



UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

Pró-Reitoria de Pesquisa, Inovação e Desenvolvimento Tecnológico

Coordenadoria de pesquisa e Pós-graduação *stricto sensu*

Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais

LUCAS DALL AGNOL

**POLIURETANOS FOTOATIVOS COMO ESTRATÉGIA DE
PREVENÇÃO À RESISTÊNCIA BACTERIANA**

CAXIAS DO SUL

2022

LUCAS DALL AGNOL

**POLIURETANOS FOTOATIVOS COMO ESTRATÉGIA DE
PREVENÇÃO À RESISTÊNCIA BACTERIANA**

Tese realizada sob a orientação do Prof. Dr. Otávio Bianchi e coorientação da Prof. Dr^a. Fernanda T. G. Dias, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais.

CAXIAS DO SUL

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

D144p Dall Agnol, Lucas

Poliuretanos fotoativos como estratégia de prevenção à resistência bacteriana [recurso eletrônico] / Lucas Dall Agnol. – 2022.

Dados eletrônicos.

Tese (Doutorado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2022.

Orientação: Otávio Bianchi.

Coorientação: Fernanda Trindade Gonzalez Dias.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Ciência dos materiais. 2. Poliuretano. 3. Carbono. 4. Nanocompósitos (Materiais). I. Bianchi, Otávio, orient. II. Dias, Fernanda Trindade Gonzalez, coorient. III. Título.

CDU 2. ed.: 620.1

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

LUCAS DALL AGNOL

**POLIURETANOS FOTOATIVOS COMO ESTRATÉGIA DE PREVENÇÃO À
RESISTÊNCIA BACTERIANA**

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Aprovado em 23/06/2022

Banca examinadora:

Profa. Dra. Janaina S. Crespo
Universidade de Caxias do Sul (UCS)

Prof. Dr. Marcelo Giovanela
Universidade de Caxias do Sul (UCS)

Prof. Dr. Cesar L. Petzhold
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. Rudinei Fiorio
Maastricht University

Dedico esta obra a minha família e aos meus amigos, que de muitas formas me incentivaram e ajudaram para que fosse possível a concretização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Otávio Bianchi por todos os anos de orientação que contribuíram na minha formação profissional, as oportunidades concedidas, as lições aprendidas, a confiança depositada e a nossa amizade.

A minha coorientadora Dr^a. Fernanda Trindade Dias pela orientação, pela ajuda para passar as adversidades e a leveza transmitida nestes momentos, pelos conselhos pessoais e profissionais e acima de tudo pela nossa amizade.

A todos os professores das disciplinas que cursei durante o doutorado, aos meus colegas e amigos, aos técnicos dos laboratórios e a todas as pessoas do meu convívio que acreditaram e contribuíram, mesmo que indiretamente, para a conclusão deste curso.

A Universidade de Caxias do Sul (UCS), a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e as empresas Mantova Tubos Flexíveis Ltda e Mantoflex Indústria de Plásticos Ltda por disponibilizarem recursos, instalações e equipamentos para a realização deste trabalho.

Por fim, às agências de Fomento que permitem o suporte financeiro da pesquisa nacional, em especial a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – projeto: 19/2551-0001843-6) pela concessão da bolsa de doutorado e pelo suporte financeiro.

RESUMO

Pontos quânticos de carbono (CQDs) são nanopartículas de carbono amorfo que apresentam algumas funcionalidades, tais como emissão de fluorescência e produção de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Porém, devido à elevada solubilidade em água, torna-se difícil revestir superfícies com esse material. Os poliuretanos à base de água (WPU, do inglês *waterborne polyurethane*) são atraentes como suportes poliméricos. A solubilidade do WPU em meio aquoso acelera a distribuição homogênea dos CQDs sobre a matriz polimérica, preservando assim sua fotoluminescência. Nesse contexto, esse estudo teve por objetivo o desenvolvimento de revestimentos fotoativos baseados em CQDs e WPU para aplicação na prevenção da formação de biofilmes bacterianos. A estratégia abordada baseia-se no fato das partículas de CQDs gerarem $^1\text{O}_2$, capazes de conferir atividade antimicrobiana a materiais poliméricos com funções de revestimento. Os CQDs sintetizados via pirólise assistida por micro-ondas, utilizando ácido cítrico e etilenodiamina como fontes de carbono e nitrogênio, apresentaram uma morfologia esférica com tamanho médio de $10,6 \pm 3,1$ nm, grupos funcionais contendo oxigênio e nitrogênio em sua superfície e exibiram fotoluminescência em 460 nm com rendimento quântico de 63,2% sob excitação em 360 nm. Posteriormente, esses CQDs foram incorporados à síntese do WPU durante o processo de inversão de fase. Diferentes técnicas espectroscópicas e analíticas como espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise dinâmico-mecânica (DMA), reológica, térmica e mecânica, confirmaram as mudanças estruturais ocorridas na interação dos CQDs com o WPU. Os nanocompósitos WPU/CQDs apresentaram maior estabilidade físico-mecânica e estabilidade térmica quando comparada ao WPU puro, decorrente da interação das nanopartículas com a matriz de WPU. Os nanocompósitos exibiram transparência e elevada fotoluminescência que confirmou a eficiência da matriz polimérica na proteção das nanopartículas contra a extinção da fotoluminescência no estado sólido. Ademais, os nanocompósitos foram considerados geradores de $^1\text{O}_2$ após irradiação por luz azul e não apresentaram citotoxicidade para células de fibroblastos murinos BALB/3T3 após 24 h de incubação. A avaliação da inativação fotodinâmica antibacteriana demonstrou eficácia contra *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativo) após 24 h de iluminação, validando o potencial dos nanomateriais como revestimentos de superfície com propriedades fotodinâmicas antibacterianas.

PALAVRAS-CHAVE: poliuretano à base de água; pontos quânticos de carbono; revestimento fotoativo; atividade antibacteriana, oxigênio singlete.

ABSTRACT

Quantum carbon dots (CQDs) are amorphous carbon nanoparticles that have specific functionalities, among them, the fluorescence emission at particular wavelengths and the production of singlet oxygen ($^1\text{O}_2$). However, due to the high solubility in water, it is difficult to coat surfaces with this material. In this context, waterborne polyurethanes (WPU) are attractive as a polymeric support. WPU solubility in aqueous media accelerates the homogeneous distribution of CQDs over the polymer matrix, thus preserving their photoluminescence (FL). In this context, this study consists of the development of photoactive coatings based on CQDs and WPU, capable of being used to prevent the formation of bacterial biofilms. The strategy discussed is because CQDs particles generate $^1\text{O}_2$, capable of providing antimicrobial activity to polymeric materials with coating functions. The CQDs synthesized by microwave-assisted pyrolysis, using citric acid and ethylenediamine as carbon and nitrogen sources, showed a spherical morphology with an average size of 10.6 ± 3.1 nm, functional groups containing oxygen and nitrogen on their surface and exhibited photoluminescence at 460 nm with a quantum yield of 63.2% under excitation at 360 nm. Subsequently, these CQDs were incorporated into the WPU synthesis during the phase inversion process. Different spectroscopic and analytical tools such as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), dynamic-mechanical (DMA), rheological, thermal and mechanical analysis confirmed the structural changes that occurred in the interaction of CQDs with the WPU. The nanocomposites showed greater physical-mechanical stability and thermal stability when compared to pure WPU, due to the interaction of the nanoparticles with the WPU matrix. In addition, the nanocomposites exhibited transparency and high photoluminescence, which confirmed the efficiency of the polymer matrix in protecting the nanoparticles against the extinction of solid-state photoluminescence. Furthermore, the nanocomposites were found to be generators of $^1\text{O}_2$ after blue light irradiation and did not show cytotoxicity to BALB/3T3 murine fibroblast cells after 24 h of incubation. The evaluation of antibacterial photodynamic inactivation demonstrated antibacterial efficacy against *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negative) after illumination, thus validating the great potential of nanomaterials as transparent surface coatings with properties antibacterial photodynamic.

