



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



**Preparação de pontos de carbono via irradiação em micro-ondas
doméstico: Estudos das propriedades estruturais e fotofísicas.**

Dissertação de Mestrado

MAYARA MARTINS CAETANO

Orientadora

PROFA. DRA. RENATA GALVÃO DE LIMA

ITUIUTABA

OUTUBRO DE 2022

Preparação de pontos de carbono via irradiação em micro-ondas doméstico: Estudos das propriedades estruturais e fotofísicas.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Candidata: **Mayara Martins Caetano**

Orientadora: Profa. Dra. Renata Galvão de Lima

Área de Concentração: Química Bioinorgânica, Fotoquímica e Fotobiologia

ITUIUTABA
OUTUBRO DE 2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da
UFU com dados informados pelo(a) próprio(a)
autor(a).

C128 Caetano, Mayara Martins, 1997-

2022 Preparação de pontos de carbono via irradiação
em micro-ondas doméstico: Estudos das
propriedades estruturais e fotofísicas. [recurso
eletrônico] /
Mayara Martins Caetano. - 2022.

Orientador: Renata Galvão de Lima.

Dissertação (Mestrado) - Universidade
Federal de Uberlândia, Pós-graduação em
Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em:

<http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.604>Inclui

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o
AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA**

Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Química

Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 51 - Bairro
Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902 Telefone: (34)
3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico PPGQUI				
Data:	Vinte e seis de outubro de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:00h
Matrícula do Discente:	12022QMI013				
Nome do Discente:	Mayara Martins Caetano				
Título do Trabalho:	Preparação de pontos de carbono via irradiação em micro-ondas doméstico: Estudos das propriedades estruturais e fotofísicas				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Bioinorgânica, Fotoquímica e Fotobiologia				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	"Entendimento das interações entre albumina humana e complexos de rutênio doadores de óxido nítrico do tipo $[RuII(NH.NHq)(tpy)L]n+$, $L=NO+$ ou NO_2^- : potencialidades na prevenção de alterações feto-placentárias". http://lattes.cnpq.br/994908493471025227				

Reuniu-se por meio de webconferência pelo link <https://bityli.com/Tvzztqp>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: **Jefferson Luis Ferrari**, da Universidade Federal de Uberlândia; **Marco Antônio Schiavon**, da Universidade Federal de São João Del-Rei e **Renata Galvão de Lima**, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dra. Renata Galvão de Lima, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a

regulamentação interna da UFU.

Documento assinado eletronicamente por **Renata Galvão de Lima**,
Professor(a) do Magistério Superior, em 26/10/2022, às 17:03, conforme
horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º,



§ 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jefferson Luis Ferrari**,
Professor(a) do Magistério Superior, em 26/10/2022, às 17:03, conforme
horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º,

§ 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marco Antonio Schiavon**,
Usuário Externo, em 26/10/2022, às 17:03, conforme horário oficial de Brasília,
com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site
[https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)
[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código
verificador **4024241** eo código CRC **9A96445E**.

Dedico esta dissertação a pessoa que me tornei nestes últimos anos, desde a graduação até o presente momento. Amo ser pesquisadora e tenho muito orgulho de todos os processos que passei até chegar no final do Mestrado. Encerro este ciclo com muita felicidade, por não ter desistido e aprendido ao longo de todo o processo.

Dedico este trabalho a minha querida amiga, professora e orientadora Renata Galvão. Ela é uma pessoa que sempre está disposta a ajudar, ensinar e entender o que pensamos como aluno, é a profissional que sai da zona de conforto, agarra junto com o aluno a pesquisa e ensina com a sua trajetória tudo o que pode. Este trabalho é fruto da nossa dedicação, empenho e amor pela pesquisa. Muito obrigada.

Dedico esta dissertação também aos meus pais, Regiane e Gerson, e minha irmã Gabrielly, eles são meu alicerce, apoia todos os meus sonhos, fazem de tudo para eu não desistir dos meus objetivos, acreditam que estudos é o que move o mundo, obrigada pelo apoio mesmo de longe, sem vocês eu não conseguiria chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por sempre me conduzir e proporcionar os melhores caminhos.

A meus avós maternos, Joaquim e Maria Teresa, meus tios e tias, e toda a família, obrigada pelo apoio e o amor mesmo de longe, o incentivo de vocês foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

A todos os meus amigos e companheiros de laboratório, em especial, Alysson, Marcos, Poliana, Vitória, Cynthia, Laís, Letícia, Mateus, Isabela, Leonardo, Dieli, Ana e João. Obrigada por todo suporte, pelos conselhos e auxílio dentro e fora da universidade.

Agradeço ao grupo do Laboratório de Pesquisas em Bioinorgânica (LABBIO), ao qual faço parte, obrigada a todos e a todas que fazem e fizeram parte desse grupo. Em especial, a Naiara, que durante cinco anos foi minha fiel companheira.

Aos meus amigos que foram essenciais nesse caminho, com todo amor e paciência, sempre me ouvindo e caminhando juntos, alguns pertos outros distantes, Luciana, Tais, Guilherme, Ayeska, Sarah, Gabriela, Fernando, Renata, Letícia, Andressa, Samuel, Mayara, Jennifer e Carol,

A todos os professores que fizeram parte da minha formação. Em especial, a todos os professores do Curso de Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP).

Ao Instituto de Física (INFIS/UFU) pela realização das análises de força atômica e espectroscopia Raman.

Ao Instituto de Química (IQ/UFU) pela realização das análises de difração de raio-X.

A profa. Dra. Tayana Mazin Tsubone e seu grupo de pesquisa Laboratório Interdisciplinar de Fotobiologia e Biomembranas – LIFeBio.

Ao Prof. Dr. Roberto Santana da Silva e aos integrantes do Laboratório de Físico-Química e Bioinorgânica (LaFQBIO), por realizarem análises e cederem o laboratório para as integrantes do Laboratório de Pesquisas em Bioinorgânica (LABBIO).

Ao Dr. Adriano Batista da Costa (FFCLRP – USP), pela realização das análises via espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo.

Aos servidores da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

À CAPES, pela bolsa concedida.

“São as nossas escolhas, ... , que revelam o que realmente somos, muito mais do que nossas qualidades.”

(Albus Dumbledore)

*"Final, o que é um cientista, então?
Ele é um homem curioso que olha através
dos olhos de uma fechadura, a fechadura da
natureza, tentando saber o que está
acontecendo"*

(Jacques Yves Cousteau)

*"O aspecto mais triste da vida neste
momento preciso é que a ciência reúne
conhecimento mais rapidamente do que a
sociedade reúne sabedoria"*

(Isaac Asimov)

RESUMO

Pontos de carbono (PCs) são nanopartículas produzidas a partir de fontes de carbono e tem atraído grande atenção nos últimos anos devido suas propriedades de fotoluminescência, bem como biocompatibilidade, baixo custo na rota sintética e fotoestabilidade. Atualmente, alguns estudos estão sendo desenvolvidos com o objetivo do melhor entendimento das propriedades estruturais e ópticas, visto que há inúmeras metodologias de obtenção dos PCs, que influenciam diretamente nas propriedades citadas. Sendo assim, em nosso trabalho buscou-se avaliar as propriedades estruturais e ópticas utilizando-se os precursores carbonáceos tais como a *o*-fenilenodiamina (OPDA) para obtenção dos PCs-OPDA e o ácido 3,4-diaminobenzoico (3,4-DABA) para obtenção do PCs 3,4-DABA, no qual foram submetidos a mesma condição de rota sintética via irradiação em micro-ondas domésticos. Os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA foram inicialmente caracterizados quanto as suas propriedades estruturais pela espectroscopia na região do Infravermelho (IV), inferindo-se que os grupos funcionais presentes nas superfícies dos PCs sintetizados são diferentes, a espectroscopia Raman possibilitou discutir informações sobre a grafitação do núcleo de carbono dos PCs, no qual os resultados obtidos apresentaram núcleo de carbono incompletos, pela análise de difração de raios X de pó (DRX) e análise termogravimétrica (TGA), obteve-se um caráter de PCs policristalinos, dando indícios que os PCs em nosso trabalho apresentavam estruturas referentes aos pontos de polímeros carbonizados (CPDs), na microscopia de força atômica (AFM) os tamanhos das nanopartículas foram na ordem de $5,02 \pm 1,03$ nm para PCs-OPDA e $14,01 \pm 1,21$ nm para PCs 3,4-DABA. As propriedades ópticas foram estudadas a partir da espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV/Vis) e espectroscopia de fluorescência, confirmando a formação de CPDs, visto que a emissão de fluorescência apresentou um perfil independente do comprimento de onda de excitação para ambos os PCs. Sendo a emissão na região do amarelo para os PCs-OPDA e verde para os PCs 3,4-DABA. Outros estudos acerca da emissão de fluorescência foram realizados, tais como avaliação da intensidade de fluorescência em função do pH, avaliação da região de fluorescência em solvatocromismo, avaliação da intensidade de fluorescência em relação a temperatura, o rendimento quântico de fluorescência para PCs-OPDA foi de 17% e para PCs 3,4-DABA de 2,98% e os estudos de viabilidade celular dos PCs sintetizados demonstraram citotoxicidade para linhagens tumorais B16F10 e A375 na faixa de concentração de estudo.

Palavras-chave: Pontos de carbono; micro-ondas doméstico; fluorescência; pontos de polímeros carbonizados.

ABSTRACT

Carbon dots (PCs) are nanoparticles produced from carbon sources and have attracted great attention in recent years due to their photoluminescence properties, as well as biocompatibility, low cost in the synthetic route, and photostability. Currently, some studies are being developed with the objective of better understanding the structural and optical properties, since there are numerous methodologies for obtaining PCs, which directly influence the aforementioned properties. Therefore, in our work, we sought to evaluate the structural and optical properties using carbonaceous precursors such as o-phenylenediamine (OPDA) to obtain PCs-OPDA and 3,4-diaminobenzoic acid (3,4-DABA) to obtain PCs 3,4-DABA, in which they were submitted to the same synthetic route condition via irradiation in domestic microwaves. The PCs-OPDA and PCs 3,4-DABA were initially characterized in terms of their structural properties by spectroscopy in the Infrared (IR) region, inferring that the functional groups present on the surfaces of the synthesized PCs are different, Raman spectroscopy made it possible to discuss information on the graphitization of the carbon core of PCs, in which the results obtained showed incomplete carbon core, by powder X-ray diffraction (XRD) and thermogravimetric analysis (TGA), a character of polycrystalline PCs was obtained, indicating that the PCs in our work presented structures referring to the carbonized polymer dots (CPDs), in the atomic force microscopy (AFM) the sizes of the nanoparticles were in the order of 5.02 ± 1.03 nm for PCs-OPDA and 14.01 ± 1.21 nm for PCs 3,4-DABA. The optical properties were studied using ultra and visible violet (UV/Vis) spectroscopy and fluorescence spectroscopy, confirming the formation of CPDs, since the fluorescence emission presented a profile independent of the excitation wavelength for both the PCs. The emission is in the region of yellow for PCs-OPDA and green for PCs 3,4-DABA. Other studies on fluorescence emission were carried out, such as evaluation of fluorescence intensity as a function of pH, evaluation of the fluorescence region in solvatochromism, evaluation of fluorescence intensity about temperature, the quantum yield of fluorescence for PCs-OPDA was 17% and for PCs 3,4-DABA of 2.98% and the cell viability studies of the synthesized PCs showed cytotoxicity for B16F10 and A375 tumor lines in the study concentration range.

Keywords: Carbon dots; domestic microwaves; fluorescenc; carbonized polymer dots.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação da estrutura dos PCs.	22
Figura 2 - Representação do núcleo das três classes de pontos de carbono (PCs), sendo, os pontos quânticos de grafeno (PQGs), os nanopontos de carbono (CNDs) e os pontos de polímero (CPDs).....	23
Figura 3 - Esquema representando as rotas sintéticas dos PCs com abordagem top-down e bottom-up.....	24
Figura 4 - Esquema representando a polimerização e carbonização via método hidrotermal de pontos de carbono.	26
Figura 5 - Esquema representando a rota sintética adotada no trabalho de Pen e colaboradores 2022.	27
Figura 6 - Ilustração esquemática do processo de formação dos PCs em relação ao tempo e temperatura de irradiação via micro-ondas.	28
Figura 7 - Ilustração do confinamento quântico em relação ao tamanho das partículas.	29
Figura 8 - Esquema da síntese dos PCs no trabalho de Ding e colaboradores 2017.....	30
Figura 9 - Mecanismo de emissão dos PCs quando se forma uma estrutura híbrida, ou seja, cadeias de polímeros na superfície que são denominado estados moleculares.	31
Figura 10 - Representação do mecanismo de fluorescência dos PCs dependendo da sua estrutura formada na rota sintética.....	31
Figura 11 - Estruturas químicas dos precursores carbonáceos OPDA(a) e 3,4-DABA (b). ...	32
Figura 12 - Síntese dos PCs-OPDA obtidos pelo método hidrotermal em micro-ondas doméstico.....	34
Figura 13 - Imagem da coluna cromatográfica para purificação dos PCs-OPDA.	35
Figura 14 - Síntese dos PCS-DABA obtidos pelo método hidrotermal em micro-ondas doméstico.....	36
Figura 15 - Perfil espectral dos PCs-OPDA variando o tempo de irradiação na região do UV/Vís (A) e espectro de fluorescência (B).....	42
Figura 16 - Perfil espectral dos PCs-OPDA variando as concentrações.....	43
Figura 17 - Imagens das soluções de OPDA antes da carbonização(A), depois da carbonização via irradiação em micro-ondas doméstico (B), e sob excitação da luz UV (365 nm) (C).....	44
Figura 18 - Perfil espectral dos PCs 3,4-DABA variando o tempo de irradiação na região do UV/Vís (A) e espectro de fluorescência (B).....	45

Figura 19 - Imagens das soluções do 3,4-DABA antes da carbonização(A), durante a carbonização via irradiação em micro-ondas doméstico(B), a formação do sólido após a carbonização (C) e sob influência da luz UV (365 nm)(D).....	45
Figura 20 - Perfil espectral das frações obtidas nas condições 100% de acetonitrila e 80% AC e 20 %H ₂ O durante purificação, na região do UV/VIS (A) e perfil de emissão de fluorescência (B) quando excitado em 420 nm, utilizando janelas de emissão e excitação em 5/10.....	46
Figura 21 - Espectro de ATR para os PCs-OPDA em estado sólido na região de 4000 a 200 cm ⁻¹ (A) e 2000 a 200 cm ⁻¹ (B).....	47
Figura 22 - Espectro de ATR para os PCs-3,4-DABA em estado sólido na região de 4000 a 200 cm ⁻¹ (A) e 2000 a 200 cm ⁻¹ (B).....	48
Figura 23 - Representação das diferentes estruturas apresentadas pelos PCs em seu núcleo. Os pontos vermelhos existentes na estrutura de pontos de carbono dopados representam os átomos de nitrogênio.....	49
Figura 24 - Espectros Raman para os (-) PCs-OPDA e (-) PCs 3,4-DABA, utilizando laser na região de 780 nm para os PCs-OPDA e laser na região de 325 nm para os PCs 3,4-DABA...	51
Figura 25 - Difratogramas dos (-) OPDA e (-) PCs-OPDA.	53
Figura 26 - Difratogramas dos (-) 3,4-DABA e (-) PCs 3,4-DABA	54
Figura 27 - Esquema da estrutura do grafite (A, d ₀₀₂ = 3,35 nm) e estrutura turbostática (B, d ₀₀₂ ≥ 3,44 nm).....	54
Figura 28 - Curva de TGA dos PCs-OPDA.	56
Figura 29 - Curva de TGA dos PCs-3,4-DABA.....	57
Figura 30 - Microscopias de AFM e perfil das partículas para (A) PCs-OPDA e (B) PCs 3,4-DABA sem estarem purificados.	58
Figura 31 - Microscopia de AFM e perfil em 3D para os PCs 3,4-OPDA.....	59
Figura 32 - Microscopias de AFM e perfil em 3D para os PCs 3,4-DABA.....	60
Figura 33 - Proposta das estruturas dos PCs OPDA (A) e PCs-3,4-DABA (B)	61
Figura 34 - Espectro qualitativo na região do UV/Vis dos (-) PCs-OPDA em solução aquosa.	62
Figura 35 - Espectro na região do UV/Vis dos (-) PCs 3,4-DABA em solução aquosa.	63
Figura 36 - Espectro qualitativo na região do UV/Vis dos (-) PCs-OPDA e (-) PCs-DABA em solução aquosa.....	64
Figura 37 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA variando-se o comprimento de onda de excitação (300 a 500 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Perfil de excitação λ _{emissão} = 560 nm (B).	65

Figura 38 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA variando-se o comprimento de onda de excitação (230 a 280 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Perfil de excitação $\lambda_{\text{emissão}} = 340$ nm (B).	66
Figura 39 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA variando-se o comprimento de onda de excitação (300 a 450 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 10/10. Perfil de excitação $\lambda_{\text{emissão}} = 575$ nm (B).	67
Figura 40 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA variando-se o comprimento de onda de excitação (300 a 450 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 10/10. Perfil de excitação $\lambda_{\text{emissão}} = 400$ nm (B).	68
Figura 41 - Representação esquemática correspondente ao mecanismo de emissão em PCs. .	69
Figura 42 - Representação esquemática correspondente ao mecanismo de emissão em PCs. .	70
Figura 43 - Espectro de emissão de fluorescência variando-se a temperatura para os PCs-OPDA (A) e PCs 3,4-DABA (B), $\lambda_{\text{excitação}} = 420$ nm.	71
Figura 44 - Estrutura química dos solventes utilizados (A), fotografias das soluções de PCs-OPDA sob influência da lâmpada UV (B) e valor de índice de polaridade (C).	73
Figura 45 - Espectro de fluorescência variando-se o solvente para os PCs-OPDA.	73
Figura 46 - Estrutura química dos solventes utilizados (A), fotografias das soluções de PCs 3,4-DABA sob influência da lâmpada UV (B) e valor de índice de polaridade (C).	74
Figura 47 - Espectro de fluorescência variando-se o solvente para os PCs 3,4-DABA.	75
Figura 48 - Espectro de emissão fluorescência dos PCs-OPDA $\lambda_{\text{excitação}} = 240$ nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}} = 340$ nm (B).	77
Figura 49 - Espectro de emissão fluorescência dos PCs-OPDA $\lambda_{\text{excitação}} = 440$ nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}} = 566$ nm (B).	77
Figura 50 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA $\lambda_{\text{excitação}} = 280$ nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}} = 400$ nm (B).	78
Figura 51 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA $\lambda_{\text{excitação}} = 440$ nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}} = 576$ nm (B).	78
Figura 52 - Tratamento matemático da integral da área do espectro de emissão de fluorescência versus absorvância para os padrões e PCs.	81

Figura 53 - Instrumentação das técnicas FLIM (A) e fluorescência resolvida no tempo (B).	82
Figura 54 - Perfil do decaimento cinético obtidos pela técnica FLIM dos PCs-OPDA (A) e PCs 3,4-DABA (B)	83
Figura 55 - Resposta de viabilidade celular dos PCs-OPDA e PCs -DABA em linhagem celular B16 F10 após 24 h de incubação. (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ e **** $p \leq 0,0001$).....	85
Figura 56 - Resposta de viabilidade celular dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA em linhagens A375 após 24 h de incubação. (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ e **** $p \leq 0,0001$).....	86
Figura 57 - Efeito dos PCs-OPDA e PCs-DAPA na morfologia das células A375 após 24 h de incubação.....	87
Figura 58 - Resultados dos ensaios de NBT para os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Tabela dos valores de potencial zeta apresentados pelos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA em pH 7,4 e 8.....	73
Tabela 2 – Valores obtidos de tempo de vida dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA pela técnica de fluorescência resolvida no tempo.....	77
Tabela 3 – Valores obtidos de tempo de vida dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA pela técnica FLIM.....	77

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

OPDA	<i>o</i> -fenilenodiamina
3,4-DABA	Ácido 3,4-diaminobenzóico
Pontos de carbono	PCs
Pontos quânticos de grafeno	PQGs
Nanopontos de carbono	CNDs
Pontos quânticos de carbono	PQCs
Pontos de polímero carbonizado	CPDs
Acetonitrila	AC
Infravermelho	IV
Transformada de Fourier acoplada à técnica de reflectância total atenuada	FTIR-ATR
Análise Termogravimétrica	TGA
Difração de Raio X de pó	DRX
Microscopia de Força Atômica	AFM
Ultravioleta e visível	UV/Vis
Método da contagem de fótons únicos correlacionados com o tempo	TCSPC
Imagem de fluorescência vitalícia	FLIM

LISTA DE SÍMBOLOS

$\tan \delta$	Fator de perda
λ	Comprimento de onda
$\lambda_{\text{emissão}}$	Comprimento de onda de emissão
$\lambda_{\text{excitação}}$	Comprimento de onda de excitação
Φ_F	Rendimento quântico de fluorescência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	Pontos de carbono	22
1.2	Métodos de síntese e formação dos PCs.....	24
1.3	Propriedades dos PCs via irradiação em micro-ondas.....	26
1.4	Mecanismo de fluorescência para os PCs.....	28
2	OBJETIVOS	32
2.1	Objetivos específicos	32
3	PARTE EXPERIMENTAL	33
3.1	Síntese dos pontos de carbono (PCs).....	33
3.2	Caracterizações dos PCs	37
3.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR).....	37
3.2.2	Espectroscopia Raman.....	37
3.2.3	Difração de Raio X.....	37
3.2.4	Análise Termogravimétrica (TGA)	37
3.2.5	Microscopia de Força Atômica (AFM)	38
3.2.6	Espectroscopia na Região do Ultravioleta e Visível (UV/VIS)	38
3.2.7	Espectroscopia de Fluorescência	38
3.2.8	Estudo da intensidade e emissão de fluorescência dos PCs em função do pH.....	39
3.2.9	Rendimento quântico de fluorescência (Φ_F).....	39
3.2.10	Microscopia de imagem com tempo de vida de fluorescência	40
3.2.11	Potencial zeta.....	40
3.3	Estudo de viabilidade celular.....	40
3.3.1	Linhagem celular e cultivo	40
3.3.2	Ensaio de viabilidade celular – Método do MTT	41
3.3.3	Ensaio de morfologia celular.....	41
3.3.4	Ensaio de superóxido/redução de NBT (Nitroblue tetrazolium).....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
4.1	Síntese dos PCs.....	42
4.2	Caracterizações estruturais dos PCs	46

4.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR)	46
4.2.2 Espectroscopia Raman.....	48
4.2.3 Difração de raios-X (DRX)	52
4.2.4 Termogravimetria (TGA)	55
4.2.5 Microscopia de Força Atômica (AFM).....	58
4.3 Caracterizações das propriedades fotoluminescentes dos PCs.....	61
4.3.1 Espectroscopia de absorção molecular na região do Ultravioleta e Visível (UV/Vis).....	61
4.3.2 Espectroscopia de fluorescência.....	64
4.3.3 Avaliação da Intensidade de Fluorescência dos PCs variando a temperatura....	69
4.3.4 Avaliação da região de emissão de fluorescência dos PCs variando os solventes (Solvatocromismo)	72
4.3.5 Avaliação da Intensidade de Emissão de Fluorescência dos PCs em relação ao pH.....	76
4.3.6 Determinação do Potencial Zeta.....	79
4.3.7 Rendimento quântico de fluorescência.....	80
4.3.8 Microscopia de imagem com tempo de vida de fluorescência (tempo de vida).....	81
4.4 Ensaio de viabilidade celular	84
5 CONCLUSÕES.....	89
6 REFERÊNCIAS.....	90

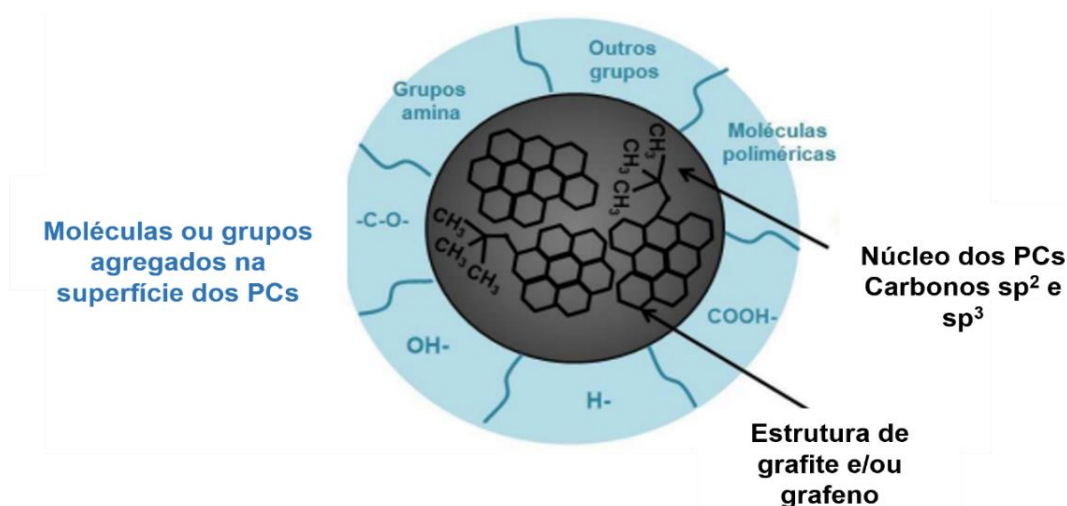
1 INTRODUÇÃO

1.1 Pontos de carbono

Os pontos de carbono (PCs) são uma classe de nanopartículas formadas predominantemente por átomos de carbono. A descoberta desse novo material ocorreu a primeira vez em 2004 por Xu e colaboradores durante o processo de purificação de nanotubos de carbono. Desde então estudos relacionados aos PCs vêm ganhando destaque, principalmente por apresentarem propriedades ópticas intrínsecas como a fotoluminescência ajustável, a solubilidade em meio aquoso, biocompatibilidade e técnicas simples de obtenção (SAJINI *et al.*, 2021; XU *et al.*, 2004)

A estrutura dos PCs (Figura 1), descrita por PARK *et al.*, 2016, consiste em um núcleo formado por estruturas de estrutura de grafite e/ou grafeno com carbonos híbridos sp^2 e sp^3 . Em sua superfície, são encontrados grupos funcionais distintos, como os grupos hidroxilas, carbonilas, carboxilas e aminas, que são oriundos da fonte carbonácea utilizada no processo de síntese.

Figura 1 - Representação da estrutura dos PCs.



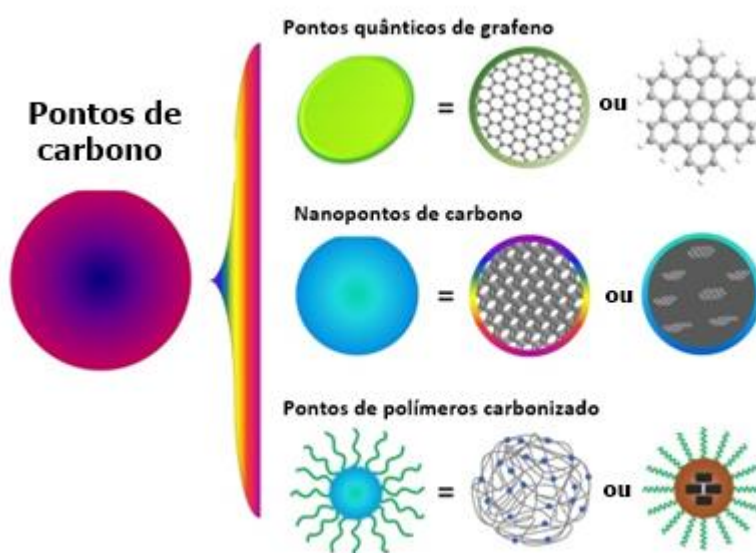
Fonte: Adaptação da Literatura (PARK, *et al.*, 2016).

Entretanto, como consequência dos vários estudos relacionados aos PCs, diversas terminologias surgiram para referenciar o nanomaterial a depender da fonte carbonácea e a metodologia de preparação, como pontos quânticos de grafeno (PQGs), pontos de carbono

(PCs), nanopontos de carbono (CNDs), pontos quânticos de carbono (PQCs) e pontos de polímero carbonizado (CPDs) (LIU *et al.*, 2020).

Na literatura de Yang e colaboradores 2020, os PCs são divididos em três classes a partir da estrutura do núcleo, sendo os PQGs contendo em seu núcleo uma estrutura de grafeno e grupos funcionais nas superfícies, que são originados dos precursores utilizados e das fontes de carbono atribuída a síntese, podendo ser obtidos até como subprodutos de uma determinada reação. Os CNDs possuem uma forma esférica e podem ter uma rede cristalina semelhante a grafite em pontos de carbono (PCs) ou uma estrutura de carbono amorfo. Os CPDs, por outro lado, podem apresentar em seu núcleo polímeros reticulados/agregados ou cadeias poliméricas agregadas em torno de um núcleo de carbono, além do baixo grau de grafitação no núcleo (XU & LIU, 2021; ZENG *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2020) A Figura 2 ilustra as diferenças estruturais apresentadas no núcleo dos PQGs, CNDs e CPDs.

Figura 2 - Representação do núcleo das três classes de pontos de carbono (PCs), sendo, os pontos quânticos de grafeno (PQGs), os nanopontos de carbono (CNDs) e os pontos de polímero (CPDs).



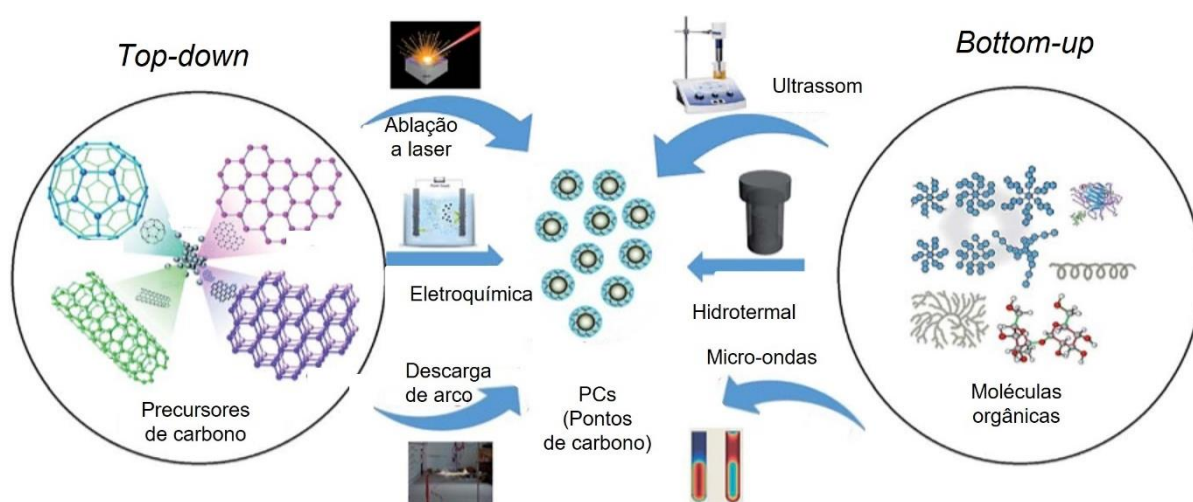
Fonte: Adaptado da Literatura (ZHU *et al.*, 2015).

Sendo assim, os métodos de síntese e os precursores utilizados para formação dos PCs são de extrema importância, uma vez que o mesmo precursor, dependendo da abordagem utilizada, é capaz de produzir PCs com diferentes propriedades e estruturas (WANG *et al.*, 2014).

