

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CAMPUS DE ARARAQUARA

**LAÍS GALVÃO CAETANO**

“PROPRIEDADES ÓPTICAS DE MEMBRANAS À BASE DE POLÍMEROS NATURAIS  
E NANOPARTÍCULAS DE CARBONO”

ARARAQUARA- 2016

LAÍS GALVÃO CAETANO

“PROPRIEDADES ÓPTICAS DE MEMBRANAS À BASE DE POLÍMEROS NATURAIS  
E NANOPARTÍCULAS DE CARBONO”

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química, Universidade Estadual Paulista,  
como parte dos requisitos para a obtenção do  
título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro  
Co-orientador: Dr. Maurício Cavicchioli

ARARAQUARA- 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

C127p Caetano, Laís Galvão  
Propriedades ópticas de membranas à base de polímeros naturais e nanopartículas de carbono / Laís Galvão Caetano.  
– Araraquara : [s.n.], 2016  
58 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química

Orientador: Sidney Jose Lima Ribeiro

Coorientador: Maurício Cavicchioli

1. Filmes finos. 2. Carbono. 3. Luminescência.  
4. Polímeros. 5. Bicho-da-seda. I. Título.

LAÍS GALVÃO CAETANO

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Química.

Araraquara, 21 de dezembro de 2016.


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro (Orientador)  
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof. Dr. Marcelo Nalin  
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Profª Drª Rogéria Rocha Gonçalves  
Faculdade de Filosofia Ciências e Letras / USP / Ribeirão Preto - SP

## DADOS CURRICULARES

### IDENTIFICAÇÃO

**Nome:** Laís Galvão Caetano

**Nome em citações bibliográficas:** CAETANO, L. G.

### ENDEREÇO PROFISSIONAL

Rua Professor Francisco Degni, 55, Quitandinha, Araraquara – SP

### FORMAÇÃO ACADÊMICA/ TITULAÇÃO

Bacharelado em Química – curso concluído em 2014 – Universidade Federal de Viçosa *campus* Rio Paranaíba (UFV-CRP, Rio Paranaíba-MG).

### PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

#### Apresentações de trabalho e/ou palestra

CAETANO, L. G., CAVICCHIOLI, Mauricio, SANTOS, M. V., RIBEIRO, S. J. L. Optical properties of silk fibroin films and fluorescent carbon nanoparticles, 2016. (XVIII BMIC - Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and 7 th Brazilian Meeting on Rare Earths. Apresentação na forma de pôster).

CAETANO, L. G., CAVICCHIOLI, Mauricio, SANTOS, M. V., RIBEIRO, S. J. L. Synthesis of fluorescent carbon nanoparticles derived from mineral coal, 2015.( XIV Brazilian MRS Meeting – SBPMat 2015. Apresentação na forma de pôster).

#### Participação em eventos científicos

Workshop: Ano Internacional da Luz – IYL 2015 (Carga horária: 8 h). Instituto de Química de Araraquara – UNESP

II Workshop: Ano Internacional da Luz – IYL 2015 (Carga horária: 4 h). Instituto de Química de Araraquara – UNESP

1st International Workshop on Nanocellulose Polymer Composites. Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR.

XIV Brazilian MRS Meeting – SBPMat 2015. Rio de Janeiro- RJ

XVIII BMIC - Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and 7 th Brazilian Meeting on Rare Earths. São Predro- SP

Dedico este trabalho à minha família, meu porto seguro, em especial aos meus pais pelo apoio, amor incondicional e educação.

## AGRADECIMENTOS

Este espaço é dedicado àqueles que, de alguma forma, colaboraram para que esta dissertação fosse realizada. Não sendo possível nomear a todos, no entanto, há alguns em que necessito demonstrar meu agradecimento sincero.

Agradeço primeiramente à Deus pelas pessoas em que colocou na minha vida durante este período, por me amparar nos momentos difíceis e por me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos.

À minha família, que mesmo distante, estiveram sempre comigo. Em especial, aos meus pais, que sempre primaram pela minha educação. Ao meu irmão e meus avós, obrigada por todos os ensinamentos de vida. Espero que no futuro eu possa retribuir e compensar de alguma forma pelo apoio e ausência.

Ao Prof. Dr. Sidney Jose Lima Ribeiro, pela orientação, pelo seu profissionalismo, por acreditar na minha capacidade e me mostrar o caminho da ciência.

Ao Dr. Maurício Caviccioli, pela paciência, ensinamentos, pelas discussões dos resultados e efetiva co-orientação no desenvolvimento desta pesquisa.

À Dra. Molíria Vieira dos Santos, pela amizade, incentivo e otimismo, sempre desejando boas vibrações. Obrigada por estar presente nos meus momentos de dificuldade e me fazer acreditar que eu teria potencial para enfrentá-los. Como também, na grande contribuição para que este trabalho fosse concretizado.

Ao Grupo de Materiais Fotônicos, pela calorosa recepção e auxílio. Especialmente a Juliane pela parceria e tornado sempre nossos momentos mais divertidos. Às meninas, Andreia, Camila, Karina, Lais, Rafaella e Vanessa pela amizade e apoio. Ao Araketu, Chanchal, Fernando, Filhote, Hernane, prof. Édison Pecoraro, Rafael, Robson, Serginho e Silvia pela ajuda nas medidas e conhecimentos transmitidos. Ao prof. Marcelo Nalin pelos melhores churrascos fotônicos.

Aos amigos da UFV-CRP, que aqui compartilharam a mesma jornada. À Camila, Débora e Maíra, pelos momentos de descontração tão importantes para manter meu equilíbrio, pelo companheirismo e pelos grupos de estudos vivenciados. Ao Alan, Diego e Rodrigo pelas conversas e companhia nas viagens longas para casa. Aos amigos de São Carlos, Daniel, Jéssica, Jeyne e Taíse por acrescentarem alegria na minha vida durante este período.

Aos amigos de Araraquara, especialmente, Ana Carolina, Gabi, Japa, Ju e Roberta pela amizade e por me fazerem gostar cada vez mais de morar aqui.

Aos docentes e funcionários do Instituto de Química que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Aos professores da banca do exame de qualificação e pela participação dos membros da banca examinadora da defesa, meu agradecimento pela contribuição e sugestões de aprimoramento.

À UNESP, pelo meu crescimento profissional e pessoal alcançado. Por ter me proporcionado as melhores lembranças da minha vida. Pela emoção e orgulho de ser unespiana à qual guardarei para sempre em meu coração.

*"Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível."*  
(Charles Chaplin)

## RESUMO

A fibroína da seda extraída dos casulos do bicho-da-sêda é um co-polímero particularmente atraente para aplicações em dispositivos fotônicos e optoeletrônicos devido a sua transparência óptica, biocompatibilidade e propriedades mecânicas. Esta tese apresenta a obtenção de suspensões e filmes iridescentes-luminescentes de fibroína contendo nanopartículas luminescentes de carbono (“carbon dots”) obtidos a partir de carvão vegetal. As nanopartículas luminescentes de carbono apresentam biocompatibilidade, baixa toxicidade, propriedades de fotoluminescência interessantes e possibilidade de modificação da superfície. Redes de difração foram produzidas nestes filmes utilizando como molde um DVD comercial. Os materiais obtidos foram caracterizados por um conjunto de técnicas de análise: Microscopia de Força Atômica (AFM), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, Espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Luminescência. Medidas de luminescência mostram que os carbon dots emitem múltiplas cores entre toda a região do visível. Planos cristalinos foram observados nas imagens de MET das nanopartículas, no qual foram associadas a estrutura do grafite. Pela análise de UV-Vis dos carbon dots observou-se que a absorção óptica decai gradualmente à medida em que ocorre deslocamento para o vermelho e para os filmes de fibroína observou-se um ombro referente a transição eletrônica da tirosina (aminoácido de sua composição). A partir dos espectros de FTIR observou-se que não houve mudança na estrutura da fibroína após a adição dos carbon dots. As imagens de AFM e MEV comprovam a presença dos micropadrões periódicos na superfície dos filmes. Os resultados mostraram que os filmes de fibroína contendo carbon dots tem um grande potencial para a biomedicina, principalmente devido os seus parâmetros de luminescência se estenderem em toda a região do visível e por apresentar uma matriz sustentável, com excelentes propriedades ópticas e mecânicas.

**Palavras-chave:** Fibroína da seda. Carbon dots

## ABSTRACT

Silk fibroin extracted from silkworm cocoons is a particularly attractive copolymer for applications in photonics and optoelectronics devices due its optical transparency, biocompatibility and high mechanical strength. This thesis presents the preparation of suspensions and iridescent-luminescent films of silk fibroin containing luminescent carbon nanoparticles (carbon dots) obtained from vegetal coal. Luminescent carbon nanoparticles present high biocompatibility, low toxicity, interesting photoluminescence properties and possibility of surface modification. Diffraction gratings were produced in these films using a commercial DVD as a template. The materials obtained were characterized by a set of analysis techniques: Atomic-Force Microscopy (AFM), Scanning Electron Microscopy (SEM), Transmission Electron Microscopy (TEM), UV-Visible Spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and Luminescence. Luminescence measurements show that carbon dots emit light at the entire visible region. Crystalline planes were observed in the TEM images of the nanoparticles, where upon the graphite structure was associated. By analyzing the UV-Vis spectra of the carbon dots it was observed that the optical absorption gradually decreases as the red shift occurs. In the UV-Vis spectra of the silk fibroin films it was observed a shoulder referring to the electronic transition of the tyrosine (amino acid of its composition). From the FTIR spectra it was observed that there was no change in the silk fibroin structure after addition of the carbon dots. The AFM and SEM images confirm the presence of the periodic micro-patterns on the surface of the films. The results showed that the silk fibroin films containing carbon dots have a great potential for biomedicine, mainly due to its luminescence parameters extending throughout the visible region and due to a sustainable platform with excellent optical and mechanical properties.

**Keywords:** silk fibroin, carbon dots

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> Relação entre $\chi$ dos heteroátomos e of $\lambda_{em}$ dos carbon dots dopados <sup>32</sup> .....	21
<b>Figura 2-</b> CQDs iluminados por luz branca (esquerda) e UV (direita; 365 nm); b) Espectros de emissão dos CQDs: as linhas vermelho, preto, verde e azul estão relacionadas com a emissão em azul, verde, amarelo e vermelho, respectivamente; c) relação entre o tamanho dos CQDs e as propriedades de luminescência; d) dependência da band gap HOMO-LUMO com o tamanho das nanopartículas <sup>37</sup> .....	25
<b>Figura 3-</b> a) Campo brilhante; b) conforme detectada, fluorescência (BI=bexiga, Ur: urina); c) Imagens codificadas por cores. A mesma ordem para as imagens dos rins dissecados (canto inferior esquerdo) e fígado (inferior direito) <sup>39</sup> .....	27
<b>Figura 4-</b> Bicho-da-sêda ( <i>Bombyx mori</i> ) e seus casulos <sup>43</sup> .....	28
<b>Figura 5-</b> Imagem modificada de <sup>49-50</sup> : Estrutura da folha $\beta$ e principais aminoácidos em sua composição.....	30
<b>Figura 6-</b> Procedimentos de tratamento das amostras de carbon dots.....	34
<b>Figura 7-</b> Diagrama esquemático do processo de extração da fibroína de seda. <sup>62</sup> .....	36
<b>Figura 8-</b> Procedimento para preparação das grades do DVD gravadas na superfície dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A. <sup>61</sup> .....	37
<b>Figura 9-</b> Imagens de HRTEM para Cdots A (a) e (b); Cdots B (c) e (d).....	39
<b>Figura 10-</b> Imagens de MEV dos filmes de fibroína pura em a) e b); filmes de fibroína contendo Cdots A em c) e d). .....	40
<b>Figura 11-</b> Imagens de AFM do filme de fibroína pura – a) em 3 D do relevo; b) em 2D; c) variações da altura sob as redes holográficas gravadas.....	41
<b>Figura 12-</b> Imagens de AFM do filme de fibroína contendo Cdots A – a) em 3 D do relevo; b) em 2D; c) variações da altura sob as redes holográficas gravadas .....	41
<b>Figura 13-</b> Imagens representativa do filme de fibroína pura (à esquerda em a) e do filme composto Iridescente/Luminescente contendo Cdots A (à direita em a) e b). .....	42
<b>Figura 14-</b> Difração óptica das grades do filme de fibroína contendo Cdots A utilizando um laser verde.....	42
<b>Figura 15-</b> Espectro de absorção na região do UV-Vis dos Cdots A, e dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A.....	43
<b>Figura 16-</b> Espectro de FTIR do Cdots A e B . .....	44
<b>Figura 17-</b> Espectro de FTIR-ATR dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A....	45

<b>Figura 18-</b> Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 270 a 630 nm para Cdots A.....	46
<b>Figura 19-</b> Espectros de excitação obtidos para emissão observada na faixa de 445 a 695 nm para Cdots A.....	47
<b>Figura 20-</b> Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 250 a 630 nm para Cdots B.....	47
<b>Figura 21-</b> Espectros de excitação obtidos para emissão observada na faixa de 465 a 670 nm para Cdots B.....	48
<b>Figura 22-</b> Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 270 a 590 nm para o filme de fibroína pura.....	49
<b>Figura 23-</b> Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 270 a 570 nm para o filme de fibroína contendo 2 mL Cdots A.....	50
<b>Figura 24-</b> Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 330 a 590 nm para o filme de fibroína contendo Cdots A concentrado.....	50
<b>Figura 25-</b> Espectros excitação obtidos para emissão observada na faixa de 640 a 560 nm para o filme de fibroína contendo Cdots A concentrado.....	51
<b>Figura 26-</b> Diagrama de cromaticidade do Cdots A.....	52
<b>Figura 27-</b> Diagrama de cromaticidade do Cdots B.....	52

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

AFM	Microscopia de Força Atômica
C dots	Carbon dots
FTIR	Espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
UV-vis	Ultravioleta-visível
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
UV-vis	Ultravioleta-visível

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>APRESENTAÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1</b>	<b>Carbon dots.....</b>	<b>19</b>
<i>2.1.1</i>	<i>Métodos de síntese .....</i>	<i>19</i>
<i>2.1.2</i>	<i>Funcionalização da superfície .....</i>	<i>21</i>
<i>2.1.3</i>	<i>Dopagem .....</i>	<i>21</i>
<i>2.1.4</i>	<i>Propriedades espectroscópicas .....</i>	<i>22</i>
<i>2.1.4.1</i>	<i>Absorção .....</i>	<i>22</i>
<i>2.1.4.2</i>	<i>Fluorescência .....</i>	<i>22</i>
<i>2.1.1.3</i>	<i>Rendimento quântico .....</i>	<i>22</i>
<i>2.1.1.4</i>	<i>Tempo de vida .....</i>	<i>23</i>
<i>2.1.1.5</i>	<i>Fotoestabilidade .....</i>	<i>23</i>
<i>2.1.1.6</i>	<i>Sensibilidade ao pH .....</i>	<i>23</i>
<i>2.1.1.7</i>	<i>Up conversion .....</i>	<i>23</i>
<i>2.1.1.8</i>	<i>Toxicidade.....</i>	<i>24</i>
<i>2.1.5</i>	<i>Mecanismo de luminescência .....</i>	<i>24</i>
<i>2.1.6</i>	<i>Aplicações .....</i>	<i>26</i>
<b>2.2</b>	<b>Fibroína da seda: estrutura, propriedades e aplicações .....</b>	<b>28</b>
<i>2.2.1</i>	<i>Estrutura da fibroína da seda .....</i>	<i>28</i>
<i>2.2.2</i>	<i>Propriedades e aplicações .....</i>	<i>31</i>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1</b>	<b>Síntese de carbon dots .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2</b>	<b>Extração da fibroína.....</b>	<b>35</b>