KEYWORDS: waterborne polyurethane; carbon quantum dots; photoactive coating; antibacterial activity, singlet oxygen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama de Jablonski mostrando a formação de um estado singlete energeticamente excitado (S_1) decaindo ao estado fundamental ou sendo convertido à um estado tripleto T_1 , com a emissão de um fóton.....	23
Figura 2 – Diferenças entre a parede celular de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas	25
Figura 3 – (a) Crescimento de <i>Escherichia coli</i> após tratamento com e sem solução de CQDs para diferentes tempos de exposição à luz; (b, c) imagens de microscopia eletrônica de varredura das bactérias antes e após tratamento fotoativo de 10 h	27
Figura 4 – (a) Composição química, (b) características estruturais e (c) ilustração dos CQDs com núcleo de carbono [a partir de uma imagem experimental obtida por TEM]	28
Figura 5 – Diagrama esquemático dos métodos de síntese <i>top-down</i> (de cima para baixo) e <i>bottom-up</i> (de baixo para cima) para a obtenção dos CQDs	30
Figura 6 – Processos de formação do IPCA, cluster de polímeros e núcleo de carbono, utilizando ácido cítrico e etilenodiamina como precursores.....	32
Figura 7 – Ilustração da estrutura das fases do poliuretano segmentado, constituído por segmentos rígidos e segmentos flexíveis	35
Figura 8 – Esquema reacional para a síntese do WPU aniônico	36
Figura 9 – Morfologia do WPU dissolvido em (a) acetona e (b) água	38
Figura 10 – Esquema reacional para a preparação dos nanocompósitos de WPU/CQDs.....	42
Figura 11 – (a) Espectros de FTIR dos CQDs produzidos a partir de ácido cítrico e etilenodiamina e (b) esquema hipotético da estrutura dos CQDs obtidos.....	57
Figura 12 – (a) Espectros de XPS completos dos CQDs e espectros de alta resolução das regiões: (b) C 1s, (c) N 1s e (d) O 1s	58
Figura 13 – (a) Micrografia TEM (inserção: histograma de distribuição de tamanho) e (b) imagem topográfica de AFM dos CQDs com perfil de altura ao longo da linha <u>ab</u>	59
Figura 14 – Espectros dos CQDs: (a) absorvância na região do UV-Vis (fotografia em inserção: solução aquosa de CQDs (0,1 mg/mL) excitada por luz visível e UV), (b) espectros de emissão de fotoluminescência sob diferentes comprimentos de onda de excitação (320–410 nm)	60
Figura 15 – Esquema reacional para a produção dos nanocompósitos WPU/CQDs: (a) CQDs, (b) HDI/CQDs e (c) HDI	65
Figura 16 – Espectros de FTIR do WPU puro e dos nanocompósitos WPU/CQDs	66
Figura 17 – Deconvolução dos espectros de FTIR na região de absorção do grupo C=O para as amostras de (a) WPU0 e (b) WPU1. As linhas sólidas representam os ajustes matemáticos e os símbolos (○) são os dados experimentais.....	67
Figura 18 – Curvas de DSC para o WPU puro e os nanocompósitos WPU/CQDs	68
Figura 19 – (a) Curvas termogravimétricas (na inserção, termogravimetria diferencial) e (b) dependência da energia de ativação vs. grau de conversão para o WPU0 e WPU1.....	71
Figura 20 – Módulo de armazenamento (E') (linhas solidas) e o fator de perda ($\tan \delta$) (linhas tracejadas) em função da temperatura para WPU0, WPU0,5, WPU1 e WPU2	74
Figura 21 – Viscosidade complexa, η^* em função da frequência angular para o WPU puro e os nanocompósitos contendo diferentes quantidades de CQDs.....	75
Figura 22 – Curvas de módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G'') versus frequência angular obtidas a 120 °C para o WPU contendo diferentes quantidades de CQDs	78
Figura 23 – Esfera de solubilidade de Hansen calculada a partir do HSP e R_0 para (a) WPU0 e (b) WPU1. Os círculos em vermelho indicam os solventes utilizados, com base na Tabela 8.....	83

Figura 24 – (a) Curva de calibração para os CQDs e (b) porcentagem de CQDs lixiviados em função do tempo vs. inchamento para o nanocompósito WPU1	84
Figura 25 – Espectros de (a) absorvância na região do UV-Vis, (b) emissão de fluorescência (excitado em 360 nm) dos WPU/CQDs e (c) espectros de emissão de fotoluminescência do WPU1 sob diferentes comprimentos de onda de excitação (320–410 nm). As inserções são fotografias dos filmes sob luz solar (esquerda) e sob luz UV (360 nm) (direita)	87
Figura 26 – (a) Espectro UV-Vis da fotooxidação do 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) na presença do WPU1 sob irradiação de laser (532 nm) por diferentes intervalos de tempos e (b) decréscimo percentual na absorvância de DPBF na presença do WPU0 e WPU1 sob irradiação de laser (532 nm) por diferentes intervalos de tempos.....	88
Figura 27 – Viabilidade celular de BALB/3T3 utilizando o ensaio NRU após 24 h de exposição aos extratos dos filmes WPU0 e WPU1. Os valores representam a viabilidade celular percentual (média $\pm$ SD, n = 3)	89
Figura 28 – Estudos de inativação fotodinâmica empregando WPU0 e WPU1 contra <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram-positivo) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-negativo). Cada coluna representa a média $\pm$ SD, n = 3 o $\pm$ SD. * < 0,05 vs. controle	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição de tamanho, peso molecular (M_n , M_w) e distribuição de peso molecular (M_w/M_n) para o WPU puro e os nanocompósitos de WPU/CQDs.....	63
Tabela 2 – Grau relativo de ligações de hidrogênio (X_b) e porcentagens de C=O ligada (X_o) e C=O não ligadas (X_d) presentes no WPU puro e nos nanocompósitos de WPU/CQDs	67
Tabela 3 – Propriedades térmicas do WPU puro e dos nanocompósitos de WPU/CQDs.....	70
Tabela 4 – Parâmetros termodinâmicos e tempo de resistência para WPU0 e WPU1	72
Tabela 5 – Parâmetros reológicos obtidos através do ajuste da equação de Cross para o WPU puro e para os nanocompósitos de WPU/CQDs.....	76
Tabela 6 – Propriedades mecânicas do WPU puro e dos nanocompósitos de WPU/CQDs.....	79
Tabela 7 – Ângulos de contato (θ , °C) e energia livre de superfície (γ_s) dos filmes sólidos, incluindo contribuições dispersivas (γ_s^D) e polares (γ_s^P).....	80
Tabela 8 – Solventes testados nos ensaios de solubilidade à 23 °C e seus valores de diferença de energia relativa (RED)	82
Tabela 9 – Comparações colorimétricas do espaço de cor CIE $L^*a^*b^*$ utilizando-se o filme de WPU puro (WPU0) como referência, (ΔL^* , Δb^* e Δa^* iguais a 0)	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM	microscopia de força atômica
CA	ácido cítrico
CQDs	pontos quânticos de carbono
DBTDL	dilaurato de dibutilestanho
DLS	espalhamento de luz dinâmico
DMA	análise dinâmico-mecânica
DMEM	meio Eagle Modificado por Dulbecco
DMPA	ácido 2,2-bis (hidroximetil) propiônico
DMSO	dimetil sulfóxido
DPBF	1,3-difenilisobenzofurano
DSC	calorimetria diferencial de varredura
DTG	termogravimetria derivada
EDA	etilenodiamina
EROS	espécies reativas de oxigênio
FEG-SEM	microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo
FL	fotoluminescência
FR	Friedman
FS	fotossensibilizador
FTIR	espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier
HDI	diisocianato de 1,6-hexametileno
HSP	parâmetro de solubilidade de Hansen
NRU	captação de vermelho neutro
PBS	solução salina tamponada com fosfato
PCD	policarbonato diol
PDMS	polidimetilsiloxano
POSS	poliedros oligoméricos silsesquioxano
PU	poliuretano
PVDF	poli(fluoreto de vinilideno)
QY	rendimento quântico
RED	diferença de energia relativa
SEC	cromatografia de exclusão por tamanho
SEM	microscopia eletrônica de varredura
TEA	triethylamina
TEM	microscopia eletrônica de transmissão
TFDA	terapia fotodinâmica antimicrobiana
TGA	análise termogravimétrica

TPU	poliuretanos termoplásticos
UV-Vis	ultravioleta-visível
WPU	poliuretanos à base de água
XPS	espectroscopia de fotoelétrons de raios-X