1.2 Métodos de síntese e formação dos PCs

Na literatura duas rotas sintéticas são descritas para obtenção dos PCs, sendo abordagem *top-down* (de cima para baixo) e *bottom-up* (de baixo para cima) (Figura 3). No processo “*top-down*”, utiliza-se estruturas de carbono com cadeias grandes que é destruída para obter nanopartículas por métodos físicos ou químicos, enquanto a abordagem “*bottom-up*” se refere principalmente à polimerização e carbonização de pequenas moléculas por meio de reação química (WANG *et al.*, 2019)

Figura 3 - Esquema representando as rotas sintéticas dos PCs com abordagem top-down e bottom-up.



Fonte: Adaptação da Literatura (DE, *et al.*, 2017).

A abordagem *top-down* incluem precursores como nanotubos de carbono, fibras de carbono, fuligem de pneus, e incluem metodologias tais como, ablação a laser, eletrooxidação, tratamento com plasma e descarga a arco (HUO *et al.*, 2021).

Os precursores que podem ser utilizados na abordagem *bottom-up* vão desde pequenas moléculas orgânicas, polímeros, até materiais naturais como o pimentão (BORRÁS *et al.*, 2021), gengibre (ISNAENI *et al.*, 2018), batata-doce (SHEN *et al.*, 2017), e os resíduos verdes, como a goma de caju crua (PIRES *et al.*, 2015), sacarose (SAVCHENKO *et al.*, 2022) e rosas (WAN *et al.*, 2019). E incluem métodos tais como, irradiação micro-ondas, métodos solvotérmico ou hidrotérmico e pirólise a partir da carbonização (VAZ *et al.*, 2015; KHAYAL *et al.*, 2021).

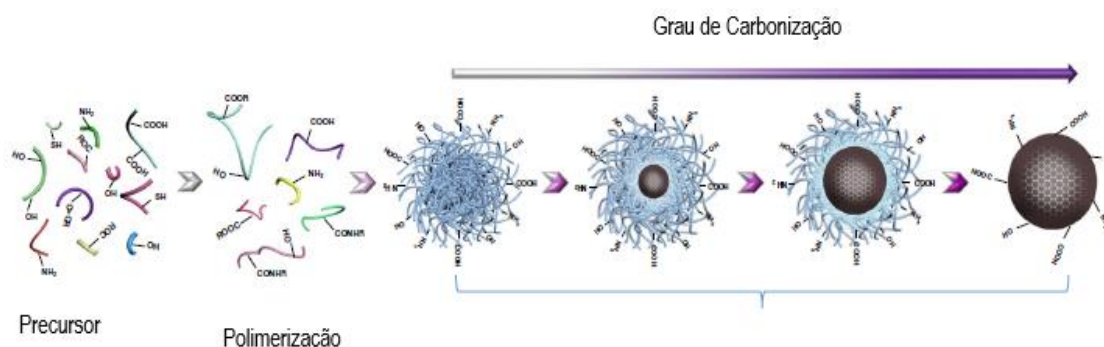
O método hidrotérmico através do aquecimento por micro-ondas tem-se mostrado eficaz pelo baixo custo e facilidade de manipulação, proporcionando um tratamento térmico e o processo de carbonização em questões de minutos, permitindo assim a formação de materiais com diferentes morfologias, em baixas temperaturas, além de ser realizado a síntese em apenas uma etapa (LIU *et al.*, 2018).

As reações químicas que são provenientes da irradiação via micro-ondas advêm da capacidade das moléculas polares absorverem radiação micro-ondas e convertê-las em calor por aquecimento dielétrico. Este fenômeno acontece devido a polarização dielétrica e perda de condução, onde as moléculas polares, que possuem um momento de dipolo elétrico, sofrem rotação molecular quando irradiadas (DE MEDEIROS *et al.*, 2019).

A capacidade de uma substância converter energia eletromagnética dada pelo micro-ondas em calor é expressa pelo fator de perda ($\tan \delta$), uma variável que classifica os solventes como absorvedores de micro-ondas fortes, médios ou fracos. Quanto maior o $\tan \delta$ de um determinado solvente, mais rápido e mais eficiente seu processo de aquecimento por micro-ondas. Os solventes utilizados nesse trabalho foram o etanol e a água, no qual de acordo com Naccache e colaboradores 2019, o etanol é um forte absorvedor de irradiações micro-onda ($\tan \delta = 0,9$) e a água é um solvente médio ($\tan \delta = 0,1$) (DE MEDEIROS *et al.*, 2019). Sendo assim, a formação dos PCs via micro-ondas, está relacionada com a polaridade do solvente e a sua interação com o precursor, permitindo assim, a formação de diferentes nanopartículas.

Os mecanismos que envolvem a nucleação e formação dos PCs ainda é algo incerto, devido a grande quantidade de precursores que podem ser empregados durante o processo de síntese e das diferentes técnicas que podem ser adotadas (KHAYAL *et al.*, 2021). No mais, a hipótese mais aceita é de que eles são originados a partir da carbonização de aglomerados poliméricos, como demonstrado na Figura 4. No processo de carbonização, as moléculas contendo grupos imina, carboxila e hidroxila reagem primeiro entre si por polimerização, para formarem pequenos aglomerados reticulares de polímeros que, em seguida, sofrem carbonização (XIA *et al.*, 2019). O processo de carbonização é uma combinação de reações de desidratação, descarboxilação e desidrogenação, que é dependente da temperatura de reação. O tamanho e o grau de grafitação dos PCs podem ser influenciados pela carbonização e pelas condições de desidratação, que podem interferir nas propriedades fotoluminescentes dos PCs (XIA *et al.*, 2019).

Figura 4 - Esquema representando a polimerização e carbonização via método hidrotermal de pontos de carbono.



Fonte: Adaptação da Literatura (ZENG *et al.*, 2021).

1.3 Propriedades dos PCs via irradiação em micro-ondas

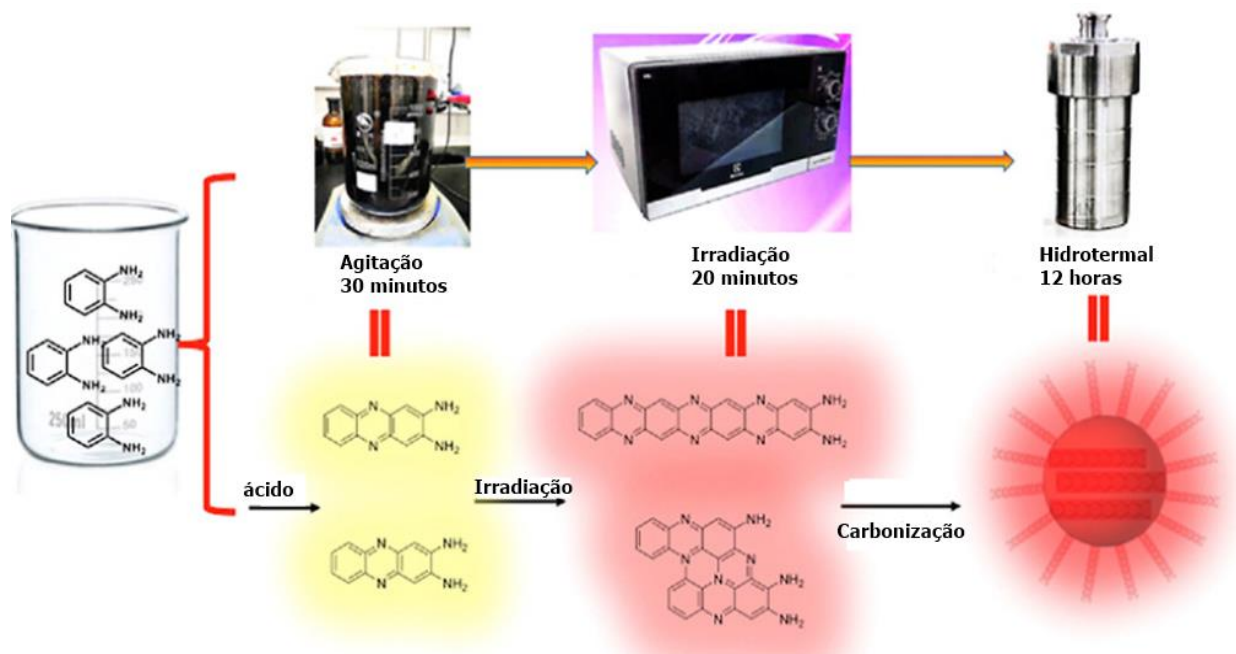
No trabalho de Liu e colaboradores 2016, utilizaram-se como precursor a molécula orgânica *o*-fenilenodiamina (OPDA) e água para obtenção dos PCs via irradiação em micro-ondas assistido durante 20 minutos, no qual os PCs demonstraram um comportamento fotoluminescente dependente da excitação e excelente solubilidade em água devido a alguns grupos funcionais como aminas e hidroxilas na superfície. A emissão de fluorescência aparece em 573 nm quando a solução dos PCs é excitada em 400 nm, e o rendimento quântico do nanomaterial foi de 38,5%. A aplicabilidade nesse trabalho foi na área analítica para detecção de Fe^{3+} e H_2O_2 , atuando assim como uma espécie de sonda, também se utilizou os PCs em células SW480, onde foi possível obter a fluorescência do nanomaterial nas células.

Xiao e colaboradores 2014, partiu-se do precursor benzenodiolis (catecol, resorcinol e hidroquinona) e ácido sulfúrico pelo método assistido por micro-ondas durante 2 minutos. Em seu estudo apresentou-se as diferenças nas propriedades químicas e fluorescentes dos PCs, causadas pelos precursores que apresentam diferenças estruturais. Os rendimentos quânticos dos três tipos de PCs derivados de catecol, resorcinol e hidroquinona apresentaram valores em 9,2%, 42,8% e 26,5.

Peng e colaboradores 2022, realizou um estudo para obter PCs em escala de quilogramas a partir da mistura de *o*-fenilenodiamina (OPDA), ácido clorídrico, hidroperóxido de *tert*-butila e água deionizada via micro-ondas, na temperatura 150°C por 20 min. Ao analisar o produto formado, observou-se que as moléculas de OPDA podem se autocondensar para formar 2,3-diaminofenazina (com emissão de fluorescência em 568 nm) em condições ácidas, e as moléculas de 2,3-diaminofenazina podem ainda polimerizar para formar dímeros (com emissão

de fluorescência em 626 nm) (Figura 5). Nesse estudo também, utilizaram-se a metodologia hidrotermal em autoclave durante 12 horas, no qual obteve-se ao final, uma outra estrutura de PCs, inferindo que diferentes metodologias formam diferentes produtos.

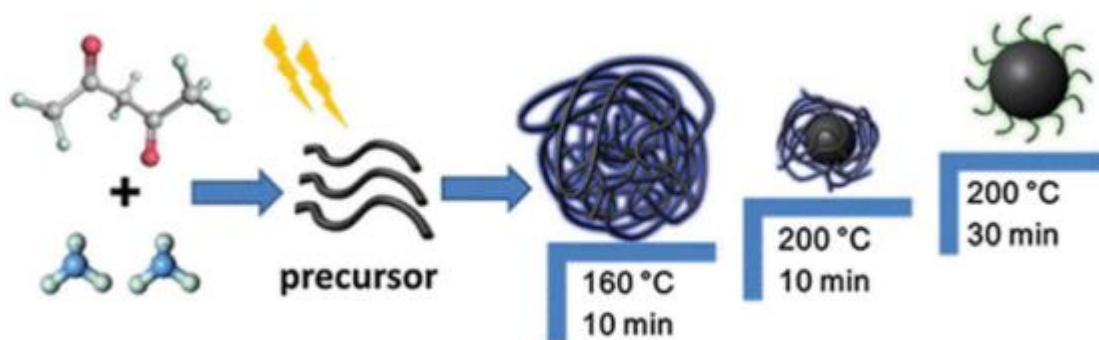
Figura 5 - Esquema representando a rota sintética adotada no trabalho de Pen e colaboradores 2022.



Fonte: Adaptação da Literatura (Ji *et al.*, 2022).

O grupo de Xu em 2017 realizou um estudo sistemático sobre a correlação entre a temperatura de reação, tempo e diferentes tipos de formações de PCs através da síntese assistida por micro-ondas. No qual foi possível constatar que em baixas temperaturas (60 °C), os nanopontos de polímeros de pequenas moléculas orgânicas cujo centro de fotoluminescência é o estado da molécula, foram obtidos com rendimento quântico superior a 51,61%. Com o aumento da temperatura até 200 ° C, os produtos intermediários de transição chamados nanopontos de carbono começaram a aparecer. Prolongando o tempo de síntese, os PCs são finalmente formados, e sua maior fotoluminescência surge do núcleo de carbono. Nesse trabalho é possível identificar diferentes estruturas em uma mesma rota sintética variando apenas os parâmetros, tempo e temperatura (Figura 6).

Figura 6 - Ilustração esquemática do processo de formação dos PCs em relação ao tempo e temperatura de irradiação via micro-ondas.



Fonte: Adaptação da Literatura (He *et al.*, 2017).

Conforme descrito nos trabalhos citados a partir das irradiações micro-ondas é possível notar que diferentes precursores, tempos de reação e temperaturas, influenciam diretamente nas propriedades ópticas e estruturais dos PCs. Sendo assim, é de extrema importância estudar o mecanismo de fluorescência que são atribuídos para cada PCs sintetizado.

1.4 Mecanismo de fluorescência para os PCs

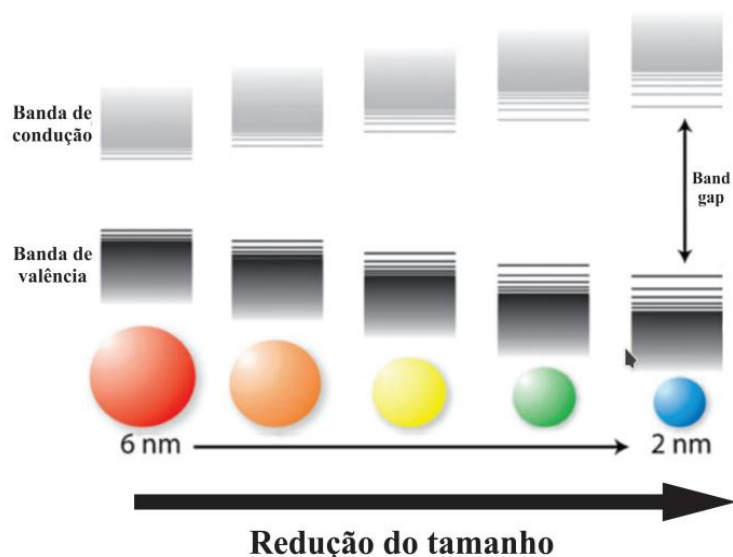
A propriedade apresentada pelos PCs que mais desperta interesse dos cientistas é a sua propriedade de luminescência (KHAYAL *et al.*, 2021). Entretanto o mecanismo de luminescência ainda não é bem esclarecido e permanece em aberto na literatura. Essas dificuldades estão relacionadas, principalmente, pelas inúmeras possibilidades de formação utilizando diferentes precursores e várias rotas de síntese, tornando-se um sistema complexo para ser definido com uma única teoria de mecanismo de emissão.

Atualmente, os mecanismos de luminescência mais aceitos são o estado de superfície, efeito de confinamento quântico e estados moleculares (YAN *et al.*, 2019; LIU, *et al.*, 2019).

O efeito de confinamento quântico é um mecanismo de luminescência relatado para materiais semicondutores, os pontos quânticos, de escala nanométrica e que apresentam dimensões zero. Esse efeito está relacionado com a diferença de energia existente entre as bandas de valência e bandas de condução, o *bandgap*, que ocorre em virtude do tamanho dos em escala nanométrica. Em PCs esse mecanismo aparece em estrutura que contém grandes domínios π conjugados e poucos grupos funcionais de superfície, no qual o tamanho dessas nanopartículas influencia nas três dimensões do espaço, sendo estas, altura, largura e o

comprimento, fazendo com que os movimento dos elétrons deslocalizados entre os níveis de energia quantizados se torne limitado e conforme o tamanho diminuiu o *bandgap* aumenta (Figura 7), resultando na alteração das propriedades ópticas e eletrônicas dos PCs (SOUZA, 2021).

Figura 7 - Ilustração do confinamento quântico em relação ao tamanho das partículas.



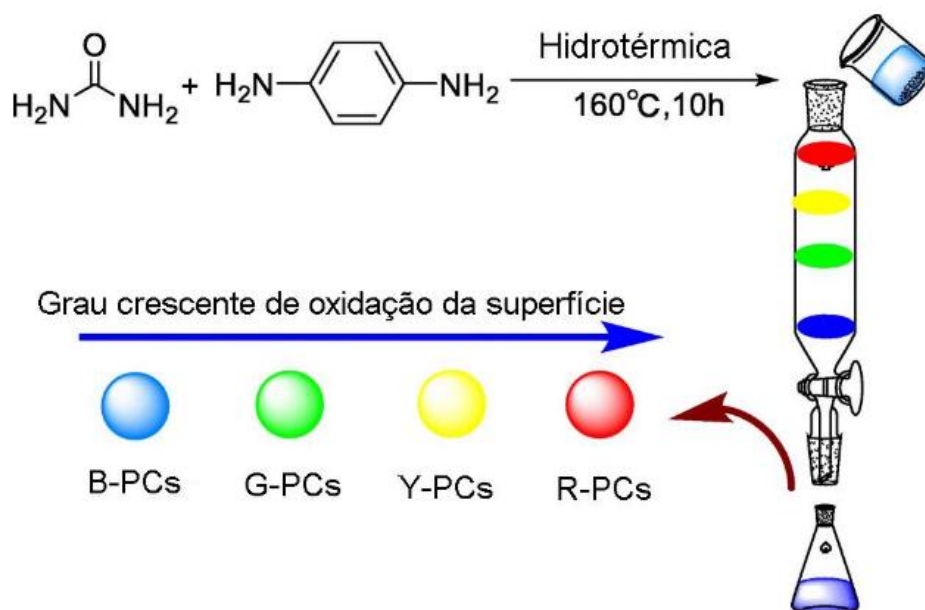
Fonte: (MONTEIRO, 2019).

Yuan e colaboradores 2017, sintetizaram PCs com emissões na região do azul (430 nm), verde (513 nm), amarelo (535 nm), laranja (565 nm) e vermelho (604 nm), com tamanhos médios de 1,95, 2,41, 3,78, 4,90 e 6,68 nm, respectivamente. Sendo possível observar que à medida que os PCs aumentam de tamanho, o domínio π conjugado aumenta, o bandgap diminui gradualmente, resultando na emissão de fluorescência ajustável da região do azul para o vermelho, inferindo a possibilidade do efeito de confinamento quântico na emissão de fluorescência.

Outro mecanismo de fluorescência citado é proveniente dos estados de superfície, que são gerados a partir da oxidação da superfície no processo de síntese. Os estados de superfície são originados, principalmente, pela oxidação da superfície atuando como armadilhas, quanto maior o grau de oxidação da superfície, ou seja, quanto mais oxigênio presente na superfície, maior a quantidade de defeitos e armadilhas gerados na estrutura. A emissão proveniente dos estados de superfície ocorre pelo relaxamento da radiação do estado excitado para o estado fundamental (YUAN *et al.*, 2018; ALI *et al.*, 2020).

No trabalho de Ding e colaboradores (2017), foram sintetizados diferentes PCs fotoluminescentes via síntese hidrotérmica, e observaram que os PCs tinham tamanho de partícula e núcleo de carbono semelhantes, mas grau de oxidação do estado da superfície distintos, que resultou em um desvio para o vermelho em sua emissão de fluorescência, na região de 440 para 625 nm e isso ocorreu devido ao aumento da incorporação de espécies de oxigênio em suas estruturas de superfície (Figura 8).

Figura 8 - Esquema da síntese dos PCs no trabalho de Ding e colaboradores 2017.

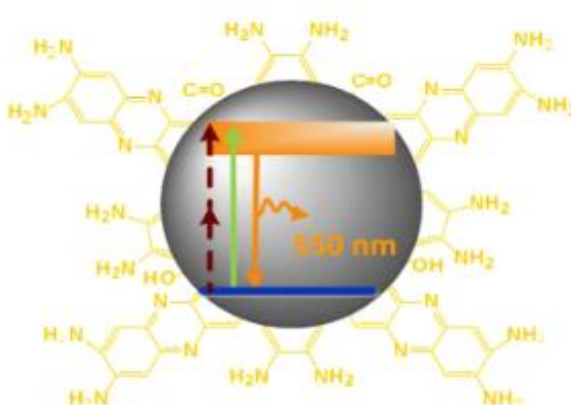


Fonte: (LIMA, 2020).

Como citado no processo de formação dos PCs, durante o processo de polimerização-carbonização na síntese dos PCs, pode-se formar estruturas híbridas polímeros/carbonos com redes poliméricas na superfície, denominado estados moleculares. No qual, fragmentos estruturais dos precursores podem ser retidos nos produtos dos PCs, afetando diretamente a estrutura e as propriedades de luminescência. Em alguns casos, a superfície passivada da rede polimérica ou das moléculas orgânicas dominam as propriedades ópticas dos PCs devido à passivação dos locais de estados de superfície e a formação do nível de energia da superfície (XIA *et al.*, 2019).

No trabalho de Ostrikov e colaboradores 2021, a emissão de fluorescência surge a partir da oxidação do precursor *o*-fenilenodiamina em 2,3-diaminofenazina, no qual sugere que os produtos fluoróforos da conversão dos precursores (estados moleculares) são determinantes para as propriedades de luminescência dos PCs (Figura 9).

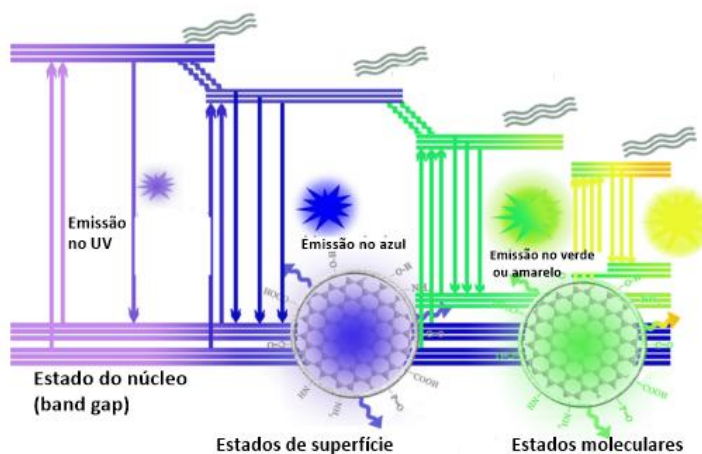
Figura 9 - Mecanismo de emissão dos PCs quando se forma uma estrutura híbrida, ou seja, cadeias de polímeros na superfície que são denominados estados moleculares.



Fonte: (ZHANG *et al.*, 2020).

Portanto, dependendo da estrutura formada na rota sintética, diferentes mecanismos podem ser atribuídos, e conseqüentemente diferentes emissões de fluorescência podem surgir, tal como, o mecanismo band gap geralmente apresenta emissão na região do Ultravioleta, o estado de superfície geralmente emite na região do azul e os estados moleculares geralmente emitem na região do verde ou amarelo (Figura 10).

Figura 10 - Representação do mecanismo de fluorescência dos PCs dependendo da sua estrutura formada na rota sintética.

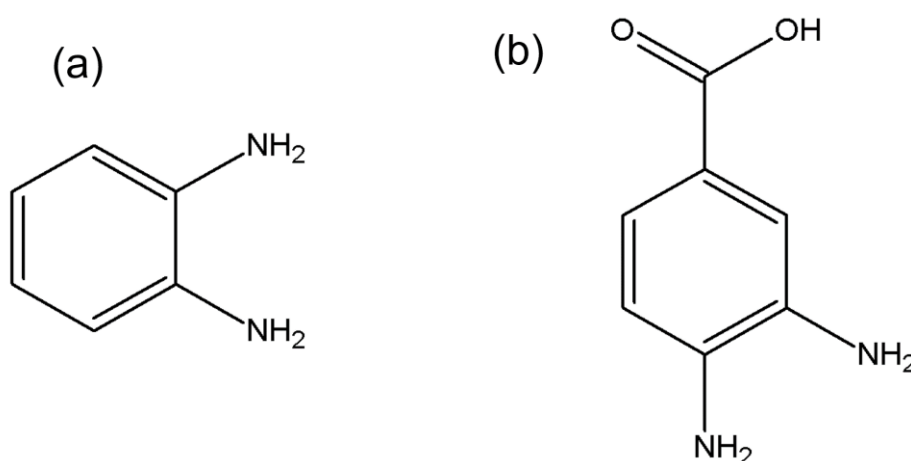


Fonte: Adaptação da literatura (ZHU *et al.*, 2019).

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são sintetizar e caracterizar pontos de carbono (PCs) a partir de diferentes precursores carbonáceos sob irradiação em micro-ondas doméstico. Os precursores carbonáceos propostos são *o*-fenilenodiamina (OPDA) e o ácido 3,4-diaminobenzoico (3,4-DABA) (Figura 11), na qual as estruturas se diferem pela presença de um carboxilato na estrutura do DABA.

Figura 11 - Estruturas químicas dos precursores carbonáceos OPDA(a) e 3,4-DABA (b).



Fonte: Autora.

2.1 Objetivos específicos

- Caracterizar a estrutura dos pontos de carbono utilizando técnicas tais como: espectroscopia na região do Infravermelho (IV), espectroscopia Raman, Difração de raio-X de pó (DRX), Análise Termogravimétrica (TGA), Força Atômica (AFM) e potencial zeta.
- Caracterizar as propriedades fotoluminescente dos pontos de carbono utilizando técnicas como: espectroscopia na região do UV/Vis, excitação e emissão de fluorescência, rendimento quântico de fluorescência, intensidade e emissão de fluorescência em função do pH, solvatochromismo, intensidade de fluorescência variando a temperatura e tempo de vida.
- Avaliação da citotoxicidade *in vitro* dos nanomateriais sintetizados frente a linhagem celular B16F10 e melanoma humana da linhagem A375.
- Avaliação da morfologia celular.

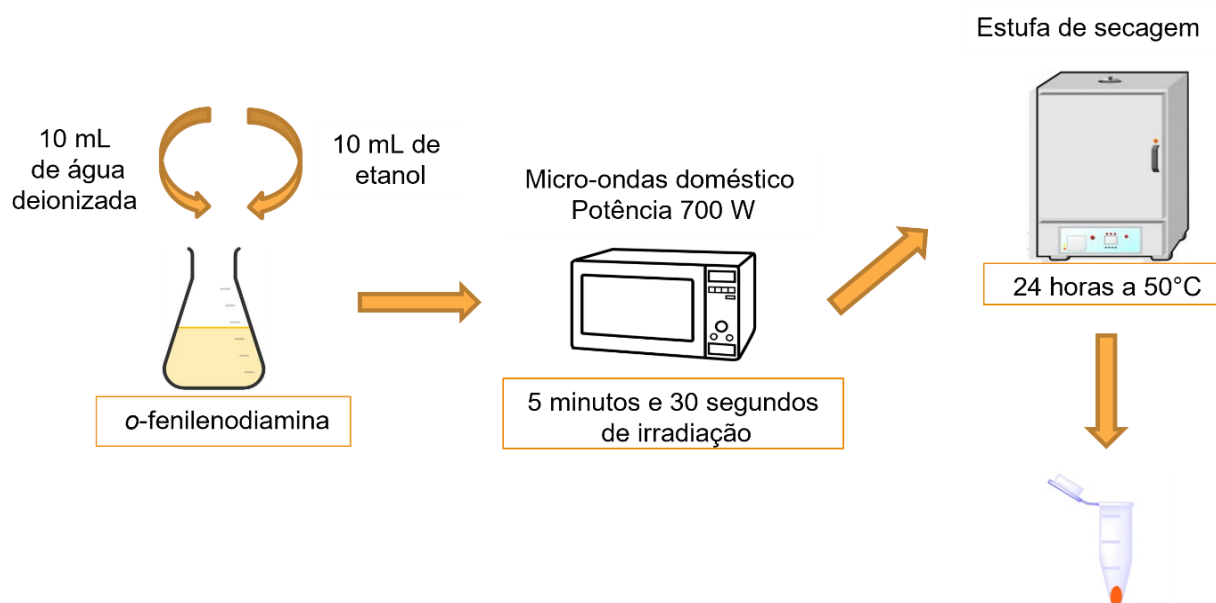
3 PARTE EXPERIMENTAL

Os reagentes utilizados para obtenção dos PCs foram a *o*-fenilenodiamina (98%) e ácido 3,4-diaminobenzóico (97%) com procedência da Aldrich Chemicals. Álcool etílico PA proveniente da Chemicals. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura (ASTM tipo I, com resistividade $\geq 18,3 \text{ M}\Omega \text{ cm}$), obtida a partir de um sistema de ultrapurificação Megapurity® (Billerica, MA, EUA). Para o estudo de solvatocromismo, utilizou-se a acetona (99,5%) procedência da Isofar, a dimetilformamida (DMF-95%) da Vetec, o dimetilsulfóxido (DMSO-99,9%) da Neon e o álcool metílico P.A da Isofar.

3.1 Síntese dos pontos de carbono (PCs)

Os PCs-OPDA foram obtidos a partir da dissolução de 0,150 g do precursor OPDA em uma solução contendo 50% (v/v) etanol e água (H₂O), especificamente 10 mL de ambos os solventes. Posteriormente, a solução resultante foi submetida à irradiação em micro-ondas doméstico, da marca Midea em potência máxima (700 W), durante 5,5 minutos (Figura 12). Vale ressaltar que o processo de irradiação não foi em uma única etapa, isto é, os 5 minutos direto de irradiação, de tempos em tempos (aproximadamente 50 segundos) retirava a solução, agitava manualmente com o auxílio de uma luva de silicone e retornava ao micro-ondas doméstico, além disso, acrescentava mais solução (50% etanol e H₂O) quando o volume era reduzido. Após o tempo total, o produto formado foi resuspenso em água (10 mL) e submetido a estufa de secagem durante 24 horas a 50 °C para obtenção de um sólido amarelo brilhante.

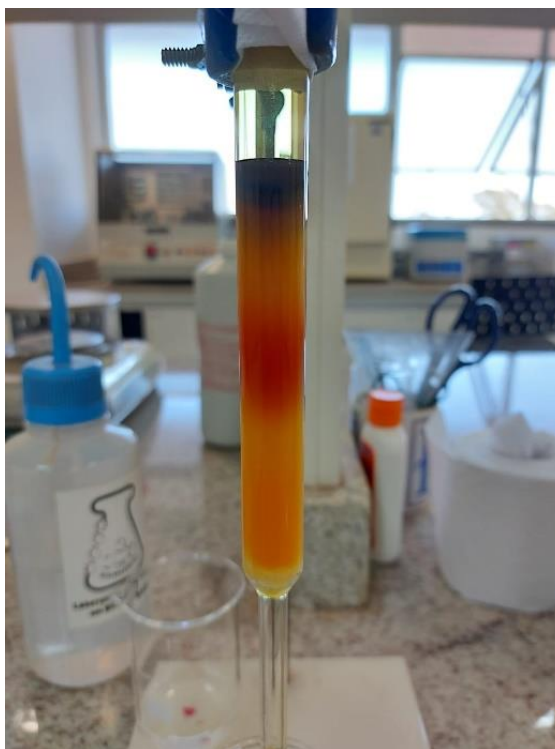
Figura 12 - Síntese dos PCs-OPDA obtidos pelo método hidrotermal em micro-ondas doméstico.



Fonte: Autora.

