



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

ARTUR FALQUETO SONSIN

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DA DENSIDADE DE  
ESTADOS DE SUPERFÍCIE DE PONTOS DE QUÂNTICOS DE CARBONO.**

MACEIÓ

2021

ARTUR FALQUETO SONSIN

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DA DENSIDADE DE ESTADOS DE SUPERFÍCIE DE PONTOS DE QUÂNTICOS DE CARBONO.**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Física.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Jorge da Silva Fonseca

MACEIÓ

2021

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecária: Lívia Silva dos Santos – CRB-4 – 1670

S699s Sonsin, Artur Falqueto.

Síntese, caracterização e controle da densidade de estados de superfície de pontos de quânticos de carbono / Artur Falqueto Sonsin. – 2021.  
113 f.:il.

Orientador: Eduardo Jorge d Silva Fonseca.

Tese (Doutorado em Física) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Física. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 100-113

1. Fotoluminescência. 2. Espectroscopia de fluorescência. 3. Pontos quânticos de carbonos. 4. Temperatura (física) – Efeitos. 5. Carbono de enxofre. 6. Carbono de nitrogênio I. Título.

CDU: 530:543.42



**Universidade Federal de Alagoas**  
**Instituto de Física**

Programa de Pós Graduação em Física

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

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE**  
**TESE DE DOUTORADO**

**“Síntese, Caracterização e Controle da Densidade de Estados de**  
**Superfície de Pontos de Quânticos de Carbono”**

**por**

**Artur Falqueto Sonsin**

A Banca Examinadora composta pelos professores Eduardo Jorge da Silva Fonseca (orientador e presidente da banca), do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; Mario Ernesto Giroldo Valerio, da Universidade Federal de Sergipe; Cintya D' Angeles do Espirito Santo Barbosa, do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas; Anielle Christine Almeida Silva, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas; e Carlos Jacinto da Silva, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, consideram o candidato **aprovado com grau “A”**.

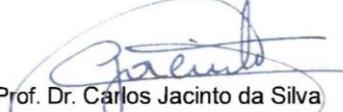
Maceió, 14 de junho de 2021.

  
Prof. Dr. Eduardo Jorge da Silva Fonseca

  
Prof. Dr. Mario Ernesto Giroldo Valerio

  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cintya D' Angeles do Espirito Santo Barbosa

  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Anielle Christine Almeida Silva

  
Prof. Dr. Carlos Jacinto da Silva

*DEDICATÓRIA*

*Ao meu pai Carlos Roberto Sonsin*

*A minha mãe Bernadete Falqueto Sonsin*

*Aos meus irmãos Stela Falqueto Sonsin e Luís Falqueto Sonsin*

*E ao meu sobrinho Felipe Falqueto Vicente*

*Que sempre me deram forças para sempre seguir em frente.*

## **AGRADECIMENTOS**

- A minha mãe Bernadete Falqueto Sonsin, ao meu pai Carlos Roberto Sonsin que sempre fizeram de tudo para que eu estudasse e conseguisse alcançar meus objetivos na vida.
- Aos meus irmãos Stela Falqueto Sonsin e Luis Falqueto Sonsin que sempre tiveram paciência para ouvir minhas reclamações e planos para vida.
- Ao meu sobrinho Felipe Falqueto Vicente, mesmo longe ele me ajudou.
- Ao professor Eduardo Fonseca, pela orientação, conselhos e grandes ensinamentos.
- Ao Grupo de Óptica e Nanoscopia (GON) que me acolheu e proporcionou todos os recursos para que pudesse concluir os trabalhos.
- Aos meus amigos Ana Rubia, Elaine Cristina, Sendy Melissa e Jonathas Matias que sempre me ajudaram e me aturaram todos os dias no laboratório. Em especial a Elaine que sempre abdicou dos momentos dela para me ajudar em toda minha pesquisa.
- Aos meus amigos da pós-graduação.
- A todos que não foram citados, mas contribuíram de alguma forma especial para que esse trabalho fosse concluído.
- CNPQ, CAPES e INCT-nanocarbono pelo apoio financeiro.

*Eu, um universo de átomos, um átomo no universo.*

*Richard Feynman*

## RESUMO

Neste trabalho relatamos a síntese de três tipos de pontos quânticos de carbono (CDs) o primeiro com nitrogênio na superfície, derivado da quitosana e os outros dois com nitrogênio e enxofre em sua superfície, derivados da cisteína e dânsila. A mudança na temperatura faz com que as propriedades ópticas de todos os CDs mudem. Para desvendar essas mudanças, realizamos medições espectroscópicas no estado sólido em dois estágios em temperaturas variando de 303 a 453 K. Para o primeiro estágio de aquecimento, o espectro de emissão mostrou um desvio para o vermelho de 20 nm para os CDs de quitosana, de 67 nm para o de cisteína e um pequeno desvio para o azul nos CDs de dânsila. Para os CDs de quitosana, após o aquecimento foi obtido uma mudança no perfil de absorção, isso indicou que houve uma mudança nos estados de superfície, além disso seu baixo fator de Huang-Rhys e a não dependência da largura de banda com a temperatura, mostrou uma fraca interação elétron-fônon. Para os CDs de cisteína, o aumento da temperatura também provocou uma mudança no perfil da absorção, e um aumento no tamanho médio dos CDs, o que indica que o desvio para o vermelho foi provocado pela mudança nos seus estados de superfície e pelo aumento das partículas. Vale ressaltar que os valores do fator de Huang-Rhys apresentaram valores baixos, entretanto sua largura de banda teve uma dependência com a temperatura, porém seus valores também foram baixos, indicando uma baixa interação elétron-fônon. Os CDs de dânsila, além do desvio para o azul, não mostrou alteração no espectro de absorção. Entretanto, seu espectro de FTIR teve variações consideráveis, fazendo assim com que se justificasse o desvio para o azul. Além disso tanto os C-CDs e os D-CDs conseguiram marcar o citoplasma de células. Este trabalho pode abrir uma nova perspectiva para o desenvolvimento de novas estratégias de modulação de superfície para pontos quânticos de carbono submetidos a tratamento térmico pós-síntese.

**Palavras Chaves:** Pontos Quânticos de Carbono; Temperatura; Fotoluminescência.

## ABSTRACT

In this work we report the synthesis of three types of carbon dots (CDs), the first with nitrogen on the surface, derived from chitosan and the other two with nitrogen and sulfur on its surface, derived from cysteine and dansyl. The change in temperature causes the optical properties of all CDs to change. To unravel these changes, we performed spectroscopic measurements in solid state in two stages at temperatures ranging from 303 to 453 K. For the first heating stage, the emission spectrum showed a 20 nm redshift for chitosan CDs, from 67 nm for cysteine and a small blue deviation for dansyl CDs. For the cysts of CDs, after the heating a change in the absorption profile was obtained, this indicated that there was a change in the surface states, in addition to its low Huang-Rhys factor and the non-dependence of the bandwidth with the temperature, showed a weak electron-phonon interaction. For the cysteine CDs, the increase in temperature also caused a change in the absorption profile, and an increase in the average size of the CDs, which indicates that the red shift was caused by the change in their surface states and by the increase in particles. It is worth mentioning that the values of the Huang-Rhys factor showed low values, however their bandwidth had a dependence on temperature, but their values were also low, indicating a low electron-phonon interaction. The dansyl CDs, in addition to the blue shift, showed no change in the absorption spectrum. However, its FTIR spectrum varied considerably, making the blue shift justified. In addition, C-CDs and D-CDs marked the cell cytoplasm. This work can open a new perspective for the development of new strategies of surface modulation for carbon points submitted to heat treatment after synthesis.

**Key words:** Carbon dots; Temperature; Photoluminescence.

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. 1: Logo da IBM feito com um STM e usando 35 átomos de xenônio. ....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 1. 2: Modo de passivação dos CDs com PEG<sub>1500N</sub>. ....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 2. 1: Espectro de absorção de CDs feito a partir do extrato de própolis vermelha. ....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 2. 2: Ilustração da mudança nos níveis de energia em função do tamanho. .</i>	<i>26</i>
<i>Figura 2. 3: Esquema do estado superficial dos CDs com propriedades luminescentes dependentes e independentes da excitação. ....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 2. 4: Espectros de PL de CDs obtidos por reação solvotérmica em diferentes temperaturas por 1h. ....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 2. 5: (a) Espectros de emissão de fluorescência (excitada em 400 nm) para temperaturas diferentes entre 15 °C e 90 °C (de cima para baixo); (b) Plot da intensidade da PL versus temperatura. ....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 2. 6: (a) Fluorescência em função da temperatura entre 77 K e 300 K. (b) Ajuste do espectro de fluorescência por duas gaussianas. ....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 3. 1: Esquema de preparação para os CDs em suspensão. ....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 3. 2: Esquema de preparação do filme de CDs. ....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 3. 3: Um fóton excitando um elétron e promovendo-o à banda de condução, elétrons e buracos relaxando para seus mínimos de energia e reemissão de um fóton com energia igual à energia de gap de energia do material. ....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 3. 4: Montagem experimental para obtenção dos espectros de PL do Xplora (Horiba). ....</i>	<i>47</i>

<b>Figura 3. 5:</b> Tipos de vibrações moleculares (×: indica movimento para fora da página, •: indica movimento para dentro da página). .....	49
<b>Figura 3. 6:</b> Esquema do Interferômetro de Michelson.....	50
<b>Figura 3. 7:</b> Transições eletrônicas entre níveis de energia moleculares.....	52
<b>Figura 3. 8:</b> Diagrama dos componentes de um espectrômetro de UV-Vis. ....	53
<b>Figura 3. 9:</b> Esquema ilustrativo do sistema de detecção por laser do AFM. ....	55
<b>Figura 3. 10:</b> Esboço das forças de interação ponta-amostra. ....	55
<b>Figura 3. 11:</b> (a) Modo de operação contato; (b) Modo de operação não-contato; (c) Modo de operação contato intermitente. ....	57
<b>Figura 3. 12:</b> Equipamento utilizado para realização das medidas AFM. ....	59
<b>Figura 3. 13:</b> Equipamento utilizado para realização das medidas de TEM.....	62
<b>Figura 3. 14:</b> Equipamento utilizado para realização das medidas de EDX. ....	63
<b>Figura 3. 15:</b> Mecanismo para EDX.....	64
<b>Figura 4. 1:</b> (a) Imagem de Q-CDs no TEM em alta resolução, (b) Espectro de absorção e emissão dos Q-CDs e (c) Espectro de FTIR. ....	66
<b>Figura 4. 2:</b> (a) Espectro de EDX à 303 K. Mapa elementar correspondente dos elementos (b) Carbono, (c) Oxigênio e (d) Nitrogênio. ....	67
<b>Figura 4. 3:</b> PL com excitação de 532 nm, variando a temperatura: (a) primeiro aquecimento, (b) antes e após o primeiro aquecimento, (c) segundo aquecimento, (d) antes e após o segundo aquecimento. (e) O comprimento de onda de emissão de maior intensidade para cada temperatura. ....	69
<b>Figura 4. 4:</b> (a) O espectro de fluorescência pode ser bem ajustado por uma função de duas Gaussianas (b) Intervalo de Energia e (c) Largura da banda, ambos em função da temperatura nos Q-CDs.....	70

<b>Figura 4. 5:</b> Curvas de decaimento PL em 303 K e 453 K.....	71
<b>Figura 4. 6:</b> Espectros de emissão da PL dependentes da excitação: (a) aquecimento à 303 K, (b) aquecimento à 453 K. (c) O comprimento de onda de maior intensidade da PL dependente de excitação à 303 K (esferas verdes) e 453 K (esferas vermelhas). (d) Fotografias de Q-CDs fluorescentes sob excitação laser de 380 nm.....	73
<b>Figura 4. 7:</b> Imagens de AFM de Q-CDs em diferentes temperaturas: (a) 303 K e (b) 453 K. Distribuição de tamanho (c) 303 K (d) 453 K.....	74
<b>Figura 4. 8:</b> (a) Absorção em 303 K, 453 K (primeiro aquecimento) e 453 K (segundo aquecimento). (b) FTIR em 303 K, 453 K (primeiro aquecimento) e 453 K (segundo aquecimento).....	75
<b>Figura 4. 9:</b> (a) Espectro de EDX à 453 K. Mapa elementar correspondente aos elementos (b) Carbono, (c) Oxigênio e (d) Nitrogênio. ....	76
<b>Figura 4. 10:</b> Ilustração da mudança dos estados de superfície que ocorre com o aumento da temperatura.....	77
<b>Figura 5. 1:</b> (a) Imagens HRTEM dos pontos quânticos de carbono. Inserção: espaçamento da rede. C-CDs. (b). Distribuição de tamanho C-CDs. (c) Imagens HRTEM dos pontos quânticos de carbono. Inserção: espaçamento da rede. D-CDs. (d). Distribuição de tamanho D-CDs. ....	80
<b>Figura 5. 2:</b> Caracterização dos CDs. C-CDs (a) Espectro de emissão da fotoluminescência (a) C-CDs (b) D-CDs, UV-Vis (c) C-CDs (d) D-CDs. FTIR, (e) C-CDs (f) D-CDs.....	81
<b>Figura 5. 3:</b> Mapeamento elementar dos CDs e espectro EDX em 303 K. (a) C-CDs e (b) D-CDs. ....	82
<b>Figura 5. 4:</b> PL com temperatura variável de excitação de 532 nm. (a) Primeiro aquecimento e (b) segundo aquecimento para os C-CDs. (c) Primeiro aquecimento e (d) segundo aquecimento para os D-CDs. (e) Comprimento de onda de emissão de espectros de maior intensidade para cada temperatura dos C-CDs e (f)	

*Comprimento de onda de emissão de espectros de maior intensidade para cada temperatura dos D-CDs. .... 84*

**Figura 5. 5:** *Espectro de emissão (453 K) ajustado por duas funções Gaussianas para (a) C-CDs e (b) D-CDs. Intervalo de energia (c) C-CDs e (d) D-CDs. Largura de banda (e) C-CDs e (f) D-CDs. .... 86*

**Figura 5. 6:** *Espectros de emissão da PL à temperatura de 453 K para (a) C-CDs e (b) D-CDs. (c) O comprimento de onda de maior intensidade da PL dependente da emissão em 303 K (pontos verdes) e 453 K (pontos azuis) para C-CDs. (d) O comprimento de onda de maior intensidade da PL dependente da emissão em 303 K (pontos verdes) e 453 K (pontos azuis) para D-CDs. .... 89*

**Figura 5. 7:** *(a) Imagem HRTEM dos C-CDs aquecidos à 453 K. Inserção: espaçamento da rede. (b) Distribuição de tamanho dos C-CDs. (c) Imagem HRTEM dos D-CDs aquecidos à 453 K. Inserção: espaçamento da rede. (d) Distribuição de tamanho dos D-CDs. .... 90*

**Figura 5. 8:** *Curvas de decaimento PL para (a) C-CDs e (b) D-CDs. (c) Tempo de vida em ns para C-CDs e D-CDs. .... 91*

**Figura 5. 9:** *Absorção em 303 K e 453 K para (a) C-CDs e (b) D-CDs. (c) FTIR em 303 K e 453 K para (c) C-CDs e (d) D-CDs. .... 93*

**Figura 5. 10:** *Mapeamento elementar e espectro EDX à 303 K para (a) C-CDs e (b) D-CDs. .... 94*

**Figura 5. 11:** *Viabilidade celular de células HTR-8/SVneo na presença de diferentes concentrações de CDs como preparados. (a) C-CDs a 303 K, (b) C-CDs a 453 K, (c) D-CDs a 303 K e (d) D-CDs a 453 K. .... 95*

**Figura 5. 12:** *Perfil de coloração de células HTR-8/SVneo. (a) C-CDs a 303 K, (b) C-CDs a 453 K, (c) D-CDs a 303 K, e (d) D-CDs a 453 K. .... 96*

## Lista de Tabelas

<i>Tabela 2. 1: Comparação de características entre marcadores.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 4. 1: Valores para o tempo de vida dos Q-CDs. ....</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 5. 1: Valores para o tempo de vida dos C-CDs e D-CDs. ....</i>	<i>92</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2 PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO .....</b>	<b>24</b>
2.1 PROPRIEDADE ÓPTICAS DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO.....	24
2.1.1 Absorção óptica dos pontos quânticos de carbono.....	24
2.1.2 Confinamento Quântico .....	25
2.1.2 Estados de Superfície .....	28
2.2 EFEITOS DA DOPAGEM COM OUTROS ELEMENTOS.....	29
2.2.1 Efeitos dos pontos quânticos de carbono dopados com nitrogênio.....	30
2.2.2 Efeitos de pontos quânticos de carbono co-dopados com nitrogênio e enxofre.....	32
2.2.3 Efeitos de outros pontos quânticos de carbono dopados com heteroátomos e associados à elementos de metal.....	32
2.3 EFEITOS DA TEMPERATURA NOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO .....	33
2.4 EQUAÇÃO PARA O GAP DE ENERGIA E PARA LARGURA DE BANDA.....	36
2.5 PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO NA APLICAÇÃO DE BIOIMAGENS FLUORESCENTES .....	38
<b>3 MÉTODOS EXPERIMENTAIS .....</b>	<b>41</b>
3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	41
3.1.1 Síntese dos Pontos Quânticos de Carbono de Quitosana.....	41
3.1.2 Síntese dos Pontos Quânticos de Carbono de Cisteína .....	41
3.1.3 Síntese dos Pontos Quânticos de Carbono de Cloreto de Dansila.....	42
3.1.4 Avaliação de Citotoxicidade .....	42
3.1.5 Microscopia de fluorescência para captação celular de CDs.....	43

3.1.6	<i>Preparação dos Pontos Quânticos de Carbono em Suspensão</i> .....	43
3.1.7	<i>Preparação dos Filmes de Pontos Quânticos de Carbono</i> .....	44
3.1.8	<i>Calculo para o Rendimento Quântico (QY)</i> .....	45
3.2	<b>TÉCNICAS UTILIZADAS</b> .....	45
3.2.1	<i>Espectroscopia de Fluorescência</i> .....	46
3.2.2	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i> ...	48
3.2.3	<i>UV-vis</i> .....	51
3.2.4	<i>Microscopia de Força Atômica (AFM)</i> .....	54
3.2.4.1	Modo de Funcionamento .....	54
3.2.4.2	Forças de interação .....	55
3.2.4.3	Modos de operação .....	56
3.2.4.5	Equipamento utilizado .....	58
3.2.5	<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)</i> .....	59
3.2.5.1	Componentes do TEM.....	60
3.2.5.2	Equipamento Utilizado .....	62
3.2.6	<i>Espectroscopia de raios-X de dispersão de energia (EDX)</i> .....	62
<b>4.</b>	<b>EFEITOS DA TEMPERATURA EM PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DOPADOS COM NITRÔGENIO A PARTIR DA QUITOSANA.</b>	<b>65</b>
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO .....	65
4.2	EFEITOS DA TEMPERATURA NA FOTOLUMINESCÊNCIA .....	68
4.3	FOTOLUMINESCÊNCIA DEPENDENTE DA EXCITAÇÃO.....	72
4.4	ANÁLISE DE AFM NOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO .....	74
4.5	ANÁLISE DE FTIR, UV-VIS E EDX PARA PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO ....	75
<b>5</b>	<b>EFEITOS DA TEMPERATURA EM PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DE ENXOFRE E NITROGÊNIO INDEPENDENTE E DEPENDENTES DA EXCITAÇÃO</b> .....	<b>79</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO .....	79
5.2	EFEITOS DA TEMPERATURA NA FOTOLUMINESCÊNCIA .....	83

5.3 FOTOLUMINESCÊNCIA (DEPENDENTE E INDEPENDENTE DA EXCITAÇÃO) DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO .....	88
5.4 PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS APÓS O AQUECIMENTO .....	89
5.5 TEMPO DE VIDA DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO .....	91
5.6 ESPECTROS DE UV-VIS, FTIR E EDX DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO ..	92
5.7 CITOTOXICIDADE E IMAGEAMENTO CELULAR.....	94
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>98</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>100</b>

## 1 INTRODUÇÃO

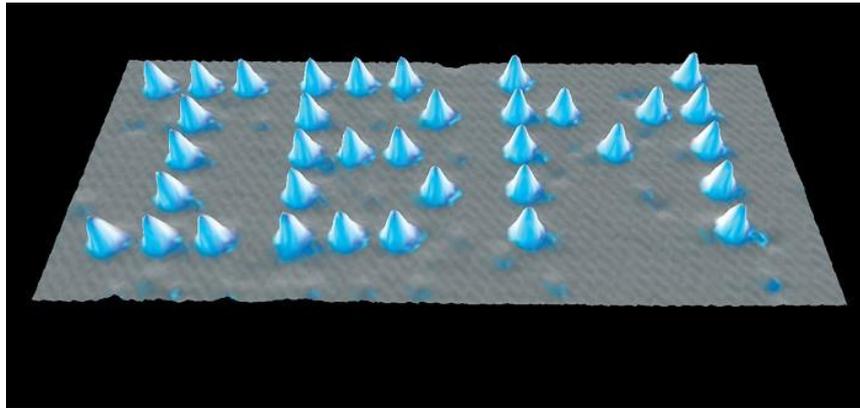
Nas últimas décadas, os pesquisadores tiveram um interesse sem precedentes no campo da nanotecnologia e nanociência, que é atualmente um dos mais atraentes e de crescimento mais rápido<sup>1</sup>. Muitos especialistas comparam a revolução industrial do século XIX com a “nano revolução” e prometem fornecer produtos inovadores em áreas estratégicas como energia, medicina, informação, segurança, meio ambiente e indústria<sup>2</sup>.

O discurso de Richard Feynman na reunião anual da *American Physical Society* no *California Institute of Technology* (Caltech) em 1959 foi um marco histórico e científico no desenvolvimento antecipado da nanotecnologia, e o termo não foi usado na época. Nessa palestra, intitulada *There's Plenty of Room at the Bottom*, referiu-se à possibilidade de manipular a matéria à escala atômica e molecular e discutiram-se consequências em termos de progresso científico nesse novo contexto<sup>3</sup>. As previsões de Feynman incluem a miniaturização de dispositivos de armazenamento de informações e o desenvolvimento de microscópios com recursos de resolução atômica. Porém, a nanotecnologia é efetivamente produzida devido à precipitação do conhecimento científico em diferentes campos, e os avanços tecnológicos recentes têm contribuído de forma decisiva para o desenvolvimento da nanotecnologia, ou seja, a descoberta e o aprimoramento de microscópios que podem caracterizar nanoestruturas, e cálculos mais potentes, métodos e novas técnicas de síntese em nanomateriais<sup>4</sup>.

A invenção do microscópio de tunelamento (STM, do inglês, *Scanning Tunneling Microscopy*) em 1980 feita por Gerd Binnig e Heinrich Rohrer, deu aos dois pesquisadores o Prêmio Nobel de Física de 1986<sup>5, 6</sup>. No STM, uma diferença de potencial é aplicada entre a superfície da amostra e uma sonda muito fina, que se aproxima da superfície do material a ser analisado a uma distância atômica, gerando uma corrente pelo efeito de tunelamento entre a ponta da sonda e a superfície. O modo de medição no STM move a sonda ao longo da superfície (plano  $xy$ ) para escanear uma área específica da amostra, mantendo assim a intensidade da corrente entre a ponta e a superfície constante<sup>5</sup>. O ajuste da posição vertical da ponta (altura  $z$ ) gera um mapa de contorno da superfície, que o computador processa para criar uma imagem do átomo. Em 1990, os cientistas da IBM usaram o STM para manipular 35 átomos de xenônio, movendo um átomo por vez para “escrever” as iniciais I-B-M (Figura 1.1)<sup>7</sup>, divulgando assim amplamente a manipulação única de átomos. A invenção do STM é baseada na poderosa teoria

científica inventada no século 20, ou seja, a teoria quântica, que abriu caminho para uma nova revolução tecnológica em nanotecnologia no século 21.

**Figura 1. 1:** Logo da IBM feito com um STM e usando 35 átomos de xenônio.



**Fonte:** <https://cen.acs.org/analytical-chemistry/imaging/30-years-moving-atoms-scanning/97/i44>

As características dos nanomateriais estão incorporadas em um determinado tamanho (a chamada dimensão crítica), abaixo do qual pelo menos uma característica é diferente, e para cada característica deste material, existe uma dimensão crítica específica. Para as mesmas características, existem diferentes dimensões críticas dependendo do material. Outro fator que afeta o desempenho do material desta escala é a forma de suas partículas, e sempre que houver uma mudança a forma muda<sup>8</sup>.

A dimensionalidade é um recurso importante que pode ser usado para segregar diferentes estruturas de nanomateriais<sup>9</sup>. Embora diferentes classificações possam ser escolhidas para nanomateriais (por exemplo, de acordo com a morfologia, dimensionalidade e composição), categorizá-los com base nas dimensões de confinamento é o principal meio de classificação. De acordo com esta definição, em nanomateriais de dimensão zero, todas as dimensões (X, Y e Z) estão na nanoescala, ou seja, <100 nm, enquanto que para nanomateriais unidimensionais e bidimensionais, duas e uma das dimensões são em nanoescala, respectivamente. Da mesma forma, as nanoestruturas tridimensionais são constituídas por nanomateriais de dimensão zero, unidimensional e bidimensional como blocos de construção<sup>10</sup>.

**Nanomateriais de dimensão zero:** Os pontos quânticos são os principais materiais em dimensão zero, eles são nanocristais semicondutores fluorescentes com um diâmetro tão pequeno quanto 1–10 nm. Eles são compostos de um núcleo semicondutor, que é revestido por uma casca semicondutora. Os invólucros mais comumente usados incluem seleneto de cádmio, telureto de cádmio, zinco-cádmio, seleneto de chumbo e sulfeto de zinco, que são usados para aumentar a propriedade óptica de pontos quânticos e fazer uma cobertura para facilitar a solubilidade aquosa, especialmente em relação a aplicações biológicas e biomédicas<sup>11</sup>. Esses nanocristais foram explorados por Louis Brus e principalmente empregados para aplicações biomédicas<sup>12</sup>. A motivação para usar o nome “ponto quântico” para esses materiais é sua experiência de confinamento quântico, o que significa que o tamanho da partícula restringe a função de onda do elétron. Devido a essa propriedade, os pontos quânticos têm uma energia de gap de energia dependente do tamanho<sup>13</sup>. Os pontos quânticos têm sido usados em uma ampla gama de aplicações, como detecção química, entrega direcionada, biossensor, bioimagem, nanomedicina, fotocatalise e eletrocatalise<sup>14</sup>.

**Nanomateriais unidimensionais:** Os dois principais materiais unidimensionais são os nanotubos e os nanofios. A descoberta de nanotubos de carbono (CNTs) em 1991 motivou significativamente pesquisadores em todo o mundo a estudar nanoestruturas unidimensionais<sup>15</sup>. Os nanotubos são considerados tubos microscópicos com diâmetros inferiores a 100 nm, enquanto seu comprimento está fora da nanoescala. Os nanotubos geralmente têm uma estrutura oca. Devido às propriedades únicas propostas pela geometria dos nanotubos, tem sido de particular interesse para os pesquisadores nas últimas décadas. Os nanotubos são reconhecidos como nanomateriais predominantes que possuem estrutura unidimensional, o que significa que uma de suas dimensões está além da nanoescala<sup>16</sup>. Os nanotubos são eficazes em vários campos, como remoção de metais pesados<sup>17</sup>, saúde humana<sup>18</sup>, embalagem de alimentos<sup>19</sup>, energia e aplicações de biossensorização<sup>20</sup>.

Nanofios são materiais nanométricos com alguns nanômetros de diâmetro e um comprimento muito maior<sup>21</sup>. Os elétrons nos nanofios são livres para viajar ao longo de seu comprimento, mas seu movimento em direção às outras duas dimensões é restrito pela mecânica quântica, o que resulta em variação de suas características. Os nanofios exibem propriedades únicas que os tornam notavelmente diferentes de seus equivalentes em massa. Por exemplo, nanofios semicondutores com características eletronicamente comutáveis têm sido aplicados com sucesso como agentes de detecção. Nesse sentido, conjuntos de eletrodos de nanofios de

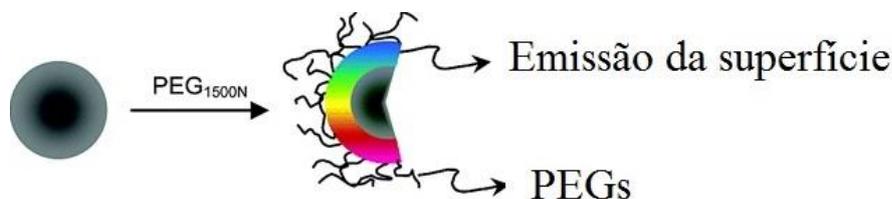
cobre têm sido aplicados como sensores eletroquímicos de nitrato sensíveis com a capacidade de detectar no nível micromolar<sup>22</sup>.

**Nanomateriais bidimensionais:** Nanofolhas que são conhecidas por possuírem morfologias geométricas bidimensionais são criadas como resultado da quebra de nanocamadas contínuas. Algumas de suas características distintas incluem grande área de superfície, estrutura altamente plana, mobilidade aprimorada de elétrons e propriedades semicondutoras. Devido a essas características, uma variedade de aplicações são definidas para nanofolhas<sup>23</sup>. Por exemplo, nanofolhas de TiO<sub>2</sub> são sintetizadas usando vários métodos, incluindo técnicas hidrotérmicas, solvotérmicas, alcootérmicas, CVD e sol-gel<sup>24</sup>. A nanofolha mais conhecida e estudada é o grafeno, que foi descoberto em 2004 na Universidade de Manchester por Andre Geim e Konstantin Novoselov, que conseguiram obter através do método de esfoliação mecânica uma monocamada de grafeno<sup>25</sup>.

**Nanomateriais tridimensionais:** Nanomateriais tridimensionais são nanomateriais volumosos que estão em todas as três direções. Os nanomateriais tridimensionais contêm principalmente nanomateriais zerodimensionais, unidimensionais e bidimensionais como blocos de construção<sup>26</sup>.

Ao longo dos anos, diversos nanomateriais continuaram a ser desenvolvidos. Um em especial foi descoberto por acaso em 2004, por Xiaoyou Xu, em que durante a purificação de nanotubos de carbono foram observadas nanopartículas fluorescentes. Ao fazerem um estudo mais aprofundado, desvendaram que essas nanopartículas se tratavam de Pontos quânticos de carbono (CDs, do inglês, *Carbon Dots*), que por sua vez, possuíam dimensão zero<sup>27</sup>. Ao contrário dos outros nanomateriais de carbono, os CDs possuíam uma fluorescência dentro do espectro visível, o que poderia abrir novas possibilidades de aplicação. Sua estrutura inicialmente era composta de um núcleo de carbono e algumas hidroxilas na superfície, porém, em 2006 um grupo de pesquisadores passivou sua superfície com o poli (etilenoglicol) oligomérico terminado por diamina (PEG<sub>1500N</sub>), como podemos observar na figura 1.2, e sua luminescência resultou em um aumento na sua eficiência quântica, tornando o material muito mais atrativo, além de fazerem experimentos para marcação de materiais biológicos<sup>28</sup>.

**Figura 1. 2:** Modo de passivação dos CDs com PEG<sub>1500N</sub>.



**Fonte:** Imagem adaptada pelo autor<sup>28</sup>.

Os CDs possuem como principais características a biocompatibilidade, baixa toxicidade, comprimentos de onda de excitação e emissão sintonizáveis, baixo custo, solubilidade superior na água e fotoestabilidade, o que tem levado a um aumento exponencial nas pesquisas nos últimos 10 anos<sup>29; 30; 31</sup>.

As propriedades ópticas dos CDs foram extensivamente investigadas e a maioria dos trabalhos tem como base a fotoluminescência (PL, do inglês, *Photoluminescence*) associada à variedade de procedimentos de síntese. O espectro de emissão dos CDs pode ser ou não dependente do comprimento de onda de excitação e o estado de superfície é considerado o principal motivo para isso. Alguns estudos mostraram uma dependência da fotoluminescência com o tamanho<sup>32; 33; 34; 35</sup>, estados de superfície<sup>36; 37; 38</sup> e heteroátomos (presença de oxigênio, nitrogênio ou enxofre) dos CDs<sup>39; 40</sup>. Essas propriedades podem ser definidas durante o processo de síntese ou através de algum tipo de tratamento pós-síntese.

O espectro de PL dos CDs mostra dependência com a excitação, o pH, o solvente e temperatura<sup>29; 41</sup>. Diversos trabalhos mostram a influência da temperatura na PL dos CDs pós-síntese. A análise da temperatura pode ser explicada pelo mecanismo da fluorescência<sup>30; 31; 33</sup>. Na maioria dos casos, a intensidade da PL diminui com o aumento da temperatura. Além disso, é observada uma mudança nos espectros de PL quando a temperatura varia<sup>33; 36</sup>.

A explicação mais clara para a diminuição da PL é a ocorrência de relaxamento não radioativo termicamente ativado<sup>30; 31</sup>. Alguns estudos mostram que a mudança de espectro é uma relação entre o crescimento dos CDs e os aumentos de temperatura. Esse efeito já é conhecido em outros materiais de nanoestruturas<sup>33</sup>. Além disso, diferentes conteúdos, proporções de heteroátomos na superfície podem influenciar o aspecto da PL. Alguns trabalhos melhoraram muitas rotas e definiram os espectros de PL sobre cada tipo de síntese<sup>42; 43</sup>. É importante notar que é possível fazer algum tipo de tratamento após a síntese, como reação química, variar o solvente, adicionar íons, variar o pH ou a temperatura nos CDs<sup>30; 32</sup>.

Nessa tese iremos explorar as propriedades luminescentes dos CDs em função da temperatura. Aqui abordamos três tipos de CDs diferentes: o primeiro, descrito no capítulo 4 relata as propriedades luminescentes de CDs feitos à base de quitosana, que é um material rico em grupos amina. Os outros dois materiais, descritos no capítulo 5, são os CDs à base de enxofre (S) e nitrogênio (N), que usamos como material base a dansila e a cisteína, além disso realizamos uma aplicação para imageamento celular. Esses resultados nos proporcionam um melhor entendimento das propriedades luminescentes dos CDs.

## 2 PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO

Neste capítulo estudaremos as propriedades ópticas dos CDs, seus principais mecanismos de fluorescência, apresentando as duas principais causas. Também discutiremos o efeito da dopagem em suas propriedades luminescentes, e o efeito da temperatura em suas propriedades ópticas.

