



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

NATALIA DA ROCHA PIRES

**NANOPARTÍCULAS FLUORESCENTES DE CARBONO A PARTIR DA GOMA DO
CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*)**

FORTALEZA

2019

NATALIA DA ROCHA PIRES

NANOPARTÍCULAS FLUORESCENTES DE CARBONO A PARTIR DA GOMA DO
CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química.

Orientadora: Profa. Dra. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha.

Co-Orientadora: Profa. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P746n Pires, Natalia da Rocha.

Nanopartículas fluorescentes de carbono a partir da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) / Natalia da Rocha Pires. – 2019.

97 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha.

Coorientação: Profa. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa.

1. Carbon dots. 2. Goma do cajueiro. 3. Micro-ondas. 4. Nanopartículas de prata. 5. Fluorescência. I. Título.

CDD 540

NATALIA DA ROCHA PIRES

NANOPARTÍCULAS FLUORESCENTES DE CARBONO A PARTIR DA GOMA DO
CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em: 28/09/2018.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa (Co-orientadora)
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Dr. Geancarlo Zanatta
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Haroldo Cesar Beserra De Paula
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Regina Celia Monteiro De Paula
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e a criação de tudo.

Aos meus pais, Francisco e Lourdes por todo amor. Pela dedicação incomensurável na minha educação.

À minha irmã Rita por toda a doação que foi fundamental para o meu crescimento pessoal e profissional.

À toda minha família, tios, tias e avós (*in memoriam*).

À minha orientadora Pablyana Cunha, pelo acolhimento desde o meu primeiro ano de iniciação científica. Pela confiança depositada no meu trabalho e incentivo em todas as etapas da minha vida acadêmica. Por sua paciência, dedicação, carinho e amizade.

À professora Judith Feitosa pela idealização desse trabalho e pelos anos de orientação e co-orientação, e por sua grande contribuição nos meus trabalhos de pesquisa, por todo aprendizado e apoio durante todos esses anos.

Às professoras do Laboratório de Polímeros Regina Célia e Jeanny Maciel, por todo o suporte e disponibilidade.

Ao Venícios, meu amor, amigo, confidente e companheiro, por todo seu amor, apoio e incentivo em todos os momentos (todos mesmo). Pelas nossas longas conversas científicas (e políticas, e literárias, e filosóficas) e por sua contribuição direta em todas as etapas de realização deste trabalho.

À minha amiga Nadia Aline, por nossas conversas e risadas durante todos esses anos de amizade sólida e sincera.

À minha amiga Rayane, por seu companheirismo seja nos momentos de lazer seja no trabalho de bancada, independente do dia e da hora, para a realização desse trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório Polímeros - LabPol, pelo auxílio em diversos momentos da realização dos experimentos desse trabalho, e também pelo carinho e pelos momentos de descontração.

Ao Departamento de Química Analítica e Físico-Química, em especial à Professora Fátima Gomes, pela oportunidade e confiança e aos meus colegas de trabalho, Regina Fátima, Bosco, Penha, Marcelo, Dafne, Cristina, Andréa e Tiago, pela paciência, compreensão e descontração, me ajudando a conduzir mais tranquilamente esses últimos meses de escrita.

Às alunas Agnes Nobre e Valesca dos Santos e à Professora Ana Lúcia Freitas, do Laboratório de Proteínas e Carboidratos de Algas Marinhas do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular-UFC, pelos ensaios de atividade antioxidante.

Ao Professor Diego Wilker e aos profissionais Danilo Rocha e Giovanna Riello do NPDM-UFC, pela parceria e pelas análises de citotoxicidade.

Ao técnico Douglas Silva, do IQ-Unicamp, pelas análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

À técnica Elis Cristina pelas análises de infravermelho tão prontamente realizadas.

Ao CNPq pela bolsa concedida e à CAPES e FUNCAP pelo apoio financeiro.

Ao INOMAT/CNPq pelas análises de MET e pelo suporte financeiro.

“A ciência é uma disposição de aceitar os fatos mesmo quando eles são opostos aos desejos”

(BurrhusFrederic Skinner)

RESUMO

Desde a sua descoberta no ano de 2004, os pontos quânticos de carbono ou *carbon dots* (CD) têm atraído a atenção da comunidade científica por suas propriedades luminescentes diferenciadas que ampliam sua aplicação em técnicas de bioimagem, sensores, carreadores de fármaco, dentre outras. Os CD são uma alternativa aos pontos quânticos inorgânicos ou *quantum dots* (QD) produzidos geralmente com cádmio (CdSe) cuja toxicidade limita seu uso para aplicações biológicas. Muitas rotas de obtenção têm sido propostas para a produção de CD a partir de carboidratos. Esse trabalho propõe a produção de nanopartículas fluorescentes de carbono, a partir da goma do cajueiro bruta (GCB) por aquecimento em micro-ondas. A solução de GCB 5% foi aquecida por 10, 20, 40 e 60 min. O material seco após o aquecimento apresentou variação de cor de amarelo a marrom indicando que a formação dos grupos fluoróforos dá-se pela caramelização do polissacarídeo. O material foi dissolvido em água e centrifugado (NP10, NP20, NP40 e NP60) e parte dele precipitado com acetona (NP10P, NP20P, NP40P e NP60P). A precipitação diminuiu o diâmetro das nanopartículas e o índice de polidispersividade é duas vezes menor e o potencial zeta ($P\zeta$), sempre negativo, aumenta em módulo. O rendimento quântico não apresenta variação após a precipitação e a massa molar de pico tende a diminuir. Com o aumento do tempo de aquecimento formaram-se partículas com maior rendimento quântico (0,45%-1,04%), menor tamanho (282 nm-111 nm) e maior $P\zeta$ em módulo (14 mV-24 mV) e houve redução da massa molar de 10^4 para 10^3 g/mol. Observou-se a dependência da emissão de luminescência com a excitação, característica de CD. Os espectros de infravermelho mostraram banda de éster e redução das ligações glicosídicas e do anel piranosídico com o tempo de aquecimento que indicam depolimerização e abertura de anel para produção dos fluoróforos por caramelização. Amostras obtidas com 40 minutos apresentaram as melhores propriedades além de não serem citotóxicas e apresentarem atividade antioxidante. As NP40 mostraram poder redutor e estabilizante de nanopartículas de prata, por síntese verde em meio neutro, mostrando-se promissoras para aplicações biológicas de bioimagem, carreador de fármaco ou sensores.

Palavras-chave: *Carbon dots*. Goma do cajueiro. Micro-ondas. Nanopartículas de prata. Fluorescência.

ABSTRACT

Since its discovery in 2004, carbon quantum dots or carbon dots (CD) have attracted much attention from the scientific community for its unique luminescent properties that expand its application in bio-imaging techniques, sensors, drug carriers, among others. CD are an alternative to inorganic quantum dots (QD) usually based on cadmium (CdSe) whose toxicity limits its use in biological applications. Several routes have been proposed for CD production from carbohydrate. This work proposes the production of fluorescent carbon nanoparticles from the raw cashew gum (RCG) by microwave heating. RCG 5% solution was heated for 10, 20, 40 and 60 min. The dried material after heating showed variation in color from yellow to brown indicating that the formation of fluorophores groups gives up the polysaccharide caramelization. The material was dissolved in water and centrifuged (NP10, NP20, NP40 and NP60) and part of it was precipitated with acetone (NP10P, NP20P, NP40P and NP60P). Precipitation decreased the nanoparticles diameter and polydispersity index was twice lower and zeta potential ($P\zeta$), always negative, increased in module. The quantum yield did not change after precipitation and peak molar mass decreased. Higher heating time formed particles with higher quantum yield (0.45%-1.04%), smaller size (282 nm-111 nm) and higher zeta potential (-14 mV and -24 mV), molar mass also decreased with the heating time (10^4 to 10^3 g/mol). Excitation-wavelength dependent fluorescence characteristic of CD was observed. The infrared spectra showed ester band which increased with heating time and glycosidic linkage were broken and pyranosidic ring was opened, indicating depolymerization to produce fluorophores by caramelization. Samples from 40 minutes heating presented the best features from the data presented, besides their non-toxicity and antioxidant activity. NP40 presented a reducing and stabilizing power on silver nanoparticles synthesis, by green synthesis in mild conditions of neutral medium, being promising to biological applications in bioimaging, drug carrier or sensors.

Keywords: Carbon dots. Cashew gum. Microwave. Silver nanoparticles. Fluorescence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Variação da fotoluminescência de <i>quantum dots</i> de CdSe com seu tamanho e diferença entre as bandas de condução do material bruto e as distribuições discretas para o material em escala manométrica.....	17
Figura 2	– Primeira detecção de pontos quânticos de carbono durante a purificação de nanotubos de carbono (a) e a dependência do comprimento de onda de emissão com a excitação de pontos quânticos de carbono (b).....	18
Figura 3	– Número de artigos publicados e de citações contendo no título o termo “carbon-dot” a partir da base de dados <i>Web of Knowledge</i> , contemplando os anos de 2009 a agosto de 2018.....	19
Figura 4	– Métodos de obtenção <i>bottom up</i> e <i>top down</i> para nanopartículas fluorescentes de carbono.....	20
Figura 5	– Orientação de moléculas e íons com o campo elétrico durante o aquecimento por micro-ondas.....	24
Figura 6	– Representação do estado excitado singleto e tripleto (a) e representação genérica do diagrama de Jablonski (b).....	26
Figura 7	– Estruturas de substâncias fluorescentes utilizadas como padrão de fluorescência e suas soluções, sob radiação ultra-violeta.....	27
Figura 8	– Compostos furânicos formados durante a caramelização de carboidratos.....	28
Figura 9	– Mecanismo de formação do hidroximetilfurfural (HMF) a partir da unidade β -D-glicose.....	28
Figura 10	– Exemplo de obtenção de nanopartículas fluorescentes de carbono obtidas por caramelização de carboidratos.....	29
Figura 11	– Principais açúcares constituintes do polissacarídeo da goma do cajueiro bruta (a) e seu possível arranjo na estrutura do polissacarídeo (b).....	32
Figura 12	– Produtos obtidos pela degradação térmica da arabinose.....	33
Figura 13	– Esquema de obtenção das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP) por aquecimento em micro-ondas a partir da goma do cajueiro bruta (GCB).....	37

Figura 14 – Representação esquemática do processo de obtenção das nanopartículas de prata (NPAg) a partir das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP).....	44
Figura 15 – Material seco obtido após os diferentes tempos de aquecimento em micro-ondas (a) e valores de massa seca obtidos após cada tempo de aquecimento (b).....	45
Figura 16 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para a goma do cajueiro bruta na concentração utilizada para a produção das nanopartículas (a) e para as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento após centrifugação (b).....	46
Figura 17 – Distribuições de tamanho de partícula para a goma do cajueiro bruta (GCB) e para as nanopartículas obtidas após a centrifugação, nos diferentes tempos de aquecimento.....	48
Figura 18 – Esquema de distribuição iônica ao redor de uma partícula carregada.....	49
Figura 19 – Espectros de emissão variando o comprimento de onda de excitação de 320 a 520 nm, para as dispersões obtidas após centrifugação em diferentes tempos de aquecimento.....	51
Figura 20 – Cromatogramas para as amostras obtidas com diferentes tempos de aquecimento e após centrifugação, obtidos a partir de detector de índice de refração (IR).....	53
Figura 21 – Cromatogramas obtidos com os detectores de índice de refração (DIR) e na região do ultravioleta (UV) para a goma do cajueiro bruta (GCB) e para as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento e após centrifugação.....	54
Figura 22 – Perfil de redução da massa molar de pico da goma do cajueiro bruta com o aumento do tempo de aquecimento.....	56
Figura 23 – Espectro de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro bruta (GCB) e das amostras obtidas após a centrifugação nos diferentes tempos de aquecimento.....	57

Figura 24 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento após centrifugação seguida de precipitação em comparação com os espectros das mesmas amostras antes da precipitação.....	59
Figura 25 – Espectros de emissão de fluorescência no comprimento de onda de excitação de máxima emissão para as dispersões obtidas antes e após precipitação nos diferentes tempos de aquecimento.....	60
Figura 26 – Comparativo entre os valores de rendimento quântico para as amostras obtidas após centrifugação e após precipitação, nos diferentes tempos de aquecimento.....	61
Figura 27 – Cromatogramas das amostras solubilizadas em água, obtidas antes e após precipitação em acetona, nos diferentes tempos de aquecimento.....	63
Figura 28 – Espectros de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro bruta (GCB) e das amostras obtidas após a centrifugação nos diferentes tempos de aquecimento.....	64
Figura 29 – Espectro de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro bruta (GCB) e dos resíduos obtidos após a precipitação com acetona, nos diferentes tempos de aquecimento.....	66
Figura 30 – Distribuições de tamanho de partícula para as amostras obtidas nos diferentes tempos de aquecimento após a centrifugação (expressas em intensidade) e após precipitação em acetona (expressas em intensidade e número).....	67
Figura 31 – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão das NP40P.....	70
Figura 32 – Sequestro do radical DPPH com o aumento da concentração de goma do cajueiro bruta (GBC) e da amostra NP40 (a) e comparação com o controle (BHT) (b).....	71
Figura 33 – Atividade quelante do íon ferroso (Fe^{2+}) com o aumento da concentração de goma do cajueiro bruta (GCB) e da amostra NP40, em comparação com o controle (EDTA).....	72

Figura 34 – Capacidade antioxidante pela formação do complexo fosfomolibdênio com o aumento da concentração de goma do cajueiro bruta (GCB) e da amostra NP40.....	73
Figura 35 – Inibição de crescimento de células tumorais (HCT-116, PC-3M e B16-F10) e não tumorais (293-A e L929) pelas nanopartículas fluorescente de carbono (NP40).....	74
Figura 36 – Espectros na região do UV-Vis para o progresso, com o tempo, das sínteses de nanopartículas de prata (NPAg) a partir das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP) atuando como agente redutor e estabilizante nas concentrações de 0,5 mg/mL (a) e 1,0 mg/mL (b).....	75
Figura 37 – Dispersões contendo apenas as nanopartículas fluorescentes de carbono e solução de nitrato de prata (a) e dispersões obtidas após 180 min de reação nas concentrações de NP de 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL (b).....	76
Figura 38 – Espectros na região do UV-Vis para o progresso, com o tempo, da síntese de nanopartículas de prata com as nanopartículas fluorescentes de carbono atuando como agente redutor e estabilizante na concentração 1,0 mg/mL.....	77
Figura 39 – Distribuições de tamanho de partícula obtidas por DLS para as amostras em diferentes etapas de obtenção das nanopartículas de prata (NPAg) produzidas com nanopartículas fluorescentes de carbono (NP40) em duas diferentes concentrações, 0,5 mg/L e 1,0 mg/L.....	78
Figura 40 – Efeito do comprimento de onda de excitação nos espectros de emissão da dispersão do nanocompósito NP40-NPAg obtido com as nanopartículas fluorescentes de carbono na concentração de 0,5 mg/mL.....	79
Figura 41 – Efeito do comprimento de onda de excitação nos espectros de emissão do material precipitado (a) e sobrenadante (b) obtidos após a precipitação da dispersão do nanocompósito NP40-NPAg obtido com NP40 na concentração de 0,5 mg/mL.....	80
Figura 42 – Espectros de UV-Vis para o precipitado e o sobrenadante oriundos da precipitação do nanocompósito NP40-NPAg.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Principais condições reacionais de obtenção de pontos quânticos de carbono utilizando micro-ondas doméstico e diâmetro de partícula (d) e rendimento quântico (RQ) para os pontos quânticos de carbono obtidos.....	25
Tabela 2	– Diâmetro de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta (Pζ) para cada uma das dispersões obtidas após centrifugação e em diferentes tempos de aquecimento....	49
Tabela 3	– Rendimento quântico para as nanopartículas obtidas com diferentes tempos de aquecimento após centrifugação.....	52
Tabela 4	– Volume de eluição e massa molar de pico estimada para a goma do cajueiro bruta (GCB) e para as amostras obtidas após centrifugação em diferentes tempos de aquecimento.....	55
Tabela 5	– Principais bandas de absorção da goma do cajueiro bruta (GCB) e das nanopartículas fluorescentes de carbono obtidas após centrifugação, em diferentes tempos de aquecimento.....	57
Tabela 6	– Valores obtidos a partir das propriedades avaliadas para as nanopartículas fluorescentes de carbono obtidas após centrifugação.....	58
Tabela 7	– Volume de eluição e massa molar de pico para a goma do cajueiro bruta e para as amostras antes e depois da precipitação, obtidas com diferentes tempos de aquecimento...	64
Tabela 8	– Razão entre as áreas das bandas de carbonila de éster (1770 cm ⁻¹) e de ácido carboxílico (1633 cm ⁻¹) para as amostras obtidas antes e depois da precipitação.....	65
Tabela 9	– Tamanho de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta (Pζ) para cada uma das dispersões obtidas depois da precipitação para os diferentes tempos de aquecimento.....	68
Tabela 10	– Diâmetro de partícula (d) e índice de polidispersividade (IPd) do sistema compósito de nanopartículas de prata e nanopartículas fluorescentes de carbono (NP40-NPAg) em diferentes etapas de produção do nanocompósito.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD	<i>Carbon Dots</i>
DLS	<i>Dynamic light scattering</i> (Espalhamento dinâmico de luz)
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EFTEM	<i>Energy Ffiltered Transmission Electron Microscopy</i>
GCB	Goma do cajueiro bruta
NP	Nanopartículas fluorescentes de carbono
NP10	NP obtidas com 10 minutos de aquecimento, após centrifugação
NP20	NP obtidas com 20 minutos de aquecimento, após centrifugação
NP40	NP obtidas com 40 minutos de aquecimento, após centrifugação
NP60	NP obtidas com 60 minutos de aquecimento, após centrifugação
NP10P	NP obtidas com 10 minutos de aquecimento, após centrifugação seguida de precipitação
NP20P	NP obtidas com 20 minutos de aquecimento, após centrifugação seguida de precipitação
NP40P	NP obtidas com 40 minutos de aquecimento, após centrifugação seguida de precipitação
NP60P	NP obtidas com 60 minutos de aquecimento, após centrifugação seguida de precipitação
NP40-NP _{Ag}	Nanocompósito obtido com a formação de nanopartículas de prata na presença de NP40 como agente redutor
NP _{Ag}	Nanopartículas de prata
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MTS	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio
RCG	<i>Raw Cashew Gum</i> (Goma do Cajueiro Bruta)
SRB	Sulforodamina B
QD	<i>Quantum dots</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	“Quantum dots”	17
1.2	Pontos quânticos de carbono (<i>carbon quantum dots</i>)	18
1.3	Pontos quânticos de carbono a partir de polissacarídeos	21
1.4	Síntese de pontos quânticos de carbono assistida por micro-ondas	23
1.5	Fluorescência	26
1.6	Caramelização de carboidratos	27
1.7	Atividade antioxidante de nanopartículas fluorescentes de carbono	30
1.8	Citotoxicidade de nanopartículas fluorescentes de carbono	30
1.9	Goma do cajueiro	31
1.10	Materiais híbridos de pontos quânticos de carbono e nanopartículas de prata	33
2	OBJETIVOS	35
2.1	Objetivo geral	35
2.2	Objetivos específicos	35
3	MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1	Materiais	36
3.2	Obtenção das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)	36
3.3	Caracterização das nanopartículas fluorescentes de carbono	37
3.3.1	<i>Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)</i>	37
3.3.2	<i>Espalhamento de luz dinâmico – Tamanho de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e Potencial zeta (Pζ)</i>	37
3.3.3	<i>Espectroscopia de fotoluminescência – Varredura de emissão</i>	37

3.3.4	<i>Espectroscopia de fotoluminescência – Rendimento quântico.....</i>	38
3.3.5	<i>Cromatografia de permeação em gel (GPC).....</i>	38
3.3.6	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	39
3.4	Precipitação das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP).....	39
3.4.1	<i>Morfologia e tamanho de partículas por microscopia eletrônica de transmissão (MET).....</i>	39
3.5	Atividade antioxidante in vitro.....	40
3.5.1	<i>Sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).....</i>	40
3.5.2	<i>Ensaio de quelação do íon ferroso.....</i>	41
3.5.3	<i>Ensaio da capacidade antioxidante total pela formação do complexo fosfomolibdênio.....</i>	41
3.6	Avaliação de citotoxicidade pelo ensaio da sulforodamina B (SRB).....	42
3.7	Síntese de nanopartículas de prata (NPAg)com nanopartículas fluorescentes de carbono (NP).....	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1	Obtenção das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP).....	45
4.2	Caracterização das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP).	46
4.2.1	<i>Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis.....</i>	46
4.2.2	<i>Espalhamento dinâmico de luz – Tamanho de partícula, índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta (Pζ).....</i>	47
4.2.3	<i>Espectrofotometria de fluorescência – Varredura de emissão.....</i>	50
4.2.4	<i>Espectrofotometria de fluorescência – Rendimento quântico.....</i>	52
4.2.5	<i>Cromatografia de permeação em gel (GPC).....</i>	53
4.2.6	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	56
4.3	Precipitação das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP).....	58
4.3.1	<i>Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).....</i>	58
4.3.2	<i>Espectrofotometria de fluorescência – Varredura de emissão e rendimento quântico (RQ).....</i>	60

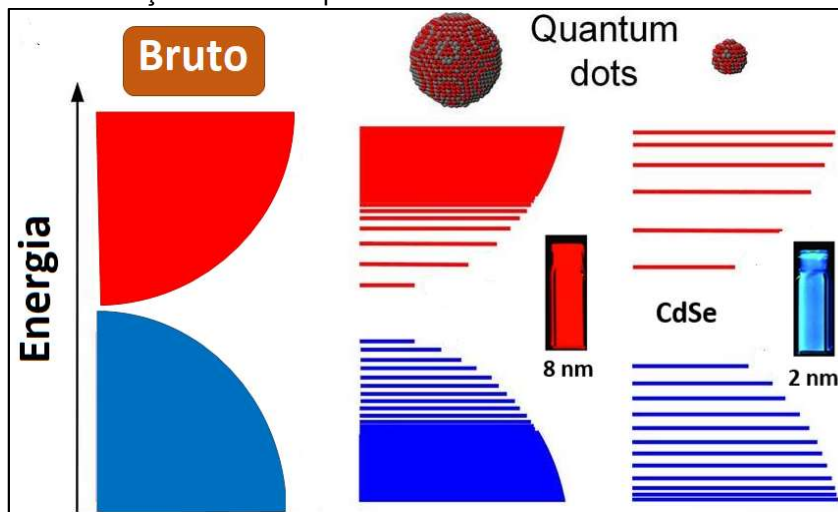
4.3.3	<i>Cromatografia de permeação em gel (GPC)</i>	62
4.3.4	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)</i>	64
4.3.5	<i>Espalhamento dinâmico de luz – Tamanho de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta (Pζ)</i>	67
4.3.6	<i>Morfologia e tamanho de partículas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)</i>	69
4.4	Atividade antioxidante das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP).....	70
4.4.1	<i>Sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)</i>	70
4.4.2	<i>Atividade quelante do íon ferroso (Fe²⁺)</i>	72
4.4.3	<i>Capacidade antioxidante pela formação do complexo fosfomolibdênio</i>	73
4.5	Citotoxicidade das nanopartículas fluorescentes de carbono.....	74
4.6	Nanopartículas fluorescentes de carbono como agente redutor e estabilizante na síntese de nanopartículas de prata.....	75
5	CONCLUSÕES.....	82
	REFERÊNCIAS.....	83
	APÊNDICE A – PUBLICAÇÃO EM PERIÓDICO OBTIDA A PARTIR DOS RESULTADOS INICIAIS QUE SERVIRAM DE BASE PARA O DESENVOLVIMENTO DESSE TRABALHO.....	90
	APÊNDICE B – CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR DE PICO, UTILIZANDO PADRÕES DE PULULANA.....	91
	APÊNDICE C – ESPECTROS DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA PARA AS AMOSTRAS OBTIDAS EM DIFERENTES TEMPOS DE AQUECIMENTO, APÓS PRECIPITAÇÃO.....	92
	APÊNDICE D – DISTRIBUIÇÕES DE TAMANHO OBTIDAS POR ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO PARA AS AMOSTRAS OBTIDAS EM DIFERENTES TEMPO DE AQUECIMENTO, APÓS PRECIPITAÇÃO EM ACETONA.....	93

1 INTRODUÇÃO

1.1 “Quantum dots”

Nos últimos vinte anos muita atenção tem sido dada aos semicondutores nanoestruturados chamados pontos quânticos (*Quantum dots* - QD) devido às suas propriedades optoeletrônicas que por sua vez estão intimamente relacionadas com sua escala nanométrica. Estruturas quânticas são assim chamadas devido à quantização das energias de seus elétrons, que em escala nanométrica leva a variações significativas nas propriedades ópticas e de transporte de energia, que também são dependentes do tamanho da partícula dentro dessa escala. Quando os elétrons são confinados por barreiras nas três direções essas estruturas são chamadas de *quantum dots* (QD) (LAKHTAKIA, 2004), como mostra a Figura 1, para *quantum dots* de seleneto de cádmio (CdSe).

Figura 1 – Variação da fotoluminescência de *quantum dots* de CdSe com seu tamanho e diferença entre as bandas de condução do material bruto e as distribuições discretas para o material em escala nanométrica



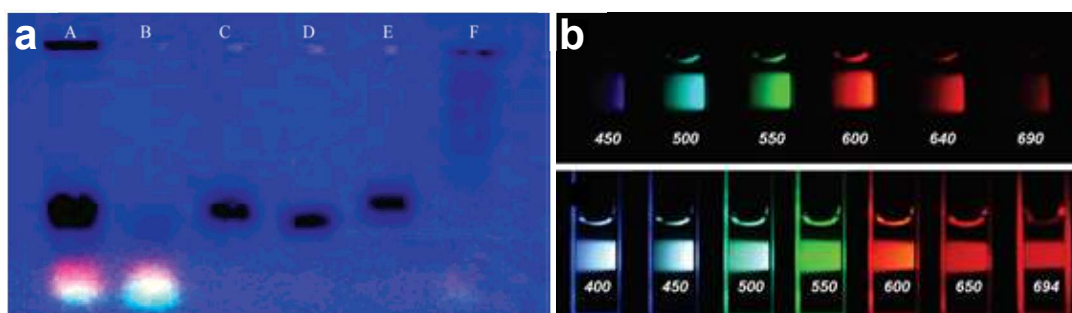
Fonte: Adaptado de KAGAN *et al.*, 2016.

A propriedade fotoluminescente de *quantum dots* torna esse tipo de material de grande interesse para diferentes aplicações, principalmente como biomarcadores e produção de *lasers*. Os *quantum dots* são também chamados de átomos mesoscópicos ou átomos artificiais, indicando que a escala dos estados eletrônicos é bem maior que a constante do retículo do cristal, como ocorre para os átomos (LAKHTAKIA, 2004).

1.2 Pontos quânticos de carbono (*carbon quantum dots*)

Partículas fluorescentes de carbono foram descobertas acidentalmente durante a purificação de nanotubos de carbono e primeiramente reportadas no ano de 2004 por Xu *et al.*(2004) (Figura 2a). Essas partículas foram denominadas pontos quânticos de carbono (*quantum-sized carbon dots*), pela primeira vez, por Sun *et al.*, em 2006, ao explorarem as propriedades fotoluminescentes dessas partículas de carbono obtidas a partir de grafite, por ablação à laser (Figura 2b).

Figura 2 – Primeira detecção de pontos quânticos de carbono durante a purificação de nanotubos de carbono (a) e a dependência do comprimento de onda de emissão com a excitação de pontos quânticos de carbono (b)

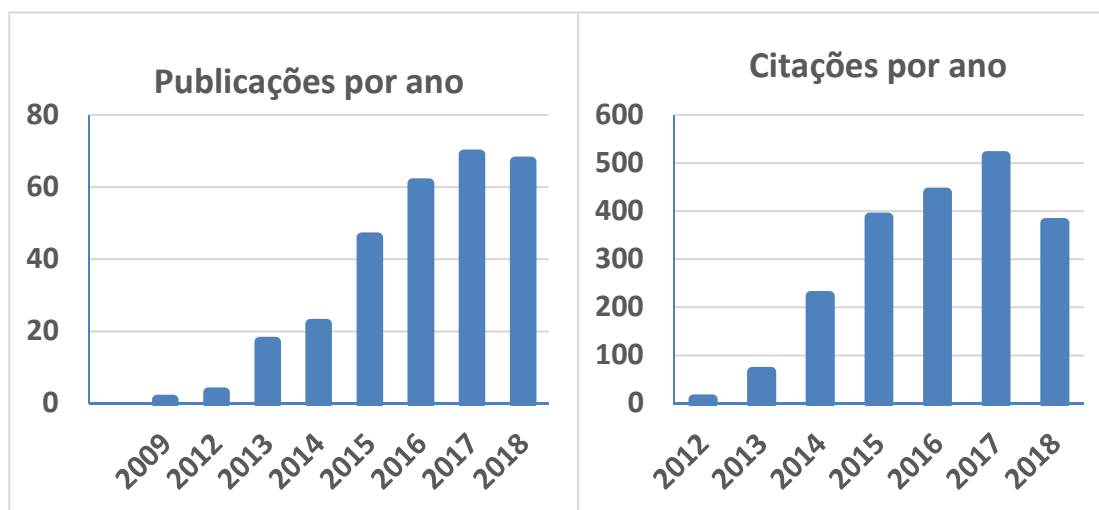


Fonte: a (XU *et al.*, 2004) e b (SUN *et al.*, 2006)

Após a publicação de Sun *et al.*(2006) houve um aumento do número de publicações e citações relacionadas aos pontos quânticos de carbono, como pode ser observado analisando os gráficos gerados utilizando o termo “carbon-dot” como título na base de dados *Web of Knowledge* (FIGURA 3).