Os PCs-OPDA foram purificados em duas etapas, no qual a primeira etapa utilizou-se a cromatografia em coluna com base na literatura de Michaud *et al* e a segunda etapa utilizou-se filtro de seringa com poro de 0,20 μm (Kasvi). Para o preparo da coluna empregou-se a sílica-gel com tamanho de poro 60 Å e tamanho de partícula de 200-500 *mesh* (Sigma-Aldrich), o sólido PCs-OPDA foi dissolvido em acetonitrila (AC) e as condições de eluições foram 100% AC e a última fração 80% AC + 20% H₂O (Figura 13). As frações obtidas na primeira etapa foram evaporadas na estufa de secagem para obtenção do sólido e após esse processo, as mesmas foram purificadas com filtro de seringa, e ao final a solução foi novamente submetida a estufa de secagem para obtenção do sólido amarelo purificado.

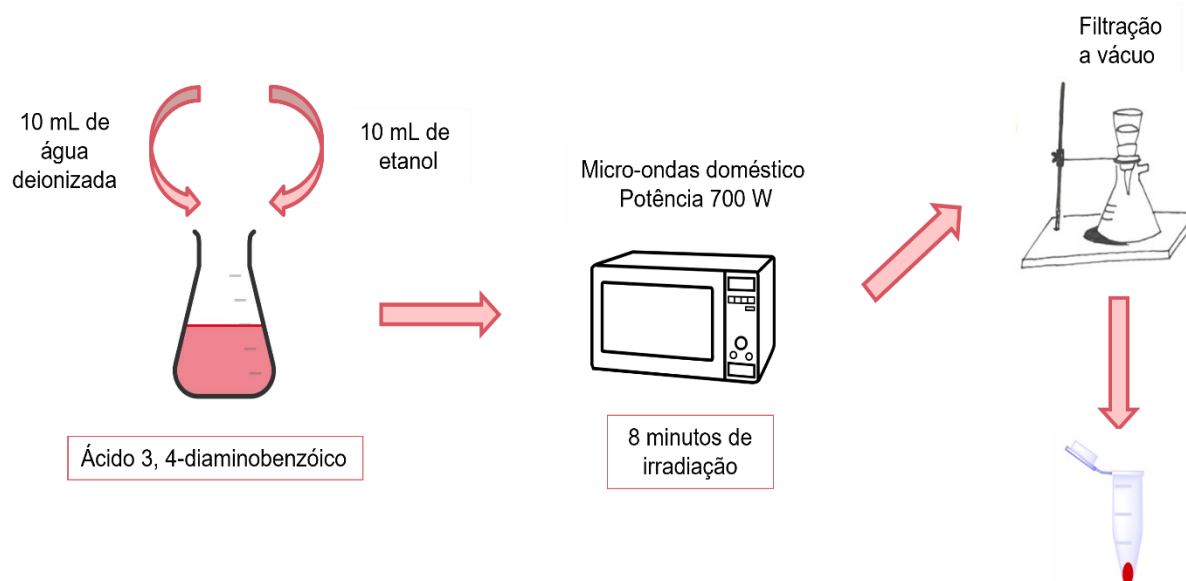
Figura 13 - Imagem da coluna cromatográfica para purificação dos PCs-OPDA.



Fonte: Autora.

Para a síntese dos PCs-DABA, pesou-se 0,150 g de 3,4-DABA e em seguida, dissolveu-se em uma solução contendo 50% etanol e H₂O. Posteriormente, a solução resultante foi submetida à irradiação de micro-ondas doméstico, da marca Midea em potência máxima (700 W), durante 8 minutos. Vale ressaltar que o processo de irradiação não foi em uma única etapa, isto é, os 8 minutos direto de irradiação, de tempos em tempos (aproximadamente 50 segundos) retirava a solução, agitava manualmente com o auxílio de uma luva de silicone e retornava ao micro-ondas doméstico, além disso, acrescentava mais solução (50% etanol e H₂O) quando o volume era reduzido. Após o tempo total de irradiação, ocorreu a precipitação de um sólido com coloração vermelho terroso. A suspensão aquosa foi mantida em repouso em refrigerador (~5 °C) durante 24h, para precipitação total do sólido cristalino. O sólido foi filtrado a vácuo e seco em dessecador (Figura 14).

Figura 14 - Síntese dos PCS-DABA obtidos pelo método hidrotermal em micro-ondas doméstico.



Fonte: Autora.

Os PCs 3,4-DABA filtrados foram purificados utilizando filtro de seringa com poro de 0,20 μm (Kasvi), após o sólido ser dissolvido em água. Posteriormente a solução foi submetida a estufa de secagem para obtenção do sólido purificado.

3.2 Caracterizações dos PCs

3.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho (IV) foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro da marca Perkin Elmer®, de modelo FT-IR Frontier Single Range. O equipamento utilizado pertence ao Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT), do Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM), do Instituto de Química (IQ), da UFU. As amostras foram analisadas em estado sólido, utilizando-se um acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante, sendo submetidas à varredura espectrofotométrica de 4000 a 220 cm^{-1} .

3.2.2 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman dos PCs foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro LabRAM HR Evolution, da marca Horiba Scientific. O equipamento utilizado pertence ao Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Instituto de Física (LM-INFIS), do Instituto de Física (INFI), da UFU. As amostras de PCs em estado sólido foram submetidas à varredura espectrofotométrica na região de 0 a 4000 cm^{-1} .

3.2.3 Difração de Raio X de pó (DRX)

Os difratogramas dos PCs e de seus precursores foram obtidos em um difratômetro Shimadzu XRD-600 LabX, em uma potência de 40 Kv com uma corrente de 30 mA e radiação $K\alpha$ do Cu (1,5406 Å). O equipamento utilizado pertence ao laboratório multiusuário do Instituto de Química (IQ), da UFU.

3.2.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

As Análises Termogravimétricas dos PCs foram realizadas em um Analisador Térmico, modelo DTG-60H, da Shimadzu, e um TGA 55, da TA Instruments. Nos ensaios, cerca de 5 mg dos PCs sólidos foram aquecidos, em porta amostra de alumínio, entre 30 e 900 °C, na razão de aquecimento de 5 °C min^{-1} , sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 60 mL min^{-1} . Os ensaios

foram realizados no Laboratório de Equipamentos Multiusuários da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Pontal – RELAM.

3.2.5 Microscopia de Força Atômica (AFM)

As análises de microscopia de força atômica dos PCs foram realizadas a partir da varredura por uma sonda, utilizando-se um microscópio Shimadzu Scanning modelo SPM-9600 no modo AFM. As amostras de PCs foram suspensas em água deionizada numa concentração de 0,1 mg/ml, gotejadas em placas de mica recém-clivadas (ScanSens®) e levadas ao microscópio para a obtenção das imagens. Os perfis das imagens foram obtidos utilizando-se o software Gwyddion®. O equipamento utilizado pertence ao laboratório multiusuário do Instituto de Física (INFIS) da UFU.

3.2.6 Espectroscopia na Região do Ultravioleta e Visível (UV/Vis)

Os espectros na região do UV/Vis foram obtidos empregando-se um espectrofotômetro UV-Visível-NIR Cary Series, da marca Agilent Technologies®. O equipamento utilizado pertence ao Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal (RELAM), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU. As soluções contendo os PCs foram submetidas à varredura espectrométrica de 800 a 200 nm, em uma cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico.

3.2.7 Espectroscopia de Fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência dos PCs foram obtidos a partir da utilização de um espectro fluorímetro Cary Eclipse, da marca Agilent Technologies®, empregando uma cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal (RELAM), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU.

3.2.8 Estudo da intensidade e emissão de fluorescência dos PCs em função do pH

Os estudos foram realizados em solução tampão Britton-Robison, como descrito por BRITTON & ROBISON. As soluções dos PCs em tampão foram preparadas qualitativamente, sendo utilizado como parâmetro o valor da absorbância $\leq 0,3$. No procedimento em questão, avaliou-se a influência do pH sob a intensidade de fluorescência emitida pelos PCs, na faixa entre 2 -12.

3.2.9 Rendimento quântico de fluorescência (ΦF)

Para determinação do rendimento quântico de fluorescência foi utilizado o método indireto, no qual foi utilizado padrão de fluorescência com ΦF conhecido e soluções dos PCs sintetizados. Nesse método as soluções dos PCs e dos padrões devem apresentar intensidade de absorbância com valor $< 0,1$. O rendimento quântico de fluorescência (ΦF) do PCs-OPDA foi determinado, utilizando-se do padrão de fluoresceína preparada em NaOH em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (PARVIN & MANDAL, 2017), sendo os espectros de fluorescência obtidos no intervalo de 500 a 800 nm com excitação em 491 nm, utilizando-se janelas de emissão e excitação em 2,5 e 5. O rendimento quântico de fluorescência do PCs 3,4-DABA foi determinado utilizando-se do padrão rodamina 6G (MANDAL *et al.*, 2019), na qual foi preparado no solvente etanol, sendo os espectros de fluorescência obtidos no intervalo de 500 a 800 nm com excitação em 488 nm, utilizando-se janelas de emissão e excitação em 5 e 2,5. Os padrões de fluorescência para os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA foram diferentes visto que ambos apresentam diferentes regiões de absorção na região do UV/Vis. Posteriormente, as áreas dos espectros de fluorescência foram obtidas matematicamente através da integral do espectro obtidos pelo software do espectrofluorímetro (Equação 1).

$$\Phi F = \Phi_P \left(\frac{\text{Grad}_A}{\text{Grad}_P} \right) \left(\frac{n_P^2}{n_A^2} \right) \quad (1)$$

Os subscritos P e A se referem as soluções padrões e as soluções aquosas dos PCs, respectivamente, o símbolo ΦF representa o valor de rendimento quântico de fluorescência, Grad é a área de intensidade de fluorescência integrada e n é o índice de refração do solvente.

3.2.10 Microscopia de imagem com tempo de vida de fluorescência

O tempo de vida de fluorescência dos PCs foram obtidos utilizando-se o método da contagem de fótons únicos correlacionados com o tempo (TCSPC) a partir de duas técnicas, sendo a técnica FLIM (Imagem de fluorescência vitalícia) e a técnica de fluorescência resolvida no tempo. Na técnica FLIM utilizou-se soluções aquosas dos PCs no estado excitado, em uma cubeta de quartzo e excitando-os em 440 nm, com o microscópio MicroTime 200 da marca PicoQuant. Para a técnica de fluorescência resolvida no tempo utilizou-se uma fonte de excitação Tsunami 3950 Spectra Physics, laser de titânio-safira e laser pulsado Millenia X Spectra Physics, excitando-se as amostras em 427 nm. Para a finalização dos dados, utilizou-se o software Edinburgh Instruments®. O equipamento utilizado pertence ao grupo de Fotobiofísica da Universidade de São Paulo (USP).

3.2.11 Potencial zeta

As análises de potencial zeta foram obtidas utilizando-se o equipamento da marca Malvern Zetasizer da FCFRP – USP sob coordenação da Profa. Dr^a. Renata Fonseca Vianna Lopez. Para a análise as amostras em suspensão de PCs foram diluídas 10 vezes em água Ultrapura.

3.3 Estudo de viabilidade celular

O estudo de viabilidade celular foi realizado pelo Laboratório de Físico-Química e Bioinorgânica (LAFQBIO) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP - USP).

3.3.1 Linhagem celular e cultivo

As células de melanoma murino da linhagem B16F10 e células de melanoma humano de linhagem A375 foram cultivadas em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) contendo 10% de soro fetal bovino (FBS), L-glutamina (2 mM) e os antibióticos penicilina (100 UI/mL) e estreptomicina (100 mg/mL). Estas foram mantidas em incubadora úmida com temperatura constante de 37°C e com 5% de CO₂.

3.3.2 Ensaio de viabilidade celular – Método do MTT

Os efeitos dos PCs na viabilidade celular foram realizados em duas linhagens celulares diferentes, sendo estudado frente as células B16F10 e células de melanoma humano de linhagem A375. Foram avaliadas através do uso do reagente MTT [3-(4,5-dimetiltiozol-2-brometo de il)-2,5-difeniltetrazólio] (MTT) segundo Mosmann (1983), com modificações. As células foram plaqueadas (1×10^4 células/poço) em placas de 96 poços estéreis e mantidas em incubadora úmida (37°C e 5% de CO₂). Após 24h, foram adicionados aos poços as concentrações (de 2,5 a 0,15 mg/mL) do PCs OPDA ou DABA por mais 24 h nas mesmas condições de cultivo descritas anteriormente. Após o período, o sobrenadante foi removido e foi adicionada uma solução de 1 mg/mL de MTT por 4 h. Então, a solução foi removida e os cristais de formazan formados durante o período foram solubilizados em DMSO. A absorbância foi realizada em leitor de placa de ELISA em comprimento de onda de 540 nm. O *software* GraphPad Prism versão 8.0 foi utilizado para a análise estatística (foi realizada a análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Dunnet).

3.3.3 Ensaio de morfologia celular

As células foram plaqueadas (1×10^4 células/poço) em placas de 96 poços estéreis e mantidas em incubadora úmida (37°C e 5% de CO₂). Após 24h, foram adicionados aos poços as concentrações (de 2,5 a 0,15 mg/mL) do PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA por mais 24 h nas mesmas condições de cultivo descritas anteriormente. Após o período imagens foram capturadas com auxílio de uma câmera (Nikon DS-U3) acoplada ao microscópio Nikon Eclipse Ti.

3.3.4 Ensaio de superóxido/redução de NBT (Nitroblue tetrazolium)

Os ensaios de NBT foram realizados conforme descrito por de Lima 2019. Sendo realizado com a linhagem celular A375, com adição dos PCs em 24 h de incubação, nas concentrações de 0,3 a 1,25 mg/mL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Síntese dos PCs

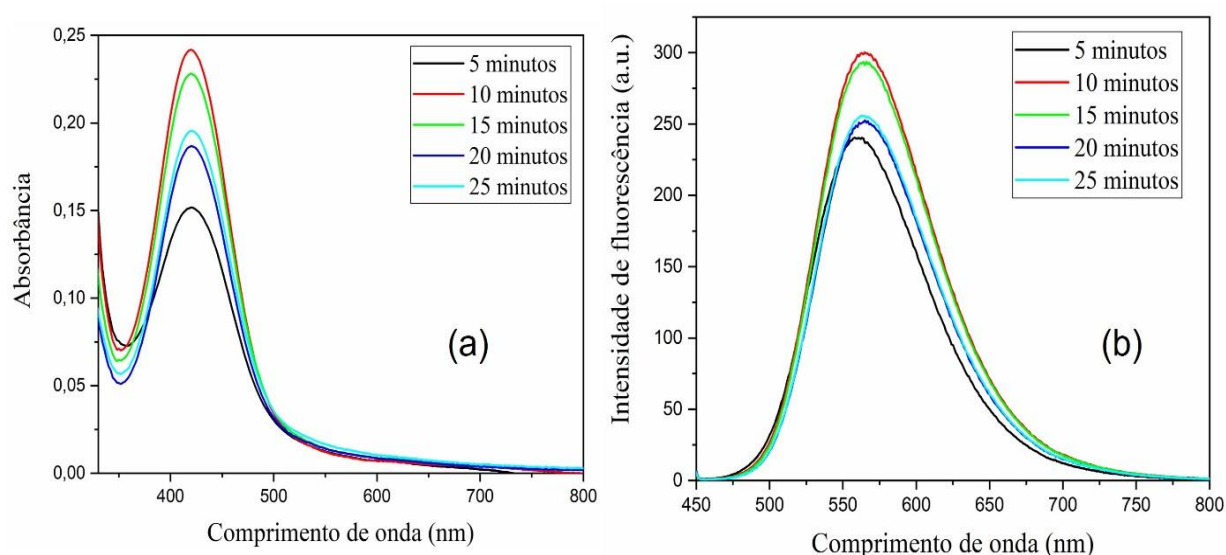
Os PCs propostos nesse trabalho foram preparados através do método hidrotermal utilizando-se irradiação via micro-ondas doméstico (HUO *et al.*, 2021; KHAIROL *et al.*, 2021).

Neste trabalho, o tempo de irradiação em micro-ondas doméstico para as soluções etanólicas dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA foram determinados a partir do estudo da avaliação do tempo de irradiação em função da intensidade e região de emissão de fluorescência.

O estudo de variação do tempo de irradiação foi realizado com a finalidade de observar se haveria mudanças significativas na intensidade e região de emissão de fluorescência. Sendo assim, alíquotas da solução irradiada foram coletadas nas mesmas condições de volume para comparação do resultado obtido.

Os tempos de irradiação da solução de PCs-OPDA foram estudadas em: 5, 10, 15, 20 e 25 minutos. Os resultados que estão apresentadas na Figura 15 mostram que a variável tempo exerce uma influência sobre a intensidade e região de emissão de fluorescência (Figura 15-B), além de exercer uma influência no aumento da absorbância (Figura 15-A). Entretanto, os valores não foram tão significativos, pois a absorbância teve um aumento de 0,09 e a intensidade de fluorescência um aumento de 60.

Figura 15 - Perfil espectral dos PCs-OPDA variando o tempo de irradiação na região do UV/Vís (A) e espectro de fluorescência (B).



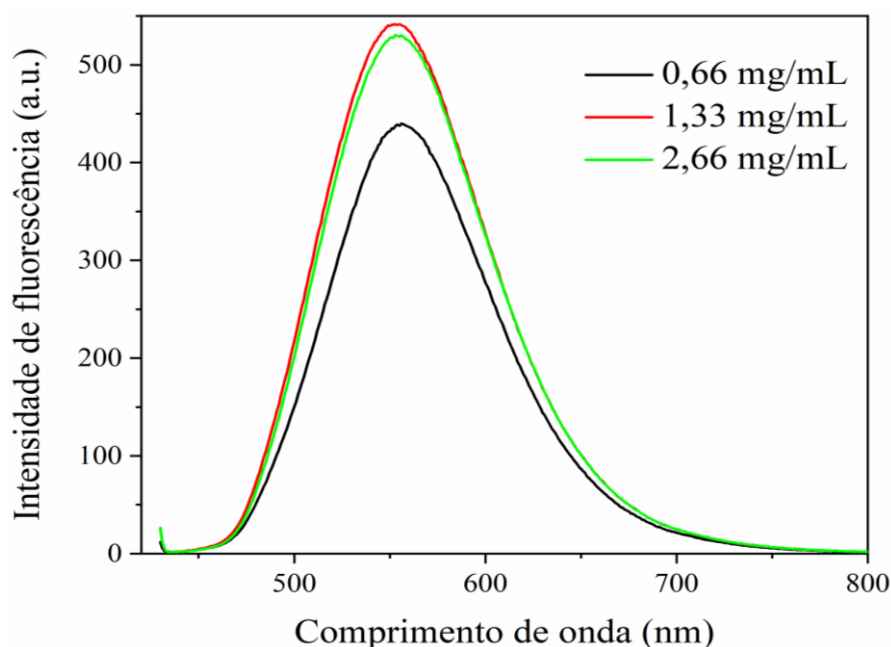
Fonte: Autora.

Pode-se observar também que a intensidade de fluorescência está condizente com o aumento da absorvância das alíquotas analisadas, visto que o menor valor de absorvância apresenta a menor intensidade de fluorescência. Sendo assim, realizou-se um estudo variando a concentração da solução dos PCs-OPDA otimizando a irradiação em 5 minutos, para observar se a intensidade de fluorescência também está relacionada com a concentração, independente do tempo que é submetida a irradiação.

A Figura 16 apresenta o resultado variando a concentração, no qual infere que a concentração modifica a intensidade de fluorescência com valor mais significativo que a própria irradiação, sendo a intensidade aumentada em mais de 100.

Desse modo, conclui-se que a intensidade de fluorescência sofre influência do tempo de irradiação, entretanto, o valor da concentração influencia mais significativamente na intensidade, como demonstrado nos espectros da Figura 16, sendo assim, nossas sínteses foram otimizadas em 5 minutos visto que não apresenta propriedades ópticas tão significativas irradiando mais tempo.

Figura 16 - Perfil espectral dos PCs-OPDA variando as concentrações.

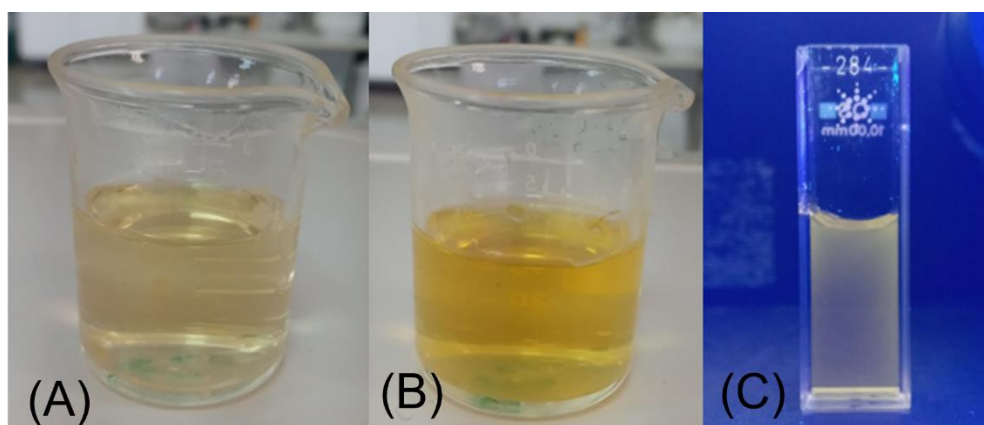


Fonte: Autora.

Durante o processo de irradiação foi possível verificar a intensificação da coloração das soluções etanólicas de OPDA em relação ao tempo que estava sendo exposto a irradiação. As Figuras 17 (B) evidencia tal afirmação, e com o intuito de verificar se alteração da coloração da solução era proveniente da formação de PCs, as mesmas foram acompanhadas através da

emissão de fluorescência utilizando-se como fonte de excitação a lâmpada UV (365 nm), conforme apresentados nas imagens das Figuras 17 (C).

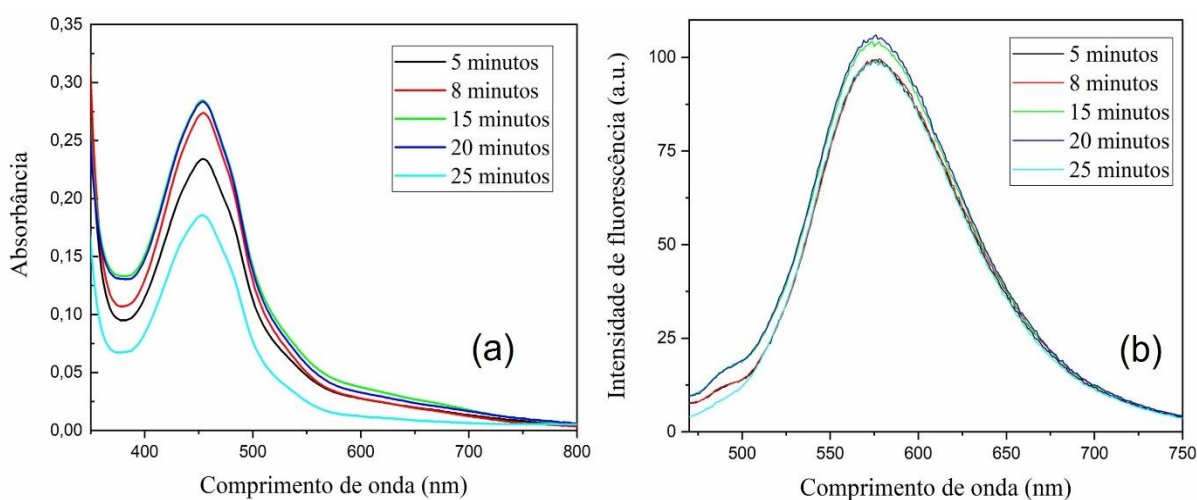
Figura 17 - Imagens das soluções de OPDA antes da carbonização(A), depois da carbonização via irradiação em micro-ondas doméstico (B), e sob excitação da luz UV (365 nm) (C).



Fonte: Autora.

Os estudos do efeito do tempo de irradiação para os PCs 3,4-DABA foram realizados em cinco tempos diferentes: 5, 8, 15, 20 e 25, nas condições 50 uL em 3 mL de água deiozinada. Os resultados apresentados na Figura 18 demonstram que a intensidade e região de emissão de fluorescência não sofre mudanças significativas. Nos PCs 3,4-DABA os valores de absorbância não alteram significamente os valores de intensidade de fluorescência. Assim, o tempo de irradiação proposto para os PCs 3,4-DABA nesse trabalho a partir desse estudo foi de 8 minutos, pois observa-se que a variável tempo não influenciou significamente na intensidade e região de fluorescência.

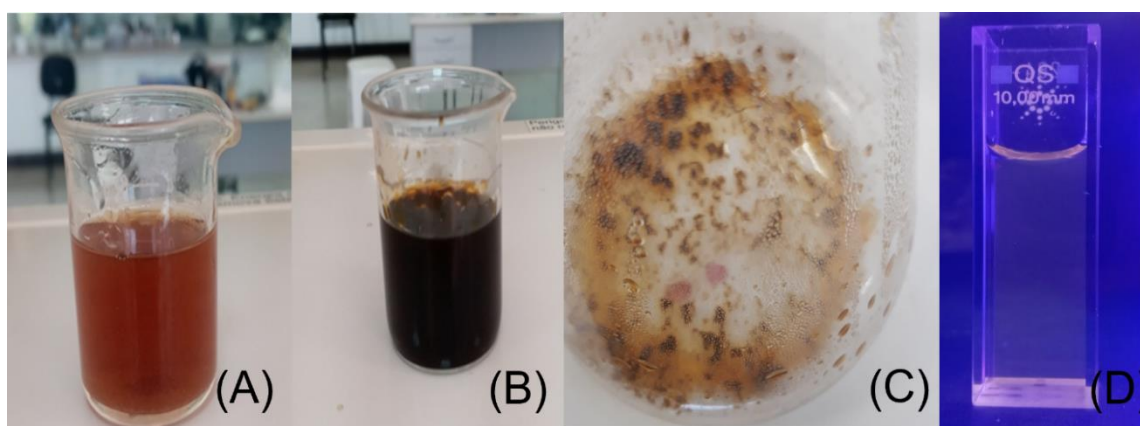
Figura 18 - Perfil espectral dos PCs 3,4-DABA variando o tempo de irradiação na região do UV/Vís (A) e espectro de fluorescência (B).



Fonte: Autora.

Para os PCs 3,4-DABA, também foi possível verificar a intensificação da coloração das soluções etanólicas em relação ao tempo que estava sendo exposto a irradiação (Figuras 19 B) e ao final foi possível verificar a formação de sólidos (Figura 19 C). As Figuras 19 (D) apresenta a emissão de fluorescência utilizando-se como fonte de excitação a lâmpada UV (365 nm).

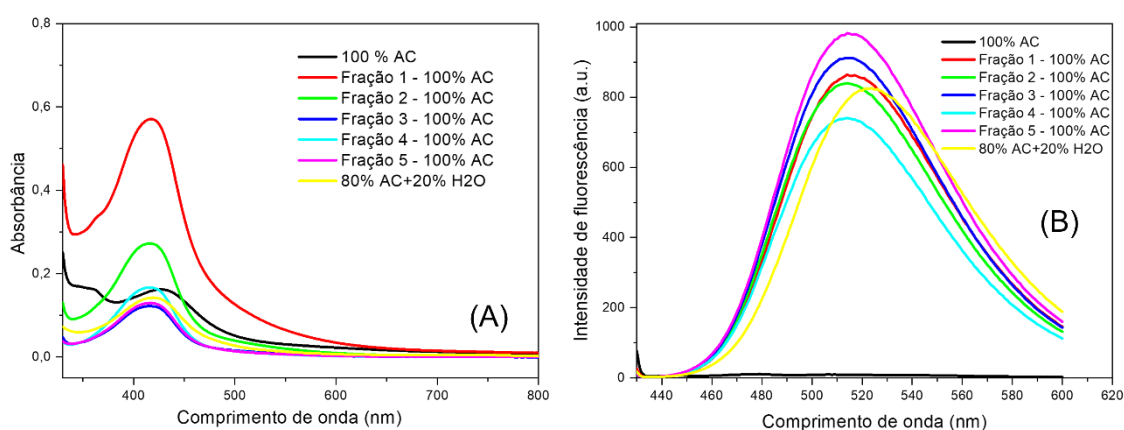
Figura 19 - Imagens das soluções do 3,4-DABA antes da carbonização(A), durante a carbonização via irradiação em micro-ondas doméstico(B), a formação do sólido após a carbonização (C) e sob influência da luz UV (365 nm) (D).



Fonte: Autora.

Tendo em vista que os PCs-OPDA formados encontram-se em suspensão aquosa diferentemente dos PCs 3,4-DABA que foram isolados em estado sólido. Propusemos conforme descrito na literatura (MICHAUD *et al.*, 2021) a purificação dos PCs-OPDA através de cromatografia em coluna. Inicialmente, o processo de eluição foi realizado com 100% de acetonitrila (AC), onde foi possível isolar 5 frações que apresentam mesmo perfil espectral no UV/Vis e emissão de fluorescência (Figura 20), evidenciando que nossa síntese para os PCs-OPDA se obteve apenas uma espécie.

Figura 20 - Perfil espectral das frações obtidas nas condições 100% de acetonitrila e 80% AC e 20% H₂O durante purificação, na região do UV/VIS (A) e perfil de emissão de fluorescência (B) quando excitado em 420 nm, utilizando janelas de emissão e excitação em 5/10.



Fonte: Autora

Após a obtenção e purificação dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA, as etapas de caracterização foram divididas em: caracterização estrutural e de fotoluminescência.

4.2 Caracterizações estruturais dos PCs

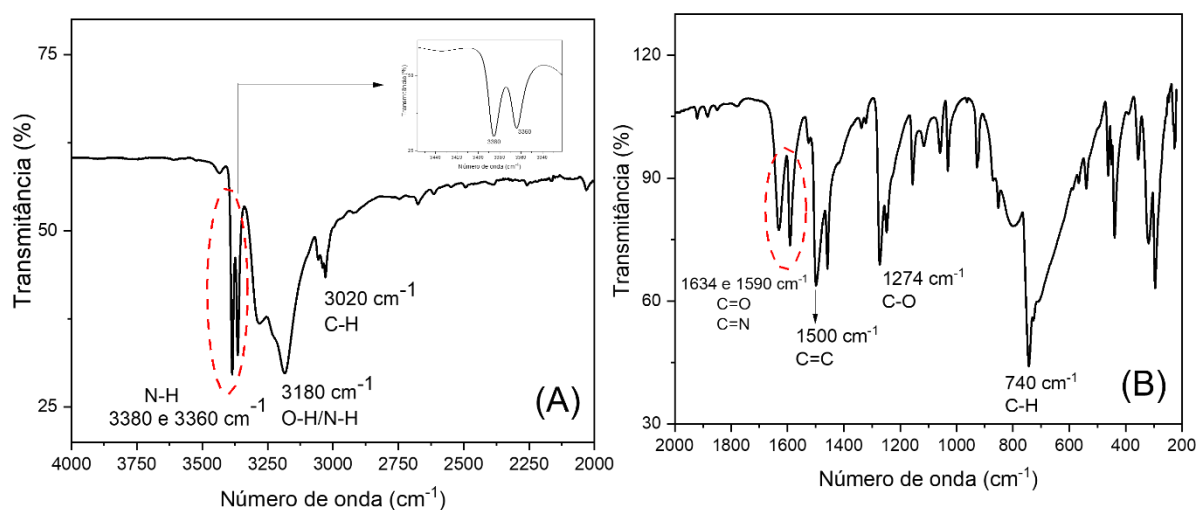
4.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) foi empregada para obter informações sobre os possíveis grupos funcionais presentes na superfície dos PCs sintetizados, visto que a presença de grupos funcionais e a introdução de heteroátomos nas superfícies dos PCs

interfere diretamente em sua emissão e intensidade de fluorescência, pois ocorre alteração na estrutura eletrônica das nanopartículas (PARK *et al.*, 2016).