LISTA DE SÍMBOLOS

A	fator pré-exponencial
da/dt	taxa de degradação
e	número de Neper
E_a	energia de ativação
$f(\alpha)$	função do modelo hipotético de reação
h	constante de Plank
k_B	constante de Boltzmann
M_n	peso molecular médio numérico
M_w	peso molecular médio ponderal
R	constante dos gases
R_0	raio da esfera, indicativo da tolerância máxima da solução
T	temperatura
t_f	resistência térmica estimada
T_{gSF}	transição vítrea dos segmentos flexíveis
T_{gSF0}	transição vítrea dos segmentos flexíveis puros
T_{gSR}	transição vítrea dos segmentos rígidos
$\tan \delta$	fator de perda
G'	módulo de armazenamento
G''	módulo de perda
T_p	temperatura de pico
$T_{5\%}$	temperatura de degradação térmica com 5% de perda de peso
X_b	grau relativo de ligações de hidrogênio
X_d	porcentagem de ligações de hidrogênio desordenadas
X_o	porcentagem de ligações de hidrogênio ordenadas
P_s	peso da amostra seca
w_f	peso final da amostra
w_H	fração do segmento rígido presente na fase flexível
w_t	peso da amostra no tempo $t = t$
P_u	peso da amostra úmida
w_0	peso da amostra no tempo $t = 0$
α	grau de conversão

$\alpha(T)$	conversão em função do tempo
γ_L	tensão superficial
γ_L^D	componente dispersiva da tensão superficial
γ_L^P	componente polar da tensão superficial
γ_s	energia de superfície total
δ_D	contribuição dispersiva do parâmetro de solubilidade
δ_H	interações de hidrogênio do parâmetro de solubilidade
δ_P	contribuição polar do parâmetro de solubilidade
δ	parâmetros de solubilidade
η^*	viscosidade complexa
Δa^*	variação total no eixo verde-vermelho
Δb^*	variação total no eixo amarelo-azul
ΔC_p	variação da capacidade calorífica
ΔE^*	variação total da cor
ΔG^*	energia livre de Gibbs
ΔH^*	variações de entalpia
ΔL^*	variação total de luminosidade
ΔS^*	variações de entropia
ω	frequência angular

SUMÁRIO

1. Introdução.....	18
2. Objetivos	21
2.1. OBJETIVO GERAL	21
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
Capítulo 3 – Revisão Bibliográfica.....	22
3.1. TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (TFDA).....	22
3.2. CARBON QUANTUM DOTS (CQDs)	27
3.2.1. MÉTODOS DE SÍNTESE DE CQDs	29
3.2.2. PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DOS CQDs	32
3.3. POLIURETANO À BASE DE ÁGUA (WPU).....	34
Capítulo 4 – Materiais e Métodos	40
4.1. MATERIAIS UTILIZADOS	40
4.2. SÍNTESE DOS CQDs	41
4.3. SÍNTESE DOS NANOCOMPÓSITOS WPU/CQDs	41
4.4. CARACTERIZAÇÃO DOS CQDs	42
4.4.1. ESTRUTURA QUÍMICA E MORFOLOGIA	42
4.4.2. ABSORVÂNCIA NA REGIÃO DO UV-VIS E FOTOLUMINESCÊNCIA.....	43
4.4.3. RENDIMENTO QUÂNTICO (QY).....	44
4.5. CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS DE WPU/CQDs	44
4.5.1. ESTRUTURA QUÍMICA E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO.....	44
4.5.2. CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA	45
4.5.3. PROPRIEDADES DINÂMICO-MECÂNICAS (DMA).....	47
4.5.4. PROPRIEDADES REOLÓGICAS.....	47
4.5.5. PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	48
4.5.6. PARÂMETRO DE SOLUBILIDADE DE HANSEN (HSP).....	49
4.5.7. ENERGIA LIVRE DE SUPERFÍCIE	50
4.5.8. LIXIVIAÇÃO DOS CQDs EM MEIO AQUOSO.....	51
4.5.9. ABSORÇÃO DE ÁGUA.....	51
4.5.10. ENSAIO DE COLORIMETRIA E FOTOLUMINESCÊNCIA	52
4.5.11. MONITORAMENTO DA GERAÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE (1O_2)	53
4.5.12. ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR.....	54
4.5.13. ATIVIDADE FOTODINÂMICA ANTIBACTERIANA	55
Capítulo 5 – Resultados e discussão da caracterização dos CQDs	56
5.1. ESTRUTURA QUÍMICA E MORFOLOGIA	56
5.2. ABSORVÂNCIA NA REGIÃO DO UV-VIS E FOTOLUMINESCÊNCIA	59
5.3. CONCLUSÕES PARCIAIS	61

Capítulo 6 – Resultados e discussão da caracterização dos nanocompósitos	62
6.1. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS NANOPARTÍCULAS E ESTRUTURA QUÍMICA	62
6.2. PROPRIEDADES TÉRMICAS.....	68
6.3. PROPRIEDADES DINÂMICO-MECÂNICAS	72
6.4. PROPRIEDADES REOLÓGICAS.....	74
6.5. PROPRIEDADES MECÂNICAS	78
6.6. ENERGIA LIVRE DE SUPERFÍCIE	79
6.7. DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DE SOLUBILIDADE DE HANSEN (HSP)	80
6.8. LIXIVIAÇÃO DOS CQDs EM MEIO AQUOSO.....	83
6.9. PROPRIEDADES ÓPTICAS	85
6.10. MONITORAMENTO DA GERAÇÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE ($^1\text{O}_2$).....	87
6.11. VIABILIDADE CELULAR.....	89
6.12. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	90
6.13. CONCLUSÕES PARCIAIS	91
Conclusão	92
Perspectivas futuras	93
Referências	94
Anexo I	105
Anexo II.....	106
Anexo III	107
Anexo IV.....	108

1. Introdução

O aumento significativo do número de infecções bacterianas nos últimos anos tem sido uma preocupação de caráter mundial, especialmente por parte dos órgãos de saúde. No Brasil, essas infecções provocam mais de 100 mil mortes todos os anos, problema que já foi reconhecido pela Organização Mundial de Saúde e vem preocupando hospitais das redes pública e privada no país [1]. As infecções bacterianas correspondem a 15% das complicações adquiridas pelo paciente no hospital durante o período de internação ou de realização de procedimentos. Essas infecções estão geralmente associadas a germes multirresistentes a antibióticos, e acabam prolongando a permanência hospitalar do paciente, causando impactos financeiros na saúde [2]. Nos Estados Unidos, por exemplo, os gastos associados às infecções hospitalares estão contabilizados em aproximadamente US\$ 33 bilhões anuais [3]. Os tipos mais comuns de infecções hospitalares são infecções do trato urinário decorrentes do uso de sondas; infecções no sangue favorecidas pelo uso de cateteres; pneumonia e infecções de pele adquiridas por meio de injeções e acessos venosos, cicatriz de cirurgia ou biópsia [4]. Os dispositivos médicos diretamente ligados ao paciente (próteses e cateteres) representam cerca de 60–70% dessas infecções [5]. A superfície desses dispositivos geralmente está vulnerável à colonização de polimicróbios (bactérias, fungos e vírus). Nesses ambientes, os polimicróbios se aderem às superfícies, colonizando-as por um longo período (da ordem de semanas), permanecendo ativos sob a forma de biofilme (micro-organismos embebidos em uma matriz de polissacarídeos, ácidos nucleicos, proteínas e lipídios) [6]. Visto que a superfície desses dispositivos podem servir como reservatório de patógenos nosocomiais, é fundamental a sua assepsia e esterilização, de forma a se evitar a contaminação e a transmissão indireta [7].

Várias abordagens profiláticas já foram adotadas para reduzir a contaminação microbiana, dentre elas o desenvolvimento de materiais ou superfícies impregnadas com agentes germicidas metálicos (prata, cobre ou molibdênio) ou antibióticos convencionais [8–11]. O uso de medicamentos na erradicação desses patógenos tem levado ao aumento da resistência bacteriana [5, 9]. Além disso, o uso indiscriminado de antibióticos está criando um ambiente seletivo fora dos hospitais. A descarga de efluentes hospitalares e águas residuais urbanas, contendo traços de antibióticos e desinfetantes, tem provocado a contaminação de ambientes aquáticos. O mecanismo de ação dos metais em aplicações antimicrobianas não é completamente entendida e limitada pelo inconveniente da lixiviação e difusão de íons ativos,

que podem provocar toxicidade local e acúmulo de concentração em órgãos não-alvos [12]. Revestimentos “passivos” à base de materiais poliméricos como o polietilenoglicol, o poli(óxido de etileno) e os poliuretanos (PU) também já foram testados quanto à inibição da adesão bacteriana e formação de biofilme [10, 13]. Infelizmente, a eficácia desses revestimentos é restrita à espécie bacteriana. Dessa forma, o desenvolvimento de novas estratégias e materiais antimicrobianos para o combate à essas infecções torna-se indispensável.