Vários métodos de obtenção de pontos quânticos de carbono foram propostos. Inicialmente, os pontos quânticos de carbono foram obtidos a partir de matrizes contendo apenas carbono, como os nanotubos (XU *et al.*, 2004) e pó de grafite (SUN *et al.*, 2006; CAO *et al.*, 2007) ou majoritariamente carbono, como fuligem de vela (LIU;YE; MAO, 2007; BAlet *et al.*, 2011). Por não possuírem outros grupos funcionais, além de C=C e C-C, esses pontos quânticos de carbono apresentaram baixo rendimento quântico. Isso pode ser solucionado pela funcionalização ou passivação, a fim de alcançar rendimentos quânticos mais próximos àqueles obtidos com os pontos quânticos convencionais e melhorar a estabilidade dos CD em solução (FERNANDES; KRYSMANNB; KELARAKIS, 2015).

Figura 3 – Número de artigos publicados e de citações contendo no título o termo *carbon dot* a partir da base de dados *Web of Knowledge*, contemplando os anos de 2009 a agosto de 2018



Fonte: Web of Knowledge, 2018.

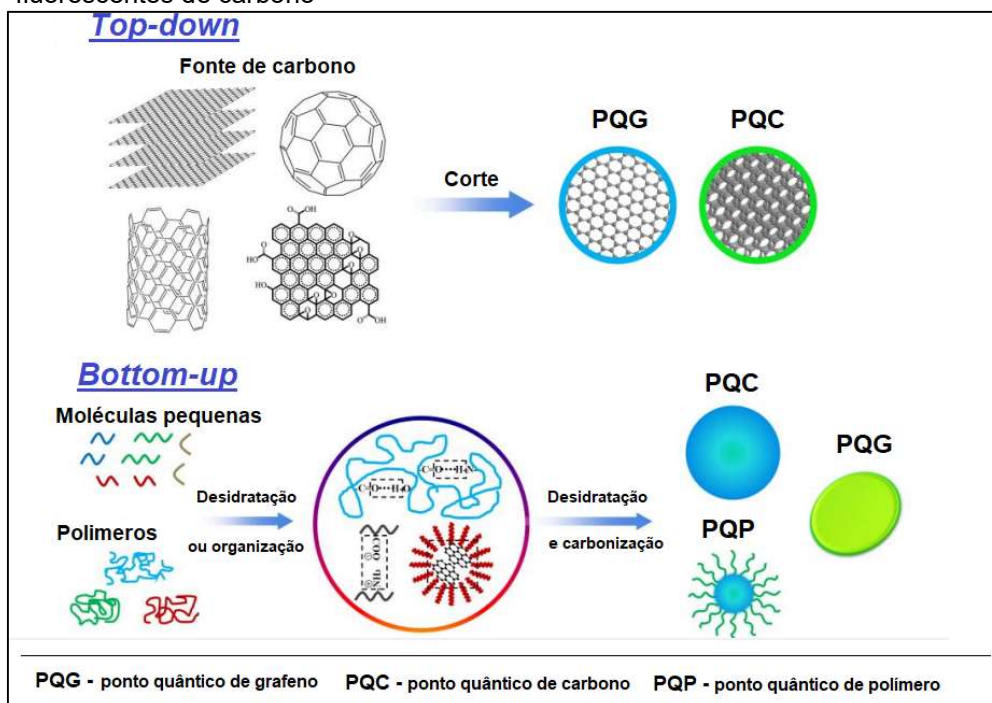
Os pontos quânticos de carbono podem ser passivados (quando da presença de moléculas, geralmente de elevada massa molecular, próximas à superfície do material, sem ligação química, alterando suas propriedades) ou funcionalizados (quando grupos funcionais são ligados à superfície do material conferindo a ele novas propriedades). Essas moléculas podem ser pequenas e de baixa massa molar ou oligômeros e polímeros, como o polietilenoglicol de diferentes massas molares (DIMOS, 2016). Dentre as moléculas pequenas já utilizadas como agentes passivadores tem-se a acetona (CAYUELA; SORIANO; VALCARCEL, 2013) e os compostos Tris (tris(hidroximetil)aminometano) e dietanolamina (ZHANG *et al.*, 2013). A molécula 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanediamine (TTDDA) também foi utilizada para passivação (TAN *et al.*, 2013; QIAO *et al.*, 2010). Em relação aos processos de passivação envolvendo moléculas maiores, o polietilenoglicol (PEG) é o que atrai mais atenção. Foram obtidos pontos quânticos de carbono passivados com PEG₄₀₀₀ (SACHDEV, 2013), PEG₆₀₀₀ (ZHANG *et al.*, 2014), polietilenoglicoldiamino, PEG_{1500N} (YANG *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2010; MAO *et al.*, 2010). O poli(amino amina) (HPAA) hiperamificado também foi utilizado para passivação (TONG *et al.*, 2015), bem como o polietilenoimina (PEI) (LIU *et al.*, 2012) e etilenodiamina, os quais chegam a apresentar rendimento quântico (Φ) comparável aos valores obtidos para pontos quânticos convencionais, alcançando $\Phi = 60\%$ frente ao sulfato de quinina (ZHU *et al.*, 2013). Rendimento quântico ainda

maior foi obtido quando pontos quânticos de carbono que além de passivados com PEG_{1500N} foram também dopados com compostos inorgânicos como sulfeto de zinco (ZnS) e óxido de titânio (TiO₂), atingindo rendimento quântico de 78% quando dopado com ZnS e 70% quando utilizado TiO₂ (ANILKUMAR *et al.*, 2011), valores que equiparam-se à fluoresceína em etanol ($\Phi=79\%$) (KELLOGG, BENNETT, 1964).

Apesar de render bons valores de rendimento quântico e agregar novas propriedades ao material, a obtenção de pontos quânticos de carbonos passivados consiste em uma etapa extra após a obtenção dos CDs e geralmente necessita de mais tempo, temperatura ou até o uso de materiais tóxicos como PEI (polietilenoimina). Portanto, muitas sínteses têm sido propostas, buscando pontos quânticos de carbono sem passivação ou cuja passivação ocorra no momento da formação dos CDs.

A Figura 4 mostra os tipos de métodos utilizados para a produção de nanopartículas fluorescentes de carbono, esses métodos de obtenção são divididos em *top down* e *bottom up*.

Figura 4 – Métodos de obtenção *bottom up* e *top down* para nanopartículas fluorescentes de carbono



Fonte: Adaptado de Zhu *et al.*, 2015.

Quando o material precursor é reduzido a um tamanho menor até escala nanométrica, geralmente dá-se por oxidação, em meio ácido, de nanotubos de carbono, pó de grafite e negro de carbono. Esses materiais apresentam carbono sp²

ligados entre si formando uma estrutura grafitica, que ao ser oxidada e ter seu tamanho reduzido produzem os CD. Outros métodos de obtenção do tipo *top down* são métodos eletroquímicos, a ablação a laser e a descarga por arco. O método *bottom up* apresenta como vantagem a facilidade de produção de CDs em larga escala, sendo realizado a partir da desidratação de moléculas pequenas ou polímeros, seguida de carbonização. As moléculas utilizadas para a síntese do tipo *bottom up* são geralmente funcionalizadas com grupos do tipo: $-OH$, $-COOH$, $-C=O$, $-NH_2$. Os processos de desidratação/carbonização ocorrem por métodos hidrotérmicos, micro-ondas, combustão, pirólise em meio ácido, dentre outros. Diferente dos métodos *top down*, que produzem nanopartículas mais uniformes e menos polidispersas, os métodos *bottom up* são mais difíceis de controlar e levam a sistemas mais polidispersos (ZHU *et al.*, 2015).

1.3 Pontos quânticos de carbono a partir de polissacarídeos

Os polissacarídeos vêm sendo bastante utilizados para a produção de pontos quânticos de carbono. Além de serem reconhecidos por sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade, os polissacarídeos, por apresentarem estrutura geralmente funcionalizada com grupos amino, hidroxila, acetil, carboxilato, dentre outros, atuam como fonte de carbono para a produção dos CD e como agentes passivadores e de funcionalização, tornando-se uma alternativa mais verde para a obtenção de pontos quânticos de carbono, reduzindo tempo de reação, consumo de reagentes e substituição de moléculas mais tóxicas por outras mais biocompatíveis

CD foram obtidos a partir de goma do pessegueiro utilizando carbonização hidrotérmica em autoclave a 180 °C por 12 h. Os CD obtidos apresentaram solubilidade em diferentes solventes (água, etanol, diclorometano e tetrahidrofurano). O tamanho de partícula encontrado por microscopia eletrônica de transmissão (MET) variou entre 2 e 5 nm. A partir desses CD, foram obtidos filmes transparentes de polivinilálcool (PVA) e polimetilmetacrilato (PMMA) que apresentaram fotoluminescência quando expostos à radiação ultravioleta, assim como os hidrogéis de poli(*N*-isopropilacrilamida) também obtidos a partir desses CD, mostrando a potencialidade e aplicação de CD em bioimagem, fabricação de dispositivos ópticos e nanocompósitos emissores de luz (ZHOU; HE; HUANG, 2013).

A quitosana, derivada da quitina, já amplamente utilizada na obtenção de diversos materiais e tem atraído atenção para a produção dos pontos quânticos de carbono. Quitosana e ácido algínico foram utilizados para a obtenção de CD a partir de dissolução em ácido acético e aquecimento por micro-ondas utilizando PEG₂₀₀ como agente passivador (CHANDRA *et al.*, 2012). Foram obtidos CD com superfície decorada com diferentes grupos funcionais (amino, a partir da quitosana e ácido carboxílico, a partir do ácido algínico), que mostraram fácil internalização celular e mantiveram suas propriedades luminescentes no interior da célula. A quitosana foi usada por Baruah *et al.* (2015) na forma de hidrogel para a produção de CD. O hidrogel de quitosana foi previamente preparado pela adição de glicerol em uma solução de quitosana em ácido acético, e sendo formado após adição de hidróxido de sódio. Uma vez formado o hidrogel, o mesmo foi dissolvido em ácido acético e a solução aquecida em micro-ondas por 20 min, para a formação dos CD, que apresentaram tamanho médio de 8,3 nm e potencial zeta elevado de +29 mV, o que reflete a estabilidade dos CDs produzidos. Esses CD foram revestidos com β -ciclodextrina visando sua utilização como sensor de fluoreto.

Em uma tentativa de aperfeiçoar as condições de síntese para a obtenção de CD a partir de polissacarídeos, Yang *et al.* (2012) propuseram a síntese de CD aminofuncionalizados a partir de quitosana, em uma única etapa, sem a utilização de ácidos fortes e agentes de passivação. Os CD foram produzidos pela dissolução da quitosana em ácido acético diluído, seguiu-se o tratamento hidrotérmico em autoclave a 180 °C por 12 h e os CD apresentaram diâmetro de 5 nm, luminescência azul intensa e baixa toxicidade.

Pandey *et al.* (2013) utilizaram a goma arábica como precursora na obtenção de CDs por aquecimento em micro-ondas na presença de etanol e hidróxido de sódio. Os CDs produzidos foram utilizados para a modificação de nanobastões de ouro (NBAu). O complexo CDs@NBAu foi utilizado para a liberação de doxorubicina que apresentou eficiência de encapsulação de 94% e liberação de 30% do fármaco nas primeiras 5 h e a liberação completa concluída em 23 h. Os ensaios de liberação também foram realizados sob a exposição à radiação na região do infravermelho próximo (NIR) quando foi observada a liberação de cerca de 60% do fármaco nas primeiras 2 h devido à atividade fototérmica dos bastões de ouro.

1.4 Síntese de pontos quânticos de carbono assistida por micro-ondas

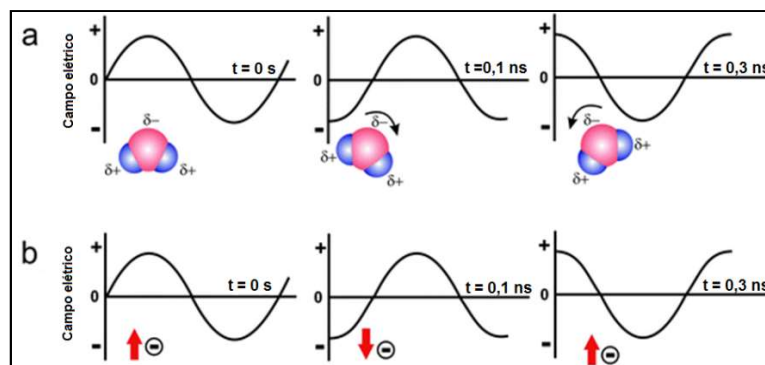
A síntese assistida por micro-ondas tem sido bastante aplicada para a obtenção de pontos quânticos de carbono e grande parte dessas sínteses tem explorado o uso de forno micro-ondas doméstico.

O desenvolvimento de técnicas de micro-ondas ocorreu juntamente com a Segunda Guerra Mundial quando o magnetron foi utilizado para gerar micro-ondas de frequência fixa para uso de RADAR. A descoberta de micro-ondas para fins de cozimento foi acidental, quando o engenheiro estadunidense Percy LeBaron Spencer (Raytheon Company) percebeu que a energia de micro-ondas foi capaz de derreter uma barra de chocolate no seu bolso enquanto ele realizava experimentos com RADAR e micro-ondas. Ao investigar mais a fundo o fenômeno, foi observado que as micro-ondas aumentavam a temperatura interna do alimento muito mais rapidamente que o aquecimento convencional. O próprio Percy LeBaron Spencer desenvolveu o forno micro-ondas para uso doméstico, que passou a ser comercializado em 1954. A partir de 1950, passou-se a investigar outras utilizações das micro-ondas para indústria, que se estendem até os dias de hoje (HAYES, 2002).

A química de micro-ondas é baseada na eficiência de aquecimento dos materiais pelos efeitos de aquecimento dielétrico pelas micro-ondas, porém depende da habilidade específica do material (solvente ou reagente) de absorver energia micro-ondas e convertê-la em aquecimento. As micro-ondas são ondas eletromagnéticas cuja componente elétrica causa aquecimento por meio de dois mecanismos principais: polarização dipolar e condução iônica (KAPPE, 2009).

Quando a componente elétrica interage com a matriz por polarização dipolar, a substância a ser aquecida deve apresentar momento dipolar. Quando expostos à radiação micro-ondas, os dipolos alinham-se com o campo elétrico aplicado, com a oscilação do campo, os dipolos se realinham e nesse processo, energia é perdida na forma de calor, devido à fricção molecular (FIGURA 5a). A quantidade de energia gerada nesse processo relaciona-se diretamente com a habilidade da matriz de se alinhar com o campo aplicado. No mecanismo por condução iônica, os íons oscilam sob a influência do campo, colidindo com moléculas e átomos da vizinhança, causando aquecimento (FIGURA 5b). Assim o aquecimento ocorre mais rapidamente em amostras com maior concentração de íons (KAPPE, 2009).

Figura 5 – Orientação de moléculas e íons com o campo elétrico durante o aquecimento por micro-ondas



Fonte: Adaptada de KAPPE, 2009.

Métodos tradicionais de aquecimento por condução (chapas e mantas de aquecimento) são geralmente mais lentos e menos eficientes para transferência de energia nos sistemas, uma vez que dependem de correntes de convecção e da condutividade térmica dos materiais utilizados, gerando diferenças de temperatura entre o reator e a mistura reacional. A irradiação por micro-ondas produz um aquecimento interno mais eficiente, e o aumento da temperatura ocorre de maneira simultânea para todo o volume. Quando utilizados frascos transparentes às micro-ondas (vidro de borossilicato, quartzo e teflon) a radiação atravessa o frasco e o gradiente de temperatura ocorre de maneira contrária aos métodos convencionais, primeiro a amostra é aquecida e só então o frasco é aquecido (KAPPE, 2009). Dado o rápido aquecimento, frente aos processos de aquecimento convencionais, têm-se o auxílio de micro-ondas em diversos processos como na síntese de pontos quânticos de carbono.

A Tabela 1 mostra um resumo das condições de diversas sínteses utilizando radiação por micro-ondas em forno de micro-ondas doméstico.

Tabela 1 – Principais condições reacionais de obtenção de pontos quânticos de carbono utilizando micro-ondas doméstico e diâmetro de partícula (d) e rendimento quântico (Φ) para os pontos quânticos de carbono obtidos

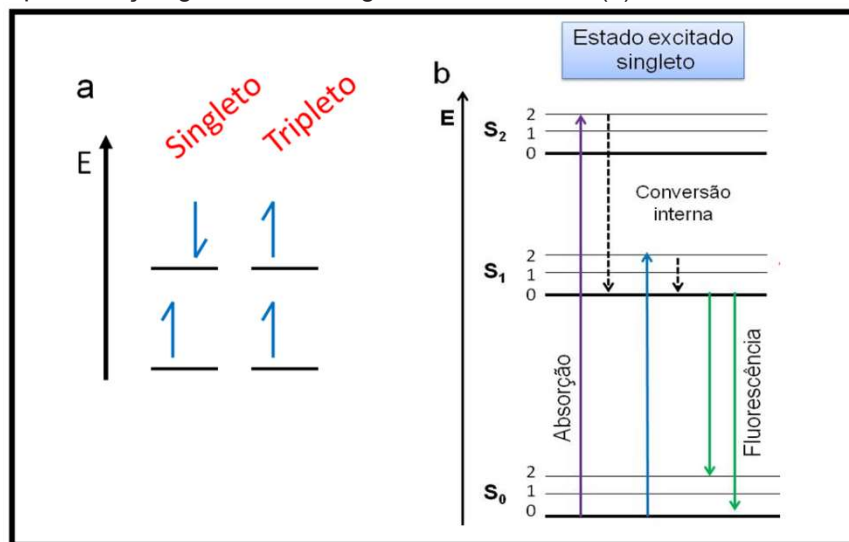
Reagentes	Tempo (min)	Potência (W)	d (nm)	Φ (%)	Referência
Glicerol/Tampão fosfato pH 7,4	12	750	-	3,2	WANG <i>et al.</i> , 2011
PEG200	10	900	1,39	16	JAISWAL; GHOSH; CHATTOPADHYAY, 2012
Sacarose/H ₂ SO ₄	16	400	3-6	-	LIN <i>et al.</i> , 2012
Ácido cítrico/Uréia	4 – 5	750	1-5	14	QU <i>et al.</i> , 2012
Glicose/espermina/NaCl	3	750	2,3	-	FENG <i>et al.</i> , 2013
Quitosana/PEG4000	0 – 2	700	-	3,35	SACHDEV <i>et al.</i> , 2013
Mel/PEG400	10	1200			WU <i>et al.</i> , 2013
Ácido fólico/dietilenoglicol/HCl	0,66	750	4,5	18,9	GUAN <i>et al.</i> , 2014
Ácido cítrico/RNase A	3-5	700	25-45	24,2	LIU <i>et al.</i> , 2014
Ácido cítrico/PEG2000	3-5	700	-	4,33	LIU <i>et al.</i> , 2014
Ácido cítrico	3-5	700	-	0,87	LIU <i>et al.</i> , 2014
Glicose/Triptofano	9	700	20	12,4	SIMÕES; SILVA; LEITÃO, 2014
Glicose/Triptofano	3	700	3,9	20,6	WANG <i>et al.</i> , 2014
Glicose/PEG1500	10	700	-	-	ZHAO <i>et al.</i> , 2014
Ácido bórico/ácido cítrico/uréia	4	700	2-6	10-15	BOURLINOS <i>et al.</i> , 2015
Água de lavagem de arroz	15	550	5	11	DHENADHAYALAN; LIN, 2015
Cristais de lisosima/ácido cítrico/etilenodiamino	1,5	700	3,6	0,85	ENGLAND; PATIL; MANN, 2015
Glicose/fosfato	4	-	5	2	LAN; MOTTOLA, 2015
Ácido oxálico/uréia	8	700	3,2	28	LU <i>et al.</i> , 2015

Fonte: Elaborada pelo autor.

1.5 Fotoluminescência

Luminescência é a emissão de luz a partir de uma substância, ocorrendo a partir de estados eletrônicos excitados, e a fotoluminescência ocorre quando essa emissão dá-se pela absorção de fótons. A fotoluminescência pode ocorrer por fosforescência ou fluorescência. O fenômeno observado para os pontos quânticos convencionais ou pontos quânticos de carbono, é de fluorescência, e nele, o estado excitado é singlete (FIGURA 6a). Assim, o retorno para o estado fundamental é permitido por spin, ocorrendo rapidamente, emitindo um fóton, com tempo de vida em nanosegundos como demonstrado no diagrama de Jablonski na Figura 6b (LAKOWICZ, 2006).

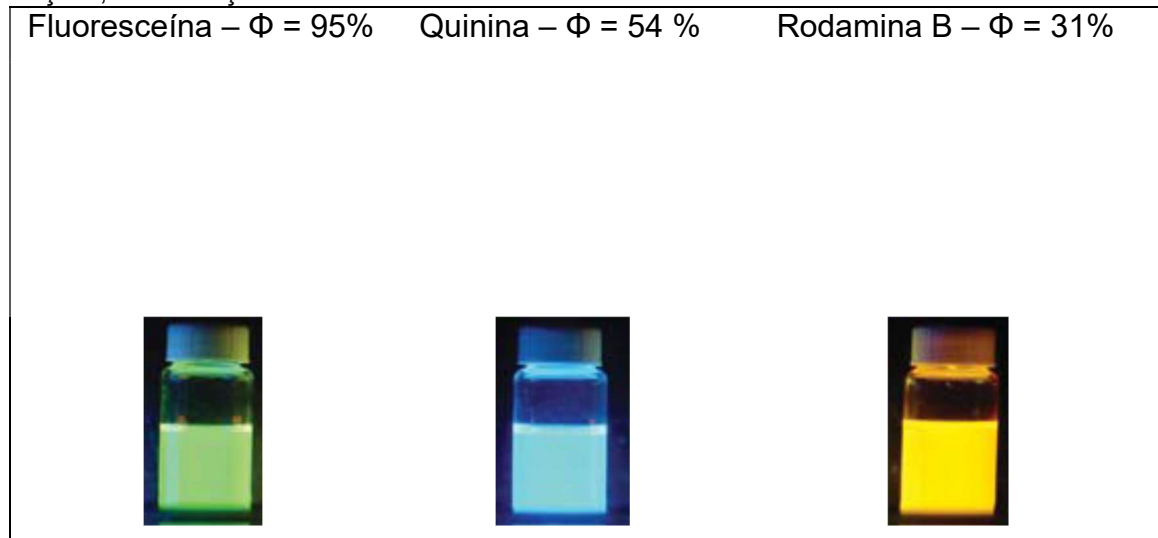
Figura 6 – Representação do estado excitado singlete e tripleto (a) e representação genérica do diagrama de Jablonski (b)



Fonte: Adaptada de Lakowicz, 2006.

Geralmente a fluorescência ocorre a partir de moléculas aromáticas. Alguns exemplos de substâncias fluorescentes ou fluoróforos são mostrados na Figura 7. Essas substâncias são utilizadas como padrão de fluorescência na determinação do rendimento quântico (Φ) de amostras desconhecidas. O rendimento quântico corresponde ao número de fótons emitidos em relação ao número de fótons absorvidos. Quanto maior o rendimento quântico mais fluorescente é a amostra (LAKOWICZ, 2006).

Figura 7 –Estruturas de substâncias fluorescentes utilizadas como padrão de fluorescência e suas soluções, sob radiação ultra-violeta



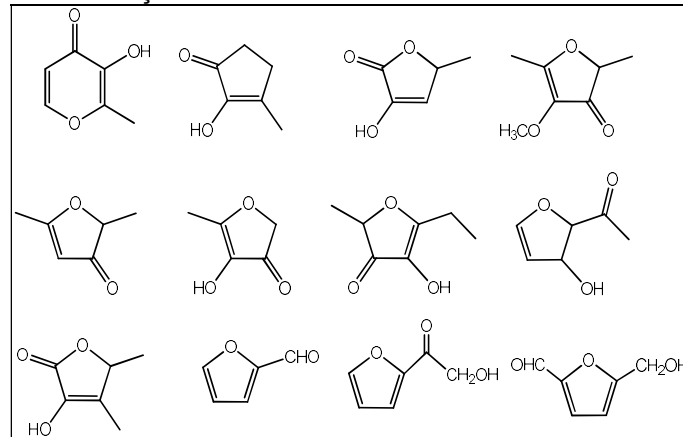
Fonte: Adaptada de LAKOWICZ, 2006.

1.6 Caramelização de carboidratos

Caramelização é definida como a produção de aromas, sabores e pigmentos marrons a partir de carboidratos, principalmente açúcares, por aquecimento na ausência de compostos aminados, quando se dá a reação de Maillard. Com o aquecimento, os carboidratos são desidratados e fragmentados em compostos reativos que se polimerizam formando produtos de cor marrom e com aroma característico. Devido à sua cor característica, o caramelo é amplamente utilizado para conferir cor e sabor a alimentos e bebidas, como cerveja, refrigerantes, doces, sendo o corante mais utilizado em alimentos, no mundo inteiro (WROLSTAD, 2012). O caramelo também pode ser encontrado em alimentos que tenham passado por algum tratamento térmico, como cozinhar, assar e fritar (KROH, 1994).

A caramelização envolve um grupo de reações complexas baseadas em reações de desidratação com a formação de ligações duplas (C=C) conjugadas que absorvem em diferentes comprimentos de onda. Também ocorrem alterações de tamanho do anel piranosídico e a quebra das ligações glicosídicas (ligações que unem as unidades de açúcar nos di e trissacarídeos, oligo e polissacarídeos) (CAMPBELL-PLATT, 2009). A Figura 8 mostra alguns dos produtos voláteis formados durante a caramelização de carboidratos, sendo esses produtos os responsáveis pelo aroma característico de caramelo (RICHARDSON, 1984; HODGE, 1967).

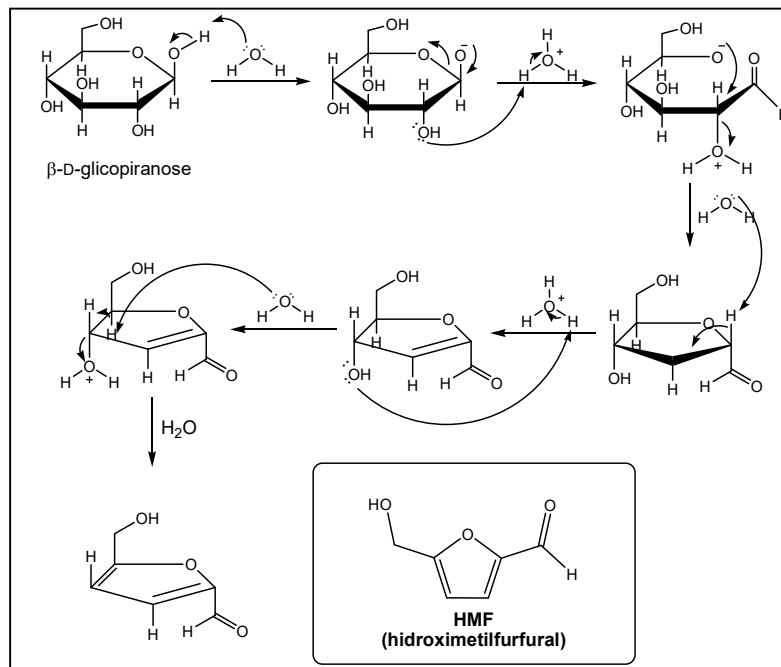
Figura 8 – Compostos furânicos formados durante a caramelização de carboidratos



Fonte: Adaptada de Richardson, 1984 e Hodge, 1967.

Utilizando como exemplo uma unidade de glicose produzindo hidroximetilfurfural apresenta-se o mecanismo de formação dos produtos de caramelização na Figura 9 (SAHA; ABU-OMAR, 2014).

Figura 9 – Exemplo de mecanismo de formação do hidroximetilfurfural (HMF) a partir da unidade de β -D-glicose



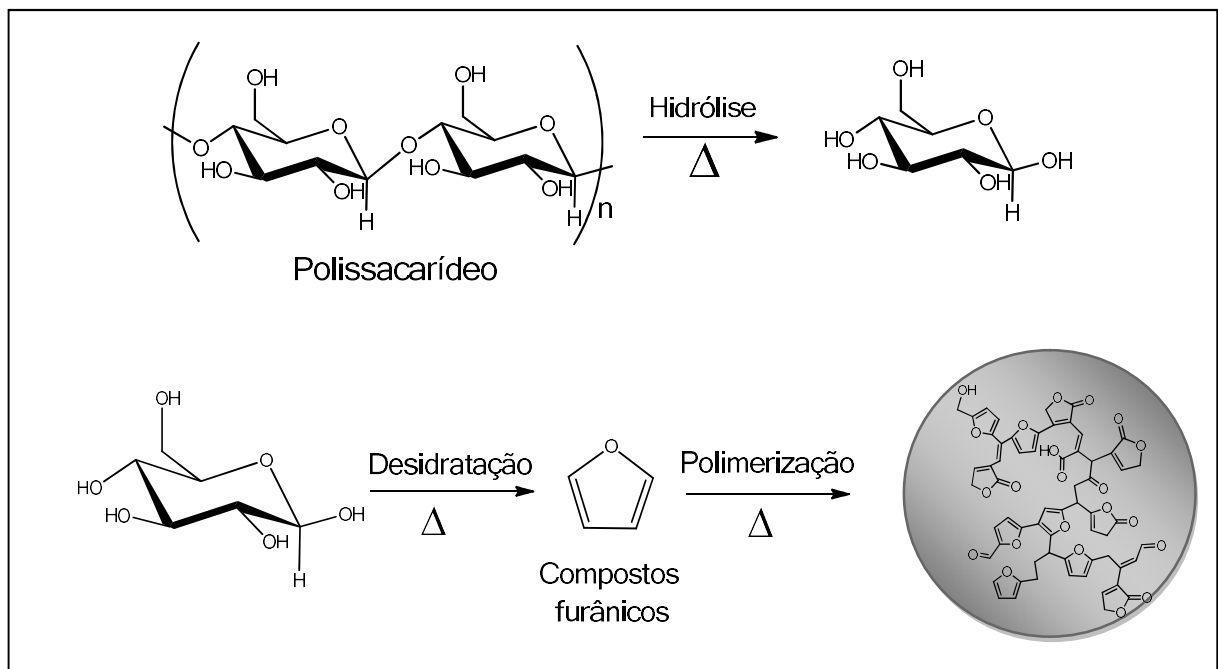
Fonte: Adaptada de Saha; Abu-Omar, 2014.

