

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

RAUL LIMA FERREIRA

Propriedades ópticas de sistemas orgânicos
com características multifuncionais

Maceió - Brasil

Março - 2023

RAUL LIMA FERREIRA

Propriedades ópticas de sistemas orgânicos com características multifuncionais

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

Orientador: Prof. Dr. Italo M. Nunes de Oliveira

Maceió - Brasil
Março - 2023

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

Bibliotecária Responsável: Marcelino de Carvalho Freitas Neto - CRB-4 - 1767

B352e	<p>Ferreira, Raul Lima.</p> <p style="padding-left: 40px;">Propriedades ópticas de sistemas orgânicos com características multifuncionais / Raul Lima Ferreira. - 2023.</p> <p style="padding-left: 40px;">[150] f. : il.</p> <p style="padding-left: 40px;">Orientador: Italo M. Nunes de Oliveira .</p> <p style="padding-left: 40px;">Tese (doutorado em Física) - Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Física. Maceió, 2023.</p> <p style="padding-left: 40px;">Bibliografia: f. 112-126.</p> <p style="padding-left: 40px;">Apêndices: f. 92-106.</p> <p style="padding-left: 40px;">Anexos: f. 127-[150].</p> <p style="padding-left: 40px;">1. Marcadores fluorescentes. 2. Pontos quânticos de carbono. 3. Materiais multifuncionais. 4. Corantes. I. Título</p> <p style="text-align: right; padding-right: 20px;">CDU: 535</p>
-------	---



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Física
Programa de Pós Graduação em Física

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

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
TESE DE DOUTORADO

“Propriedades ópticas de sistemas orgânicos com características multifuncionais”

por

Raul Lima Ferreira

A Banca Examinadora composta pelos professores Italo Marcos Nunes de Oliveira (orientador e presidente da banca), do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; André de Lima Moura, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; Carlos Jacinto da Silva, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; Maria Socorro Seixas Pereira, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; Mario Ernesto Giroldo Valerio, da Universidade Federal de Sergipe e Lucimara Stolz Roman, da Universidade Federal do Paraná, consideram o candidato **aprovado com conceito “A”**.

Maceió, 21 de março de 2023.

Documento assinado digitalmente
 **ITALO MARCOS NUNES DE OLIVEIRA**
Data: 22/03/2023 21:30:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Italo Marcos Nunes de Oliveira
Documento assinado digitalmente
 **ANDRE DE LIMA MOURA**
Data: 28/03/2023 01:18:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. André de Lima Moura
Documento assinado digitalmente
 **CARLOS JACINTO DA SILVA**
Data: 27/03/2023 21:35:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Jacinto da Silva
Documento assinado digitalmente
 **MARIA SOCORRO SEIXAS PEREIRA**
Data: 07/06/2023 15:49:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Maria Socorro Seixas Pereira
Documento assinado digitalmente
 **MARIO ERNESTO GIROLDO VALERIO**
Data: 07/06/2023 14:39:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Mario Ernesto Giroldo Valerio
Documento assinado digitalmente
 **LUCIMARA STOLZ ROMAN**
Data: 02/04/2023 19:21:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Lucimara Stolz Roman

Aos meus pais, e todos aqueles que de forma direta ou indireta ajudaram-me nessa caminhada.

Agradecimentos

Encontrar uma palavra para descrever a gratidão que sinto por todos aqueles que contribuíram para que pudesse chegar nesse momento, é um tanto difícil, senão, impossível. Mas na ausência de palavra melhor, meu muito OBRIGADO.

Agradeço a Deus por sempre está comigo.

Agradeço a meus pais, Benildo e Girleide, pelo apoio incondicional.

Agradeço a meu irmão, Raí, pelo apoio.

Agradeço a Tia Lena, Tia Josiclea, Tia Tereza, Tia Genicléa, Soraia, Wellington, enfim, todos da minha família que incentivaram-me desde o início...

Agradeço a Giclênio, com quem fiz amizade na graduação e que desde o mestrado se tornou o “parceiro de cela”, pela convivência e pelas boas conversas que tivemos ao longo de todo esse tempo juntos.

Agradeço à Rafaella, a namorada, pelos ótimos conselhos, carinho e paciência.

Agradeço ao Ari pelas boas conversas, risadas, e principalmente por toda ajuda em química e nas atividades de laboratório, seu apoio sempre facilitou muito o andamento do trabalho.

Agradeço ao Everton pelos momentos descontração e boas risadas.

Agradeço à Maria das Graças pelas boas conversas e convivência.

Agradeço ao Walison, por todos esses anos de amizade e apoio nessa empreitada.

Agradeço aos amigos de graduação, Cícera, Marianne, Patrick e Fernada, que mesmo sem contato diário não se distanciaram.

Agradeço aos amigos do grupo de pesquisa (Glapeanos), Catharina, Pâmela, Walter, Lavínia e Lucas, pela satisfação da convivência harmoniosa, pelos almoços e cafezinhos sempre regados com fofocas e muita resenha. Sem dúvida alguma, vocês deixaram a labuta no laboratório mais leve. Agradeço também aos amigos que passaram pelo grupo, Rafael, Ricardo, Elenilda, Pedro Vitor (PV), Ellena e Débora, pelos inúmeros momentos de descontração.

Agradeço ao Tasso, amigo e colaborador, pela ajuda no laboratório e pelos momentos de descontração.

Agradeço ao professor Italo, o orientador, por todo apoio (inclusive como financiador da pesquisa), disposição em orientar, pelos conselhos e pela amizade. Sem sua ajuda esse trabalho não teria logrado êxito.

Agradeço à professora Socorro (a chefe), pelas boas conversas, dicas, conselhos e por sempre disponibilizar o espaço para as confraternizações do grupo.

Agradeço a todos os professores que contribuíram para minha formação, aos secretários da pós-graduação (sinônimos de competência), ao pessoal de serviços gerais, e ao programa de pós-graduação do Instituto de Física - UFAL.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL) pelo apoio.

Agradeço a todos os amigos e familiares que não citei, mas que de forma direta ou indireta contribuíram nessa jornada.

E disse Deus: Haja luz; e houve luz.
Gênesis 1:3

Resumo

O presente estudo é dedicado à investigação de materiais orgânicos fotoluminescentes que são sensíveis às condições do meio, visando seu uso em aplicações de sensoriamento e imagem. Quatro sistemas diferentes são investigados: um derivado de ditienilpirrol contendo o fluoreno como substituinte (SNSFCA), um ponto quântico de carbono obtido a partir de cloreto de dansila (CD-DsCl), um ponto quântico carbono sintetizado a partir de um corante azóico (CDMR) e um composto polimérico de álcool polivinílico (PVA) e um ponto quântico de carbono. Usando espectroscopia UV-vis transiente e estacionária, mostramos que o SNSFCA diluído em clorofórmio sofre fotopolimerização sob fotoexcitação, que é caracterizada por mudanças nos parâmetros físicos do mecanismo fotoluminescência. Com relação ao estudo de pontos quânticos de carbono derivados de cloreto de dansila, são analisados como as condições ambientais afetam a fotoluminescência do CD-DsCl, com ênfase nos efeitos de temperatura e pH. Nossos resultados revelam que CD-DsCl exibe uma fluorescência retardada termicamente ativada, que está associada a um cruzamento intersistema reverso devido à pequena diferença de energia entre os estados excitados singlete e tripleto. A ocorrência de um cruzamento intersistema no CD-DsCl é explorado para analisar a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) de tais nanopartículas. Visando o uso de efluentes de corantes como precursores de carbono, também estudamos a síntese de pontos quânticos de carbono a partir do azocorante vermelho de metila (CDMR). Usando o método de síntese hidrotérmica, obtivemos pontos quânticos de carbono altamente dopados com nitrogênio, que apresentam emissão dependente do excitação e comportamento de supressão térmica da fluorescência. Usando microscopia confocal de fluorescência, analisa-se a possibilidade de usar CDMR na aplicação de bioimagem, considerando as células HeLa como a sonda biológica. Além disso, estudamos os efeitos da adição de CDMR nas propriedades ópticas de filmes de PVA. A partir de medições de Z-scan resolvidas no tempo, investigamos como a concentração de CDMR afeta o coeficiente termo-óptico e a difusividade dos filmes poliméricos. Os efeitos da matriz polimérica sobre as propriedades de fluorescência do CDMR também são investigados.

Palavras-chave: 1. Monômeros fluorescentes 2. Pontos quânticos de carbono 3. Materiais multifuncionais 4. Corantes.

Abstract

The present study is devoted to the investigation of photoluminescent organic materials which are sensitive to environment conditions, envisaging their use in sensing and imaging applications. Four different systems are investigated: a dithienylpyrrole derivative bearing a fluorene substituent (SNSFCA), a carbon quantum dot obtained from dansyl chloride (CD-DsCl), a carbon quantum dot synthesized from an azodye (CDMR), and a polymeric composite of polyvinyl alcohol (PVA) and a carbon dot. Using steady-state and transient UV-vis spectroscopy, we show that SNSFCA diluted in chloroform undergoes a photopolymerization under photoexcitation, which is characterized by changes in the physical parameters of photoluminescent mechanism. Concerning the study of carbon dots derived from dansyl chloride, it is analyzed how the environment conditions affect the photoluminescence of CD-DsCl, with emphasis on temperature and pH effects. Our results reveal that CD-DsCl exhibits a thermally-activated delayed fluorescence, which is associated with a reverse intersystem crossing due to the small energy gap between singlet and triplet excited states. The occurrence of an intersystem crossing in CD-DsCl is exploited to analyze the generation of reactive oxygen species (ROS) of such nanoparticles. Envisaging the use of dye effluents as carbon precursors, we also study the synthesis of carbon dots from the methyl red azodye (CDMR). Using a hydrothermal synthesis method, we have obtained highly nitrogen-doped carbon dots, which present excitation-dependent emission and thermal-quenching fluorescence behavior. Using fluorescence confocal microscopy, the possibility of use CDMR in bioimaging application is analyzed, considering HeLa cells as the biological probe. Furthermore, we study the effects of CDMR addition on the optical properties of PVA films. From time-resolved Z-scan measurements, we investigate how the CDMR concentration affects the thermal-optic coefficient and thermal diffusivity of polymeric films. The effects of polymeric matrix on the fluorescence properties of CDMR are also investigated.

Keywords: 1. Fluorescent monomer 2. Carbon dot 3. Multifunctional materials 4. Dyes.

Lista de Figuras

1.1	Esquema de configuração das bandas de valência e condução. E_g é o <i>band gap</i> .	4
1.2	Estrutura molecular do (a) pirrol, (b) tiofeno, e (c) trimérico de tiofeno-pirrol-tiofeno.	5
1.3	Principais metodologias usadas para síntese de pontos quânticos de carbono. .	7
1.4	HRTEM de pontos quânticos de carbono. É possível perceber a presença dos planos gráfiticos do núcleo de carbono.	8
1.5	Resultado encontrado por Sun e colaboradores que demonstra dependência da emissão com a excitação.	10
1.6	Resultado encontrado por Ding e colaboradores, onde foi realizado a separação do material da síntese de pontos quânticos de carbono através de cromatografia em coluna de sílica.	10
1.7	Resultados obtidos por Ge e colaboradores. Nesse trabalho foram realizados ensaios <i>in vivo</i> e demonstrado a capacidade de PQC para imagiamento subcutâneo e em terapia fotodinâmica. Na imagem (c) o rato com a marcação PDT passou por terapia fotodinâmica, e é notório a redução do tumor. O rato com marcação C1 teve aplicação da nanopartícula, porém não foi exposto a radiação, e no rato com marcação C2 houve nenhuma intervenção.	13
2.1	Combinação de orbitais atômicos para formação de orbital molecular.	16
2.2	(a) Ligação σ . (b) Ligação π	17
2.3	(a) Níveis de energia de orbitais moleculares, e possíveis transições eletrônicas. (b) Ilustração dos estados singleto e tripleto	18
2.4	Diagramas de energia potencial que representam o princípio de Franck-Condon. Nos diagramas a esquerda, tem-se a transição acontecendo de um nível vibracional mais baixo de S_0 para um nível vibracional mais baixo de S_1 , enquanto que nos diagramas à direita, a transição acontece para um estado vibracional mais alto de S_1	22
2.5	Diagramas de Jablonski esquematizando a absorção, conversão interna (CI), fluorescência, cruzamento entre sistemas (CES), fluorescência atrasada (FA) e fosforescência. Seta tracejada indica processo não radiativo, e seta contínua indica processo radiativo.	23

2.6	Efeitos de relaxação do solvente. As moléculas do solvente adquirem uma nova configuração devido ao momento de dipolo μ_e do fluoróforo no estado excitado, $\mu_e > \mu_e$	27
3.1	Faixas do espectro eletromagnético	31
3.2	Principais componentes de um experimento de absorção.	33
3.3	Espectrômetro. 1) conector; 2) fenda; 3) filtro; 4) espelho colimador; 5) grade de difração; 6) espelho focalizador; 7) Lente de coleta do detector L2; 8) detector.	34
3.4	Configuração típica de coleta de emissão usando espectrômetro.	35
3.5	Princípios da fluorimetria resolvida no tempo. A linha contínua mais a esquerda, antes de atravessar a amostra, é a radiação de excitação e a linha pontilhada mais a direita é a respectiva fluorescência.	36
3.6	Diagrama esquemático de um instrumento convencional de contagem de fótons.	37
3.7	Tipos de vibração molecular. (a) Estiramento assimétrico, (b) estiramento simétrico e (c) dobramento. Estiramento simétrico é não ativo para infravermelho, uma vez que não produz variações no dipolo elétrico da molécula [1].	39
3.8	Diagrama esquemático de um espectrômetro de infravermelho de transformada de Fourier.	40
3.9	Diagrama esquemático de um espectrômetro de fotoelétrons de raios-X.	42
3.10	Sinais gerados quando um feixe de elétrons de alta energia interage com uma amostra fina. A maioria desses sinais podem ser detectados e com isso, serem usados para extrair mais informações além da imagem formada [2].	43
3.11	Diagrama de um microscópio eletrônico de transmissão.	44
3.12	Esquema do aparato experimental da técnica de varredura Z resolvida no tempo. L_1 , L_2 e L_3 são lentes. D_1 e D_2 são detectores.	46
3.13	Transmitância em função do tempo na posição antes do foco ($z < 0$), no foco ($z = 0$) e após o foco ($z > 0$).	47
4.1	Fórmula estrutura molecular do SNSFCA	51
4.2	Ilustração do aparato experimental usado para explorar as propriedades luminescentes do SNSFCA.	53
4.3	(a) Espectros de absorção (linha preta sólida) e de emissão (linha azul tracejada) sob excitação $\lambda_{exc} = 337$ nm. (b) Diagrama cromático CIE 1931 da fluorescência (coordenadas cromáticas: $x = 0,244$ e $y = 0,359$).	54

- 4.4 (a) Espectro de absorção do SNSFCA no início do ensaio (curva preta contínua) e após a fotoexcitação (curva azul tracejada). (b) Variação do espectro de fluorescência do SNSFCA em diferentes intervalos de tempo de exposição à radiação UV ($\lambda_{exc} = 337$ nm). (c) Diagrama cromático CIE 1931 da fluorescência. (d) Cubetas com soluções de SNSFCA em clorofórmio no início do ensaio e 45 min depois. 55
- 4.5 Espectros FTIR do SNSFCA (curva preta) e do SNSFCA após a fotoexcitação (curva vermelha). Note que algumas bandas são suprimidas após a fotoexcitação. 56
- 4.6 Espectros de absorção do SNSFCA em solventes com diferentes polaridades: heptano (curva preta contínua), clorofórmio (curva vermelha tracejada) e acetonitrila (curva azul tracejada-pontilhada). 59
- 4.7 Emissão variando com a excitação do SNSFCA na presença de (a) heptano, (b) clorofórmio e (c) acetonitrila. 60
- 4.8 Transiente na intensidade de emissão do SNSFCA sob excitação em $\lambda_{exc} = 366$ nm. Diferentes solventes foram considerados: (a) heptano, (b) clorofórmio e (c) acetonitrila. 61
- 5.1 (a) Rota de síntese de pontos quânticos de carbono derivados de cloreto de dansila (CD-DsCl); Solução aquosa de CD-DsCl sob (b) luz ambiente, (c) luz UV e (d) excitação com laser em 488 nm. 64
- 5.2 (a) Espectros de fluorescência do CD-DsCl com variação de temperatura. É notório o ganho na emissão com o crescimento da temperatura; (b) Tempo de vida na janela de nanosegundos e (c) tempo de vida na janela de microsegundos. 67
- 5.3 Dependência térmica da eficiência quântica de emissão do CD-DsCl. A linha vermelha tracejada é a regressão linear usando a equação 5.1, onde foi obtido $\Delta E_{ST} = 41$ meV). 68
- 5.4 (a) Dependência com a temperatura dos picos de emissão em $\lambda_{em} = 397$ nm (círculos cinza) e $\lambda_{em} = 496$ nm (quadrados turquesa). Com o comprimento de onda de excitação fixo em 337 nm, a intensidade da fluorescência obedece a regressão linear $I(\lambda, T) = I_0 + (12, 2^\circ\text{C}^{-1})(T - T_0)$ (linha tracejada) (b) Razão I_{397}/I_{496} de emissão do CD-DsCl como função da temperatura. (c) Variação da razão I_{397}/I_{496} nos ciclos de aquecimento/resfriamento. 70

- 5.5 (a) Espectros de absorção do CD-DsCl em diferentes valores de pH: pH = 2 (linha preta contínua), pH = 6 (linha tracejada vermelha) e pH = 12 (linha pontilhada azul). O quadro menor mostra que uma sobreposição de bandas de estados de borda e superfície ocorre conforme os valores de pH crescem. (b) Espectro de fluorescência normalizado em diferentes valores de pH: pH = 2 (linha preta contínua), pH = 6 (linha tracejada turquesa), pH = 8 (linha ponto-traço vermelha) e pH = 12 (linha pontilhada azul). (c) Diagrama de cromaticidade CIE 1931 para as emissões em diferentes valores de pH. (d) Razão I_{397}/I_{496} de emissão do CD-DsCl como função do pH. A linha vermelha tracejada representa a regressão linear da dependência de I_{397}/I_{496} com pH, com um coeficiente angular de 0,58 e $R^2 = 0,96$ 72
- 5.6 (a) Representação em 3D da evolução temporal dos espectros de absorção do DPBF contendo CD-DsCl, sob fotoexcitação em 532 nm. A intensidade da excitação foi fixada em 6.5 mW/cm². (b) Absorção reescalada, \bar{A} , da solução DPBF e CD-DsCl em 415 nm, como função do tempo de exposição. Distintas intensidades foram consideradas: $I_0 = 0$ mW/cm² (círculos cinza), $I_0 = 3,2$ mW/cm² (quadrados azuis), $I_0 = 6,5$ mW/cm² (triângulos vermelhos), e $I_0 = 13$ mW/cm² (diamantes turquesa). (c) Rendimento quântico de geração de oxigênio singlete, Φ_{Δ} , do CD-DsCl como função do tempo de exposição. A linha tracejada vermelha representa uma regressão linear dos dados experimentais, com coeficiente angular de 7×10^{-3} cm²/mW e $R^2 = 0.96$ 74
- 6.1 Estrutura molecular do azocorante vermelho de metila. 78
- 6.2 (a) Rota de síntese de pontos quânticos de carbono derivados do azocorante vermelho de metila (CDMR); Solução aquosa de CDMR sob (b) luz ambiente, (c) excitação com laser em 488 nm. 79
- 6.3 (a) Microscopia eletrônica de transmissão do CDMR. (b) Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução. É possível ver o espaçamento entre planos em torno de 0,33 nm. (c) Distribuição dos diâmetros dos pontos quânticos de carbono. 83
- 6.4 Espectros FTIR do corante vermelho de metila (curva vermelha) e do ponto quântico de carbono CDMR. 84
- 6.5 (a) Espectro de XPS do CDMR com a presença de três picos típicos. Espectros de XPS de alta resolução (b) C 1s, (c) N 1s e (d) O 1s. 86

- 6.6 (a) Espectros de absorção do CDMR (curva azul pontilhada-tracejada) e do azocorante vermelho de metila (curva vermelha contínua). O processo de síntese muda drasticamente a absorção do material de partida. (b) Espectro de absorção do CDMR como 2 horas de síntese (curva preta tracejada), 6 horas de síntese (curva vermelha contínua) e 10 horas de síntese (curva pontilhada-tracejada). 87
- 6.7 (a) Espectros de emissão sob excitação entre 370 nm e 490 nm. (b) Espectros de emissão sob excitação entre 530 nm e 570 nm. (c) Comprimento de onda de maior emissão, λ_{em} , em função do comprimento de onda de excitação, λ_{exc} . (d) Diagrama cromático CIE 1931 da fluorescência do CDMR, para diferentes comprimentos de onda de excitação. 89
- 6.8 Transiente na intensidade de emissão do CDMR sob fotoexcitação em diferentes comprimentos de onda: $\lambda_{exc} = 366$ nm com $\lambda_{em} = 478$ nm (curva preta); e $\lambda_{exc} = 454$ nm e $\lambda_{em} = 570$ nm (curva vermelha). Em ambos os casos, o transiente na emissão apresenta um comportamento multiexponencial 91
- 6.9 Espectros de emissão do CDMR sob excitação em 405 nm. Diferentes temperaturas do sistema foram considerada: $T = 30$ °C (curva preta), $T = 50$ °C (curva vermelha tracejada), $T = 70$ °C (curva azul pontilhada) e $T = 90$ °C (curva verde tracejada-pontilhada). 92
- 6.10 (a) Variação do pico de emissão do CDMR com a temperatura do ambiente. Os dados foram normalizados pelo valor do máximo de emissão, I_0 , medido na temperatura em $T = 30$ °C. A linha vermelha é o ajuste dos dados a partir de uma regressão quadrática. (b) Integral do espectro de emissão do CDMR em função da temperatura do ambiente. Mais uma vez, a curva vermelha representa o ajuste dos dados usando uma regressão quadrática. 93
- 6.11 Variação na intensidade de emissão do CDMR durante seguidos ciclos de aquecimento e resfriamento. Os círculos cinzas são os valores do pico de emissão em $T = 30$ °C, enquanto quadrados verdes representam o pico de emissão em $T = 90$ °C. I_0 é o valor do pico de emissão em $T = 30$ °C do primeiro ciclo. . . 93
- 6.12 Medidas de viabilidade celular em células HeLa na presença de diferentes concentrações de CDMR. Para todos os ensaios de MTT, verificou-se uma taxa de sobrevivência superior a 60%. 94
- 6.13 Imagens de microscopia confocal de fluorescência de células HeLa: amostra controle (linha superior) e amostra com CDMR (linha inferior). DAPI e faloidina foram usados para marcar respectivamente o núcleo e os filamentos de actina do citoesqueleto. 95

- 6.14 Imagens de microscopia confocal de fluorescência de células HeLa na presença de pontos quânticos de carbono. É possível notar que as nanopartículas (verde) apresentam uma distribuição espacial similar à faloidina (laranja). 96
- 7.1 Imagens dos filmes de PVA dopados com CDMR em diferentes concentrações, sob luz visível e radiação UV: (a) e (f) 0,5% v/v, (b) e (g) 1,0% v/v, (c) e (h) 1,5% v/v, (d) e (i) 2,0% v/v, e (e) e (j) 2,5% v/v. Note que os filmes tornam-se mais avermelhados com o aumento da concentração de nanopartículas, sem que haja a formação de aglomerados. Nota-se também que os filmes adquiriram propriedade fluorescente mesmo em baixas concentrações de CDMR. 99
- 7.2 Espectros de absorção da solução aquosa de CDMR (linha preta tracejada) e do filme de PVA dopado com 1,0% v/v de CDMR (linha vermelha sólida). É possível notar que o confinamento no filme polimérico não altera as transições eletrônicas das nanopartículas, indicando uma baixa interação entre os pontos quânticos e o PVA. 100
- 7.3 Espectros de FTIR de CDMR (linha preta) e do filme de PVA dopado com 1,5% v/v de CDMR (linha vermelha). É possível notar que o filme dopado possui um espectro com frequências idênticas às observadas no CDMR. 101
- 7.4 Espectros de emissão do CDMR em solução aquosa (linha preta tracejada) e do compósito (linha vermelha sólida), sob excitação de $\lambda_{exc} = 405$ nm. O máximo de emissão no filme ocorre em $\lambda_{em} = 500$ nm. 102
- 7.5 Espectros de emissão do filme de PVA dopado com 1% v/v de CDMR. Diferentes temperaturas foram consideradas: $T = 20$ °C (curva preta sólida) $T = 30$ °C (curva vermelha tracejada) e $T = 40$ °C (curva azul pontilhada). O detalhe mostra a variação do pico de emissão entre $T = 20$ °C e $T = 70$ °C. 103
- 7.6 Transiente nas intensidades de fluorescência dos filmes de PVA dopados com CDMR, sob diferentes comprimentos de onda de excitação: $\lambda_{exc} = 366$ nm (curva vermelha) e $\lambda_{exc} = 454$ nm (curva preta). Os transientes foram medidos nos comprimentos de onda corresponde ao pico de emissão no estado estacionário: $\lambda_{em} = 478$ nm (curva vermelha) e $\lambda_{em} = 570$ nm (curva preta). 104
- 7.7 Curva típica de varredura Z para transmitância normalizada do filme com concentração de 2,5%. A linha vermelha corresponde ao ajuste dos dados experimentais usando a equação 3.7. Os demais filmes apresentaram comportamento semelhante, variando apenas a amplitude pico-vale da curva de varredura Z. 105
- 7.8 Transientes na intensidade para medidas de varredura Z resolvida no tempo, realizadas em filmes de PVA dopados com CDMR. Foram consideradas diferentes concentração nos filmes: 1% v/v (círculos), 1,5% v/v (quadrados), 2% v/v (triângulos), e 2,5% v/v (losangos) de CDMR. Em todas as curvas, a amostra foi posicionada em $z = \sqrt{3}z_c$ 106

- 7.9 Parâmetros (a) distorção de fase, θ , re-escalado com a potência P, e (b) tempo característico de formação de lente térmica, t_c , como função da concentração de pontos quânticos de carbono CDMR. 107
- 7.10 Difusividade térmica como função da concentração de pontos quânticos de carbono CDMR. A linha vermelha tracejada é a regressão linear dos pontos. . 108
- A.1 impressora 3D Finder Flashforge utilizada para fabricação de peças usadas no presente trabalho. 127
- A.2 (a) Aparato experimental de absorção. Região onde a cubeta está confinada (porta-cubeta) foi fabricada em impressão 3D, com filamento de PLA. (b) Porta-cubeta fixo em poste de metal. A abertura na peça permite que a luz atravesse a amostra, e assim, a medida de absorção possa ser realizada. . . . 128
- A.3 (a) Aparato experimental de emissão, onde é possível perceber o porta-cubeta para emissão e suporte de fibra óptica. (b) Porta-cubeta de emissão fixo em poste de metal. Nessa peça as aberturas são em faces perpendiculares. (c) Suporte de fibra óptica. A peça foi desenhada para encaixar na montagem para lente e na fibra. O suporte garante a posição constante da fibra óptica, o que permite a troca de amostra sem perder a configuração do aparato. . . . 129
- A.4 (a) Aparato experimental para coleta de emissão variando temperatura. Neste ensaio, a mudança de temperatura foi realizada por intermédio de pastilhas peltier ligadas a fonte de alimentação Keithley 2200. O ajuste de corrente e/ou tensão chegando as pastilhas peltier permitiu controle do aumento e redução de temperatura nos ensaios. (b) Porta-cubeta de emissão com variação de temperatura fixo em poste de metal. Essa peça foi desenhada de modo que os peltiers sejam as paredes laterais, ficando em contato direto com a cubeta. Esse porta-cubeta possui também aberturas que permite a incidência do laser em uma das faces da cubeta, e o posicionamento perpendicular da fibra de coleta. A leitura da temperatura foi realizada através de termopar acoplado a tampa de cubeta com orifício central, também confeccionado com impressão 3D. Neste ensaio, foi fundamental o uso do suporte de fibra óptica. 130
- A.5 (a) Parte do aparato de z-scan. É possível perceber o brilho do laser com comprimento de onda de 532 nm, e o compósito de PVA+CDMR fluorescendo com a passagem da luz. Suporte, fixo em poste de metal, para filmes de PVA dopados com nanopartículas de carbono derivadas de vermelho de metila (CDMR), usados no Capítulo 7. Essa peça foi desenvolvida para auxiliar nas medidas de z-scan, absorção e emissão dos filmes. 131

- C.1 (a) Imagem representativa de microscopia eletrônica de transmissão dos pontos quânticos de carbono derivados do cloreto de dansila (CD-DsCl), revelando uma distribuição homogênea das nanopartículas. (b) Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução de uma nanopartículas, exibindo a estrutura cristalina do núcleo grafítico. (c) Distribuição de tamanhos da amostra de CDs-DsCl, onde um diâmetro médio de 3 nm foi observado. (d) Espectro de FTIR do CD-DsCl. 143
- C.2 (a) Espectro de absorção dos pontos quânticos de carbono derivados do cloreto de dansila. Fotoluminescência do CD-DsCl para excitações em diferentes comprimentos de onda: (b) 340 to 400 nm - UV region and (c) 440 nm to 560 nm - visible region. (d) Comprimento de onda do máximo de emissão, λ_{em} , como função do comprimento de onda excitação, λ_{exc} 144

SUMÁRIO

Lista de figuras	x
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Breve histórico da fluorescência	1
1.2 Polímeros conjugados	2
1.3 Pontos Quânticos de Carbono	5
1.3.1 Histórico	5
1.3.2 Métodos de síntese	6
1.3.3 Caracterização	7
1.3.4 Propriedades Espectroscópicas	9
1.3.5 Aplicações	12
1.4 Objetivo geral do trabalho.	14
2 ESPECTROSCOPIA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS	15
2.1 Absorção de Luz	15
2.1.1 Regras de seleção	19
2.1.2 Princípio de Franck-Condon	21
2.2 Emissão.	22
2.2.1 Tempo de vida e rendimento quântico	25
2.2.2 Efeito de solvente	26
2.2.3 Efeitos térmicos	29
3 TÉCNICAS EXPERIMENTAIS	31
3.1 Absorção	32
3.2 Emissão.	33
3.3 Tempo de vida	35
3.4 Espectroscopia no infravermelho.	38
3.5 Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X	41
3.6 Microscopia eletrônica de Transmissão.	42
3.7 Varredura Z resolvida no tempo	45
3.7.1 Modelo de lente térmica	47

4	PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DO MONÔMERO DE TIOFENO-PIRROL-TIOFENO FUNCIONALIZADO COM FLUORENO	50
4.1	Aparato experimental e metodologia	52
4.2	Propriedades Espectroscópicas	52
4.2.1	Absorção e Emissão	53
4.3	Efeito Solvatocrômico	58
5	PROPRIEDADES MULTIFUNCIONAIS DE PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE CLORETO DE DANSILA	63
5.1	Aparato experimental e metodologia	65
5.2	Propriedades Térmicas do CD-DsCl	66
5.3	Efeito do pH nas propriedades espectroscópicas	71
5.4	Geração de oxigênio singlete	73
6	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE AZOCORANTES	77
6.1	Síntese	78
6.2	Aparatos experimental	80
6.2.1	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	80
6.2.2	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS)	80
6.2.3	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	80
6.2.4	Espectroscopia UV-Vis	81
6.2.5	Medidas de Viabilidade Celular	81
6.2.6	Cultura de células e Imageamento Confocal	82
6.3	Caracterização	83
6.4	Propriedades Espectroscópicas	87
6.5	Propriedades Térmicas	91
6.6	Biocompatibilidade e Imageamento	94
7	PROPRIEDADES ÓPTICAS E FOTOTÉRMICAS DE FILMES POLIMÉRICOS DOPADOS COM CDMR	98
7.1	Metodologia	99
7.1.1	Preparação dos filmes de PVA dopados com CDMR	99
7.2	Propriedades Espectroscópicas	100
7.3	Varredura Z resolvida no tempo	104
8	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	109
	Bibliografia	112

A	Aparatos experimentais aprimorados com auxílio de impressão 3D	127
B	Artigo: Poli(2,5-ditienilpirrol) baseado em amida multieletrocromica contendo um derivado de flúor: síntese, caracterização e propriedades optoeletrônicas	132
C	ESTRUTURA MOFORLÓGICA DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE CLORETO DE DANSILA	142
D	Artigo: Pontos quânticos de carbono multifuncionais derivados de cloreto de dansila para sensor térmico raciométrico e geração reativa de oxigênio	145

INTRODUÇÃO

A fluorescência é um fenômeno físico amplamente utilizado no desenvolvimento de sensores químicos e biológicos, uma vez que é sensível às condições do ambiente. Por conta disso, é possível extrair informações de processos físico-químicos a partir do uso de sondas fluorescentes, com ampla aplicação em diagnósticos clínicos, sequenciamento de DNA, análises genéticas, bioimageamento, monitoramento de características do meio, ciência forense, dentre outras utilizações tecnológicas [3, 4, 5, 6, 7, 8]. Nas últimas décadas, houve um crescimento extraordinário no uso da fluorescência por cientistas de diversas áreas, e isso fica evidente no número de publicações que exploram os efeitos desse fenômeno. Uma das principais características da fluorescência é a sua versatilidade, pois é possível observá-la em meio sólido, líquido e gasoso, e em todos os tipos de interfaces entre essas fases. Como o agente fluorescente e o instrumento detector estão conectados via emissão de luz, a fluorescência essencialmente permite análises de maneira não invasiva, o que é bastante vantajoso, por exemplo, na histologia [9].

Há uma ampla variedade de sistemas físicos que apresentam o fenômeno de fluorescência, dentre os quais destacam-se nanopartículas inorgânicas, vidros dopados com íons terras raras, corantes orgânicos e pontos quânticos de carbono [10, 11, 12, 13]. Nesse capítulo abordaremos as principais características espectroscópicas de compostos orgânicos conjugados e de pontos quânticos de carbono (PQC). Os PQCs são materiais relativamente novos, descobertos a pouco mais de 18 anos [14], mas que apresentam grande potencial de aplicação.

1.1 Breve histórico da fluorescência

O termo fluorescência foi introduzido em meados do século XIX pelo físico e professor de matemática de Cambridge, George Gabriel Stokes [15]. Em seu trabalho intitulado *On the refrangibility of light* (1852) [16], Stokes tornou a analisar um fenômeno exibido pela solução de sulfato de quinina, observado inicialmente por John Herschel, onde demonstrou que o fenômeno tratava-se de uma emissão de luz precedida por uma absorção de luz. Esse fenômeno vinha sendo observado tanto em compostos orgânicos, como o sulfato de quinina, quanto em compostos inorgânicos, como cristais de fluorita. Stokes afirmou que a luz emitida sempre terá comprimento de onda maior que a absorvida, fenômeno que mais

tarde tornou-se a chamada Lei de Stokes (ou deslocamento de Stokes). Mas a primeira observação de fluorescência foi reportada pelo médico espanhol Nicolas Monardes, em 1565, ao perceber uma luz azul em uma infusão de uma madeira trazida do México usada para tratar doenças renais e urinárias [15, 17]. Monardes utilizava a presença do brilho azulado da solução madeira e água para ter certeza se a madeira era genuína. Essa pode ser considerada a primeira aplicação da fluorescência, que na época ainda não era chamada assim.

Em 1857, Edmond Becquerel concebia a ideia de revestir o interior de um tubo de descarga elétrica com material fluorescente, semelhante às lâmpadas fluorescentes que encontram-se no dias de hoje [18]. Em 1877 o sal dissódico da fluoresceína, a uranina, foi utilizado para monitorar o fluxo do rio Danúbio [15, 9]. Para tal, foi depositado um certo volume de uma solução concentrada de uranina no Rio Danúbio e, após algumas horas, sua fluorescência verde pode ser vista em um pequeno rio que conecta-se ao rio Reno. Assim, demonstrou-se que os rios Danúbio e Reno estão conectados. Schmidt e Wiedemann foram os primeiros a reportar, em 1895, a emissão do antraceno. Em 1907, Stark mede a luminescência do benzeno e, usando a mesma técnica, Stark e Mayer conseguem observar emissão em derivados do benzeno. A fluorescência de compostos aromáticos gelados, como benzeno e xileno, foi constatado por E. Goldstein em 1910 [19].

Na área da química, a fluorescência vem sendo usada como uma importante ferramenta analítica para determinação de concentrações de espécies neutras e iônicas [20]. De fato, muitos parâmetros como polaridade, viscosidade e temperatura, possuem grande influência em processos físicos, químicos e bioquímicos, de modo que o uso de espécies fluorescentes como sensores desses parâmetros mostrou-se uma estratégia de sucesso para compreensão de vários fenômenos. Em 1954, Weber e Lawrence introduziram o composto ANS (1-anilino-8-naphthalene sulfonate), que apresenta nenhuma emissão em solução aquosa e uma alta fluorescência em solventes com baixa polaridade [21, 15]. Essa característica do ANS permite a visualização das regiões hidrofóbicas de sistemas biológicos. Posteriormente, Gregório Weber reconhece que proteínas podem ser marcadas com fluoróforos e, com isso, introduz considerações moleculares na espectroscopia de fluorescência. Um dos materiais estudados no presente trabalho é derivado do cloreto de dansila, que foi originalmente descrito por Weber e é amplamente utilizado como marcador de proteínas. Sondas fluorescentes desenvolvidas por Gregorio Weber, como o cloreto de dansila, ANS, TNS (2-(p-toluidinyl)naphthalene-6-sulfonic acid), e derivados de Prodan ainda são bastante usados [9].

1.2 Polímeros conjugados

A pesquisa sobre as propriedades elétricas, ópticas e magnéticas de polímeros conjugados vem atraindo notável interesse nas últimas décadas, culminando no desenvolvimento

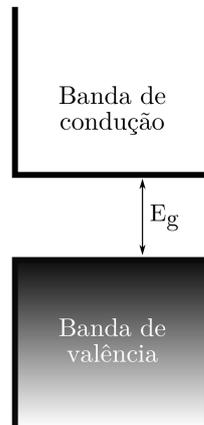
de materiais multifuncionais para aplicação tecnológica no campo da eletrônica e fotônica, sensores e dispositivos [22, 23]. A descoberta e desenvolvimento de polímeros condutores, que rendeu o prêmio Nobel de química em 2000 a Heeger, MacDiarmid e Shirakawa, expandiu o potencial de aplicação dessa classe de materiais [23]. De modo particular, as propriedades eletrônicas e ópticas desses polímeros juntamente com suas propriedades mecânicas e vantagens de processamento são de grande interesse para a indústria de eletrônicos, para uso em células solares [24], diodos orgânicos emissores de luz (OLEDs) [25], transistores orgânicos de efeito de campo [26], e dispositivos eletrocromáticos [27, 28]. Polímeros conjugados também representam componentes ativos em diversos processos biológicos, por exemplo, como coletores de luz em fotossíntese, ou no transporte de carga em moléculas orgânicas, que é uma parte importante da função celular [23].

Um polímero conjugado é uma macromolécula à base de carbono cujo os π -elétrons de valência são deslocalizados [23]. Em polímeros conjugados a ligação química leva a um elétron desemparelhado por átomo de carbono, e adicionalmente, a ligação π na qual os orbitais do carbono estão na configuração sp^2 , e os orbitais dos sucessivos átomos de carbono da cadeia principal que se sobrepõem, gera uma deslocalização do elétron ao longo da cadeia principal do polímero. Essa deslocalização permite que a carga transite ao longo da cadeia principal do polímero [29]. E como resultado, tem-se materiais que exibem características elétricas e ópticas de metais ou semi-condutores, enquanto mantém as propriedades mecânicas e vantagens de processamento de polímeros [28].

As propriedades eletrônicas excepcionais de polímeros conjugados, que são diferentes das observadas em metais inorgânicos ou semicondutores, podem ser atribuídas ao fato que os polímeros comportam-se como um sistema quase-unidimensional devido as suas fortes interações eletrônicas intramoleculares e as fracas interações eletrônicas intermoleculares [23]. Desse modo, a estrutura eletrônica em polímeros condutores é determinada pela simetria da cadeia, ou seja, pelo número e natureza dos átomos na unidade de repetição [29]. As propriedades ópticas e eletrônicas dos polímeros conjugados dependem principalmente da diferença de energia entre a camada de valência e a camada de condução (*band gap*, E_g) do polímero, na figura 1.1 tem-se uma ilustração da disposição das bandas de valência e condução [28, 29]. Como o *band gap* está intimamente vinculado com a estrutura molecular das unidade de repetição, extensivos estudos têm sido realizados com enfoque no projeto e síntese de novas moléculas como uma forma de controlar essa diferença de energia. Cihaner e colaboradores sintetizaram uma série de polímeros condutores à base de tienilpirrol que apresentaram comportamento multieletrocrômico e fluorescente, e mostram as variações no *band gap* induzida pelas derivações [30].

A maioria dos polímeros orgânicos são isolantes elétricos, mas desde a descoberta que um processo químico ou eletroquímico pode converter o polímero isolante em um material altamente condutor, muitos polímeros condutores já foram reportados [31]. Entre os inúmeros polímeros condutores descritos na literatura, o polipirrol, politiofeno e

Figura 1.1: Esquema de configuração das bandas de valência e condução. E_g é o *band gap*.

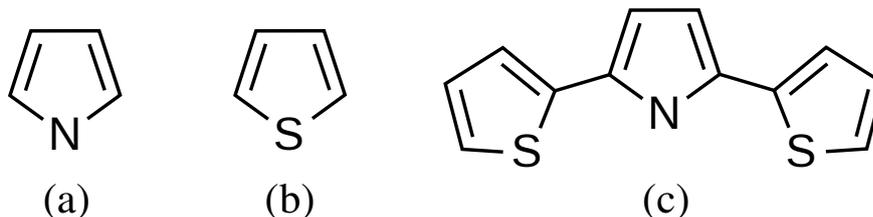


Fonte: Autor, 2023.

seus derivados têm ganhado destaque como camadas ativas em aplicações de dispositivos eletrocromômicos devido ao seu baixo *band gap*, boa condutividade, alto contraste óptico e eletrocromismo multicolor [22]. O polipirrol (ver figura 1.2(a)) tem atraído muita atenção em virtude de sua alta condutividade elétrica e boa estabilidade ambiental. Em muitas aplicações, como eletrodos para baterias recarregáveis e supercapacitores, o polipirrol tem sido considerado um material chave [31]. Politiofenos (ver figura 1.2(b)) possuem excelente estabilidade térmica e ambiental, solubilidade, e alta condutividade quando dopado. Esse polímero vem sendo utilizado para variadas aplicações incluindo transistores, sensores ambientais e células solares [31]. O uso de derivados triméricos de tiofeno-pirrol-tiofeno (SNS, 1.2(c)) tem permitido alcançar melhorias nas propriedades eletrocromômicas que quando comparado com as do pirrol e tiofeno individuais. Esse reativo sistema π -conjugado possibilita a inserção de grupos funcionais através do átomo de nitrogênio do anel de pirrol [22, 32, 33, 34, 35]. Kiralp e colaboradores sintetizaram um monômero constituído por dois grupos SNS ligados através de um anel aromático, e o polímero formado por tal molécula apresentou rápido tempo de comutação, com distinto multicolorismo onde a sua cor variou entre vermelho-violeta, amarelo acastanhado, verde, e azul após a oxidação [36].

Uma das características que atraem atenção para materiais poliméricos é a possibilidade de ligar grupos funcionais na cadeia principal e com isso alterar suas propriedades eletrônicas e espectrais [37]. Nesse contexto, diversos trabalhos têm sido dedicados ao planejamento e síntese de polímeros π -conjugados contendo grupos fluorescentes em sua arquitetura [37, 22, 30]. Cihaner e Algi publicaram um trabalho onde reportam a síntese de um polímero fluorescente, baseado no SNS com fluoreno, que ao variar o estado de oxidação apresentou emissão que varre quase todo o visível, além do comportamento eletrocromômico típico de material dessa classe [38]. Nesse trabalho os autores fundiram

Figura 1.2: Estrutura molecular do (a) pirrol, (b) tiofeno, e (c) trimérico de tiofeno-pirrol-tiofeno.



Fonte: Autor, 2023.

a estabilidade de politiofenos, a condutividade de polipirrois e a fluorescência do fluoreno, em uma única molécula. Esses sistemas exibem propriedade ópticas e eletrônicas semelhantes a de materiais semicondutores inorgânicos, o que abre a porta para o desenvolvimento de semicondutores orgânicos com atributos desejáveis como flexibilidade mecânica, estabilidade térmica, e baixo custo de produção [37]. De fato, polímeros conjugados fluorescentes vem sendo investigados para exploração em uma gama de aplicações tecnológicas, tais como, *displays* emissores de luz flexíveis e baratos, transistores de efeito de campo orgânicos, e dispositivos fotovoltaicos [23, 37]. Apesar dos avanços alcançados e proeminentes aplicações, a compreensão precisa do papel da estrutura no desempenho de sistemas poliméricos conjugados, continua sendo um dos principais desafios nesse campo de pesquisa [23].

1.3 Pontos Quânticos de Carbono

1.3.1 Histórico

Desde a primeira vez que foi sintetizado, mesmo que por acidente, há 19 anos, os pontos quânticos de carbono (PQC) são responsáveis por uma grande fatia das pesquisas desenvolvidas em todo globo nos dias atuais. XU Xiaoyou e colaboradores publicaram, em 2004, um trabalho intitulado “*Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotube Fragments*” onde descrevem um método eletroforético preparativo para a purificação de nanotubos de carbono de parede única [39]. Neste trabalho também reportam que conseguiram isolar duas novas classes de nanomateriais a partir da fuligem crua, onde uma delas foi descrita como ‘uma mistura de nanopartículas fluorescentes’. Essa mistura por apresentar características semelhantes aos *quantum dots* (QD), nanopartículas de material semicondutor, foi nomeada inicialmente como carbon quantum dot e depois por apenas *carbon dot* (CD). PQC atraíram bastante atenção por apresentarem propriedades físicas, químicas e biológicas mais favoráveis do que os pontos quânticos de semicondutores (*quantum dots*), tais como boa solubilidade em água, baixa toxicidade e alta biocompatibilidade, aspectos que não são encontrados em nanomateriais

semicondutores.

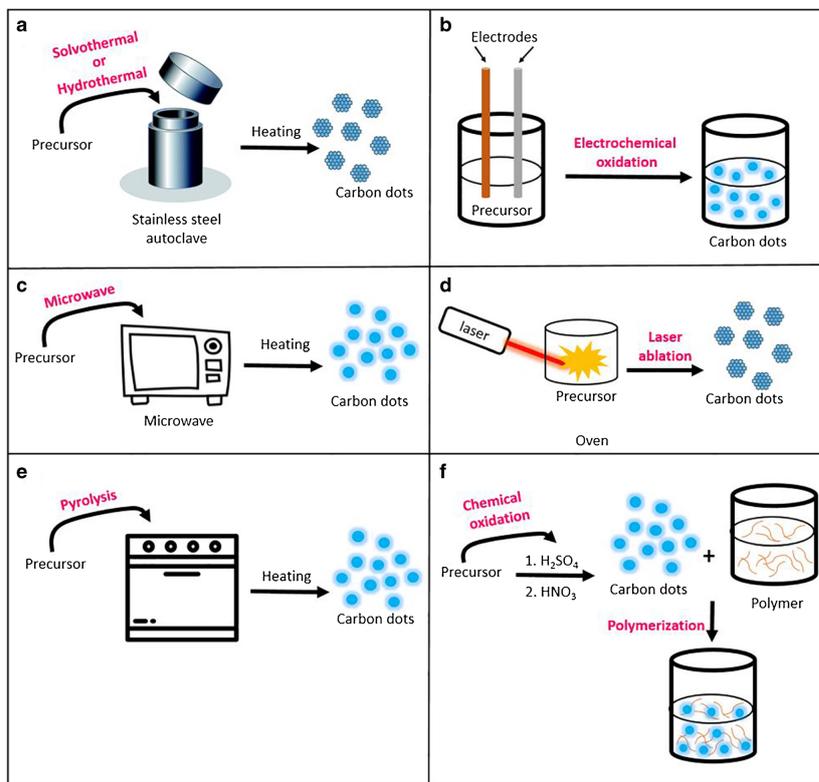
Em 2006, Sun e co-autores obtiveram pontos quânticos de carbono com bom rendimento quântico usando passivação de polietilenoglicol [40], o que se mostrou ser uma maneira eficiente para melhorar a emissão desses materiais. Em 2007, Liu e colaboradores conseguiram sintetizar PQC com fluorescência em diferentes comprimentos de onda a partir da fuligem de combustão de velas [41]. Nesse mesmo trabalho, foram obtidas informações sobre os mecanismos de emissão a partir do método de separação por gel. Com o uso do método de cromatografia em coluna de sílica, Hui Ding e colaboradores conseguiram separar os PQC em frações com emissões específicas, sendo capaz de associar o espectro de emissão ao grau de oxidação da superfície das nanopartículas [42]. Por conta da baixa toxicidade e alta biocompatibilidade, há uma grande variedade de estudos voltados à aplicação de PQC como sensores [43], marcadores de célula e em bioimageamento [42, 44].

1.3.2 Métodos de síntese

Pontos quânticos de carbono podem ser obtidos por duas rotas principais, conhecidas como top-down e bottom-up [45, 46, 43]. A rota top-down forma pontos quânticos a partir da decomposição de grandes estruturas de carbono, por meio de diferentes técnicas, tais como oxidação eletroquímica [47], pirólise [48], ablação a laser [49], e micro-ondas [50]. Na via bottom-up, a síntese das nanopartículas pode ocorrer por meio de combustão, oxidação hidrotérmica, tratamento hidrotermal, síntese com suporte e métodos de micro-ondas/ultrassom, utilizando um composto orgânico como material precursores. A figura 5.1 esquematiza as principais metodologias de síntese utilizadas.

A descarga de arco é um método para a síntese de nanotubos de carbono (e nano tubos de carbono de parede única) onde uma tensão de arco de corrente contínua é aplicada em dois eletrodos de grafite imersos em um gás inerte. Xu e colaboradores mostrou que esse método também pode ser usado para produzir PQC [39]. Após Xu e colaboradores isolarem os primeiros pontos quânticos de carbono, a atenção dos pesquisadores voltou-se, inicialmente, em desenvolver algum método de síntese mais eficiente para produzir esses materiais, e os procedimentos iniciais usavam força bruta, por meio alto impacto de energia sobre uma fonte de carbono. Um exemplo dessa abordagem é a ablação a laser, que consiste em ablação devido a alta energia fornecida por um feixe laser em um substrato sólido. Sun e colaboradores utilizou esse método para fazer uma das primeiras demonstrações diretas de PQC [40, 14]. Uma outra técnica utilizada é a esfoliação eletroquímica, na qual uma tensão induz espécies iônicas em um eletrólito a se intercalar em um eletrodo de grafite, o que aumenta a distância entre camadas [51].

O crescimento do interesse dos pesquisadores nos PQC, como previsível, levou ao desenvolvimento de rotas de síntese mais simples, e dentre as diversas metodologias que

Figura 1.3: Principais metodologias usadas para síntese de pontos quânticos de carbono.

Fonte: Hamide Ehtesabi e colaboradores, 2020 [43].

foram amplamente difundidas, destaca-se o tratamento hidrotérmico. O tratamento hidrotérmico é um processo termoquímico para decompor materiais carbonáceos dispersos em água, sob condição de alta temperatura e pressão. A abordagem hidrotérmica é provavelmente a rota de síntese mais comum na produção de PQC, devido a sua simplicidade e versatilidade. O ponto chave na síntese hidrotérmica é a condensação dos blocos de construção ricos em carbono e cristalização do núcleo grafítico induzido pelas altas temperaturas [14]. Nesse processo, resíduos dos reagentes são retidos na superfície dos núcleos cristalinos. Estes grupos funcionais de superfície conferem diversas propriedades ópticas e funcionalidades aos pontos quânticos de carbono.

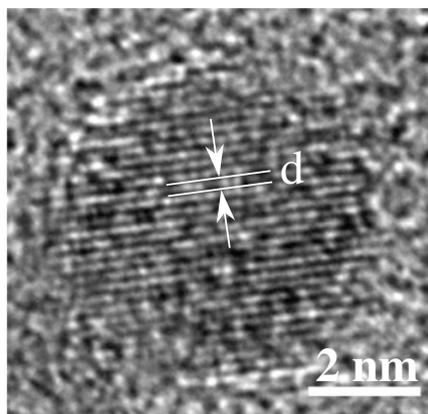
1.3.3 Caracterização

O conhecimento da composição química, tamanho, forma e estrutura, tem demandado grande esforço para uma caracterização coerente de pontos quânticos de carbono. Apesar de haver uma ampla variedade de literatura sobre PQC, ainda há discussões sobre o modelo estrutural dessas nanopartículas [52, 53]. Diversos trabalhos sugerem um núcleo tipo grafítico, amorfo ou cristalino [52, 54, 55], outros propõem um núcleo amorfo com apenas hibridização sp^3 ou razões de carbono $sp^3 : sp^2$ [52]. Nesse contexto, diversos métodos analíticos são aplicados para caracterizar PQC e suas propriedades físicas, e assim,

vislumbrar como estão organizados os átomos de carbono bem como a variedade e riqueza de grupos funcionais em sua superfície.

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês *Transmission Electron Microscopy*) é uma técnica não destrutiva de microscopia bastante utilizada para prover informações sobre morfologia, distribuição de tamanhos, e organização cristalina de PQC (e de nanopartículas no geral) [42, 44, 56, 57, 58, 59, 60, 61]. No TEM, um feixe de elétrons com alta energia é aplicado para obter imagens baseado nos elétrons transmitidos através dos PQC, e assim, o diâmetro médio das partículas é estimado das imagens geradas. Uma evolução do TEM, o HRTEM (*High-Resolution TEM*), usa tanto o feixe transmitido quanto o espalhado para formar uma imagem por interferência, e vem sendo amplamente utilizado nas análises de PQC, confirmando a periodicidade do núcleo grafitico, expondo sua natureza cristalina. Na figura 1.4 é exibido de imagem de HRTEM de pontos quânticos de carbono onde é nítido a presença dos planos grafiticos do núcleo de carbono, sendo d , na imagem, a distância entre as camadas [14]. A utilização do HRTEM têm sido fundamental para caracterização da morfologia dessas nanopartículas.

Figura 1.4: HRTEM de pontos quânticos de carbono. É possível perceber a presença dos planos grafiticos do núcleo de carbono.



Fonte: Jelinek, 2017 [14].

Para a compreensão dos grupos funcionais presentes na superfície dos PQCs, vários métodos analíticos podem ser usados. A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier transform infrared spectroscopy*) é uma ferramenta bastante utilizada na caracterização dos grupos funcionais presentes na superfície dos pontos quânticos de carbono, tais como os grupos carbonila ($C=O$), hidroxila (OH), e amina (NH_2) [62]. O uso de medidas de FTIR tornou-se, assim, padrão na caracterização de grupos funcionais de PQC, por ser uma técnica de baixo custo e rápida preparação da amostra. Para complementar a elucidação dos grupos funcionais na superfície dos PQC, tem sido utilizada a técnica de espectroscopia de fotoelétrons por raios-X (XPS, do inglês *X-Ray Photoelectron Spectroscopy*), que traz dados para a avaliação da composição elementar e de ligações químicas.

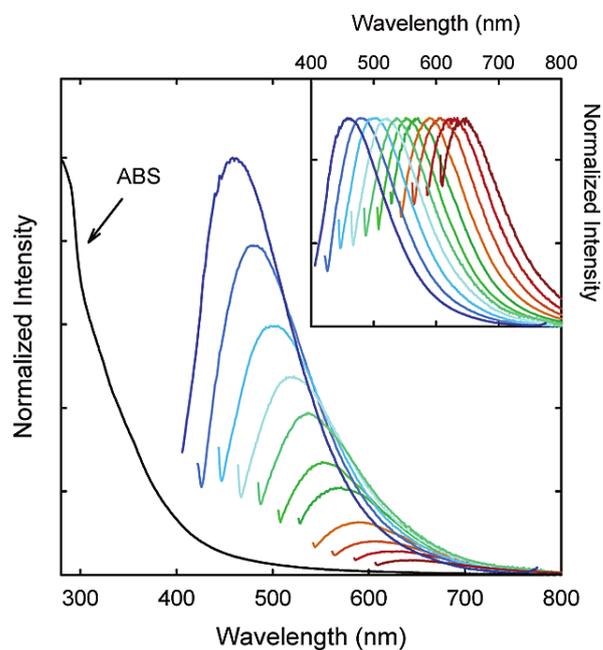
Além das técnicas citadas acima, outras como microscopia de força atômica (AFM), espalhamento dinâmico de luz (DLS), difração de raios X (XRD) e espectroscopia Ramam também podem trazer informações relevantes sobre a estrutura morfológica e dos grupos funcionais dos PQC.

1.3.4 Propriedades Espectroscópicas

Certamente umas das principais características dos PQC é sua emissão dependente da excitação que é demonstrada em inúmeros trabalhos [59, 57, 40, 63], como representado na figura 1.5. Com efeito, conseguir sintonizar a cor de emissão por variação do comprimento de onda de excitação está entre as singularidades apresentadas por pontos quânticos carbono, e é explorada em diversas aplicações. A compreensão das propriedades de emissão é importante não apenas para o desenvolvimento de novas aplicações, mas também para entender os estados eletrônicos dos PQC, uma vez que isso implica em conseguir modular as diferenças de energia entre os estados excitado e fundamental [53, 14]. Outra característica observada na maioria dos PQC é uma alta intensidade de emissão dentro de uma janela de excitação, e uma queda acentuada da fluorescência para comprimentos de onda de excitação fora dessa janela, como pode ser verificada na figura 1.5. H. Lin e colaboradores conseguiram sintetizar PQC que exibiam espectros de emissão com picos de intensidade semelhantes sob variados comprimentos de onda de excitação [63], ou seja, obtiveram uma nanopartícula que fugiu do comportamento típico. Esse resultado reflete o quão dinâmicos e instigantes são esses sistemas.

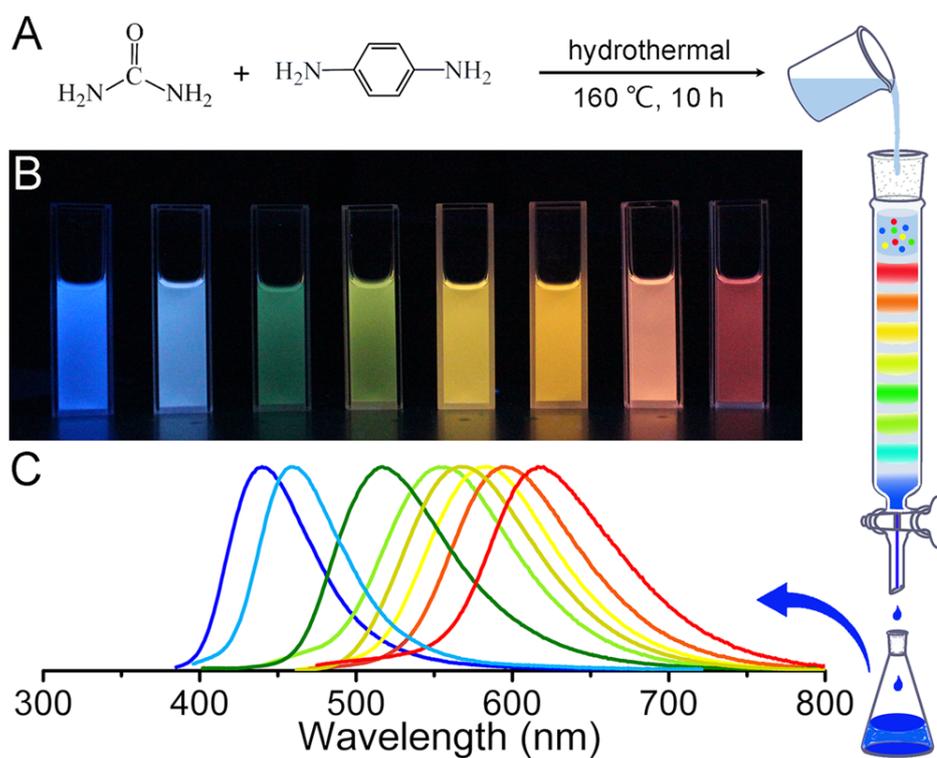
Em pontos quânticos de semicondutores, a variação do espectro de emissão está relacionada com a distribuição de tamanhos das nanopartículas, em decorrência do efeito de confinamento quântico. Por conta da alta conjugação dos planos gráfiticos no interior dos pontos quânticos de carbono, efeitos de tamanho e confinamento quântico são pouco relevantes. Vários trabalhos têm reportado que a variação do espectro de emissão está relacionada a estados de energia associados com defeitos na superfície das nanopartículas, chamados de estados de superfície [14]. Há diversos estudos em que o foco é determinar os mecanismos responsáveis pela geração dos estados de superfície. Xiong e colaboradores sintetizaram PQC a partir de ureia e p-fenilenodiamina via tratamento hidrotermal com emissão em todo o espectro visível [42]. Estes PQC foram separados via cromatografia em coluna de sílica, pois eram formados por espécies com diferentes graus de oxidação superficial. Com isso, foi possível obter frações de amostras com emissões independentes da excitação, como mostra a figura 1.6. Os autores mostraram que a emissão dos PQC isolados estava relacionada com grau de oxidação da superfície, e todas as amostras apresentaram distribuição de tamanhos semelhante, bem como apenas um pico no espectro de emissão independente da excitação. Trabalhos como esse deixam claro o importante papel de grupos funcionais contendo oxigênio, como -OH e -COOH, no processo de formação de

Figura 1.5: Resultado encontrado por Sun e colaboradores que demonstra dependência da emissão com a excitação.



Fonte: Sun e colaboradores, 2006 [40].

Figura 1.6: Resultado encontrado por Ding e colaboradores, onde foi realizado a separação do material da síntese de pontos quânticos de carbono através de cromatografia em coluna de sílica.



Fonte: Ding e colaboradores, 2016 [42].

pontos quânticos de carbono.

Os mecanismos que geram a fluorescência dos pontos quânticos de carbono ainda não são totalmente entendidos, e isso advém do fato dessas nanopartículas serem produzidas por diversas rotas de síntese. Nos últimos anos, os mais distintos materiais foram usados como precursores [64, 65, 66, 67]. Além disso, tem sido demonstrado que variações nos parâmetros da síntese produzem PQC com fotoluminescências diferentes, mesmo que usem uma mesma fonte de carbono como precursor. Contudo, alguns mecanismos físicos já são bem aceitos pela comunidade acadêmica, tais como: ausência de emissão associada a formação de domínios π conjugados no núcleo de carbono; emissão associada com a interação entre os grupos funcionais de superfície e do núcleo de carbono; e emissão associada a grupos de superfície [68]. Um dos pontos-chave dessa discussão é o papel dos domínios sp^2 conjugado dentro do núcleo do carbono. Embora não haja uma emissão direta associada a este domínios, eles podem fornecer elétrons para os grupos funcionais de superfície, contribuindo para a recombinação emissiva de elétrons excitados e buracos [53]. PQC podem ser incompletamente conjugados, apresentando uma esqueleto de carbono híbrido sp^2/sp^3 , o que justifica a não relação entre tamanho e emissão [68]. Outro aspecto que influencia fortemente os mecanismos de emissão de PQC está associado aos grupos químicos expostos na superfície, sua passivação, modificação, oxidação ou redução, pois esses aspectos podem controlar os estados de emissão sem alterar o estado eletrônico do núcleo.

Pontos quânticos de carbono apresentam absorção de luz na região UV-vis, com uma absorção forte na região em torno de 230 nm, característica das transições $\pi \rightarrow \pi^*$ de estruturas de carbono contendo grupos cíclicos conjugados. Além disso, pode haver bandas de absorção na região entre 300 nm e 400 nm, correspondente a transições $n \rightarrow \pi^*$ dos grupos de superfícies, bem como uma cauda que se estende por todo visível [68, 69]. Esta cauda está associada à existência de nanopartículas com diferentes graus de oxidação [68, 69]. Ou seja, o espectro de absorção de PQC é entendido como o resultado de múltiplas estruturas nas nanopartículas, que pode ser visto como um coquetel fluorescente formado por ingredientes complexos [68, 70]. Assim como na emissão, as propriedades de absorção podem ser manipuladas por meio de passivação de superfície ou algum processo de modificação na síntese [71].

Outro comportamento emissivo de PQC verificado em diversos trabalhos é um acentuado deslocamento de Stokes. Essa idiosincrasia dos PQC contrasta com o fato que fortes deslocamentos de Stokes não podem ser geradas por formas moleculares de hidrocarbonetos aromáticos, se não gerarem um intenso momento de dipolo molecular para interagir com solventes polares [53]. Entretanto, Ruiqian Guo e colaboradores reportaram variação do deslocamento de Stokes condicionada a polaridade do solvente em PQC com O-fenilenodiamina como precursor [72]. Outra possibilidade para tal deslocamento pode ser a formação de excímeros fluorescentes e exciplexes, devido a interação entre pares

de fluoróforos que estão próximos [53]. A transferência de energia de ressonância Forster (FRET, do inglês *Forster Resonance Energy Transfer*) é outro fenômeno que vem sendo extensamente estudado em sistemas de PQC e que pode justificar os deslocamento de Stokes nesse materiais. De fato, PQC são ótimos candidatos para trabalharem tanto como doadores quanto como aceitadores de portadores de carga em experimentos de FRET, pois exibem bandas largas tanto de emissão quanto excitação. Ou seja, pontos quânticos de carbono de um único precursor podem servir como doador/aceitador de energia para diferentes aceitadores/doadores, simplesmente variando o comprimento de onda de excitação.

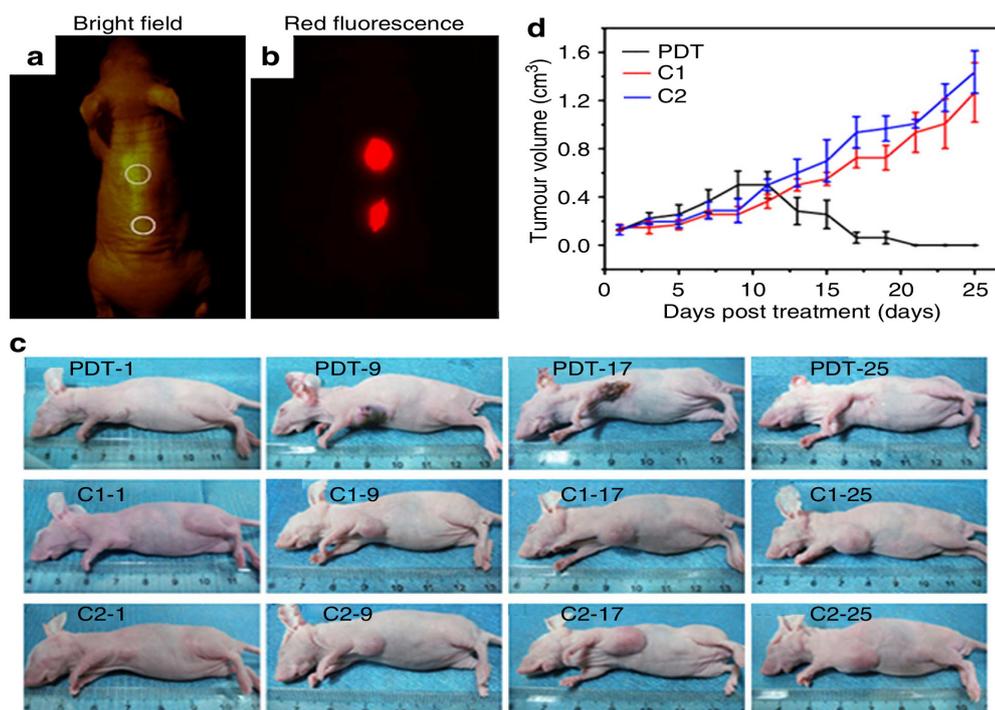
1.3.5 Aplicações

As múltiplas propriedades dos pontos quânticos de carbono tornam esses materiais candidatos para as mais variadas aplicações, como tem sido demonstrado na ampla literatura existente voltada à caracterização e uso destes. As características fluorescentes desses nanomateriais se mostram bastante propícias para uso como sensores de íons, pH, temperatura dentre outras [14, 43, 73]. Adicionalmente, a notória biocompatibilidade dos PQC também pode ser explorada para aplicações biológicas, tais como marcador celular, marcador de bactéria, bioimageamento, função terapêutica e agente teragnóstico [14, 74, 75].

Zhang e colaboradores reportaram um ponto quântico de carbono sintetizado a partir de citrato de sódio e ureia que possui alta sensibilidade a íons Hg^{2+} [76]. O íon de mercúrio (Hg^{2+}) é tóxico à saúde humana e a observação de sua presença em alguns produtos alimentícios tem motivado o desenvolvimento de sensores desse íon. Nesse contexto, várias configurações de sensores de íons de mercúrio baseados em PQC foram reportados. No trabalho de Zhang e colaboradores, também mencionam que tiveram sucesso em analisar a presença de Hg^{2+} em amostras natural de água. Zhongping Zhang reportou o desenvolvimento de um ponto quântico cuja emissão era significativamente sensível à presença do Hg^{2+} , conseguindo detectar a presença do íon em amostras de água de lago, água de torneira e urina humana [77]. Pontos quânticos de carbono vem sendo largamente desenvolvidos como sensores de outros íons, tais como também de Fe^{3+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ag^{2+} , Pb^+ , K^+ , entre outros [14, 78]. Diversas publicações têm mostrado a capacidade de PQC em detectar biomoléculas, principalmente enzimas e proteínas. Com o objetivo de detectar a atividade de tirosinase, Zhaosheng Qian e colaboradores funcionalizaram um PQC com dopamina [79], enquanto que Xun Liao e colaboradores sintetizaram PQC usando ácido cítrico e dopamina como precursores [62]. A principal motivação é que a tirosinase é uma enzima chave na biossíntese da melanina e sua atividade é um indicador para distúrbios dermatológicos, como vitiligo e melanoma. A abordagem usada por Liao e colaboradores ganhou destaque pela simplicidade e número de passos reduzidos para

produção da nanopartícula.