<b>4.3</b>	<b>Preparação dos filmes de fibroína pura e do filme de fibroína contendo os carbon dots (Cdots A)</b> .....	<b>36</b>
<b>4.4</b>	<b>Técnicas experimentais</b> .....	<b>37</b>
<b>4.4.1</b>	<i>Microscopia eletrônica de transmissão (MET)</i> .....	<b>37</b>
<b>4.4.2</b>	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i> .....	<b>37</b>
<b>4.4.3</b>	<i>Microscopia de força atômica (AFM)</i> .....	<b>37</b>
<b>4.4.4</b>	<i>Espectroscopia de absorção no UV-Visível</i> .....	<b>38</b>
<b>4.4.5</b>	<i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	<b>38</b>
<b>4.4.6</b>	<i>Espectroscopia de luminescência</i> .....	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>39</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização estrutural</b> .....	<b>39</b>
<b>5.2</b>	<b>Caracterização óptica</b> .....	<b>46</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b> .....	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>54</b>

## 1 APRESENTAÇÃO

O estudo e a manipulação de dispositivos miniaturizados na forma de filmes finos tem se tornado cada vez mais crescente, especialmente por causa da demanda industrial em aplicações como óptica, eletrônica, mecânica, entre outras. Durante as últimas décadas, as pesquisas voltadas para fenômenos fotoinduzidos em materiais depositados em um molde, e que apresentam finas camadas, permitiram que estes fossem utilizados como guias de onda, películas absorvedoras, filtros de interferência, óculos de sol, etc. Estes filmes também emitem em diferentes comprimentos de onda e são sensíveis a luz como aqueles utilizados em CDs e DVDs.<sup>1-2</sup>

Em sua maioria, os materiais precursores para os filmes finos utilizados atualmente nestes dispositivos ópticos são baseados em vidros, semicondutores e polímero. Entretanto, a sua aplicação pode ser limitada dependendo de fatores como a ausência de biocompatibilidade e a falta de degradabilidade, que poderiam causar contaminações após o seu uso no meio ambiente, além da utilização, em alguns casos, de solventes orgânicos e elevadas temperaturas no processamento destes materiais<sup>3</sup>. Portanto é desejável utilizar um método de obtenção simples, de baixo custo e sustentável.

Neste sentido os estudos têm sido direcionados com novas abordagens a fim de superar essas restrições, mantendo as características originais do material. O uso de biopolímeros provindos de fontes renováveis, como material dos filmes, podem proporcionar processamento óptico sofisticado, uma maior sensibilidade e transdução em matéria viva, e trazem uma maior contribuição para futuras tecnologias.<sup>4-5</sup>

A fibroína, um biopolímero particularmente interessante possui uma característica única, um processo espontâneo de auto montagem (self-assembly), que se baseia na deposição da solução de fibroína em fase aquosa sobre a superfície de um molde adequado. À medida que a água evapora, as proteínas se auto montam e é formada uma réplica de alta resolução.<sup>6</sup>

Muitos dispositivos bio-ópticos interessantes podem ser desenvolvidos pela incorporação de um biopolímero e materiais fluorescentes. No caso deste trabalho, o interesse foi o desenvolvimento de filmes utilizando a fibroína, uma matriz capaz de incorporar diferentes componentes como os carbon dots e que possui a capacidade de copiar a superfície de um substrato adequado. Grades de difração foram gravadas na superfície dos filmes no

qual foram originadas por um DVD comercial. Os filmes obtidos apresentaram iridescência dependentes do ângulo devido à difração de Bragg da luz visível.

Os materiais obtidos foram caracterizados por um conjunto de técnicas de análise: Microscopia de Força Atômica (AFM), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, Espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Luminescência.

## 2 INTRODUÇÃO

### 2.1 Carbon dots

Uma das atividades mais importantes relacionadas a nanotecnologia envolve a preparação de nanopartículas luminescentes. Diferentes aplicações podem ser consideradas que vão desde a fotônica em materiais ativos opticamente até a medicina com a utilização destas nanopartículas como marcadores luminescentes para diagnóstico e imageamento. Em geral as nanopartículas luminescentes envolvem cátions metálicos como os metais de transição ou lantanídeos ou mesmo metais nobres como ouro e prata.<sup>7</sup>

As nanopartículas de carbono (“carbon dots” ou “C-dots” na literatura de língua inglesa) surgiram como alternativas “verdes” na busca de materiais com menores consequências danosas ao ambiente, no qual apresentam uma dimensão inferior a 10 nm. Primeiramente, os C-dots foram obtidos em 2004 através da purificação de nanotubos de carbono por eletroforese.<sup>8</sup> A sua estrutura consiste em carbono com hibridização  $sp^2/sp^3$  e grupos incorporados a sua superfície como, oxigênio/nitrogênio ou agregações poliméricas.<sup>9</sup>

Comparado com materiais semicondutores, os quantum dots, eles têm atraído a atenção devido às suas excelentes propriedades, tais como baixo custo, inércia química, alta biocompatibilidade, baixa toxicidade, possibilidades múltiplas de funcionalização.<sup>10-11</sup> e, principalmente, propriedades luminescentes bastante interessantes.

#### 2.1.1 Métodos de síntese

Até o presente, os trabalhos na literatura sobre os carbon dots estão voltados para a metodologia de síntese. Dentre eles, é de interesse que tais abordagens sejam simples, de larga escala, baixo custo e que tenha controle do tamanho das nanopartículas.

Alguns métodos de preparação podem ser encontrados na literatura. Os jargões da nanotecnologia métodos “top-down” ou “bottom-up” são utilizados. Nos chamados métodos “top-down”, ablação a laser<sup>12-13</sup>, oxidação eletroquímica<sup>14</sup>, combustão confinada<sup>15</sup> e oxidação química com ácido nítrico<sup>16-18</sup> são encontrados. Nos métodos “bottom-up” considera-se a carbonização de precursores com glicose, sacarose, glicol, glicerol, ácidos orgânicos, etc<sup>19-24</sup>. Subsequentes operações de oxidação da superfície e sua passivação são necessárias para que a luminescência seja observada e sua superfície seja hidrofílica.

O método de preparação “top-down” consiste na esfoliação ou clivagem a partir de diferentes fontes de carbono. No presente trabalho, o tratamento por intermédio da oxidação do ácido nítrico foi utilizado para a síntese. A vantagem deste procedimento é por ser uma abordagem simples e uma produção em larga escala. As três principais fontes de carbono ativadas exploradas são: o carvão, a madeira e o côco. Os carbon dots podem ser alcançados a partir das estruturas amorfas de carbono ativado em contato com o presente reagente oxidante. Os produtos finais podem apresentar uma distribuição de tamanhos de nanopartículas pequena, forte fluorescência, como também a presença de grupamentos na sua superfície.<sup>25</sup>

Dong e colaboradores<sup>26</sup> reportaram uma estratégia para preparação de carbon dots a partir de seis amostras diferentes de carvão mineral sob oxidação química com ácido nítrico, e subsequentemente centrifugação para a separação dos tamanhos das nanopartículas. Os produtos finais denominados de Coal A e Coal B exibiram distribuição de tamanhos com aproximadamente 10 nm e comprimento de onda de excitação dependente da fluorescência. Além disso, Coal B apresentou alguns outros materiais à base de carbono, como por exemplo, aglomerados de grafene quantum dots, óxido de grafeno, carbon quantum dots, entre outros. Esta foi a metodologia no qual nos baseamos para a realização da síntese dos carbon dots, substituindo o carvão mineral pelo carvão vegetal como fonte de carbono. O carvão vegetal utilizado possui baixíssimo custo e foi fornecido por carvoarias nacionais.

O método “bottom-up” é baseado na conversão de precursores orgânicos adequados para a síntese de carbon dots via tratamento solvotérmico ou pirólise sob uma atmosfera inerte. Ambas as metodologias são aperfeiçoadas, utilizando diferentes métodos de purificação como a centrifugação, diálise, filtração e eletroforese. Comparando-se as duas abordagens, o segundo método apresenta vantagens desde que tenha-se realizado uma seletividade das condições de carbonização e do precursor orgânico, em ajustar as propriedades físicas e composição dos carbon dots. Porém, ainda há uma adversidade em monitorar a distribuição e morfologia do seu tamanho, pois durante o processo de carbonização, a forte tensão na superfície destas nanopartículas conduzirá há uma aglomeração. Quando apresentam uma forma de distribuição de tamanho grande necessitam de um processo de separação complicado, e também a compreensão da associação entre a sua estrutura e as propriedades ópticas.<sup>27-28</sup>

Fan e colaboradores<sup>29</sup> relatam uma metodologia particularmente simples para obtenção, no qual submetem soluções aquosas de poli(etilenoglicol) de diferentes massas

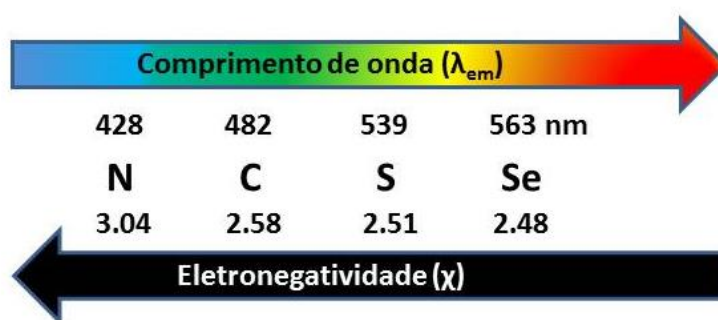
molares à tratamento hidrotérmico, e posteriormente diálise. Soluções das nanopartículas de carbono são obtidas deste modo, onde as partículas medem de 2-4 nm, e os espectros de luminescência apresentam bandas largas na região visível, sintonizáveis em função do comprimento de onda de excitação.

### 2.1.2 Funcionalização da superfície

A modificação da superfície dos C-dots é uma abordagem utilizada para ajustar as propriedades de acordo com a aplicação escolhida. A modificação pode ocorrer já na síntese, quando feita com soluções ácidas e é o método mais facilmente empregado. O refluxo de uma solução de ácido nítrico em alta concentração por algumas horas pode gerar defeitos na superfície da nanopartícula ou incorporar vários grupos funcionais de oxigênio como carboxil, carbonil e hidroxila. Também são utilizados outros métodos para funcionalização da superfície como, por exemplo, síntese hidrotermal, pirólise, tratamento com ácido cítrico, entre outros.<sup>30-31</sup>

### 2.1.3 Dopagem

Yang e colaboradores<sup>32</sup> relataram que grupos ativos e heteroátomos na superfície dos carbon dots afetam as propriedades de fluorescência. O comprimento de onda de emissão das nanopartículas é determinado pela eletronegatividade do heteroátomo dopado à sua superfície. Quando foram dopados com S ou Se, o espectro de fluorescência deslocou para o vermelho. Isto pode ser atribuído à baixa eletronegatividade destes átomos, nos quais são atribuídos como elétron-doadores. Para o dopagem com N (elétron-aceitadores), apresentaram deslocamento para o azul. A compreensão deste comportamento é representada pela figura 1. Além disso, nessa dopagem ocorre transferência de cargas e resultados mostraram um rendimento quântico elevado.



**Figura 1-** Relação entre  $\chi$  dos heteroátomos e de  $\lambda_{em}$  dos carbon dots dopados.<sup>32</sup>

Outro fator que está correlacionado com a eletronegatividade dos heteroátomos é o rendimento quântico, no qual este parâmetro pode ser aumentado a partir da dopagem com os elementos citados.

## **2.1.4 Propriedades espectroscópicas**

### **2.1.4.1 Absorção**

Os carbon dots apresentam absorção óptica na região do UV com um ombro que se estende na região do visível, e esta decai gradativamente na medida em que ocorre deslocamento para o vermelho. Os picos no UV são atribuídos a transições eletrônicas  $\pi$ - $\pi^*$  referentes à ligações C=C e transições n- $\pi^*$  referentes à ligações C=O e outros.<sup>30</sup> Além disso, grupos ligados à superfície podem contribuir para a absorção na região do UV visível. Até o momento, desvios observados no espectro de absorção podem ser referentes às diferentes composições ou estruturas em diferentes estados de hibridização.<sup>9</sup>

### **2.1.4.2 Fluorescência**

O estudo das propriedades luminescentes é importante para a compreensão de seu mecanismo e adaptá-lo para diversas aplicações.

Os espectros de emissão dos carbon dots são geralmente simétricos à escala de comprimento de onda. Comparado com os corantes orgânicos, estes materiais podem apresentar bandas de emissão mais largas. Uma característica única dos carbon dots é a dependência da emissão com o comprimento de onda de excitação. Este efeito ocorre devido à diferença de tamanhos das nanopartículas (confinamento quântico), diferentes defeitos na superfície ou outro mecanismo não resolvido. As propriedades espectroscópicas deste material podem ser manipuladas pela modificação da estrutura química de sua superfície ou transferência de energia.<sup>9, 30</sup>

### **2.1.4.3 Rendimento quântico**

Carbon dots que apresentam bandas de emissão na região do visível ao vermelho podem ser aplicados em bioimagem. Neste caso, o rendimento quântico é um parâmetro importante para as propriedades luminescentes e pode variar de acordo com os métodos de síntese e a estrutura química da sua superfície. Geralmente apresentam valor baixo e são utilizadas técnicas para aumentá-lo, como por exemplo, passivação, dopagem com outros

elementos e purificação. Na literatura reportaram rendimento quântico tão elevado como 80%.<sup>25-33</sup>

#### ***2.1.4.4 Tempo de vida***

A partir de diferentes abordagens para obtenção dos C-dots, estes podem apresentar decaimentos multi-exponenciais, o que sugere a existência de regiões emissivas distintas. Geralmente, tempos de vida destes materiais são dados na ordem de nanosegundos.<sup>34-35</sup>

#### ***2.1.4.5 Fotoestabilidade***

O termo fotoestabilidade denota que após uma excitação contínua, a intensidade de emissão de fluorescência mantém-se estável. Comparado com quantum dots, corantes orgânicos e proteínas fluorescentes, a maioria dos C-dots apresentam uma boa fotoestabilidade.<sup>34-35</sup>

#### ***2.1.4.6 Sensibilidade ao pH***

A intensidade de fluorescência dos C-dots é sensível a mudança de pH devido a ionização de grupos carboxílicos que, conseqüentemente, afeta a superfície da nanopartículas. Ye e colaboradores desenvolveram carbon dots utilizando como material precursor o carvão mineral sob sonificação e aquecimento após adição de ácido nítrico e sulfúrico. Os resultados demonstraram que as propriedades de luminescência dos materiais sintetizados são dependentes do valor de pH. A intensidade de luminescência foi maximizada em valores de pH 6 e 7. Na faixa de 3 a 6, observaram uma diminuição da intensidade e deslocamento para o vermelho. Após a neutralização da suspensão, observaram que em pH de 7 a 10, a intensidade também diminuiu e houve deslocamento para o azul.<sup>34-35</sup>