Os polímeros, em sua grande maioria, possuem limitada atividade bactericida. Uma solução interessante é a combinação desses com nanomateriais fotossensibilizadores (FS) para a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS). Nesse caso, a funcionalidade específica contribui para a eliminação de bactérias por efeito fotoativo, a partir da produção de calor (lise fototérmica) ou da variação de pH (acidificação fotoinduzida), recebendo a designação de terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) [14]. As EROS são produzidas pela interação do agente FS com a luz ultravioleta ou visível (UV-Vis), na presença de ar ou de qualquer ambiente enriquecido com oxigênio [8, 15]. Essas EROS provocam a morte das bactérias por perda de integridade da membrana, peroxidação lipídica pela inativação de enzimas essenciais ou por efeitos mutagênicos no DNA celular [16]. Ao contrário de outros agentes antimicrobianos, as EROS não possuem alvos específicos no micro-organismo, diminuindo a probabilidade do desenvolvimento de resistência. Além disso, esses radicais não provocam danos às células, que são significativamente mais resistentes à EROS do que às bactérias [17].

Estudos clínicos em humanos mostram que a difusão das EROS permite eliminar micróbios a uma distância de até 0,65 mm da superfície contendo a substância FS [18, 19]. O uso de sistemas poliméricos à base de PU e polidimetilsiloxano (PDMS), modificados com diferentes moléculas FS e nanopartículas (porfirina, azul de metileno, cristal de violeta/óxido de zinco, ouro/azul de metileno, pontos quânticos de carbono (CQDs)/prata) já foram reportados na aniquilação de bactérias por meio da geração de EROS [8, 20-23]. Dentre os agentes FS orgânicos, os CQDs se destacam em virtude da sua elevada estabilidade química e fotoluminescência (FL), solubilidade em água, síntese de baixo custo e resistência ao fotobranqueamento [24]. Quando combinados com matrizes poliméricas, a estrutura rica em carbono aromático dos CQDs, dotada de grupos químicos periféricos altamente polares, conferem resistência mecânica e térmica aos nanocompósitos, especialmente pela reticulação física que promovem nas cadeias do polímero por interações secundárias [11, 20, 23, 25-27]. Entretanto, a eficiência do revestimento fotoativo dependerá do tipo de polímero escolhido, da

vida útil do FS, da intensidade e do tempo de irradiação da fonte luminosa escolhida e das características da superfície antibacteriana investigada [20]. Nesse contexto, os poliuretanos à base de água (WPU, do inglês *waterborne polyurethane*) são atraentes como suporte polimérico. A solubilidade do WPU em meio aquoso acelera a distribuição homogênea dos CQDs sobre a matriz polimérica, preservando assim a sua FL. Além disso, o WPU oferece vantagens adicionais. Durante a reação de polimerização, o WPU se torna solúvel em água devido à inserção de centros iônicos ao longo das cadeias poliméricas por meio de extensores de cadeia específicos, comportando-se como um ionômero com capacidade de transferência de elétrons, aumentando a eficiência dos CQDs [28]. A aplicação da TFDA a revestimentos de WPU se faz possível, pois esse material é permeável a gás e permite, dessa forma, que uma quantidade suficiente de oxigênio esteja à disposição do FS [15, 16, 20]. A permeabilidade do WPU pode ser controlada por meio da combinação adequada de polióis e extensores de cadeia, os quais são capazes de regular a densidade de ligações de hidrogênio e a microseparação de fases do material [25]. Além disso, o WPU pode ser aplicado em diferentes superfícies, como madeira, metal, vidro ou outros plásticos, criando uma barreira impermeável entre a superfície externa e a superfície revestida.

Apesar das vantagens já reconhecidas a respeito do uso do WPU e dos CQDs, até o momento ainda não foram identificados estudos envolvendo a síntese de nanocompósitos WPU/CQDs como revestimentos antimicrobianos, e poucos trabalhos investigam a interação entre estas nanopartículas com a matriz de WPU [20, 23, 25-27]. Portanto, no presente trabalho, pretende-se desenvolver materiais à base de WPU/CQDs, capazes de se autodesinfetarem pela ação da luz e de oferecerem prevenção a longo prazo contra a formação de biofilme ou adesão microbiana. Esse sistema fotoativo encontrará aplicações não somente na área médica, mas também nas indústrias farmacêutica, alimentícia e têxtil, para as quais o controle de infecção é fundamental e qualquer redução de custo, energia, insumo ou impacto ambiental representará um ganho em sustentabilidade. A produção dos nanocompósitos envolverá a tecnologia ecológica do WPU, mais vantajosa em relação aos PUs obtidos em solventes orgânicos e a síntese dos CQDs por irradiação de micro-ondas, método escolhido por fornecer elevado rendimento em curtos intervalos de tempo e temperaturas mais baixas. Os CQDs produzidos serão caracterizados quanto à sua estrutura, morfologia e propriedades físico-químicas. Para os nanocompósitos, além das propriedades citotóxicas e mecânico-estruturais, atenção especial será dada ao estudo da geração de EROS e da atividade fotolítica antibacteriana.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Obter materiais fotoativos à base de WPU e CQDs com propriedades físico-mecânicas e superficiais adequadas à aplicação na área de revestimentos e que sejam eficientes na prevenção da formação de biofilmes bacterianos.

2.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar CQDs com elevado rendimento quântico, utilizando ácido cítrico e etilenodiamina por meio da técnica de irradiação assistida por micro-ondas;
- Determinar o tamanho e a composição físico-química dos CQDs por meio das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (TEM), microscopia de força atômica (AFM), espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR), espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS), espectroscopia de absorção no UV-vis e espectroscopia de fluorescência;
- Sintetizar nanocompósitos à base de WPU/CQDs, a partir do processo de polimerização em acetona, adicionando os CQDs durante a inversão de fase;
- Investigar o efeito da incorporação dos CQDs na microestrutura e nas propriedades físico-mecânicas do WPU por meio das técnicas de FTIR, calorimetria diferencial de varredura (DSC), análise termogravimétrica (TGA), reológica, energia superficial, ensaios mecânicos e solubilidade por parâmetros de Hansen;
- Investigar a citotoxicidade *in vitro* do nanocompósito de WPU/CQDs que apresentar as propriedades físico-mecânicas mais interessantes, utilizando-se células de fibroblastos de camundongo (Balb/c 3T3, clone 31), segundo a norma ISO 10993-5 (2009);
- Avaliar a atividade antimicrobiana fotolítica do nanocompósito WPU/CQDs que apresentar as propriedades físico-mecânicas mais interessantes para aplicação na área de revestimentos, na presença das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa) e *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva), segundo a norma ISO 22196;

Capítulo 3 – Revisão Bibliográfica

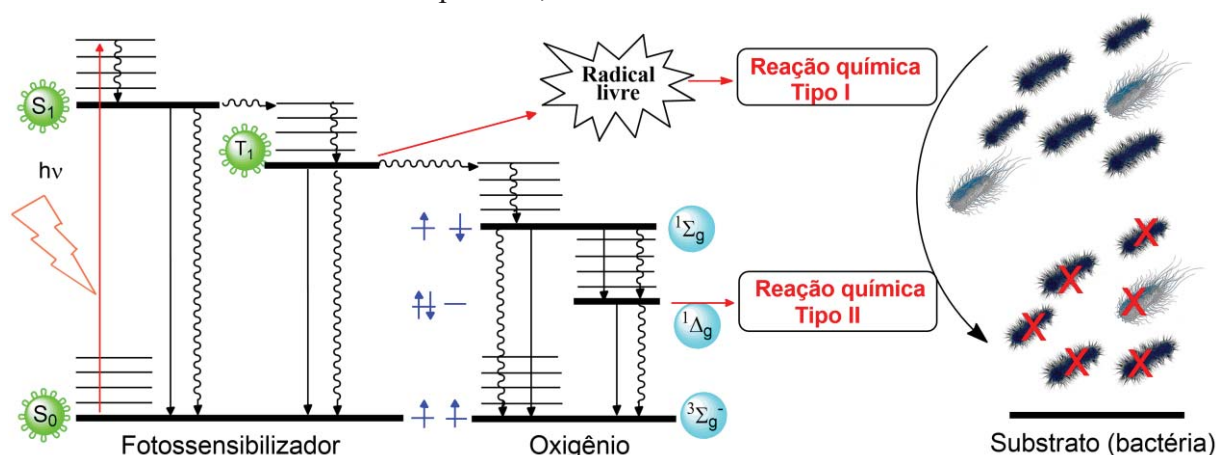
Neste capítulo serão apresentados os principais aspectos teóricos referentes à TFDA, aos CQDs e ao WPU. Primeiramente, será explicado o princípio de inativação fotossensibilizada de bactérias pela TFDA, a fim de reduzir a transmissão de patógenos. Em seguida, será exposta uma breve introdução sobre os CQDs, nanoestruturas de carbono fotoluminescentes descobertas em 2004, citando suas propriedades, métodos de obtenção e algumas aplicações. Por fim, serão discutidos os principais componentes de uma formulação de WPU e sua influência sobre as propriedades e aplicações.