Figura 1.7: Resultados obtidos por Ge e colaboradores. Nesse trabalho foram realizados ensaios *in vivo* e demonstrado a capacidade de PQC para imageamento subcutâneo e em terapia fotodinâmica. Na imagem (c) o rato com a marcação PDT passou por terapia fotodinâmica, e é notório a redução do tumor. O rato com marcação C1 teve aplicação da nanopartícula, porém não foi exposto a radiação, e no rato com marcação C2 houve nenhuma intervenção.



Fonte: Ge e colaboradores., 2014 [80].

Pontos quânticos de carbono apresentam propriedades práticas e fundamentais para produzir imagens biológicas (bioimageamento), com alto rendimento quântico e emissão dependente a excitação. Este último permite uma flexibilidade na seleção do comprimento de onda de excitação em experimentos de microscopia de fluorescência. Em 2010, Ya-Ping Sun e colaboradores mostraram que a emissão de PQC permaneceu forte quando injetado em ratos, o que foi bastante promissor para a técnica de imageamento [81]. Além disso, verificou-se que os animais usados no estudo não exibiram qualquer resposta toxicológica aguda ou efeito colateral. Em inúmeras publicações, foi evidenciado que PQC podem ser incubados em células HeLa, permitindo a marcação das mesmas. A marcação celular pode ser uma ferramenta poderosa no diagnóstico de células tumorais [75]. Nos últimos anos tem sido reportado a utilização de PQC para geração de espécies que reagem ao oxigênio, como oxigênio singleto ou radicais livres, fundamental em terapia fotodinâmica. A geração de oxigênio singleto, por exemplo, pode matar células tumorais através da irradiação de um fotossensibilizador. Xiaodong Han e colaboradores usaram o método hidrotermal para obter PQC com boa capacidade de geração de oxigênio singleto [80].

Nesse trabalho, foi realizada a aplicação *in vivo* e demonstrada alta fluorescência no vermelho após injeção subcutânea. Usando o PQC como fotossensibilizador, foi observada a redução por completo de um tumor em um rato que passou por terapia fotodinâmica, como mostra a figura 1.7. Uma outra abordagem para aplicação que vem se popularizando é o desenvolvimento de agente teragnóstico baseado em PQC. Agentes teragnósticos são sistemas que atuam simultaneamente no diagnóstico e tratamento de uma determinada doença. Xing-Can Shen e colaboradores produziram PQC com boa emissão usando rota hidrotermal, onde verificou-se a adesão seletiva das nanopartículas em células tumorais [82]. O uso dessa nanopartícula permitiu tanto o imageamento, como o combate das células tumorais por meio da geração de oxigênio singleto.

1.4 Objetivo geral do trabalho

Nas seções anteriores, foi realizada uma breve revisão histórica sobre as investigações do fenômeno de fluorescência, que se seguiu por uma discussão sobre polímeros conjugados. Foi abordada ainda uma classe de materiais bastante promissora, os pontos quânticos de carbono. Em linhas gerais, foram discutidos os métodos de síntese, as propriedades fluorescentes e algumas das aplicações desses nanomateriais. O presente trabalho tem como objetivo a caracterização espectroscópica de sistemas orgânicos conjugados, que apresentam características multifuncionais.

Em um primeiro momento, será apresentado um estudo sobre as propriedades luminescentes do composto conjugado SNSFCA, formado pela funcionalização de uma cadeia de tiofeno-pirrol-tiofeno (SNS) com o ácido fluoreno-9-carboxílico (FCA). Será observado que as propriedades espectroscópicas desse material podem ser modificadas sob exposição UV, desde que o material seja disperso em clorofórmio. Efeitos da polaridade de solventes também foram investigados.

Nos capítulos seguintes, serão apresentados os resultados obtidos a partir do estudo de pontos quânticos de carbono. Inicialmente, serão apresentados os resultados ligados às propriedades multifuncionais de PQC derivados do cloreto de dansila (CD-DsCl), com ênfase nos efeitos de temperatura e pH, bem como na geração de oxigênio reativo. A seguir, serão analisadas as propriedades espectroscópicas de pontos quânticos de carbono obtidos a partir de síntese hidrotermal, tendo o azocorante vermelho de metila como material precursor. Serão apresentados ainda os resultados associados aos efeitos da adição destes pontos quânticos sobre as propriedades termo-ópticas de filmes de PVA. Por fim, será apresentado um resumo dos principais resultados obtidos no trabalho, as principais perspectivas e as conclusões finais.

No próximo capítulo será revisado alguns temas de espectroscopia, como absorção e emissão, conceitos imprescindíveis para uma leitura clara dos resultados obtidos na presente tese.

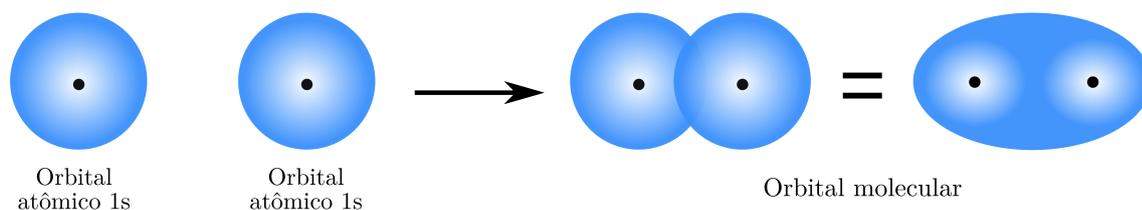
ESPECTROSCOPIA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS

Considere um feixe de luz que apresenta uma distribuição espectral numa ampla faixa de comprimentos de onda. Suponha que este feixe incide sobre um meio transparente e que parte de sua energia é absorvida, de maneira que a distribuição espectral do feixe transmitido é diferente daquela do feixe incidente. A esse fenômeno físico dá-se o nome de absorção de luz [83] e está associado com a distribuição de níveis de energia do meio. A seguir faremos uma breve discussão sobre como o espectro de absorção depende dos níveis de energia de uma molécula orgânica.

2.1 Absorção de Luz

Ao absorver um fóton, um átomo no estado fundamental sofre uma transição eletrônica e vai para um estado dito excitado. Uma transição eletrônica é a promoção de um elétron que se encontra em estado de menor energia (chamado estado fundamental, S_0), induzida pela absorção de um fóton, para um estado de maior energia (chamado estado excitado, S_n). Usando uma abordagem quântica, o fenômeno de absorção pode ser entendido como uma transição eletrônica em um sistema de dois níveis, um com energia E_0 correspondente ao estado fundamental e outro com energia E_1 relacionado ao estado excitado. Se a frequência dos fótons é ressonante com a diferença de energia entre os estados $\Delta E = E_1 - E_0$, chamada de diferença de energia ou *gap* de energia, pode ocorrer a absorção da energia de um fóton e promoção do elétron do estado fundamental para o estado excitado [84]. A probabilidade de absorção é proporcional a densidade de energia espectral e ao coeficiente de Einstein B_{12} , que é o coeficiente de absorção.

Embora sejam semelhantes, as transições eletrônicas em meios orgânicos são diferentes do observado em átomos isolados ou em materiais inorgânicos. Isto porque as transições eletrônicas estão majoritariamente associadas a elétrons compartilhados, ou seja, que participam de um orbital molecular. De maneira simples, um orbital molecular corresponde a uma superposição simétrica dos orbitais atômicos de dois átomos, formando assim uma ligação química. Na figura 2.1 tem-se a ilustração da formação de um orbital molecular pela combinação de dois orbitais atômicos $1s$. Há três tipos orbitais moleculares: orbitais

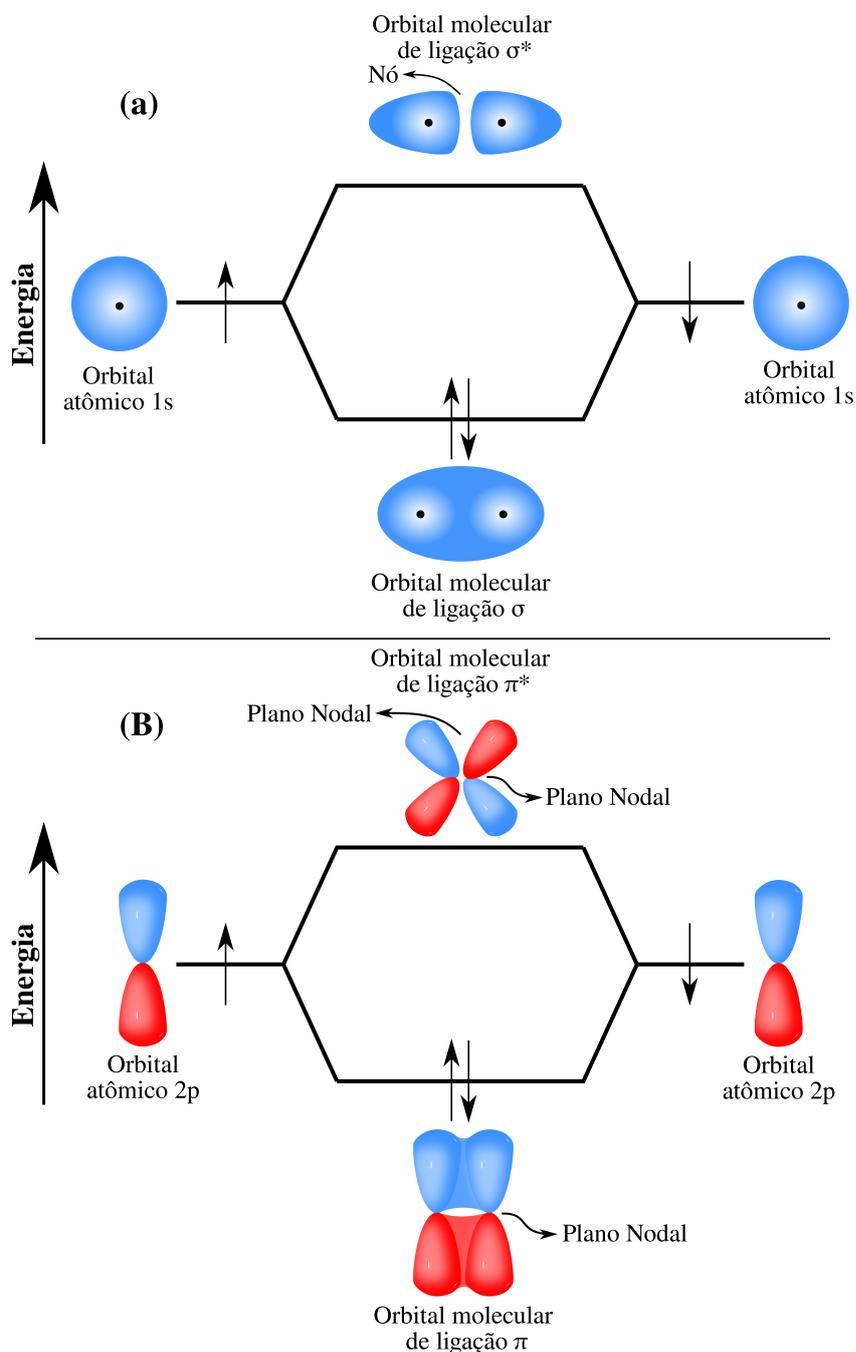
Figura 2.1: Combinação de orbitais atômicos para formação de orbital molecular.

Fonte: Autor, 2023.

σ , π e n . Um orbital molecular σ é formado pela sobreposição simétrica e colinear de dois orbitais atômicos s , ver figura 2.2(a), ou pela sobreposição colinear de um orbital s e de um orbital atômico p , ou ainda por dois orbitais atômicos p , desde que haja uma eixo colinear de simetria. É possível ainda formar orbitais σ a partir da sobreposição de um orbital s e de um orbital híbrido sp . Se a superposição dos orbitais for antissimétrica, forma-se um orbital σ^* , chamado de orbital σ antiligante. Na figura 2.2(a) tem-se um diagrama da formação de orbitais σ e σ^* oriundos da sobreposição de dois orbitais atômicos s , fica explícita que após a ligação o sistema adquire uma configuração de menor energia que quando os átomos separados, e o orbital σ^* apresenta uma densidade de elétrons menor entre os núcleos, o que a torna menos estável que os átomos desassociados. Por conta da forte sobreposição dos orbitais atômicos, a diferença de energia entre os orbitais σ e σ^* é grande, de maneira que a transição entre dois estados requer fótons de alta energia na região do ultravioleta profundo, $\lambda \sim 120$ nm.

Um orbital π é formado quando dois orbitais atômicos p sobrepõem-se lateralmente, figura 2.2(b), sendo chamado muitas vezes de ligação π . Vale salientar que um orbital π só pode ser formado entre dois átomos após a formação de um orbital σ , caracterizando assim a formação de uma ligação dupla. Ou seja, a formação de ligações duplas ($=$) ou triplas (\equiv) entre dois átomos envolverá a formação de um orbital σ e de um ou dois orbitais π , respectivamente. Quando a sobreposição lateral dos orbitais p é simétrica, dizemos que o orbital π é ligante, enquanto um orbital π^* é dito antiligante quando a sobreposição é antissimétrica. Na figura 2.2(b) tem-se um diagrama de formação de orbital molecular π a partir de dois orbitais atômicos $2p$. Devido à associação lateral esse orbital apresenta um plano nodal para orbital ligante, e dois planos nodais no orbital antiligante. Uma vez que a sobreposição é lateral, o orbital π possui uma energia maior que o orbital σ , enquanto o orbital π^* possui uma energia menor que o orbital σ^* . Assim a diferença de energia para transições $\pi \rightarrow \pi^*$ é menor do que para transições $\sigma \rightarrow \sigma^*$, sendo ressonante com fótons na região do ultravioleta profundo, com $\lambda \sim 180$ nm. É importante salientar que o comprimento de onda ressonante com transições $\pi \rightarrow \pi^*$ pode aumentar significativamente quando a molécula orgânica em estudo apresenta alternância de ligações σ e π , chamado de conjugação. Quanto maior for essa alternância, maior será o comprimento de conjugação e maior será o comprimento de onda ressonante com a

Figura 2.2: (a) Ligação σ . (b) Ligação π .



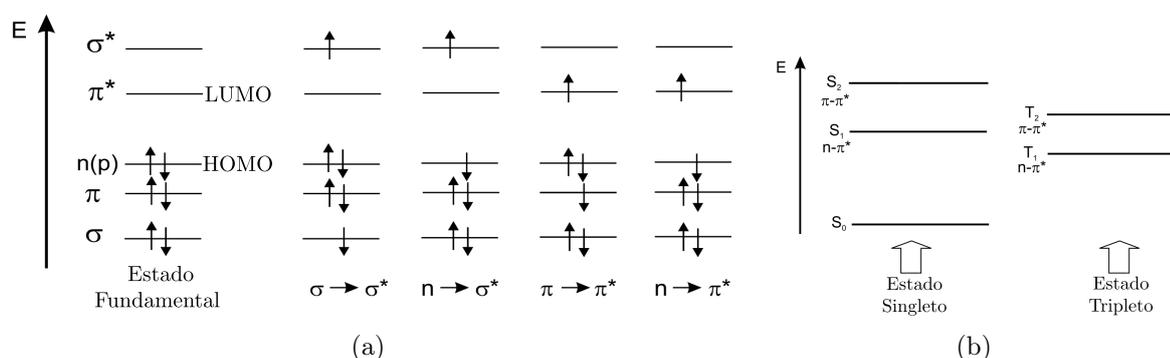
Fonte: Autor, 2023.

transição $\pi \rightarrow \pi^*$. Outro ponto importante é que moléculas formadas por grupos cíclicos conjugados, como o anel benzênico, apresentam níveis de energia específicos: ${}^1A_{1g}$ - estado fundamental completamente simétrico, ${}^1B_{2u}$ - estado excitado de mais baixa energia, ${}^1B_{1u}$ - segundo estado excitado, e ${}^1E_{1u}$ - estado excitado de mais alta energia e completamente simétrico. Aqui é usada nomenclatura $(2S+1)\Lambda_{g,u}$. Onde $\Lambda = A, B, E, \dots$ indica o grupo de simetria do orbital e $(2S + 1)$ representa a multiplicidade de spin do estado (singlete ou tripleto), enquanto g e u indicam a paridade de estado em relação à simetria de inversão

[85].

Quando um composto orgânico apresenta heteroátomos, tais como O (oxigênio), N (nitrogênio), S (enxofre) e P (fósforo), há níveis de energia associados aos orbitais ocupados por elétrons não compartilhados, sendo denominados de orbitais n . Estes orbitais tendem a apresentar uma energia maior que orbitais π . Uma vez que numa molécula há um grande número de orbitais envolvidos, denomina-se o estado fundamental como sendo o orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*). Por outro lado, denomina-se como estado excitado o orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) [86, 18]. Eles são chamados de orbitais de fronteira. A figura 2.3(a) ilustra os níveis de energia e indica quais os níveis denominados HOMO e LUMO.

Figura 2.3: (a) Níveis de energia de orbitais moleculares, e possíveis transições eletrônicas. (b) Ilustração dos estados singlete e tripleto



Fonte: Adaptado de Bernard Valeur and Mário Nuno Berberan-Santos [15].

Devido a natureza de partícula indistinguível e fermiônica dos elétrons, só é possível que haja apenas um par deles com spins opostos em cada orbital molecular. Se um dos elétrons do par é promovido para um orbital molecular de maior energia e não há alteração em seu spin, então o somatório dos spins permanece zero e a multiplicidade ($M = 2S + 1$) do estado excitado e fundamental permanecem iguais a 1. Esses estados são chamados de singlete e representado por S_0 no estado fundamental, e por S_1, S_2, \dots nos estados excitados. Uma transição desse tipo é chamada de transição singlete-singlete. Se ao ser promovido o elétron sofre uma conversão de spin e ocupa uma configuração em que há elétrons com spins paralelos, o estado correspondente é chamado de tripleto, representado por T_0 no estado fundamental e T_1, T_2, \dots nos estados excitados. O somatório dos spins agora é diferente de zero e a multiplicidade 3. Um estado tripleto corresponde a três estados de igual energia. A partir da regra de Hund tem-se que o estado tripleto possui menor energia que o estado singlete na mesma conformação. Na figura 2.3(b) tem-se a distribuição dos níveis de energia e spins para os estados singlete e tripleto [15, 87].

Em sistemas com extensa deslocalização eletrônica devido ao grande número de áto-

mos e elétrons envolvidos, o espaçamento entre os níveis de energia são próximos, e com isso há grande densidade de estados excitados, bem como é bastante reduzida a diferença de energia entre os estados singleto e tripleto. Em nanopartículas de materiais semicondutores, como o CdSe, uma característica particular é a sua dependência de comprimento de onda de absorção com o raio da nanopartícula. Isso é observado quando o raio de uma partícula aproximadamente esférica é menor que o respectivo raio de Bohr éxciton¹ (tradução direta de “*exciton Bohr radius*”), a essa nanopartícula dá-se o nome de ponto quântico (*quantum dot*) e comporta-se como sistema eletronicamente estendido [15].

A eficiência de absorção de luz de um meio absorvedor é caracterizada pela absorbância $A(\lambda)$ ou transmitância $T(\lambda)$, definidas como,

$$A(\lambda) = \log \frac{I_\lambda^0}{I_\lambda} = -\log T(\lambda) \quad (2.1)$$

$$T(\lambda) = \frac{I_\lambda}{I_\lambda^0} \quad (2.2)$$

Onde, I_λ^0 é intensidade de luz incidente, e I_λ a intensidade de luz transmitida. Na maioria dos casos a absorbância de uma amostra obedece a lei de Beer-Lambert [15, 83],

$$A(\lambda) = \log \frac{I_\lambda^0}{I_\lambda} = \varepsilon(\lambda)lc \quad (2.3)$$

onde $\varepsilon(\lambda)$ é o coeficiente de absorção molar (em $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), l é a espessura do meio absorvedor (ou comprimento do caminho de absorção) (em cm), e c é a concentração (em molL^{-1}). A previsão dessa lei não é observada quando diferentes formas de moléculas absorventes estão em equilíbrio ou quando há a formação de agregados em soluções muito concentradas. O coeficiente de absorção molar $\varepsilon(\lambda)$, denota a capacidade da molécula em absorver a energia de um fóton num dado comprimento de onda λ e em um dado solvente. Quanto maior esse coeficiente, maior a probabilidade de transição. Para transições $n \rightarrow \pi^*$, o ε pode variar entre 10 e 10^3 , enquanto que transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, ε pode ser da ordem de 10^5 (exceto para transições proibidas por simetria).

2.1.1 Regras de seleção

É possível mostrar que a probabilidade de transição entre dois estados por absorção de radiação eletromagnética é proporcional ao quadrado da integral de momento de transição. Para uma transição eletrônica entre os estados fundamental e excitado, cuja as respectivas funções de onda são ψ^0 e ψ^1 , é possível escrever a integral de momento de transição como,

¹O raio de Bohr éxciton pode ser definido como a distância de separação entre o elétron e o buraco em um par elétron-buraco.

$$M = \int \psi^{1*} \hat{\mu} \psi^0 d\tau \quad (2.4)$$

onde $\hat{\mu}$ é o operador momento de dipolo. As funções de onda podem ser escritas como produto de uma função de onda eletrônica e uma função de onda vibracional, $\psi = \psi_{es} \psi_v$ (esta separação das funções de onda eletrônicas e vibracionais é uma expressão da aproximação de Born-Oppenheimer). O operador $\hat{\mu}$ pode ser separado em duas componentes, uma com dependência nas coordenadas nuclear ($\hat{\mu}_n$), e outra com dependência nas coordenadas do elétron ($\hat{\mu}_e$), $\hat{\mu} = \hat{\mu}_n + \hat{\mu}_e$. Assim, a partir da equação 2.4 chegamos ao seguinte resultado:

$$M = \int \psi_{es}^{1*} \psi_v^{1*} (\hat{\mu}_n + \hat{\mu}_e) \psi_{es}^0 \psi_v^0 d\tau \quad (2.5)$$

$$M = \underbrace{\int \psi_v^{1*} \psi_v^0 d\tau_v}_{\text{Fator de Frank-Condon}} \underbrace{\int \psi_e^{1*} \hat{\mu}_e \psi_e^0 d\tau_e}_{\text{base da regra de seleção de orbital}} \underbrace{\int \psi_s^{1*} \psi_s^0 d\tau_s}_{\text{base da regra de seleção de spin}} \quad (2.6)$$

base da regra de seleção vibracional

onde foi separado a contribuição do spin, $\psi_{es} = \psi_e \psi_s$. A equação 2.6 será a base das regras de seleção eletrônica [87, 85]. Se qualquer uma das integrais for nula, a transição é formalmente proibida. Portanto, há uma regra de seleção vibracional, orbital e de spin para cada transição eletrônica.

Transição proibida por spin: Transições entre estados com diferentes multiplicidades são proibidas, isso implica que a última integral na eq. 2.6 é zero, ou seja, apenas transições singleto→singleto e tripleto→tripleto são permitidas. Embora as transições singleto→tripleto e tripleto→singleto sejam proibidas, a presença de grupos funcionais contendo heteroátomos pode fazer com que essas transições, em decorrência do acoplamento spin-órbita, ocorram. Usualmente, as transições singleto→tripleto são denominadas de cruzamento intersistema (ISC), e ocorrem de um estado singleto excitado S_n para um estado tripleto de mesma energia T_n . Por outro lado, transições tripleto→singleto são denominadas de cruzamento intersistema reverso e correspondem a uma transição do estado excitado tripleto T_1 para o estado singleto excitado S_1 . Como a energia do estado T_1 ($E_{1,T}$) é mais baixa do que a do estado S_1 ($E_{1,S}$), este tipo de transição torna-se improvável quando $\Delta E_{ST} = E_{1,S} - E_{1,T} \gg k_B T$. Se a transição é permitida por spin, o coeficiente de absorção molar é observado como sendo $10^3 - 10^5 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, se a transição é proibida, ε é da ordem de $10^{-5} - 10^0 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Transições permitas por orbital: Transições são orbitalmente permitas nos estados em que a segunda integral da equação 2.6 é diferente de zero. Uma transição

que é permitida por spin concomitantemente por orbital, é chamada de totalmente permitida e apresenta grande intensidade. Como o operador de dipolo elétrico é ímpar sobre simetria de inversão, a integral de momento de transição será não nula se orbitais envolvidos apresentarem paridades opostas [87]. Em outras palavras, as transições $(2S+1)\Lambda_u \rightarrow (2S+1)\Lambda'_u$ e $(2S+1)\Lambda_g \rightarrow (2S+1)\Lambda'_g$ são proibidas, enquanto as transições $(2S+1)\Lambda_u \rightarrow (2S+1)\Lambda'_g$ e $(2S+1)\Lambda_g \rightarrow (2S+1)\Lambda'_u$ são permitidas.

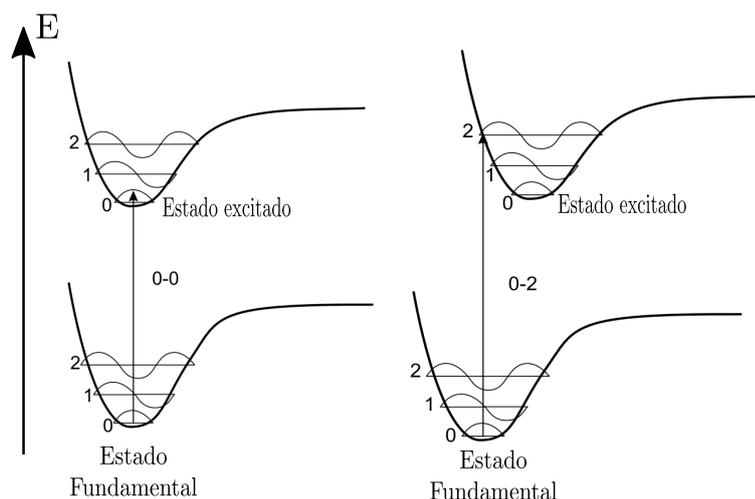
Transições vibracionais permitidas: A condição para que uma transição vibracional seja permitida é que as duas primeiras integrais da equação 2.6 não seja nula. Em cada nível de energia há uma estratificação de níveis vibracionais, com isso, pode ocorrer uma transição de um estado vibracional excitado no estado fundamental v_1^0 , para um estado vibracional no nível de energia superior v_0^1 . Como essa transição acontece em uma molécula que inicialmente está em um estado excitado vibracional no estado eletrônico fundamental, é chamada de banda quente (tradução direta de “*hot band*”). A intensidade de transições vibracionais são sensíveis a variações na temperatura do sistema. Um acoplamento entre uma transição eletrônica proibida por orbital com uma transição vibracional é possível, porém com ε na ordem de $10^0 - 10^3 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [87, 15].

2.1.2 Princípio de Franck-Condon

A aproximação de Born-Oppenheimer considera que devido à grande diferença de massa entre elétron e núcleo, a nuvem eletrônica se move muito mais rápido que o núcleo atômico, de maneira que as funções de onda do núcleo atômico e dos elétrons podem ser tratadas separadamente [88]. Este é o preceito básico do princípio de Franck-Condon: é provável que uma transição eletrônica ocorra sem que os núcleos atômicos se movimentem de forma significativa [15, 87], uma vez que as transições eletrônicas decorrentes da absorção de um fóton ocorrem numa escala de tempo muito menor ($\sim 10^{-15} \text{ s}$) do que o período das vibrações nucleares ($10^{-10} - 10^{-12} \text{ s}$). Esse princípio ajuda a explicar a intensidade das transições eletrônicas, bem como a origem de bandas de absorção. Na equação 2.6, a integral $\int \psi_v^{1*} \psi_v^0 d\tau_v$ foi identificada como o fator de Franck-Condon (FFC). Esse fator representa a sobreposição de funções de onda vibracionais do estado fundamental e do estado excitado. O princípio de Franck-Condon estabelece as transições vibracionais permitidas entre dois estados eletrônicos diferentes, com o FFC agindo como um modulador na intensidade das bandas de absorção. Vale salientar que a ordem de magnitude de uma banda de absorção é determinada primeiramente por outras regras de seleção. O estado resultante é chamado de estado Franck-Condon e a transição é chamada de transição vertical. A figura 2.4 ilustra o princípio de Franck-Condon, onde é possível notar nos diagramas de energia potencial que a transição ocorre para estados que apresentam compatibilidade nos níveis vibracionais. Além disso, é importante estabelecer que cada nível eletrônico está acoplado com os diferentes estados vibracionais, criando assim um banda

de absorção centrada em torno da ressonância entre os estados fundamental e excitado.

Figura 2.4: Diagramas de energia potencial que representam o princípio de Franck-Condon. Nos diagramas a esquerda, tem-se a transição acontecendo de um nível vibracional mais baixo de S_0 para um nível vibracional mais baixo de S_1 , enquanto que nos diagramas à direita, a transição acontece para um estado vibracional mais alto de S_1 .



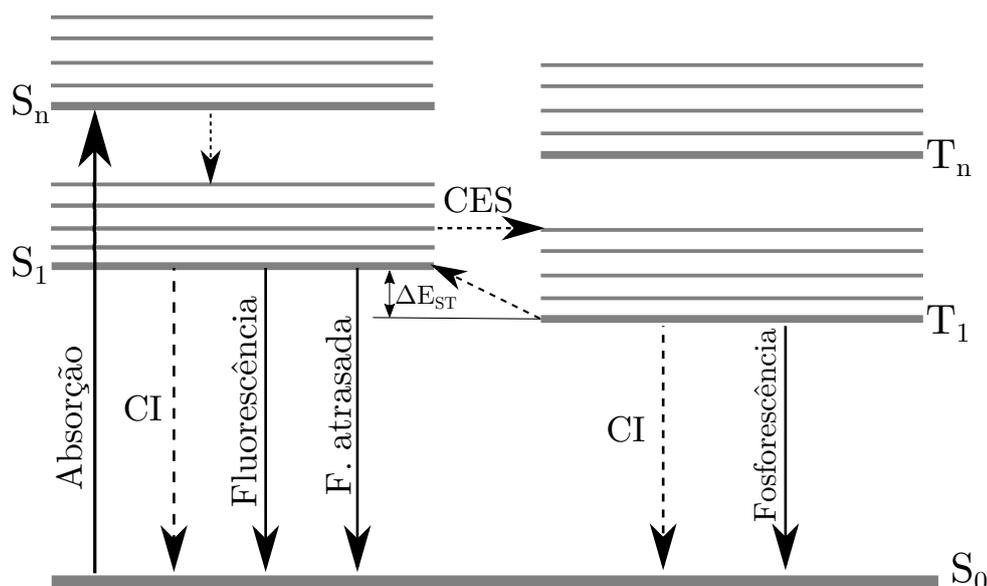
Fonte: Adaptado de Bernard Valeur and Mário Nuno Berberan-Santos [15].

2.2 Emissão

Ao absorver um fóton e ir para um estado eletrônico excitado ($S_1, S_2...$ ou $T_1, T_2...$), uma molécula eventualmente retornará ao seu estado fundamental (S_0) por meio de um processo de decaimento que pode envolver mais de um mecanismo físico. Mais especificamente, há processos de decaimento chamados radiativos - em que há a emissão de um fóton, e não radiativos - onde há a transferência de energia para o meio sem a emissão de fótons. Os processos radiativos definem assim o fenômeno de fotoluminescência, que inclui a fluorescência e fosforescência. Nos processos não radiativos, estão inclusos a relaxação com dissipação de calor por meio de colisões moleculares, relaxação térmica para estados de energia intermediários, a partir do qual fótons podem ser emitidos, e o uso da energia absorvida para propiciar reações químicas (fotoquímica) [87]. Os processos de absorção, decaimento radiativos e decaimento não radiativos são geralmente ilustrados pelo diagrama de Jablonski [15, 9, 87]. O diagrama de Jablonski é usado para ilustrar as diferentes transições eletrônicas entre os estados fundamental e excitados de moléculas orgânicas, bem como os respectivos fenômenos físicos envolvidos, como mostra a figura 2.5. A flecha contínua apontada para cima representam absorção de fóton, enquanto as flechas contínuas apontadas para baixo descrevem processos com emissão de um fóton. As flechas tracejadas caracterizam processos não radiativos, enquanto as linhas horizontais configuram os níveis de energia dos estados vibracionais e eletrônicos. A seguir, serão

descritos os principais mecanismos que uma molécula pode experimentar ao retornar ao estado de energia fundamental.

Figura 2.5: Diagramas de Jablonski esquematizando a absorção, conversão interna (CI), fluorescência, cruzamento entre sistemas (CES), fluorescência atrasada (FA) e fosforescência. Setas tracejadas indicam processo não radiativo, e seta contínua indica processo radiativo.



Fonte: Autor, 2021.

Conversão interna

Conversão interna (CI) é uma transição não radiativa entre dois estados que possuem mesma multiplicidade de spin. Nesse processo, há a dissipação de energia pela molécula excitada por meio de colisões com outras moléculas, como as moléculas do solvente, por exemplo. Assim, há um ganho térmico para o meio como um todo. Quando o estado excitado da molécula é mais alto que o nível vibracional mais baixo de S₁, a relaxação vibracional leva a molécula para o estado vibracional mais baixo de S₁, como mostra a figura 2.5. A escala de tempo desse processo é de 10⁻¹³ – 10⁻¹¹ s. No caso em que a absorção do fóton popular um estado de excitação mais alto, como o estado S₂, haverá um decaimento não radiativo por meio da conversão interna até estado vibracional mais baixo de S₁. Um vez que estado vibracional de mais baixa energia de S₁ é ocupado, uma conversão interna para S₀ torna-se menos provável, devido à grande diferença de energia entre os estados S₁ e S₀. Essa lacuna de energia é usualmente bem maior do que a observada entre S₁ e S₂. Com isso, o decaimento não radiativo S₁ → S₀ tende a competir com o mecanismo de decaimento radiativo [15, 87].

Fluorescência

Em moléculas orgânicas sem excesso ou falta de cargas, os orbitais moleculares estão ocupados por pares de elétrons, de maneira que o estado fundamental é sempre um estado singlete, S_0 . Desta forma, quando um fóton é absorvido, o estado excitado será também um estado singlete, S_n . Por meio do processo de conversão interna de energia, haverá decaimentos não radiativos tal que o sistema ocupará o estado vibracional de mais baixa energia de S_1 ($S_n \rightarrow S_1$). Como a multiplicidade de spin dos estados S_1 e S_0 é mesma, o retorno para o estado S_0 é uma transição permitida por spin e ocorre com a emissão de um fóton com energia menor do que o fóton que excitou a molécula. Portanto, fluorescência é a emissão de fótons sem alteração na multiplicidade do spin, $S_1 \rightarrow S_0$. A fluorescência ocorre em comprimentos de onda maior que os absorvidos, e a diferença entre o máximo da primeira banda de absorção e o máximo da banda de emissão é chamado de deslocamento de Stokes. Uma vez que o processo de absorção envolve a formação de um dipolo elétrico ($S_{0u} \rightarrow S_{ng}$), a polaridade do solvente pode afetar o deslocamento de Stokes de forma significativa. Apesar do que afirma Stokes, em muitos casos é possível observar a sobreposição parcial entre os espectros de emissão e absorção, ou seja, parte da fluorescência está presente em uma região onde a molécula absorve. E isso é explicado, como declarou Einstein, por efeito de alguma fração de moléculas que mesmo em temperatura ambiente, encontram-se em um estado vibracional excitado de S_0 [15, 9, 87].

O espectro de emissão de fluorescência é geralmente independente do comprimento de onda de excitação. Tal fato é conhecido como regra de Kasha. E a emissão de um fóton é tão rápida quanto a absorção de outro ($\approx 10^{-15}$ s), entretanto, a molécula excitada permanece no estado S_1 por algum tempo ($10^{-12} - 10^{-9}$ s). A emissão descrita nessa seção trata-se do processo de emissão espontânea, mas há também a emissão estimulada, que é a base do funcionamento de um laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) [15, 9].

Cruzamento entre sistemas

Como mencionado anteriormente, transições eletrônicas com alteração de multiplicidade de spin são proibidas (transição proibida por spin). No entanto, esse fenômeno é observado em algumas moléculas, em decorrente de uma transição entre estados singlete e tripleto, chamado de cruzamento entre sistemas (*"Intersystem Crossing"*). O cruzamento entre sistema (CES) é um processo não radiativo entre dois níveis vibracionais isoenergéticos, pertencentes a estados eletrônicos de diferentes multiplicidades de spin [15]. Um elétron no nível vibracional mais baixo de S_1 pode sofrer uma conversão em seu spin, indo para um nível vibracional de um estado tripleto T_n , desde que nenhuma (ou muito pouca) energia seja perdida, ver figura 2.5. O cruzamento entre estados com multiplicidades de spin ocorre em moléculas contendo heteroátomos, especialmente com ligações C = O e

$S = O$, onde há acoplamento spin-órbita forte [15, 87]. Uma vez que um estado tripleto T_n é ocupado, ocorre um processo de conversão interna para o nível vibracional mais baixo de T_1 . A relaxação para o estado fundamental S_0 pode ocorrer por meio de decaimento não radiativo, fosforescência, ou fluorescência atrasada. Estes dois últimos processos serão discutidos com mais detalhes a seguir.

Fosforescência

Fosforescência é a emissão de um fóton a partir do estado tripleto T_1 . Quando ocorre o cruzamento entre sistemas após a absorção de um fóton, a molécula sofrerá um processo de conversão interna de energia e ocupará o estado vibracional de mais baixa energia de T_1 . Como transições que envolvem a mudança de multiplicidade de spin são proibidas, o decaimento radiativo $T_1 \rightarrow S_0$ possui uma probabilidade baixa de ocorrer, com T_1 apresentando um tempo de vida relativamente longo [9]. Dessa forma, a emissão de fótons por fosforescência ocorre numa escala de tempo muito maior do que a observada na fluorescência, podendo atingir vários minutos. A fosforescência não é observada em soluções na temperatura ambiente. Contudo, este processo é favorecido quando as moléculas orgânicas são confinadas em meio rígido e em baixa temperatura. O espectro de fosforescência é observado em comprimentos de onda maiores que o espectro de fluorescência. Isso se deve ao fato de que o menor nível vibracional de T_1 possui uma energia menor do que o menor nível vibracional de S_1 , como mostra a figura 2.5.

Fluorescência Atrasada

O elétron no estado T_1 pode sofrer uma nova conversão no seu spin retornando para um estado singleto, $S_1 \leftarrow T_1$, e decai a partir deste estado para o estado fundamental S_0 com a emissão de um fóton. Essa emissão é chamada de fluorescência atrasada (FA). A reversão de cruzamento entre sistema pode ocorrer quando a diferença de energia entre S_1 e T_1 é pequena e o tempo de vida do estado T_1 é longo o bastante [15]. A fluorescência atrasada é ativada termicamente, desse modo, com o aumento de temperatura espera-se um aumento na eficiência da emissão. Sistemas com essa propriedade serão discutidos nesse trabalho. Vale salientar que a fluorescência atrasada possui bandas de emissão idênticas àquelas observadas na fluorescência imediata, mas com um tempo de vida do estado excitado muito maior.

2.2.1 Tempo de vida e rendimento quântico

Ao se falar em substâncias fluorescentes, umas das principais características são, sem dúvida, o tempo de vida e o rendimento quântico. O tempo de vida de um estado excitado é definido como o tempo médio em que a molécula permanece nesse estado antes de retornar para o estado fundamental, e com isso define a janela de tempo de observação

da dinâmica desse fenômeno [9, 15]. Em termos matemáticos, o tempo de vida τ pode ser escrito como [15]:

$$\tau_s = \frac{1}{k_r + k_{nr}} \quad (2.7)$$

onde k_r é a taxa de decaimento radiativo de $S_1 \rightarrow S_0$, e k_{nr} é a taxa de decaimento não radiativo, onde estão inclusos as taxas associadas aos processos de conversão interna e cruzamento entre sistemas. Em substâncias com apenas uma espécie fluorescente, a intensidade da fluorescência é proporcional à concentração de moléculas que são fotoexcitadas e a dinâmica de relaxação é exponencial. Em compostos orgânicos, o tempo de vida do estado singlete é da ordem de $10^{-12} - 10^{-9}$ s, enquanto que para o estado tripleto o tempo de vida pode alcançar a escala de minutos.

O rendimento quântico da fluorescência é a razão entre o número de fótons emitidos pelo número de fótons absorvidos. Ou seja, é a fração de moléculas excitadas que retornam para o estado fundamental S_0 com emissão fluorescente. A produção de fótons sempre será menor que uma unidade, devido a lei de Stokes. Substâncias que apresentam rendimento quântico próximo de 1 são caracterizadas por apresentarem emissões mais brilhantes, como é o caso do perileno, que em hexano (o solvente tem um importante papel no rendimento quântico) tem rendimento quântico maior que 0.95 [15].

2.2.2 Efeito de solvente

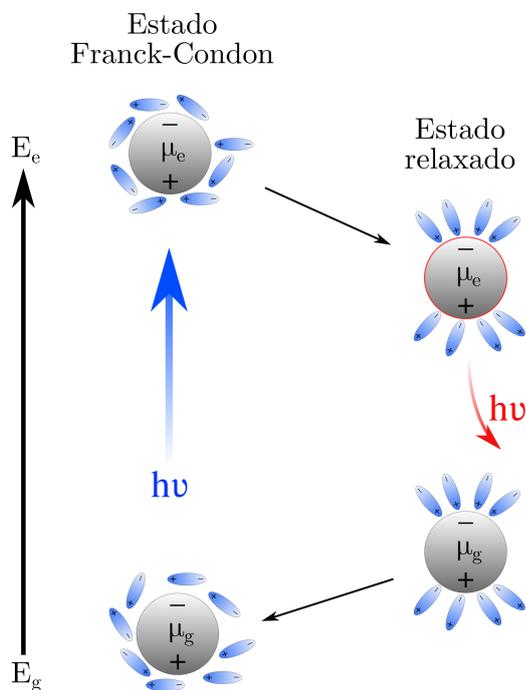
As condições do meio desempenham um papel importante sobre espectro de emissão de um espécime fluorescente (ou fluoróforo²), e têm sido exploradas no desenvolvimento de sondas fluorescentes. O solvente é uma das mais importantes variáveis em qualquer tipo de espectroscopia. Fatores como a polaridade e viscosidade do solvente, taxa de relaxação, e transferência interna de carga contribuem para as alterações observadas no espectro de emissão. Geralmente, esses efeitos são tratados de forma única, chamado de efeito solvatocrômico [9]. Dada a complexidade da dinâmica desse efeito, essa simplificação é por vezes limitada demais para explicar detalhadamente o comportamento dos fluoróforos em alguns meios.

Um fluoróforo usualmente é excitado para um nível vibracional superior do estado S_1 , e logo o excesso de energia vibracional é perdido por interação com o solvente. A natureza do solvente pode induzir deslocamentos nas bandas de absorção e emissão (embora a absorção seja menos sensível a mudanças no solvente), e esses deslocamentos são chamados de deslocamentos solvatocrômicos [15].

Um das razões que originam o deslocamento de Stokes é o processo chamado de relaxação do solvente, que é intimamente vinculado à polaridade do solvente. Na maioria dos casos, o momento de dipolo do fluoróforo no estado fundamental μ_g (do inglês “ground

²Fluoróforo é o grupo de átomos necessários para a produção de fluorescência em uma molécula

Figura 2.6: Efeitos de relaxação do solvente. As moléculas do solvente adquirem uma nova configuração devido ao momento de dipolo μ_e do fluoróforo no estado excitado, $\mu_e > \mu_g$.



Fonte: Autor, 2023.

state”) possui um valor menor do que o momento de dipolo no estado excitado μ_e . Como a absorção ocorre na escala de 10^{-15} segundos, há uma redistribuição quase instantânea da nuvem eletrônica, culminando na mudança do momento de dipolo, $\mu_g \rightarrow \mu_e$ com $\mu_g < \mu_e$. Essa mudança na distribuição eletrônica da molécula induz uma reorganização das moléculas de solvente em torno do fluoróforo excitado, chamada de relaxação do solvente [15]. Quanto maior a polaridade do solvente, pode haver uma estabilização do estado excitado S_1 , acompanhada de uma redução na diferença de energia entre os estado S_1 e S_0 , como mostra a figura 2.6. Nesse caso, há um deslocamento no espectro de emissão para a região do vermelho (“red shift”, ou deslocamento batocrômico) [9, 15]. Se o tempo do processo de relaxação do solvente for menor que o tempo de vida do estado excitado, a emissão será advinda das moléculas em equilíbrio com a camada de solvatação. Com o retorno para o estado fundamental o sistema soluto-solvente adquire uma configuração mais estável que a anterior. Se a reorganização do solvente for da ordem do tempo de vida, os primeiros fótons a serem emitidos terão maior energia que os fótons emitidos após um longo tempo, ou seja, será observado que o espectro de emissão, sob excitação constante, irá mover-se para direita com a evolução do tempo até o momento que o processo de relaxação esteja concluído. E por fim, se o meio for muito viscoso de modo que as moléculas do solvente tenham dificuldade em mover-se, a emissão será provida de um estado muito próximo do estado de Franck-Condon [9, 15]. É importante salientar que há casos em que o aumento

da polaridade induz uma redução na energia do estado fundamental S_0 maior do que na energia do estado excitado S_1 , resultando assim num aumento da lacuna de energia entre esses níveis. Nesse caso, há um deslocamento do espectro de emissão para o azul (“blue shift”, ou deslocamento hipsocrômico)

A teoria geral dos efeitos do solvente fornece uma descrição do comportamento solvatocrômico de moléculas fluorescentes. Uma substância é chamada de solvatocrômica quando apresenta bandas de emissão (e absorção) dependentes da polaridade do solvente. Nesse modelo, não são consideradas interações químicas ou formação de estados de transferência de carga, que são identificadas como desvios da teoria geral [9]. Nesse modelo, quando o processo de relaxação do solvente está completo, as equações de deslocamento solvatocrômico (expressa em números de onda) da interação dipolo-dipolo podem ser escritas, para absorção ($\bar{\nu}_a$) e emissão ($\bar{\nu}_f$), respectivamente, como:

$$\bar{\nu}_a = -\frac{2}{hc}\mu_g(\mu_e - \mu_g)a^{-3}\Delta f + cte \quad (2.8)$$

$$\bar{\nu}_f = -\frac{2}{hc}\mu_e(\mu_e - \mu_g)a^{-3}\Delta f + cte \quad (2.9)$$

onde h é a constante de Planck, c a velocidade da luz, a é o raio da cavidade Onsager do fluoróforo, e Δf é a orientação da polarizabilidade, dada por,

$$\Delta f = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1}, \quad (2.10)$$

com ϵ sendo a constante dielétrica e n o índice de refração do solvente. O termo $\frac{\epsilon-1}{2\epsilon+1}$ corresponde ao deslocamento no espectro devido a reorientação do dipolos do solvente e da redistribuição dos elétrons nas moléculas do solvente. E o segundo termo, $\frac{n^2-1}{2n^2+1}$, corresponde apenas a redistribuição dos elétrons. Com isso, a diferença desses dois termos ($= \Delta f$) é a contribuição da reorientação das moléculas do solvente no deslocamento espectral. Fazendo a diferença entre as equações 2.8 e 2.9, chega-se a equação Lippert-Mataga:

$$\bar{\nu}_a - \bar{\nu}_f = -\frac{2}{hc}\mu_g(\mu_e - \mu_g)^2a^{-3}\Delta f + cte. \quad (2.11)$$

Essa expressão do deslocamento de Stokes depende do valor absoluto de $\mu_e - \mu_g$, e apesar de ser uma aproximação apresenta boa correlação entre as perdas de energia calculadas e observada em solventes apróticos³.

Em contraste com equação Lippert-Mataga, as interações específicas são geradas por uma ou poucas moléculas na vizinhança, e são determinadas pelas propriedades químicas

³Solventes apróticos são aqueles que não possuem grupos hidroxilo, ou qualquer grupo com capacidade de doador ou aceitador de ligação de hidrogênio

do espécime fluorescente e do solvente [9]. As interações específicas podem provir de ligação de hidrogênio, química ácido-base, ou interações de transferência de carga entre outras. Essas interações podem induzir efeitos bem dramáticos nos espectros de absorção e emissão, como o que acontece com 2-anilidonaphthalene em ciclohexano, que ao adicionar menos de 3% de etanol, quantidade insuficiente para mudar as propriedades do solvente, causa um deslocamento no máximo de emissão de 372 nm para 400 nm.

2.2.3 Efeitos térmicos

Em baixas temperaturas, o solvente pode ter um aumento na viscosidade e com isso, o tempo de relaxação das moléculas tende a aumentar. A redução da mobilidade das moléculas do solvente devido ao aumento de viscosidade em temperatura baixa induz deslocamentos na banda de emissão, gerados pela mesma dinâmica entre solvente e fluoróforo mencionado na seção anterior. Assim, em baixas temperaturas, geralmente, observa-se um deslocamento para o azul (*“blue shift”*) da banda de emissão e em temperaturas mais altas o deslocamento é para maiores comprimentos de onda. Para temperaturas intermediárias, percebe-se uma alargamento do espectro de fluorescência devido a contribuições concomitantes de fluoróforos no qual o processo de relaxação de solvente está completo, e daqueles onde esse processo possui uma escala de tempo maior que tempo de vida [9].

A variação de temperatura também ocasiona modificações nas características de tempo de vida e rendimento quântico da fluorescência. Na grande maioria dos casos, o aumento de temperatura provoca uma redução no rendimento quântico e tempo de vida, pois processos relacionados com agitação térmica, como colisões com as moléculas do solvente e vibrações intramoleculares, tornam-se mais eficientes em temperaturas mais altas [15]. Como comentado anteriormente, a fluorescência atrasada é ativada termicamente, assim, em sistemas onde esse mecanismo de emissão é possível, o aumento de temperatura favorece um ganho no rendimento quântico e tempo de vida. Em outras palavras, a medida que a temperatura cresce, sob constante excitação, a substância fluorescente brilha mais. Por outro lado, na fosforescência observa-se uma queda considerável no rendimento quântico, uma vez que a combinação de tempo de vida longo e aumento das colisões com as moléculas do solvente faz com que a relaxação ocorra de forma não radiativa [15].

É importante ter em mente que as condições do meio tais como temperatura, pH, viscosidade e polaridade, podem afetar o rendimento quântico e o tempo de vida de um composto fluorescente de maneiras similares. Portanto, a análise de alterações na fluorescência de uma molécula deve ser realizada com muito cuidado, evitando possíveis equívocos na interpretação destes fenômenos.

Neste capítulo foi realizada uma breve revisão dos principais aspectos relacionados a absorção e emissão de luz, bem como os impactos do solvente. No próximo capítulo será feita uma discussão das técnicas utilizadas para extrair informações dos materiais

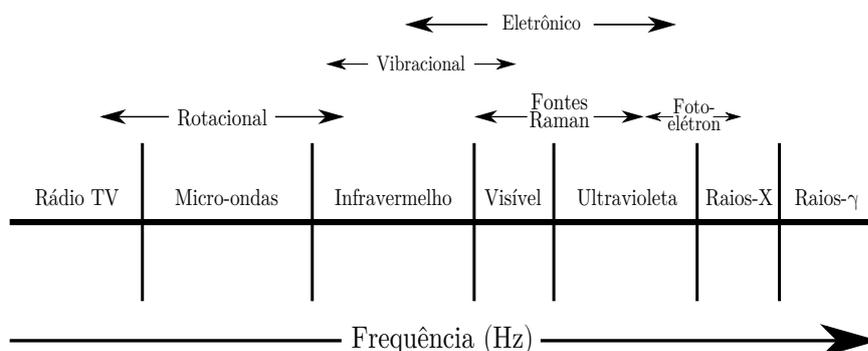
estudados.

3

TÉCNICAS EXPERIMENTAIS

A utilização de técnicas espectroscópicas proporcionou um avanço significativo na ciência de materiais, possibilitando a investigação das propriedades da matéria de forma menos invasiva e com informações precisas. Métodos experimentais de espectroscopia começaram na região mais acessível do espectro eletromagnético, onde o olho poderia ser usado como detector. Desde então, houve um enorme progresso no desenvolvimento de técnicas que permitam explorar cada faixa do espectro eletromagnético, como ilustrado na figura 3.1. Além disso, o uso de feixe de matéria permitiu a visualização de estruturas em escalas nanoscópicas, auxiliando na compreensão de como a morfologia dos materiais está conectada com suas propriedades físico-químicas. Um exemplo de destaque é a microscopia eletrônica de transmissão, que permitiu compreender como a estrutura microscópica e a organização das redes cristalinas estão conectadas com propriedades macroscópicas, tais como a magnetização e condutividade [89]. Neste trabalho, são empregadas diversas técnicas experimentais na caracterização de compostos orgânicos e pontos quânticos de carbono. Para uma melhor compreensão dos resultados que serão apresentados, este capítulo é destinado a apresentar as técnicas experimentais usadas para extrair informações e caracterizar os materiais objetos de estudo do presente trabalho.

Figura 3.1: Faixas do espectro eletromagnético



Fonte: Adaptado de Hollas [85], 2022.

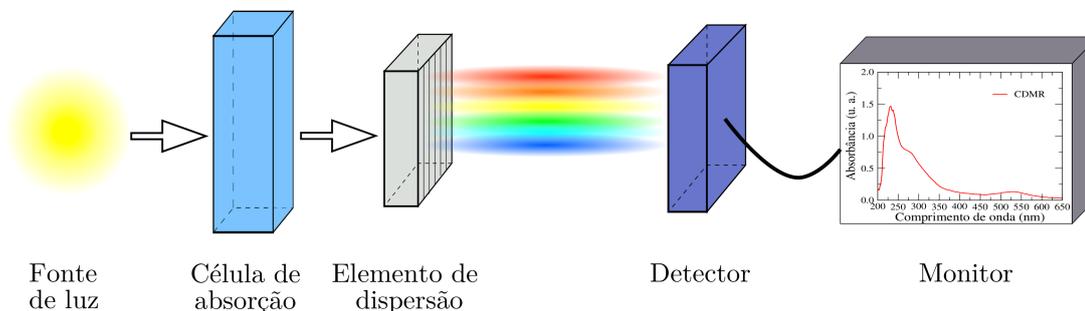
3.1 Absorção

No capítulo anterior (seção 2.1), foi discutido o fenômeno de absorção, que em suma é o processo onde um elétron usa a energia de um dado fóton para ser promovido a um estado dito excitado. Uma vez no estado excitado, o elétron retornará ao estado fundamental por meio de um processo radiativo, em que há a emissão de um fóton, ou por um processo não-radiativo, em que há a dissipação ou transferência de energia sem emissão de um fóton. As nuances desse processo foram descritas na seção 2.2.

Espectroscopia de absorção é a técnica mais amplamente empregada em todas as regiões do espectro eletromagnético [85, 83]. Para um experimento de absorção, são necessários quatro elementos: fonte de luz, célula de absorção, elemento de dispersão e detector. A fonte de luz ideal está associada a qual região do espectro eletromagnético a amostra absorve, mas de modo geral, deve apresentar uma distribuição espectral ampla, com intensidade o mais uniforme possível. Para experimentos na região do visível e infravermelho próximo (400 - 900 nm), são frequentemente utilizadas fontes de luz contendo uma lâmpada de tungstênio. Já para experimentos na região do ultravioleta próximo (200 - 400 nm), as fontes de luz contêm uma lâmpada de deutério [85, 83]. A célula de absorção, chamada usualmente de cubeta, deve permitir que a radiação da fonte consiga atravessar a amostra, e deve ser longa o suficiente para permitir absorção [85, 83]. Os ensaios de absorção realizados nos capítulos subsequentes, por exemplo, foram todos realizados com cubeta de quartzo de faces polidas, mas também há células de vidro, KBr, mica entre outros, que devem ser selecionados de acordo com a necessidade. O elemento de dispersão tem a função de separar os comprimentos de onda da luz transmitida pela amostra, e para isso pode ser usado um prisma (como fez Newton em 1664), uma grade de difração ou um interferômetro. Os equipamentos modernos, em sua maioria, são equipados com um desses dois últimos. O detector, sensível à radiação que está chegando do elemento de dispersão, pode ser um diodo de cristal, célula Golay, fotomultiplicador, foto-diodo ou até mesmo uma placa fotográfica [85, 83]. A maioria dos espectrômetros atuais usam câmeras CCD (Dispositivo de carga acoplada - *charged-coupled device*) como detector. O espectro coletado geralmente é enviado para um computador e interpretado por um programa que, além de exibir numa tela, permite a captura do dado. Em geral, é plotado um gráfico de absorbância ou porcentagem de transmitância em função do comprimento de onda ou do número de onda. A figura 3.2 ilustra os principais componentes de um experimento de

absorção.

Figura 3.2: Principais componentes de um experimento de absorção.



Fonte: Autor, 2022.

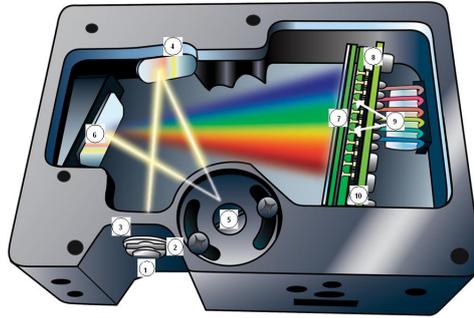
A fase em que a amostra se encontra tem muita importância em um ensaio de absorção, pois está intimamente vinculada com a resolução do espectro. Por exemplo, em espectroscopia de alta resolução, geralmente, a amostra está na fase gasosa e a baixa pressão [85]. Na fase líquida não se obtém informações sobre estrutura rotacional, e na fase sólida o movimento rotacional é extinto uma vez que as moléculas estão fixas [85]. Desse modo, ao se estudar um material deve-se escolher a faixa no espectro eletromagnético em que haja absorção e atentar-se em que fase o material deve estar para não haver perda de informação na execução da medida.

As medidas de absorção apresentadas nos capítulos subsequentes foram obtidas com espectrômetro UV-VIS USB2000 (Ocean Optics), que é um equipamento do tipo mostrado na figura 3.3. Mais detalhes desse tipo de equipamento será comentado na próxima seção.

3.2 Emissão

O aparato experimental usado na coleta do espectro de absorção é bastante semelhante com o usado para capturar o espectro de emissão, por essa razão, é que na maioria dos espectrofluorímetros é possível realizar as duas medidas. Um espectro de emissão é a distribuição dos comprimentos de onda da luz emitida por uma amostra sob excitação constante de um único comprimento de onda [9]. O espectro de emissão geralmente é apresentado como intensidade em função do comprimento de onda (medido em nm), mas em alguns casos é ilustrado como em função do número de onda (medido em cm^{-1}), isso devido a linearidade deste com a energia.

Figura 3.3: Espectrômetro. 1) conector; 2) fenda; 3) filtro; 4) espelho colimador; 5) grade de difração; 6) espelho focalizador; 7) Lente de coleta do detector L2; 8) detector.



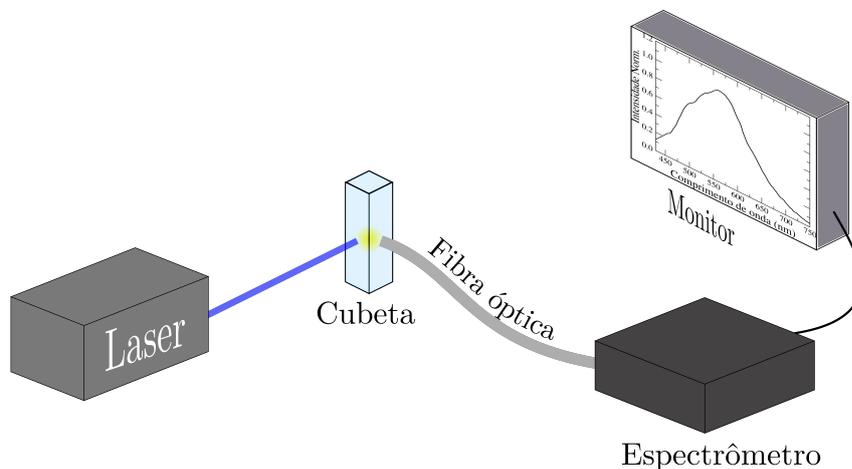
Fonte: Manual de operação espectrômetro de fibra óptica USB2000+, 2010 [90].

Um espectrofluorímetro é o equipamento utilizado para medida de emissão, que geralmente é equipado com uma lâmpada de xenônio como fonte de excitação. Essas lâmpadas apresentam alta intensidade e um espectro de emissão bastante amplo [9]. Como a fonte de luz apresenta todo um espectro de emissão, essa máquina é equipada com monocromadores para seleção tanto do comprimento de onda de excitação quanto de emissão. Os monocromadores são motorizados, o que possibilita a varredura automática de todos os comprimentos de onda [9]. A emissão é detectada por um tubo fotomultiplicador, e a informação coletada é enviada para um computador e processada por um programa que fornece o gráfico com a representação do espectro. Espectrofluorímetros também são equipados com módulos ópticos que envolvem o porta-amostra, o obturador (*shutter*) e divisor de feixe (*beam splitter*). Este último é usado a fim de obter um feixe de referência, que permita corrigir efeitos ligados a variações na intensidade da fonte de luz de excitação [9].

Outro equipamento frequentemente usado em ensaio de emissão é um espectrômetro. Esse instrumento se destaca por sua versatilidade na configuração experimental, o que é demasiadamente útil em laboratório de espectroscopia. Um espectrômetro é basicamente um módulo com nenhuma parte móvel, e em seu interior há espelhos, filtro, grade de difração e detector CCD. A luz que adentra o espectrômetro passa por uma fenda e filtro, em seguida reflete no primeiro espelho que colima o feixe para a grade de difração. O feixe decomposto é refletido por um segundo espelho em direção ao detector CCD. Na figura 3.3 tem-se um exemplo de um equipamento desse tipo. Assim como no espectrofluorímetro, os dados coletados são interpretados por programa que gera o gráfico da intensidade *versus*

comprimento de onda (ou número de onda). Na figura 3.4 tem-se um arranjo experimental típico utilizando um espectrômetro.

Figura 3.4: Configuração típica de coleta de emissão usando espectrômetro.



Fonte: Autor, 2022.

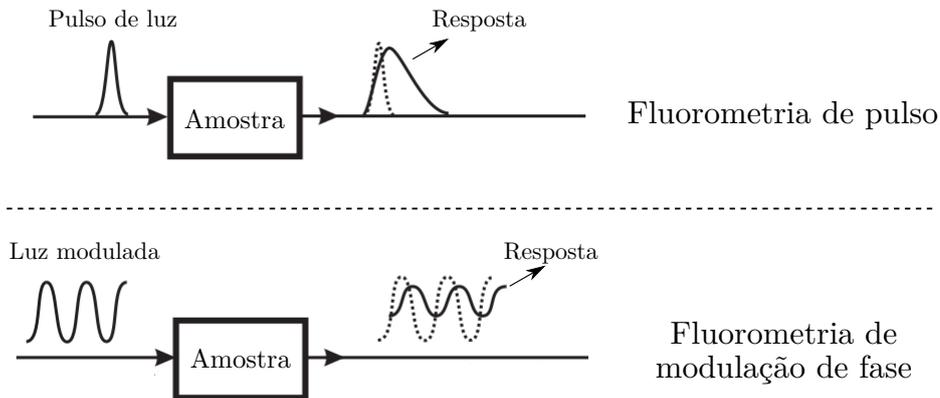
As medidas de emissão em função da excitação e tempos de vida (assunto da próxima seção) da presente tese foram adquiridas por Fluorímetro Horiba NanoLog UV-VIS-NIR, no Laboratório de Nano-Fotônica e Imagens (IF-UFAL).

3.3 Tempo de vida

Medidas de tempo de vida são fundamentais na análise da dinâmica de estados excitados, e colaboram na compreensão de processos fotofísicos, fotobiológicos e fotoquímicos [15]. O tempo médio em que a molécula permanece no estado excitado, chamado de tempo de vida (como visto na seção 2.2.1) geralmente é medido a partir de técnicas resolvidas no tempo como fluorimetria de pulso e fluorimetria de modulação de fase [15]. Na fluorimetria de pulso, a amostra é excitada por um curto pulso de luz e a sua fluorescência é registrada como função do tempo. Na fluorimetria de modulação de fase, a amostra é excitada por uma luz modulada senoidalmente em alta frequência [15]. A figura 3.5 ilustra os princípios dessas duas técnicas. Essas duas técnicas são teoricamente equivalentes, sendo que a fluorimetria de modulação de fase trabalha no domínio da frequência, e a fluorimetria de pulso no domínio do tempo. Essa última se destaca por permitir a visualização do decaimento da fluorescência, enquanto que a verificação visual da primeira não é tão trivial, por envolver uma curva de mudança de fase *versus* frequência [15]. Será dada

mais atenção a fluorimetria de pulso por ser a técnica utilizada nas medidas de tempo de vida apresentadas nos próximos capítulos.

Figura 3.5: Princípios da fluorimetria resolvida no tempo. A linha contínua mais a esquerda, antes de atravessar a amostra, é a radiação de excitação e a linha pontilhada mais a direita é a respectiva fluorescência.



Fonte: Adaptação de Valeur e colaboradores, 2012. [15]

No caso mais simples, o decaimento da intensidade de fluorescência como resposta ao pulso de luz absorvido pela amostra corresponde a uma monoexponencial, no qual a constante de tempo é o tempo de vida do estado excitado [15]. Em muitos casos, esse decaimento é melhor representado por uma soma de exponenciais, que indica que múltiplos estados foram excitados. O decaimento exponencial da intensidade de fluorescência $I(t)$ pode ser matematicamente escrito como,

$$I(t) = \alpha e^{-t/\tau}. \quad (3.1)$$

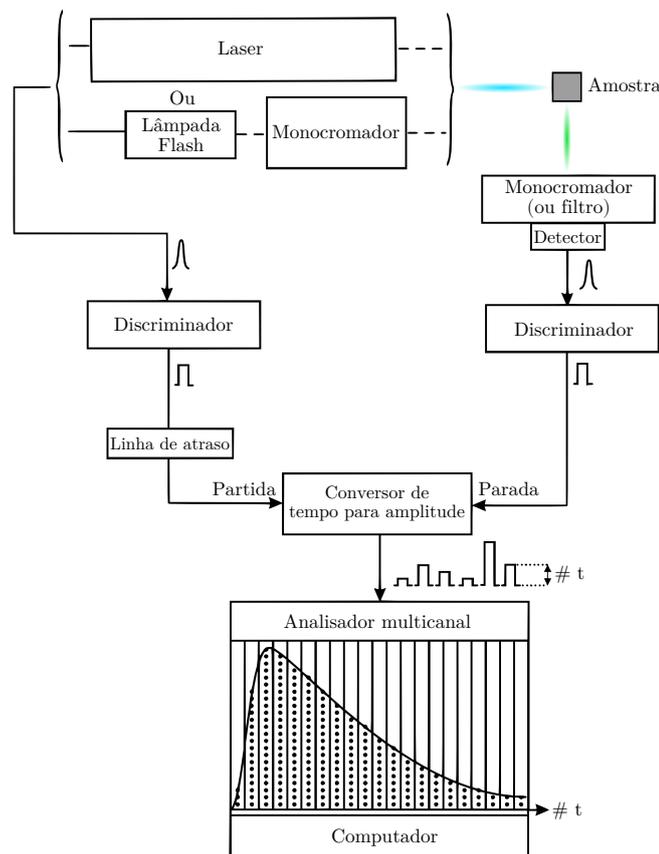
Onde τ é o tempo de decaimento (ou tempo de vida) e α é o fator pré-exponencial ou amplitude [15]. Nos cenários onde o decaimento é de fato monoexponencial, α é a intensidade no tempo $t = 0$ [9]. Para um decaimento multiexponencial com n componentes, a intensidade $I(t)$ é escrita como,

$$I(t) = \sum_{i=1}^n \alpha_i e^{-t/\tau_i}. \quad (3.2)$$

No caso onde o decaimento da fluorescência é multiexponencial, o tempo de vida (ou tempo de decaimento médio) pode ser definido como [15]:

$$\langle \tau \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n \alpha_i \tau_i}{\sum_{i=1}^n \alpha_i}. \quad (3.3)$$

Figura 3.6: Diagrama esquemático de um instrumento convencional de contagem de fótons.



Fonte: Adaptação de Valeur e colaboradores, 2012. [15]

A fluorometria de pulso é a técnica mais popular para determinação de tempo de vida, se destacando pelo baixo custo (quando comparado com concorrentes) e confiabilidade [15, 9]. O princípio básico reside no fato de que a probabilidade de detecção de um único fóton no tempo t , após um pulso de excitação, ser proporcional a intensidade da fluorescência nesse instante. Após um grande número de pulsos de excitação, cronometrando e registrando os fótons individuais, é possível reconstruir a curva de decaimento [15]. Na figura 3.6, tem-se um esquema de um instrumento convencional de contagem de fótons. A fonte de excitação pode ser um lâmpada de pulsada (*flash*) ou um laser, e ela é quem possui a grande importância nesse tipo de experimento, pois suas características influenciam diretamente na qualidade dos dados. Associado com o pulso óptico, é gerado um pulso elétrico (pulso de partida), que é enviado para a entrada inicial do conversor de

tempo para amplitude (CTA). Ao mesmo tempo, a amostra é excitada pelo pulso óptico e emite a fluorescência. A ótica é ajustada de tal modo que o fotomultiplicador não detecte mais do que um fóton por pulso de excitação [15]. O pulso elétrico correspondente (pulso de parada) é enviado para a entrada de parada do CTA. Este último gera um pulso de resposta cuja amplitude é proporcional ao tempo de atraso entre os pulsos de partida e de parada. Após um grande número ciclos de excitação e detecção, um histograma de alturas de pulso pode ser construído e representa a curva de decaimento da fluorescência [15]. Naturalmente, quanto maior o número desses eventos, melhor será a precisão da curva de decaimento. Essa técnica apresenta diversas vantagens como alta sensibilidade, excelente faixa dinâmica e linearidade, e estatísticas bem definidas (distribuição de Poisson) permitindo a ponderação adequada de cada ponto na análise dos dados [15].