#### ***2.1.4.7 Up conversion***

O mecanismo de up conversion consiste na absorção sequencial de dois ou mais fótons por meio de estados de energia intermediários levando à emissão de fótons de energia mais elevados (comprimento de onda mais curto) do que os fótons de excitação. Os carbon dots apresentam espectros de emissão amplos que dependendo do comprimento de onda de excitação, vão desde o visível ao infravermelho. Há algumas limitações para nanopartículas que emitem no azul utilizadas em aplicações biológicas, pois algumas células e tecidos quando iluminadas com luz ultravioleta também emitem na região do azul resultando em interferências. Deste modo, é de fundamental importância o desenvolvimento de materiais que

emitem em diferentes comprimentos de onda. Fluorescência de up conversion é particularmente interessante para aplicações como bioimageamento in vivo. Emissões com comprimento de onda mais longo permitem que haja uma maior penetração dos fótons nos tecidos, assim como uma menor deposição de energia.<sup>30,36</sup>

#### ***2.1.4.8 Toxicidade***

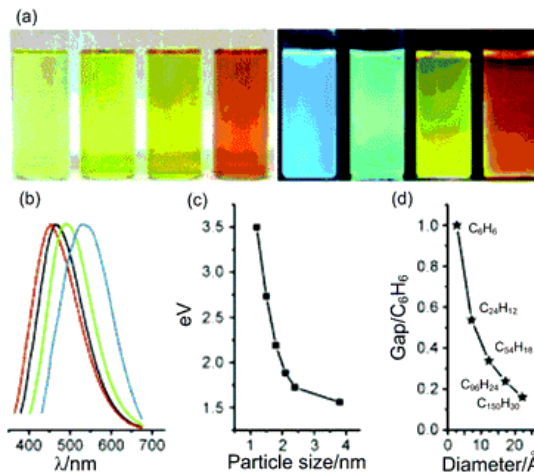
Os quantum dots, materiais sintetizados com semicondutores como, por exemplo, CdSe podem levar à citotoxicidade por liberar  $\text{Cd}^{2+}$ . Além de apresentarem um potencial risco ao meio ambiente, também podem agregar a sistemas biológicos dificultando a sua saída. Na busca pela substituição destes materiais para aplicações biomédicas, os carbon dots se destacam por terem menor toxicidade.<sup>25</sup>

#### ***2.1.5 Mecanismo de luminescência***

O mecanismo da fluorescência dos carbon dots não é totalmente esclarecido, uma vez que na sua preparação são utilizadas diferentes abordagens e materiais de partida.<sup>9</sup>

Um dos mecanismos mais amplamente aceitos é o efeito do confinamento quântico. As propriedades de luminescência dos carbon dots são determinadas pela forma e tamanho das nanopartículas. Tamanhos menores levam a uma maior diferença de energia da band gap.

Li e colaboradores<sup>37</sup> relataram que a influência da variação no tamanho das nanopartículas pode produzir emissão em diferentes regiões espectrais. A figura mostra imagens ópticas de quatro tamanhos de CQDs iluminados por uma lâmpada de luz natural (esquerda) e luz UV (direita, 365nm). Os resultados revelaram que CQDs com diâmetro menor (1,2 nm) emitiram na região do UV (350 nm), CQDs com diâmetro médio (1,5-3 nm) emitiram na região do visível (400-700 nm) e CQDs grandes (3,8 nm) emitiram na região do vermelho (próximo a 800 nm). Também observaram uma dependência entre a diferença de energia do orbital molecular de mais alta energia ocupado (HOMO) e o orbital molecular de menor energia desocupado (LUMO). À medida que o tamanho do fragmento aumenta, a diferença diminui gradualmente.



**Figura 2-** CQDs iluminados por luz branca (esquerda) e UV (direita; 365 nm); b) Espectros de emissão dos CQDs: as linhas vermelho, preto, verde e azul estão relacionadas com a emissão em azul, verde, amarelo e vermelho, respectivamente; c) relação entre o tamanho dos CQDs e as propriedades de luminescência; d) dependência da band gap HOMO-LUMO com o tamanho das nanopartículas.<sup>37</sup>

Outro relato proposto na literatura referente ao deslocamento da luminescência para o vermelho, atribui-se como justificativa a presença de grupos na superfície das nanopartículas e suas estruturas, controverso ao efeito do confinamento quântico.

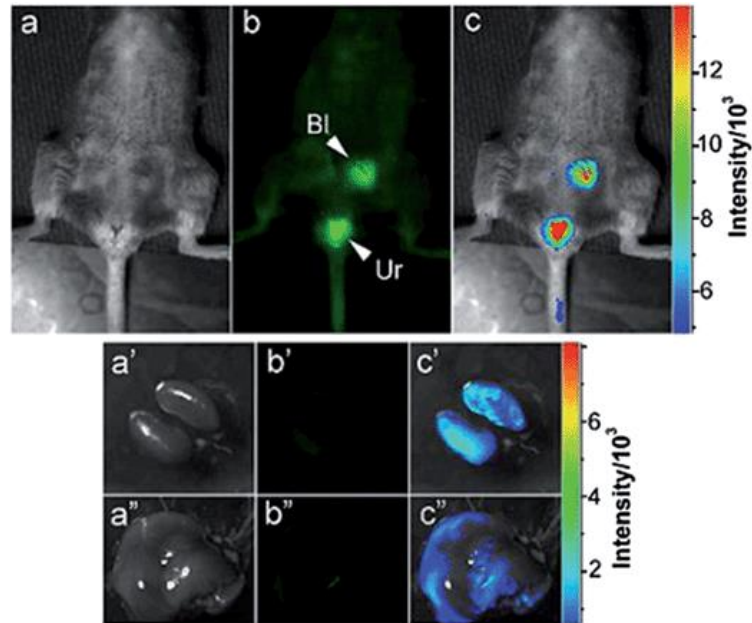
Ding et al.<sup>38</sup> desenvolveram nanopartículas de carbono luminescentes com distribuição de tamanhos semelhantes e estrutura da grafite. Sob luz UV, apresentaram emissão desde o azul ao vermelho e também demonstraram independência do comprimento de onda de excitação em relação ao comprimento de onda de emissão. Os resultados evidenciaram que o deslocamento para o vermelho é ocasionado pela presença de grupos carboxil e a incorporação de espécies de oxigênio na superfície. Os defeitos na estrutura são originados principalmente por causa da oxidação da superfície, no qual estendem como centros de captura para éxcitons. Quanto maior o grau de oxidação na superfície, maiores serão os defeitos na mesma. Estudos demonstram que grupos carboxila com o átomo de carbono hibridizado  $sp^2$  poderiam induzir distorções locais consideráveis, resultando em uma band gap mais estreita. A hipótese para o mecanismo de fluorescência pode ser referida aos átomos de carbono conjugados e ligados à átomos de oxigênio localizados nos centros luminescentes da superfície. A band gap depende fortemente da incorporação de espécies de oxigênio na superfície. Com o aumento do grau de oxidação na estrutura observou-se uma mudança nas propriedades de luminescência com um deslocamento para o vermelho, que é a consequência de uma redução na band gap. A confirmação deste princípio foi investigada pela

dependência da emissão com a mudança no valor do pH. Em ambientes ácidos e básicos observou-se um decaimento na intensidade de luminescência e, além disso, observou-se um desvio da banda para a região do vermelho à medida que o valor de pH diminuía. Como conclusão, acreditam que devido às excelentes propriedades do material sintetizado, podem ser utilizados em aplicações biológicas como bioimageamento.

### **2.1.6 Aplicações**

Desde a sua descoberta, os carbon dots tem se destacado em várias aplicações. As suas propriedades biológicas, como baixa toxicidade e boa biocompatibilidade, permitem que esses nanomateriais sejam uma boa alternativa em bioimageamento, biosensores e drug delivery.<sup>10-11</sup>

Yang e colaboradores<sup>39</sup> foram os primeiros a explorar a viabilidade dos carbon dots como agentes de contraste em um camundongo de laboratório. Em seus experimentos, sintetizaram carbon dots via ablação a laser com passivação da superfície utilizando PEG<sub>1500N</sub>. A solução foi injetada subcutaneamente no camundongo. Foram observadas emissões dos nanomateriais de carbono na área da bexiga e após 3h de sua excreção por via urinária, uma forte fluorescência, que permitiu o imageamento. A partir dos resultados, concluíram que os carbon dots apresentaram uma boa biocompatibilidade e não demonstraram efeitos tóxicos significativos, além das doses comumente aplicadas em imagiologia óptica in vivo.



**Figura 3-** a) Campo brilhante; b) conforme detectada, fluorescência (BI=bexiga, Ur: urina); c) Imagens codificadas por cores. A mesma ordem para as imagens dos rins dissecados (canto inferior esquerdo) e fígado (inferior direito)<sup>39</sup>

Os carbon dots também são excelentes doadores e aceptores de elétrons, esta propriedade permite que eles sejam sujeitos a uma transferência de elétrons fotoinduzida. Deste modo, podem ser aplicados em células solares e fotodetectores.<sup>40</sup>

Zhang e colaboradores<sup>41</sup> desenvolveram matrizes de nanotubos de TiO<sub>2</sub> carregadas com carbon dots (CQDs) funcionando como catalisador para a geração de hidrogênio a partir da decomposição da água sob irradiação da luz visível. Os resultados demonstraram que a introdução dos carbon dots na matriz permitiu alargar consideravelmente a sua fotoresposta para regiões no visível e NIR, ao contrário, do material contendo apenas TiO<sub>2</sub>, no qual apresenta uma maior limitação devido à sua band gap larga (aproximadamente 3,2eV). Além disso, a densidade da fotocorrente fotoanódica foi quatro vezes maior do que para TiO<sub>2</sub> NT a 0 V vs Ag / AgCl. Também foi possível determinar a taxa de produção de hidrogênio como sendo de 14,1  $\mu\text{molh}^{-1}$ . Como conclusão, acreditam que as excelentes propriedades dos CQDs como absorção óptica em toda região do visível e reação de cinética estável permitem que sejam promissores sensibiizadores no aumento da eficiência de conversão de energia em matrizes de TiO<sub>2</sub>.

## 2.2 Fibroína da seda: estrutura, propriedades e aplicações

Sedas são um conjunto de proteínas fibrosas tecidas mais extensivamente pelo bicho-da-seda (*Bombyx mori*), Figura 4, alguns gêneros de aranhas como *Nephila clavipes* e *Araneus*. O processo para sua produção é feito em glândulas especializadas, primeiramente, é realizado em células epiteliais, após a biossíntese, seguida de secreção por glândulas no lúmen onde são armazenadas antes da formação de fibras.<sup>42</sup>



**Figura 4-** Bicho-da-sêda (*Bombyx mori*) e seus casulos.<sup>43</sup>

Os fios de seda têm sido comumente utilizados na indústria têxtil como uma atuação lucrativa há milênios. Presume-se que mais de 120.000 toneladas de seda são produzidas no mundo, destacando como principais locais de impacto econômico a China, Índia e Japão.<sup>44</sup>

A partir de um único casulo de seda proveniente de *B. mori* é possível ter rendimento da fibra de 600-1500 m, comparado com ~ 137 m de seda produzida pela glândula ampular da aranha e ~ 12 m de sua teia.<sup>45</sup>

### 2.2.1 Estrutura da fibroína da seda

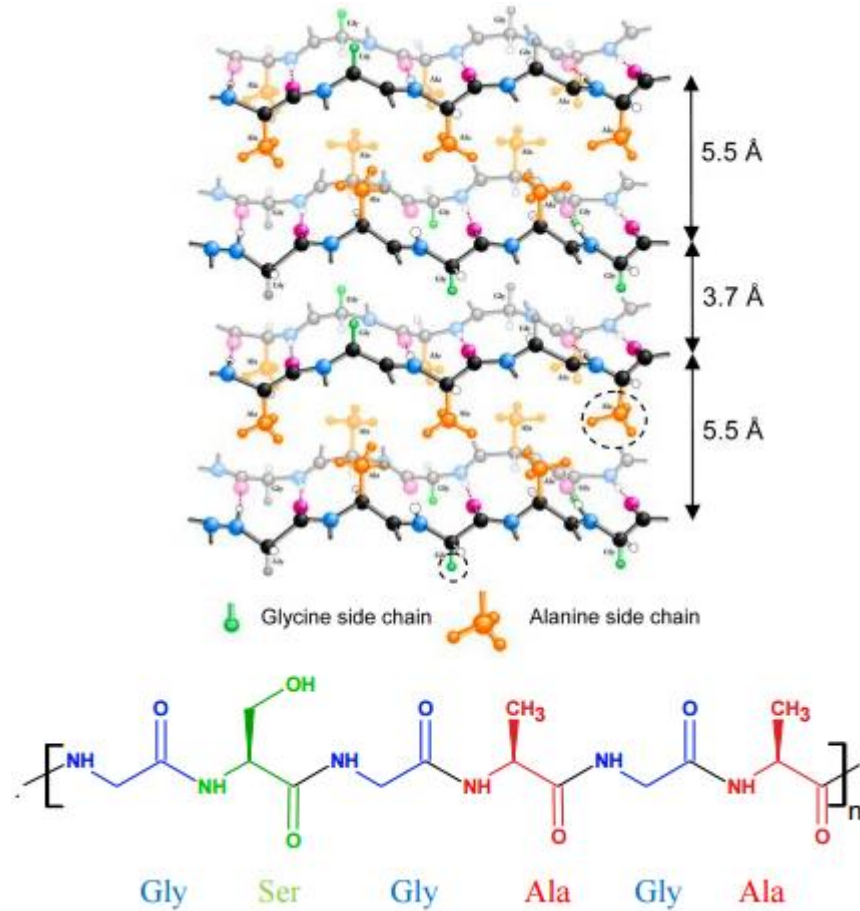
A seda se divide em duas proteínas majoritárias, a fibroína (em proporção de 70-80%), uma proteína estrutural de fibras de seda composta por regiões altamente organizadas com formas cristalinas folha- $\beta$  e semicristalinas, como também regiões amorfas e a sericina (em proporção de 20-30%), uma proteína solúvel em água que liga as fibras de fibroína juntas.<sup>42,46</sup>

A fibroína é composta de um bloco copolímero constituído por cadeias pesadas (~350 kDa) e leves (~25 kDa), ambas são conectadas por uma ligação dissulfeto. Uma glicoproteína,

denominada P25, está ligada não covalentemente também a essas duas cadeias. O bloco de alto peso molecular é composto por quatro diferentes segmentos: uma região N- terminal, C-terminal, domínios não repetitivos hidrofílicos e domínios repetitivos hidrofóbicos, estes apresentam uma sequência repetitiva de aminoácidos Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser e Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Tyr.<sup>47-49</sup>

Em termos de composição de aminoácidos, a cadeia pesada é constituída basicamente por glicina, alanina, serina (Figura 5) e em menor quantidade, tirosina e outros aminoácidos residuais. A glicina e a alanina formam uma sequência repetitiva e compreendem aproximadamente 75 % em mol da proteína. Este seguimento contínuo de aminoácidos permite um empacotamento dos fios individuais de cadeias moleculares levando à formação da estrutura da folha-  $\beta$  em um arranjo antiparalelo. Os cristalitos adotam uma estrutura cristalina ortorrômbica, com um lado ocupado por hidrogênios de glicina e a posição inversa ocupada por grupos metila das alaninas. As fortes ligações de hidrogênio e forças de van de Waals formam uma estrutura termodinamicamente estável. As ligações de hidrogênio intra e inter cadeias se formam entre os aminoácidos perpendiculares ao eixo da cadeia e a fibra.<sup>47-49</sup>

As propriedades de tensão das fibras de seda são dependentes da estrutura cristalina, ao passo que outras propriedades como retenção de umidade e resistência química, dependem do estado da região amorfa que compõe a maioria dos resíduos de aminoácidos com uma cadeia lateral volumosa e polar.<sup>47-49</sup>



**Figura 5-** Imagem modificada de <sup>49-50</sup>: Estrutura da folha  $\beta$  e principais aminoácidos em sua composição.