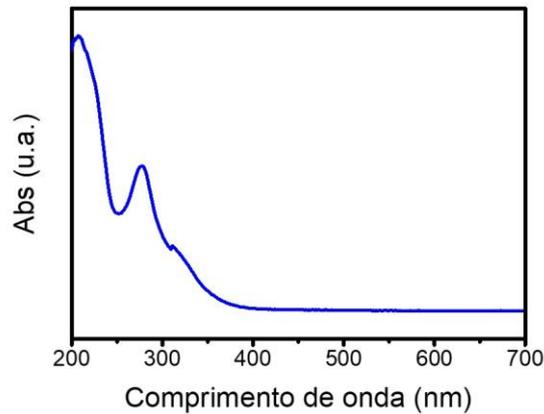
### 2.1 Propriedade Ópticas dos Pontos Quânticos de Carbono

#### 2.1.1 Absorção óptica dos pontos quânticos de carbono

Em sistemas orgânicos conjugados, ocorre frequentemente a absorção do espectro do ultravioleta até o visível; os CDs, por sua vez, apresentam a mesma característica de absorção. O processo de absorção de materiais orgânicos acontece pelo fato de as moléculas absorverem determinado comprimento de onda, estabelecendo transições eletrônicas que podem ser do tipo  $\sigma - \sigma^*$ ,  $\pi - \pi^*$ ,  $n - \sigma^*$  e  $n - \pi^*$ <sup>44</sup>. As bandas de absorção atribuídas aos CDs são as ligações  $\pi - \pi^*$  e  $n - \pi^*$ , provenientes das ligações C=C e C=O estão em torno de 200 até 300 nm<sup>45</sup>. Contudo, a funcionalização da superfície pode fazer com que os CDs apresentem bandas de absorção para comprimento de ondas maiores, como descrito por Hu *et. al*<sup>42</sup>, que passivando a superfície com grupos amina percebeu uma banda de absorção em 350 nm, que foi atribuída à absorção feita por ligações com nitrogênio.

O espectro de absorção dos CDs é uma das principais ferramentas de caracterização. Por possuir bandas bem específicas, essa propriedade óptica se torna uma forma de facilitar a comprovação da síntese dos CDs<sup>40</sup>. Na figura 2.1 é apresentado um espectro de absorção molecular no ultravioleta-visível (UV-vis) dos CDs obtido a partir da síntese hidrotermal usando um bioprecursor natural, nesse caso, o extrato de própolis vermelha. Aqui podemos ver claramente a banda de absorção próxima a 200 nm que é atribuído às ligações  $\pi - \pi^*$ ; já a banda próxima a 300 nm é atribuída às ligações  $n - \pi^*$ . A banda que aparece após 300 nm é o indicativo da presença de um grupo funcional na superfície<sup>45</sup>.

**Figura 2. 1:** Espectro de absorção de CDs feito a partir do extrato de própolis vermelha.



**Fonte:** Autor

### 2.1.2 Confinamento Quântico

Para entender o comportamento físico de um ponto quântico, os conceitos de um gap de energia semiconductor e confinamento quântico são reunidos. Quando um cristal semiconductor é suficientemente grande, por exemplo, 1  $\mu\text{m}$  ou maior, o confinamento quântico não é um efeito significativo e o gap de energia do semiconductor domina o comportamento<sup>46</sup>. À medida que o cristal se torna menor, ou seja, de tamanho nanométrico, o modelo de confinamento quântico se torna mais significativo<sup>47</sup>. Esta transição é tipicamente delineada quando o cristal se torna menor que duas vezes o raio do éxciton de Bohr do material,

$$a_b^* = \varepsilon_e \left( \frac{m}{\mu} \right) a_b \quad (2.1)$$

onde  $a_b$  é o raio de Bohr (0,053 nm),  $m$  é a massa,  $\mu$  é a massa reduzida e  $\varepsilon_r$  é a permissividade relativa. O gap de energia efetivo do material de ponto quântico é determinado pela adição do gap de energia do semiconductor em massa à energia de confinamento quântico,

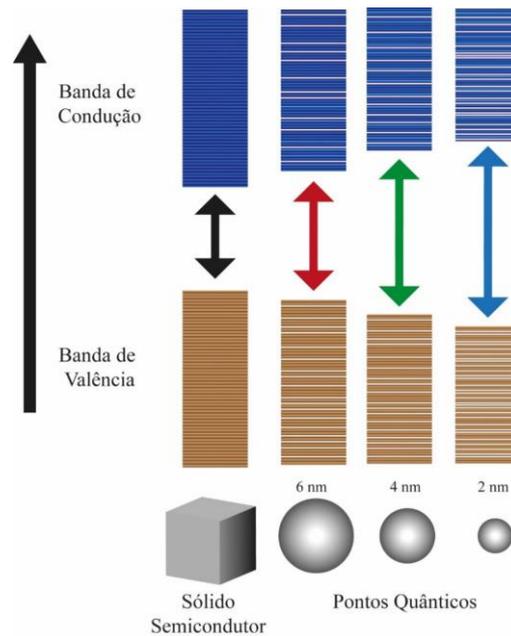
$$E_{QD} = E_g + \frac{\hbar^2 \pi^2 n^2}{2\mu a^2} - R_y^* \quad (2.2)$$

onde  $E_g$  é o gap de energia do semiconductor, a massa do modelo de partícula em uma caixa é substituída pela massa reduzida e  $a$  é o raio do ponto quântico. O termo adicional  $R_y^*$  incorpora um efeito adicional da energia do éxciton ligada, que é uma atração de Coulomb entre o elétron carregado negativamente e o buraco carregado positivamente,

$$R_y^* = \frac{1,8q^2}{4\pi\epsilon_r\epsilon_0 a} \quad (2.3)$$

onde  $q$  é a carga do elétron e  $\epsilon_0$  é a permissividade de espaço livre.

**Figura 2. 2:** Ilustração da mudança nos níveis de energia em função do tamanho.



A equação para o gap do ponto quântico mostra que a energia do gap de energia depende do tamanho físico do ponto quântico. Conforme o raio do ponto quântico cai abaixo do raio do éxciton de Bohr, a energia de confinamento quântico torna-se maior e domina o gap de energia do semiconductor em massa<sup>47; 48</sup>. À medida que o tamanho do cristal cresce, ou seja, torna-se grande, os termos adicionais se aproximam de zero e o valor se aproxima do gap de energia do semiconductor em massa (Figura 2.2). Isso mostra que o ajuste do gap de energia efetivo do ponto quântico pode ser alcançado por meio de uma combinação da seleção de um material semiconductor específico e do controle do tamanho físico do ponto quântico<sup>46</sup>.

Uma característica importante dos CDs é o efeito de confinamento quântico. Para alguns tipos de CDs com grandes domínios  $\pi$  conjugados e poucos grupos funcionais de superfície, a fluorescência é essencialmente derivada do confinamento quântico dos elétrons  $\pi$  conjugados, e o gap de energia dos domínios  $\pi$  conjugados é considerado o centro de fluorescência dos estados do núcleo de carbono<sup>49; 50; 51</sup>. O tamanho é um fator que influencia suas propriedades, pois quanto maior o tamanho dos CDs, menor a diferença de banda e seu pico de emissão tende a desviar para o vermelho. Os domínios  $\pi$  conjugados com tamanho confinado, resultam na separação da banda de valência da banda de condução dos CDs, e os elétrons da banda de condução passam para banda de valência, permitindo, assim, a “recombinação direta” do par elétrons-buraco, resultando em um excíton. Os aglomerados de carbono  $sp^2$  presentes no núcleo dos CDs são dispersos em uma estrutura de carbono  $sp^3$ , assim as propriedades ópticas dos CDs são determinadas pelas transições  $\pi$ - $\pi^*$  dos aglomerados de carbono  $sp^2$ . Uma vez que os níveis de energia dos elétrons de  $\pi$  e  $\pi^*$  em aglomerados de carbono  $sp^2$  são afetados pelos estados  $\sigma$  e  $\sigma^*$  que estão nas estruturas de carbono  $sp^3$ , é formado um par de elétron-buraco nos aglomerados de carbono  $sp^2$  podendo assim produzir fluorescência<sup>52; 53; 54</sup>. Ajustando o tamanho dos CDs espera-se modular a emissão de cores dos CDs. O tamanho pode ser ajustado usando diferentes solventes de reação e a emissão de cor dos CDs pode também ser modulada.

Kwon *et al*<sup>51</sup>. mostraram que os grupos amino e as aminas são auxocromos. Os *clusters* ricos em ligantes  $sp^2$  têm intervalos de energia mais baixos do que os *clusters* de  $sp^2$  sem ligantes. Portanto, os CDs que possuem mais *clusters*  $sp^2$  adjacentes à superfície do que os CDs, devem exibir PL mais “avermelhada”, apesar de seu tamanho ser menor que os CDs. Também ocorreria certa transferência de energia entre esses dois grupos diferentes de  $sp^2$  devido às diferentes lacunas de energia.

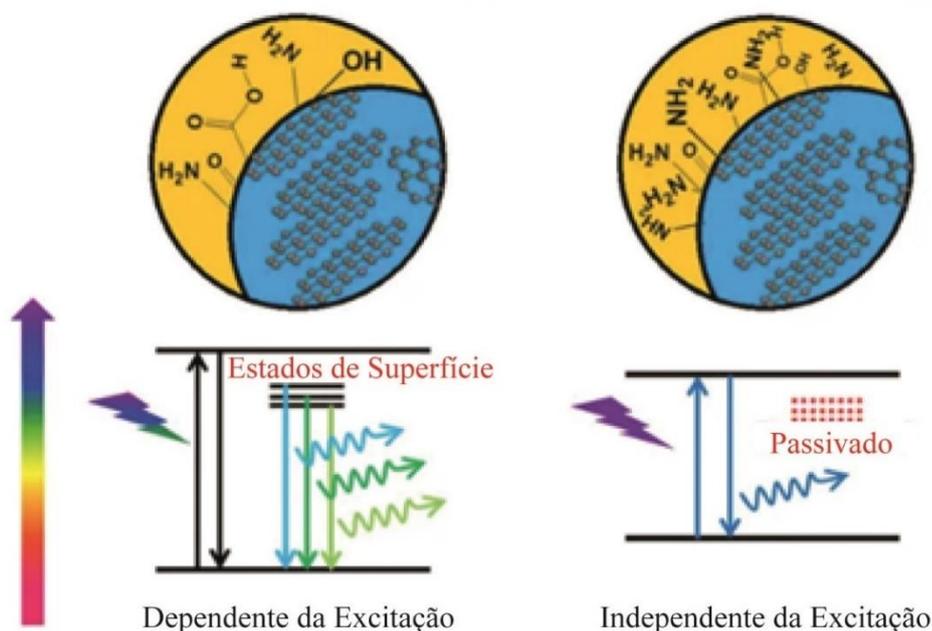
### 2.1.2 Estados de Superfície

Um dos principais mecanismos de fluorescência dos CDs são os estados de superfície. O estado de superfície refere-se a uma região de fronteira ou a um invólucro esférico que é distinto da região ou corpo do núcleo de carbono. A região esferoidal contém vários grupos químicos derivados de átomos de carbono híbridos  $sp^2$  e  $sp^3$ , ou outros grupos superficiais funcionais, ou ligações pendentes<sup>55; 56</sup>. Devido à diversidade e complexidade dos estados de superfície, a fluorescência originária desses estados é caracterizada pela luminescência dependente de excitação. Os defeitos de superfície são gerados principalmente pela oxidação da superfície e podem atuar como um centro de captura de éxcitons, resultando em fluorescência do estado de defeito de superfície<sup>57; 58</sup>.

A fluorescência dos estados de superfície é causada pelo relaxamento da radiação do estado excitado para o estado fundamental. Os carbonos híbridos  $sp^3$  e  $sp^2$  na superfície dos CDs e outros defeitos na superfície podem levar a emissões multicoloridas de seus estados eletrônicos locais. Quando a luz de um comprimento de onda específico ilumina os CDs, os fótons cuja energia satisfaz a folga da banda óptica transitam e se acumulam nas armadilhas de defeitos de superfície adjacentes e retornam ao estado fundamental para emitir luz visível de diferentes comprimentos de onda. Quanto maior o grau de oxidação da superfície dos CDs, mais defeitos de superfície e locais de emissão, podendo resultar no desvio para o vermelho do comprimento de onda de emissão<sup>59; 60; 61</sup>.

O estado da superfície não é composto por grupos químicos isolados, mas por um centro de fluorescência formado pela sinergia do núcleo de carbono com os grupos químicos associados. Entre os grupos estão o estado de ativação da fluorescência ou o estado de silêncio sob uma determinada condição. Grupos funcionais têm diferentes níveis de energia e podem produzir uma série de armadilhas de emissão<sup>62; 63; 64</sup>. Os níveis de energia dos grupos funcionais podem estar relacionados à sua capacidade de fornecer elétrons. Quanto mais forte a capacidade dos grupos funcionais de fornecer elétrons, maior a energia que eles geram. Obviamente, o comprimento de onda da emissão pode ser ajustado alterando os grupos químicos na superfície dos CDs.

**Figura 2. 3:** Esquema do estado superficial dos CDs com propriedades luminescentes dependentes e independentes da excitação.



**Fonte:** Imagem adaptada pelo autor<sup>41</sup>.

Um trabalho muito importante que descreve o efeito causado pelos estados de superfície na luminescência foi proposto por Li *et al.*<sup>41</sup> Eles observaram que a dependência de excitação da luminescência de CDs poderia ser controlada por meio da engenharia dos estados de superfície, conforme mostrado na Figura 2.3. Como um caso extremo, se todos os estados de superfície são completamente passivados, acredita-se que a emissão ocorre apenas através da transição radiativa de carbonos sp<sup>2</sup>, provavelmente a transição  $\pi$  para  $\pi^*$ , que obviamente resultará em independência de excitação devido ao modo de transição único com uma certa energia. Alternativamente, se os estados de superfície não são passivados, os modos de emissão relacionados aos estados de superfície CO, C = O e O = C-OH com uma série de energias específicas irão dominar os espectros de luminescência dependendo da energia de excitação. Nesse caso, os CDs demonstrarão a emissão dependente da excitação.

## 2.2 Efeitos da dopagem com outros elementos

A síntese dos CDs originalmente contém apenas os elementos carbono (C) e oxigênio (O), e sendo assim, geralmente emitem fluorescência azul. No entanto, apenas com esses

elementos sua eficiência quântica possui um baixo rendimento, e a maioria exige modificação ou funcionalização superficial adicional para melhorar a eficiência luminosa, o que geralmente limita a aplicação e desenvolvimento de CDs. A dopagem de um novo elemento em sua composição pode introduzir novas propriedades de superfície e alterar defeitos estruturais, grupos funcionais de superfície e interações entre átomos de carbono e seus átomos vizinhos. Com a dopagem, esses novos estados de superfície podem suprimir ou eliminar os estados originais e facilitar um alto rendimento de recombinação radiativa, resultando em CDs dopados com eficiência quântica mais alta e emissões independentes do comprimento de onda de excitação<sup>65; 66</sup>. Os elementos dopados também podem ser incorporados na estrutura do núcleo de carbono dos CDs para criar novos níveis de energia ou alterar seu gap de energia inicial. Em resumo, os elementos de dopagem podem modular efetivamente a emissão de cores dos CDs e contribuir para uma compreensão mais profunda do mecanismo de fluorescência dos CDs.

O tempo de vida da PL dos CDs representa o tempo que os CDs passam no estado excitado antes que a emissão de fótons retorne ao estado fundamental. Isso é considerado uma propriedade intrínseca dos CDs, que geralmente está na escala de nanossegundos. O tempo de vida da PL também pode ser ajustado por diferentes métodos de fabricação: precursores, passivação de superfície ou dopagem com elementos. Porém, a dopagem de elementos parece ser um dos fatores mais importantes que afeta o tempo de vida da PL dos CDs. Devido à dopagem do elemento, a superfície dos CDs desenvolve defeitos passivados, resultando em um tempo de vida mais longo da PL<sup>67</sup>.

### 2.2.1 Efeitos dos pontos quânticos de carbono dopados com nitrogênio

Como o raio do átomo de nitrogênio (N) é semelhante ao do átomo de C, o átomo de N é facilmente incorporado ao esqueleto do material de carbono, os CDs dopados com N são o sistema de dopagem mais estudado e com maior potencial<sup>68; 69; 70</sup>. Os dois principais aspectos que a dopagem de N causa nos efeitos de fluorescência são: o desvio para o vermelho no espectro de emissão e o aumento da eficiência quântica de fluorescência<sup>71</sup>. O rearranjo do buraco-elétron e da teoria da radiação é usado principalmente para explicar o mecanismo de fluorescência dos CDs dopados com heteroátomo. O desvio para o vermelho acontece devido a produção de um novo nível de energia no estado da superfície feito pela dopagem do átomo

de nitrogênio. Os estados de superfície dopados com nitrogênio podem facilitar um alto rendimento de recombinação radiativa e diminuir a recombinação não-radiativa<sup>66</sup>. Os grupos amino doadores de elétrons na superfície dos CDs podem aumentar o grau de conjugação dos sistemas conjugados, aumentando a transição eletrônica do estado fundamental para o estado singleto excitado mais baixo e, assim, contribuir indiretamente para uma eficiência quântica mais alta dos CDs<sup>72; 73; 74</sup>.

Jiang *et al.*<sup>75</sup> sintetizaram os CDs usando três isômeros diferentes de fenilenodiamina em etanol através de um método solvotérmico. Ao excitar com comprimento de onda de 365 nm, os CDs emitiram fluorescência vermelha, verde e azul, em solução e na matriz polimérica. As mudanças no tempo de vida, na eficiência quântica e decaimento dos CDs foram devidas ao aumento do teor de nitrogênio (B-CDs, G-CDs e R-CDs foram 3,69%, 7,32% e 15,57%, respectivamente), que mostra as diferentes ligações do grupo amina fazendo com que haja alteração da cor de emissão.

A dopagem de grupos funcionais relacionados ao N terá um grande efeito na emissão de cores dos CDs. Pan *et al.*<sup>76</sup> prepararam o CDs de emissão de cores. Os CDs exibiram fluorescência independente da excitação de azul para vermelho. A emissão de luz azul do CDs deve vir de uma estrutura aromática, enquanto a emissão de luz verde e vermelha são devidas à presença de grupos funcionais relacionados às ligações C=N / C=O e CN.

O complexo processo de dopagem de N leva à existência de várias espécies de nitrogênio na estrutura dos CDs, e as diferentes configurações de átomos de N têm efeitos diferentes nas diferentes propriedades dos CDs<sup>77</sup>. As formas de nitrogênio presentes nos CDs podem ser classificadas principalmente em quatro tipos: tipo amino, tipo pirrol, tipo piridina e tipo grafite. No amino o N é distribuído na superfície dos CDs. Já no pirrol o N e na piridina o N podem ser distribuídos na borda e no centro da estrutura do grafeno, enquanto que no grafite o N é dopado regularmente na estrutura do grafeno. O aumento do nitrogênio grafítico é benéfico para modular a emissão de cores dos CDs. A amina aromática ou amina alifática terminal pode causar a reticulação de CN durante a carbonização para formar a estrutura de nitrogênio grafítico, o que é benéfico para a emissão de luz vermelha dos CDs. Também é importante ressaltar que os números de grupos N-funcionais na superfície estão relacionados à modulação da emissão de cores dos CDs<sup>78</sup>.

### 2.2.2 Efeitos de pontos quânticos de carbono co-dopados com nitrogênio e enxofre

Além do nitrogênio (N), outra co-dopagem muito utilizada é a do enxofre (S). Os CDs dopados com S são o segundo tipo mais estudado após a dopagem com N, onde o elemento S pode estar na forma de um grupo tiol, tioéter ou ácido sulfônico<sup>79: 80</sup>. O átomo de enxofre é em grande parte maior do que o átomo de carbono. Além do mais, a diferença de eletronegatividade entre enxofre e carbono é tão pequena que a transferência significativa de carga entre o carbono e enxofre parece pouco possível<sup>81</sup>. Entretanto, uma vez co-dopado com N e S pode produzir uma estrutura eletrônica única que contém um efeito sinérgico entre o N e o S dopados nos CDs, o raio atômico do N e do S está mais próximo do C e a disponibilidade de cinco elétrons de valência em N e seis em S ajuda a ligar N e S à C. Os elementos N e S podem aumentar a probabilidade de transição eletrônica do estado fundamental para o estado de excitação, levando a uma mudança na energia e aumentando significativamente a eficiência quântica dos CDs<sup>82</sup>. Bao *et al.*<sup>83</sup> sintetizaram CDs co-dopados com N e S usando cisteína como precursor. O átomo S fornece um efeito sinérgico sobre a função do átomo N, o que acelera muito a transição da radiação dos estados de superfície relacionados com N, resultando em fluorescência dominada por grupos funcionais contendo nitrogênio.

Alguns novos grupos funcionais podem ser introduzidos nos CDs por dopagem dos elementos N e S. O comprimento de onda de emissão dos CDs co-dopados com N e S pode ser significativamente desviado para o vermelho. Miao *et al.*<sup>84</sup> demonstraram forte emissão no vermelho em CDs co-dopados com N e S usando tioureia como fonte por uma rota hidrotérmica de uma etapa. Alguns novos grupos funcionais, como tiofeno, anel de pirrole e -SCN foram introduzidos em CDs pela introdução dos elementos S e N. Devido à conjugação do carbono  $sp^2$  com unidades de tiofeno e pirrol, o comprimento de onda de emissão de CDs pode ser desviado para o vermelho.

### 2.2.3 Efeitos de outros pontos quânticos de carbono dopados com heteroátomos e associados à elementos de metal

Os heteroátomo dopado nos CDs não está limitado ao nitrogênio e ao enxofre; existem vários elementos, como fósforo, boro, flúor e selênio. Além disso, não existe apenas um CDs

dopado com heteroátomo, mas também uma pluralidade de heteroátomos co-dopados com CDs<sup>85; 86</sup>. Os diferentes tipos, posições e padrões de dopagem de elementos em CDs têm diferentes efeitos na modulação da emissão de cor. Alguns podem ajustar o comprimento de onda de emissão e alguns podem melhorar significativamente a eficiência quântica. A dopagem com heteroátomos aumenta muito a emissão da PL e o efeito sinérgico facilita a formação de intervalos de banda, resultando em uma alta eficiência quântica.

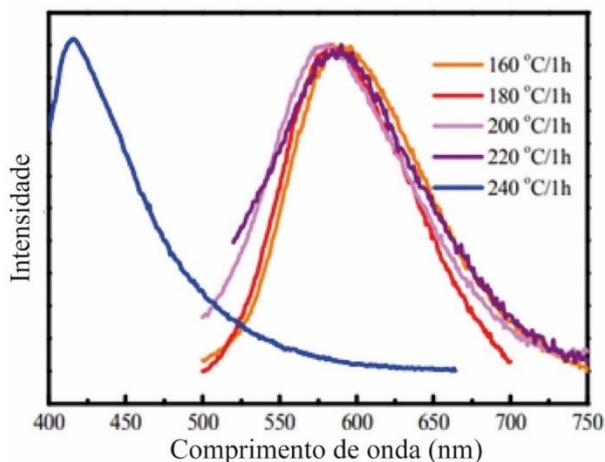
O método de dopagem com o F pode modular efetivamente a emissão de cor dos CDs. Zuo *et al.*<sup>87</sup> obteve CDs não dopados e CDs dopados com F. O primeiro pode emitir fluorescência em 500 nm, enquanto o último mostra uma grande fluorescência com desvio para o vermelho em 550 nm. A eficiência quântica dos CDs foi de 28%. Após ser dopado com o F, os F-CDs apresentaram uma eficiência quântica superior de 31%. F-CDs podem ser usados como uma nova sonda para imageamento celulares eficientes de uma variedade de células normais e células cancerosas.

A dopagem de elementos metálicos também pode modular a emissão de cor, eficiência quântica e o tempo de vida de decaimento dos CDs até certo ponto<sup>88; 89</sup>. CDs emissores de amarelo (Mn-CDs) foram sintetizados usando ureia, acetato de manganês e tolueno por Zhang *et al.*<sup>90</sup> Comparado com CDs sem o Mn, os Mn-CDs têm uma extensão aumentada de domínios  $\pi$  conjugados e estado de superfície, e seu comprimento de onda de emissão foi desviado para o vermelho.

### ***2.3 Efeitos da Temperatura nos Pontos Quânticos de Carbono***

A temperatura é um dos fatores que influencia diretamente na PL. Um dos processos para a alteração nos CDs é a mudança na temperatura durante o processo de síntese. O tempo de exposição à temperatura também influencia diretamente a mudança na PL. Chen *et al.*<sup>37</sup> mostraram a preparação de CDs alterando a temperatura de síntese de 160 °C até 240 °C, com o mesmo tempo de exposição, e o espectro de PL desloca do laranja para o azul, como pode ser observado na figura 2.4. Os resultados sugeriram que as emissões no laranja e no azul se originaram de diversos estados emissores individuais, ou seja, estados de defeito relacionados ao N e O na superfície dos CDs, respectivamente.

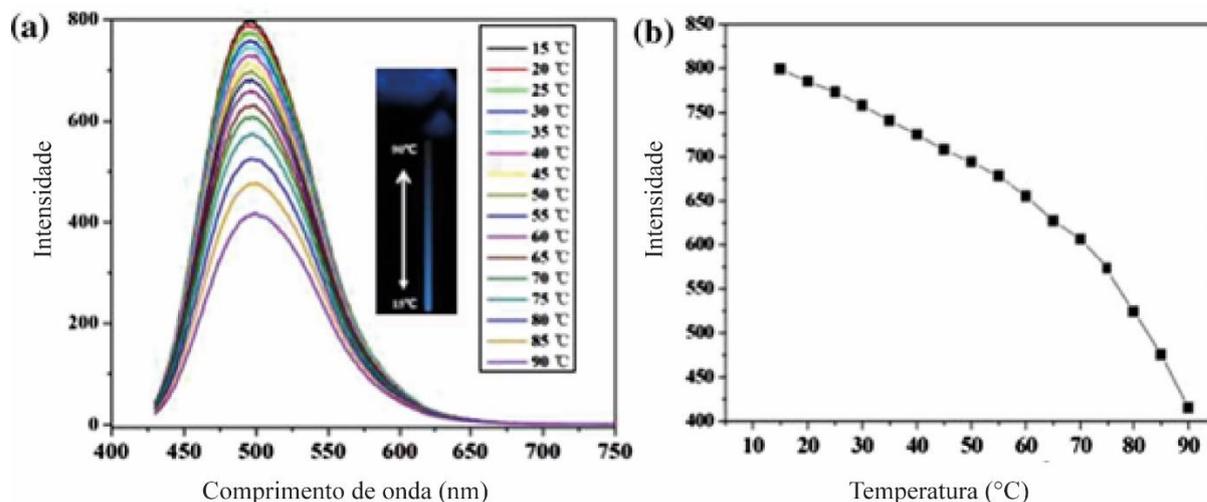
**Figura 2. 4:** Espectros de PL de CDs obtidos por reação solvotérmica em diferentes temperaturas por 1h.



**Fonte:** Imagem adaptada pelo autor<sup>37</sup>.

Diversos estudos mostram a alteração da PL pós-síntese. Wang *et al.*<sup>34</sup> realizaram um estudo em CDs que seguem um tratamento hidrotérmico de controle da glicose (glc) na presença de glutathione (GSH), onde variou a temperatura de 15 °C até 90 °C. Notou-se que com o aumento da temperatura, a intensidade da PL diminuiu cerca de 52% (figura 2.5a). Os espectros de emissão dos CDs preparados não mudam dentro da janela de temperatura investigada. A figura 2.5b mostra que com o aumento da temperatura de 15 °C para 60 °C, a intensidade da PL dos CDs preparados muda quase linearmente. Também é observado um padrão de mudança de cor do gradiente de temperatura. As variações encontradas com o aumento da temperatura, foram associadas ao aumento do diâmetro dos CDs, que passa de 2,6 nm em temperatura ambiente para 4,4 nm, o que causou uma diminuição da intensidade da fluorescência.

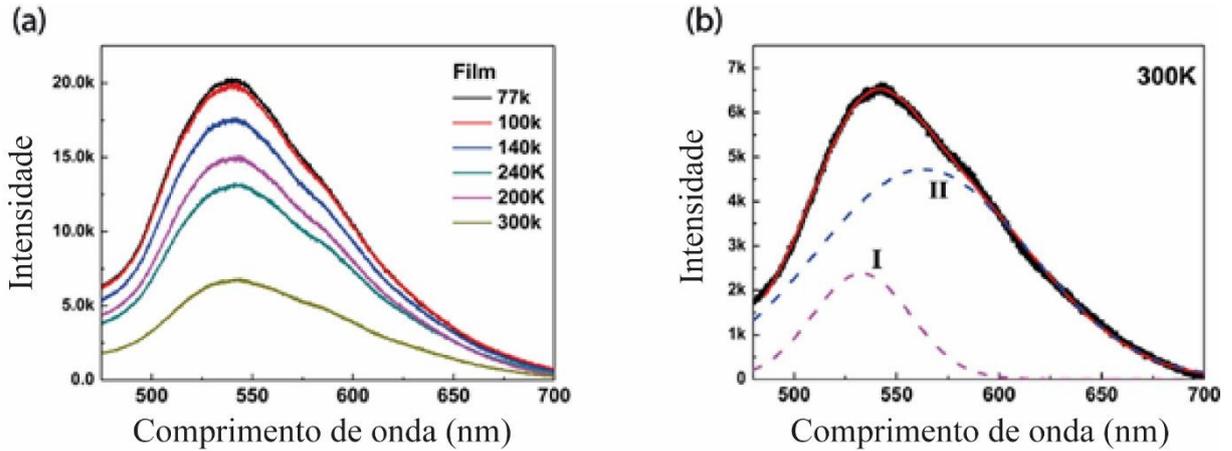
**Figura 2. 5:** (a) Espectros de emissão de fluorescência (excitada em 400 nm) para temperaturas diferentes entre 15 °C e 90 °C (de cima para baixo); (b) *Plot* da intensidade da PL *versus* temperatura.



**Fonte:** Imagem adaptada pelo autor<sup>34</sup>.

A utilização de um modelo teórico integrando a temperatura é essencial para entender o que ocorre com a PL. Yu *et al.*<sup>29</sup> realizaram medições de CDs independentes da excitação variando a temperatura de 77 K até 300 K. As bandas duplas de fluorescência foram observadas e atribuídas à emissão do núcleo e dos estados da superfície. As bandas duplas exibiram um efeito de temperatura semelhante, notando-se que a intensidade diminuiu com o aumento da temperatura (figura 2.6a). A energia de emissão é bem ajustada por duas gaussianas (figura 2.6b) pela equação de O'Donnell e Chen<sup>91</sup>, com base em uma análise do mecanismo de acoplamento éxciton-fônon. No entanto, com um fator de Huang-Rye<sup>92</sup> muito baixo, o acoplamento éxciton-fônon é considerado muito fraco comparado aos pontos quânticos (QD, do inglês, *Quantum Dots*) de semicondutores, onde os CDs se assemelham a nanopartículas de ouro. As interações elétron-fônon mais fracas, por sua vez, resultam em uma largura de banda dependente da temperatura. Isso indica que os CDs exibem um comportamento de temperatura semelhante à nanopartículas metálicas.

**Figura 2. 6:** (a) Fluorescência em função da temperatura entre 77 K e 300 K. (b) Ajuste do espectro de fluorescência por duas gaussianas.



Fonte: Imagem adaptada pelo autor<sup>29</sup>

#### 2.4 Equação para o Gap de energia e para Largura de Banda

Um parâmetro muito usado para se descrever os materiais é a temperatura. Existe várias abordagens que tratam dessa relação; uma delas é a equação semi-empírica de Varshni<sup>93</sup>. Essa equação mostra a dependência da temperatura de intervalos de banda de semicondutores. A relação é escrita como:

$$E_g(T) = E_g(0) - \alpha \frac{T^2}{(T+\beta)} \quad (2.4)$$

onde  $E_g(0)$  é o intervalo em 0 K,  $\alpha$  é o coeficiente de temperatura e  $\beta$  é um parâmetro relacionado à temperatura de Debye. Porém, essa equação se mostrou pouco precisa quando ajustada para certos parâmetros, como foi demonstrado por Monoogian e Leclerc<sup>94</sup>.

Assim, O'Donnell e Chen desenvolveram uma expressão melhorada que hoje em dia é muito usada para descrever a dependência da temperatura de gap de energia em pontos

quânticos. Ela se baseia na análise de acoplamento elétron-fônon responsável pelo deslocamento do gap de energia<sup>91</sup>. A equação é expressa por:

$$E_g(T) = E_g(0) - \frac{2S\langle h\omega \rangle}{\exp\left(\frac{\langle h\omega \rangle}{K_B T}\right) - 1} \quad (2.5)$$

onde  $S$  é o fator de Huang que representa a força do acoplamento éxciton-fônon (quanto maior o fator de Huang, mais forte é o acoplamento),  $\langle h\omega \rangle$  é a média da energia fonônica e  $K_B$  é a constante de Boltzmann.

Além da relação com o gap de energia, estudos anteriores mostraram que a mudança na largura da banda de emissão causada pela temperatura pode ser separada em partes não homogêneas e homogêneas<sup>95</sup>. O alargamento não homogêneo se origina das flutuações de tamanho, forma e composição e é independente da temperatura. Por outro lado, o alargamento homogêneo é dependente da temperatura e está relacionado ao espalhamento de éxcitons por fônons acústicos e ópticos<sup>96</sup>. A equação geral é descrita por:

$$\Gamma(T) = \Gamma_0 + \sigma T + \Gamma_{LO} \left( \exp\left(\frac{E_{LO}}{K_B T}\right) - 1 \right)^{-1} + \alpha \exp\left(\frac{E_s}{K_B T}\right) \quad (2.6)$$

onde  $\Gamma_0$  (espalhamento elétron-elétron) é o termo intrínseco independente da temperatura (não homogêneo) e os três últimos termos representam termos dependentes da temperatura (homogêneos) devido ao espalhamento de fônons acústicos e ópticos,  $\sigma$  é o coeficiente de acoplamento fônon elétron-acústico,  $\Gamma_{LO}$  representa a força do acoplamento éxciton - LO do fônon,  $E_{LO}$  é a energia do fônon LO,  $\alpha$  é a largura de banda devido à dispersão de impurezas/defeitos totalmente ionizada,  $E_s$  é a energia de ativação para ionização e  $\alpha$  é a largura de linha devido à dispersão de impurezas totalmente ionizada. Devido à dependência diferente dos termos com a temperatura, os fônons acústicos desempenham um papel dominante em baixa temperatura, enquanto os fônons ópticos contribuem em temperaturas mais altas<sup>96; 97</sup>.