Após a quebra de ligações e formação dos anéis insaturados ocorre a condensação entre os anéis formando sistemas poliméricos a partir desses anéis criando domínios polifurânicos (FALCO; BACCILEB; TITIRICI, 2011; RYU *et al.*, 2010).

Alguns autores têm proposto a obtenção de nanopartículas fluorescentes de carbono baseadas na formação de domínios insaturados obtidos pela desidratação de carboidratos (DE; KARAK, 2013; SK *et al.*, 2012). Sket *al.* (2012) encontraram partículas fluorescentes de carbono na análise de alimentos contendo derivados de caramelo. As nanopartículas apresentaram emissão dependente da excitação e as amostras de pão continham nanopartículas com rendimento quântico de 1,2%.

De e Karak (2013) produziram nanopartículas fluorescentes de carbono a partir de suco de banana e propuseram uma rota de obtenção das nanopartículas baseada na hidrólise, seguida de abertura de anel para obtenção de compostos insaturados que ao polimerizar formariam as nanopartículas fluorescentes de carbono, como mostra o esquema na Figura 10.

Figura 10 – Exemplo de obtenção de nanopartículas fluorescentes de carbono obtidas por caramelização de carboidratos



Fonte: Adaptada de De e Karak, 2013.

1.7 Atividade antioxidante de nanopartículas fluorescentes de carbono

A atividade antioxidante é a habilidade de neutralizar ou eliminar radicais livres e essa atividade associada a *carbon-dots* é pouco reportada. Segundo Moon e Shibamoto (2009), o método de captura do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) é

utilizado em mais de 90% dos estudos de avaliação antioxidante de substâncias puras, misturas ou matrizes complexas. O método torna-se viável dada a estabilidade do radical DPPH em relação a maioria dos radicais. Os métodos baseiam-se na neutralização ou redução de um radical. Um desses mecanismos se baseia na transferência de elétrons (TE) e o outro na transferência de um átomo de hidrogênio (TAH) (BONDET, BRAND-WILLAMS e BERSET, 1997; FOTI; DAQUINO, 2006) sendo o principal, o de transferência de elétrons (HUANG *et al.*, 2005).

O método DPPH• foi desenvolvido por Blois (1958) para determinar a atividade antioxidante de diferentes substâncias e anos depois, modificado por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) para determinar o potencial antioxidante de amostras biológicas, simplificando a interpretação do resultado realizado por Blois (1958) e utilizando o termo concentração eficaz para a inibição de 50% da concentração inicial do radical DPPH• (CE₅₀), para a interpretação dos resultados.

Poucos trabalhos têm reportado a avaliação de atividade antioxidante de *carbon-dots*, porém, nesses poucos trabalhos têm-se encontrado resultados com elevada atividade antioxidante (DAS *et al.*, 2014; SACHDEV e GOPINATH, 2015; PURKAYASTHA *et al.*, 2014), fazendo-se necessário que mais estudos sejam feitos buscando essa propriedade, principalmente pelas proposições de uso dessa classe de material, em meio biológico.

1.8 Citotoxicidade de nanopartículas fluorescentes de carbono

Uma das grandes vantagens dos *carbon-dots* está no fato de serem basicamente carbono, que por ser um elemento atóxico atrai atenção para uso dessa classe de materiais, em aplicações biológicas.

Testes *in vitro* têm confirmado a citotoxicidade prevista para os materiais de carbono. Sun *et al.* (2013) que rodiziram *carbon-dots* a partir de cabelo humano e Yang *et al.* (2009) que produziram *carbon-dots* a partir de fuligem, alcançaram materiais com baixa toxicidade quando aplicaram uma concentração de até 200 µg/mL. Essa concentração foi ainda maior para *carbon-dots* obtidos a partir de gelatina, atóxicos mesmo na concentração de 240 µg/mL de amostra. Todos esses ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando teste MTT (Brometo de 3-(4,5-

dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio) ou MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio).

O ensaio de citotoxicidade utilizando sulforodamina B (SRB) é um método colorimétrico que faz uso da proteína celular de culturas de células coradas com SRB. A Sulforodamina B ($C_{27}H_{30}N_2O_7S_2$) é um corante de cor púrpura brilhante, que apresenta dois grupos sulfônicos, sendo solúvel em água. Esse corante é usado como um indicador quantitativo do conteúdo proteico da cultura celular, sendo este conteúdo proporcionalmente linear à densidade de células. Em meio ácido a SRB liga-se aos aminoácidos da proteína básica, em células viáveis previamente fixadas com ácido tricloroacético (TCA) frio a 10% (m/v). Um aumento ou diminuição do número de células resulta numa alteração proporcional da quantidade do corante incorporado nas células em cultura, o que indica o grau de citotoxicidade causada pelo composto em estudo (SKEHAN *et al.*, 1990).

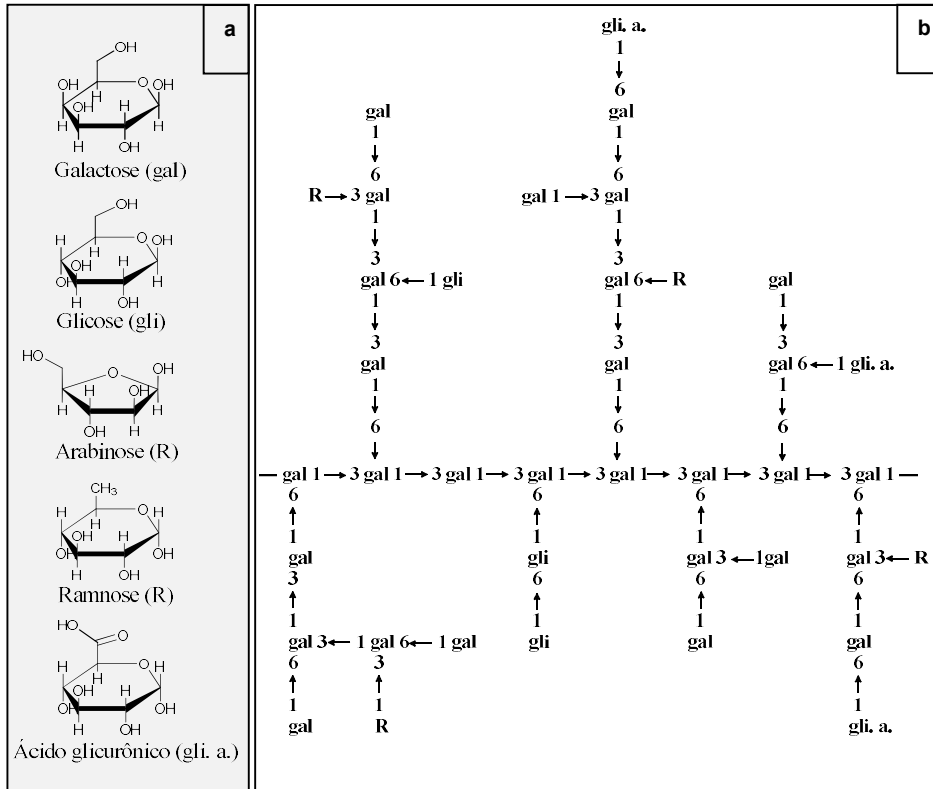
O método SRB apresenta vantagens em relação a outros métodos como MTT ou MTS, pois a fixação das células como uma etapa do processo torna o método menos sensível à interferência de outros compostos e a permanência da cor, nas células fixadas é muito maior, uma vantagem que minimiza erros subsequentes para análises colorimétricas. Diferente do método MTT, a análise com SRB apresenta maior linearidade em relação à quantidade de células, não sendo dependente nem da atividade enzimática nem da linhagem de células utilizada (KEEPERS *et al.*, 1991).

1.9 Goma do cajueiro

A goma do cajueiro é obtida a partir do exsudato extraído da árvore *Anacardium occidentale*, abundante na região nordeste do Brasil. A goma do cajueiro apresenta uma grande possibilidade de produção comercial. A exsudação da goma é simples e muitas vezes espontânea. A produção média de goma/planta/ano é de 700 g. Considerando a área plantada, a produção da goma/ano seria de 50.000 toneladas, quantidade muito superior à importada de goma arábica (goma de aplicação em diversas áreas e de estrutura similar à da goma do cajueiro). A exploração de diferentes aplicações dessa goma seria uma forma de agregar valor à cajucultura, ampliando o mercado para consumo da goma (CUNHA, DE PAULA E FEITOSA, 2009).

A Figura 11 apresenta as unidades monossacarídicas constituintes da goma do cajueiro (a) e o possível arranjo dessas unidades na estrutura do polissacarídeo presente na goma (b).

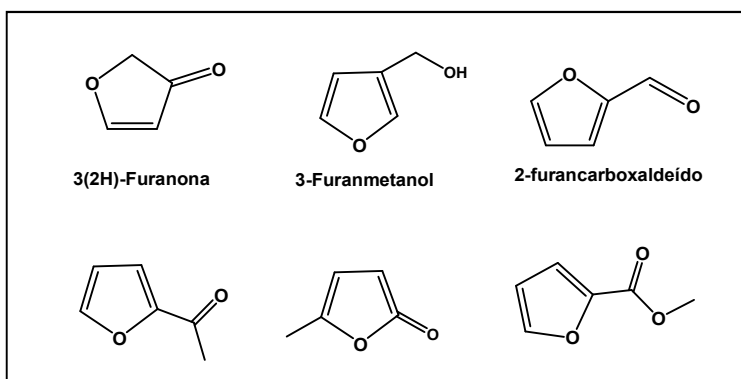
Figura 11 – Principais açúcares constituintes do polissacarídeo da goma do cajueiro bruta (a) e seu possível arranjo na estrutura do polissacarídeo (b)



Fonte: Adaptada de Anderson e Bell (1975).

Observa-se diferentes hexoses e uma pentose (arabinose), que se encontra nas extremidades das cadeias. As unidades que se encontram nas extremidades da cadeia são mais lábeis em relação à temperatura. A Figura 12 mostra os compostos obtidos pela degradação térmica da arabinose.

Figura 12 – Produtos obtidos pela degradação térmica da arabinose



Fonte: PITKÄNEN; HALTTUNEN e HURTTA, 2003.

Pode-se verificar que os compostos apresentados na Figura 12, são altamente oxidados e as insaturações podem ser responsáveis pelas propriedades ópticas dos materiais a serem produzidos. Assim, a goma do cajueiro foi escolhida como precursora para a obtenção das nanopartículas fluorescentes de carbono.

1.10 Materiais híbridos de pontos quânticos de carbono e nanopartículas de prata

A associação das propriedades fotoeletrônicas dos pontos quânticos de carbono com as propriedades plasmônicas das nanopartículas de prata, na formação de um material híbrido, foi primeiro reportada por Choi *et al.*, 2013. Os autores propuseram a síntese das nanopartículas de prata por fotoirradiação na região do UV, utilizando *carbon-dots* como suporte. A ressonância plasmônica das nanopartículas de prata atua em conjunto com os excítons oriundos dos pontos quânticos de carbono. O mecanismo de atuação desses materiais híbridos ocorre pela absorção de luz incidente sobre nanopartículas metálicas que é armazenada na ressonância plasmônica para promover a fotogeração de excítons a partir dos pontos quânticos de carbono, além disso, as nanopartículas de prata possuem uma larga faixa de absorção, com um máximo de absorção no comprimento de onda de 400 nm. Para a síntese dos pontos quânticos de carbono foi utilizada a decomposição hidrotérmica da α -ciclodextrina seguida de passivação com polietilenoglicol (PEG). Após sintetizados,

os pontos quânticos de carbono foram utilizados na síntese das nanopartículas de prata, pela adição de solução de nitrato de prata e irradiação ultravioleta. Por esse processo as nanopartículas de prata tendem a ficar ancoradas na superfície dos pontos quânticos de carbono, apresentando diâmetros de 6 nm (pontos quânticos de carbono) e 3 nm (nanopartículas de prata).

No mesmo ano dessa publicação, Shen *et al.* (2013) apresentam uma proposta de síntese em meio básico, sem a adição de agente redutor e sem irradiação, para tanto, os autores utilizaram os pontos quânticos de carbono, produzidos a partir da quitosana, como doadores de elétrons. O material híbrido produzido foi utilizado para o desenvolvimento e validação de um sensor para íons Ag^+ em amostras de água. Além do potencial de uso desses materiais como sensores (AMJADI, ABOLGHASEMI-FAKHRI, HALLAJ, 2015), trabalhos subsequentes mostraram seu potencial como catalisadores (JANA *et al.*, 2015) e atividade antimicrobiana (JIN *et al.*, 2015; JANA *et al.*, 2015). A síntese de nanopartículas de prata com nanopartículas fluorescentes de carbono abordada nesses trabalhos utiliza algum mediador de redução dos íons prata, seja a utilização de meio básico (SHEN *et al.*, 2013; JIN *et al.*, 2015; JANA *et al.*, 2015) ou a utilização de agentes redutores e estabilizantes como borohidreto de sódio e citrato de sódio, respectivamente (AMJADI, ABOLGHASEMI-FAKHRI, HALLAJ, 2015; BEIRAGHI & NAJIBI-GEHRAZ, 2017).

Tendo como base as sínteses de nanopartículas de prata com nanopartículas fluorescentes de carbono já reportadas, propõem-se uma síntese mais verde sem o uso de meio básico tanto para a produção das nanopartículas de carbono como para as nanopartículas de prata, além da ausência de outros agentes redutores ou estabilizantes, para a produção das nanopartículas de prata.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir nanopartículas fluorescentes de carbono a partir da goma do cajueiro bruta utilizando aquecimento por micro-ondas.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito do tempo de aquecimento em micro-ondas na produção das nanopartículas fluorescentes de carbono;

Caracterizar as nanopartículas fluorescentes obtidas;

Estudar o efeito da precipitação em acetona para a remoção do excesso de polissacarídeo após a produção das nanopartículas;

Avaliar a capacidade antioxidante das nanopartículas produzidas;

Avaliar a citotoxicidade das nanopartículas obtidas;

Produzir nanopartículas de prata reduzidas com nanopartículas fluorescentes de carbono visando a formação de um nanomaterial híbrido.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

O exsudato do cajueiro (*Anacardium occidentale*) foi coletado de árvores nativas, em Fortaleza-CE. A acetona utilizada para a precipitação foi obtida da Synth. A quinina utilizada como padrão de fluorescência foi adquirida da Sigma-Aldrich. O nitrato de prata (AgNO_3) foi obtido da Vetec.

Todos os experimentos foram realizados com água deionizada com resistividade de 18 M Ω .cm, obtida de deionizador com resina de troca iônica (ELGA, modelo PURELAB Classic).

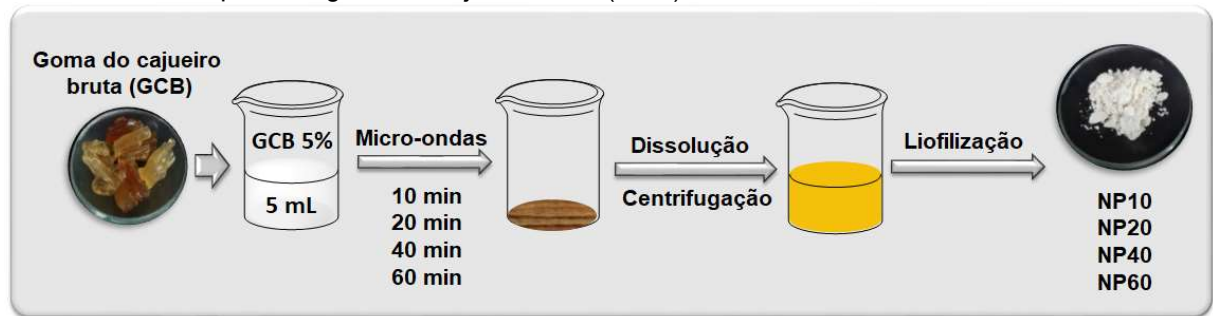
3.2 Obtenção das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)

As nanopartículas fluorescentes foram obtidas a partir da dissolução da goma do cajueiro bruta em água seguida de aquecimento em micro-ondas doméstico, com potência de 800 W.

Foi preparada uma solução de goma do cajueiro bruta (GCB) na concentração de 5%, a solução foi deixada sob agitação por 12 h e então filtrada em papel de filtro. Foram adicionados 5 mL dessa solução em um béquer de 250 mL, sendo esse volume, suficiente para cobrir totalmente o fundo do béquer. O aquecimento foi realizado ininterruptamente por 10, 20, 40 e 60 minutos. Após o aquecimento, o material seco no fundo do béquer foi redisperso em água deionizada e a solução obtida foi centrifugada para a remoção de material insolúvel e de partículas maiores. Após a centrifugação, as amostras foram liofilizadas para a obtenção do material seco, como mostra o esquema na Figura 13. As amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento foram denominadas: NP10, NP20, NP40 e NP60. Todas as centrifugações foram realizadas em centrífuga EBA 21 da HettichLab Technology a 6000 rpm (3824 RCF) por 15 min, à temperatura ambiente.

Os experimentos iniciais, que serviram de base para estipular as concentrações e volumes utilizados nesse trabalho, deram origem a uma publicação em periódico de Qualis A2 (APÊNDICE A).

Figura 13 – Esquema de obtenção das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP) por aquecimento em micro-ondas a partir da goma do cajueiro bruta (GCB)



Fonte: Elaborada pelo autor.

3.3 Caracterização das nanopartículas fluorescentes de carbono

3.3.1 Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

As análises de UV-Vis foram realizadas em espectrofotômetro UV-1800 da Shimadzu, em cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm e varredura de 200 a 800 nm, com incremento de 0,5 nm.

3.3.2 Espalhamento de luz dinâmico – Tamanho de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta ($P\zeta$)

O diâmetro das nanopartículas produzidas (d) e os seus valores de índice de polidispersão (IPd) e potencial zeta ($P\zeta$) foram determinados a 25°C utilizando o equipamento ZetaSizer Nano ZS da Malvern, modelo ZEN3600 com laser de comprimento de onda de 633 nm. Foi utilizado ângulo de espalhamento de 173° para as medidas de tamanho e de 17° para as medidas de potencial zeta. Os valores de diâmetro de partícula foram reportados em intensidade e número.

3.3.3 Espectroscopia de fotoluminescência – Varredura de emissão

Para as varreduras de emissão de fluorescência foi utilizado um espectrofluorímetro QuantaMaster40 da PhotonTechnology International (PTI), utilizando lâmpada de arco de Xenônio de 75 W. As fendas de excitação e emissão

foram mantidas em 0,5 mm. Foram utilizadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 10 mm.

3.3.4 Espectroscopia de fotoluminescência – Rendimento quântico

As análises de rendimento quântico também foram realizadas em cubeta de quartzo, em equipamento QuantaMaster40 da PhotonTechnology International (PTI), utilizando lâmpada de arco de Xenônio de 75 W. As fendas de excitação e emissão foram mantidas em 0,5 mm.

A quinina utilizada como padrão foi dissolvida em uma solução de H₂SO₄ 0,1 mol/L a fim de ser obtida uma solução com a absorbância de no máximo, 0,05. As amostras também foram diluídas a fim de serem obtidas soluções com absorbância até 0,05. Foram obtidos os espectros de emissão com excitação em 365 nm para as soluções diluídas das amostras e da solução de sulfato de quinina. A área da banda foi calculada e os valores utilizados no cálculo do rendimento quântico, seguindo a equação 1:

$$\Phi_{NP} = \Phi_Q \times \frac{I_{NP}}{I_Q} \times \frac{A_Q}{A_{NP}} \quad (1)$$

Onde:

Φ_{NP} é o rendimento quântico das nanopartículas obtidas, em 365 nm;

Φ_Q é o rendimento quântico da quinina em H₂SO₄ 0,1 mol/L, em 365 nm ;

I_{NP} e I_Q são as áreas das bandas de emissão em 365 nm da amostra e da solução de quinina em H₂SO₄ 0,1 mol/L, respectivamente;

A_Q e A_{NP} são as absorbâncias em 365 nm da solução de quinina em H₂SO₄ 0,1 mol/L e da amostra, respectivamente.

O rendimento quântico da quinina em solução de H₂SO₄ 0,1 mol/L e excitação em 365 nm é de 0,54, assim $\Phi_Q = 0,54$ (MEHTA; JHA; KAILASA, 2014)

3.3.5 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A massa molar da goma do cajueiro bruta e das nanopartículas obtidas foi estimada por cromatografia de permeação em gel utilizando um cromatógrafo Shimadzu LC-20AD com detector de índice de refração RID-10A. As análises foram

realizadas com coluna PolySep Linear (7,8 mm × 300 mm), fluxo de 1,0 mL/min, tendo NaNO_3 0,1 mol/L como eluente e forno mantido a 30 °C. O volume injetado de amostra foi de 50 μL . Para a construção da curva de calibração foram utilizados padrões de pululana Shodex P-82 (APÊNDICE B).

3.3.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros para a goma do cajueiro bruta e para as nanopartículas foram obtidos em pastilhas de KBr em equipamento FTLA 2000 (ABB Bomem) de 400 a 4000 cm^{-1} .

3.4 Precipitação das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)

Uma vez que as NP foram produzidas a partir da degradação do polissacarídeo da goma do cajueiro bruta, o material obtido após a centrifugação pode apresentar polissacarídeo residual. Para verificar o efeito da remoção do polissacarídeo em excesso, as amostras obtidas após a centrifugação foram precipitadas em acetona na proporção de 1:1 (amostra:acetona) com a adição de 15 mL de acetona a 15 mL da amostra centrifugada. Após a adição da acetona, a solução foi centrifugada. O sobrenadante obtido foi deixado sob agitação magnética vigorosa por 4h para a evaporação da acetona e o material sedimentado foi redisperso em 15 mL de água. As amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento após a precipitação foram denominadas: NP10P, NP20P, NP40P e NP60P.

As amostras obtidas do sobrenadante e precipitado foram caracterizadas por espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), espalhamento de luz dinâmico (DLS), espectroscopia de fotoluminescência cromatografia de permeação em gel (GPC) e espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), segundo a metodologia descrita anteriormente, para as nanopartículas obtidas sem precipitação.

3.4.1 Morfologia e tamanho de partículas por Microscopia Eletrônica de transmissão (MET)

A amostra NP40P foi a única amostra caracterizada por microscopia eletrônica de transmissão. As imagens das NP40P foram obtidas utilizando microscópio eletrônico de transmissão Carl Zeiss modelo LIBRA 120, com tensão de operação de 80 kV. As imagens foram registradas em um sistema óptico Olympus com software iTEM e câmera Cantega G2. O modo de obtenção das imagens foi EFTEM (*Energy Filtered Transmission Electron Microscopy*).

O material em pó foi disperso em água deionizada e 5 µL dessa dispersão foram depositados em filme de carbono amorfo que recobre tela de cobre de 400 mesh. O material foi deixado secar em dessecador por aproximadamente 8h, antes da realização das análises.

3.5 Atividade antioxidante in vitro

3.5.1 Sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

O ensaio do sequestro do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) foi analisado segundo método descrito por Blois (1958), com algumas modificações. A amostra foi dissolvida a fim de serem obtidas soluções com concentrações de 0,1 a 4 mg/mL. A 300 µL de solução amostra foram adicionados 200 µL de metanol e 2,5 mL de DPPH (75 µmol/L em metanol). Após a adição do DPPH as misturas foram mantidas no escuro, à temperatura ambiente, por 30 minutos. Decorridos 30 minutos foram realizadas medidas em espectrofotômetro em 517 nm (A_{517}). As reações para cada concentração de amostra foram realizadas em triplicatas.

O efeito no sequestro do radical livre DPPH (%) foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\text{Efeito do sequestro DPPH(\%)} = \left[\frac{A_0 - (A - A_b)}{A_0} \right] \times 100 \quad (2)$$

Onde:

A_0 = A_{517} do DPPH sem amostra;

A = A_{517} da amostra com DPPH para cada concentração;

A_b = A_{517} da amostra sem DPPH.

3.5.2 Ensaio de quelação do íon ferroso

O ensaio de quelação do íon ferroso foi realizado de acordo com o método descrito por Chew *et al.* (2008), com algumas modificações. Foram misturados 1 mL de sulfato ferroso (FeSO_4) 0,1 mmol/L, 1 mL de amostra nas concentrações de 0,1 a 4 mg/mL e 1 mL de ferrozina(ácido 3-(2-piridil) 5,6-difenil-1,2,4-triazina-p-p'-disulfônico) 0,25 mmol/L. Os tubos foram agitados por 1 minuto e após 10 min foram realizadas as medidas a 562 nm, em espectrofotômetro. O branco foi realizado substituindo o mesmo volume de amostra pelo solvente utilizado para todas as amostras (água destilada). Utilizou-se ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como material de referência. Todas as reações foram realizadas em triplicatas.

Os resultados foram expressos como habilidade de quelação do íon ferroso (%) e calculados através da seguinte fórmula:

$$\text{Habilidade de quelação do íon ferroso (\%)} = \left[\frac{A_0 - (A - A_b)}{A_0} \right] \times 100 \quad (3)$$

Onde:

A_0 = A_{562} do FeSO_4 com ferrozina, sem amostra;

A = A_{562} da amostra com FeSO_4 e ferrozina;

A_b = A_{562} da amostra sem FeSO_4 e ferrozina.

3.5.3 Ensaio da capacidade antioxidante total pela formação do complexo fosfomolibdênio

O ensaio de capacidade antioxidante total foi realizado através da formação do complexo fosfomolibdênio descrito por Prieto, Pineda e Aguilar (1999), quando adiciona-se 300 μL de amostra (0,1 - 4 mg/mL) em 3 mL de solução de molibdato de amônio 4 mmol/L, ácido sulfúrico 0,6 mol/L e fosfato de sódio 28 mmol/L. A mistura foi homogeneizada e incubada a 95 °C durante 90 min. Após o resfriamento foram realizadas as leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 695 nm. O branco foi feito substituindo a amostra pelo solvente utilizado da amostra. O butilado

de hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como material de referência e o ácido ascórbico (200 µg/mL) foi considerado com 100% de atividade antioxidante. Todas as reações foram realizadas em triplicatas.

Os resultados foram expressos em capacidade antioxidante total (%) e calculados pela seguinte fórmula:

$$\text{Capacidade antioxidante total(\%)} = \left[\frac{A_{695 \text{ amostra}} - A_{695 \text{ branco}}}{A_{695 \text{ ác. ascórbico}} - A_{695 \text{ branco}}} \right] \times 100 \quad (4)$$

3.6 Avaliação de citotoxicidade pelo ensaio da sulforodamina B (SRB)

A citotoxicidade da amostra NP40 foi avaliada frente a linhagens celulares tumorais humanas HCT-116 (câncer de cólon humano), PC-3M (câncer de próstata metastático humano), B16-F10 (melanoma metastático murinho), além de células não-tumorais 293A (linhagem de células epiteliais de rim humano), L929 (linhagem de fibroblasto murinho).

As células, em monocamadas, foram dispostas em multiplacas de 96 poços. Para determinar a quantidade de células existentes no momento da adição das amostras, foi feita uma placa controle, denominada tempo zero (T_0). Após 24 horas de incubação em estufa a 37°C e 5% CO_2 , 100 µL da amostra NP40 em água destilada, diluída em diferentes concentrações (7,8 a 500 µg/mL), foram adicionados e as placas foram novamente incubadas por 72 horas. A placa de tempo zero foi centrifugada, o sobrenadante descartado e adicionados em cada poço 100µL da solução de ácido tricloroacético (TCA 10%) para fixar os resíduos de aminoácidos de proteínas. As placas foram armazenadas em geladeira a 4 °C e após o tempo de incubação, o material foi centrifugado a 1500 rpm por 15 min e removido o sobrenadante. Adicionou-se então, 100 µL de solução de TCA 10% em todas as cavidades, incluindo brancos e controles. O processo de fixação deu-se a 4°C por 1 h. Após o período de fixação, o TCA foi removido lavando cada cavidade cinco vezes com 200 µL de água destilada, adicionando após a última lavagem, 100 µL de solução de SRB a 0,4% (m/v) dissolvida em ácido acético 1%, incubando por 30 minutos em estufa a 37 °C e a 5% CO_2 de modo a permitir a incorporação do corante. Após período de incubação a solução corante SRB foi removida e lavou-se cinco vezes cada poço com 200 µL de

ácido acético a 1% (v/v), adicionando em seguida 200 µL de Tris Base(trisaminometano, $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$) a 10 mmol/L, para promover o rompimento das células e liberação das proteínas coradas com SRB. Promoveu-se uma agitação por 15 minutos em temperatura ambiente para a dissolução das proteínas coradas.

A absorbância foi medida em 570 nm em espectrofotômetro de placa (BeckmanCoulter Inc., modelo DTX-880). Para leitura foi utilizado o programa MultimodeDetection Software (BeckmanCoulter Inc.).