Analisando-se os perfis espectrais dos PCs-OPDA na região do IV entre 4000 e 2000 cm^{-1} (Figura 21- A), duas bandas estreitas podem ser observadas, sendo em torno de 3386/3360 cm^{-1} , podendo ser atribuídas ao alongamento assimétrico e simétrico da ligação N-H de aminas primárias, revelando a presença do grupo funcional amino na superfície dos PCs-OPDA. Os estiramentos vibracionais correspondentes aos grupos O-H e N-H estão apresentadas em 3180 cm^{-1} , evidenciando a presença de grupo hidroxilas na superfície dos PCs-OPDA. Observa-se uma banda em 3020 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-H referente ao carbono híbrido sp^2 . Os espectros de IV com varredura espectrofotométrica entre 2000 e 200 cm^{-1} (Figura 21-B) é possível observar duas bandas em torno de 1634/1590 cm^{-1} podendo ser atribuídos aos estiramentos vibracionais C=O e C=N respectivamente, proveniente da oxidação da molécula precursora, a banda em 1500 cm^{-1} atribuída a vibração da ligação C=C da estrutura aromática, a banda em 1274 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação C-O e a banda em 740 cm^{-1} atribuída a ligação C-H do anel aromático (HINTERBERGER, *et al.*, 2018; TRIVEDI, *et al.*, 2017; SONG, *et al.*, 2016; PAVIA, *et al.*, 2015; GUPTA *et al.*, 2013).

Figura 21 - Espectro de ATR para os PCs-OPDA em estado sólido na região de 4000 a 200 cm^{-1} (A) e 2000 a 200 cm^{-1} (B).

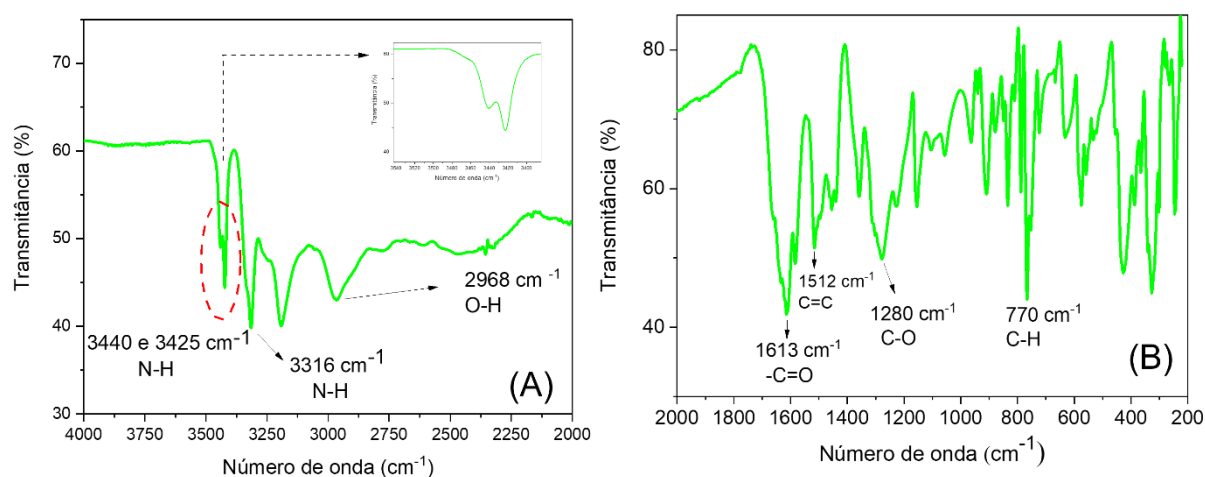


Fonte: Autora.

Analisando-se os perfis espectrais dos PCs 3,4-DABA (Figura 22-A) na região do infravermelho com varredura espectrofotométrica entre 4000 e 2000 cm^{-1} é possível observar a presença de duas bandas na região em 3440 cm^{-1} e 3425 cm^{-1} no qual são atribuídas aos

estiramentos vibracionais N-H, confirmando a presença de grupos aminos na superfície dos PCs 3,4-DABA. As bandas em 3316 cm^{-1} podem ser atribuídas as vibrações de amins secundárias formadas no processo de síntese, caracterizado pelo estiramento N-H. A banda em 2968 cm^{-1} pode-se atribuir ao estiramento O-H, confirmando a presença de grupos hidroxílicos na superfície. Para as análises dos espectros de infravermelho com varredura espectrofotométrica entre 2000 e 200 cm^{-1} (Figura 22-B) é possível notar bandas em 1613 cm^{-1} atribuídos ao estiramento C=O, confirmando a presença do grupo funcional carboxilato, a banda em 1512 cm^{-1} atribuída ao estiramento C=C do anel aromático, a banda em 1280 cm^{-1} atribuída a vibração de estiramento C-O e a banda em 770 cm^{-1} atribuída a ligação C-H do anel aromático (WANG *et al.*, 2019; PAVIA, *et al.*, 2015; SUNDARAGANESAN *et al.*, 2008).

Figura 22 - Espectro de ATR para os PCs-3,4-DABA em estado sólido na região de 4000 a 200 cm^{-1} (A) e 2000 a 200 cm^{-1} (B).



Fonte: Autora.

4.2.2 Espectroscopia Raman

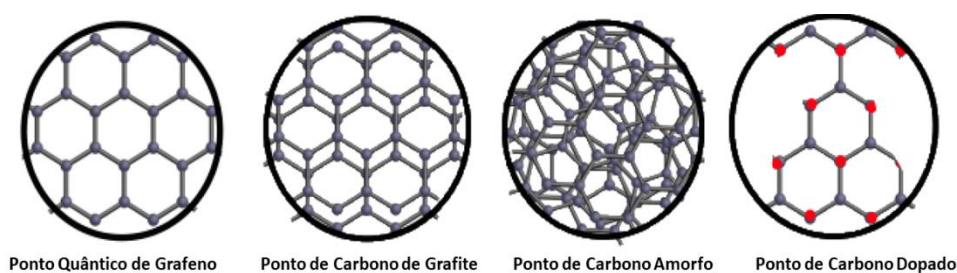
A técnica mais adequada para avaliar a estrutura de carbono no núcleo dos PCs é por meio da espectroscopia Raman, na qual o resultado evidencia bandas características de carbonos cristalinos ou amorfos (ORLANDO *et al.*, 2021).

Nesse trabalho a técnica foi utilizada para a identificação de material carbonáceo existente no núcleo (*core*) dos PCs sintetizados, com foco nos carbonos híbridos sp^2 , tais como o grafite e grafeno. A estrutura carbonácea do núcleo dos PCs, conforme a literatura, consiste em átomos de carbono híbridos sp^2 ou mistura do carbono híbrido em sp^2/sp^3 , podendo

apresentar a depender do grau de carbonização, estruturas de grafites, grafeno e estrutura de carbono amorfo (ZÓLYOMI, *et al*, 2011).

As estruturas formadas no núcleo e na superfície dos PCs são dependentes da rota sintética adotada e da composição química dos precursores carbonáceos utilizados, podendo-se obter diferentes estruturas de PCs de caráter cristalino ou amorfo (Figura 23) (MESSINA *et al.*, 2018).

Figura 23 - Representação das diferentes estruturas apresentadas pelos PCs em seu núcleo. Os pontos vermelhos existentes na estrutura de pontos de carbono dopados representam os átomos de nitrogênio.



Fonte: Adaptado da literatura (SCIORTINO *et al.*, 2018).

Os espectros Raman dos PCs citados pela literatura, apresentam duas bandas definidas, sendo a banda G confirmando a existência de átomos de carbono hibridizados sp^2 em uma rede hexagonal bidimensional (núcleo cristalino), e a banda D confirmando defeitos na estrutura e a desordem do carbono associado ao carbono amorfo (ROGACH *et al*, 2016). Portanto, a elucidação estrutural de defeitos e/ou grafitação pode ser confirmada com a espectrometria Raman analisando a banda G e a banda D.

A razão da intensidade I_D/I_G , são relacionadas com os valores das bandas D e G, no qual a razão permite a estimativa da desordem e defeitos na estrutura das nanopartículas, sendo valores I_D/I_G em aproximadamente 0,5, indicando que o processo de carbonização durante a síntese dos PCs forma-se núcleo altamente cristalino, enquanto elevados valores de I_D/I_G indicam grande desordem estrutural e/ou estrutura de carbono amorfo (ROGACH *et al*, 2016).

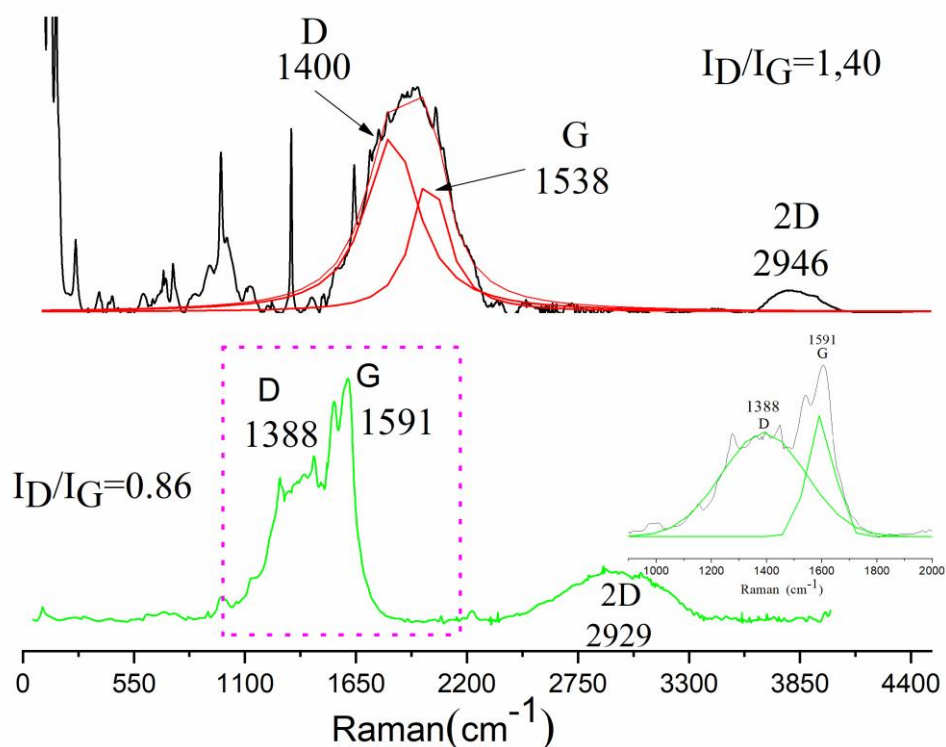
Com base na literatura de Rajende, os espectros Raman foram analisados por deconvolução usando ajuste de pico Gaussiana, no qual o autor cita que a deconvolução do espectro Raman é essencial para a compreensão dos materiais grafiticos desordenados, além disso, a razão da intensidade I_D/I_G foi utilizada a partir da intensidade das bandas Gaussianas obtidas pelo ajuste (FERRARI & ROBERTSON, 2000).

O espectro Raman para o PCs-OPDA (Figura 24) apresentaram duas bandas evidentes após o ajuste de deconvolução, sendo bandas referentes ao carbono grafite desordenado em 1400 cm^{-1} (banda D) e 1538 cm^{-1} para estrutura grafitica (banda G), além da banda 2D em 2946 cm^{-1} , referente a rede hexagonal bidimensional grafitica. As alturas dos picos foram usadas para calcular a razão I_D/I_G , no qual os PCs-OPDA apresentou um valor de 1,40 indicando elevada desordem e/ou estrutura de carbono amorfo no núcleo dos PCs.

A estrutura de carbono amorfo geralmente exhibe um espectro Raman com uma grande banda G (1510 cm^{-1}) e banda D (1350 cm^{-1}), que às vezes são sobrepostas (ORLANDO *et al.*, 2021).

O espectro Raman para PCs 3,4-DABA (Figura 24) apresentou bandas evidentes de carbono grafite desordenado (banda D) em 1388 cm^{-1} , bandas de carbono grafite (banda G) em 1591 cm^{-1} , além da banda 2D em 2929 cm^{-1} , que estão relacionadas com a rede hexagonal bidimensional grafitica que constitui a parte interna dos PCs 3,4-DABA. Os valores da altura do pico para calcular a razão I_D/I_G apresentaram um valor de 0,86, indicando elevada desordem e/ou estrutura de carbono amorfo no núcleo dos PCs.

Figura 24 - Espectros Raman para os (—) PCs-OPDA e (—) PCs 3,4-DABA, utilizando laser na região de 780 nm para os PCs-OPDA e laser na região de 325 nm para os PCs 3,4-DABA.



Fonte: Autora.

No trabalho de Xiong e colaboradores (2019), PCs foram sintetizados a partir dos precursores ácido 3,4-diaminobenzoico e ácido 3,5-diaminobenzoico preparados pelo método hidrotermal em autoclave, produziram três PCs com emissão de fluorescência no azul, verde e vermelho (B-PCs, G-PCs e R-PCs). A partir dos espectros Raman, as razões de intensidade foram de 1,43, 1,14 e 1,06 para os B-PCs, G-PCs e R-PCs, respectivamente, a diminuição das razões I_D/I_G foi associada com a condição de reação, influenciando a grafitação do carbono.

Assim, em nosso trabalho atribuímos os valores de I_D/I_G diferentes dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA devido a grafitação do núcleo no processo de síntese, sendo o PCs 3,4-DABA apresentando núcleo mais grafitado que os PCs-OPDA.

4.2.3 Difração de raios X de pó (DRX)

A natureza cristalina no núcleo dos PCs é caracterizada através da técnica de difração de raios X de pó (MINTZ *et al.*, 2021). Os PCs com estrutura gráfica citados pela literatura exibem difratogramas com um pico alargado em torno de $2\theta=20-24^\circ$ os quais são atribuídos a desordem dos átomos de carbono predominantemente de estrutura amorfa com espaçamento interplanar entre C (002) e C (001) e o grafite puro apresenta $2\theta = 26,6^\circ$ com espaçamento de $3,34 \text{ \AA}$ (002) (EDISON *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2012). No entanto, a literatura relata PCs com estrutura cristalina não gráficas apresentando padrões de DRX de pó com vários picos pontiagudos intensos, demonstrando suas características policristalinas (PAL *et al.*, 2020).

Sendo assim, com o intuito de caracterizar a natureza cristalina dos PCs sintetizados nesse trabalho, realizamos análise de DRX de pó, no qual obteve-se difratogramas conforme apresentados na Figura 25 e Figura 26.

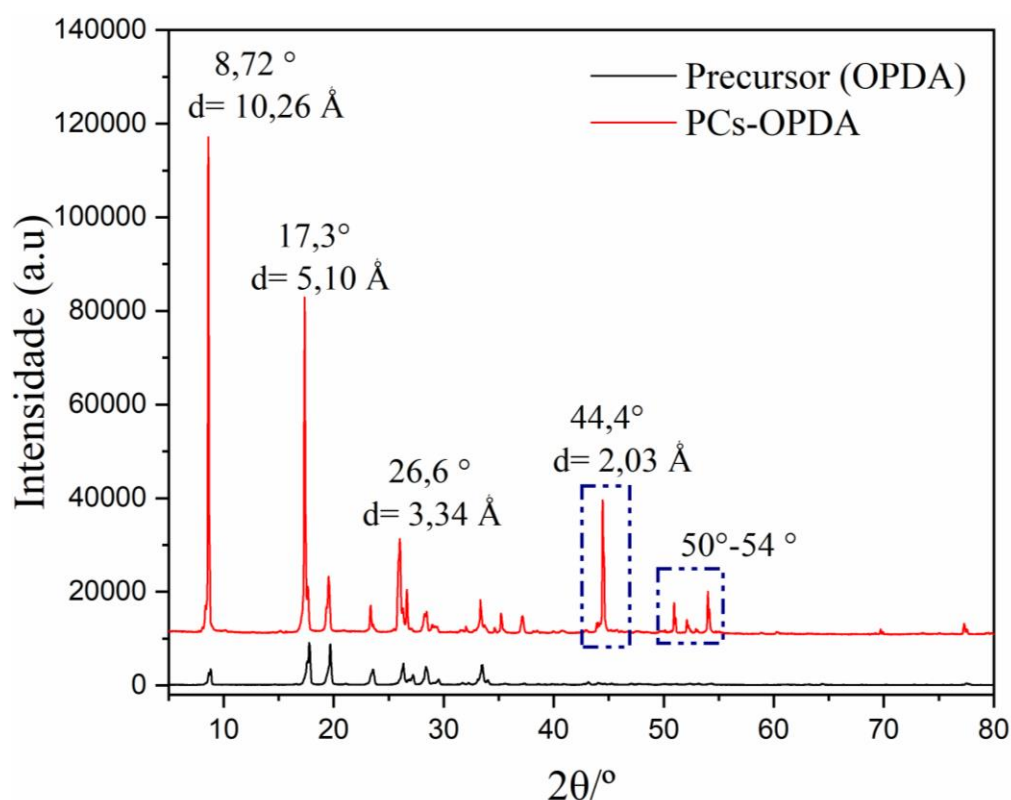
Para as discussões dos dados, aplicou-se também a Lei de Bragg (Equação 2) com a finalidade de obter valores das distâncias interplanares dos PCs sintetizados, possibilitando as comparações com as literaturas.

$$n\lambda = 2d \text{ sen } \theta \quad (2)$$

Onde λ é o comprimento de onda da radiação utilizada, nesse estudo foi de $1,5406 \text{ \AA}$, d é o espaçamento interplanar envolvido, θ é o ângulo entre o raio incidente (ou difratado) e n é um número inteiro, em nosso estudo o valor de n foi igual a 1, referido como a ordem de difração.

Para os PCs-OPDA e seu precursor OPDA (Figura 25) observa-se picos estreitos, indicando um caráter cristalino devido a reticulação dos precursores na síntese dos PCs-OPDA. Além disso, ao comparar os espectros de DRX de pó dos PCs-OPDA e o precursor OPDA pode-se inferir fragmentos policíclicos correspondentes ao PCs-OPDA durante a carbonização do material precursor, visto que os PCs-OPDA apresentaram picos em 44° e picos entre 50° - 54° .

Figura 25- Difrátogramas dos (-) OPDA e (-) PCs-OPDA.

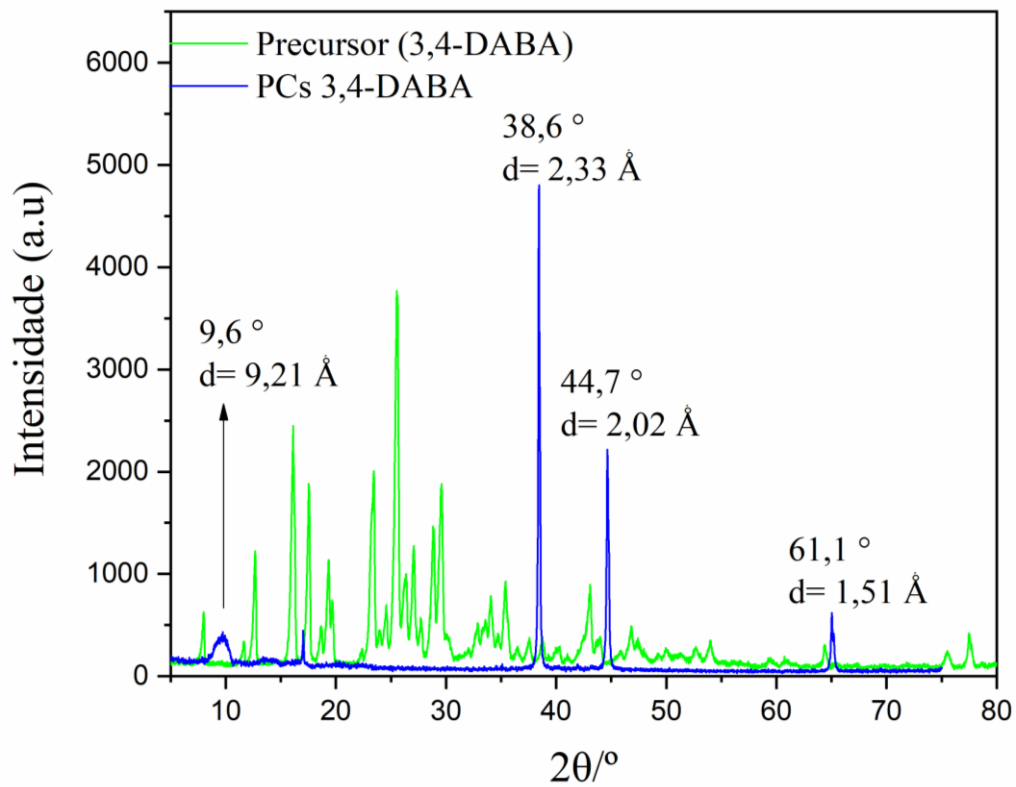


Fonte: Autora.

Comparativamente, o espectro de DRX de pó do PCs-OPDA apresenta valores de θ em $26,6^\circ$ e $44,4^\circ$ em relação ao espectro do precursor. O pico em 25° mostra um espaçamento d ligeiramente maior do que o 002 em grafite ($d=3,37 \text{\AA}$) que poderia indicar a presença de um estrutura tipo grafite não idealmente arranjada. O pico em 43° é também presente em algumas amostras de grafite indicando um plano 100 (RAI *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2020).

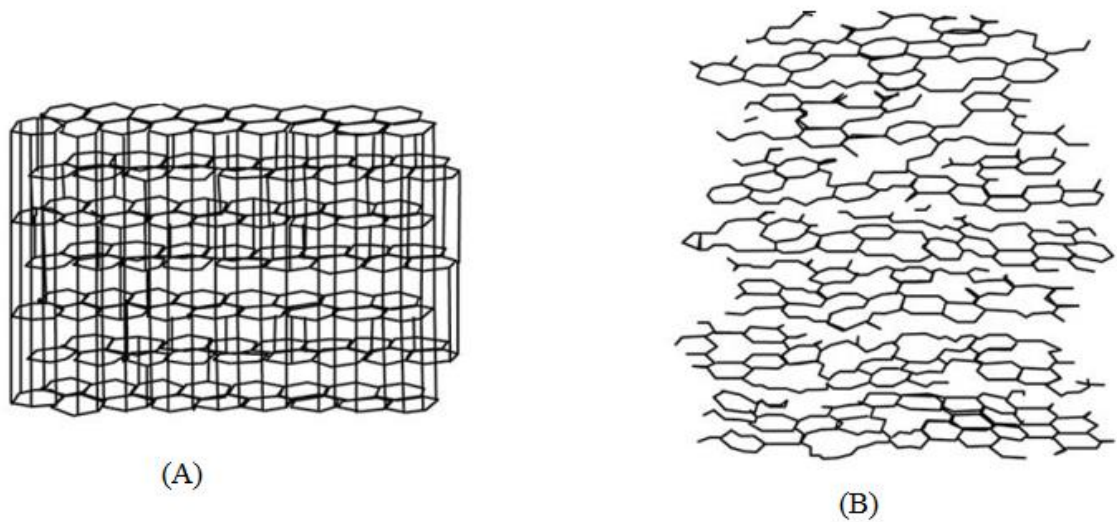
No que se refere ao PCs 3,4-DABA, os difratogramas obtidos do precursor de partida 3,4-DABA e os PCs 3,4-DABA são diferentes (Figura 26). Para o PCs-DABA, observa-se picos nitidos em $9,6^\circ$, $38,6^\circ$, $44,7^\circ$ e $61,10^\circ$ que correspondem aos espaçamentos $9,21$, $2,33$, $2,02$ e $1,51 \text{\AA}$, respectivamente. Destacamos o pico em $61,10^\circ$ possivelmente atribuído ao carbono cristalino do tipo turbostático (AHMAD *et al.*, 2020).

Figura 26 - Difratomogramas dos (-) 3,4-DABA e (-) PCs 3,4-DABA



Fonte: Autora.

Figura 27 - Esquema da estrutura do grafite ($d(002) = 3,35 \text{ \AA}$) e estrutura turbostática (B, $d(002) \geq 3,44 \text{ \AA}$).



Fonte: SCHIMMELPFENNIG & GLASER, 2011.

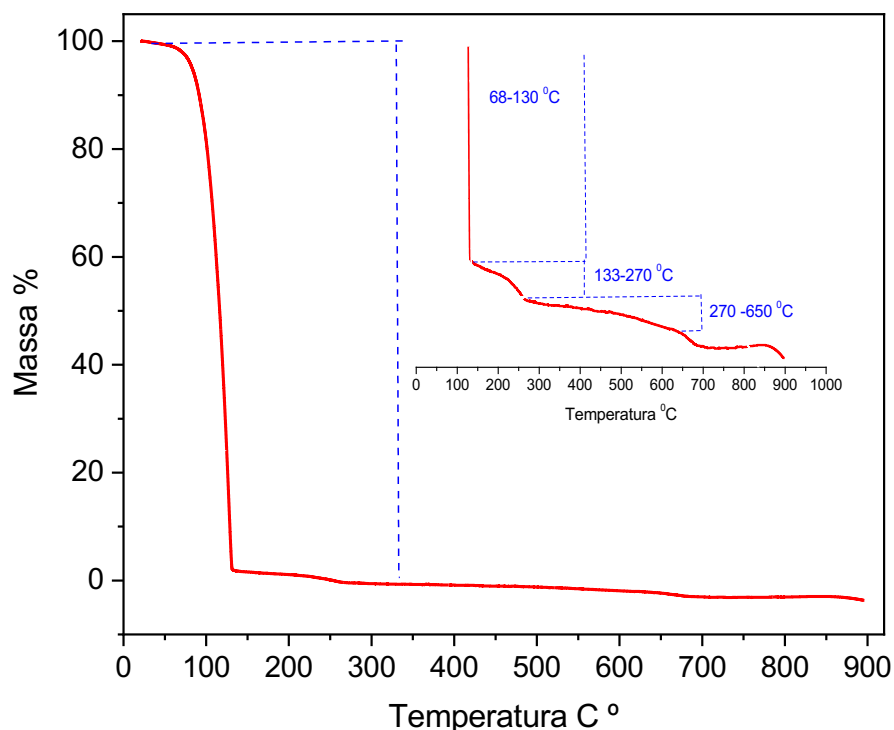
Como citado na introdução, os pontos de polímero carbonizado (CPDs) contêm um núcleo de carbono com grupos funcionais/cadeias poliméricas agregados ou reticulados ligados à superfície. Sendo assim, surgiu-se a hipótese a partir dos dados de DRX que o núcleo dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA fossem classificados como CPDs. No mais, tal hipótese será desvendada com a utilização de outras técnicas corroborando-se com as técnicas descritas na seção de caracterização estrutural.

4.2.4 Termogravimetria (TGA)

Com o intuito de avaliar a estabilidade térmica dos PCs e a natureza volátil dos grupos orgânicos provenientes de suas estruturas, realizou-se análise por termogravimétrica (TGA). Vale ressaltar que nesta seção iremos discutir os dados em relação as temperaturas que apresentam eventos de decomposição e não em relação a perda de massa (%), pois o objetivo da análise não é quantificar e sim evidenciar os eventos apresentados pelos PCs.

Para os PCs-OPDA três processos de decomposição térmica foram evidenciados (Figura 28). O primeiro evento ocorreu na faixa de temperatura entre 68-130 °C, caracterizado pela decomposição térmica do composto orgânico volátil OPDA (temperatura de fusão do OPDA 100-102 °C) ou evaporação de água que foi adsorvida na estrutura. No segundo evento, sendo de 133-270 °C, é caracterizado pela decomposição de grupos funcionais ou poliméricos na superfície do PCs e o último evento em 270-650 °C ocorre a pirólise da estrutura de carbono dos PCs-OPDA, correspondente a decomposição de carbono híbridos sp^3 ou outras estruturas orgânicas que podem estar compondo o núcleo.

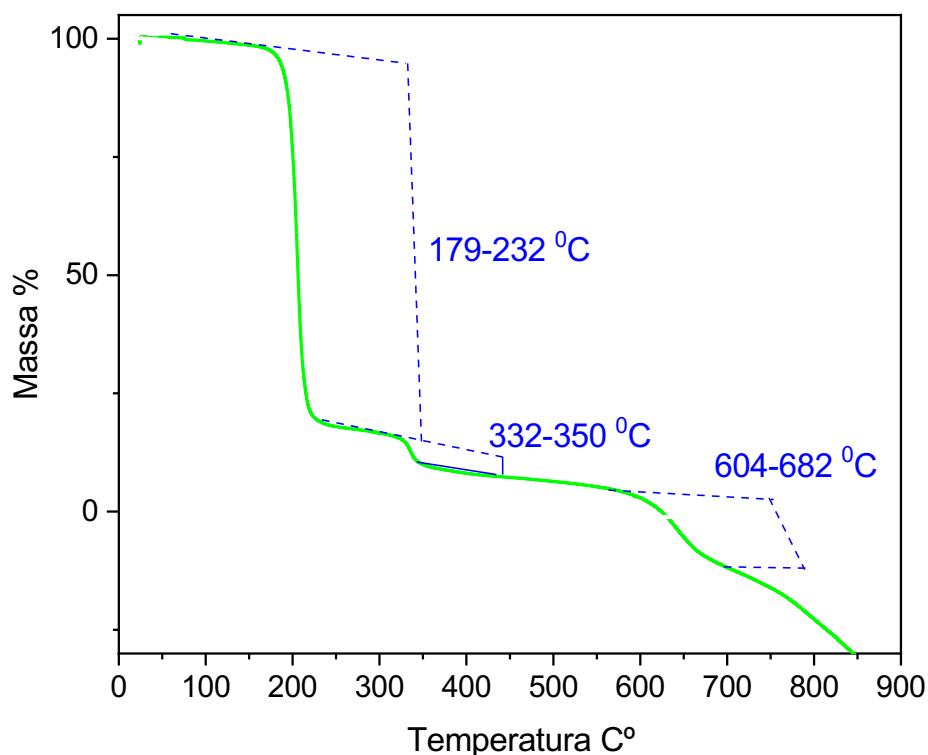
Figura 28 - Curva de TGA dos PCs-OPDA utilizando 5 mg de amostra, em porta amostra de alumínio, entre 30 e 900 °C, na razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 60 mL min⁻¹



Fonte: Autora.

Para o PCs 3,4-DABA, o perfil termogravimétrico foi semelhante ao PCs-OPDA evidenciando três eventos de decomposição térmica (Figura 29). Sendo que os eventos ocorrem em temperaturas superiores ao PCs-OPDA. O primeiro evento ocorreu na faixa de temperatura entre 178-232 °C, caracterizado pela decomposição térmica do composto orgânico volátil 3,4-DABA (temperatura próxima a fusão do 3,4-DABA 208-210 °C) ou evaporação de água adsorvida na estrutura. No segundo evento, sendo de 332-350 °C, é caracterizado pela decomposição de grupos funcionais ou poliméricos na superfície do PCs 3,4-DABA, especificamente a decomposição do grupo carboxila (-COOH) e o último evento em 604 - 682 °C ocorre a pirólise da estrutura de carbono dos PCs 3,4-DABA, corresponde a decomposição de carbono híbridos sp³ ou outras estruturas orgânicas que podem estar compondo o núcleo.

Figura 29 - Curva de TGA dos PCs-3,4-DABA utilizando 5 mg de amostra, em porta amostra de alumínio, entre 30 e 900 °C, na razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 60 mL min⁻¹.



Fonte: Autora.