## 2.5 Pontos Quânticos de Carbono na Aplicação de Bioimagens Fluorescentes

As células, suas organelas e biomoléculas podem ter fluorescência intrínseca (autofluorescência)<sup>98</sup>. No entanto, na maioria das estruturas de interesse na pesquisa clínica e biomédica, essa autofluorescência é inespecífica e fraca, e desse modo, imagens de baixo contraste são obtidas<sup>98; 99</sup>. Existem, atualmente, vários marcadores fluorescentes com alta especificidade e seletividade no mercado que permite estudar estruturas e acompanhar fenômenos bioquímicos. Ao escolher um marcador ideal para imagens ou aplicações analíticas, as propriedades ópticas e físico-químicas têm muita relevância<sup>98; 99</sup>.

Os marcadores fluorescentes podem apresentar as mais variadas composições químicas e estruturais. Podemos agrupá-los em três categorias distintas: fluoróforos orgânicos, nanopartículas fluorescentes e proteínas e peptídeos fluorescentes<sup>98; 99</sup>.

**Fluoróforos orgânicos:** Os fluoróforos orgânicos são moléculas geralmente constituídas por vários anéis aromáticos. A massa molecular dos fluoróforos pode variar bastante, porém suas dimensões são inferiores a 0,5nm. Eles podem formar ligações covalentes ou não-covalentes com o material que se deseja marcar e podem ainda ser conjugados com outros marcadores (outros fluoróforos, nanopartículas ou proteínas fluorescentes) ou com pequenas moléculas (aminoácidos, açúcares) para formar complexos altamente específicos e seletivos. A formação destes complexos pode resultar numa maior estabilidade química, no aumento de intensidade de fluorescência de emissão. Entretanto, apesar de serem utilizados para marcação fluorescente, os fluoróforos orgânicos têm algumas limitações, destacando-se sua tendência para degradação com a luz (do inglês, *photobleaching*), baixa solubilidade em meio aquoso e frágil estabilidade química<sup>98; 99</sup>.

**Proteínas e peptídeos fluorescentes:** A descoberta de proteínas fluorescentes naturais, como a *Green Fluorescent Protein* (GFP), foi um marco que impulsionou importantes progressos em microscopia de fluorescência e no desenvolvimento de técnicas de correlação analíticas que são de importância capital no estudo de processos bioquímicos intracelulares e em vários sinais biológicos complexos. As proteínas fluorescentes abrangem uma vasta gama do espectro visível, possibilitando a obtenção de sinais multicolor fazendo uso de mais do que uma proteína na marcação, além de poderem ser expressos em praticamente todos os tipos de células. Além da GFP e das suas derivadas, existem outras proteínas fluorescentes expressas na natureza,

nomeadamente em organismos marinhos e respectivas proteínas derivadas da manipulação genética<sup>100</sup>. As principais aplicações destas proteínas incluem a monitorização de proteínas, biossensores, monitorização de funcionalidades bioquímicas em proteínas e marcação para visualização em microscopia. No entanto, as aplicações das proteínas fluorescentes estão condicionadas por algumas limitações da foto-estabilidade, rendimentos quânticos de fluorescência relativamente baixos e fraca eficácia de emissão no vermelho<sup>99</sup>.

**Nanopartículas fluorescentes:** As nanopartículas fluorescentes são geralmente de simetria esférica e exibem propriedades ópticas e químicas excepcionais<sup>101</sup>. Os tradicionais nanocristais semi-condutores, os pontos quânticos (do inglês *quantum dots*, QDs) e nanopartículas metálicas são as mais conhecidas e estudadas e, também, com maior número de aplicações. Em comparação aos fluoróforos orgânicos apresentam algumas vantagens essenciais como maior foto-estabilidade, maior gama de absorção e maior biocompatibilidade em relação a determinados fluoróforos orgânicos. Os QDs têm excelentes propriedades ópticas como bandas de emissão ajustáveis com o tamanho, bastante simétricas e estreitas, acoplado à larga banda de absorção, confere-lhes uma vantagem significativa comparado a outros marcadores fluorescentes. Além disso, a funcionalização da superfície fornece aos QDs uma maior estabilidade química face aos fluoróforos orgânicos. Contudo, por conterem na sua constituição metais pesados como o Cd, a aplicação de QDs em sistemas biológicos está fortemente condicionada. Com efeito, a libertação de íons Cd<sup>2+</sup> resulta na elevada citotoxicidade associada a estas<sup>101</sup>. As nanopartículas metálicas fluorescentes exibem dimensões reduzidas e boa biocompatibilidade. Como tal, podem ser usadas para marcação de tecidos biológicos devido ao seu comportamento fotoquímico, pois apresentam-se como boas candidatas para aplicações biossensoriais *in vivo*. A funcionalização da superfície destas nanopartículas promove a sua especificidade de marcação. Ainda assim subsistem alguns problemas ao nível da foto-estabilidade<sup>101</sup>.

**Tabela 2. 1:** Comparação de características entre marcadores

Propriedades	Fluoróforos Orgânicos	QDs	Proteínas Fluorescentes	CDs
Pico de Emissão	UV – IR próximo <sup>98</sup>	Visível – IR próximo <sup>98</sup>	Visível <sup>98</sup>	Visível <sup>102</sup>
Deslocamento Stokes (nm)	Menor que 50 <sup>98</sup>	Até 100 <sup>98</sup>	10-50 <sup>98</sup>	50-250 <sup>103</sup>
Rendimento quântico de Fluorescência (%)	50 – 100 (Visível) 5-25 (IR próximo) <sup>98</sup>	10 – 80 (visível) 20 – (IR próximo) <sup>98</sup>	5-80 <sup>98</sup>	1-90 <sup>102</sup>
Solubilidade em água	Depende de grupos funcionais <sup>98</sup>	Requer modificação de superfície <sup>98</sup>	Sim <sup>98</sup>	Sim <sup>102</sup>
Dimensões (nm)	≈ 0,5 <sup>98</sup>	2-60 <sup>98</sup>	≈ 3 <sup>98</sup>	1-10 <sup>102</sup>

**Fonte:** Autor

Os CDs, por sua vez, além de serem mais baratos, possuem uma boa biocompatibilidade, alta eficiência quântica, solubilidade em água, etc, que quando comparados aos outros marcadores se faz superior em alguns aspectos<sup>102</sup>. A tabela 2.1 mostra algumas condições que os CDs podem ser superiores aos outros marcadores. Assim, temos um ótimo material para imageamento celular.

### 3 MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Nesse capítulo vamos abordar todos os métodos experimentais usados para analisar os CDs, além de realizar uma breve descrição do processo de cada método. O preparo para cada técnica usada é de extrema importância para que ocorra os processos observados no trabalho.

#### 3.1 *Preparação das Amostras*

A preparação da amostra para análise se deu em dois processos: no primeiro, os CDs ficaram suspensos em água, e no segundo, é feito um filme do material. Os dois processos são realizados de maneira similar.

##### 3.1.1 Síntese dos Pontos Quânticos de Carbono de Quitosana

A síntese dos Q-CDs foi feita pelo método hidrotérmico, o gel de quitosana foi utilizado como material precursor. Primeiramente, foram dissolvidos 0,5 g de quitosana sob agitação magnética por 30 minutos em 100 mL de uma solução de ácido acético glacial (10%), resultando em um gel de cor amarela. Um volume de 12 mL desse gel foi transferido para uma autoclave de aço inoxidável revestida com Teflon de 25 mL e aquecido à 180 °C por 6 h. Ao término da reação, a solução marrom-escura contendo os pontos quânticos de carbono foi naturalmente resfriada, centrifugada em alta velocidade (15.000 rpm) por 15 minutos e filtrada através de filtros de porosidade de 0,22 µm. Os Q-CDs obtidos foram armazenados à 4 °C para usos futuros<sup>31</sup>.

##### 3.1.2 Síntese dos Pontos Quânticos de Carbono de Cisteína

Pontos quânticos de carbono de cisteína (C-CDs) foram sintetizados por método hidrotérmico. 0,3 g de cisteína e 0,2 g de ácido cítrico foram adicionados a 10 mL de água destilada em uma autoclave de 25 mL revestida com Teflon. A autoclave selada com a mistura

orgânica foi transferida para uma mufla, aquecida à 200 ° C por 5 h. Em seguida, o produto foi resfriado naturalmente à temperatura ambiente, obtendo-se uma solução marrom-amarelada. 2 % de acetona foi adicionado ao produto e submetido à centrifugação à 12.000 rpm durante 8 minutos. A solução foi purificada por meio de filtro de 0,22 µm para remover partículas grandes<sup>104</sup>.

### 3.1.3 Síntese dos Pontos Quânticos de Carbono de Cloreto de Dansila

Pontos quânticos de carbono de cloreto de dansila (D-CDs) foram sintetizados com 10 mg (0,037 mmol) de cloreto de dansila, foram adicionados a 10 mL de água destilada em uma autoclave revestida com Teflon de 25 mL. O reator foi deixado em uma Mufla a 200 ° C por 4 h. O produto foi centrifugado à 13.000 rpm por 10 minutos para remover partículas grandes e, em seguida, filtrados em membrana de 20 µm<sup>105</sup>.

### 3.1.4 Avaliação de Citotoxicidade

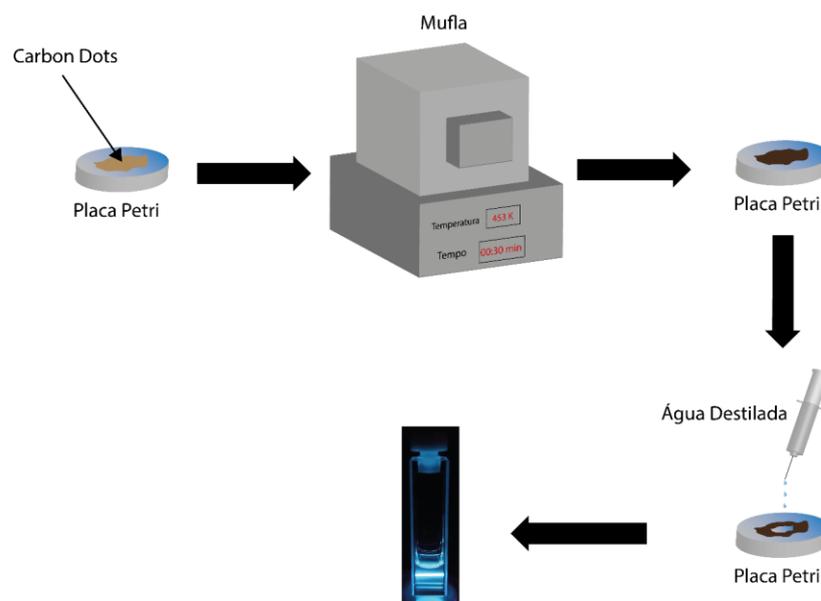
A citotoxicidade dos CDs preparados foi avaliada por um ensaio MTT na linha celular HTR-8/SVneo. Para isso, células HTR-8/SVneo foram plaqueadas em 1×10<sup>4</sup> células/poço e deixadas aderir por 24 horas. Posteriormente, foram adicionadas amostras de CDs diluídas em meio DMEM/F12 em diferentes concentrações, permanecendo por 24 horas. A solução foi substituída por meio de cultura fresco contendo 5 mg / mL de MTT e o sobrenadante foi descartado após um período de incubação de 4 h a 37 ° C, seguido da adição de 150 µL de DMSO. A absorvância do produto MTT dissolvido foi medida num espectrofotômetro a 540 nm. A porcentagem de viabilidade foi determinada em relação aos controles [(absorbância das células tratadas / absorbância das células não tratadas) × 100].

### 3.1.5 Microscopia de fluorescência para captação celular de CDs

A captação de CDs pelas células HTR-8/SVneo foi avaliada por microscopia de fluorescência. As células foram semeadas a  $2 \times 10^4$  por poço, sobre laminulas de vidro e cultivadas a  $37^\circ\text{C}$  com 5% de  $\text{CO}_2$ . As células foram incubadas com os C-CDs a 303 K ( $50 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) e 453 K ( $300 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) e D-CDs a 303 K ( $200 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) e 453 K ( $200 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) por 24 horas. Além disso, as células foram fixadas em paraformaldeído 4% (PFA 4%) em tampão fosfato salino (PBS, v/v) por 15 min. Os núcleos foram corados com 4', 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI; 1: 1000 em PBS; Merck/Sigma-Aldrich), posteriormente lavados com PBS e montados com PBS/glicerol (1: 9, v / v) sob lâminas de vidro. Os resultados foram visualizados em um microscópio de fluorescência Nikon DS-Ri1 (Nikon, Japão), e as imagens adquiridas com aumento de 100x com o software DP2-BSW (Nikon).

### 3.1.6 Preparação dos Pontos Quânticos de Carbono em Suspensão

**Figura 3. 1:** Esquema de preparação para os CDs em suspensão.



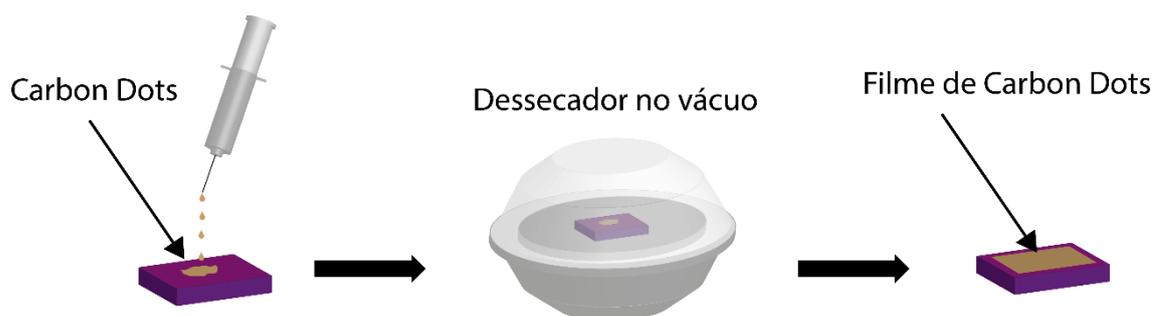
**Fonte:** Autor.

Para os CDs em suspensão foram feitas duas amostras diferentes: uma que foi aquecida até 303 K, e a outra que foi aquecida até 453 K. Para a preparação, foram inseridos 200  $\mu\text{L}$  de solução de CDs em uma placa de Petri e aquecidos em uma mufla com temperatura apropriada (303 K ou 453 K). Após o período de 30 minutos, depois de terem atingido a temperatura desejada, os CDs foram removidos em um estado solidificado. Por fim, 2 mL de água destilada foram utilizados para solubilizar os CDs no estado sólido. A figura 3.1 ilustra os passos da preparação.

### 3.1.7 Preparação dos Filmes de Pontos Quânticos de Carbono

Para o preparo dos filmes, foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  de solução de CDs em um substrato de silício. Após 15 minutos em uma dessecadora em vácuo, um filme de CDs é formado, como pode ser visto na figura 3.2. Para as medidas de AFM, foi necessário a utilização de um substrato de MICA. Para o seu preparo, foi realizado o mesmo procedimento experimental que para o substrato de silício.

**Figura 3. 2:** Esquema de preparação do filme de CDs.



**Fonte:** Autor.

### 3.1.8 Calculo para o Rendimento Quântico (QY)

Para cálculos de QY, foi usado sulfato de quinina como padrão. A absorvância foi mantida abaixo de 0,1 (para evitar desvio da linha de absorvância e da concentração molar), com comprimento de onda de excitação de 320 nm. As análises foram realizadas em uma cubeta de 10 mm para minimizar os efeitos da reabsorção. A intensidade de fotoluminescência integrada foi calculada como a área sob a curva PL na faixa de comprimento de onda de 340 a 600 nm. Os resultados foram plotados com intensidade integrada da fotoluminescência vs absorvância, para obter a inclinação da curva para os CDs e o padrão. As inclinações do gráfico de linha foram usadas para calcular QY usando a seguinte expressão:

$$\Phi_{CD} = \Phi_{std} \left( \frac{\text{Grad}_{CD}}{\text{Grad}_{std}} \right) \left( \frac{\eta_{CD}^2}{\eta_{std}^2} \right) \quad (3.1)$$

onde o índice std denota o padrão (sulfato de quinina) e CD os CDs.  $\Phi$  é o QY, Grad é o gradiente da análise de regressão linear e  $\eta$  é o índice de refração. O índice de refração do solvente usado para CDs (água) é igual a 1,33. O QY de sulfato de quinina foi considerado como 0,54 e o índice de refração da solução, preparado em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 M, foi considerado como 1,33.

### 3.2 Técnicas Utilizadas

Nessa seção iremos abordar as técnicas utilizadas, que foram: espectroscopia de fluorescência, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, espectroscopia de absorção, microscopia de força atômica, microscopia eletrônica de transmissão e espectroscopia de raios X por dispersão em energia. Veremos todos os conceitos das técnicas utilizadas e os equipamentos utilizados para cada tipo de técnica.

### 3.2.1 Espectroscopia de Fluorescência

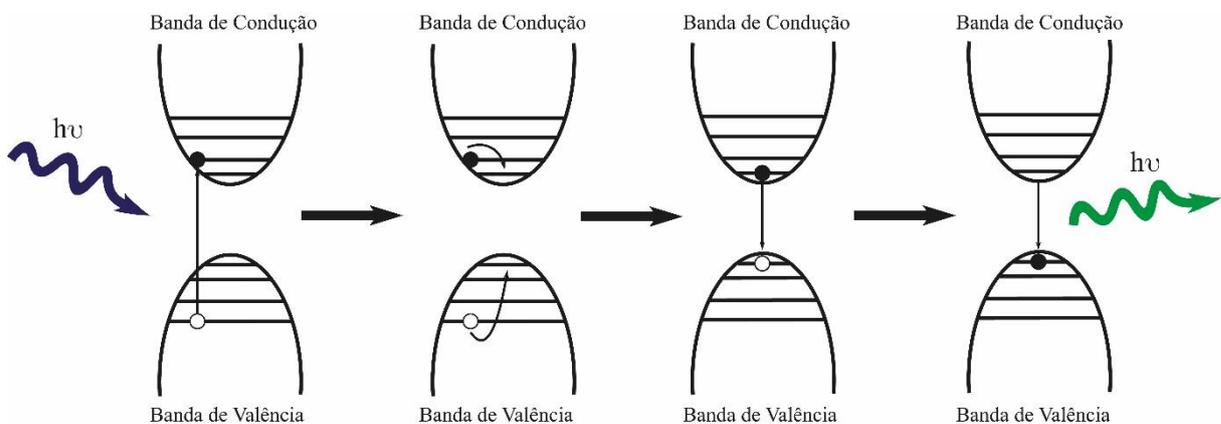
A espectroscopia de fluorescência, é um tipo de espectroscopia eletromagnética a qual analisa a fluorescência de uma amostra. Isto envolve o resultado da absorção de energia radiante e emissão de parte desta energia na forma de luz de baixa energia, normalmente, mas não necessariamente luz visível<sup>106</sup>.

Um feixe luminoso é composto por pacotes discretos de energia, caracterizados por consistirem em partículas denominadas fótons. A frequência da onda é proporcional à magnitude da energia da partícula. Como os fótons são emitidos e absorvidos por partículas, eles atuam como transportadores de energia<sup>36</sup>. A energia de um fóton é calculada pela equação de Planck-Einstein:

$$E = h\nu \quad (3.2)$$

onde  $E$  é a energia,  $h$  é a constante de Planck e  $\nu$  é a frequência.

**Figura 3. 3:** Um fóton excitando um elétron e promovendo-o à banda de condução, elétrons e buracos relaxando para seus mínimos de energia e reemissão de um fóton com energia igual à energia de gap de energia do material.

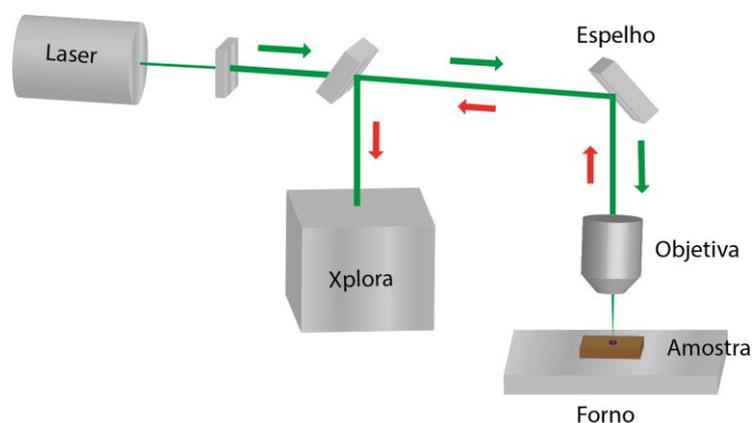


**Fonte:** Autor.

A fotoluminescência se refere à emissão de luz de um material após ser excitada por uma fonte luminosa. Usualmente os estudos utilizam fontes de luz monocromáticas, tais como *lasers* e lâmpadas. O processo de fotoluminescência ocorre quando um fóton interage com a matéria, podendo fornecer energia aos elétrons presentes no material, fazendo assim com que os elétrons passem da banda de valência para banda de condução. No entanto, para que esta interação ocorra é necessário que a energia do fóton seja igual ou superior à energia de gap de energia (espaçamento energético entre banda de valência e banda de condução,  $E_g$ ) do material<sup>107</sup>.

Ocorrendo a excitação, os elétrons vão para banda de condução e deixam buracos na banda de valência. Esses elétrons e buracos tendem a relaxar para seus mínimos de energia, que no caso do elétron é o menor nível da banda de condução, e para os buracos é a maior energia da banda de valência. Após a relaxação, a qual pode criar fônons na rede (energia não radiativa), os elétrons e buracos se recombinam reemitindo fótons com energia igual à energia de gap de energia do material (por causa da conservação de energia), ou com energia menor no caso de recombinações via estados presentes no meio do gap de energia gerados por impurezas, defeitos. A figura 3.3 mostra como esse processo é feito. Os fótons emitidos pelo material formam a luminescência, a qual é chamada de fotoluminescência quando obtida por excitação luminosa<sup>107</sup>.

**Figura 3. 4:** Montagem experimental para obtenção dos espectros de PL do Xplora (Horiba).



Para as medidas de fluorescência, foi utilizado um espectrômetro Xplora (HORIBA), equipado com um *laser* de 532 nm e lente objetiva de 10× (NA = 0.3 e WD 17.5 mm), onde foi acoplado um aquecedor (estágio quente e frio do INSTEC) para variar a temperatura, como ilustra a figura 3.4. As medidas foram realizadas com o filme de CDs em substrato de silício e os espectros foram coletados durante o aquecimento da amostra de 303 K a 453 K. Cada temperatura era fixada em um tempo de 15 minutos para que a amostra estivesse em equilíbrio térmico. Após o primeiro aquecimento, a amostra foi resfriada à temperatura ambiente. O processo descrito acima foi repetido.

Outra técnica usada para fluorescência é a chamada Excitação por Fluorescência (PLE, do inglês, *Photoluminescence Excitation*). É usada em medições espectroscópicas em que a frequência da luz de excitação é variada e a luminescência é monitorada na frequência de emissão típica do material em estudo.

Para as medidas de PLE, foi usado um fluorímetro/fluorômetro Fluorolog (HORIBA) equipado com uma lâmpada de xenônio (CW 450 W), onde foram analisadas a fotoluminescência da suspensão de CDs à temperatura ambiente, utilizando um fotomultiplicador detector (modelo R928P).

### 3.2.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

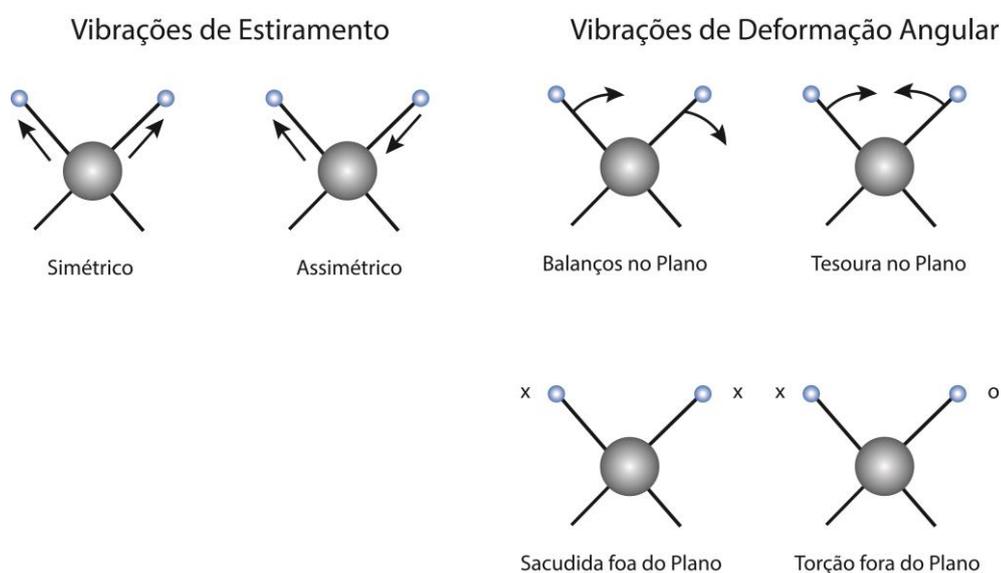
A Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR, do inglês, *Fourier Transform Infrared*) é uma técnica analítica que permite identificar os modos vibracionais de moléculas, a identificação de compostos puros e/ou detecção e identificação de impurezas. Esse tipo de identificação é feito a partir da capacidade que uma substância tem de absorver, transmitir ou refletir radiação na faixa de comprimento de onda do infravermelho<sup>108</sup>.

A região do Infravermelho (IR) é dividida em três partes, que recebem nomes de acordo com a sua proximidade do espectro visível. São elas: Infravermelho distante (200–10  $\text{cm}^{-1}$ ), Infravermelho médio (4000–200  $\text{cm}^{-1}$ ) e o Infravermelho próximo (12500–4000  $\text{cm}^{-1}$ ), sendo o infravermelho médio o mais usado para análise e identificação de materiais. Normalmente, nesse tipo de espectroscopia, é comum usar número de onda para descrever a radiação e a unidade mais comumente usada é o  $\text{cm}^{-1}$  ( $1/\lambda$ ).

Quando um átomo ou grupos de átomos são irradiados com radiação IR, faz com que as vibrações em torno das ligações covalentes que os unem vibrem com maior amplitude. Em um material sólido, o *quantum* de um modo de vibração da rede é chamado de fônon. Assim, um material só absorve radiação no infravermelho quando existe uma variação no momento de dipolo elétrico da molécula como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional, ou seja, quanto maior for a troca no momento dipolar de uma ligação, mais intensa será a respectiva absorção<sup>109</sup>.

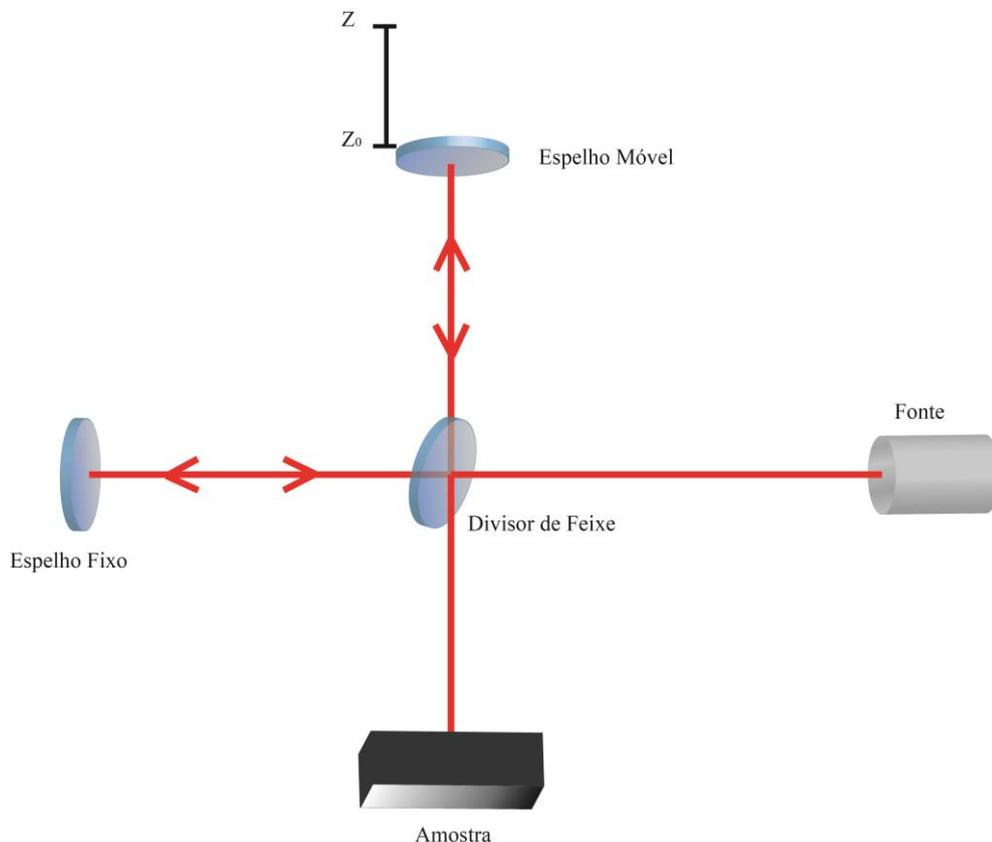
As vibrações moleculares são divididas em dois tipos: as deformações axiais ou estiramento e as deformações angulares. As vibrações de estiramento envolvem uma mudança contínua na distância interatômica ao longo do eixo da ligação entre os dois átomos, aumentando e diminuindo alternadamente, podendo ser de dois tipos: estiramento simétrico ( $\nu_s$ ) que provoca um movimento harmônico da distância interatômica e o estiramento assimétrico ( $\nu_{as}$ ) que provoca movimento desarmônico da distância interatômica. Já as vibrações de deformação angular são caracterizadas pela mudança do ângulo entre duas ligações e podem acontecer no plano ou fora do plano da molécula. São comuns quatro tipos de vibrações fundamentais de deformação angular: balanço (*rocking*), tesoura (*scissoring*), sacudida (*wagging*) e torção (*twisting*)<sup>108; 109</sup>. A figura 3.5 demonstra esses tipos de vibrações.

**Figura 3. 5:** Tipos de vibrações moleculares (×: indica movimento para fora da página, •: indica movimento para dentro da página).



O FTIR tem como base o interferômetro de Michelson. O surgimento desses interferômetros se deu para superar as limitações dos instrumentos de dispersão tradicionais (como o processo de digitalização lenta) usados para obter espectros infravermelhos. O interferômetro produz um sinal com todas as frequências infravermelhas “codificadas”<sup>109</sup>. O interferômetro de Michelson é usado como um divisor de feixe, onde um espelho percorre uma distância fixa e o outro espelho percorre uma distância variável (Figura 3.6). Em um divisor de feixe, dois raios de luz são opticamente combinados, o que pode causar interferência construtiva (se em fase) ou destrutiva (se fora de fase). Quando o feixe de luz combinado passa pela amostra, ele será absorvido seletivamente, e um padrão de interferência (o sinal recebido pelo computador) será gerado de acordo com a quantidade de absorção presente. Este padrão de interferência é tratado por processo matemático, denominado transformada de Fourier, originando um espectro ou padrão de absorção da amostra, ou seja, seu espectro no infravermelho, que pode ser tanto de transmitância (T) quanto de absorbância (A).

**Figura 3. 6:** Esquema do Interferômetro de Michelson.



As medidas foram realizadas com os CDs em suspensão em temperatura ambiente. Para as medidas foi utilizado um espectrofotômetro de FTIR Modelo IRPrestige-21 (Shimadzu), na região de  $800\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ , com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ . As intensidades das bandas foram expressas em transmitância (%) com um acessório de reflectância difusa (DRS-8000).

### 3.2.3 UV-vis

Usando a equação de Planck-Einstein (3.1), conseguimos obter a energia da radiação na faixa visível. Essa energia irradiada nas moléculas pode resultar em mudanças na natureza eletrônica da molécula, ou seja, mudanças entre o estado fundamental e os estados excitados dos elétrons dentro do sistema. Como resultado, a espectroscopia UV-visível também é conhecida como espectroscopia eletrônica. Cada vez que uma molécula tem uma ligação, os átomos em uma ligação têm seus orbitais atômicos mesclados para formar orbitais moleculares que podem ser ocupados por elétrons de diferentes níveis de energia. Os orbitais moleculares do estado fundamental podem ser excitados para orbitais moleculares anti-ligantes<sup>110</sup>.

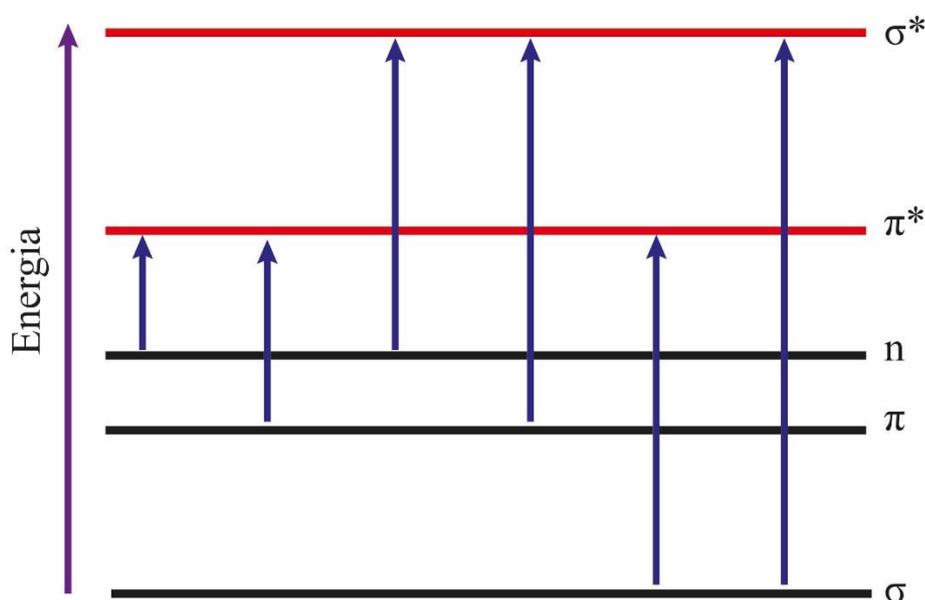
Os elétrons em uma molécula podem ser de um dos três tipos, a saber,  $\sigma$  (ligação simples),  $\pi$  (ligação múltipla) ou sem ligação (n- causada por pares solitários). Esses elétrons, quando transmitidos com energia na forma de radiação de luz, ficam excitados do orbital molecular mais ocupado (banda de valência) para o orbital molecular mais baixo desocupado (banda de condução) e a espécie resultante é conhecida como estado excitado<sup>110; 111</sup>.