3.1. Terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA)

O desenvolvimento de novos tipos de revestimentos antibacterianos é de grande importância, devido à disseminação de infecções bacterianas multirresistentes. Superfícies antibacterianas que atuam com base no princípio da TFDA são de grande interesse, devido ao seu caráter preventivo para infecções [29]. Tais superfícies podem ajudar a reduzir a transmissão de patógenos e micro-organismos multirresistentes, o que é um sério problema em higiene hospitalar. Como o processo fotodinâmico de tais superfícies não leva necessariamente ao consumo do FS, os revestimentos autodesinfetantes podem oferecer prevenção constante contra a deposição e o crescimento de micro-organismos em qualquer superfície [15]. A estratégia da TFDA consiste na funcionalização específica de polímeros com nanopartículas FS para a produção de nanocompósitos geradores de EROS, que causam danos oxidativos às bactérias [14, 20]. Tais EROS são produzidas pela interação do agente FS com a luz ultravioleta ou visível, na presença de ar ou de qualquer ambiente enriquecido com oxigênio. São elas: oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), superóxido, radicais hidroxila, peróxido de hidrogênio, entre outros [8, 15]. Após a absorção de um fóton de luz em faixas de comprimento de onda que vão do ultravioleta (200 – 400 nm) ao visível (400 – 700 nm), a molécula do FS é promovida de um estado fundamental de menor energia (S_0) para um estado singleto energeticamente excitado (S_1). Do estado excitado, a molécula de FS pode decair para o seu estado fundamental dissipando energia (na forma de fluorescência) ou ser convertida, por cruzamento inter-sistema, a um estado excitado tripleto (T_1) de vida útil mais longa. A partir do estado T_1 , a molécula de FS pode retornar ao seu estado fundamental ou então seguir dois caminhos fotoquímicos: o

Tipo I envolve a transferência de elétrons entre a molécula de FS do estado tripleto e moléculas próximas, como água ou moléculas biológicas para produzir uma ampla gama de EROS e íons radicais. O processo Tipo II envolve a transferência de energia entre o FS do estado tripleto e o oxigênio molecular, que possui um estado fundamental tripleto, resultando na geração de $^1\text{O}_2$ altamente reativo [7, 22] (Figura 1).

Figura 1 – Diagrama de Jablonski mostrando a formação de um estado singlete energeticamente excitado (S_1) decaindo ao estado fundamental ou sendo convertido à um estado tripleto T_1 , com a emissão de um fóton



Fonte: adaptado com permissão de Spagnul *et al.* (2015) [7]. Copyright © 2015 por Elsevier B.V.

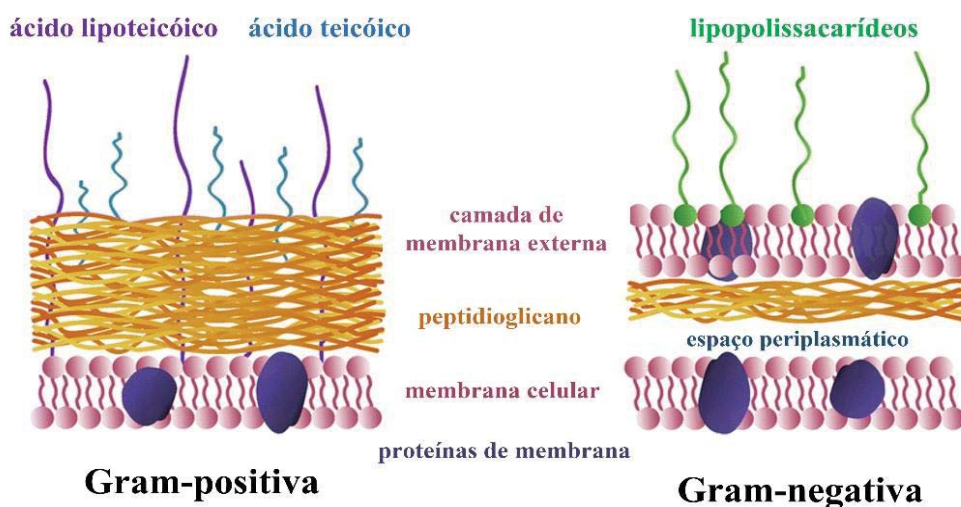
As EROS são altamente reativas e capazes de atacar a membrana celular, as enzimas essenciais e os ácidos nucleicos celulares, levando à morte celular por estresse oxidativo, o que impossibilita o desenvolvimento de resistência bacteriana. Além disso, as células dos mamíferos apresentam resistência significativamente maior às EROS do que as bactérias, oferecendo uma janela potencial para o tratamento clínico [16, 30]. Após o tratamento, o FS pode retornar ao seu estado fundamental sem que seja quimicamente alterado. Dessa forma, o FS se mantém ativo e pode ser usado no processo de transferência de energia várias vezes, desde que haja luz e oxigênio molecular [31].

Usando esse princípio, as superfícies podem ser revestidas com finas camadas de polímeros contendo FS que geram EROS após irradiação de luz. Depois de geradas, as EROS devem se difundir do revestimento, alcançar os micro-organismos presentes na superfície e causar estresse oxidativo na membrana celular (Figura 1). Como as moléculas de FS estão localizadas no revestimento, a difusão das EROS é necessária para provocar a morte dos micro-organismos na superfície. Contudo, a eficácia da TFDA é limitada pela meia-vida muito curta

e pelo raio de difusão das EROS [29]. Dentre as EROS, o $^1\text{O}_2$ desempenha um papel importante devido às suas características químicas e físicas. Sendo uma molécula neutra, presume-se que o $^1\text{O}_2$ apresente difusão no ar, tendo o seu tempo de vida útil e decaimento espontâneo, limitados pelas colisões e reações com as moléculas presentes no ar [15]. Em função do seu tempo de vida elevado, quando comparado a outras EROS, o $^1\text{O}_2$ pode difundir por distâncias apreciáveis (na ordem ~ 27 nm). Nesse contexto, o polímero pode servir como um reservatório de $^1\text{O}_2$ [20].

A inativação fotossensibilizada de bactérias pela TFDA é eficiente e uma redução de cerca de 70% da viabilidade bacteriana já foi observada após 5 min de irradiação com luz branca a uma taxa de fluência de 90 mW/cm^2 , a partir de um complexo eletrostático de politiofeno aniônico solúvel em água e porfirina catiônica [32]. Vários estudos já demonstraram que há uma diferença fundamental na suscetibilidade ao $^1\text{O}_2$ entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. As espécies Gram-positivas são mais suscetíveis à inativação por EROS porque sua parede externa, localizada fora da membrana citoplasmática, é uma estrutura relativamente porosa, permeável a nutrientes, glicopeptídeos e polissacarídeos com massa molar de 30.000–60.000 Da, permitindo também a passagem do FS (Figura 2) [32, 33]. As bactérias Gram-negativas são caracterizadas pela presença de uma membrana externa adicional com espessura de 10–15 nm, altamente organizada, que inibe a penetração de algumas EROS fotogeradas (Figura 2) [34]. Apenas compostos relativamente hidrofílicos com massa molar inferior a 600–700 Da se difundem através dos canais de porina que estão localizados na membrana externa das bactérias Gram-negativas [7]. Cepas bacterianas que contêm carotenóides também apresentam resistência à letalidade por $^1\text{O}_2$, uma vez que esses pigmentos extinguem fisicamente o $^1\text{O}_2$ e protegem as bactérias contra os efeitos letais da fotossensibilização. Como a estrutura da parede celular das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas representa a diferença fundamental entre essas bactérias, uma vez que a barreira é atravessada pelo $^1\text{O}_2$, é de se esperar que os alvos e mecanismos de morte celular de ambas sejam semelhantes ou até mesmo idênticos [34].

Figura 2 – Diferenças entre a parede celular de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas



Fonte: adaptado com permissão de Pajerski *et al.* (2019) [35]. Copyright © 2019 pelos autores.