No trabalho de Leblanc e colaboradores 2021, diferentes precursores foram utilizados para sintetizar PCs e dentre eles, o precursor OPDA misturado com ácido cítrico. O resultado da TGA nesse estudo apresentou-se perfil semelhante ao nosso, no qual o primeiro evento de decomposição foi entre as temperaturas 40°C e 203°C atribuídos à evaporação da água adsorvida na estrutura dos PCs ou gerada através de reações de desidratação. Além disso, foi discutido a possibilidade da formação de gás amônia devido à presença de grupos -NH₂. O segundo e terceiro eventos entre 203°C a 433°C foram atribuídos a decomposição dos grupos funcionais C=O e/ ou -COOH, o quarto evento entre 433°C a 658°C foi atribuído a decomposição de carbono sp³ ou outras estruturas orgânicas no núcleos dos PCs.

Diante do resultado, os PCs-OPDA sintetizados pelos autores foram classificados como uma estrutura menos termoestável em relação aos outros PCs sintetizados, devido aos diversos eventos térmicos apresentados, o que corroborou com a evidência da espectroscopia Raman de serem núcleos menos grafitados, assim como em nossos estudos.

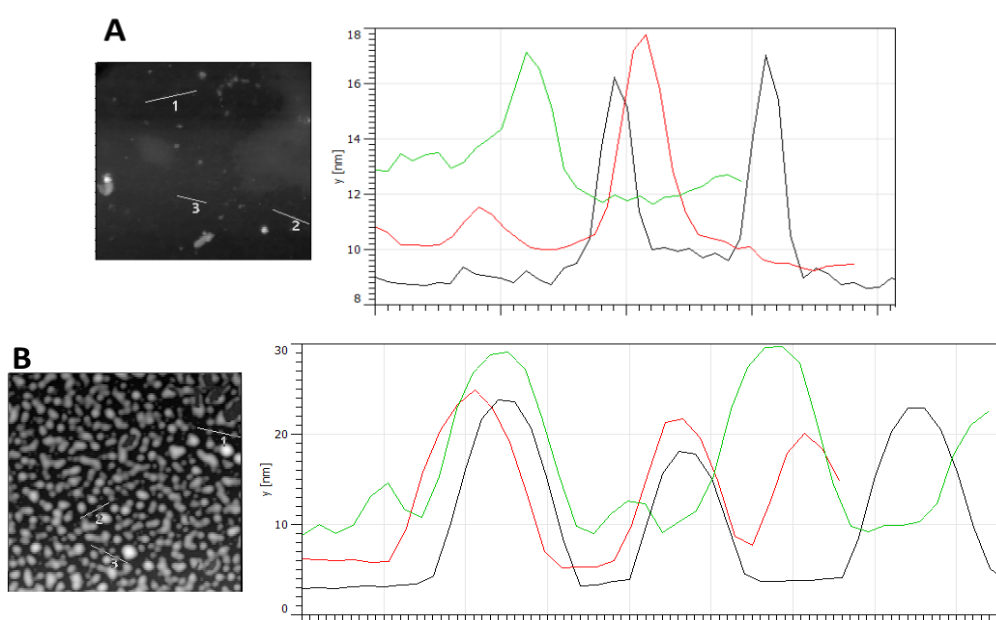
Portanto, as medidas de TGA para os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA nesse trabalho indicam que ambas as estruturas apresentam elevada volatilidade e por apresentarem vários estágios de decomposição apresentam estruturas menos termoestável, além de comprovar que os PCs sintetizados apresentam composições distintas, visto que os eventos apresentados na análise TGA foram em temperaturas diferentes.

4.2.5 Microscopia de Força Atômica (AFM)

As imagens de AFM foram obtidas para verificar a dispersão dos tamanhos das nanopartículas formadas pelos PCs. Realizou-se a técnica de AFM com os PCs purificados e sem estarem purificados para observar se haveria mudanças. As concentrações das amostras foram mantidas para comparações dos estudos, sendo de 0,1 mg/mL.

As imagens apresentadas na Figura 30 são referentes aos PCs não purificados, no qual é possível verificar distribuição de tamanho de partícula com valores estimados para PCs-OPDA na ordem de $5,2 \pm 1,03$ nm enquanto para os PCs 3,4-DABA valores na ordem de $14,01 \pm 1,21$ nm. Vale ressaltar que nesse experimento, as amostras foram previamente tratadas, sendo homogeneizadas e centrifugadas.

Figura 30 - Microscopias de AFM e perfil das partículas para (A) PCs-OPDA e (B) PCs 3,4-DABA sem estarem purificados.



Fonte: Autora.

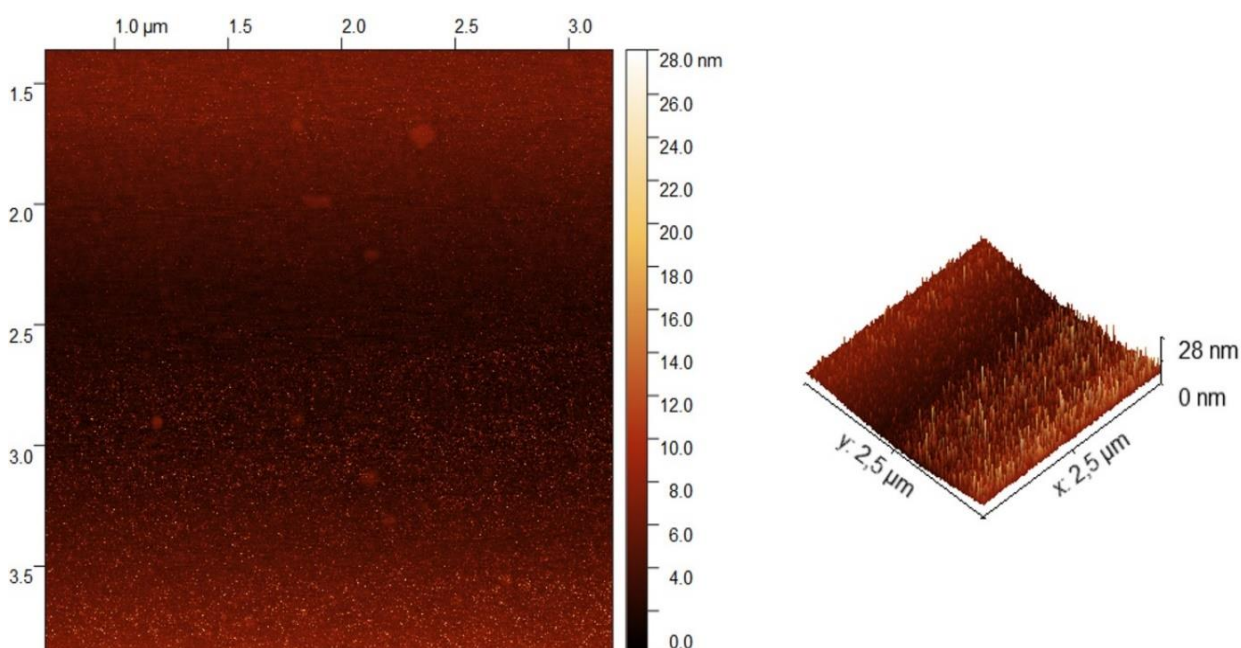
Na literatura, encontram-se tamanhos de PCs a partir do precursor *o*-fenilenodiamina e ácido nítrico (HNO₃) pelo método hidrotérmico de Liu e colaboradores, tamanho uniforme (≈5,74 nm) e no trabalho de Wang e colaboradores, utilizando o precursor ácido 3,5 diaminobenzoico pelo método solvotérmico, verificou-se tamanhos de PCs na faixa de 5 a 11 nm.

Após os processos de purificação, em coluna cromatográfica e filtração em seringa, as análises de AFM foram novamente avaliadas para ambos os PCs.

As imagens apresentadas na Figura 31 referem-se aos PCs-OPDA purificado. Não foi possível estimar o tamanho das nanopartículas devido ao efeito de aglomeração. Contudo, pode-se inferir que após o processo de purificação, o tamanho das partículas de PCs-OPDA tenham diminuído ocasionando o efeito de aglomeração (GONZÁLEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2022).

O efeito de aglomeração dos PCs obtidos nesse trabalho era esperado tendo em vista os valores de zeta potencial obtidos (Item 4.3.6 - p.75), no qual os valores encontrados estão entre -0,146 mV e -5,85 mV para PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA, respectivamente. Na literatura, nanopartículas que apresentam valores de zeta potencial entre -30 mV a 30 mV garantem ótima estabilização em sua dispersão.

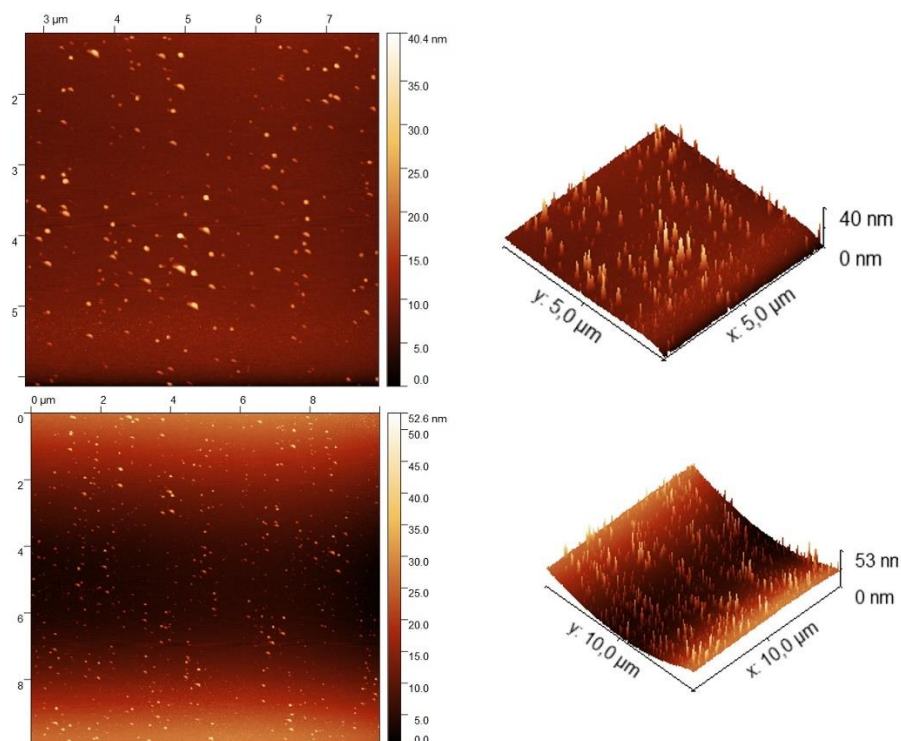
Figura 31- Microscopia de AFM e perfil em 3D para os PCs 3,4-OPDA.



Fonte: Autora.

No que se refere aos PCs 3,4-DABA purificados (Figura 32), a distribuição de tamanho de partícula encontrados com valores estimados na ordem de $12,01 \pm 2,10$ nm. Os valores encontrados para estimativa de tamanho de partícula dos PCs-DABA antes e depois da purificação não foram diferentes.

Figura 32 - Microscopias de AFM e perfil em 3D para os PCs 3,4-DABA.



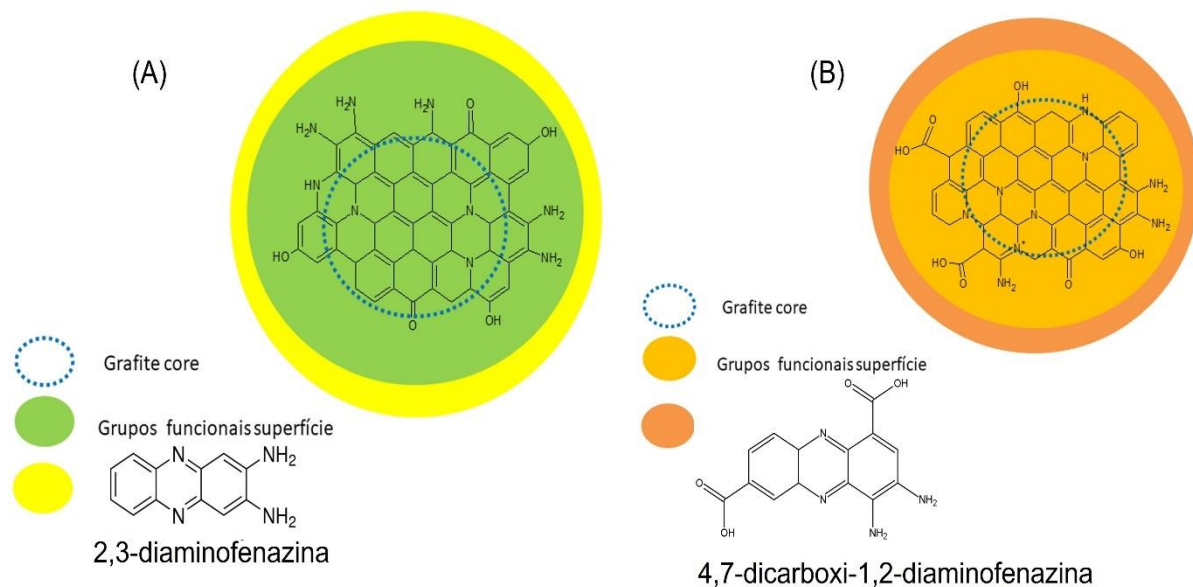
Fonte: Autora.

Os resultados das análises estruturais para caracterização dos PCs obtidos nesse trabalho utilizando-se do método hidrotérmal com irradiação em micro-ondas, indicam que os PCs-OPDA e PCs-3,4-DABA podem ser classificados como “quase nanoponto de carbono” conforme Nandi e colaboradores (2021) ou pontos de polímeros carbonizados (CPDs). No trabalho reportado por Nandi, após purificação e caracterização dos nanoponto de carbono (CNDs) a partir do precursor carbonáceo *o*-fenilenodiamina, foram identificadas três espécies. A espécie com emissão no azul, foi caracterizada como nanoponto de carbono, a espécie com emissão do verde um “quase nanoponto de carbono” (QNPC) e a espécie com emissão no vermelho como polímero fluoróforo.

Os CNDs ou CPDs contêm em seu núcleo carbono com superfície passivada por agregação ou ligados aos grupos funcionais, o polímero fluoróforo (SONG *et al.*, 2016). Como proposta nesse trabalho com base nos compostos precursores, acreditamos que os

polímeros fluoróforos formados durante a síntese dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA são 2,3-diaminofenazina e 4,7-dicarboxi-1,2-diaminofenazina, respectivamente (Figura 33-A) e (Figura 33-B). Essas informações irão contribuir com a discussão referente a fotolumiscência dos PCs.

Figura 33 - Proposta das estruturas dos PCs OPDA (A) e PCs-3,4-DABA (B)



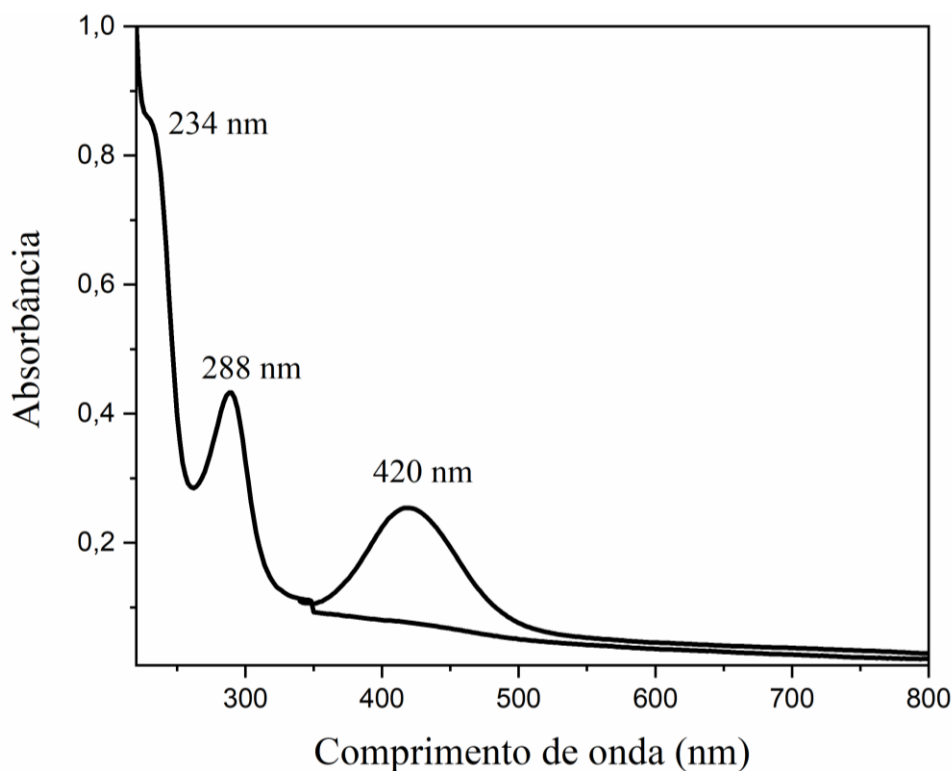
Fonte: Autora.

4.3 Caracterizações das propriedades fotoluminescentes dos PCs

4.3.1 Espectroscopia de absorção molecular na região do Ultravioleta e Visível (UV/Vis)

Os espectros na região dos UV-Vis foram realizados para obter informações das propriedades eletrônicas dos PCs. Para os PCs-OPDA as bandas de absorção na região do UV e do Visível, está apresentada conforme no espectro da Figura 34. As bandas na região do UV em 234 e 288 nm são atribuídas as transições eletrônicas do tipo $\pi-\pi^*$ da estrutura do carbono conjugado (C=C) (ZHAO *et al.*, 2019). Na região do visível observa-se uma banda em 420 nm atribuída a espécie molecular na superfície da nanopartícula, sendo transição do tipo $n-\pi^*$ C=O/C=N (KOUTSOGIANNIS *et al.*, 2020). No qual a banda em 420 nm indica a possível formação da estrutura do polímero citado na seção de caracterizações estruturais, especificamente na técnica de DRX.

Figura 34 - Espectro qualitativo na região do UV/Vis dos (–) PCs-OPDA em solução aquosa.

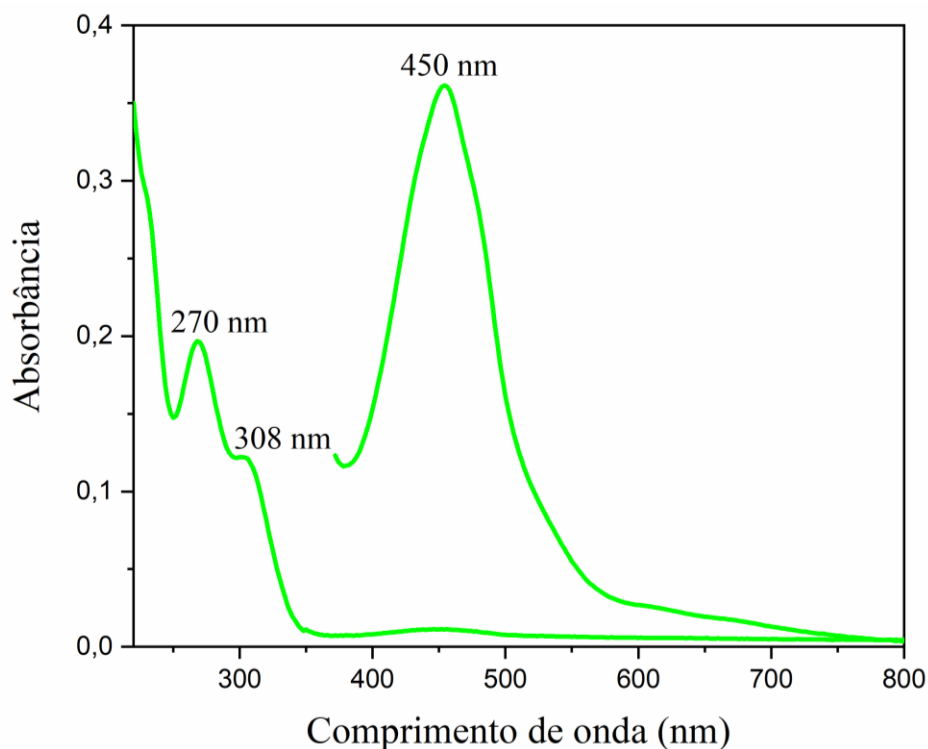


Fonte: Autora.

Em 2015, Lin e colaboradores sintetizaram diferentes isômeros do precursor carbonáceo fenilenodiamina, no qual os PCs-OPDA apresentaram absorções na região somente do UV, em 243 nm e 386 nm, atribuídos as transições do tipo $\pi-\pi^*$ da estrutura do carbono conjugado (C=C). Zaoh e colaboradores em 2019, classificou as absorções dos PCs-OPDA obtidos pelo método hidrotermal em autoclave, nas regiões do UV, respectivamente, 234 e 286 nm, atribuídos as transições do tipo $\pi-\pi^*$ da estrutura do carbono conjugado (C=C), e a banda de absorção no visível, 428 nm, atribuiu-se como sendo estado de superfície.

O perfil espectral do PCs 3,4-DABA (Figura 35) apresentam bandas de absorção na região do UV em 270 nm e 308 nm, sendo atribuídas as transições do tipo $\pi-\pi^*$ da rede do núcleo de carbono aromático (C=C) e transição do tipo $n-\pi^*$ referente as ligações C=O/C=N. A absorção na região do visível, especificamente em 450 nm, atribuída a transição eletrônica do estado molecular, isto é, ligação do tipo $n-\pi^*$, proveniente do polímero formado a partir da oxidação do precursor 3,4-DABA, sendo o 4,7-dicarboxi-1,2-diaminofenazina (Figura 33-A) (KOUTSOGIANNIS *et al.*, 2020).

Figura 35 - Espectro na região do UV/Vis dos (–) PCs 3,4-DABA em solução aquosa.

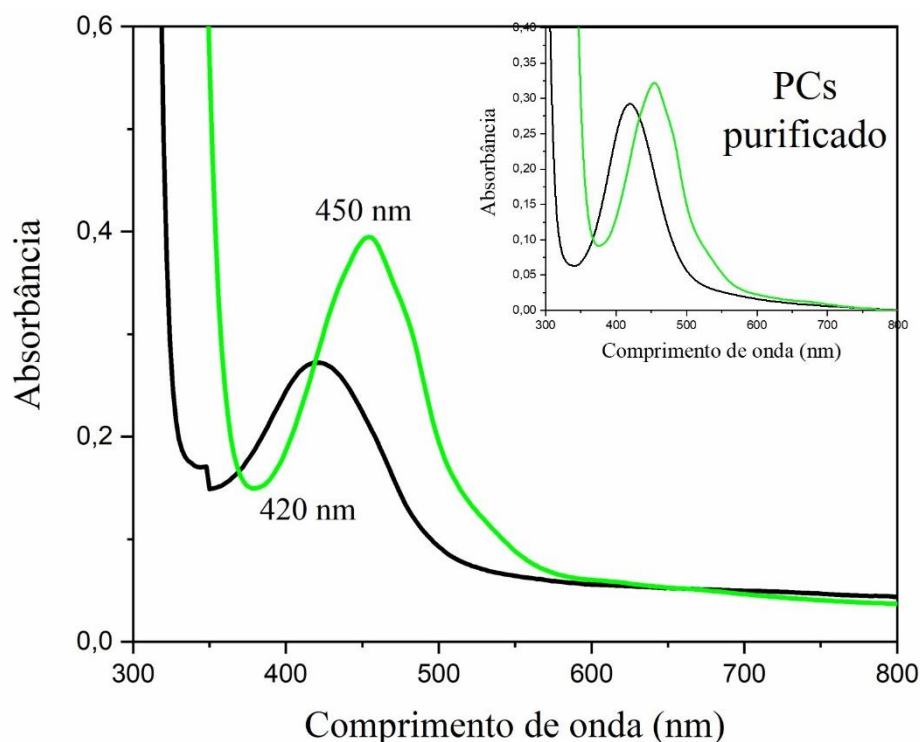


Fonte: Autora.

Para os PCs 3,4-DABA, utilizou-se como base a literatura de Wang *et al*, no qual o espectro de absorção na região do UV/Visível apresentou-se três bandas de absorção, em 229 nm e 260 nm, que foram atribuídas à vibração das transições π - π^* (aromática C=C) e n - π (CN), em 360 nm atribuída a transição do tipo n - π^* devido à ligação C=O/C=N na superfície dos PCs, que se referem a presença de grupos carboxila e substituintes amino.

Na literatura, superfícies de PCs contendo grupos funcionais tais como, hidroxila, carboxila e epóxi, pode diminuir a energia entre os orbitais HOMO-LUMO, resultando em um deslocamento batocrômico. Em nosso trabalho, é evidente tal informação, visto que a estrutura dos PCs 3,4-DABA conforme apresentado no IV (Item 4.2.1 pág. 44) são ricos em grupos carboxílicos (LIU *et al.*, 2019) A Figura 36 apresenta o deslocamento de 30 nm dos PCs 3,4-DABA em relação ao PCs-OPDA para regiões de menores energias. Na Figura 36 também é apresentado o espectro de absorção dos PCs após a etapa de purificação, e observa-se que o perfil na região do UV/Vis não apresenta diferenças espectrais após as etapas submetidas.

Figura 36 - Espectro qualitativo na região do UV/Vis dos (—) PCs-OPDA e (—) PCs-DABA em solução aquosa.



Fonte: Autora.

4.3.2 Espectroscopia de fluorescência

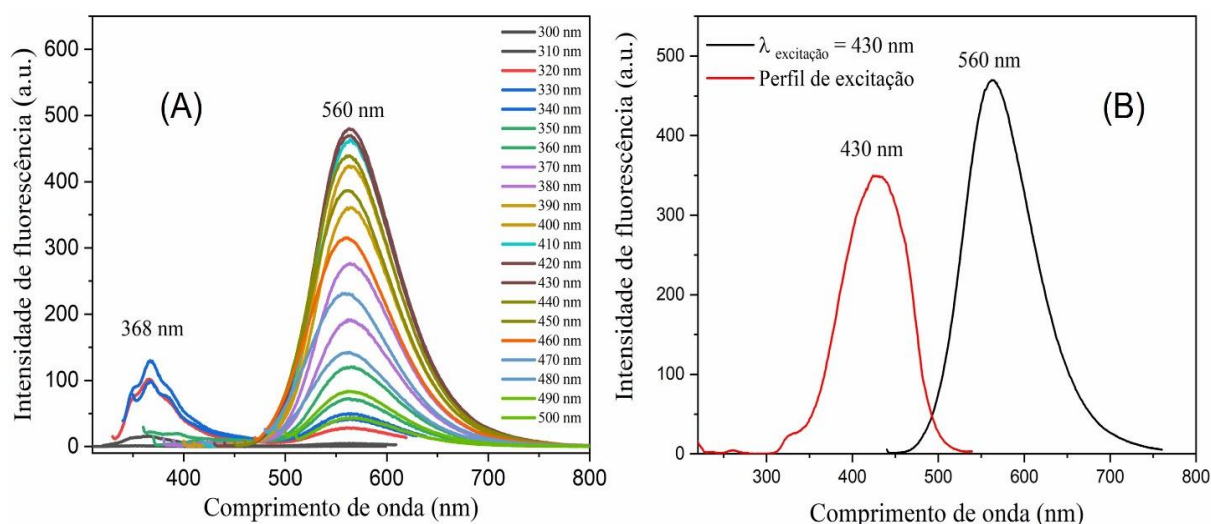
O mecanismo de fluorescência dos PCs ainda não é bem definido e existem várias teorias que tentam explicar o processo, como a presença dos grupos funcionais na superfície, confinamento quântico a depender dos tamanhos dos PCs, efeitos de moléculas fluorescentes (grupos moleculares) e efeitos de dopagem (ALI *et al.*, 2020).

Os perfis de emissão de fluorescência para os PCs sintetizados nesse trabalho foram avaliados variando-se o comprimento de onda de excitação na região do UV e Visível.

Para os perfis de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA, inicialmente variou-se o comprimento de onda de excitação em ordem crescente (300 a 500 nm), com incremento de 10 nm. A Figura 37-A apresenta a emissão independente de excitação, ou seja, não apresentou deslocamento da emissão de fluorescência quando excitada em diferentes comprimentos de onda, e a intensidade máxima de emissão foi em 560 nm, e o comprimento de onda de excitação que apresentou a maior intensidade de fluorescência foi em 420 nm, no qual será utilizado em

estudos posteriores. A Figura 37-B apresenta o espectro de excitação em 430 nm no qual ocasiona a emissão em 560 nm.

Figura 37 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA variando-se o comprimento de onda de excitação (300 a 500 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Perfil de excitação $\lambda_{\text{emissão}} = 560 \text{ nm}$ (B).



Fonte: Autora.

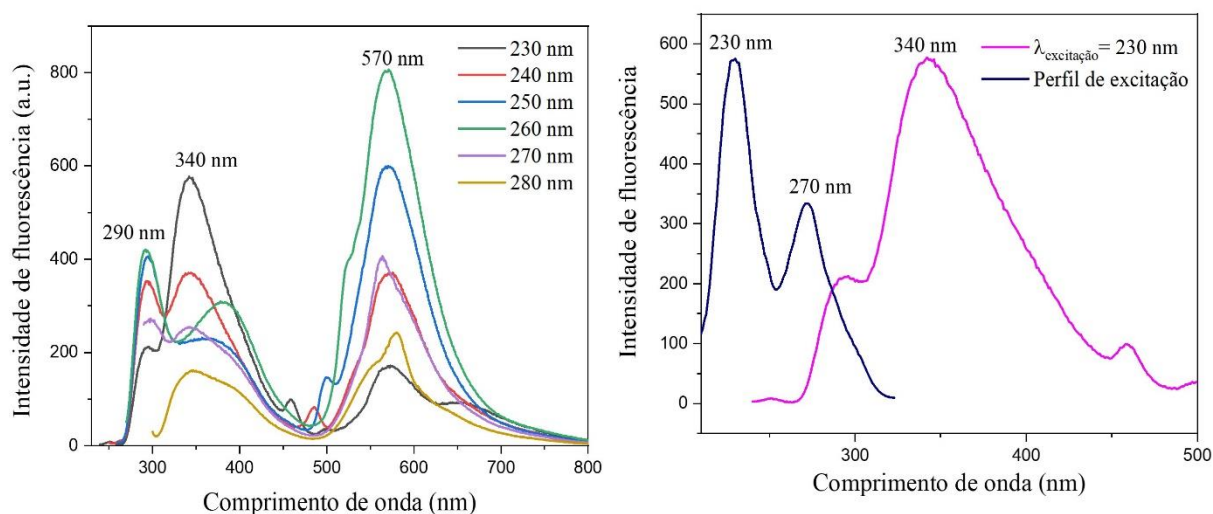
Os dados obtidos indicam que a emissão independente de excitação é, na verdade, devido ao fluoróforo molecular ligado à superfície da estrutura central conforme mostrado na Figura 33-A, no qual refere-se a espécie 2,3-diaminofenazina (DAF) (Figura 21-A) formado no processo de síntese (SONI *et al.*, 2021)

Estudos de Nandi e colaboradores, comprovam que a estrutura DAF formada no processo de síntese apresentam perfil de fluorescência idênticos aos apresentados em nosso estudo, no qual sintetizaram nanopontos de carbono a partir do precursor *o*-fenilenodiamina e emissão no verde foi caracterizado como “um quase nanoponto de carbono”. A literatura de Hinterberger também atribuiu a fluorescência em 560 nm devido a estrutura DAF formada no processo de síntese, corroborando-se com a análise da fluorescência obtida dos PCs-OPDA.

No mais, avaliou-se ainda o perfil de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA excitando-se em comprimentos de onda na região do UV, visto que os mesmos apresentam absorção nessa região, sendo assim, variou-se o comprimento de onda de excitação em ordem crescente (230 a 280 nm), com incremento de 10 nm. A Figura 38-A apresenta a emissão independente da excitação. Além disso, observa-se que os PCs-OPDA apresentou emissão em

três diferentes comprimentos de onda, sendo em 290 nm, 340 nm e 570 nm, a emissão com maior intensidade de fluorescência foi em 570 nm, quando excitado em 260 nm. A Figura 38(B) apresenta o perfil de excitação, no qual excitando-se em 230 nm ou 270 nm, ocasiona a emissão em 340 nm.