A figura 3.7 mostra as transições eletrônicas entre os níveis de energia moleculares. Os elétrons de ligação  $\sigma$  têm o nível de energia mais baixo e são os elétrons mais estáveis, o que exigiria muita energia para ser deslocado para níveis de energia mais elevados. Como resultado, esses elétrons geralmente absorvem luz nos comprimentos de onda mais baixos da luz ultravioleta e essas transições são raras. Os elétrons da ligação  $\pi$  têm níveis de energia muito mais altos para o estado fundamental. Esses elétrons são, portanto, relativamente instáveis e podem ser excitados com mais facilidade e exigiriam menos energia para a excitação. Esses elétrons, absorveriam energia nas radiações de luz ultravioleta e visível. Já os n-elétrons ou elétrons sem ligação são geralmente elétrons pertencentes a pares solitários de átomos. Estes

têm níveis de energia mais elevados do que os elétrons  $\pi$  e podem ser excitados pela luz ultravioleta e visível também<sup>111</sup>.

A maior parte da absorção na espectroscopia ultravioleta-visível ocorre devido às transições  $\pi$ -elétrons ou n-elétrons; assim, cada estado eletrônico é bem definido para um sistema particular. A figura abaixo mostra as diferentes transições entre os estados eletrônicos de ligação e anti-ligação.

**Figura 3. 7:** Transições eletrônicas entre níveis de energia moleculares.



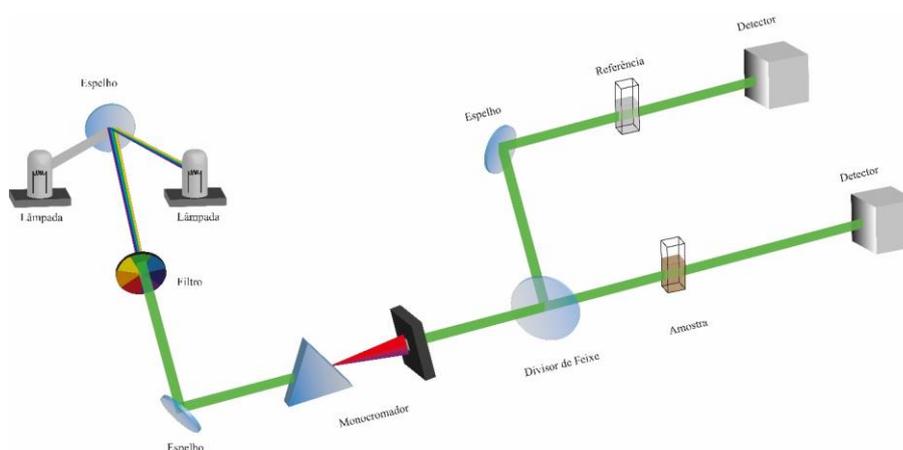
**Fonte:** Autor.

Quando uma amostra é exposta à energia luminosa que corresponde à diferença de energia entre uma possível transição eletrônica dentro da molécula, uma fração da energia luminosa seria absorvida pela molécula e os elétrons seriam promovidos ao estado orbital de maior energia. Um espectrômetro registra o grau de absorção por uma amostra em diferentes comprimentos de onda e o gráfico resultante de absorbância ( $A$ ) versus comprimento de onda ( $\lambda$ ) é conhecido como espectro<sup>110; 111</sup>.

A figura 3.8 mostra um diagrama dos componentes de um espectrômetro típico. O funcionamento deste instrumento é relativamente simples. Um feixe de luz de uma fonte de luz

visível e/ou UV (de cor vermelha) é separado em seus comprimentos de onda componentes por um prisma ou rede de difração. Cada feixe monocromático, por sua vez, é dividido em dois feixes de intensidade igual por um dispositivo meio espelhado. Um feixe, o feixe de amostra, passa por um pequeno recipiente transparente (cubeta) contendo uma solução do composto em estudo em um solvente transparente. O outro feixe, a referência, passa por uma cubeta idêntica contendo apenas o solvente. As intensidades desses feixes de luz são então medidas por detectores eletrônicos e comparadas.

**Figura 3. 8:** Diagrama dos componentes de um espectrômetro de UV-Vis.



**Fonte:** Autor.

As medidas foram realizadas com os CDs em suspensão. Estes foram colocados em uma cubeta de quartzo e as medições foram realizadas em temperatura ambiente. A caracterização foi realizada com um espectrômetro UV-3600 (Shimadzu).

### 3.2.4 Microscopia de Força Atômica (AFM)

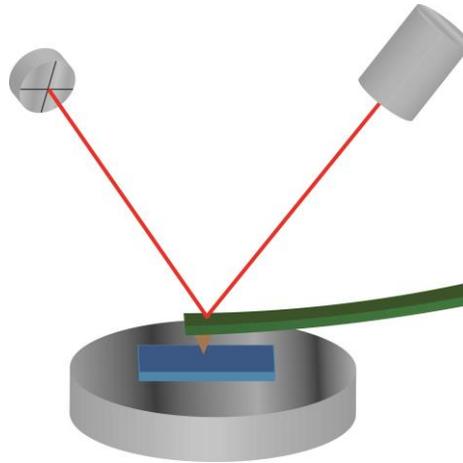
#### 3.2.4.1 *Modo de Funcionamento*

Em um microscópio óptico tradicional, o observador usa fótons ou elétrons para ver um objeto e a possibilidade de observar pequenos objetos são afetados por difração de radiação, desde que o tamanho do objeto inspecionado seja a mesma ordem de magnitude do comprimento de onda usado. Os efeitos de aberração é um fator prejudicial para os microscópios eletrônicos, pois prejudicam a qualidade das imagens obtidas em grandes ampliações, mesmo se o limite de difração não for atingido.

A técnica de AFM não depende da interação da matéria com a luz ou elétrons. O observador usa uma pequena sonda cuja ponta é muito afiada e se estende ao longo da superfície da amostra e muito perto dessa superfície. No AFM, a sonda pode estar em contato com a amostra, mas na maioria dos casos, a distância da sonda é muito pequena, cerca de alguns nanômetros. Com essas condições, a interação entre a sonda e os átomos ou moléculas da superfície gera uma força (especialmente a interações intermoleculares de Van der Waals) que pode ser medida<sup>112; 113</sup>.

Na microscopia de varredura por sonda, a interação dos átomos da superfície que estão abaixo e seus vizinhos é feita com a sonda (figura 3.9). Por essa razão, as imagens topográficas da amostra são geradas pela convolução de muitas contribuições, dos átomos da extremidade da sonda com os da superfície da amostra durante uma varredura. Cada imagem é formada por  $y$  linhas com  $x$  pontos em cada linha. Cada ponto da imagem é determinado pelas coordenadas  $x$ ,  $y$  e  $z$ , onde  $z$  é a altura. Portanto, a imagem de força atômica é tridimensional, por definição, diferente de uma micrografia ótica ou eletrônica, que é uma fotografia da projeção bidimensional da amostra<sup>113</sup>.

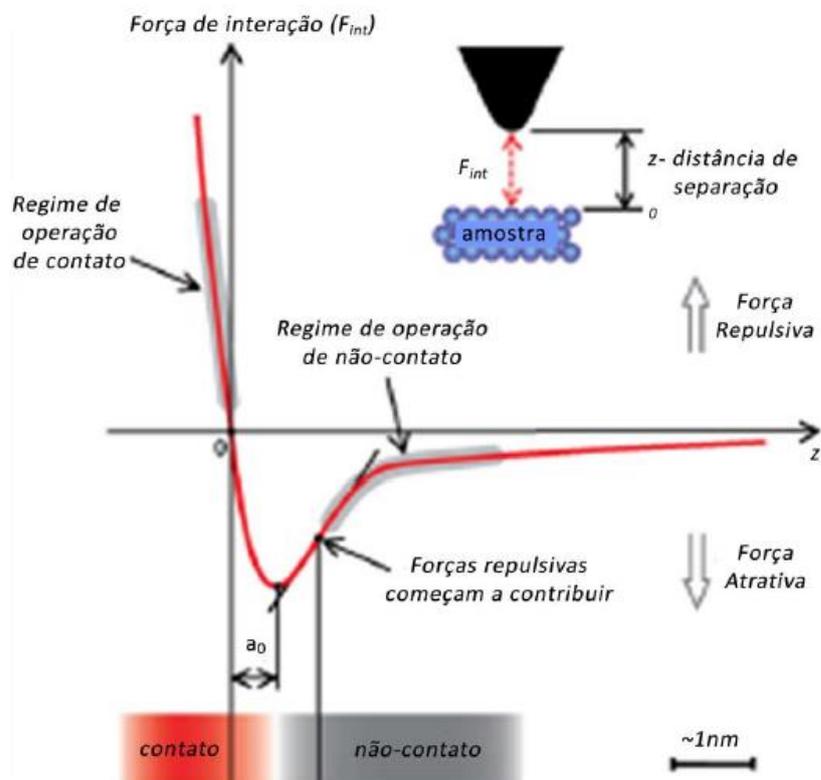
**Figura 3. 9:** Esquema ilustrativo do sistema de detecção por *laser* do AFM.



**Fonte:** Autor.

### 3.2.4.2 Forças de interação

**Figura 3. 10:** Esboço das forças de interação ponta-amostra.



**Fonte:** Adaptada pelo Autor<sup>14</sup>.

As forças que agem entre os sistemas microscópicos é a base de funcionamento desse microscópio. Assim, para entender o funcionamento do AFM vamos entender quais forças agem nele. A figura 3.10 mostra uma ilustração simplificada das forças de interação, como uma função da distância de separação  $z$  entre ponta e a amostra.

**Força de repulsão entre nuvens eletrônicas:** Quando dois átomos se aproximam, suas nuvens de elétrons penetram uma na outra, sobrepondo-se aos orbitais totalmente preenchidos. Assim, há um aumento da energia eletrostática total do sistema que origina uma contribuição repulsiva para a força de interação. Isso se dá, pois, de acordo com o princípio de exclusão de Pauli, dois elétrons de um mesmo átomo não podem ter todos os números quânticos iguais. O tipo de função descrita pela força de repulsão, que é de curto alcance, é  $F \propto 1/r^n$ , com  $n$  superior a 8. A maioria das imagens topográficas obtidas quando a ponta está em contato com a superfície são geradas devido ao efeito repulsivo dessa força, que se deve à sua forte dependência da distância, o que possibilita a obtenção de imagens com resolução atômica<sup>113; 114</sup>.

**Forças de van der Waals:** É uma interação dependente da distância entre átomos ou moléculas. Ao contrário das ligações iônicas ou covalentes, essas atrações não resultam de uma ligação química eletrônica; eles são comparativamente fracos e, portanto, mais suscetíveis a perturbações. A força de van der Waals desaparece rapidamente em distâncias maiores entre moléculas em interação. Seu alcance pode ser sentido a distâncias superiores a 10  $nm$ . São compostas por três contribuições distintas: interações tipo dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido e forças de dispersão ou forças de London<sup>113; 114</sup>.

### 3.2.4.3 Modos de operação

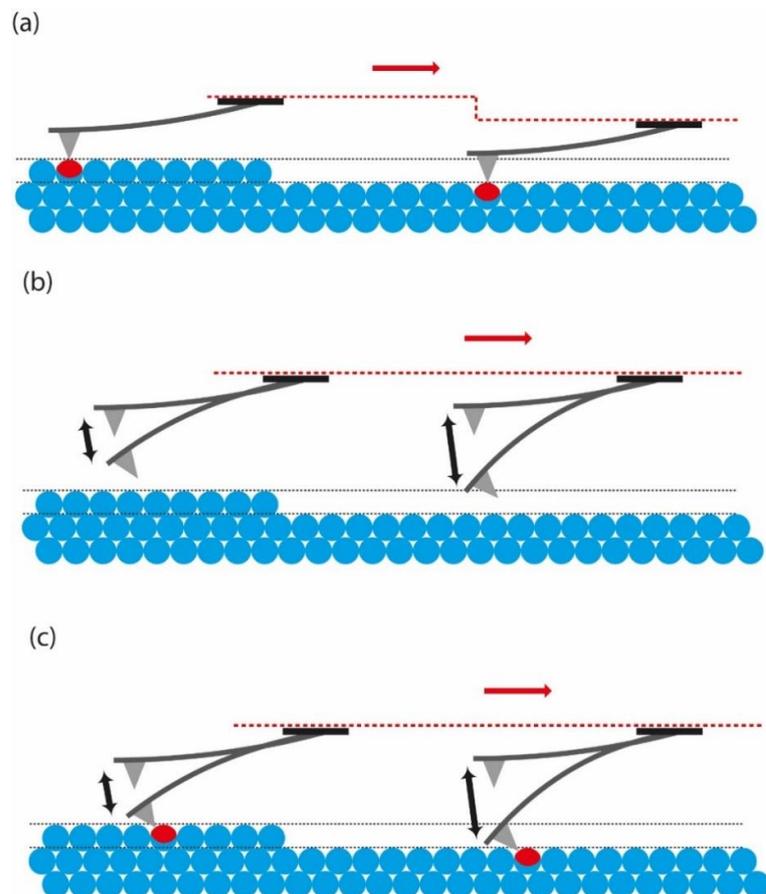
Para seu funcionamento, o AFM conta com três principais modos de operação diferentes: modo contato, modo não-contato e modo contato intermitente. Naturalmente, a força de interação entre a ponta e a superfície da amostra varia de acordo com o modo de operação em uso. Para melhor entender os modos de funcionamento, a figura 3.11 representa um diagrama das forças de interação entre a ponta e a superfície, onde as forças de van der Waals e de repulsão entre as nuvens eletrônicas são dominantes.

**Modo Contato (Estático):** Neste modo, assim como o próprio nome diz, o *cantilever* está sempre em contato com a superfície da amostra (figura 3.11a). Quando a ponta e a superfície da amostra se encontram em contato, a resultante das forças de interação responsável pela deflexão do *cantilever* é dada pela expressão

$$F = kz \quad (3.3)$$

onde  $F$  é a resultante das forças de interação,  $k$  é a constante elástica do *cantilever* e  $z$  é a deflexão.

**Figura 3.11:** (a) Modo de operação contato; (b) Modo de operação não-contato; (c) Modo de operação contato intermitente.



No modo de contato, a constante elástica do *cantilever* deve ser muito menor que a constante elástica do material a ser analisado, pois somente assim sua deflexão pode acompanhar toda a deformação da superfície analisada<sup>113; 114</sup>.

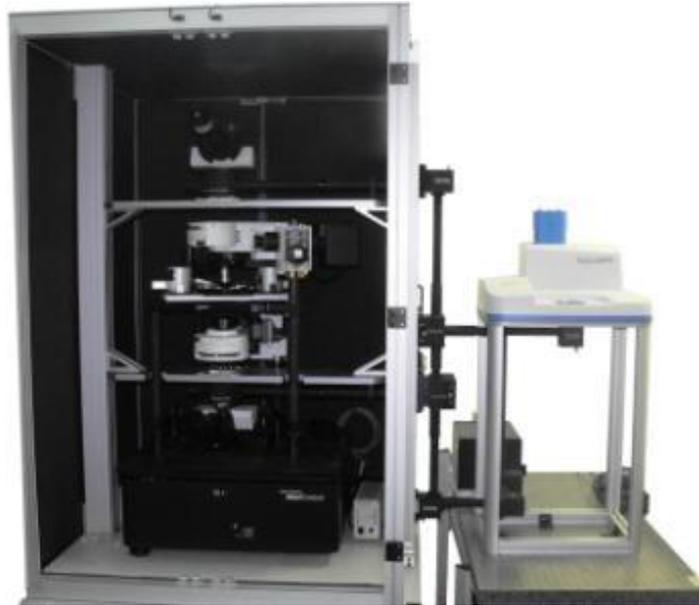
**Modo Não contato (Dinâmico):** Para esse modo, a ponta é mantida afastada da superfície, de modo que a principal força de interação seja de longa distância, como forças magnéticas ou eletrostáticas, assim como mostrado na figura 3.11b. O *cantilever* é forçado a vibrar, com o auxílio de um elemento piezelétrico, com uma frequência  $\omega_d$  próxima da sua frequência de ressonância  $\omega_0$ <sup>113</sup>.

**Modo contato Intermitente (Dinâmico):** Já para esse modo, o *cantilever* é forçado a oscilar em uma frequência próxima à sua frequência de ressonância, mas em contraste com o modo não contato, a ponta toca descontinuamente a superfície da amostra (figura 3.11c). A amplitude da vibração permanece constante; sempre que a ponta toca a amostra, a amplitude se desvia e é detectada como um sinal de *feedback*. Neste modo de operação, a ponta é menos sensível à ação capilar e à adesão, o que minimiza a torção do *cantilever* e elimina o atrito. Neste modo, a resolução das imagens topográficas, em particular de amostras de materiais moles, é melhorada. Este modo permite, em simultâneo com a obtenção da imagem topográfica, uma imagem de fase que dá informação sobre a adesão e rigidez da superfície da amostra, e assim, permite identificar diferentes materiais presentes na mesma<sup>113</sup>.

#### 3.3.4.5 Equipamento utilizado

Para as medidas, foi utilizado um filme de CDs no substrato de MICA. As imagens de AFM foram obtidas utilizando um microscópio de força atômica Multiview 4000™ (Nanonics), acoplado a um microscópio óptico BAXFM (Olympus) (figura 3.12). O sistema de AFM foi isolado acusticamente para reduzir interferências durante as medidas causadas pelo ruído do ambiente, e montado em uma mesa de amortecimento ativa para suprimir ruídos mecânicos. A topografia da amostra foi analisada (256 × 256 pixels) no modo contato intermitente com uma taxa de varredura de 0,3-1 Hz. O *software* WSxM<sup>115</sup> foi usado para processar as imagens.

**Figura 3. 12:** Equipamento utilizado para realização das medidas AFM.



Fonte: <http://www.nanonics.co.il/>

### 3.2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

Assim como no AFM a microscopia eletrônica de transmissão (do inglês transmission electron microscopy - TEM), é uma técnica que não utiliza luz para análise de imagens<sup>116</sup>. Teoricamente, a resolução máxima  $d$  que se pode obter com um microscópio de luz, foi limitada pelo comprimento de onda dos fótons ( $\lambda$ ) que estão sendo usados para sondar a amostra e a abertura numérica NA do sistema,

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \theta} \approx \frac{\lambda}{2NA} \quad (3.4)$$

onde  $n$  é o índice de refração do meio no qual a lente está trabalhando e  $\theta$  é o meio-ângulo máximo do cone de luz que pode entrar na lente. Cientistas do início do século XX propuseram um método teórico para usar elétrons para resolver a limitação do comprimento de onda relativamente grande da luz visível (comprimento de onda de 400-700 nm). Como toda matéria,

os elétrons têm propriedades de onda e partícula, e suas propriedades de onda significam que um feixe de elétrons pode ser focalizado e difratado da mesma forma que a luz<sup>116</sup>. O comprimento de onda dos elétrons está relacionado à sua energia cinética por meio da equação de de Broglie, que diz que o comprimento de onda é inversamente proporcional ao momento. Levando em consideração os efeitos relativísticos, o comprimento de onda é expresso por

$$\lambda_e = \frac{h}{\sqrt{2m_0E\left(1 + \frac{E}{2m_0c^2}\right)}} \quad (3.5)$$

onde  $h$  é a constante de Planck,  $m_0$  é a massa de repouso de um elétron e  $E$  é a energia cinética do elétron acelerado. Os elétrons são geralmente gerados em um microscópio eletrônico pelo processo de emissão termiônica de um filamento, geralmente tungstênio, da mesma maneira que uma lâmpada ou, alternativamente, pela emissão de elétrons de campo. Os elétrons são então acelerados por um potencial elétrico e focado por lentes eletrostáticas e eletromagnéticas na amostra<sup>116</sup>. O feixe transmitido contém informações sobre densidade, fase e periodicidade do elétron, e pode ser usado para formar uma imagem.

### 3.2.5.1 Componentes do TEM

O TEM possui vários componentes que se fazem necessário para realização de uma boa imagem em escala nanométrica. Esses componentes são:

**Sistema de Vácuo:** Para aumentar o caminho livre médio da interação do gás de elétron, um TEM padrão é evacuado para baixas pressões, normalmente da ordem de  $10^{-4}$  Pa. São duas as principais causas para se usar um sistema a vácuo: primeiro, a tolerância para a diferença de tensão entre o cátodo e o solo sem gerar um arco e, segundo, para reduzir a frequência de colisão de elétrons com átomos de gás à níveis desprezíveis.

**Porta-Amostras:** O porta-amostras de um TEM inclui eclusas de ar para permitir a inserção do suporte da amostra no vácuo com um aumento mínimo na pressão em outras áreas do

microscópio. Os fixadores da amostra são adaptados para manter um tamanho padrão de grelha sobre a qual a amostra é colocada ou um tamanho padrão de amostra auto-sustentável. O tamanho padrão da grelha de um TEM é um anel de aproximadamente 3 mm de diâmetro, com tamanho, espessura e malhas variando de alguns a 100  $\mu\text{m}$ . Os materiais mais comuns da grelha são cobre, molibdênio, ouro ou platina. Essa grelha é colocada no porta-amostras que está emparelhado com o porta-objeto da amostra.

**Canhão de Elétrons:** O canhão de elétrons é formado por vários componentes: o filamento, um circuito de polarização, uma capa Wehnelt, e um ânodo de extração. Ao ligar o filamento para o componente negativo da alimentação de energia, os elétrons podem ser “bombeados” do canhão de elétrons para a placa do ânodo, e coluna do TEM, completando assim o circuito. O canhão é projetado para criar um feixe de elétrons saindo do dispositivo em um determinado ângulo, conhecido como o semiângulo de divergência do canhão,  $\alpha$ . Ao construir o cilindro Wehnelt tal que tenha uma carga negativa maior do que o próprio filamento, os elétrons que saem do filamento de uma maneira divergente são, quando em bom funcionamento, forçados a um padrão convergente de tamanho mínimo que é o diâmetro cruzado do canhão.

**Lentes Eletrônicas:** As lentes eletrônicas são projetadas para atuar de uma maneira que emula as lentes óticas, por focar raios paralelos em uma distância focal constante. As lentes podem operar eletrostaticamente ou magneticamente. A maioria das lentes eletrônicas para TEM utilizam bobinas eletromagnéticas para gerar uma lente convexa. Para estas lentes, o campo produzido pelas lentes deve ser radialmente simétrico, como o desvio da simetria radial das lentes magnéticas causa aberrações tais como astigmatismo, aberração esférica e cromática.

**Aberturas:** Aberturas são placas metálicas anulares através das quais os elétrons que estão a uma distância fixa maior do eixo óptico podem ser excluídas. Estas são compostas por um pequeno disco metálico que é suficientemente espesso para impedir a passagem de elétrons através do disco, embora permita elétrons axiais. Esta permissão de elétrons centrais em um TEM provoca dois efeitos simultâneos: por um lado, aberturas diminuem a intensidade do feixe pelos elétrons que são filtrados do feixe, o que pode ser desejável, no caso das amostras sensíveis ao feixe; em segundo lugar, essa filtragem remove elétrons que estão espalhados em ângulos elevados, o que pode ser devido a processos indesejados, tais como a aberração esférica e cromática, ou devido à difração da interação dentro da amostra<sup>117</sup>.

### 3.2.5.2 Equipamento Utilizado

As medidas foram realizadas em um microscópio eletrônico JEM 2100 (JEOL), operando a uma tensão de aceleração de 200 kV (Figura 3.13). As soluções dos CDs foram descartadas em uma grade de cobre revestida em C com uma malha de 400 (Ted Pella Inc., Redding, CA, EUA) e secas sob condições ambientais.

**Figura 3. 13:** Equipamento utilizado para realização das medidas de TEM.



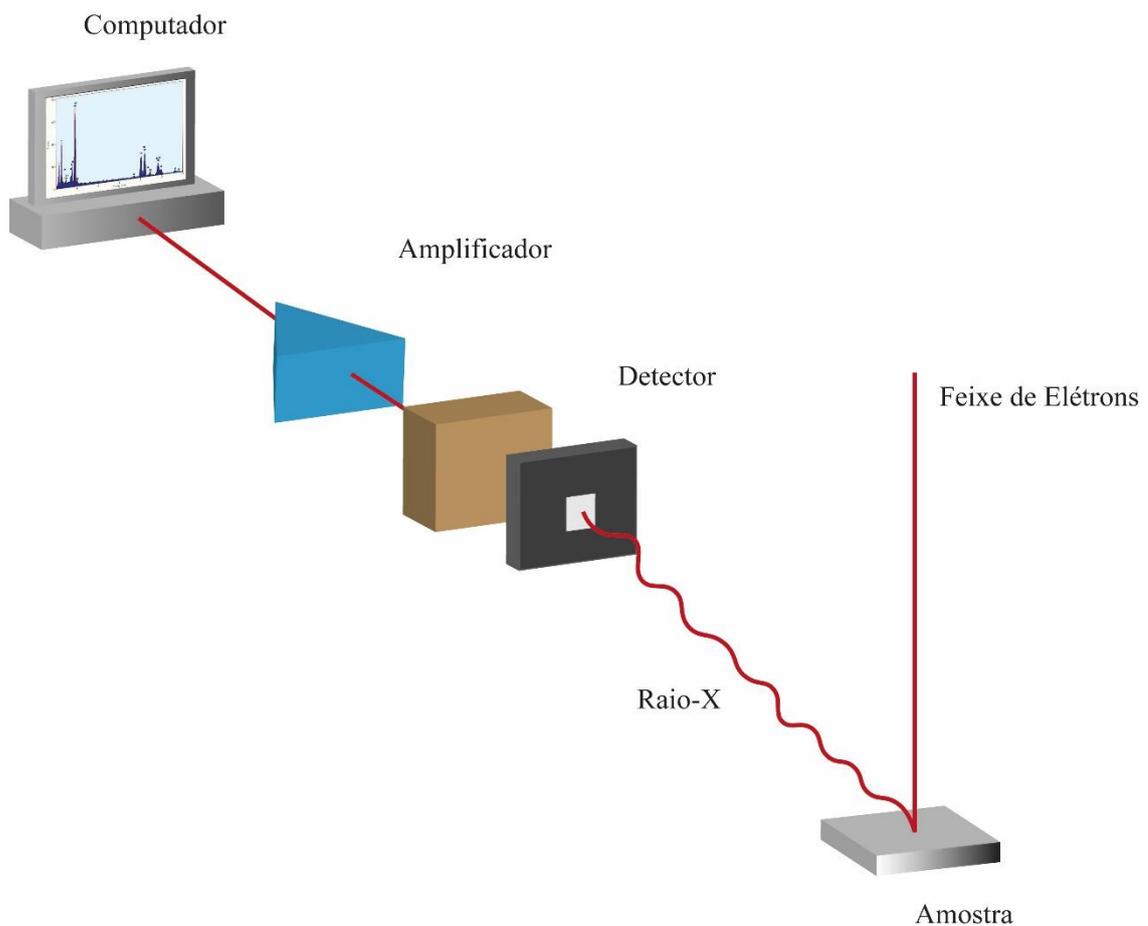
**Fonte:** <https://www.jeol.co.jp/en/>

### 3.2.6 Espectroscopia de raios-X de dispersão de energia (EDX)

A espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX, do inglês, Energy-Dispersive X-ray) é um método para caracterização analítica ou química de materiais. Os sistemas EDX são geralmente ligados a um instrumento de microscopia eletrônica, como microscopia eletrônica de transmissão (TEM) ou microscopia eletrônica de varredura (SEM). A análise de

EDX fornece um espectro que exibe os picos correlacionados à composição elementar da amostra investigada. Além disso, o mapeamento elementar de uma amostra pode ser criado com este método de caracterização<sup>118</sup>. Um esquema que descreve o método de espectroscopia EDX é mostrado na figura 3.14.

**Figura 3.14:** Equipamento utilizado para realização das medidas de EDX.

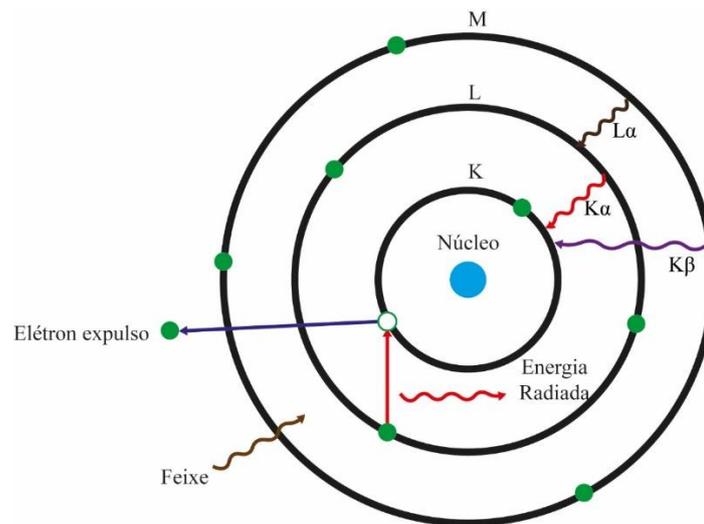


**Fonte:** Autor.

Quando uma amostra é irradiada com raios-X de um tubo de raios-X, os átomos na amostra geram raios-X exclusivos que são emitidos da amostra. Esses raios-X são conhecidos como raios-X fluorescentes e têm comprimento de onda e energia únicos que são característicos de cada elemento que os gera. Conseqüentemente, a análise qualitativa pode ser realizada investigando os comprimentos de onda dos raios-X. Como a intensidade dos raios-X

fluorescentes é uma função da concentração, a análise quantitativa também é possível medindo a quantidade de raios-X no comprimento de onda específico para cada elemento. A figura 3.15 mostra um exemplo de como o EDX funciona. As letras K, L e M referem-se ao valor  $n$  que os elétrons dessa camada têm (os elétrons K, mais próximos do núcleo, são  $n = 1$  elétrons), enquanto  $\alpha$  e  $\beta$  indicam o tamanho da transição. Os relaxamentos de M para L ou L para K são, portanto, descritos como  $L\alpha$  ou  $K\alpha$ , enquanto que ir de M para K seria uma transição  $K\beta$ <sup>118</sup>.

**Figura 3.15:** Mecanismo para EDX.



**Fonte:** Autor.

O equipamento utilizado para realizar as medidas de EDX foi o microscópio eletrônico de varredura SUPERSCAN SSX-550, com EDX integrado e estação de trabalho antivibração (Shimadzu). A os CDs em suspensão foram depositados sobre uma pastilha de silício para que haja menos interferência com a superfície.

#### **4. EFEITOS DA TEMPERATURA EM PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DOPADOS COM NITRÔGENIO A PARTIR DA QUITOSANA**

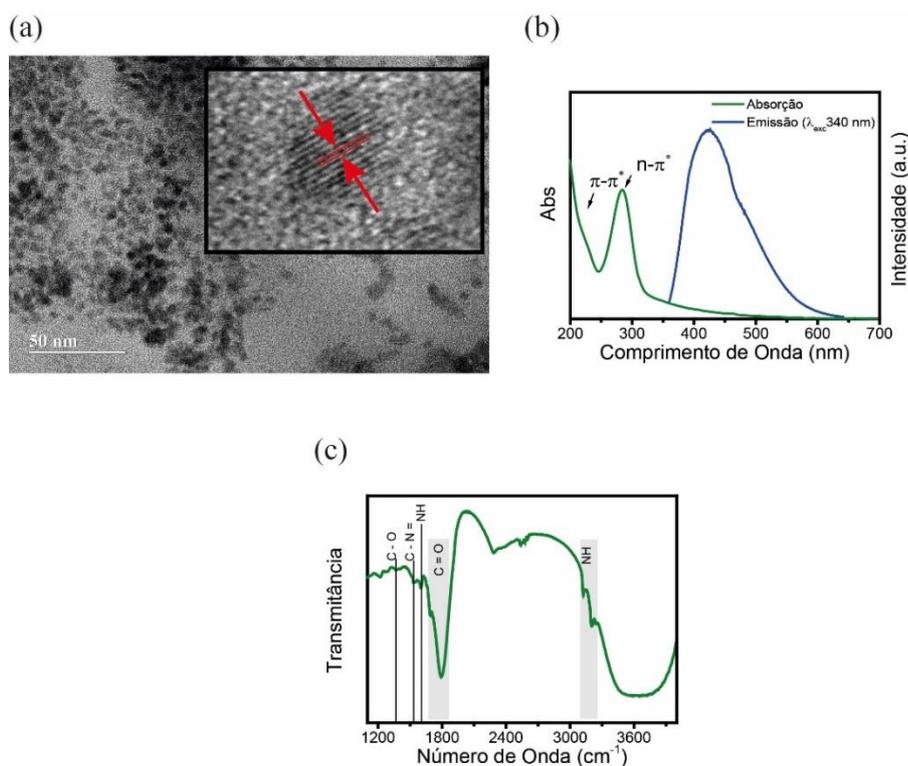
Hoje em dia, é amplamente esperado o uso de produtos químicos orgânicos do chamado conceito de química verde. As matérias-primas utilizadas nessas sínteses são geralmente materiais baratos e renováveis como suco de laranja, esterco de vaca, ovos de galinha, etc<sup>14; 66; 82</sup>. Uma matéria-prima muito usada na síntese de CDs é a quitosana. A quitosana é um biopolímero derivado da quitina, um composto orgânico abundante na natureza e que pode ser extraído do exoesqueleto de alguns crustáceos e insetos. Este material contém grandes quantidades de grupos funcionais amino ( $-NH_2$ ) e hidroxil ( $-OH$ ). Portanto, a síntese dos CDs a partir desse composto possui uma quantidade de nitrogênio (amina, nitrogênio piridínico ou nitrogênio pirrólico)<sup>31</sup>. Esses grupos funcionais contendo nitrogênio melhoram ainda mais as propriedades luminescentes, o que torna a quitosana uma matéria-prima interessante na síntese dessas nanoestruturas<sup>119</sup>.