3.7 Síntese de nanopartículas de prata (NPAg) com nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)

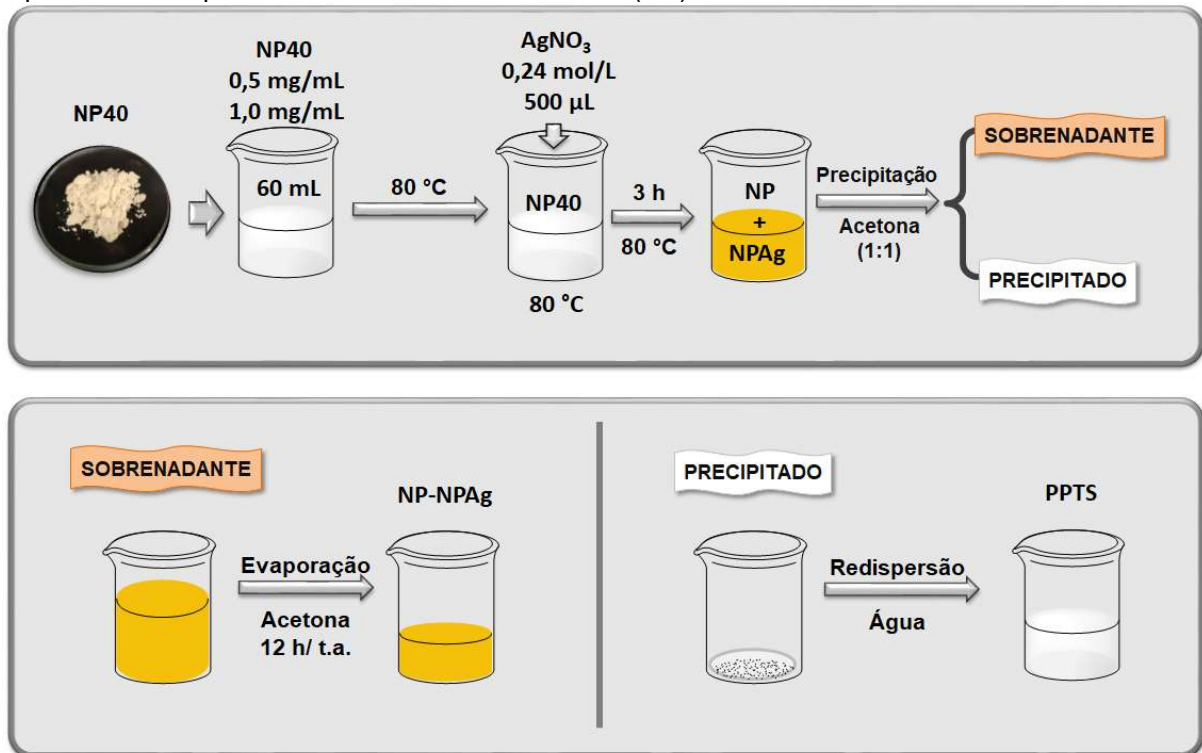
Soluções de NP40 em duas concentrações 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL (60 mL) foram aquecidas a 80 °C e sobre cada solução foram adicionados 500 µL de solução de AgNO_3 0,24 mol/L, a fim de obter uma concentração de prata iônica no sistema de 2 mmol/L. O sistema foi mantido a 80 °C, por 3 h, sob agitação. A reação acompanhada pelo aparecimento da banda plasmônica na região de 400 nm, característica das nanopartículas de prata, utilizando espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis, com varredura de 200 a 800 nm. Uma reação nas mesmas condições descritas foi realizada utilizando a goma do cajueiro bruta em substituição às NP.

Após 3 h de reação, o sistema foi posto em diálise contra água deionizada por cinco dias, com troca de água realizada duas vezes ao dia. Foram utilizadas membranas de diálise com limite de massa molar de 1000 g/mol, para remoção da prata iônica que não foi reduzida a Ag^0 . Após a diálise, a solução foi precipitada em acetona na proporção de 1:1 (amostra:acetona). O precipitado foi solubilizado em água, sendo nomeado PPTS e o sobrenadante foi deixado sobre agitação por 12 h para evaporar a acetona, nomeado como NP40-NPAg. O processo de obtenção das nanopartículas de prata com nanopartículas fluorescentes de carbono está esquematizado na Figura 14.

As soluções obtidas nas diferentes etapas do processo (diálise e precipitação) foram analisadas por espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), espalhamento de luz dinâmico (tamanho de partícula e

Potencial zeta-P ζ) e espectroscopia de fotoluminescência, seguindo as metodologias descritas previamente.

Figura 14 – Representação esquemática do processo de obtenção das nanopartículas de prata (NPAg) a partir das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)



Fonte: Elaborada pelo autor.

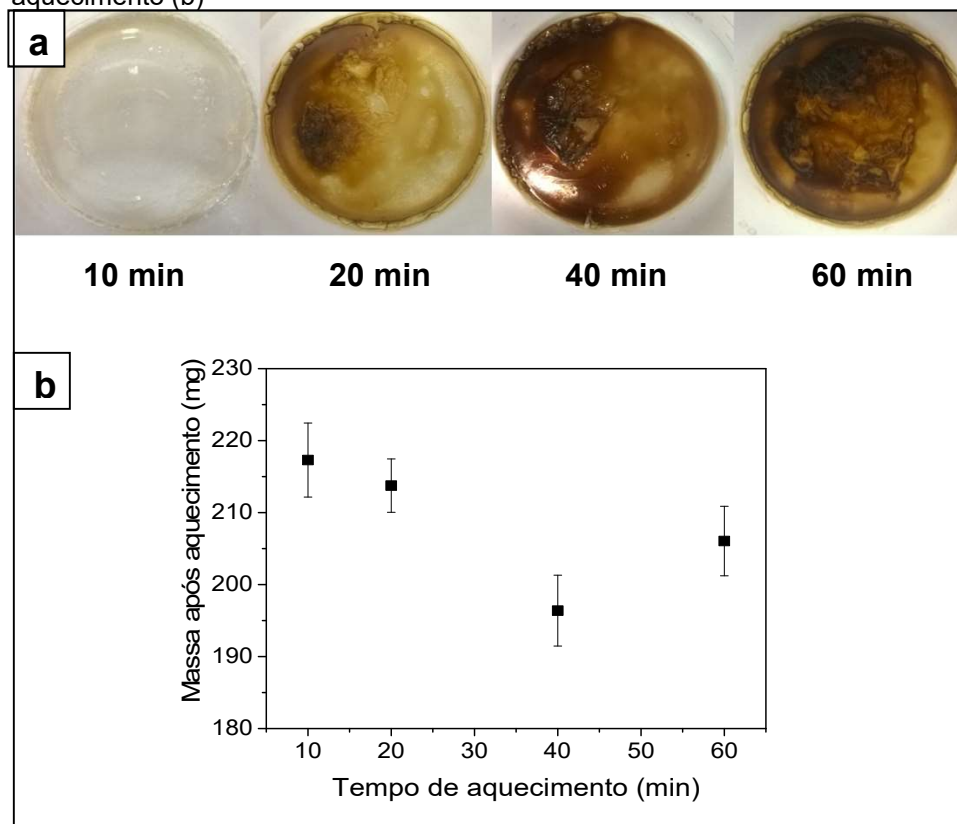
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenção das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)

A solução de goma do cajueiro bruta (GCB) após ser aquecida até a secura originou um material seco que dependendo do tempo de aquecimento, apresentou diferentes colorações indo de amarelo claro (10 min) até marrom escuro (60 min), como mostra a Figura 15a. A mudança de cor é acompanhada do surgimento do odor característico de açúcar caramelizado.

A massa seca após o aquecimento foi determinada por gravimetria pesando o béquer seco antes da adição da solução e após a secura nos diferentes tempos de aquecimento. O valor de massa seca com seu respectivo desvio padrão para cada tempo de aquecimento está representado na Figura 15b.

Figura 15 – Material seco obtido após os diferentes tempos de aquecimento em micro-ondas (a) e valores de massa seca obtidos após cada tempo de aquecimento (b)



Fonte: Dados da pesquisa.

O aumento do tempo de aquecimento até 40 min leva a uma massa final menor, porém com o aumento do tempo de aquecimento para 60 min a massa seca aumenta novamente. O aumento do tempo de aquecimento dificulta a redispersão do material seco e gera maior resíduo insolúvel em água.

4.2 Caracterização das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)

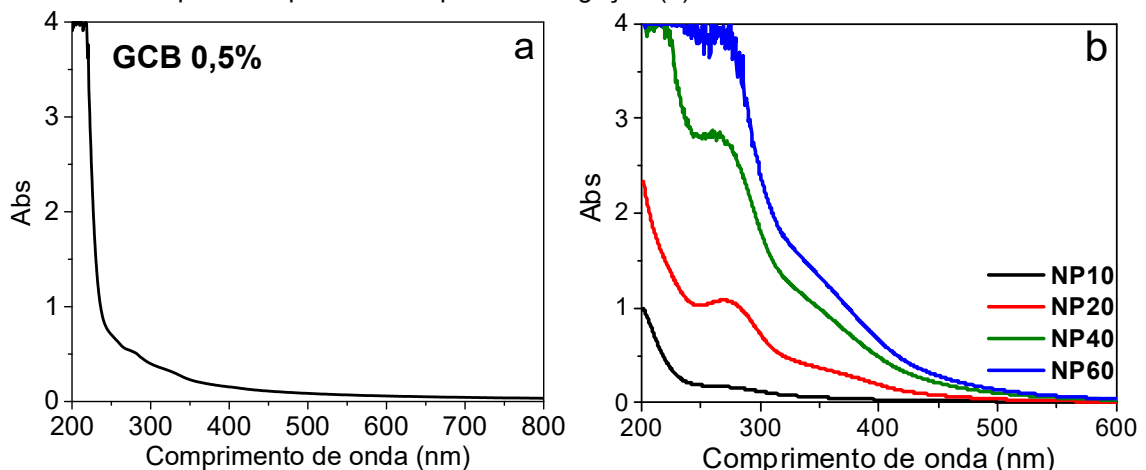
4.2.1 Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis

Para fins de comparação, foi obtido o espectro da solução de goma do cajueiro bruta na concentração de 0,5% (Figura 14a), concentração utilizada para a produção das nanopartículas.

As amostras obtidas após centrifugação foram liofilizadas e redispersas em água na concentração de 1,3 mg/mL. Essa concentração permitiu a medida e observação adequada dos espectros de todas as amostras.

Os espectros de UV-Vis, obtidos para as amostras, são mostrados na Figura 16b. A solução de goma bruta do cajueiro (Figura 16a) não apresenta bandas aparentes na faixa de comprimento de onda analisada. Os espectros das amostras apresentam um ombro discreto em torno de 360 nm, e uma banda em 270 nm para as amostras obtidas nos tempos de 10 e 20 min, que se desloca para 256 nm com o aumento do tempo de aquecimento.

Figura 16 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para a goma do cajueiro bruta na concentração utilizada para a produção das nanopartículas (a) e para as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento após centrifugação (b)



Fonte: Dados da pesquisa.

Esse perfil espectral é característico de nanopartículas fluorescentes de carbono, como os pontos quânticos de carbono (LAVKUSH *et al.*, 2015; YANG; ZHUO; ZHU, 2014; SUN *et al.*, 2006) e óxido de grafeno (ZHANG; LI; PENG; CAI, 2014; YANG *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2012). A banda em 270 nm corresponde à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ que pode ser atribuída aos carbonos sp^2 , oriundos das ligações C=C conjugadas formadas durante o processo de produção das nanopartículas de carbono. A banda em 360 nm é atribuída à transição $n \rightarrow \pi^*$ de ligações C=O provenientes do processo de oxidação (WANG *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2013; ZHENG *et al.*, 2013; JIA; LI; WANG, 2012; PRETSCH; BÜHLMANN; BADERTSCHER, 2009). O aparecimento das ligações duplas (C=C e C=O) é esperado após a caramelização dos açúcares constituintes do polissacarídeo.

Observa-se um aumento da intensidade de ambas as bandas mencionadas, com o aumento do tempo de aquecimento. Isso indica que com o tempo há um aumento da oxidação e da formação de ligações duplas.

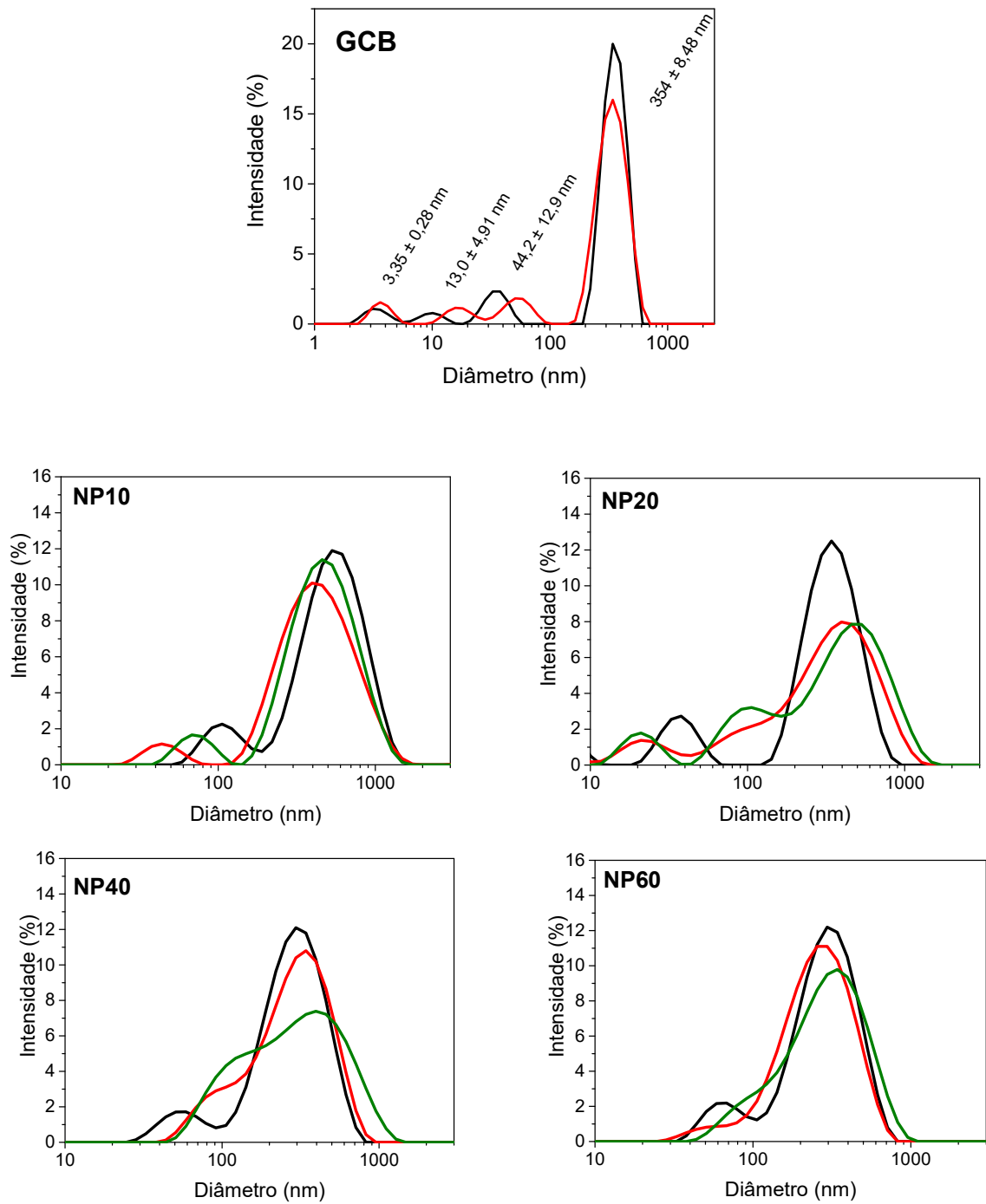
4.2.2 Espalhamento dinâmico de luz – Tamanho de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta (P ζ)

As distribuições de tamanho obtidas por espalhamento de luz para a goma do cajueiro bruta e para as nanopartículas obtidas após a centrifugação são apresentadas na Figura 17. Pode-se observar distribuições multimodais e que não se mostram reprodutíveis para as nanopartículas obtidas em todos os tempos de aquecimento.

Os valores de tamanho de partícula (d) e índice de polidispersividade (IPd) podem ser melhor avaliados observando a Tabela 2, que também mostra os valores de potencial zeta (P ζ) para cada uma das dispersões.

Os valores de tamanho variaram entre 31 e 550 nm. Com o aumento do tempo de aquecimento a distribuição de tamanho referente a 550 nm (NP10), tem seu valor reduzido para cerca de 300 nm. Os valores de índice de polidispersividade variam em torno de 0,400. Esse é um valor baixo, uma vez que o mesmo pode variar de 0 a 1, sendo 0, um sistema totalmente monodisperso e 1, um sistema totalmente polidisperso (STETEFELD, MCKENNA e PATEL, 2016).

Figura 17 – Distribuições de tamanho de partícula para a goma do cajueiro bruta e para as nanopartículas obtidas após a centrifugação, nos diferentes tempos de aquecimento



Fonte: Dados da pesquisa.

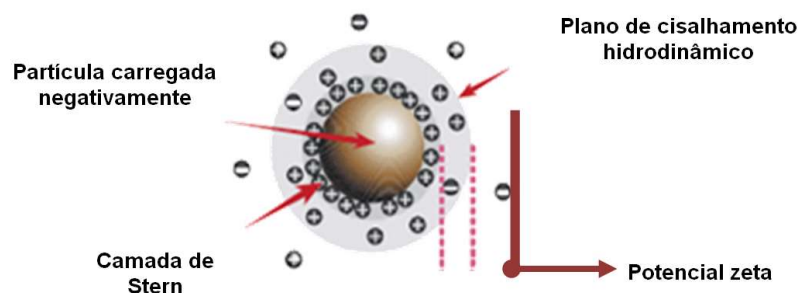
Tabela 2 – Diâmetro de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta (Pζ) para cada uma das dispersões obtidas após centrifugação e em diferentes tempos de aquecimento

Amostra	d (nm)	IPd	Pζ (mV)
NP10	93,4±29,4/549±50,9	0,429±0,08	-8,51±0,40
NP20	30,9±9,38/373±10,3	0,628±0,00	-12,4±0,11
NP40	104±24,3/323±29,1	0,487±0,01	-9,13±0,38
NP60	71,1±11,9/316±0,63	0,444±0,06	-10,4±0,40

Fonte: Dados da pesquisa.

O potencial zeta é uma propriedade física de partículas em suspensão, sendo definido pelo potencial da interface sólido-líquido, próximo ao plano de cisalhamento hidrodinâmico da partícula (DOUGHERTY *et. al.*, 2008), como ilustra a Figura 18. Tipicamente na faixa de pH compreendida entre 4,0 e 7,5 as dispersões apresentam $-30 \text{ mV} \leq P\zeta \leq +30 \text{ mV}$. Valores dentro dessa faixa indicam instabilidade do coloide (ALVAREZ-PUEBLA, 2005), facilitando a agregação e consequente sedimentação das partículas.

Figura 18 – Esquema de distribuição iônica ao redor de uma partícula carregada



Fonte: Adaptada de MALVERN (2009)

Apesar de apresentarem potencial pouco negativo, as dispersões mostraram boa estabilidade por um mês, não sedimentando quando armazenadas sob refrigeração a 4 °C. Essa estabilidade deve estar relacionada à estabilidade estérica pela presença das cadeias de polissacarídeo residual presente ao redor das nanopartículas.

Os pontos quânticos de carbono têm como principais características a sua fotoluminescência e seu tamanho de até 10 nm de diâmetro (YANG *et al.*, 2009; CAO *et al.*, 2007; SUN *et al.*, 2006). Porém, para as nanopartículas produzidas foram encontrados tamanhos entre 31 e 550 nm. Tamanho de partícula semelhante, obtido por espalhamento de luz dinâmico, foi reportado por Gonçalves e Silva, 2010 ao

caracterizar pontos quânticos de carbono, recobertos com PEG₂₀₀ e ácido mercaptosuccínico, reportando tamanho de partícula de 276 nm. Gonçalves *et al.*, 2010 também reportaram partículas obtidas por ablação a laser, em torno de 100 nm, por espalhamento de luz dinâmico. Técnicas de imagem como microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia de força atômica (MFA) podem fornecer maiores esclarecimentos quanto ao tamanho das nanopartículas produzidas e sobre o efeito da presença de polissacarídeo no tamanho de partícula determinado por espalhamento de luz. A técnica de espalhamento de luz nos dá informações de tamanho baseadas no raio hidrodinâmico da partícula, uma vez que leva em consideração o movimento browniano das partículas em solução. Assim, quando em movimento, as partículas tendem a deslocar moléculas de solvente que a circundam, gerando valores maiores do que os da partícula isolada. Em técnicas como MEV, MET e MFA as análises são realizadas a partir da amostra seca não havendo interferência do solvente.

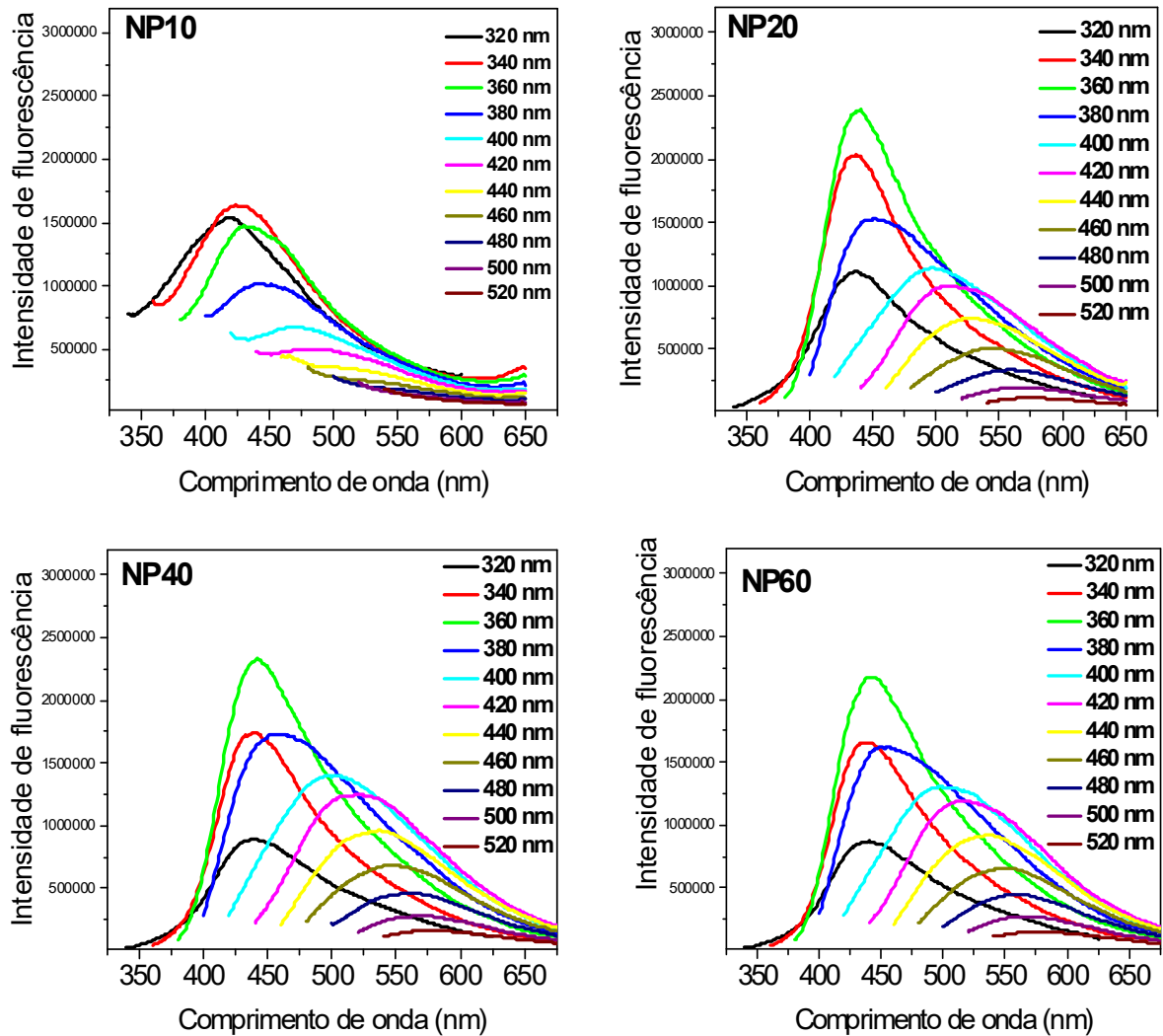
4.2.3 Espectrofotometria de fluorescência – Varredura de emissão

Uma das características mais interessantes das partículas fluorescentes de carbono é a dependência da fluorescência com a excitação (DFE). Tal propriedade não é observada para os fluoróforos convencionais como os corantes orgânicos nem para os pontos quânticos inorgânicos, os quais possuem fluorescência independente da excitação. Esse comportamento já foi reportado para nanopartículas de grafeno (PAN *et al.*, 2010), grafite (HU *et al.*, 2011) e nanotubos de carbono (ZHOU *et al.*, 2007). Essa propriedade também foi observada para todas as nanopartículas obtidas após centrifugação, como pode ser visualizado na Figura 19.

Todas as bandas mostram um perfil alargado, porém característico de nanopartículas fluorescentes de carbono, mesmo obtidas a partir de diferentes precursores (DU *et al.*, 2013; QU *et al.*, 2013; YIN *et al.*, 2013; BOURLINOS *et al.*, 2008; SUN *et al.*, 2006). Esse alargamento de banda pode estar relacionado à heterogeneidade da estrutura das nanopartículas de carbono, cuja distribuição dos grupos funcionais (-OH, -C=O, -COOH) na superfície da nanopartícula leva à formação de diferentes centros luminescentes, de diferentes energias, gerando

diferentes emissões para um mesmo comprimento de onda de excitação (ZHU *et al.*, 2015).

Figura 19 – Espectros de emissão variando o comprimento de onda de excitação de 320 a 520 nm, para as dispersões obtidas em diferentes tempos de aquecimento, após centrifugação



Fonte: Dados da pesquisa.

Apesar de muito exploradas, as nanopartículas fluorescentes de carbono ainda não têm seu mecanismo de fluorescência elucidado, porém muitos pesquisadores investem na modificação da superfície das nanopartículas, a fim de modular a fluorescência dessas nanopartículas tanto como forma de investigação do mecanismo de fluorescência envolvido (SUN *et al.*, 2006) como ao utilizá-las como artifício para elevar os valores de rendimento quântico (SACHDEV *et al.*, 2013).

4.2.4 Espectrofotometria de fluorescência – Rendimento quântico

Os valores de rendimento quântico obtidos para as nanopartículas, utilizando quinina como padrão de fluorescência, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Rendimento quântico para as nanopartículas obtidas com diferentes tempos de aquecimento após centrifugação

Amostra	Rendimento quântico (%)
NP10	0,26±0,07
NP20	1,00±0,18
NP40	1,05±0,25
NP60	1,03±0,07

Fonte: Dados da pesquisa.

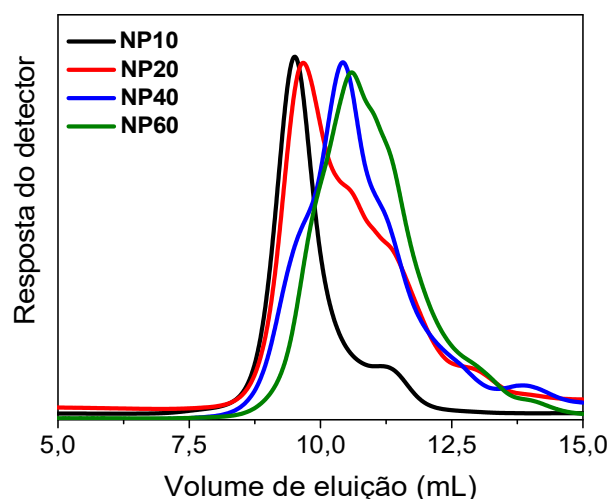
Os valores de rendimento quântico são baixos em comparação com os valores já reportados na literatura, principalmente para nanopartículas obtidas após passivação (WANG *et al.*, 2015; HAO *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2014a; YANG, ZHUO, ZHU, 2014; LIU, LIU, ZHANG, 2013). Esses valores encontram-se, porém, próximos aos valores reportados para nanopartículas de carbono obtidas sem passivação, a partir de fuligem de vela (0,8% a 3%) (LIU, YE, MAO, 2007, RAY *et al.*, 2009), glicerol (3,2%) (WANG *et al.*, 2011b), grafite (1,2%) (ZHAO *et al.*, 2008), nanotubos de carbono (1,6%) (Xu *et al.*, 2004) e a partir de fontes naturais como o leite de soja (2,6%) (ZHU, ZHAI, DONG, 2012), goma de pessegueiro (5,3%) (ZHOU, HE, HUANG, 2013) e glicose (1,6-2,0%) (LIU *et al.*, 2012; LU *et al.*, 2015). Esses valores também são coerentes com aqueles obtidos com aquecimento em micro-ondas doméstico (Tabela 1).

Alguns pesquisadores reportam um aumento do rendimento quântico com o aumento da temperatura de aquecimento, porém essa relação atinge um máximo, a partir do qual o rendimento quântico tende a diminuir. Krysmann *et al.* (2012) estudaram o mecanismo de formação das nanopartículas de carbono a partir de ácido cítrico e etanolamina. Foi observado que na temperatura de 180 °C eram obtidos produtos com rendimento quântico de 50%, com o aumento da temperatura para 230 °C esses produtos altamente fluorescentes eram consumidos formando produtos com menor rendimento quântico (15%).

4.2.5 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A Figura 20 mostra os cromatogramas para as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento e após centrifugação. Todas as amostras foram obtidas pela dissolução do material seco em solução de NaNO_3 0,1 mol/L como solvente, que é o eluente da coluna de separação utilizada. Dissolver a amostra na mesma fase móvel da coluna permite que não haja o aparecimento de vales nos cromatogramas, que impedem a visualização de distribuições de maior volume de eluição (menor massa molar). Esses vales aparecem a partir do volume de eluição de 10,9 mL.