Figura 38 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA variando-se o comprimento de onda de excitação (230 a 280 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Perfil de excitação $\lambda_{\text{emissão}} = 340 \text{ nm}$ (B).



Fonte: Autora

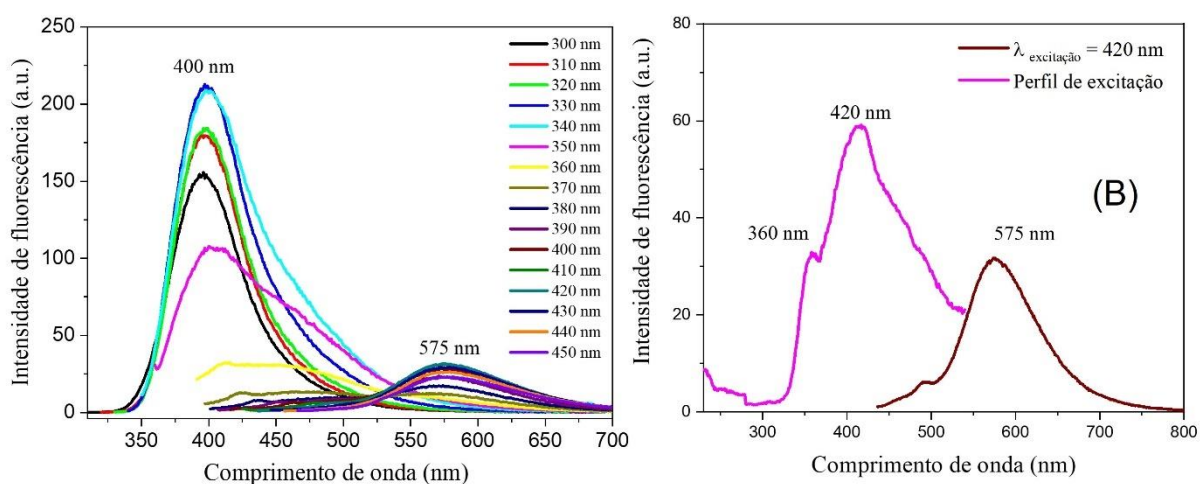
O comportamento apresentado pelo PCs 3,4-DABA foi semelhante ao PCs-OPDA, apresentando emissão independente de excitação tanto para as excitações na região do Visível, quanto para as regiões no UV. A Figura 39 (A) apresenta o perfil de emissão variando-se as regiões de excitação de 300 a 450 nm (com incremento de 10 nm), apresentando intensidade máxima em 400 nm, além da emissão em 575 nm, e o comprimento de onda de excitação que apresentou a maior intensidade na região de 575 nm, foi excitando em 420 nm, no qual será utilizado em estudos posteriores. A Figura 39 (B) apresenta o perfil de excitação, no qual excitando-se em 360 nm ou 420 nm, ocasiona a emissão em 575 nm.

O espectro da Figura 40 (A) explora a fluorescência dos PCs 3,4-DABA na região do UV, variando-se a excitação nos comprimentos de onda em ordem crescente (230 a 350 nm), com incremento de 10 nm, observa-se emissões independente da excitação, ou seja, não ocorreu deslocamento da emissão com a variação da excitação, e sim um aumento gradual da intensidade de fluorescência em 400 nm, o comprimento de onda com intensidade máxima foi

em 300 nm. O espectro da Figura 40 (B) apresenta o perfil de excitação, no qual excitando em 230, 260 ou 300 nm, vai ocasionar a emissão em 400 nm.

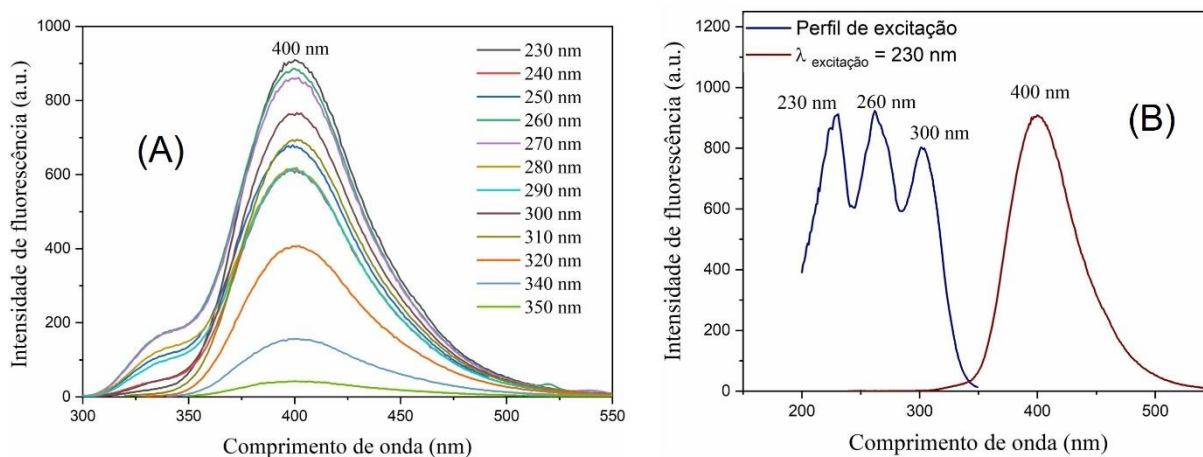
Esses dados indicam que a emissão independente de excitação pode-se atribuir ao fluoróforo molecular ligado à superfície da estrutura central conforme mostrado Figura 33-B, no qual refere-se a estrutura do 4,7-dicarboxi-1,2-diaminofenazina formado no processo de síntese. No estudo de Zhao e colaboradores (2019) o perfil de fluorescência do PCs 3,4-DABA apresentou emissão independente com máximo de intensidade na região de 500 nm quando excitado em 400 nm.

Figura 39 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA variando-se o comprimento de onda de excitação (300 a 450 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 10/10. Perfil de excitação $\lambda_{\text{emissão}} = 575 \text{ nm}$ (B).



Fonte: Autora.

Figura 40 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA variando-se o comprimento de onda de excitação (300 a 450 nm) com incrementos de 10 nm (A). Janelas de emissão e excitação 10/10. Perfil de excitação $\lambda_{\text{emissão}}=400$ nm (B).



Fonte: Autora.

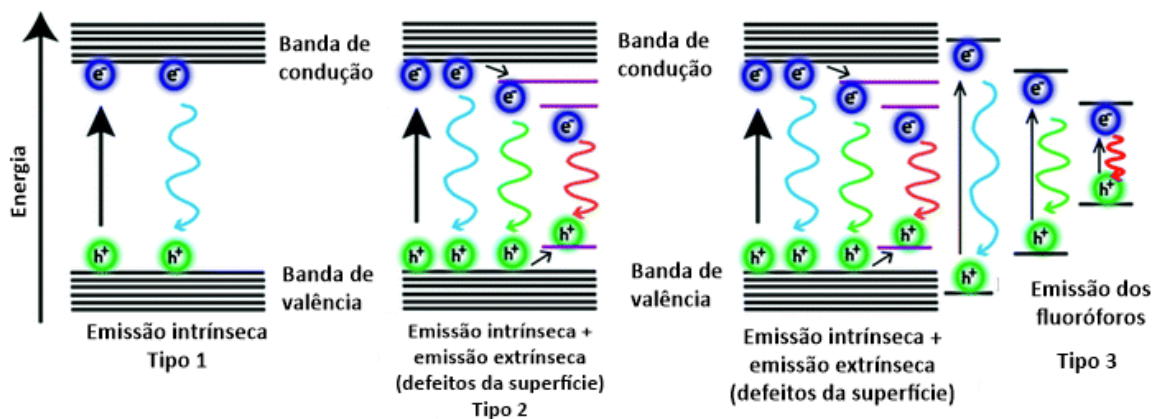
Considerando-se os inúmeros trabalhos que descrevem os mecanismos de fotoluminescência de PCs, pode-se afirmar de há dois caminhos para emissão de fluorescência. O primeiro se deve o tamanho da nanopartícula e o segundo aos estados de superfície. Poucos são os relatos da emissão de fluorescência ocorrer devido ao carbono grafítico do núcleo dos PCs (PAL *et al.*, 2020).

No caso da síntese de PCs via método “bottom up”, o composto precursor durante a reação pode produzir moléculas de fluoróforos altamente fluorescentes. Em 2011, Giannelis e colaboradores buscaram para entender o mecanismo de formação de PCs a partir do ácido cítrico e etanolamina variando-se a temperatura de reação. No trabalho, eles propuseram que as propriedades de fotoluminescência dos PCs são determinadas tanto pelo núcleo de carbono quanto os fluoróforos moleculares. No PCs obtidos por pirólise a baixa temperatura, fluoróforos moleculares dominam as características de emissão, enquanto durante pirólise de alta temperatura o núcleo começa a se formar e domina as propriedades de emissão de fluorescência (KRYSMANN *et al.*, 2012).

Importante destacar que a formação das moléculas de fluoróforos e seu efeito sobre a emissão de fluorescência dos PCs são observados para síntese de temperatura relativamente mais baixa (<200 °C). Assim, a carbonização incompleta dos precursores carbonáceos resultaria na formação de espécies moleculares orgânicas fluorescentes com núcleos de carbono resultando em 3 tipos de mecanismos de emissão de fluorescências (Figura 41) (PAL *et*

al.,2020). A emissão intrínseca se dá quando um absorve um fóton elétron e é excitado e migra da banda de valência para a banda de condução, posteriormente ele retorna quase instantaneamente a banda de valência emitindo radiação absorvida. Enquanto a emissão extrínseca ocorre quando dopantes se incorporam no material originando estados neutro nos quais os elétrons poderão se instalar e se recombinar no estado fundamental, desencadeando a emissão da energia absorvida na forma de luz (CARBONARO *et al.*, 2019).

Figura 41- Representação esquemática correspondente ao mecanismo de emissão em PCs.



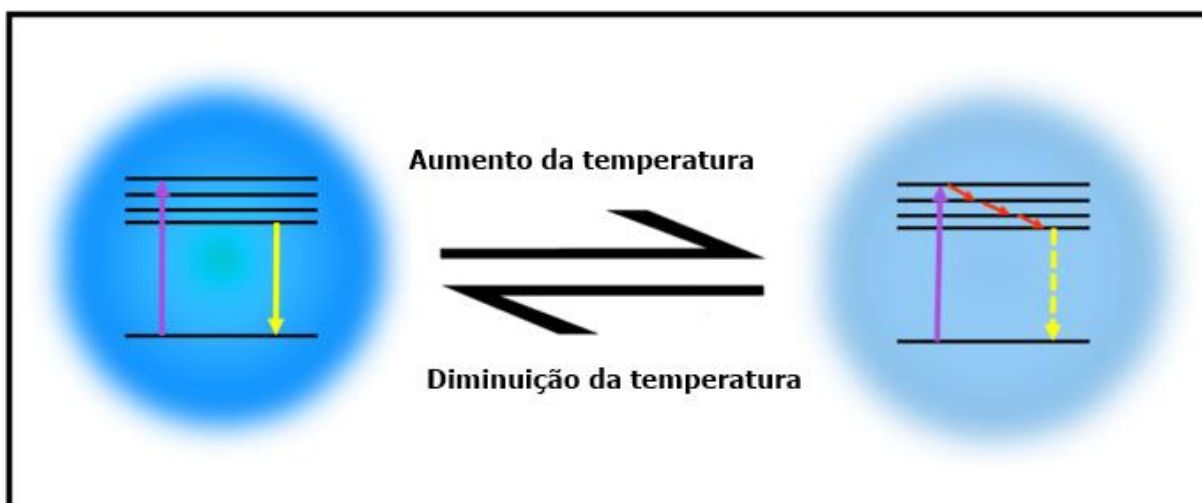
Fonte: Adaptação da literatura (PAL *et al.*,2020).

4.3.3 Avaliação da Intensidade de Fluorescência dos PCs variando a temperatura

Tendo em vista que os PCs podem ser caracterizados como nanopartículas semicondutoras, por apresentarem boa condutividade elétrica, a influência da temperatura é um parâmetro importante em seu estudo, podendo impactar nas propriedades fotoluminescentes, visto que em semicondutores a eficiência quântica diminui com o aumento de temperatura (QU *et al.*, 2020).

Conforme Tang e colaboradores, em altas temperaturas tem-se uma maior probabilidade de relaxamento dinâmico da fluorescência em consequências de decaimento não radiativo (emissão de calor). Alguns relatos atribuem o mecanismo do aquecimento a ativação de canais não radiativos de superfície (armadilha/defeito). À medida que a temperatura aumenta, mais relaxamento não radiativos são ativados e os elétrons voltam ao estado fundamental por meios de processos não radiativos, levando à diminuição da intensidade de fluorescência intensidade.

Figura 42 - Representação esquemática correspondente ao mecanismo de emissão em PCs sob influência da temperatura.

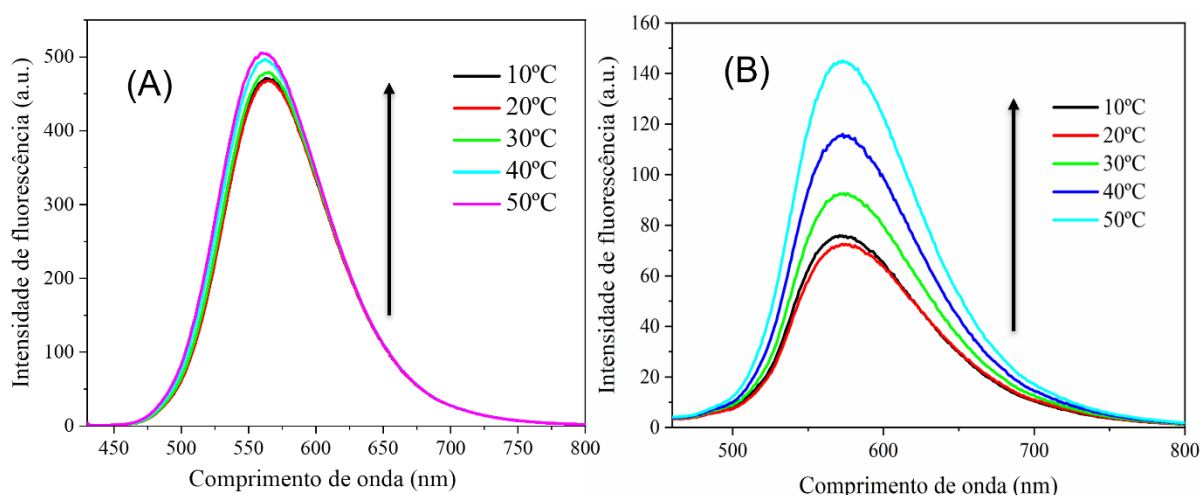


Fonte: Adaptação da literatura (MOHAMMED & OMER, 2020)

Portanto, os PCs foram submetidos a avaliação da intensidade de fluorescência variando-se as temperaturas em 10 °C, 20 °C, 30 °C, 40 °C e 50 °C, excitando-se em 420 nm.

O espectro da Figura 27 apresenta o resultado da influência da temperatura para ambos os PCs. Observa-se que os PCs apresentam um aumento na intensidade de fluorescência com o aumento da temperatura, sendo esse aumento gradual para o PCs-OPDA (Figura 42-A), enquanto para os PCs 3,4-DABA (Figura 42-B) o aumento é mais significativo da intensidade de emissão de fluorescência.

Figura 43 - Espectro de emissão de fluorescência variando-se a temperatura para os PCs-OPDA (A) e PCs 3,4-DABA (B), $\lambda_{\text{excitação}} = 420 \text{ nm}$.



Fonte: Autora.

No trabalho de revisão reportado por Mohammed and Omer (2020) descrevem vários tipos de pontos de carbono e a dependência da emissão de fluorescência e temperatura. Em geral, os pontos de carbono apresentam a dependência emissão de fluorescência com a temperatura um comportamento semelhante aos semicondutores e as nanopartículas metálica conforme já abordado por Tang e colaboradores (2012). No entanto, com o crescente número de tipos de pontos de carbono, algumas diferenças foram relatadas. Kalytchuk e colaboradores (2017) sintetizaram pontos de carbono do tipo N, S-CDs por tratamento hidrotérmico de ácido cítrico e L-cisteína. As propriedades de emissão de fluorescência com a temperatura não ocorreram alteração da posição e intensidade o aumento da temperatura. Macairam e colaboradores (2019) demonstraram que pontos de carbono com emissão de fluorescência na região do azul e vermelho apresentam comportamentos diferentes com a temperatura. Com o aumento da temperatura, a intensidade de fluorescência do componente azul mostra uma ligeira diminuição em contraste com o componente vermelho, que aumenta significativamente.

No trabalho de Yang e colaboradores foi relatado que dois fatores são importantes para definir o efeito da temperatura na emissão de fluorescência em pontos de carbono: tipos de grupos funcionais na superfície da partícula e formação de interações por ligação de hidrogênio entre o ponto de carbono e solvente. Grupos funcionais com oxigênio, por exemplo C=O e OH, contribuem para maior dependência da emissão de fluorescência com temperatura bem como fortes ligações de hidrogênio.

Sendo assim, com base em nossos resultados podemos concluir que os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA não apresentam comportamento de semicondutor. Além disso, não foi possível observar a supressão térmica, pois não há ocorrência de armadilhas que levam ao processo não radiativo com aumento da temperatura.

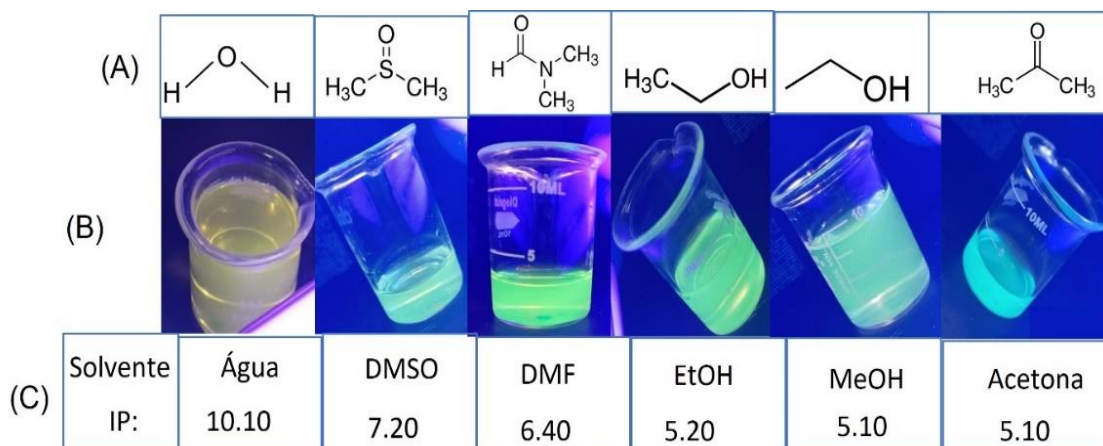
4.3.4 Avaliação da região de emissão de fluorescência dos PCs variando os solventes (Solvatocromismo)

O fenômeno que é observado em solvatocromismo está relacionado com as moléculas do solvente interagir com as moléculas do soluto, no qual podem estabilizar ou desestabilizar um ou ambos orbitais envolvidos na transição eletrônica, afetando diretamente nos comprimento de onda de emissão (ARSHAD *et al.*, 2018).

Em nosso trabalho, foi avaliado solvatocromismo sobre as propriedades luminescentes, mantendo-se o comprimento de onda de excitação em 420 nm. As soluções de PCs foram preparadas a partir da dispersão do sólido em diferentes solventes, vale ressaltar que nesse estudo a massa dos PCs e o volume dos solventes não foram semelhantes, pois o intuito não era comparar a intensidade e emissão de fluorescência, e sim obter informações da região de emissão de fluorescência.

A estrutura química dos solventes utilizados está apresentada na Figura 44-A, a Figura 44-B mostra as fotografias tiradas na lâmpada UV das emissões de fluorescência dos PCs-OPDA e o valor do seu índice de polaridade (IP) (ALAŞ & GENÇ, 2021) está referenciado na Figura 44-C.

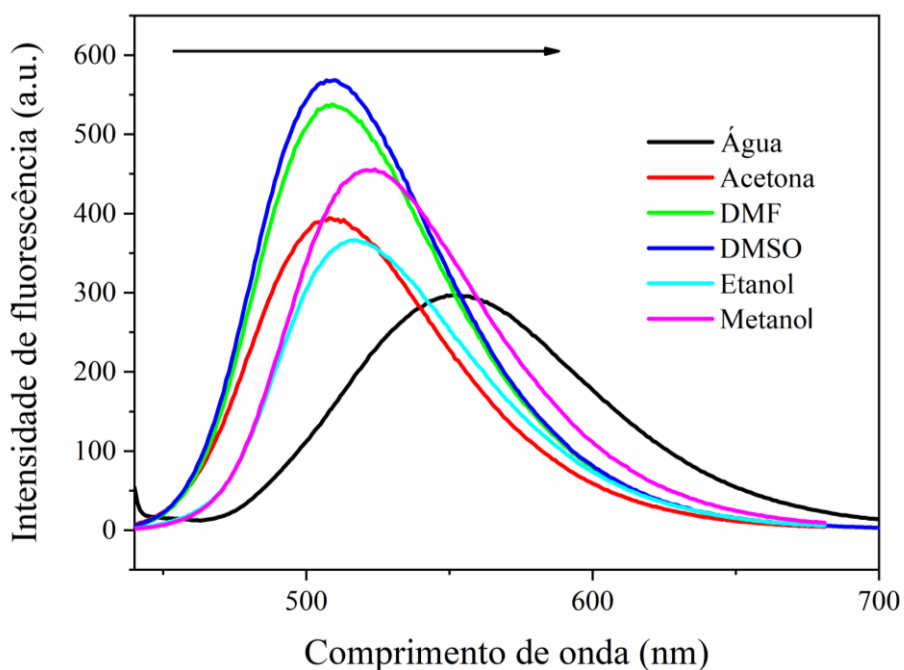
Figura 44 - Estrutura química dos solventes utilizados (A), fotografias das soluções de PCs-OPDA sob influência da lâmpada UV (B) e valor de índice de polaridade (C).



Fonte: Autora.

Na Figura 45 se vê os espectros de fluorescência dos PCs-OPDA a partir da solubilização nos diferentes solventes.

Figura 45 - Espectro de fluorescência variando-se o solvente para os PCs-OPDA.



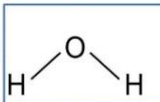
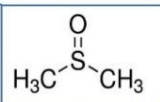
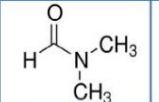
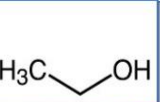
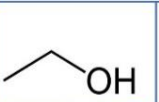
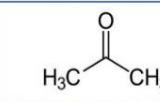






Fonte: Autora.

Os resultados obtidos apresentaram um deslocamento batocrômico (deslocamento para a região do vermelho), a medida que aumenta o valor de IP do solvente. A emissão de

fluorescência do PCs-OPDA em água ocorre em 560 nm enquanto em acetona a emissão ocorre em 510.

No que se refere ao estudo de solvatocromismo para o PCs 3,4-DABA, apresentam a estrutura química do solvente analisado (Figura 46-A), a Figura 46-B mostra as fotografias tiradas na lâmpada UV das emissões de fluorescência dos PCs 3,4-DABA e o valor do seu índice de polaridade (IP) (ALAŞ & GENÇ, 2021) (Figura 46-C).

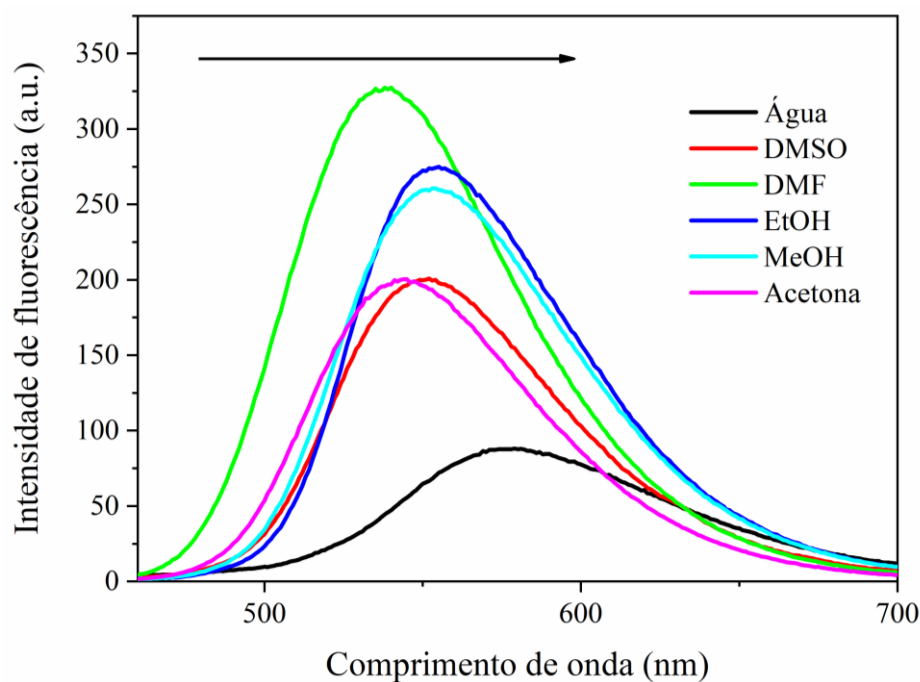
Figura 46 - Estrutura química dos solventes utilizados (A), fotografias das soluções de PCs 3,4-DABA sob influência da lâmpada UV (B) e valor de índice de polaridade (C).

(A)							
(B)							
(C)	Solvente IP:	Água 10.10	DMSO 7.20	DMF 6.40	EtOH 5.20	MeOH 5.10	Acetona 5.10

Fonte: Autora.

A Figura 47 apresenta o espectro de fluorescência dos PCs 3,4-DABA a partir da solubilização nos diferentes solventes.

Figura 47 - Espectro de fluorescência variando-se o solvente para os PCs 3,4-DABA.



Fonte: Autora.

Os resultados de solvatocromismo obtidos apresentaram um comportamento semelhante entre PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA, isto é um deslocamento batocrômico (deslocamento para a região do vermelho) quando aumenta-se o valor de IP do solvente.

Conforme Isobe e colaboradores, o fenômeno do solvatocromismo na emissão de fluorescência de PCs produzidos a partir *o*-fenilenodiamina sob refluxo a 250 °C é atribuído a diminuição da energia entre os orbitais HOMO e LUMO. Essa diminuição de energia é resultado da solvatação e da reorientação de moléculas polares ao redor dos PCs. Em particular, sabe-se que as moléculas de álcool estabilizam estados excitados por meio de ligações de hidrogênio, resultando em emissão na região do vermelho. Contudo, nossos resultados de solvatocromismo encontram-se condizentes com a literatura.

4.3.5 Avaliação da Intensidade de Emissão de Fluorescência dos PCs em relação ao pH

A variação de pH desempenha um papel importante para os PCs a depender da sua aplicabilidade. A intensidade da emissão de fluorescência ou o comprimento de onda de emissão de fluorescência podem ser alterados a depender o valor de pH.

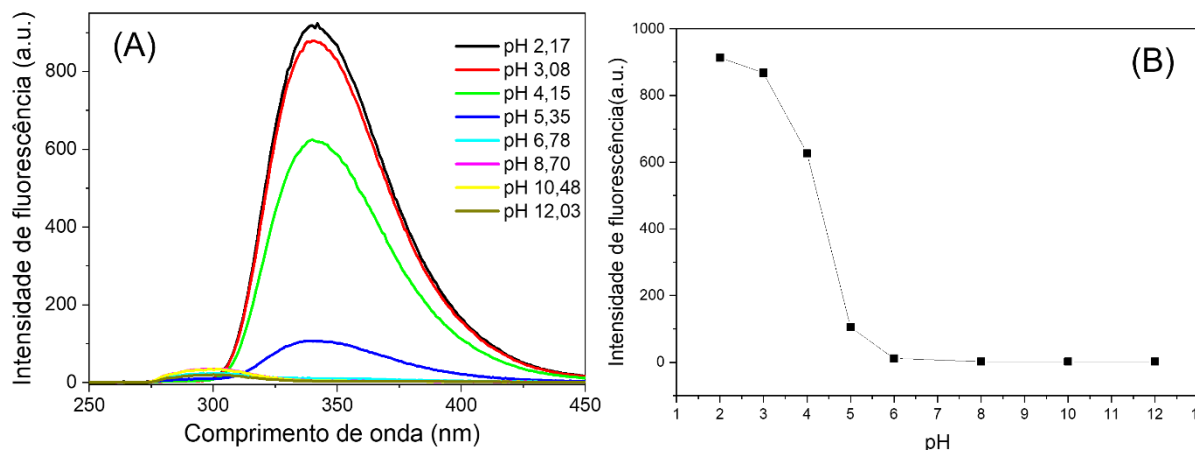
Segundo Ehtesabi e colaboradores (2020) citam a alteração da intensidade e emissão de fluorescência em relação ao pH pelos seguintes fatores, protonação ou desprotonação dos grupos funcionais presentes na superfície dos pontos quânticos de carbono, bem como os efeitos de agregação e transferência de próton, no entanto, não foi estabelecido um mecanismo aceitável para tais comportamento, Para Liu e seus colaboradores (2021) a compreensão do mecanismo de fluorescência sensível ao pH é voltada também para o mecanismo de desprotonação e protonação de grupos ácidos e básicos nos estados fundamentais ou excitados, que poderia causar alterações no processos de transição eletrônica. Barati e colaboradores sugerem que o comportamento de emissão de fluorescência é dependente da energia de excitação de PCs, pois apresentam abundantes grupos funcionais com vários níveis de energia em suas superfícies podendo formar uma série de armadilhas emissivas de estado, como fluoróforos isolados. Assim, excitando os PCs em um determinado comprimento de onda, uma certa superfície dominará o espectro de emissão, podendo apresentar diferentes perfis espectrais depende da região de excitação.

Para os estudos dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA foi possível verificar que ambos são sensíveis ao valor de pH. A sensibilidade ao pH de acordo com a literatura é dependente da excitação, de modo que os espectros de emissão, quando excitados em diferentes comprimentos de onda apresentam intensidade e região de emissão distintos.

Os espectros de emissão dos PCs-OPDA com excitação em 240 nm e 440 nm em função do pH são mostrados na Figura 48 e Figura 49, respectivamente.