A cadeia leve possui natureza hidrofílica e não apresenta regiões repetitivas, entretanto contém conteúdos elevados de resíduos como ácido aspártico e ácido glutâmico.<sup>47,51</sup>

O elevado teor de glicina na seda proporciona uma maior variabilidade conformacional comparado a maior parte das proteínas. Dependendo do ambiente da proteína, pode haver alteração na estrutura secundária dominante da seda. A fibroína é reportada como polimórfica, incluindo a fibroína do estado glandular prévio ao processo de cristalização (silk I), a fibroína fiada (silk II) que compreende na estrutura secundária folha  $\beta$  e uma fibroína com estrutura helicoidal proveniente de um estado de interface ar/água (silk III).<sup>47,51</sup>

A estrutura da fibroína silk I é solúvel em água e após exposição ao calor ou processo de fiação, pode ser convertida facilmente em silk II. Essa estrutura é observada *in vitro* em condições aquosas e é convertida para a estrutura folha  $\beta$  quando submetida a metanol ou

cloreto de potássio. Além disso, esta conformação exclui a água e é insolúvel em vários solventes como ácidos fracos, condições alcalinas e agentes caotrópicos.<sup>47,51</sup>

### **2.2.2 Propriedades e aplicações**

As fibras de fibroína apresentam estabilidade superior em comparação com as proteínas globulares, devido a grande quantidade de ligações de hidrogênio, a sua natureza hidrofóbica e a sua cristalinidade. A configuração estrutural confere à fibroína propriedades mecânicas que compreendem uma combinação notável de alta resistência e tenacidade que as distingue de polímeros de alta tecnologia como o conhecido kevlar.<sup>45,52</sup>

A fibroína também tem sido investigada como um material promissor em aplicações biomédicas, como suturas, scaffolds, imobilização enzimática e agente de liberação de fármacos devido à sua biocompatibilidade com diversos tipos de células, boa degradabilidade, elasticidade e por ser isenta de infecções.<sup>45,52</sup>

A solução de fibroína é utilizada para o processamento nas mais variadas formas como hidrogéis, recobrimentos, matrizes porosas 3d, filmes e fibras com espessuras/diâmetros da ordem de nanômetros a centímetros. Comparado com outros biopolímeros utilizados, os filmes de fibroína são transparentes (>95%) na região do visível do espectro eletromagnético, são mecanicamente robustos e apresentam rugosidades baixas (<5 nm). Estas propriedades caracterizam os filmes de fibroína como um material para uma ampla gama de dispositivos ópticos, incluindo redes de difração, hologramas de luz branca e cristais fotônicos.<sup>53-55</sup>

Os filmes de fibroína podem produzir uma variedade de dispositivos ópticos 2D e 3D, e ainda ser utilizados em processos de litografia, como hologramas, padrões de difração, grades ópticas e guias de onda, em virtude dos seus atributos de processamento e de auto-montagem. Além disso, são produzidas nesses micropadrões periódicos cores iridescentes dependentes do ângulo, fato que ocorre devido à difração de Bragg.<sup>4,56</sup>

Na literatura, as técnicas de nanoimpressão<sup>57</sup>, litografia suave<sup>58</sup> e opalas inversas<sup>59</sup> têm sido utilizadas para a obtenção destes materiais, apresentando baixo custo e alta qualidade óptica, biomimética com microestruturas relativamente simples e planares. Porém, a formação de padrões (grades) e a sua transferência para o biomaterial utilizado demandam algumas limitações, apesar de apresentarem uma excelente resolução. Durante estas etapas, podem

requerer a construção de moldes para a sua formação e muitas vezes, alta temperatura e pressão.<sup>56</sup>

A perspectiva de obter materiais à base de proteínas para a gravação de padrões nas escalas micro e nanométrica abre um campo enorme de aplicações bastante interessante. Podemos destacar alguns pontos da fibroína nas técnicas citadas na obtenção de filmes, como: não requer a preparação da sua superfície do substrato, as preparações são realizadas sob temperatura e pressão ambiente. Outro tópico interessante é quando comparada com outros polímeros inorgânicos, que muitas vezes são preparados por produtos químicos nocivos a saúde humana, este biopolímero natural, além de apresentar boas propriedades ópticas, mecânicas, facilidade de funcionalização e biocompatibilidade, pode ser gerado em pH neutro, onde permite a mistura de corantes solúveis em água assim como também enzimas e proteínas. Tais abordagens conferem a este material uma plataforma sustentável para a concepção de uma nova classe de dispositivos ópticos para microfluidica, como também para emissão de luz, comprimento de onda, seleção e detecção.<sup>60</sup>

Silva e colaboradores<sup>61</sup> demonstraram a operação de um laser de ganho distribuído baseado em filmes de fibroína contendo Rodamina 6G com nanopartículas de sílica e prata. A grade de difração de fibroína foi fabricada utilizando-se um DVD comercial como molde. As técnicas de TEM, HRTEM, ATR-FTIR, SEM/EDX, UV Vis, AFM foram utilizadas para caracterização desse material. A adição de nanopartículas de sílica e prata levaram a um aumento na emissão devido ao espalhamento múltiplo da luz pelas nanopartículas. Como resultado os filmes de fibroína modificados mostraram ser matrizes promissoras para DFB lasers, uma vez que apresentam excelente qualidade óptica e biocompatibilidade, possuindo assim grande potencial para aplicação em biomedicina.

A gravação de padrões na superfície dos filmes também podem ser utilizadas para melhorar a excitação e extração de luz em uma variedade de aplicações ópticas. A vantagem na utilização da fibroína de seda como matriz nos processos de litografia é a sua capacidade de armazenar compostos funcionais orgânicos e inorgânicos. Dependendo do material precursor utilizado, a dopagem permite a formação de estruturas fotônicas com melhores propriedades ópticas. Ou seja, uma vez que ocorre essa incorporação ao copolímero, a sua função bioquímica é preservada. Um ponto interessante citado na literatura é a introdução de compostos que permitem aumentar a emissão da fluorescência do filme contendo o biopolímero natural.<sup>60,63</sup>

### 3 OBJETIVOS

A meta principal deste trabalho concentrou-se na obtenção e caracterização de suspensões e filmes iridescentes-luminescentes de fibroína contendo nanopartículas luminescentes de carbono.

Para se alcançar esta meta alguns objetivos intermediários foram:

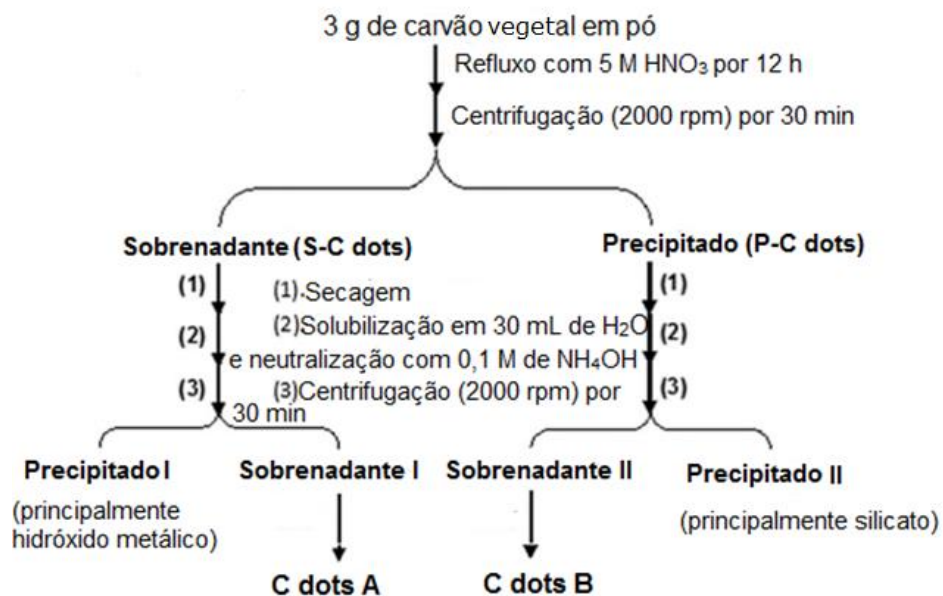
- a. Preparação e caracterização de suspensões de nanopartículas luminescentes de carbono (carbon dots) a partir de uma fonte natural de baixo custo (carvão vegetal) proveniente de carvoarias.
- b. Obtenção de filmes finos de fibroína, extraída de casulos de bicho-da-sêda;
- c. Obtenção de filmes finos de fibroína incorporados das suspensões de carbon dots.
- d. O estudo das propriedades luminescentes destes novos sistemas.

## 4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

### 4.1 Síntese de carbon dots

Os carbon dots foram sintetizados via oxidação do ácido nítrico do carvão vegetal em pó. Inicialmente, o carvão mineral sólido foi desagregado em almofariz de ágata e peneira de 0,106 mm (Granutest - Telastem Peneiras para Análises, São Paulo, Brasil). Adicionou-se 3 g do carvão mineral peneirado e 600 mL de  $\text{HNO}_3$  5,0 mol.L<sup>-1</sup> (Qhemis - High Purity®- 65%) a um balão de fundo redondo conectado a um sistema de refluxo. Aqueceu-se a mistura a 100° C, sob agitação e manteve-se o refluxo por 12 h.

A suspensão resultante foi centrifugada durante 30 min a 2000 rpm. O sobrenadante (S-C dots) foi separado das partículas macroscópicas de carbono que ficaram depositadas no fundo dos tubos (P-C dots). Sequencialmente, tanto os S-C dots quanto os P-C dots foram submetidos aos mesmos procedimentos como segue: (1) ambos foram secos. (2) em seguida, cada um deles foi redisperso com 30 mL de água deionizada e neutralizado com 0,1 mol.L<sup>-1</sup> de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (Mallinckrodt - 28-30 %). (3) As suspensões obtidas dos S-C dots e dos P-C dots foram centrifugadas durante 30 min a 2000 rpm, resultando nos chamados Precipitado I e Sobrenadante I e, Precipitado II e Sobrenadante II. Os Sobrenadantes I e II foram separados como Cdots A e Cdots B. A figura 6 ilustra o procedimento utilizado.



**Figura 6-** Procedimentos de tratamento das amostras de carbon dots.

## 4.2 Extração da fibroína

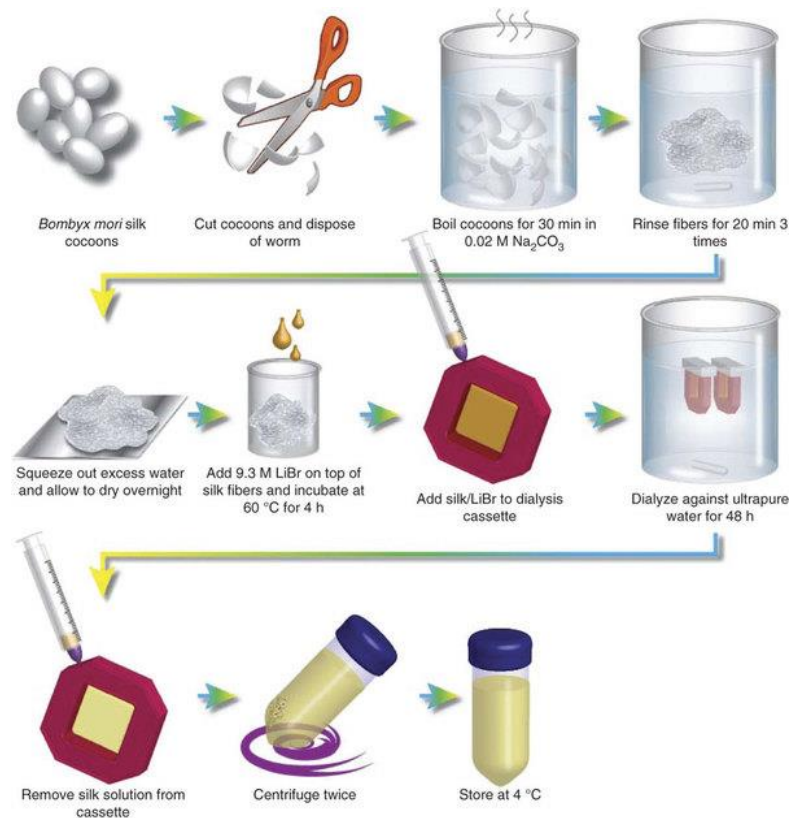
Primeiramente, 10 g do casulo da fibroína (Bratac, Fiação de Seda S.A. Bastos/SP, Brazil) foram previamente pesados e cortados em pedaços de aproximadamente 1 cm. Na extração, adicionou-se 4 L de água Milli-Q em um banho maria e, após início do processo de ebulição, adicionou-se lentamente 8,48 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Em seguida, os pedaços dos casulos foram imersos na solução e mantidos a uma temperatura de aproximadamente 60-70 °C por 30 min e constante agitação, de modo que facilitasse a dissolução da proteína sericina. As fibras obtidas foram lavadas com 2 L de água Milli-Q sob agitação constante por 20 min. Este procedimento foi repetido por mais três vezes. As fibras de fibroína úmidas foram colocadas em placa de Petri e mantidas em estufa, a 40 °C, por 24 h.

Para a solubilização das fibras de fibroína pura, preparou-se uma solução de brometo de lítio (LiBr) 9,3 M em uma proporção de 1:4 de fibroína: LiBr, ou seja, 20% (peso/volume) da solução deveria conter fibroína e 80% de LiBr, baseado na quantidade das fibras de fibroína que foram secadas em estufa, apresentando uma massa de 9,0793 g.

Assim, a solução de LiBr foi preparada como segue: 29,32 g de LiBr foram adicionados em um balão volumétrico de 50 mL e completou-se o restante com água milli-Q.

Em um béquer, a solução preparada de LiBr foi adicionada lentamente sobre as fibras de fibroína secas, e mantido em estufa, a 60 °C, por 4 h para que a dissolução ocorresse completamente.