Figura 20 – Cromatogramas para as amostras obtidas com diferentes tempos de aquecimento e após centrifugação, obtidos a partir de detector de índice de refração (IR)

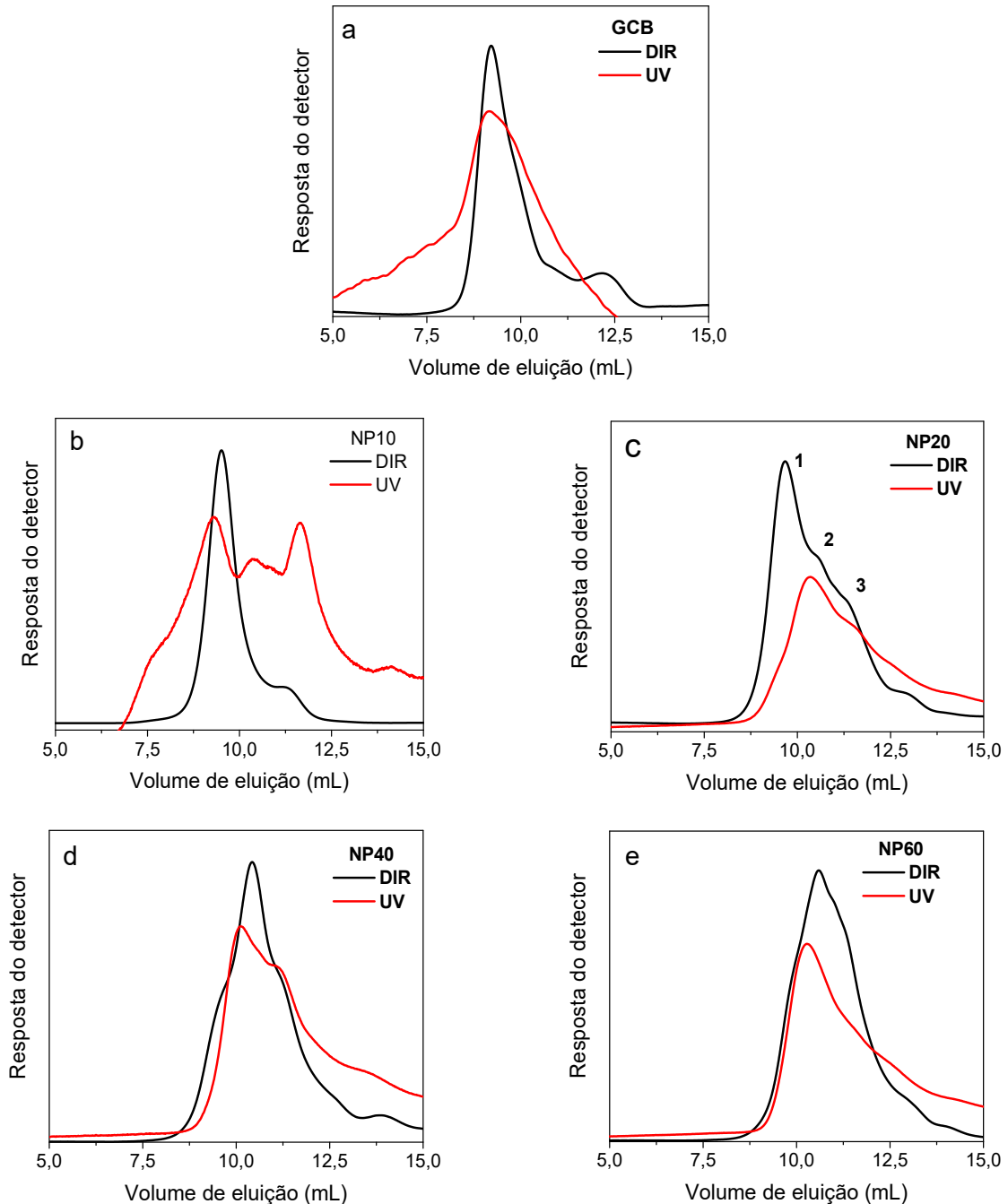


Fonte: Dados da pesquisa.

O aumento do tempo de aquecimento aumenta o volume de eluição, que é reflexo na diminuição da massa molar de pico das amostras, além de gerar perfis multimodais e mais alargados de distribuição de massa molar. Quanto maior o tempo de aquecimento, maior a porcentagem de cadeias com menor massa molar.

A Figura 21 mostra os cromatogramas obtidos utilizando o detector de índice de refração (DIR) e os cromatogramas correspondentes utilizando o detector na região do ultravioleta (UV), no comprimento de onda de 365 nm, o mesmo utilizado para a determinação do rendimento quântico.

Figura 21 – Cromatogramas obtidos com os detectores de índice de refração (DIR) e na região do ultravioleta (UV) para a goma do cajueiro bruta (GCB) e para as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento e após centrifugação



Fonte: Dados da pesquisa.

Pode-se observar que para a GCB há uma absorção larga, relacionada à distribuição de massa molar. Após 10 min de aquecimento são observadas mais duas bandas no ultravioleta, indicando uma distribuição de massa molar com absorção característica por toda a extensão de distribuição de massa molar da amostra. Com

vinte minutos de aquecimento há uma maior contribuição de massas molares menores pelo surgimento de mais duas bandas (2 e 3) (Figura 21c), ambas com absorção em 365 nm, sendo a distribuição 2, a que apresenta maior absorção no UV. Essa mesma distribuição torna-se predominante na amostra obtida com 40 min (Figura 21d), o que é acompanhado pela diminuição da banda 1. Para o tempo de 60 min há o aumento da banda 3 e uma redução ainda maior da banda 1, relacionada à maior massa molar. Apesar desse aumento a banda 3 apresenta menor absorção em 365 nm enquanto a banda 2 continua com sinal intenso.

Para estimar a massa molar de pico para cada uma das amostras, foram consideradas distribuições de massa molar até o volume de eluição indicado, de 10,9 mL. Esse volume de eluição correspondente à massa molar de pico (M_p) mínima para a coluna utilizada (1000 g/mol). A relação entre volume de eluição e massa molar foi obtida utilizando equação 5 obtida pela curva padrão de pululana (Apêndice B).

$$\text{Log}M_p = 14,6827 - 1,0697V_e \quad (R=-0,9925) \quad (5)$$

A Tabela 4 mostra os valores de volume de eluição obtidos a partir da equação 5 para a goma do cajueiro bruta e as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento após centrifugação e dissolvidas em solução de NaNO_3 0,1 mol/L.

Tabela 4 – Volume de eluição e massa molar de pico estimada para a goma do cajueiro bruta (GCB) e para as amostras obtidas após centrifugação em diferentes tempos de aquecimento

Amostra	V_e (mL)	$M_p \times 10^{-4}$ (g/mol)
GCB	9,21	6,8
NP10	9,51	3,2
NP20	9,67	2,2
NP40	10,4	0,4
NP60	10,6	0,2

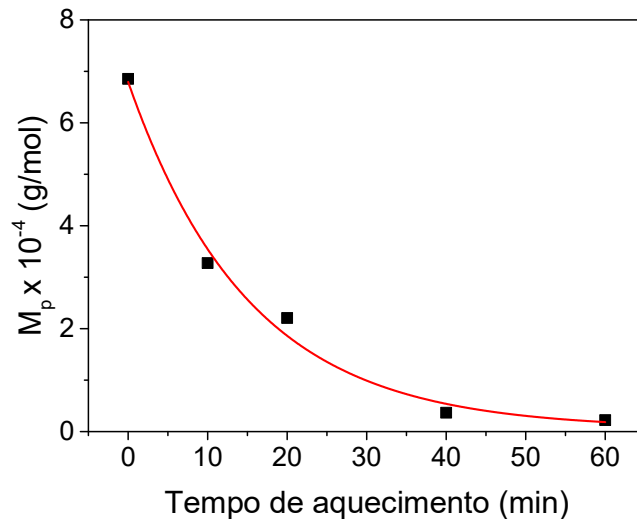
Fonte: Dados da pesquisa.

Verifica-se que a massa molar de pico para a GCB é de $6,8 \times 10^4$ g/mol e após 10 minutos de aquecimento é possível observar que a massa molar de pico é reduzida a menos da metade.

A Figura 22 apresenta o perfil de redução da massa molar com o tempo de aquecimento. Percebe-se que o aumento do tempo de aquecimento leva a uma redução brusca da massa molar. Pode-se destacar valores de massa molar de pico

muito baixos para os tempos de 40 e 60 min, sendo reduzida em uma ordem de grandeza partindo de 68.000 g/mol (GCB) para 2.300 g/mol (NP60).

Figura 22 – Perfil de redução da massa molar de pico da goma do cajueiro bruta com o aumento do tempo de aquecimento



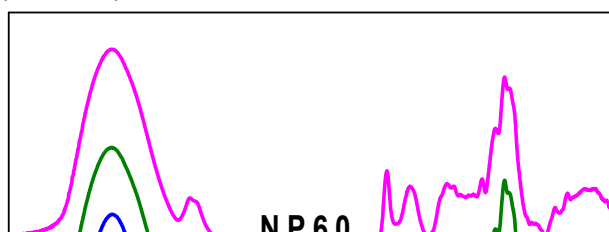
Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A Figura 23 mostra o espectro de infravermelho da goma do cajueiro bruta e das amostras obtidas a partir de diferentes tempos de aquecimento e após centrifugação. A região característica do polissacarídeo apresenta modificações com o tempo de aquecimento, pois sinais compreendidos entre 1185 e 400 cm^{-1} (ROSÍK; KARDOŠOVÁ; KUBALA, 1973) tornam-se menos definidos e menos intensos, indicando a quebra das ligações glicosídicas e abertura dos anéis piranosídicos.

A principal mudança observada nos espectros das amostras em relação à goma do cajueiro bruta é o aparecimento da banda em 1770 cm^{-1} que pode ser atribuída à presença de grupos carboxílicos de éster. Essa banda torna-se evidente a partir de 20 min de aquecimento e apresenta-se mais intensa para as amostras obtidas com 40 e 60 min.

Figura 23 – Espectros de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro bruta (GCB) e das amostras obtidas após a centrifugação nos diferentes tempos de aquecimento





Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 5 apresenta as principais bandas de absorção obtidas a partir da Figura 23 e suas respectivas atribuições, relacionadas à goma do cajueiro bruta e às amostras obtidas após centrifugação.

Tabela 5 – Principais bandas de absorção da goma do cajueiro bruta (GCB) e das nanopartículas fluorescentes de carbono obtidas após centrifugação, em diferentes tempos de aquecimento

Número de onda (cm ⁻¹) 1)	Atribuição	Modificação
3380	Estiramento O-H	-
2938/2893	Estiramento -C-H	-
1770	Estiramento C=O de éster	Presente apenas nas NP
1208	Estiramento C-O	Presente apenas nas NP
1141/1080/1037	Estiramento C-C e C-O do anel piranosídico	Diminui para as NP
880	C-H do anel da β-D- galactose	Diminui para as NP
714/776	Deformação do anel piranosídico	Diminui para as NP

Fonte: SPEDDING, 1964; PRETSCH; BÜHLMANN; BADERTSCHER, 2009.

A Tabela 6 apresenta um resumo das propriedades analisadas das nanopartículas fluorescentes de carbono produzidas. Para os experimentos subsequentes foi escolhido o tempo de aquecimento de 40 min, por apresentar o

máximo valor de rendimento mássico e melhor solubilidade, em relação ao tempo de aquecimento de 60 min, além de atingir um valor de rendimento quântico que não compensa o aumento do tempo de aquecimento para 60 min.

Tabela 6 – Valores obtidos a partir das propriedades avaliadas para as nanopartículas fluorescentes de carbono

Amostra	d (nm)	IPd	Pζ (mV)	Φ (%)	Mp x 10 ⁻⁴ (g/mol)
NP10	93,4±29,4/549±50,9	0,429±0,08	-8,51±0,40	0,26±0,07	6,8
NP20	30,9±9,38/373±10,3	0,628±0,00	-12,4±0,11	1,00±0,18	3,2
NP40	104±24,3/323±29,1	0,487±0,01	-9,13±0,38	1,05±0,25	2,2
NP60	71,1±11,9/316±0,63	0,444±0,06	-10,4±0,40	1,03±0,07	0,4

Fonte: Dados da pesquisa.

4.3 Precipitação das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)

Como discutido nos resultados de cromatografia de permeação em gel (GPC), apesar do aumento do tempo de aquecimento levar à degradação da cadeia polimérica, uma porção da amostra ainda apresenta distribuições de elevada massa molar. Para avaliar a presença de material fluorescente nas frações poliméricas de maior massa molar, seguiu-se com a precipitação do material obtido após a centrifugação.

O material separado por precipitação (NP10P, NP20P, NP40P e NP60P) foi caracterizado para fins de comparação com as amostras de partida (NP10, NP20, NP40 e NP60).

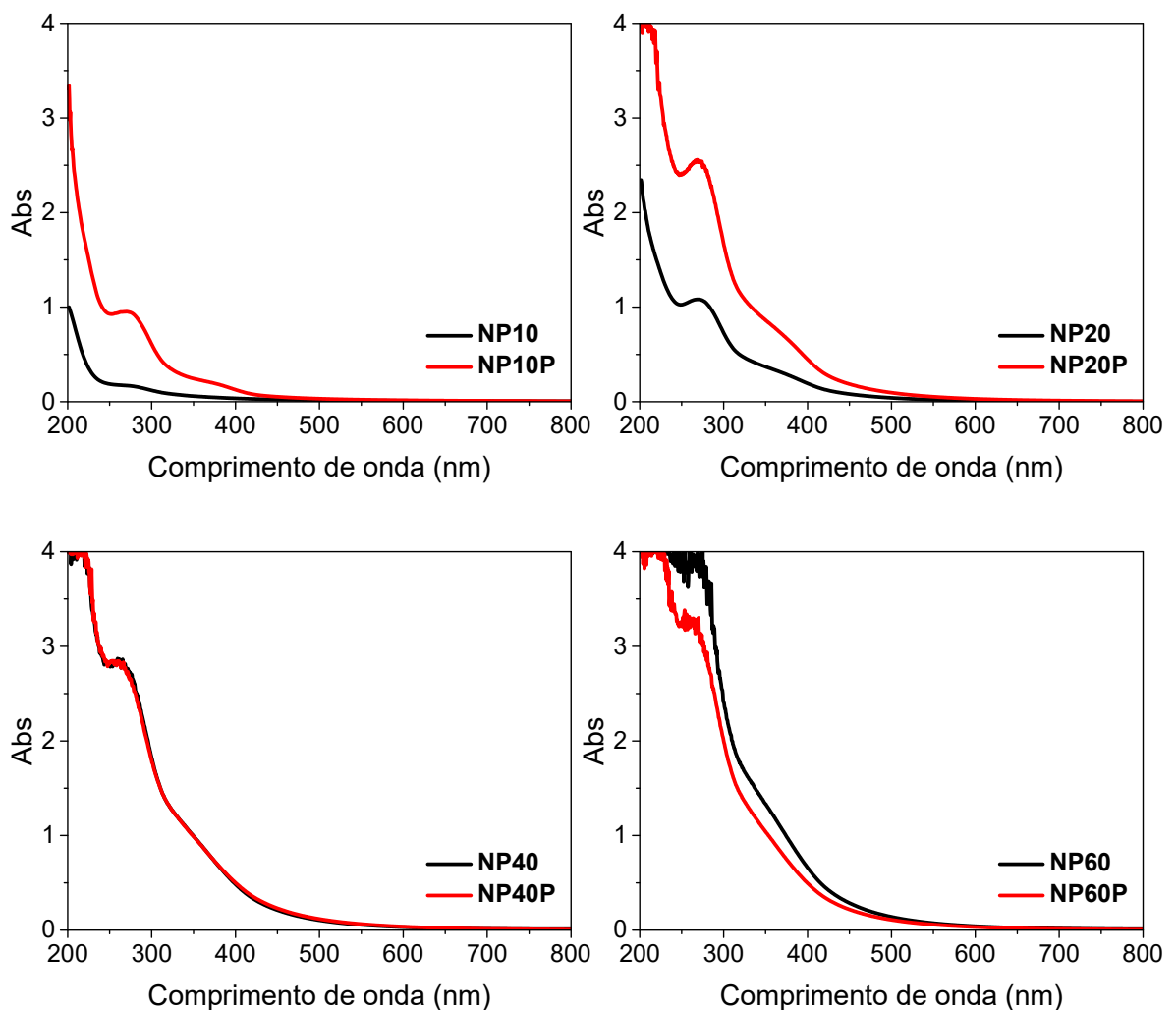
Foi possível observar que as amostras obtidas com um maior tempo de aquecimento levaram a um menor teor de polissacarídeo residual, decantado após a precipitação, sendo essa massa muito pequena para as amostras NP40 e NP60.

4.3.1 Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

A Figura 24 mostra que as dispersões que apresentaram maior efeito da precipitação foram obtidas nos tempos de 10 e 20 min. Para essas dispersões as bandas tornam-se mais intensas, pois após a remoção do polissacarídeo residual há o aumento da concentração (m/v) das nanopartículas nas dispersões, uma vez que são os grupos funcionais presentes nas nanopartículas, e não no polissacarídeo

residual, os responsáveis pelas bandas de absorção. A concentração de nanopartículas não sofre grande variação observável nos espectros das amostras NP40 e NP60 em comparação com o material obtido após precipitação, indicando que pouco polissacarídeo permanece na amostra após 40 minutos de aquecimento, sendo praticamente todo convertido em nanopartículas fluorescentes e compostos de menor massa molar.

Figura 24 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para as amostras obtidas em diferentes tempos de aquecimento, após centrifugação seguida de precipitação, em comparação com os espectros das mesmas amostras antes da precipitação

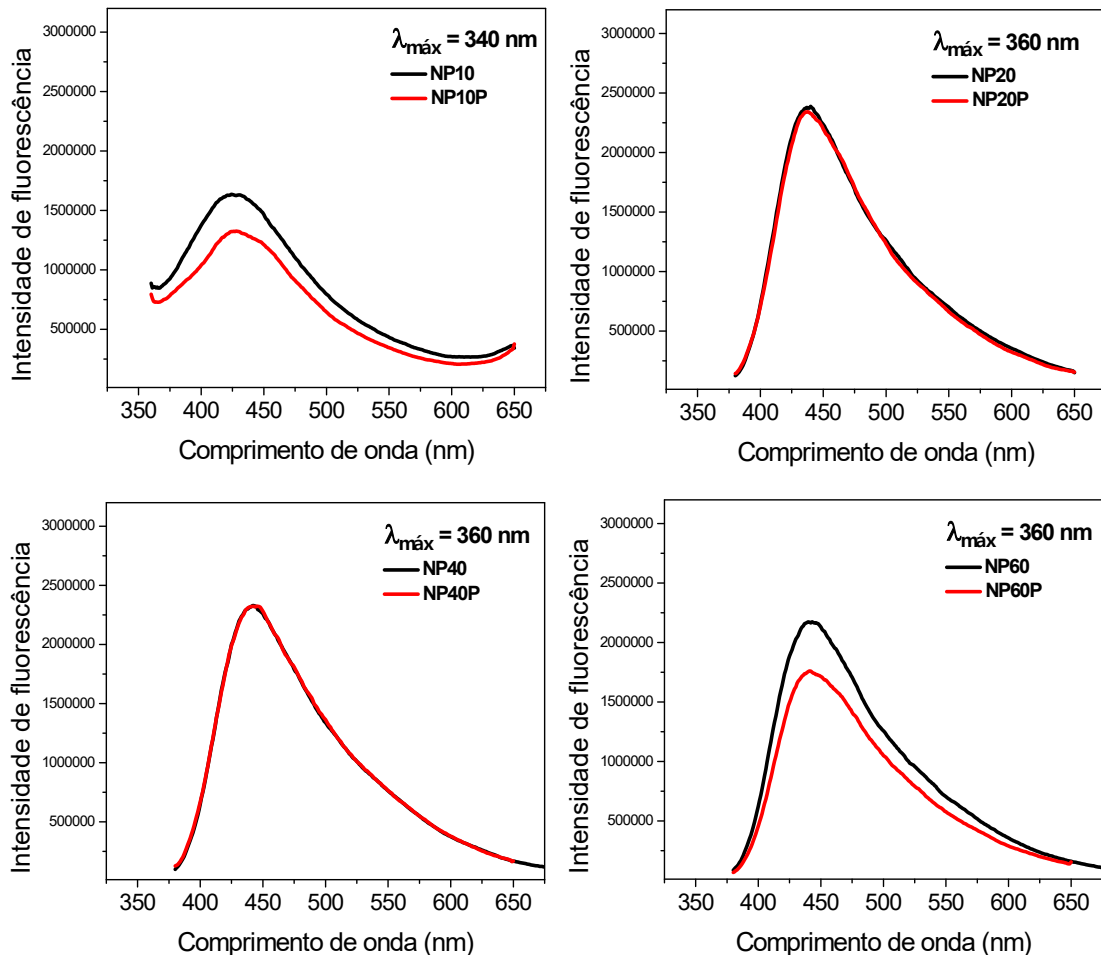


Fonte: Dados da pesquisa.

4.3.2 Espectrofotometria de fluorescência – Varredura de emissão e rendimento quântico (RQ)

A Figura 25 mostra o comparativo entre os espectros de emissão de fluorescência antes e depois da precipitação, sendo mostrados os espectros de emissão máxima para cada amostra. Para o tempo de aquecimento de 10 minutos o comprimento de onda de excitação que leva a uma emissão máxima é de 340 nm, tanto antes como depois da precipitação em acetona. Para os demais tempos de aquecimento o comprimento de onda de excitação de 360 nm é o que leva a uma maior intensidade de emissão. Os espectros que mostram a dependência do comprimento de onda de emissão com a variação do comprimento de onda de excitação são apresentados no Apêndice C.

Figura 25 – Espectros de emissão de fluorescência no comprimento de onda de excitação de máxima emissão para as dispersões obtidas antes e após precipitação nos diferentes tempos de aquecimento

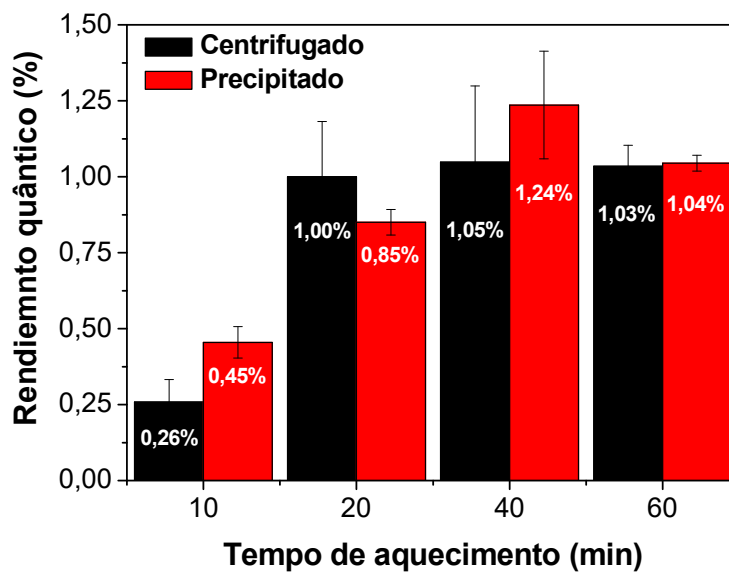


Fonte: Dados da pesquisa.

As amostras obtidas nos tempos de 10 min e 60 min apresentaram redução da emissão de fluorescência, e para as amostras obtidas nos tempos de 20 e 40 min a emissão de fluorescência permaneceu inalterada.

A Figura 26 mostra os valores de rendimento quântico (RQ) para as amostras apenas centrifugadas e para as amostras precipitadas após centrifugação. Pode-se perceber que a relação de rendimento quântico com o tempo de aquecimento é similar àquela encontrada para as amostras não precipitadas, ou seja, o aumento do tempo de aquecimento leva a nanopartículas com maiores valores de rendimento quântico até o tempo de 40 min e com 60 minutos o valor decresce novamente.

Figura 26 – Comparativo entre os valores de rendimento quântico para as amostras obtidas após centrifugação e após precipitação, nos diferentes tempos de aquecimento



Fonte: Dados da pesquisa.

Apesar de apresentarem variação no valor de rendimento quântico, as amostras NP20 e NP40 apresentaram desvio padrão elevado que se confundem com os valores médios das respectivas amostras precipitadas, nos levando a crer que nesse intervalo de tempo as nanopartículas estão se formando ocorrendo quebras de ligação e rearranjos que podendo levar a diferentes proporções de polissacarídeo na amostra final.

Assim, para melhor comparar o efeito da remoção do polissacarídeo residual, pode-se observar os resultados obtidos para as amostras NP10 e NP60. Na primeira espera-se maior teor de polissacarídeo uma vez que apenas parte do polissacarídeo foi caramelizado, enquanto que em 60 min de aquecimento a maior

parte do polissacarídeo foi decomposto em cadeias de menor tamanho (oligossacarídeos) e monossacarídeos rearranjados.

A remoção do polissacarídeo elevou em cerca de 70% o valor de rendimento quântico da amostra NP10, enquanto que para a amostra NP60, a precipitação não afetou o rendimento quântico. Pode-se perceber que o aumento do polissacarídeo residual leva a uma maior diferença de rendimento quântico após a precipitação, podendo ser o polissacarídeo, o responsável pelo fenômeno de supressão nas amostras não precipitadas. Efeito similar foi verificado por Rappold, Warttinger e Krämer (2017), pela interação de um fluoróforo com um polissacarídeo sulfatado, essa propriedade foi explorada para determinação de heparina em plasma, e de maneira análoga apresentada também por Warttinger, Giese, Harenberg, Holmer e Krämer (2016). Esse tipo de interação entre polissacarídeo e fluoróforo com efeito de supressão também foi evidenciado para o polissacarídeo extraído da aloe interagindo com o corante vermelho de alizarina (GU *et al.*, 2011).

4.3.3 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

Os cromatogramas das amostras obtidas após centrifugação foram obtidos em solução de NaNO_3 0,1 mol/L para que fosse possível observar todas as possíveis distribuições geradas. Contudo, quando realizada a precipitação do polissacarídeo em acetona, ocorre também a precipitação do nitrato de sódio que fica envolvido nas cadeias do polissacarídeo.

Portanto, para avaliar o efeito da precipitação, as amostras foram analisadas após solubilização em água deionizada, quando foram obtidos os cromatogramas obtidos com detector de índice de refração mostrados na Figura 25.

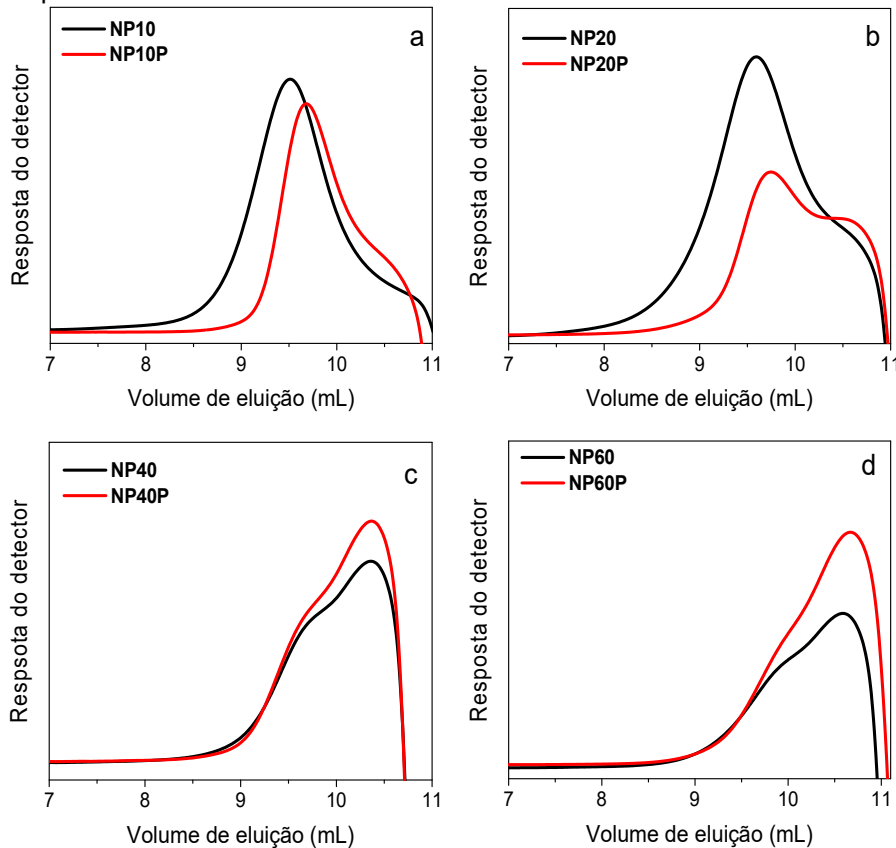
A precipitação tem maior efeito sobre a massa molar das amostras obtidas nos tempos de 10 e 20 min. Esse efeito pode ser melhor avaliando observando os valores de volume de eluição e suas respectivas massas molares de pico estimadas a partir da curva de calibração com padrões de pululana (equação 5), apresentados na Tabela 7.

As amostras obtidas com menores tempos de aquecimento são as que apresentam maiores valores de massa molar antes e depois da precipitação,

comportamento previsto dada a menor degradação das cadeias, porém são as que mais apresentam o efeito da remoção do polissacarídeo.

O tempo de 10 minutos leva a uma redução de cerca de 28% da massa molar, e após 20 minutos de aquecimento foi obtida uma massa molar 33% menor, em relação à massa molar da amostra não precipitada. Quanto maior o tempo de aquecimento, maior a degradação da cadeia polimérica e por consequência, menor a quantidade de polissacarídeo residual assim, maior parte da amostra é composta por moléculas de baixa massa molar que não precipitam em acetona, por isso as amostras NP40 e NP60 não apresentam considerável variação de massa molar após a precipitação.

Figura 27 – Cromatogramas das amostras solubilizadas em água, obtidas antes e após precipitação em acetona, nos diferentes tempos de aquecimento



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 7 – Volume de eluição (V_e) e massa molar de pico (M_p) para a goma do cajueiro bruta e para as amostras antes e depois da precipitação obtidas com diferentes tempos de aquecimento

Amostra	V_e (mL)		$M_p \times 10^{-4}$ (g/mol)	
	Antes	Depois	Antes	Depois
GCB	9,21	-	6,8	-

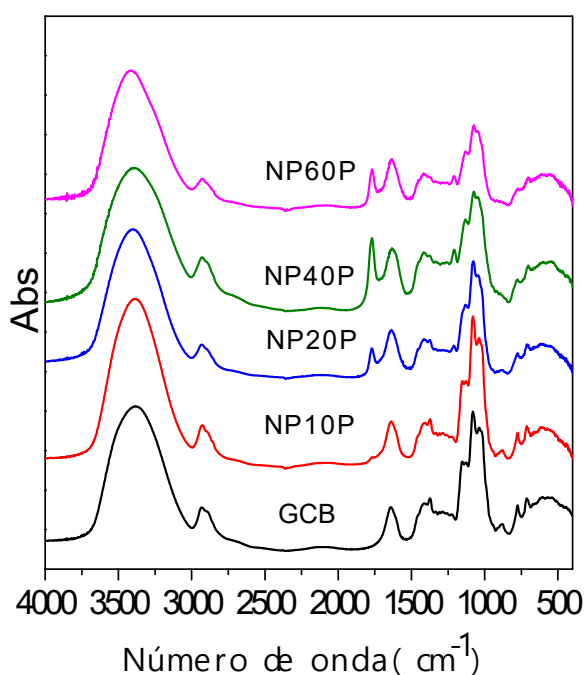
10 min	9,56	9,68	2,9	2,1
20 min	9,59	9,75	2,7	1,8
40 min	10,4	10,4	4,0	4,0
60 min	10,6	10,7	2,2	1,9

Fonte: Dados da pesquisa.