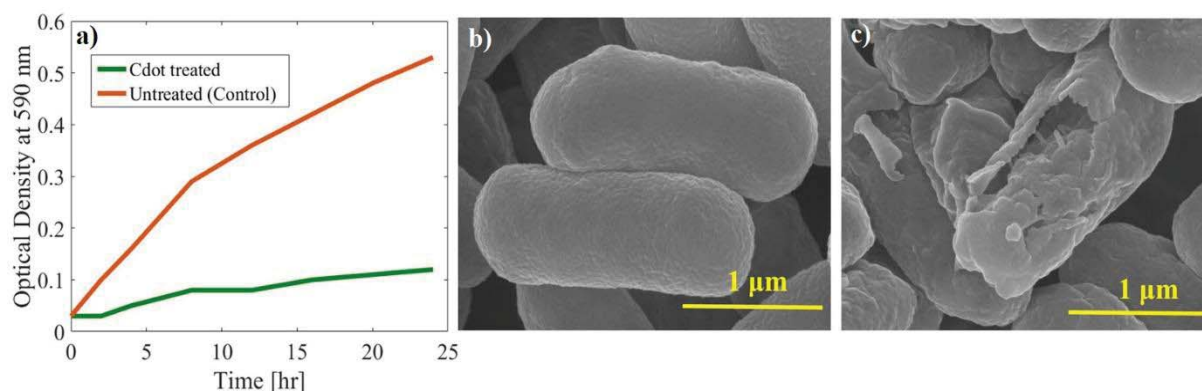
Embora os FS clássicos que atuam com base no princípio da TFDA (tetrapirróis naturais e sintéticos, ftalocianinas, porfirinas, fenotiazinas e corantes derivados do xanteno) tenham se mostrado promissores na prevenção à transmissão de infecções patogênicas. Eles ainda possuem limitações quanto à solubilidade/dispersibilidade em água, propriedades fotofísicas ruins ou indesejáveis, rotas sintéticas complexas, dificuldade de purificação e pouca biocompatibilidade e biodegradabilidade [36]. Mais recentemente, o rápido desenvolvimento da nanotecnologia levou a materiais em nanoescala que atraíram atenção significativa para aplicações terapêuticas (por exemplo, bioimagens, terapia fotodinâmica e nanomedicina).

Dentre esses nanomateriais, os CQDs ganharam destaque em função de certas propriedades vantajosas para aplicação como FS, incluindo facilidade de síntese, boa dispersibilidade em água, baixa toxicidade, biocompatibilidade (livre de metais pesados) e propriedades ópticas amplamente controláveis e eficiência na geração de $^1\text{O}_2$ [36, 37]. Esses nanomateriais exibem atividade antibacteriana para diferentes bactérias [20, 21, 38, 39]. Sob iluminação visível/natural, os CQDs são capazes de gerar EROS quando em contato com o oxigênio presente no ar ou na água, levando à produção de radicais livres hidroxila ($\text{OH}^\bullet$) e/ou $^1\text{O}_2$, que podem destruir algumas biomoléculas críticas na célula bacteriana, levando à morte celular [40]. De acordo com Ristic *et al.* [41], uma solução aquosa contendo 200 $\mu\text{g/mL}$ de CQDs, quando iluminada durante 15 min (470 nm, 1 W), foi capaz de provocar a morte de duas cepas de bactérias patogênicas (*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*)).

Esse efeito foi menos pronunciado para células de camundongo (menos de 50% de morte celular), demonstrando atividade antibacteriana fotodinâmica relativamente seletiva dos CQDs.

Diversos estudos buscaram determinar se os CQDs exibem mecanismos de fotossensibilização do Tipo I ou do Tipo II. Nie *et al.* [36] investigaram o mecanismo de ação antibacteriana dos CQDs sob exposição aos quatro tipos de EROS. Os resultados revelaram a presença apenas da espécie $^1\text{O}_2$, sugerindo que os CQDs em estudo operam por meio do mecanismo do Tipo II. A detecção de $^1\text{O}_2$ também foi confirmada por outros autores [37, 42]. No entanto, alguns trabalhos com CQDs reportaram também a ocorrência do mecanismo Tipo I ou mesmo de vários mecanismos (formação de $\text{O}_2^{\bullet-}$ (Tipo I) e $^1\text{O}_2$ (Tipo II) [43-45]. Contudo, independentemente do Tipo de mecanismo de fotossensibilização, a eficiência dos CQDs na TFDA vem sendo constantemente comprovada na literatura. Nie *et al.* [36] investigaram o potencial de CQDs sintetizados a partir de materiais baratos e sustentáveis (ácido cítrico (CA) e etanol) como FS para a inativação fotodinâmica antibacteriana *in vitro*. Os CQDs demonstraram inativação de *E. coli* e *S. aureus* sob iluminação de luz visível ($\lambda \geq 420$ nm, 65 mW/cm^2 ; 60 min). Em outro estudo, Nie *et al.* [46] utilizaram a tecnologia de eletrofiação para fabricar nanofibras com inativação fotodinâmica antibacteriana combinando poliácridonitrila, como polímero fotoestável, e CQDs biocompatíveis. Essas nanofibras, além de possuírem baixa citotoxicidade e boa biocompatibilidade, apresentaram atividade antibacteriana eficiente contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, após iluminação com luz visível. Budimir *et al.* [47] produziram um nanocompósito à base de CQDs/PU com propriedades antibacterianas aprimoradas induzidas por pré-tratamento com irradiação gama. Os nanocompósitos erradicaram completamente bactérias *S. aureus* e *E. coli*, após 15 min de exposição à lâmpada azul. Kováčová *et al.* [20] sintetizaram CQDs hidrofóbicos e os embutiram em matrizes de PU e PDMS. Os autores observaram geração de $^1\text{O}_2$ na superfície após irradiação por luz azul, correspondendo a 5 logs de efeitos de inibição contra *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) com até 60 min de irradiação de luz. A Figura 3 mostra a eficiência de uma solução de CQDs na inibição do crescimento de *E. coli* para vários intervalos de tempo de tratamento fotoativo [48]. Esses nanocompósitos de PU/CQDs foram considerados altamente eficazes na geração de $^1\text{O}_2$, após irradiação de luz azul de baixa potência, apresentando biocompatibilidade, boas propriedades estruturais, fotocatalíticas e antibacterianas [20].

Figura 3 – (a) Crescimento de *Escherichia coli* após tratamento com e sem solução de CQDs para diferentes tempos de exposição à luz; (b, c) imagens de microscopia eletrônica de varredura das bactérias antes e após tratamento fotoativo de 10 h



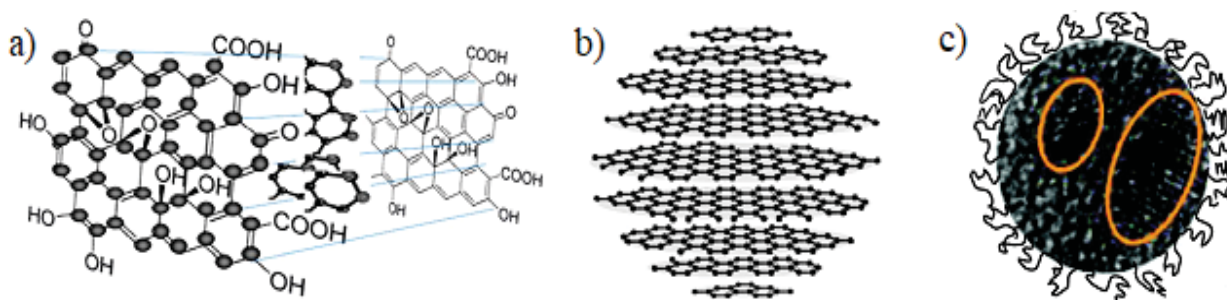
Fonte: adaptado com permissão de Kavitha *et al.* (2018) [48]. Copyright © 2018 pelos autores.