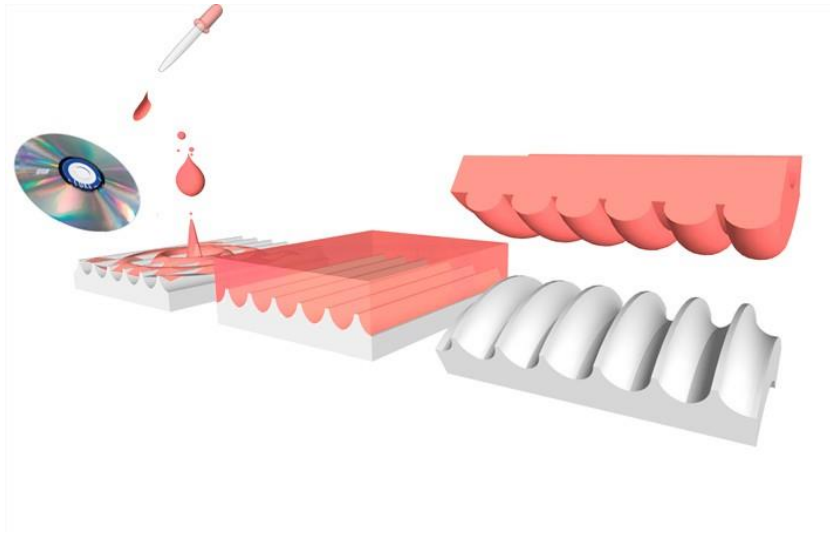
Após a dissolução completa da fibroína, a solução foi colocada em tubo de diálise de celulose (14000 MWCO) e dialisada contra a água para a remoção da quantidade de sal presente. A água de diálise foi trocada duas vezes ao dia. Este procedimento foi repetido por mais três vezes. Em seguida, a solução foi centrifugada a 20000 rpm a 4°C por 20 min para remoção das impurezas. O sobrenadante foi coletado e foi centrifugado novamente. Após este processo, a solução de fibroína está pronta para a preparação de filmes finos. O processo de extração da fibroína é representado pela figura 7.



**Figura 7-** Diagrama esquemático do processo de extração da fibroína de seda.<sup>62</sup>

### 4.3 Preparação dos filmes de fibroína pura e do filme de fibroína contendo os carbon dots (Cdots A)

Para a deposição dos filmes e obtenção das redes gravadas foi utilizado como substrato um DVD comercial branco de dupla camada. A primeira camada do DVD é formada de policarbonato, localiza-se a camada específica para a gravação de dados, que é o material de interesse. Esta se encontra entre uma camada metálica refletora e sob uma nova camada de policarbonato. Para a exposição desta camada de gravação, a superfície do DVD foi descascada cuidadosamente sob um fluxo de água contínuo. Após a sua retirada, foi lavada com etanol para a remoção do corante orgânico existente na superfície. Finalmente, para a obtenção dos filmes de fibroína pura, moldes de policarbonato com 3 cm de diâmetro foram colados na superfície da camada de gravação e em seguida, uma solução de fibroína pura com concentração de 4% foi depositada. Para a obtenção dos filmes de fibroína contendo Cdots A, foi utilizado o mesmo procedimento, entretanto a solução foi preparada na proporção (1:1 de fibroína:Cdots A) e sob diferentes concentrações: 0,5; 1; 1,5; 2; 3mL e concentrado 10x.



**Figura 8-** Procedimento para preparação das grades do DVD gravadas na superfície dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A.<sup>61</sup>

#### 4.4 Técnicas experimentais

##### 4.4.1 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão foram obtidas em um aparelho Philips – Modelo CM200 operado em uma tensão de 200 kV. Foram empregadas grades de cobre cobertas por um filme de carbono. As dimensões e as distâncias interplanares dos carbon dots foram obtidas com o software ImageJ.

##### 4.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de MEV foram obtidas em um JEOL modelo 7500F (FEG-SEM), equipado com um detector de dispersão de energia de raios X (EDX) no estado sólido Si(Li).

##### 4.4.3 Microscopia de força atômica (AFM)

A morfologia dos filmes foi obtida pela técnica de microscopia de força atômica (AFM) utilizando um Agilent AFM série 5500 – modo III (Agilent Technologies). As imagens foram obtidas pelo modo de contato intermitente (modo AAC) e foi usada uma sonda de silício (NanoWorld Co., NCHR; Tamanho típico: T = 4  $\mu\text{m}$ , W = 30  $\mu\text{m}$ , L = 125  $\mu\text{m}$  ;

Constante elástica da mola:  $C = 42 \text{ N/m}$ , Frequência de ressonância típica:  $f = 320 \text{ kHz}$ , Raio de curvatura da ponta:  $R < 8 \text{ nm}$ ).

#### ***4.4.4 Espectroscopia de absorção no UV-Visível***

Os espectros de absorção foram obtidos com um espectrômetro de UV-Visível Perkin-Elmer Lambda 1050 que conta com uma lâmpada halógena de deutério, permitindo a obtenção do espectro na faixa de 200 a 800 nm com uma resolução de 2 nm.

#### ***4.4.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)***

Os espectros de FT-IR foram obtidos no espectrômetro FT-IR, Nicolet modelo iS5 (Thermo Fisher Scientific Inc) com acessório ATR com cristal de germânio, na faixa de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

#### ***4.4.6 Espectroscopia de luminescência***

Os espectros de fluorescência de emissão e excitação foram adquiridos com um fluorímetro HORIBA JOBIN YVON Fluorolog-1000.

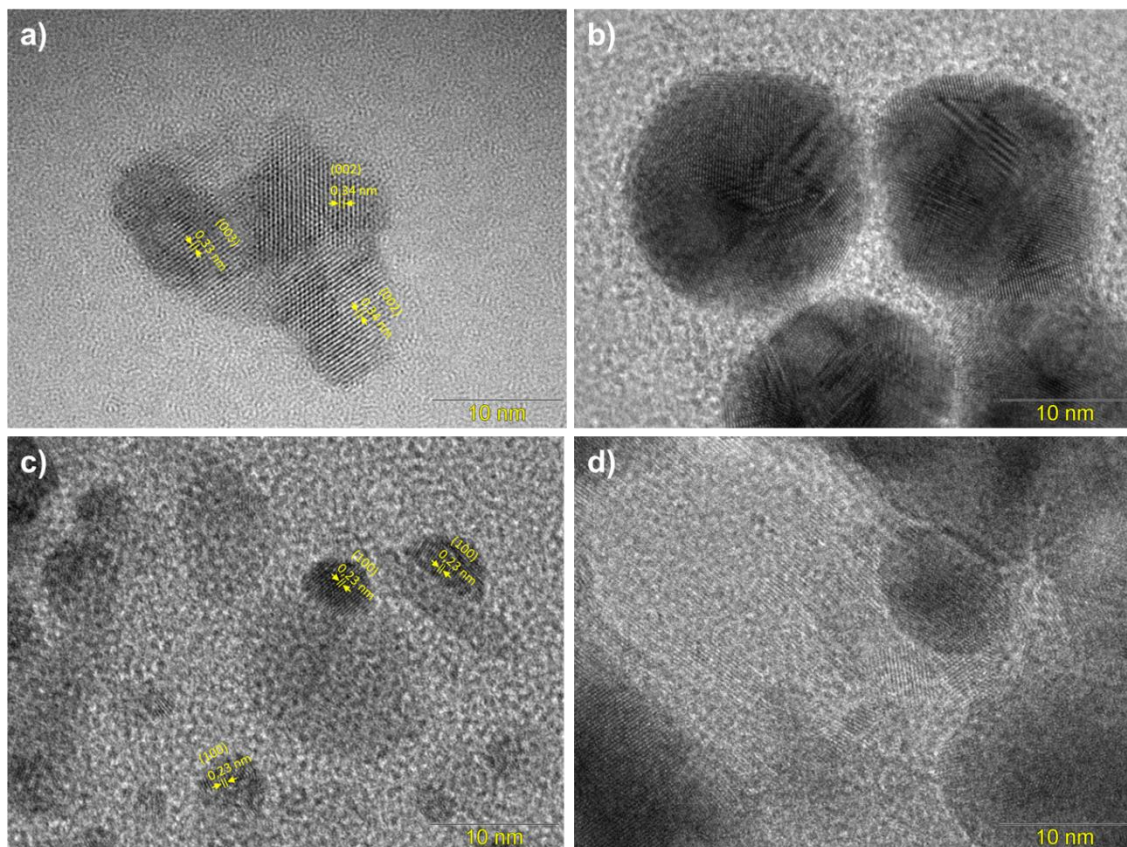
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Caracterização estrutural

Neste trabalho, foram obtidos filmes iridescentes - luminescentes de fibroína pura e contendo nanopartículas de carbono luminescentes (Cdots A). Para a caracterização destes materiais foram utilizados: o filme contendo 2 mL de Cdots A e para análise de luminescência e FT-IR foi utilizado o filme concentrado.

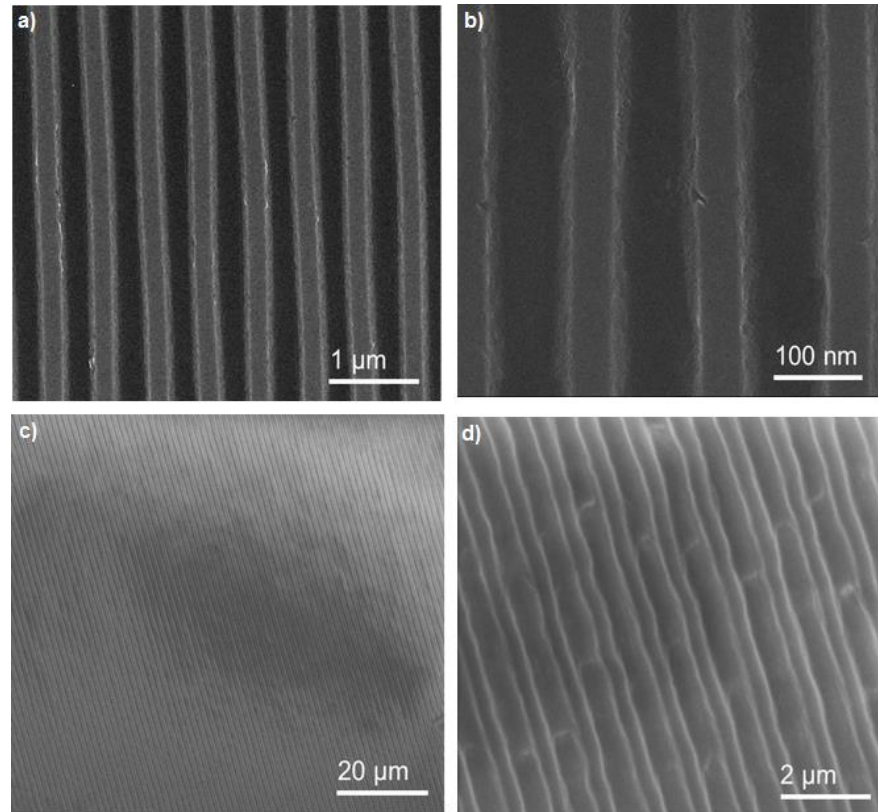
As imagens de microscopia eletrônica de transmissão do Cdots A e do Cdots B, estão apresentadas na figura 9. Foram observados diâmetros na faixa de 5 a 19 nm para o Cdots A e de 3 a 24 nm para o Cdots B. A partir das imagens de HRTEM mostradas na figura 9.a) e c) foi possível calcular as distâncias interplanares. As imagens de HRTEM revelaram que os carbon dots obtidos possuem uma estrutura cristalina com distância interplanares de 0,24, 0,25, 0,26, 0,29, 0,33, 0,34 nm para o Cdots A e 0,23 nm para o Cdots B.

As distâncias interplanares observadas nas imagens de HRTEM foram comparadas as distâncias interplanares do grafite.



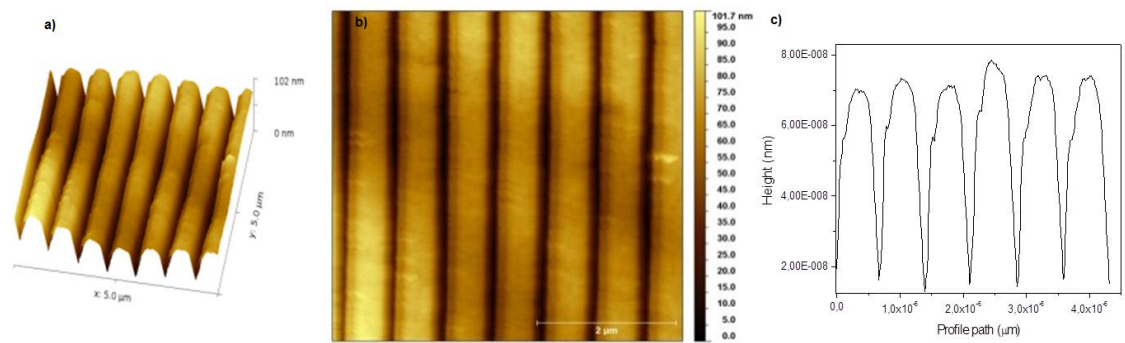
**Figura 9- Imagens de HRTEM para Cdots A (a) e (b); Cdots B (c) e (d).**

Para a avaliação da microestrutura dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A, foram realizadas microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM).

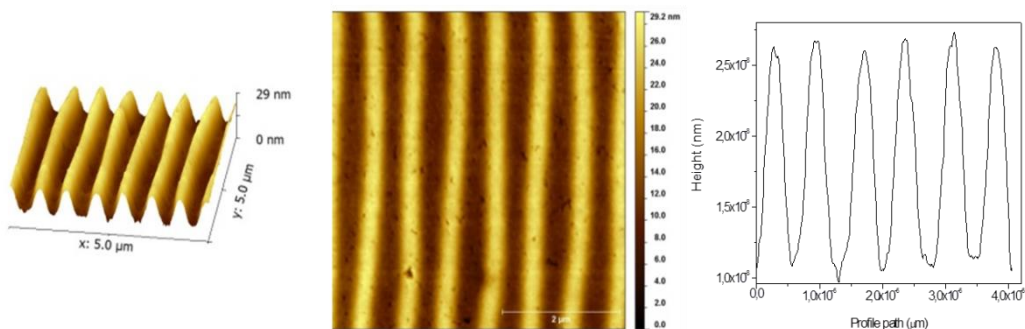


**Figura 10- Imagens de MEV dos filmes de fibroína pura em a) e b); filmes de fibroína contendo Cdots A em c) e d).**

As imagens de MEV dos filmes apresentados na figura 10 mostram a superfície das grades obtidos pela deposição da suspensão de fibroína pura e contendo Cdots A. As grades exibidas apresentaram uma boa morfologia na superfície, também são uniformes e contínuas, mas com alguma irregularidade na figura 10.d. Esta característica provavelmente se deve a qualidade do DVD utilizado. De acordo com os dados observados na figura 10.b), os períodos da grade do DVD comercial recoberto possuem  $0,498 \mu\text{m}$ , com um desvio padrão ( $\sigma$ ) de  $0,016$ . Nos filmes contendo fibroína:Cdots A, figura 10.c) e 10.d), os períodos da grade equivalem a  $0,459 \mu\text{m}$  e  $\sigma = 0,018$ .



**Figura 11-** Imagens de AFM do filme de fibroína pura – a) em 3 D do relevo; b) em 2D; c) variações da altura sob as redes holográficas gravadas.