4.3.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A Figura 28 mostra os espectros de infravermelho da goma do cajueiro bruta e das nanopartículas fluorescentes de carbono obtidas com diferentes tempos de aquecimento após precipitação em acetona.

Figura 28 – Espectros de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro bruta (GCB) e das amostras obtidas após a centrifugação nos diferentes tempos de aquecimento



Fontes: Dados da pesquisa.

As mudanças observadas para as amostras não precipitadas foram intensificadas para o material obtido após a remoção do polissacarídeo. A região característica de polissacarídeos, 1185 cm^{-1} e 400 cm^{-1} (ROSÍK; KARDOŠOVÁ; KUBALA, 1973) torna-se ainda menos intensa e definida, confirmando que a porção que permanece em solução após a precipitação sofreu maior quebra das ligações glicosídicas e abertura dos anéis piranosídicos.

A Tabela 8 mostra as razões entre a banda de éster, em 1770 cm^{-1} que se intensifica com o tempo de aquecimento, e a banda em 1633 cm^{-1} característica de ácido carboxílico, já presente na GCB e que não apresenta considerável modificação com o tempo de aquecimento.

Tabela 8 – Razão entre as áreas das bandas de carbonila de éster (1770 cm^{-1}) e de ácido carboxílico (1633 cm^{-1}) para as amostras obtidas antes e depois da precipitação

Amostra	A_{1770}/A_{1633}	
	Não precipitado	Precipitado
10 min	0,0025	0,0142
20 min	0,1234	0,2061
40 min	0,5243	0,6256
60 min	0,6421	0,3537

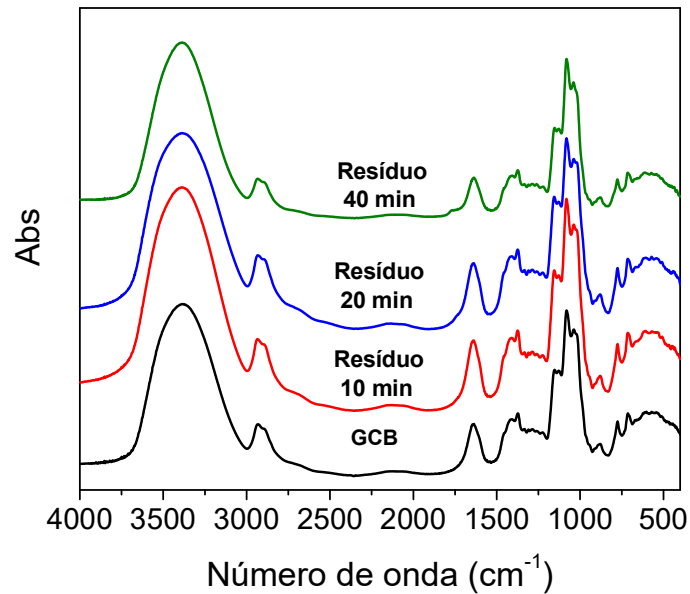
Fonte: Dados da pesquisa.

Pelos valores da Tabela 8 percebe-se, um aumento brusco do teor de ésteres com 20 minutos de aquecimento e torna-se mais gradual após 40 minutos de aquecimento, com 60 minutos o teor de ésteres não sofre grande alteração, indicando que a formação das nanopartículas vai atingindo um limite, e após um determinado tempo de aquecimento nanopartículas fluorescentes não mais são formadas e a decomposição tende a gerar mais resíduo carbonáceo.

Observa-se maiores valores da razão A_{1770}/A_{1633} para as amostras precipitadas em relação às não precipitadas mostrando que há um maior teor de grupos éteres nas amostras obtidas após precipitação. Esse comportamento é reproduzido até o tempo de aquecimento de 40 min, quando em 60 minutos tem-se uma redução da razão de banda por consequência da redução da banda de éster. A amostra NP60P, também mostrou perfil espectral diferente das demais amostras, com bandas menos definidas e estreitamento da banda de -OH (3414 cm^{-1}). Como a amostra NP60 possui menos polissacarídeo residual, ao adicionar acetona, sacarídeos de massa molar intermediária podem estar precipitando, tendo esses compostos uma estrutura mais modificada pelo aquecimento, que ao ser removida, gera a intensidade de banda relativa ao grupo éster.

Para comprovar que ao precipitar em acetona, as amostras centrifugadas, o precipitado obtido é polissacarídeo residual, foram obtidos os espectros de infravermelho para o precipitado (polissacarídeo residual) obtido nesse processo, que são mostrados na Figura 29.

Figura 29 – Espectro de absorção na região do infravermelho da goma do cajueiro bruta (GCB) e dos resíduos obtidos após a precipitação com acetona, nos diferentes tempos de aquecimento



Fonte: Dados da pesquisa.

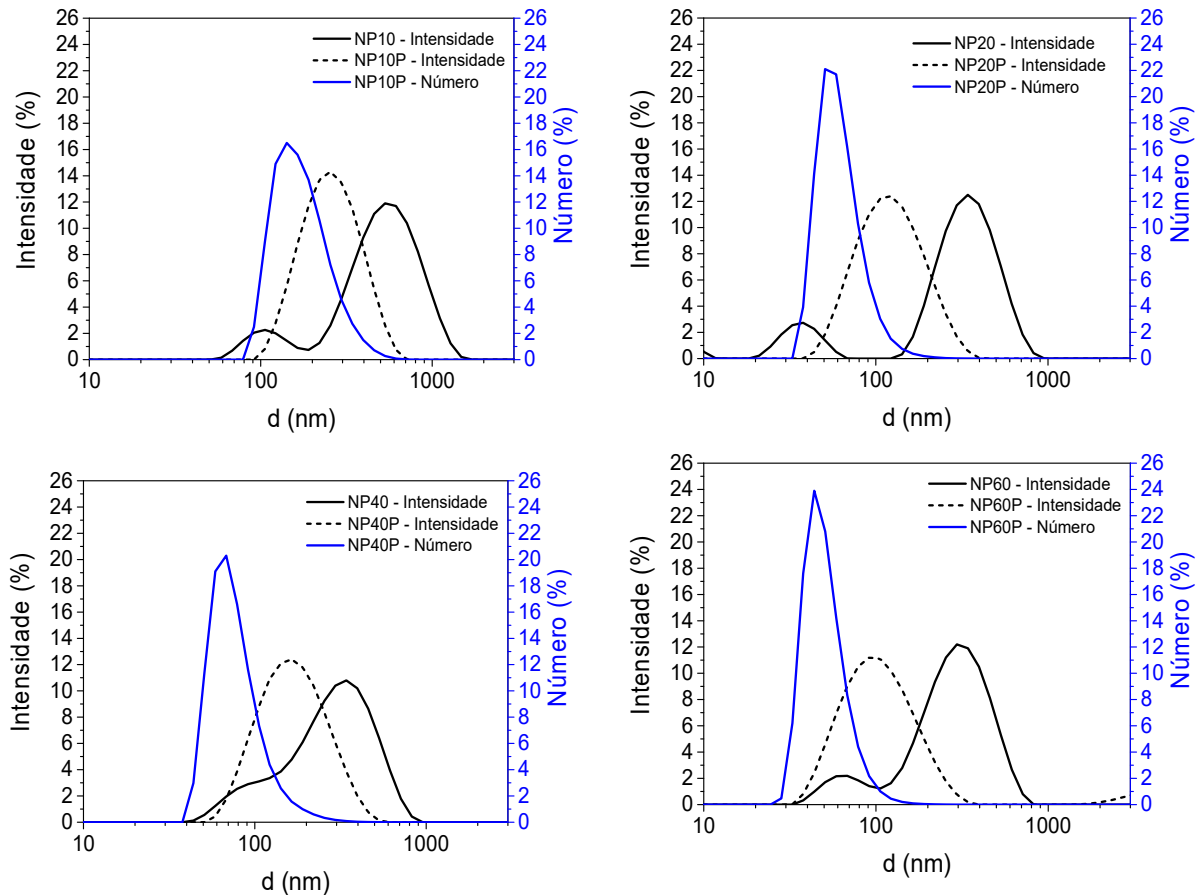
Não foi obtido material suficiente para realizar a análise de infravermelho para o precipitado da amostra obtida com 60 min de aquecimento. A banda em 1770 cm^{-1} não aparece nos espectros da amostra obtida com 10 minutos de aquecimento, aparecendo como um ombro para as amostras obtidas com 20 e 40 min. Isso indica que parte do polissacarídeo sofreu pouca modificação estrutural, com a formação de ésteres ou que parte das nanopartículas foram arrastadas com o polissacarídeo precipitado. As bandas características de polissacarídeo ($1185\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) mostraram-se intensas e definidas e o perfil espectral é muito semelhante ao da goma do cajueiro bruta.

4.3.5 Espalhamento dinâmico de luz – Tamanho de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta ($P\zeta$)

A Figura 30 mostra os gráficos de distribuição de tamanho em intensidade, para as amostras NP10P, NP20P, NP40P e NP60P, obtidas após precipitação. Após a precipitação em acetona, todas as nanopartículas apresentaram distribuição de

tamanho unimodal e estreita, as análises mostraram-se bastante reprodutivas, para todas as amostras (APÊNDICE D).

Figura 30 – Distribuições de tamanho de partícula para as amostras obtidas nos diferentes tempos de aquecimento após a centrifugação (expressas em intensidade) e após precipitação em acetona (expressas em intensidade e número)



Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 9 tras os valores de diâmetro de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta ($P\zeta$), para as amostras NP10P, NP20P, NP40P e NP60P.

Tabela 9 – Tamanho de partícula (d), índice de polidispersividade (IPd) e potencial zeta ($P\zeta$) para cada uma das dispersões obtidas depois da precipitação para os diferentes tempos de aquecimento

Amostra	d (nm)		IPd	$P\zeta$ (mV)
	Intensidade	Número		
NP10P	$282 \pm 14,1$	$154 \pm 8,48$	$0,228 \pm 0,01$	$-13,6 \pm 0,93$
NP20P	$173 \pm 8,20$	$58,0 \pm 0,84$	$0,243 \pm 0,01$	$-15,8 \pm 1,67$
NP40P	$182 \pm 2,83$	$90,3 \pm 0,42$	$0,194 \pm 0,01$	$-21,9 \pm 1,34$

NP60P	111±1,13	50,8±1,13	0,287±0,01	-23,7±0,42
-------	----------	-----------	------------	------------

Fonte: Dados da pesquisa.

Após a precipitação, os valores de potencial zeta aumentam em módulo, variando de -12,4 a -8,51 mV para amostra não precipitada em comparação com a variação de -23,7 a -13,6 mV, para o sobrenadante obtido após a precipitação. Assim, a remoção do polissacarídeo residual que poderia estar atuando como estabilizante estérico acaba conferindo maior estabilidade eletrostática, uma vez que os valores de potencial zeta tornam-se mais negativos após a precipitação.

Os valores de tamanho variaram entre 100 e 300 nm, sendo as nanopartículas obtidas com menor tempo de aquecimento as que apresentaram maior diâmetro. As nanopartículas obtidas com 60 minutos de aquecimento apresentaram menor diâmetro (111 nm). Antes da precipitação, o menor valor de IPd obtido foi de 0,444 e após a precipitação, os valores de índice de polidispersividade diminuem para um valor que varia em torno de 0,200. Esse é um valor baixo, uma vez que o mesmo pode variar de 0 a 1, sendo 0, um sistema totalmente monodisperso e 1, um sistema totalmente polidisperso (STETEFELD, MCKENNA e PATEL, 2016). Esses valores indicam que após a precipitação os sistemas mantêm partículas de tamanho semelhantes.

A técnica de espalhamento de luz fornece o tamanho das partículas baseado no seu raio hidrodinâmico (STETEFELD, MCKENNA e PATEL, 2016), sendo interessante reportar esses dados quando as nanopartículas caracterizadas forem aplicadas em solução ou dispersas, como na grande maioria de aplicações biológicas e farmacológicas. Para analisar a morfologia e o tamanho das nanopartículas isoladas sem efeito das características do meio que as circundam, faz-se uso de técnicas de imagem que utilizam o material seco, como na análise de microscopia eletrônica de transmissão (MET).

Trabalhos mostram que os valores de tamanho de partícula por DLS são maiores que os encontrados por MET e que os valores de tamanho obtidos por DLS, expressos em número, são os que mais se aproximam dos valores obtidos por TEM (EATON *et al.*, 2017; SOUZA, CIMINELLI, MOHALLEM, 2016).

Dessa forma, na Figura 30 também são mostrados os gráficos de distribuição de tamanho de partícula expressos em número de partículas. Percebe-se que ao mudar a representação, os tamanhos de partículas de todas as amostras

sofrem uma redução, chegando a mais de 50% do tamanho, exceto para a amostra NP10P. A tendência de aumento ou redução de tamanho com o tempo de aquecimento obedece àquela encontrada para os valores de intensidade, sendo o menor valor de tamanho encontrado para a amostra NP60P (50,8 nm).

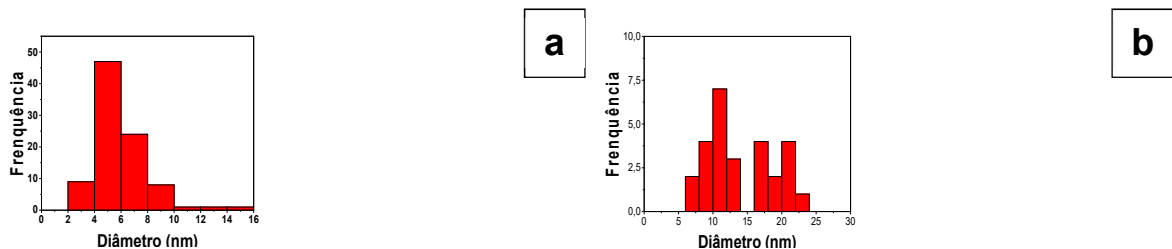
Baseando-se no conjunto de resultados obtidos, a amostra NP40P foi escolhida para a realização da análise de microscopia eletrônica de transmissão. Essa amostra apresenta tamanho de partícula expresso em número, de 90,3 nm, sendo um valor menor do que àquele expresso em intensidade, e mais comparável aos tamanhos de partículas obtidos pela análise de MET.

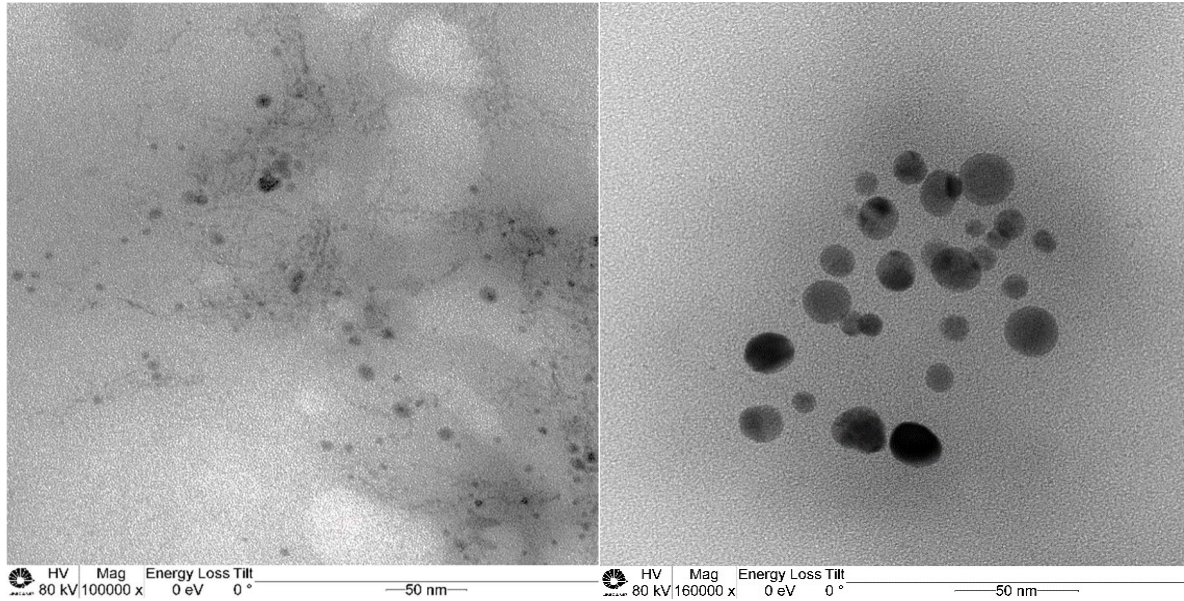
4.3.6 Morfologia e tamanho de partículas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A Figura 31 mostra micrografias obtidas da amostra NP40P. As nanopartículas mostram-se esféricas e na Figura 31a é possível observar uma região com nanopartículas de menor tamanho (6 ± 2 nm). A Figura 31b, observa-se uma outra região, de partículas maiores (14 ± 5 nm). O tamanho de partícula obtido por MET mostrou-se menor que medido por espalhamento de luz e são semelhantes aos reportados para nanopartículas fluorescentes obtidas em micro-ondas doméstico (Tabela 1).

Além da fotoluminescência, o tamanho das partículas é uma característica fundamental dos pontos quânticos de carbono, sendo assim considerado quando apresentar tamanho inferior a 10 nm, uma vez que partículas maiores resultam em dispersões com menor rendimento quântico. Dessa forma, uma propriedade, o tamanho, deve interferir em outra, a fotoluminescência.

Figura 31 – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão das NP40P





Fonte: dados da pesquisa.

Contudo, para esse tipo de material, muitas outras variáveis estão envolvidas, como a oxidação da superfície das nanopartículas, solvente no qual estão dispersas, a presença de moléculas passivadoras na superfície, dentre outras. Por isso, tem-se relatos de nanopartículas de tamanho elevado, de 25 a 45 nm, que apresentaram rendimento quântico elevado (24,2%) (LIU *et al.*, 2014), ao mesmo tempo que nanopartículas menores, com cerca de 3,6 nm apresentaram rendimento quântico abaixo de 1% (ENGLAND; PATIL; MANN, 2015).

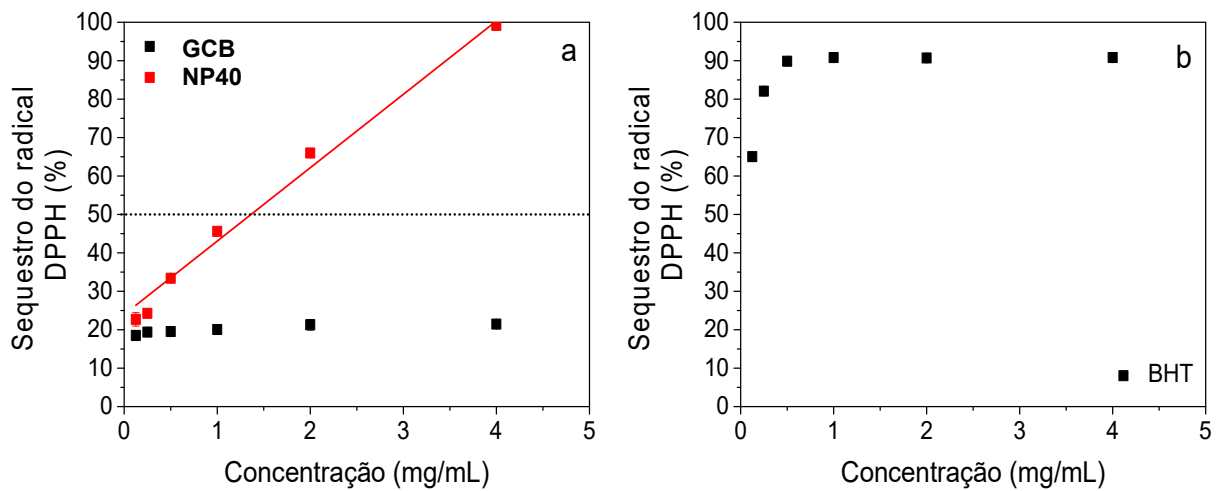
4.4 Atividade antioxidante das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP)

4.4.1 Sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

A Figura 32 mostra os resultados do ensaio de sequestro do radical DPPH para a goma do cajueiro bruta e para a amostra NP40.

A atividade antioxidante de pontos quânticos de carbono é pouco relatada, quando comparada ao grande volume de publicações voltadas à sua síntese e caracterização. Uma das análises mais comumente empregadas para investigar a atividade antioxidante de substâncias é o sequestro do radical DPPH.

Figura 32 – Sequestro do radical DPPH com o aumento da concentração de goma do cajueiro bruta (GCB) e da amostra NP40 (a) e comparação com o controle (BHT) (b)



Fonte: Dados da pesquisa.

Observa-se que para o polissacarídeo precursor (GCB) a atividade antioxidante não ultrapassa os 22% em toda a faixa de concentração empregada. Assim, mesmo na maior concentração de GCB (4 mg/mL) não foi possível determinar o valor de CI_{50} , havendo um aumento discreto na atividade antioxidante com o aumento da concentração de goma.

Para a amostra NP40 observa-se um aumento da atividade antioxidante com o aumento da concentração de amostra e que essa relação é linear. Utilizando o programa Origin®, tem-se o ajuste linear aplicado descrito pela equação 6, a partir da qual obteve-se o valor de CI_{50} de 1,4 mg/mL para a amostra NP40.

$$y = 19,09261 + 23,97241x \quad (R^2=0,99056) \quad (6)$$

Esse valor mostrou-se próximo ao encontrado por Sachdev e Gopinath, 2015 (1,5 mg/mL) para pontos quânticos de carbono obtidos a partir de folhas de coentro, por meio de carbonização hidrotérmica em autoclave. Além disso, a atividade antioxidante na concentração de 4 mg/mL é maior que a concentração do controle positivo (BHT) na mesma concentração.

4.4.2 Atividade quelante do íon ferroso (Fe^{2+})

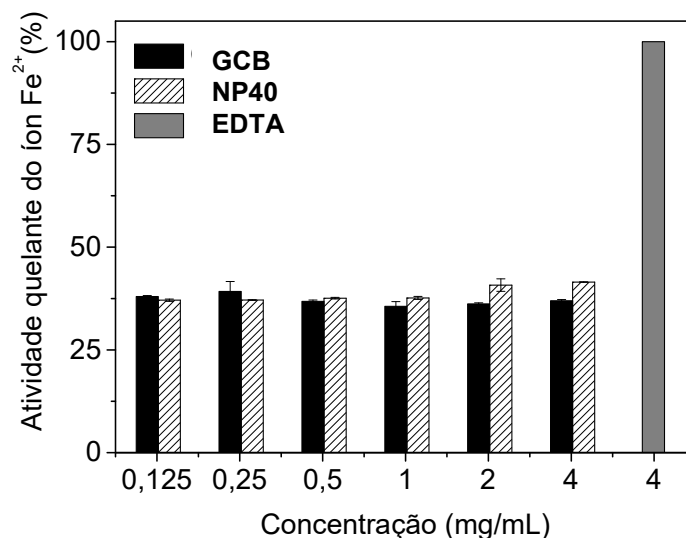
A quelação do íon ferroso é um método utilizado para verificar a atividade antioxidante, pois metais reagem no organismo com o peróxido de hidrogênio, ocorrendo principalmente com o ferro, dada sua alta biodisponibilidade. O íon ferroso (Fe^{2+}) reage com o peróxido de hidrogênio segundo a reação de Fenton (equação 7):



O peróxido de hidrogênio não se mostra nocivo, mas o radical hidroxila (HO^{\bullet}) gerado na reação com íons metálicos mostra-se altamente oxidante, reagindo com DNA, RNA, proteínas e lipídios. Dessa forma moléculas que se liguem ao íon ferroso competem com o H_2O_2 na interação com íon metálico, diminuindo a formação do radical hidroxila, possuindo assim, atividade antioxidante (CAILLET *et al.*, 2007).

A Figura 33 apresenta o resultado para o ensaio de quelação do íon ferroso (Fe^{2+}) para a goma do cajueiro bruta (GCB), a amostra obtida com 40 minutos de aquecimento (NP40) e o controle (EDTA).

Figura 33 – Atividade quelante do íon ferroso (Fe^{2+}) com o aumento da concentração de goma do cajueiro bruta (GCB) e da amostra NP40, em comparação com o controle (EDTA)



Fonte: Dados da pesquisa.

Com o aumento da concentração da amostra NP40, nota-se um aumento discreto da atividade quelante, enquanto que para a GCB essa resposta mostra-se

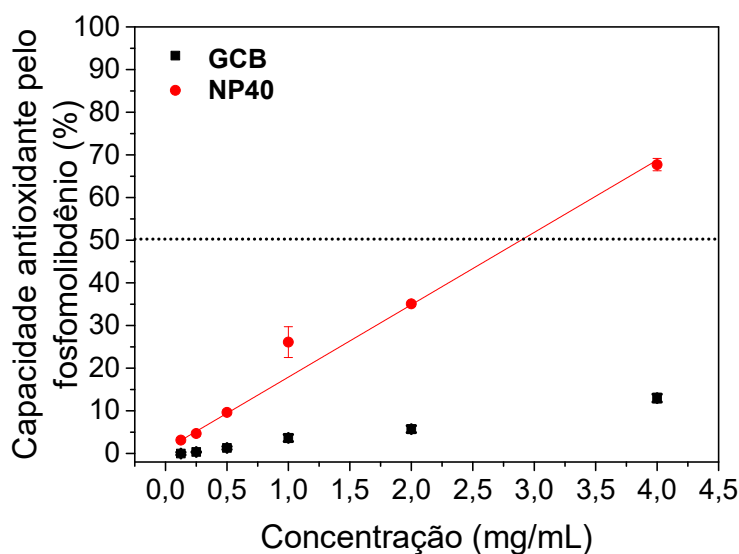
praticamente constante em toda a faixa de concentração. Percebe-se que a modificação da goma, por aquecimento, não levou a um aumento significativo da atividade quelante do íon ferroso, sendo os valores de atividade da GCB e NP40 semelhantes e muito baixos, em relação ao padrão de EDTA.

Pelo resultado encontrado observa-se que a amostra NP40, apesar de apresentar boa atividade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH, não apresenta atividade antioxidante pela via de quelação do íon ferroso.

4.4.3 Capacidade antioxidante pela formação do complexo fosfomolibdênio

A variação da capacidade antioxidante pelo método do fosfomolibdênio com a concentração de goma do cajueiro bruta (GCB) e para a amostra NP40 é mostrada na Figura 34.

Figura 34 – Capacidade antioxidante pela formação do complexo fosfomolibdênio com o aumento da concentração de goma do cajueiro bruta (GCB) e da amostra NP40



Fonte: Dados da pesquisa.

O valor de IC_{50} para a amostra NP40 também foi obtido por regressão linear segundo o ajuste que forneceu a equação 8, a partir da qual obteve-se o valor de 2,9 mg/mL, mais que o dobro da concentração obtida pelo método do sequestro do radical DPPH. Não foram encontrados ensaios de atividade antioxidante pelo método do

fosfomolibdênio para pontos quânticos de carbono, como meio de comparação para o resultado obtido.

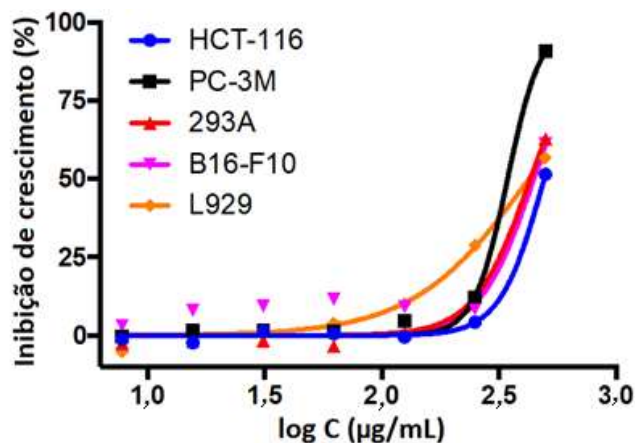
$$y = 16,95986x + 0,94561 \quad (R^2=0,99764) \quad (8)$$

4.5 Citotoxicidade das nanopartículas fluorescentes de carbono

A Figura 35 mostra o ensaio de citotoxicidade para as nanopartículas NP40, frente a células tumorais e não tumorais. As nanopartículas não se mostraram citotóxicas para nenhuma das linhagens utilizadas. Somente em concentrações mais elevadas, foi observada toxicidade, porém essa concentração é muito elevada para considerar a amostra citotóxica (YANG *et al.*, 2009).

A baixa toxicidade das nanopartículas fluorescentes de carbono atrai o interesse para a aplicação desse tipo de material em aplicação biológica seja em bioimagem (DIAO *et al.*, 2018; LUO *et al.*, 2013 e LECROY *et al.*, 2016) seja como carreadores de fármaco (YUANA *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2015).

Figura 35 – Inibição de crescimento de células tumorais (HCT-116, PC-3M e B16-F10) e não tumorais (293-A e L929) pelas nanopartículas fluorescente de carbono (NP40)



Fonte: Dados da pesquisa.