3.4 Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho é muito usada por químicos para investigar quais grupos funcionais estão presentes em um determinado composto ou para identificar uma amostra já conhecida. Ao longo de sua história, a técnica de espectroscopia no infravermelho teve grandes avanços e se consolidou como uma ferramenta de análise de diversos materiais nas mais distintas áreas, como química, medicina, agricultura entre outras.

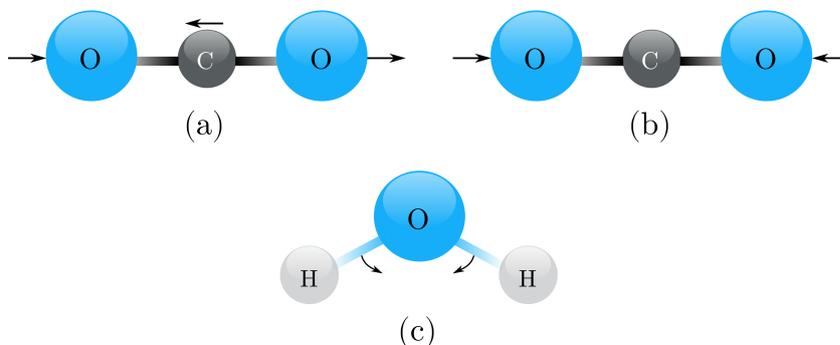
Radiação no infravermelho refere-se à região no espectro eletromagnético compreendida entre a região visível e a região micro-ondas, cobrindo assim uma faixa entre 800 nm e 1 mm (ver figura 3.1) [83, 1]. Entretanto, para fins práticos de identificação de modos vibracionais, restringe-se a faixa compreendida entre os comprimentos de onda 2500 e 25000 nm, ou como é frequentemente usado, entre os números de onda 4000 e 400 cm^{-1} . A preferência em expressar as unidades em número de onda advém do fato deste ser proporcional à energia da radiação [83].

A espectroscopia no infravermelho explora o fato de que os compostos que possuam ligações covalentes, sejam orgânicos ou não, absorvem luz na região do infravermelho. Essa luz absorvida por uma molécula orgânica é convertida em energia de vibração/rotação molecular, ou seja, aumenta as amplitudes dos movimentos vibracionais das ligações das moléculas, uma vez que as frequências absorvidas correspondem às frequências vibracionais naturais da referida molécula [1, 83]. Sob a ótica da mecânica quântica, ao absorver

luz no infravermelho, a molécula sai de um estado vibracional fundamental para um estado vibracional de maior energia, e o Hamiltoniano do sistema pode ser construído com um potencial do tipo oscilador harmônico [85, 91]. Em uma molécula diatômica, por exemplo, é possível fazer uma analogia com o sistema massa mola e aplicar a lei de Hooke, permitindo determinar o potencial e estimar os níveis de energia. Como em outros processos de absorção, o processo de absorção no infravermelho é quantizado, porém o espectro resultante apresenta bandas de absorção ao invés de linhas. Isso se justifica devido a excitação simultânea de vibrações e rotações que levam ao surgimento de estrutura fina não resolvida, culminando no aparecimento de bandas largas [83]. As intensidades das bandas podem ser expressas ou por absorbância ou por transmitância, sendo essa última usualmente mais adotada.

Há dois tipos principais de vibração molecular, estiramento e dobramento. Uma vibração de estiramento é o movimento que ocorre ao longo do eixo da ligação, de modo que a distância interatômica oscile, aumentando e diminuindo, ver figura 3.7(a) e (b). Por outro lado, a vibração de dobramento consiste na variação nos ângulos entre as ligações que possuam um átomo em comum ou movimento de um grupo de átomos em relação ao restante da molécula, sem movimento dos átomos do grupo entre si [1], figura 3.7 (c). Somente as ligações cujo o momento de dipolo varia como função do tempo absorvem radiação no infravermelho [83]. O campo elétrico oscilante, produzido pelo dipolo oscilante, acopla a vibração da molécula com o campo elétrico da radiação eletromagnética [1, 83].

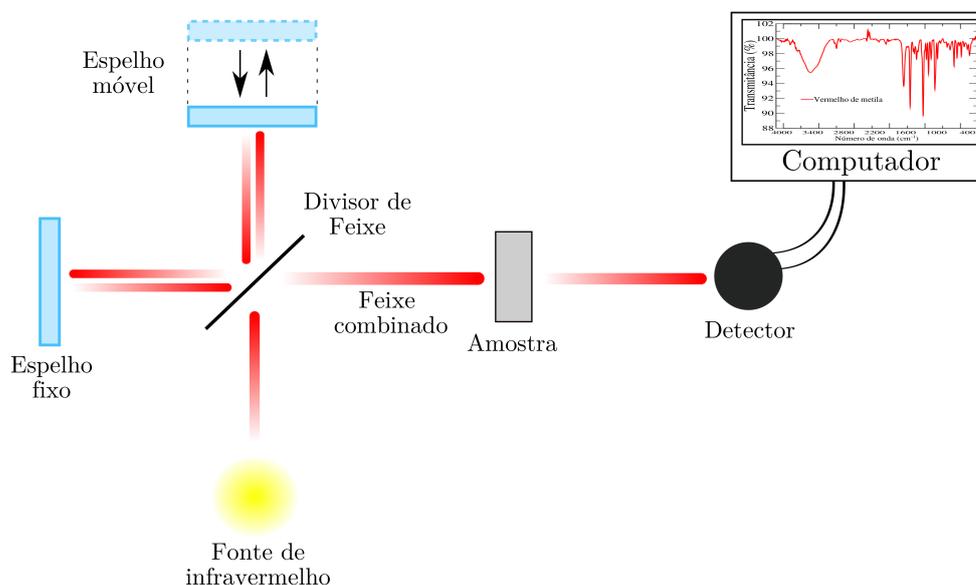
Figura 3.7: Tipos de vibração molecular. (a) Estiramento assimétrico, (b) estiramento simétrico e (c) dobramento. Estiramento simétrico é não ativo para infravermelho, uma vez que não produz variações no dipolo elétrico da molécula [1].



Fonte: Autor, 2022

O equipamento para aquisição do espectro de absorção no infravermelho de um composto chama-se espectrômetro de infravermelho. Há dois tipos desse espectrômetro: ins-

Figura 3.8: Diagrama esquemático de um espectrômetro de infravermelho de transformada de Fourier.



Fonte: Autor, 2022

trumentos dispersivos e de transformada de Fourier (FTIR). Ambos os equipamentos produzem espectros na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , com resultados idênticos para o mesmo composto. Contudo, o FTIR gera o espectro de forma mais eficiente. Dado que a grande maioria dos espectrômetros de infravermelho atuais são de transformada de Fourier, limitaremos a atenção a este. O espectrômetros de infravermelho de transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier Transform Infrared Spectrometer*) usa um interferômetro para manipular a radiação provinda da fonte de luz. A fonte de luz emite radiação em todos os comprimentos de onda do infravermelho. A luz vinda da fonte passa por um divisor de feixes, posicionado em um ângulo de 45° em relação a fonte de luz. Ao passar pelo divisor de feixe, parte da luz é desviada em 90° para um espelho fixo, e outra parte é transmitida para um espelho móvel, figura 3.8. Ao refletir nos espelhos, os feixes tornam a se unir no divisor de feixe, porém, o deslocamento do espelho móvel varia a trajetória do feixe transmitido de tal forma que, ao se encontrarem, os feixes sofrem interferências tanto construtivas como destrutivas. Esse feixe combinado gera um interferograma que contém os comprimentos de onda vindos da fonte. O feixe combinado, então, atravessa a amostra que absorve de forma simultânea todos os comprimentos de onda. O sinal do interferograma que chega ao detector contém as informações sobre a quantidade de energia absorvida pela amostra. Então, no computador, um processo matemático chamado

transformada de Fourier converte o interferograma, que está no domínio do tempo, em um ponto espectral no domínio da frequência, recuperando assim a informação da absorção e desenhando o espectro infravermelho em termos da transmitância (ou absorbância) em função do número de onda [1, 83]. Na figura 3.8 tem-se o esquema de um equipamento FTIR.

A interpretação de espectro de FTIR não segue regras rígidas. Uma elucidação completa de todas as vibrações de uma molécula complexa não é viável, devido em parte às inúmeras interações das vibrações dentro da molécula [1]. Contudo, muita informação pode ser extraída do espectro FTIR a partir da comparação deste com espectros já bem resolvidos de outros compostos.

3.5 Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X

As propriedades de superfície e interface são fundamentais na fabricação e performance de materiais avançados, e a química da superfície influencia em fatores como taxa de corrosão, atividade catalítica, molhabilidade entre outros [92, 93]. Nesse contexto, se destaca a espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS, do inglês *X-ray photoelectron spectroscopy*), uma das técnicas mais utilizadas para análise de superfícies.

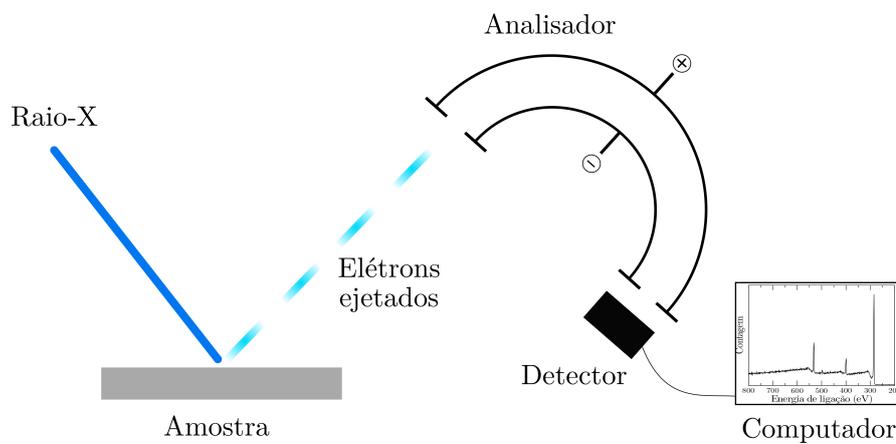
A espectroscopia de fotoelétrons de raios-X é baseada no efeito fotoelétrico, que é a emissão de elétrons quando a luz incide sobre uma matéria. No XPS, a amostra é bombardeada por fótons de raio-X que são capazes de arrancar elétrons, os quais são chamados de fotoelétrons. Parte dos elétrons move-se através do sólido para a superfície, sofrendo vários processos de espalhamento e perda de energia. Os que são inelasticamente espalhados são os responsáveis pela criação da radiação de fundo no espectro [92]. Os elétrons que são emitidos da superfície possuem uma energia cinética dada por $h\nu - E_L - \Phi_A$, onde $h\nu$ é a energia da radiação, E_L é a energia de ligação do elétron e Φ_A é a função trabalho da amostra [85, 94, 93, 92]. A quantidade que é experimentalmente medida é energia cinética do elétron E_k , obtida considerando-se também a função trabalho Φ_D do detector. A energia de ligação E_L é o parâmetro que identifica o elétron tanto em termos de seu elemento de origem, quanto do nível de energia atômica [92]. A relação que envolve os parâmetros em uma medida de XPS é dada por,

$$E_L = h\nu - E_k - \Phi_D \quad (3.4)$$

O sinal recebido pelo detector é gravado em um gráfico que chama-se espectro de XPS. O espectro de XPS é um gráfico com o número de elétrons detectados por unidade de tempo em função ou da energia de ligação ou da energia cinética E_k . Cada elemento apresenta um conjunto de picos XPS em valores característicos de energia de ligação, o que identifica cada elemento existente na superfície da amostra [94]. Na literatura há livros inteiros dedicados a apresentar espectros XPS característicos dos materiais [94, 95]

Os principais componentes de um espectrômetro de fotoelétrons de raios-X incluem uma fonte de raios-X, câmara de aço inoxidável de ultra-alto vácuo, uma lente de coleção de elétrons, um analisador de energia de elétron, e sistema de detecção de elétrons. O equipamento é conectado a um computador onde são gravados os dados. Na figura 3.9, tem-se um esquema de instrumento de XPS.

Figura 3.9: Diagrama esquemático de um espectrômetro de fotoelétrons de raios-X.



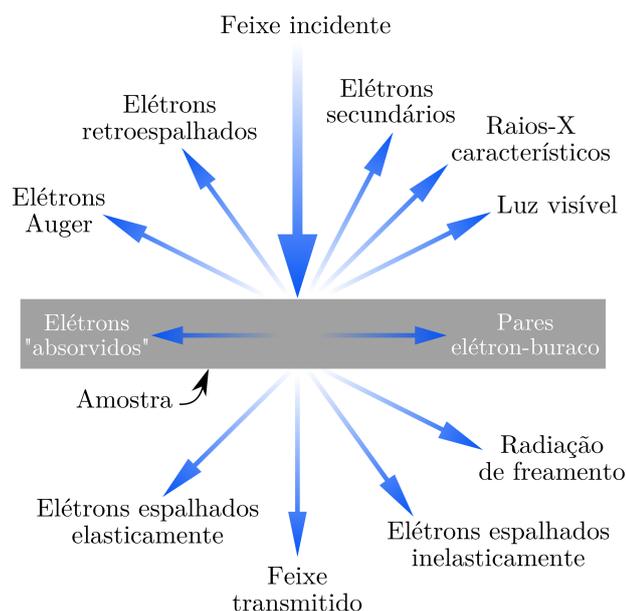
Fonte: Autor, 2022.

3.6 Microscopia eletrônica de Transmissão

O microscópio eletrônico de transmissão (MET) é uma das ferramentas mais eficientes e versáteis na caracterização de nanomateriais, possuindo um poder de resolução que alcança a escala atômica. O MET foi desenvolvido para superar a limitação de resolução das imagens de microscópios convencionais, que está vinculado ao comprimento de onda da luz visível. Modos alternativos de uso do MET permitem analisar modulações

na orientação do cristal, estrutura eletrônica, identidade química e mudança de fase eletrônica induzida na amostra, além de imagem baseada em absorção regular [96, 89, 97]. Essa técnica pode ser aplicada em pesquisa de diagnósticos de câncer e de virologia, ciência de materiais, nanotecnologia, informática e indústrias eletrônicas para caracterização estrutural [96, 98, 99].

Figura 3.10: Sinais gerados quando um feixe de elétrons de alta energia interage com uma amostra fina. A maioria desses sinais podem ser detectados e com isso, serem usados para extrair mais informações além da imagem formada [2].

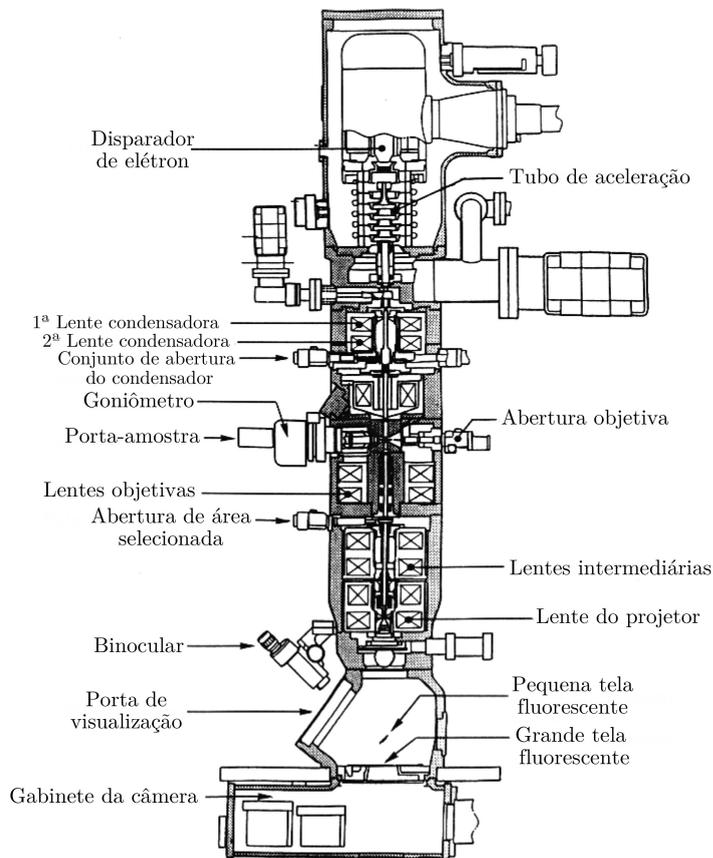


Fonte: Adaptada de Williams et. al, 2009 [2]

Para ir além da limitação do comprimento de onda da luz visível, o MET explora a natureza ondulatória dos elétrons, utilizando um feixe de elétrons para irradiar a amostra. De acordo com Louis de Broglie, que teorizou o elétron com características ondulatórias, o comprimento de onda do elétron é relacionada com a sua energia. Desse modo, para um elétron com energia 100 keV, o comprimento de onda λ correspondente seria 0,004 nm, menor que o diâmetro de um átomo [2]. Elétrons são um tipo de radiação ionizante, e uma das vantagens em usar esse tipo de radiação é a produção de uma gama de sinais secundários, como ilustrado na figura 3.10. Isto permite extrair outras informações da amostra, como por exemplo, espectro de raio-X. Assim, o MET consegue não apenas obter as características morfológicas da amostra, mas também dados da composição química. O feixe de elétrons precisa ser acelerado para atravessar a amostra, e o comprimento de onda correspondente é inversamente proporcional a sua energia cinética [2]. Em outras

palavras, quanto maior a diferença de potencial aplicada para acelerar os elétrons menor será o comprimento de onda.

Figura 3.11: Diagrama de um microscópio eletrônico de transmissão.



Fonte: Fultz e colaboradores, 2008 [100]

Um microscópio eletrônico de transmissão típico é formado por três componentes: sistema de iluminação, lente objetiva, e o sistema de imagem [2]. O sistema de iluminação é composto por um disparador de elétron e lentes condensadoras, e sua função é levar os elétrons da fonte até a amostra. Esse sistema pode ser operado no modo feixe paralelo, que é usado principalmente para imagens de MET e difração de área selecionada, e no modo feixe convergente, empregado para imagens de varredura, análise via espectrometria de raios-X e elétrons, e difração de elétrons de feixe convergente [2]. Na lente objetiva e suporte de amostra é onde sucedem todas as interações feixe-amostra, e ocorrem a criação de várias imagens e padrões de difração que são subsequentemente ampliadas para visualização. Essas são as duas operações fundamentais do MET [2]. O sistema de imagem usa várias lentes para ampliar a imagem ou padrão de difração produzido pela lente objetiva e focalizá-la na tela de visualização, ou para visualização em computador,

no detector ou na CCD [2, 96]. Na figura 3.11, tem-se um esquema das partes que formam um MET. Outro aspecto que vale ressaltar é a preparação da amostra. Isso é um assunto bastante amplo, em que há livros dedicados apenas a este tópico [2, 97]. Mas de modo geral, a amostra ideal para o MET deve ser transparente para elétrons, uniformemente fina, estável sob o feixe de elétrons e no ambiente de laboratório, condutora e não magnética [2].

3.7 Varredura Z resolvida no tempo

Consolidada na investigação de fenômenos ópticos não-lineares, a técnica de varredura Z foi introduzida em 1989 por Sheik-Bahae e colaboradores [101]. Essa técnica ganhou bastante atenção devido a simplicidade do aparato experimental e alta sensibilidade na determinação do índice de refração não-linear [102, 103]. A técnica de varredura Z é fundamentada na distorção espacial de um feixe Gaussiano, que se relaciona com a variação do índice de refração do meio avaliado. Essa informação é obtida a partir do monitoramento da transmitância de um meio não-linear em função da posição da amostra (z), medida em relação ao plano focal [101]. Para tal, é necessário focalizar o feixe Gaussiano por meio de uma lente, enquanto a posição da amostra é variada ao longo da direção de propagação do feixe (definida como eixo z), em torno da posição focal. Um detector posicionado em um ponto distante da posição focal ($z = 0$), chamado de campo distante, é usado para medir a variação de intensidade da luz transmitida pela amostra $I(z)$, que passa através de uma abertura finita S . Para afastar a contribuição dos efeitos lineares, $I(z)$ é dividido pela intensidade do feixe quando a amostra encontra-se distante do ponto focal $I(z \rightarrow \infty)$. Desse modo, a transmitância normalizada em função da posição é definida como [101, 104],

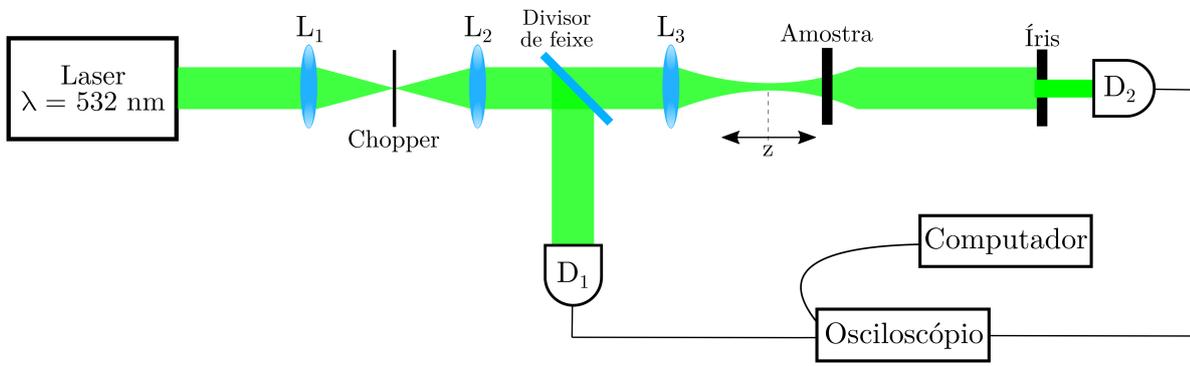
$$T_N = \frac{I(z)}{I(z \rightarrow \infty)}. \quad (3.5)$$

A técnica de varredura Z também pode ser empregada para investigar efeitos absorptivos, e para tal, a abertura S , que geralmente é uma íris, deve ser completamente aberta, permitindo assim que a técnica seja sensível à absorção não linear [104].

A técnica de varredura Z resolvida no tempo de feixe único, proposta por Oliveira e colaboradores [105], é uma extensão da técnica de varredura Z. Para esta última, a maioria

da medidas de feixe único é realizada em região espectral onde a amostra é transparente, desse modo a frequência do laser está distante de qualquer ressonância do meio, e para as medidas é necessário uma luz de alta intensidade [105]. No caso da varredura Z resolvida no tempo, as medidas são realizadas com laser com comprimento de onda próximo da região de absorção da amostra. A detecção de sinal resolvido no tempo pode melhorar a sensibilidade da varredura Z pela eliminação de qualquer efeito linear parasita, bastando para isso que a amostra apresente uma resposta lenta (milissegundos) [105].

Figura 3.12: Esquema do aparato experimental da técnica de varredura Z resolvida no tempo. L_1 , L_2 e L_3 são lentes. D_1 e D_2 são detectores.

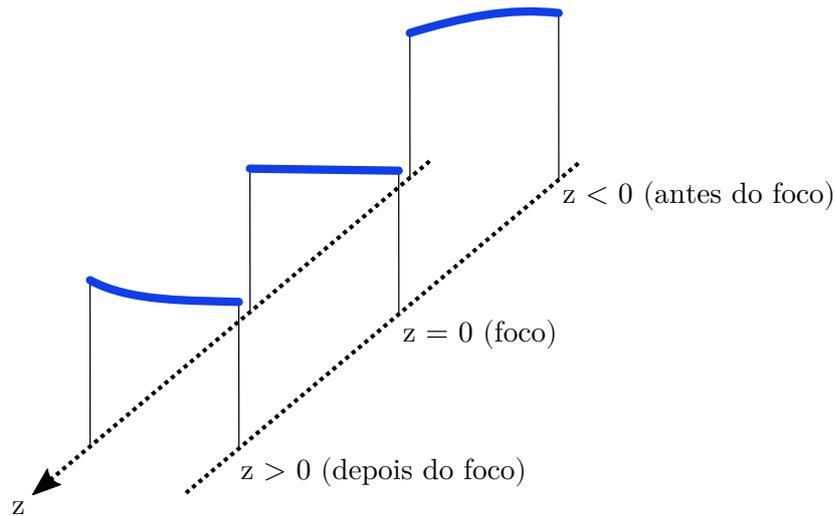


Fonte: Autor, 2023.

A técnica de varredura Z resolvida no tempo consiste em variar a posição da amostra, ao longo do eixo z , em torno da posição focal de uma lente que é atravessada por um laser pulsado com perfil espacial Gaussiano. Nesse caso, é utilizado um modulador mecânico, *chopper*, para gerar um perfil de intensidade de luz de onda quadrada, com intervalos de tempo regulares. A figura 3.12 exibe o esquema do aparato experimental, onde D_1 e D_2 são detectores, o primeiro é o sinal de referência e o segundo mede as variações do feixe transmitido pela amostra. E L_1 , L_2 e L_3 são as lentes. Durante o período em que o *chopper* permite a passagem de luz, inicialmente ($t = 0$), efeitos lineares aparecem instantaneamente e os relacionados ao aquecimento da amostra não tem tempo suficiente para se manifestarem [106]. Isso está associado ao fato de o acúmulo de calor, nesse primeiro momento, não atingir um valor mínimo para que haja alteração no índice de refração da amostra. Com a evolução do tempo a amostra aquece e/ou estados excitados tornam-se populados e efeitos não-lineares começam a se manifestar [105]. A amostra necessita de um tempo característico τ_c para alcançar o estado de equilíbrio. Após esse tempo, a transmitância apresenta variações associadas à mudança no índice de refração

da amostra, devido à conversão da radiação absorvida em calor. Assim, o sinal que chega ao detector apresenta variação com o tempo. O sistema de aquisição mede a intensidade no tempo $t = 0$ e em $t = \tau (\gg \tau_c)$, e avalia a razão $T(z) = I(z, \tau)/I(z, 0)$, tal que o efeito linear pode ser eliminado em cada posição z [105].

Figura 3.13: Transmitância em função do tempo na posição antes do foco ($z < 0$), no foco ($z = 0$) e após o foco ($z > 0$).



Fonte: Autor, 2023.

Com a técnica de varredura Z resolvida no tempo, a sensibilidade a distorções não-lineares da frente de onda é na ordem de $\lambda/10^4$ [105]. A figura 3.13 ilustra a transmitância em função do tempo na posição antes do foco ($z < 0$), no foco ($z = 0$) e após o foco ($z > 0$). Esse tipo de medida é bastante usado para avaliar fenômenos de origem térmica ou cuja a escala de tempo ocorra na escala de milissegundos. Nesta tese será dada atenção aos efeitos térmicos, como a formação de lente térmica.

3.7.1 Modelo de lente térmica

O surgimento de um perfil de índice de refração radial, devido ao aumento de temperatura induzido pelo laser, distorce a frente de onda de maneira similar a uma lente. Por esta razão, o fenômeno é conhecido como efeito de lente térmica [102, 107, 108]. Quando uma amostra é atravessada por laser de perfil Gaussiano, processos de decaimento de não-radiativo provocam um aumento de temperatura que se difunde temporal e radialmente, $\Delta T(r, \tau)$. No momento inicial, o perfil de temperatura é similar ao perfil Gaussiano do feixe de excitação, e com o aumento do tempo de exposição a propagação de calor alcança

regiões da amostra não iluminadas, alargando o gradiente de temperatura [107]. Para evitar efeitos de borda, a amostra possui um diâmetro muito maior que o do feixe de luz usado [102, 107]. A temperatura aumenta gradativamente até atingir o estado estacionário em $\tau \gg t_c$, sendo t_c o tempo característico de formação de lente térmica dada por:

$$t_c = \frac{w^2}{4D}, \quad (3.6)$$

onde $w = w_0 \sqrt{1 + (z/z_c)^2}$ é a cintura do feixe na posição z em que a amostra se encontra, com w_0 sendo a cintura do feixe na posição do foco da lente usada no experimento, definida como $z = 0$. z_c é o parâmetro confocal do feixe e D é a difusividade térmica da amostra.

O aumento de temperatura induz uma mudança no caminho óptico gerado pelo gradiente transversal de índice de refração, o que leva a um deslocamento da fase do feixe [107]. A mudança no caminho óptico está intimamente associada a evolução temporal e radial do aumento de temperatura, desse modo, o deslocamento da fase é determinada pelo monitoramento da variação de intensidade da porção central do feixe no campo distante (detector D_2 na figura 3.12), que é tratado como uma aberração [107, 109]. Dentre os modelos teóricos que descrevem o efeito de lente térmica, o proposto do Sheldon e colaboradores é o que apresenta uma melhor descrição do fenômeno produzindo resultados em consonância com dados experimentais [109]. De acordo com esse modelo [109, 102, 107, 110], a intensidade da porção central do feixe $I(z, \tau)$ transmitida pela amostra, em campo distante, pode ser analiticamente descrita pelas equações:

$$\frac{I(z, \tau \rightarrow \infty)}{I(z, \tau = 0)} = \left[1 - \frac{\theta}{2} \tan^{-1} \left(\frac{2\gamma}{3 + \gamma^2} \right) \right]^2 \quad (3.7)$$

e

$$I(z, \tau) = I(z, \tau = 0) \left\{ 1 - \frac{\theta}{2} \tan^{-1} \left[\frac{2\gamma}{3 + \gamma^2 + (9 + \gamma^2)t_c/2\tau} \right] \right\}^2. \quad (3.8)$$

Onde $\gamma = z/z_c$, com z_c sendo o parâmetro confocal do feixe. τ é o tempo de exposição da amostra durante cada pulso quadrado. θ corresponde a diferença de fase no feixe induzida pelo efeito de lente térmica entre $r = 0$ e $r = w_0\sqrt{2}$, dado por [103],

$$\theta = -\frac{P_{abs}}{\kappa\lambda} \frac{dn}{dT} \quad (3.9)$$

onde λ é o comprimento da luz incidente, dn/dT é o coeficiente termo-óptico, e κ é a condutividade térmica, escrita como,

$$\kappa = \rho c_p D. \quad (3.10)$$

Com ρ sendo a densidade da amostra, c_p o calor específico à pressão constante e D a difusividade térmica. P_{abs} é a potência de excitação absorvida, dada por,

$$P_{abs} = P_i [1 - e^{-\alpha l_0}], \quad (3.11)$$

onde P_i é a potência de incidência do feixe, α é o coeficiente de absorção para o comprimento de onda de excitação e l_0 é a espessura da amostra.

A magnitude do efeito de lente térmica é sensível à posição z da amostra, medido em relação a localização da cintura do feixe, $z = 0$. Com isso em mente, Sheldon e colaboradores mostraram que o efeito é otimizado quando a mostra encontra-se $\sqrt{3}z_c$ a frente ($z > 0$) ou atrás ($z < 0$) da cintura do feixe [109]. A partir do ajuste dos dados experimentais obtidos de medidas de varredura Z resolvida no tempo, com as equações 3.7 e 3.8, é possível determinar os parâmetros livres θ e t_c .

Nos próximos capítulos, serão apresentados os resultados dos trabalhos que compõem o presente texto. Em cada capítulo será utilizado algumas das técnicas discutidas no corrente capítulo, que foram fundamentais na extração de informações e conhecimento das propriedades dos materiais avaliados.

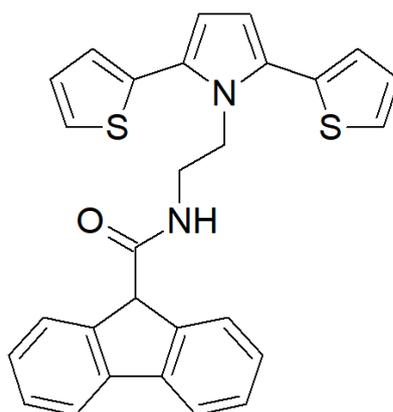
PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DO MONÔMERO DE TIOFENO-PIRROL-TIOFENO FUNCIONALIZADO COM FLUORENO

A síntese de polímeros π -conjugados inéditos está alimentando avanços em diversas aplicações tecnológicas no campo dos diodos emissores de luz, transistores, sensores fotovoltaicos, processamento e armazenamento de dados [111, 112, 113, 114, 115]. Outro aspecto que complementa o crescente interesse nesses sistemas π -conjugados são as sínteses com baixo custo, fácil funcionalização, boa integração com dispositivos eletrônicos, mudança reversíveis ou constância de cor com baixas diferenças de potencial, elevado contraste óptico nas regiões do visível e infravermelho [116, 117, 32]. A síntese de novos materiais com diferentes grupos funcionais na estrutura do polímero tem sido um dos principais objetivos dos pesquisadores, devido a possibilidade de aperfeiçoamento das propriedades eletroquímicas e espectroeletroquímicas [118]. Nesse cenário, muita atenção se tem dado a alguns grupos de polímeros condutores tais como, politiofenos, polipirroles e polianilinas [119].

Os polímeros condutores de polipirroles são de particular interesse devido à alta condutividade que apresentam, além de estabilidade no estado oxidado, características particulares de redução, simplicidade na produção e acessibilidade aos monômeros iniciais

(pirroles) [119]. Por outro lado, os politiofenos exibem alta condutividade e são mais estáveis [119]. De modo geral os polipirroles, politiofenos e seus derivados apresentam pequeno *band gap*, alto contraste óptico e eletrocromismo multicolor, isso os fazem serem úteis como camadas ativas em dispositivos eletrônicos [116]. Assim sendo, é de bastante interesse produzir compostos poliméricos contendo fragmentos de pirrol e tiofeno, e nesse contexto surge os derivados de poli(2,5-ditienilpirrol), um polímero condutor π -conjugado com grande potencial de aplicações optoeletrônica devido as suas propriedades multicromáticas, alta estabilidade química e eletroquímica, e métodos de síntese relativamente fáceis [119, 116]. O chamado N-funcionalizado 2,5-ditienilpirrol (SNS) pode ser modificado pela introdução de grupos funcionais através do átomo de nitrogênio no anel pirrol da unidade do SNS [116], e isso está atrelado a alta reatividade de sistemas π -conjugados estendidos.

Figura 4.1: Fórmula estrutural molecular do SNSFCA



Fonte: Autor, 2021.

No presente capítulo, serão analisadas as propriedades espectroscópicas do *N*-(2-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)ethyl)-9H-fluorene-9-carboxamide (SNSFCA) (figura 4.1), uma molécula inédita cedida pela Prof^a Dra Adriana S. Ribeiro, do laboratório de eletroquímica do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. A síntese de sistemas π -conjugado com a introdução de fluoreno na cadeia principal do SNS pode gerar materiais multifuncionais com propriedades eletrocromáticas e fluorescente. Nesse contexto foi sintetizado o SNSFCA, um polímero no qual o SNS está ligado ao ácido fluoreno-9-carboxílico (FCAc), que possui um substituinte de remoção de elétrons. Nas próximas seções, serão exploradas as propriedades fluorescentes deste composto, com ênfase em efeitos solvatocrômicos. Os detalhes sobre o processo de síntese do composto e da caracterização de sua estrutura molecular podem ser encontrados no anexo B [22].

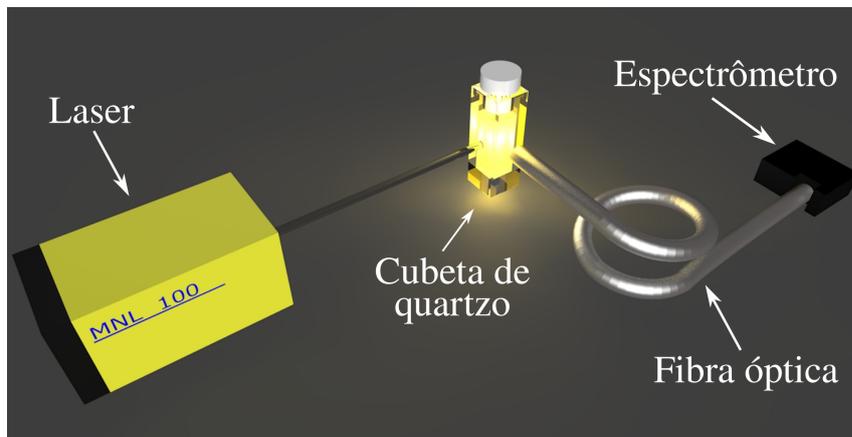
4.1 Aparato experimental e metodologia

As características luminescentes do SNSFCA foram exploradas com excitação das amostras por laser de nitrogênio pulsado MNL-103 PD (LTB Lasertechnik Berlim), com comprimento de onda em 337 nm, com pulsos de 3 ns e taxa de repetição de 30 Hz. Os espectros de emissão foram capturados com espectrômetro UV-VIS USB2000 (Ocean Optics). A figura 4.2 ilustra o aparato experimental. Para garantir o posicionamento da fibra óptica e da cubeta, foram fabricadas peças em impressão 3D, detalhes do aparato pode ser verificado no Anexo A. As amostras constituíam-se de soluções de SNSFCA diluídos em clorofórmio (CHCl_3) a uma concentração de 0,5 mg/mL. Para o estudo solvatocrômico, é mantida a concentração e variado apenas o solvente. Em um procedimento comum de captura do espectro de emissão, a amostra com a concentração supracitada é inserida em uma cubeta de quartzo (1 mm). Foi usada um lente convergente de foco 5 cm para focalizar o feixe laser e aumentar assim a intensidade de emissão. A amostra foi posicionada no foco da lente convergente e a luz emitida foi capturada com o auxílio de uma fibra óptica, posicionada perpendicularmente à direção do laser incidente. Com essa configuração montada, a leitura do espectro é interpretada por um *software* e exibida na tela de um computador onde é possível fazer ajustes a fim de melhorar a qualidade do sinal. Para a captura do espectro de absorção, foi usada uma fonte luz branca DH2000 (Ocean Optics), equipada com lâmpadas de tungstênio e deutério. Com auxílio de fibras ópticas, as luzes incidente e a transmitida pela amostra foram registradas em um espectrômetro UV-VIS USB2000 (Ocean Optics).

4.2 Propriedades Espectroscópicas

A família dos polifluorenos é bastante conhecida na literatura devido a sua ampla gama de aplicações e também por possuir forte emissão entre 400 e 500 nm [120, 121]. Embora haja poucos trabalhos explorando suas características luminescentes, já foi reportado que filmes de FCAc apresentam boa emissão no azul [122, 123]. Desse modo, espera-se que o monômero SNSFCA possua propriedades fluorescentes. Os materiais de partida para a síntese do SNS (*N*-(2-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)ethyl)-9H-fluorene-9-carboxamide) são 1,4-di(thiophen-2-yl)butane-1,4-dione e 2-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)ethanamine. Ambos são sintetizados pelo grupo de pesquisa liderado

Figura 4.2: Ilustração do aparato experimental usado para explorar as propriedades luminescentes do SNSFCA.



Fonte: Autor, 2021.

pela Prof^ª Dra Adriana S. Ribeiro, e uma descrição da rota utilizada tanto dos materiais de partida quanto do SNSFCA podem ser encontradas em trabalhos publicados do grupo [32, 22]. As peculiaridades luminescente desse material serão apresentadas nas seções a seguir.

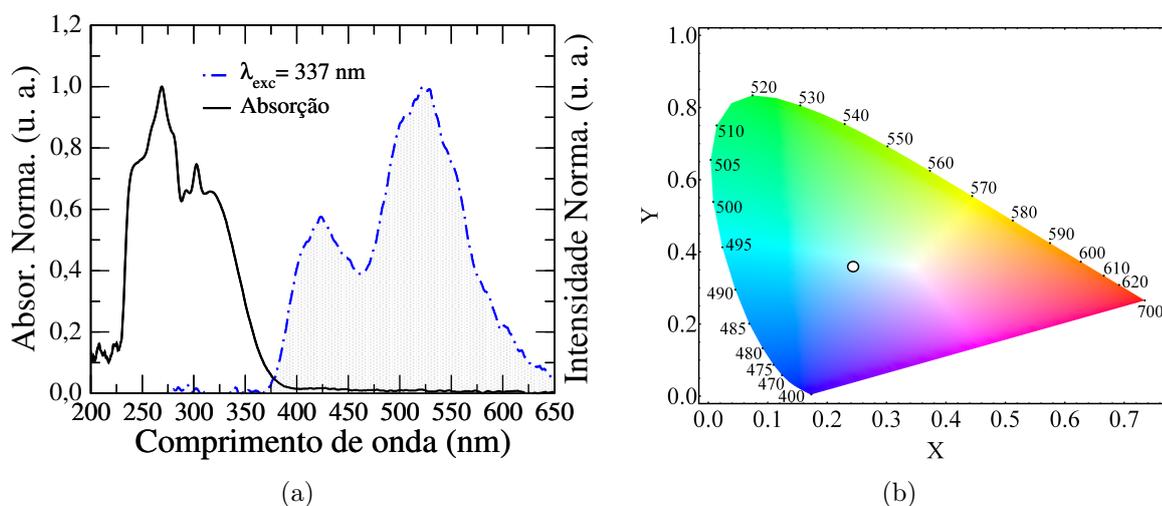
4.2.1 Absorção e Emissão

Na figura 4.3(a), é apresentado o espectro de absorção e emissão do SNSFCA em clorofórmio. A curva preta contínua é a absorção do composto, que apresenta duas bandas principais, com picos em 270 nm e 304 nm. Por conta da estrutura molecular SNSFCA com múltiplos grupos cíclicos, estas bandas de absorção apresentam sub-estruturas associadas à sobreposição das transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ ($\lambda_{abs} = 270$ nm) e $n \rightarrow \pi^*$ ($\lambda_{abs} = 304$ nm). No que diz respeito à fluorescência sob excitação em $\lambda_{exc} = 337$ nm, vê-se um espectro de emissão largo, que se estende sobre quase todo o intervalo do visível, 375 nm a 650 nm. Além disso, a fotoluminescência do SNSFCA é caracterizada pela ocorrência de duas bandas de emissão, centradas em 424 e 526 nm. Este resultado indica a existência de múltiplos mecanismos de decaimento radiativo neste material. Em moléculas orgânicas, a presença de duas bandas de emissão pode ser associada a mudanças conformacionais no estado excitado, reações de transferência de elétrons intra ou intermolecular [124], fluorescência e fosforescência simultânea [125], moléculas excitadas solvatadas, complexos moleculares e excíplexes [124], formação de excímeros [126] dentre outros. Como mencio-

4. PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DO MONÔMERO DE 54 TIOFENO-PIRROL-TIOFENO FUNCIONALIZADO COM FLUORENO

nado anteriormente, é conhecido da literatura que o grupo fluoreno-9-carboxílico apresenta emissão no azul. Guven e colaboradores mostraram que um monômero sintetizado com SNS e fluoreno apresentou emissão no azul, caracterizada pela presença de duas bandas [127]. Cihaner e colaboradores também reportaram um monômero formado por SNS e um derivado de fluoreno com emissão no azul [30]. Cálculos teóricos realizados para o SNSFCA mostram que os orbitais HOMO estão distribuídos ao longo dos anéis conjugados de tiofeno e pirrol do SNS, enquanto que os orbitais LUMO localizam-se apenas no grupo fluoreno [22]. Estes resultados foram publicados em colaboração com o grupo da Prof^a Adriana Ribeiro, e pode ser verificado no anexo B. Na figura 4.3(b) é possível ver a cor da emissão no diagrama de cromaticidade CIE 1931, as coordenadas cromáticas calculadas são $x = 0,244$ e $y = 0,359$.

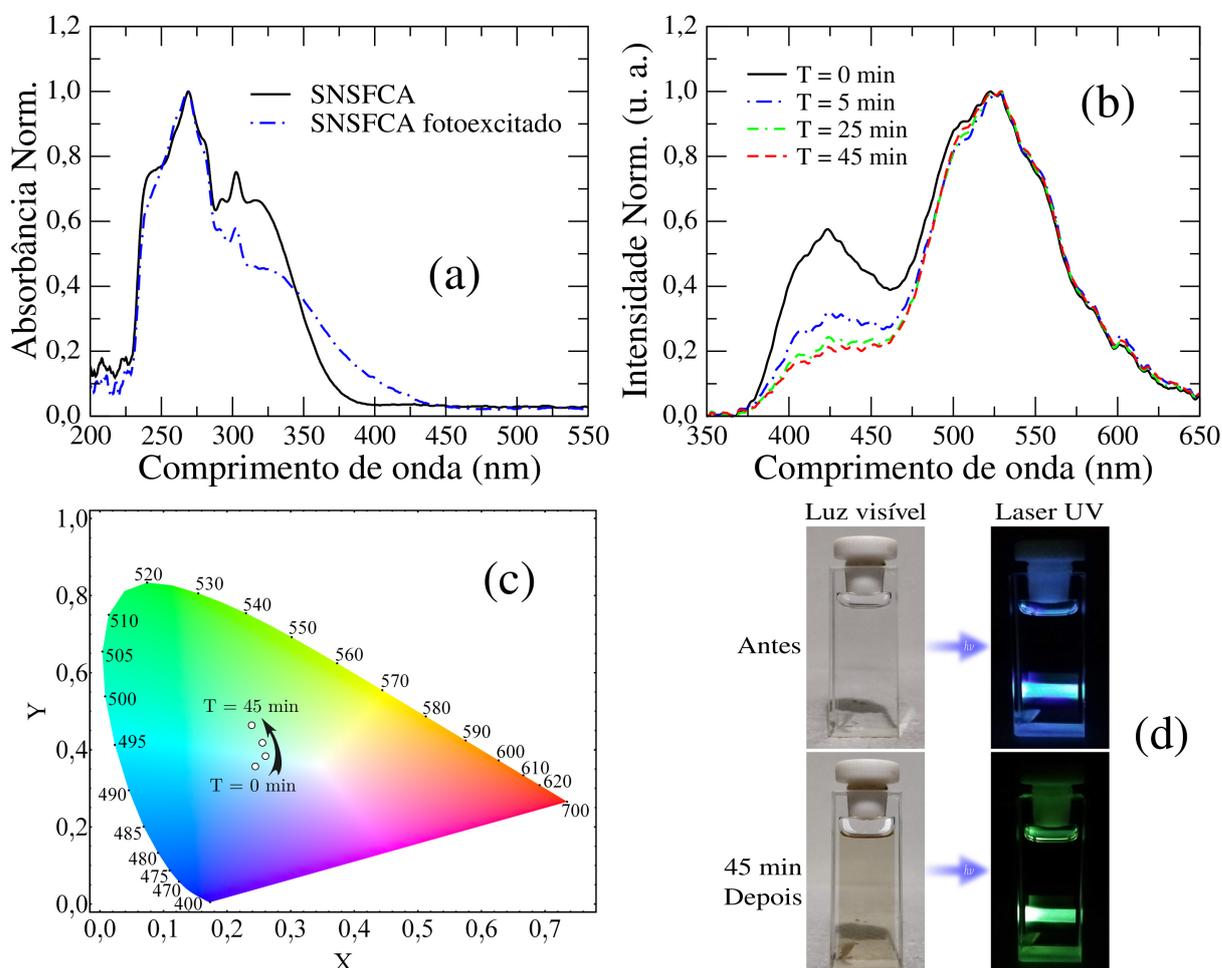
Figura 4.3: (a) Espectros de absorção (linha preta sólida) e de emissão (linha azul tracejada) sob excitação $\lambda_{exc} = 337$ nm. (b) Diagrama cromático CIE 1931 da fluorescência (coordenadas cromáticas: $x = 0,244$ e $y = 0,359$).



Fonte: Autor, 2021.

Curiosamente, foi percebido uma variação de coloração da solução SNSFCA em cloroformio após os ensaios para medida de fluorescência, passando de uma substância incolor para acastanhada, figura 4.4(d). A fim de explorar esse comportamento, foi observado a modificação do espectro de absorção e emissão em diferentes intervalos de tempo de exposição à radiação UV. Para a investigação, a amostra foi exposta a fotoexcitação durante 30 segundos e capturado o espectros de absorção e emissão, as figuras 4.4(a) e (b) exibem os resultados encontrados. Na figura 4.4(a) são apresentados os espectros de absorção antes (curva preta contínua) e após (curva azul-tracejada) o ensaio de emissão. Percebe-se, a

Figura 4.4: (a) Espectro de absorção do SNSFCA no início do ensaio (curva preta contínua) e após a fotoexcitação (curva azul tracejada). (b) Variação do espectro de fluorescência do SNSFCA em diferentes intervalos de tempo de exposição à radiação UV ($\lambda_{exc} = 337$ nm). (c) Diagrama cromático CIE 1931 da fluorescência. (d) Cubetas com soluções de SNSFCA em clorofórmio no início do ensaio e 45 min depois.



Fonte: Autor, 2021.

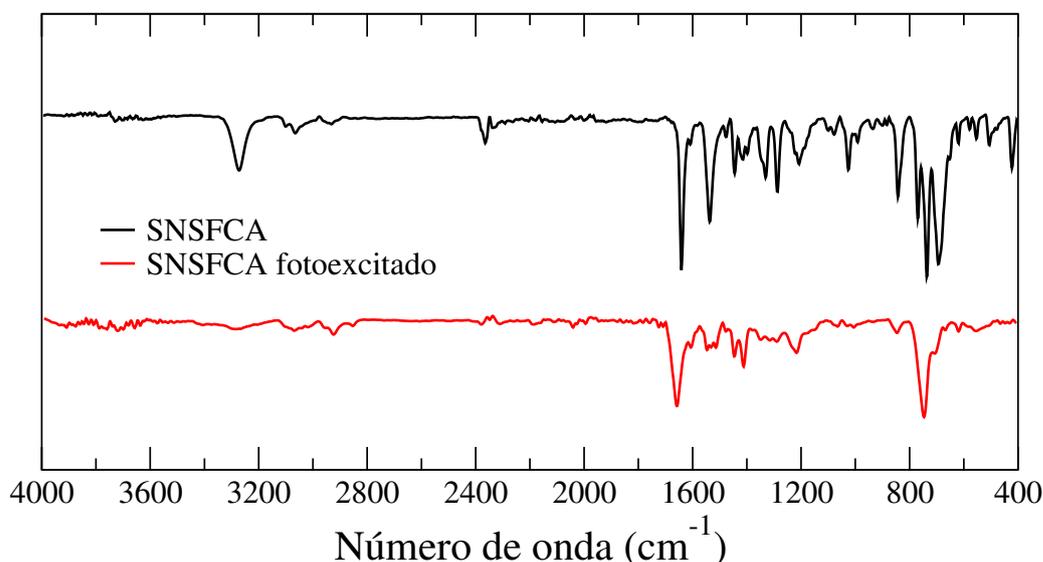
partir da curva azul-tracejada, uma acentuada redução da banda centrada em 304 nm, e o surgimento de uma cauda que se estende até 445 nm. Com base na figura 4.4(b) constata-se que com o aumento de ciclos de exposição à excitação em 337 nm há a supressão da banda de emissão centrada em 424 nm, e conseqüentemente a fluorescência varia do azul para predominantemente verde. Neste caso, a exposição à radiação UV ($\lambda_{exc} = 337$ nm) foi repetida a cada cinco minutos, com períodos de exposição de 30 segundos. A alteração no espectro de emissão ocorre de forma bastante acentuada entre o primeiro ($T = 0$ min) e o segundo ($T = 5$ min) ciclo de exposição. Nas exposições subseqüentes, a diferença entre os espectros de emissão diminui, indicando uma saturação do sistema. Essa mudança nos

4. PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DO MONÔMERO DE 56 TIOFENO-PIRROL-TIOFENO FUNCIONALIZADO COM FLUORENO

espectros de emissão e absorção é um indício de que a fotoexcitação na região do UV induz alguma transformação química irreversível nas moléculas de SNSFCA [128]. Entre as principais alternativas, a mais provável é a formação de oligômeros solúveis (dímeros ou trímeros), uma vez que não foi verificada a formação de precipitados nas soluções. A formação de dímeros ou trímeros induz um aumento no comprimento de conjugação, explicando a formação da cauda no espectro de absorção e a mudança na cromaticidade do espectro de emissão, como mostra a figura 4.4(c). A variação na cromaticidade da fluorescência está de acordo com as imagens obtidas das soluções sob excitação em 337 nm, como pode ser visto na figura 4.4(d).

Há uma vasta literatura que reporta o uso da estrutura tiofeno-pirrol-tiofeno (SNS) para a produção de filmes finos a partir do processo de polimerização eletroquímica [30, 127, 38]. Além disso, há também trabalhos que relatam uso da polimerização eletroquímica para formação de filmes poliméricos usando o ácido fluoreno-9-carboxílico (FCA) como material de partida [122, 129, 127]. A partir dos resultados obtidos até o momento, há uma forte indicação de que o monômero SNSFCA sofre o processo de formação de oligômeros devido a fotopolimerização [130, 131]. Nesse processo o fóton absorvido na região do UV-visível é convertido em energia química na forma de intermediários reativos, como radicais livres ou cátions reativos, que subsequentemente iniciam a polimerização de monômeros funcionais para formar polímeros lineares [130].

Figura 4.5: Espectros FTIR do SNSFCA (curva preta) e do SNSFCA após a fotoexcitação (curva vermelha). Note que algumas bandas são suprimidas após a fotoexcitação.



Fonte: Autor, 2021.

Nesse cenário, foram realizadas medidas de FTIR nas amostras de SNSFCA antes e depois da fotoexcitação, como a figura 4.5. A espectroscopia de FTIR é umas das técnicas utilizadas para monitorar processos de fotopolimerização [131], a partir da identificação da supressão de alguns modos vibracionais. Na figura 4.5, a curva preta é o espectro FTIR do SNSFCA antes da fotoexcitação, enquanto a curva vermelha representa o espectro FTIR do SNSFCA após a fotoexcitação. Em ambos os casos, as medidas foram realizadas no modo ATR. Na curva preta, observa-se as vibrações em 3270 cm^{-1} e 3102 cm^{-1} (grupo N-H), 1650 cm^{-1} (grupo C=O), 1535 cm^{-1} (grupo C-N), 1442 cm^{-1} (C=C anel aromático), 1205 cm^{-1} (grupo C-N amida), 1072 cm^{-1} (C=C anel do tiofeno), e 838 cm^{-1} (C=C anel aromático). Na curva vermelha, é possível notar o desaparecimento de alguns picos, principalmente na região conhecida como *fingerprints*, região entre 600 e 1200 cm^{-1} , que apresenta relevante importância na caracterização de estruturas como polímeros [132]. Mais especificamente, há o desaparecimento dos picos associados ao estiramento e dobramento da ligação C-H, em 3012 cm^{-1} e 770 cm^{-1} , indicando a ocorrência do processo fotopolimerização [133]. O pico em 692 cm^{-1} associado a hidrogênio- α dos anéis tiofeno é suprimido no SNSFCA fotoexcitado, algo esperado no espectro do polímero [38, 30]. Desse modo, pode-se concluir que o SNSFCA fotoexcitado sofreu processo de fotopolimerização. Como não houve a adição de outra substância durante a fotoexcitação, o processo ocorreu diretamente a partir do monômero, sem a uso de fotossensibilizador¹. A fotopolimerização auto-sintetizada de pirrol e de tiofeno já foi reportada na literatura [133, 134], onde essas moléculas atuam como fotossensibilizadores após a formação de radicais catiônicos e aniônicos. Com a formação de um oligômero de pirrol (ou tiofeno), a absorção em maiores comprimento de onda tende a ocorrer [128], o que está em consonância com o mostrado na figura 4.4(a), onde foi percebido um alargamento do espectro na direção do visível. Corroborando com o comportamento observado do SNSFCA na presença de luz UV, Kijewska e colaboradores reportaram a fotopolimerização de pirrol em clorofórmio (CHCl_3) [134]. Neste trabalho, os autores relatam que a fotopolimerização de pirrol pode ser obtida pela irradiação de uma solução do monômero em clorofórmio, onde verificou-se o surgimento de uma banda centrada em 465 nm . Foi observado pelos autores que esta banda cresce com o aumento do tempo de irradiação, sendo associada à

¹Fotossensibilizadores são moléculas que alteram a química das moléculas adjacentes, absorvendo a energia da luz e transferindo-a para essas moléculas em processos fotoquímicos, como fotopolimerização, fotocura, etc. [128].

4. PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DO MONÔMERO DE 58 TIOFENO-PIRROL-TIOFENO FUNCIONALIZADO COM FLUORENO

Tabela 4.1: Características dos solventes: índice de refração (n), constante dielétrica (ε), e momento dipolar (D) [135].

Solvente	n	ε	D
Heptano	1,381	1,89	0,0
Tolueno	1,497	2,38	0,36
Clorofórmio	1,446	4,81	1,04
Diclorometano	1,424	8,93	1,6
Acetona	1,359	20,7	2,88
Acetonitrila	1,344	37,5	3,92

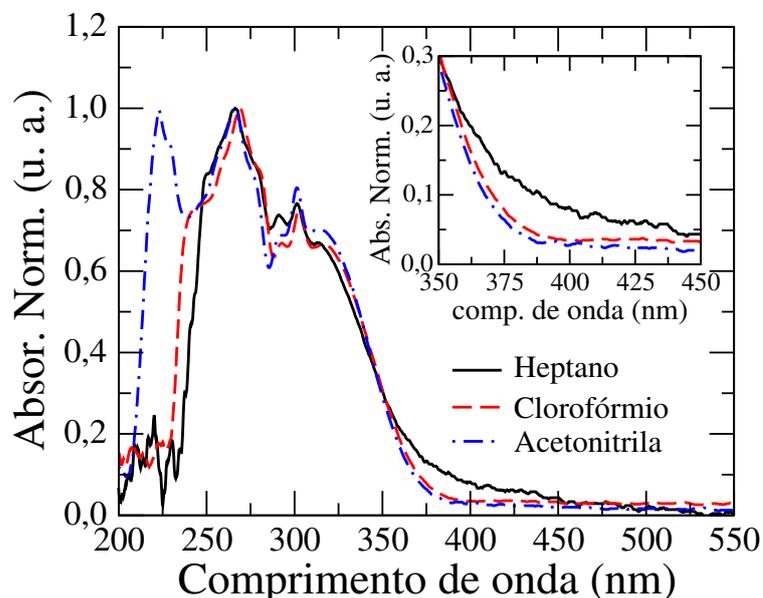
formação do polímero. No SNSFCA, percebe-se no espectro de absorção (figura 4.4(a)) o surgimento de uma banda no visível bem como a redução de outra no UV, que de acordo com os resultados obtidos é um reflexo da polimerização do monômero.

4.3 Efeito Solvatocrômico

Como mencionado anteriormente, o solvente apresenta papel fundamental na emissão e absorção de luz de compostos orgânicos, induzindo mudanças significativas nas propriedades fotofísicas [125]. A variação da posição e intensidade das bandas de absorção e/ou emissão é conhecida como efeito solvatocrômico [135], e está diretamente ligada à variação do momento de dipolo do composto sob fotoexcitação. Assim, com o interesse de investigar o efeito solvatocrômico do SNSFCA, dispersamos o monômero em solventes polares apróticos (acetona, acetonitrila e diclorometano), e em solventes não polares (clorofórmio, heptano e tolueno). Na tabela 4.1 tem-se as principais características desses solventes organizados em ordem crescente de polaridade (D) [135].

Na figura 4.6, tem-se os espectros de absorção do SNSFCA em heptano (curva preta contínua), em clorofórmio (curva vermelha tracejada) e em acetonitrila (curva azul tracejada-pontilhada). Em todos os casos, vê-se que não há uma mudança significativa no espectro de absorção por conta da polaridade do solvente, uma vez que as bandas em 270 nm e 304 nm não sofrem deslocamentos. Em acetonitrila, percebe-se a ocorrência de uma banda de absorção em torno de 225 nm, mas que pode estar associada com a formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas do solvente de alta polaridade e as moléculas de monômero. Para o SNSFCA disperso em heptano, percebe-se ainda uma pequena alteração na banda centrada em 304 nm, com uma cauda se estende até 450 nm. Isso pode ser associado à formação de pequenos aglomerados moleculares por conta da baixa polaridade do

Figura 4.6: Espectros de absorção do SNSFCA em solventes com diferentes polaridades: heptano (curva preta contínua), clorofórmio (curva vermelha tracejada) e acetonitrila (curva azul tracejada-pontilhada).



Fonte: Autor, 2021.

solvente. Na tabela 4.2, encontram-se os comprimentos de onda (λ_{abs}) onde as bandas de absorção estão centradas para os demais solventes avaliados.

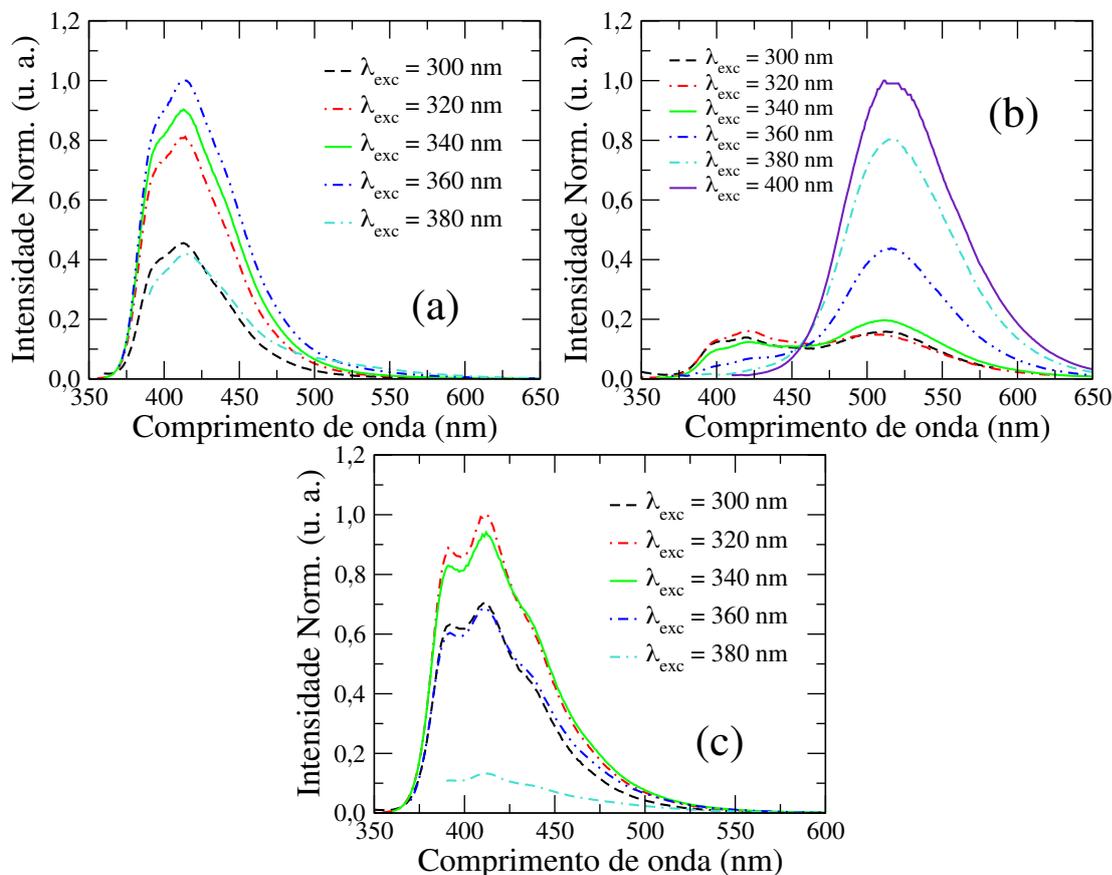
Tabela 4.2: Solvente e posição (λ_{abs}) das bandas de absorção do SNSFCA, com solventes em ordem crescente de polaridade.

Solvente	λ_{abs} (nm) - $\pi \rightarrow \pi^*$	λ_{abs} (nm) - $n \rightarrow \pi^*$
Heptano	270	302
Tolueno	283	302
Clorofórmio	270	304
Diclorometano	269	302
Acetona	217	329
Acetonitrila	266	302

Na figura 4.7, tem-se as emissões do SNSFCA diluído em heptano (figura 4.7(a)), clorofórmio (figura 4.7(b)) e acetonitrila figura (4.7(c)), sob fotoexcitação em diferentes comprimentos de onda. Na maioria dos solventes percebe-se uma emissão independente da excitação entre $\lambda_{exc} = 300$ nm e $\lambda_{exc} = 380$ nm, com banda de máxima emissão centrada em torno de 412 nm. Na tabela 4.3, são apresentados os picos de emissão do SNSFCA em todos os solventes investigados. Isto indica que a lacuna de energia entre os níveis S_0 (estado fundamental) e S_1 (estado excitado) não é afetado pela polaridade do solvente. Como consequência, pode-se afirmar que não há uma variação significativa do momento

4. PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DO MONÔMERO DE 60 TIOFENO-PIRROL-TIOFENO FUNCIONALIZADO COM FLUORENO

Figura 4.7: Emissão variando com a excitação do SNSFCA na presença de (a) heptano, (b) clorofórmio e (c) acetonitrila.



Fonte: Autor, 2021.

de dipolo nestes estados. Verificou-se ainda que o comprimento de onda de excitação que maximiza a intensidade de emissão, λ_{exc}^m , varia com a polaridade do solvente. Isto indica que os processos de conversão interna de energia pode ser afetados pela polaridade do solvente. A única exceção ao comportamento descrito até aqui foi para o SNSFCA disperso em clorofórmio, onde uma forte dependência da emissão com o comprimento de onda de excitação foi observada. De fato, o fenômeno de fotopolimerização só foi observado no SNSFCA em clorofórmio.

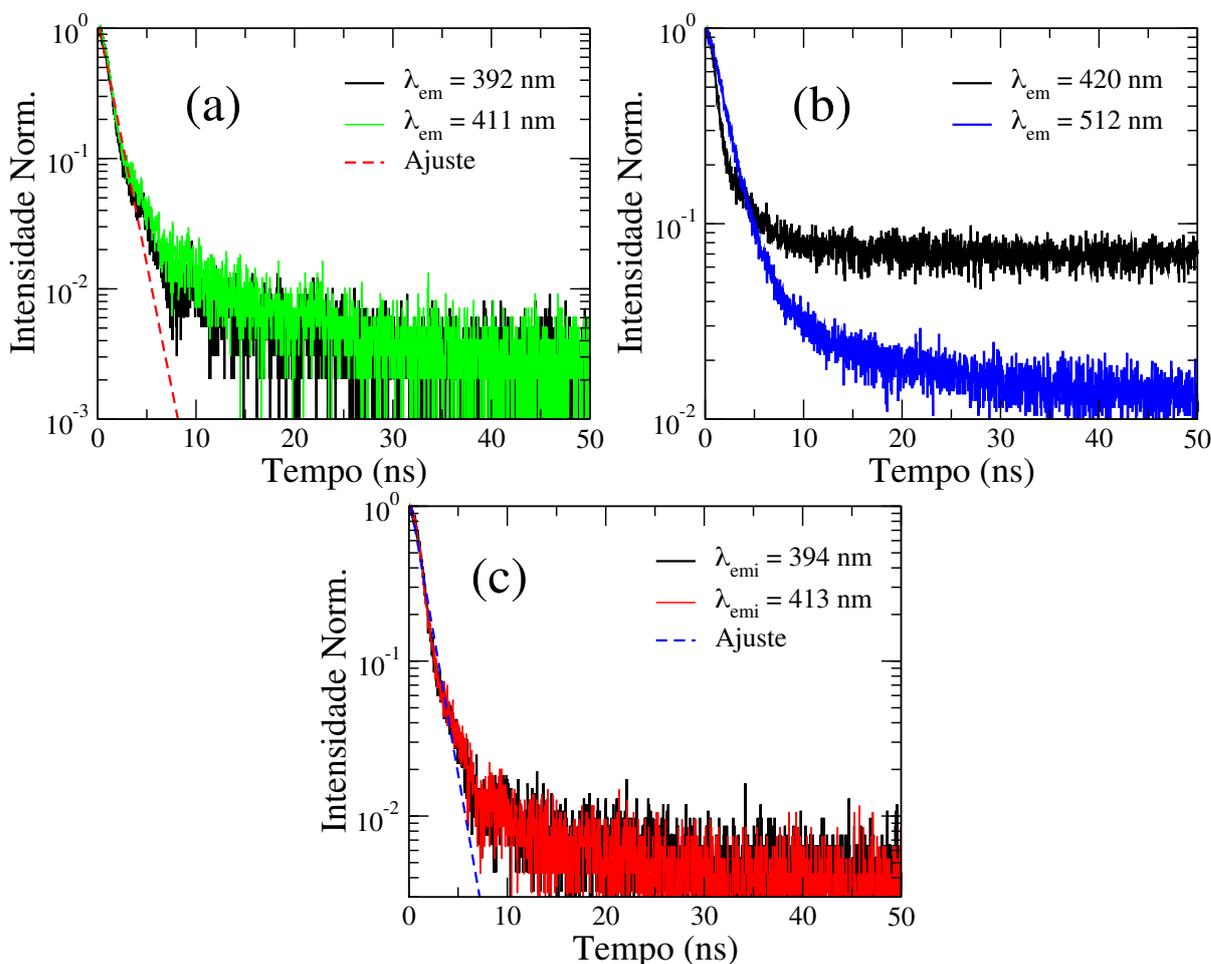
Com o objetivo de estudar a estabilidade do estado excitado, são apresentados na figura 4.8 os transientes na intensidade de emissão do SNSFCA em diferentes solventes, sob excitação em 366 nm. Como a emissão é caracterizada pela presença de duas bandas (ver figura 4.7), o transiente na intensidade foi analisada nos dois comprimentos de onda correspondentes aos picos. Para o SNSFCA em heptano, vê-se na figura 4.8(a) que o transiente possui o mesmo comportamento nos dois comprimentos de onda, indicando

Tabela 4.3: Comprimento de onda de excitação que maximiza a intensidade da emissão ($\lambda_{exc,max}$) e posição do pico de emissão (λ_{em}) do SNSFCA em diferentes solventes.

Solvente	λ_{exc}^m (nm)	λ_{em} (nm)
Heptano	320	411
Tolueno	320	418
Clorofórmio	400	516
Diclorometano	300	426
Acetona	360	412
Acetonitrila	360	412

que as emissões em 411 nm e 392 nm estão associadas ao mesmo estado excitado. Em particular, o tempo de vida do estado excitado é da ordem de 1,5 ns. Para o SNSFCA disperso em clorofórmio, os picos de emissão ocorrem em 420 nm e 512 nm, de maneira

Figura 4.8: Transiente na intensidade de emissão do SNSFCA sob excitação em $\lambda_{exc} = 366$ nm. Diferentes solventes foram considerados: (a) heptano, (b) clorofórmio e (c) acetonitrila.



