrion C, and Valcarcel M. Semiconductor and carbon-based fluorescent nanodots: the need for consistency. *Chemical Communications*, 52(7):1311–1326, 2016.
- [15] Zheng XT, Ananthanarayanan A, Luo KQ, and Chen P. Glowing graphene quantum dots and carbon dots: Properties, syntheses, and biological applications. *Small*, 11(14):1620–1636, 2015.
- [16] Baker SN and Baker GA. Luminescent carbon nanodots: Emergent nanolights. *Nanotechnology*, 49(38):6726–6744, 2010.
- [17] Zhu S, Song Y, Zhao X, Shao J, Zhang J, and Yang B. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Research*, 8(2):355–81, 2015 fev.
- [18] Xia J, Chen S, Zou GY, Yu YL, and Wang JH. Synthesis of highly stable red-emissive carbon polymer dots by modulated polymerization: from the mechanism to application in intracellular ph imaging. *Nanoscale*, 10(47):22484–22492, 2018.
- [19] Li X, Rui M, Song J, Shen Z, and Zeng H. Carbon and graphene quantum dots for optoelectronic and energy devices: A review. *Advanced Functional Materials*, 25(31):4929–4947, 2015 jul 6.
- [20] Bacon M, Bradley SJ, and Nann T. Graphene quantum dots. *Particle and Particle Systems Characterization*, 31(40):415–428, 2014.
- [21] Ding Y, Cheng H, Zhou C, Fan Y, Zhu J, Shao H, and Qu L. Functional microspheres of graphene quantum dots. *Nanotechnology*, 25(25):255605, 2012.
- [22] Li LL, Ji J, Fei Ro, Wang CZ, Lu Q, Zhang JR, and et al. A facile microwave avenue to electrochemiluminescent two-color graphene quantum dots. *Advanced Functional Materials*, 22(14):2971–2979, 2012.
- [23] Belin T and Epron F. Characterization methods of carbon nanotubes: a review. *Materials Science and Engineering: B*, 119(2):105–118, 2005.
- [24] Iijima s. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354(6348):56–58, 1991.

- [25] Ribeiro B, Botelho EC, Costa ML, and Bandeira CF. Carbon nanotube buckypaper reinforced polymer composites: A review. *Polímeros*, 27:1–9, 2017.
- [26] Mourdikoudis S, Pallares RM, and Thanh NTK. Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale*, 10(27):12871–12934, 2018.
- [27] Thomas S, Sakho EHM, Kalarikkal N, Oluwafemi SO, and Wu J. *Nanomaterials for solar cells applications*. Elsevier, Estados unidos, 2019.
- [28] Housecroft CE and Sharpe AG. *Inorganic Chemistry*. Pearson Education Limited, Londres, Reino Unido, 2012.
- [29] Gupta A, Verma NC, Khan S, and Nandi CK. Carbon dots for naked eye colorimetric ultrasensitive arsenic and glutathione detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 81:465–472, 2016.
- [30] Hui D, Li XH, Chen XB, Wei JS, Li XB, and Xiong HM. Surface states of carbon dots and their influences on luminescence. *Journal of Applied Physics*, 127(23):231101, 2020.
- [31] Pan L, Sun S, Zhang A, Jiang K, Zhang L, Dong C, and et al. Truly fluorescent excitation-dependent carbon dots and their applications in multicolor cellular imaging and multidimensional sensing. *Advanced Materials*, 27(47):7782–7787, 2015 dez 16.
- [32] Ding H, Yu SB, Wei JS, and Xiong HM. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism. *ACS Nano*, 10(1):484–491, 2015 dez 08.
- [33] Tepliakov NV, Kundelev EV, Khavlyuk PD, Xiong Y, Leonov MY, Zhu W, and et al. sp²-sp³-hybridized atomic domains determine optical features of carbon dots. *ACS Nano*, 13(9):10737–10744, 2019 ago 14.
- [34] Gude V, Das A, Chatterjee T, and Mandal PK. Molecular origin of photoluminescence of carbon dots: aggregation-induced orange-red emission. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18:28274–28280, 2016.
- [35] Bao L, Liu C, Zhang ZL, and Pang DW. Photoluminescence-tunable carbon nanodots: Surface-state energy-gap tuning. *Adv. Mater.*, 27(10):1663–1667, 2015 jan 14.
- [36] Zhu S, Meng Q, Wang L, Zhang J, Song Y, Jin H, and et al. Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging. *Angewandte Chemie*, 52(14):3953–3957, 2013 abr 2.