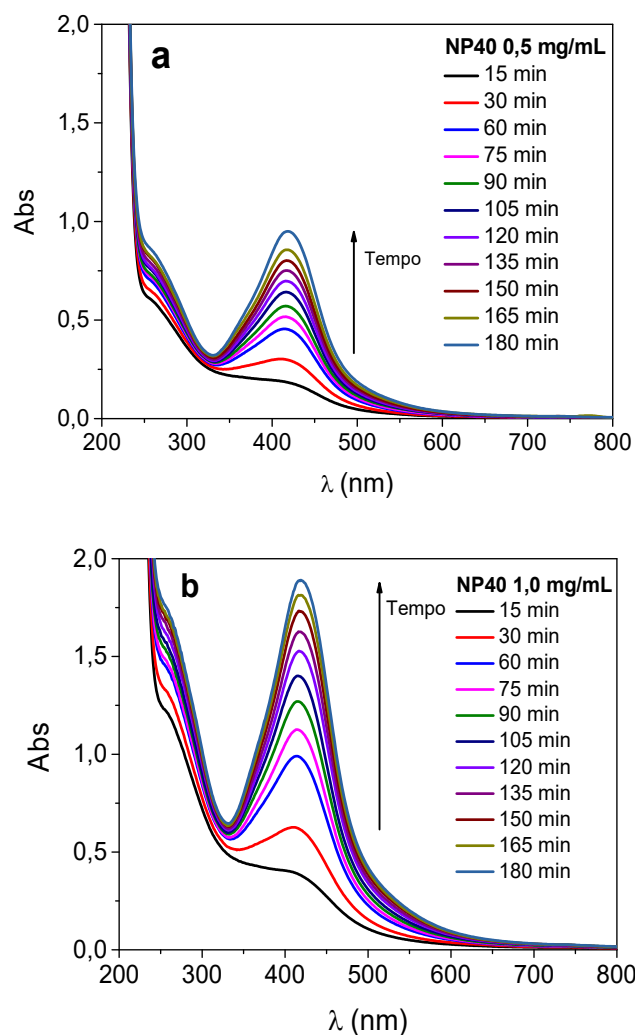
Foram reportados dados onde o fármaco doxorubicina apresenta menor toxicidade em concentrações quando carreado por *carbon-dots* sem comparação ao fármaco livre, isso ocorre pela liberação controlada proporcionada pelos *carbon-dots*.

Tal resultado mostra-se interessante devido aos efeitos colaterais do fármaco na terapia do câncer, dada sua elevada toxicidade (WANG *et al.*, 2015).

4.6 Nanopartículas fluorescentes de carbono (NP) como agente redutor e estabilizante na síntese de nanopartículas de prata (NPAg)

A Figura 36 mostra os espectros de absorção na região do UV-Vis obtidos em diferentes tempos de reação para a síntese de nanopartículas de prata, utilizando as nanopartículas fluorescentes de carbono como agente redutor e estabilizante, em duas diferentes concentrações de NP 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL.

Figura 36 – Espectros na região do UV-Vis para o progresso, com o tempo, das sínteses de nanopartículas de prata (NPAg) a partir das nanopartículas fluorescentes de carbono (NP) atuando como agente redutor e estabilizante nas concentrações de 0,5 mg/mL (a) e 1,0 mg/mL (b)



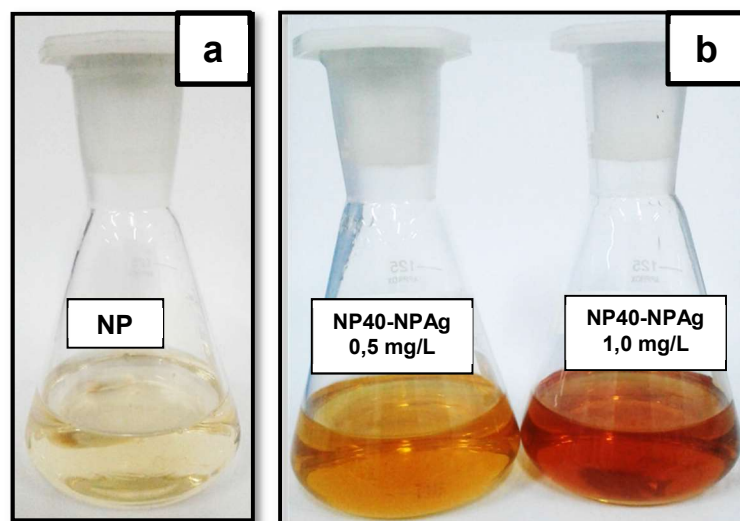
Fonte: Dados da pesquisa.

A atividade antioxidante de um composto pode ou não estar associada à sua capacidade redutora. A atividade antioxidante da amostra NP40 foi confirmada pelo ensaio do sequestro do radical DPPH e pelo ensaio de fosfomolibdênio, porém, esses ensaios não confirmam se o material produzido apresenta atividade redutora. Para isso buscou-se um ensaio que comprovasse o efeito redutor das nanopartículas fluorescentes e que ao mesmo tempo propusesse uma aplicabilidade dessa propriedade. Para tanto, foi proposta a síntese de nanopartículas de prata utilizando a amostra NP40 como agente redutor e estabilizante.

Pela Figura 36 é possível observar o surgimento de uma banda na região de 400 nm, característica de nanopartículas de prata (SUN e XIA, 2003). Essa banda intensifica-se com o tempo de reação indicando o aumento da formação de nanopartículas de prata. Também é possível verificar que o sistema que possui a maior concentração de NP40 forma uma maior quantidade de nanopartículas, considerando o mesmo tempo de reação.

A Figura 37 mostra a mistura reacional no tempo zero, com a adição das NP e da solução de prata (a) e as dispersões coloidais obtidas com 180 min de reação (b). A imagem comprova os espectros mostrados anteriormente, com a dispersão de nanopartículas de prata obtida com maior concentração de NP40 (1,0 mg/mL) apresentando cor mais intensa.

Figura 37 – Dispersões contendo apenas as nanopartículas fluorescentes de carbono e solução de nitrato de prata (a) e dispersões obtidas após 180 min nas concentrações de NP de 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL (b)

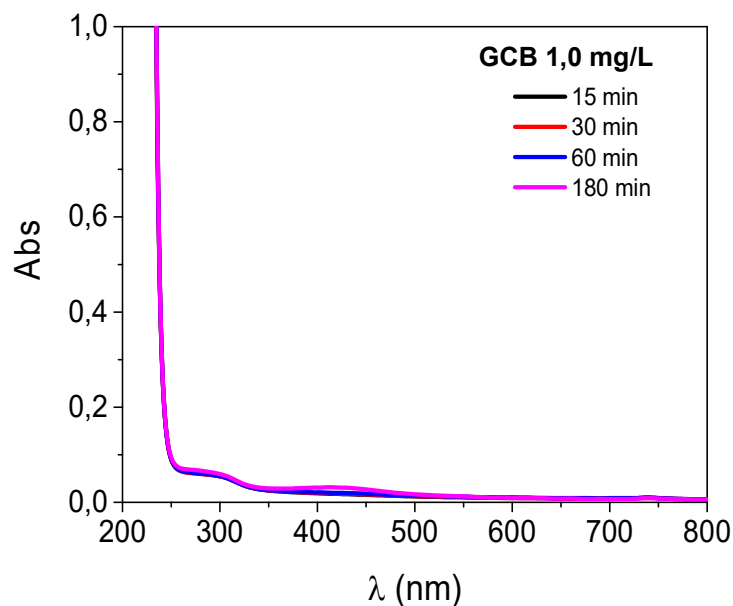


Fonte: Dados da pesquisa.

A fim de confirmar que a formação das nanopartículas de prata está associada a estrutura das nanopartículas fluorescentes de carbono, as condições reacionais foram reproduzidas utilizando a goma bruta do cajueiro. Os espectros obtidos em diferentes tempos de reação utilizando a goma do cajueiro bruta como agente redutor e estabilizante, são mostrados na Figura 38.

Percebe-se que não há formação evidente de banda plasmônica na região de 400 nm, isso mostra que nas mesmas condições reacionais empregadas para a síntese das NPAg com as nanopartículas fluorescentes de carbono, a goma do cajueiro bruta apresenta baixo poder redutor

Figura 38 – Espectros na região do UV-Vis para o progresso, com o tempo, da síntese de nanopartículas de prata com as nanopartículas fluorescentes de carbono atuando como agente redutor e estabilizante na concentração 1,0 mg/mL



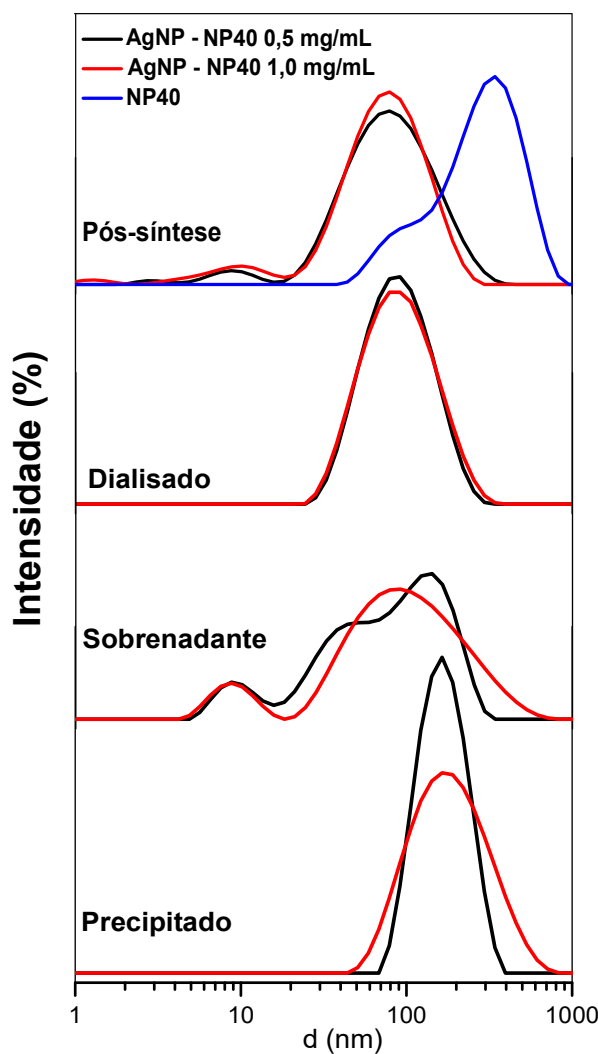
Fonte: Dados da pesquisa.

. O poder redutor de polissacarídeos está associado aos seus grupos funcionais, como sulfatos ou com os açúcares redutores que estão presentes nas extremidades das cadeias. Os açúcares redutores precisam que o carbono anomérico esteja disponível, o que não ocorre para as unidades ligadas, pelo carbono anomérico, na estrutura do polissacarídeo. Assim, quando ocorre a redução da massa molar pela degradação térmica, as ligações glicosídicas são quebradas e mais cadeias de menor tamanho são geradas e, por consequência, mais terminais redutores são formados no

meio. Além de terminais redutores, a presença de grupos hidroxila também pode atuar como agente redutor.

Análises de tamanho de partículas por espalhamento dinâmico de luz foram realizadas para avaliar o tamanho das partículas em solução após a formação das nanopartículas de prata. Lembrando que as nanopartículas fluorescentes de carbono, utilizadas na síntese das nanopartículas de prata, ainda possuem polissacarídeo residual (NP40) procedeu-se com a precipitação em acetona.

Figura 39 – Distribuições de tamanho de partícula obtidas por DLS para as amostras em diferentes etapas de obtenção das nanopartículas de prata (NPAg) produzidas com nanopartículas fluorescentes de carbono (NP40) em duas diferentes concentrações, 0,5 mg/mL e 1,0 mg/mL



Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 10 mostra os valores de diâmetro de partícula (d) e índice de polidispersividade (IPd) do sistema de nanopartículas de prata produzidas e nanopartículas fluorescentes de carbono (NP40). Após a formação das nanopartículas de prata o sistema composto NP40-NPAg apresenta menores valores de tamanho e baixo índice de polidispersividade quando comparados à amostra NP40.

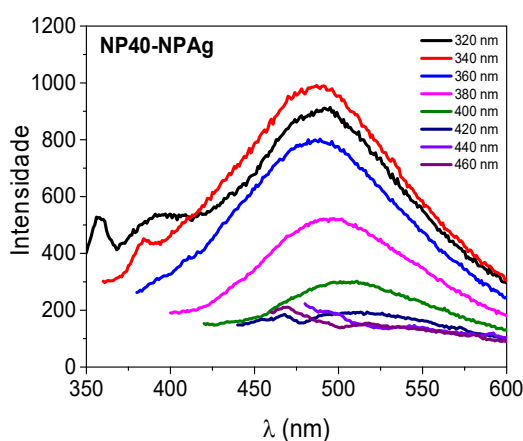
Tabela 10 – Diâmetro de partícula (d) e índice de polidispersividade (IPd) do sistema nanocomposto de nanopartículas de prata e nanopartículas fluorescentes de carbono (NP40-NPAg) em diferentes etapas de produção do composto

NP40 (mg/mL)	Amostra	d (nm)	IPd
0,5	Pós-síntese	157±3,25	0,382±0,035
	Dialisado	95,9±1,12	0,258±0,001
	Sobrenadante	145±40,9	0,337±0,074
	Precipitado	176±5,30	0,166±0,011
1,0	Pós-síntese	77,9±1,38	0,370±0,087
	Dialisado	99,1±0,40	0,275±0,001
	Sobrenadante	119±0,07	0,563±0,015
	Precipitado	190±6,72	0,221±0,013

Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 40 mostra os espectros de emissão de fluorescência do nanocomposto NP40-NPAg obtido com as nanopartículas de carbono na concentração de 0,5 mg/mL.

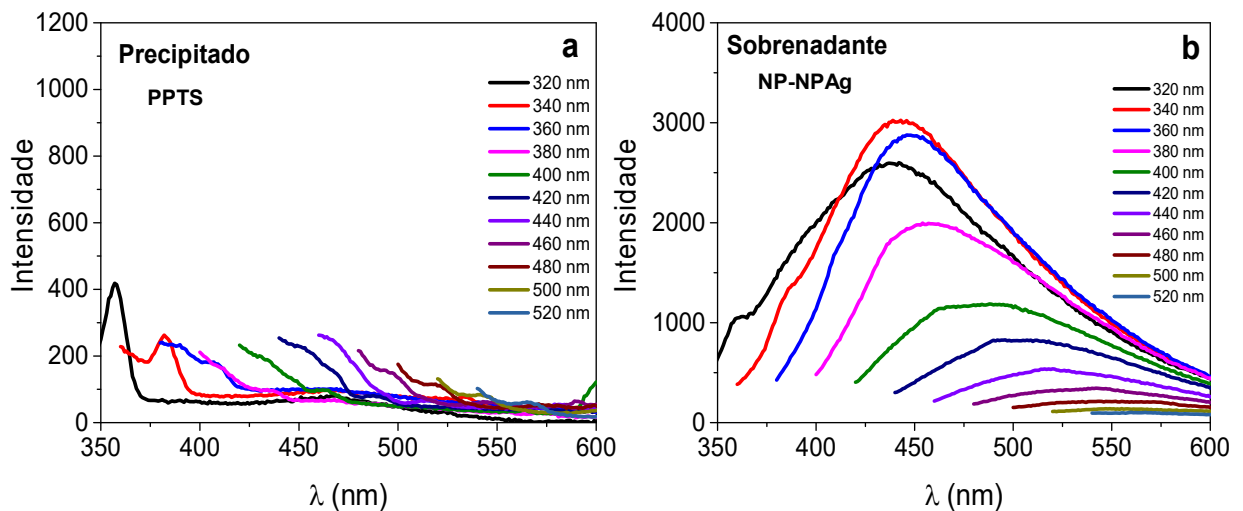
Figura 40 – Efeito do comprimento de onda de excitação nos espectros de emissão da dispersão do nanocomposto NP40-NPAg obtido com as nanopartículas fluorescentes de carbono na concentração de 0,5 mg/mL



Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 41 mostra o efeito da precipitação na fluorescência dos nanocompósitos NP40-NPAg. Como identificado para a síntese das NPFC, o material decantado após a precipitação não contém as nanopartículas fluorescentes, que como mostrados na Figura 41b, estão presentes no sobrenadante.

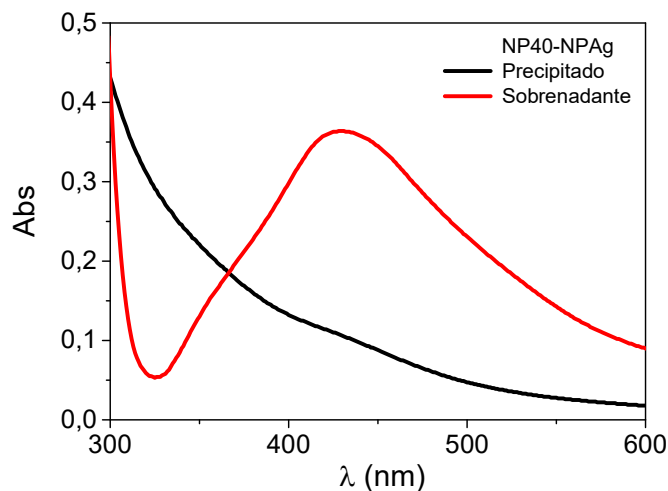
Figura 41 – Efeito do comprimento de onda de excitação nos espectros de emissão do material precipitado (a) e sobrenadante (b) obtidos após a precipitação da dispersão do nanocompósito NP40-NPAg obtido com NP40 na concentração de 0,5 mg/mL



Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 42 mostra os espectros de UV-Vis para nanocompósitos NP40-NPAg após precipitação.

Figura 42 – Espectros de UV-Vis para o precipitado e o sobrenadante oriundos da precipitação do nanocompósito NP40-NPAg



Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 42 mostra que assim como as nanopartículas fluorescentes de carbono encontram-se no sobrenadante, as nanopartículas de prata também permanecem no sobrenadante, podendo estar ancoradas nas NP40.

Algumas publicações têm tratado da síntese de nanopartículas de prata utilizando *carbon-dots*, contudo, essas sínteses ocorrem em meio básico para que ocorra a formação das nanopartículas de prata, seja pela adição de amônia (JIN *et al.*, 2015) ou de hidróxido de sódio (JANA *et al.*, 2015), ou pelo uso de radiação UV de alta intensidade (CHOI *et al.*, 2014). Os resultados apresentados mostram a obtenção de nanopartículas de prata e nanopartículas fluorescentes de carbono por uma rota simples e verde, uma vez que nanopartículas fluorescentes de carbono são obtidas pela simples dissolução da goma do cajueiro bruta em água, submetendo-a ao aquecimento, seguido da adição de prata iônica, sem qualquer outro reagente envolvido no processo.

5 CONCLUSÕES

Foram obtidas nanopartículas fluorescentes de carbono a partir da goma do cajueiro bruta por uma rota simples e verde por aquecimento em micro-ondas, obtendo-se amostras com diferentes propriedades ao variar o tempo de aquecimento.

O tempo de aquecimento desempenha papel crucial na formação das nanopartículas fluorescentes de carbono atingindo um valor ótimo em 40 minutos.

As nanopartículas podem ser utilizadas como nanocompósitos na presença de polissacarídeo residual ou após a remoção do polissacarídeo por precipitação, sem grandes alterações nas suas propriedades.

A amostra NP40 apresentou atividade antioxidante pelo método do DPPH e pela formação do complexo de fosfomolibdênio, alcançando valor superior à ao controle positivo, no ensaio de DPPH.

A amostra NP40 não se mostrou citotóxica frente a células humanas normais e tumorais, mostrando seu potencial para aplicações biológicas.

A amostra NP40 apresentou poder redutor e estabilizante na síntese de nanopartículas de prata, sendo um método eficaz, simples e verde utilizando apenas água, polissacarídeo e nitrato de prata.

REFERÊNCIAS

- AMJADI, M.; ABOLGHASEMI-FAKHRI, Z.; HALLAJ, T. Carbon dots-silver nanoparticles fluorescence resonance energy transfer system as a novel turn-on fluorescent probe for selective determination of cysteine. **J. Photoch. Photobio. A**, v. 309, p. 8-14, 2015.
- ANDERSON, D.M.W.; BELL, P. C. Structural analysis of the gum polysaccharide from anacardium occidentale. **Anal. Chim. Acta**, v. 79, p. 185-197, 1975.
- ANILKUMAR, P.; WANG, X.; CAO, L.; SAHU, S.; LIU, J.-H.; WANG, P.; KORCH, K.; TACKETT II, K. N.; PARENZAN, A.; SUN, Y.-P. Toward quantitatively fluorescent carbon-based “quantum” dots. **Nanoscale**, v. 3, p. 2023-2027, 2011.
- BAI, W. J.; ZHENG, H. Z.; LONG, Y. J.; MAO, X. J. ; GAO, M. ; ZHANG, L. A Carbon dots-based fluorescence turn-on method for DNA determination. **Anal. Sci.**, v. 27, p. 243-246, 2011.
- BANGDA YIN, JIANHUI DENG, XUE PENG, QIAN LONG, JIANGNA ZHAO, QIUJUN LU, QIONG CHEN, HAITAO LI, HAO TANG, YOUYU ZHANG, S. Y. Green synthesis of carbon dots with down- and up-conversion fluorescent properties for sensitive detection of hypochlorite with a dual-readout assay. **Analyst**, v. 138, p. 6551-6557, 2013.
- BEIRAGHI, A.; NAJIBI-GEHRAZ, S. A. Carbon dots-modified silver nanoparticles as a new colorimetric sensor for selective determination of cupric ions. **Sensor. Actuat. B-Chem.**, v. 253, p. 342-351, 2017.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, p. 1199- 1200, 1958.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH· free radical method. **LWT-Food Sci. Technol.**, v. 30, p. 609-615, 1997.
- BOURLINOS, A. B.; STASSINOPOULOS, A.; ANGLOS, D.; ZBORIL, R.; KARAKASSIDES, M.; GIANNELIS, E. P. Surface functionalized carbogenic quantum dots. **Small**, v. 4, p. 455-458, 2008.
- BOURLINOS, A. B.; TRIVIZAS, G.; KARAKASSIDES, M. A.; BAIKOUSI, MARIA KOULOUMPIS, A.; GOURNIS, D.; BAKANDRITSOS, A.; HOLA, K.; KOZAK, O.; ZBORIL, R.; PAPAGIANNOULI, I.; ALOUKOS, P.; COURIS, S. Green and simple route toward boron doped carbon dots with significantly enhanced non-linear optical properties. **Carbon**, v. 83, p. 173-179, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Sci. Technol.**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CAILLET, S.; YU, H.; LESSARD, S.; LAMOUREUX, G.; AJDUKOVIC, D.; LACROIX, M. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. **Food Chem.**, v. 100, p. 542–552, 2007.

CAMPBELL-PLATT, G. **Food Science and Technology**. Wiley, 2009.

CAO, L. ; WANG, X.; MEZIANI, M. J.; LU, F.; WANG, H.; LUO, P. G.; LIN, Y.; HARRUFF, B. A.; VECA, L. M.; MURRAY, D.; XIE, S.-Y.; SUN, Y.-P. Carbon dots for multiphoton bioimaging. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 129, p. 11318-11319, 2007.

CAYUELA, A.; SORIANO, M. L.; VALCARCEL, M. Strong luminescence of carbon dots induced by acetone passivation: Efficient sensor for a rapid analysis of two different pollutants. **Anal. Chim. Acta**, v. 804, p. 246-251, 2013.

CHANDRA, S.; PATHAN, S. H.; MITRA, S.; MODHA, B. H.; GOSWAMI, A.; PRAMANIK, P. Tuning of photoluminescence on different surface functionalized carbon quantum dots. **RSC Adv.**, v. 2, p. 3602-3606, 2012.

CHOI, H.; KO, S.-J.; CHOI, Y.; JOO, P.; KIM, T.; LEE, B. R.; JUNG, J.-W.; CHOI, H. J.; CHA, M.; JEONG, J.-R.; HWANG, I.-W.; SONG, M. H.; KIM, B.-S.; KIM, J. Y. Versatile surface plasmon resonance of carbon-dot-supported silver nanoparticles in polymer optoelectronic devices. **Nat. Photonics.**, v. 7, p. 732-738, 2013.

CHOI, Y.; RYU, G. H.; MIN, S. H.; LEE, B. R.; SONG, M. H.; LEE, Z. E KIM, B.-S. Interface-controlled synthesis of heterodimeric silver-carbon nanoparticles derived from polysaccharides. **ACS Nano**, v. 8, p. 11377-11385, 2014.

CUNHA, P. L. R.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Quim. Nova**. V. 32, p. 649-660, 2009.

DAS, B.; DADHICH, P.; PAL, P.; SRIVAS, P. K.; BANKOTI, K. E DHARA, S. Carbon nanodots from date molasses: New nanolights for the in vitro scavenging of reactive oxygen species. **J. Mater. Chem. B**, v. 2, p. 6839-6847, 2014.

DE, B.; KARAK, N. A green and facile approach for the synthesis of water soluble fluorescent carbon dots from banana juice. **RSC Adv.**, v. 3, p. 8286-8290, 2013.

DHENADHAYALAN, N.; LIN, K.-C. Chemically induced fluorescence switching of carbon-dots and its multiple logic gate implementation. **Sci. Rep.**, v. 5, p. 1-9, 2015.

DIAO, H.; LI, T.; ZHANG, R.; KANG, Y.; LIU, W.; CUI, Y.; WEI, S.; WANG, N.; LI, L.; WANG, H. NIU, W. E SUN, T. Facile and green synthesis of fluorescent carbon dots with tunable emission for sensors and cells imaging. **Spectrochim. Acta A**, v. 200, p. 226-234, 2018.

DIMOS, K. Carbon quantum dots: Surface passivation and functionalization. **Curr. Org. Chem.**, v. 20, p. 682-695, 2016.

DU, F.; MING, Y.; ZENG, F.; YU, C.; WU, S. A low cytotoxic and ratiometric fluorescent nanosensor based on carbon-dots for intracellular pH sensing and mapping. **Nanotechnology**, v. 24, p. 365101-365109, 2013.

EATON, P.; QUARESMA, P.; SOARES, C.; NEVES, C.; DE ALMEIDA, M. P.; PEREIRA, E.; WEST, P. A direct comparison of experimental methods to measure dimensions of synthetic nanoparticles. **Ultramicroscopy**, v. 182, p. 179-190, 2017.

ENGLAND, M. W.; PATIL, A. J.; MANN, S. Synthesis and confinement of carbon dots in lysozyme single crystals produces ordered hybrid materials with tuneable luminescence. **Chem. Eur. J.**, v. 21, p. 1-7, 2015.

FENG, L.; ZHAO, A.; REN, J.; QU, X. Lighting up left-handed Z-DNA: Photoluminescent carbon dots induce DNA B to Z transition and perform DNA logic operations. **Nucleic Acids Res.**, v. 41, p. 7987-7996, 2013.

FERNANDES, D.; KRYSMANNB, M. J.; KELARAKIS, A. Carbon dots based nanopowders and their application for fingerprint recovery. **Chem. Commun.**, v. 51, p. 4902-4905, 2015.

FOTI, M. C.; DAQUINO, C. Kinetic and thermodynamic parameters for the equilibrium reactions of phenols with the DPPH·. **Chem. Commun.**, n. 30, p. 3252-3254, 2006.

GONÇALVES, H.; SILVA, J. C. G. E. Fluorescent carbon dots capped with PEG200 and mercaptosuccinic acid. **J. Fluoresc.**, v. 20, p. 1023-1028, 2010.

GONÇALVES, H.; JORGE, P. A S.; FERNANDES, J. R. A; ESTEVES DA SILVA, J. C. G. Hg(II) sensing based on functionalized carbon dots obtained by direct laser ablation. **Sensor. Actuat. B-Chem**, v. 145, p. 702-707, 2010.

GU, W.; SONG, H.; WEN, X.; LU, C.; XIA, W. A novel fluorescence quenching method for the determination of aloe polysaccharide. **Chin. J. Chem.**, v. 29, p. 555-561, 2011.

GUAN, W.; GU, W.; YE, L.; GUO, C.; SU, S.; XU, P.; XUE, M. Microwave-assisted polyol synthesis of carbon nitride dots from folic acid for cell imaging. **Int. J. Nanomed.**, v. 9, p. 5071-5078, 2014.

HAYES, Brittany.L. **Microwave Synthesis: Chemistry at the Speed of Light**, Nova Iorque: CEM Publishing, 2002.

HAO, Y.; GAN, Z.; XU, J.; WU, X.; CHU, P. K. Poly(ethylene glycol)/carbon quantum dot composite solid films exhibiting intense and tunable blue-red emission. **Appl. Surf. Sci.**, v. 311, p. 490-497, 2014.

HODGE, J. E.; Origin of flavor in foods: Nonenzymatic browning reactions – Symposium on Foods : The chemistry and Physiology of flavors. AVI Publishing Co., 1967.

HU, S.; LIU, J.; YANG, J.; WANG, Y.; CAO, S. Laser synthesis and size tailor of carbon quantum dots. **J. Nanopart. Res.**, v. 13, p. 7247-7252, 2011.

HUANG, D.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agr. Food Chem.**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

JAISWAL, A. ; GHOSH, S. S. ; CHATTOPADHYAY, A. One step synthesis of C-dots by microwave mediated caramelization of poly(ethylene glycol). **Chem. Commun.**, v.48, p.407-409, 2012.

JIA, X.; LI, J.; WANG, E. One-pot green synthesis of optically pH-sensitive carbon dots with up conversion luminescence. **Nanoscale**, v. 4, p. 5572-5575, 2012.

JIN, J.-C.; XU, Z.-Q.; DONG, P.; LAI, L.; LAN, J.-Y.; JIANG, F.-L. e LIU, Y. One-step synthesis of silver nanoparticles using carbon dots as reducing and stabilizing agents and their antibacterial mechanisms. **Carbon**, v. 94, p. 129-141, 2015.

JANA, J.; GAURI, S. S.; GANGULV, M.; DEV, S.; PAL, T. Silver nanoparticle anchored carbon dots for improved sensing, catalytic and intriguing antimicrobial activity. **Dalton Trans.**, v. 44, p. 20692-20707, 2015.

KAGAN, C. R.; LIFSHITZ, E.; SARGENT, E. H.eTALAPIN, D. V. Building devices from colloidal quantum dots. **Science**, v. 353, 2016.

KAPPE, C. Oliver, DALLINGER, Doris, MURPHREE, S. Shaun. **Practical Microwave Synthesis for Organic Chemists: Strategies, Instruments, and Protocols**, Wiley, 2009.

KEEPERS, Y. P.; PIZAO, P. E.; PETERS, G. J.; WINOGRAD, J. VAN A.-O. B. E PINEDO, H. M. Comparison of the sulforhodamine B protein and tetrazolium (MTT) assays for in vitro chemosensitivity testing. **Eur. J. Cancer**, v. 27, p. 897-900, 1991.

KELLOGG, R. E.; BENNETT, R. G. Radiationless intermolecular energy transfer. III. Determination of phosphorescence efficiencies. **J. Chem. Phys.**, v. 41, p. 3042-3045, 1964.

KROH, L. W. Caramelisation in food and beverages. **Food. Chem.** v. 51, p. 373-379, 1994.