Fonte: Autor, 2021.

4. PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DO MONÔMERO DE 62 TIOFENO-PIRROL-TIOFENO FUNCIONALIZADO COM FLUORENO

que os transientes apresentam comportamentos distintos nesses comprimentos de onda, como mostra a figura 4.8(b). Aqui, a emissão em 512 nm apresenta um comportamento multiexponencial, indicando a existência de múltiplos estados excitados. Já a emissão em 420 nm apresenta o comportamento monoexponencial, com o tempo de vida do estado excitado da ordem de 1,7 ns. A existência de diferentes tempos de vida deixa explícito a presença de distintos mecanismos de emissão do SNSFCA nesse solvente [9]. A figura 4.8(c) mostra os transientes na intensidade de emissão para o SNSFCA disperso em acetonitrila. O comportamento observado é idêntico ao obtido em heptano, com as emissões em 413 nm e 394 nm associadas ao mesmo estado excitado. Mais uma vez, o tempo de vida foi estimado em 1,5 ns.

Em resumo, foram caracterizadas as propriedades espectroscópicas do composto SNSFCA disperso em diferentes solventes. Os resultados obtidos mostraram que esse composto sofre um processo de fotopolimerização quando fotoexcitado em 337 nm. No entanto, este processo é restrito ao SNSFCA disperso em clorofórmio, não ocorrendo em outros solventes. Resultados similares têm sido relatados para outros derivados tiofeno e pirrol, mas não possuem uma explicação teórica da razão de sua ocorrência. Os resultados obtidos podem motivar estudos teóricos para compreender o fenômeno de fotopolimerização em clorofórmio. Vale salientar que o polímero de SNSFCA apresenta propriedades eletrocromáticas e podem ser usados em dispositivos eletrocromáticos.

No próximo capítulo, será investigado as propriedades luminescentes de outro material orgânico, pontos quânticos de carbono derivado do cloreto de dansila, que também apresenta propriedades multifuncionais.

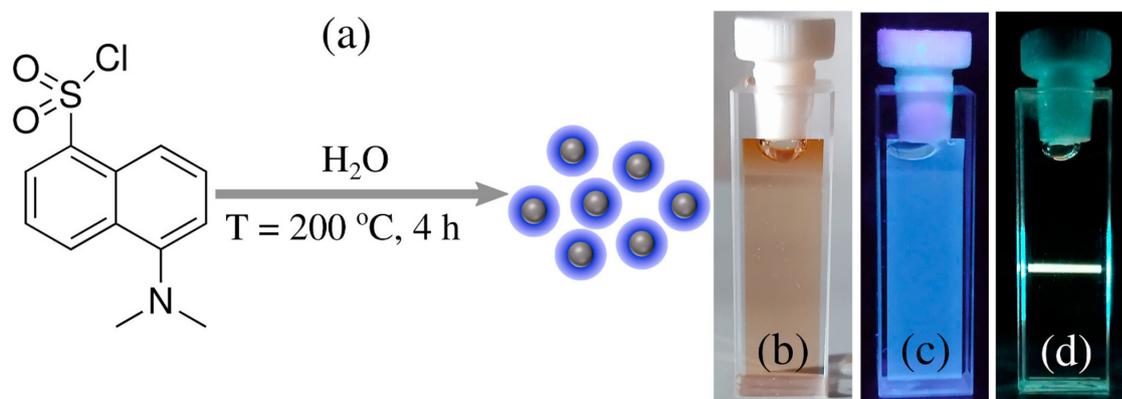
PROPRIEDADES MULTIFUNCIONAIS DE PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE CLORETO DE DANSILA

Desde a sua descoberta acidental, pontos quânticos de carbono (PQC) constituem uma fascinante classe de nanopartículas de carbono, com morfologia quasisférica e com diâmetros menores que 10 nm [46, 45, 42]. Como comentado na seção 1.3, pontos quânticos de carbono são constituídos por um núcleo grafítico coberto por uma casca amorfa, formada por grupos funcionais e fragmentos moleculares reminiscentes dos precursores carbonáceos usados na síntese [136, 79]. A presença de frações de carboxilas na superfície dos PQC garante uma excelente solubilidade em água, baixa toxicidade e conveniente incorporação de grupos funcionais [137, 46, 54]. Além disso, pontos quânticos de carbono exibem fotoluminescência com uma distribuição espectral larga, estável e ajustável [57, 54]. Graças a essas excelentes propriedades, pontos quânticos de carbono tem atraído bastante atenção e tem sido demonstrado como um material promissor para aplicações em bioimageamento [45], terapia fotodinâmica [138, 80, 82], entrega de fármacos [139], sensores de pH [57, 43], diodos emissores de luz [137], optoeletrônica, dispositivos fotovoltaicos [140] dentre outros.

Uma das principais características de pontos quânticos de carbono é a fluorescência, e a grande maioria apresenta uma emissão dependente da excitação [46, 45, 71, 141], que apesar de ser explorada em inúmeras aplicações, ainda não é totalmente entendida. Contudo, diversos estudos indicam que os mecanismos de luminescência de PQC estão

geralmente relacionados à efeitos quânticos, estados de superfície e recombinação do par elétron-buraco [141]. Medidas de fluorescência resolvidas no tempo têm revelado que a intensidade transiente da emissão apresenta um decaimento multiexponencial, indicando a existência de múltiplos fluoróforos [73]. A principal teoria é que a fotoluminescência dos PQC provenha de bandas fluorescentes intrínsecas e extrínsecas, que estão associadas com o núcleo e os defeitos de estado de superfície, respectivamente [54, 42]. Nesse cenário, emissão em curtos comprimentos de onda são governados por comprimento de conjugação de nano domínios de carbono com hibridização sp^2 dentro do núcleo [142], enquanto que a emissão em longos comprimentos de onda são determinados pelo grau de oxidação dos estados de superfície [143, 42]. O espectro de fluorescência de pontos quânticos de carbono é fortemente afetado pela variação de temperatura do meio [56], pH [62], e polaridade do solvente [144], atributos que combinados com sua notável biocompatibilidade, classificam essas nanopartículas como sondas fluorescentes adequadas para uma grande variedade de sistemas biológicos.

Figura 5.1: (a) Rota de síntese de pontos quânticos de carbono derivados de cloreto de dansila (CD-DsCl); Solução aquosa de CD-DsCl sob (b) luz ambiente, (c) luz UV e (d) excitação com laser em 488 nm.



Fonte: Autor, 2021.

Portanto, o crescente interesse em pontos quânticos de carbono é justificado pela sua excepcional multifuncionalidade, além da possibilidade de ser produzido a partir de distintos precursores como fonte de carbono. No presente capítulo, será investigado as propriedades de emissão de pontos quânticos de carbono co-dopados com oxigênio e enxofre (CD-DsCl) (figura 5.1), sintetizados por rota hidrotermal usando o cloreto de dansila (DsCl) como precursor. Os pontos quânticos de carbono foram cedidos pela Prof^a Dra Cintya D'Angeles do E. S. Barbosa, do Grupo de Catálise e Reatividade Química do

Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. Nas próximas páginas serão explorados os efeitos da variação térmica, pH e geração de oxigênio singlete dessas nanopartículas. A caracterização da morfologia e da estrutura química destes pontos quânticos estão presentes no anexo C.

5.1 Aparato experimental e metodologia

Para as análises dos efeitos térmicos nas propriedades fluorescentes do CD-DsCl foi utilizado um laser de nitrogênio pulsado MNL-103 PD LTB Lasertechnik Berlin, com comprimento de onda de 337 nm, taxa de repetição de 30 Hz e largura de pulso de 3 ns. O aquecimento das amostras líquidas foi realizado com auxílio de pastilhas peltier conectadas a fonte de alimentação Keithley 2200. A variação de tensão e corrente permitiu aquecer as pastilhas até alcançar as temperaturas desejadas. Para aferição da temperatura, um termopar foi introduzido dentro da cubeta, através de orifício presente na tampa confeccionada por impressão 3D. Foi utilizado impressão 3D também para produzir o porta-cubeta do ensaio, detalhe da peça pode ser encontrado no Anexo A.

Em uma medida típica de variação de temperatura, é preparada uma diluição da amostra de CD-DsCl provinda do Grupo de Catálise e Reatividade Química, na proporção de volume de 1:1 em água destilada. Em seguida, preenche-se uma cubeta de quartzo com essa solução. Então o conjunto tampa e cubeta é devidamente isolado para que não haja evaporação do líquido durante a execução do experimento. O termostato aproxima-se da amostra a partir de um orifício presente na tampa da cubeta, e isso traz uma melhor leitura da temperatura. Após realizado o isolamento e adicionado o termostato, a cubeta é então inserida entre os peltiers e a coleta do primeiro espectro de emissão com o registro da respectiva temperatura marca o início do ensaio. A variação de tensão nos peltiers induz o aquecimento da amostra e, após alguns minutos para estabilização térmica, o espectro de emissão é coletado com uma fibra óptica. A excitação acontece apenas durante a captura do espectro de emissão, ficando o laser MNL-103 em *stand-by* no tempo de estabilização térmica.

Para o ensaio da influência do potencial hidrogeniônico do meio, foram utilizadas soluções Britton-Robison com diferentes valores de pH. O preparo das amostra consiste na dispersão de 70 μL de CD-DsCl nas soluções Britton-Robison, em uma proporção de vo-

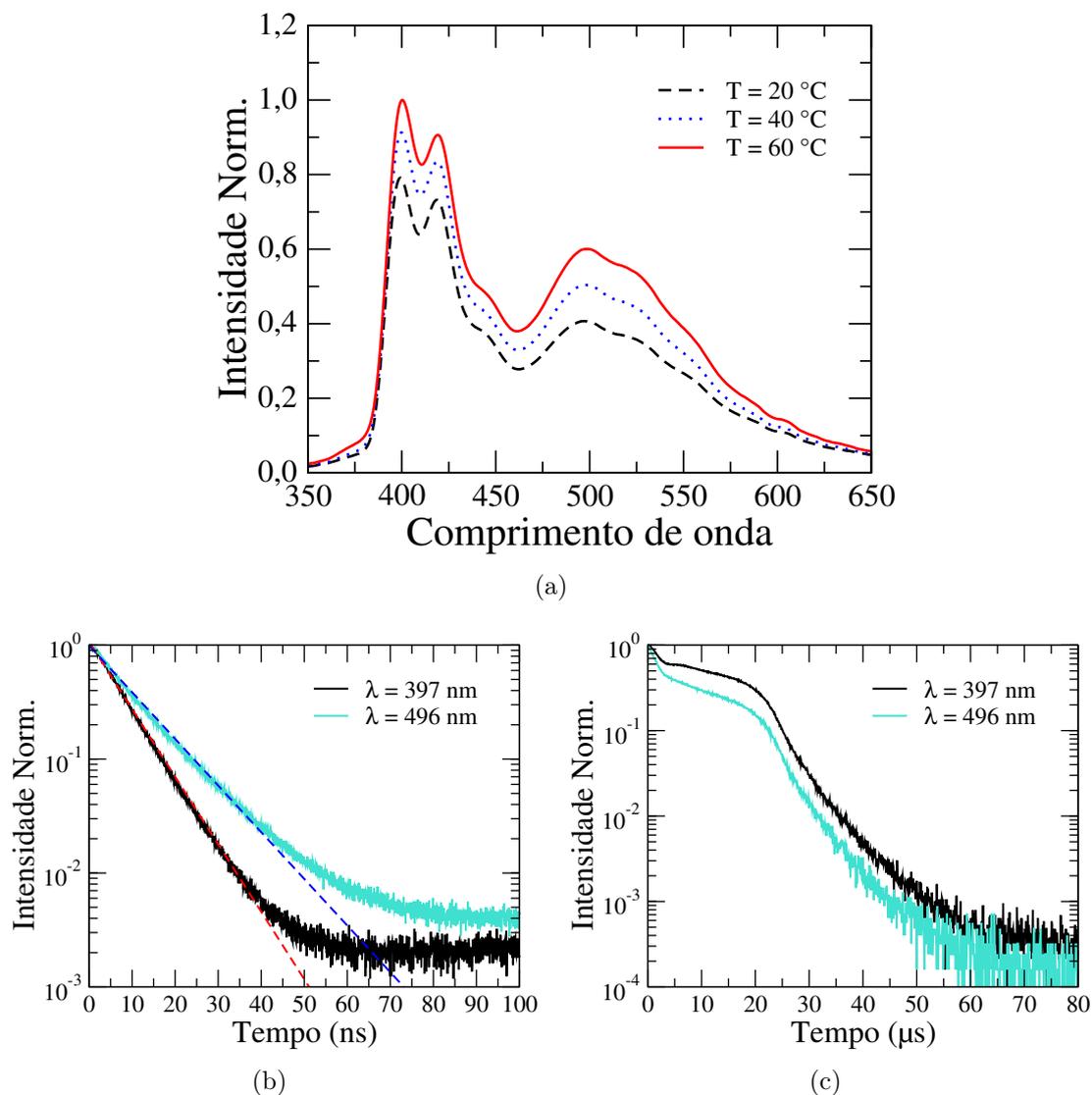
lume de 1:9. Os espectros de absorção e emissão das amostras com diferentes valores de pH foram coletados usando fibras ópticas e um espectrômetro USB2000. Para a fluorescência, foi usado um laser de comprimento de onda 337 nm como fonte de excitação.

Outra característica investigada foi a possibilidade de geração de oxigênio singleto pelos pontos quânticos de carbono. Para tanto, foi preparada uma solução estoque de 1,3-diphenlisobenzofuran (DPBF) em etanol (0,1 mM). A seguir, a solução estoque foi usada para preparar uma solução de DPBF em 50/50 (v/v) de etanol (EtOH) e H₂O. Por fim, uma mistura 90/10 (v/v) de DPBF e CD-DsCl foi irradiada por um laser polarizado, com $\lambda_{exc} = 532$ nm. O feixe do laser foi expandido por uma lente convergente de 5 cm de foco, fornecendo assim, uma irradiação homogênea da cubeta localizada a 40 cm do ponto focal. Para este ensaio foi observado a variação dos espectros de absorção com o aumento do tempo de exposição da amostra à radiação.

5.2 Propriedades Térmicas do CD-DsCl

É demonstrado que a emissão dos pontos quânticos de carbono derivados do cloreto de dansila na região de excitação entre 340 nm e 400 nm é independente da excitação, exibindo um espectro que compreende quase toda a faixa do visível, com a presença de três bandas principais [54]. Com o aumento do comprimento de onda de excitação, a partir de 400 nm, o espectro de fluorescência muda drasticamente exibindo uma típica dependência da emissão com a excitação [54]. Na figura 5.2(a), é mostrado o espectro de emissão com a variação da temperatura de 20 °C à 60 °C, faixa de temperatura de sistemas biológicos. Percebe-se um notório ganho na intensidade de emissão com o aumento de temperatura das amostras, o que difere do comportamento observado na grande maioria de pontos quânticos de carbono fotoluminescentes, onde é comum a redução de intensidade devido à *quenching* térmico. Na maioria dos pontos quânticos de carbono, o aumento de temperatura suprime a recombinação de excitons da superfície, com ativação térmica de aprisionamento não-radiativo, levando à redução da fluorescência. Entretanto, tal comportamento não é constatado nos pontos quânticos de carbono derivados do cloreto de dansila. O aumento na intensidade de emissão indica a ocorrência de uma fluorescência atrasada (FA) termicamente ativada no CD-DsCl, associado com um processo de cruzamento intersistema reverso (CISR). Mais especificamente, a amplitude do acoplamento

Figura 5.2: (a) Espectros de fluorescência do CD-DsCl com variação de temperatura. É notório o ganho na emissão com o crescimento da temperatura; (b) Tempo de vida na janela de nanosegundos e (c) tempo de vida na janela de microsegundos.



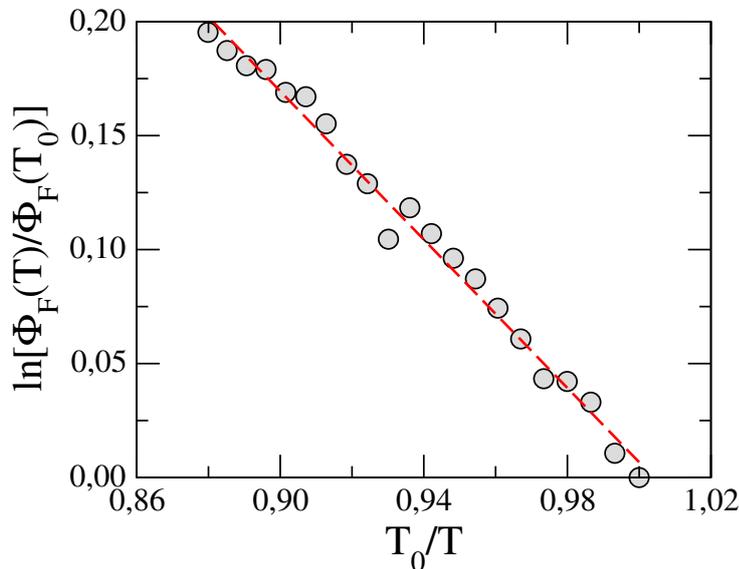
Fonte: Autor, 2021.

spin-órbita nos grupos funcionais contendo ligações C=O, S=O e C=N favorece o cruzamento intersistema (CIS), no qual há uma transição de um estado excitado singlete S_n para um estado excitado tripleto T_n de mesma energia. Se a lacuna de energia, ΔE_{ST} , entre os estados excitados tripleto (T_1) e singlete (S_1) de mais baixa energia é da ordem 100 meV, um aumento de temperatura pode levar a um cruzamento intersistema reverso, caracterizado por um transição $T_1 \rightarrow S_1$. Ou seja, a probabilidade de um estado tripleto T_1 sofrer uma conversão para um estado singlete S_1 cresce com o aumento de temperatura da amostra, favorecendo o decaimento radiativo e consequentemente um ganho de emis-

são é observado, figura 5.2(a). Nesse caso, o cruzamento intersistema reverso dá origem a uma fluorescência atrasada (FA), mas que apresenta a mesma distribuição espectral que a fluorescência imediata.

A fim de verificar o mecanismo de fluorescência atrasada termicamente ativado associado com CISR, nas figuras 5.2(b) e 5.2(c) são apresentados os transientes na intensidade emissão do CD-DsCl nos comprimentos de onda de emissão $\lambda_{em} = 397$ nm e $\lambda_{em} = 496$ nm, considerando distintas janelas de escala de tempo. Na janela com escala de tempo em nanosegundos, figura 5.2(b), o transiente na intensidade exibe um decaimento monoexponencial para ambos os comprimentos de onda analisados, correspondendo a fluorescência imediata. Contudo, a emissão em $\lambda_{em} = 397$ nm apresenta um decaimento mais rápido, caracterizada por um tempo de vida do estado excitado de $\tau_{397} = 6,9$ ns. Já a banda centrada em $\lambda_{em} = 496$ nm exibiu um tempo de vida para o estado excitado de $\tau_{496} = 10,3$ ns. A figura 5.2(c) mostra a existência de transiente de intensidade na janela com escala de tempo de microsegundos, correspondendo a fluorescência atrasada.

Figura 5.3: Dependência térmica da eficiência quântica de emissão do CD-DsCl. A linha vermelha tracejada é a regressão linear usando a equação 5.1, onde foi obtido $\Delta E_{ST} = 41$ meV).



Fonte: Autor, 2021.

Considerando que a taxa para o cruzamento intersistema reverso obedece a distribuição de Boltzmann [145, 146], pode-se considerar que eficiência quântica de fluorescência satisfaz uma relação de Arrhenius, dada por [37]:

$$\ln \left[\frac{\Phi(T)}{\Phi(T_0)} \right] = \frac{\Delta E_{ST}}{k_B} \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T} \right) \quad , \quad (5.1)$$

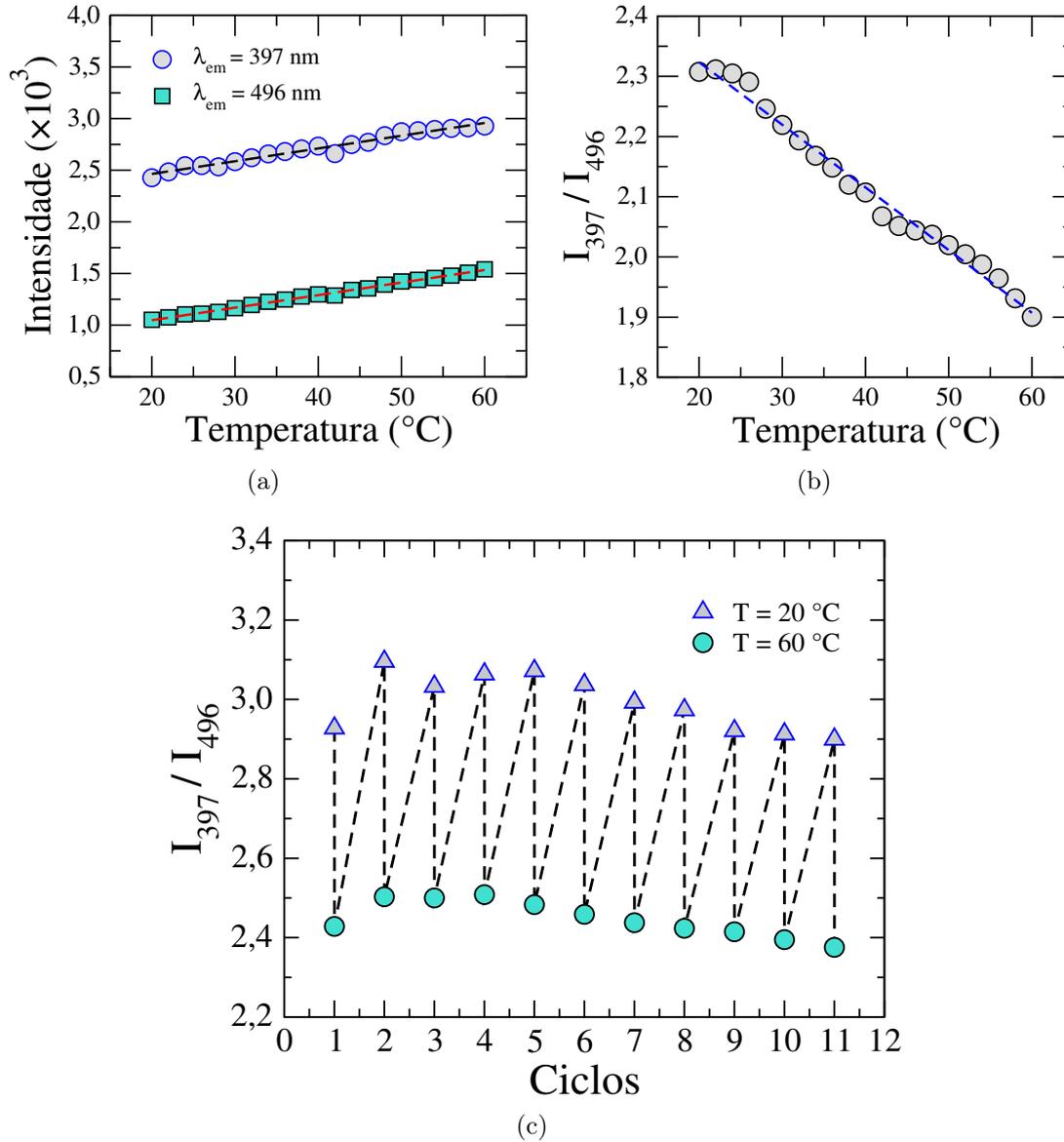
onde ΔE_{ST} é a diferença de energia entre os estados excitados singlete (S_1) e tripleto (T_1). k_B é a constante de Boltzmann, T_0 é uma temperatura de referência e T é a temperatura do sistema. Na equação 5.1, os efeitos térmicos sobre o decaimento não radiativo são desprezados. Na figura 5.3, é mostrado o gráfico de Arrhenius para eficiência quântica de emissão do CD-DsCl, como função da temperatura. É possível notar que a eficiência quântica cresce à medida que a temperatura do sistema aumenta. A lacuna de energia ΔE_{ST} pode ser estimado a partir dos coeficientes angular e linear do ajuste linear, usando a Eq. 5.1. Neste caso, estimou-se que $\Delta E_{ST} = 41$ meV. É importante enfatizar que o processo de fluorescência atrasada termicamente ativada foi majoritariamente observado em pontos quânticos de carbono confinado em matrizes poliméricas ou matrizes inorgânicas [147, 148]. Recentemente, o fenômeno de fluorescência atrasada foi também reportado em pontos quânticos derivados do parafenildiamina, com um $\Delta E_{ST} = 54,4$ meV [149].

Dado o extraordinário comportamento térmico da fluorescência do CD-DsCl, exploramos na figura 5.4 a possibilidade da utilização dessas nanopartículas como sensores de temperatura. Com o comprimento de onda de excitação fixo em $\lambda_{exc} = 337$ nm, nota-se que a intensidade dos picos em $\lambda_{em} = 397$ nm e $\lambda_{em} = 496$ nm apresentam um comportamento linear com a temperatura, como mostra a figura 5.4(a). Com o aumento de temperatura de 20 °C para 60 °C, a intensidade de fluorescência obedece a relação $I(\lambda, T) = I_0 + (12,2^\circ\text{C}^{-1})(T - T_0)$, com coeficiente de correlação $R^2 = 0,998$, e I_0 sendo a intensidade de referência em $T_0 = 20$ °C. A presença de múltiplas bandas de emissão tornam o CD-DsCl um material promissor para um sensor de temperatura ratiométrico. A abordagem ratiométrica consiste na análise da razão de intensidade de duas bandas de emissão bem definidas à medida que a temperatura é variada. Definindo I_{397}/I_{496} como a razão de intensidade da bandas de emissão em $\lambda_{em} = 397$ nm e $\lambda_{em} = 496$ nm, a figura 5.4(b) mostra que essa razão decresce com o aumento da temperatura, que é razoavelmente ajustada por uma regressão linear com $R^2 = 0,998$. Esse comportamento linear leva a uma sensibilidade térmica desejável no intervalo de temperatura avaliado. Mais especificamente, as sensibilidades absoluta (S_A) e relativa (S_R) para sensores de temperatura ratiométricos são dados por [150].

5. PROPRIEDADES MULTIFUNCIONAIS DE PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE CLORETO DE DANSILA

70

Figura 5.4: (a) Dependência com a temperatura dos picos de emissão em $\lambda_{em} = 397$ nm (círculos cinza) e $\lambda_{em} = 496$ nm (quadrados turquesa). Com o comprimento de onda de excitação fixo em 337 nm, a intensidade da fluorescência obedece a regressão linear $I(\lambda, T) = I_0 + (12, 2^\circ\text{C}^{-1})(T - T_0)$ (linha tracejada) (b) Razão I_{397}/I_{496} de emissão do CD-DsCl como função da temperatura. (c) Variação da razão I_{397}/I_{496} nos ciclos de aquecimento/resfriamento.



Fonte: Autor, 2021.

$$S_A = \left| \frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{I_{397}}{I_{496}} \right) \right| \quad (5.2)$$

e

$$S_R = \left| \frac{\partial}{\partial T} \ln \left(\frac{I_{397}}{I_{496}} \right) \right| \quad (5.3)$$

A partir dos dados da figura 5.4, foi possível estimar $S_R \sim 0,50\%^\circ\text{C}^{-1}$ e $S_A = 1.04\%^\circ\text{C}^{-1}$.

Para o desenvolvimento de sensores térmicos, além da boa sensibilidade térmica dos nanomateriais, uma característica importante é reversibilidade e estabilidade da emissão após vários ciclos de aumento e redução de temperatura. Nesse contexto, as amostras de solução aquosa de CD-DsCl foram submetidas a ciclos de aquecimento e resfriamento para avaliar seu comportamento nesse cenário. Na figura 5.4(c) apresentamos o resultado obtido da razão I_{397}/I_{496} para vários ciclos de aquecimento/resfriamento. O ensaio é iniciado com a estabilização da amostra em 20 °C, e capturado o espectro de emissão. Em seguida a temperatura é elevada para 60 °C, usando um tempo de 15 minutos para termalização, e novamente o espectro de fluorescência é colhido, isso configura um ciclo. Logo após completado um ciclo, a amostra é resfriada a 20 °C, com 15 minutos para termalização, e reinicia-se um novo ciclo. Na figura 5.4(c) são exibidos onze ciclos, e nota-se que a troca térmica pode ser repetidas por vários ciclos de aquecimento/resfriamento sem fadiga, revelando uma excelente reversibilidade da fluorescência do CD-DsCl.

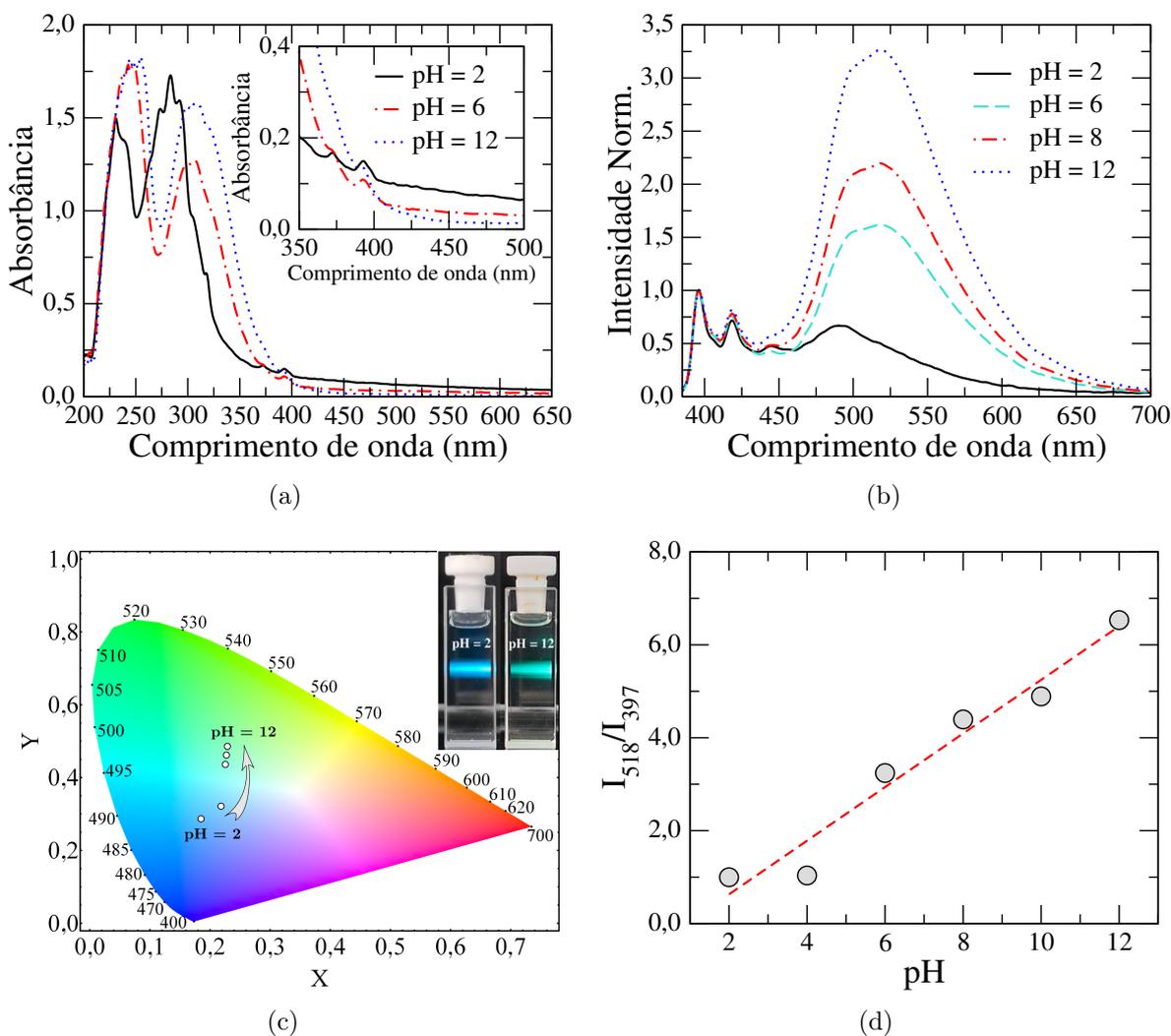
5.3 Efeito do pH nas propriedades espectroscópicas

Com o intuito de investigar a influência do potencial hidrogeniônico do meio nas propriedades espectrais do CD-DsCl, realizamos ensaios usando soluções Britton-Robison com diferentes valores de pH. A figura 5.5 exibe os resultados. Na figura 5.5(a) é verificado que o espectro de absorção da nanopartícula exibe uma dependência com o pH do meio, caracterizado por um deslocamento da banda de absorção para maiores comprimentos de onda a medida que o valor do pH aumenta, especificamente a banda originalmente centrada em 295 nm. Por outro lado, a cauda larga na região entre 350 nm e 550 nm parece ser pouco afetada pela variação de pH, resultando assim em uma sobreposição dessas fracas bandas de absorção com a banda $n \rightarrow \pi^*$ conforme o valor do pH cresce, figura 5.5(a). Esses resultados indicam uma alteração na diferença de energia entre os estados fundamental e excitado do CD-DsCl, devido a protonação/desprotonação dos grupos funcionais da superfície [43]. O espectro de fluorescência do CD-DsCl em diferentes valores de pH é mostrado na figura 5.5(b), o comprimento de onda de excitação foi $\lambda_{exc} = 337$ nm (laser de nitrogênio pulsado MNL-103 PD LTB Lasertechnik Berlin). Na figura 5.5(b) as intensidades foram normalizadas em $\lambda_{em} = 397$ nm. Como pode ser notado, as

5. PROPRIEDADES MULTIFUNCIONAIS DE PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE CLORETO DE DANSILA

72

Figura 5.5: (a) Espectros de absorção do CD-DsCl em diferentes valores de pH: pH = 2 (linha preta contínua), pH = 6 (linha tracejada vermelha) e pH = 12 (linha pontilhada azul). O quadro menor mostra que uma sobreposição de bandas de estados de borda e superfície ocorre conforme os valores de pH crescem. (b) Espectro de fluorescência normalizado em diferentes valores de pH: pH = 2 (linha preta contínua), pH = 6 (linha tracejada turquesa), pH = 8 (linha ponto-traço vermelha) e pH = 12 (linha pontilhada azul). (c) Diagrama de cromaticidade CIE 1931 para as emissões em diferentes valores de pH. (d) Razão I_{397}/I_{496} de emissão do CD-DsCl como função do pH. A linha vermelha tracejada representa a regressão linear da dependência de I_{397}/I_{496} com pH, com um coeficiente angular de 0,58 e $R^2 = 0,96$.



Fonte: Autor, 2021.

emissões das bandas centradas em $\lambda_{em} = 397$ nm, $\lambda_{em} = 418$ nm e $\lambda_{em} = 440$ nm não são modificadas pelo pH. Entretanto, um nítido deslocamento para o vermelho é observado na banda com emissão centrada em $\lambda_{em} = 496$ nm com o aumento do valor do pH. Para $\text{pH} \geq 6$ a emissão passa a ocorrer em $\lambda_{em} = 518$ nm, com uma significativa melhoria da intensidade de emissão a medida que o meio torna-se mais básico. É reportado na literatura

que a desprotonação de grupos carboxílicos em pontos quânticos de carbono dopados com nitrogênio leva a geração de novos estados de superfície com pequena diferença de energia entre os estados fundamental e excitado, formação de ligações π deslocalizadas e aumento de n elétrons [151, 152], surgindo então uma intensa fluorescência em comprimentos de onda mais longos. A modificação pronunciada do espectro de fluorescência do CD-DsCl pode ser verificada no diagrama de cromaticidade na figura 5.5(c), onde é possível notar o deslocamento das coordenadas cromomáticas a medida que o pH cresce e a contribuição da banda na região do verde torna-se predominante. Na figura 5.5(c) é possível ver uma fotografia das cubetas com soluções de CD-DsCl em $\text{pH} = 2$ e $\text{pH} = 12$, sob excitação laser. Definindo I_{518}/I_{397} como a razão de intensidade dos picos em $\lambda_{em} = 518$ nm e $\lambda_{em} = 397$ nm, a figura 5.5(d) mostra que I_{518}/I_{397} apresenta um comportamento linear como resposta a variação de pH ácido à básico, que fica evidenciada pela regressão linear (linha vermelha tracejada) que possui um coeficiente angular de 0,58 e $R^2 = 0,96$. Essa característica sinaliza que os pontos quânticos de carbono derivados de cloreto de dansila possui potencial para uso como sensor ratiométrico de pH.

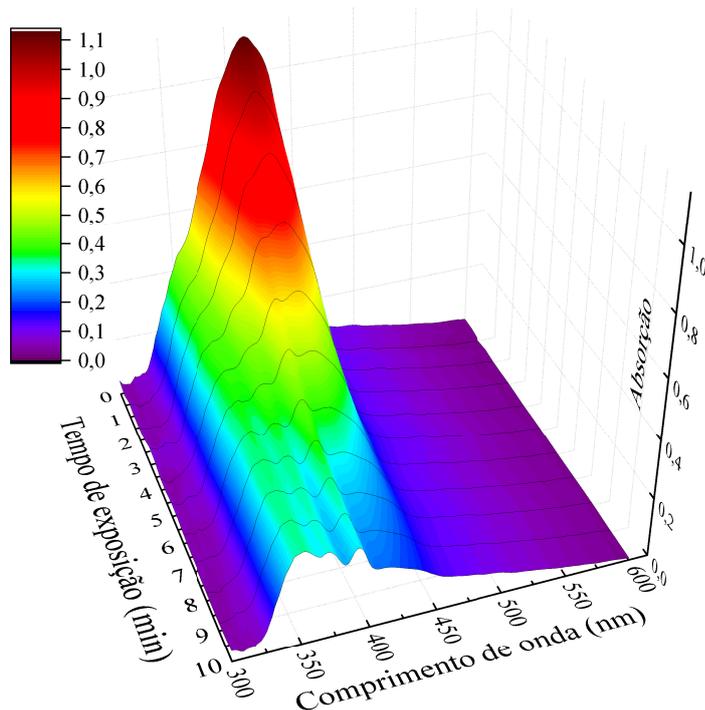
5.4 Geração de oxigênio singlete

A presença de um eficiente cruzamento de sistema entre estados excitados singlete e tripleto abre a possibilidade do uso de CD-DsCl como um fotossensibilizador para geração de oxigênio singlete. A produção de oxigênio singlete através de fotossensibilizador tem sido bastante explorada em aplicações biomédicas como um inativador de micro-organismos e terapia fotodinâmica de câncer [54]. Na figura 5.6(a) é exibido a evolução temporal do espectro de absorção da solução de 1,3-diphenlisobenzofuran (DPBF) contendo CD-DsCl sob excitação em $\lambda_{exc} = 532$ nm. Na figura 5.6(a) tem-se que as moléculas do DPBF agem como sequestradores de espécies de oxigênio singlete, sendo permanentemente oxidadas em *1,2-dibenzoylbenzene*. Como uma consequência, a banda de absorção do DPBF centrada em 415 nm é paulatinamente suprimida com aumento do tempo de exposição, indicando a geração de espécies reativas de oxigênio pelo CD-DsCl sob $\lambda_{exc} = 532$ nm. Na verdade, a geração de espécies radiativas de oxigênio é associada a transições $n \rightarrow \pi^*$ das ligações C = O, C – N, e C – S na superfície da nanopartícula, que contribui para a transferência de energia para as moléculas de oxigênio sob exposição à luz. Após

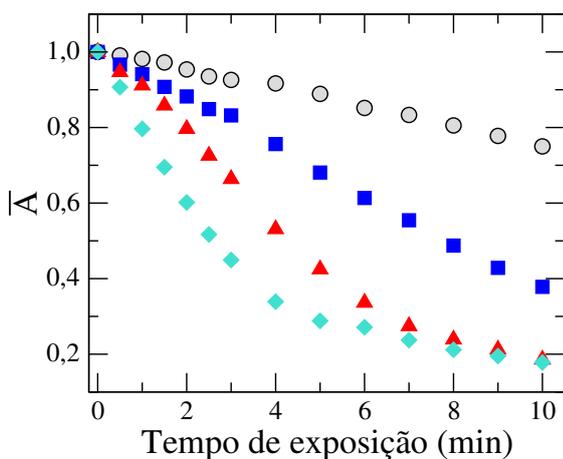
5. PROPRIEDADES MULTIFUNCIONAIS DE PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE CLORETO DE DANSILA

74

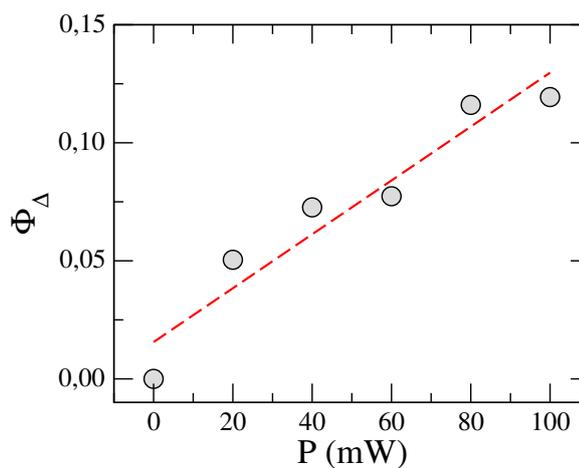
Figura 5.6: (a) Representação em 3D da evolução temporal dos espectros de absorção do DPBF contendo CD-DsCl, sob fotoexcitação em 532 nm. A intensidade da excitação foi fixada em 6.5 mW/cm^2 . (b) Absorção reescalada, \bar{A} , da solução DPBF e CD-DsCl em 415 nm, como função do tempo de exposição. Distintas intensidades foram consideradas: $I_0 = 0 \text{ mW/cm}^2$ (círculos cinza), $I_0 = 3,2 \text{ mW/cm}^2$ (quadrados azuis), $I_0 = 6,5 \text{ mW/cm}^2$ (triângulos vermelhos), e $I_0 = 13 \text{ mW/cm}^2$ (diamantes turquesa). (c) Rendimento quântico de geração de oxigênio singlete, Φ_{Δ} , do CD-DsCl como função do tempo de exposição. A linha tracejada vermelha representa uma regressão linear dos dados experimentais, com coeficiente angular de $7 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{mW}$ e $R^2 = 0.96$.



(a)



(b)



(c)

Fonte: Autor, 2021.

um longo intervalo de tempo de exposição, a banda de absorção do DPBF é totalmente transformada em cauda de absorção fraca, vinculada com os estado de superfície do CD-DsCl. Devido a sobreposição entre a banda de absorção centrada em 415 nm do DPBF e da banda de absorção dos estados de superfície do CD-DsCl, uma função de absorção reescalada, $(\bar{A}(\lambda, t))$, é definida para caracterizar a taxa de decomposição das moléculas de DPBF associadas com a fotogeração de espécies reativas de oxigênio,

$$\bar{A}(\lambda, t) = \frac{A(\lambda, t) - A_{CD}(\lambda, t)}{A(\lambda, 0) - A_{CD}(\lambda, 0)}. \quad (5.4)$$

Na expressão, $A(\lambda, t)$ é a absorção da solução DPBF contendo pontos quânticos de carbono em um comprimento de onda λ por um tempo de exposição t . $A_{CD}(\lambda, t)$ é a absorção da solução de CD-DsCl em EtOH/H₂O, 50/50 (v/v). Na figura 5.6(b) é apresentado a absorção reescalada das soluções de DPBF em função do tempo de exposição, considerando diferentes intensidade de excitação em $\lambda_{exc} = 532$ nm: $I_0 = 0$ mW/cm² (círculos cinza), $I_0 = 3,2$ mW/cm² (quadrados azuis), $I_0 = 6,5$ mW/cm² (triângulos vermelhos), e $I_0 = 13$ mW/cm² (diamantes turquesa). Na análise de degradação do DPBF foi observado $\lambda = 415$ nm, correspondente ao pico de absorção do DPBF. Em todos os casos, \bar{A} exhibe inicialmente um decrescimento linear com a evolução do tempo de exposição, com a taxa de degradação dependendo da intensidade de excitação. Foi observado que a absorção da solução de DPBF contendo CD-DsCl diminuiu mesmo na ausência da excitação, isso foi devido ao feixe de luz branca usada nas medidas de absorção. Vale salientar que as soluções de DPBF sem CD-DsCl permaneceram estáveis com e sem exposição a radiação com $\lambda_{exc} = 532$ nm, comprovando que a degradação surge com a inserção das nanopartículas. Visando determinar o rendimento quântico de geração de oxigênio singlete do CD-DsCl, o azul de metileno (AM) foi usado como fotossensibilizador de referência. O rendimento quântico de oxigênio singlete, Φ_{Δ} , pode ser obtida através de [153],

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{MB} \left[\frac{(k_{CD} - k_{CD}^0) \cdot F_{MB}}{k_{MB} \cdot F_{CD}} \right], \quad (5.5)$$

onde Φ_{MB} é o rendimento quântico de oxigênio singlete do AM ($\Phi_{MB} = 0.57$), k_{CD}^0 e k_{CD} são as taxas de decomposição do DPBF na presença do CD-DsCl para a situação sem exposição a radiação e com exposição, respectivamente. k_{MB} é a taxa de decomposição do DPBF na presença do azul de metileno, F_{MB} e F_{CD} são fatores de correção associados à

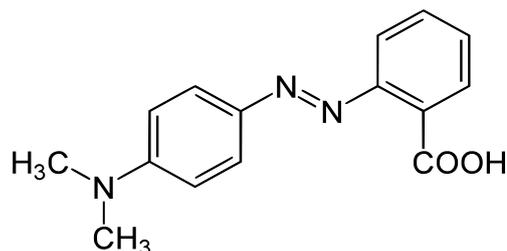
absorção da amostra no comprimento de onda de excitação. Na figura 5.6(c) pode ser visto que o rendimento quântico de oxigênio singleto do CD-DsCl apresenta um comportamento quase linear com o aumento da intensidade da excitação, variando entre 5% e 11%. Esse valores estão em concordância com publicações anteriores que reportam fotogeração de espécies reativas de oxigênio por pontos quânticos de carbono, que geralmente apresenta uma eficiência menor que o do fotossensibilizador usado como referência.

Portanto, os resultados obtidos nesse capítulo reafirma o grande potencial multifuncional que nanopartículas de carbono apresentam. De modo particular, o CD-DsCl apresentou um comportamento extraordinário de emissão em função do aumento de temperatura, propriedade que é bastante desejável na área de nanotermometria de tecidos biológicos. A existência de múltiplas bandas de fluorescência bem definidas permite uma análise ratiométrica, o que fornece uma melhor acurácia na análise dos dados reduzindo erros devido a particularidades de equipamento. A alteração das bandas de emissão na presença de meios com diferentes pH faz do CD-DsCl um bom candidato para aplicação como sensor de pH. E por fim, embora apresente um rendimento modesto, a geração de oxigênio singleto pode ser explorada para uma possível aplicação em terapia fotodinâmica.

6

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE AZOCORANTES

A contaminação da água com efluentes industriais contendo corantes azo tem sido uma preocupação constante da comunidade científica [154, 155], pois esses compostos orgânicos representam um risco à saúde de seres humanos e espécies animais devido à sua genotoxicidade e carcinogenicidade [156, 157, 158, 159]. Mesmo assim, os corantes azóicos são reconhecidos como uma das mais importantes classes de cromóforos orgânicos, sendo amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, têxtil e de couro [160, 161]. A principal razão é que a síntese dos azocorantes é relativamente simples, de forma que suas propriedades físico-químicas podem ser modificadas adequadamente usando diferentes grupos doadores e receptores de elétrons [161]. Como consequência, os azocorantes podem exibir alta absorção em diferentes faixas do espectro visível, grande fotoestabilidade e boa solubilidade em solventes polares e apolares [162]. A fim de reduzir o risco de contaminação da água, vários esforços têm sido feitos no desenvolvimento de métodos eficazes para degradar esses cromóforos, com especial atenção aos procedimentos de baixo custo e ecologicamente corretos que proporcionam a reutilização dos materiais orgânicos resultantes [163, 164]. Neste contexto, estudos recentes têm explorado os processos de degradação de corantes orgânicos para a síntese de nanomateriais [165, 166]. Um exemplo proeminente é a utilização do método de síntese hidrotérmica para produzir pontos de carbono (CD) a partir de corantes conjugados, visando o desenvolvimento de sondas fluorescentes [167], sensores químicos [168] e fotossensibilizadores para geração de espécies reativas de

Figura 6.1: Estrutura molecular do azocorante vermelho de metila.

Fonte: Autor, 2021.

oxigênio (ROS) [169]. De fato, o uso de precursores de corantes tem surgido como uma alternativa viável para a produção de pontos quânticos de carbono apresentando emissão de comprimento de onda longo, com grande potencial em aplicações biofotônicas [137].

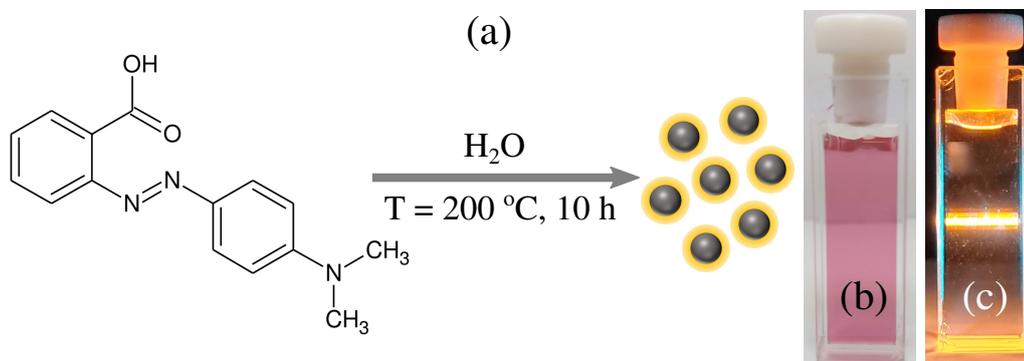
Neste contexto, o presente capítulo é dedicado à investigação das propriedades físico-químicas de pontos quânticos de carbono (CDMR) obtidos a partir de síntese hidrotérmica, utilizando o vermelho de metila (MR) como precursor. A figura 6.1 mostra a estrutura química do vermelho de metila. Este azocorante foi escolhido por não ser solúvel em água e por não apresentar fluorescência na região do visível. Desta forma, é possível verificar se o resultado da síntese hidrotérmica produz um material fluorescente e estável em solução aquosa. Os resultados obtidos nesse capítulo podem indicar se os azocorantes são bons precursores para geração de pontos quânticos de carbono, dando uma alternativa para reciclagem de efluentes industriais contaminados com essas substâncias.

6.1 Síntese

Dentre as rotas de síntese descritas na literatura, nesse trabalho foi usada a rota de síntese hidrotérmica, que apresenta-se como uma opção relativamente simples e eficaz para produção de pontos quânticos de carbono. Como material precursor, foi selecionado o azocorante vermelho de metila, que possui massa molecular de 269,3 g/mol, ponto de fusão entre 179 - 182 °C, e apresenta um pico de absorção em torno de 520 nm. Esta absorção na região do verde é associada com o processo de fotoisomerização molecular, típica de compostos que apresentam o grupo azo. O azocorante vermelho de metila (2-(4-Dimethylaminophenylazo)benzoic acid) foi adquirido na Sigma-Aldrich, sendo usado sem nenhum tipo de processo de purificação. Apesar da molécula de vermelho de metila possuir um grupo carboxila (COOH) ligado aos anéis, o composto não é solúvel em água.

A figura 6.2(a) ilustra a rota de síntese para obtenção dos pontos quânticos de carbono derivados do vermelho de metila, denominados de CDMR. O processo de síntese consiste na dispersão de 30 mg do corante vermelho de metila em 10 mL de água destilada. A mistura é colocada em um recipiente de Teflon[®] com capacidade nominal de 25 mL. A câmara de Teflon[®] é inserida em um reator de aço inoxidável, que é adequado para processos de síntese por via hidrotérmica. Uma vez fechado, o conjunto reator/Teflon[®] é levado a um forno microcontrolado, sendo aquecido até atingir 200 °C. Após alcançar a temperatura desejada, o reator permanece no forno por até 10 horas. Concluído o tempo de síntese, o reator é retirado do forno e resfriado em temperatura ambiente. Após o resfriamento, o material é retirado do Teflon[®] e centrifugado por 15 min a 15000 rpm. Em seguida, o líquido resultante é filtrado em membrana de 0,22 μm . Após esse procedimento, obtêm-se uma solução de tonalidade avermelhada contendo os pontos quânticos de carbono derivados do azocorante de vermelho de metila (CDMR), figura 6.2(b). Medidas de liofilização mostraram que a concentração de pontos quânticos na solução é de 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A solução obtida na síntese apresenta $\text{pH} = 7$ e uma boa luminescência sob excitação em 488 nm, como mostra a figura 6.2(c).

Figura 6.2: (a) Rota de síntese de pontos quânticos de carbono derivados do azocorante vermelho de metila (CDMR); Solução aquosa de CDMR sob (b) luz ambiente, (c) excitação com laser em 488 nm.



Fonte: Autor, 2021.

6.2 Aparatos experimental

6.2.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia e tamanho do CDMR foram caracterizados pelo microscópio eletrônico de transmissão JEM-2100 (JEOL, Tokyo, Japan), operando em 200 kV. Antes de executar a medida, a solução de PQC foi submetida a banho ultrassônico por 15 minutos, e logo em seguida depositado em telas de cobre (malha de 400) revestidas com carbono (Ted Pella Inc., Redding, CA, EUA). As telas de cobre revestidas com carbono foram secas ao ar. As medidas de microscopia eletrônica de alta resolução foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás.

6.2.2 Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS)

A análise química da superfície do CDMR foi realizada por meio da técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS). As medidas foram realizadas pelo grupo do professor Valmor Mastelaro do Instituto de Física de São Carlos, da Universidade de São Paulo. Foi usado um espectrômetro XPS convencional (ScientaOmicron ESCA+) com um analisador hemisférico de alto desempenho (EAC2000), com radiação monocromática Al $K\alpha$ ($h\nu = 1486,6$ eV) como fonte de excitação. A pressão operacional na câmara de ultra-alto vácuo (UHV) durante a análise foi em torno de 10^{-9} Pa. Os espectros de alta resolução XPS foram registrados na energia de passagem constante de 20 eV, com 0,05 eV por etapa. Um neutralizador de carga (CN10) foi usado para excluir os efeitos de carga de superfície. A análise dos espectros de XPS foi realizada por meio do software CASA XPS.

6.2.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Com objetivo de identificar os grupos funcionais existentes nos pontos quânticos, foram realizadas medidas de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os dados foram obtidos por meio de um espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige-21, operando entre 4000 e 400 cm^{-1} , com resolução espectral de 4 cm^{-1} e 70 varreduras.

6.2.4 Espectroscopia UV-Vis

O espectro de absorção nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) do CDMR foi adquirido usando um espectrômetro USB2000 (Ocean Optics), com uma fonte de luz DH2000 (Ocean Optics). A suspensão de CDs foi diluída 10 vezes e o espectro de absorção foi registrado na faixa de 200 nm a 800 nm. Para este ensaio, foi feito uso de impressões 3D auxiliares no aparato experimental, detalhes das peças podem ser encontrados no Anexo A.

Os espectros de emissão e excitação foram registrados em um espectrofluorímetro Nano Log TM (HORIBA®) equipado com uma lâmpada Xenon (CW 450 W) como fonte de excitação e uma detecção por fotomultiplicadora (modelo R928P). Os decaimentos de luminescência foram realizados usando o mesmo fluorímetro, tendo como fonte de excitação um laser diodo pulsado em picossegundos (Delta Diode) e comprimento de onda em 366 nm. Mais uma vez, a detecção foi realizada por fotomultiplicadora, mas na configuração TCSPC (*Time-Correlated Single Photon Counting*). Todas as medições de tempo de vida foram realizadas em temperatura ambiente, com os mesmos parâmetros instrumentais. Os espectros foram corrigidos pela intensidade da lâmpada, usando um fotodiodo como detector de referência.

No estudo térmico, a amostra foi excitada por um laser com comprimento de onda de 405 nm, e o aquecimento das amostras líquidas foi realizado com auxílio de pastilhas peltier conectadas a fonte de alimentação Keithley 2200, adotando o mesmo protocolo usado para o CD-DsCl, mostrado no capítulo 5.

6.2.5 Medidas de Viabilidade Celular

Para determinar a biocompatibilidade dos pontos quânticos de carbono obtidos a partir do vermelho de metila, foram realizados ensaios de viabilidade celular em células HeLa em um meio rico em CDMR. Essas medidas foram realizadas pelo grupo do professor Emerson Rodrigo da Silva, da Universidade Federal de São Paulo.

As células HeLa foram colhidas com a ajuda de uma solução contendo 0,25% de tripsina e 53 mM de EDTA e semeadas em placas de 96 poços na quantidade de 5×10^3 células por poço (100 μ L). As células foram incubadas por 4 h, a 37 °C e 5% de CO₂, na presença de pontos quânticos em concentrações variando de 10 mg/mL a 440 mg/mL. A seguir, as amostras foram incubadas sob agitação com 500 μ g/mL de MTT (brometo de

3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) para permitir a redução do MTT em cristais de formazan dentro do células. Os cristais resultantes foram dissolvidos em DMSO e as absorvâncias correspondentes foram medidas a 570 nm. Todos os experimentos foram repetidos em triplicata e comparados com controles cultivados nas mesmas condições.

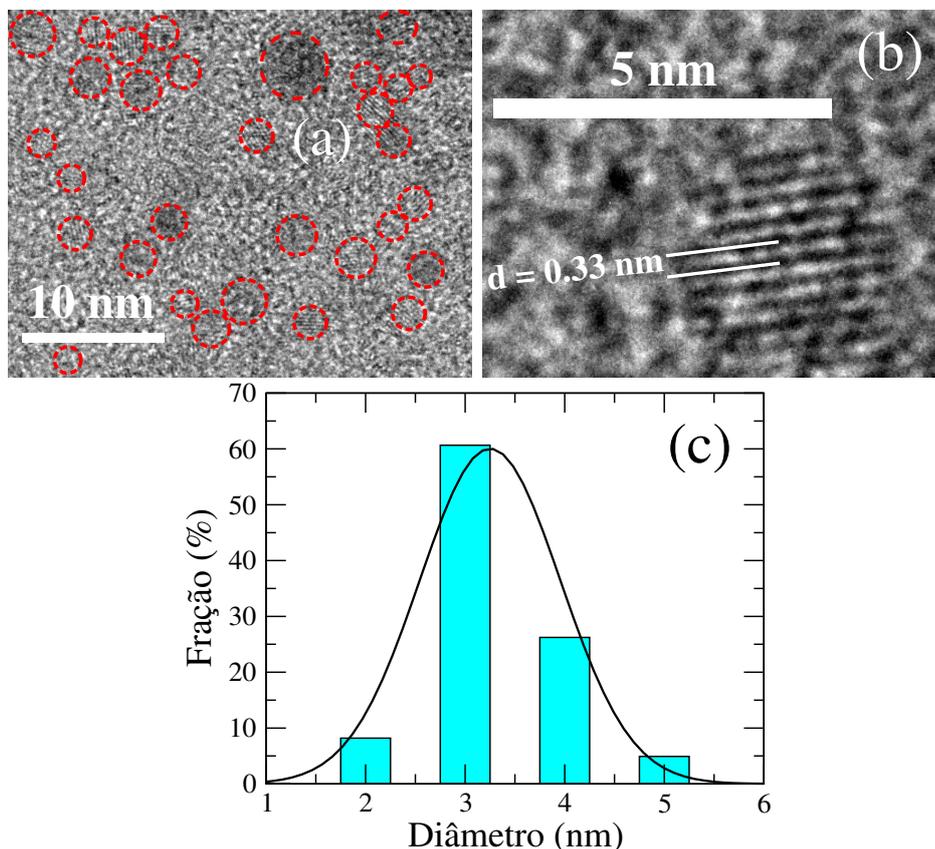
6.2.6 Cultura de células e Imageamento Confocal

Com objetivo de verificar se os pontos quânticos de carbono derivados do vermelho de metila podem ser utilizados em imageamento de células, foram realizadas medidas de microscopia confocal de fluorescência em células HeLa. O cultivo das células e a realização das medidas de microscopia confocal de fluorescência foram realizadas pelo grupo do professor Emerson Rodrigo da Silva, da Universidade Federal de São Paulo. Os detalhes dos procedimentos experimentais são descritos a seguir.

As células HeLa foram cultivadas em meio DMEM (*Dulbeccos Modified Eagle Medium*), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2 mM de glutamina (ThermoFisher). 5×10^4 células foram depositadas sobre lamínulas previamente esterilizadas colocadas no fundo de cada poço de uma placa de 24 poços. As placas foram mantidas por 24 horas em câmara umidificada, com 5% de CO₂ a 37 °C para permitir a adesão das células às lamínulas. As células foram então incubadas com soluções de DMEM sem soro, contendo a respectiva concentração de CDMR por 24 horas dentro de uma incubadora de células. Ao final do período de incubação, a solução DMEM/CDMR foi removida e cada poço foi lavado 3 vezes com PBS (solução salina tamponada por fosfato) para remover o meio e o material não ligado. As células foram fixadas com paraformaldeído a 4% por 10 minutos, lavadas por três vezes novamente, sendo incubadas com DAPI (Invitrogen) em PBS por 5 minutos. A seguir, as células foram lavadas com PBS novamente para remover qualquer excesso de DAPI na lamínula. Para a marcação da actina com Phalloidin Texas Red (Invitrogen), as células fixadas foram permeabilizadas com 0,1% Triton-X por 15 min, lavadas com PBS por 2 vezes e incubadas com 6 μM de Phalloidin-Texas red por 1 hora em temperatura ambiente. Finalmente, as lamínulas foram lavadas novamente 3 vezes com PBS e montadas em lâminas com meio de montagem anti-queenching Fluoromount-G (Thermo Fisher). As imagens foram realizadas em um microscópio confocal Leica SP8. As amostras foram excitadas com laser de diodo em 488 nm.

6.3 Caracterização

Figura 6.3: (a) Microscopia eletrônica de transmissão do CDMR. (b) Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução. É possível ver o espaçamento entre planos em torno de 0,33 nm. (c) Distribuição dos diâmetros dos pontos quânticos de carbono.

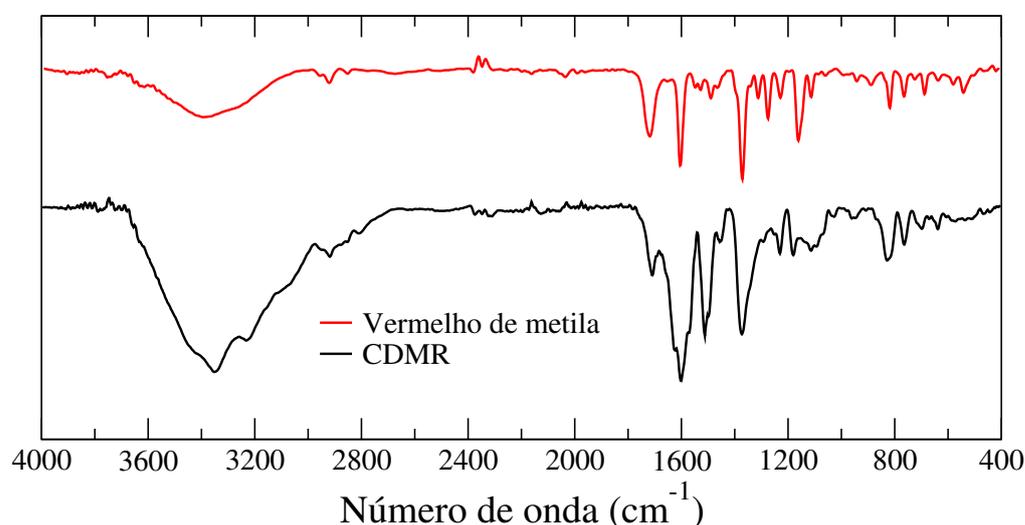


Fonte: Autor, 2021.

A morfologia e tamanhos dos CDMR foram investigadas por meio de microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (MET-AR). Na figura 6.3(a), tem-se a imagem de MET dos pontos quânticos de carbono derivados do vermelho de metila, onde é possível ver as nanopartículas formadas pelo processo de síntese hidrotermal. As nanopartículas exibem boa dispersão, com homogeneidade de forma e uma geometria quase esférica, com diâmetros variando entre 2 nm e 5 nm. Na figura 6.3(b), a imagem de MET de alta resolução mostra uma estrutura cristalina com espaçamento entre planos em torno de 0,33 nm, correspondendo ao plano $\langle 002 \rangle$ do núcleo grafítico. Este resultado indica a formação de domínios de carbono híbridos sp^2 no núcleo [54, 170, 14]. A análise das imagens de MET revelou que os pontos quânticos de carbono possuem um diâmetro médio de 3,3 nm. Na figura 6.3(c), é

mostrada a distribuição e tem-se as frações dos diâmetros que as nanopartículas apresentam, onde é possível notar que quase 90% dos PQC apresentaram diâmetros entre 3 e 4 nm. Ding e colaboradores mostraram que a distribuição de tamanhos pouco contribui nas características fluorescentes de pontos quânticos de carbono [42], sendo os grupos funcionais presentes na superfície das nanopartículas os principais responsáveis. Essa é uma das particularidades que diferem os pontos quânticos de carbono dos tradicionais pontos quânticos de semicondutores, onde os efeitos de tamanho finito modificam de forma significativa os espectros de emissão.

Figura 6.4: Espectros FTIR do corante vermelho de metila (curva vermelha) e do ponto quântico de carbono CDMR.



Fonte: Autor, 2021.

Para identificação dos grupos funcionais presentes na superfície das nanopartículas CDMR, foram realizadas medidas de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os detalhes de preparação da amostra estão descritos a seguir. Usando um dessecador acoplado com bomba de vácuo, 1 mL da solução aquosa de CDMR foi mantida em um meio de pressão reduzida até a completa evaporação da água. O material seco foi então ressuspensão em 500 μL de acetona, numa solução adequada para realização de medidas de FTIR no modo ATR (*Attenuated total reflectance*). Uma gota dessa solução foi depositada no cristal ATR (ZnSe), com as medidas sendo realizadas após a evaporação da acetona. Na figura 6.4, são mostrados os espectros FTIR do corante vermelho de metila (curva vermelha) e do ponto quântico CDMR (curva preta), onde percebe-se a diferença explícita entre os espectros do precursor e da nanopartícula. Em ambos os

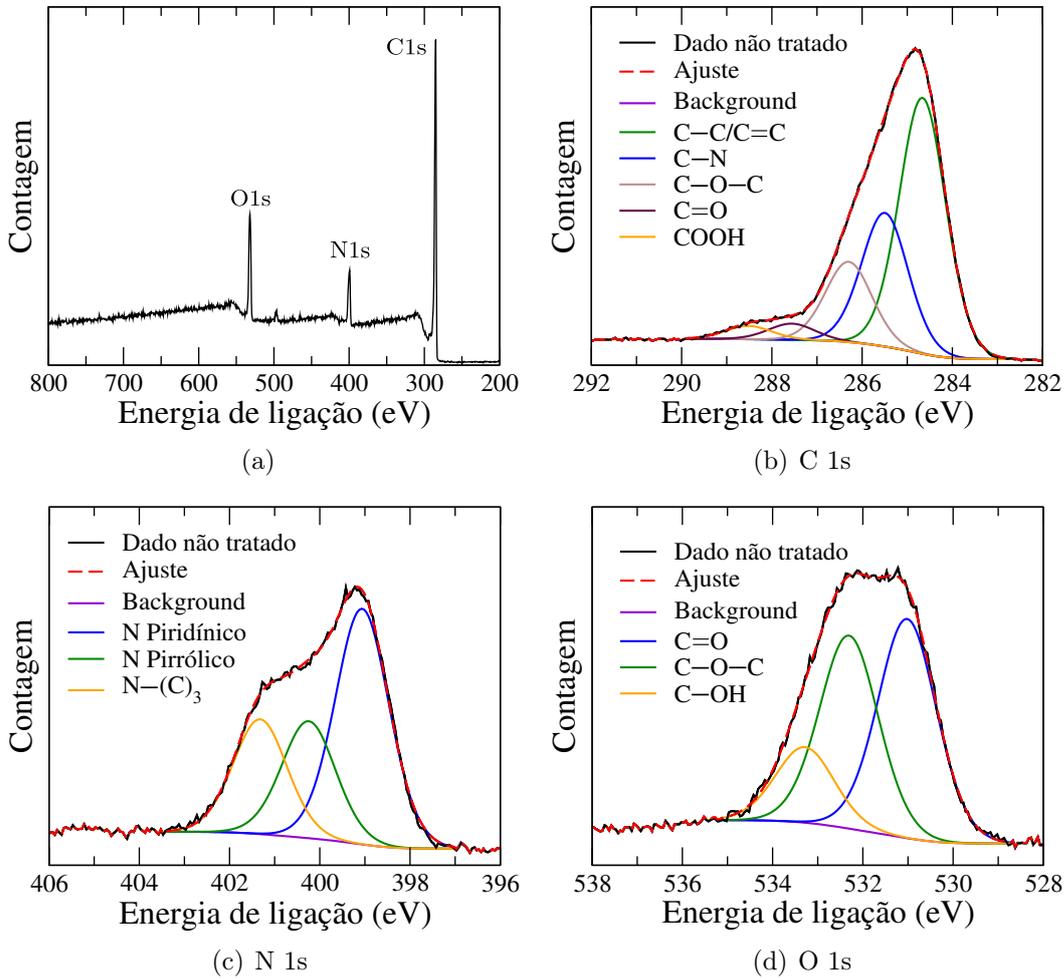
espectros, é possível notar a presença de hidroxila -OH e amina N-H (bandas em torno de $3400\text{--}2400\text{ cm}^{-1}$ e 3400 cm^{-1} , respectivamente [83]). A partir da figura 6.4 é possível identificar também estiramento do grupo C=C , banda em 1509 cm^{-1} , estiramento N=O em 1367 cm^{-1} , dobramento N-H em 1588 cm^{-1} , entre outros. A tabela 6.1 apresenta o resumo completo dos grupos funcionais identificados no CDMR.