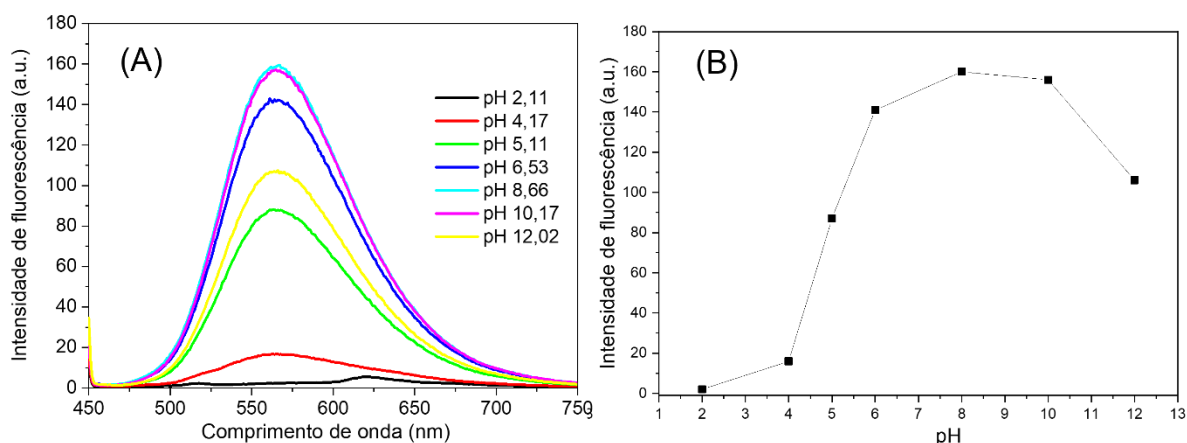
Os perfis espectrais de emissão de fluorescência sob excitação em 240 nm e 440 nm, mostram comportamentos diferentes. Na Figura 48-A, há um deslocamento da emissão de fluorescência para região de maior energia acompanhado da diminuição da intensidade de fluorescência na faixa de pH de 2 a 12. Enquanto sob excitação em 440 nm (Figura 49-A) não se vê alteração no comprimento de onda emissão, mas aumento da intensidade de fluorescência.

Figura 48 - Espectro de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA $\lambda_{\text{excitação}}=240$ nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}}=340$ nm(B).



Fonte: Autora.

Figura 49 - Espectro de emissão de fluorescência dos PCs-OPDA $\lambda_{\text{excitação}}=440$ nm (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}}=566$ nm(B).



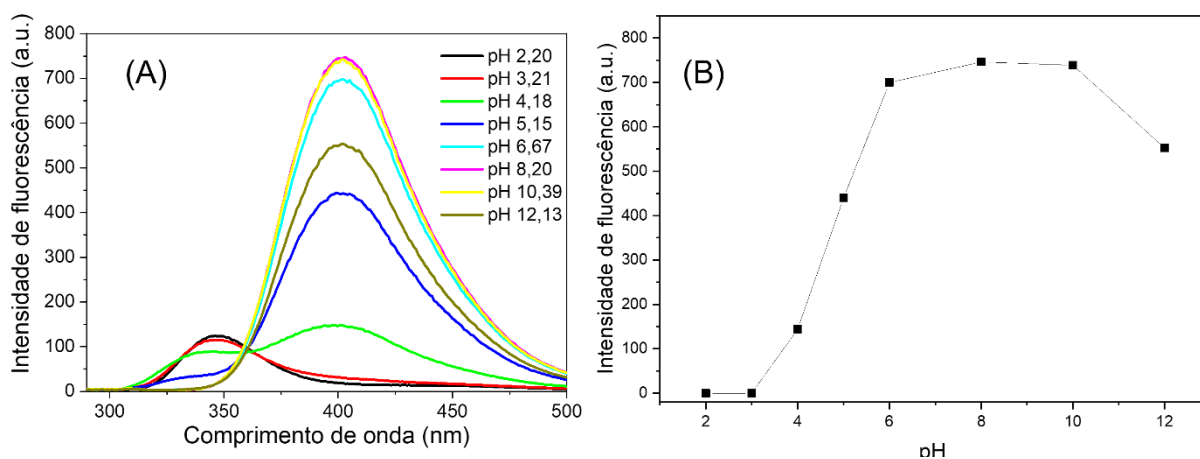
Fonte: Autora.

Os espectros de emissão dos PCs 3,4-DABA com excitação em 280 nm e 440 nm em função do pH são mostrados na Figura 50 e Figura 51, respectivamente.

Os perfis espectrais de emissão de fluorescência sob excitação em 280 nm e 440 nm, mostram comportamentos diferentes. Na Figura 50-A, há um deslocamento da emissão de fluorescência para região de maior energia acompanhado do aumento de intensidade de

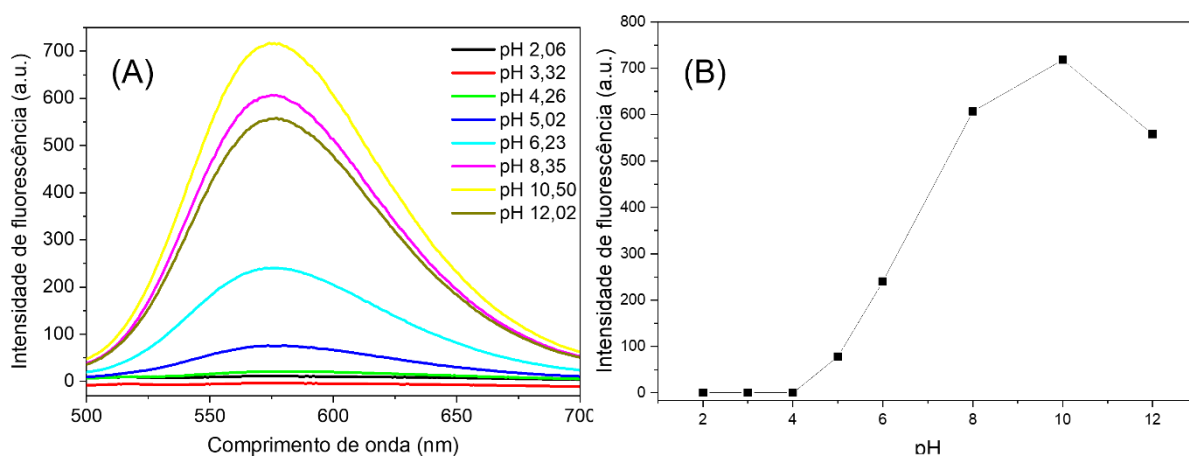
fluorescência na faixa de pH 4 a 10, e uma diminuição de intensidade de fluorescência em pH 12. Enquanto sob excitação em 440 nm (Figura 51) não se vê alteração no comprimento de onda emissão, mas aumento da intensidade de fluorescência, assim como nos PCs-OPDA.

Figura 50 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA $\lambda_{\text{excitação}} = 280 \text{ nm}$ (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}} = 400 \text{ nm}$ (B).



Fonte: Autora.

Figura 51 - Espectros de emissão de fluorescência dos PCs 3,4-DABA $\lambda_{\text{excitação}} = 440 \text{ nm}$ (A). Janelas de emissão e excitação 5/10. Gráfico do pH versus intensidade de fluorescência $\lambda_{\text{emissão}} = 576 \text{ nm}$ (B).



Fonte: Autora.

A dependência do pH em PCs podem ser referentes a protonação e desprotonação reversível dos vários grupos funcionais na superfície dos PCs (cada um dos quais possuindo um único pka) ou fluoróforos isolados em PCs com diferentes estados de energia em meio ácido e básico.

Na literatura, encontram-se resultados dos PCs preparados com polietilenoimina, que apresentou uma maior intensidade de fluorescência em meio ácido e não apresentou fluorescência em meio básico, enquanto, PCs preparados a partir da pirólise de sais de ácido etilenodiamina-tetraacético observou-se um comportamento inverso (DONG *et al.*, 2013).

Podemos inferir que nos casos dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA a emissão de fluorescência aumenta diretamente com aumento do valor de pH quando a excitação ocorre em 440 nm, pois trata-se da emissão proveniente dos estados moleculares relacionados a fluoróforos isolados conectados na superfície do PCs fenazina e dicarboxifenazina, conforme apresentado no espectro na região do UV/Vis e espectro de fluorescência.

4.3.6 Determinação do Potencial Zeta

Os estudos de potencial zeta foram empregados para avaliar as cargas superficiais das partículas. Os resultados de potencial zeta em pH=7,4 para ambos os PCs, indicam que na superfície dos PCs-OPDA contém mais grupos aminas, pois apresenta um valor mais positivo de potencial zeta em comparação ao PCs 3,4-DABA, sendo o valor de pKa do carbonáceo OPDA igual a 4,46 enquanto para o 3,4-DABA, o pKa1= 3,39 e pka2=5,1, contribuindo para os resultados obtidos. Com aumento do valor para pH=8, o valor de potencial zeta torna-se mais negativo em função da desprotonação dos grupos funcionais presentes em ambas as estruturas.

Tabela 1 -Tabela dos valores de potencial zeta apresentados pelos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA em pH 7,4 e 8.

pH	7,4	8
PCs-OPDA	-0,146	-7,01
PCs 3,4-DABA	-5,85	-8,44

Fonte: Autora.

Os valores de potencial zeta apresentados corroboram com a proposta estrutural dos grupos funcionais presentes na superfície dos PCs obtidos a partir dos espectros de IV, uma vez que eles indicam que os PCs 3,4-DABA apresentam mais grupos carboxilatos, enquanto os PCs-OPDA contêm mais grupos funcionais aminas.

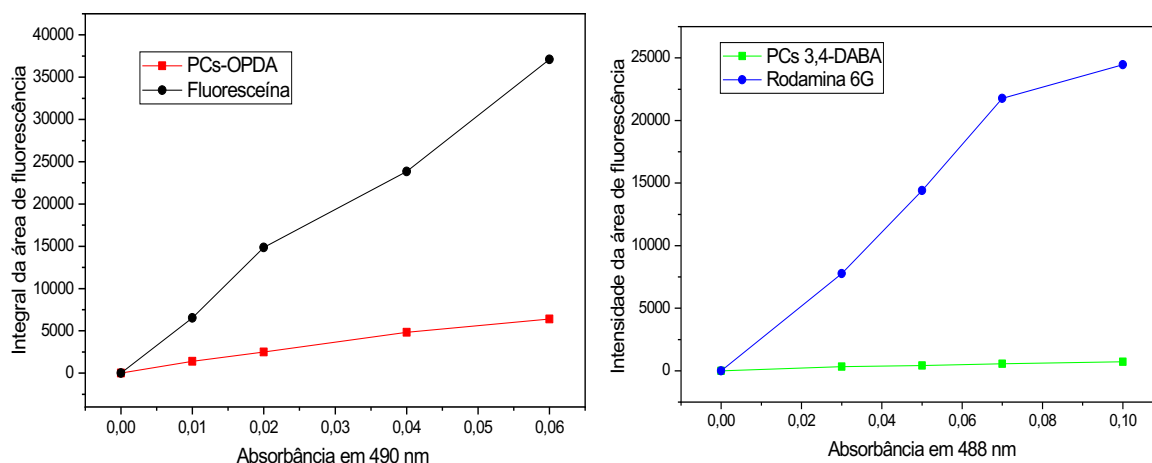
4.3.7 Rendimento quântico de fluorescência

O rendimento quântico de fluorescência é a razão do número de fótons emitidos pelo número de fótons absorvidos, dando um valor relativo da fluorescência do material. Em nosso trabalho, o rendimento quântico de fluorescência foi realizado pelo método indireto, utilizando-se padrões de fluorescências para os possíveis cálculos, a fluoresceína foi utilizada no estudo dos PCs-OPDA e a rodamina 6G foi utilizada no estudo dos PCs 3,4-DABA, visto que as amostras absorvem em comprimento de onda distintos. A Figura 52 mostra o tratamento matemático da integral da área do espectro *versus* absorbância das amostras, onde foi possível determinar o valor de $\Phi_F = 17\%$ para os PCs-OPDA e $\Phi_F = 2,98\%$ para os PCs 3,4-DABA.

Os dados obtidos de rendimento quântico de fluorescência dos PCs-OPDA estão semelhantes a literatura de Jiang e colaboradores (2015) no qual os PCs-OPDA sintetizado pelos mesmos apresentou valor de $\Phi_F = 17,6\%$ e no trabalho de Soni e colaboradores (2021) citado na seção de fluorescência, o produto obtido na região do verde apresentou $\Phi_F = 18,8\%$.

O rendimento quântico de PCs 3,4-DABA apresentou-se um valor menor daqueles encontrados na literatura, tais como no trabalho de Zhao e colaboradores (2019) utilizou como precursores o ácido 3,5 diaminobenzoico, etanol e H_3PO_4 , obtendo-se um $\Phi_F = 69,2\%$ e no trabalho de Wang e colaboradores (2019) utilizando-se também ácido 3,5 diaminobenzoico em um método solvatotérmico obteve-se um $\Phi_F = 53,8\%$. De acordo com a literatura de Miao e colaboradores (2018), a passivação da superfície dos PCs, bem como a utilização de métodos de dopagem de heteroátomos, melhoram os valores de rendimento quântico de fluorescência.

Figura 52 - Tratamento matemático da integral da área do espectro de emissão de fluorescência versus absorvância para os padrões e PCs.



Fonte: Autora.

4.3.8 Microscopia de imagem com tempo de vida de fluorescência (tempo de vida)

O tempo de vida, é um tempo finito em que as moléculas permanecem após serem excitadas, ou seja, um tempo finito antes de retornarem ao seu estado eletrônico fundamental e diversos fatores podem afetar a medida do tempo de vida, tais como taxas de decaimento radiativo, não- radiativos, desativações colisionais, interações com supressores, dentre outros (DATTA *et al*, 2020).

Em nosso estudo utilizou-se duas técnicas a partir da metodologia “*Time Correlated Single Photon Counting*” (TCSPC) que é um método que se baseia na probabilidade de que a emissão de um fóton por uma molécula excitada, diminui exponencialmente com o passar do tempo e a medida é realizada para obter uma relação entre o número de fótons em relação ao tempo e as técnicas empregadas foram a técnica FLIM (imagem de fluorescência vitalícia) e a técnica de fluorescência resolvida no tempo

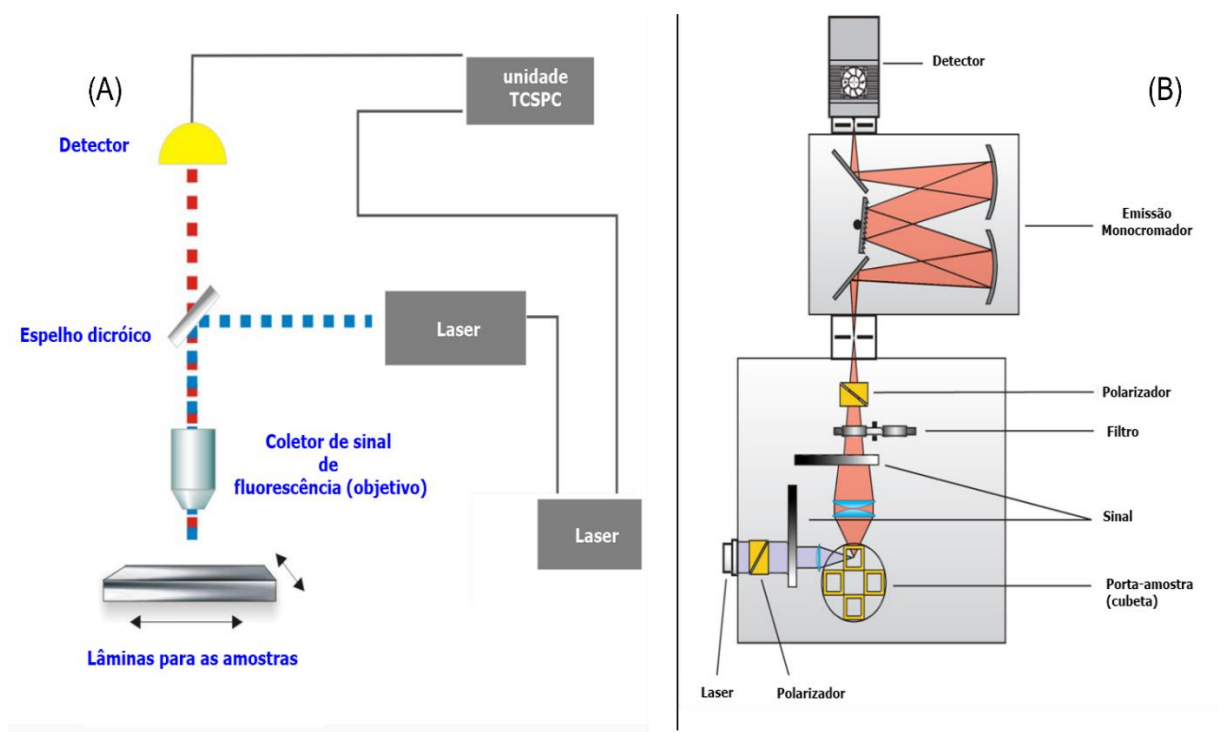
Na técnica FLIM consegue-se medir o tempo que um fluoróforo permanece em um estado excitado antes de emitir um fóton, além disso a técnica apresenta alta sensibilidade e potencialidade de avaliar os processos de fotoluminescência dos PCs em microambiente celular e as medições de tempo de vida de fluorescência foram obtidas a partir do gotejamento das soluções de PCs nas lamínulas de microscopia, submetida a excitação em

440 nm, sendo para os PCs-OPDA a emissão a partir de 460 nm e para os PCs 3,4-DABA a partir de 550 nm (SUHLING *et al.*, 2005).

A técnica de fluorescência resolvida no tempo, utilizou-se soluções de PCs em uma cubeta, no qual foi submetida a excitação com um laser em 427nm com uma emissão fixa em 550 nm. Nessa técnica mede-se o tempo entre a excitação da amostra por um laser pulsado e a chegada do fóton emitido ao detector.

Apesar das duas técnicas se basear na metodologia TCSPC, elas se diferem entre si em sua instrumentação, sendo a FLIM apresentando um espelho dicróico (para separar o sinal de fluorescência da luz de excitação) e a fluorescência resolvida no tempo um meio de separar o sinal de fluorescência da luz de excitação (monocromador ou filtros ópticos). As diferenças instrumentais estão ilustradas na Figura 53.

Figura 53 - Instrumentação das técnicas FLIM (A) e fluorescência resolvida no tempo (B).



Fonte: (SUHLING *et al.*, 2015)

Na Tabela 2, observa-se os valores obtidos a partir da técnica de fluorescência resolvida no tempo. Os PCs -OPDA apresentam decaimento cinético mono exponencial enquanto PCs-3,4-DABA bi exponencial.

Tabela 2 – Valores obtidos de tempo de vida dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA pela técnica de fluorescência resolvida no tempo

Amostras	t ₁ (ns)	t ₂ (ns)
PCs-OPDA	1,86	-
PCS 3,4- DABA	1,08	2,26

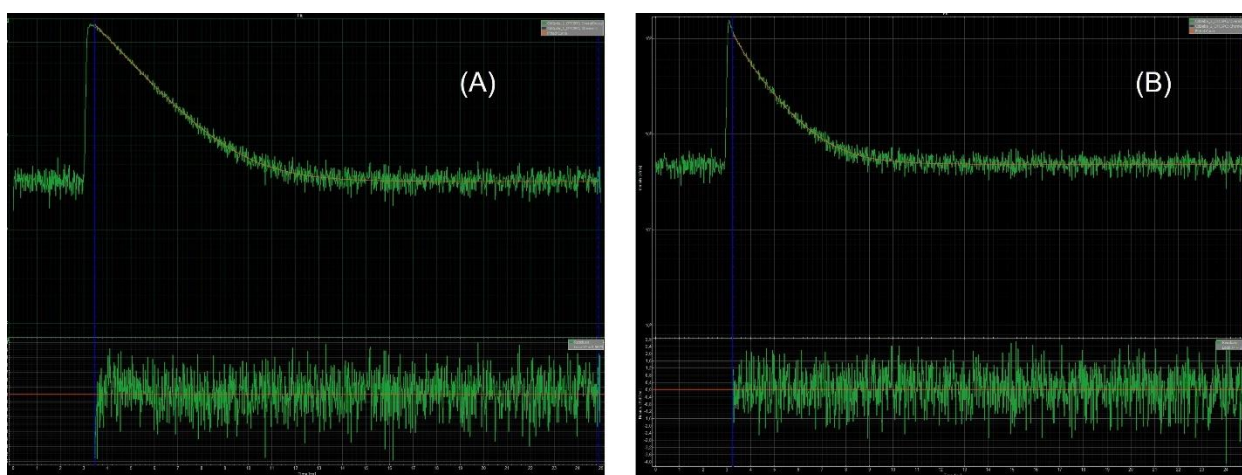
Na Tabela 3 estão apresentados os valores obtidos a partir da técnica FLIM, e observa-se o mesmo comportamento cinético para os PCs-OPDA, sendo mono exponencial enquanto PCs-3,4-DABA bi exponencial. A Figura 54 apresenta o perfil do decaimento cinético.

Tabela 3 – Valores obtidos de tempo de vida dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA pela técnica FLIM.

Amostras	t ₁ (ns)	t ₂ (ns)	[t] (ns)	Chi-squared
PCs-OPDA	1,59	-	1,59	0,96
PCS 3,4- DABA	1,20	0,39	1,16	1,01

Fonte: Autora.

Figura 54 - Perfil do decaimento cinético obtidos pela técnica FLIM dos PCs-OPDA (A) e PCs 3,4-DABA (B)



Fonte: Autora.

Comparando os valores com a técnica de fluorescência resolvida no tempo, os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA apresentam valores de tempo de vida menores, principalmente no segundo decaimento cinético dos PCs 3,4-DABA. Acredita-se que a diferença dos valores está relacionada com a instrumentação das técnicas utilizadas.

No trabalho de Yang e colaboradores, o nanoponto de carbono obtido a partir do composto *o*-fenilenodiamina apresentou tempo de vida médio igual a 2,09 ns. Shuang e colaboradores 2022, sintetizaram PCs a partir do 3,5-DABA e ácido cítrico, apresentando tempo de vida médio igual a 7,8363 ns.

As diferenças entre os valores de tempo de vida médio para PCs OPDA e PCs 3,4-DABA pode ser justificado aos grupos funcionais. Os grupamentos NH₂ aumentam o grau de conjugação nos PCs, aumentando o nível de Fermi e consequentemente aumentando o tempo de vida de fluorescência.

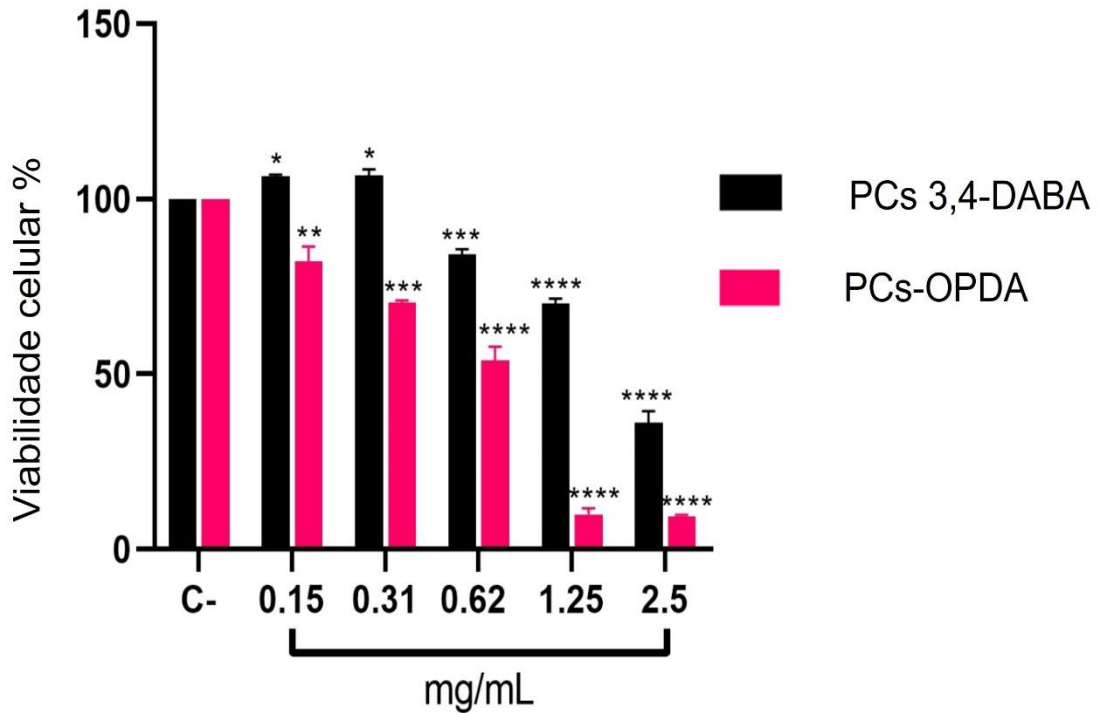
4.4 Ensaio de viabilidade celular

Com o recente avanço nas pesquisas, os PCs apresentaram um grande potencial em serem aplicados nas áreas biológicas, como em bioimagem, entrega de drogas, biodetecção e terapia fotodinâmica, devido á suas propriedades ópticas, solubilidade aquosa e baixa citotoxicidade, sendo assim, o estudo da citotoxicidade/viabilidade celular se tornou um fator essencial para tais aplicações (SHARMA & DAS, 2019).

Em nosso estudo, os ensaios de viabilidade celular foram realizados para os PCs-OPDA e PCs -DABA após 24 h de tratamento em linhagens celulares de melanoma murino B16F10 e melanoma humano A375, foi utilizado diferentes linhagens celulares com o intuito de verificar se haveria diferenças em seus resultados.

As concentrações de ambos os estudos se encontram na faixa de 0,15 a 2,5 mg/mL. O resultado de viabilidade celular para a linhagem B16F10 está apresentado na Figura 55 e pode-se observar que o efeito citotóxico foi maior para o tratamento com PCs-OPDA em relação ao PCs-3,4-DABA.

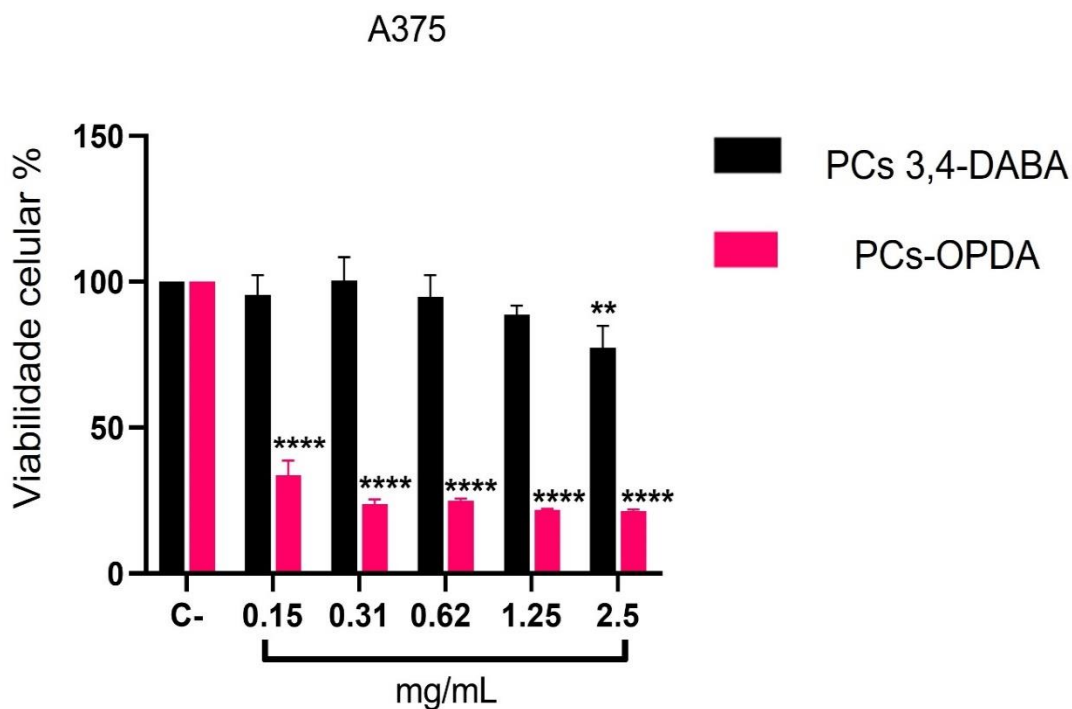
Figura 55 - Resposta de viabilidade celular dos PCs-OPDA e PCs -DABA em linhagem celular B16 F10 após 24 h de incubação. (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ e **** $p \leq 0,0001$).



Fonte: Autora.

Em se tratando de linhagem celular de melanoma humano, os resultados, apresentados na Figura 56, demonstram que o PCs-OPDA possui alta citotoxicidade para a linhagem A375 em todas as concentrações testadas, já na concentração de 0,15 mg/mL teve uma citotoxicidade de aproximadamente 65%. Já o PCs 3,4-DABA apresentou menor citotoxicidade, sendo significativamente citotóxico apenas na maior concentração testada inibindo aproximadamente 22%.

Figura 56 - Resposta de viabilidade celular dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA em linhagens A375 após 24 h de incubação. (* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ e **** $p \leq 0,0001$).



Fonte: Autora.

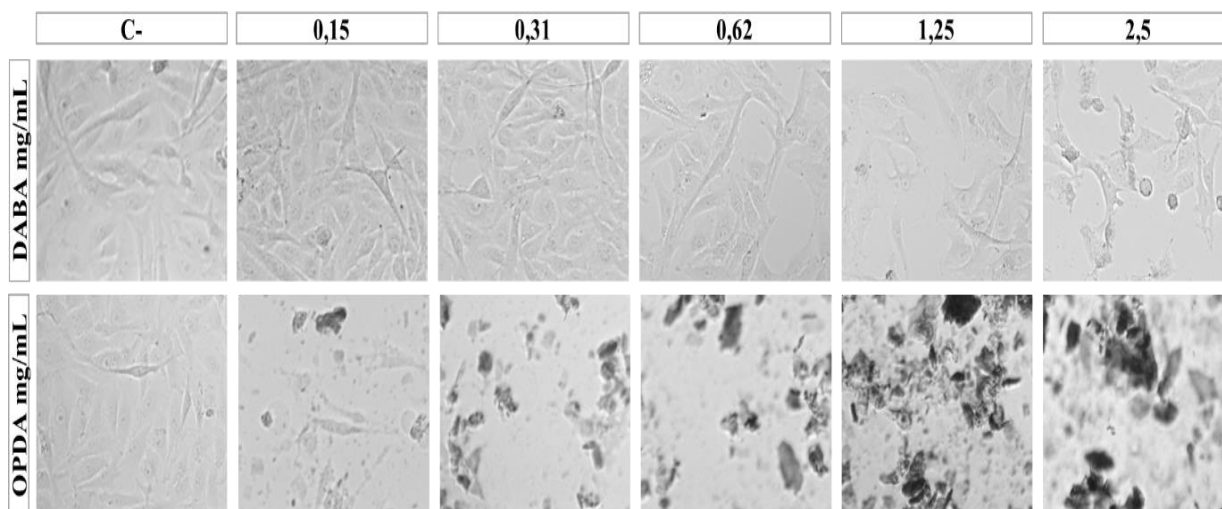
Os dados de viabilidade celular demonstram que ambos os PCs são mais citotóxicos para a linhagem B16F10 em relação a linhagem A375.

Nos estudos de He e colaboradores (2021) bem como Sham e colaboradores (2019), sintetizaram PCs a partir da o-fenilenodiamina e os estudos de citotoxicidade frente a células B16F10, nas concentrações de 0,025 a 0,4 mg/mL não mostrou efeito citotóxico, indicando a biocompatibilidade dos PCs sintetizados via micro-ondas doméstico.

Com o intuito de discutir a elevada citotoxicidade obtida para os PCs obtidos nesse trabalho, foi realizado ensaios de morfologia celular.

Os resultados, apresentados na Figura 57, demonstram que o PC 3,4-DABA é capaz de alterar a morfologia das células A375 após 24 h de incubação a partir da concentração de 1,25 mg/mL, com diminuição da densidade celular e aparecimento de estruturas circulares. Quanto os estudos foram realizados com PCs-OPDA a formação de agregados dificultaram a obtenção de imagens da morfologia celular.

Figura 57 - Efeito dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA na morfologia das células A375 após 24 h de incubação.



Fonte: Autora.