KRYSMANN, M. J.; KELARAKIS, A.; DALLAS, P.; GIANNELIS, E. P. Formation mechanism of carbogenic nanoparticles with dual photoluminescence emission. **J. Am. Chem. Soc.**, 134, 747-750, 2012.

LAKHTAKIA, Akhlesh. **Handbook of Nanotechnology, Nanometer Structures - Theory, Modeling, and Simulation**. SPIE, 2004.

LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**, 3. Ed. Singapura: Springer, 2006.

LAN, Z.-H.; MOTTOLA, H. Carbon dioxide-enhanced luminal chemiluminescence in the absence of added oxidant. **Carbon**, v. 82, p. 459-469, 2015.

LAVKUSH B. M.; PANDEY, S.; SHAHNAWAZ K. M.; TALIB, A.; WU, H.-F. Fluorophotometric determination of critical micelle concentration (CMC) of ionic and non-ionic surfactants with carbon dots via Stokes shift. **Talanta**, v. 132, p. 572-578, 2015.

LECROY, G. E.; YANG, S.-T.; YANG, F.; LIU, Y.; FERNANDO, K. A. S.; BUNKER, C. E.; HU, Y.; LUO, P. G. E. SUN, Y.-P. Functionalized carbon nanoparticles: Syntheses and applications in optical bioimaging and energy conversion. **Coordin. Chem. Rev.**, v. 320, p. 66-81, 2016.

LI, Q.; OHULCHANSKY, T. Y.; LIU, R.; KOYNOV, K.; WU, D.; BEST, A.; KUMAR, R.; BONOIU, A.; PRASAD, P. N. Photoluminescent carbon dots as biocompatible nanoprobe for targeting cancer cells in vitro. **J. Phys. Chem. C**, v. 114, p. 12062-12068, 2010.

LIN, F.; PEI, D.; HE, W.; HUANG, Z.; HUANG, Y.; GUO, X. Electron transfer quenching by nitroxide radicals of the fluorescence of carbon dots. **J. Mater. Chem.**, v. 22, p. 11801-11807, 2012.

LIU, C.; ZHANG, P.; ZHAI, X.; TIAN, F.; LI, W.; YANG, J.; LIU, Y.; WANG, H.; WANG, W. Nano-carrier for gene delivery and bioimaging based on carbon dots with PEI-passivation enhanced fluorescence. **Biomaterials**, v. 33, p. 3604-3613, 2012.

LIU, J.; LIU, X.; LUO, H.; GAO, Y. One-step preparation of nitrogen-doped and surface-passivated carbon quantum dots with high quantum yield and excellent optical properties. **RSC Adv.**, v. 4, p. 7648-7654, 2014a.

LIU, H.; YE, T.; MAO, C. Fluorescent Carbon Nanoparticles Derived from Candle Soot. **Angew. Chem. Int.**, v. 46, p. 6473-6475, 2007.

LIU, R.; WU, D.; LIU, S.; KOYNOV, K.; KNOLL, W.; LI, Q. An aqueous route to multicolour photoluminescent carbon dots using silica spheres as carriers. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 48, p. 4598-4601, 2009.

LIU, H.; WANG, Q.; SHEN, G.; ZHANG, C.; LI, C.; JI, W.; WANG, C.; CUI, D. A multifunctional ribonuclease A-conjugated carbon dot cluster nanosystem for synchronous cancer imaging and therapy. **Nanoscale Res. Lett.**, v. 9, p. 397-407, 2014b.

LIU, Y.; LIU, C.; ZHANG, Z. Graphitized carbon dots emitting strong green photoluminescence. **J. Mater. Chem. C**, v. 1, p. 4902-4907, 2013.

LIU, H.; SHEN, R.; SONG, K.; LIU, H.; LI, Y. Dramatic fluorescence enhancement of bare carbon dots through facile reduction chemistry. **Chem. Phys. Chem.**, v. 13, p. 3549-3555, 2012.

LU, W.; GONG, X.; YANG, Z.; ZHANG, Y.; HU, Q.; SHUANG, S.; DONGA, C.; CHO, M. M. F. High-quality water-soluble luminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging. **RSC Adv.**, v. 5, 16972-16979, 2015.

LUO, P. G.; SAHU, S.; YANG, S.-T.; SONKAR, S. K.; WANG, J.; WANG, H.; LECROY, G. E.; CAO, L. e SUN, Y.-P. Carbon "quantum" dots for optical bioimaging. **J. Mater. Chem. B**, v. 1, 2013.

MAO, X. J.; ZHENG, H. Z.; LONG, Y. J.; DU, J.; HAO, J. Y.; WANG, L. L.; ZHOU, D. B. Study on the fluorescence characteristics of carbon dots. **Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.**, v. 75, p. 553-557, 2010.

MEHTA, V. N.; JHA, S.; KAILASA, S. K. **Mater. Sci. Eng.C**, v. 38, p. 20-27, 2014.

MOON, J.-K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. **J. Agric. Food Chem.**, v. 57, p. 1655-1666, 2009.

PAN, B. D.; ZHANG, J.; LI, Z.; WU, M. Hydrothermal route for cutting graphene sheets into blue-luminescent graphene quantum dots. **Adv. Mater.**, v. 22, p. 734-738, 2010.

PANDEY, S.; THAKUR, M.; MEWADA, A.; ANJARLEKAR, D.; MISHRA, N.; SHARON, M. Carbon dots functionalized gold nanorod mediated delivery of doxorubicin: tri-functional nano-worms for drug delivery, photothermal therapy and bioimaging. **J. Mater. Chem. B**, v. 1, p. 4972-4982, 2013.

PITKÄNEN, R. I.; HALTTUNEN, H.; HURTTA, M. Formation of the main degradation compounds from arabinose, xylose, mannose and arabinitol during pyrolysis. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 72, p. 481-88, 2003.

PRETSCH, Ernö; BÜHLMANN, Philippe; BADERTSCHER, Martin. **Structure determination of organic compounds-Tables of spectra data**. 4. ed. Berlin: Springer, 2009.

PURKAYASTHA, M. D.; MANHAR, A. K.; DAS, V. K.; BORAH, A.; MANDAL, M.; THAKUR, A. J. E MAHANTA, C. L. Antioxidative, hemocompatible, fluorescent carbon nanodots from an "End-of-Pipe" agricultural waste: Exploring its new horizon in the food-packaging domain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 62, p. 4509-4520, 2014.

QIAO, Z.-A. ; WANG, Y. ; GAO, Y. ; LI, H. ; DAI, T.; LIU, Y.; HUO, Q. Commercially activated carbon as the source for producing multicolour photoluminescent carbon dots by chemical oxidation. **Chem. Commun.**, v. 46, p. 8812-881, 2010.

QU, S. ; WANG, X. ; LU, Q. ; LIU, X. ; WANG, L. A biocompatible fluorescent ink based on water-soluble luminescent carbon nanodots. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 51, p. 12215-12218, 2012.

QU, K.; WANG, J.; REN, J.; QU, X. Carbon dots prepared by hydrothermal treatment of dopamine as an effective fluorescent sensing platform for the label-free detection of iron(III) ions and dopamine. **Chem.-Eur. J.**, v. 19, p. 7243-7249, 2013.

RAPPOLD, M.; WARTTINGER, U.; KRÄMER, R. A Fluorescent probe for glycosaminoglycans applied to the detection of dermatan sulfate by a mix-and-read assay. **Molecules**, v. 22, p. 768-778, 2017.

RAY, S. C.; SAHA, A.; JANA, N. R.; SARKAR, R. Fluorescent carbon nanoparticles: Synthesis, characterization, and bioimaging application. **J. Phys. Chem. C**, v. 113, 18546-18551, 2009.

RICHARDSON, Thomas; FINLEY, John W. **Chemical Changes in Food During Processing**. INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS, 1984.

ROŠÍK, J.; Kardošová, A.; KUBALA, J. Aldobiouronic acids obtained from gum polysaccharides of the Prunus genus trees. V. Infrared spectroscopy. **Chem. Pap.**, v. 27, p. 551-553, 1973.

SACHDEV, A. E GOPINATH, P. Green synthesis of multifunctional carbon dots from coriander leaves and their potential application as antioxidants, sensors and bioimaging agents. **Analyst**, v. 140, p. 4260-4269, 2015.

SACHDEV, A.; MATAI, I.; KUMAR, S. U.; BHUSHAN, B.; DUBEY, P.; GOPINATH, P. A novel one-step synthesis of PEG passivated multicolour fluorescent carbon dots for potential biolabeling application. **RSC Adv.**, v. 3, p. 16958-16961, 2013.

SAHA, B.; ABU-OMAR, M. M. Advances in 5-hydroxymethylfurfural production from biomass in biphasic solvents. **Green Chem.**, v. 16, p. 24-38, 2014.

SHEN, L.; CHEN, M.; HU, L.; CHEN, X.; WANG, J. Growth and stabilization of silver nanoparticles on carbon dots and sensing application. **Langmuir**, v. 29, p. 16135-16140, 2013.

SIMÕES, E. F. C.; SILVA, J. C. G. E.; LEITÃO, J. M. M. Carbon dots from tryptophan doped glucose for peroxy nitrite sensing. **Anal. Chim. Acta.**, v. 852, p. 174-180, 2014.

SK, M. P.; JAISWAL, A.; PAUL, A.; GHOSH, S. S.; CHATTOPADHYAY, A. Presence of amorphous carbon nanoparticles in food caramels. **Sci. Rep.**, v. 2, p. 383-387, 2012.

SOUZA, T. G. F.; CIMINELLI, V. S. T.; MOHALLEM, N. D. S. A comparison of TEM and DLS methods to characterize size distribution of ceramic nanoparticles. **J. Phys.: Conf.**, v. 733, 2016.

SPEDDING, H. Infrared spectroscopy and carbohydrate chemistry. **Adv. Carbohydr. Chem.**, v. 19, p. 23-49, 1964.

STETEFELD, J.; MCKENNA, S. A.; PATEL, T. R. Dynamic light scattering: A practical guide and applications in biomedical sciences. **Biophys. Rev.**, v. 8, p. 409-427, 2016.

SUN, Y.-P.; ZHOU, B.; LIN, Y.; WANG, W.; FERNANDO, K. A. S.; PATHAK, P.; MEZIANI, M. J.; HARRUFF, B. A.; WANG, X.; WANG, H.; LUO, P. G.; YANG, H.; KOSE, M.E.; CHEN, B.; VECA, L. M.; XIE, S.-Y. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 128, p. 7756-7757, 2006.

SUN, Y. e XIA, Y. Gold and silver nanoparticles: A class of chromophores with colors tunable in the range from 400 to 750 nm. **The Analyst**, v. 128, p. 1364-5528, 2003.

TAN, M. ; ZHANG, L. ; TANG, R. ; SONG, X. ; LI, Y. ; WU, H. Enhanced photoluminescence and characterization of multicolor carbon dots using plant soot as a carbon source. **Talanta**, v. 115, p. 950-956, 2013.

TONG, G.; WANG, J.; WANG, R.; GUO, X.; HE, L.; QIU, F.; WANG, G.; ZHU, B.; ZHU, X.; LIU, T. Amorphous carbon dots with high two-photon fluorescence for cellular imaging passivated by hyperbranched poly(amino amine). **J. Mater. Chem. B**, v. 3, p. 700-706, 2015.

WANG, Y.; KALYTCHUK, S.; WANG, L.; ZHOVTIUK, O.; CEPE, K.; ZBORIL, R.; ROGACH, A. L.; Carbon dot hybrids with oligomeric silsesquioxane: solid-state luminophores with high photoluminescence quantum yield and applicability in white light emitting devices. **Chem. Commun.**, v. 51, p. 2950-2953, 2015.

WANG, X.; CAO, L. ; LU, F. ; MEZIANI, M. J.; LI, H.; QI, G.; ZHOU, B.; HARRUFF, B. A.; KERMARREC, F.; SUN, Y.-P. Photoinduced electron transfers with carbon dots. **Chem. Commun.**, p. 3774-3776, 2009.

WANG, X.; QU, K.; XU, B.; REN, J.; QU, X. Microwave assisted one-step green synthesis of cell-permeable multicolor photoluminescent carbon dots without surface passivation reagents. **J. Mater. Chem.**, v. 21, 2445-2450, 2011a.

WANG, Q.; ZHANG, C.; SHEN, G.; LIU, H.; FU, H.; CUI, D. Fluorescent carbon dots as an efficient siRNA nanocarrier for its interference therapy in gastric cancer cells. **J. Nanobiotechnol.**, v. 12, p. 1-12, 2014.

WANG, X.; QU, K. ; XU, B.; RENA, J.; QU, X. Microwave assisted one-step green synthesis of cell-permeable multicolor photoluminescent carbon dots without surface passivation reagents. **J. Mater. Chem.**, v. 21, p. 2445-2450, 2011b.

WANG, Z.; LIAO, H.; WU, H.; WANG, B.; ZHAO, H. E TAN, M. Fluorescent carbon dots from Tsingtao® beer for breast cancer cell imaging and drug delivery. **Anal. Methods**, v. 7, p. 8911-8917, 2015.

WARTTINGER, U.; GIESE, C.; HARENBERG, J.; HOLMER, E.; KRÄMER, R. A fluorescent probe assay (Heparin Red) for direct detection of heparins in human plasma. **Anal. Bioanal. Chem.** V. 408, p. 8241-8251, 2016.

WROLSTAD, Ronald E.; **Food Carbohydrate Chemistry**. West Sussex : John Wiley & Sons Inc., 2012.

WU, L.; LUDERER, M.; YANG, X.; SWAIN, C.; ZHANG, H.; NELSON, K.; STACY, A. J.; SHEN, B.; LANZA, G. M.; PAN, D. Surface passivation of carbon nanoparticles with branched macromolecules influences near infrared bioimaging. **Theranostics**, v. 3, p. 677-686, 2013.

XU, X.; RAY, R.; GU, Y.; PLOEHN, H. J.; GEARHEART, L.; RAKER, K.; SCRIVENS, W. A. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 126, p. 12736-12737, 2004.

YANG, S.; YUE, W.; HUANG, D.; CHEN, C.; LIN, H.; YANG, X.; A facile green strategy for rapid reduction of graphene oxide by metallic zinc. **RSC Adv.**, v. 2, p. 8827-8832, 2012.

YANG, S. T.; CAO, L.; LUO, P. G.; LU, F.; WANG, X.; WANG, H.; MEZIANI, M. J.; LIU, Y.; QI, G.; SUN, Y.-P. Carbon dots for multiphoton bioimaging. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 129, p. 11318-11319, 2007.

YANG, S. T.; WANG, X.; WANG, H.; LU, F.; LUO, P. G.; CAO, L.; MEZIANI, M. J.; LIU, J. H.; LIU, Y.; CHEN, M.; HUANG, Y.; SUN, Y.-P. Carbon dots as nontoxic and high-performance fluorescence imaging agents. **J. Phys. Chem. C**, v. 113, p. 18110-18114, 2009.

YANG, Y.; CUI, J.; ZHENG, M.; HU, C.; TAN, S.; XIAO, Y.; YANG, Q.; LIU, Y. One-step synthesis of amino-functionalized fluorescent carbon nanoparticles by hydrothermal carbonization of chitosan. **Chem. Commun.**, v. 48, p. 380-382, 2012.

YANG, X.; ZHUO, Y.; ZHU, S.; et al. Novel and green synthesis of high-fluorescent carbon dots originated from honey for sensing and imaging. **Biosens. Bioelectron.**, v. 60, p. 292-298, 2014.

YIN, B.; DENG, J.; PENG, X.; LONG, Q.; ZHAO, J.; LU, Q.; CHEN, Q.; LI, H.; TANG, H.; ZHANG, Y.; YAO, S. Green synthesis of carbon dots with down- and up-conversion fluorescent properties for sensitive detection of hypochlorite with a dual-readout assay. **Analyst**, v. 138, p. 6551-6557, 2013.

YUANA, Y.; GUOA, B.; HAOB, L.; LIUA, N.; LINB, Y.; GUOB, W.; LIA, X. E GU, B. Doxorubicin-loaded environmentally friendly carbon dots as a novel drug delivery system for nucleus targeted cancer therapy. **Colloid. Surface B**, v. 159, p. 349-359, 2017.

ZHANG, R.; CHEN, W. Nitrogen-doped carbon quantum dots: facile synthesis and application as a "turn-off" fluorescent probe for detection of Hg²⁺ ions. **Biosens. Bioelectron.**, v. 55, p. 83-90, 2014.

ZHANG, B.-X.; ZHANG, G.-Y.; GAO, H.; WU, S.-H.; CHEN, J.-H.; LI, X.-L. One-step hydrothermal synthesis and optical properties of PEG-passivated nitrogen-doped carbon dots. **RSC Adv.**, v. 5, p. 7395-7400, 2014.

ZHANG, R.; LIU, Y.; YU, L.; LI, Z.; SUN, S. Preparation of high-quality biocompatible carbon dots by extraction, with new thoughts on the luminescence mechanisms. **Nanotechnology**, v. 24, p. 1-8, 2013.

ZHANG, W.; LI, Y.; PENG, S.; CAI, X. Enhancement of photocatalytic H₂ evolution of eosin Y-sensitized reduced graphene oxide through a simple photoreaction. **Beilstein J. Nanotechnol.**, v. 5, p. 801-811, 2014.

ZHANG, Y. Y.; WU, M.; WANG, Y. Q.; HE, X. W.; LI, W. Y.; FENG, X. Z. A new hydrothermal refluxing route to strong fluorescent carbon dots and its application as fluorescent imaging agent. **Talanta**, v. 117, p. 196-202, 2013.

ZHANG, Z.; HAO, J.; ZHANG, J.; ZHANG, B.; TANG, J. Protein as the source for synthesizing fluorescent carbon dots by a one-pot hydrothermal route. **RSC Adv.**, v. 2, p. 8599-8601, 2012.

ZHANG, Y.; MA, H.-L.; ZHANG, Q.; PENG, J.; LI, J.; ZHAI, M.; YU, Z.-Z. Facile synthesis of well-dispersed graphene by g-ray induced reduction of graphene oxide. **J. Mater. Chem.**, v. 22, p. 13064-13069, 2012.

ZHAO, Q.-L.; ZHANG, Z.-L.; HUANG, B.-H.; PENG, J.; ZHANG, M.; PANG, D.-W. Facile preparation of low cytotoxicity fluorescent carbon nanocrystals by electrooxidation of graphite. **Chem. Commun.**, 5116–5118, 2008.

ZHENG, M.; XIE, Z.; QU, D.; LI, D.; DU, P.; JING, X.; SUN, Z. On-off-on Fluorescent Carbon dots nanosensor for recognition of chromium (VI) and ascorbic acid based on inner filter effect. **ACS Appl. Mater. Inter.**, v. 5, p. 13242-13247, 2013.

ZHOU, L.; HE, B.; HUANG, J. Amphibious fluorescent carbon dots: one-step green synthesis and application for light-emitting polymer nanocomposites. **Chem. Comm.**, v. 49, p. 8078-8081, 2013.

ZHOU, J.; BOOKER, C.; LI, R.; ZHOU, X.; SHAM, T.; SUN, X.; DING, Z. An electrochemical avenue to blue luminescent nanocrystals from multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs). **J. Am. Chem. Soc.**, v. 129, p. 744-745, 2007.

ZHU, S.; MENG, Q.; WANG, L.; ZHANG, J.; SONG, Y.; JIN, H.; ZHANG, K.; SUN, H.; WANG, H.; YANG, B. Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 52, p. 3953-3957, 2013.

ZHU, S.; SONG, Y.; ZHAO, X.; SHAO, J.; ZHANG, J.; YANG, B. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. **Nano Research**, v. 8, p. 355-381, 2015.

ZHU, C.; ZHAI, J.; DONG, S. Bifunctional fluorescent carbon nanodots: green synthesis via soy milk and application as metal-free electrocatalysts for oxygen reduction. **Chem. Commun.**, v. 48, 9367-9369, 2012.

ZHAO, L.; DI, F.; WANG, D.; GUO, L.-H.; YANG, Y.; WAN, B.; ZHANG, H.
Chemiluminescence of Carbon dots under strong alkaline solutions: A novel insights
into carbon dots optical properties. **Nanoscale**, v. 5, p. 2655-2658, 2013.

APÊNDICE A – PUBLICAÇÃO EM PERIÓDICO OBTIDA A PARTIR DOS RESULTADOS INICIAIS QUE SERVIRAM DE BASE PARA O DESENVOLVIMENTO DESSE TRABALHO

PIRES, N. R.; SANTOS, C. M. W.; SOUSA, R. R.; PAULA, R. C. M.; CUNHA, P. L. R.; FEITOSA, J. P. A. Novel and Fast Microwave-Assisted Synthesis of Carbon Quantum Dots from Raw Cashew Gum. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 26, p.1274-1282, 2015.



<http://dx.doi.org/10.5935/0105-5053.20150094>
J. Braz. Chem. Soc., Vol. 26, No. 6, 1274-1282, 2015.
 Printed in Brazil - ©2015 Sociedade Brasileira de Química
 0105 - 5053 \$6.00+0.00

Article

Novel and Fast Microwave-Assisted Synthesis of Carbon Quantum Dots from Raw Cashew Gum

*Natalia R. Pires, Clara M. W. Santos, Rayane R. Sousa, Regina C. M. de Paula, Pablyana L. R. Cunha and Judith P. A. Feitosa**

Laboratório de Polímeros, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6021, 60455-760 Fortaleza-CE, Brazil

Carbon quantum dots (C-dots) with average size of 9 nm were synthesized from an aqueous solution of raw cashew gum (RCG) using a novel and fast microwave-assisted technique which involves two steps. In the first step (partial depolymerization in solution) some monomer units are formed through the autohydrolysis of CG and a small amount of 5-hydroxymethyl furfural can be obtained. The second step involves polycondensation/polymerization to give rise to a polyfuranic structure followed by aromatization/carbonization and nuclear burst. At the end of the process a composite of partially depolymerized CG and C-dot was formed. A mechanism involved in microwave-assisted two-steps synthesis was suggested. Although no passivation reagent was used, an intensely blue photoluminescent material in UV light was obtained. C-dot was characterized by spectroscopy in the medium infrared, thermal analysis, gel permeation chromatography, transmission electron microscopy, zeta potential, and photoluminescence.

Keywords: carbon quantum dots, cashew gum, microwave-assisted synthesis, photoluminescence

Introduction

Carbon quantum dots (C-dots) are a new class of carbon nanomaterials, with sizes of < 10 nm, which were accidentally discovered in 2004.¹ They have emerged as an intriguing material due to their high water solubility, bright photoluminescence in the visible spectrum, low toxicity, good biocompatibility, high stability and easy functionalization.^{2,3} The unique properties of C-dots lead to promising applications in biosensing, cellular imaging, drug delivery and catalysis. Inspired by the variety of applications, there is a growing interest in the synthesis of new carbon dots. Laser ablation of carbon targets, pyrolysis, electrochemical shocking of carbon nanotubes (CNTs), electrochemical exfoliation of graphite, hydrothermal treatments, plasma treatment, ultrasonic treatment and microwave heating are the synthetic routes that generate C-dots.² Hydrothermal treatments based on autoclave and microwave techniques are the main routes employed.⁴⁻¹⁷

The synthesis procedure using an autoclave requires 2.5-12.0 h of hydrothermal heating at temperatures up to 200 °C,⁴⁻²⁰ and in some cases strong alkaline solutions,⁴ or organic solvents^{6,8} need to be used. When a microwave is

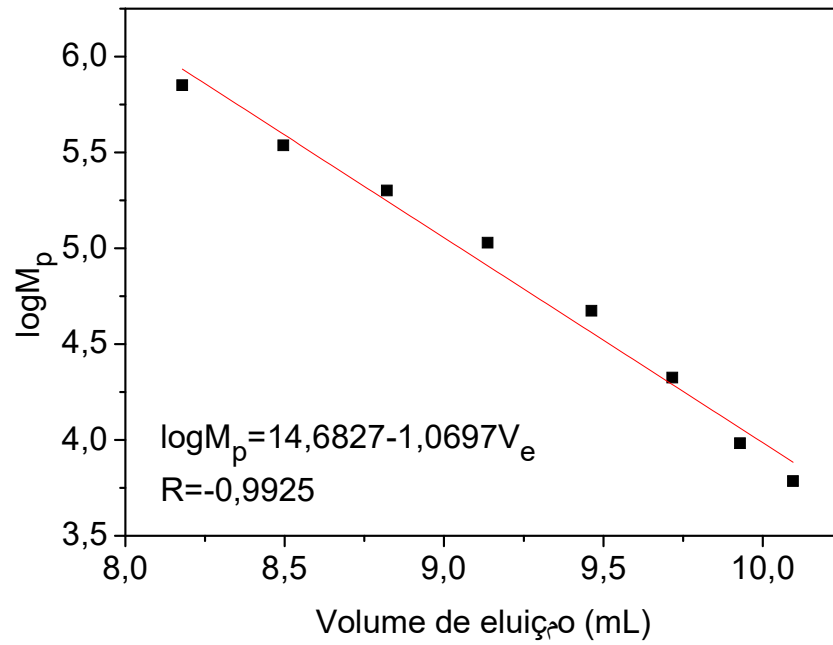
employed, the irradiation time decreases significantly (1-10 min).¹¹⁻¹⁷ In all these cited studies, surface passivation agents were added before the synthesis. An additional and time-consuming step, such as dialysis for one to several days,^{11,12,14,15,17} has to be added in order to obtain purified C-dots. This step removes the advantage of microwave based on the low time consumption.

Carbohydrate-based precursors such monosaccharides, polysaccharides and other raw materials are the main carbon source to synthesize low-cost C-dots. Low molar mass carbohydrates, such as glucose,^{18,19} and sucrose,¹⁸ and also fructose and maltose,²⁰ have been described. Chitosan,⁹ alginate acid and starch,³⁶ and peach gum¹⁰ are examples of polymeric carbohydrates applied as a carbon source. Raw material containing carbohydrate, such as bagasse,⁴ grape juice,⁵ orange juice,⁶ sugar cane juice,⁸ and plant leaves²¹ have also been studied. Low cost and sustainability are important criteria for selecting carbohydrates as a carbon source to produce C-dots.

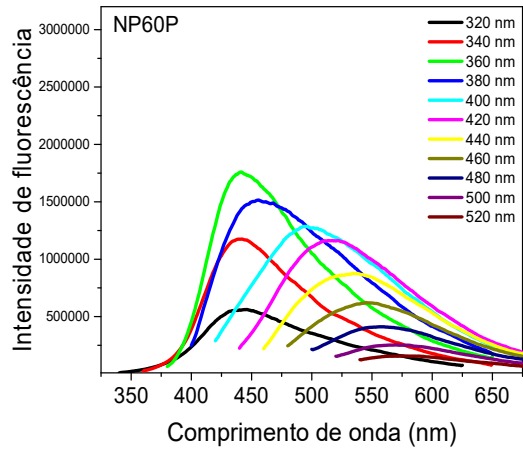
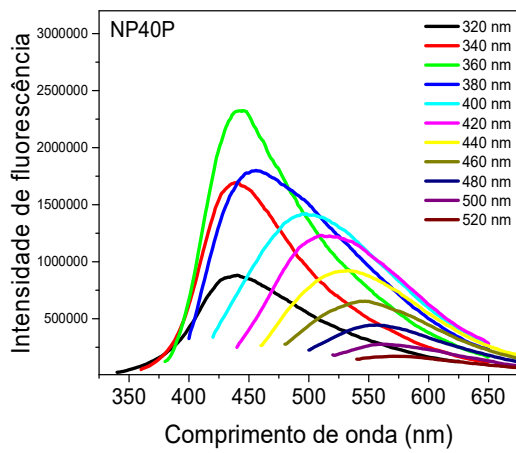
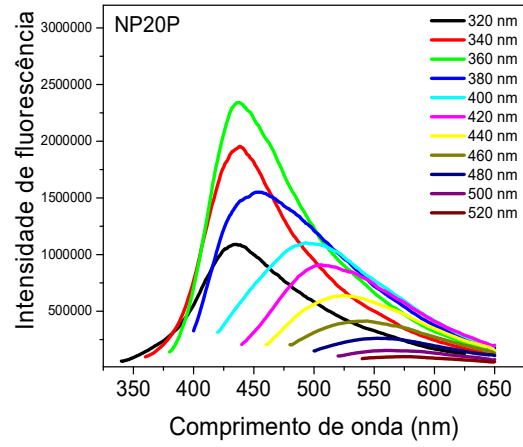
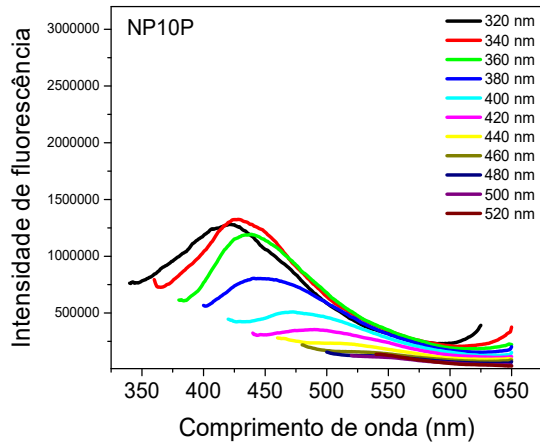
Herein, a novel microwave-assisted procedure for the synthesis of carbon dots, based on two steps (depolymerization in solution and partial carbonization in a solid) is reported. An abundant and low-cost raw material (an exudate from the cashew nut tree known as cashew gum) is the precursor employed. Cashew gum is

*e-mail: julith@dqoi.ufc.br

APÊNDICE B – CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA MASSA MOLAR DE PICO, UTILIZANDO PADRÕES DE PULULANA



APÊNDICE C – ESPECTROS DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA PARA AS AMOSTRAS OBTIDAS EM DIFERENTES TEMPOS DE AQUECIMENTO, APÓS PRECIPITAÇÃO



**APÊNDICE D – DISTRIBUIÇÕES DE TAMANHO OBTIDAS POR
ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO PARA AS AMOSTRAS OBTIDAS EM
DIFERENTES TEMPOS DE AQUECIMENTO, APÓS PRECIPITAÇÃO EM
ACETONA**