Tabela 6.1: Resumo dos grupos funcionais presentes nos pontos quânticos de carbono CDMR, identificados a partir do espectro FTIR da figura 6.4.

Banda (cm^{-1})	Grupo	Tipo
3340	-OH	Estiramento
3230	$\text{-N-H (NH}_2\text{)}$	Estiramento
2924	C-H	Estiramento
2807	C-H	Estiramento
1588	$\text{N-H (NH}_2\text{)}$	Dobramento
1509	sp^2 -hibridizado C=C	Estiramento
1367	N=O	Estiramento
1173	C-O	Estiramento
825	C-H	Dobramento
762	C-H	Dobramento
636	$\text{N-H (NH}_2\text{)}$	Dobramento

Medidas de espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS) foram utilizadas para uma melhor compreensão dos grupos de superfície presentes no CDMR. Para a medida de XPS, foi depositado $100\ \mu\text{L}$ da solução aquosa de CDMR sob uma lâmina de vidro soda-lime limpa, com dimensões de $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$. Após a deposição por gotejamento, foi realizada a secagem em ambiente de baixa pressão por 30 minutos, usando um dessecador acoplado a um bomba de vácuo. Essa operação foi repetida três vezes em cada lâmina, formando um filme de CDMR sobre o vidro. Na figura 6.5(a), é apresentado o espectro completo de XPS para amostra de CDMR, onde é possível notar a existência de três picos típicos característicos: C 1s em $284,9\text{ eV}$, N 1s em 400 eV e O 1s em $531,8\text{ eV}$ [42, 92, 95]. Nas figuras 6.5(b) a 6.5(d), tem-se os espectros de alta resolução. A banda C 1s , figura 6.5(b), pode ser decomposta em cinco picos correspondentes a C-C/C=C ($284,6\text{ eV}$), C-N ($285,5\text{ eV}$), C-O-C ($286,6\text{ eV}$), carbono carbonil (C=O , $287,5\text{ eV}$) e carbonos carboxil (COOH , $288,5\text{ eV}$) [95]. Na tabela 6.2 constam os percentuais dos grupos funcionais do espectro de C 1s , onde o grupo C-C/C=C apresenta o maior percentual com $51,3\%$, seguido pelo grupo C-N com $26,8\%$, C-O-C com $16,1\%$, C=O com $3,2\%$ e COOH com $2,6\%$. A banda N 1s pode ser decomposta em três picos (figura 6.5(c)): 399 eV correspondente a N

Figura 6.5: (a) Espectro de XPS do CDMR com a presença de três picos típicos. Espectros de XPS de alta resolução (b) C 1s, (c) N 1s e (d) O 1s.



piridínico, 400,2 eV para N pirrólico e 401,3 para N-(c)₄ [95, 171, 42]. E a banda O 1s, figura 6.5(d), contém três picos em 531 eV, 532,3 eV e 533,3 eV, para C=O, C-O-C e C-OH, respectivamente [95]. Estes resultados mostram que a superfície do CDMR é rica em nitrogênio, com a presença de grupos que favorecem a emissão nas regiões do verde e vermelho.

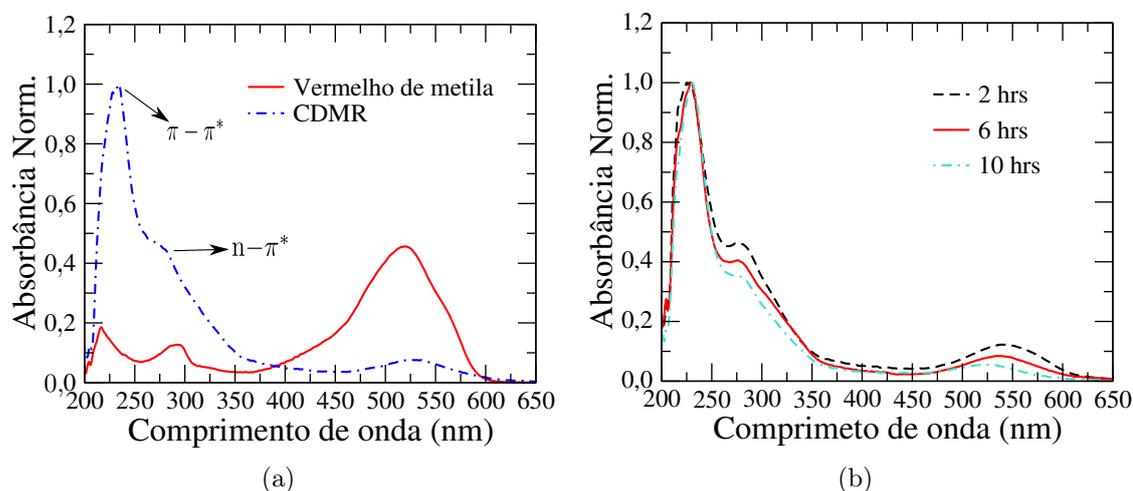
Tabela 6.2: Conteúdo percentual dos diferentes grupos funcionais do espectro de C 1s, figura 6.5(b).

Ligação	%	Energia (eV)
C-C/C=C	51,3	284,7
C-N	26,8	285,5
C-O-C	16,1	286,3
C=O	3,2	287,6
COOH	2,6	288,5

6.4 Propriedades Espectroscópicas

Seguindo a caracterização das nanopartículas CDMR, foram realizadas medidas de absorção, emissão e tempo de vida. Para estes experimentos, foi preparado uma diluição da solução aquosa de CDMR em água destilada na proporção de 1:9. Foram usadas cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico. Todas as medidas foram realizadas em temperatura ambiente.

Figura 6.6: (a) Espectros de absorção do CDMR (curva azul pontilhada-tracejada) e do azocorante vermelho de metila (curva vermelha contínua). O processo de síntese muda drasticamente a absorção do material de partida. (b) Espectro de absorção do CDMR como 2 horas de síntese (curva preta tracejada), 6 horas de síntese (curva vermelha contínua) e 10 horas de síntese (curva pontilhada-tracejada).



Fonte: Autor, 2021.

Na figura 6.6(a), observa-se os espectros de absorção do azocorante vermelho de metila (linha vermelha contínua) e do CDMR (linha azul pontilhada-tracejada). Como o vermelho de metila é insolúvel em água, o espectro absorção foi realizado com etanol como solvente. O corante apresenta baixa absorção na região do UV com bandas centradas em 215 nm e 292 nm, e uma forte absorção no visível com banda centrada em 520 nm. Como dito anteriormente, a banda em 215 nm corresponde a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, a banda centrada em 292 corresponde às transições $n \rightarrow \pi^*$, enquanto a banda centrada em 520 nm está associada à fotoisomerização do vermelho de metila. A comparação entre os espectros deixa explícito que houve uma grande alteração no material orgânico durante o processo hidrotérmico. Diferente do azocorante, as nanopartículas produzidas são altamente solúveis em água, o que é desejável para aplicação em meios biológicos. Como é possível observar na curva azul da figura 6.6(a), os pontos quânticos

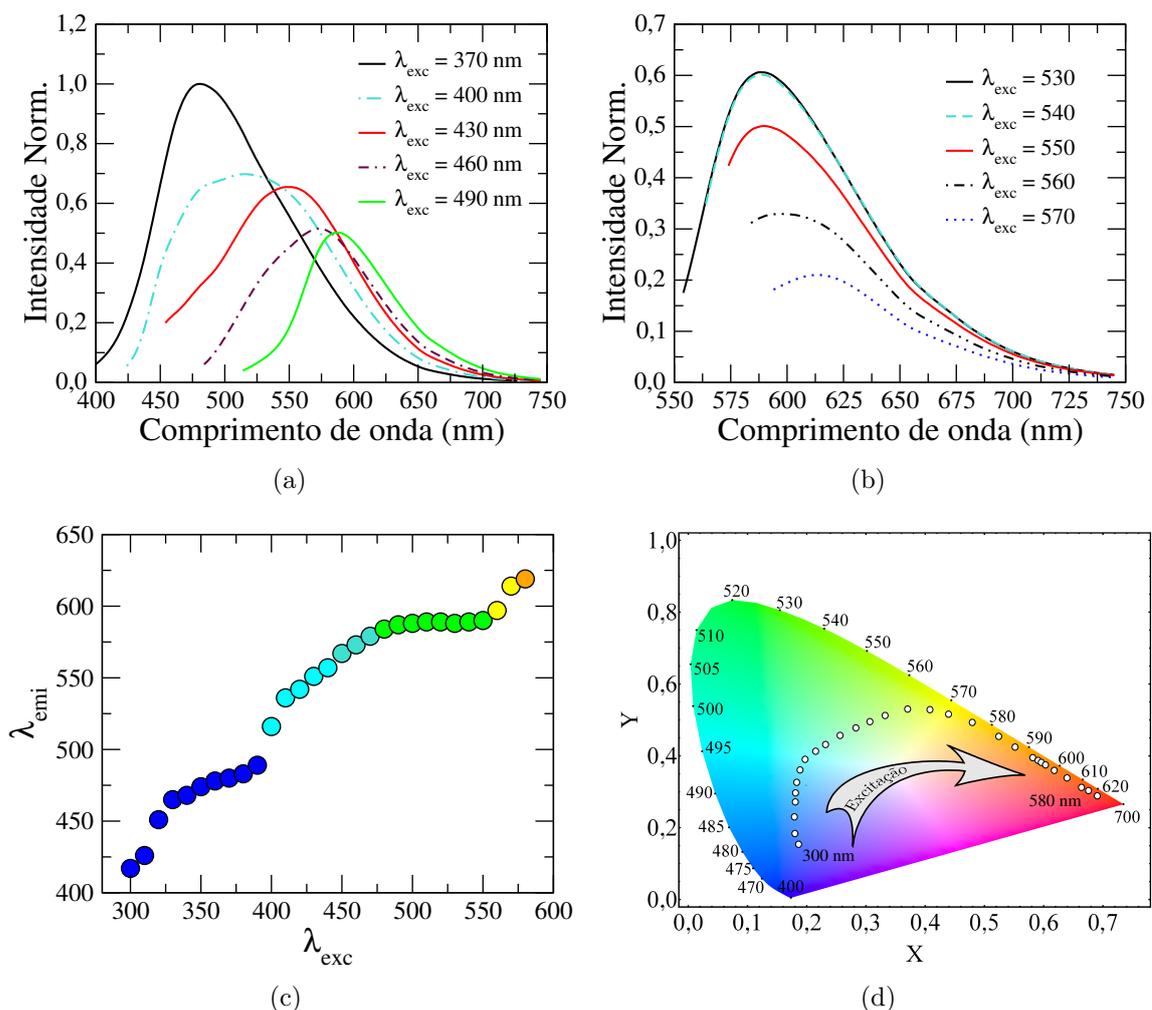
de carbono derivados do vermelho de metila apresentam uma banda centrada em 230 nm, correspondente a transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$ da rede policíclica do núcleo, formada por carbonos com hibridização sp^2 [54, 53, 60]. Uma segunda banda é centrada em 275 nm, sendo associada a transições $n \rightarrow \pi^*$. Esta transição envolve orbitais não ligantes de heteroátomos conectados ao núcleo [54, 60]. De maneira semelhante ao que acontece com outros pontos quânticos de carbono encontrados na literatura, o espectro de absorção do CDMR apresenta uma cauda que se estende por todo o espectro visível e é característica desse tipo de material [53]. Contudo, nota-se a existência de uma banda centrada em 530 nm, sendo associada aos estados de superfície. Tais estados de superfície estão relacionados com fragmentos do material precursor [42], que se conectam na superfície dos pontos quânticos de carbono. Mais especificamente, a absorção do CDMR na região visível do espectro eletromagnético está vinculada aos defeitos de superfície (grupos de superfície) [42], e impactam diretamente nas propriedades emissivas.

Foi investigado também como o tempo de síntese impacta no espectro de absorção do CDMR. Na figura 6.6(b), é possível observar os espectros de absorção para diferentes períodos de síntese: duas horas (curva preta tracejada), seis horas (curva vermelha contínua) e dez horas (curva pontilhada-tracejada). Com apenas duas horas de síntese, a forte absorção no visível, característica do vermelho de metila, desaparece. A partir de então, com o prolongamento do tempo de síntese, nota-se uma redução da banda centrada em 275 nm. Além disso, observa-se que uma pequena banda na região de 545 nm desloca-se para menores comprimentos de onda à medida que o tempo de síntese aumenta. Esse resultado indica que o aumento no tempo de síntese afeta mais diretamente os grupos funcionais da superfície, enquanto o núcleo grafítico não exhibe grandes mudanças.

Uma das principais características da maioria dos pontos quânticos de carbono é a sua emissão dependente da excitação. Esse comportamento é observado no CDMR, como mostra a figura 6.7. Para excitações com comprimentos de onda entre 370 nm e 490 nm, observa-se que o espectro de emissão apresenta um deslocamento de Stokes de 100 nm, com o pico de emissão se deslocando para o vermelho quando a energia do fóton de excitação diminui, como mostra a figura 6.7(a). Isto indica que parte da energia adquirida pela absorção de um fóton é dissipada nos níveis vibracionais mais altos, até chegar ao estado excitado de mais baixa energia e resultar na emissão de um fóton de menor energia. A fluorescência do CDMR apresenta espectros largos que abrangem quase toda região do

visível, e de modo geral, o formato dos espectros assemelham-se com uma gaussiana. Em diversos trabalhos, nota-se que os pontos quânticos de carbono apresentam uma “janela de excitação” onde há maior emissão [172, 173, 174]. Contudo, a emissão do CDMR cresce significativamente para excitações próximas a 530 nm, que pode ser considerada como uma “segunda janela de excitação”. Na figura 6.7(b), é exibida a emissão do CDMR, sob excitação na região entre 530 nm e 570 nm. Nota-se que há um aumento na intensidade de emissão, que chega a alcançar cerca de 60% da máxima intensidade de emissão observada, que foi sob excitação em 370 nm. Esse incremento na intensidade de emissão é um reflexo do aumento na probabilidade de absorção na região entre 500 nm e 550 nm,

Figura 6.7: (a) Espectros de emissão sob excitação entre 370 nm e 490 nm. (b) Espectros de emissão sob excitação entre 530 nm e 570 nm. (c) Comprimento de onda de maior emissão, λ_{em} , em função do comprimento de onda de excitação, λ_{exc} . (d) Diagrama cromático CIE 1931 da fluorescência do CDMR, para diferentes comprimentos de onda de excitação.

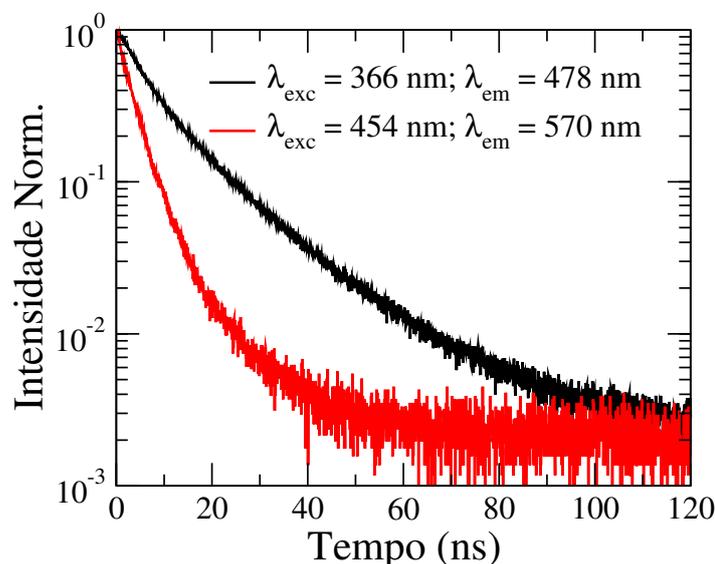


Fonte: Autor, 2021.

observado na figura 6.6(a). Para $\lambda_{exc} \geq 540$ nm, a intensidade da emissão torna a cair e exibe um deslocamento de Stokes reduzido, como pode ser visto na figura 6.7(b). A dependência da emissão com excitação fica ainda mais explícita na figura 6.7(c), onde tem-se o comprimento de onda correspondente à maior intensidade de emissão, λ_{em} , em função do comprimento de onda de excitação, λ_{exc} . É possível verificar uma variação quase contínua do máximo de emissão, λ_{em} , à medida que λ_{exc} cresce na região entre 300 nm e 580 nm. No entanto, é possível observar a ocorrência de pequenos saltos em λ_{em} , para $\lambda_{exc} = 320$ nm, 400 nm e 570 nm. Esses resultados indicam uma grande variação no grau de oxidação dos estados de superfície dos pontos quânticos de carbono derivados do vermelho de metila. Isso indica que não há uma seletividade das nanopartículas sintetizadas, com a produção de pontos quânticos de carbono com diferentes graus de oxidação superficial. Na figura 6.7(d), é mostrado o diagrama cromático CIE 1931, com as coordenadas cromáticas dos espectros de emissão observados a medida que varia-se λ_{exc} entre 300 nm e 580 nm. Com base na figura, nota-se que é possível sintonizar a cor da fluorescência do CDMR, no espectro visível, ajustando apenas o comprimento de onda de excitação. Durante os exames realizados foi constatado uma boa fotoestabilidade, que favorece a aplicação do CDMR em dispositivos tecnológicos.

A figura 6.8 exibe o transiente na intensidade de emissão do CDMR, sob excitação em dois comprimentos de ondas distintos: 366 nm e 454 nm. Para essas excitações, os transientes na intensidade da emissão foram monitorados nos comprimentos de onda em que a emissão estacionária foi máxima: $\lambda_{em} = 478$ nm (curva preta), para $\lambda_{exc} = 366$ nm; $\lambda_{em} = 570$ nm (curva vermelha), para $\lambda_{exc} = 454$ nm. Para $\lambda_{exc} = 366$ nm, o decaimento é caracterizado por múltiplas exponenciais, indicando que múltiplos estados foram excitados [174]. Para $\lambda_{exc} = 454$ nm, a emissão também apresenta um decaimento multiexponencial, mas mais rápido do que para excitação $\lambda_{exc} = 366$ nm. Esse resultado sinaliza que a síntese de pontos quânticos de carbono a partir do vermelho de metila produz nanopartículas com diferentes graus de oxidação superficial. Resultados similares têm sido reportados para pontos quânticos de carbono sintetizados a partir do composto parafenildiamina [42], onde foi possível separar as frações de nanopartículas com diferentes graus de oxidação a partir do processo de cromatografia por coluna de sílica. Baseado neste trabalho, é bastante provável que o CDMR seja formado por nanopartículas que apresentem diferenças em seus estados de superfície.

Figura 6.8: Transiente na intensidade de emissão do CDMR sob fotoexcitação em diferentes comprimentos de onda: $\lambda_{exc} = 366$ nm com $\lambda_{em} = 478$ nm (curva preta); e $\lambda_{exc} = 454$ nm e $\lambda_{em} = 570$ nm (curva vermelha). Em ambos os casos, o transiente na emissão apresenta um comportamento multiexponencial



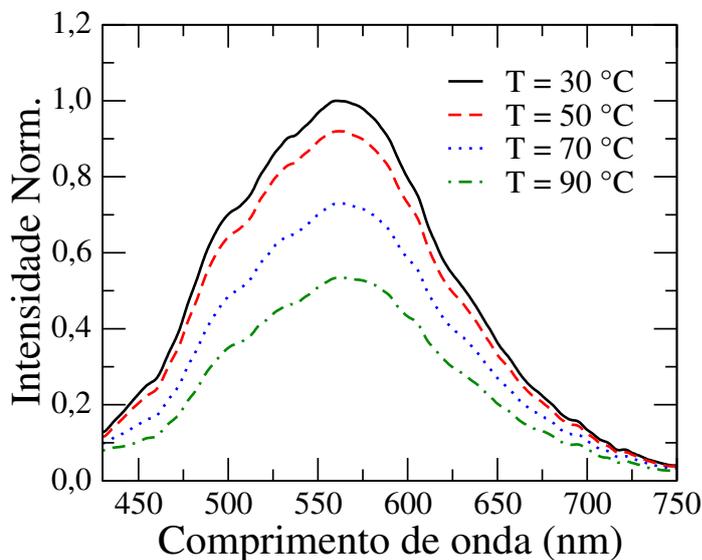
Fonte: Autor, 2021.

6.5 Propriedades Térmicas

Esta seção será dedicada ao estudo dos efeitos térmicos sobre as propriedades fluorescentes do CDMR. Para esse ensaio, 140 μ L da solução original de CDMR foram diluídos em água destilada, em uma proporção de volume de 2:8. Foi utilizado um laser diodo em 405 nm como fonte de excitação. A figura 6.9 mostra os espectros de emissão para diferentes valores de temperatura, T , da solução aquosa de CDMR: $T = 30$ °C (curva preta), $T = 50$ °C (curva vermelha tracejada), $T = 70$ °C (curva azul pontilhada) e $T = 90$ °C (curva verde tracejada-pontilhada). Como pode-se observar, a intensidade da emissão do CDMR diminui de forma significativa à medida que a temperatura do ambiente cresce, mas sem alteração na distribuição espectral da emissão. Nesse caso, o aumento da temperatura tende a suprimir o processo de decaimento radiativo, sem modificar a lacuna de energia entre estado fundamental e excitado. Isto pode estar relacionado a diferentes fatores. Por exemplo, a redução na intensidade de emissão pode estar relacionada com um aumento na probabilidade de cruzamento intersistema de um estado excitado singleto para um estado excitado tripleto, $S_n \rightarrow T_n$, seguido de uma perda de energia por colisões com as moléculas de solvente. Nesse caso, o CDMR pode ser um excelente material para aplicação como fotosensibilizador, onde a população de estados excitados tripletos é um

dos pré-requisitos. Resultados preliminares do grupo mostram que o CDMR pode ter uma eficiência de até 40% na geração de oxigênio singleto, indicando que o cruzamento intersistema nesse material é bem eficiente. De fato, o CDMR apresenta uma alta dopagem com nitrogênio, especialmente no estado quaternário, que tende a aumentar o acoplamento spin-órbita, responsável pela mudança na multiplicidade de spin do sistema.

Figura 6.9: Espectros de emissão do CDMR sob excitação em 405 nm. Diferentes temperaturas do sistema foram considerada: $T = 30\text{ °C}$ (curva preta), $T = 50\text{ °C}$ (curva vermelha tracejada), $T = 70\text{ °C}$ (curva azul pontilhada) e $T = 90\text{ °C}$ (curva verde tracejada-pontilhada).

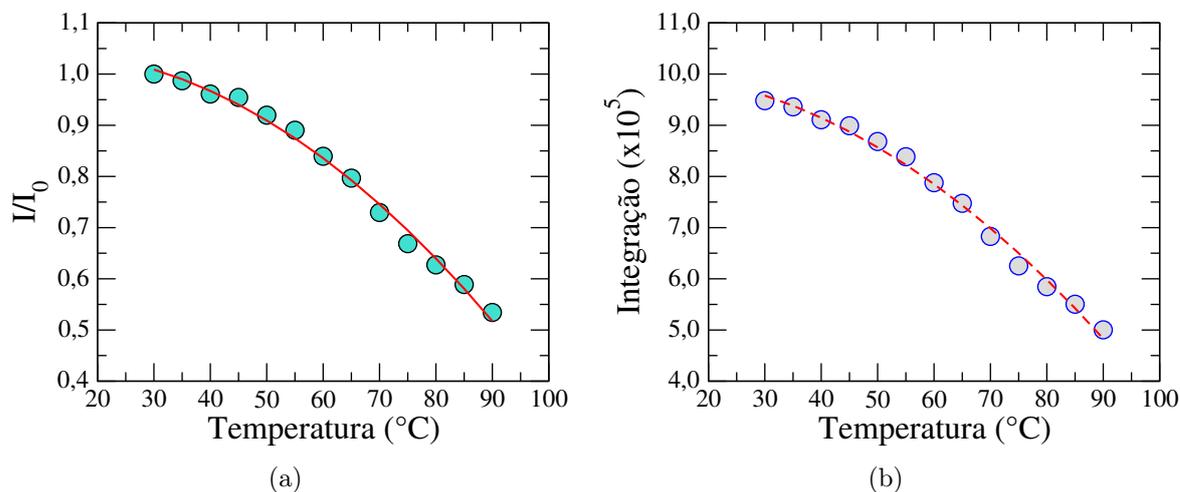


Fonte: Autor, 2021.

Uma vez que a variação de temperatura não modifica a distribuição espectral da emissão do CDMR, é possível restringir a análise dos efeitos térmicos sobre o pico de emissão. Na figura 6.10(a), tem-se a variação do pico de emissão do CDMR, à medida que a temperatura é aumentada. Aqui, a temperatura foi variada em passos de 5 °C . É possível verificar que a intensidade da emissão decai de forma não linear, que pode ser ajustada com uma regressão quadrática. Nesse caso, a fluorescência do CDMR pode ser usada como sensor de temperatura, mas com uma sensibilidade absoluta que diminui quando a temperatura aumenta. Um resultado similar foi observado para a integral da curva de emissão em função da temperatura, como mostra a figura 6.10(b). Mais uma vez, foi possível ajustar os dados com uma regressão quadrática.

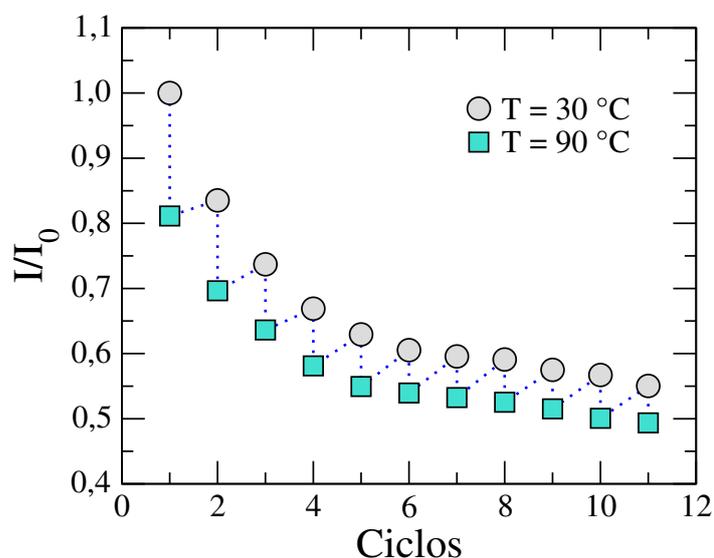
Em inúmeras aplicações tecnológicas, faz-se necessário que o material mantenha alguma estabilidade mediante a ciclos repetidos de aquecimento e resfriamento. Com isso

Figura 6.10: (a) Variação do pico de emissão do CDMR com a temperatura do ambiente. Os dados foram normalizados pelo valor do máximo de emissão, I_0 , medido na temperatura em $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$. A linha vermelha é o ajuste dos dados a partir de uma regressão quadrática. (b) Integral do espectro de emissão do CDMR em função da temperatura do ambiente. Mais uma vez, a curva vermelha representa o ajuste dos dados usando uma regressão quadrática.



Fonte: Autor, 2021.

Figura 6.11: Variação na intensidade de emissão do CDMR durante seguidos ciclos de aquecimento e resfriamento. Os círculos cinzas são os valores do pico de emissão em $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$, enquanto quadrados verdes representam o pico de emissão em $T = 90\text{ }^\circ\text{C}$. I_0 é o valor do pico de emissão em $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$ do primeiro ciclo.



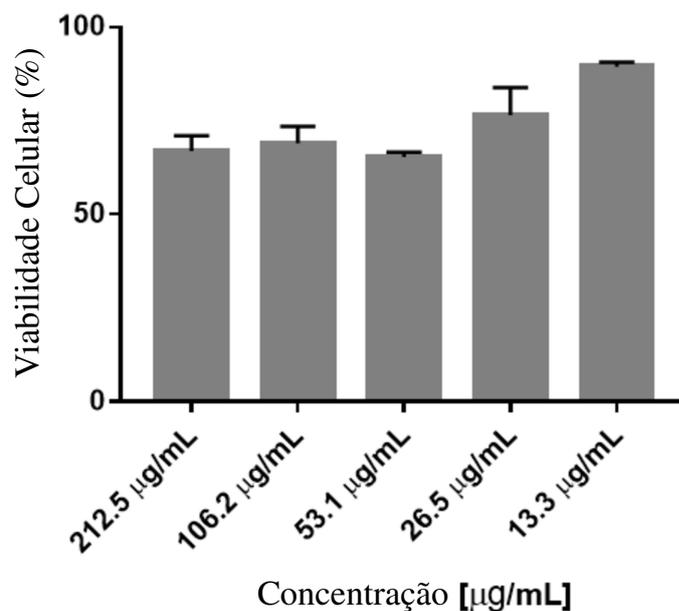
Fonte: Autor, 2021.

em mente, a solução aquosa de CDMR foi submetida a ciclos repetidos de aquecimento e resfriamento, onde a intensidade de emissão foi monitorada. Em particular, a amostra foi aquecida de $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$ para $T = 90\text{ }^\circ\text{C}$, tendo sua emissão medida quando a temperatura

do sistema foi estabilizada. Subsequentemente, a amostra foi resfriada de $T = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ para $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, tendo sua emissão medida quando a temperatura se estabilizou. O tempo de termalização foi fixado em 30 minutos, após a temperatura alvo ser atingida. Os ciclos de aquecimento e resfriamento foram repetidos seguidas vezes. A figura 6.11 mostra os valores do pico de emissão nas temperaturas $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (círculos cinzas) e $T = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ (quadrados verdes) de cada ciclo. Constatou-se que o CDMR não apresenta uma emissão estável sob sucessivos ciclos de aquecimento e resfriamento, com uma queda gradual nas intensidades de emissão à medida que o número de ciclos aumenta. Uma possibilidade pode ser a formação de pequenos aglomerados de nanopartículas quando a amostra é aquecida, reduzindo gradualmente o número de nanopartículas fotoexcitadas. De fato, as flutuações térmicas na densidade local de um líquido tendem a induzir a formação de pequenos aglomerados do soluto. Como as nanopartículas não interagem de forma a coalescerem, estes pequenos aglomerados não são estáveis e podem ser facilmente dispersos por sonicação, por exemplo.

6.6 Biocompatibilidade e Imageamento

Figura 6.12: Medidas de viabilidade celular em células HeLa na presença de diferentes concentrações de CDMR. Para todos os ensaios de MTT, verificou-se uma taxa de sobrevivência superior a 60%.

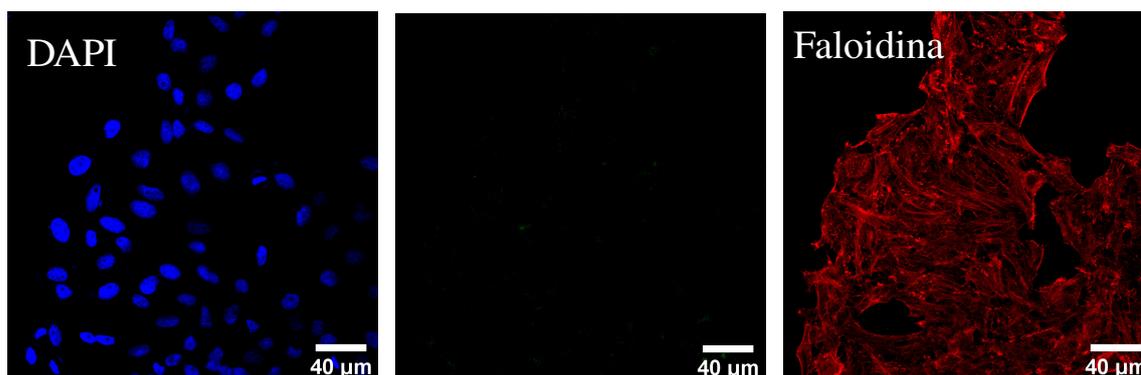


Fonte: Autor, 2021.

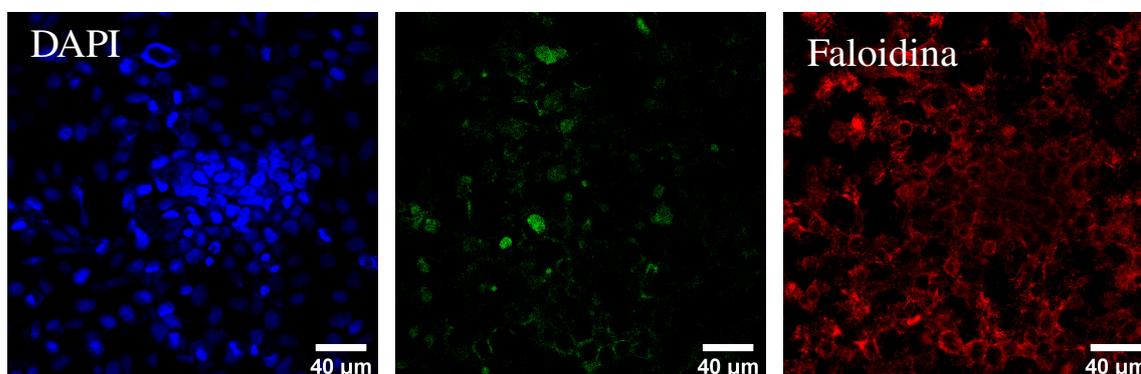
Muitos artigos têm mostrado que pontos quânticos de carbono são biocompatíveis, devido à presença de grupos hidroxila (OH), carbonila (COOH) e amina (NH₂) em sua superfície. Com o objetivo de verificar se o CDMR é biocompatível ou não, foram realizados ensaios de viabilidade celular, tendo células HeLa como amostra padrão. Na figura 6.12, é mostrado percentual de viabilidade celular para diferentes concentrações de CDMR. Os ensaios mostram que, em geral, a amostra de CDMR não exibem altas taxas de citotoxicidade contra células de mamíferos, com uma viabilidade celular acima de 60% para todas as concentrações de CDMR. Para concentrações acima de 20 $\mu\text{g/ml}$, a viabilidade diminui significativamente. Vale salientar que o nível de toxicidade do CDMR é inferior a de outros pontos quânticos de carbono [175].

Figura 6.13: Imagens de microscopia confocal de fluorescência de células HeLa: amostra controle (linha superior) e amostra com CDMR (linha inferior). DAPI e faloidina foram usados para marcar respectivamente o núcleo e os filamentos de actina do citoesqueleto.

Amostra Controle



Amostra com CDMR

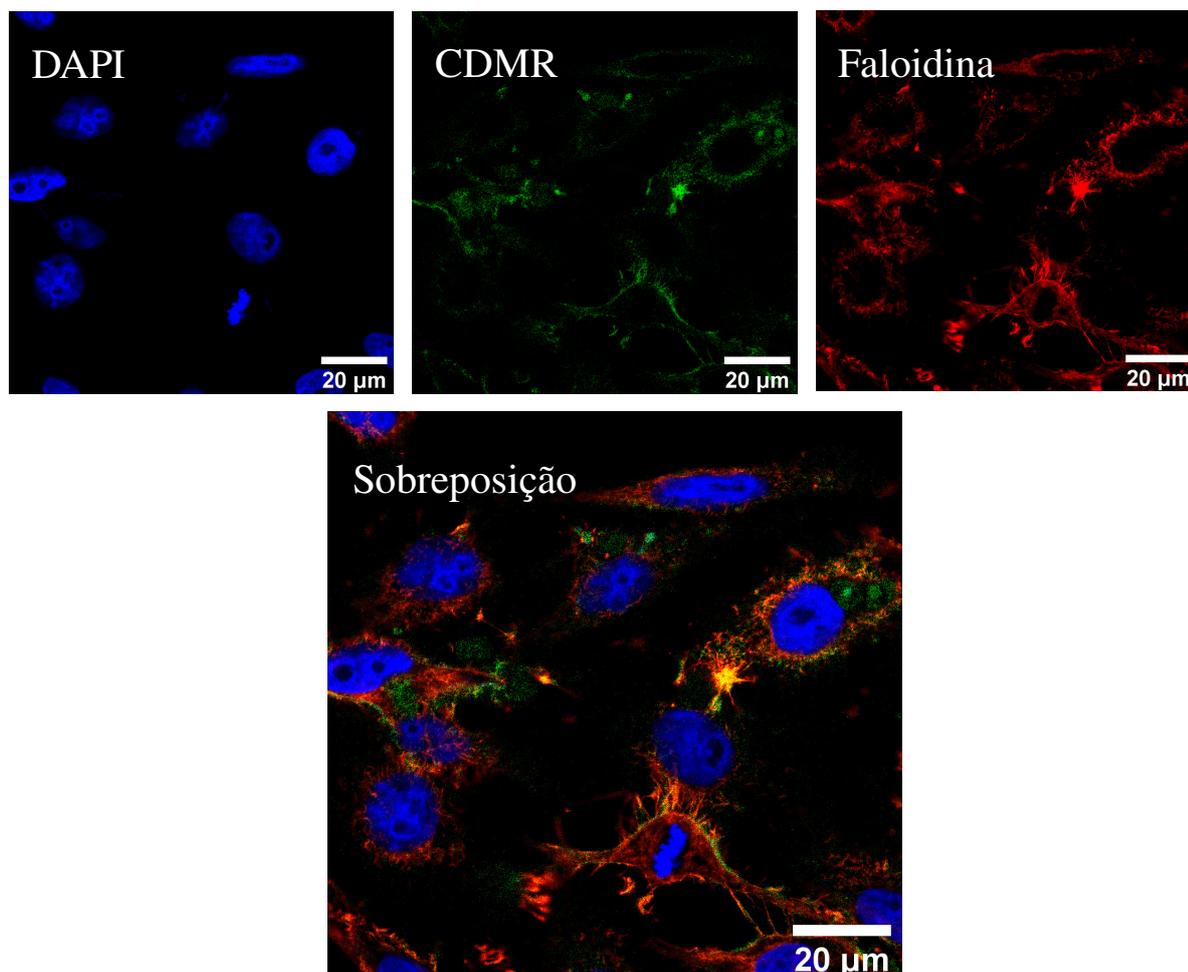


Fonte: Autor, 2021.

Uma vez que a citotoxicidade do CDMR foi caracterizada, será analisada a possibilidade utilizar o CDMR como agente no imageamento de células de mamíferos. Na figura 6.13,

são apresentadas imagens de microscopia confocal de fluorescência de células HeLa na presença de pontos quânticos de carbono. Em todas as medidas, havia cerca de 50.000 células HeLa por poço, sendo usado 10 μL da solução estoque de CDMR, resultando numa concentração de 8,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. As amostras foram excitadas por uma laser de diodo em 488 nm, com a fluorescência sendo detectada na janela de entre 540 e 570 nm. Como é possível ver nas imagens do controle, o núcleo das células HeLa é marcado pela fluorescência do DAPI, enquanto os filamentos de actina (citoesqueleto) são marcados pela faloidina. Na amostra controle não há fluorescência na janela entre 540 e 570 nm. Na amostra contendo CDMR, é possível a partir da fluorescência notar que os pontos quânticos de carbono estão aderidos nas células HeLa. Este resultado indica que há possibilidade de usar as amostras de CDMR para visualizar células. Entretanto, para esse grau de ampliação, não

Figura 6.14: Imagens de microscopia confocal de fluorescência de células HeLa na presença de pontos quânticos de carbono. É possível notar que as nanopartículas (verde) apresentam uma distribuição espacial similar à faloidina (laranja).



Fonte: Autor, 2021.

é possível determinar em que região das células os pontos quânticos se aderem ou se há penetração dos pontos quânticos para o meio intracelular.

Na figura 6.14, são mostradas as imagens de microscopia confocal de fluorescência de células HeLa na presença de pontos quânticos de carbono. Foram usadas as mesmas condições experimentais da figura anterior, modificando apenas o grau de ampliação. Aqui é possível notar que os pontos quânticos de carbono apresentam uma distribuição espacial próxima da observada para a faloidina, indicando que as nanopartículas aderem ao citoesqueleto das células. Em algumas células, não é possível distinguir se as nanopartículas migraram para a região intracelular ou se estão aderidas ao citoesqueleto. Por outro lado, está claro que o CDMR não adere ao núcleo da célula. Este resultado indica que os pontos quânticos derivados do vermelho de metila podem ser usados como uma alternativa de marcador de filamentos de actina, uma vez que seu custo de produção é muito inferior do que os valores dos marcadores tradicionais, como a faloidina, por exemplo.

Embora as propriedades morfológicas e espectroscópicas do CDMR tenham sido investigadas, muitos outros aspectos desses pontos quânticos de carbono ainda estão sendo explorados no Grupo de Líquidos Anisotrópicos e Polímeros. Entre as possibilidades que ainda podem ser exploradas, destacam-se a capacidade de formar compósitos poliméricos com essas nanopartículas e o uso desse material para aplicação em terapia fotodinâmica antimicrobiana. O próximo capítulo será dedicado ao estudo do CDMR confinados em matrizes poliméricas, com ênfase nas propriedades espectroscópicas e termo-ópticas desses materiais.

PROPRIEDADES ÓPTICAS E FOTOTÉRMICAS DE FILMES POLIMÉRICOS DOPADOS COM CDMR

O álcool polivinílico (PVA) é um polímero solúvel em água que apresenta biocompatibilidade e biodegradabilidade, sendo amplamente estudado para aplicações clínicas, produção de filmes, fibras, e materiais de embalagem [176, 177]. Outras características que atraem a atenção para o PVA são sua transparência, capacidade de formação de filme, rigidez mecânica e alta resistência química [176]. Recentemente, tem sido demonstrado o potencial de aplicação desse polímero em dispositivos vestíveis, células solares flexíveis e como material base para embalagens ativas, usadas para prolongar o período de armazenamento de alimentos [178, 179, 177]. Vários estudos vêm sendo realizados com o foco na dopagem de filmes de PVA com nanomateriais, em particular pontos quânticos de carbono [180, 181]. Tem sido demonstrado que a adição dessas nanopartículas melhora as propriedades mecânicas e ópticas dos filmes de PVA, além de melhorar a resposta para o retardado de chamas [177, 176].

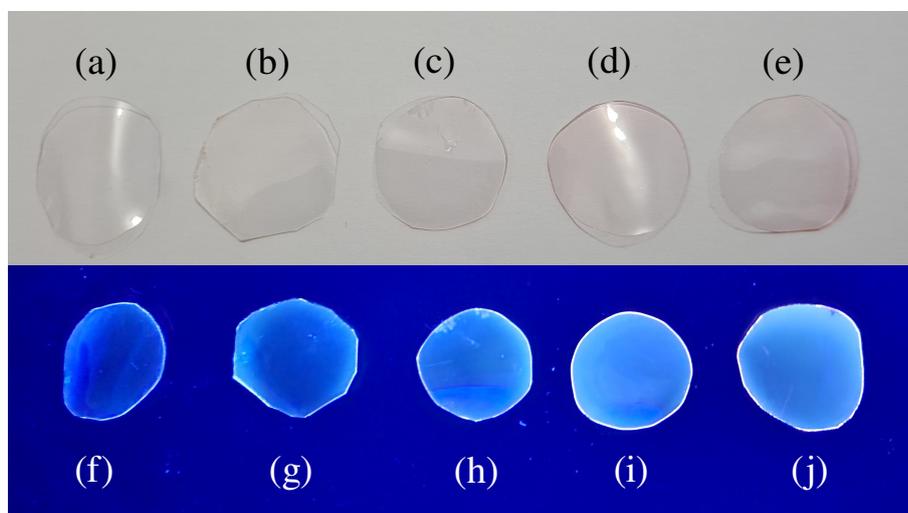
Neste capítulo, serão investigadas as propriedades espectroscópicas e fototérmicas de filmes poliméricos de álcool polivinílico, dopados com pontos quânticos de carbono derivados do azocorante vermelho de metila. Serão explorados os impactos da adição das nanopartículas na matriz polimérica, com ênfase nos espectros de absorção, emissão, FTIR e tempo de vida. Em seguida, serão usadas de medidas de varredura Z resolvida no tempo para determinar como a dopagem dos filmes modificam a resposta termo-óptica desses materiais.

7.1 Metodologia

7.1.1 Preparação dos filmes de PVA dopados com CDMR

Os filmes poliméricos de álcool polivinílico (PVA) dopados com pontos quânticos foram preparados a partir da dispersão das nanopartículas em gel de PVA, conforme descrito a seguir. Inicialmente, foi diluído 1 g de PVA hidrolisado (Sigma-Aldrich), massa molar 89000-98000 g/cm³, em 10 mL de água destilada. O pó de PVA foi adicionado em água destilada a 90 °C, sob constante agitação por 30 minutos a 600 rpm. A seguir, a solução obtida foi gradualmente resfriada sob agitação por mais 30 minutos. O gel obtido não apresentou resquícios de PVA em pó, exibindo um aspecto homogêneo e transparente. Ao gel preparado, foi adicionada uma fração da solução aquosa dos pontos quânticos de carbono derivados do vermelho de metila, de forma a obter concentrações entre 0,5% e 2,5% v/v. A solução de PVA contendo os pontos quânticos permaneceu sob agitação por 2 horas para garantir sua homogeneização. Os filmes foram confeccionados pela deposição por *casting* de 1 mL do gel de PVA dopado em uma superfície lisa, mantida numa câmara de secagem em temperatura ambiente por 48 horas. Na figura 7.1, são exibidos os filmes de PVA dopados com diferentes concentrações dos pontos quânticos de carbono, sob luz

Figura 7.1: Imagens dos filmes de PVA dopados com CDMR em diferentes concentrações, sob luz visível e radiação UV: (a) e (f) 0,5% v/v, (b) e (g) 1,0% v/v, (c) e (h) 1,5% v/v, (d) e (i) 2,0% v/v, e (e) e (j) 2,5% v/v. Note que os filmes tornam-se mais avermelhados com o aumento da concentração de nanopartículas, sem que haja a formação de aglomerados. Nota-se também que os filmes adquiriram propriedade fluorescente mesmo em baixas concentrações de CDMR.



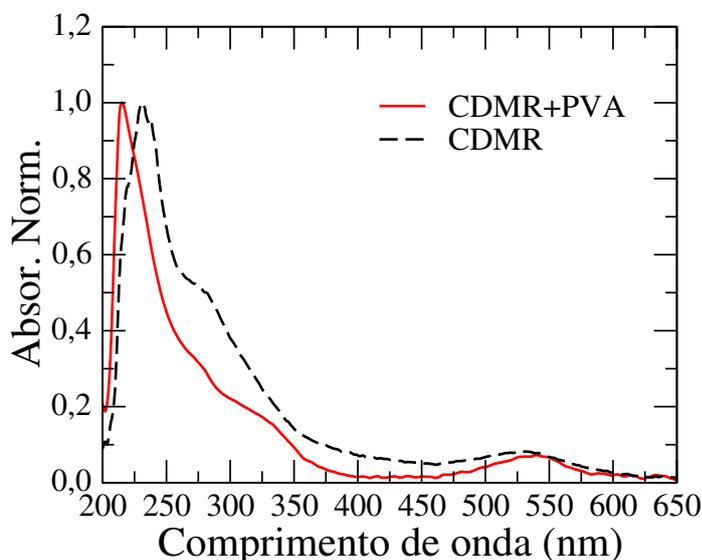
Fonte: Autor, 2023.

visível e radiação UV. Para todas as concentrações, não houve modificação aparente na textura e na resistência mecânica dos filmes. Obviamente, observa-se que os filmes tornam-se mais avermelhados à medida que a concentração de nanopartículas é aumentada. É importante salientar que não há formação de aglomerados de nanopartículas. A espessura dos filmes variou entre 110 e 182 μm .

7.2 Propriedades Espectroscópicas

Na figura 7.2 é apresentado o espectro de absorção do filme de PVA dopado com pontos quânticos de carbono CDMR. Como pode ser visto na figura, os filmes de PVA dopados apresentam uma absorção semelhante àquela dos pontos quântico em água, como as bandas associadas a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ (210 nm), $n \rightarrow \pi^*$ (280 nm) e estados de superfície (525 nm). Vale salientar que devido à quebra da cadeia polimérica, pode haver a formação de ligação C=O e C=C nas extremidade das cadeias, dando origem a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$. Embora essas absorções possam ocorrer, elas tendem a apresentar uma amplitude muito menor do que àquelas das bandas de absorção dos pontos quânticos de carbono. O fato da absorção do compósito PVA+CDMR possuir um espectro de absorção

Figura 7.2: Espectros de absorção da solução aquosa de CDMR (linha preta tracejada) e do filme de PVA dopado com 1,0% v/v de CDMR (linha vermelha sólida). É possível notar que o confinamento no filme polimérico não altera as transições eletrônicas das nanopartículas, indicando uma baixa interação entre os pontos quânticos e o PVA.

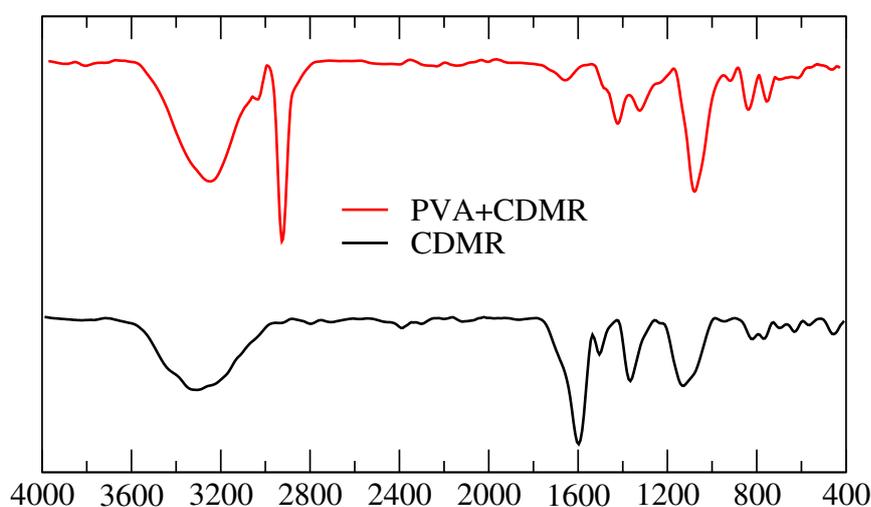


Fonte: Autor, 2023.

semelhante ao da solução aquosa de CDMR indica que há uma baixa interação entre os pontos quânticos e o filme de PVA, sem a formação de ligações de hidrogênio ou interações similares.

Na figura 7.3, são apresentados os espectros de FTIR do CDMR (linha vermelha) e dos filmes de PVA dopados com CDMR (linha preta). Os espectros foram obtidos no modo ATR. É possível notar que o filme dopado possui um espectro com frequências idênticas às observadas no CDMR: hidroxila $-OH$ ($3400-2400\text{ cm}^{-1}$), amina $N-H$ (3400 cm^{-1}), $C=C$ (1509 cm^{-1}), estiramento $N=O$ (1367 cm^{-1}), e dobramento $N-H$ (1588 cm^{-1}). Além dessas linhas, nota-se a presença de frequências de vibração em 2920 cm^{-1} ($C-H$, estiramento assimétrico) oriundas do filme de PVA. Percebe-se uma redução acentuada na intensidade e na largura das bandas, que pode estar associada à baixa concentração de nanopartículas no filme.

Figura 7.3: Espectros de FTIR de CDMR (linha preta) e do filme de PVA dopado com 1,5% v/v de CDMR (linha vermelha). É possível notar que o filme dopado possui um espectro com frequências idênticas às observadas no CDMR.

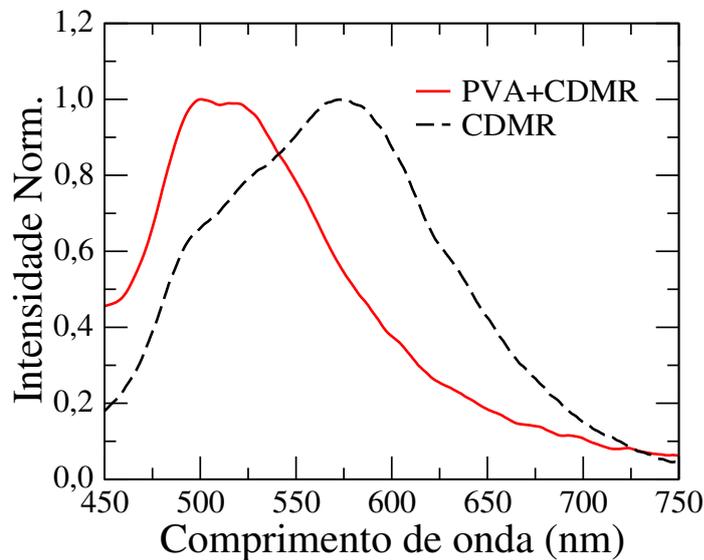


Fonte: Autor, 2023.

Como mostrado na figura 7.2, a inserção do CDMR numa matriz polimérica não alterou o espectro de absorção, mantendo todas as bandas. Desse modo, tem-se o interesse em investigar como a adição das nanopartículas em um meio não líquido impacta na sua fluorescência. Na figura 7.4, tem-se os espectros de emissão do CDMR em solução aquosa (linha preta tracejada) e do compósito (linha vermelha sólida), sob excitação em $\lambda_{exc} = 405\text{ nm}$. Percebe-se que a inserção dos pontos quânticos de carbono confere propriedade fluorescente ao filme, com máximo de emissão ocorrendo em $\lambda_{em} = 500\text{ nm}$. Ao comparar

os espectros na figura 7.4, nota-se que houve o deslocamento da banda de emissão no compósito para menores comprimentos de onda. Isso pode estar associado à rigidez do meio polimérico [182], que tende a suprimir distorções dos grupos de superfície durante a fotoexcitação e favorecendo o decaimento radiativo. Comportamento semelhante na emissão de ponto quântico de carbono inserido em filmes de PVA foi observado por Liu e colaboradores [182]. Neste trabalho, Liu e colaboradores produziram filmes de PVA dopados com pontos quânticos de carbono que apresentaram rendimento quântico melhor que as nanopartículas em solução aquosa.

Figura 7.4: Espectros de emissão do CDMR em solução aquosa (linha preta tracejada) e do compósito (linha vermelha sólida), sob excitação de $\lambda_{exc} = 405$ nm. O máximo de emissão no filme ocorre em $\lambda_{em} = 500$ nm.

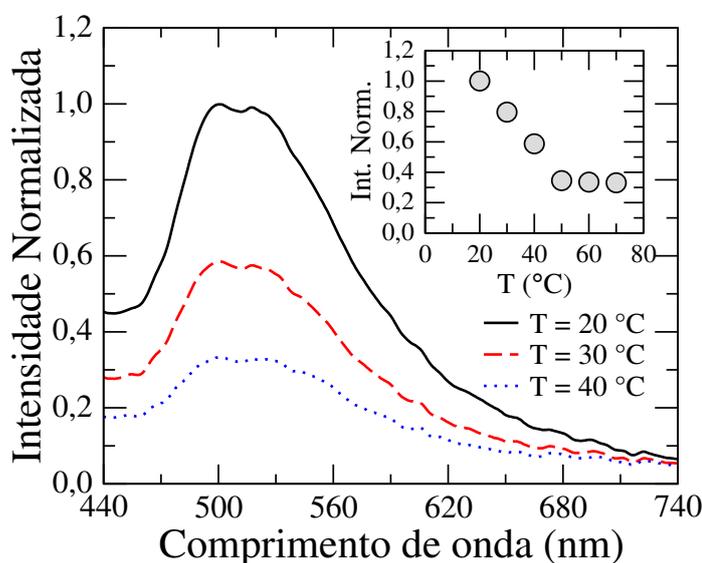


Fonte: Autor, 2023.

Em diversas aplicações tecnológicas é necessário conhecer o desempenho de filmes poliméricos diante a variações de temperatura. Dito isto, na figura 7.5 é apresentado os espectros de emissão do filme de PVA dopado com 1% v/v de CDMR. Diferentes temperaturas da amostra foram consideradas: $T = 20$ °C (curva preta sólida) $T = 30$ °C (curva vermelha tracejada) e $T = 40$ °C (curva azul pontilhada). De maneira análoga ao observado para o CDMR em solução, a intensidade da emissão nos filmes cai com o aumento da temperatura. Mais uma vez, não houve alteração na distribuição espectral da banda de emissão quando a temperatura foi aumentada, com o máximo de emissão ocorrendo em $\lambda_{em} = 500$ nm. Entretanto, percebeu-se que a emissão se estabiliza quando a temperatura do filme atinge $T = 50$ °C, mantendo-se constante até $T = 70$ °C, como

mostra a figura 7.5. Esse efeito pode estar associado ao fato de que o aumento de temperatura reduz a rigidez das cadeias poliméricas, permitindo a emissão de fótons a partir de estados de superfície excitados. Vale salientar que estados de superfície estão associados à presença de fragmentos moleculares do precursor ligados à superfície dos pontos quânticos. Desta maneira, mudanças de conformação desses fragmentos tendem a ser suprimidos pela rigidez das cadeias poliméricas.

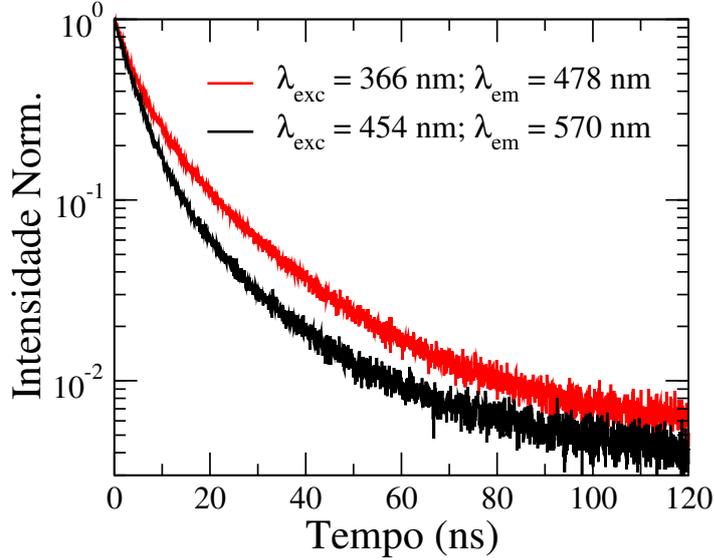
Figura 7.5: Espectros de emissão do filme de PVA dopado com 1% v/v de CDMR. Diferentes temperaturas foram consideradas: $T = 20\text{ °C}$ (curva preta sólida) $T = 30\text{ °C}$ (curva vermelha tracejada) e $T = 40\text{ °C}$ (curva azul pontilhada). O detalhe mostra a variação do pico de emissão entre $T = 20\text{ °C}$ e $T = 70\text{ °C}$.



Fonte: Autor, 2023.

Uma característica importante relacionada a fluorescência é o tempo de vida do estado excitado. É sabido que a viscosidade do meio influencia no rendimento quântico e tempo de vida dos fluoróforos [9]. Assim sendo, na figura 7.6 são apresentados os transientes na intensidade de emissão dos filmes de PVA dopados com CDMR, sob fotoexcitação em diferentes comprimentos de onda $\lambda_{exc} = 366\text{ nm}$ (curva vermelha) e $\lambda_{exc} = 454\text{ nm}$ (curva preta). As intensidades foram registradas nos comprimentos de onda correspondente ao pico da emissão estacionária. Como pode-se observar, os transientes na intensidade apresentam um decaimento multiexponencial, indicando mais uma vez a ocorrência de múltiplos graus de oxidação nas nanopartículas sintetizadas a partir do vermelho de metila.

Figura 7.6: Transiente nas intensidades de fluorescência dos filmes de PVA dopados com CDMR, sob diferentes comprimentos de onda de excitação: $\lambda_{exc} = 366$ nm (curva vermelha) e $\lambda_{exc} = 454$ nm (curva preta). Os transientes foram medidos nos comprimentos de onda corresponde ao pico de emissão no estado estacionário: $\lambda_{em} = 478$ nm (curva vermelha) e $\lambda_{em} = 570$ nm (curva preta).



Fonte: Autor, 2023.

7.3 Varredura Z resolvida no tempo

Uma vez que tenhamos investigado as propriedades espectroscópicas dos filmes de PVA dopados com CDMR, iremos direcionar nossa atenção para a caracterização das propriedades termo-ópticas desses filmes utilizando a técnica de varredura Z. Para analisar os dados obtidos nas medidas de varredura Z resolvida no tempo, faz-se necessário conhecer o parâmetro confocal do feixe, z_c , definido como [101]:

$$z_c = \frac{\pi\omega_0^2}{\lambda}, \quad (7.1)$$

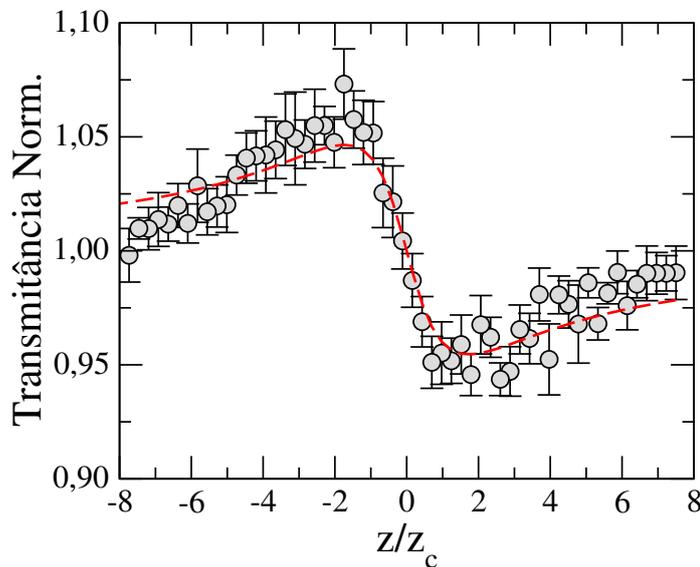
onde ω_0 é a cintura do feixe no ponto de maior intensidade axial, e λ é o comprimento de onda do laser utilizado. O perfil do feixe é medido experimentalmente pela captura da intensidade do feixe, ao longo da direção z, que atravessa um pinhole com diâmetro de 25 μm (Newport, modelo 900P H-25). Os dados coletados são ajustados pela seguinte função Lorentziana:

$$\frac{I(z)}{I_0} = \left[1 - \left(\frac{z - z_0}{z_c} \right)^2 \right]^{-1} \quad (7.2)$$

com z_0 sendo a posição do foco da lente em relação a posição inicial do pinhole. Foi medido $z_0 = 13,6$ cm e a partir do ajuste da equação 7.2 foi encontrado $z_c = 9,74$ mm. E com base na equação 7.1 tem-se $\omega_0 = 40,6$ μm .

Na figura 7.7 tem-se uma curva típica de varredura Z para transmitância normalizada do filme com concentração de 2,5 %. Foi usado laser de excitação com $\lambda_{exc} = 532$ nm e potência $P = 290$ mW. O feixe foi modulado mecanicamente de forma a obter pulsos de intervalos de 70 ms. Aqui vemos que a amostra se comporta como uma lente divergente [106, 183, 104], caracterizada por um pico na transmitância quando a amostra está na região pré-focal ($z < 0$), seguindo por um vale na transmitância quando a amostra se desloca na região pós-focal ($z > 0$). A linha tracejada corresponde ao ajuste teórico usando a equação 3.7. A separação entre o pico e o vale na figura é de aproximadamente $\Delta Z_{pv} = 3,4z_c$, o que caracteriza o fenômeno observado como oriundo do efeito de formação de lente térmica [109]. Com isso, pode-se usar o modelo teórico apresentado na seção 3.7.1.

Figura 7.7: Curva típica de varredura Z para transmitância normalizada do filme com concentração de 2,5%. A linha vermelha corresponde ao ajuste dos dados experimentais usando a equação 3.7. Os demais filmes apresentaram comportamento semelhante, variando apenas a amplitude pico-vale da curva de varredura Z.

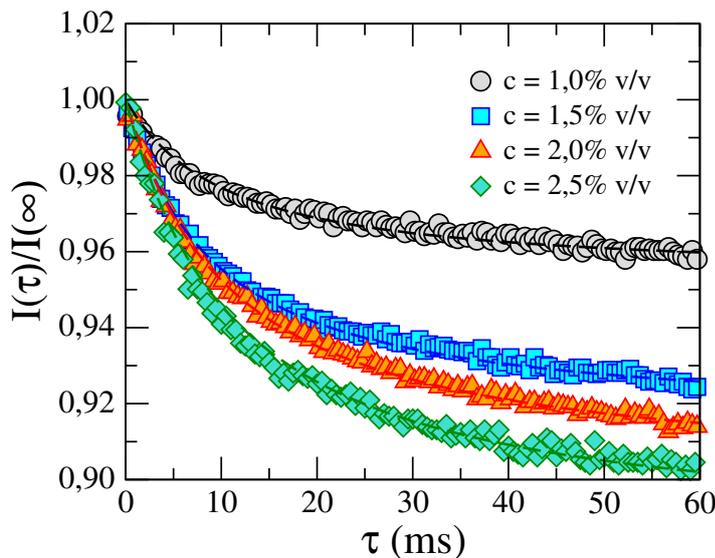


Fonte: Autor, 2023.

A partir da caracterização da dinâmica do fenômeno de formação de lente térmica nos filmes, é possível avaliar os mecanismos de difusão de calor. Na figura 7.8 são exibidos os transientes na intensidade para medidas de varredura Z resolvida no tempo, para os filmes dopados com concentração de 1% v/v (círculos), 1,5% v/v (quadrados), 2% v/v (triân-

gulos), e 2,5% v/v (losangos) de CDMR. Em todas as curvas, a amostra foi posicionada em $z = \sqrt{3}z_c$. Com base no transiente de intensidade do feixe transmitido pela amostra durante o processo de formação de lente térmica, é possível determinar θ e o tempo de formação da lente, t_c . Para tanto, utilizamos o modelo de lente aberrante, dado pela equação 3.8. Na figura 7.8 percebe-se que todos os filmes apresentam um comportamento de autodesfocalização, caracterizado pela redução da transmitância no campo distante com o tempo de exposição. Observa-se que a variação de intensidade está associada a concentração de pontos quânticos de carbono, crescendo à medida que a concentração de CDMR aumenta. Além disso, verifica-se um aumento no tempo característico de formação da lente térmica, uma vez que o transiente de intensidade não atinge o estado estacionário quando a concentração de CDMR nos filmes é aumentada. Em particular, o CDMR absorve a radiação em 532 nm, com parte da energia absorvida sendo dissipada pelo processo de emissão, enquanto a outra parte sendo transformada em calor. Quanto maior a concentração de pontos quânticos de carbono, maior será a conversão da radiação absorvida em calor.

Figura 7.8: Transientes na intensidade para medidas de varredura Z resolvida no tempo, realizadas em filmes de PVA dopados com CDMR. Foram consideradas diferentes concentração nos filmes: 1% v/v (círculos), 1,5% v/v (quadrados), 2% v/v (triângulos), e 2,5% v/v (losangos) de CDMR. Em todas as curvas, a amostra foi posicionada em $z = \sqrt{3}z_c$.

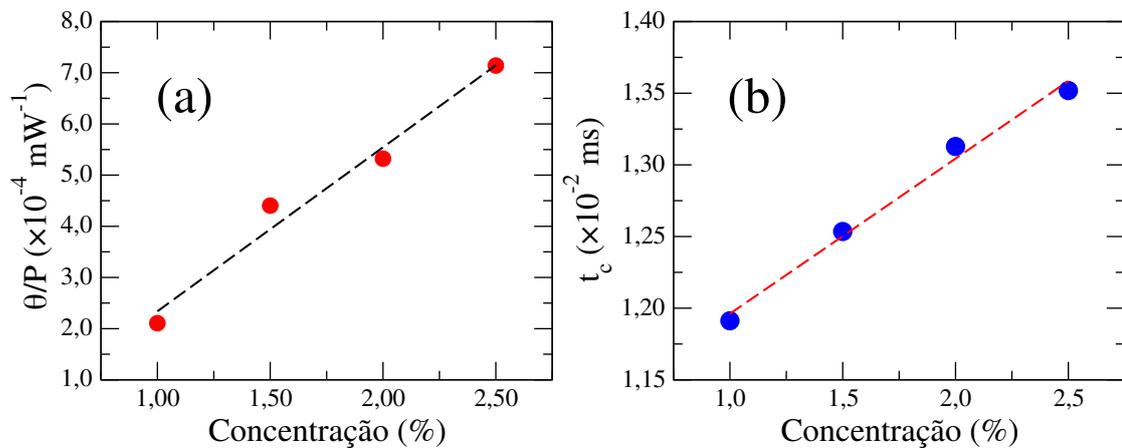


Fonte: Autor, 2023.

Como as amostras exibiram o fenômeno de formação de lente térmica, é possível determinar os parâmetros de distorção de fase, θ , e do tempo característico de formação

de lente térmica, t_c , a partir do ajuste dos dados experimentais com a equação 3.8. A figura 7.9(a) apresenta a dependência do parâmetro distorção de fase com a concentração de pontos quânticos de carbono CDMR. Na figura, θ foi re-escalado pela potência de excitação laser, P , com objetivo de alcançar uma melhor análise dos dados do conjunto de filmes. Observa-se na figura 7.9(a) que θ cresce linearmente com a concentração de nanopartículas, indicando que a adição de nanopartículas modifica a taxa com que o índice refração é alterado pela temperatura ($\theta \propto dn/dT$). Na figura 7.9(b), é exibido o parâmetro t_c como função da concentração de CDMR. Percebe-se que o incremento de pontos quânticos de carbono induz um crescimento no tempo característico de formação de lente térmica. A linha vermelha tracejada presente na figura 7.9(b) é a regressão linear dos pontos, onde fica explícita a dependência linear crescente de t_c com a adição de CDMR.

Figura 7.9: Parâmetros (a) distorção de fase, θ , re-escalado com a potência P , e (b) tempo característico de formação de lente térmica, t_c , como função da concentração de pontos quânticos de carbono CDMR.