No presente capítulo, pontos quânticos de carbono de quitosana amino-funcionalizados com bandas duplas de fluorescência e emissão dependente de excitação foram sintetizados via método hidrotérmico a partir da quitosana (Q-CDs). Aqui nosso estudo tem como objetivo compreender o efeito do tratamento térmico na emissão da PL, no espectro de absorção, na energia do gap de energia e no tamanho dos Q-CDs no estado sólido.

##### ***4.1 Síntese e Caracterização dos Pontos Quânticos de Carbono***

A microscopia eletrônica de transmissão foi utilizada para obter informações sobre a morfologia dos pontos quânticos de carbono sintetizados. As imagens obtidas mostram a morfologia quase esférica dos Q-CDs (figura 4.1a). Além disso, os Q-CDs exibiram padrão de difração com o espaçamento da rede de 0,22 nm, típico do plano de difração do carbono de grafite.

**Figura 4. 1:** (a) Imagem de Q-CDs no TEM em alta resolução, (b) Espectro de absorção e emissão dos Q-CDs e (c) Espectro de FTIR.



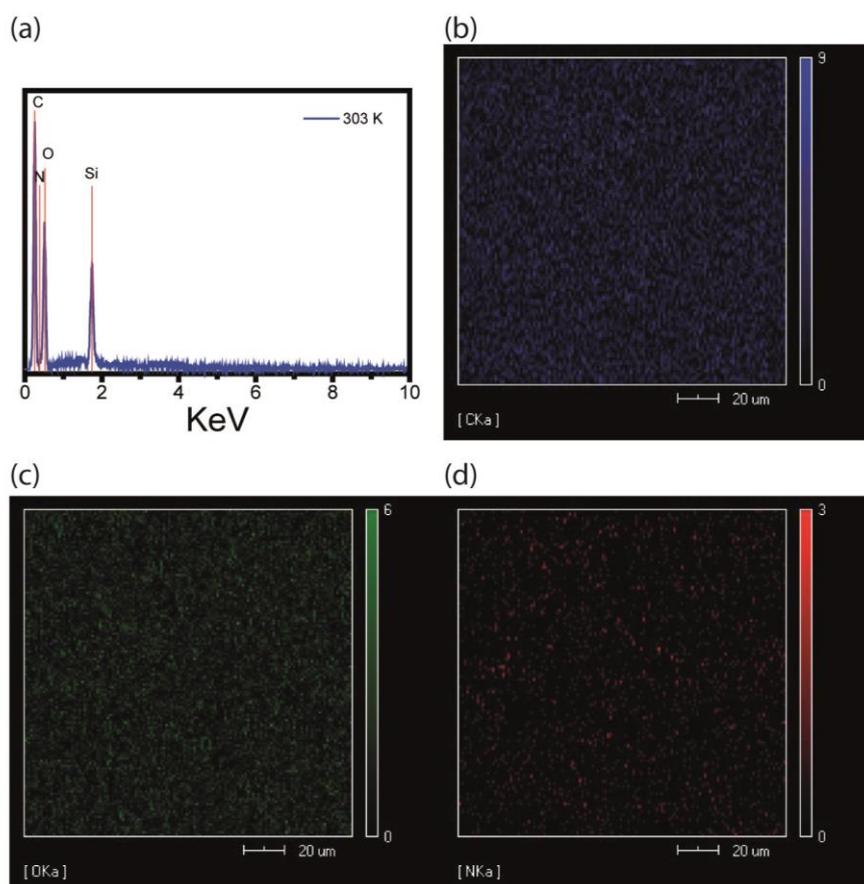
**Fonte:** Autor.

De acordo com estudos anteriores<sup>33; 39</sup>, o espectro de absorção apresenta uma banda de absorção típica localizada em 221 nm, que corresponde à transição  $\pi - \pi^*$  do núcleo carbogênico. Já o pico em 285 nm corresponde à ligação  $n - \pi^*$  da região do estado da superfície, que pode se originar de grupos carbonil ou carbonil conjugado, associados ao material de partida (quitosana), como pode ser visto na figura 4.1b. O espectro de emissão em uma solução aquosa (figura 4.1b), revela que os Q-CDs tiveram uma PL dependente da excitação e exibiu uma emissão de maior intensidade com comprimento de onda de 420 nm.

Em seguida, a composição química e os grupos funcionais presentes na superfície dos Q-CDs foram identificados por meio de FTIR. A Fig. 4.1c mostra os espectros de FTIR dos Q-CDs suspensos à 303 K. Esses espectros mostram uma banda de absorção forte em torno de  $1790-1670 \text{ cm}^{-1}$  atribuída às vibrações de alongamento de C = O da amida, a banda larga em  $3600 \text{ cm}^{-1}$  originada da ligação OH, e a banda entre  $3200-3100 \text{ cm}^{-1}$  corresponde ao NH originado de aminas secundárias. A banda em  $1604 \text{ cm}^{-1}$  é atribuída aos grupos aromáticos C = C,  $1530 \text{ cm}^{-1}$  corresponde à ligação NH, a banda em  $1363 \text{ cm}^{-1}$  é atribuída à ligação C - N = e a banda em  $1221 \text{ cm}^{-1}$  se origina de a ligação C - O. A faixa entre  $2500-2600 \text{ cm}^{-1}$  corresponde

ao  $\text{CO}_2$  presente na atmosfera. Além disso, o valor do rendimento quântico absoluto (QY, do inglês, Quantum Yield) foi medido em 4,36%, que era comparável aos CDs relatados<sup>31</sup>. Na figura 4.2, a espectroscopia EDX foi aplicada para confirmar a composição química da amostra preparada. A figura 4.2a mostra os elementos químicos presentes nos Q-CDs, que são o carbono (C), oxigênio (O) e nitrogênio (N); o silício aparece, pois, a amostra é depositada em uma placa de silício. Através do mapa, vemos que o C apresenta uma maior concentração seguidos do O e N (figuras 4.2a, 4.2b, 4.2c, respectivamente). Essa concentração já era esperada, pois os dois elementos mais abundantes nos Q-CDs são os C e O; o N aparece em sua maioria apenas na superfície.

**Figura 4. 2:** (a) Espectro de EDX à 303 K. Mapa elementar correspondente dos elementos (b) Carbono, (c) Oxigênio e (d) Nitrogênio.



Fonte: Autor.

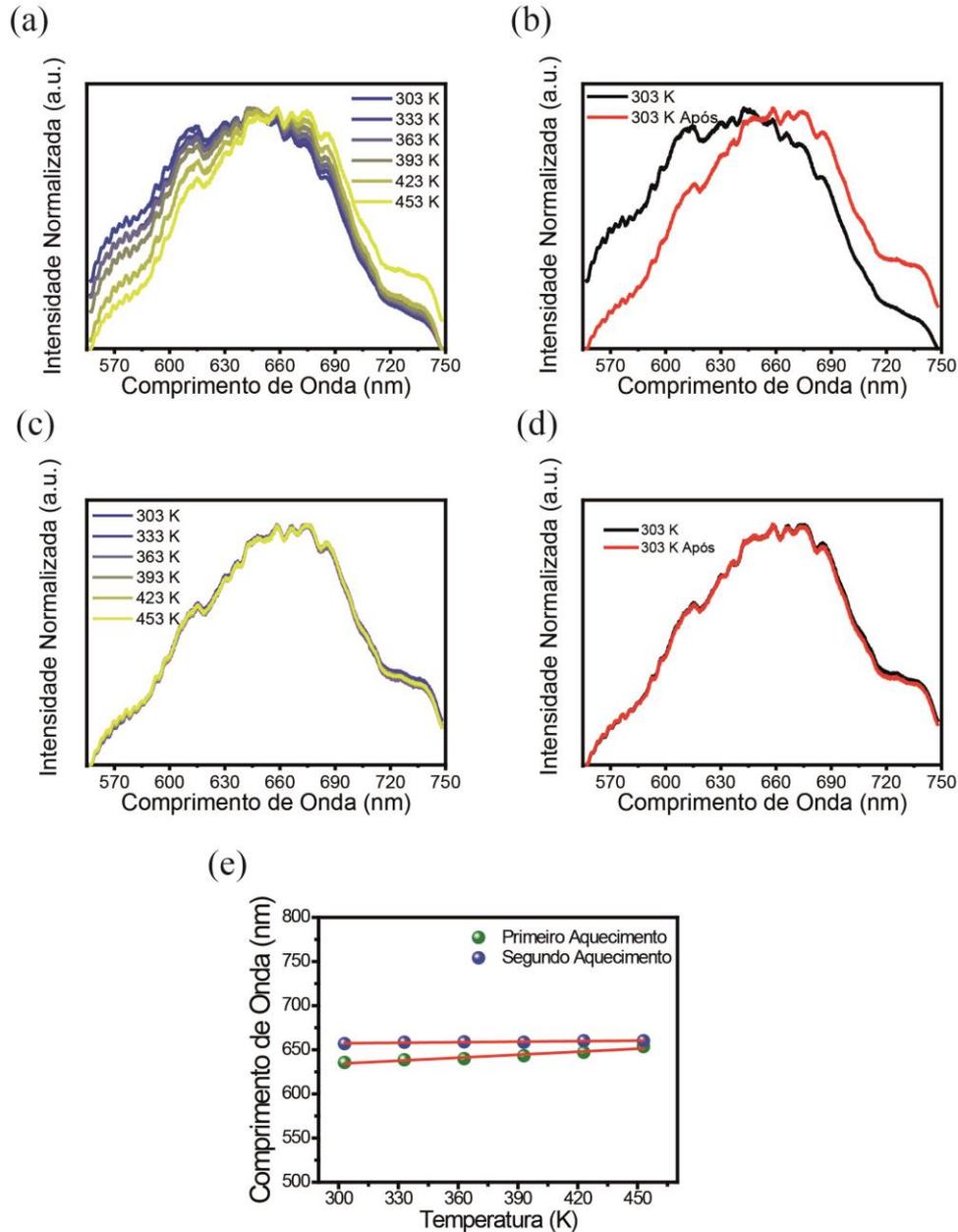
## 4.2 Efeitos da Temperatura na Fotoluminescência

A figura 4.3a mostra os espectros de PL com excitação de 532 nm. Claramente, é observado um desvio para o vermelho quando a temperatura é aumentada. Este efeito é evidenciado na figura 4.3b comparando os espectros, ambos em 303 K. Esse é um ponto importante, porque assim como foi observado para o primeiro aquecimento, o processo não é reversível, permanecendo deslocada<sup>33</sup>. A amostra não mostrou dependência com o tempo de exposição com a temperatura.

Por outro lado, a figura 4.3c mostra que, após o aquecimento, o espectro não muda para as mesmas temperaturas medidas na figura 4.3a. Isto é evidente na figura 4.3d, pois não há efeito do desvio para o vermelho. O aquecimento funciona como um tratamento térmico que altera permanentemente a luminescência dos Q-CDs. A figura 4.3e mostra a variação do pico de espectro de intensidade mais alta em função da temperatura. No primeiro aquecimento (esferas verdes), observa-se um aumento no comprimento de onda de 635 para 655 nm. Para o segundo aquecimento (esferas azuis), não é observado nenhum desvio para o vermelho.

Assim como foi descrito anteriormente na seção 2.4, a expressão proposta por O'Donnell e Chen é usada para a dependência da temperatura de gap de energia em semicondutor, que é baseada na análise do mecanismo de acoplamento elétron-fônon responsável pelo deslocamento do gap de energia<sup>91</sup>. Foram medidos os espectros de fluorescência (excitação em 532 nm) do filme de Q-CDs em função da temperatura de 303 K até 453 K. A cada temperatura, picos assimétricos são observados e descobrimos que a emissão do espectro pode ser bem ajustada por uma função de duas gaussianas, como mostrado na figura 4.4a. A assimetria sugere diferentes multifluoróforos ou espécies luminescentes. Considerando que as bandas duplas ajustadas no espectro de PL podem ser atribuídas ao núcleo (banda I) e à emissão do estado de superfície (banda II), as bandas duplas mostram dependência da temperatura, cujo grau de desvio do vermelho ocorre de maneira semelhante ao aumento da temperatura. Para cada banda, extraímos o ajuste do intervalo de energia e da largura de banda em função da temperatura, conforme ilustrado nas figuras 4.4a e 4.4b, respectivamente.

**Figura 4. 3:** PL com excitação de 532 nm, variando a temperatura: (a) primeiro aquecimento, (b) antes e após o primeiro aquecimento, (c) segundo aquecimento, (d) antes e após o segundo aquecimento. (e) O comprimento de onda de emissão de maior intensidade para cada temperatura.



**Fonte:** Autor.

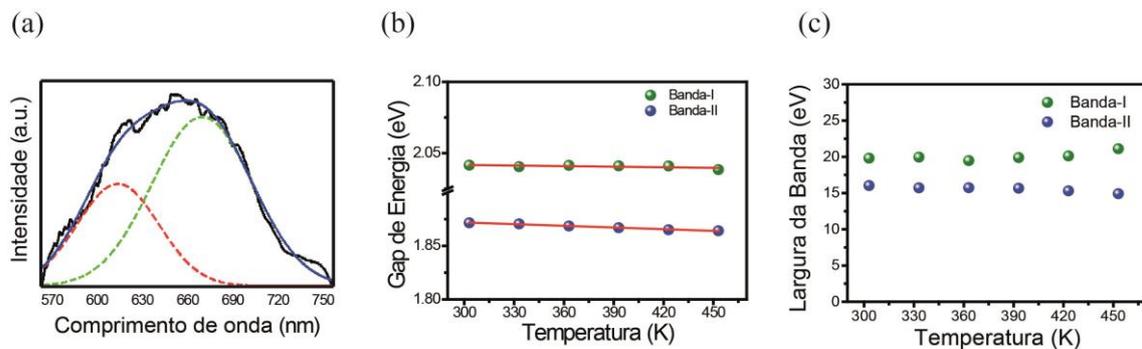
O gap de energia em função da temperatura de cada banda foi ajustado e expresso por O'Donnell e Chen (Eq. 2.5), onde  $S$  é o fator Huang-Rhys que representa a força de acoplamento de éxciton-fônon,  $\langle h\omega \rangle$  é a média da energia fonônica e  $K_B$  é a constante de Boltzmann. Os parâmetros de ajustes são  $E_g(0) = 2,044 \text{ eV}$ ,  $\langle h\omega \rangle = 21,4 \text{ meV}$  e  $S = 2,584 \times$

$10^{-10}$  para banda-I e  $E_g(0) = 1,888 \text{ eV}$ ,  $\langle h\omega \rangle = 10 \text{ meV}$  e  $S = 2,315 \times 10^{-9}$  para banda-II. O pequeno valor de  $S$  representa o menor acoplamento elétron-fônon. Em contraste com pontos quânticos, como InP/ZnS e CdSe/CdS, foi observado um  $S$  de 1,95 e 1,57, respectivamente<sup>95</sup>;

120

Outra informação importante que podemos extrair das bandas I e II na figura 4.4a é a largura de banda pela temperatura, como podemos ver na figura 4.4c. Estudos anteriores sobre dependência de temperatura que analisam largura de banda em semicondutores e QDs mostraram que podem ser separados em termos homogêneos e não homogêneos<sup>95</sup>. O alargamento homogêneo depende da temperatura e está relacionado à dispersão dos éxcitons pelos fônons acústicos e ópticos. O alargamento não homogêneo, por outro lado, decorre de flutuações no tamanho, forma e composição dos pontos quânticos. Isso é atribuído ao perfil da largura de banda como independência da temperatura, o que indica que a dispersão elétron-elétron domina. A expressão da largura de banda total é descrita pela equação 2.6. Onde  $\Gamma_0$  (espalhamento elétron-elétron) é o termo intrínseco independente da temperatura (não homogêneo) e os três últimos termos representam termos dependentes da temperatura (homogêneos),  $\sigma$  é o coeficiente de acoplamento fônon elétron-acústico,  $\Gamma_{LO}$  representa a força do acoplamento éxciton - LO do fônon,  $E_{LO}$  é a energia do fônon LO,  $\alpha$  é a largura de banda devido à dispersão de impurezas/defeitos totalmente ionizada,  $E_s$  é a energia de ativação para ionização e  $\alpha$  é a largura de linha devido à dispersão de impurezas totalmente ionizada.

**Figura 4. 4:** (a) O espectro de fluorescência pode ser bem ajustado por uma função de duas Gaussianas (b) Intervalo de Energia e (c) Largura da banda, ambos em função da temperatura nos Q-CDs.



Fonte: Autor.

Como podemos ver na figura 4.4b, a largura de banda das bandas I e II tem uma pequena variação, portanto, podemos dizer que a largura de banda não variou com a temperatura. Isso indica que a dispersão elétron-elétron domina e o acoplamento de fônon é muito pequeno, como mostrado anteriormente na análise de intervalo de energia.

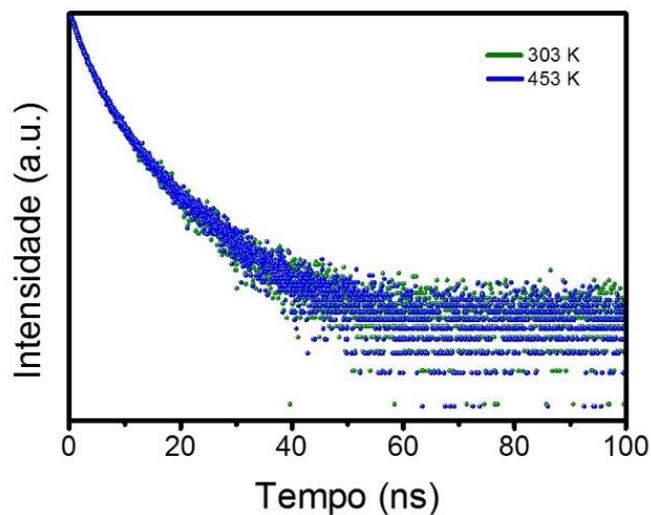
A figura 4.5 mostra o tempo de vida da fotoluminescência para duas temperaturas diferentes, 303 K e 453 K. A amostra foi excitada com um *laser* de comprimento de onda em 366 nm e monitorado em 420 nm. Um modelo de decaimento biexponencial<sup>29</sup> foi ajustado às curvas de decaimento obtidas:

$$I(t) = A_1 e^{-\frac{t}{\tau_1}} + A_2 e^{-\frac{t}{\tau_2}} \quad (4.1)$$

onde  $I(t)$  é a intensidade de fluorescência dependente do tempo,  $A_i$  é a amplitude e  $\tau_i$  o tempo de vida. O tempo de vida média  $\langle \tau_{médio} \rangle$ , é definido como:

$$\langle \tau_{médio} \rangle = \frac{\sum_i A_i \tau_i^2}{\sum_i A_i \tau_i} \quad (4.2)$$

**Figura 4. 5:** Curvas de decaimento PL em 303 K e 453 K.



A tabela 4.1 mostra os tempos de vida obtidos para cada temperatura. Em 303 K, o tempo de vida dos Q-CDs foi de 4,20 ns; já em 453 K, ele passa a ser de 4,14 ns, tendo assim uma redução de 0,05 ns no tempo de vida. Essa relaxação mais rápida em 453 K pode ser atribuído à ocorrência de processos de decaimento não radiativos. Geralmente, a evolução temporal da fluorescência dos Q-CDs é observada com componentes multiexponenciais, o que sugere os portadores fotoexcitados seguindo os complicados processos de relaxamento. Vale ressaltar que a dinâmica de relaxação da fotoluminescência dos Q-CDs diferencia da grande maioria dos QDs semicondutores convencionais que apresentam comportamento monoexponencial<sup>29</sup>.

**Tabela 4. 1:** Valores para o tempo de vida dos Q-CDs.

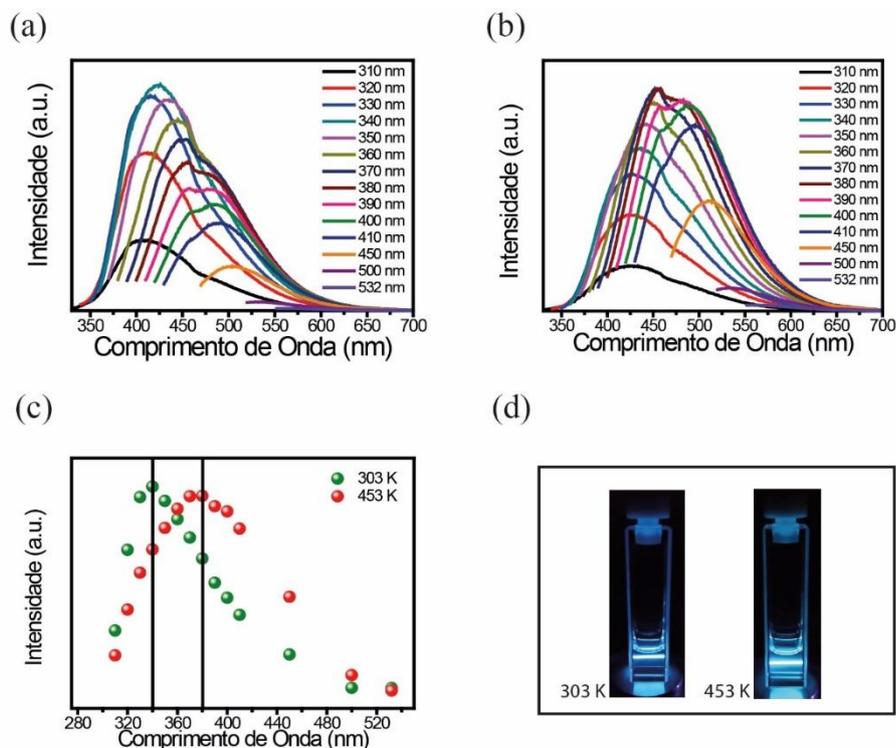
Temperatura	Tempo de Vida
303 K	4,20 ns
453 K	4,14 ns

**Fonte:** Autor.

### ***4.3 Fotoluminescência dependente da Excitação***

Uma propriedade interessante em Q-CDs é investigar os espectros PL para diferentes comprimentos de onda de excitação. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente com o espectrofluorômetro FluoroLog®-3. Para essas medições, a solução de Q-CDs foi primeiramente aquecida externamente (303 K e 453 K) e depois ressuspensa em água. As figuras 4.6a e 4.6b apresentam os espectros de emissão de PL de suspensão de Q-CDs aquecidos à 303 K e 453 K, respectivamente. Com base nos resultados, fica evidente a dependência de cada espectro com o comprimento de onda de excitação.

**Figura 4. 6:** Espectros de emissão da PL dependentes da excitação: (a) aquecimento à 303 K, (b) aquecimento à 453 K. (c) O comprimento de onda de maior intensidade da PL dependente de excitação à 303 K (esferas verdes) e 453 K (esferas vermelhas). (d) Fotografias de Q-CDs fluorescentes sob excitação *laser* de 380 nm.

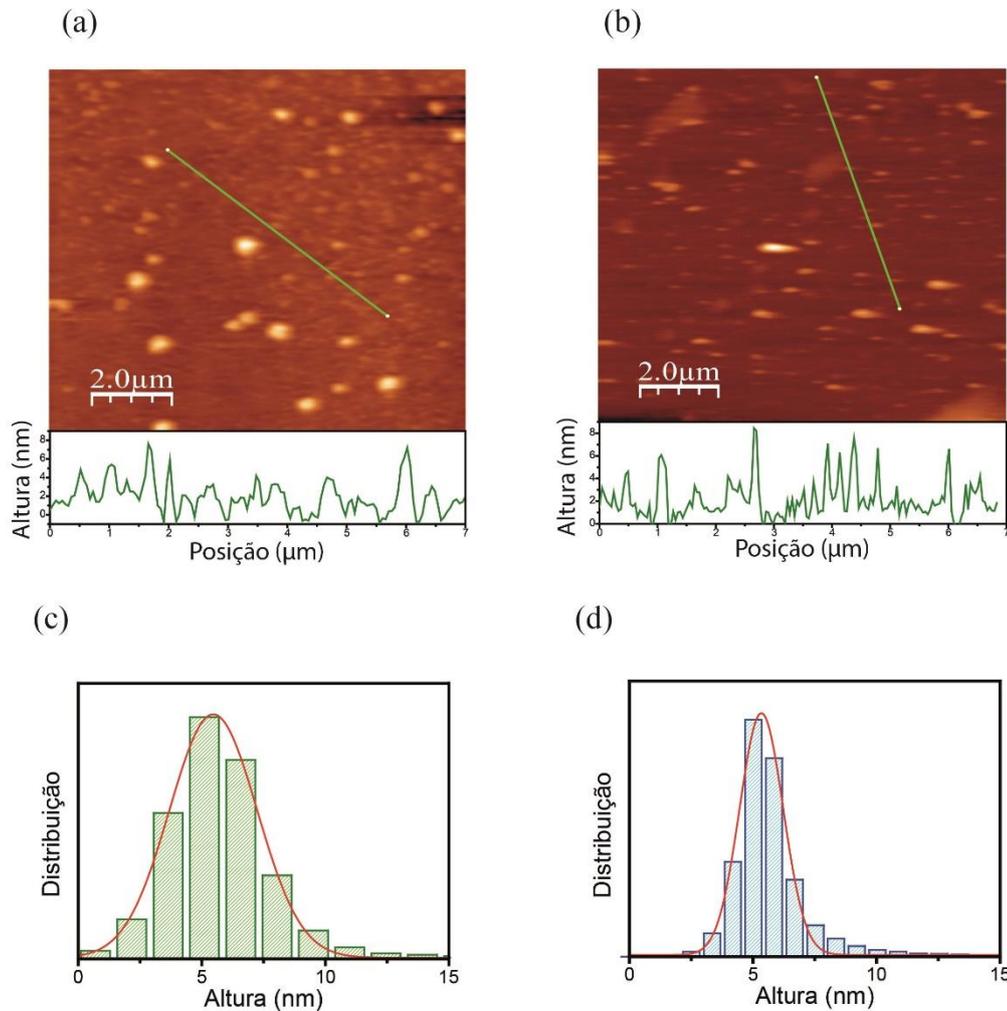


**Fonte:** Autor.

A figura. 4.6c apresenta a intensidade máxima da emissão cada espectro, mostrado nas figuras 4.6a e 4.6b, em função do comprimento de onda de excitação. As suspensões de Q-CDs, aquelas aquecidas à 453 K e resfriadas à temperatura ambiente, tiveram o espectro deslocado para um comprimento de onda maior em comparação com os espectros de Q-CDs aquecidos à 303 K. O maior valor de intensidade mudou de 340 para 380 nm após o aquecimento. Ambas as suspensões de Q-CDs têm fluorescência azul sob iluminação de luz UV de 380 nm, mas para Q-CDs aquecidos, essa fluorescência é um pouco mais brilhante (Figura 4.6d). Ambas as imagens foram tiradas à temperatura ambiente. O importante aqui é, embora o desvio para o vermelho possa ter mecanismos diferentes nos estados sólido e líquido, em ambos os casos esse efeito foi observado.

#### 4.4 Análise de AFM nos Pontos quânticos de Carbono

**Figura 4. 7:** Imagens de AFM de Q-CDs em diferentes temperaturas: (a) 303 K e (b) 453 K. Distribuição de tamanho (c) 303 K (d) 453 K



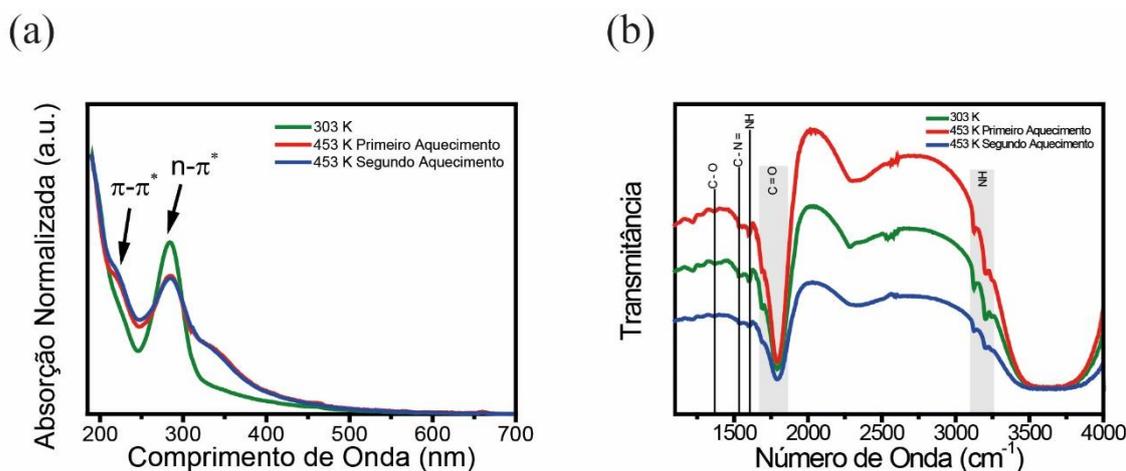
**Fonte:** Autor.

Para melhor analisar a morfologia e a distribuição dos Q-CDs também foram feitas análises de AFM. A figura 4.7 mostra as imagens de AFM dos Q-CDs após serem aquecidos à 303 K e 453 K. A figura. 4.7a mostra os Q-CDs a uma temperatura de 303 K, onde os pontos com maior brilho representam aglomerados de Q-CDs. Para melhor analisar seu tamanho, o perfil é desenhado em uma região sem aglomerados, onde os Q-CDs estão mais dispersos. Pelo histograma de distribuição de altura da figura 4.7c, é possível observar que a altura média dos

Q-CDs é de aproximadamente 6 nm. A figura 4.7b mostra a imagem AFM dos Q-CDs após serem aquecidos à 453 K. Seu histograma de distribuição de altura é mostrado na figura 4.7d, onde a altura média obtida é de aproximadamente 6 nm. Portanto, o tamanho permanece inalterado após o tratamento térmico. As imagens de AFM confirmam que o confinamento quântico (tamanho) não foi responsável pelo desvio para o vermelho da PL. Dessa forma, o componente não homogêneo não se deve à mudança de tamanho e forma e pode-se inferir que a PL tem uma contribuição maior da superfície.

#### 4.5 Análise de FTIR, UV-vis e EDX para Pontos Quânticos de Carbono

**Figura 4. 8:** (a) Absorção em 303 K, 453 K (primeiro aquecimento) e 453 K (segundo aquecimento). (b) FTIR em 303 K, 453 K (primeiro aquecimento) e 453 K (segundo aquecimento).

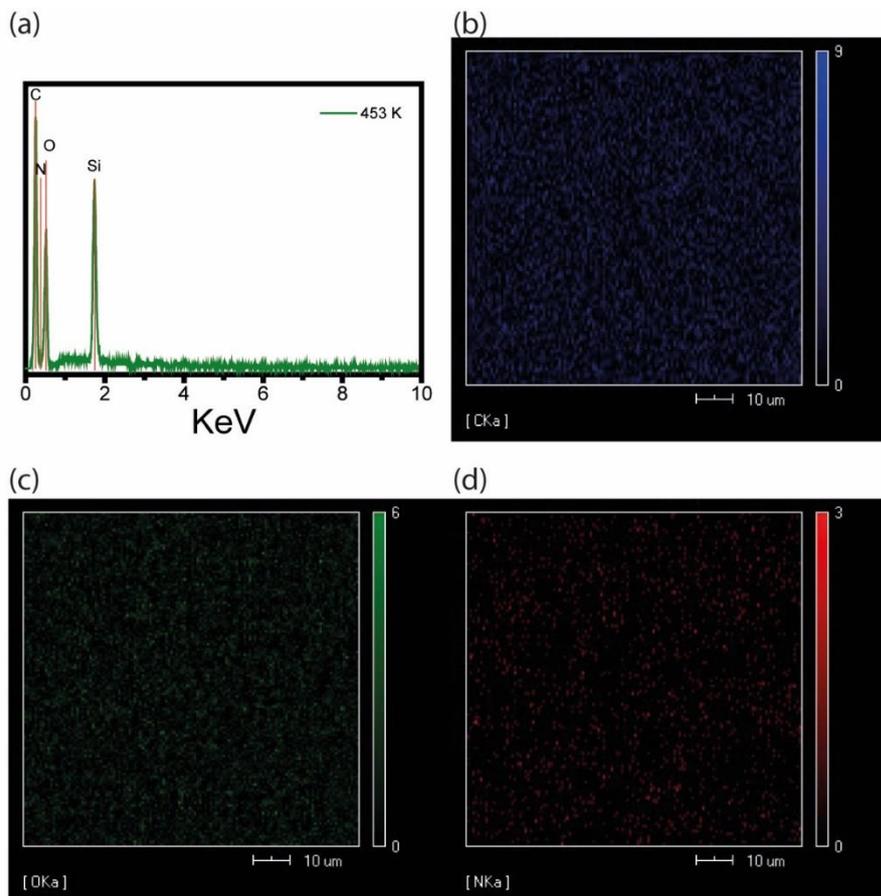


Fonte: Autor.

A figura 4.8 mostra o espectro de FTIR e a absorção dos Q-CDs suspensos à 303 K (linha verde) após o primeiro aquecimento à 453 K (linha vermelha) e o segundo aquecimento à 453 K (linha azul). Os picos exibidos nos espectros dos Q-CDs à 303 K (linha verde) não apresentam diferença em comparação com o espectro dos outros Q-CDs após o primeiro (linha vermelha) e o segundo (linha azul) aquecimentos. Portanto, o espectro do infravermelho (figura 4.8a) mostra uma forte banda de absorção em torno de  $1790\text{-}1670\text{ cm}^{-1}$  atribuída às vibrações de alongamento de C = O da amida, a banda larga em  $3600\text{ cm}^{-1}$  é originada da ligação OH, em  $3200\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$  a ligação NH é originária de aminas secundárias,  $1604\text{ cm}^{-1}$  corresponde à

ligação C = C de grupos aromáticos,  $1530\text{ cm}^{-1}$  de NH,  $1363\text{ cm}^{-1}$  de CN =, e a de  $1221\text{ cm}^{-1}$  de CO. A banda entre  $2500\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao  $\text{CO}_2$  presente na atmosfera.