3.2. Carbon quantum dots (CQDs)

Os *carbon quantum dots* ou simplesmente CQDs têm despertado muita atenção durante os últimos anos. Em geral, esses nanomateriais apresentam dimensões inferiores a 10 nm, morfologia esférica e uma estrutura com domínios cristalinos e não cristalinos constituídos essencialmente de carbonos com hibridizações sp^2 e sp^3 , em proporções variáveis com alguns grupos funcionais ligados à superfície, conforme representado na Figura 4 [24]. Além das suas extraordinárias propriedades ópticas, como a FL, eles apresentam alta solubilidade em solventes polares, estabilidade estrutural e coloidal, baixa toxicidade, boa biocompatibilidade, fotoestabilidade, inércia química, síntese de baixo custo e luminescência dependente do pH [49, 50]. Por essas propriedades, essas nanoestruturas têm sido utilizadas em diversas aplicações, como em biossensores, devido à sua capacidade de atuar como doador e acceptor de elétrons. Essas nanoestruturas podem ser utilizadas na detecção de íons intracelulares, toxinas, vitaminas patogênicas, enzimas, proteínas e ácidos nucleicos e na determinação do valor de pH biológico. Elas também são aplicáveis nos campos da bioimagem, biomarcação, tecnologias genéticas e rastreamento de movimento celular, sensores ópticos, divisão fotoeletroquímica da água, eletroquimioluminescência, quimioluminescência, diodos emissores de luz, células solares fotovoltaicas e fotocatalise, dentre outras [28, 51-55]. Além disso, os CQDs possuem capacidade de estimular o crescimento das plantas, pois aceleram a germinação e o alongamento das raízes, aumentando a capacidade de absorção de água das sementes como resultado de seus vários grupos funcionais hidrofílicos. O melhoramento da expressão do gene da tionina por

meio da intercalação nos sulcos do DNA promove o crescimento das plantas via degradação em análogos de hormônios vegetais. Ainda, a existência de grupos químicos na superfície dos CQDs pode resultar na retenção e liberação lenta de micronutrientes e água dentro dos vasos do xilema das plantas, estimulando seu crescimento [56]. Um exemplo de aplicação dos CQDs como biofertilizantes renováveis para espécies agrícolas é apresentado no Anexo I.

Figura 4 – (a) Composição química, (b) características estruturais e (c) ilustração dos CQDs com núcleo de carbono [a partir de uma imagem experimental obtida por TEM]



Fonte: adaptado com permissão de Sun et al. [57-59]. Copyright © 2008 American Chemical Society.

Recentemente, verificou-se que os CQDs são geradores altamente eficientes de EROS via absorção de luz [20] e, como tal, têm sido amplamente utilizados para aplicações em TFDA [36]. Em comparação com os pontos quânticos de semicondutores à base de metal (Cd, Pb, In), que são inerentemente tóxicos, os CQDs são mais seguros, sustentáveis e biocompatíveis para aplicações clínicas e terapêuticas. A atividade fotodinâmica antibacteriana dos CQDs pode ser correlacionada ou ditada pelos processos de estado fotoexcitado e características redox. Os CQDs também são conhecidos por suas emissões de fluorescência brilhantes e coloridas, que podem ser empregadas como uma ferramenta conveniente e eficaz no entendimento da correlação entre as propriedades do estado fotoexcitado e os resultados antibacterianos. Dentre os vários parâmetros de fluorescência, o rendimento quântico (QY, do inglês *quantum yield*) é medido experimentalmente para fornecer informações quantitativas a respeito da competitividade do fenômeno de fluorescência com outros processos de estado excitado responsáveis por efeitos fotodinâmicos. Al Awak *et al.* [60] examinaram a função antibacteriana ativada por luz visível de uma série de CQDs com QY variando entre 7,5% a 27%. Os resultados revelaram um efeito direto do aumento dos valores de QY na diminuição do número de bactérias *Bacillus subtilis*.

3.2.1. Métodos de síntese de CQDs

Desde à sua descoberta acidental em 2004, durante a purificação eletroforética de nanotubos de carbono [61], diversos grupos de pesquisa têm preparado e estudado os CQDs, fazendo com que, nos últimos anos, muito progresso fosse alcançado com relação aos métodos de síntese, propriedades, modificações e aplicações [24, 28, 51-54]. As estratégias de síntese dos CQDs podem ser divididas em dois tipos: métodos *top-down* (de cima para baixo) e métodos *bottom-up* (de baixo para cima), conforme apresentado na Figura 5. Os procedimentos *top-down* consistem em produzir CQDs por meio da quebra de estruturas de carbono de grandes dimensões, como grafite, nanotubos de carbono e óxido de grafite [61]. Dentre esses métodos, destacam-se a ablação por laser, a oxidação eletroquímica, a oxidação química e a descarga elétrica [62-64]. Contudo, esses métodos necessitam de condições de produção complexas, materiais e/ou instrumentos de alto custo e envolvem o preparo de grandes quantidades. Além disso, muitos CQDs produzidos por processos *top-down* possuem baixa fluorescência e pouca estabilidade coloidal, devido a maior conversão parcial dos materiais de partida em nanopartículas contendo núcleo de carbono com poucos grupos funcionais ligados à superfície, que por sua vez, possuem baixo QY (na melhor das hipóteses de 1% a 12%), necessitando de uma etapa posterior de passivação [28, 51-54]. Nessa etapa de passivação são adicionados grupos funcionais na superfície dos núcleos de carbono. Esses grupos têm a capacidade de melhorar as propriedades ópticas (aumentar o QY), a solubilidade e a estabilidade química e geralmente aumentam a variabilidade e a complexidade da superfície dos CQDs [55].

No método *bottom-up*, os CQDs são produzidos a partir de precursores sintéticos ou matérias orgânicas com alto teor em carbono (arroz, cinzas de membrana de casca de ovo, grãos de café, cana de açúcar, leite de vaca, suco de laranja, glicose, etc.) [65-68]. Os procedimentos de síntese *bottom-up* consistem em carbonizações, métodos solvotérmicos (hidrotérmicos ou com solventes orgânicos), pirólise, irradiação com micro-ondas e síntese por ultrassom [69-76]. Nesses procedimentos, os CQDs podem ser produzidos a baixo custo e não requerem purificação cromatográfica. Além disso, as nanopartículas geralmente não precisam de qualquer etapa de passivação adicional, pois o próprio processo de síntese induz grupos funcionais à superfície. Dentre os métodos sintéticos, o processo assistido por micro-ondas tem se destacado por ser mais sustentável e eficiente em termos energéticos, requerendo temperatura e tempo mais baixos para um elevado rendimento. Beneficiando-se do aquecimento rápido e uniforme da irradiação por micro-ondas, a reação pode ser alcançada dentro de alguns minutos,

gerando CQDs com distribuições de tamanho altamente uniformes e elevados QY [72-76]. Dentre os diferentes precursores que podem ser utilizados para a síntese dos CQDs (Anexo IV), o CA, naturalmente presente em frutas cítricas, sendo também um metabólito comum de plantas e animais, tem se tornado uma das matérias-primas mais populares, devido à alta eficiência na formação de CQDs por rotas de carbonização *bottom-up* e aos elevados QY obtidos [70].

Figura 5 – Diagrama esquemático dos métodos de síntese *top-down* (de cima para baixo) e *bottom-up* (de baixo para cima) para a obtenção dos CQDs



Fonte: adaptado de Bibekananda *et al.* (2017) [77]. Copyright © 2017 The Royal Society of Chemistry.

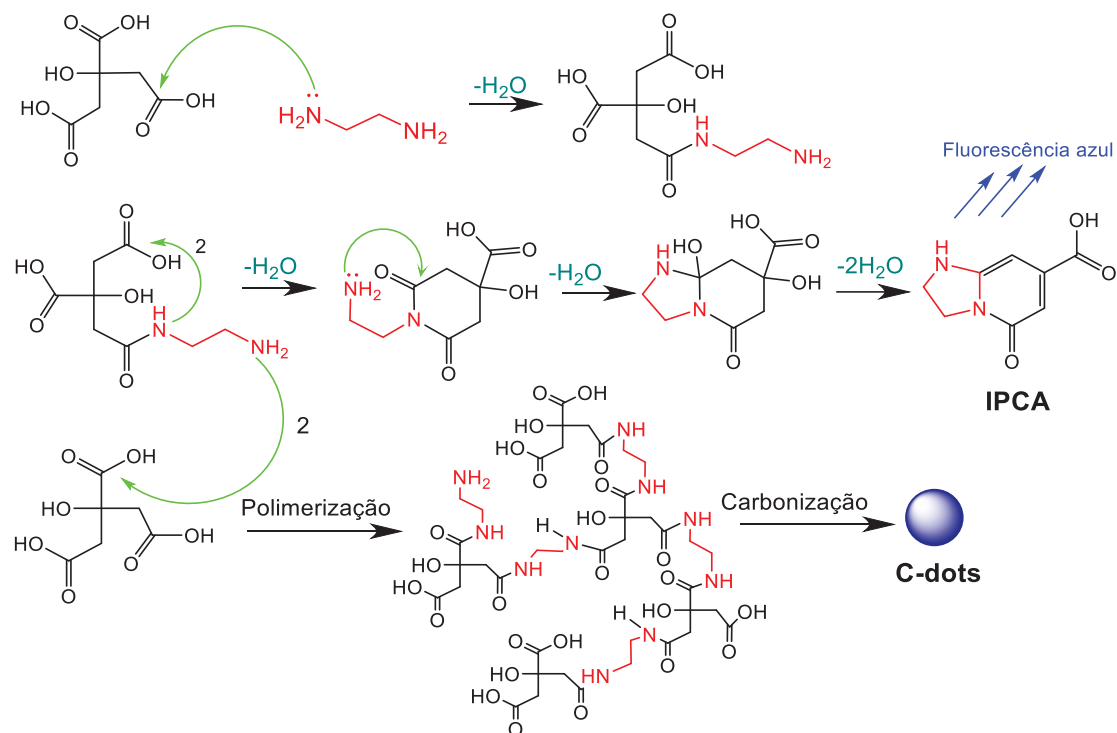
Diversos trabalhos disponíveis na literatura têm demonstrado que a introdução de moléculas enriquecidas com grupos amino (N-etiletanoamina, N,N-dietiletanoamina, 1,4-butanodiamina, aminoácidos, ureia, entre outros) como agente de passivação durante a síntese envolvendo CA podem melhorar ainda mais o desempenho fluorescente dos CQDs, uma vez que a dopagem com nitrogênio modula os defeitos de superfície, aumentando consideravelmente a fluorescência dessas nanopartículas [78]. Xu *et al.* [79] sintetizaram CQDs dopados com nitrogênio com QY de 10,1% por irradiação de micro-ondas, a partir de citrato de cálcio e uréia. Hu *et al.* [80] desenvolveram uma abordagem simples assistida por micro-ondas, utilizando citrato de triamônio para a preparação em larga escala de CQDs com QY de 14,3%. Zhai *et al.* [81] obtiveram CQDs por irradiação de micro-ondas com um valor QY de 30,2%, usando CA e aminas como agente de passivação. CQDs altamente fluorescentes, com forte absorção na região ultravioleta e QY de até 96%, foram rapidamente sintetizados via irradiação por micro-ondas em 5 min, utilizando os reagentes CA e etilenodiamina (EDA) [52, 82, 83]. A