- [37] Fang Q, Dong Y, Chen Y, Lu CH, Chi Y, Yang HH, and Yu T. Luminescence origin of carbon based dots obtained from citric acid and amino group-containing molecules. *Carbon*, 118:319–326, 2016.
- [38] Kumar DS, Kumar BJ, and Mahesh HM. [3] quantum nanostructures (qds): An overview. In *Synthesis of Inorganic Nanomaterials*, Micro and Nano Technologies, pages 59–88. Woodhead Publishing, 2018.
- [39] Bera D, Qian L, Tseng TK, and Holloway PH. Quantum dots and their multimodal applications: A review. *Materials (Basel)*, 3(4):2260–2345, 2010.
- [40] Li H, Kang Z, Liu Y, and Lee ST. Carbon nanodots: synthesis, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry*, 22(46):24230–24253, 2012.
- [41] Wu ZL, Liu ZX, and Yuan YH. Carbon dots: materials, synthesis, properties and approaches to long-wavelength and multicolor emission. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(21):3794–3809, 2007 mar 31.
- [42] Liu ML, Chen BB, Li CM, and Huang CZ. Carbon dots: synthesis, formation mechanism, fluorescence origin and sensing applications. *Green Chemistry*, 21(3):449–471, 2019.
- [43] Zhang J and Yu SH. Carbon dots: large-scale synthesis, sensing and bioimaging. *Materials Today*, 19(7):382–393, 2016.
- [44] Zuo P, Lu X, Sun Z, Guo Y, and He H. A review on syntheses, properties, characterization and bioanalytical applications of fluorescent carbon dots. *Microchimica Acta*, 183(2):519–542, 2015 dez 14.
- [45] Abazar F and Noorbakhsh A. Chitosan-carbon quantum dots as a new platform for highly sensitive insulin impedimetric aptasensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 304(2020):127281, 2019 out 19.
- [46] Baig MMF and Chen YC. Bright carbon dots as fluorescence sensing agents for bacteria and curcumin. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 304(2020):127281, 2019 out 19.
- [47] Zheng DW, Li B, Li CX, Fan JX, Lei Q, Li C, and et al. Carbon-dot-decorated carbon nitride nanoparticles for enhanced photodynamic therapy against hypoxic tumor via water splitting. *American Chemical Society Nano*, 10(9):8715–8722, 2016 aug 17.
- [48] Pillar-Little TM, Wanninayake N, Nease L, Heidary DK, Glazer EC, and Kim DY. Superior photodynamic effect of carbon quantum dots through both type i and type ii pathways: Detailed comparison study of top-downsynthesized and bottom-up-synthesized carbon quantum dots. *Carbon*, 140:616–623, 2018.

- [49] Schneider J, Reckmeier CJ, Xiong Y, von Seckendorff M, Susha AS, Kasak P, and Rogach AL. Molecular fluorescence in citric acid-based carbon dots. *The Journal of Physical Chemistry C*, 212(3):2014–2022, 2016 dez 30.
- [50] Yu P, Wen X, Toh YR, and Tang J. Temperature-dependent fluorescence in carbon dots. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(48):25552–25557, 2012.
- [51] Lim SY, Shen W, and Gao Z. Carbon quantum dots and their applications. *Chemical Society Reviews*, 44:362–381, 2015.
- [52] Dimos K. Carbon quantum dots: Surface passivation and functionalization. *Current Organic Chemistry*, 20(6):682–695, 2016.
- [53] Wright WF. Early evolution of the thermometer and application to clinical medicine. *Journal of Thermal Biology*, 56:18–30, 2016.
- [54] Mohammed LJ and Omer KM. Carbon dots as new generation materials for nanothermometer: Review. *Nanoscale Research Letters*, 15(1):1–21, 2020.
- [55] Brites CDS, Lima PP, Silva NJO, Millã;n A, Amaral VS, Palacio F, and Carlos LD. Thermometry at the nanoscale. *Nanoscale*, 4(16):4799–4829, 2012.
- [56] Jaque D, Rosal B, Rodriguez EM, Maestro LM, Haro-Gonzalez P, and Sole JG. Fluorescent nanothermometers for intracellular thermal sensing. *Nanomedicine*, 9(7):1–11, 2014.
- [57] Kalytchuk S, Polã;kovã; K, Wang Y, Froning JP, Cepe K, Rogach AL, and Zboril R. Carbon dot nanothermometry: Intracellular photoluminescence lifetime thermal sensing. *ACS Nano*, 11(2):1432–1442, 2017.
- [58] Yang Y, Kong W, Li H, Liu J, Yang M, Huang H, and et al. Fluorescent n-doped carbon dots as in vitro and in vivo nanothermometer. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 7(49):27324–27330, 2015.
- [59] Zhang H, You J, Wang J, Dong X, Guan R, and Cao D. Highly luminescent carbon dots as temperature sensors and off-on sensing of hg²⁺ and biothiols. *Dyes and Pigments*, 173:107950, 2014.
- [60] Macairan JR, Jaunky DB, Piekny A, and Naccache R. Intracellular ratiometric temperature sensing using fluorescent carbon dots. *Nanoscale Advances*, 1(105):105–113, 2019.
- [61] North Carolina Climate Office. Composition of the atmosphere.