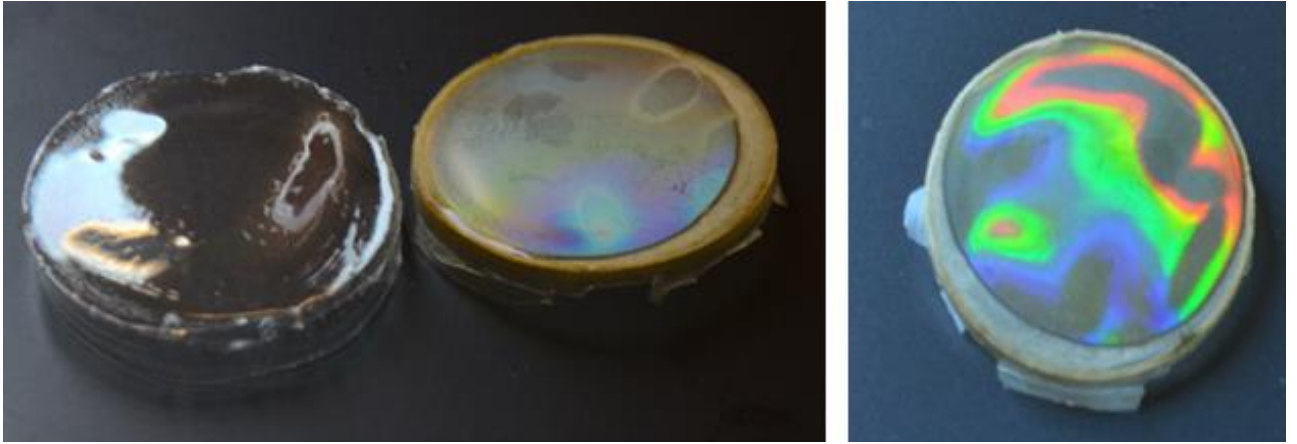
**Figura 12-** Imagens de AFM do filme de fibroína contendo Cdots A – a) em 3 D do relevo; b) em 2D; c) variações da altura sob as redes holográficas gravadas

A figura 11 mostra a imagem obtida no microscópio de força atômica (AFM) que exhibe a variação do período das redes de difração do filme de fibroína pura com 102 nm de espessura e na figura 12, do filme de fibroína contendo Cdots A com 29 nm de espessura. É possível observar que as grades gravadas na superfície de ambos os filmes apresentam um aspecto senoidal. Para uma melhor análise da sua estrutura, foi extraído as imagens de AFM em corte (b e c) das figuras 11.a) e 12.a), que especifica o perfil e a amplitude do relevo formado pelas grades do DVD, respectivamente. A dimensão da amplitude (profundidade de modulação) para o filme de fibroína pura foi  $\approx 59$  nm e o período das ranhuras gravadas foi  $\approx 729$  nm, para o filme de fibroína contendo Cdots A foi  $\approx 16$  nm e  $\approx 702$  nm, respectivamente.

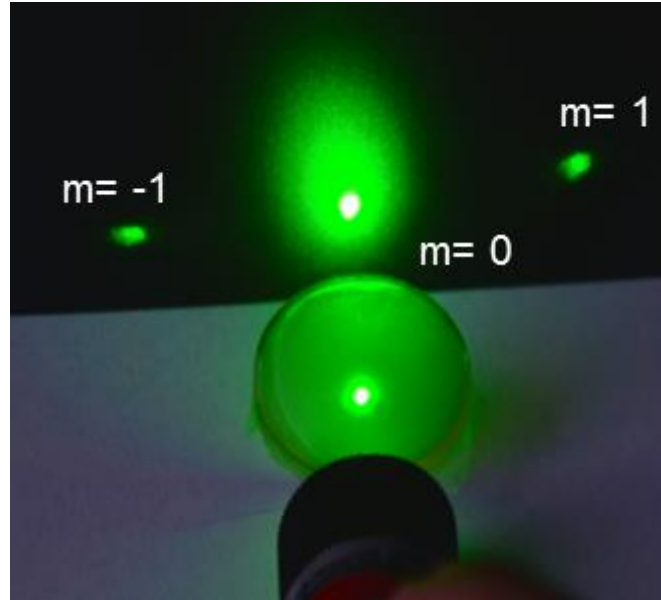
Neste trabalho, a fibroína, matriz usada para a produção do filme, possui a capacidade de copiar as características do DVD utilizado como molde, e incorporar outros componentes

químicos como, por exemplo, carbon dots, resultando, portanto, em um filme iridescente luminescente (Figura 13).

A Figura 14 mostra a difração de uma fonte laser pelo filme iridescente/ luminescente de fibroína contendo Cdots A.

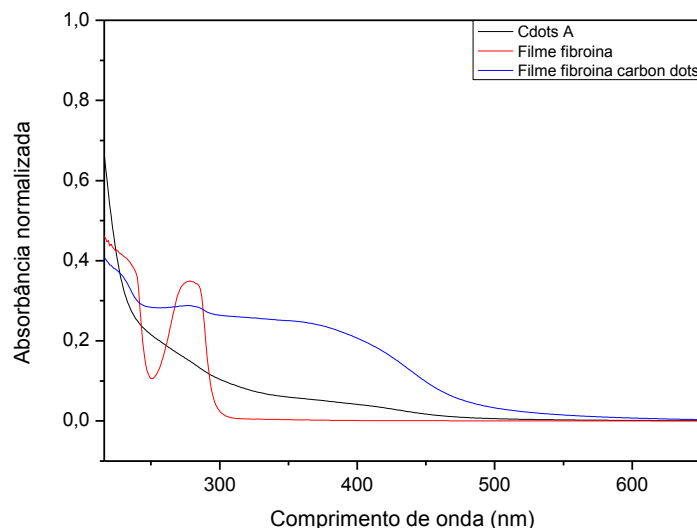


**Figura 13-** Imagens representativa do filme de fibroína pura (à esquerda em a) e do filme compósito Iridescente/Luminescente contendo Cdots A (à direita em a) e b).



**Figura 14-** Difração óptica das grades do filme de fibroína contendo Cdots A utilizando um laser verde.

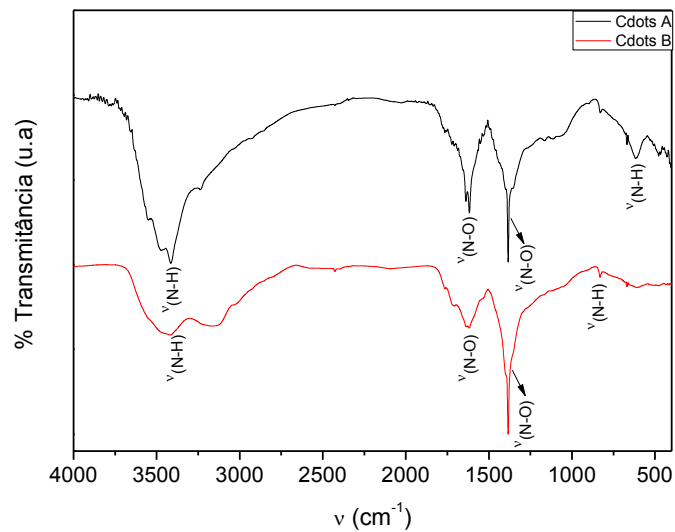
Foi realizada análise de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis dos carbon dots (Cdots A) e dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A.



**Figura 15-** Espectro de absorção na região do UV-Vis dos Cdots A, e dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A.

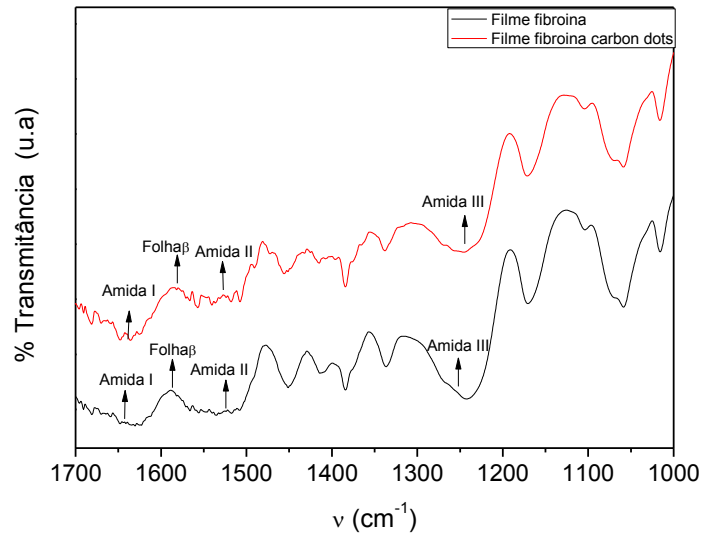
Pode-se observar na figura 15 que a absorção dos carbon dots aparece como uma banda larga que cobre desde o UV até cerca de 500nm. Pode-se identificar duas componentes em 265 nm e 400 nm, referentes as transições eletrônicas  $\pi-\pi^*$  e  $n-\pi^*$ , respectivamente.<sup>7</sup> Para o filme de fibroína pura observa-se uma banda em 278 nm, associada a uma transição eletrônica  $\pi-\pi^*$ . De acordo com Jia e colaboradores<sup>66</sup> esta banda é associada à transição eletrônica da tirosina (Tyr) presente na cadeia. Para o filme de fibroína contendo Cdots A observou-se uma banda de absorção na mesma região de 278 nm relacionada à transição eletrônica  $\pi-\pi^*$  da tirosina e em 400 nm referente a transição eletrônica  $n-\pi^*$  dos Cdots A, ou seja, os níveis de energia estão ressonantes.

Para a identificação dos grupos funcionais presentes nos Cdots A e B e nos filmes de fibroína pura e contendo os Cdots A foram realizadas medidas de absorção no IV.



**Figura 16-** Espectro de FTIR do Cdots A e B.

A figura 16 mostra os espectros de FTIR dos Cdots A e B. Foram atribuídos as principais bandas que se segue para Cdots A: 3555-3233  $\text{cm}^{-1}$  correspondente ao estiramento N-H; em 1612  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial assimétrica N-O; em 1383  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial simétrica N-O e 613  $\text{cm}^{-1}$ , deformação N-H. Para os Cdots B temos: em 3560-3034  $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes ao estiramento N-H; em 1627  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial assimétrica N-O; em 1375  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial assimétrica N-O e 827  $\text{cm}^{-1}$ , deformação N-H. Estes grupos funcionais estão normalmente presentes na superfície dos carbon dots sintetizados via tratamento ácido, ou seja, a síntese escolhida gera carbon dots com superfície funcionalizada.<sup>31</sup>



**Figura 17-** Espectro de FTIR-ATR dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A.

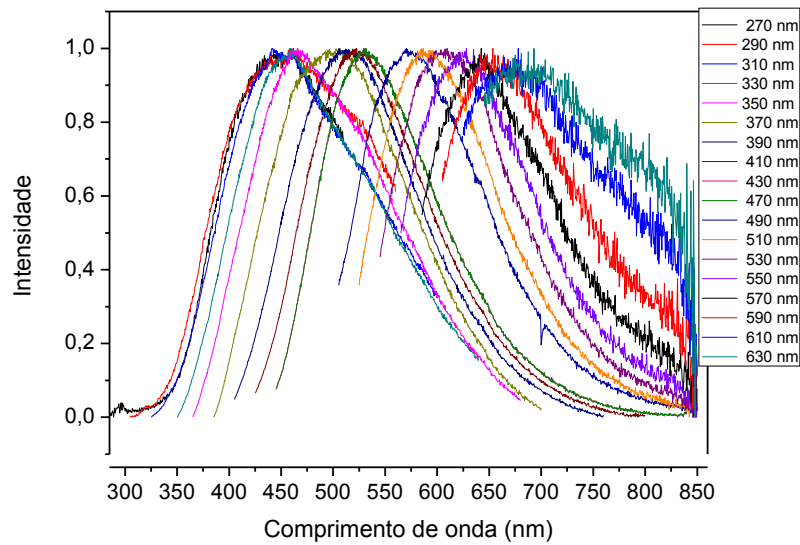
Os espectros de absorção dos filmes de fibroína pura e contendo Cdots A são mostrados na figura 17. As principais atribuições são: em  $1637\text{ cm}^{-1}$  referentes à amida I (estiramento C=O); em  $1524\text{ cm}^{-1}$  correspondente à amida II (deformação NH e estiramento C-N) e em  $1235\text{ cm}^{-1}$  para amida III (estiramento C-N e deformação NH). A banda centrada em  $1584\text{ cm}^{-1}$  refere-se à estrutura de folha  $\beta$ . Para o filme contendo Cdots A, as bandas de absorção referentes a fibroína, apresentam valores de número de onda semelhantes ao filme de fibroína pura. As principais atribuições são: em  $1641\text{ cm}^{-1}$  referentes à amida I (estiramento C=O); em  $1522\text{ cm}^{-1}$  correspondente à amida II (deformação NH e estiramento C-N) e em  $1249\text{ cm}^{-1}$  para amida III (estiramento C-N e deformação NH). A banda centrada em  $1588\text{ cm}^{-1}$  refere-se à estrutura de folha  $\beta$ . A partir dos resultados, observou-se que após a incorporação dos filmes com carbon dots, a estrutura manteve-se íntegra.

Não foi possível observar claramente as bandas dos C-dots no filme de fibroína dopado, pois os grupos funcionais dos C-dots, que já se encontram bem dispersos na superfície, sofrem uma “diluição” ainda maior quando estão inseridos no filme de fibroína.

## 5.2 Caracterização óptica

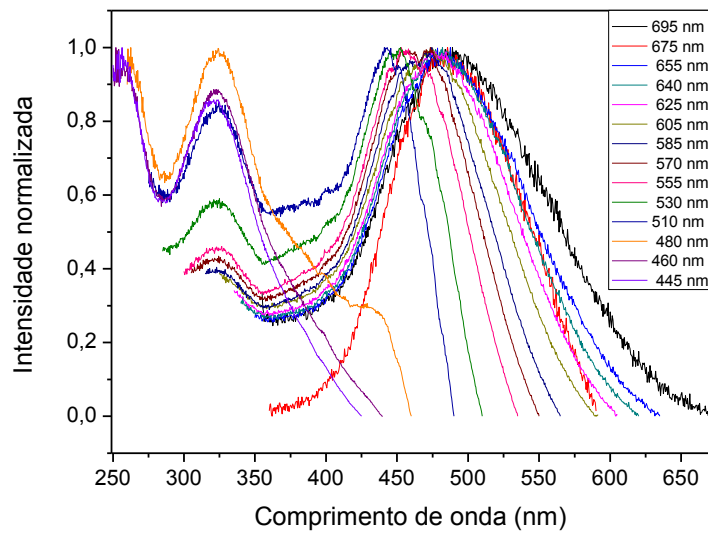
Os espectros de emissão e excitação normalizados do Cdots A estão representados nas figuras 18 e 19, respectivamente.

Pela análise dos espectros, observa-se que a forma de emissão dos carbon dots é dependente do comprimento de onda de excitação.