**Figura 4. 9:** (a) Espectro de EDX à 453 K. Mapa elemental correspondente aos elementos (b) Carbono, (c) Oxigênio e (d) Nitrogênio.

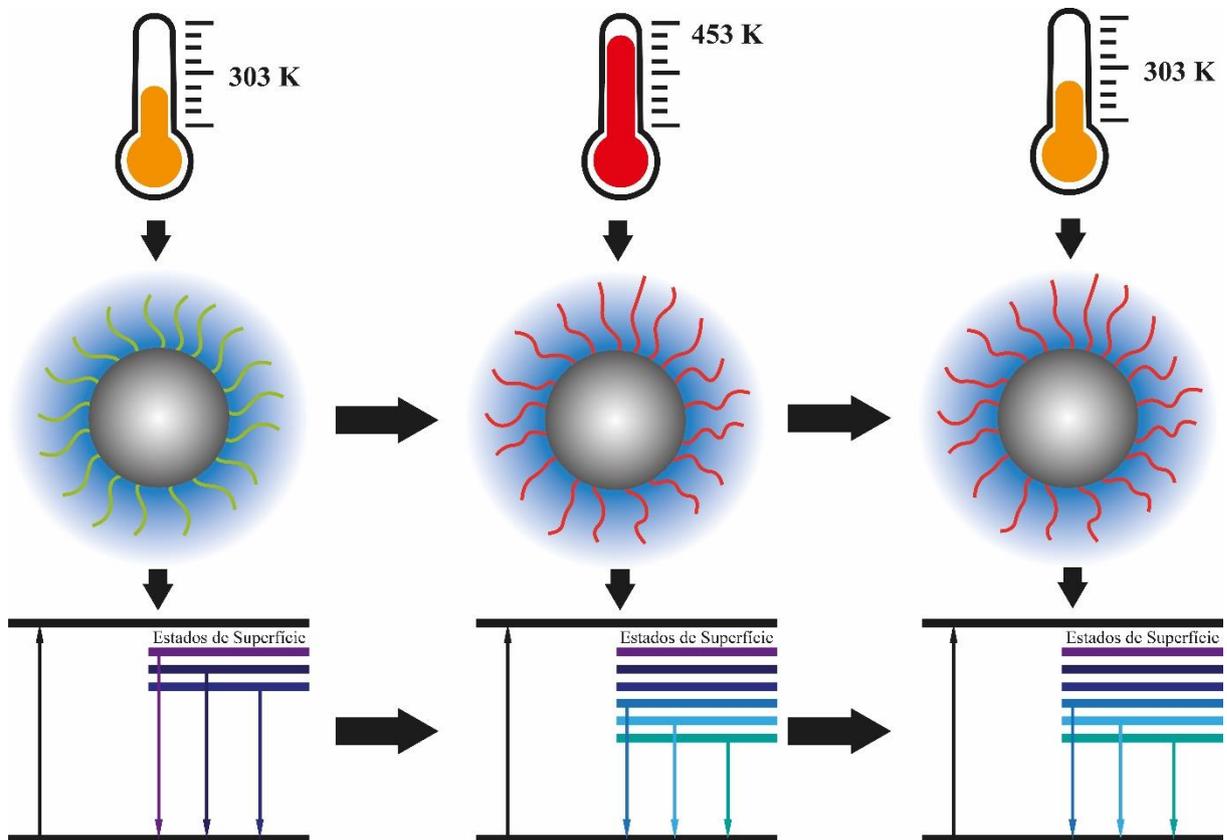


**Fonte:** Autor.

A figura 4.8b mostra o espectro de absorção à 303 K (linha verde) após o primeiro aquecimento à 453 K (linha vermelha) e o segundo aquecimento à 453 K (linha azul). A partir deste espectro podemos determinar o núcleo e os grupos funcionais na superfície dos Q-CDs. De acordo com estudos anteriores<sup>40; 58</sup>, os espectros de absorção à 303 K (linha verde) demonstram uma banda de absorção típica localizada em 221 nm, que corresponde à transição  $\pi - \pi^*$  e a banda em 285 nm corresponde à transição  $n-\pi^*$ , conforme descrito anteriormente na caracterização da amostra. Enquanto isso, na absorção do espectro dos Q-CDs após o aquecimento (linha vermelha e azul), outro novo pico pode ser visto em 350 nm, o que indica

uma mudança em seu estado de superfície<sup>40</sup>. Sabe-se que a mudança nos estados da superfície causa um desvio para o vermelho, como podemos ver no presente trabalho. A largura de banda não homogênea, vista na Fig. 4.4c, corrobora uma mudança no estado da superfície, uma vez que está relacionada à flutuação da composição, enquanto a mudança de tamanho e forma é descartada nas imagens de AFM. O EDX e a análise de mapeamento elemental correspondente após o aquecimento mostraram a presença de C, O e N, provando que não há mudança elemental nos Q-CDs (figura 4.9).

**Figura 4. 10:** Ilustração da mudança dos estados de superfície que ocorre com o aumento da temperatura.



**Fonte:** Autor.

Para melhor entender o processo de mudança no estado de superfície, a figura 4.10 mostra uma ilustração dos Q-CDs em 303 K e em 453 K. A esfera central em cinza representa o núcleo, que é composto principalmente de C; já as linhas em sua volta representam as ligações feitas na superfície, como por exemplo de  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ , entre outras e abaixo temos os níveis de

energia. A uma temperatura de 303 K temos níveis de energia maiores formados por seus estados de superfície. Quando aquecemos, à temperatura de 453 K, as ligações da superfície se alteram passando assim a possuir novos estados de superfície e fazendo com que sua emissão vá para os estados de menor energia criado; quando resfriado à 303 K, esses estados permanecem alterados. Esses novos estados são os responsáveis pelo desvio para o vermelho provocado na emissão da PL.

## **5 EFEITOS DA TEMPERATURA EM PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO DE ENXOFRE E NITROGÊNIO INDEPENDENTE E DEPENDENTES DA EXCITAÇÃO**

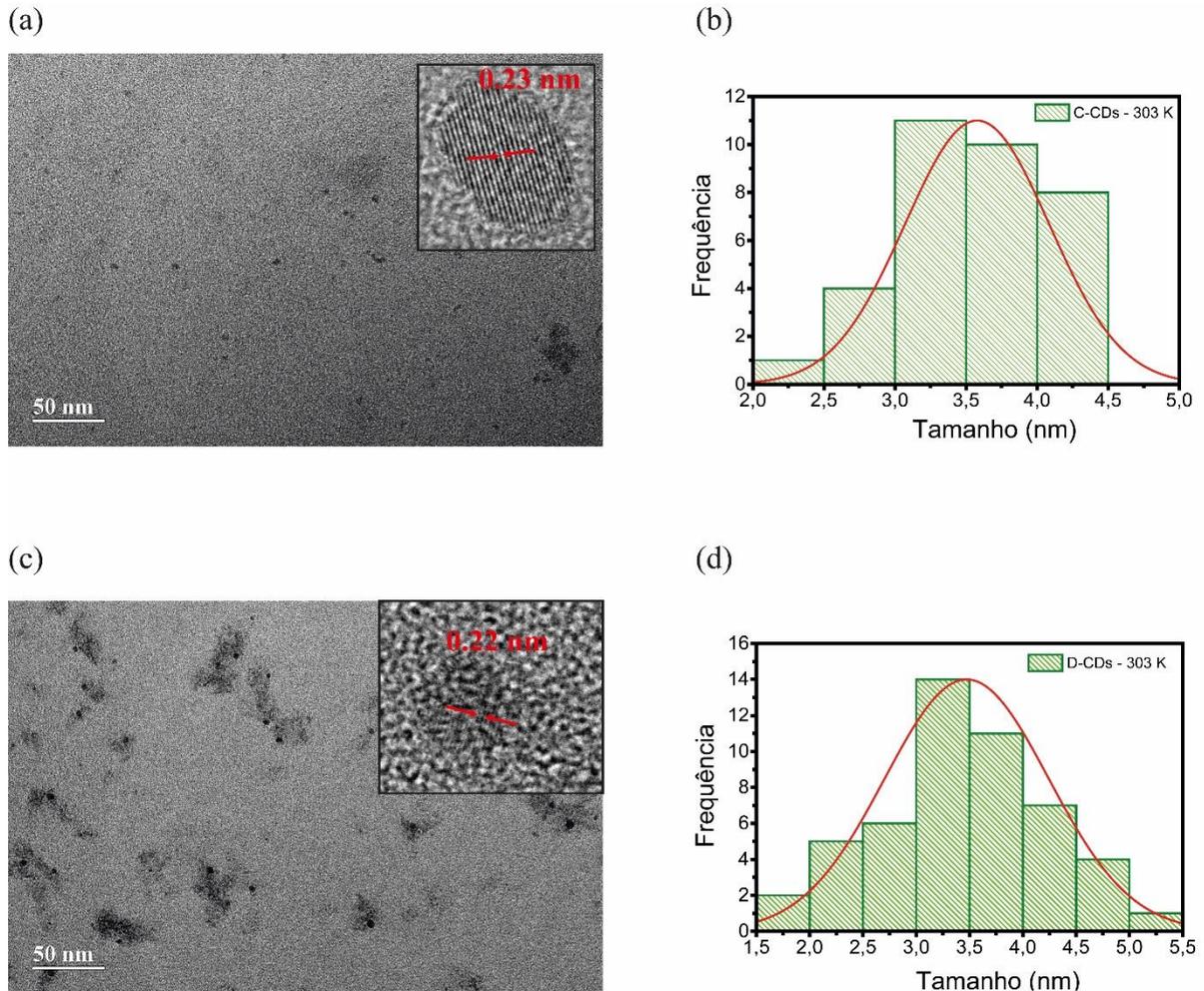
O principal elemento utilizado na co-dopagem de CDs é o nitrogênio (N), pois é facilmente incorporado ao esqueleto do material de carbono. Entretanto, foi observado que CDs co-dopados com nitrogênio e enxofre (S) apresenta um melhora na emissão<sup>79</sup>. O enxofre, não tem efeito significativo na emissão de CDs; entretanto, a co-dopagem com heteroátomos produz uma estrutura eletrônica única, causando um efeito sinérgico entre N e S nos CDs. Alguns trabalhos mostraram que o átomo S fornece um efeito sinérgico sobre N, resultando em um PL dominado por grupos funcionais contendo N<sup>39; 79</sup>.

Nesse capítulo analisamos a variação de temperatura para dois CDs co-dopados com N e S, que apresentam um desvio em sua PL. Analisamos os principais fatores dessa causa, como a forma, o tamanho e a composição. Testamos os CDs tratados com duas temperaturas diferentes para imageamento celular.

### ***5.1 Caracterização dos Pontos Quânticos de Carbono***

As características morfológicas dos CDs, como tamanho, forma e estrutura gráfica, foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM), conforme mostrado na figura 5.1. A imagem do TEM dos C-CDs mostrada na figura 5.1a exibe um formato quase esférico, com espaçamento de rede de 0,23 nm. A distribuição de tamanho apresentado na figura 5.1b mostra um tamanho médio de 3,5 nm. A figura 5.1c mostra a imagem HRTEM dos D-CDs, que por sua vez, também apresenta um formato quase esférico, com espaçamento de rede de 0,22 nm. A figura 5.1d exibe uma distribuição de tamanho de 3,5 nm para os D-CDs.

**Figura 5. 1:** (a) Imagens HRTEM dos pontos quânticos de carbono. Inserção: espaçamento da rede. C-CDs. (b). Distribuição de tamanho C-CDs. (c) Imagens HRTEM dos pontos quânticos de carbono. Inserção: espaçamento da rede. D-CDs. (d). Distribuição de tamanho D-CDs.



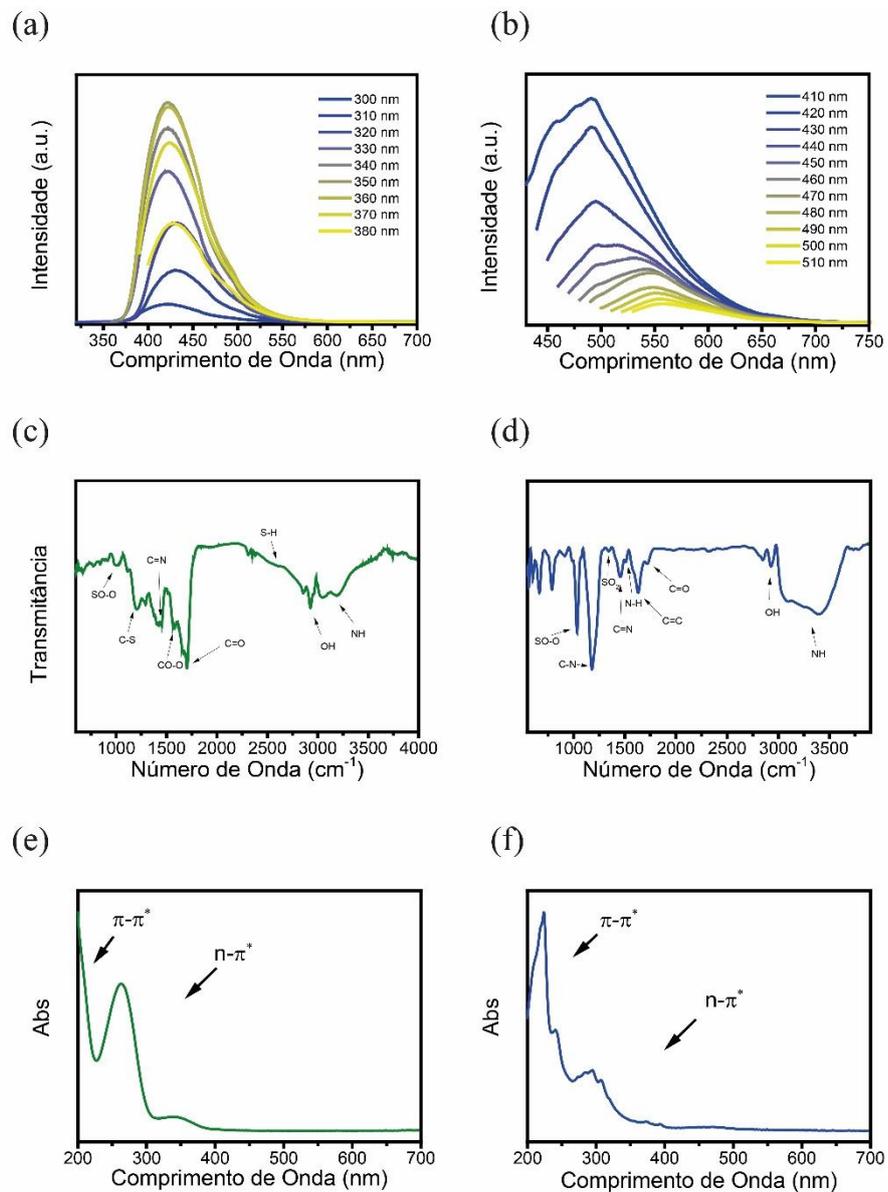
Fonte: Autor.

As propriedades ópticas dos CDs foram analisadas por espectroscopias PL e UV-vis. A Figura 5.2a mostra os espectros de PL dos C-CDs. Esses pontos quânticos de carbono exibem PL independente de excitação, com banda de emissão azul em 421 nm, cuja intensidade máxima foi obtida excitando a amostra em 350 nm. Já os D-CDs apresentam PL dependente de excitação, como pode ser visto na Figura 5.2b. Esses pontos quânticos de carbono também possuem emissão máxima na região do azul, porém apresentam uma banda larga cuja intensidade máxima foi obtida excitando a amostra em 410 nm<sup>40</sup>.

A Figura 5.2c mostra o espectro de FTIR dos C-CDs, com uma banda em 3196 cm<sup>-1</sup> correspondendo ao grupo NH, uma banda forte associada às vibrações OH em 2935 cm<sup>-1</sup>,

ligações S-H em  $2573\text{ cm}^{-1}$ , ligações C=O em  $1700\text{ cm}^{-1}$  e ligações CO-O em  $1577\text{ cm}^{-1}$ . O espectro também mostra ligações C=N em  $1438\text{ cm}^{-1}$ , ligações C-S em  $1197\text{ cm}^{-1}$  e ligações SO-O em  $1011\text{ cm}^{-1}$ .

**Figura 5. 2:** Caracterização dos CDs. C-CDs (a) Espectro de emissão da fotoluminescência (a) C-CDs (b) D-CDs. FTIR (c) C-CDs (d) D-CDs. UV-Vis, (e) C-CDs (f) D-CDs.

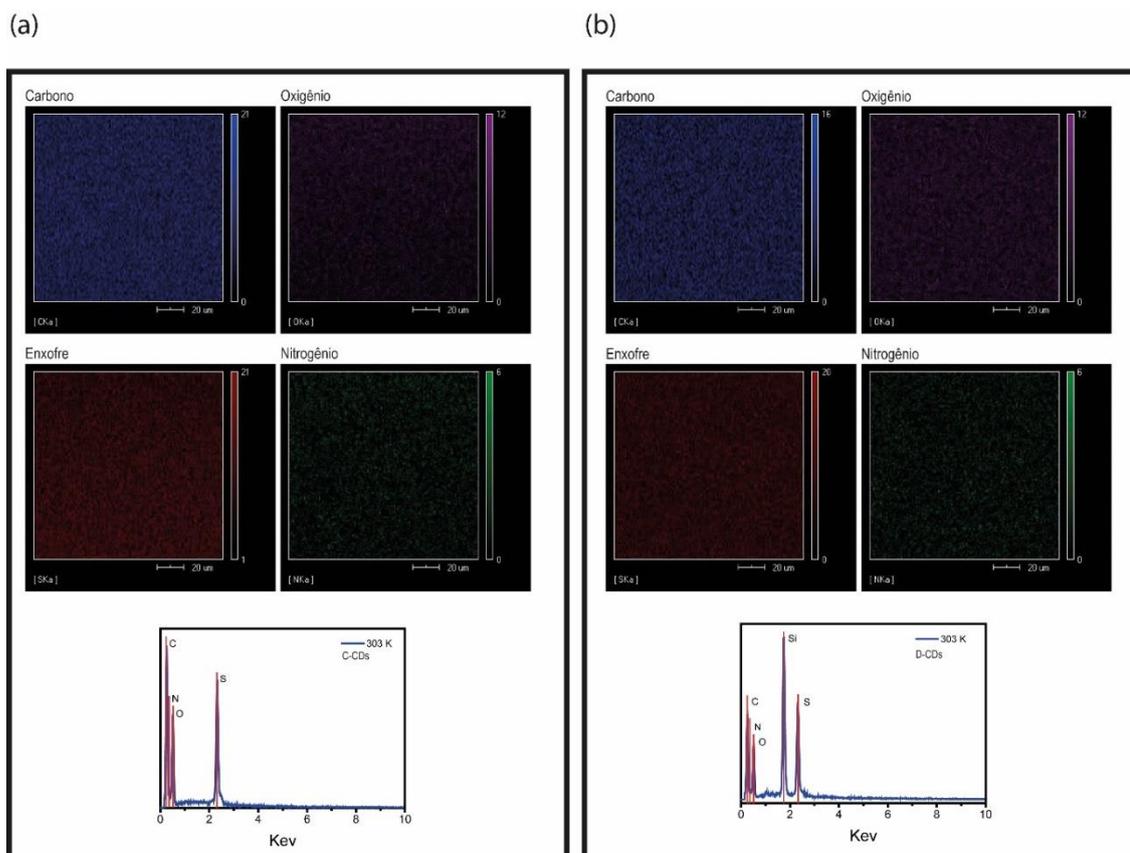


Fonte: Autor.

O espectro FTIR dos D-CDs apresentados na figura 5.2d mostra uma banda em  $2935\text{ cm}^{-1}$  correspondendo às vibrações OH, ligações C=O em  $1715\text{ cm}^{-1}$  e ligações C=C em  $1632\text{ cm}^{-1}$ . Os picos em  $3321$ ,  $1497$ ,  $1448$  e  $1174\text{ cm}^{-1}$  revelam a presença de grupos NH, N–H, C=N e C–N, respectivamente. Os dois picos em  $1335$  e  $1032\text{ cm}^{-1}$  são atribuídos às ligações SO<sub>2</sub> e SO–O, respectivamente. As bandas entre  $2400$ – $2250\text{ cm}^{-1}$  encontradas nos espectros dos C-CDs e D-CDs, correspondem ao CO<sub>2</sub> presente na atmosfera. Todos esses resultados estão de acordo com a literatura e confirmam o sucesso da preparação dos CDs co-dopados com N e S<sup>79</sup>.

A figura 5.2e mostra o espectro de absorção dos C-CDs. A primeira banda em  $210\text{ nm}$  corresponde às ligações  $\pi - \pi^*$  e está relacionada ao núcleo dos CDs; as outras duas bandas em  $262\text{ nm}$  e  $350\text{ nm}$ , que são atribuídas à superfície do material, correspondem às ligações  $n - \pi^*$ . A Figura 5.2f mostra o espectro de absorção dos D-CDs, onde as bandas entre  $200$ – $250\text{ nm}$  correspondem às ligações  $\pi - \pi^*$ , e são atribuídas ao núcleo dos CDs. As bandas observadas entre  $250$ – $550\text{ nm}$  correspondem às ligações  $n - \pi^*$  e estão relacionadas à superfície dos CDs<sup>40; 42</sup>.

**Figura 5. 3:** Mapeamento elementar dos CDs e espectro EDX em 303 K. (a) C-CDs e (b) D-CDs.



Para melhor caracterizar os CDs, foram tomadas medidas de EDX-MEV afim de mapear os elementos presentes. A figura 5.3a mostra o mapa dos elementos químicos presentes nos C-CDs, que são o carbono (C), o oxigênio (O), o enxofre (S) e o nitrogênio (N); esses elementos também são relatados através do gráfico. Já para os D-CDs, mostrados na figura 5.3b, o mapa mostra os seus elementos que são C, O, S e N. O gráfico apresenta todos os elementos e um pico relacionado ao silício, pois a amostra é depositada em uma placa de silício. Os dois CDs apresentaram maior concentração dos elementos de C e S.

## ***5.2 Efeitos da Temperatura na Fotoluminescência***

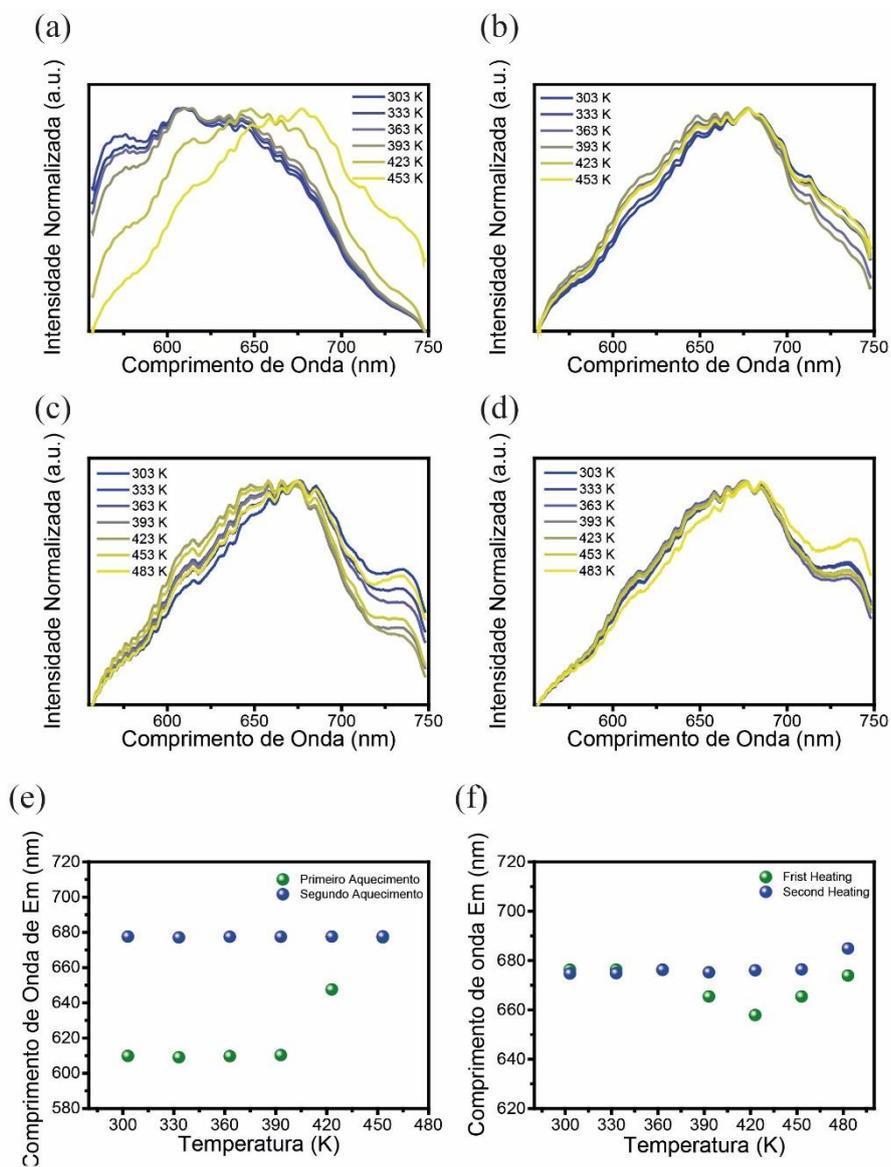
Para apoiar ainda mais o estudo das propriedades ópticas dos CDs, aqui relatamos o efeito da temperatura nos espectros de PL. A Figura 5.4a mostra os espectros de PL dos C-CDs medidos para temperaturas entre 303 K e 453 K. Apenas pequenas flutuações são observadas nos espectros até uma temperatura de 393 K; depois disso, um desvio para o vermelho é observado quando a temperatura é elevada até 453 K. Ao atingir esta temperatura, os C-CDs foram resfriados à temperatura inicial de 303 K.

A Figura 5.4b mostra os espectros de PL para o segundo aquecimento dos C-CDs. Podemos observar que ao aumentar a temperatura, os espectros não se deslocam mais, permanecendo com o mesmo perfil obtido com a temperatura de 453 K no primeiro aquecimento. A variação de PL a partir do pico de maior intensidade é mostrada na Figura 5.4e. A partir desta análise, podemos observar mais claramente o desvio para o vermelho no primeiro aquecimento (pontos verdes), que foi de 67 nm. Ao reaquecer a amostra, observamos que a PL permanece inalterada (pontos azuis).

Os espectros de PL dos D-CDs foram medidos para temperaturas entre 303 K e 483 K. A Figura 5.4c mostra os espectros obtidos durante o primeiro aquecimento. Ao contrário dos C-CDs, os espectros PL dos D-CDs apresentam um desvio para o azul até uma temperatura de 423 K; após atingir esta temperatura, um desvio para o vermelho é observado quando a temperatura é aumentada até 483 K. Em seguida, os D-CDs foram resfriados à temperatura inicial de 303 K e reaquecidos. A Figura 5.4d mostra os espectros de PL para o segundo aquecimento dos D-CDs. Aqui, como no caso dos C-CDs, os espectros também não se deslocam

após o reaquecimento da amostra, permanecendo com o mesmo perfil obtido com a temperatura de 483 K no primeiro aquecimento.

**Figura 5. 4:** PL com temperatura variável de excitação de 532 nm. (a) Primeiro aquecimento e (b) segundo aquecimento para os C-CDs. (c) Primeiro aquecimento e (d) segundo aquecimento para os D-CDs. (e) Comprimento de onda de emissão de espectros de maior intensidade para cada temperatura dos C-CDs e (f) Comprimento de onda de emissão de espectros de maior intensidade para cada temperatura dos D-CDs.



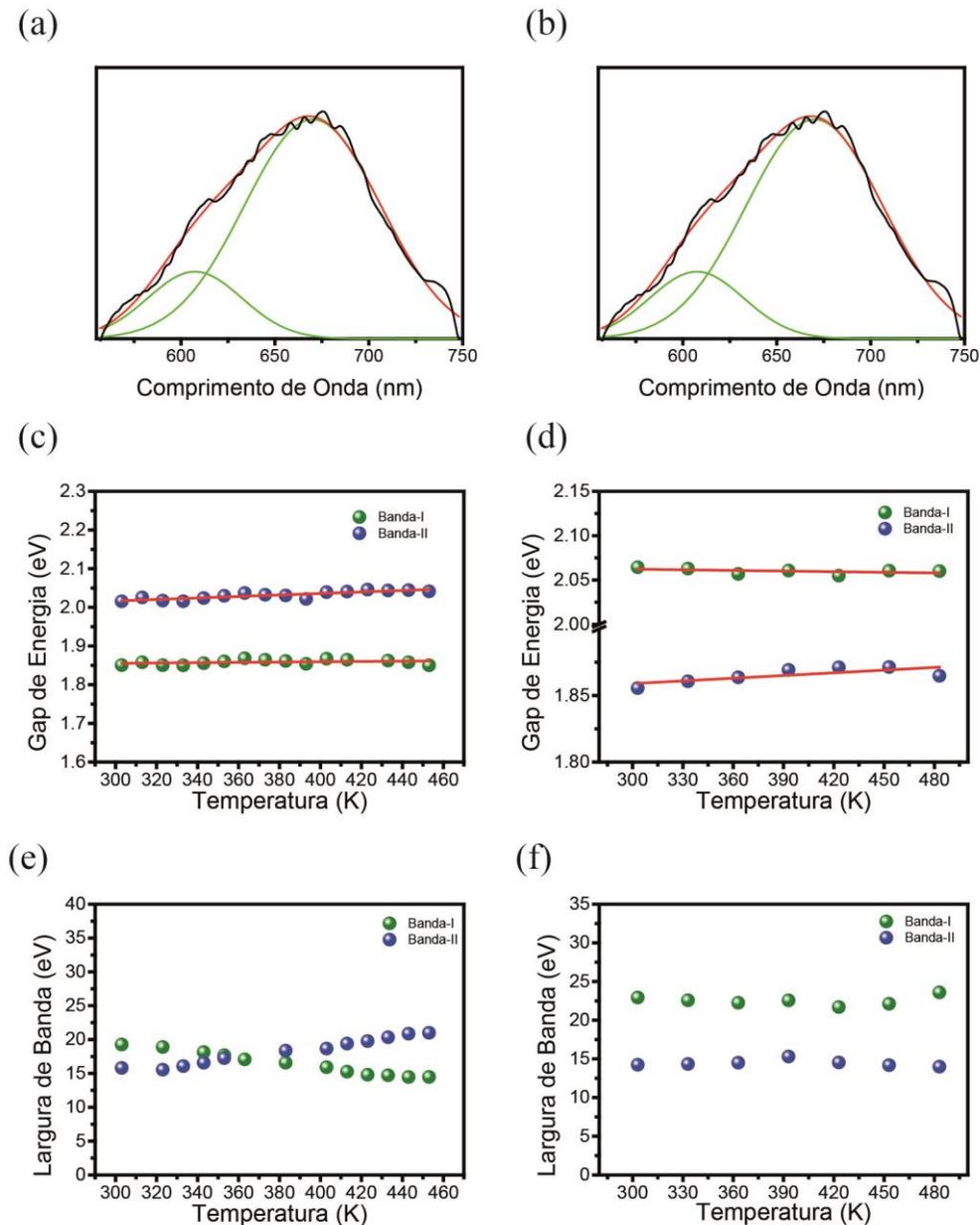
Fonte: Autor

A Figura 5.4f mostra a variação da PL a partir do pico de maior intensidade no espectro de emissão. A partir dessa análise, podemos observar um pequeno deslocamento para o azul de 20 nm e, quando está em 423 K, a PL retorna ao mesmo comprimento de onda da temperatura inicial à 303 K (pontos verdes). Ao reaquecer a amostra, a PL permanece inalterada (pontos azuis).

Assim como já mencionado na seção 2.4, uma expressão muito usada para descrever a dependência da temperatura do gap de energia em semicondutores é a equação de O'Donnell e Chen, que se baseia na análise do mecanismo de acoplamento elétron-fônon que é responsável pelo deslocamento de banda. Yu *et al*<sup>29</sup>. analisaram CDs independentes da excitação variando a temperatura de 77 até 300 K; nestes foram observados um baixo fator de Huang, o que deixa os CDs com características próximas à *nanoclusters* de ouro, além de uma não dependência da largura de banda com a temperatura, o que caracteriza uma maior interação elétron-elétron.

É possível avaliar a contribuição do núcleo e da superfície pelos espectros de PL. Cada espectro de emissão variando a temperatura dos C-CDs (Fig. 5.4a) e dos D-CDs (Fig. 5.4d) pode ser ajustado por duas funções gaussianas, como mostrado nas figuras 5.5a e 5.5b, onde a banda I é atribuída ao núcleo, e a banda II é atribuída ao estado de superfície. Nas figuras 5.5c e 5.5d, temos a variação do intervalo de energia em função da temperatura dos C-CDs e D-CDs, respectivamente. Para ambos os CDs, essas duas bandas apresentam dependência da temperatura, evidenciando a mudança em suas PLs. A partir desses pontos, usamos a equação proposta por O'Donnell e Chen<sup>91</sup> para avaliar os mecanismos de PL dos C-CDs (equação 2.5). Onde  $S$  é o fator de Huang-Rhys que representa a força de acoplamento éxciton-fônon,  $\langle h\omega \rangle$  é a energia média do fônon e  $K_B$  é a constante de Boltzmann. Os parâmetros de ajustes do C-CDs são  $E_g(0) = 2,04 \text{ eV}$ ,  $\langle h\omega \rangle = 17,09 \text{ meV}$  e  $S = 8,85 \times 10^{-10}$  para banda-I, e  $E_g(0) = 1,902 \text{ eV}$ ,  $\langle h\omega \rangle = 13.3 \text{ meV}$  e  $S = 4,84 \times 10^{-9}$  para banda-II. O baixo fator de Huang indica um acoplamento elétron-fônon mais fraco, onde seu comportamento é diferente dos QDs que apresentam um fator de Huang maior, como os QDs de In/P e de CdSe/CdS<sup>95; 120</sup>, que possuem um fator de Huang de 1,95 e 1,57, respectivamente. O baixo fator de Huang também é condizente com o trabalho realizado por Yu<sup>29</sup>, e com os Q-CDs mostrados no capítulo anterior.

**Figura 5. 5:** Espectro de emissão (453 K) ajustado por duas funções Gaussianas para (a) C-CDs e (b) D-CDs. Intervalo de energia (c) C-CDs e (d) D-CDs. Largura de banda (e) C-CDs e (f) D-CDs.