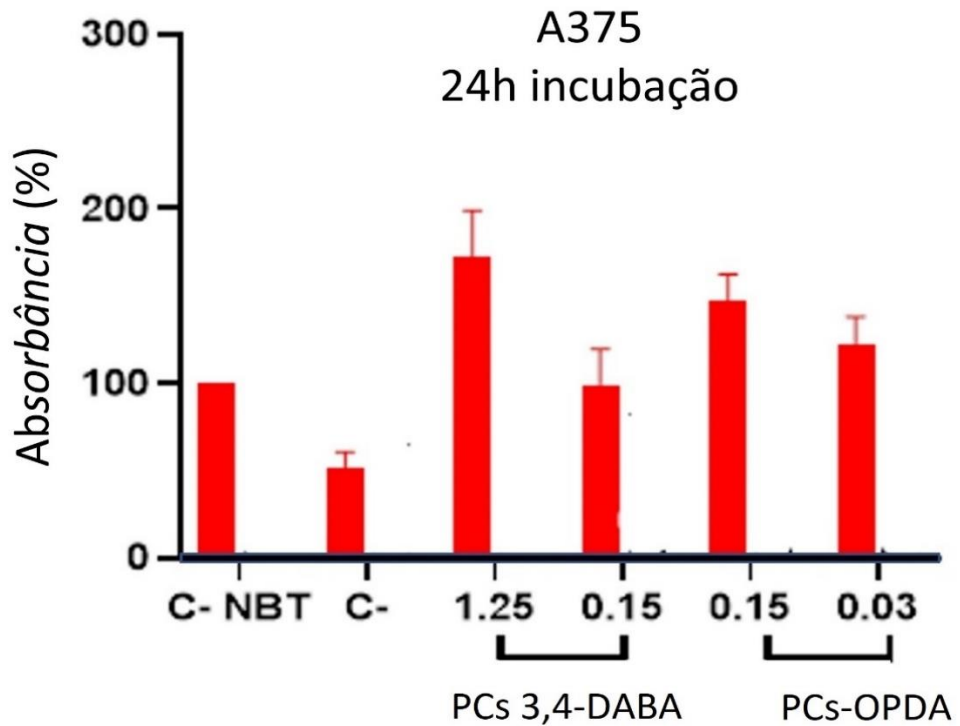
A partir dos resultados de morfologia celular, esperávamos concluir a maior citotoxicidade promovida pelo PCs-OPDA em linhagens de melanoma murino (B16F10) e humano (A375) em comparação ao PCs 3,4-DABA. No entanto, o que se vê é o efeito de aglomeração dos PCs-OPDA visto anteriormente na técnica AFM.

Os sistemas agregados em geral são um problema, no que se refere a estudos de viabilidade celular, já os mesmos em alguns casos não permeiam a membrana celular e conseqüentemente não interage com alvos celulares que levem a morte da célula (DONDEERS *et al.*, 2019).

Uma possibilidade da maior citotoxicidade promovida pelo PCs-OPDA em relação ao PCs 3,4-DABA pode estar relacionada a produção de ânion superóxido (O_2^-).

Ensaio iniciais para determinação da produção de O_2^- (Figura 58), foram realizados utilizando-se a sonda NBT.

Figura 58 – Resultados dos ensaios de NBT para os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA.



Fonte: Autora

Os resultados preliminares indicam que os PCs-OPDA tendem a produzir mais O_2^- que o PCs 3,4-DABA, o que pode justificar a menor viabilidade celular pelo PCs-OPDA.

Contudo, os estudos realizados para os PCs sintetizados nesse trabalho, apresentaram potenciais em serem aplicados nas áreas biológica.

5 CONCLUSÕES

No presente trabalho buscou-se avaliar as propriedades estruturais e ópticas de PCs sintetizados via micro-ondas doméstico a partir de duas fontes carbonáceas semelhantes, sendo o OPDA e 3,4-DABA.

As caracterizações estruturais pela técnica de IV evidenciaram diferentes grupos funcionais presentes nas superfícies dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA, como esperado, visto que os precursores apresentam estruturas diferentes. A espectroscopia Raman, evidenciou os resultados do núcleo de carbono, no qual os PCs sintetizados em nosso trabalho apresentaram núcleo de carbono incompletos, na técnica de DRX de pó, apresentou-se um caráter policristalino, constatando-se uma possível estrutura de pontos de polímeros carbonizados (CNPds), o TGA contribuiu-se apresentando vários eventos de decomposição, os tamanhos das partículas foram obtidas a partir do AFM sendo na ordem de $5,02 \pm 1,03$ nm para PCs-OPDA e $14,01 \pm 1,21$ nm para PCs 3,4-DABA.

Contudo, nas caracterizações estruturais surgiu a possibilidade da formação dos CNPDs, visto que o núcleo de carbono pode ser composto por uma superfície passivada por agregação ou ligações de grupos funcionais, denominados polímeros fluoróforos.

Com base nos precursores utilizados, acredita-se que se formou polímeros fluoróforos nas sínteses dos PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA, tal como a 2,3-diaminofenzina e 4,7-dicarboxi-1,2-diaminofenzina, respectivamente.

Os espectros de fluorescência indicaram que ambos os PCs são independentes do comprimento de onda de excitação, inferindo-se que se formou estruturas poliméricas no processo de síntese, o espectro de UV/Vis dos PCs apresentaram bandas na região do Visível, sendo PCs-OPDA 420 nm e PCs 3,4-DABA 450 nm, referente a estrutura fenazina e dicarboxifenazina. O perfil de fluorescência em função do pH avaliado na região do UV/Vis apresentou resultados distintos quando comparados entre si, mas ambas as regiões apresentaram dependência do valor de pH. A avaliação da temperatura na intensidade de fluorescência dos PCs e o estudo de solvatocromismo na emissão de fluorescência apresentaram resultados condizentes com a estrutura formada em nossa síntese. O tempo de vida e o potencial zeta apresentaram resultados que confirmam as diferenças estruturais entres os PCs-OPDA e PCs 3,4-DABA.

Os estudos de viabilidade celular na faixa de concentrações entre 0,15 e 0,31 mg/mL apresentaram resultados condizente com aqueles encontrados na literatura, sendo assim, não apresentaram citotoxicidades a células B16F10 e células A375.

6 REFERÊNCIAS

ADORNO, S. R.; FRANCO, L. P.; BIAZZOTTO, J. C.; NEGRI, L. B.; VELOZO, E.; UENO, L. T.; SANTANA DA SILVA, R.; GALVÃO DE LIMA, R. Influence of Co (III) and Ru (III) ion coordination on the accessibility of different lapachol oxidation states. **Journal of Molecular Structure**, v. 1176, p. 157–164, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.08.078>

ALAŞ, M. Ö.; GENÇ, R. Solvatochromic Surface-Passivated Carbon Dots for Fluorometric Moisture Sensing in Organic Solvents. **ACS Applied Nano Materials**, v. 4, n. 8, p. 7974 – 7987, 2021. <https://doi.org/10.1021/acsanm.1c01282>

ALI, H; GHOSH, S; JANA, N. R. Fluorescent carbon dots as intracellular imaging probes. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, vol. 12, n. 4, p. 1–15, 2020. <https://doi.org/10.1002/wnan.1617>

AHMAD, M.; AKANJI, M. A.; USMAN, A. R. A.; AL-FARRAJ, A. S. F.; TSANG, Y. F.; AL-WABEL, M. I. Turning date palm waste into carbon nanodots and nano zerovalent iron composites for excellent removal of methylthioninium chloride from water. **Scientific Reports**, v.10, n. 16125, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73097-x>

ARSHAD, F.; PAL, A.; RAHMAN, M. A.; ALI, M.; KHAN, J. A.; SK, M. P. Insights on the solvatochromic effects in N-doped yellow-orange emissive carbon dots. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 24, p. 19837–19843, 2018. <https://doi.org/10.1039/C8NJ03698E>

BORRÁS, D; PLAZAS, M; MOLIA, A; LANTERI, S; The influence of acute water stresses on the biochemical composition of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) berries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, p. 4724-4734, 2021. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11118>

BOURLINOS, A. B; ZBORIL, R; PETR, J; KRYSMANN, M; GIANNELIS, E. P. Luminescent surface quaternized carbon dots. **Chemistry of Materials**, v.24, n.1, p. 6-8, 2011. <https://doi.org/10.1021/cm2026637>

CARBONARO; CORPINO; SALIS; MOCCI; THAKKAR; OLLA; RICCI. On the Emission Properties of Carbon Dots: Reviewing Data and Discussing Models. **C — Journal of Carbon Research**, vol. 5, n. 4, p. 60, 2019. <https://doi.org/10.3390/c5040060>

CATE, D. M.; ADKINS J. A.; METTAKOONPITAK, J. HENRY, C. S. Recent developments in paper-based microfluidic devices. **Analytical Chemistry**, v. 87, p. 19-41, 2014. <https://doi.org/10.1021/ac503968p>

De, B., & Karak, N. Recent progress electrochemical carbon nanohybrids for photo dotchemistry and nanochemistry. **Journal of Materials Chemistry A**, v.5, p.1826–1859. <https://doi.org/10.1039/C6TA10220D>

DING, Y.; ZHANG, F.; XU, J.; MIAO, Y.; YANG, Y.; LIU, X.; XU, B. Synthesis of short-chain passivated carbon quantum dots as the light emitting layer towards electroluminescence. **RSC Advances**, v.7, p. 28754-28762, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7RA02421E>

DONDERS, E. N.; GANESH, A. N.; TOROSYAN, H.; LAK, P.; SHOICHET, B. K.; SHOICHET, M. S. Triggered Release Enhances the Cytotoxicity of Stable Colloidal Drug Aggregates. **ACS Chemical Biology**, v. 14, p.1507-1514, 2019. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00247>

DONG, Y; PANG, H; YANG, H. B; GUO, C; SHAO, J; CHI, Y; LI, C. M; YU, T. Carbon-Based Dots Co-doped with Nitrogen and Sulfur for High Quantum Yield and Excitation-Independent Emission. **Angewandte Chemie**, vol. 125, n. 30, p. 7954–7958, 2013. <https://doi.org/10.1002/ange.201301114>

EDISON, T. N. J. I; ATCHUDAN, R; SETHURAMAN, M. G; SHIM, J; LEE, Y. R. Microwave assisted green synthesis of fluorescent N-doped carbon dots: Cytotoxicity and bio-imaging applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 161, p. 154-161, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.05.017>

EHTESABI, H; HALLAJI, Z; BOBAR, S. N; BAGHERI, Z. Carbon dots with pH-responsive fluorescence: a review on synthesis and cell biological applications. **Microchimica Acta**, v.187, p. 1-18, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00604-019-4091-4>

FERRARI, A.; ROBERTSON, J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon. **Physical Review B - Condensed Matter and Materials Physics**, v. 61, n. 20, p. 14095–14107, 2000. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.61.14095>

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, R. B.; GONZÁLEZ, L. T.; MADOU, M.; LEYVA-PORRAS, C.; MARTINEZ-CHAPA, S. O.; MENDOZA, A. Synthesis, Purification, and Characterization of

Carbon Dots from Non-Activated and Activated Pyrolytic Carbon Black. **Nanomaterials**, v. 12, n. 3, 2022. <https://doi.org/10.3390/nano12030298>

GUPTA, R; SANOTRA, S; SHEIKH, H. N; KALSOTRA, B. L. Room temperature aqueous phase synthesis and characterization of novel nano-sized coordination polymers composed of copper(II), nickel(II), and zinc(II) metal ions with p-phenylenediamine (PPD) as the bridging ligand. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, vol. 3, n. 1, 2013. <https://doi.org/10.1186/2193-8865-3-41>

HE, G.; SHU, M.; YANG, Z.; MA, Y.; HUANG, D.; XU, S.; WANG, Y.; HU, N.; ZHANG, Y.; XU, L. Microwave formation and photoluminescence mechanisms of multi-states nitrogen doped carbon dots. **Applied Surface Science**, v. 422, p. 257–265, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.05.036>

HUO, F; LI, W; LIU, Y; LIU, X; LEE, C. Y; ZHANG, W. Review of long wavelength luminescent carbon-based nanomaterials: preparation, biomedical application and future challenges. **Journal of Materials Science**, vol. 56, n. 4, p. 2814–2837, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10853-020-05435-3>

ISNAENI; RAHMAWATI, I; INTAN, R; ZAKARIA, M. Photoluminescence study of carbon dots from ginger and galangal herbs using microwave technique. **Journal of Physics: Conference Series**, v.985, p.1-7, 2018. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/985/1/012004>

JIANG, K; SUN, S; ZHANG, L; LU, Y; WU, A; CAI, C; LIN, H. One-Step Hydrothermal Spot Synthesis of Nitrogen-Doped Conjugated Carbonized Polymer with 31% Efficient Red Emission for In Vivo Imaging. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n.18, p. 5360–5363, 2015. <https://doi.org/10.1002/smll.201703919>

JI, C.; HAN, Q.; ZHOU, Y.; WU, J.; SHI, W.; GAO, L.; LEBLANC, R. M.; PENG, Z. Phenylenediamine-derived near infrared carbon dots: The kilogram-scale preparation, formation process, photoluminescence tuning mechanism and application as red phosphors. **Carbon**, v. 192, p. 198–208, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2022.02.054>

JORNS, M; PAPPAS, D. A review of fluorescent carbon dots, their synthesis, physical and chemical characteristics, and applications. **Nanomaterials**, vol. 11, n. 6, 2021. <https://doi.org/10.3390/nano11061448>

KALYTCHUK, S.; POLÁKOVÁ, K.; WANG, Y.; FRONING, J. P.; CEPE, K.; ROGACH, A.

L.; ZBOŘIL, R. Carbon Dot Nanothermometry: Intracellular Photoluminescence Lifetime Thermal Sensing. **ACS Nano**, v. 11, n. 2, p. 1432–1442, 2017. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b06670>

KARAMI, S; SHAMSIPUR, M; TAHERPOUR, A . A; JAMSHIDI, M; BARATI, A . In Situ Chromophore Doping: A New Mechanism for the Emission of Long Wavelength Carbon Dots. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 124, n.19, p.10638-10646, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c00833>

KHAIROL, A. K. K; TAN, H. L; LIM, Y. P; SO'AIB, M. S; ABU BAKAR, N. F. A Review on Multifunctional Carbon-Dots Synthesized From Biomass Waste: Design/ Fabrication, Characterization and Applications. **Frontiers in Energy Research**, vol. 9, n. April, p. 1–22, 2021. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2021.626549>

KHAYAL, A; DAWANE, V; AMIN, M. A; TIRTH, V; YADAV, V. K; ALGAHTANI, A; KHAN, S. H; ISLAM, S; YADAV, K. K; JEON, B. Advances in the Methods for the Synthesis of Carbon Dots and Their Emerging Applications. **Polymers**, v. 13, p. 1-31, 2021. <https://doi.org/10.3390/polym13183190>

KOUTSOGIANNIS, P; THOMOUE, E; STAMATIS, H; GOURNIS, D; RUDOLF, P. Advances in fluorescent carbon dots for biomedical applications. **Advances in Physics: X**, vol. 5, n. 1, 2020. <https://doi.org/10.1080/23746149.2020.1758592>

KRYSMANN, M. J; KELARAKIS, A; DALLAS, P; GIANNELIS, E. P. Formation mechanism of carbogenic nanoparticles with dual photoluminescence emission. **Journal of the American Chemical Society**, vol. 134, n. 2, p. 747–750, 2012. <https://doi.org/10.1021/ja204661r>

KUMAR TRIVEDI, M; BRANTON, A; TRIVEDI, D; NAYAK, G; SINGH, R. Characterization of Physical, Thermal and Spectroscopic Properties of Biofield Energy Treated p-Phenylenediamine and p-Toluidine. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, vol. 05, n. 06, p. 0–10, 2015. <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000329>

LI, H; ZHAI, J; TIAN, J; LUO, Y; SUN, X. Carbon nanoparticle for highly sensitive and selective fluorescent detection of mercury (II) ion in aqueous solution. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 12, p. 4656-4660, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.03.026>

LIMA, S. Síntese e caracterização de pontos de carbono para desenvolvimento de sensores para análise de águas contaminadas com compostos orgânicos. **Dissertação de Mestrado**.

Universidade Federal de São João del-Rei - MG, 2020.

LIU, C.; JIN, Y.; WANG, R.; HAN, T.; LIU, X.; WANG, B.; HUANG, C.; ZHU, S.; CHEN, J. Indole Carbonized Polymer Dots Boost Full-Color Emission by Regulating Surface State. **iScience**, v. 23, n. 10, p. 101546, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101546>

LIU, C; ZHANG, F; HU, J; GAO, W; ZHANG M. A Mini Review on pH-Sensitive Photoluminescence in Carbon Nanodots. **Frontiers in chemistry**, v. 8, 2021. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.605028>

LIU, K. K; SONG, S. Y; SUI, L. Z; WU, S. X; JING, P. T; WANG, R. Q; LI, Q. Y; WU, G. R; ZHANG, Z. Z; YUAN, K; SHAN, C. X. Efficient Red/Near-Infrared-Emissive Carbon Nanodots with Multiphoton Excited Upconversion Fluorescence. **Advanced Science**, v.6, n.17, 2019. <https://doi.org/10.1002/advs.201900766>

LIU, J; LI, D; ZHANG, K; YANG, M; SUN, H; YANG, B. One-step hydrothermal point synthesis of nitrogen-doped conjugated carbonized polymer with 31% red emission efficient for in vivo imaging. **Small**, v.14, n.15, 2018. <https://doi.org/10.1002/smll.201703919>

LIU, M. L; CHEN, B. B; LI, C. M; HUANG, C. Z. Carbon dots: Synthesis, formation mechanism, fluorescence origin and sensing applications. **Green Chemistry**, vol. 21, n. 3, p. 449–471, 2019. <https://doi.org/10.1039/C8GC02736F>

LIU, J.; LI, R.; YANG, B. Carbon Dots: A New Type of Carbon-Based Nanomaterial with Wide Applications. **ACS Central Science**, v. 6, n. 12, p. 2179–2195, 2020. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01306>

MACAIRAN, J. R.; JAUNKY, D. B.; PIEKNY, A.; NACCACHE, R. Intracellular ratiometric temperature sensing using fluorescent carbon dots. **Nanoscale Advances**, v.1, n.1, p.105-113, 2019. <https://doi.org/10.1039/C8NA00255J>

MACHADO, C. E; VIEIRA, K. O; FERRARI, J. L; SCHIAVON, M. A. Pontos Quânticos de Carbono: Síntese Química, Propriedades e Aplicações. **Revista Virtual da Química**, v. 7, p.1306-1346, 2015. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150073>

MANDAL, P.; SAHOO, D.; PRIYATOSH SARKAR, P.; CHAKRABORTY, K.; DAS, S. Fluorescence Turn-on and Turn-off Sensing of Pesticides by Carbon Dot-Based Sensor. **New Journal of Chemistry**. v.43, p. 12137-12151, 2019. <https://doi.org/10.1039/C9NJ03192H>

MICHAUD, V; PRACT, J; SCHILFARTH, F; DAMM, C; PLATZER, B; HAINES, P; HARREISS, C; GULDI, D. M; SPIECKER, E; PEUKERT, W. Well-separated water-soluble carbon dots: Via gradient chromatography. **Nanoscale**, vol. 13, n. 30, p. 13116–13128, 2021.

<https://doi.org/10.1039/D1NR02562G>

MINTZ, K. J.; BARTOLI, M.; ROVERE, M.; ZHOU, Y.; HETTIARACHCHI, S. D.; PAUDYAL, S.; CHEN, J.; DOMENA, J. B.; LIYANAGE, P. Y.; SAMPSON, R.; KHADKA, D.; PANDEY, R. R.; HUANG, S.; CHUSUEI, C. C.; TAGLIAFERRO, A.; LEBLANC, R. M. A deep investigation into the structure of carbon dots. **Carbon**, v. 173, p. 433–447, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2020.11.017>

MOHAMMED, L. J.; OMER, K. M. Carbon Dots as New Generation Materials for Nanothermometer: Review. **Nanoscale Research Letters**, v. 15, n.182, 2020.

<https://doi.org/10.1186/s11671-020-03413-x>

MONTEIRO, T. M. Pontos de Carbono Obtidos da para-fenilenodiamina como sensores químicos: avaliação para cromo (III) em suplemento alimentar. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal da Paraíba, p. 1-91, 2019.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 2016.

[https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

ORLANDO, A.; FRANCESCHINI, F.; MUSCAS, C.; PIDKOVA, S.; BARTOLI, M.; ROVERE, M.; TAGLIAFERRO, A. A comprehensive review on Raman spectroscopy applications. **Chemosensors**, v.9, n. 262, 2021. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9090262>

PAL, A; SK, M. ; CHATTOPADHYAY, A. Recent advances in crystalline carbon dots for superior application potential. **Materials Advances**, vol. 1, n. 4, p. 525–553, 2020.

<https://doi.org/10.1039/D0MA00108B>

PARK, Y; YOO, J; LIM, B; KWON W; RHEE. Improving the functionality of carbon nanodots: doping and surface functionalization. **Journal of Materials Chemistry**, v. 4, p.11582-11603, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6TA04813G>

PARVIN, N.; MANDAL, T. K. Dually emissive P,N-co-doped carbon dots for fluorescent and photoacoustic tissue imaging in living mice, **Microchimica Acta** , v.184, p.1117-1124, 2017.

<https://doi.org/10.1007/s00604-017-2108-4>

PAVIA, D. L; LAMPMAN, G. M; KRIZ, G. S; VYVYAN, J. R. Introdução à espectroscopia. **5. ed. São Paulo: Cengage Learning**, p. 365-366, 2015.

PIRES, N. R; SANTOS, C. M.W; SOUZA, R.R; PAULA, R. C. M; CUNHA, P. K.R; FEITOSA, J. P.A. Novel and Fast Microwave-Assisted Synthesis of Carbon Quantum Dots from Raw Cashew Gum. **Journal Chemistry Brazilian Society**, v. 26, p.1274-1282, 2015. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150094>

QIN, X; LIU, J; ZHANG, Q; CHEN, W; ZHONG, X; HE, J. Synthesis of Yellow-Fluorescent Carbon Nano-dots by Microplasma for Imaging and Photocatalytic Inactivation of Cancer Cells. **Nanoscale Research Letters**, v. 16, n. 1, 2021. <https://doi.org/10.1186/s11671-021-03478-2>

QU, D.; WANG, X.; BAO, Y.; SUN, Z. Recent advance of carbon dots in bio-related applications. **JPhys Materials**, v. 3, n. 2, 2020. <https://doi.org/10.1088/2515-7639/ab7cb9>

RAI, S.; SINGH, BK, BHARTIYA, P.; SINGH, A., KUMAR, H.; DUTTA, PK.; MEHROTRA, GK. Lignin derived reduced fluorescence carbon dots with theranostic approaches: Nano-drugcarrier and bioimaging. **Journal of Luminescence**, n.190, p. 492-503, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2017.06.008>

RAJENDER, G.; GIRI, P. K. Formation mechanism of graphene quantum dots and their edge state conversion probed by photoluminescence and Raman spectroscopy. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 4, n. 46, p. 10852–10865, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6TC03469A>

SATO, R.; ISO, Y.; ISOBE, T. Fluorescence Solvatochromism of Carbon Dot Dispersions Prepared from Phenylenediamine and Optimization of Red Emission. **Langmuir**, v. 35, n. 47, p. 15257–15266 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b02739>

SAVCHENKO, D; VASIN, A; RUSAVSKY, A; NAZAROV, A; LANCOK, J; KALABUKHOVA, E. Eletron spin dynamics in sucrose-devived luminescente carbono dot-silica nanocomposites. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v.162, p. 1-8, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2021.110536>

SCIORTINO, A; CANNIZZO, A; MESSINA, F. Carbon Nanodots: A Review—From the Current Understanding of the Fundamental Photophysics to the Full Control of the Optical Response. **Journal of Carbon Research**, v.4, p.67, 2018. <https://doi.org/10.3390/c4040067>

SCHIMMELPFENNIG, S.; GLASER, B. One Step Forward toward Characterization: Some

Important Material Properties to Distinguish Biochars. **Journal of Environmental Quality**, v. 41, n. 4, p. 1001–1013, 2012. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0146>

SHARMA, A., DAS, J. Small molecules derived carbon dots: synthesis and applications in sensing, catalysis, imaging, and biomedicine. **Jornal of Nanobiotechnol** v. 17, n. 92, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12951-019-0525-8>

SHEN, J; SHANG, S; CHEN, X; WANG, D; CAI, Y. Facile synthesis of florescence carbon dots from sweet potato for Fe³⁺ sensing and cell imaging. **Materials Science and Engineering C**, v.76, p. 856-864, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.178>

SOUZA, A. P. Funcionalização de carbono dots com peptídeo antimicrobiano eePis-4s. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Macuri, Diamantina, 2021.

SONG, L; CUI, Y; ZHANG, C; HU, Z; LIU, X. Microwave-assisted facile synthesis of yellow fluorescent carbon dots from o-phenylenediamine for cell imaging and sensitive detection of Fe³⁺ and H₂O₂. **RSC Advances**, vol. 6, n. 21, p. 17704–17712, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6RA02554D>

SONI, N; SINGH, S; SHARMA, S; BATRA, G; KAUSHIK, K; RAO, C; VERMA, N. C; MONDAL, B; YADAV, A; NANDI, C. K. Absorption and emission of light in red emissive carbon nanodots. **Chemical Science**, vol. 12, n. 10, p. 3615–3626, 2021. <https://doi.org/10.1039/D0SC05879C>

SUN, X; BRÜCKNER, C; LEI, Y. One-pot and ultrafast synthesis of nitrogen and phosphorus co-doped carbon dots possessing bright dual wavelength fluorescence emission. **Nanoscale**, v.7, p. 17278-17282, 2015. <https://doi.org/10.1039/C5NR05549K>

SUN, X; LEI, Y. Fluorescent carbon dots and their sensing applications. **Trends in Analytical Chemistry**, V. 89, p. 163-180, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.02.001>

SUNDARAGANESAN, N; DOMINIC JOSHUA, B; MEGANATHAN, C; MEENASHI, R; CORNARD, J. P. Vibrational spectra and quantum chemical calculations of 3,4 diaminobenzoic acid. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, vol. 70, n. 2, p. 376–383, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.10.051>

SUHLING, K.; FRENCH, M. W.; PHILLIPS, D. Time-resolved fluorescence microscopy.

Photochemical & Photobiological Sciences, v.4, p. 13–22, 2005. <https://doi.org/10.1039/b412924p>

SUHLING, K.; HIRVONEN, L. M.; LEVITT, J. A.; CHUNG, P. H.; TREGIDGO, C.; LE MAROIS, A.; RUSAKOV, D. A.; ZHENG, K.; AMEER-BEG, S.; POLAND, S.; COELHO, S.; HENDERSON, R.; KRSTAJIC, N. Fluorescence lifetime imaging (FLIM): Basic concepts and some recent developments. **Medical Photonics**, v. 27, p. 3–40, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.medpho.2014.12.001>

SUPCHOCKSOONTHORN, P; HANCHAINA, R; SINOY, M. C. A; LUNA, M. D. G; KANGSAAKSIN, T; PAOPRASERT, P. Novel Solution- and paper-based sensors based on label-free fluorescent carbon dot for the selective detection of pyrimethanil. **Applied Surface Science**, v. 564, p. 1-12, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2021.150372>

VAZ, R; VIEIRA, K. O; MACHADO, C. E; FERRARI, J. L; SCHIAVON, M. A. Preparação de pontos de carbono e sua caracterização óptica: um experimento para introduzir nanociência na graduação. **Química Nova**, v. 38, p. 1366-1373, 2015. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150150>

WAN, Y; WANG, M; ZHAG, K; FU, Q; GAO, M; WANG, L; XIA, Z; GAO, D. Facile and green synthesis of fluorescent carbon dots from the flowers of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medicus For Sensitive detection of 2,4,6-trinitrophenol and cellular imaging. **Microchemical Journal**, v.148, p.385-396, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.05.026>

WANG, Y.; HU, A. Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 2, n. 34, p. 6921–6939, 2014. <https://doi.org/10.1039/C4TC00988F>

WANG, J.; CHENG, C.; HUANG, Y.; ZHENG, B.; YUAN, H.; BO, L.; ZHENG, M. W.; YANG, S. Y.; GUO, Y.; XIAO, D. A facile large-scale microwave synthesis of highly fluorescent carbon dots from benzenediol isomers. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 2, n. 25, p. 5028–5035, 2014. <https://doi.org/10.1039/C3TC32131B>

WANG, X.; FENG, Y.; DONG, P.; HUANG, J. A Mini Review on Carbon Quantum Dots: Preparation, Properties, and Electrocatalytic Application. **Frontiers in Chemistry**, v.7, n. 671, 2019. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00671>

WANG, T; CHEN, G; LI, L. WU, Y. Highly fluorescent green carbon dots as a fluorescent probe for detecting mineral water pH. **Sensors**, v. 19, p. 1-10, 2019. <https://doi.org/10.3390/s19173801>

XIA, C; ZHU, S; FENG, T; YANG, M; YANG, B. Evolution and Synthesis of Carbon Dots: From Carbon Dots to Carbonized Polymer Dots. **Advanced Science**, vol. 6, n. 23, 2019. <https://doi.org/10.1002/advs.201901316>

XU, X.; RAY, R.; GU, Y.; PLOEHN, H. J.; CEARHEART, L.; RAKER, K.; SCRIVENS, W. A. Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Wall carbon Nanotube Fragments. **Journal of The American Chemical Society**, v. 126, p.12736-12737, 2004. <https://doi.org/10.1021/ja040082h>

YAN, F.; SUN, Z.; ZHANG, H.; SUN, X.; JIANG, Y.; BAI, Z. The fluorescence mechanism of carbon dots, and methods for tuning their emission color: a review. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 8, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3688-y>

YANG, Y.; KONG, W.; LI, H.; LIU, J.; YANG, M.; HUANG, H.; LIU, Y.; WANG, Zhongyang; WANG, Zhiqiang; SHAM, T.; ZHONG, J.; WANG, C.; LIU, Z.; LEE, S.; KANG, Z. Fluorescent N - Doped Carbon Dots as in Vitro and in Vivo Nanothermometer. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v.9, n. 49, p. 27324–27330, 2015. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b08782>

YU, P.; WEN, X.; TOH, Y. R.; TANG, J. Temperature-dependent fluorescence in carbon dots. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 48, p. 25552–25557, 2012. <https://doi.org/10.1021/jp307308z>

ZENG, Q; FENG, T; TAO, S; ZHU, S; YANG, B. Precursor-dependent structural diversity in luminescent carbonized polymer dots (CPDs): the nomenclature. **Light Science & Applications**, v.10, p. 1-13, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41377-021-00579-6>

ZHAO, K; ZHENG, X; ZHANG, H; XU, M; WANG, S; YANG, Q; XIONG,C. Multi-color fluorescent carbon dots with single wavelength excitation for white light-emitting diodes. **Journal of Alloys and Compounds**, v.793, p. 613-619, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.04.146>

ZHAO, J; LI, F; ZHANG, S; AN, Y; SUN, S. Preparation of N-doped yellow carbon dots and N, P co-doped red carbon dots for bioimaging and photodynamic therapy of tumors. **New Journal of Chemistry**, vol. 43, n. 16, p. 6332–6342, 2019. <https://doi.org/10.1039/C8NJ06351F>

ZHU, P; TAN, K; CHEN, Q; XIONG, J; GAO, L. Origins of Efficient Multiemission Luminescence in Carbon Dots. **Chemistry of Materials**, vol. 31, n. 13, p. 4732–4742, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b00870>

ZÓLYOMI, V.; KOLTAI, J.; KÜRTI, J. Resonance Raman spectroscopy of graphite and graphene. **Physica Status Solidi (B) Basic Research**, vol. 248, n. 11, p. 2435–2444, 2011. <https://doi.org/10.1002/pssb.201100295>