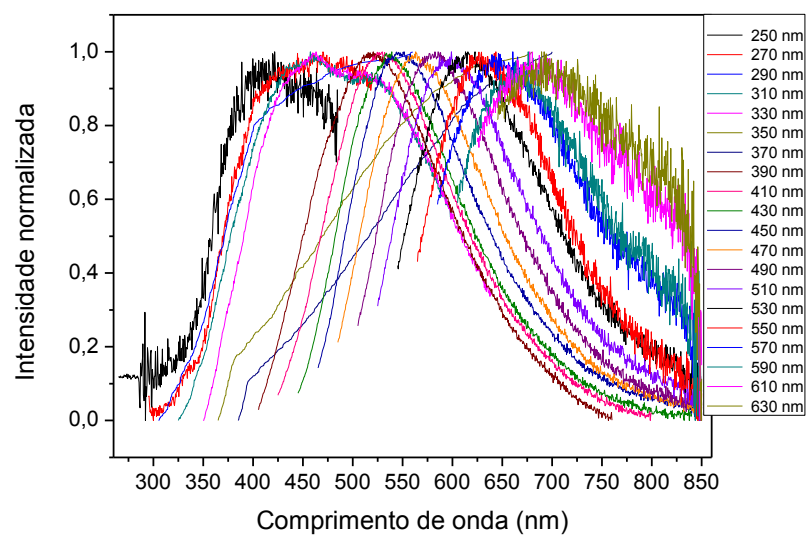
**Figura 18-** Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 270 a 630 nm para Cdots A.

A figura 18 apresenta os espectros de emissão normalizados obtidos sob diferentes comprimentos de onda de excitação (270-630 nm) dos Cdots A. Observou-se bandas de emissão com intensidades máximas em toda região do visível, com valores máximos de absorção variando de 430 nm até o vermelho, em 690 nm.



**Figura 19-** Espectros de excitação obtidos para emissão observada na faixa de 445 a 695 nm para Cdots A.

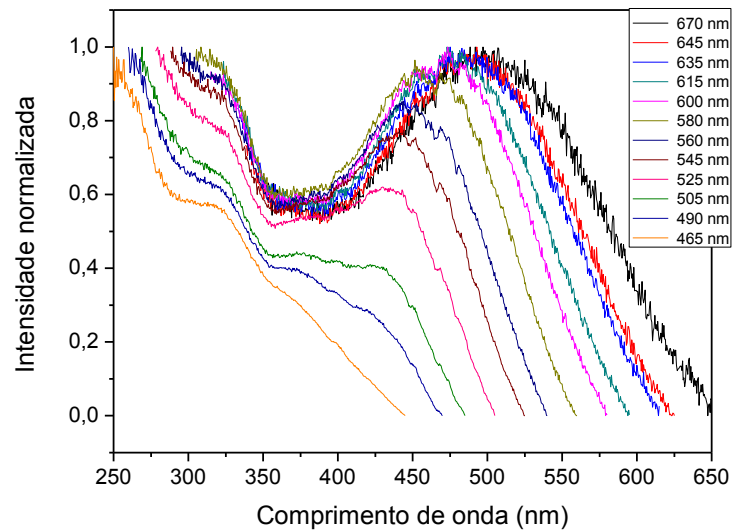
A figura 19 exibe os seus espectros de excitação obtidos para Cdots A, com emissão variando na faixa de 445-695 nm. Observam-se três componentes principais. Uma centrada em aproximadamente 260 nm e outra em 320 nm. Estas bandas aparecem no mesmo comprimento de onda quando se varia o comprimento de observação. A terceira componente se desloca de 440 nm a 500 nm em função do comprimento de onda de emissão.



**Figura 20-** Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 250 a 630 nm para Cdots

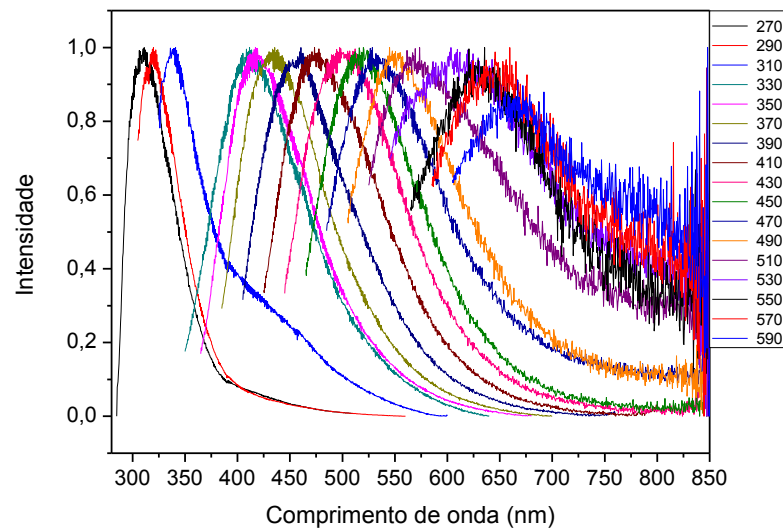
B.

A figura 20 apresenta os espectros de emissão normalizados obtidos sob diferentes comprimentos de onda de excitação (250-630 nm) dos Cdots B. Observou-se bandas de emissão com intensidades máximas em uma faixa de sequência que compreende de 379 nm, região do ultravioleta, até 686 nm, região do vermelho.



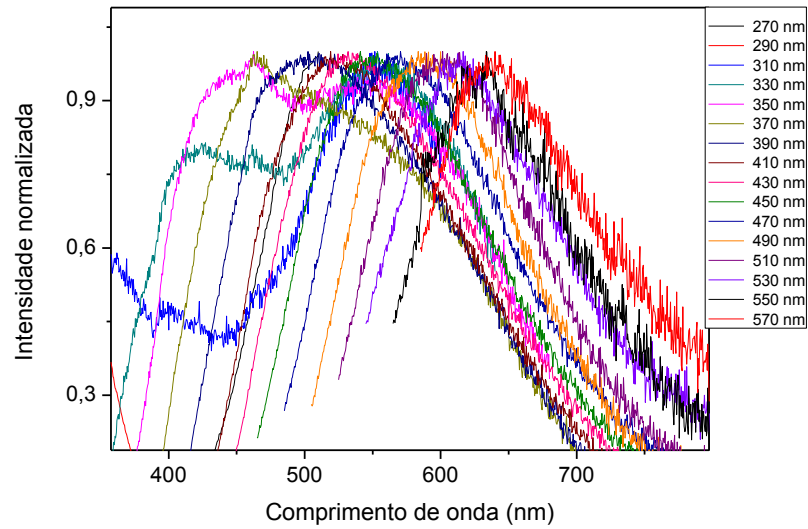
**Figura 21-** Espectros de excitação obtidos para emissão observada na faixa de 465 a 670 nm para Cdots B.

A figura 21 exibe os seus espectros de excitação normalizados dos Cdots B, com emissão variando na faixa de 465-670 nm. Da mesma forma que para os Cdots A observa-se duas componentes no UV cuja posição não varia com o comprimento de onda de emissão e uma terceira componente na região do visível e que apresenta comportamento distinto. Há um deslocamento para a região de maiores comprimentos de onda conforme se aumenta o comprimento de onda de emissão.



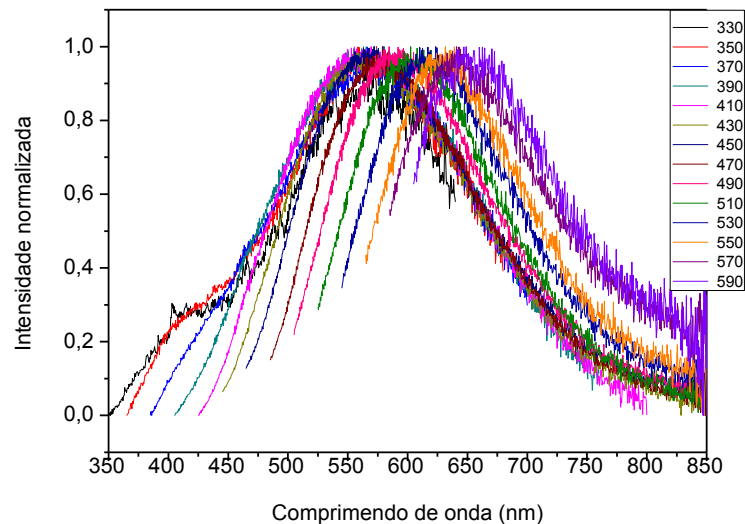
**Figura 22-** Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 270 a 590 nm para o filme de fibroína pura.

A figura 22 apresenta os espectros de emissão obtidos para o filme de fibroína pura, sob diferentes comprimentos de onda de excitação (270-590 nm). Observou-se bandas de emissão com intensidades máximas em regiões que variam desde o ultravioleta (309 nm) até o vermelho (647 nm). Não há descrição de tais bandas de emissão para a fibroína na literatura. A origem desta emissão ainda não é conhecida e deve ser foco de estudos mais detalhados em nosso laboratório.



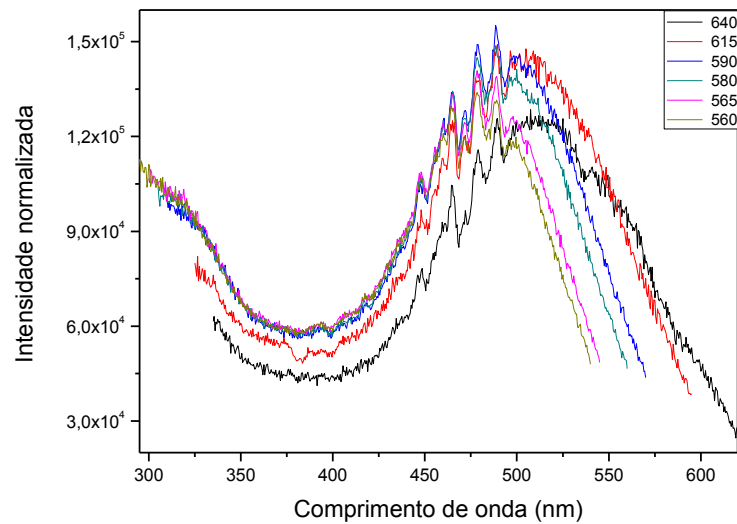
**Figura 23-** Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 270 a 570 nm para o filme de fibroína contendo 2 mL Cdots A.

A figura 23 apresenta os espectros de emissão normalizados obtidos sob diferentes comprimentos de onda de excitação (270-570 nm) do filme de fibroína contendo 2 mL de Cdots A. Observou-se bandas de emissão com intensidades máximas em regiões que vão desde o ultravioleta (306 nm) até o vermelho (638 nm).



**Figura 24-** Espectros de emissão obtidos para excitação variando de 330 a 590 nm para o filme de fibroína contendo Cdots A concentrado.

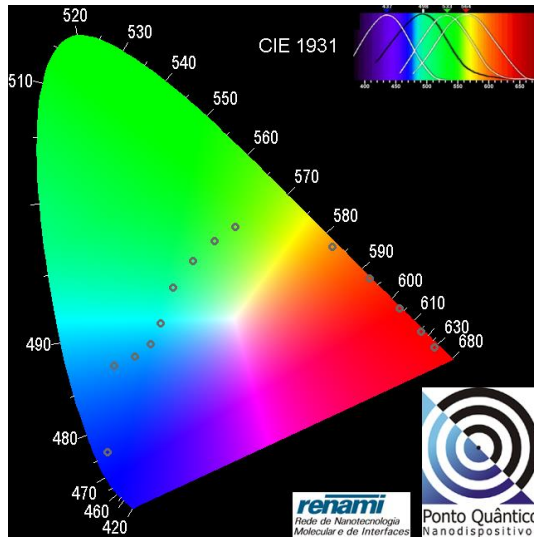
A figura 24 apresenta os espectros de emissão normalizados obtidos sob diferentes comprimentos de onda de excitação (330 à 590 nm) para o filme de fibroína contendo Cdots A concentrado. Observou-se bandas de emissão com intensidades máximas em toda região do visível, com picos variando de 561 nm até o vermelho, em 658 nm.



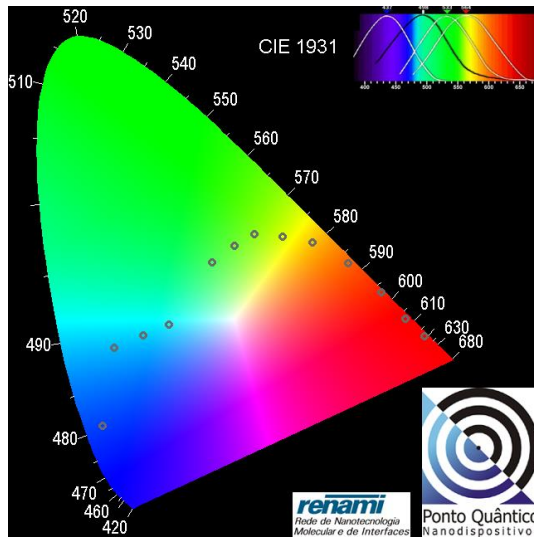
**Figura 25-** Espectros excitação obtidos para emissão observada na faixa de 640 a 560 nm para o filme de fibroína contendo Cdots A concentrado.

A figura 25 exibe os seus espectros de fluorescência de excitação normalizados para o filme de fibroína contendo Cdots A concentrado, com emissão variando na faixa de 560-640 nm. Observa-se que os espectros de excitação são diferentes variando-se os comprimentos de onda.

A importância das características de emissão dos carbon dots foi evidenciada pelo diagrama de cromaticidade. A figura 26 e 27 mostram o diagrama para Cdots A e Cdots B, respectivamente, calculados com base no espectro de emissão. São observadas mudanças visuais nas coordenadas durante a exposição à luz UV, indicando que ambos os carbon dots são policromáticos.



**Figura 26-** Diagrama de cromaticidade do Cdots A.



**Figura 27-** Diagrama de cromaticidade do Cdots B.

## 6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foi desenvolvido um material sustentável e biodegradável utilizando a fibroína, um biopolímero natural como precursor. Uma das vantagens desta matriz é que ela permite a incorporação de outros compostos funcionais, que no nosso caso foram os carbon dots. O método utilizado é versátil, simples e de baixo custo. Também demonstra que é possível a produção de redes de difração usando como um molde um DVD comercial. As grades formadas produzem uma estrutura iridescente, ou seja, a variação das cores compostas no filme são dependentes do ângulo de observação. Medidas de AFM e MEV, comprovam a existência dos micropadrões periódicos das grades distribuídas em sua superfície.

Em pesquisas futuras poderia ser investigada a sua aplicabilidade óptica, especialmente pelos seus parâmetros de luminescência se estenderem em toda a região do visível, combinadas com as propriedades favoráveis da fibroína como alta transparência, alta estabilidade mecânica, processamento em meio aquoso, facilidade de funcionalização e biocompatibilidade, torna o material de interesse como um potencial componente biofotônico em nanoescala e promissor para biosensores, drug delivery, engenharia de tecidos, entre outros.