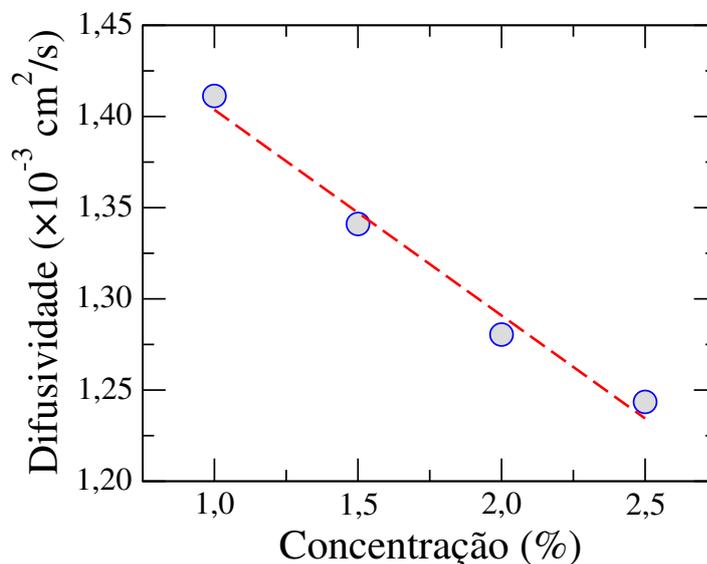


Fonte: Autor, 2023.

O comportamento da difusividade térmica como função da concentração de pontos quânticos de carbono derivados do vermelho de metila é mostrado na figura 7.10. Percebe-se que o incremento de nanopartículas faz com que a difusividade térmica nos filmes reduza de forma linear, como evidenciado pela regressão linear (linha vermelha tracejada) na figura 7.10. A queda no valor da difusividade térmica implica diretamente no crescimento do tempo de formação de lente térmica, o que foi verificado na figura 7.9, onde percebeu-se um aumento no parâmetro t_c . Aparentemente, o aumento de concentração de nanopartículas confere ao filme de PVA dopado uma resistência a difusão de calor. De fato, na

literatura há trabalhos que indicam essa tendência. Yu e colaboradores mostraram que a adição de pontos quânticos de carbono derivados de fenilenodiamina e ácido fosfórico em filmes de PVA, melhorou sua resistência mecânica, estabilidade térmica, e conferiu ao compósito a propriedade de retardador de chama [176]. Portanto, ao mesmo tempo que o aumento da porção de CDMR no filme de PVA reduz a sua difusividade de calor, melhora a sua estabilidade térmica, o que pode ser uma propriedade desejada para aplicação tecnológica.

Figura 7.10: Difusividade térmica como função da concentração de pontos quânticos de carbono CDMR. A linha vermelha tracejada é a regressão linear dos pontos.



Fonte: Autor, 2023.

No presente capítulo, foram exploradas as propriedades de filmes de álcool polivinílico dopado com pontos quânticos de carbono CDMR, cuja processo de síntese é descrito no capítulo 6. Foi mostrado que a inserção das nanopartículas conferiram características adicionais ao filmes, como fluorescência. E as medidas de varredura Z resolvida no tempo mostraram que o filme sofre uma variação radial no índice de refração ao ser atravessado por um laser pulsado em $\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$, gerando o efeito de lente térmica. Com base nesse fenômeno foram extraídos parâmetros importantes para a caracterização do filme. Portanto, os resultados aqui expostos posicionam os pontos quânticos de carbonos CDMR como candidatos potenciais na melhoria de filmes poliméricos para aplicação tecnológica.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nesse trabalho, foram apresentados os estudos realizados em quatro sistemas orgânicos conjugados, com ênfase na caracterização e de como as propriedades do meio afetam o fenômeno de fotoluminescência desses materiais. No capítulo 4, foram exploradas as propriedades fluorescentes do monômero SNSFCA em diferentes solventes. Para a amostra dispersa em clorofórmio, foi observada uma alteração no espectro de emissão sob exposição à radiação UV. Esse efeito foi associado à formação de oligômeros solúveis devido ao processo fotopolimerização. Mais especificamente, observou-se que o pico de emissão muda gradualmente à medida que a amostra é exposta à radiação UV, com a cromaticidade mudando do azul para o verde. Medidas nos espectros UV-Vis e de FTIR indicam que há a formação de oligômeros solúveis. Medidas de fluorescência e tempo de vida em solventes com diferentes polaridades mostraram que não há uma variação significativa do momento de dipolo do SNSFCA nos estados fundamental e excitado, uma vez que o efeito solvatocrômico é praticamente inexistente. Parte dos resultados obtidos no capítulo 4 foram publicados em artigo na *Electrochimica Acta* em 2021. O artigo foi produzido em colaboração com o laboratório de eletroquímica do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. O artigo pode ser conferido no Anexo B. Os resultados obtidos neste capítulo ainda não são totalmente compreendidos e podem motivar a realização de simulações que expliquem a razão da fotopolimerização do SNSFCA ocorrer apenas em clorofórmio.

No capítulo 5, foram investigadas as características fluorescentes dos pontos quânticos de carbono derivados do cloreto de dansila, com ênfase nos efeitos associados a temperatura e pH do meio. Na investigação dos efeitos térmicos sobre a fluorescência do CD-DsCl, verificou-se que a intensidade de emissão do CD-DsCl cresce à medida que a temperatura da amostra é aumentada. A partir da análise do tempo de vida do estado excitado em diferentes intervalos de tempo, foi observado que o aumento da intensidade de emissão

está associada ao fenômeno de fluorescência atrasada. Esse fenômeno ocorre em sistemas em que a diferença de energia entre os estados excitados singleto e tripleto é inferior a 100 meV, de forma que o aumento de temperatura induz um cruzamento intersistema reverso. A análise dos dados indicou que a diferença de energia é da ordem de 41 meV para o CD-DsCl. Foi observado ainda que a emissão do CD-DsCl é sensível ao pH do meio. Além disso, medidas de geração de espécies de oxigênio reativo (ROS) mostrou que o CD-DsCl apresenta uma boa eficiência de ROS. Os resultados do capítulo 5 foram publicados em meados de 2021, em colaboração com o Grupo de Catálise e Reatividade Química do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. O artigo pode ser encontrado no Anexo D.

Motivado pelo grande potencial de aplicação dos pontos quânticos de carbono, a investigação dessa classe de materiais foi estendida a nanopartículas sintetizadas a partir de corantes. No capítulo 6, foi apresentada uma nanopartícula derivada do azocorante vermelho de metila (CDMR), produzida no próprio laboratório de Líquidos Anisotrópicos e Polímeros (IF-UFAL). Como mencionado, azocorantes apresentam impacto danoso na natureza quando resíduos contendo essas substâncias são indevidamente descartadas. Com isso em mente, a utilização de azocorante como matéria prima na síntese de nanopartículas pode ser uma opção de reciclagem desse tipo de material. Os pontos quânticos de carbono derivados do vermelho de metila mostram-se com uma ampla faixa de emissão, que pode ser sintonizada com ajuste da fonte excitação. O CDMR apresentou boa solubilidade em água, uniformidade na distribuição dos tamanhos e sensibilidade a variações de temperatura. A citotoxicidade e a possibilidade de aplicação em imageamento foram analisadas. Os resultados obtidos mostraram que o CDMR possui baixa citotoxicidade e que estas nanopartículas podem ser usadas no imageamento de filamentos de actina e do citoesqueleto de células.

No Capítulo 7, foi realizado o uso de CDMR para a dopagem de filmes poliméricos de PVA. Os filmes apresentaram propriedades fluorescentes, com uma emissão deslocada para o azul em comparação com a emissão das nanopartículas em meio aquoso. Além disso, foram investigados os efeitos térmicos, evidenciando uma supressão da fluorescência do CDMR à medida que a temperatura aumentava. Utilizando a técnica de varredura Z resolvida no tempo, foi explorado como a variação na concentração de CDMR afeta as propriedades termo-ópticas dos filmes de PVA. Os resultados revelaram que o aumento na

concentração de nanopartículas reduz a difusividade térmica dos filmes, conferindo-lhes uma maior resistência à propagação de calor, em concordância com estudos anteriores encontrados na literatura. Portanto, além de exibirem fluorescência, os filmes de PVA dopados apresentam características que os tornam menos propensos a transmitir calor.

Os resultados apresentados neste estudo abrem novas perspectivas para futuras pesquisas. Embora o CDMR tenha sido adequadamente caracterizado, existem diversas aplicações que ainda podem ser exploradas. Um aspecto promissor é a incorporação dessas nanopartículas em materiais líquido-cristalinos, com o objetivo de modificar suas propriedades eletro-ópticas. Essa abordagem oferece oportunidades interessantes para avançar na área. Além disso, está sendo investigada a viabilidade do uso do CDMR como agente fotossensibilizador em terapia fotodinâmica antimicrobiana. Essa aplicação potencial envolve a utilização das propriedades fotossensíveis do CDMR para combater microorganismos indesejados, abrindo caminho para aplicações médicas e antimicrobianas inovadoras. Essas possibilidades adicionais de pesquisa ampliam consideravelmente o campo de aplicação do CDMR, incentivando estudos futuros e a exploração de novas aplicações práticas e promissoras.

Bibliografia

- [1] Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, and David J. Kiemle. *Spectrometric Identification of Organic Compounds (seventh edition)*, volume 21. 1949.
- [2] David B. Williams and C. Barry Carter. *Transmission electron microscopy: A textbook for materials science*. 2009.
- [3] Yin Ling-Ling, Chen Zhen-Zhen, Tong Li-Li, Xu Ke-Hua, and Tang Bo. Progress on fluorescent probes for thiols. *Fenxi Huaxue Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 37, 2009.
- [4] Zengmin Li, Xiaopeng Bai, Hameer Ruparel, Sobin Kim, Nicholas J. Turro, and Jingyue Ju. A photocleavable fluorescent nucleotide for dna sequencing and analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 2003.
- [5] Karine Nozeret, Francois Loll, Christophe Escude, and Alexandre S. Boutorine. Polyamide fluorescent probes for visualization of repeated dna sequences in living cells. *ChemBioChem*, 16, 2015.
- [6] Qian Liu, Jia Huang, Longwei He, Xuefeng Yang, Lin Yuan, and Dan Cheng. Molecular fluorescent probes for liver tumor imaging. *Chemistry - An Asian Journal*, 17, 2022.
- [7] Anees A. Ansari, Khalid M. Aldajani, Abdulaziz N. AlHazaa, and Hamad A. Albrithen. Recent progress of fluorescent materials for fingerprints detection in forensic science and anti-counterfeiting. *Coordination Chemistry Reviews*, 462, 2022.
- [8] Sureyya Oguz Tumay, Mahsa Haddad Irani-Nezhad, and Alireza Khataee. Multi-anthracene containing fluorescent probe for spectrofluorimetric iron determination in environmental water samples. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 248, 2021.
- [9] Joseph R. Lakowicz. *Principles of fluorescence spectroscopy*. 2006.
- [10] Haydar Ali, Santu Ghosh, and Nikhil R. Jana. Fluorescent carbon dots as intracellular imaging probes. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 12, 2020.
- [11] Wen Han Zhang, Xiao Xiao Hu, and Xiao Bing Zhang. Dye-doped fluorescent silica nanoparticles for live cell and in vivo bioimaging. *Nanomaterials*, 6, 2016.
- [12] Hai Lin, Dianlai Yang, Guishan Liu, Tiecheng Ma, Bin Zhai, Qingda An, Jiayou Yu, Xiaojun Wang, Xingren Liu, and Edwin Yue-Bun Pun. Optical absorption and photoluminescence in Sm^{3+} - and Eu^{3+} -doped rare-earth borate glasses. *Journal of Luminescence*, 113, 2005.

- [13] Ge Gao, Yao Wen Jiang, Wei Sun, and Fu Gen Wu. Fluorescent quantum dots for microbial imaging. *Chinese Chemical Letters*, 29, 2018.
- [14] Raz Jelinek. *Carbon Quantum Dots: Synthesis, Properties and Applications*, volume 0. 2017.
- [15] Bernard Valeur and Mario Nuno Berberan-Santos. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Second Edition*. 2012.
- [16] George Gabriel Stokes. On the change of refrangibility of light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 142, 1852.
- [17] Nicolas Monardes. *Dos libros, el uno que trata de todas las cosas que se traen de nuestras Indias Occidentales, que sirven al uso de la medicina, y el otro que trata de la piedra bezaar*. 1569.
- [18] Bernard Valeur and Mario N. Berberan-Santos. A brief history of fluorescence and phosphorescence before the emergence of quantum theory. *Journal of Chemical Education*, 88, 2011.
- [19] Isadore B. Berlman, editor. Academic Press, second edition edition, 1971.
- [20] Yu Yang, Jianhui Jiang, Guoli Shen, and Ruqin Yu. An optical sensor for mercury ion based on the fluorescence quenching of tetra(p-dimethylaminophenyl)porphyrin. *Analytica Chimica Acta*, 636, 2009.
- [21] G. Weber. Dependence of the polarization of the fluorescence on the concentration. *Transactions of the Faraday Society*, 50, 1954.
- [22] Jorge L. Neto, Luis P.A. da Silva, Joel B. da Silva, Raul L. Ferreira, Ana Julia C. da Silva, Julio C.S. da Silva, Italo N. de Oliveira, Dimas J.P. Lima, and Adriana S. Ribeiro. Multielectrochromic amide-based poly(2,5-dithienylpyrrole) bearing a fluorene derivative: Synthesis, characterization, and optoelectronic properties. *Electrochimica Acta*, 379, 2021.
- [23] William Barford. *Electronic and Optical Properties of Conjugated Polymers*. 2013.
- [24] Martin Helgesen, Roar Sondergaard, and Frederik C. Krebs. Advanced materials and processes for polymer solar cell devices. *Journal of Materials Chemistry*, 20, 2010.
- [25] Aysel Aydin and Ismet Kaya. Synthesis and characterization of yellow and green light emitting novel polymers containing carbazole and electroactive moieties. *Electrochimica Acta*, 65, 2012.
- [26] P. T. Nguyen, U. Rammelt, W. Plieth, S. Richter, M. Plotner, W. J. Fischer, N. Kiriya, K. Potje Kamloth, and H. J. Adler. Experiments with organic field effect transistors based on polythiophene and thiophene oligomers. *Electrochimica Acta*, 50, 2005.
- [27] P. M. Beaujuge, S. Ellinger, and J. R. Reynolds. The donor-acceptor approach allows a black-to-transmissive switching polymeric electrochrome. *Nature Materials*, 7, 2008.

- [28] Eda Rende, Cihan E. Kilic, Yasemin Arslan Udum, Daniele Toffoli, and Levent Toppare. Electrochromic properties of multicolored novel polymer synthesized via combination of benzotriazole and n-functionalized 2,5-di(2-thienyl)-1h-pyrrole units. *Electrochimica Acta*, 138, 2014.
- [29] Alan J. Heeger. Semiconducting and metallic polymers: The fourth generation of polymeric materials (nobel lecture). *Angewandte Chemie - International Edition*, 40, 2001.
- [30] Atilla Cihaner and Fatih Algi. Processable electrochromic and fluorescent polymers based on n-substituted thienylpyrrole. *Electrochimica Acta*, 54, 2008.
- [31] T. A. Skotheim, E. Elsenbaumer, and J. R. Reynolds. *Handbook of Conducting Polymers, 2nd edition*, volume 15. 1999.
- [32] Jorge L. Neto, Luis P.A. da Silva, Joel B. da Silva, Ana Julia C. da Silva, Dimas J.P. Lima, and Adriana S. Ribeiro. A rainbow multielectrochromic copolymer based on 2,5-di(thienyl)pyrrole derivative bearing a dansyl substituent and 3,4-ethylenedioxythiophene. *Synthetic Metals*, 269, 2020.
- [33] Pinar Camurlu, Cemil Gultekin, and Zeynep Bicil. Fast switching, high contrast multichromic polymers from alkyl-derivatized dithienylpyrrole and 3,4-ethylenedioxythiophene. *Electrochimica Acta*, 61, 2012.
- [34] Simge Tarkuc, Metin Ak, Erdal Onurhan, and Levent Toppare. Electrochromic properties of 'trimeric' thiophene-pyrrole-thiophene derivative grown from electro-deposited 6-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1h-pyrrol-1-yl) hexan-1-amine and its copolymer. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 45, 2008.
- [35] Ersin Yildiz, Pinar Camurlu, Cihangir Tanyeli, Idris Akhmedov, and Levent Toppare. A soluble conducting polymer of 4-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1h-pyrrol-1-yl)benzenamine and its multichromic copolymer with edot. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 612, 2008.
- [36] S. Kiralp, P. Camurlu, G. Gunbas, C. Tanyeli, I. Akhmedov, and Levent Toppare. Electrochromic properties of a copolymer of 1-4-di[2,5-di(2-thienyl)-1h-1-pyrrolyl]benzene with edot. *Journal of Applied Polymer Science*, 112, 2009.
- [37] A. K.A. Almeida, M. P. Monteiro, J. M.M. Dias, L. Omena, A. J.C. Da Silva, J. Tonholo, R. J. Mortimer, M. Navarro, C. Jacinto, A. S. Ribeiro, and I. N. De Oliveira. Synthesis and spectroscopic characterization of a fluorescent pyrrole derivative containing electron acceptor and donor groups. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128, 2014.
- [38] Atilla Cihaner and Fatih Algi. A processable rainbow mimic fluorescent polymer and its unprecedented coloration efficiency in electrochromic device. *Electrochimica Acta*, 53, 2008.
- [39] Xiaoyou Xu, Robert Ray, Yunlong Gu, Harry J. Ploehn, Latha Gearheart, Kyle Raker, and Walter A. Scrivens. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, 126, 2004.

- [40] Ya Ping Sun, Bing Zhou, Yi Lin, Wei Wang, K. A. Shiral Fernando, Pankaj Pathak, Mohammed Jaouad Meziani, Barbara A. Harruff, Xin Wang, Haifang Wang, Pengju G. Luo, Hua Yang, Muhammet Erkan Kose, Bailin Chen, L. Monica Veca, and Su Yuan Xie. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. *Journal of the American Chemical Society*, 128, 2006.
- [41] Haipeng Liu, Tao Ye, and Chengde Mao. Fluorescent carbon nanoparticles derived from candle soot. *Angewandte Chemie - International Edition*, 46, 2007.
- [42] Hui Ding, Shang Bo Yu, Ji Shi Wei, and Huan Ming Xiong. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism. *ACS Nano*, 10, 2016.
- [43] Hamide Ehtesabi, Zahra Hallaji, Shima Najafi Nobar, and Zeinab Bagheri. Carbon dots with ph-responsive fluorescence: a review on synthesis and cell biological applications. *Microchimica Acta*, 187, 2020.
- [44] Yating Meng, Yuan Jiao, Yuan Zhang, Huilin Zhang, Xiaojuan Gong, Yang Liu, Shaomin Shuang, and Chuan Dong. One-step synthesis of red emission multifunctional carbon dots for label-free detection of berberine and curcumin and cell imaging. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 251, 2021.
- [45] Andong Zhao, Zhaowei Chen, Chuanqi Zhao, Nan Gao, Jinsong Ren, and Xiaogang Qu. Recent advances in bioapplications of c-dots. *Carbon*, 85, 2015.
- [46] Sheila N. Baker and Gary A. Baker. Luminescent carbon nanodots: Emergent nanolights. *Angewandte Chemie - International Edition*, 49, 2010.
- [47] Zetan Fan, Shixin Zhou, Cesar Garcia, Louzhen Fan, and Jiangbing Zhou. Ph-responsive fluorescent graphene quantum dots for fluorescence-guided cancer surgery and diagnosis. *Nanoscale*, 9, 2017.
- [48] Min Zheng, Shaobo Ruan, Shi Liu, Tingting Sun, Dan Qu, Haifeng Zhao, Zhigang Xie, Huile Gao, Xiabin Jing, and Zaicheng Sun. Self-targeting fluorescent carbon dots for diagnosis of brain cancer cells. *ACS Nano*, 9, 2015.
- [49] Huanhuan Xu, Lihe Yan, Vanthan Nguyen, Yang Yu, and Yanmin Xu. One-step synthesis of nitrogen-doped carbon nanodots for ratiometric ph sensing by femtosecond laser ablation method. *Applied Surface Science*, 414, 2017.
- [50] Xinyun Zhai, Peng Zhang, Changjun Liu, Tao Bai, Wenchen Li, Liming Dai, and Wenguang Liu. Highly luminescent carbon nanodots by microwave-assisted pyrolysis. *Chemical Communications*, 48, 2012.
- [51] Thomas C. Achee, Wanmei Sun, Joshua T. Hope, Samuel G. Quitzau, Charles Brandon Sweeney, Smit A. Shah, Touseef Habib, and Micah J. Green. High-yield scalable graphene nanosheet production from compressed graphite using electrochemical exfoliation. *Scientific Reports*, 8, 2018.
- [52] Keenan J. Mintz, Mattia Bartoli, Massimo Rovere, Yiqun Zhou, Sajini D. Hettiarachchi, Suraj Paudyal, Jiuyan Chen, Justin B. Domena, Piumi Y. Liyanage, Rachel Sampson, Durga Khadka, Raja R. Pandey, Sunxiang Huang, Charles C. Chusuei,

- Alberto Tagliaferro, and Roger M. Leblanc. A deep investigation into the structure of carbon dots. *Carbon*, 173, 2021.
- [53] Alexander Demchenko. Excitons in carbonic nanostructures. *Journal of Carbon Research*, 5, 2019.
- [54] L. B.O. Davi, M. S. Silva, R. L. Ferreira, W. Muniz, A. S. Ribeiro, D. J.P. Lima, I. N. de Oliveira, and C. D.A.E.S. Barbosa. Multifunctional carbon dots derived from dansyl chloride for ratiometric thermal sensor and reactive oxygen generation. *Dyes and Pigments*, 194, 2021.
- [55] Siqi Wei, Xinghang Yin, Haoyi Li, Xiaoyu Du, Limei Zhang, Qiang Yang, and Rui Yang. Multi-color fluorescent carbon dots: Non-size effect dominate graphitized sp² conjugated domain and surface state energy level co-modulate band-gap. *Chemistry - A European Journal*, 26, 03 2020.
- [56] Xiaobiao Cui, Yinglin Wang, Jie Liu, Qiuyue Yang, Bo Zhang, Yuan Gao, Yue Wang, and Geyu Lu. Dual functional n- and s-co-doped carbon dots as the sensor for temperature and fe³⁺ ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 242, 09 2016.
- [57] Yaoping Hu, Jing Yang, Jiangwei Tian, Li Jia, and Jun Sheng Yu. Waste frying oil as a precursor for one-step synthesis of sulfur-doped carbon dots with ph-sensitive photoluminescence. *Carbon*, 77, 2014.
- [58] Claas J. Reckmeier, Yu Wang, Radek Zboril, and Andrey L. Rogach. Influence of doping and temperature on solvatochromic shifts in optical spectra of carbon dots. *Journal of Physical Chemistry C*, 120, 2016.
- [59] Aniruddha Kundu, Byeongho Park, Juyeong Oh, K. Vijaya Sankar, Chaiti Ray, Wook Sung Kim, and Seong Chan Jun. Multicolor emissive carbon dot with solvatochromic behavior across the entire visible spectrum. *Carbon*, 156, 2020.
- [60] Yun Liu, Chun Yan Liu, and Zhi Ying Zhang. Synthesis of highly luminescent graphitized carbon dots and the application in the hg²⁺ detection. *Applied Surface Science*, 263, 2012.
- [61] Xiaohua Pan, Yan Zhang, Xiaobo Sun, Wei Pan, Guifeng Yu, Qiangqiang Zhao, and Jinping Wang. Carbon dots originated from methyl red with molecular state and surface state controlled emissions for sensing and imaging. *Journal of Luminescence*, 204, 2018.
- [62] Qin Hu, Xiaojuan Gong, Lizhen Liu, and Martin M.F. Choi. Characterization and analytical separation of fluorescent carbon nanodots. *Journal of Nanomaterials*, 2017.
- [63] Lulu Pan, Shan Sun, Aidi Zhang, Kai Jiang, Ling Zhang, Chaoqing Dong, Qing Huang, Aiguo Wu, and Hengwei Lin. Truly fluorescent excitation-dependent carbon dots and their applications in multicolor cellular imaging and multidimensional sensing. *Advanced Materials*, 27, 2015.

- [64] Juliana B. Parra, Karina C. Silva, Pedro A.S. Valezin, Raphael G. Martins, Rodolfo R. Gomes, Rafael S. Pereira, Fernando M. de Melo, Andreia A. de Morandim-Giannetti, Ronaldo G. dos Santos, Luz Consuelo G.A. Panzarini, and Marcos M. Toyama. Preparation of fluorescent carbon-based dots from waste tire pyrolysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31, 2020.
- [65] Srikrishna Pramanik, Sabyasachi Chatterjee, Gopinatha Suresh Kumar, and Parukuttyamma Sujatha Devi. Egg-shell derived carbon dots for base pair selective dna binding and recognition. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20, 2018.
- [66] Theodoros Chatzimitakos, Athanasia Kasouni, Lamprini Sygellou, Ioannis Leonardos, Anastasios Troganis, and Constantine Stalikas. Human fingernails as an intriguing precursor for the synthesis of nitrogen and sulfur-doped carbon dots with strong fluorescent properties: Analytical and bioimaging applications. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 267, 2018.
- [67] Amandeep Singh, Ehsan Eftekhari, James Scott, Jasreet Kaur, Soniya Yambem, Frederic Leusch, Rodney Wellings, Tim Gould, Kostya Ostrikov, Prashant Sonar, and Qin Li. Carbon dots derived from human hair for ppb level chloroform sensing in water. *Sustainable Materials and Technologies*, 25, 2020.
- [68] Chunlei Xia, Shoujun Zhu, Tanglue Feng, Mingxi Yang, and Bai Yang. Evolution and synthesis of carbon dots: From carbon dots to carbonized polymer dots. *Advanced Science*, 6, 2019.
- [69] Pooria Namdari, Babak Negahdari, and Ali Eatemadi. Synthesis, properties and biomedical applications of carbon-based quantum dots: An updated review. *Bio-medicine and Pharmacotherapy*, 87, 2017.
- [70] Ming Fu, Florian Ehrat, Yu Wang, Karolina Z. Milowska, Claas Reckmeier, Andrey L. Rogach, Jacek K. Stolarczyk, Alexander S. Urban, and Jochen Feldmann. Carbon dots: A unique fluorescent cocktail of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Nano Letters*, 15, 2015.
- [71] Xiao Wang, Yongqiang Feng, Peipei Dong, and Jianfeng Huang. A mini review on carbon quantum dots: Preparation, properties, and electrocatalytic application. *Frontiers in Chemistry*, 7, 2019.
- [72] Xian Wei, Shiliang Mei, Dan Yang, Guilin Zhang, Fengxian Xie, Wanlu Zhang, and Ruiqian Guo. Surface states induced photoluminescence enhancement of nitrogen-doped carbon dots via post-treatments. *Nanoscale Research Letters*, 14, 2019.
- [73] Pyng Yu, Xiaoming Wen, Yon Rui Toh, and Jau Tang. Temperature-dependent fluorescence in carbon dots. *Journal of Physical Chemistry C*, 116, 2012.
- [74] Feng Huo, Pran Gopal Karmaker, Yuhang Liu, Bin Zhao, and Xiupei Yang. Preparation and biomedical applications of multicolor carbon dots: Recent advances and future challenges. *Particle and Particle Systems Characterization*, 37, 2020.
- [75] Dan Qu, Xiayan Wang, Yuping Bao, and Zaicheng Sun. Recent advance of carbon dots in bio-related applications. *JPhys Materials*, 3, 2020.

- [76] Yuxin Hou, Qiujun Lu, Jianhui Deng, Haitao Li, and Youyu Zhang. One-pot electrochemical synthesis of functionalized fluorescent carbon dots and their selective sensing for mercury ion. *Analytica Chimica Acta*, 866, 2015.
- [77] Chao Yuan, Bianhua Liu, Fei Liu, Ming Yong Han, and Zhongping Zhang. Fluorescence turn on detection of mercuric ion based on bis(dithiocarbamate)copper(ii) complex functionalized carbon nanodots. *Analytical Chemistry*, 86, 2014.
- [78] Yongming Guo, Lianfeng Zhang, Shushen Zhang, Yan Yang, Xihan Chen, and Mingchao Zhang. Fluorescent carbon nanoparticles for the fluorescent detection of metal ions. *Biosensors and Bioelectronics*, 63, 2015.
- [79] Lujing Chai, Jin Zhou, Hui Feng, Cong Tang, Yuanyuan Huang, and Zhaosheng Qian. Functionalized carbon quantum dots with dopamine for tyrosinase activity monitoring and inhibitor screening: In vitro and intracellular investigation. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 7, 2015.
- [80] Jiechao Ge, Minhuan Lan, Bingjiang Zhou, Weimin Liu, Liang Guo, Hui Wang, Qingyan Jia, Guangle Niu, Xing Huang, Hangyue Zhou, Xiangmin Meng, Pengfei Wang, Chun Sing Lee, Wenjun Zhang, and Xiaodong Han. A graphene quantum dot photodynamic therapy agent with high singlet oxygen generation. *Nature Communications*, 5, 2014.
- [81] Sheng Tao Yang, Li Cao, Pengju G. Luo, Fushen Lu, Xin Wang, Haifang Wang, Mohammed J. Meziari, Yuanfang Liu, Gang Qi, and Ya Ping Sun. Carbon dots for optical imaging in vivo. *Journal of the American Chemical Society*, 131, 2009.
- [82] Lizhen Zhang, Zhaoxing Lin, Yun Xiang Yu, Bang Ping Jiang, and Xing Can Shen. Multifunctional hyaluronic acid-derived carbon dots for self-targeted imaging-guided photodynamic therapy. *Journal of Materials Chemistry B*, 6, 2018.
- [83] DL Pavia, GM Lampman, GS Kriz, and JR Vyvyan. *Introducao a espectroscopia*. Cengage Learning, 2012.
- [84] John Weiner and P. T. Ho, editors. *Absorption and Emission of Radiation*. John Wiley and Sons, Ltd, 2003.
- [85] J. Michael Hollas. *MODERN SPECTROSCOPY*. John Wiley e Sons, 2004.
- [86] Ian Fleming. *Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions, Student Edition*. 2009.
- [87] Daniel C Harris and Michael D. Bertolucci. *Symmetry and spectroscopy; an introduction to vibrational and electronic spectroscopy*. DOVER PUBLICATIONS, 1978.
- [88] M. Born and R. Oppenheimer. Zur quantentheorie der molekeln. *Annalen der Physik*, 389, 1927.
- [89] Z Hiroi, M Azuma, M Takano, and Y Bando. A new homologous series $srn-1cun+1o2n$ found in the srO_2 cuo system treated under high pressure. *Journal of Solid State Chemistry*, 95(1):230–238, 1991.

- [90] *Installation and Operation Manual - USB2000+ Fiber Optic Spectrometer.*
- [91] Donald A. Burns and Emil W. Ciurczak. *Handbook of near-infrared analysis, 3rd ed.*, volume 393. 2009.
- [92] John F. Watts and John Wolstenholme. *An Introduction to Surface Analysis by XPS and AES.* 2019.
- [93] Siegfried Hofmann. *Auger- and X-Ray Photoelectron Spectroscopy in Materials Science: A User-Oriented Guide xps*, volume 6. 2013.
- [94] J. Theo Kloprogge and Barry J. Wood. *Handbook of Mineral Spectroscopy.* 2020.
- [95] J F Moulder, W F Stickle, P E Sobol, and K D Bomben. *08 Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy*, volume 3. 1979.
- [96] *THE TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPE.* InTech, 2012.
- [97] Jeanne Ayache, Luc Beaunier, Jacqueline Boumendil, Gabrielle Ehret, and Daniele Laub. *Sample Preparation Handbook for Transmission Electron Microscopy.* 2010.
- [98] Chenchen Cai, Haoliang Zhang, Yingxing Zhu, Peiming Zheng, Yinhai Xu, Jingfang Sun, Miaomiao Zhang, Ting Lan, Bing Gu, Shibao Li, and Ping Ma. Serum exosomal long noncoding rna pcsk2-2:1 as a potential novel diagnostic biomarker for gastric cancer. *OncoTargets and Therapy*, 12, 2019.
- [99] Prakash Adhikari, Mehedi Hasan, Vijayalakshmi Sridhar, Debarshi Roy, and Prabhakar Pradhan. Studying nanoscale structural alterations in cancer cells to evaluate ovarian cancer drug treatment, using transmission electron microscopy imaging. *Physical Biology*, 17, 2020.
- [100] Brent Fultz and James M. Howe. *Transmission electron microscopy and diffractometry of materials.* 2008.
- [101] M. Sheik-bahae, A. A. Said, and E. W. Van Stryland. High-sensitivity, single-beam n_2 measurements. *Optics Letters*, 14, 1989.
- [102] C. Jacinto, D. N. Messias, A. A. Andrade, S. M. Lima, M. L. Baesso, and T. Cattunda. Thermal lens and z-scan measurements: Thermal and optical properties of laser glasses - a review. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 352, 2006.
- [103] Lidiane Omena, Pedro B. De Melo, Maria S.S. Pereira, and Italo N. De Oliveira. Effects of fullerene addition on the thermo-optical properties of smectic liquid crystals at the vicinity of the nematic-smectic- a phase transition. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 89, 2014.
- [104] Mansoor Sheik-Bahae, Ali A. Said, Tai Huei Wei, David J. Hagan, and E. W. Van Stryland. Sensitive measurement of optical nonlinearities using a single beam. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 26, 1990.
- [105] L. C. Oliveira and S. C. Zilio. Single-beam time-resolved z-scan measurements of slow absorbers. *Applied Physics Letters*, 65, 1994.

- [106] S. Alves, A. Bourdon, and A. M. Figueiredo Neto. Generalization of the thermal lens model formalism to account for thermodiffusion in a single-beam z-scan experiment: determination of the solet coefficient. *Journal of the Optical Society of America B*, 20, 2003.
- [107] V. S. Zanuto, J. F. M. dos Santos, M. L. Baesso, and T. Catunda. Single-beam time-resolved cw thermal z-scan analysis applied in solids. *Optics and Laser Technology*, 142, 2021.
- [108] J. P. Gordon, R. C.C. Leite, R. S. Moore, S. P.S. Porto, and J. R. Whinnery. Long-transient effects in lasers with inserted liquid samples. *Journal of Applied Physics*, 36, 1965.
- [109] S. J. Sheldon, L. V. Knight, and J. M. Thorne. Laser-induced thermal lens effect: a new theoretical model. *Applied Optics*, 21, 1982.
- [110] Jun Shen, Mauro L. Baesso, and Richard D. Snook. Three-dimensional model for cw laser-induced mode-mismatched dual-beam thermal lens spectrometry and time-resolved measurements of thin-film samples. *Journal of Applied Physics*, 75, 1994.
- [111] Melek Pamuk Algi, Atilla Cihaner, and Fatih Algi. Design, synthesis, photochromism and electrochemistry of a novel material with pendant photochromic units. *Tetrahedron*, 70, 2014.
- [112] N. Marjanovic, Th B. Singh, G. Dennler, S. Gunes, H. Neugebauer, N. S. Sariciftci, R. Schwodiauer, and S. Bauer. Photoresponse of organic field-effect transistors based on conjugated polymer/fullerene blends. *Organic Electronics*, 7, 2006.
- [113] Mohamad Saleh AlSalhi, Javed Alam, Lawrence Arockiasamy Dass, and Mohan Raja. Recent advances in conjugated polymers for light emitting devices. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 2011.
- [114] Xiaofang Zhang, Minjing Zhang, Junfeng Tong, Pengzhi Guo, Xunchang Wang, Zezhou Liang, Yufei Wang, and Yangjun Xia. Synthesis and photovoltaic investigation of dithieno[2,3-d:2,3-d]-benzo[1,2-b:3,4-b:5,6-d]trithiophene-based conjugated polymer with an enlarged π -conjugated system. *Polymers for Advanced Technologies*, 30, 2019.
- [115] Zhengdong Liu, Yuhang Yin, Xiangjing Wang, Shang Ju, Mengya Song, Zhe Zhou, Xiaojing Wang, Shuai Cheng, Zepu Zhang, Juqing Liu, and Wei Huang. Two-dimensional conjugated microporous polymer with structural stability and electrical bistability for rectifying memory array. *Advanced Intelligent Systems*, 1, 2019.
- [116] Deniz Yitit, Serife O. Hacıotlu, Mustafa Gullu, and Levent Toppare. Novel poly(2,5-dithienylpyrrole) (psns) derivatives functionalized with azobenzene, coumarin and fluorescein chromophore units: Spectroelectrochemical properties and electrochromic device applications. *New Journal of Chemistry*, 39, 2015.
- [117] Naveen Mergu, Hyorim Kim, Jiwon Ryu, and Young A. Son. A simple and fast responsive colorimetric moisture sensor based on symmetrical conjugated polymer. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 311, 2020.

- [118] Ogun Gumusay, Tugba Soganci, Simge Durur, Hakan Can Soyleyici, Halil Cetisli, and Metin Ak. Purpald containing poly(2,5-dithienylpyrrole)-based multifunctional conducting polymer: synthesis, characterization, and electrochromic properties. *Ionics*, 26, 2020.
- [119] G. G. Abashev, A. Y. Bushueva, and E. V. Shklyayeva. N-substituted 2,5-di(2-thienyl)pyrroles: Application, production, properties, and electrochemical polymerization (review). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 47, 2011.
- [120] Qiang Zhao, Shu Juan Liu, and Wei Huang. Polyfluorene-based blue-emitting materials. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 210, 2009.
- [121] Selin Piravadili Mucur, Cansu Kok, Hakan Bilgili, Betul Canimkurbey, and Sermet Koyuncu. Conventional and inverted organic light emitting diodes based on bright green emissive polyfluorene derivatives. *Polymer (United Kingdom)*, 151, 2018.
- [122] Guangming Nie, Tao Cai, Jingkun Xu, and Shusheng Zhang. Low-potential facile electrosyntheses of high-quality free-standing poly(fluorene-9-carboxylic acid) films. *Electrochemistry Communications*, 10, 2008.
- [123] E. V. Parups and J. D. Jones. Thin-layer chromatography, ultraviolet and fluorescence spectra of some fluorene-9-carboxylic acid derivatives (morphactins). *Journal of Chromatography A*, 36, 1968.
- [124] Zbigniew R. Grabowski, Krystyna Rotkiewicz, and Wolfgang Rettig. Structural changes accompanying intramolecular electron transfer: Focus on twisted intramolecular charge-transfer states and structures. *Chemical Reviews*, 103, 2003.
- [125] M. Sharnoff. Photophysics of aromatic molecules. *Journal of Luminescence*, 4, 1971.
- [126] Alexander P. Demchenko, Mark A. Haidekker, Matthew Nipper, Adnan Mustafic, Darcy Lichlyter, Marianna Dakanali, and Emmanuel A. Theodorakis. *Springer Series on Fluorescence- Advanced Fluorescence Reporters in Chemistry and Biology I Fundamentals and Molecular Design*, volume 7. 2011.
- [127] Nese Guven and Pinar Camurlu. Optoelectronic properties of poly(2,5-dithienylpyrrole)s with fluorophore groups. *Journal of The Electrochemical Society*, 162, 2015.
- [128] Hamid Reza Heydarnezhad, Behzad Pourabbas, and Masoud Tayefi. Conducting electroactive polymers via photopolymerization: A review on synthesis and applications. *Polymer - Plastics Technology and Engineering*, 57, 2018.
- [129] Buket Bezgin, Atilla Cihaner, and Ahmet M. Onal. Electrochemical polymerization of 9-fluorene-carboxylic acid and its electrochromic device application. *Thin Solid Films*, 516, 2008.
- [130] Manmeet Kaur and A. K. Srivastava. Photopolymerization: A review. *Journal of Macromolecular Science - Polymer Reviews*, 42, 2002.
- [131] Maira R. Rodrigues and Miguel G. Neumann. Fotopolimerização: princípios e métodos. *Polímeros*, 13, 2003.

- [132] Aurelio Ramirez-Hernandez, Celia Aguilar-Flores, and Alejandro Aparicio-Saguilan. Fingerprint analysis of ftir spectra of polymers containing vinyl acetate. *DYNA (Colombia)*, 86, 2019.
- [133] Sergey A. Piletsky, Elena V. Piletska, Kal Karim, Frank Davis, Seamus P.J. Higson, and Anthony P.F. Turner. Photochemical polymerization of thiophene derivatives in aqueous solution. *Chemical Communications*, 2004.
- [134] Krystyna Kijewska, Gary J. Blanchard, Jakub Szlachetko, Jarosław Stolarski, Anna Kisiel, Agata Michalska, Krzysztof Maksymiuk, Marcin Pisarek, Paweł Majewski, Paweł Krysiński, and Maciej Mazur. Photopolymerized polypyrrole microvessels. *Chemistry - A European Journal*, 18, 2012.
- [135] Christian Reichardt. *Christian Reichardt Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. 2003.
- [136] Youxiu Lin, Qian Zhou, Dianping Tang, Reinhard Niessner, and Dietmar Knopp. Signal-on photoelectrochemical immunoassay for aflatoxin b1 based on enzymatic product-etching mno₂ nanosheets for dissociation of carbon dots. *Analytical Chemistry*, 89, 2017.
- [137] Katerina Hola, Yu Zhang, Yu Wang, Emmanuel P. Giannelis, Radek Zboril, and Andrey L. Rogach. Carbon dots - emerging light emitters for bioimaging, cancer therapy and optoelectronics. *Nano Today*, 9, 2014.
- [138] Peng Huang, Jing Lin, Xiansong Wang, Zhe Wang, Chunlei Zhang, Meng He, Kan Wang, Feng Chen, Zhiming Li, Guangxia Shen, Daxiang Cui, and Xiaoyuan Chen. Light-triggered theranostics based on photosensitizer-conjugated carbon dots for simultaneous enhanced-fluorescence imaging and photodynamic therapy. *Advanced Materials*, 24, 2012.
- [139] Jing Tang, Biao Kong, Hao Wu, Ming Xu, Yongcheng Wang, Yanli Wang, Dongyuan Zhao, and Gengfeng Zheng. Carbon nanodots featuring efficient fret for real-time monitoring of drug delivery and two-photon imaging. *Advanced Materials*, 25, 2013.
- [140] Yan Li, Yue Hu, Yang Zhao, Gaoquan Shi, Lier Deng, Yanbing Hou, and Liangti Qu. An electrochemical avenue to green-luminescent graphene quantum dots as potential electron-acceptors for photovoltaics. *Advanced Materials*, 23, 2011.
- [141] Mhetaer Tuerhong, Yang XU, and Xue Bo YIN. Review on carbon dots and their applications. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 45, 2017.
- [142] Shoujun Zhu, Yubin Song, Xiaohuan Zhao, Jieren Shao, Junhu Zhang, and Bai Yang. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Research*, 8, 2015.
- [143] Somes K. Das, Yiyang Liu, Sinhea Yeom, Doo Young Kim, and Christopher I. Richards. Single-particle fluorescence intensity fluctuations of carbon nanodots. *Nano Letters*, 14, 2014.

- [144] Hua Wang, Philip Haydel, Ning Sui, Lina Wang, Yan Liang, and William W. Yu. Wide emission shifts and high quantum yields of solvatochromic carbon dots with rich pyrrolic nitrogen. *Nano Research*, 13, 2020.
- [145] Yuchao Liu, Chensen Li, Zhongjie Ren, Shouke Yan, and Martin R. Bryce. All-organic thermally activated delayed fluorescence materials for organic light-emitting diodes. *Nature Reviews Materials*, 3, 2018.
- [146] Fernando B. Dias, Thomas J. Penfold, and Andrew P. Monkman. Photophysics of thermally activated delayed fluorescence molecules. *Methods and Applications in Fluorescence*, 5, 2017.
- [147] Jiancong Liu, Xin Kang, Hongyan Zhang, Yancong Liu, Chunyan Wang, Xinru Gao, and Yaorui Li. Carbon dot-based nanocomposite: Long-lived thermally activated delayed fluorescence for lifetime thermal sensing. *Dyes and Pigments*, 181, 2020.
- [148] Juan Hou, Long Wang, Ping Zhang, Yuan Xu, and Lan Ding. Facile synthesis of carbon dots in an immiscible system with excitation-independent emission and thermally activated delayed fluorescence. *Chemical Communications*, 51, 2015.
- [149] Qin Wang, Zhihua Tang, Lihua Li, Jinxiu Guo, Lingxia Jin, Jiufu Lu, Pei Huang, Shengrui Zhang, and Long Jiao. Highly efficient red-emitting carbon dots as a turn-on temperature probe in living cells. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 280:121538, 2022.
- [150] Zhenpeng Zhu, Zishan Sun, Ziyang Guo, Xinguo Zhang, and Zhan chao Wu. A high-sensitive ratiometric luminescent thermometer based on dual-emission of carbon dots/rhodamine b nanocomposite. *Journal of Colloid and Interface Science*, 552, 2019.
- [151] Lihong Shi, Yanyan Li, Xiaofeng Li, Bo Zhao, Xiangping Wen, Guomei Zhang, Chuan Dong, and Shaomin Shuang. Controllable synthesis of green and blue fluorescent carbon nanodots for ph and cu²⁺ sensing in living cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 2016.
- [152] Mei Yang, Baoyan Li, Kailiang Zhong, and Yun Lu. Photoluminescence properties of n-doped carbon dots prepared in different solvents and applications in ph sensing. *Journal of Materials Science*, 53, 2018.
- [153] Ning Xu, Jianjun Du, Qichao Yao, Haoying Ge, Haidong Li, Feng Xu, Fengli Gao, Liman Xian, Jiangli Fan, and Xiaojun Peng. Precise photodynamic therapy: Penetrating the nuclear envelope with photosensitive carbon dots. *Carbon*, 159, 2020.
- [154] King-Thom Chung. Azo dyes and human health: A review. *J. Environ. Sci. Health C*, 34:233, 2016.
- [155] A. Tkaczyk, K. Mitrowska, and A Posyniak. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. *Sci Total Environ*, 717:137222, 2020.
- [156] E. A. Sweeney, J. K. Chipman, and S. J. Forsythe. Evidence for direct-acting oxidative genotoxicity by reduction products of azo dyes. *Environ. Health Perspect.*, 102:119, 1994.

- [157] Shuji Tsuda, Naonori Matsusaka, Hiroo Madarame, Shunji Ueno, Nobuyuki Susa, Kumiko Ishida, Noriko Kawamura, Kaoru Sekihashi, and Yu F. Sasaki. The comet assay in eight mouse organs: Results with 24 azo compounds. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 465, 2000.
- [158] Y. F. Sasaki, K. Sekihashi, F. Izumiyama, E. Nishidate, A. Saga, K. Ishida, and S. Tsuda. The comet assay with multiple mouse organs: Comparison of comet assay results and carcinogenicity with 208 chemicals selected from the iarc monographs and usntp carcinogenicity database. *Crit. Rev. Toxicol.*, 30:629, 2000.
- [159] Rodrigo Otavio Alves de Lima, Ana Paula Bazo, Daisy Maria Favero Salvadori, Celia Maria Rech, Danielle de Palma Oliveira, and Gisela de Aragao Umbuzeiro. Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 626, 2007.
- [160] Reem I. Alsantali, Qandeel Alam Raja, Abdullah Y.A. Alzahrani, Amina Sadiq, Nafeesa Naeem, Ehsan Ullah Mughal, Munirah M. Al-Rooqi, Nizar El Guesmi, Ziad Moussa, and Saleh A. Ahmed. Miscellaneous azo dyes: a comprehensive review on recent advancements in biological and industrial applications. *Dyes and Pigments*, 199, 2022.
- [161] A. Gurses, M. Acikyildiz, K. Gunecs, and M. Sadi Gurses. *Dyes and Pigments*. Springer, 2016.
- [162] Said Benkhaya, Souad Mrabet, and Ahmed El Harfi. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*, 6, 2020.
- [163] Uma Shanker, Manviri Rani, and Vidhisha Jassal. Degradation of hazardous organic dyes in water by nanomaterials. *Environmental Chemistry Letters*, 15, 2017.
- [164] Yogita Prabhakar, Anshu Gupta, and Anubha Kaushik. Using indigenous bacterial isolate nesterenkonia lacusekhoensis for removal of azo dyes: A low-cost ecofriendly approach for bioremediation of textile wastewaters. *Environment, Development and Sustainability*, 24, 2022.
- [165] Fanyong Yan, Zhonghui Sun, Hao Zhang, Xiaodong Sun, Yingxia Jiang, and Zhangjun Bai. The fluorescence mechanism of carbon dots, and methods for tuning their emission color: a review. *Microchimica Acta*, 186, 2019.
- [166] Kuan Wu Chu, Sher Ling Lee, Chi Jung Chang, and Lingyun Liu. Recent progress of carbon dot precursors and photocatalysis applications. *Polymers*, 11, 2019.
- [167] Nishtha Panwar, Alana Mauluidy Soehartono, Kok Ken Chan, Shuwen Zeng, Gaixia Xu, Junle Qu, Philippe Coquet, Ken Tye Yong, and Xiaoyuan Chen. Nanocarbons for biology and medicine: Sensing, imaging, and drug delivery. *Chemical Reviews*, 119, 2019.
- [168] Meixiu Li, Tao Chen, J. Justin Gooding, and Jingquan Liu. Review of carbon and graphene quantum dots for sensing. *ACS Sensors*, 4, 2019.

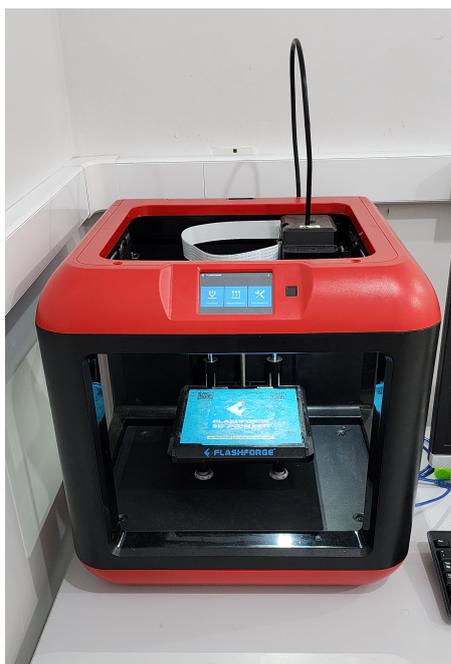
- [169] Shihong Wu, Ronghui Zhou, Hanjiao Chen, Jinyi Zhang, and Peng Wu. Highly efficient oxygen photosensitization of carbon dots: The role of nitrogen doping. *Nanoscale*, 12, 2020.
- [170] Rong Gao, Zhibin Wu, Li Wang, Jiao Liu, Yijun Deng, Zhihua Xiao, Jun Fang, and Yunshan Liang. Green preparation of fluorescent nitrogen-doped carbon quantum dots for sensitive detection of oxytetracycline in environmental samples. *Nanomaterials*, 10, 2020.
- [171] Ming Zhang, Wentao Wang, Ninglin Zhou, Ping Yuan, Yutian Su, Maoni Shao, Cheng Chi, and Feiyan Pan. Near-infrared light triggered photo-therapy, in combination with chemotherapy using magnetofluorescent carbon quantum dots for effective cancer treating. *Carbon*, 118, 2017.
- [172] Min Zheng, Zhigang Xie, Dan Qu, Di Li, Peng Du, Xiabin Jing, and Zaicheng Sun. On-off-on fluorescent carbon dot nanosensor for recognition of chromium(vi) and ascorbic acid based on the inner filter effect. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 5, 2013.
- [173] Yang Xu, Ming Wu, Xi Zeng Feng, Xue Bo Yin, Xi Wen He, and Yu Kui Zhang. Reduced carbon dots versus oxidized carbon dots: Photo- and electrochemiluminescence investigations for selected applications. *Chemistry - A European Journal*, 19, 2013.
- [174] Jiangjiang Gu, Donghua Hu, Weina Wang, Qihong Zhang, Zhen Meng, Xudong Jia, and Kai Xi. Carbon dot cluster as an efficient "off-on" fluorescent probe to detect au(iii) and glutathione. *Biosensors and Bioelectronics*, 68, 2015.
- [175] Yue Yue Liu, Nan Yang Yu, Wen Di Fang, Qiao Guo Tan, Rong Ji, Liu Yan Yang, Si Wei, Xiao Wei Zhang, and Ai Jun Miao. Photodegradation of carbon dots cause cytotoxicity. *Nature Communications*, 12, 2021.
- [176] Shu juan Yu, Shi yan Lu, Deng feng Tan, and Yong fei Zhu. Nitrogen and phosphorus co-doped carbon dots for developing highly flame retardant poly (vinyl alcohol) composite films. *European Polymer Journal*, 164, 2022.
- [177] Linlin Zhao, Min Zhang, Arun S. Mujumdar, Benu Adhikari, and Haixiang Wang. Preparation of a novel carbon dot/polyvinyl alcohol composite film and its application in food preservation. *ACS Applied Materials e Interfaces*, 14(33):37528–37539, 2022.
- [178] Shuaikai Xu, Guodong Wei, Junzhi Li, Wei Han, and Yury Gogotsi. Flexible mxene-graphene electrodes with high volumetric capacitance for integrated co-cathode energy conversion/storage devices. *Journal of Materials Chemistry A*, 5, 2017.
- [179] Huben Lu, Jie Luo, Yusheng Liu, Yuancong Zhong, Jue Wang, and Yong Zhang. Highly performance flexible polymer solar cells by flipping the bilayer film of ag nanowires and polyvinyl alcohol on polyethylene terephthalate as transparent conductive electrodes. *IEEE Journal of Photovoltaics*, 9, 2019.

- [180] Shuangshuang Wu, Wei Li, Wan Zhou, Yan Zhan, Chaofan Hu, Jianle Zhuang, Haoran Zhang, Xuejie Zhang, Bingfu Lei, and Yingliang Liu. Large-scale one-step synthesis of carbon dots from yeast extract powder and construction of carbon dots/pva fluorescent shape memory material. *Advanced Optical Materials*, 6, 2018.
- [181] Melvin Ng Hau Kwan, C. P. Leo, S. M.N. Arosa Senanayake, G. K. Lim, and M. K. Tan. Carbon-dot dispersal in pva thin film for food colorant sensing. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8, 2020.
- [182] Yamin Liu, Ping Wang, K. A. Shiral Fernando, Gregory E. Lecroy, Halidan Maimaiti, Barbara A. Harruff-Miller, William K. Lewis, Christopher E. Bunker, Zhi Ling Hou, and Ya Ping Sun. Enhanced fluorescence properties of carbon dots in polymer films. *Journal of Materials Chemistry C*, 4, 2016.
- [183] P. B. De Melo, A. M. Nunes, L. Omena, S. M.S.Do Nascimento, M. G.A. Da Silva, M. R. Meneghetti, and I. N. De Oliveira. Thermo-optical properties and nonlinear optical response of smectic liquid crystals containing gold nanoparticles. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 92, 2015.
- [184] Xiaobiao Cui, Yinglin Wang, Jie Liu, Qiuyue Yang, Bo Zhang, Yuan Gao, Yue Wang, and Geyu Lu. Dual functional n- and s-co-doped carbon dots as the sensor for temperature and fe³⁺ ions. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 242, 2017.

Aparatos experimentais aprimorados com auxílio de impressão 3D

A impressão 3D é uma tecnologia revolucionária que permite a criação de objetos físicos tridimensionais a partir de modelos digitais. Ao contrário dos métodos convencionais de fabricação, que envolvem a remoção de material por meio de corte ou perfuração, a impressão 3D constrói objetos camada por camada, proporcionando uma flexibilidade e liberdade de design que possibilitam a criação de formas e geometrias complexas. Nesse contexto, a impressora 3D Finder Flashforge foi utilizada para o desenvolvimento e aprimoramento dos arranjos experimentais desta tese. Uma foto desse equipamento pode ser visto na figura A.1.

Figura A.1: impressora 3D Finder Flashforge utilizada para fabricação de peças usadas no presente trabalho.

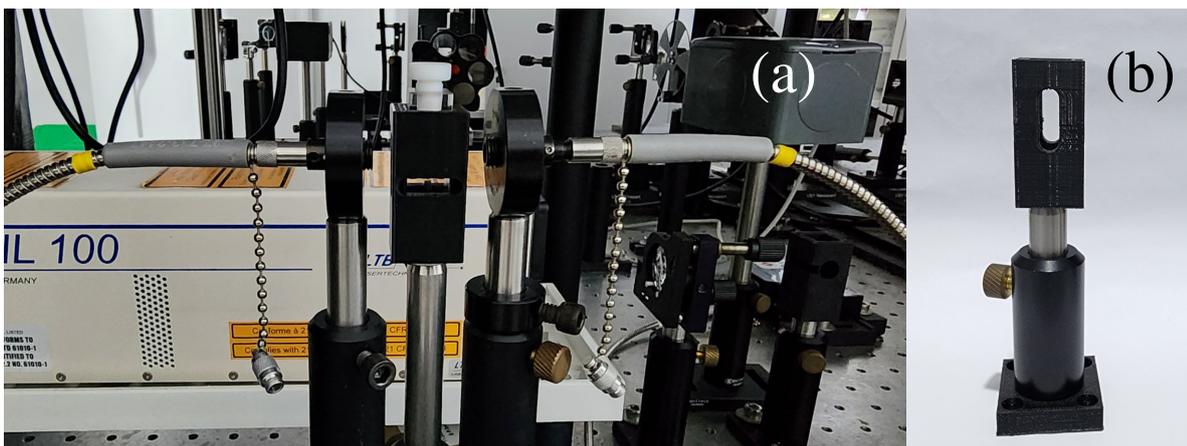


Fonte: Autor, 2023.

O processo de impressão 3D inicia-se com a criação de um modelo digital por meio de software de modelagem 3D. As peças utilizadas no desenvolvimento deste trabalho foram criadas utilizando o software SketchUp®. Em seguida, esse modelo é enviado para a impressora 3D, que interpreta as informações e inicia a criação do objeto. A impressora 3D deposita o material de construção em camadas sucessivas, as quais são fundidas entre si. No caso da impressora 3D Finder Flashforge, foi utilizado o filamento de PLA na construção das peças. Graças ao baixo custo de produção, torna-se viável a fabricação de variações de um mesmo modelo de peça por meio da impressão 3D. Um exemplo disso são os portas-cubeta utilizadas para absorção e emissão, que possuem um desenho semelhante, mas apresentam orifícios em faces diferentes.

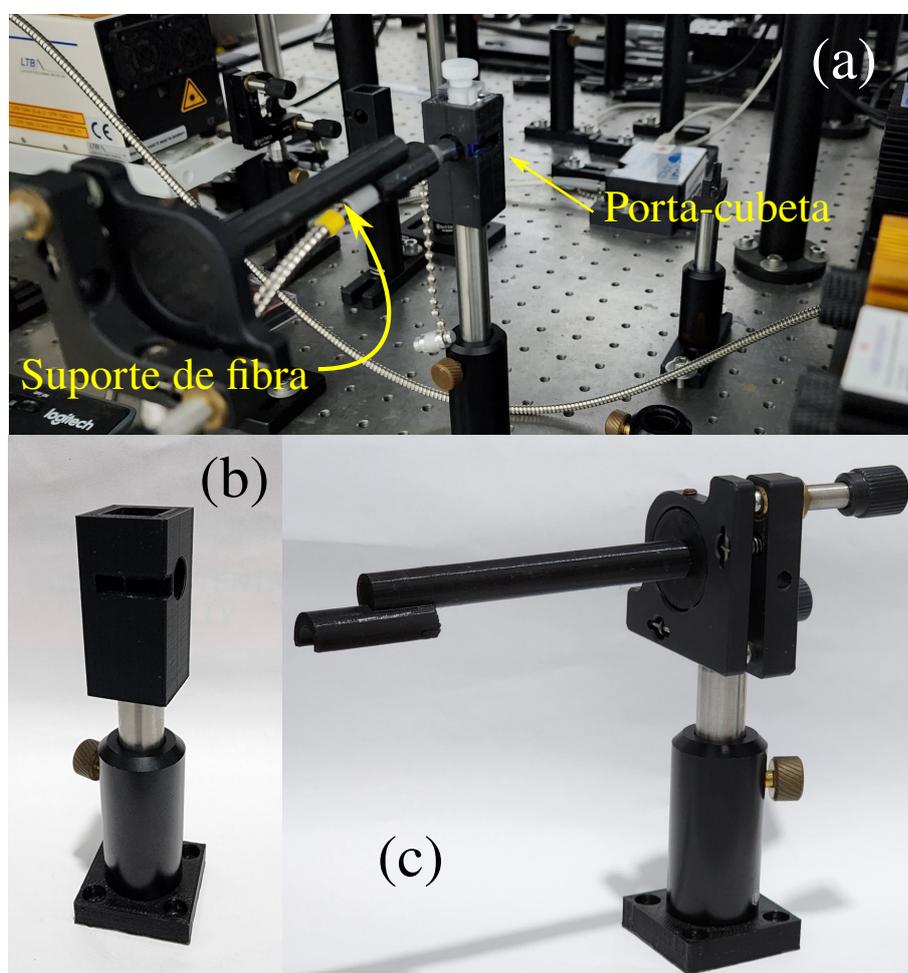
A seguir, serão apresentadas as peças fabricadas por meio da impressão 3D, juntamente com os dispositivos experimentais nos quais elas foram utilizadas. Além dessas peças, outras foram desenvolvidas para atender às demandas de diferentes projetos conduzidos pelo grupo de pesquisa, destacando ainda mais o potencial dessa tecnologia para obter resultados de experimentos sólidos e reproduzíveis.

Figura A.2: (a) Aparato experimental de absorção. Região onde a cubeta está confinada (porta-cubeta) foi fabricada em impressão 3D, com filamento de PLA. (b) Porta-cubeta fixo em poste de metal. A abertura na peça permite que a luz atravesse a amostra, e assim, a medida de absorção possa ser realizada.



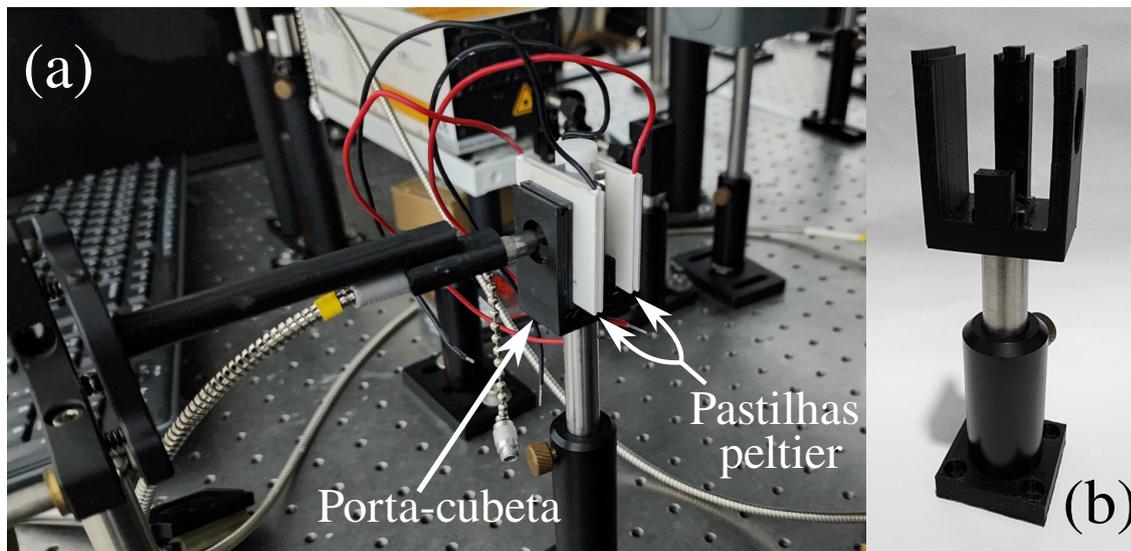
Fonte: Autor, 2023.

Figura A.3: (a) Aparato experimental de emissão, onde é possível perceber o porta-cubeta para emissão e suporte de fibra óptica. (b) Porta-cubeta de emissão fixo em poste de metal. Nessa peça as aberturas são em faces perpendiculares. (c) Suporte de fibra óptica. A peça foi desenhada para encaixar na montagem para lente e na fibra. O suporte garante a posição constante da fibra óptica, o que permite a troca de amostra sem perder a configuração do aparato.



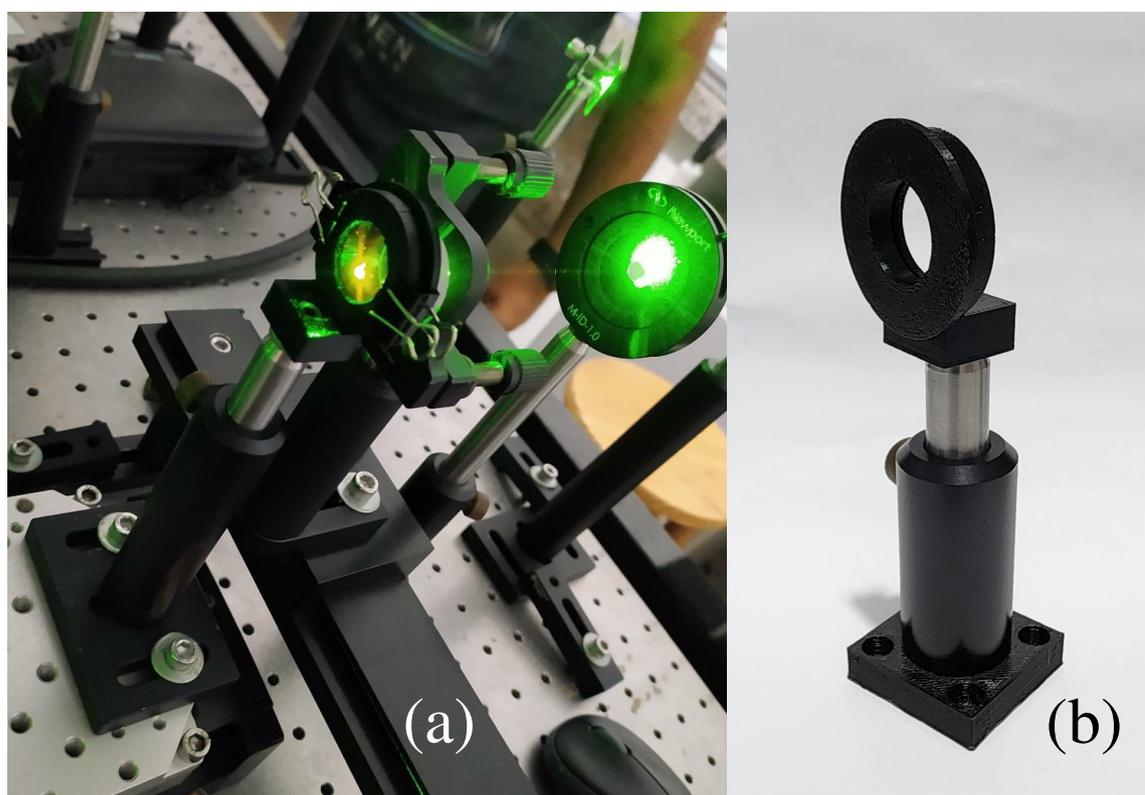
Fonte: Autor, 2023.

Figura A.4: (a) Aparato experimental para coleta de emissão variando temperatura. Neste ensaio, o mudança de temperatura foi realizada por intermédio de pastilhas peltier ligadas a fonte de alimentação Keithley 2200. O ajuste de corrente e/ou tensão chegando as pastilhas peltier permitiu controle do aumento e redução de temperatura nos ensaios. (b) Porta-cubeta de emissão com variação de temperatura fixo em poste de metal. Essa peça foi desenhada de modo que os peltiers sejam as paredes laterais, ficando em contato direto com a cubeta. Esse porta-cubeta possui também aberturas que permite a incidência do laser em uma das faces da cubeta, e o posicionamento perpendicular da fibra de coleta. A leitura da temperatura foi realizada através de termopar acoplado a tampa de cubeta com orifício central, também confeccionado com impressão 3D. Neste ensaio, foi fundamental o uso do suporte de fibra óptica.



Fonte: Autor, 2023.

Figura A.5: (a) Parte do aparato de z-scan. É possível perceber o brilho do laser com comprimento de onda de 532 nm, e o compósito de PVA+CDMR fluorescendo com a passagem da luz. Suporte, fixo em poste de metal, para filmes de PVA dopados com nanopartículas de carbono derivadas de vermelho de metila (CDMR), usados no Capítulo 7. Essa peça foi desenvolvida para auxiliar nas medidas de z-scan, absorção e emissão dos filmes.



Fonte: Autor, 2023.

Anexo **B**

Artigo: Poli(2,5-ditienilpirrol) baseado em amida multieletrocromica contendo um derivado de flúor: síntese, caracterização e propriedades optoeletrônicas



Multielectrochromic amide-based poly(2,5-dithienylpyrrole) bearing a fluorene derivative: Synthesis, characterization, and optoelectronic properties



Jorge L. Neto^a, Luis P.A. da Silva^a, Joel B. da Silva^a, Raul L. Ferreira^b, Ana Júlia C. da Silva^c, Júlio C.S. da Silva^a, Ítalo N. de Oliveira^b, Dimas J.P. Lima^a, Adriana S. Ribeiro^{a,1,*}

^a Chemistry and Biotechnology Institute, Federal University of Alagoas, Maceió, AL 57072-970, Brazil

^b Physics Institute, Federal University of Alagoas, Maceió, AL 57072-970, Brazil

^c Federal Institute of Alagoas, Campus Viçosa, Viçosa, AL 57700-000, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 January 2021

Revised 11 March 2021

Accepted 13 March 2021

Available online 17 March 2021

Keywords:

Synthesis

Conjugated polymer

Fluorescence

Spectroelectrochemistry

ABSTRACT

A novel 2,5-dithienylpyrrole derivative bearing a fluorene substituent (SNSFCA) was synthesized and successfully electropolymerized on ITO electrodes in acetonitrile (CH₃CN) containing tetrabutylammonium tetrafluoroborate ((C₄H₉)₄NBF₄). The fluorescence properties of SNSFCA and its polymer (PSNSFCA) were investigated upon laser excitation at 337 nm, however, the polymer was not fluorescent, which may be explained by DFT methods. PSNSFCA films present multielectrochromism in a narrow range of applied potential ($0.0 \leq E \leq 0.4$ V vs. Ag/Ag⁺), as shown by the track of the CIE 1931 xy chromaticity coordinates, besides high absorption in the near infrared (NIR) region. The electrochromic properties of PSNSFCA films, such as good chromatic contrast (ΔT), coloration efficiency (η) in the range of 110–350 cm² C⁻¹, and stability to redox cycling aroused the possibility of its application as an electrochromic material in optoelectronic devices.

© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The design and synthesis of novel π -conjugated polymers has attracted considerable interest due to their electrical and optical properties, leading to the development of multifunctional materials for technological applications in the field of electronics and photonics, sensors, and devices [1]. Polythiophene, polypyrrole and their derivatives have been highlighted as active layers in electrochromic device applications owing to their low band gap, good conductivity, high optical contrast, and multicolor electrochromism [2–4]. Furthermore, various strategies have been proposed in recent years to fine-tune the optical properties of these multifunctional materials, including the incorporation of fluorescent substituents [5,6], preparation of copolymers [7,8], and synthesis of fused-aromatic rings or extended π -conjugated systems [9].

Improved electrochromic properties than those of individual pyrrole and thiophene ones, may be achieved by using trimeric thiophene-pyrrole-thiophene derivatives, namely *N*-functionalized 2,5-dithienylpyrrole (SNS), which are synthesized from appropri-

ate pyrrole and thiophene coupling at their α -positions [10]. The high reactivity of this π -extended system creates the possibility of introducing a series of functional groups through the nitrogen atom in the pyrrole ring of the SNS unit, such as alkyl and phenyl derivatives [11–14], ferrocene [15], BODIPY [16], luminol [17], dansyl [7], including a series of dyes [2,18] and fluorophores [19–21]. In addition, the relatively low oxidation potential (about 0.70 V vs. Ag/Ag⁺) [20], multielectrochromic properties, high chemical and electrochemical stability, and effortless synthesis methods, make PSNS derivatives one of the most promising conjugated polymers aimed at applications in optoelectronics [20,22].

According to Cihaner and Algi [21,23], the synthesis of extended π -conjugated systems based on the introduction of a fluorene appendage in the SNS main chain can render multifunctional materials that exhibit both electrochromic and fluorescent properties. Fluorene and polyfluorene derivatives have been widely employed in solar cells [24], sensors [25,26] and optical devices [27,28], due to their rigid planar structure, excellent hole-transporting properties, good solubility, exceptional chemical stability and photoluminescence efficiencies. Particularly, fluorene-9-carboxylic acid (FCAC), which contains an electron-withdrawing substituent, have rarely been studied [29], because its anodic oxidation is hampered

* Corresponding author.

E-mail address: aribeiro@qui.ufal.br (A.S. Ribeiro).

¹ ISE member

in common organic solvents, such as acetonitrile. However, the presence of a carboxyl group on the conjugated polymer backbone has several advantages owing to its electron-deficient functionality.

Therefore, the synthetic versatility of the SNS main chain along the aforementioned properties of fluorene-9-carboxylic acid moiety, has attracted a considerable interest in the synthesis of a novel SNS-fluorene derivative, namely N-(2-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)ethyl)-9H-fluorene-9-carboxamide (SNSFCA), for application as electrochromic material in optoelectronic devices.

2. Experimental

2.1. Materials and Instrumentation

All chemicals were purchased from Sigma-Aldrich or Acros as analytical grade. Previously to the synthetic procedures, the solvents CH_2Cl_2 and toluene were treated with P_2O_5 , being subsequently distilled. For the electrochemical experiments, anhydrous acetonitrile 99.8% ($\text{CH}_3\text{CN} < 0.001\%$ water) and tetrabutylammonium tetrafluoroborate ($(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NBF}_4$) were used as received.

NMR spectra were recorded on a Bruker Ascend 600 spectrometer at 600 MHz for ^1H NMR and 150 MHz for ^{13}C NMR, using CDCl_3 as solvent. Chemical shifts (δ) were given relative to tetramethylsilane (TMS) as the internal standard. The compounds were analyzed by using attenuated total reflection Fourier transformed infrared spectroscopy (ATR-FTIR) on a Shimadzu IR Prestige - 21 spectrophotometer, operating between 4000 cm^{-1} and 400 cm^{-1} , with a spectral resolution of 4 cm^{-1} . Scanning Electron Microscopy (SEM) images of the polymer film were obtained in a Jeol JSM - 6610 (Thermo Scientific NSS Spectral Image). A Hewlett-Packard 8453A diode array spectrophotometer was used for spectroelectrochemistry and kinetic studies.

2.2. Synthesis of N-(2-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)ethyl)-9H-fluorene-9-carboxamide (SNSFCA)

The starting materials 1,4-di(thiophen-2-yl)butane-1,4-dione and 2-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)ethanamine were synthesized according to the procedure previously described [7].

2-(2,5-di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)ethanamine (55 mg, 0.20 mmol), fluorene 9-carboxylic acid (FCAC) (84 mg, 0.40 mmol) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) (6.0 mg, 0.05 mmol) were added to CH_2Cl_2 (5.0 mL) under stirring and argon atmosphere. The mixture was cooled with ice-salt bath (-2 to $0\text{ }^\circ\text{C}$). Then a solution of N, N'-Dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (41 mg, 0.20 mmol) in CH_2Cl_2 (10 mL) was added dropwise. After this, the ice bath was removed, and the reaction mixture stirred for 20 h at room temperature. Dicyclohexylurea precipitated and was removed by filtration. The filtrate was extracted with CH_2Cl_2 ($5 \times 15\text{ mL}$) and H_2O , the organic solution was dried with anhydrous Na_2SO_4 and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel using hexane/ethyl acetate 8:2 as eluent, to afford SNSFCA as grayish solid (65 mg, 73% yield), **Scheme 1**. **m.p.:** $191 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$; **^1H NMR (600 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)):** 7.8 (d, $J = 7.56\text{ Hz}$, 2 H), 7.5 (dd, $J = 0.72$, 7.56 Hz, 2 H), 7.4 (t, $J = 7.47\text{ Hz}$, 2 H), 7.3 (d, $J = 1.08$, 7.47 Hz, 2 H), 7.2 (d, $J = 1.08\text{ Hz}$, 2 H), 7.0 (dd, $J = 3.54$, 5.16 Hz, 2 H), 6.9 (dd, $J = 1.08$, 3.54 Hz, 2 H), 6.3 (s, 2 H), 5.1 (s, 1 H), 4.7 (s, 1 H), 4.3 (t, $J = 6.51\text{ Hz}$, 2 H), 3.2 (q, $J = 6.34\text{ Hz}$, 2 H) (see Supplementary Material, Fig. S1); **^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)):** 172.0, 141.3, 141.1, 134.2, 128.6, 128.2, 127.7, 127.5, 126.2, 125.5, 125.4, 120.1, 111.4, 55.6, 43.8, 39.5 (see Supplementary Material, Fig. S2); **FTIR (ATR) (cm^{-1}):** 3270 and 3100 (vN-H amide), 3060 (vC-H aromatic ring), 2960-2850 (ν_s C-H and ν_{as} C-H), 1652 (vC=O amide), 1608 (v C=C aromatic ring), 1540 (vC-N and δ

N-H amide), 1440 (ν C=C aromatic ring), 1210 (vC-N amide), 1075 (vC=C thiophene ring), 840 (δ C-H $_{\beta/\beta}$ thiophene ring), 730 (δ C-H $_{\beta}$ pyrrole ring) and 678 (δ C-H $_{\alpha}$ thiophene ring) (see Supplementary Material, Fig. S3).

2.3. Electropolymerization of SNSFCA

Films of PSNSFCA were electrodeposited on ITO electrodes (Delta Technologies, specific resistivity (R_s) = $8\text{--}12\ \Omega\text{ cm}$, 1.0 cm^2) in a single compartment cell. A home-built non-aqueous Ag/Ag^+ ($0.10\text{ mol L}^{-1}\ \text{AgNO}_3/\text{CH}_3\text{CN}$), calibrated to the Fc/Fc^+ redox system [30], was used as reference electrode and a Pt foil was employed as counter electrode. A solution of SNSFCA ($5.0 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$) in $0.1\text{ mol L}^{-1}\ (\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NBF}_4 / \text{CH}_3\text{CN}$ was used for the electrodeposition. The polymer was electrodeposited by cyclic voltammetry at scan rate (ν) = 20 mV s^{-1} in a potential range of $0.00 \leq E \leq 0.65\text{ V vs. Ag}/\text{Ag}^+$. After electrodeposition, the films were washed several times with CH_3CN to remove unreacted monomers and the excess of electrolyte.

2.4. Spectroelectrochemistry

The PSNSFCA films deposited on ITO were characterized by cyclic spectrovoltammetry and double potential step spectrochronoamperometry in $0.1\text{ mol L}^{-1}\ (\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NBF}_4 / \text{CH}_3\text{CN}$ solution as supporting electrolyte, using a Pt wire as the counter electrode and an Ag/Ag^+ (CH_3CN) electrode as reference. The cyclic voltammograms were registered in a potential range of $-0.20 \leq E \leq 0.60\text{ V vs. Ag}/\text{Ag}^+(\text{CH}_3\text{CN})$ at $\nu = 20\text{ mV s}^{-1}$ and chronoamperograms were acquired by applying pulses of $E_1 = 0.00\text{ V}$ and $E_2 = 0.40\text{ V}$ for 40 s. *In situ* spectroelectrochemistry was performed by recording the UV-vis-NIR spectra simultaneously with the electrochemical experiments in kinetic mode at intervals of 2.5 s.

The CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) 1931 xy color coordinates [31] were calculated by using a Microsoft® Excel® spreadsheet developed by Mortimer and Varley [32,33] using a D55 standard illuminant. The CIE 1931 xy chromaticity coordinates in the CIE chromaticity diagram were displayed by the Spectra Lux Software v.2.0 Beta [34].

2.5. Fluorescence Spectroscopy

The photoluminescence emission spectra of SNSFCA solubilized in CHCl_3 (0.5 mg mL^{-1}) and its polymer film deposited on ITO and in N-methylpyrrolidone (NMP) solution were recorded in an UV-Vis spectrometer (USB2000, Ocean Optics). The samples were excited by using a pulsed Nitrogen laser (MNL-103 PD LTB Lasertechnik Berlin) at 337 nm and pulse width of 3.0 ns. The repetition rate was set in 30 Hz.

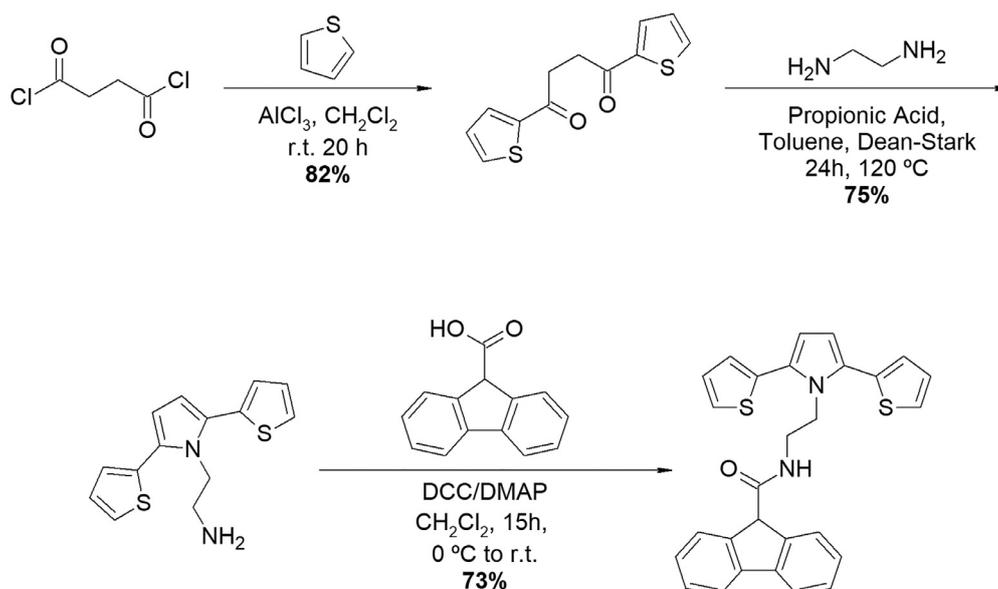
2.6. Computational methods

The quantum calculations were performed using the C.01 version of the Gaussian 09 program [35]. Ground state structures for SNSFCA and PSNSFCA were evaluated using the density functional theory (DFT) level of the three-parameter compound functional of Becke (B3LYP), including the D3 dispersion correction proposed by Grimme and co-workers [36]. All atoms of the monomer and its polymer were described using cc-pVDZ basis set [37].

3. Results and discussion

3.1. Synthesis and characterization of SNSFCA

The synthetic route to obtain SNSFCA was accomplished into three steps, as shown in **Scheme 1**. The first step involved the



Scheme 1. The synthetic route of SNSFCA.

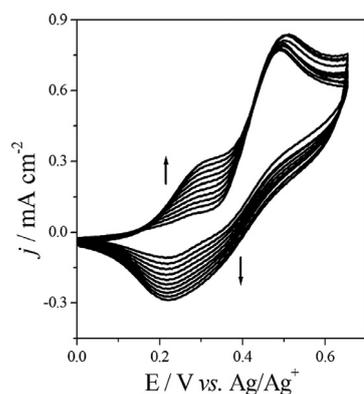


Fig. 1. Cyclic voltammograms of SNSFCA in 0.1 mol L⁻¹ (C₄H₉)₄NBF₄/CH₃CN.

preparation of the diketone involving a Friedel-Crafts acylation with 82% yield [12]. Then, a Paal-Knorr condensation between the diketone and ethylenediamine gave the SNS intermediate with 75% yield [38], and lastly, the condensation reaction between the FCAc and the amine present in the SNS intermediate by using DCC/DMAP to afford SNSFCA as a greyish solid in 73% yield, Scheme 1. Such method has the simplicity, the use of mild conditions, and good yields from readily available starting materials as advantages.

3.2. Electropolymerization

The cyclic voltammograms recorded during the electropolymerization of the monomer show that the onset oxidation potential (E_{onset}) of the monomer is ca. 0.60 V vs. Ag/Ag⁺ (CH₃CN), which is lower than the oxidation potential reported for pyrrole (~ 0.90 V vs. Ag/Ag⁺ [39]), thiophene [40], and fluorenes [29,41,42]. When compared with most of SNS derivatives reported in the literature [21–23,42,43], the introduction of an electron donating fluorene amide-based substituent into the SNS main chain displaces the E_{onset} towards less anodic potentials [44], facilitating the electropolymerization process. Furthermore, from cyclic voltammograms shown in Fig. 1, a new redox pair in the range of 0.10 ≤ E ≤ 0.40 V vs. Ag/Ag⁺ arised. It was observed that the current density increases

with the repetitive cyclic voltammetric scans, which implies that the deposition of a redox-active layer of a conducting material is occurring on the electrode.

3.3. Morphological characterization

The SEM image of the PSNSFCA film deposited on ITO displays a smooth, homogenous and globular morphology. The potentiodynamic method (cyclic voltammetry) used for the electrodeposition of the polymer on ITO usually results in multi-nucleation leading to small, but well-dispersed, grains [45], as can be seen in Fig. 2. Such structures are similar to those found for other poly(2,5-dithienylpyrrole) derivatives reported in the literature [46].

3.4. Spectroelectrochemical characterization

The cyclic voltammogram of the PSNSFCA film deposited on ITO (Fig. 3a) displayed an anodic wave with anodic peak potential (E_{pa}) at 0.33 V and a cathodic wave with cathodic peak potential (E_{pc}) at 0.22 V vs. Ag/Ag⁺. The difference (ΔE_{p}) of 0.11 V between the E_{pa} and E_{pc} is within the range of commonly observed values for conjugated polymers and have been associated to the kinetic limitations, such as slow heterogeneous electron transfer, effects of structural reorganization processes within the polymer film, and electronic charging of a sum of two interfacial exchanges, namely the electrode/polymer and the polymer solution interfaces [47,48].

The polymer film was cycled between reduced, neutral and oxidized states at various scan rates, in order to investigate the scan rate dependence of anodic (i_{pa}) and cathodic (i_{pc}) peak currents. The peak currents were linearly proportional to the scan rate indicating a non-diffusional redox process and a well-adhered electroactive polymer films to the working electrode surface [49], Fig. 3b.

The changes in the absorbance spectra of the PSNSFCA film according to the applied potential are shown in Fig. 4. In this case, a potential range of 0.00 V to 0.40 V was sufficient to cause a perceptible optical contrast in a reversible way. At 0.00 V (neutral state), the absorption spectrum of the polymer film exhibited a band with maximum wavelength (λ_{max}) at 360 nm, assigned to π - π^* transition. The band gap energy (E_{g}) of 2.40 eV was calculated from the onset of the π - π^* transition ($\lambda_{\text{onset}} = 517$ nm) in the absorption spectrum of the film at neutral state. According to

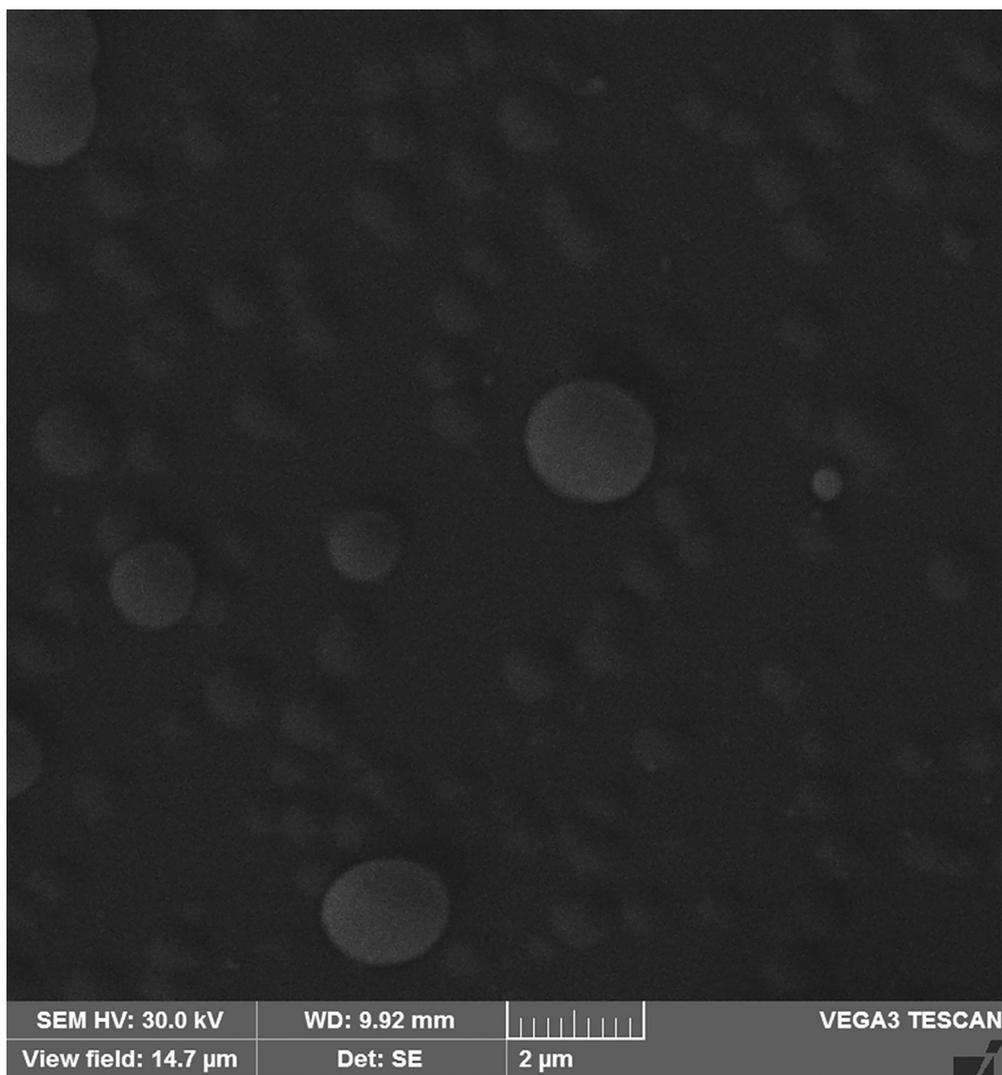


Fig. 2. SEM image of PSNSFCA film electrodeposited on ITO.

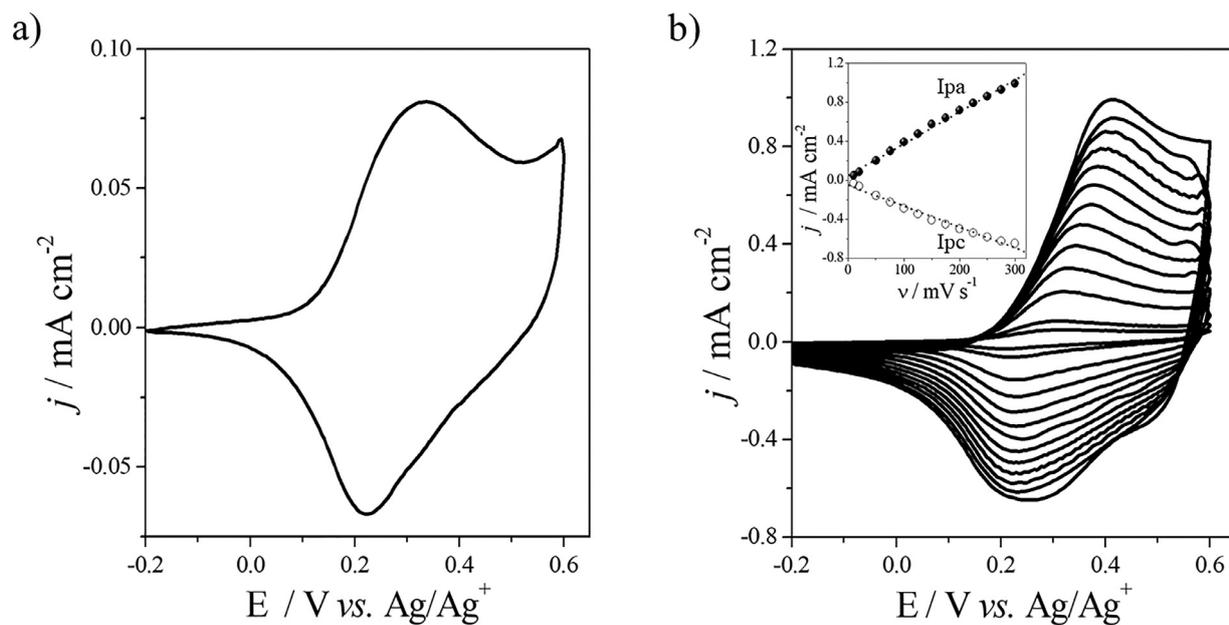
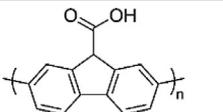
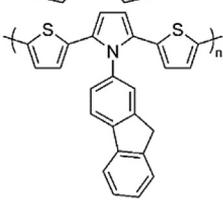
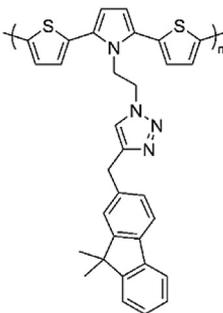
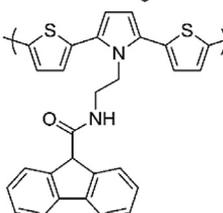
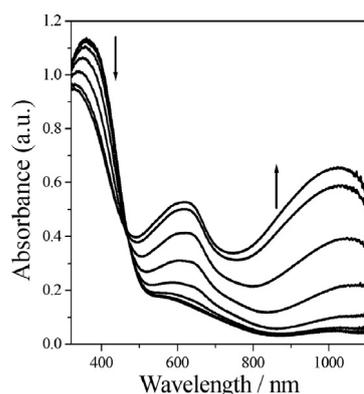


Fig. 3. Cyclic voltammograms of the PSNSFCA film deposited on ITO in $0.1 \text{ mol L}^{-1} (\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NBF}_4/\text{CH}_3\text{CN}$, (a) at $\nu = 0.02 \text{ V s}^{-1}$ and (b) at different scan rates between 0.025 and 0.300 V s^{-1} . The inset shows a plot of the dependence of the peak current density on the potential sweep rate.

Table 1
Optical properties of PFCAC and PSNS-fluorene derivatives.

Polymer	λ_{\max} (nm)	E_g (eV)	Colors	Ref.
	374	3.10	transparent (0.00 V), brownish-orange (1.25 V) ^a	[42]
	445	2.18	yellow (0.00 V), green/blue (intermediate), violet (0.80 V) ^b	[21,23]
	323	2.59	yellow (0.00 V), blue (1.00 V) ^c	[52]
	360	2.40	yellow (0.00 V), green (intermediate), blue (0.40 V) ^c	This work

^a E (V) vs. Ag wire,^b E (V) vs. Ag/AgCl,^c E (V) vs. Ag/Ag⁺. The conversion factors for the reference electrodes are + 0.10 V relative to pseudo reference Ag wire [53] and -0.20 V relative to Ag/AgCl [54,55].**Fig. 4.** Spectroelectrochemistry of PSNSFCA film deposited on ITO in 0.1 mol L⁻¹ (C₄H₉)₄NBF₄ / CH₃CN. Spectra were registered at each 50 mV from 0.00 to 0.40 V vs. Ag/Ag⁺ (CH₃CN).

the literature, E_g values for conjugated polymers are in the range of 1.5–3.0 eV [9,50,51]. Therefore, the E_g value found for PSNSFCA films is close to the values reported for similar π -conjugated systems, including other PSNS-fluorene derivatives [21,23,52], and it is lower than that exhibited by PFCAC [42], as can be seen in Table 1.

With increasing potential, the peak intensity of the band at 360 nm slightly decreased, and an isosbestic point may be ob-

served at 470 nm indicating that polymer film is undergoing interconversion between its neutral and oxidized states. At higher oxidation levels, two broad bands at ca. 620 and 1030 nm appeared, owing to the formation of polaronic and bipolaronic states, respectively [56,57].

It is well known that the absorption spectrum of an electrochromic film provides an objective measure for color absorption in visible region. However, such measurement is limited in terms of how the color is perceived by the human eye. To overcome this drawback, the field of colorimetry has been developed for description of color in an objective way [32]. Hence, *in-situ* colorimetric analysis were performed for quantitative examination of PSNSFCA spectral properties, thus providing a direct correlation between the changes in the spectral absorption bands as the colors seen by the human eye according to the potential applied to the system. The CIE 1931 xy chromaticity coordinates were calculated from the *in situ* spectra of the polymer film at potentials varying from 0.00 to 0.40 V and its trajectory is shown in Fig. 5, together with the images of the film in different oxidation states. The colors of the film change from yellow ($x = 0.388$, $y = 0.425$) in the neutral state (0.00 V), green ($x = 0.336$, $y = 0.382$) in the intermediate state, to blue ($x = 0.317$, $y = 0.354$) in the oxidized state.

It is noteworthy the PSNSFCA film presents multielectrochromism where a gradual change in the chromatic coordinates takes place as the potential is varied in a narrow range of 0.40 V. Such a high electrochromic response of PSNSFCA film contrasts

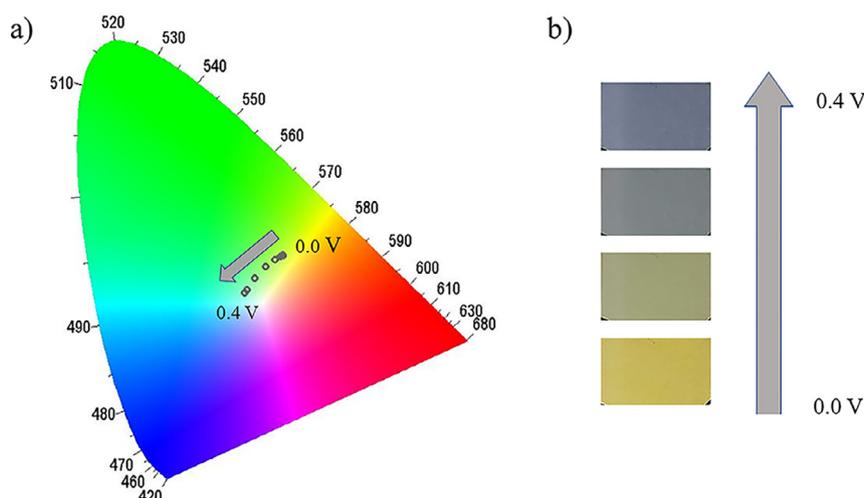


Fig. 5. (a) Calculated colour trajectory in the CIE 1931 xy color space and (b) images of the PSNSFCA film deposited on ITO, registered during potential scan from 0.00 to 0.40 V vs. Ag/Ag⁺ (CH₃CN) (For interpretation of the references to color in this figure, the reader is referred to the web version of this article.).

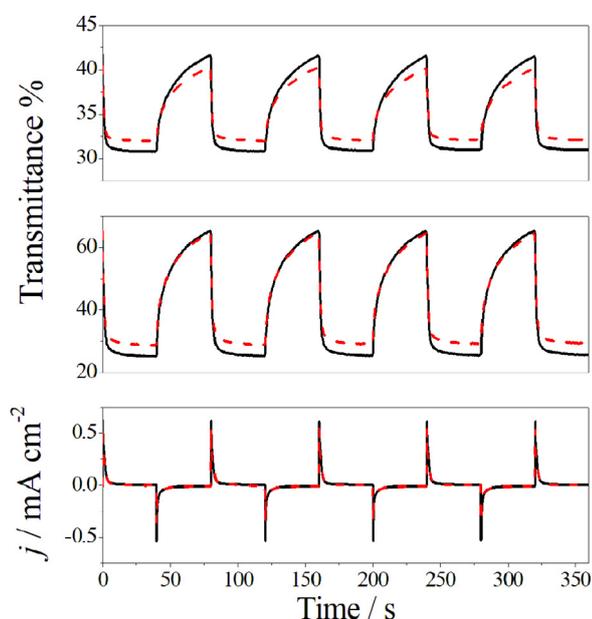


Fig. 6. Transmittance variation at (a) $\lambda = 620$ nm and (b) 1030 nm, and (c) current density (j) variation for the PSNSFCA film during double potential step chronoamperometry with $E_1 = 0.0$ V, $E_2 = 0.4$ V and $t_{\text{step}} = 40$ s. Full line (black) corresponds to the first cycle and dashed line (red) corresponds to the 100th cycle (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.).

with the typical behavior of similar SNS-based polymers, in which the potential range for a significant electrochromic response may reach up to 3.0 V [58]. Thus, these features make it suitable for application as active layer in displays and electrochromic devices.

3.5. Electrochromic properties

The electrochromic performance of the PSNSFCA film with respect to chromatic contrast ($\Delta\%T$), coloration efficiency (η) and stability to redox cycling was investigated by double step spectrochronoamperometry. The variation in the transmittance (%) of the polymer film recorded simultaneously at 620 and 1030 nm in function of the number of redox cycles is depicted in Fig. 6 and the $\Delta\%T$ calculated at such wavelengths were 11.8% and 41.3%, respec-

tively, indicating that the polymer films present pronounced chromatic contrast in the NIR region. This characteristic is an advantage due to the possibility of application of this polymer in smart windows that controls the temperature of the ambient by absorbing NIR radiation.

The coloration efficiency (η) was calculated from the amount of the charge injected in the polymer as a function of the change in the optical density during switching. The η values calculated for the PSNSFCA film at 620 and 1030 nm were 110 and 350 cm² C⁻¹, respectively. These values are higher than those cited in the literature for PSNS-fluorene derivatives (78 – 107 cm² C⁻¹) [21,23,52]. Therefore, concerning energy economy, PSNSFCA is a promising material for application in electrochromic devices, because it needs only a small amount of charge injected *per area* to show a perceptible change of its color.

The PSNSFCA film is stable with respect to the switch between the oxidized and reduced states by over than 100 cycles, showing no significant loss of its electrical and optical responses, Fig. 6. Coulombic efficiency was calculated as being 91% in the initial cycles, reaching 94% in subsequent cycles, such behavior may be attributed to the conformational changes in the structure of the film that occurs during the redox process [59].

3.6. Fluorescence properties

The fluorescence properties of polyfluorene and its derivatives are well-known and broadly reported in the literature as having a strong blue emission about between 400 and 500 nm [21,28,29,60]. Therefore, it would be expected that both monomer and polymer derivatized with a fluorene moiety were fluorescent. Indeed, the monomer presents a blue emission, which is characterized by a dual fluorescence with bands centered at 424 and 526 nm, indicating that distinct radiative mechanisms in SNSFCA photoluminescence occur. For organic compounds, this behavior is usually attributed to the excited states associated with distinct molecular conformations [61], excimer formation [62,63], and photodimerization [62,64].

Interestingly, it was observed a pronounced color change in the SNSFCA solution from colorless to brownish after the laser excitation. In order to investigate such behavior, the modification in the emission spectrum of SNSFCA in different time intervals after the initial UV excitation was analyzed, Fig. 7a. After the initial UV excitation, a modification in the SNSFCA fluorescence takes place with

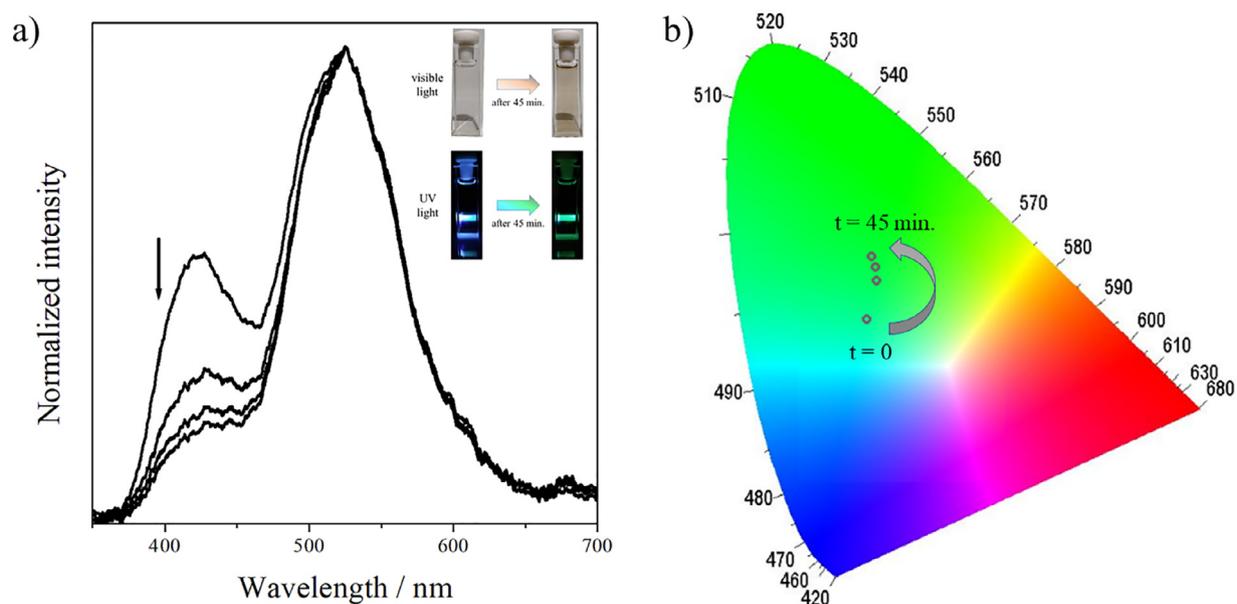


Fig. 7. (a) Normalized fluorescence spectra of SNSFCA according to the time after UV laser exposure from $t = 0, 5$ min, 25 min and 45 min. Inset: images of SNSFCA before ($t = 0$) and after UV laser exposure (45 min.) under visible and UV light. (b) Calculated colour trajectory (emission) in the CIE 1931 xy color space before ($t = 0$) and after UV laser exposure at 5, 25 and 45 min.

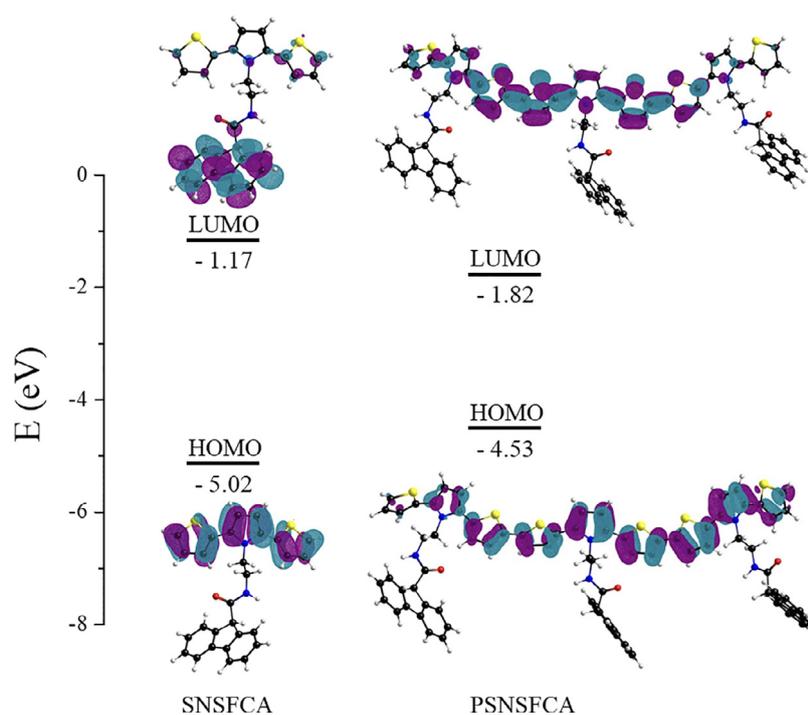


Fig. 8. The HOMO and LUMO Kohn-Sham molecular orbitals of the SNSFCA and PSNSFCA.

a strong suppression of the fluorescence band centered at 424 nm. In this case, the exposure of SNSFCA solution to UV laser for a long period of time leads to an irreversible change of its optical properties due to photodimerization [62,64].

Although the fluorescence emission of SNSFCA solution is maintained after the formation of stable dimers, the photoluminescence of PSNSFCA film and solution was not observed. In such a case, the SNS polymer chain seems to suppress the radiative decaying of excited electrons, as discussed by the analysis of HOMO and LUMO theoretical calculations of the monomer and polymer structures.

3.7. Computational Results

According to Fig. 8, the HOMO orbital for SNSFCA is distributed along the conjugated rings of thiophene and pyrrole of the SNS system, while the LUMO orbitals are strictly located in the fluorene group. However, the polymerization drastically affects the LUMO orbital of the molecular structure of the compound, in which for the PSNSFCA, both HOMO and LUMO orbitals are symmetrically distributed in the conjugated region of the SNS aromatic rings. This result is consistent with the fluorescence behavior of the material,

since it is possible to observe that the monomer is a blue/green light emitter, whilst the polymer is not fluorescent.

Moreover, the band gap energy of the SNSFCA and PSNSFCA were calculated using the HOMO–LUMO difference as being 3.85 eV and 2.71 eV, respectively. Such result is in good agreement with the PSNSFCA E_{g}^{OP} of 2.40 eV.

4. Conclusions

The monomer SNSFCA was prepared by using a simple synthetic route with good yield (73%) and its electropolymerization on ITO was successfully achieved. PSNSF films exhibited multielectrochromic behavior, presenting distinct colors from yellow in the neutral state, green in the intermediate state, to blue in the oxidized state. It would be expected that both monomer and polymer derivatized with a fluorene moiety were fluorescent, however, the monomer presents a blue emission, whilst the photoluminescence of the polymer was not observed. Such behavior was interpreted theoretical calculations in good agreement with the results.

The electrochromic properties showed by the PSNSFCA films, such as good chromatic contrast (ΔT), coloration efficiency (η) and stability to switching, including high absorption in the NIR region (ΔT at 1030 nm = 41.3%), aroused the interest in the application of this polymer as active layer in electrochromic devices and displays.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Credit authorship contribution statement

Jorge L. Neto: Methodology, Formal analysis, Investigation, Validation, Writing – original draft. **Luis P.A. da Silva:** Investigation, Validation. **Joel B. da Silva:** Investigation, Validation. **Raul L. Ferreira:** Investigation, Validation. **Ana Júlia C. da Silva:** Methodology, Formal analysis, Investigation, Supervision. **Júlio C.S. da Silva:** Formal analysis, Writing – original draft. **Ítalo N. de Oliveira:** Formal analysis, Investigation, Writing – original draft. **Dimas J.P. Lima:** Conceptualization, Formal analysis, Resources, Writing – original draft, Supervision, Funding acquisition. **Adriana S. Ribeiro:** Conceptualization, Formal analysis, Resources, Writing – review & editing, Project administration, Funding acquisition.

Acknowledgments

The authors wish to thank the granting authorities CNPq (proc. 442320/2014-0), CAPES and FAPEAL (proc. 1033/2016 and 60030 393/2017) for financial support. Also wish thank to Prof. J.D. de Freitas at Federal Institute of Alagoas for the SEM image.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.electacta.2021.138173](https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.138173).

References

- [1] M.P. Algi, A. Cihaner, F. Algi, Design, synthesis, photochromism and electrochemistry of a novel material with pendant photochromic units, *Tetrahedron* 70 (2014) 5064–5072.
- [2] D. Yiğit, Ş.O. Hacıoğlu, M. Güllü, L. Toppare, Novel poly(2,5-dithienylpyrrole) (PSNS) derivatives functionalized with azobenzene, coumarin and fluorescein chromophore units: Spectroelectrochemical properties and electrochromic device applications, *New J. Chem.* 39 (2015) 3371–3379.
- [3] K.H. Chang, H.P. Wang, T.Y. Wu, J.W. Sun, Optical and electrochromic characterizations of four 2,5-dithienylpyrrole-based conducting polymer films, *Electrochim. Acta* 119 (2014) 225–235.
- [4] T.Y. Wu, J.W. Liao, C.Y. Chen, Electrochemical synthesis, characterization and electrochromic properties of indan and 1,3-benzodioxole-based poly(2,5-dithienylpyrrole) derivatives, *Electrochim. Acta* 150 (2014) 245–262.
- [5] W.M. Pazin, A.K.A. Almeida, V. Manzoni, J.M.M. Dias, A.C.F. de Abreu, M. Navarro, A.S. Ito, A.S. Ribeiro, I.N. de Oliveira, Thermal and solvatochromic effects on the emission properties of dansyl-based thiophene derivative, *RSC Adv.* 10 (2020) 28484.
- [6] R. Ayranci, M. Ak, A fluorescence and electroactive surface design electropolymerization of dansyl fluorophore functionalized PEDOT, *J. Electrochem. Soc.* 164 (2017) H925–H930.
- [7] J.L. Neto, L.P.A. da Silva, J.B. da Silva, A.J.C. da Silva, D.J.P. Lima, A.S. Ribeiro, A rainbow multielectrochromic copolymer based on 2,5-di(thienyl)pyrrole derivative bearing a dansyl substituent and 3,4-ethylenedioxythiophene, *Synth. Met.* 269 (2020) 116545.
- [8] A.J.C. Silva, V.C. Nogueira, T.E.A. Santos, C.J.T. Buck, D.R. Worrall, J. Tonholo, R.J. Mortimer, A.S. Ribeiro, Copolymerisation as a way to enhance the electrochromic properties of an alkylthiophene oligomer and a pyrrole derivative: copolymer of 3,3'' dihexyl-2,2':5',2'':5'',2''''-quaterthiophene with (R)-(-)-3-(1-pyrrolyl)propyl-N-(3,5-dinitrobenzoyl)- α -phenylglycinate, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* 134 (2015) 122–132.
- [9] A.S. Ribeiro, R.J. Mortimer, Conjugated conducting polymers with electrochromic and fluorescent properties, in: *SPR Electrochemistry*, v. 13, 1st ed., Cambridge, UK, 2016, pp. 21–49.
- [10] E. Rende, C.E. Kilic, Y.A. Udum, D. Toffoli, L. Toppare, Electrochromic properties of multicolored novel polymer synthesized via combination of benzotriazole and N-functionalized 2,5-di(2-thienyl)-1H-pyrrole units, *Electrochim. Acta* 138 (2014) 454–463.
- [11] P. Camurlu, C. Gültekin, Z. Bicil, Fast switching, high contrast multichromic polymers from alkyl-derivatized dithienylpyrrole and 3,4-ethylenedioxythiophene, *Electrochim. Acta* 61 (2012) 50–56.
- [12] S. Tarkuc, M. Ak, E. Onurhan, L. Toppare, Electrochromic properties of "trimeric"thiophene-pyrrole-thiophene derivative grown from electrodeposited 6-(2,5-di-thiophen-2-yl-1H-pyrrolyl-1-yl)hexan-1-amine and its copolymer, *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.* 45 (2008) 164–171.
- [13] N.A. Lengkeek, J.M. Harrowfield, G.A. Koutsantonis, Synthesis and electropolymerization of N-(4'-carboxyphenyl)-2,5-di(2'-thienyl)pyrrole, *Synth. Met.* 160 (2010) 72–75.
- [14] E. Yıldız, P. Camurlu, C. Tanyeli, I. Akhmedov, L. Toppare, A soluble conducting polymer of 4-(2,5-di(thiophene-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)benzamine and its multichromic copolymer with EDOT, *J. Electroanal. Chem.* 612 (2008) 247–256.
- [15] P. Camurlu, Z. Bicil, C. Gültekin, N. Karagoren, Novel ferrocene derivatized poly(2,5-dithienylpyrrole)s: optoelectronic properties, electrochemical copolymerization, *Electrochim. Acta* 63 (2012) 245–250.
- [16] A. Cihaner, F. Algi, A new conducting polymer bearing 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY) subunit: synthesis and characterization, *Electrochim. Acta* 54 (2008) 786–792.
- [17] D. Asil, A. Cihaner, F. Algi, A.M. Önal, A diverse-stimuli responsive chemiluminescent probe with luminol scaffold and its electropolymerization, *Electroanalysis* 22 (2010) 2254–2260.
- [18] A. Cihaner, F. Algi, Electrochemical and optical properties of new soluble dithienylpyrroles based on azo dyes, *Electrochim. Acta* 54 (2009) 1702–1709.
- [19] B. Hu, C. Li, Z. Liu, X. Zhang, W. Luo, L. Jin, Synthesis and multi-electrochromic properties of asymmetric structure polymers based on carbazole-EDOT and 2,5-dithienylpyrrole derivatives, *Electrochim. Acta* 305 (2019) 1–10.
- [20] S. Koyuncu, C. Zafer, E. Sefer, F.B. Koyuncu, S. Demic, I. Kaya, E. Ozdemir, S. Icli, A new conducting polymer of 2,5-bis(2-thienyl)-1H-(pyrrole) (SNS) containing carbazole subunit: electrochemical, optical and electrochromic properties, *Synth. Met.* 159 (2009) 2013–2021.
- [21] A. Cihaner, F. Algi, Processable electrochromic and fluorescent polymers based on N-substituted thienylpyrrole, *Electrochim. Acta* 54 (2008) 665–670.
- [22] W.H. Wang, J.C. Chang, T.Y. Wu, 4-(Furan-2-yl)phenyl-containing poly-dithienylpyrroles as promising electrodes for high contrast and coloration efficiency electrochromic devices, *Org. Electron.* 74 (2019) 23–32.
- [23] A. Cihaner, F. Algi, A processable rainbow mimic fluorescent polymer and its unprecedented coloration efficiency in electrochromic device, *Electrochim. Acta* 53 (2008) 2574–2578.
- [24] J. Hu, J. You, C. Peng, S. Qiu, W. He, C. Li, X. Liu, Y. Mai, F. Guo, Polyfluorene copolymers as high-performance hole-transport materials for inverted Perovskite solar cells, *RRL Sol.* 4 (2020) 1900384.
- [25] Q. Hu, W. Zhang, Q. Yin, Y. Wang, H. Wang, A conjugated fluorescent polymer sensor with amidoxime and polyfluorene entities for effective detection of uranyl ion in real samples, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 244 (2021) 118864.
- [26] S. Roy, A. Gunukula, B. Ghosh, C. Chakraborty, A folic acid-sensitive polyfluorene based "turn-off" fluorescence nanoprobe for folate receptor overexpressed cancer cell imaging, *Sens. Actuators B Chem.* 291 (2019) 337–344.
- [27] F.A.R. Nogueira, A.J.C. Silva, J.D. Freitas, A.S. Tintino, A.P.L.A. Santos, I.N. Oliveira, A.S. Ribeiro, Transmissive to dark electrochromic and fluorescent device based on poly(fluorene-bisthiophene) derivative, *J. Braz. Chem. Soc. Spec. Issue Braz. Woman Sci.* 30 (12) (2019) 2702–2711.
- [28] S.P. Mucur, C. Kök, H. Bilgili, B. Canimkurbey, S. Koyuncu, Conventional and inverted organic light emitting diodes based on bright green emissive polyfluorene derivatives, *Polymer* 151 (2018) 101–107.

- [29] G. Nie, T. Cai, J. Xu, S. Zhang, Low-potential facile electrosyntheses of high-quality free-standing poly(fluorene-9-carboxylic acid) films, *Electrochim. Commun.* 10 (2008) 186–189.
- [30] G. Gritzner, J. Kuta, Recommendations on reporting electrode potentials in nonaqueous solvents, *Pure Appl. Chem.* 56 (1984) 461–466.
- [31] G. Wyszecki, W.S. Stiles, *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*, 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, USA, 1982.
- [32] R.J. Mortimer, T.S. Varley, Quantification of colour stimuli through the calculation of CIE chromaticity coordinates and luminance data for application to in situ colorimetry studies of electrochromic materials, *Displays* 32 (2011) 35–44.
- [33] R.J. Mortimer, T.S. Varley, *In situ* spectroelectrochemistry and colour measurement of a complementary electrochromic device based on surface-confined prussian blue and aqueous solution-phase methylviologen, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* 99 (2012) 213–220.
- [34] P.A. Santa-Cruz, F.S. Teles, *Spectra Lux Software v. 2.0 Beta*, Ponto Quântico Nanodispositivos/RENAMI, Brasil, 2003.
- [35] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, A.D. Daniels, Ö. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, D.J. Fox, GAUSSIAN 09, Revision A.1, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2009.
- [36] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H – Pu., *J. Chem. Phys.* 132 (2010) 154104.
- [37] T.H. Dunning Jr., Gaussian basis sets for use in correlation molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen, *J. Chem. Phys.* 90 (1989) 1007.
- [38] G. Cooke, J.F. Garety, B. Jordan, N. Kryvokhyzha, A. Parkin, G. Rabani, V.M. Rotello, Favin-based [2]rotaxanes, *Org. Lett.* 8 (2006) 2297–2300.
- [39] S. Cosnier, A. Karyakin, *Electropolymerization: Concepts, Materials and Applications*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, 2010.
- [40] N. Atilgan, A. Cihaner, A.M. Önal, Electrochromic performance and ion sensitivity of a terthienyl based fluorescent polymer, *React. Funct. Polym.* 70 (2010) 244–250.
- [41] J. Xu, Z. Wei, Y. Du, W. Zhou, S. Pu, Low-potential electrochemical polymerization of fluorene and its alkyl-polymer precursor, *Electrochim. Acta* 51 (2006) 4771–4779.
- [42] B. Bezgin, A. Cihaner, A.M. Önal, Electrochemical polymerization of 9-fluorene-carboxylic acid and its electrochromic device application, *Thin Solid Films* 516 (2008) 7329–7334.
- [43] E. Sefer, H. Bilgili, B. Gultekin, M. Tonga, S. Koyuncu, A narrow range multi-electrochromism from 2,5-di-(2-thienyl)-1H-pyrrole polymer bearing pendant perylenediamine moiety, *Dyes Pigm.* 113 (2015) 121–128.
- [44] J. Roncali, Conjugated poly(thiophenes): synthesis, functionalization, and applications, *Chem. Rev.* 92 (1992) 711–738.
- [45] A.S. Ribeiro, L.M.O. Ribeiro, J.G. Silva Jr., M. Navarro, J. Tonholo, Characterization by atomic force microscopy of electrodeposited films of polypyrrole-dinitrobenzoyl derivative, *Microsc. Microanal.* 11 (2005) 146–149.
- [46] T. Soganci, S. Soyleyici, H.C. Soyleyici, M. Ak, Optoelectronic characterization and smart windows application of bi-functional amid substituted thienyl pyrrole derivative, *Polymer* 118 (2017) 40–48.
- [47] G. Nie, L. Qu, J. Xu, S. Zhang, Electrosyntheses and characterizations of a new soluble conducting copolymer of 5-cyanoindole and 3,4-ethylenedioxythiophene, *Electrochim. Acta* 53 (2008) 8351–8358.
- [48] G. Inzelt, M. Pineri, J.W. Schutze, M.A. Vorotyntsev, Electron and proton conducting polymers: recent developments and prospects, *Electrochim. Acta* 45 (2000) 2403–2421.
- [49] J.F. Rusling, S.L. Suib, Characterizing materials with cyclic voltammetry, *Adv. Mater.* 6 (1994) 922–930.
- [50] P.M. Beaujuge, J.R. Reynolds, Color control in π -conjugated organic polymers for use in electrochromic devices, *Chem. Rev.* 110 (2010) 268–320.
- [51] P. Camurlu, Polypyrrole derivatives for electrochromic applications, *RSC Adv.* 4 (2014) 55832–55845.
- [52] N. Guven, P. Camurlu, Optoelectronic properties of poly(2,5-dithienylpyrrole) with fluorophore groups, *J. Electrochem. Soc.* 162 (2015) H867–H876.
- [53] T. Soganci, H.C. Soyleyici, M. Ak, A soluble and fluorescent new type thienylpyrrole based conjugated polymer: optical, electrical and electrochemical properties, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 18 (2016) 14401–14407.
- [54] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods, Fundamentals and Application*, John Wiley & Sons, New York, 1980.
- [55] L.B. Groenendaal, G. Zotti, P.H. Aubert, S.M. Waybright, J.R. Reynolds, Electrochemistry of poly(3,4-alkylenedioxythiophene) derivatives, *Adv. Mater.* 15 (11) (2003) 855–879.
- [56] M. Sato, S. Tanaka, K. Kaeriyama, Electrochemical preparation of conducting poly(3-methylthiophene): comparison with polythiophene and poly(3-ethylthiophene), *Synth. Met.* 14 (1986) 279–288.
- [57] T.C. Chung, J.H. Kaufman, A.J. Heeger, F. Wudl, Charge storage in doped poly(thiophene): Optical and electrochemical studies, *Phys. Rev. B* 30 (1984) 702–710.
- [58] T. Soganci, S. Soyleyici, H.C. Soyleyici, M. Ak, High contrast electrochromic polymer and copolymer materials based on amide-substituted poly(dithienylpyrrole), *J. Electrochem. Soc.* 164 (2017) H11–H20.
- [59] L.M.O. Ribeiro, J.Z. Auad, J.G. Silva Júnior, M. Navarro, A. Mirapalheta, C. Fonseca, S. Neves, J. Tonholo, A.S. Ribeiro, The effect of the conditions of electrodeposition on the capacitive properties of dinitrobenzoyl-derivative polypyrrole films, *J. Power Sources* 177 (2008) 669–675.
- [60] S.P. Mucur, R. Kacar, C. Meric, S. Koyuncu, Thermal annealing effect on light emission profile of polyfluorenes containing double bond subunit, *Org. Electron.* 50 (2017) 55–62.
- [61] Z.R. Grabowski, K. Rotkiewicz, W. Rettig, Structural changes accompanying intramolecular electron transfer: focus on twisted intramolecular charge-transfer states and structures, *Chem. Rev.* 103 (2003) 3899–4032.
- [62] T. Hayashi, N. Malaga, Y. Sakata, S. Misumi, M. Morita, J. Tanaka, Excimer fluorescence and photodimerization of anthracenophanes and 1,2-dianthrylethanes, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 5910–5913.
- [63] W.T. Yip, D.H. Levy, Excimer/excimer formation in van der Waals dimers of aromatic molecules, *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 11539–11545.
- [64] H. Bouas-Laurent, A. Castellan, J.P. Desvergne, R. Lapouyade, Photodimerization of anthracenes in fluid solutions: (part 2) mechanistic aspects of the photocycloaddition and of the photochemical and thermal cleavage, *Chem. Soc. Rev.* 30 (2001) 248–263.

ESTRUTURA MORFOLÓGICA DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DERIVADOS DE CLORETO DE DANSILA

Neste anexo são apresentadas as propriedades morfológicas e estruturais dos pontos quânticos derivados de cloreto de dansila. Esses resultados foram obtidos pelo grupo da professora Dra Cintya D'Angeles do E. S. Barbosa, do Grupo de Catálise e Reatividade Química do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas.

Na figura C.1(a), é apresentada uma imagem representativa obtida por microscopia eletrônica de transmissão (MET) dos pontos de carbono derivados de cloreto de dansila, que revela que tais PQs são homogêneos e bem dispersos. As nanopartículas apresentam formato quase esférico, com diâmetro variando entre 2 nm a 6 nm. Além disso, imagens de MET de alta resolução mostram que os PQs possuem um espaçamento de camadas em torno de 0,32 nm, correspondendo ao plano $\langle 002 \rangle$ do núcleo grafítico [58], conforme exibido na Fig. C.1(b). A análise da distribuição de tamanho mostra um tamanho médio de cerca de 3,0 nm, conforme apresentado na Fig. C.1(c). Os grupos funcionais na superfície das nanopartículas foram investigados usando FTIR, conforme exibido na Fig. C.1(d). Mais especificamente, o espectro ATR-FTIR de CDs-DsCl exibe a banda larga característica associada ao estiramento das ligações O-H e N-H. Observam-se ainda as vibrações de estiramento assimétrico e simétrico (ν_{as} e ν_s) da ligação C-H (2966 cm^{-1} e 2800 cm^{-1}) e grupo SO_2 (1371 cm^{-1} e 1170 cm^{-1}). Os picos em 1630 cm^{-1} e 1037 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramento das ligações C=O e S=O, respectivamente. Observa-se também as bandas de estiramento das ligações S-O (657 cm^{-1}) e C-S (756 cm^{-1}) em cadeias alifáticas. Tal espectro FTIR está de acordo com resultados anteriores para pontos quânticos de carbono co-dopados com nitrogênio e enxofre [58, 184], con-

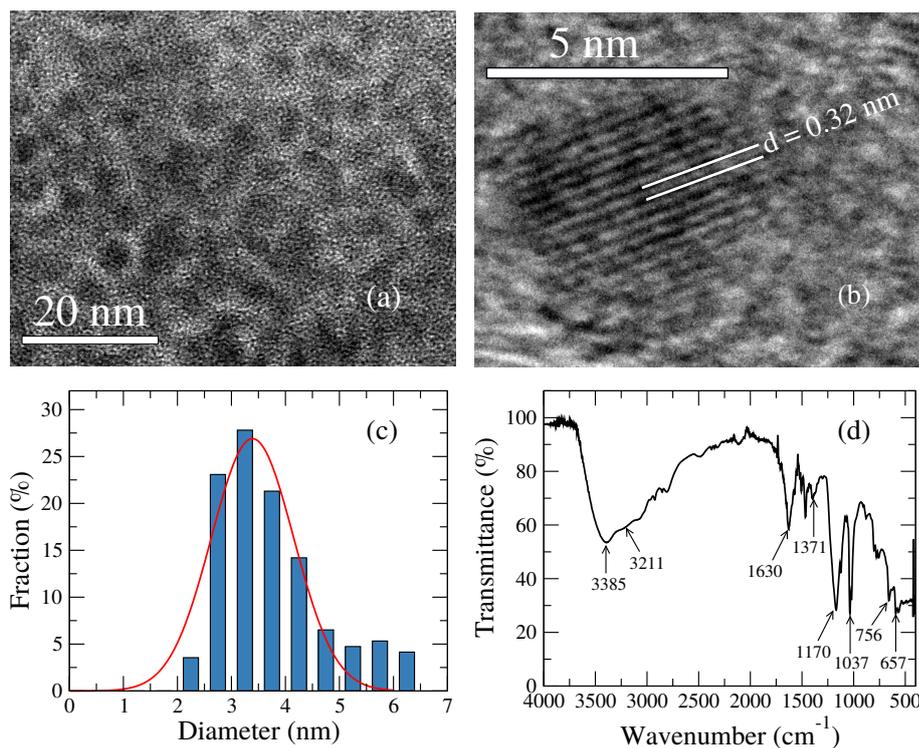


Figura C.1: (a) Imagem representativa de microscopia eletrônica de transmissão dos pontos quânticos de carbono derivados do cloreto de dansila (CD-DsCl), revelando uma distribuição homogênea das nanopartículas. (b) Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução de uma nanopartículas, exibindo a estrutura cristalina do núcleo grafítico. (c) Distribuição de tamanhos da amostra de CDs-DsCl, onde um diâmetro médio de 3 nm foi observado. (d) Espectro de FTIR do CD-DsCl.

firmando assim a incorporação destes heteroátomos na estrutura de pontos quânticos de carbono derivados de cloreto de dansila.

O espectro de absorção do CD-DsCl é apresentado na Fig. C.2(a). Como se pode observar, os PQC derivados do cloreto de dansila exibem uma banda de absorção centrada em 218 nm, correspondente às transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ do núcleo grafítico. Além disso, nota-se que uma segunda banda de absorção ocorre em 295 nm, sendo associada a transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ na região da casca. Em particular, tais transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$ envolvem orbitais não-ligantes de heteroátomos conectados à borda do núcleo com hibridização sp^2 . Observa-se ainda uma cauda longa na região entre 320 nm e 550 nm, onde ocorre uma fraca absorção devido aos estados de superfície [42, 58]. Na Fig. C.2(b), é mostrada a fotoluminescência de CD-DsCl sob a excitação na região entre 340 nm e 400 nm. Um amplo espectro de emissão é observado, cobrindo quase toda a região do visível, com três bandas centradas em 418 nm, 440 nm e 496 nm. Embora se verifique um aumento na intensidade da emissão, o espectro de fluorescência não é alterado à

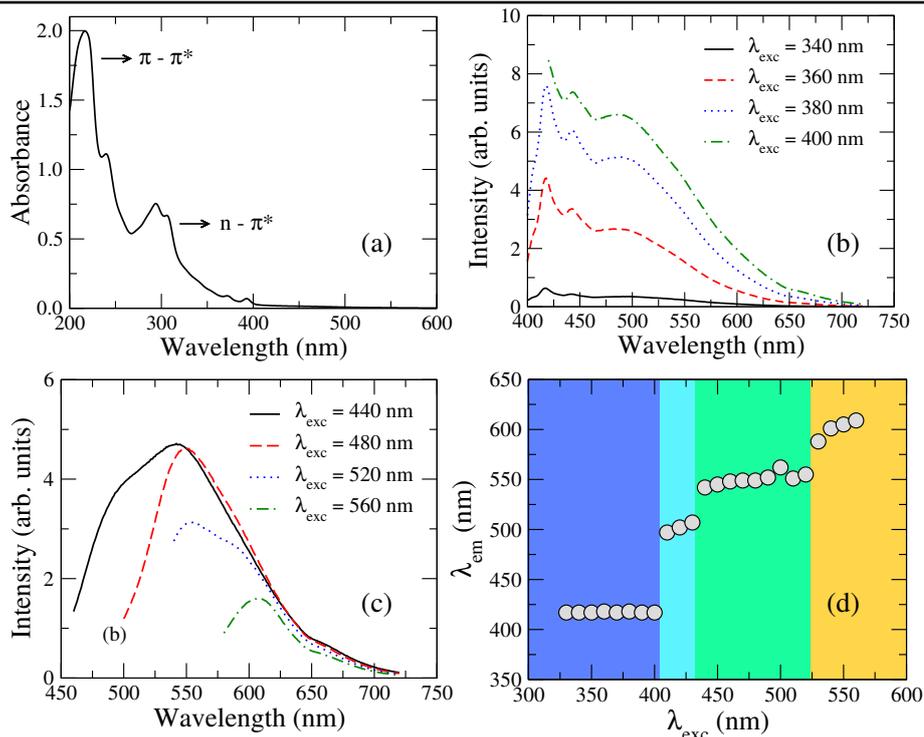


Figura C.2: (a) Espectro de absorção dos pontos quânticos de carbono derivados do cloreto de dansila. Fotoluminescência do CD-DsCl para excitações em diferentes comprimentos de onda: (b) 340 to 400 nm - UV region and (c) 440 nm to 560 nm - visible region. (d) Comprimento de onda do máximo de emissão, λ_{em} , como função do comprimento de onda excitação, λ_{exc} .

medida que o comprimento de onda de excitação λ_{exc} varia entre 340 nm e 400 nm. Quando λ_{exc} é aumentado acima de 400 nm, uma mudança dramática no espectro de emissão é notada, dando origem à dependência de excitação típica da fotoluminescência de pontos quânticos de carbono, como mostrado na Fig. C.2(c). É possível notar que ocorre uma redução significativa na intensidade de emissão para $\lambda_{exc} > 500$ nm, o que está relacionado à pequena absorção de CD-DsCl nesta região. Visando a identificação dos diferentes centros de emissão no CD-DsCl, analisou-se a dependência da posição do pico de emissão com o comprimento de onda de excitação na Fig. C.2(d). Para $\lambda_{exc} < 400$ nm, a emissão é governada pelos estados de borda, com o comprimento de onda do pico de emissão sendo quase constante. Para $\lambda_{exc} > 400$ nm, a redução da energia de excitação leva a três deslocamentos abruptos no comprimento de onda do pico emissão, indicando a contribuição predominante dos estados de superfície para a emissão CD-DsCl. Usando o sulfato de quinina como material padrão, o rendimento quântico de fluorescência de CD-DsCl foi calculado em 16%, para excitação em 320 nm.

Artigo: Pontos quânticos de carbono multifuncionais derivados de cloreto de dansila para sensor térmico raciométrico e geração reativa de oxigênio



Multifunctional carbon dots derived from dansyl chloride for ratiometric thermal sensor and reactive oxygen generation

L.B.O. Davi^a, M.S. Silva^a, R.L. Ferreira^b, W. Muniz Jr.^b, A.S. Ribeiro^a, D.J.P. Lima^a, I.N. de Oliveira^{b,*}, C.D.A.E.S. Barbosa^{a,**}

^a Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970, Maceió, AL, Brazil

^b Instituto de Física, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970, Maceió, AL, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Carbon dots
Ratiometric fluorescent probes
Temperature sensors
Thermally activated fluorescence
Singlet oxygen generation

ABSTRACT

Carbon quantum dots (CDs) have emerged as a promising alternative of metal-free nanomaterials for a great variety of sensor applications. In this context, the present study is devoted to the characterization of morphological and spectroscopic properties of carbon dots derived from 5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonyl chloride (dansyl chloride). By using the hydrothermal synthetic method, we obtain carbon dots (CD-DsCl) co-doped with nitrogen and sulfur, which exhibit a blue emission with a good quantum yield (16%) upon photoexcitation at 320 nm. The thermal and pH effects on CD-DsCl photoluminescence are also investigated, where a pronounced modification in the fluorescence spectrum takes place as the temperature and pH are varied. Our results indicate a relevant contribution of a thermally-activated mechanism to the CD-DsCl fluorescence. Furthermore, we analyze the possibility of using CD-DsCl in nanothermometry applications, determining the absolute and relative thermal sensitivities and thermal stability of nanoparticles in the temperature range of biological systems. In addition, it is also investigated the possibility of using CD-DsCl to generate reactive oxygen species (ROS) upon photoexcitation, envisaging their use as photosensitizers in photodynamic therapy applications. Within the above scenario, the present study shows that carbon dots derived from dansyl chloride possess interesting fluorescent properties, which can be exploited as a multifunctional material.

1. Introduction

Over the past decade, the synthesis and characterization of metal-free nanomaterials have attracted a remarkable amount of interest, being motivated by the ongoing need of developing fluorescent probes with reduced-toxicity for biological applications [1–3]. In this context, carbon quantum dots (CDs) have emerged as a promising alternative to inorganic quantum dots and nanoparticles, being characterized by a rich phenomenology of their physicochemical properties [4,5]. Being accidentally discovered during the purification process of carbon nanotubes [6], CDs consist of fluorescent carbon nanoparticles exhibiting a quasi-spherical shape and average diameter of less than 10 nm. More specifically, CDs are constituted by a graphite core covered by an amorphous shell, which is composed by functional groups and reminiscent molecular fragments of the carbonaceous precursors used in the synthesis process [7–9]. In particular, the presence of carboxyl moieties

at the CDs surface provides them an excellent water solubility, low-toxicity, and a suitable chemical functionalization [10,11]. Moreover, CDs tend to exhibit a broad and tunable photoluminescence, which depends on the excitation wavelength and the environment conditions [4,10,12]. Due to these desirable properties, CDs have been widely exploited in different biological and optoelectronic applications, such as cells and tissue imaging [13–16], photodynamic therapy [17,18], light emitting diodes [19], and photovoltaic devices [20].

Despite the fluorescent properties of CDs have been widely investigated, the emission mechanism of such nanoparticles is not entirely understood [4,12,13,21–23]. Indeed, several studies have reported that the steady-state fluorescence of CDs exhibits an unusual strong dependence on the excitation wavelength, with a red-shift taking place in the emission spectrum as the excitation wavelength is enhanced [4,12]. In addition, time-resolved fluorescence measurements have revealed that the transient intensity of CDs emission presents a multiexponential

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: italo@fis.ufal.br (I.N. de Oliveira), cintya.barbosa@iqb.ufal.br (C.D.A.E.S. Barbosa).