- [62] Atkins PW and Jones L. *Princípios de Química*. Bookman, Nova York, Estados Unidos, 2012.
- [63] Kearns DR. Physical and chemical properties of singlet molecular oxygen. *Chemical Reviews*, 71(4):395–427, 1970.
- [64] Ogilby PR. Singlet oxygen: there is indeed something new under the sun. *Chemical Society Reviews*, 39(8):3181–3209, 2010.
- [65] Li Y, Zheng X, Zhang X, Liu S, Pei Q, Zheng M, and Xie Z. Porphyrin-based carbon dots for photodynamic therapy of hepatoma. *Advanced Healthcare Materials*, 6(1):1600924, 2017.
- [66] Li Q, Zhou R, Xie Y, Li Y, Chen Y, and Cai X. Sulphur-doped carbon dots as a highly efficient nano-photodynamic agent against oral squamous cell carcinoma. *Cell Proliferation*, 53(4):e12786, 2020.
- [67] Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4):495–516, 2007.
- [68] Hornback JM. *Organic Chemistry*. Cengage Learning, California, Estados Unidos, 2005.
- [69] Gupta VP. *Principles and Applications of Quantum Chemistry*. Elsevier, Oxford, Reino Unido, 2016.
- [70] Obodovskiy I. [1] peculiarities of the processes in microcosm. In *Radiation, Micro and Nano Technologies*, pages 3–39. Elsevier, 2019.
- [71] Atkins PW and Frieman RS. *Molecular Quantum Mechanics*. Oxford University Press, Oxford, Estados Unidos, 1996.
- [72] Anslyn EV and Dougherty DA. *Modern Physical Organic Chemistry*. University Science Books, Estados Unidos, 2006.
- [73] Ramachandran KI, Deepa G, and Namboori K. *Computational chemistry and molecular modeling*. Springer, Berlim, Alemanha, 2008.
- [74] Zumdahl SS. *Chemical principles*. Houghton Mifflin Company, Boston, Estados Unidos, 2005.
- [75] Razeghi M. *Fundamentals of solid state engineering*. Kluwer Academic Publishers, Estados Unidos, 2002.
- [76] Liang WY. Excitons. *Physics Education*, 5(4):226–228, 1970.

- [77] Sorokin E. [1] solid-state materials for few-cycle pulse generation and amplification. In *Few-Cycle Laser Pulse Generation and Its Applications*, volume 95, pages 3–73. Springer, 2004.
- [78] Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer, Baltimore, Maryland, EUA, 2006.
- [79] Albani JR. *Structure and Dynamics of Macromolecules: Absorption and Fluorescence Studies*. Elsevier, Oxford, Reino Unido, 2004.
- [80] Jakob Wirz Petr KlÄjn. *Photochemistry of Organic Compounds From Concepts to Practice*. John Wiley I& Sons, Chichester, Reino Unido, 2009.
- [81] Atkins PW and de Paula J. *Physical Chemistry*. Oxford University Press, Oxford, Estados Unidos, 2006.
- [82] Shakeel U and Singh J. Study of processes of reverse intersystem crossing (risc) and thermally activated delayed fluorescence (tadf) in organic light emitting diodes (oleds). *Organic Electronics*, 59:121–124, 2018.
- [83] Pander P and Dias F. Photophysical characterisation of thermally activated delayed fluorescence (tadf) materials. *OCP Science*, 2:249–263, 2017.
- [84] BaleizÃo C and Berberan-Santos MN. Thermally activated delayed fluorescence as a cycling process between excited singlet and triplet states: Application to the fullerenes. *The Journal of Chemical Physics*, 126(20):204510, 2007.
- [85] Gray WR. [12] dansyl chloride procedure. In *Enzyme Structure*, volume 11 of *Methods in Enzymology*, pages 139–151. Academic Press, 1967.
- [86] Zhang XF and Li X. The photostability and fluorescence properties of diphenylisobenzofuran. *Journal of Luminescence*, 131(11):2263–2266, 2011.
- [87] Selvam S and Sarkar I. Bile salt induced solubilization of methylene blue: Study on methylene blue fluorescence properties and molecular mechanics calculation. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(1):71–75, 2017.
- [88] Tardivo JP, Giglio AD, Junqueira HC, Tada D, Oliveira CS, Gabrielli DS, and et al. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2:175–191, 2005.
- [89] Zu F, Yan F, Bai Z, Xu J, Wang Y, Huang Y, and et al. The quenching of the fluorescence of carbon dots: A review on mechanisms and applications. *Microchimica Acta*, 184(7):1899–914, 2017 maio 30.

- [90] Nguyen V, Yan L, Xu H, and Yue M. One-step synthesis of multi-emission carbon nanodots for ratiometric temperature sensing. *Applied Surface Science*, 427:1118–1123, 2018.
- [91] Almeida AKA, Monteiro MP, Dias JMM, Omena L, Silva AJC, Tonholo J, and et al. Synthesis and spectroscopic characterization of a fluorescent pyrrole derivative containing electron acceptor and donor groups. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128:812–818, 2014.
- [92] Kang HR. *Computational Color Technology*. SPIE Press, 1993.
- [93] Zamojc K, Zdrowowicz M, Rudnicki-Velasquez P, Krzyminski K, Zaborowski B, Niedzialkowski P, and et al. The development of 1,3-diphenylisobenzofuran as a highly selective probe for the detection and quantitative determination of hydrogen peroxide. *Free Radical Research*, 51(1):38–46, 2017.
- [94] Grumezescu AM. *Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics*. Elsevier, Cambridge, Estados unidos, 2017.