**Fonte:** Autor.

Para os D-CDs (figura 5.5d), vemos que o intervalo de energia da banda II apresenta um desvio para o azul. Como já dito anteriormente, a equação de O'Donnell e Chen se origina da relação empírica de Varshni, que em semicondutores e QDs, essas análises são aplicadas quando os picos de PL sofrem um desvio para o vermelho predominantemente, portanto ela não é usada para casos de desvio para o azul<sup>91; 121</sup>. Assim, buscamos analisar materiais que

apresentassem o mesmo comportamento de desvio para o azul. Dentre esses materiais, estão os semicondutores orgânicos; no entanto, esse mecanismo também não foi completamente compreendido para esses materiais<sup>122; 123</sup>. As duas principais explicações para esse fenômeno são a flutuação de torção de rede e de um mecanismo para excitar éxcitons povoados ou localizados nos segmentos de altas energias em temperaturas mais altas<sup>122; 123; 124</sup>.

Aqui, propomos que o desvio para o azul observado pode ser atribuído aos éxcitons excitados povoados ou localizados em segmentos de altas energias, como estados de defeito de oxidação da superfície. À medida que a temperatura aumenta, os elétrons excitados em estados de defeitos de oxidação povoam os estados superiores devido à ativação térmica e a energia de emissão demonstra um pequeno desvio para o azul. Por outro lado, o aumento da temperatura faz com que a interação elétron-fônon possa levar a um desvio para o vermelho, pois grupos funcionais presentes na superfície são obstáculos quando os éxcitons migram para um estado de menor energia. Assim, o desvio para o azul implica que os éxcitons excitados localizados em segmentos de altas energias desempenham um papel dominante, enquanto a interação entre os elétrons e fônons desempenham um papel menor na emissão.

Uma outra forma de avaliar a dependência com a temperatura é através da largura de banda. Alguns trabalhos demonstraram que o alargamento da banda pode ser separado em componentes homogêneas e não homogêneas<sup>95; 124</sup>. A parte não homogênea está relacionada ao espalhamento elétron-elétron que é devido às flutuações de tamanho, forma e composição, e é independente da temperatura. Já a parte homogênea é dependente da temperatura e está relacionada com o espalhamento de superfície/defeitos/impurezas ionizadas que são causadas pelo espalhamento de fônons acústicos<sup>124</sup> (Equação 2.6). Onde  $\Gamma_0$  é o alargamento não homogêneo e  $\sigma$  é o coeficiente de acoplamento elétron-fônon acústico.  $E_s$  corresponde à energia de ionização, que está relacionada à ionização de impurezas dos CDs, e  $\alpha$  é a largura de banda devido à impureza totalmente ionizada (espalhamento de defeitos).

Analisando a largura de banda dos C-CDs (figura 5.5e), os parâmetros extraídos da banda II foram  $\Gamma_0 = 102 \text{ meV}$ ,  $\sigma = 7,03 \text{ } \mu\text{eV/K}$  e a energia ionizada  $E_s = 53,33 \text{ meV}$ ; já a banda I mostrou valores extremamente baixos, podendo assim considerar apenas a banda II com uma dependência da temperatura. Apesar dos C-CDs mostrarem uma dependência da largura de banda com a temperatura, o coeficiente de acoplamento elétron-fônon  $\sigma$  é bem pequeno quando comparado com pontos quânticos semicondutores, como os CdSe que possuem  $\sigma = 21 \text{ } \mu\text{eV/K}$ <sup>95</sup>; ao invés disso, temos um coeficiente bem próximo dos encontrados em

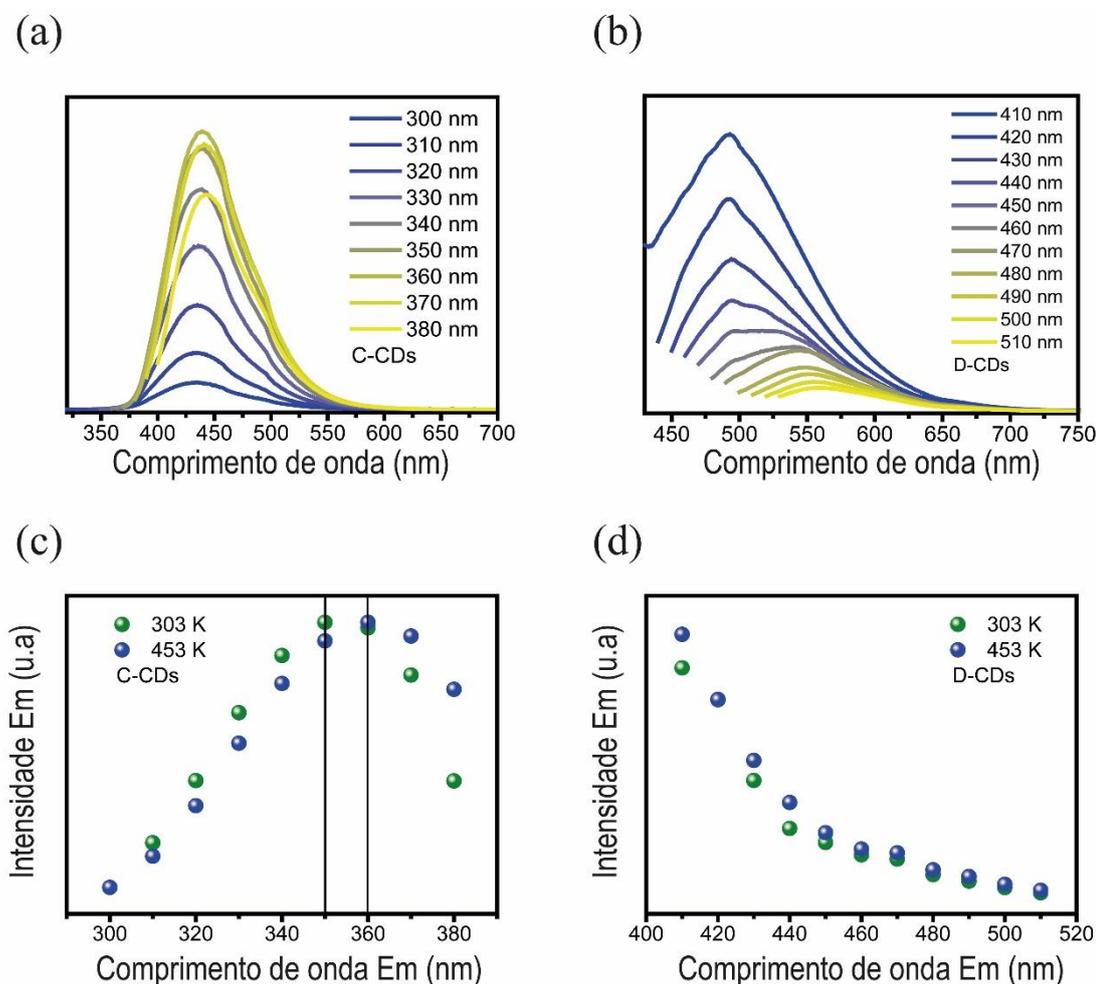
*nanoclusters* de ouro, como os  $Au_{10}$  que tem  $\sigma = 5,9 \mu eV/K^{121}$ . O baixo valor do coeficiente nos diz que a interação elétron-fônon dos C-CDs é fraca, dando assim uma maior interação elétron-elétron. Assim, a análise da influência da temperatura no *gap* de energia e na largura de banda dos C-CDs sugere um espalhamento elétron-fônon fraco, considerando assim o efeito dominante sendo a interação elétron-elétron que pode ser devido às flutuações de tamanho, forma e composição.

A largura de banda dos D-CDs, como podemos ver na figura 5.5f, mostra uma não dependência com a temperatura. Temos assim apenas o termo não homogêneo da equação; isso indica que o espalhamento elétron-elétron domina esses CDs, o que também sugere ser devido às flutuações de tamanho, forma e composição.

### ***5.3 Fotoluminescência (dependente e independente da excitação) dos Pontos Quânticos de Carbono***

As propriedades da emissão da PL podem ser dependentes ou independentes da excitação, e isso é um importante fator a ser observado. O tratamento térmico pode ocasionar mudanças além do desvio para o azul e para o vermelho, como a mudança na banda de maior intensidade de emissão<sup>29; 44; 50</sup>. Aqui analisamos o espectro de emissão, variando o comprimento de onda de excitação, com as amostras aquecidas à 303 K e 453 K. As medidas foram realizadas usando um FLUOROLOG em temperatura ambiente e a preparação da amostra foi feita como descrito na seção 3.2. Analisando novamente a figura 5.2a, onde tínhamos a amostra de C-CDs aquecida à 303 K, e comparando com a figura 5.6a, que corresponde à amostra de C-CDs aquecida à 453 K, notamos uma alteração na banda de maior intensidade de emissão dos C-CDs à 453 K. Para melhor visualização, a figura 5.6c mostra a intensidade do comprimento de onda de emissão em função do comprimento de onda de excitação. Vemos claramente que em 303 K, a maior intensidade de emissão ocorre quando a amostra é excitada em 350 nm. Após o aquecimento, o pico de maior intensidade de emissão passa a ser quando a amostra é excitada em 360 nm. Já os D-CDs à 303 K (figura 5.2d) e à 453 K (figura 5.6c) não apresentam mudança, permanecendo com a mesma emissão de maior intensidade quando excitado em 410 nm para ambas as temperaturas. Isso pode ser visualizado melhor na figura 5.6d.

**Figura 5. 6:** Espectros de emissão da PL à temperatura de 453 K para (a) C-CDs e (b) D-CDs. (c) O comprimento de onda de maior intensidade da PL dependente da emissão em 303 K (pontos verdes) e 453 K (pontos azuis) para C-CDs. (d) O comprimento de onda de maior intensidade da PL dependente da emissão em 303 K (pontos verdes) e 453 K (pontos azuis) para D-CDs.



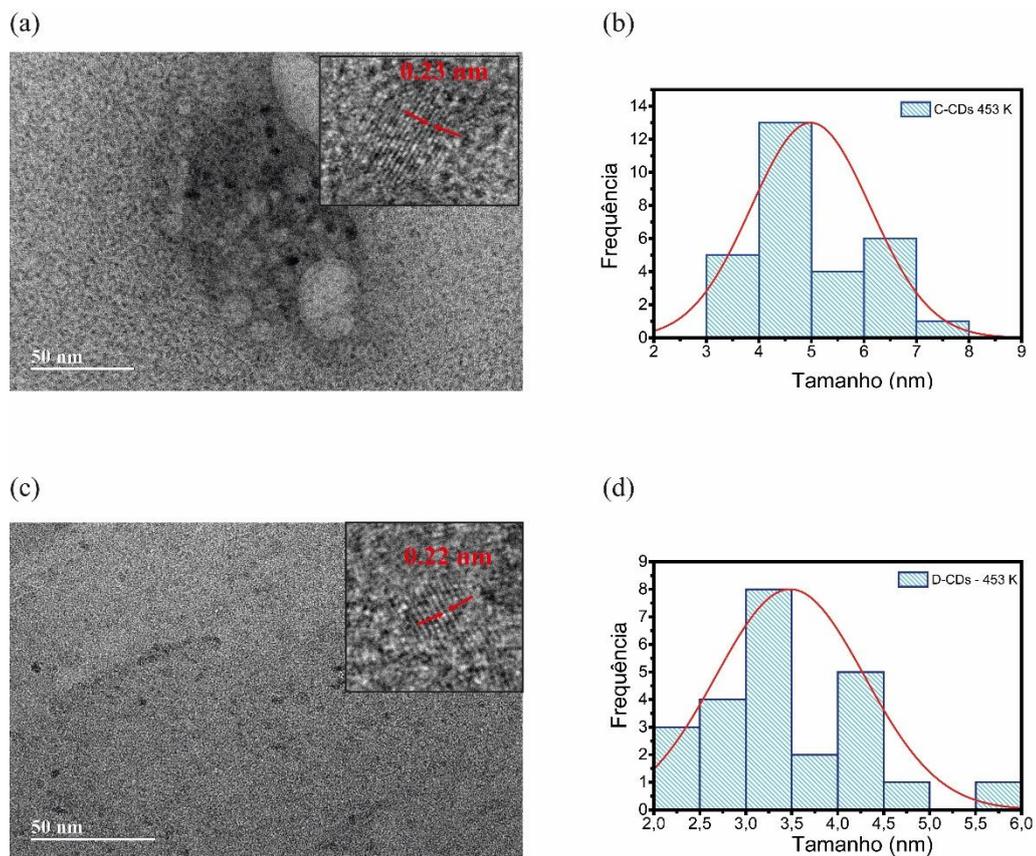
Fonte: Autor.

#### 5.4 Propriedades Morfológicas Após o Aquecimento

Os pontos quânticos semicondutores têm, em sua maioria, uma relação direta de tamanho com as propriedades ópticas<sup>44; 53</sup>. Geralmente quando há um aumento no tamanho, os elétrons tendem a povoar os estados de menor energia. A temperatura, por sua vez, é um dos responsáveis por alterar o tamanho dos QDs<sup>53</sup>. Aqui analisamos através do TEM as características morfológicas de tamanho, forma e espaçamento gráfico dos C-CDs e D-CDs após serem aquecidos à 453 K. A figura 5.6a mostra que o formato dos C-CDs continua quase esférico e o espaçamento da rede gráfica permanece em 0,23 nm. No entanto, sua distribuição

de tamanho (figura 5.6b) exibe um aumento significativo, que passa a ser de 5 nm. Assim, podemos dizer que o aumento do tamanho dos C-CDs é um dos fatores para o desvio para o vermelho. A largura de banda, mostrada na figura 5.5e corrobora para essa afirmação, uma vez que a interação elétron-elétron tende a ser também provocada pela flutuação de tamanho. A figura 5.6c mostra os D-CDs após serem aquecidos à 453 K. Seu espaçamento de rede grafítico permanece inalterado em 0,22 nm, assim como seu formato quase esférico, quando comparado à figura 5.1c. Sua distribuição de tamanho também não sofre alteração, permanecendo com o mesmo tamanho de 3,5 nm.

**Figura 5. 7:** (a) Imagem HRTEM dos C-CDs aquecidos à 453 K. Inserção: espaçamento da rede. (b) Distribuição de tamanho dos C-CDs. (c) Imagem HRTEM dos D-CDs aquecidos à 453 K. Inserção: espaçamento da rede. (d) Distribuição de tamanho dos D-CDs.

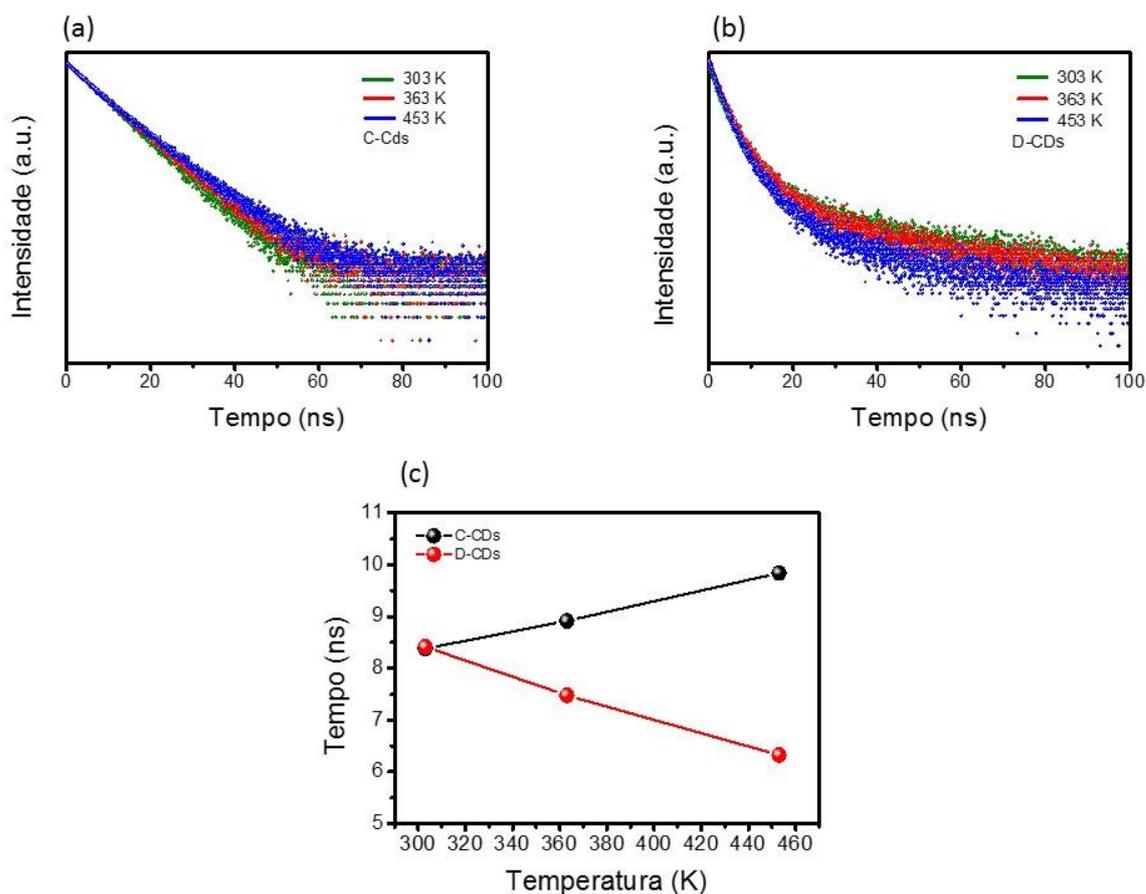


Fonte: Autor.

### 5.5 Tempo de Vida dos Pontos Quânticos de Carbono

A figura 5.8 mostra o tempo de vida da fotoluminescência para três temperaturas diferentes: 303 K, 363 K e 453 K. Os C-CDs, mostrados na figura 5.8a, foram excitados com um *laser* de comprimento de onda de 366 nm e monitorado em 435 nm. Para ajustar-se ao decaimento das curvas obtidas, um modelo de decaimento biexponencial<sup>29</sup> foi usado (equação 4.1). Os D-CDs, mostrados na figura 5.8b, foram excitados com um *laser* de comprimento de onda de 454 nm e monitorado em 490 nm. Um modelo de decaimento biexponencial também foi ajustado às curvas de decaimento obtidas (equação 4.1). O de tempo de vida médio<sup>125</sup> ( $\langle\tau_{médio}\rangle$ ), foi calculado pela equação 4.2, e foi utilizada para calcular o tempo de vida dos dois tipos de CDs.

**Figura 5. 8:** Curvas de decaimento PL para (a) C-CDs e (b) D-CDs. (c) Tempo de vida em ns para C-CDs e D-CDs.



Fonte: Autor.

A tabela 5.1 mostra os tempos de vida obtidos para os dois CDs para cada temperatura. Para o C-CDs, o tempo de vida em 303 K foi de 8,38 ns, em 363 K ele passa a ser de 8,91 ns, e em 453 K, o tempo de vida foi de 9,83 ns. Analisando os dois extremos, observamos um aumento de 1,45 ns no seu tempo de vida. Nós propomos que esse aumento no tempo de vida é referente a uma diminuição dos decaimentos não radiativos que estão ligados à mudança dos seus estados de superfície. Contudo, para o D-CDs, o tempo de vida em 303 K foi de 8,41 ns, em 363 K ele passa a ser de 7,47 e em 453 K foi de 6,32 ns. Com isso, tivemos uma diminuição de 2,09 ns com o aumento da temperatura. A diminuição observada pode ser atribuída ao aumento dos decaimentos não radiativos<sup>29; 125</sup>.

**Tabela 5. 1:** Valores para o tempo de vida dos C-CDs e D-CDs.

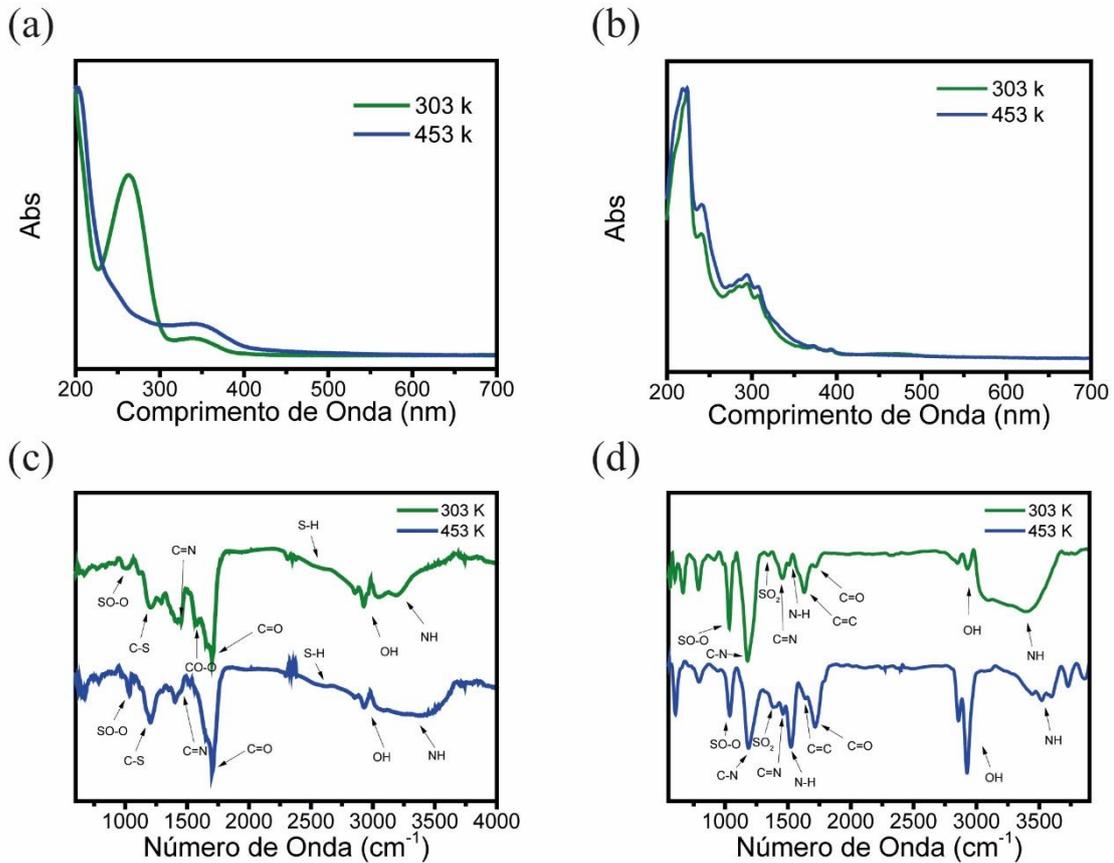
Temperatura	Tempo de Vida (ns)	
	C-CDs	D-CDs
303 K	8,38	8,41
363 K	8,91	7,47
453 K	9,83	6,32

**Fonte:** Autor.

### **5.6 Espectros de UV-vis, FTIR e EDX dos Pontos Quânticos de Carbono**

O espectro de UV-Vis foi usado para identificar a absorção óptica do núcleo e da superfície. Na figura 5.9a, temos o espectro de absorção dos C-CDs à 303 K e 453 K. O espectro apresenta um pico característico em 210 nm que corresponde às transições  $\pi - \pi^*$  dos domínios aromáticos  $sp^2$  que são característicos do núcleo. Os picos em 262 e 350 nm representam as transições  $n - \pi^*$ , que estão associadas à superfície, onde 350 nm é uma banda de absorção característica de nitrogênio<sup>42</sup>. Após o aquecimento, o perfil do espectro de absorção é alterado, mudando a banda em 262 nm que sofre um deslocamento para 248 nm e uma diminuição na intensidade. Desse modo, como vimos no capítulo anterior, a alteração no perfil da absorção corresponde às mudanças nos estados de superfície. Quando analisamos o espectro de FTIR após o aquecimento (figura 5.9c) vemos uma alteração na banda em  $1650\text{ cm}^{-1}$  relacionada às ligações CO-O. Isso reforça a afirmação de que ocorreu uma mudança nos estados de superfície. A largura de banda, mostrada na figura 5.4e também corrobora para essa afirmação, uma vez que a interação elétron-elétron pode ser provocada pela mudança na sua composição.

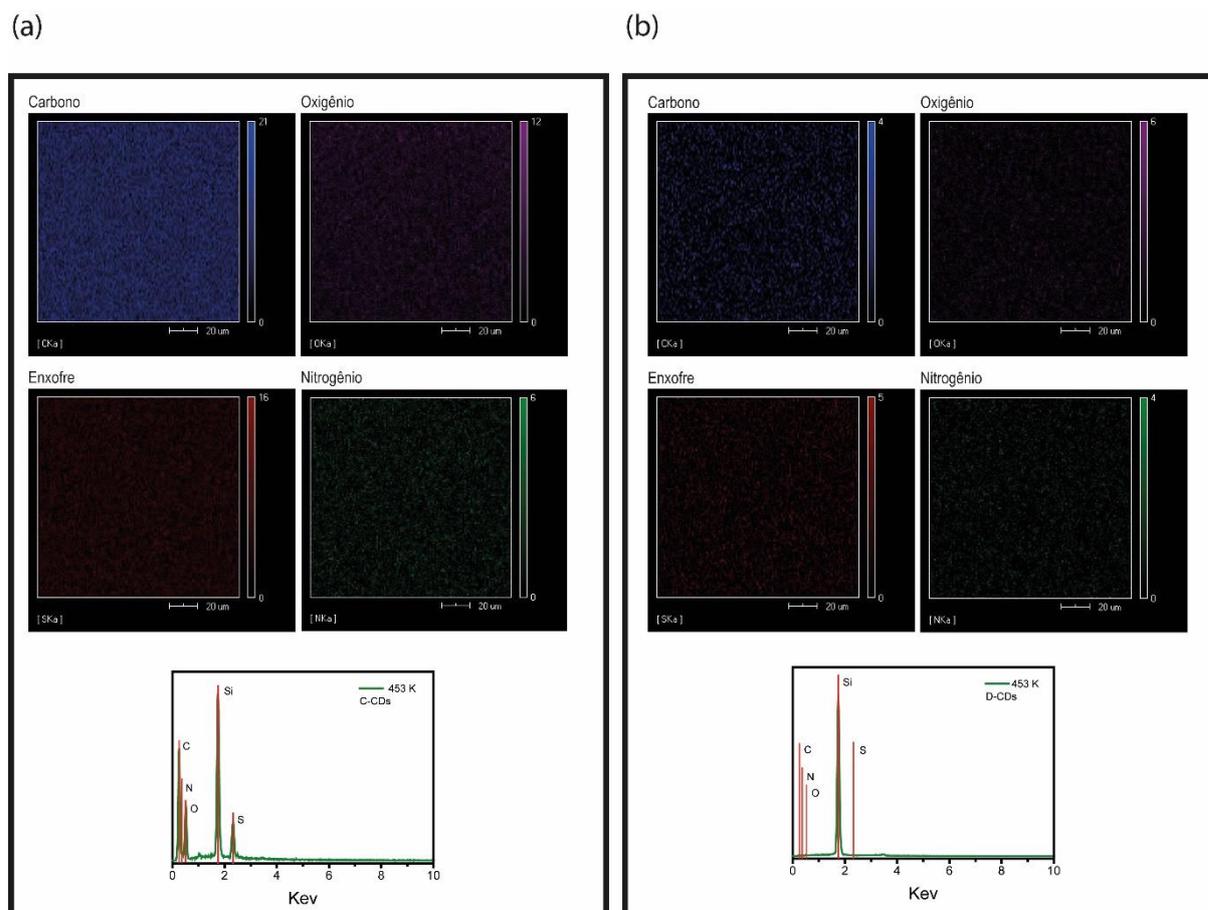
**Figura 5. 9:** Absorção em 303 K e 453 K para (a) C-CDs e (b) D-CDs. (c) FTIR em 303 K e 453 K para (c) C-CDs e (d) D-CDs.



Fonte: Autor.

Na figura 5.9b, temos a absorção dos D-CDs à 303 e 453 K. A região entre 200 e 250 nm está relacionada às transições  $\pi - \pi^*$  atribuídas ao núcleo, enquanto que de 250 até 500 nm são transições  $n - \pi^*$ , que são características da superfície. Quando a amostra é aquecida até 453 K, seu perfil permanece inalterado. Entretanto, ao analisarmos o espectro de FTIR na figura 5.9d, é possível ver um aumento significativo nas bandas que contem ligações de oxigênio, pelos grupos C=O, SO<sub>2</sub> e OH. Isso comprova a afirmação feita anteriormente de que o desvio para o azul da PL é atribuído aos éxcitons excitados povoados ou localizados em segmentos de alta energia, como estados de defeito da oxidação da superfície. O EDX e a análise de mapeamento elemental correspondente após o aquecimento mostraram a presença de C, O, S e N, provando que não há mudança elemental nos CDs (figura 5.10).

**Figura 5. 10:** Mapeamento elemental e espectro EDX à 303 K para (a) C-CDs e (b) D-CDs.



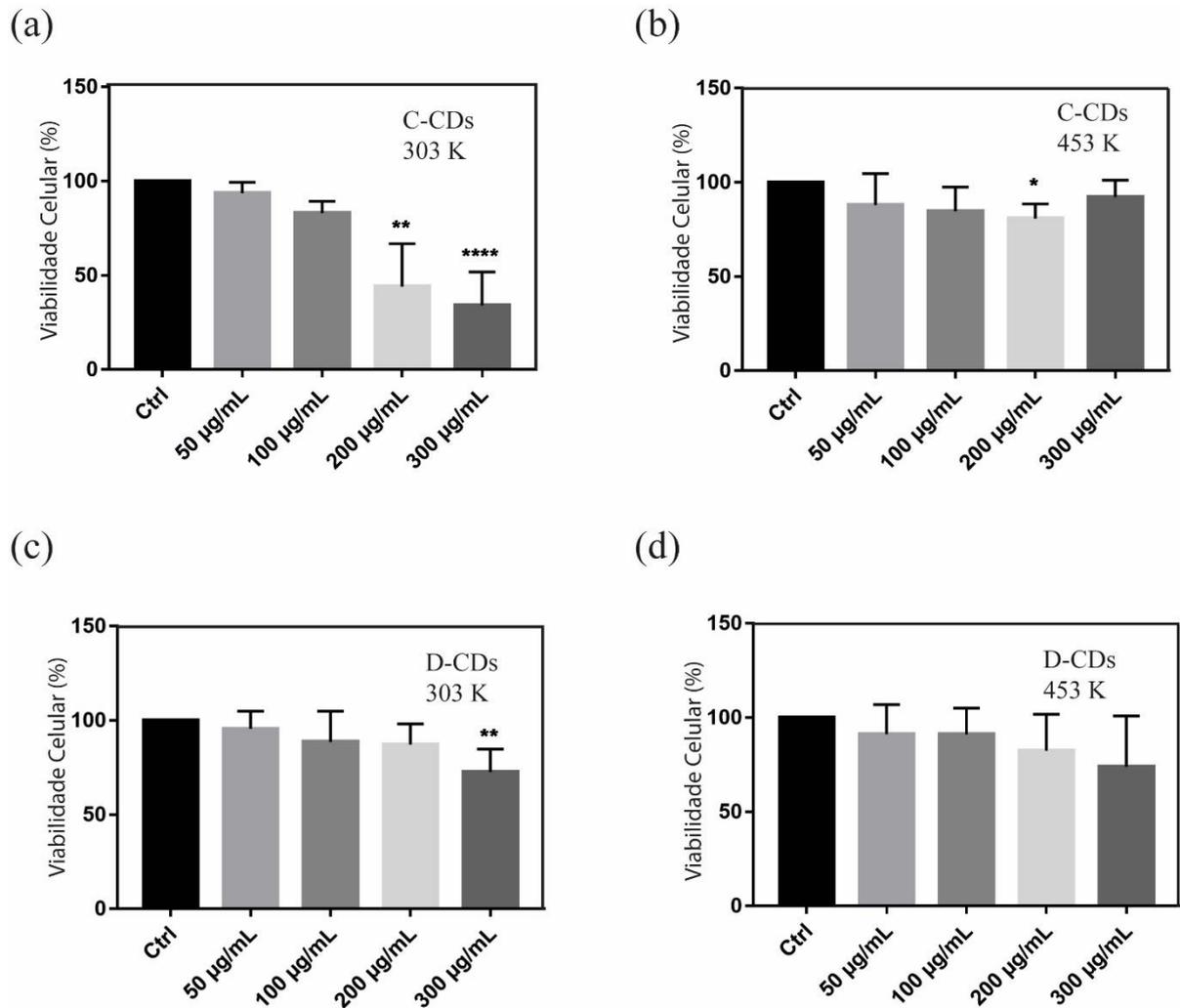
Fonte: Autor.

### 5.7 Citotoxicidade e Imageamento Celular

A incorporação de CDs em células para estudos de bioimageamento é um dos principais atributos para aplicação, por se tratar de um material com ótima biocompatibilidade, baixa toxicidade e excelentes propriedades ópticas<sup>82</sup>. A mudança do estado da superfície dos CDs com o aumento da temperatura mostrou-se uma excelente opção para a geração de imagens de células. A Figura 5.11 mostra o ensaio MTT para os dois CDs, a 303 K e 453 K. Para C-CDs a 303 K, baixa citotoxicidade foi mostrada em pequenas concentrações, até 100 μg / mL e, à medida que a concentração aumenta, os CDs se tornam mais citotóxicos (figura 5.11a). A figura 5.11b mostra a viabilidade celular de C-CDs aquecidos a 453 K. Aqui, uma baixa citotoxicidade é obtida para todas as concentrações, o que nos leva a supor que mudanças nos estados de superfície e no tamanho dos CDs melhoram a viabilidade das células. Para D-CDs, ambas as

temperaturas mostram baixa citotoxicidade nas concentrações mais baixas. À medida que a concentração aumenta, a viabilidade das células diminui (figuras 5.11c e 5.11d).

**Figura 5. 11:** Viabilidade celular de células HTR-8/SVneo na presença de diferentes concentrações de CDs como preparados. (a) C-CDs a 303 K, (b) C-CDs a 453 K, (c) D-CDs a 303 K e (d) D-CDs a 453 K.