<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109549>

Received 26 April 2021; Received in revised form 4 June 2021; Accepted 4 June 2021

Available online 17 June 2021

0143-7208/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

decaying behavior, indicating the occurrence of multichromophoric units in such nanoparticles [12]. The main conjecture is that CDs photoluminescence phenomenon arises from intrinsic and extrinsic fluorescence bands, which are respectively associated with core and surface defect states [12]. In this case, the short-wavelength emissions are governed by the conjugation length of sp^2 -hybridized carbon nanodomains inside the core [4,12], while the long-wavelength emissions are determined by the oxidation degree of surface states [13,22,23]. In fact, the increase of oxidation degree at the surface of carbon nanoparticles tends to promote the formation of excitons traps, thus leading to a reduction in the energy band gap and subsequent red-shift of the emission spectrum in such nanomaterials [4,13,22]. Furthermore, the structure of electronic levels can be reasonably modified by doping carbon dots with non-metallic heteroatoms [21,24,25], where the change of surface states tends to favor the radiative recombination of localized excitons. More specifically, CDs co-doped with nitrogen and sulfur have been successfully obtained by the hydrothermal method using carboxylic and amino acids as precursors [21,25], presenting an improved fluorescence with a high quantum efficiency in relation to the undoped counterparts.

Envisaging the development of chemical and physical sensors, a considerable attention has been devoted to the response of CDs photoluminescence to the environment conditions [15,26]. As the long-wavelength emission is mainly associated with the surface states [12,27], the fluorescence spectrum of CDs is strongly affected by the media temperature [12], pH [25,28], and solvent polarity [21,29]. As a consequence, such nanomaterials have emerged as suitable fluorescent probes for a large variety of biological systems [26]. A prominent example is the use of CDs in nanothermometry applications [30–32], which exploits the thermal quenching mechanism to determine the local temperature of soft tissues [12,33,34]. Several studies have reported a gradual reduction of the fluorescence intensity as the temperature of the carrier medium is enhanced [25,30,35], where an excellent reversibility is observed for a large number of thermal cycles. However, the accuracy of intensity-based nanothermometer is generally susceptible to changes in the CDs concentration and the excitation power [36]. Such undesirable effects are overcome by using the ratiometric nanothermometry approach for carbon dots presenting a dual emission [32,37], through the analysis of the intensity ratio of two well-resolved emission bands as the sample temperature is varied. As a consequence, ratiometric nanothermometers tend to provide more precise results, being less affected by the presence of chemical quenchers in the target environment. Moreover, it has been recently verified that a thermally-activated fluorescence takes place in glutathione-modified carbon dots [38], which it may give rise to a new class of ratiometric nanothermometers based on the temperature-dependence of the chemical quenching mechanism.

Recently, several studies have investigated the feasibility of using carbon dots as photosensitizers for generation of reactive oxygen species (ROS) [39,40], aiming their application in bacterial inactivation [41], and cancer treatment [42,43]. In particular, it is exploited the intersystem crossing phenomenon in carbon dots upon photoexcitation [40], which leads to an effective energy transfer from the nanoparticles to the triplet oxygen species ($3O_2$) and subsequent generation of singlet oxygen species ($1O_2$). However, carbon dots exhibit a small singlet oxygen quantum yield in comparison with standard molecular photosensitizers, such as phthalocyanine, porphyrin, and phenothiazine [41]. As a consequence, many efforts have been made to optimize the therapeutic efficiency of carbon dots, which may involve different methods as doping [40,42], surface functionalization [44], and formation of nanocomposites [45]. On the other hand, the low toxicity and water solubility of carbon dots makes them promising nanomaterials for deep-tissue photodynamic therapy, with tunable optical properties and resistance against photobleaching [41].

Although several methods and precursors have been used, the majority of carbon dots tend to exhibit a broad emission band with a single peak, which compromises the accuracy and stability of sensors based on

the intensity variation of CDs fluorescence. Therefore, the present study is devoted to the investigation of carbon dots co-doped with nitrogen and sulfur, exhibiting an emission spectrum with multiple bands. Using dansyl chloride (DsCl) as a new precursor in the hydrothermal synthesis of nanoparticles, we verify that CDs-DsCl exhibit a fluorescence spectrum that extends over almost the entire visible spectrum, being characterized by a large separation among the emission peaks (up to 100 nm). Moreover, thermal and pH effects on CDs photoluminescence are analyzed, where a pronounced modification in the fluorescence spectrum is verified as the temperature and pH are varied. More specifically, a gradual increase in the emission intensity is observed as the sample temperature is raised, indicating the occurrence of a reverse intersystem crossing between singlet and triplet excited states. By means of the ratiometric approach for nanoparticles presenting multiple emission bands, we observe that CDs derived from dansyl chloride exhibit a desirable thermal behavior for nanothermometry applications, such as linear response, high sensitivity, and reversibility. Besides, the possibility of using CD-DsCl to photogenerate reactive oxygen species (ROS) is investigated, where a moderate singlet oxygen quantum efficiency is verified.

2. Materials and methods

2.1. Materials and synthesis

The 5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonyl chloride (dansyl chloride) has been used as the carbon dots precursor. Dansyl chloride was purchased from Sigma-Aldrich, being used as it furnished. The synthetic route to obtain CDs is represented in Fig. 1(a). In a Teflon[®] reactor, it was added DsCl (10 mg, 0.032 mmol) and 10 mL of H_2O . The reactor was maintained into an oven at 200 °C for 4 h. The resultant solution was centrifuged at 13000 rpm for 10 min, being subsequently filtered in a 0.22 μm membrane. As a result, a brownish solution was obtained, as shown in Fig. 1(b). The CDs photoluminescence was verified under excitation of an UV lamp at 365 nm and a diode laser at 488 nm, as exhibited in Fig. 1(c) and (d). The aqueous solution of CDs derived from dansyl chloride was then stored at 4 °C for further analysis.

2.2. Characterization methods

The morphology and size of the CD-DsCl were characterized by a JEM-2100 transmission electron microscope (JEOL, Tokyo, Japan), operating at 200 kV. Before the measurements, the diluted solution of CDs (200-fold) was submitted to ultrasonic bath for 15 min, being subsequently deposited on 400-mesh carbon-coated Cu grids (Ted Pella Inc., Redding, CA, USA). The carbon-coated Cu grids were dried in air. In order to analyze the functional groups present in the CD, we used the attenuated total reflectance Fourier transformed infrared spectroscopy (ATR-FTIR). In particular, the original solution of CDs was submitted to heating until the evaporation of water (at 100 °C) and then the nanoparticles were resuspended in 0.5 mL of acetone. This suspension is carefully dropped on the ATR crystal (ZnSe) and the measurements of dry CDs were collected. The spectrum was recorded using a Shimadzu IR Prestige-21 spectrophotometer operating between 4000 and 400 cm^{-1} , with the spectral resolution at 4 cm^{-1} and 70 scans. The ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectrum was acquired using a UV-Vis-NIR Shimadzu UV-3600 spectrophotometer. The CDs suspension was diluted 100-fold and the absorption spectrum was recorded in the range of 200–600 nm. The steady-state fluorescence analysis was performed on a FluoroLog[®]-3 spectrofluorometer (HORIBA, Kyoto, Japan) equipped with a Xenon lamp (CW 450 W) and a photomultiplier detector (model R928P). The emission spectra of CDs were recorded with a quartz cuvette (1.0 cm optical pathway) in the range of 400–675 nm, with the excitation wavelength varying from 330 to 560 nm.

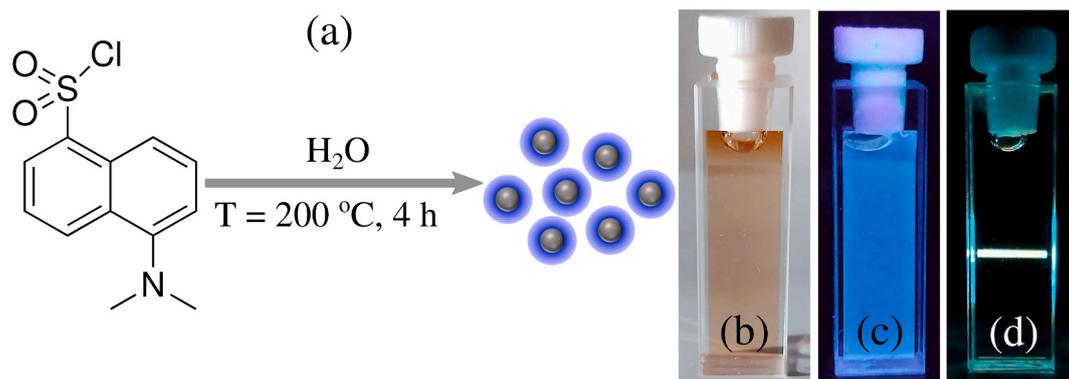


Fig. 1. (a) Schematic representation of the hydrothermal synthesis of carbon dots (CDs) using dansyl chloride as the precursor material. Photographs of CDs under (b) room light, (c) 365 nm UV lamp, and (d) 488 nm laser excitation.

2.3. Thermal response behavior

The thermal behavior of CDs photoluminescence was analyzed in a UV-VIS spectrometer (USB2000, Ocean Optics). The CDs solutions were excited by using a pulsed Nitrogen laser (MNL-103 PD LTB Lasertechnik Berlin) whose wavelength was 337 nm and pulse width was 3.0 ns. The repetition rate was set in 30 Hz. Samples were placed in a temperature-controlled oven within the accuracy of 0.1 °C, with the sample temperature being varied in steps of $\Delta T = 1.0$ °C, in a rate of 0.5 °C/min. The analysis of the thermal effects was restricted to the temperature range of biological systems (20 °C–60 °C). After reaching the target temperature, the measurements were performed after a waiting time of 5 min in order

to certify that the system has reached to the equilibrium configuration.

2.4. pH sensitivity measurements

The sensitivity of CD-DsCl on the pH environment was probed using Britton-Robinson solution at different pH values. HCl (0.1 M) or NaOH (0.1 M) was used to adjust the pH of Britton-Robinson solutions, using a pH meter. Subsequently, 70 μ L of obtained CD-DsCl solution was dispersed in Britton-Robinson solutions with distinct pH values, in a volume ratio of 1:9. The fluorescence spectrum of each mixture was recorded using a UV-VIS spectrometer (USB2000, Ocean Optics), upon an excitation wavelength at 375 nm (Obis Coherent).

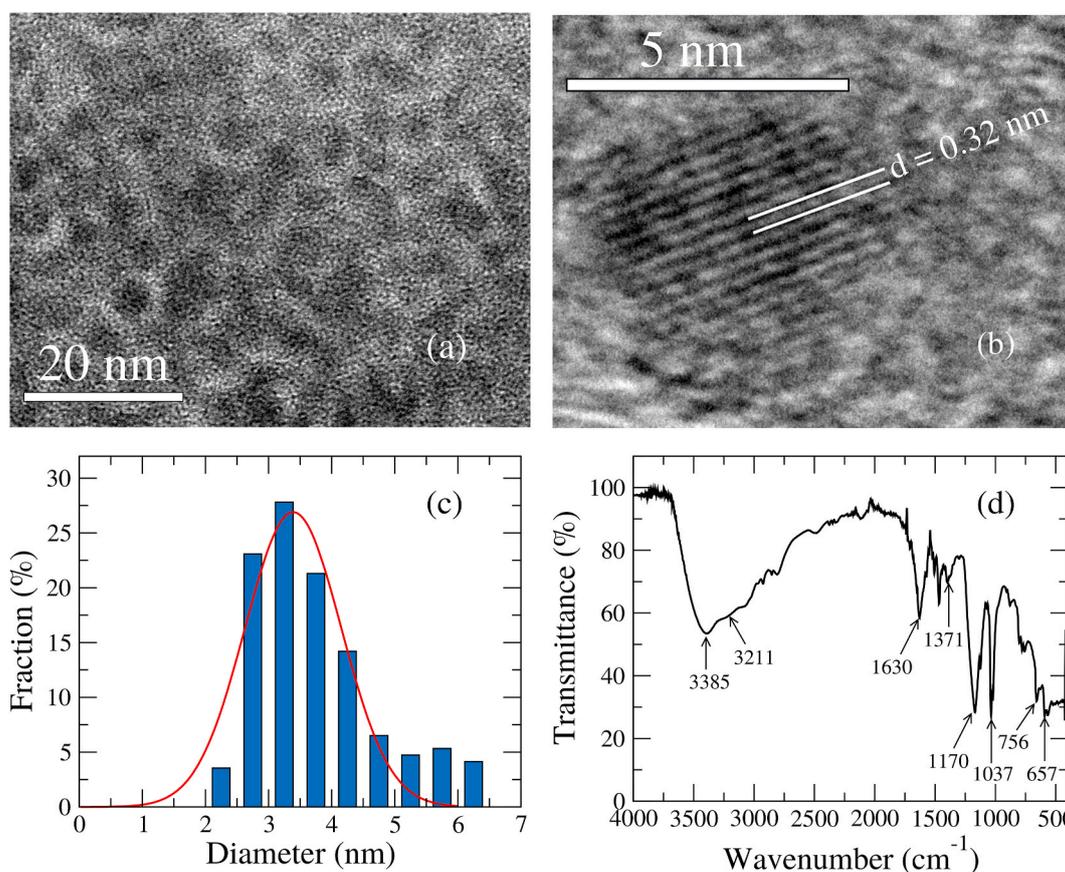


Fig. 2. (a) Representative TEM image of CDs derived from dansyl chloride (CD-DsCl), revealing homogeneous and well-dispersed nanoparticles. (b) Sample HR-TEM image of a individual CD-DsCl, exhibiting the crystalline structure of the carbon dot core. (c) Particle size distribution of CDs-DsCl, where an average diameter of 3.0 nm has been observed. (d) FTIR spectrum of CDs-DsCl.

2.5. ROS generation

The photogeneration of reactive oxygen species by CD-DsCl was investigated using 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF) as a singlet oxygen trapping agent. DPBF was purchased from Sigma-Aldrich, being used without further purification. In a typical procedure, a stock solution of DPBF in ethanol (0.1 mM) was used to prepare a DPBF solution in 50/50 (v/v) of ethanol (EtOH) and H₂O. Further, a 90/10 (v/v) mixture of DPBF and CD-DsCl was irradiated by a linear polarized CW diode-pumped solid state (DPSS) laser at $\lambda = 532$ nm. The laser beam was expanded using a converging lens with a focal length of 5 cm, thus providing a homogeneous irradiation of the sample cuvette placed at a distance of 40 cm from the focal point. The absorption spectra were acquired by using a UV-VIS spectrometer (USB2000, Ocean Optics) and halogen light source (HL 2000, Ocean Optics).

3. Results and discussion

In Fig. 2(a), we present a representative TEM image of carbon dots derived from dansyl chloride, which reveals that such CDs are homogeneous and well-dispersed. The nanoparticles present a quasi-spherical shape, with a diameter varying from 2 nm to 6 nm. Furthermore, high resolution TEM images show that CDs possess a layer spacing around 0.32 nm, corresponding to (002) plane of the graphitic core [21], as exhibited in Fig. 2(b). This result indicates the formation of sp² hybridized carbon domains within core. It is important to highlight that the

layer spacing may vary from 0.32 nm to 0.38 nm, due to the turbostratic disorder in multiple stacked sheets [46]. The analysis of size distribution shows an average size about 3.0 nm, as presented in Fig. 2(c). The functional groups on the surface of CDs were investigated by using FTIR, as exhibited in Fig. 2(d). More specifically, the ATR-FTIR spectrum of CDs-DsCl exhibits the characteristic broad band associated with the stretching of O–H and N–H bonds. Moreover, it is observed the asymmetric and symmetrical stretching vibrations (ν_{as} e ν_s) of C–H bond (2966 cm⁻¹ and 2800 cm⁻¹) and SO₂ group (1371 cm⁻¹ and 1170 cm⁻¹). The peaks at 1630 cm⁻¹ and 1037 cm⁻¹ correspond to the stretching vibrations of C=O and S=O bonds, respectively. In addition, it is observed stretching bands of S–O (657 cm⁻¹) and C–S (756 cm⁻¹) bonds in aliphatic chains. Such FTIR spectrum is in agreement with previous results for carbon dots co-doped with nitrogen and sulfur [21, 35], thus confirming the incorporation of these heteroatoms into the structure of carbon dots derived from dansyl chloride.

The absorption spectrum of CD-DsCl is presented in Fig. 3(a). As one can observe, the carbon dots derived from dansyl chloride exhibit an absorption band centered at 218 nm, corresponding to the $\pi \rightarrow \pi^*$ electronic transitions in the graphitic core. In addition, we notice that a second absorption band occurs at 295 nm, being associated with $n \rightarrow \pi^*$ edge transitions. In particular, such $n \rightarrow \pi^*$ electronic transitions involve nonbinding orbitals of heteroatoms connected to the edge of sp²-hybridized core. Furthermore, we observe a broad tail in the region between 320 nm and 550 nm, where a weak absorption takes place due to the surface states [13,21]. In Fig. 3(b), we show the photoluminescence

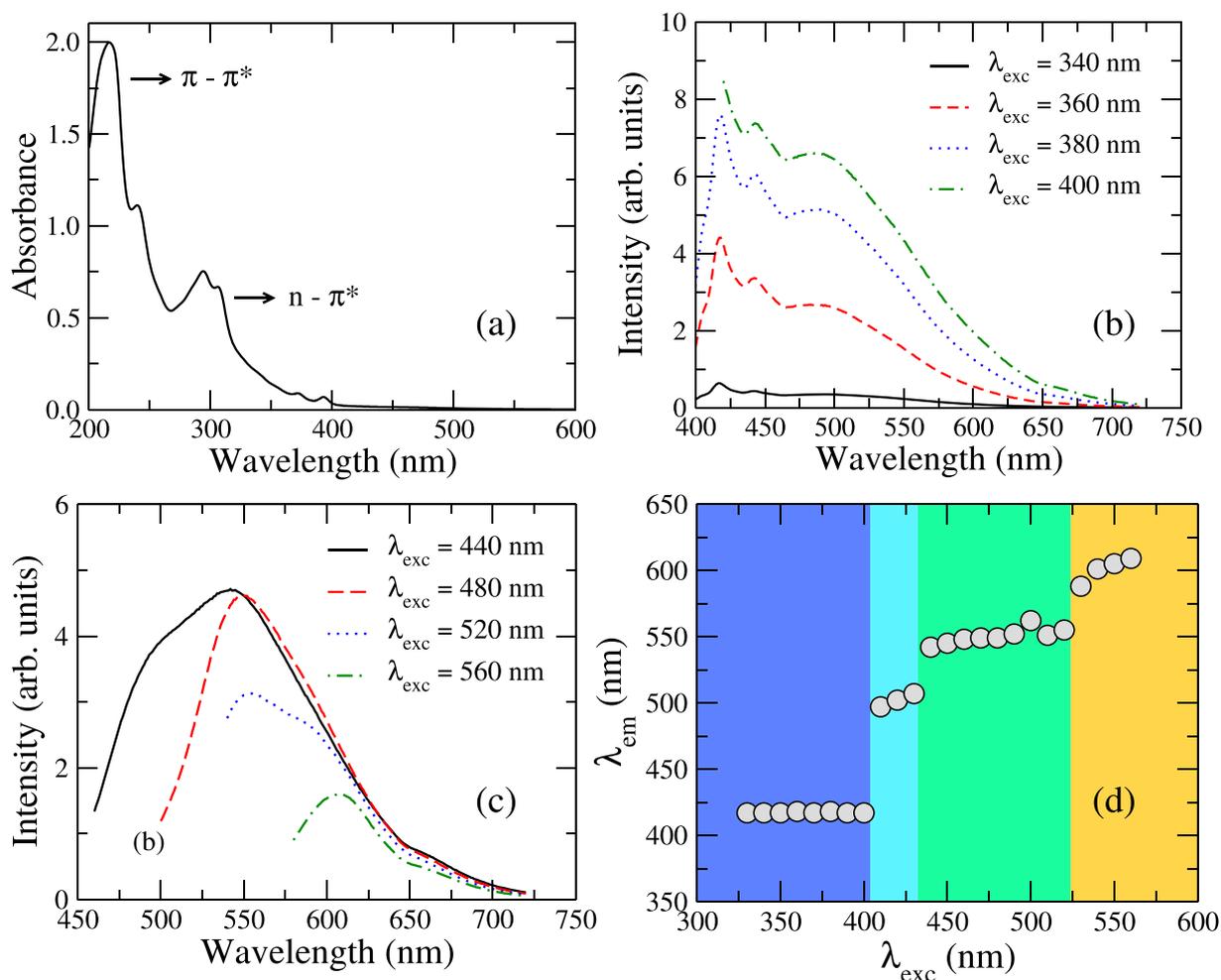


Fig. 3. (a) Absorption spectrum of carbon dots derived from dansyl chloride. Photoluminescence of carbon dots under different excitation wavelength: (b) 340–400 nm - UV region and (c) 440 nm–560 nm - visible region. (d) Wavelength of maxima emission, λ_{em} , as a function of the excitation wavelength. Notice that three abrupt change in λ_{em} take place as excitation wavelength is increasing, indicating the presence of CDs-DsCl with distinct oxidation degrees.

of CD-DsCl under the excitation in the region between 340 nm and 400 nm. A broad emission spectrum is observed covering almost the visible region, with three bands centered at 418 nm, 440 nm, and 496 nm. Although an enhancement in the emission intensity is verified, the fluorescence spectrum is not altered as the excitation wavelength λ_{exc} is varied between 340 nm and 400 nm. As λ_{exc} is enhanced above 400 nm, a dramatic change in the emission spectrum is noticed, giving rise to the typical excitation dependence of the carbon dots photoluminescence, as shown in Fig. 3(c). Besides, a significant reduction in the emission intensity occurs for $\lambda_{exc} > 500$ nm, which is related to the small absorption of CD-DsCl in this region. Envisaging to the identification of distinct emission centers in CD-DsCl, we analyze the dependence of the peak position on the excitation wavelength in Fig. 3(d). For $\lambda_{exc} < 400$ nm, the emission is governed by the edge states, with the peak wavelength being almost constant. For $\lambda_{exc} > 400$ nm, the reduction of excitation energy leads to three abrupt redshift in the peak wavelength, indicating the predominant contribution of surface state to the carbon dots emission. Indeed, the introduction of nitrogen and sulfur atoms tends to improve the radiative recombination of electron and holes trapped CDs surface, reducing the excitation dependence of the photoluminescence and increasing the fluorescence quantum yield [21]. Using the quinine sulfate as the standard material, the fluorescence quantum yield of CD-DsCl is calculated to be 16%, upon excitation at 320 nm.

Let us now analyze the thermal effects on the fluorescence properties of carbon dots derived from dansyl chloride. In Fig. 4(a), we show the

fluorescence spectra of CD-DsCl at distinct temperatures. We observe a pronounced enhancement in the emission intensity as the sample temperature is increased, differing from the typical thermal quenching observed for the carbon dots photoluminescence [12,31,32,37]. In most carbon dots, the increase of the sample temperature suppresses the radiative recombination of surface excitons, with the thermal activation of non-radiative trapping leading to the fluorescence quenching. However, this does not seem to be the case of carbon dots obtained from the dansyl chloride. In fact, such an enhancement in the emission intensity indicates that a thermally activated delayed fluorescence (TADF) may take place in CD-DsCl [47], being associated with a reverse intersystem crossing (RISC) process [48,49]. More specifically, the strength of spin-orbit coupling in C=O and C=N moieties favors the generation of excited triplet states through the intersystem crossing (ISC) [50], which is enhanced by presence of heteroatoms as nitrogen and sulfur [51]. On the other hand, RISC process tends to occur in systems presenting a small energy gap, ΔE_{ST} , between singlet (S_1) and triplet (T_1) excited states, giving rise to a delayed emission with a similar spectral distribution [48]. A simplified representation of energy levels in TADF mechanism is shown in Fig. 4(b). In materials presenting $\Delta E_{ST} \leq 100$ meV, the probability of triplet excitons being up-converted to singlet excitons grows as the sample temperature is raised, thus favoring the radiative decaying and the enhancement in the emission intensity, as seen in Fig. 4(a). Although the emission related to reverse intersystem crossing exhibits the same spectral distribution of the prompt

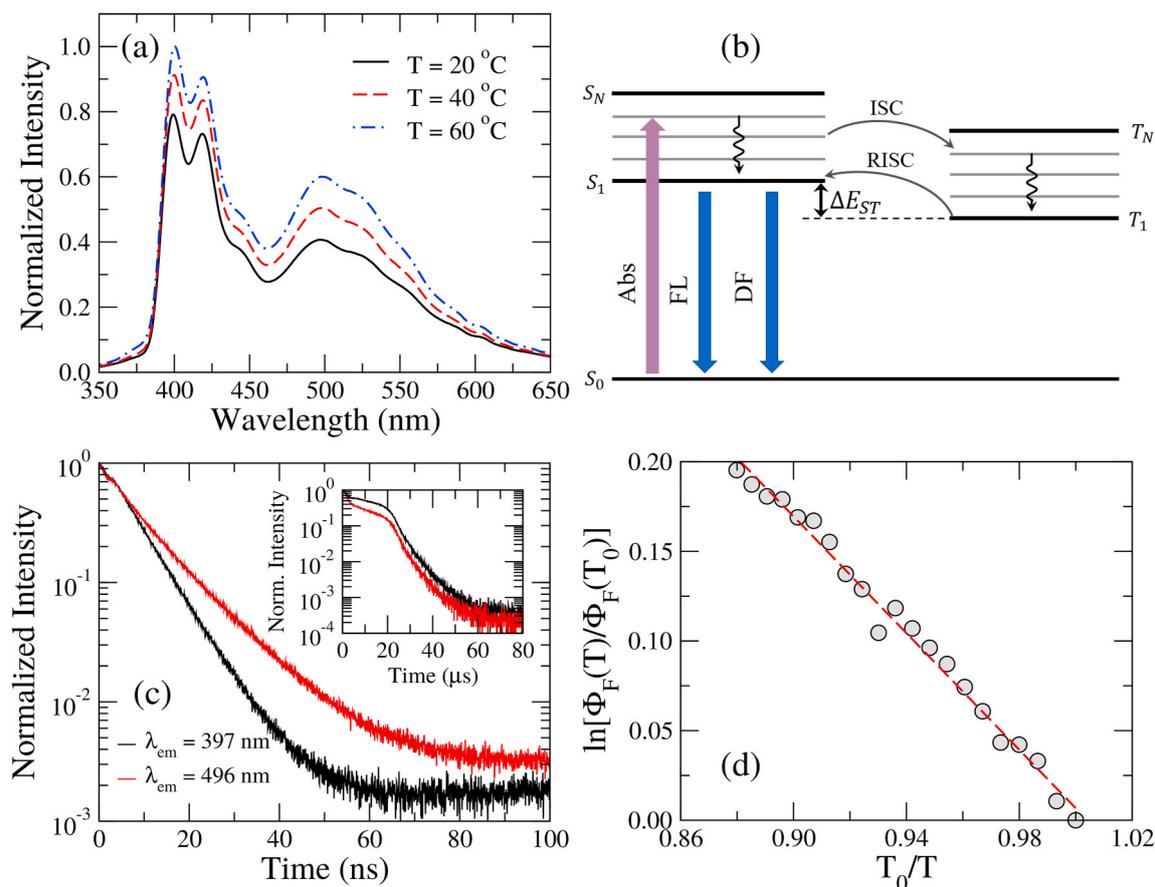


Fig. 4. (a) Steady-state fluorescence of carbon dots derived from dansyl chloride at different temperatures: $T = 20^\circ\text{C}$ (black solid line), $T = 40^\circ\text{C}$ (red dashed line), and $T = 60^\circ\text{C}$ (blue dashed-dotted line). Notice that the fluorescence intensity increases as the sample temperature is raised. (b) Simplified representation of energy levels in a system presenting a thermally activated delayed fluorescence (TADF), where a small energy gap ΔE_{ST} between singlet (S_1) and triplet (T_1) excited states favors the reverse intersystem crossing (RISC) as the temperature is enhanced. (c) Normalized transient intensity of CD-DsCl at different wavelength: $\lambda_{em} = 397$ nm (black lines) and $\lambda_{em} = 496$ nm (red lines). On the nanosecond time scale, a prompt fluorescence is observed with distinct lifetimes at $\lambda_{em} = 397$ nm and $\lambda_{em} = 496$ nm. The inset shows the normalized transient intensities on the microsecond time scale, characterizing the delayed fluorescence. (d) Temperature dependence of the quantum yields of CD-DsCl. Red dashed-line is the linear regression using Eq. (1), where we obtain $\Delta E_{ST}/k_B = 1.63$ (~ 41 meV).

fluorescent, it is denoted as a delayed fluorescence (DF) due to its slow emission regime associated with the long lifetime of triplet excited states. Moreover, it is important to highlight that the delayed fluorescence is a thermally-activated phenomenon, which can be reasonably turned on or off by controlling the sample temperature. In order to verify the TADF mechanism associated with the reverse intersystem crossing, we present in Fig. 4(c) the transient intensities of CD-DsCl photoluminescence at $\lambda_{em} = 397$ nm (black lines) and $\lambda_{em} = 496$ nm (red lines), considering distinct time windows. On the nanosecond time scale, one can notice that the CD-DsCl transient intensity exhibits a single exponential decay for both wavelengths, corresponding to the prompt fluorescence. However, the emission intensity at $\lambda_{em} = 397$ nm presents a faster decay ($\tau_{397} = 6.9$ ns) than the emission band centered at $\lambda_{em} = 496$ nm ($\tau_{397} = 10.3$ ns). The inset of Fig. 4(c) shows the transient intensities of CD-DsCl photoluminescence on the microsecond time scale, thus corresponding to the delayed fluorescence.

Considering that the RISC rate follows the Boltzmann distribution [51,52], we assume that the quantum yield roughly satisfies an Arrhenius relation which is given by Ref. [53]:

$$\ln \left[\frac{\Phi(T)}{\Phi(T_0)} \right] = \frac{\Delta E_{ST}}{k_B} \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T} \right), \quad (1)$$

where ΔE_{ST} is the energy gap between singlet (S_1) and triplet (T_1) excited states, while k_B is the Boltzmann constant and T_0 is a reference

temperature. In Eq. (1), the thermal effects on the non-radiative decay from excited states have been neglected. In Fig. 4(d), we show the Arrhenius plot for the quantum yields of CD-DsCl as a function of the temperature. As one can note, the quantum yield increases as the sample temperature is raised. The energy gap ΔE_{ST} can be estimate from the angular or linear coefficients of the linear regression using Eq. (1), with $\Delta E_{ST} = 41$ meV. It is important to highlight that the TADF process has been previously reported in carbon dots confined in polymeric and inorganic matrices [47,54]. Although the emission intensity of CD-DsCl increases as the temperature is enhanced, the spectral distribution is not modified, as we have observed in Fig. 4(a).

Motivated by the thermal behavior of CD-DsCl fluorescence, we analyze the possibility of using such nanoparticles as a "turn-on" temperature sensor in Fig. 5. In what follows, the excitation wavelength has been fixed at $\lambda_{exc} = 337$ nm. We observe that the fluorescence peaks at $\lambda = 397$ nm and $\lambda = 496$ nm exhibit the same linear dependence on the environment temperature, as shown in Fig. 5(a). Upon increasing the temperature from 20 °C to 60 °C, the fluorescence intensity satisfies the relation $I(\lambda, T) = I_0(\lambda) + (12.2^\circ\text{C}^{-1})(T - T_0)$, with a correlation coefficient $R^2 = 0.998$. Here, $I_0(\lambda)$ is the emission intensity at the reference temperature $T_0 = 20$ °C. Due to the multiple bands in the emission spectrum of CD-DsCl upon photoexcitation with $\lambda_{exc} < 400$ nm, carbon dots derived from dansyl chloride emerge as a promising material for a ratiometric temperature sensor. In particular, the ratiometric approach

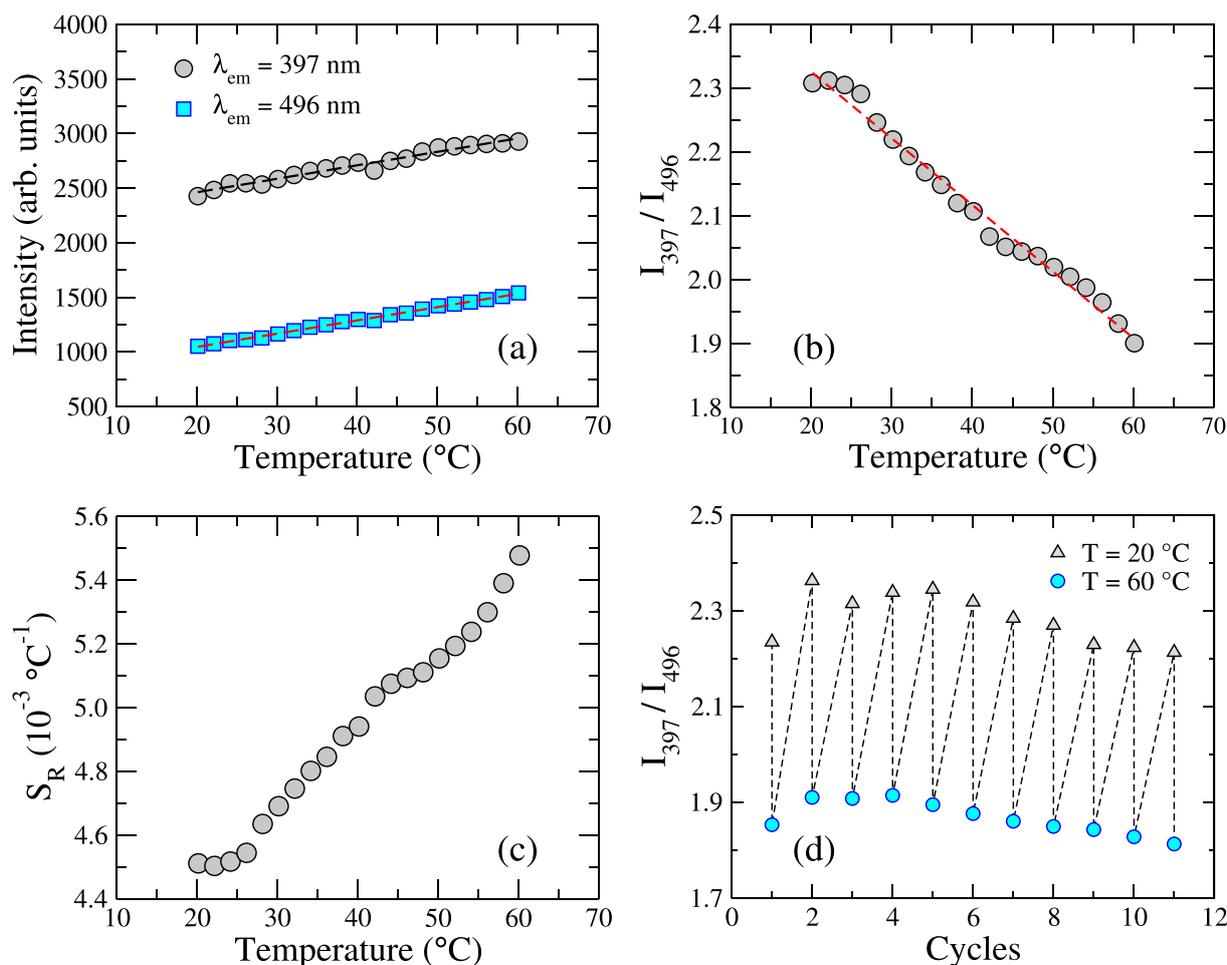


Fig. 5. (a) Temperature dependence of intensity peaks at $\lambda = 397$ nm (grey circles) and $\lambda = 496$ nm (blue squares). The excitation wavelength has been fixed at $\lambda_{exc} = 337$ nm. As one can note, the fluorescence intensities of CD-DsCl satisfy a linear relation with the environment temperature, being reasonably fitted by $I(\lambda, T) = I_0(\lambda) + (12.2^\circ\text{C}^{-1})(T - T_0)$ (dashed lines). (b) I_{397}/I_{496} ratio of CD-DsCl emission as a function of the sample temperature. Notice that I_{397}/I_{496} presents a linear thermal response, with an absolute sensitivity of $1.04\%^\circ\text{C}^{-1}$. (c) Relative thermal sensitivity of CD-DsCl in the range from 20 °C to 60 °C. (d) Variation of I_{397}/I_{496} ratio upon heating/cooling cycles between 20 °C and 60 °C. A good stability and reversibility are observed for several heating/cooling cycles.

consists in the analysis of the intensity ratio of two well-resolved emission bands as the sample temperature is varied. Defining I_{397}/I_{496} as the ratio of intensity peaks at $\lambda = 397$ nm and $\lambda = 496$ nm presented in Fig. 5 (a), we observe a significant decrease of I_{397}/I_{496} as the sample temperature is enhanced, which is reasonably fitted by a linear regression with $R^2 = 0.988$, as presented in Fig. 5(b). Such a linear behavior leads to a desirable thermal sensitivity in the range from 20 °C to 60 °C. More specifically, the absolute (S_A) and relative (S_R) sensitivities of a ratio-metric temperature sensor are properly determined from Ref. [55].

$$S_A = \left| \frac{\partial}{\partial T} \left(\frac{I_{397}}{I_{496}} \right) \right| \quad (2)$$

and

$$S_R = \left| \frac{\partial}{\partial T} \ln \left(\frac{I_{397}}{I_{496}} \right) \right| \quad (3)$$

In Fig. 5(c), we show that the relative sensitivity of CD-DsCl increases as the sample temperature is enhanced ($S_R = 0.45\text{--}0.55\% \text{C}^{-1}$), while the absolute sensitivity stays constant at $1.04\% \text{C}^{-1}$ (not shown). In addition to the good thermal sensitivity of nanomaterials, an important

requirement for the design of thermal sensors is the reversibility and stability of the emission intensity upon several cycles of increase and reduction of the environment temperature. In Fig. 5(d), we present the I_{397}/I_{496} ratio for several heating/cooling cycles of aqueous solution of CD-DsCl. One can notice that the thermal switch of the intensity ratio can be repeated for several heating/cooling cycles without fatigue, revealing an excellent reversibility of CD-DsCl fluorescence upon temperature variation between 20 °C and 60 °C.

In order to analyze the effects of pH values on the spectral properties of CD-DsCl, the absorption spectra of such carbon dots in different pH solutions are presented in Fig. 6(a). It is verified that the absorption spectrum of CD-DsCl exhibits a pH-dependence, which is characterized by a shift of absorption bands to long wavelength as the pH is increased, specially the absorption band originally centered at 295 nm. On the other hand, the broad tail in the region between 350 nm and 550 nm seems to be less affected by the pH variation, thus resulting in an overlap of these weak absorption bands with $n \rightarrow \pi^*$ band as the pH value is enhanced (see the inset). Such results indicate a change in the energy gap between ground and excited electronic states of CD-DsCl due to the protonation/deprotonation of surface functional groups [56]. In Fig. 6

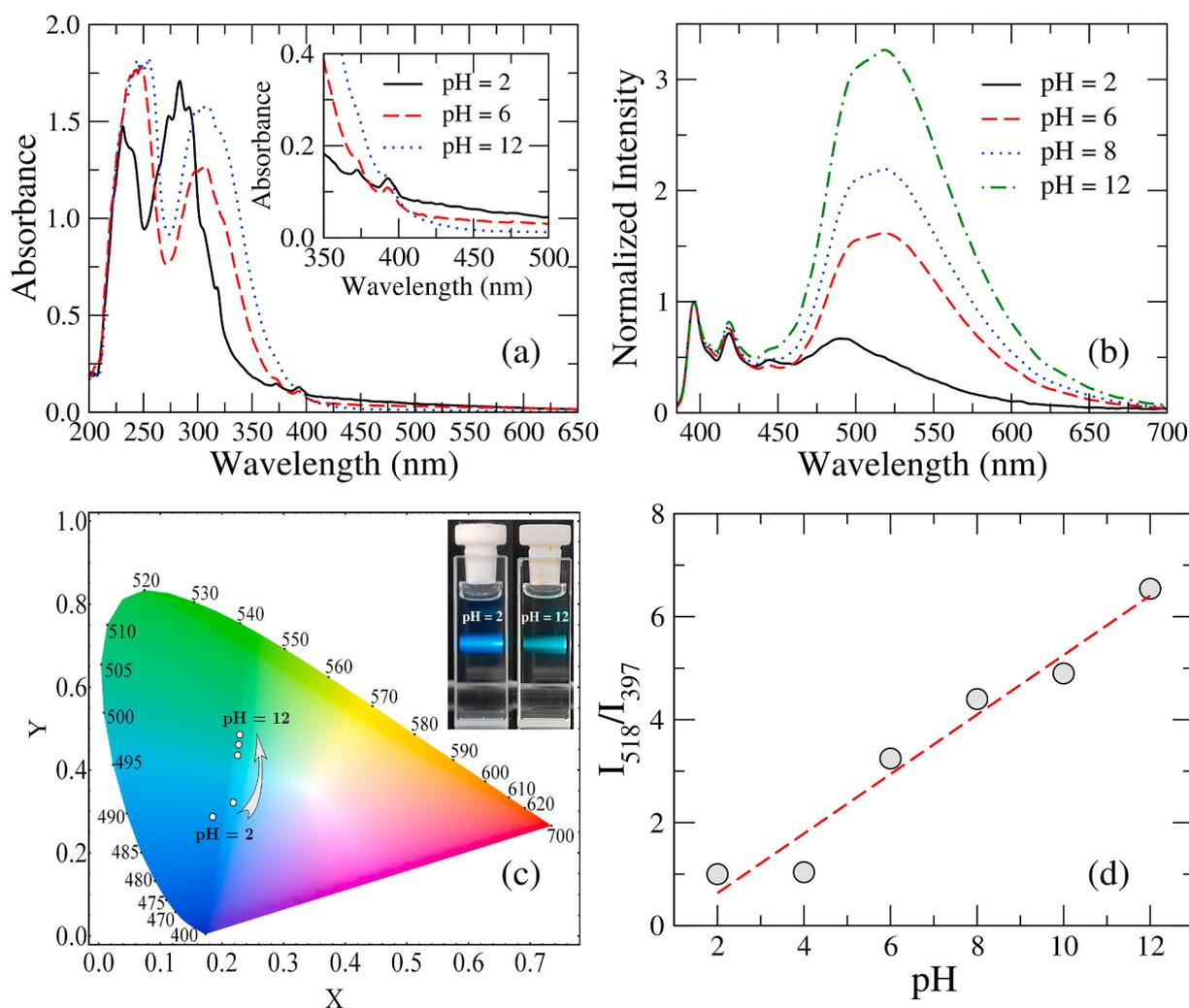


Fig. 6. (a) Absorption spectra of carbon dots derived from dansyl chloride at distinct pH conditions: pH = 2 (black solid line), pH = 6 (red dashed line), and pH = 12 (blue dotted line). Notice that the absorption spectrum of CD-DsCl is shift to long wavelength as the pH value increases. The inset shows that an overlap of edge and surface states bands takes place as the pH values is enhanced. (b) Normalized fluorescence spectra of CD-DsCl for different pH values: pH = 2 (black solid line), pH = 6 (red dashed line), pH = 8 (blue dotted line), and pH = 12 (blue dot-dashed line). It is verified a substantial enhancement in the emission intensity of CD-DsCl as the pH values increases. (c) CIE 1931 chromaticity diagram for the emission of CD-DsCl for different pH values, where a predominant blue emission occurs for pH < 6 and a green emission occurs for pH > 6. (d) I_{518}/I_{397} ratio of CD-DsCl emission as a function of pH. The red dashed line represents the linear regression of pH-dependent ratio, with angular coefficient $m = 0.58$ and $R^2 = 0.96$.

(b), the fluorescence spectra of CD-DsCl is exhibited for different pH values, with the emission intensities being normalized at $\lambda = 397$ nm. As it can be observed, the emission bands centered at $\lambda = 397$ nm, $\lambda = 418$ nm, and $\lambda = 440$ nm are not modified by the pH. However, a pronounced red shift is observed for the emission band centered at 496 nm as the pH value is raised. For $\text{pH} \geq 6$, the emission peak takes place at $\lambda = 518$ nm, with a substantial enhancement in the emission intensity as the pH increases. In fact, it has been reported that the deprotonation of carboxyl groups in nitrogen doped carbon dots leads to the generation of new surface states with a small energy gap [57], the formation of delocalized π bonds and enhancement of n electrons [58], thus giving rise to a bright fluorescence at longer wavelengths. The pronounced modification of the CD-DsCl fluorescence spectrum can be verified in the chromaticity diagram, with the predominant blue emission being replaced by a green one, as shown in Fig. 6(c). Defining I_{518}/I_{397} as the ratio of intensity peaks at $\lambda = 518$ nm and $\lambda = 397$ nm, one can notice in Fig. 6(d) that

I_{518}/I_{397} presents a linear response as the pH is modified, signaling that carbon dots derived from dansyl chloride can be used as a ratiometric pH sensor.

The occurrence of an efficient intersystem crossing between singlet and triplet excited states opens the possibility of using CD-DsCl as a photosensitizer for the singlet oxygen generation [40,59]. In particular, the production of singlet oxygen by means of photosensitizers has been exploited in biomedical applications, such as the inactivation of microorganisms [41] and the photodynamic therapy of cancer [42]. In Fig. 7(a), we show the time evolution of the absorption spectra of a 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF) solution containing carbon dots derived from dansyl chloride, upon laser excitation at 532 nm. More specifically, DPBF molecules act as capture agents of singlet oxygen species, being irreversibly oxidized into 1,2-dibenzoylbenzene. As a consequence, the absorption band of DPBF centered at 415 nm is gradually suppressed as the exposure time increases, indicating the

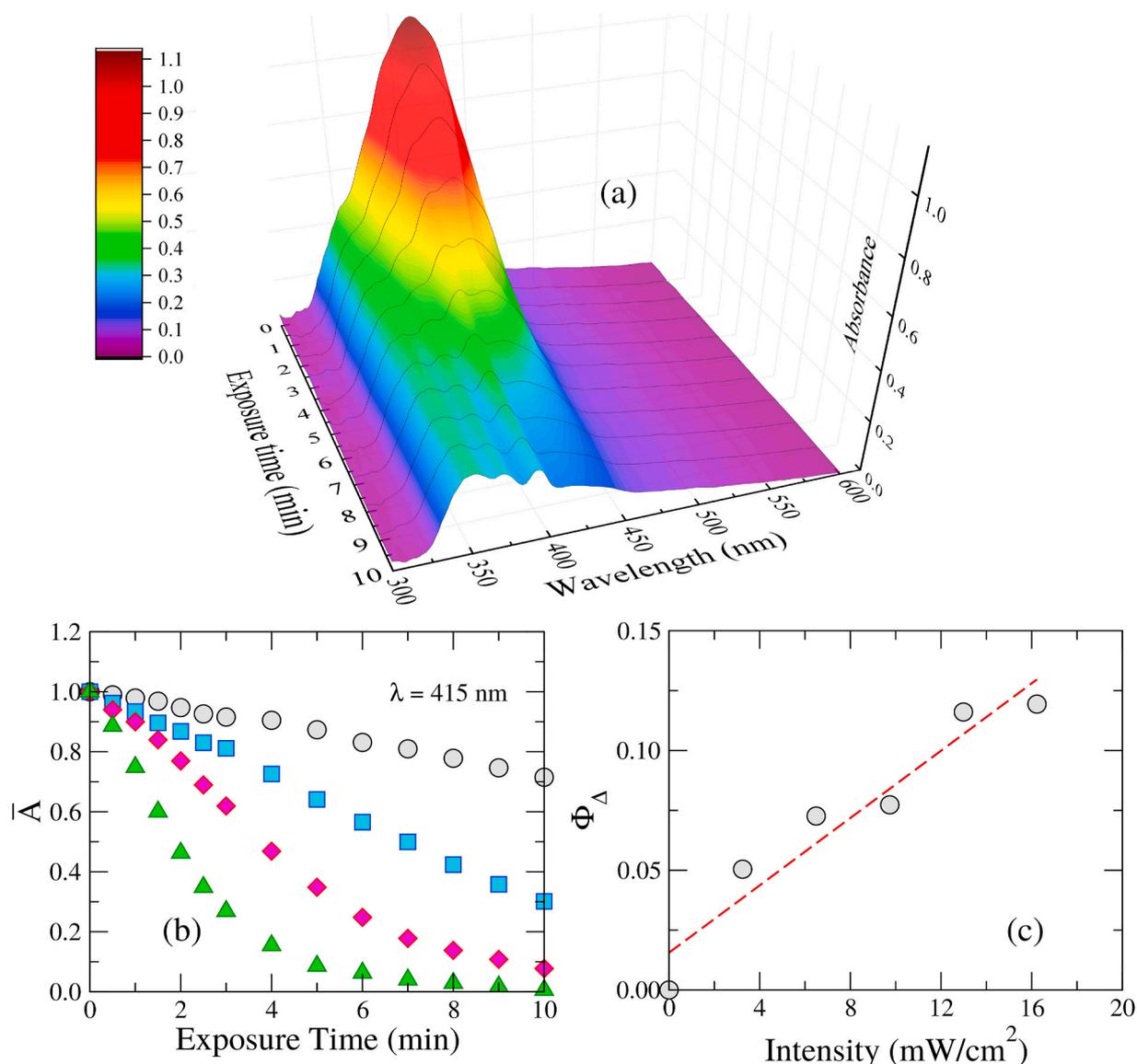


Fig. 7. (a) 3D plot representing the time evolution of the absorption spectrum of a DPBF solution containing CD-DsCl, under a photoexcitation at 532 nm. The excitation intensity was fixed at 6.5 mW/cm^2 . As the exposure time increases, the DPBF absorption band is gradually replaced by the weak absorption tail associated with CD-DsCl surface states, thus indicating the irreversible oxidation of DPBF molecules into 1,2-dibenzoylbenzene. (b) Rescaled absorption, A , of DPBF and CD-DsCl mixture at 415 nm, as a function of the exposure time. Different excitation intensities are considered: $I_0 = 0 \text{ mW/cm}^2$ (grey circles), $I_0 = 3.2 \text{ mW/cm}^2$ (blue squares), $I_0 = 6.5 \text{ mW/cm}^2$ (magenta diamonds), and $I_0 = 13.0 \text{ mW/cm}^2$ (green triangles). Notice that the DPBF decomposition rate increases as the excitation intensity is enhanced. (c) Singlet oxygen quantum yield, Φ_{Δ} , of CD-DsCl as function of the excitation intensity. Here, the methylene blue was used as a photosensitizer reference. The red dashed line represents the linear regression of the experimental data, with angular coefficient $m = 7 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{mW}$ and $R^2 = 0.96$.

generation of reactive oxygen species by CD-DsCl upon laser excitation at 532 nm. In fact, the generation of reactive oxygen species is related to the $n \rightarrow \pi^*$ transitions of C = O, C – N, and C – S bonds on the carbon dots surface, which contribute to the energy transfer to oxygen molecules under light exposure [40,42]. After a long exposure time, DPBF absorption band is entirely replaced by the weak absorption tail associated with the surface states of CD-DsCl.

Due to the overlap between absorption band of DPBF centered at 415 nm and the surface states absorption of CD-DsCl, a rescaled absorption function, $\bar{A}(t, \lambda)$, is defined in order to characterize the decomposition rate of DPBF molecules associated with the photo-generation of reactive oxygen species

$$\bar{A}(t, \lambda) = \frac{A(\lambda, t) - A_{CD}(\lambda, t)}{A(\lambda, 0) - A_{CD}(\lambda, 0)} \quad (4)$$

Here, $A(t, \lambda)$ is the absorption of DPBF solution containing carbon dots at a wavelength λ , for an exposure time t . $A_{CD}(t, \lambda)$ is the absorption of CD-DsCl solution in 50/50 (v/v) EtOH/H₂O. In Fig. 7(b), we present the rescaled absorption of DPBF solutions as a function of the exposure time, considering different excitation intensities at 532 nm. In the analysis of DPBF degradation, we consider $\lambda = 415$ nm, corresponding to the absorption peak of DPBF. In all cases, \bar{A} exhibits an initial linear decrease as the exposure time grows, with the degradation rate depending on the excitation intensity. It is noticed that the absorption of DPBF solution containing carbon dots decreases even in the absence of excitation beam, due to the white probe light used in the absorption measurements. It is important to highlight that DPBF solutions without CD-DsCl stay stable in the dark and under excitation conditions. Aiming the determination of the singlet oxygen quantum yield of CD-DsCl, the methylene blue (MB) was used as a reference photosensitizer. In particular, singlet oxygen quantum yield, Φ_{Δ} , can be properly accounted by Ref. [59].

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{MB} \left[\frac{(k_{CD} - k_{CD}^0) \cdot F_{MB}}{k_{MB} \cdot F_{CD}} \right] \quad (5)$$

where Φ_{MB} is the singlet oxygen quantum yield of MB ($\Phi_{MB} = 0.57$), while k_{CD}^0 and k_{CD} are the decomposition rates of DPBF in the presence of CD-DsCl for dark and irradiation conditions, respectively. k_{MB} is the decomposition rate of DPBF in the presence of methylene blue. F_{MB} and F_{CD} are corrected factors associated with the sample absorption at the excitation wavelength. As one can note in Fig. 7(c), the singlet oxygen quantum yield of CD-DsCl presents an almost linear increase with the excitation intensity, varying between 5% and 11%. Such values are in agreement with previous reports for photogeneration of reactive oxygen spectra by carbon dots, which present a lower quantum efficiency than the standard photosensitizers [59].

4. Conclusions

In summary, we have studied the morphology and spectral properties of carbon dots derived from dansyl chloride. The analysis of nanoparticles morphology revealed the presence functional groups with nitrogen and sulfur on the carbon dots surface. Moreover, our results showed that CD-DsCl exhibit an emission spectrum with multiple bands, depending on the excitation wavelength. As the emission bands of CD-DsCl are well resolved, the large separation among the emission peaks (up to 100 nm) favors the utilization of such carbon dots in ratiometric fluorescent sensors. In fact, the possibility of using a ratiometric approach is an important advantage of nanoparticles with multiple emission, once ratiometric sensors are less affected by chemical quenchers, nanoparticles concentration, and fluctuations in the excitation power. Furthermore, we observed that CD-DsCl emission presents a strongly dependence on the environment temperature, with a pronounced enhancement in the fluorescence intensity as the temperature is raised. The thermally activated fluorescence indicates the occurrence

of a reverse intersystem crossing between singlet and triplet excited states, which is favored by the strength spin-orbit coupling of C = O and C = N moieties present in the carbon dots surface. The analysis of fluorescence lifetimes in different time intervals reveals that a thermally-activated delayed fluorescence takes place in CD-DsCl, thus leading to the increase of the emission intensity as the medium temperature is enhanced. In addition, we analyzed the possibility of using CD-DsCl as a temperature sensor, where a linear thermal response and stability upon heating/cooling cycles is verified. The present results indicate that carbon dots derived from dansyl chloride exhibit desirable fluorescence properties, which makes them a promising alternative for optical thermometry and thermography applications. Concerning the pH effects on emission properties of CD-DsCl, it was verified that the protonation/deprotonation of surface groups leads to strong modifications in fluorescence spectra of carbon dots, exhibiting a linear ratiometric response which may be exploited for pH sensor applications. The possibility of using CD-DsCl to generate reactive oxygen species upon photoexcitation was also investigated, where the experimental findings show that such nanoparticles exhibit a moderate singlet oxygen quantum yield, reaching 11% for excitation intensities above 10 mW/cm².

CRediT authorship contribution statement

L.B.O. Davi: Methodology, Formal analysis, Investigation, Validation, Writing – original draft. **M.S. Silva:** Investigation, Validation. **R.L. Ferreira:** Investigation, Validation. **W. Muniz:** Investigation, Validation. **A.S. Ribeiro:** Formal analysis, Investigation, Writing – original draft. **D.J.P. Lima:** Conceptualization, Formal analysis. **I.N. de Oliveira:** Conceptualization, Formal analysis, Resources, Writing – review & editing. **C.D.A.E.S. Barbosa:** Conceptualization, Formal analysis, Writing – original draft, Project administration, Supervision.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

This work was partially supported by CAPES, INCT-FCx CNPq/MCT, and FINEP (Brazilian Research Agencies) as well as FAPEAL (Alagoas State Research Agency). The authors thank to the Catalysis and Chemical Reactive Group (GCaR) and the Optical and Nanoscopy Group of the Federal University of Alagoas for the support in the sample analysis. The authors are grateful to the Multiuser High Resolution Microscopy Laboratory (LabMic/UFG) for the transmission electron microscopies. I. N. de Oliveira thanks CNPq for the financial support (Grant No. 438198/2018-2).

References

- [1] Lv S, Tang Y, Zhang K, Tang D. Wet NH₃-triggered NH₂-MIL-125(Ti) structural switch for visible fluorescence immunoassay impregnated on paper. *Anal Chem* 2018;90:14121.
- [2] Qiu Z, Shu J, Tang D. Bioresponsive release system for visual fluorescence detection of carcinoembryonic antigen from mesoporous silica nanocontainers mediated optical color on quantum dot-enzyme-impregnated paper. *Anal Chem* 2017;89:5152.
- [3] Xu M, Gao Z, Zhou Q, Lin Y, Lu M, Tang D. Terbium ion-coordinated carbon dots for fluorescent aptasensing of adenosine 5'-triphosphate with unmodified gold nanoparticles. *Biosens Bioelectron* 2016;86:978.
- [4] Zhu S, Song Y, Zhao X, Shao J, Zhang J, Yang B. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Res* 2015;8:355.
- [5] Hola K, Zhang Y, Wang Y, Giannelis EP, Zboril R, Rogach AL. Carbon dots - emerging light emitters for bioimaging, cancer therapy and optoelectronics. *Nano Today* 2014;9:590.

- [6] Xu X, Ray R, Gu Y, Ploehn HJ, Gearheart L, Raker K, Scrivens WA. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *J Am Chem Soc* 2004;126:12736.
- [7] Lin Y, Zhou Q, Tang D, Niessner R, Knopp D. Signal-on photoelectrochemical immunoassay for aflatoxin B₁ based on enzymatic product-etching MnO₂ nanosheets for dissociation of carbon dots. *Anal Chem* 2017;89:5637.
- [8] Lv S, Li Y, Zhang K, Lin Z, Tang D. Carbon dots/g-C₃N₄ nanoheterostructures-based signal-generation tags for photoelectrochemical immunoassay of cancer biomarkers coupling with copper nanoclusters. *ACS Appl Mater Interfaces* 2017;9:38336.
- [9] Yu Z, Huang L, Chen J, Tang Y, Xia B, Tang D. Full-spectrum responsive photoelectrochemical immunoassay based on β-In₂S₃@carbon dot nanoflowers. *Electrochim Acta* 2020;332:135473.
- [10] Zhang Z, Pan Y, Fang Y, Zhang L, Chen J, Yi C. Tuning photoluminescence and surface properties of carbon nanodots for chemical sensing. *Nanoscale* 2016;8:500.
- [11] Li H, Kang Z, Liu Y, Lee S-T. Carbon nanodots: synthesis, properties and applications. *J Mater Chem* 2012;22:24230.
- [12] Yu P, Wen X, Toh Y-R, Tang J. Temperature-dependent fluorescence in carbon dots. *J Phys Chem C* 2012;116:25552.
- [13] Ding H, Yu S-B, Wei J-S, Xiong H-M. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism. *ACS Nano* 2016;10:484.
- [14] Emam AN, Loutfy SA, Mostafa AA, Awad H, Mohamed MB. Cyto-toxicity, biocompatibility and cellular response of carbon dots-plasmonic based nano-hybrids for bioimaging. *RSC Adv* 2017;7:23502.
- [15] Panwar N, Soehartono AM, Chan KK, Zeng S, Xu G, Qu J, Coquet P, Yong K-T, Chen X. Nanocarbons for biology and medicine: sensing, imaging, and drug delivery. *Chem Rev* 2019;119:9559.
- [16] Dr CDA, Corrêa JR, Medeiros GA, Barreto G, Magalhães KG, de Oliveira AL, Spencer J, Rodrigues MO, Neto BAD. Carbon dots (C-dots) from cow manure with impressive subcellular selectivity tuned by simple chemical modification. *Chem Eur J* 2015;13:5055.
- [17] Huang P, Lin J, Wang X, Wang Z, Zhang C, He M, Wang K, Chen F, Li Z, Shen G, Cui D, Chen X. Light-triggered theranostics based on photosensitizer-conjugated carbon dots for simultaneous enhanced-fluorescence imaging and photodynamic therapy. *Adv Mater* 2012;24:5104.
- [18] Zhong D-W, Li B, Li C-X, Fan J-X, Lei Q, Li C, Xu Z, Zhang X-Z. Carbon-dot-decorated carbon nitride nanoparticles for enhanced photodynamic therapy against hypoxic tumor via water splitting. *ACS Nano* 2016;10:8715.
- [19] Yuan T, Meng T, He P, Shi Y, Li Y, Fan L, Yang S. Carbon quantum dots: an emerging material for optoelectronic applications. *J Mater Chem C* 2019;7:6820.
- [20] Xie C, Nie B, Zeng L, Liang F-X, Wang M-Z, Luo L, Feng M, Yu Y, Wu C-Y, Wu Y, Yu S-H. Core-shell heterojunction of silicon nanowire arrays and carbon quantum dots for photovoltaic devices and self-driven photodetectors. *ACS Nano* 2014;4:4015.
- [21] Reckmeier CJ, Wang Y, Zboril R, Rogach AL. Influence of doping and temperature on solvatochromic shifts in optical spectra of carbon dots. *J Phys Chem C* 2016;120:10591.
- [22] Das SK, Liu Y, Yeom S, Kim DY, Richards CI. Single-particle fluorescence intensity fluctuations of carbon nanodots. *Nano Lett* 2014;14:620.
- [23] Ghosh S, Chizhik AM, Karedia N, Dekaliuk MO, Gregor I, Schuhmann H, Seibt M, Bodensiek K, Schaap IAT, Schulz O, Demchenko AP, Enderlein J, Chizhik AI. Photoluminescence of carbon nanodots: dipole emission centers and electron-phonon coupling. *Nano Lett* 2014;14:5656.
- [24] Tan J, Zou R, Zhang J, Li W, Zhang L, Yue D. Large-scale synthesis of N-doped carbon quantum dots and their phosphorescence properties in a polyurethane matrix. *Nanoscale* 2016;8:4742.
- [25] Song Z, Quan F, Xu Y, Liu M, Cui L, Liu J. Multifunctional N,S co-doped carbon quantum dots with pH- and thermo-dependent switchable fluorescent properties and highly selective detection of glutathione. *Carbon* 2016;104:169.
- [26] Lim SY, Shen W, Gao Z. Carbon quantum dots and their applications. *Chem. Rev. Soc.* 2015;44:362.
- [27] Wu ZL, Liu ZX, Yuan YH. Carbon dots: materials, synthesis, properties and approaches to long-wavelength and multicolor emission. *J Mater Chem B* 2017;5:3794.
- [28] Hu S, Meng X, Tian F, Yang W, Xue C, Yang J, Chang Q. Dual photoluminescence centers from inorganic-salt-functionalized carbon dots for ratiometric pH sensing. *J Mater Chem C* 2017;5:9849.
- [29] Wang H, Haydel P, Sui N, Wang L, Liang Y, Yu WW. Wide emission shifts and high quantum yields of solvatochromic carbon dots with rich pyrrolic nitrogen. *Nano Res* 2020;13:2492.
- [30] Wang C, Xu Z, Cheng H, Lin H, Humphrey MG, Zhang C. A hydrothermal route to water-stable luminescent carbon dots as nanosensors for pH and temperature. *Carbon* 2015;82:87.
- [31] Kalytchuk S, Poláková K, Wang Y, Froning JP, Cepe K, Rogach AL, Zboril R. Carbon dot nanothermometry: intracellular photoluminescence lifetime thermal sensing. *ACS Nano* 2017;11:1432.
- [32] Nguyen V, Yan L, Xu H, Yue M. One-step synthesis of multi-emission carbon nanodots for ratiometric temperature sensing. *Appl Surf Sci* 2018;427:1118.
- [33] Zu F, Yan F, Bai Z, Xu J, Wang Y, Huang Y, Zhou X. The quenching of the fluorescence of carbon dots: a review on mechanisms and applications. *Microchim. Acta* 2017;184:1899.
- [34] Gao T, Wang X, Zhao J, Jiang P, Jiang F-L, Liu Y. Bridge between temperature and light: bottom-up synthetic route to structure-defined graphene quantum dots as a temperature probe in vitro and in cells. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020;12:22002.
- [35] Cui X, Wang Y, Liu J, Yang Q, Zhang B, Gao Y, Wang Y, Lu G. Dual functional N- and S-co-doped carbon dots as the sensor for temperature and Fe³⁺ ions. *Sens Actuators B* 2017;242:1272.
- [36] Jaque D, Vetrone F. Luminescence nanothermometry. *Nanoscale* 2012;4:4301.
- [37] Qu S, Chen H, Zheng X, Cao J, Liu X. Ratiometric fluorescent nanosensor based on water soluble carbon nanodots with multiple sensing capacities. *Nanoscale* 2013;5:5514.
- [38] Wang C, Jiang K, Xu Z, Lin H, Zhang C. Glutathione modified carbon-dots: from aggregation-induced emission enhancement properties to a "turn-on" sensing of temperature/Fe³⁺ ions in cells. *Inorg. Chem. Front.* 2016;3:514.
- [39] Li M, Yu C, Hu C, Yang W, Zhao C, Wang S, Zhang M, Zhao J, Wang X, Qiu J. Solvothermal conversion of coal into nitrogen-doped carbon dots with singlet oxygen generation and high quantum yield. *Chem Eng J* 2017;320:570.
- [40] Wu S, Zhou R, Chen H, Zhang J, Wu P. Highly efficient oxygen photosensitization of carbon dots: the role of nitrogen doping. *Nanoscale* 2020;12:5543.
- [41] Knoblauch R, Geddes CD. Carbon nanodots in photodynamic antimicrobial therapy: a review. *Materials* 2020;13:4004.
- [42] Guo J, Wang Y, Zhao M. Target-directed functionalized ferrous phosphate-carbon dots fluorescent nanostructures as peroxidase mimetics for cancer cell detection and ROS-mediated therapy. *Sens Actuators B* 2019;297:126739.
- [43] Zhao J, Zou M, Huang M, Zhang L, Yang K, Zhao S, Liu Y-M. A multifunctional nanoprobe for targeting tumors and mitochondria with singlet oxygen generation and monitoring mitochondrion pH changes in cancer cells by ratiometric fluorescence imaging. *Chem Sci* 2020;11:3636.
- [44] Gagic M, Kociova S, Smerkova K, Michalkova H, Setka M, Svec P, Pribyl J, Masilko J, Balkova R, Heger Z, Richtera L, Adam V, Milosavljevic V. One-pot synthesis of natural amine-modified biocompatible carbon quantum dots with antibacterial activity. *J Colloid Interface Sci* 2020;580:30.
- [45] Nozaki T, Kakuda T, Pottathara YB, Kawasaki H. A nanocomposite of N-doped carbon dots with gold nanoparticles for visible light active photosensitizers. *Photochem Photobiol Sci* 2019;18:1235.
- [46] Reckmeier CJ, Schneider J, Susha AS, Rogach AL. Luminescent colloidal carbon dots: optical properties and effects of doping. *Opt Express* 2016;24:A312.
- [47] Hou J, Wang L, Zhang P, Xu Y, Ding L. Facile synthesis of carbon dots in an immiscible system with excitation-independent emission and thermally activated delayed fluorescence. *Chem Commun* 2015;51:17768.
- [48] Valeur B. Molecular fluorescence: principles and applications. Wiley-VCH Verlag GmbH; 2001.
- [49] Yang Z, Mao Z, Xie Z, Zhang Y, Liu S, Zhao J, Xu J, Chi Z, Aldred MP. Recent advances in organic thermally activated delayed fluorescence materials. *Chem Soc Rev* 2017;46:915.
- [50] Jiang K, Wang Y, Li Z, Lin H. Afterglow of carbon dots: mechanism, strategy and applications. *Mater. Chem. Front.* 2020;4:386.
- [51] Liu Y, Li C, Ren Z, Yan S, Bryce MR. All-organic thermally activated delayed fluorescence materials for organic light-emitting diodes. *Nature Rev* 2018;3:18020.
- [52] Dias FB, Penfold TJ, Monkman AP. Photophysics of thermally activated delayed fluorescence molecules. *Methods Appl Fluoresc* 2017;5:012001.
- [53] Almeida AKA, Monteiro MP, Dias JMM, Omena L, da Silva AJC, Tonholo J, Mortimer RJ, Navarro M, Jacinto C, Ribeiro AS, de Oliveira IN. Synthesis and spectroscopic characterization of a fluorescent pyrrole derivative containing electron acceptor and donor groups. *Spectrochim Acta, Part A* 2014;128:812.
- [54] Liu J, Kang X, Zhang H, Liu Y, Wang C, Gao X, Li Y. Carbon dot-based nanocomposite: long-lived thermally activated delayed fluorescence for lifetime thermal sensing. *Dyes Pigments* 2020;181:108576.
- [55] Zh Z, Sun Z, Guo Z, Zhang X, Wu Z. A high-sensitive ratiometric luminescent thermometer based on dual-emission of carbon dots/Rhodamine B nanocomposite. *J Colloid Interface Sci* 2019;552:572.
- [56] Elhtesabi H, Hallaji Z, Nobar SN, Bagheri Z. Carbon dots with pH-responsive fluorescence: a review on synthesis and cell biological applications. *Microchim. Acta* 2020;187:150.
- [57] Yang M, Li B, Zhong K, Lu Y. Photoluminescence properties of N-doped carbon dots prepared in different solvents and applications in pH sensing. *J Mater Sci* 2016;53:2424.
- [58] Shi L, Li Y, Li X, Zhao B, Wen X, Zhang G, Dong C, Shuang S. Controllable synthesis of green and blue fluorescent carbon nanodots for pH and Cu²⁺ sensing in living cells. *Biosens. Bioelectron* 2016;77:598.
- [59] Xu N, Du J, Yao Q, Ge H, Li H, Xu F, Gao F, Xian L, Fan J, Peng X. Precise photodynamic therapy: penetrating the nuclear envelope with photosensitive carbon dots. *Carbon* 2020;159:74.