## REFERÊNCIAS

- 1 SCHWARTZ, K. **The physics of optical recording**. Berlin: Springer, 1993.
- 2 WAGENDRISTEL, A.; WANG, Y. **An introduction to physics and technology of thin films**. Singapore: World Scientific, 1994.
- 3 ALVES, O. L.; RONCONI, C. M. Decomposição de precursores metalorgânicos: uma técnica química de obtenção de filmes finos. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 69-77, 2002.
- 4 LAWRENCE, B. D.; GOLOMB-CRONIN, M.; GEORGAKOUDI, I.; KAPLAN, D. L.; OMENETTO, F. G. Bioactive silk protein biomaterial systems for optical devices. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 4, p. 1214-1220, 2008.
- 5 MORRIS, K.; SERPELL, L. From natural to designer self-assembling biopolymers, the structural characterisation of fibrous proteins & peptides using fibre diffraction. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 3445-3453, 2010.
- 6 APPLGATE, M. B.; BRECKLE, M. A.; MARELLI, B.; TAO, H.; KAPLAN, D. L.; OMENETTO, F. G. Silk: a different kind of “fiber optics”. **Optics & Photonics News**, v. 25, p. 28-35, 2014.
- 7 RAMA-RUEDAS, M. J.; WALTERS, J. D.; ORTE, A.; HALL, E. A. H. Fluorescent nanoparticles for intracellular sensing: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 751, p. 1-23, 2012.
- 8 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. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 40, p. 12736-12737, 2004.
- 9 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 n. 2, p. 355-381, 2015.
- 10 LU, Y.; WANG, J.; YUAN, H.; XIAO, D. Separation of carbon quantum dots on a C18 column by binary gradient elution via HPLC. **Analytical Methods**, v. 6, p. 8124-8128, 2014.
- 11 DU, F.; ZHANG, M.; LI, X.; LI, J.; JIANG, X.; LI, Z.; HUA, Y.; SHAO, G.; JIN, J.; SHAO, Q.; JIN, J.; SHAO, Q.; ZHOU, M.; GONG, A. Economical and green synthesis of bagasse-derived fluorescent carbon dots for biomedical application. **Nanotechnology**, v. 25, n. 31, 2014. doi:10.1088/0957-4484/25/31/315702.
- 12 WANG, J.; WANG, C. F.; CHEN, S. Amphiphilic egg-derived carbon dots: rapid plasma fabrication, pyrolysis process, and multicolor printing patterns. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 37, p. 9297-9301, 2012.
- 13 HU, S. L.; NIU, K. Y.; SUN, J.; YANG, J.; ZHAO, N. Q.; DU, X. W. One-step synthesis of fluorescent carbon nanoparticles by laser irradiation. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 4, p. 484-4888, 2009.
- 14 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. **Chemical Communications**, v. 41, p. 5116-5118, 2008.

- 15 RAHY, A.; ZHOU, C.; ZHENG, J.; PARK, S. Y.; KIM, M. J.; JANG, I.; CHO, S. J.; YANG, D. J. Photoluminescent carbon nanoparticles produced by confined combustion of aromatic compounds. **Carbon**, v. 50, n. 3, p. 1298-1302, 2012.
- 16 TIAN, L.; GHOSH, D.; CHEN, W.; PRADHAN, S.; CHANG, X.; CHEN, S. Nanosized carbon particles from natural gas soot. **Chemistry of Materials**, v. 21, n. 13, p. 2803-2809, 2009.
- 17 LIU, H.; YE, T.; MAO, C. Fluorescent carbon nanoparticles derived from candle soot. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 34, p. 6473-6475, 2007.
- 18 KRYSMANN, M. J.; KELARAKIS, A.; GIANNELIS, E. P. Photoluminescent carbogenic nanoparticles directly derived from crude biomass. **Green Chemistry**, v. 14, n. 11, p. 3141-3145, 2012.
- 19 ZHANG, B.; LIU, C. Y.; LIU, Y. A novel one-step approach to synthesize fluorescent carbon nanoparticles. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 28, p. 4411-4414, 2010.
- 20 SAHU, S.; BEHERA, B.; MAITI, T. K.; MOHAPATRA, S. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. **Chemical Communications**, v. 48, n. 70, p. 8835-8837, 2012.
- 21 MA, Z.; MING, H.; HUANG, H.; LIU, Y.; KANG, Z. One-step ultrasonic synthesis of fluorescent N-doped carbon dots from glucose and their visible-light sensitive photocatalytic ability. **New Journal of Chemistry**, v. 36, n. 4, p. 861-864, 2012.
- 22 JIANG, J.; HE, Y.; LI, S.; CUI, H. Amino acids as the source for producing carbon nanodots: microwave assisted one-step synthesis, intrinsic photoluminescence property and intense chemiluminescence enhancement. **Chemical Communications**, v. 48, n. 77, p. 9634-9636, 2012.
- 23 LI, H.; HE, X.; LIU, Y.; HUANG, H.; LIAN, S.; LEE, S. T.; KANG, Z. One-step ultrasonic synthesis of water-soluble carbon nanoparticles with excellent photoluminescent properties. **Carbon**, v. 49, n. 2, p. 605-609, 2011.
- 24 BOURLINOS, A. B.; KARAKASSIDES, M. A.; KOULOUMPIS, A.; GOURNIS, D.; BAKANDRITSOS, A.; PAPAGIANNOULI, I.; ALOUKOS, P.; COURIS, S.; HOLA, K.; ZBORIL, R.; KRYSMANN, M.; GIANNELIS, E. Synthesis, characterization and non-linear optical response of organophilic carbon dots. **Carbon**, v. 61, p. 640-649, 2013.
- 25 MIAO, P.; HAN, K.; TANG, Y.; WANG, B.; LIN, T.; CHENG, W. Recent advances in carbon nanodots: synthesis, properties and biomedical applications. **Nanoscale**, v. 5, n. 7, p. 1586-1595, 2015.
- 26 DONG, Y.; LIN, J.; CHEN, Y.; FU, F.; CHI, Y.; CHEN, G. Graphene quantum dots, graphene oxide, carbon quantum dots and graphite nanocrystals in coals. **Nanoscale**, v. 6, p. 7410-7415, 2014.
- 27 YANG, Y.; WU, D.; HAN, S. Bottom-up fabrication of photoluminescent carbon dots with uniform morphology via a soft-hard template approach. **Chemical Communications**, v. 43, p. 4920-4922, 2013.

- 28 BAKER, S. N.; BAKER, G. A. Luminescent carbon nanodots: emergent nanolights. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, n. 38, p. 6726-6744, 2010.
- 29 FAN, R. J.; SUN, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, Y.; LU, A. H. Photoluminescent carbon dots directly derived from polyethylene glycol and their application for cellular imaging. **Carbon**, v. 71, p. 87-93, 2014.
- 30 WANG, Y.; HU, A. Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 34, n. 2, p. 6921-6939, 2014.
- 31 DIMOS, K. Carbon quantum dots: surface passivation and functionalization. **Current Organic Chemistry**, v. 20, n. 28, p. 682-695, 2016.
- 32 YANG, S.; SUN, J.; LI, X.; ZHOU, W.; WANG, Z.; HE, P.; DING, G.; XIE, X.; KANG, Z.; JIANG, M. Large-scale fabrication of heavy doped carbon quantum dots with tunable-photoluminescence and sensitive fluorescence detection. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 23, n. 2, p. 8660-8667, 2014.
- 33 ZHU, S.; MENG, Q.; WANG, L.; ZHANG, J.; SONG, Y.; JING, H.; ZHANG, K.; SUN, H.; WANG, H.; YANG, B. Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, n. 14, p. 3953-3957, 2013.
- 34 ZUO, P.; LU, X.; SUN, Z.; GUO, Y.; HE, H. A review on syntheses, properties, characterization and bioanalytical applications of fluorescent carbon dots. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 2, p. 519-542, 2016.
- 35 YE, R.; XIANG, C.; LIN, J.; PENG, Z.; HUANG, K.; YAN, Z.; COOK, N. P.; SAMUEL, E. L. G.; HWANG, C. C.; RUAN, G.; CERIOTTI, G.; RAJI, A. R. O.; MARTÍ, A. A.; TOUR, J. M. Coal as an abundant source of graphene quantum dots. **Nature Communications**, 2013. doi:10.1038/ncomms3943.
- 36 CUI, Y.; ZHANG, C.; SUN, L.; HU, Z.; LIU, X. Simple and efficient synthesis of strongly green fluorescent carbon dots with upconversion property for direct cell imaging. **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 32, n. 5, p. 542-546, 2015.
- 37 LI, H.; HE, X.; KANG, Z.; HUANG, H.; LIU, Y.; LIU, J.; LIAN, S.; TSANG, C. H. A.; YANG, X.; LEE, S. T. Water-soluble fluorescent carbon quantum dots and photocatalyst design. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, n. 26, p. 4430-4434, 2010.
- 38 DING, H.; YU, S. B.; WEI, J. S.; XIONG, H. M. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism. **ACS Nano**, v. 10, n. 1, p. 484-491, 2016.
- 39 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. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 42, p. 18110-18114, 2009.
- 40 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. **Chemical Communications**, v. 25, p. 3774-3776, 2009.

- 41 ZHANG, X.; WANG, F.; HUANG, H.; LI, H.; HAN, X.; LIU, Y.; KANG, Z. Carbon quantum dot sensitized TiO<sub>2</sub> nanotube arrays for photoelectrochemical hydrogen generation under visible light. **Nanoscale**, v. 5, p. 2274-2278, 2013.
- 42 KIM, U. J.; PARK, J.; LI, C.; JIN, H. J.; VALLUZZI, R.; KAPLAN, D. L. Structure and properties of silk hydrogels. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 3, p. 786-792, 2004.
- 43 HOW is silk made? **Today I Found Out**, Oct. 2014. Disponível em: <<http://www.todayifoundout.com/index.php/2014/10/real-silk-made/>>. Acesso em: 13 out. 2016.
- 44 PEREIRA, R. F. P.; SILVA, M. M.; BERMUDEZ, V. Z. *Bombyx mori* silk fibers: an outstanding family of materials. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 300, n. 12, p. 1171-1198, 2015.
- 45 KUNDU, B.; RAJKHOWA, R.; KUNDU, S. C.; WANG, X. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 4, p. 457-470, 2013.
- 46 DUBEY, P.; MURAB, S.; KARMAKAR, S.; CHOWDHURY, P. K.; GHOSH, S. Modulation of self-assembly process of fibroin: an insight for regulating the conformation of silk biomaterials. **Biomacromolecules**, v. 16, v.12, p. 3936-3944, 2015.
- 47 VEPARI, C.; KAPLAN, D. L. Silk as a biomaterial. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 8/9, p. 991-1007, 2007.
- 48 MORI, H.; TSUKADA, M. New silk protein: modification of silk protein by gene engineering for production of biomaterials. **Reviews in Molecular Biotechnology**, v. 74, n. 2, p. 95-103, 2000.
- 49 KOH, L. D.; CHENG, Y.; TENG, C. P.; KHIN, Y. W.; LOH, X. J.; TEE, S. Y.; LOW, M.; YE, E.; YU, H. D.; ZHANG, Y. W.; HAN, M. Y. Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. **Progress in Polymer Science**, v. 46, p. 86-110, 2015.
- 50 LANCASHIRE, R. J. **Unit chemistry of garments: animals fibres**. Mona: The University of the West Indies, The Department of Chemistry, 2011. Disponível em: <[http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal\\_Fibres.html](http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal_Fibres.html)>. Acesso em: 13 out. 2016.
- 51 WILSON, D.; VALLUZZI, R.; KAPLAN, D. Conformational transitions in model silk peptides. **Biophysical Journal**, v. 78, n. 5, p. 2690-2701, 2000.
- 52 ALTMAN, G. H.; DIAZ, F.; JAKUBA, C.; CALABRO, T.; HORAN, R. L.; CHEN, J.; LU, H.; RICHMOND, J.; KAPLAN, D. L. Silk-based biomaterials. **Biomaterials**, v. 24, n. 3, p. 401-416, 2003.
- 53 WANG, X.; KIM, H. J.; XU, P.; MATSUMOTO, A.; KAPLAN, D. L. Biomaterial coatings by stepwise deposition of silk fibroin. **Langmuir**, v. 21, n. 24, p. 11335-11341, 2005.
- 54 NOGUEIRA, G. M. **Hidrogéis e filmes de fibroína de seda para fabricação ou recobrimento de biomateriais**. 2009. 126 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

- 55 POLAK, R.; WESKA, R. F.; RODAS, A. C. D.; BEPPU, M. M.; HIGA, O. Z.; PITOMBO, R. N. M. Freeze-dried and irradiated bovine pericardium modified with silk fibroin acid chitosan: calcification results. **International Journal of Artificial Organs**, v. 33, n. 7, p. 481, 2010.
- 56 PAL, R. K; KURLAND, N. E.; WANG, C.; KUNDU, S. C.; YADAVALLI, V. K. Biopatterning of silk proteins for soft micro-optics. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 16, p. 8809-8816, 2015.
- 57 AMSDEN, J. J.; DOMACHUK, P.; GOPINATH, A.; WHITE, R. D.; NEGRO, L. D.; KAPLAN, D. L.; OMENETTO, F. G. Rapid nanoimprinting of silk fibroin films for biophotonic applications. **Advanced Materials**, v. 22, p. 1-4, 2010.
- 58 QIN, D.; XIA, Y.; WHITESIDES, G. M. Soft lithography for micro- and nanoscale patterning. **Nature Protocols**, v. 5, n. 3, p. 491-502, 2010.
- 59 KIM, S.; MITROPOULOS, A. N.; SPITZBERG, J D.; TAO, H.; KAPLAN, D. L.; OMENETTO, F. G. Silk inverse opals. **Nature Photonics**, v. 6, p. 818-823, 2012.
- 60 MONDIA, J. P.; AMSDEN, J. J.; LIN, D.; NEGRO, L. D.; KAPLAN, D. L.; OMENETTO, F. G. Rapid nanoimprinting of doped silk films for enhanced fluorescent emission. **Advanced Materials**, v. 22, p. 4596-4599, 2010.
- 61 SILVA, R. R.; DOMINGUEZ, C. T.; SANTOS, M. V.; SILVA-BARBOSA, R.; CAVICCHIOLI, M.; CHRISTOVAN, L. M.; MELO, L. S. A.; GOMES, A. S. L.; ARAUJO, C. B.; RIBEIRO, S. J. L. Silk fibroin biopolymer films as efficient hosts for DFB laser operation. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 1, n. 43, p. 7181-7190, 2013.
- 62 TAO, H; KAPLAN, D. L; OMENETTO, F. G. Silk materials – a road to sustainable high technology. **Advanced Materials**, v. 24, n. 21, p. 2824-2837, 2012.
- 63 ROCKWOOD, D. N.; PREDA, R. C.; YÜCEL, T.; WANG, X.; LOVETT, M. L.; KAPLAN, D. L. Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin. **Nature Protocols**, v. 6, p. 1612-1631, 2011.
- 64 SUN, Y.; FRACCHIA, F. D.; DREW, M. S.; CALVERT, T. W. Rendering iridescent colors of optical disks. In: PÉROCHE, B.; RUSHMEIER, H. (Ed.). *Rendering techniques 2000: proceedings of the eurographics workshop in Brno, Czech Republic, June 26-28 2000*. New York: Springer-Verlag, 2000. p. 341-352.
- 65 BAUER, W.; WESTFALL, G. D.; DIAS, H. **Física para universitários: óptica e física moderna**. Porto Alegre: AMGH, 2013.
- 66 JIA, L.; GUO, L.; ZHU, J.; MA, Y. Stability and cytocompatibility of silk fibroin-capped gold nanoparticles. **Materials Science and Engineering C**, v. 43, p. 231-236, 2014.