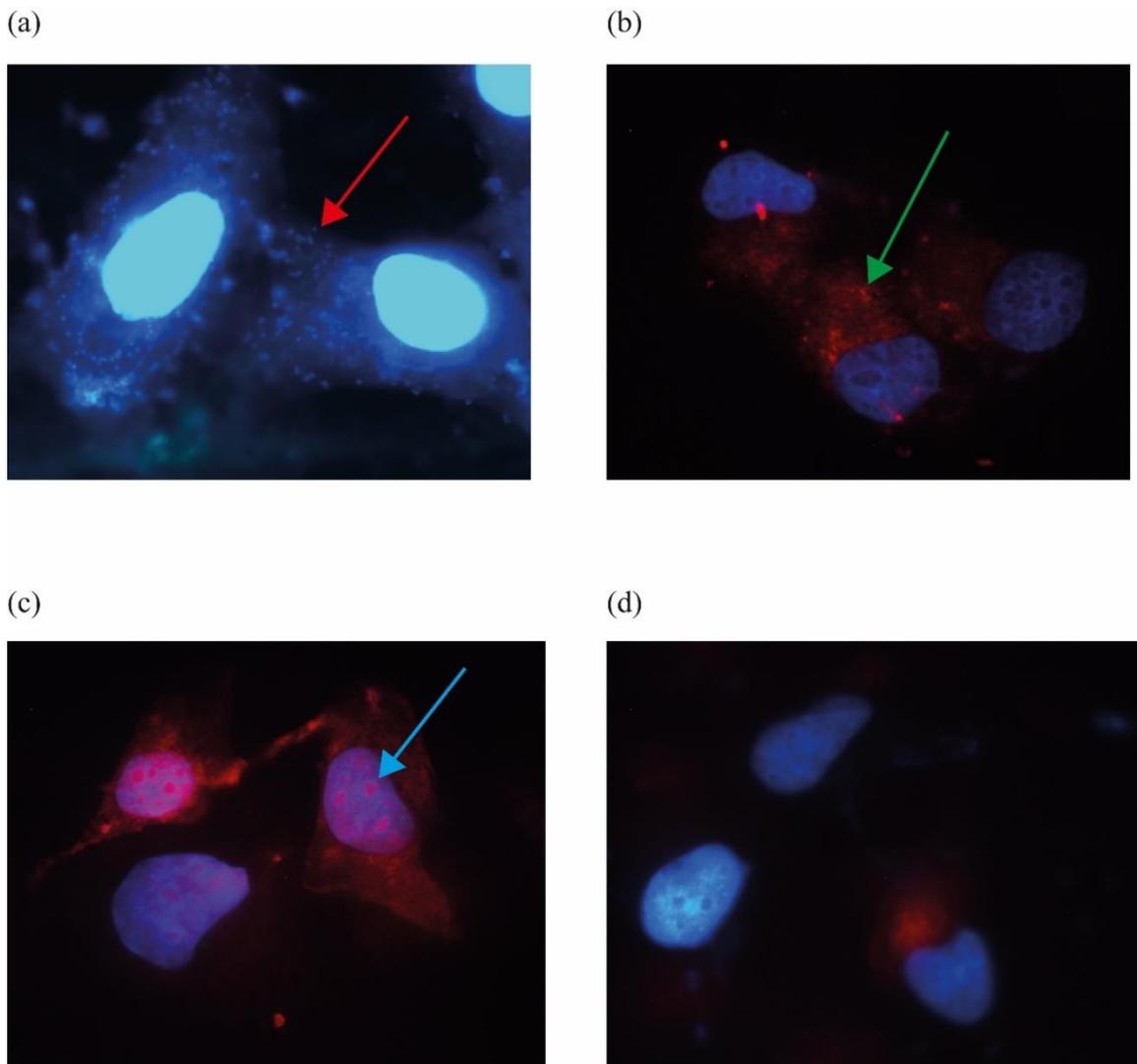


Fonte: Autor.

A figura 5.12 mostra os CDs incorporados nas células, para melhor visualização seu núcleo foi marcado com DAPI. Na figura 5.12a temos os C-CDs em 303 K, onde podemos observar que as células incorporaram os C-CDs, fazendo assim com que seu citoplasma fosse marcado. Os pequenos pontos (seta vermelha) indicam que a célula fagocitou (ingeriu) os C-

CDs. O que pode sugerir uma aplicação em estudos de transporte de fármacos, indicando se eles foram fagocitados pela célula ou não. A figura 5.12b mostra os mesmos C-CDs, porém agora, após sofrerem o aquecimento de 453 K. Assim como vimos anteriormente, com o tratamento térmico a fluorescência sofreu um deslocamento para o estado de menor energia, fazendo assim com que sua luminescência tenha o desvio para o vermelho. Quando os C-CDs foram incorporados nas células, nota-se, uma marcação no citoplasma, e o mesmo indício de que as células fagocitaram (seta verde) os pontos quânticos de carbono, entretanto, agora sua emissão está no vermelho, fazendo assim com que se diferencie do DAPI. Assim temos para o mesmo tipo de CDs marcações no citoplasma com emissões diferentes.

**Figura 5. 12:** Perfil de coloração de células HTR-8/SVneo. (a) C-CDs a 303 K, (b) C-CDs a 453 K, (c) D-CDs a 303 K, e (d) D-CDs a 453 K.



A figura 5.12c temos D-CDs em 303 K, onde podemos observar uma marcação no citoplasma das células e, ao contrário dos C-CDs, esses são incorporados por difusão (entrada de maneira “amigável”), além disso ela conseguiu incorporar no núcleo das células (seta azul). A figura 5.12d mostra D-CDs, após sofrerem um tratamento térmico. Esses D-CDs não foram bem incorporados pelas células, fazendo com que pouco material fosse aderido no citoplasma.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Este trabalho teve como objetivo principal analisar os efeitos ópticos e estruturais apresentados em diferentes CDs, provocado quando submetido a um aumento de temperatura.

Para os Q-CDs, utilizamos a espectroscopia de fluorescência, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, espectroscopia de absorção, microscopia de força atômica, microscopia eletrônica de transmissão e EDX para avaliar as alterações provocadas pelo aumento da temperatura. Inicialmente, foi possível ver o desvio para o vermelho com aumento da temperatura. Após o primeiro aquecimento, a PL permanece inalterada, mesmo reaquecendo os CDs. Ajustamos a PL a partir de duas gaussianas, onde foi possível analisar o gap de energia de energia das bandas I e II. Utilizando a equação de O'Donnell e Chen verificamos um baixo acoplamento elétron-fônon. A largura de banda mostrou que quase não existe variação com a temperatura, nos levando a concluir que existe uma forte interação elétron-elétron. O AFM mostrou que não existe variação em seu tamanho ou morfologia antes e após o aquecimento. O espectro de FTIR revelou que todas as ligações permanecem mesmo após o aquecimento; já a absorção mostra o surgimento de um novo pico em 350 nm, o que indica mudança no estado de superfície, corroborando para interação elétron-elétron.

Para os C-CDs, observamos uma emissão independente da excitação e também foi possível verificar um desvio para o vermelho com o aumento da temperatura. Entretanto, esse desvio foi de aproximadamente 60 nm, sendo este bem superior aos Q-CDs. Avaliando as bandas I e II, quando realizado o ajuste gaussiano, temos a partir da equação de O'Donnell e Chen um baixo acoplamento elétron-fônon, proveniente de seu baixo fator de Huang. Porém, sua largura de banda demonstrou uma dependência com a temperatura, e sendo assim, tivemos que considerar o termo homogêneo e não homogêneo da equação para largura de banda. Por apresentar valores baixos, temos assim uma interação mais forte de elétron-elétron. Pelas imagens de TEM, verificou-se um aumento no tamanho médio, que passa de 3,5 nm em 303 K para 5 nm em 453 K, sendo este relacionado a um dos fatores para que se tenha o desvio para o vermelho. O seu espectro de absorção apresentou uma mudança no perfil, nos levando a concluir que houve uma alteração nos estados de superfície; este fato posteriormente é reforçado com a análise do FTIR. Eles mostraram uma boa viabilidade celular, o aquecido em 303 K à medida que a concentração aumenta há uma grande queda na viabilidade enquanto o aquecido em 453 K mantém mais estável. Os dois mostraram uma marcação no citoplasma celular, onde o em 303 K emitiu no azul e o em 453 K emitiu no vermelho, além disso a

fagocitação dos C-CDs pela célula mostra que ambos são promissores para aplicação em transporte de fármacos.

Os D-CDs, ao contrário dos outros dois CDs, apresentou um desvio para o azul quando submetido a um aumento da temperatura. A equação de O'Donnell e Chen não pode ser usada nessa situação, então propomos que esse desvio para o azul era devido ao aumento dos grupos oxigenados na superfície. A largura de banda não demonstrou variação com a temperatura, nos levando a concluir que houve uma forte interação elétron-elétron. Analisando as imagens de TEM, vimos que não existe variação no seu tamanho. O FTIR nos mostrou um aumento nos grupos oxigenados, confirmando assim a nossa hipótese. Eles mostraram uma boa viabilidade celular, tanto o aquecido em 303 K e o aquecido em 453 K, entretanto apenas o primeiro possui uma marcação eficiente no citoplasma, o aquecido em 453 K pode não ter uma boa aderência devido a mudança nos estados de superfície.

Como perspectiva de trabalhos futuros, já estão sendo realizados experimentos com materiais biológicos para aplicação dos CDs como marcador celular, afim de determinar quais organelas eles podem aderir. Além disso, pretende-se avaliar os efeitos de corrente elétrica quando os CDs forem submetidos a um potencial, para ver a dependência de quando é excitado com uma fonte de luz. Há trabalhos também relacionados à pH e aplicações dos CDs em marcadores de metais.

**REFERÊNCIAS**

- 1 SCHULZ, P. A. Nanomateriais e a interface entre nanotecnologia e ambiente. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia (Health Surveillance under Debate: Society, Science & Technology)–Visa em Debate**, v. 1, n. 4, p. 53-58, 2013. ISSN 2317-269X.
- 2 ZARBIN, A. J. Química de (nano) materiais. **Química nova**, v. 30, n. 6, p. 1469-1479, 2007. ISSN 0100-4042.
- 3 FEYNMAN, R. P. There's plenty of room at the bottom. **California Institute of Technology, Engineering and Science magazine**, 1960.
- 4 HOLZINGER, M.; LE GOFF, A.; COSNIER, S. Nanomaterials for biosensing applications: a review. **Frontiers in chemistry**, v. 2, p. 63, 2014. ISSN 2296-2646.
- 5 BINNIG, G.; ROHRER, H. Scanning tunneling microscopy. **IBM Journal of research and development**, v. 44, n. 1/2, p. 279, 2000. ISSN 0018-8646.
- 6 \_\_\_\_\_. Scanning tunneling microscopy. **Surface science**, v. 126, n. 1-3, p. 236-244, 1983. ISSN 0039-6028.
- 7 EIGLER, D. M.; SCHWEIZER, E. K. Positioning single atoms with a scanning tunnelling microscope. **Nature**, v. 344, n. 6266, p. 524-526, 1990. ISSN 1476-4687.
- 8 SCHMID, G. **Nanoparticles: from theory to application**. John Wiley & Sons, 2011. ISBN 3527632360.
- 9 TIWARI, J. N.; TIWARI, R. N.; KIM, K. S. Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. **Progress in Materials Science**, v. 57, n. 4, p. 724-803, 2012. ISSN 0079-6425.

- 10 GOGOTSI, Y. **Nanomaterials handbook**. CRC press, 2017. ISBN 1498703070.
- 11 BOSE, A.; WONG, T. W. Nanotechnology-enabled drug delivery for cancer therapy. In: (Ed.). **Nanotechnology applications for tissue engineering**: Elsevier, 2015. p.173-193.
- 12 STEIGERWALD, M. L.; BRUS, L. E. Synthesis, stabilization, and electronic structure of quantum semiconductor nanoclusters. **Annual Review of Materials Science**, v. 19, n. 1, p. 471-495, 1989. ISSN 0084-6600.
- 13 SURI, S. et al. CHAPTER I. 2.19 MICROPARTICLES AND NANOPARTICLES. **Biotechnology**, v. 19, p. 573-577, 1992.
- 14 LIM, S. Y.; SHEN, W.; GAO, Z. Carbon quantum dots and their applications. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 1, p. 362-381, 2015.
- 15 ZHENG, L. et al. Ultralong single-wall carbon nanotubes. **Nature materials**, v. 3, n. 10, p. 673-676, 2004. ISSN 1476-4660.
- 16 YOO, J. et al. Uniform ALD deposition of Pt nanoparticles within 1D anodic TiO<sub>2</sub> nanotubes for photocatalytic H<sub>2</sub> generation. **Electrochemistry Communications**, v. 86, p. 6-11, 2018. ISSN 1388-2481.
- 17 ABBAS, A. et al. Heavy metal removal from aqueous solution by advanced carbon nanotubes: critical review of adsorption applications. **Separation and Purification Technology**, v. 157, p. 141-161, 2016. ISSN 1383-5866.
- 18 KUMAR, S. et al. Carbon nanotubes: a novel material for multifaceted applications in human healthcare. **Chemical society reviews**, v. 46, n. 1, p. 158-196, 2017.
- 19 MAKAREMI, M. et al. Effect of morphology and size of halloysite nanotubes on functional pectin bionanocomposites for food packaging applications. **ACS applied materials & interfaces**, v. 9, n. 20, p. 17476-17488, 2017. ISSN 1944-8244.

- 20 MUHULET, A. et al. Fundamentals and scopes of doped carbon nanotubes towards energy and biosensing applications. **Materials today energy**, v. 9, p. 154-186, 2018. ISSN 2468-6069.
- 21 WAQAR, S.; WANG, L.; JOHN, S. Piezoelectric energy harvesting from intelligent textiles. In: (Ed.). **Electronic Textiles**: Elsevier, 2015. p.173-197.
- 22 STORTINI, A. et al. Arrays of copper nanowire electrodes: Preparation, characterization and application as nitrate sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 207, p. 186-192, 2015. ISSN 0925-4005.
- 23 ZHANG, L. et al. Synthesis of TiO<sub>2</sub> decorated Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> acicular nanowire arrays and their application as an ethanol sensor. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 3, n. 6, p. 2794-2801, 2015.
- 24 SAJAN, C. P. et al. TiO<sub>2</sub> nanosheets with exposed {001} facets for photocatalytic applications. **Nano Research**, v. 9, n. 1, p. 3-27, 2016. ISSN 1998-0000.
- 25 NOVOSELOV, K. S. et al. Electric field effect in atomically thin carbon films. **science**, v. 306, n. 5696, p. 666-669, 2004. ISSN 0036-8075.
- 26 GARCÍA-CALZÓN, J.; DÍAZ-GARCÍA, M. E. Synthesis and analytical potential of silica nanotubes. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 27-38, 2012. ISSN 0165-9936.
- 27 XU, X. et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 40, p. 12736-12737, 2004. ISSN 0002-7863.
- 28 SUN, Y.-P. et al. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 24, p. 7756-7757, 2006. ISSN 0002-7863.
- 29 YU, P. et al. Temperature-dependent fluorescence in carbon dots. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 48, p. 25552-25557, 2012. ISSN 1932-7447.

- 30 LI, W. et al. A Universal Strategy for Activating the Multicolor Room-Temperature Afterglow of Carbon Dots in a Boric Acid Matrix. **Angewandte Chemie**, v. 131, n. 22, p. 7356-7361, 2019. ISSN 0044-8249.
- 31 LIU, X. et al. Simple approach to synthesize amino-functionalized carbon dots by carbonization of chitosan. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016. ISSN 2045-2322.
- 32 ROY, P. et al. Photoluminescent carbon nanodots: synthesis, physicochemical properties and analytical applications. **Materials Today**, v. 18, n. 8, p. 447-458, 2015. ISSN 1369-7021.
- 33 MINTZ, K. J.; ZHOU, Y.; LEBLANC, R. M. Recent development of carbon quantum dots regarding their optical properties, photoluminescence mechanism, and core structure. **Nanoscale**, v. 11, n. 11, p. 4634-4652, 2019.
- 34 WANG, C. et al. A hydrothermal route to water-stable luminescent carbon dots as nanosensors for pH and temperature. **Carbon**, v. 82, p. 87-95, 2015. ISSN 0008-6223.
- 35 LI, H. et al. Water-soluble fluorescent carbon quantum dots and photocatalyst design. **Angewandte Chemie**, v. 122, n. 26, p. 4532-4536, 2010. ISSN 0044-8249.
- 36 LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. Springer science & business media, 2013. ISBN 1475730616.
- 37 CHEN, D. et al. Excitation-independent dual-color carbon dots: surface-state controlling and solid-state lighting. **Acs Photonics**, v. 4, n. 9, p. 2352-2358, 2017. ISSN 2330-4022.
- 38 SHEN, Y. et al. A comparative study on impact factors of emission: surface state, carbonaceous core, and size based on series of exactly designed P, S co-doped carbon dots. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 20, n. 9, p. 1-10, 2018. ISSN 1572-896X.

- 39 YUAN, K. et al. Surface state modulation of red emitting carbon dots for white light-emitting diodes. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 6, n. 46, p. 12631-12637, 2018.
- 40 DING, H. et al. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism. **ACS nano**, v. 10, n. 1, p. 484-491, 2016. ISSN 1936-0851.
- 41 LI, X. et al. Engineering surface states of carbon dots to achieve controllable luminescence for solid-luminescent composites and sensitive Be<sup>2+</sup> detection. **Scientific reports**, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2014. ISSN 2045-2322.
- 42 HU, R.; LI, L.; JIN, W. J. Controlling speciation of nitrogen in nitrogen-doped carbon dots by ferric ion catalysis for enhancing fluorescence. **Carbon**, v. 111, p. 133-141, 2017. ISSN 0008-6223.
- 43 HOLA, K. et al. Graphitic nitrogen triggers red fluorescence in carbon dots. **ACS nano**, v. 11, n. 12, p. 12402-12410, 2017. ISSN 1936-0851.
- 44 VALEUR, B. Molecular fluorescence. **Digital Encyclopedia of Applied Physics**, p. 477-531, 2003.
- 45 YUAN, T. et al. Carbon quantum dots: an emerging material for optoelectronic applications. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 7, n. 23, p. 6820-6835, 2019.
- 46 ÈFROS, A. L. V. et al. **Semiconductor Nanocrystals: From Basic Principles to Applications**. Springer Science & Business Media, 2003. ISBN 0306477513.
- 47 WOGGON, U. **Optical properties of semiconductor quantum dots**. Springer, 1997. ISBN 3540609067.
- 48 KHARE, A. et al. Size control and quantum confinement in Cu<sub>2</sub>ZnSnS<sub>4</sub> nanocrystals. **Chemical communications**, v. 47, n. 42, p. 11721-11723, 2011.

- 49 LIANG, Q. et al. Easy synthesis of highly fluorescent carbon quantum dots from gelatin and their luminescent properties and applications. **Carbon**, v. 60, p. 421-428, 2013. ISSN 0008-6223.
- 50 KWON, W. et al. Size-controlled soft-template synthesis of carbon nanodots toward versatile photoactive materials. **Small**, v. 10, n. 3, p. 506-513, 2014. ISSN 1613-6810.
- 51 ZHANG, T. et al. The UV absorption of graphene oxide is size-dependent: possible calibration pitfalls. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 3, p. 1-7, 2019. ISSN 1436-5073.
- 52 KRISHNAMOORTHY, K. et al. Investigation of Raman and photoluminescence studies of reduced graphene oxide sheets. **Applied Physics A**, v. 106, n. 3, p. 501-506, 2012. ISSN 1432-0630.
- 53 BHATTACHARYA, A. et al. Size-dependent penetration of carbon dots inside the ferritin nanocages: evidence for the quantum confinement effect in carbon dots. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 19, p. 12833-12840, 2015.
- 54 SK, M. A. et al. Revealing the tunable photoluminescence properties of graphene quantum dots. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 2, n. 34, p. 6954-6960, 2014.
- 55 SHEN, J. et al. One-pot hydrothermal synthesis of graphene quantum dots surface-passivated by polyethylene glycol and their photoelectric conversion under near-infrared light. **New Journal of Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 97-101, 2012.
- 56 SHEN, J. et al. Graphene quantum dots: emergent nanolights for bioimaging, sensors, catalysis and photovoltaic devices. **Chemical communications**, v. 48, n. 31, p. 3686-3699, 2012.
- 57 DU, J. et al. Insight into the effect of functional groups on visible-fluorescence emissions of graphene quantum dots. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 4, n. 11, p. 2235-2242, 2016.

- 58 ZHANG, X. et al. Color-switchable electroluminescence of carbon dot light-emitting diodes. **ACS nano**, v. 7, n. 12, p. 11234-11241, 2013. ISSN 1936-0851.
- 59 SACHDEV, A.; MATAI, I.; GOPINATH, P. Implications of surface passivation on physicochemical and bioimaging properties of carbon dots. **RSC advances**, v. 4, n. 40, p. 20915-20921, 2014.
- 60 JIANG, K. et al. Conversion of Carbon Dots from Fluorescence to Ultralong Room-Temperature Phosphorescence by Heating for Security Applications. **Advanced Materials**, v. 30, n. 26, p. 1800783, 2018. ISSN 0935-9648.
- 61 ZHANG, Y. et al. Excitation wavelength independence: toward low-threshold amplified spontaneous emission from carbon nanodots. **ACS applied materials & interfaces**, v. 8, n. 38, p. 25454-25460, 2016. ISSN 1944-8244.
- 62 KIRAN, S.; MISRA, R. Mechanism of intracellular detection of glucose through nonenzymatic and boronic acid functionalized carbon dots. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 103, n. 9, p. 2888-2897, 2015. ISSN 1549-3296.
- 63 YANG, H. et al. Sulfur-doped carbon quantum dots and derived 3D carbon nanoflowers are effective visible to near infrared fluorescent probes for hydrogen peroxide. **Microchimica Acta**, v. 184, n. 7, p. 2055-2062, 2017. ISSN 1436-5073.
- 64 XU, Y. et al. Reduced carbon dots versus oxidized carbon dots: photo- and electrochemiluminescence investigations for selected applications. **Chem.-Eur. J.**, v. 19, p. 6282-6288, 2013.
- 65 TENG, X. et al. Green synthesis of nitrogen-doped carbon dots from konjac flour with “off-on” fluorescence by Fe<sup>3+</sup> and L-lysine for bioimaging. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 29, p. 4631-4639, 2014.
- 66 D'ANGELIS DO ES BARBOSA, C. et al. Carbon dots (C-dots) from cow manure with impressive subcellular selectivity tuned by simple chemical modification. **Chemistry—A European Journal**, v. 21, n. 13, p. 5055-5060, 2015. ISSN 0947-6539.

- 67 YAN, F. et al. Surface modification and chemical functionalization of carbon dots: a review. **Microchimica Acta**, v. 185, n. 9, p. 1-34, 2018. ISSN 1436-5073.
- 68 WANG, L. et al. A fluorometric aptasensor for bisphenol a based on the inner filter effect of gold nanoparticles on the fluorescence of nitrogen-doped carbon dots. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 1, p. 1-9, 2019. ISSN 1436-5073.
- 69 LIU, Y. et al. Nitrogen doped graphene quantum dots as a fluorescent probe for mercury (II) ions. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 3, p. 1-8, 2019. ISSN 1436-5073.
- 70 WU, W.-C. et al. Nitrogen-doped carbon nanodots prepared from polyethylenimine for fluorometric determination of salivary uric acid. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 3, p. 166, 2019. ISSN 0026-3672.
- 71 NIINO, S. et al. Influence of chemical states of doped nitrogen on photoluminescence intensity of hydrothermally synthesized carbon dots. **Journal of Luminescence**, v. 180, p. 123-131, 2016. ISSN 0022-2313.
- 72 ZHOU, X. et al. Nitrogen-doped carbon dots with high quantum yield for colorimetric and fluorometric detection of ferric ions and in a fluorescent ink. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 2, p. 67, 2019. ISSN 0026-3672.
- 73 SABERI, Z.; REZAEI, B.; ENSAFI, A. A. Fluorometric label-free aptasensor for detection of the pesticide acetamiprid by using cationic carbon dots prepared with cetrimonium bromide. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 5, p. 1-7, 2019. ISSN 1436-5073.
- 74 LU, K.-H. et al. A fluorometric paper test for chromium (VI) based on the use of N-doped carbon dots. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 4, p. 1-7, 2019. ISSN 1436-5073.
- 75 JIANG, K. et al. Red, green, and blue luminescence by carbon dots: full-color emission tuning and multicolor cellular imaging. **Angewandte chemie**, v. 127, n. 18, p. 5450-5453, 2015. ISSN 0044-8249.

- 76 PAN, L. et al. Truly fluorescent excitation-dependent carbon dots and their applications in multicolor cellular imaging and multidimensional sensing. **Advanced materials**, v. 27, n. 47, p. 7782-7787, 2015. ISSN 0935-9648.
- 77 HU, C. et al. One-step preparation of nitrogen-doped graphene quantum dots from oxidized debris of graphene oxide. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 1, n. 1, p. 39-42, 2013.
- 78 LIU, C. et al. Orange, yellow and blue luminescent carbon dots controlled by surface state for multicolor cellular imaging, light emission and illumination. **Microchimica Acta**, v. 185, n. 12, p. 1-8, 2018. ISSN 1436-5073.
- 79 HU, Y. et al. Waste frying oil as a precursor for one-step synthesis of sulfur-doped carbon dots with pH-sensitive photoluminescence. **Carbon**, v. 77, p. 775-782, 2014. ISSN 0008-6223.
- 80 LI, H. et al. Sulfated Carbon Quantum Dots as Efficient Visible-Light Switchable Acid Catalysts for Room-Temperature Ring-Opening Reactions. **Angewandte Chemie**, v. 127, n. 29, p. 8540-8544, 2015. ISSN 0044-8249.
- 81 GAO, H. et al. Synthesis of S-doped graphene by liquid precursor. **Nanotechnology**, v. 23, n. 27, p. 275605, 2012. ISSN 0957-4484.
- 82 ZHANG, J.; YU, S.-H. Carbon dots: large-scale synthesis, sensing and bioimaging. **Materials Today**, v. 19, n. 7, p. 382-393, 2016. ISSN 1369-7021.
- 83 BAO, L. et al. Photoluminescence-tunable carbon nanodots: surface-state energy-gap tuning. **Advanced Materials**, v. 27, n. 10, p. 1663-1667, 2015. ISSN 0935-9648.
- 84 MIAO, X. et al. Red emissive sulfur, nitrogen codoped carbon dots and their application in ion detection and theranostics. **ACS applied materials & interfaces**, v. 9, n. 22, p. 18549-18556, 2017. ISSN 1944-8244.

- 85 WALEKAR, L. S. et al. Selenium and nitrogen co-doped carbon quantum dots as a fluorescent probe for perfluorooctanoic acid. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 5, p. 1-9, 2019. ISSN 1436-5073.
- 86 JIA, Y. et al. Boron doped carbon dots as a multifunctional fluorescent probe for sorbate and vitamin B12. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 2, p. 1-10, 2019. ISSN 1436-5073.
- 87 ZUO, G. et al. Large emission red-shift of carbon dots by fluorine doping and their applications for red cell imaging and sensitive intracellular Ag<sup>+</sup> detection. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 121, n. 47, p. 26558-26565, 2017. ISSN 1932-7447.
- 88 XU, Q. et al. Heteroatom-doped carbon dots: synthesis, characterization, properties, photoluminescence mechanism and biological applications. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 45, p. 7204-7219, 2016.
- 89 WANG, M.; MENG, G. Fluorescence “turn on” detection of Cr<sup>3+</sup> using N-doped-CDs and graphitic nanosheet hybrids. **RSC advances**, v. 6, n. 76, p. 72728-72732, 2016.
- 90 LIU, Y. et al. Yellow emissive carbon dots with quantum yield up to 68.6% from manganese ions. **Carbon**, v. 135, p. 253-259, 2018. ISSN 0008-6223.
- 91 O'DONNELL, K.; CHEN, X. Temperature dependence of semiconductor band gaps. **Applied physics letters**, v. 58, n. 25, p. 2924-2926, 1991. ISSN 0003-6951.
- 92 WEN, X. et al. Structure-correlated dual fluorescent bands in BSA-protected Au<sub>25</sub> nanoclusters. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 21, p. 11830-11836, 2012. ISSN 1932-7447.
- 93 VARSHNI, Y. P. Temperature dependence of the energy gap in semiconductors. **physica**, v. 34, n. 1, p. 149-154, 1967. ISSN 0031-8914.

- 94 MANOOGIAN, A.; LECLERC, A. Determination of the dilation and vibrational contributions to the energy band gaps in germanium and silicon. **physica status solidi (b)**, v. 92, n. 1, p. K23-K27, 1979. ISSN 0370-1972.
- 95 WEN, X. et al. Temperature dependent spectral properties of type-I and quasi type-II CdSe/CdS dot-in-rod nanocrystals. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 14, n. 10, p. 3505-3512, 2012.
- 96 SALVADOR, M. R.; GRAHAM, M. W.; SCHOLES, G. D. Exciton-phonon coupling and disorder in the excited states of CdSe colloidal quantum dots. **The Journal of chemical physics**, v. 125, n. 18, p. 184709, 2006. ISSN 0021-9606.
- 97 MCKIMMIE, L. J. et al. Three-pulse photon echo peak shift measurements of capped CdSe quantum dots. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 1, p. 82-88, 2010. ISSN 1932-7447.
- 98 KUBITSCHECK, U.; PETERS, R. **Fluorescence microscopy**. Wiley Online Library, 2013. ISBN 3527671609.
- 99 MURPHY, D. B. **Fundamentals of light microscopy and electronic imaging**. John Wiley & Sons, 2002. ISBN 047123429X.
- 100 BALDEWECK, T. et al. **Multiphoton Microscopy and Fluorescence Lifetime Imaging: Applications in Biology and Medicine**. Walter de Gruyter GmbH & Co KG, 2018. ISBN 3110429985.
- 101 RUEDAS-RAMA, M. J. et al. Fluorescent nanoparticles for intracellular sensing: a review. **Analytica chimica acta**, v. 751, p. 1-23, 2012. ISSN 0003-2670.
- 102 ZHOU, J. et al. Carbon dots doped with heteroatoms for fluorescent bioimaging: a review. **Microchimica Acta**, v. 184, n. 2, p. 343-368, 2017. ISSN 1436-5073.
- 103 FU, M. et al. Carbon dots: a unique fluorescent cocktail of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Nano letters**, v. 15, n. 9, p. 6030-6035, 2015. ISSN 1530-6984.

- 104 ZHANG, Y.; HE, J. Facile synthesis of S, N co-doped carbon dots and investigation of their photoluminescence properties. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 31, p. 20154-20159, 2015.
- 105 DAVI, L. et al. Multifunctional carbon dots derived from dansyl chloride for ratiometric thermal sensor and reactive oxygen generation. **Dyes and Pigments**, p. 109549, 2021. ISSN 0143-7208.
- 106 SHARMA, A.; SCHULMAN, S. G. Introduction to fluorescence spectroscopy. **New York**, 1999.
- 107 LAKOWICZ, J. R. **Topics in fluorescence spectroscopy: principles**. Springer Science & Business Media, 1992. ISBN 0306438755.
- 108 FAIX, O. Fourier transform infrared spectroscopy. In: (Ed.). **Methods in lignin chemistry**: Springer, 1992. p.83-109.
- 109 SMITH, B. C. **Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy**. CRC press, 2011. ISBN 1420069306.
- 110 PERKAMPUS, H.-H. **UV-VIS Spectroscopy and its Applications**. Springer Science & Business Media, 2013. ISBN 3642774776.
- 111 FÖRSTER, H. UV/vis spectroscopy. In: (Ed.). **Characterization I**: Springer, 2004. p.337-426.
- 112 RUGAR, D.; HANSMA, P. Atomic force microscopy. **Physics today**, v. 43, n. 10, p. 23-30, 1990. ISSN 0031-9228.
- 113 EATON, P.; WEST, P. **Atomic force microscopy**. Oxford university press, 2010. ISBN 0199570450.

- 114 **SOUZA, S. T. D. MICROSCOPIAS DE VARREDURA POR SONDAS APLICADAS A ESTUDOS DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS, VÍTREAS E CERÂMICAS.** 2014. Instituto de Física, Universidade Federal de Alagoas
- 115 **HORCAS, I. et al. WSXM: a software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. Review of scientific instruments,** v. 78, n. 1, p. 013705, 2007. ISSN 0034-6748.
- 116 **HAYAT, M. E. Basic techniques for transmission electron microscopy.** Elsevier, 2012. ISBN 0323150292.
- 117 **DE GRAEF, M. Introduction to conventional transmission electron microscopy.** Cambridge university press, 2003. ISBN 0521620066.
- 118 **RUSS, J. C. Fundamentals of energy dispersive X-ray analysis: Butterworths monographs in materials.** Butterworth-Heinemann, 2013. ISBN 1483164004.
- 119 **RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in polymer science,** v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006. ISSN 0079-6700.
- 120 **NARAYANASWAMY, A.; FEINER, L.; VAN DER ZAAG, P. Temperature dependence of the photoluminescence of InP/ZnS quantum dots. The Journal of Physical Chemistry C,** v. 112, n. 17, p. 6775-6780, 2008. ISSN 1932-7447.
- 121 **YU, P. et al. Temperature-dependent fluorescence in Au<sub>10</sub> nanoclusters. The Journal of Physical Chemistry C,** v. 116, n. 11, p. 6567-6571, 2012. ISSN 1932-7447.
- 122 **ZHONG, G. et al. Temperature-dependent photoluminescence of organic light-emitting materials: Types and characteristics of excitons involved in the emitting process. Chemical physics letters,** v. 420, n. 4-6, p. 347-353, 2006. ISSN 0009-2614.
- 123 **LIM, S.-H.; BJORKLUND, T. G.; BARDEEN, C. J. Temperature-dependent exciton dynamics in poly (p-phenylene vinylene) measured by femtosecond transient**

spectroscopy. **Chemical physics letters**, v. 342, n. 5-6, p. 555-562, 2001. ISSN 0009-2614.

<sup>124</sup> SU, L.-X. et al. Temperature-dependent fluorescence in nanodiamonds. **Applied Physics Express**, v. 10, n. 2, p. 025102, 2017. ISSN 1882-0786.

<sup>125</sup> DO NASCIMENTO, R. F. et al. Tuning the Optical and Electrical Properties of rGO-CdSe/CdS Ultrasmall Quantum Dot Nanocomposites. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 125, n. 12, p. 6805-6811, 2021. ISSN 1932-7447.