razão estequiométrica entre os reagentes também é um parâmetro importante durante a síntese dessas nanopartículas. Kokorina *et al.* [84] avaliaram diferentes estequiometrias de CA:EDA (1:0,5–1:6) e sugeriram que a proporção ideal entre esses reagentes para a produção dos CQDs está compreendida entre 1:1 e 1:2.

A compreensão dos fenômenos ocorridos durante a síntese dos CQDs por processos *bottom-up* é importante e desafiador. Apenas alguns grupos de pesquisa apresentaram resultados de natureza estrutural dessas investigações [70, 78, 84]. De acordo com a literatura, durante a síntese dos CQDs à base de CA e compostos contendo amina, é detectado inicialmente a presença de grupos funcionais amídicos no produto formado por uma simples reação de condensação intermolecular acompanhada de perda de moléculas de água (Figura 6) [70, 78, 81]. À medida que a reação progride, pequenas moléculas fluorescentes de fluoróforos (imidazo[1,2- α]piridina-7-ácido carboxílico-1,2,3,5-tetrahidro-5-oxo-, IPCA) com um espectro de FL intenso e elevado QY (~85%) são formadas [70]. Esses fluoróforos, sob aquecimento contínuo, sofrem polimerização e condensação, seguidos por carbonização que leva à formação do núcleo de carbono, dando origem aos CQDs [85]. Essas três espécies fotoluminescentes distintas [IPCA, clusters de polímeros (oligômeros) e núcleo de carbono] exibem comportamentos de emissão distintos. A superfície relacionada ao estado molecular possui forte emissão de FL com elevado QY e baixa fotoestabilidade, enquanto o centro relacionado ao núcleo de carbono possui fraca FL com alta fotoestabilidade [70]. Os pesquisadores acreditam que os CQDs sejam estruturas com núcleo de carbono de tamanho nanométrico com IPCA ou oligômero conectada à superfície/interior do núcleo por ligação covalente, interação supramolecular e/ou mistura física (Figura 1) [70, 85].

Como os fluoróforos moleculares predominam em baixas temperaturas, enquanto o núcleo carbogênico começa a se formar em temperaturas mais altas, o tamanho e o comportamento de FL dos CQDs podem ser modulados com base nas condições utilizadas para a sua síntese (reagentes, taxa de condensação, passivação da superfície, temperatura, tempo de reação, pH, etc.) [67, 70]. Nesse contexto, CQDs com estruturas e comportamentos de FL controláveis podem ser projetados e otimizados a fim de obter propriedades físico-químicas e ópticas desejáveis às diferentes aplicações.

Figura 6 – Processos de formação do IPCA, cluster de polímeros e núcleo de carbono, utilizando ácido cítrico e etilenodiamina como precursores



Fonte: adaptado de Song *et al.* (2018) [70]. Copyright © 2015 Royal Society of Chemistry.

Vale ressaltar que as espécies intermediárias formadas em cada processo são diferentes e diretamente dependentes da natureza química do precursor [83]. Cada molécula precursora e suas combinações podem contribuir com espécies intermediárias muito diferentes; no entanto, independentemente dessas espécies intermediárias, as principais etapas (polimerização, carbonização e formação de pontos de carbono) geralmente descrevem a preparação dos CQDs.

3.2.2. Propriedades espectroscópicas dos CQDs

Uma das características que tornam os CQDs materiais fascinantes são suas propriedades fotoluminescentes. Na literatura, essas propriedades têm sido atribuídas a diversos motivos, como seleção óptica de nanopartículas de tamanhos diferentes, defeitos e estados de superfície, grupos funcionais, passivação da superfície, entre outros [86]. Embora os CQDs possuam estruturas químicas altamente variadas, a maioria compartilha um espectro de absorvância na região do UV-Vis semelhante, com intensa absorção no UV e decaimento gradual à medida que se desloca para o vermelho. A absorvância é atribuída às transições $\pi-\pi^*$

do elétron conjugado (ligações aromáticas C=C) e $n-\pi^*$ do átomo de oxigênio (C=O) ou heteroátomo. O formato e as intensidades do espectro podem ser regulados por meio da dopagem com heteroátomos ou funcionalização da superfície [87].

A origem da FL dos CQDs ainda não foi totalmente elucidada, visto que a utilização de diferentes rotas de síntese e precursores produz materiais com características químicas e estruturais variadas, o que dificulta a obtenção de resultados uniformes [88]. Até o momento, várias hipóteses foram apresentadas, como a recombinação do par elétron-buraco, passivação/defeito de superfície, efeito quântico de confinamento, estado da superfície, *doping* de heteroátomos, estado de borda e efeito do estado do núcleo de carbono [88, 89]. Em particular, foi demonstrado por muitos grupos de pesquisa que grandes estruturas poliaromáticas e domínios sp^2 conjugados contribuíram eficientemente para o comprimento de onda longo e a fluorescência multicolorida dos CQDs [90]. Recentemente, a emissão aprimorada com desvio para vermelho foi demonstrada, manipulando o tamanho dos CQDs ou a sua estrutura química [87]. Para CQDs com núcleos cristalinos bem definidos, a FL geralmente depende bastante da dimensão da nanopartícula em virtude do efeito do tamanho quântico, no qual um aumento do tamanho leva à uma FL com desvio para vermelho, como resultado do estreitamento do intervalo entre o orbital molecular mais ocupado e o menor orbital molecular não ocupado [83]. Em muitos casos, o efeito do tamanho quântico não é observado, devido à interferência de defeitos de superfície, como grupos funcionais ou heteroátomos. Aqui, os defeitos de superfície agem como centros de recombinação radiativa ou não-radiativa de elétrons e buracos excitados, gerando assim a FL [88]. No entanto, a natureza dos defeitos ou grupos funcionais e sua contribuição para a emissão deslocada para o vermelho ainda é relativamente desconhecida. A funcionalização da superfície ainda é um dos métodos mais confiáveis para um ajuste adequado da FL dos CQDs. Por exemplo, CQDs ligados por grupos contendo nitrogênio, a partir de reações nucleofílicas de substituição e desidratação, demonstraram um *gap* de energia (em inglês *band gap*) ajustável de 1,30 a 2,23 eV e, consequentemente, uma FL sintonizável da emissão azul para a vermelha, devido à ressonância orbital das porções de nitrogênio presentes [86]. Além disso, os CQDs exibem comportamento sensível ao pH. A intensidade da FL tem uma relação linear em uma faixa de 2 a 9, aumentando significativamente com o aumento do pH. Em pH acima de 2,68, a superfície dos CQDs muda de carregada positivamente para carregada negativamente, devido à dissociação de grupos

funcionais amídicos e oxigenados (como carboxila e hidroxila), fazendo com que a intensidade da FL seja sintonizável em diferentes meios ácido/base [91].

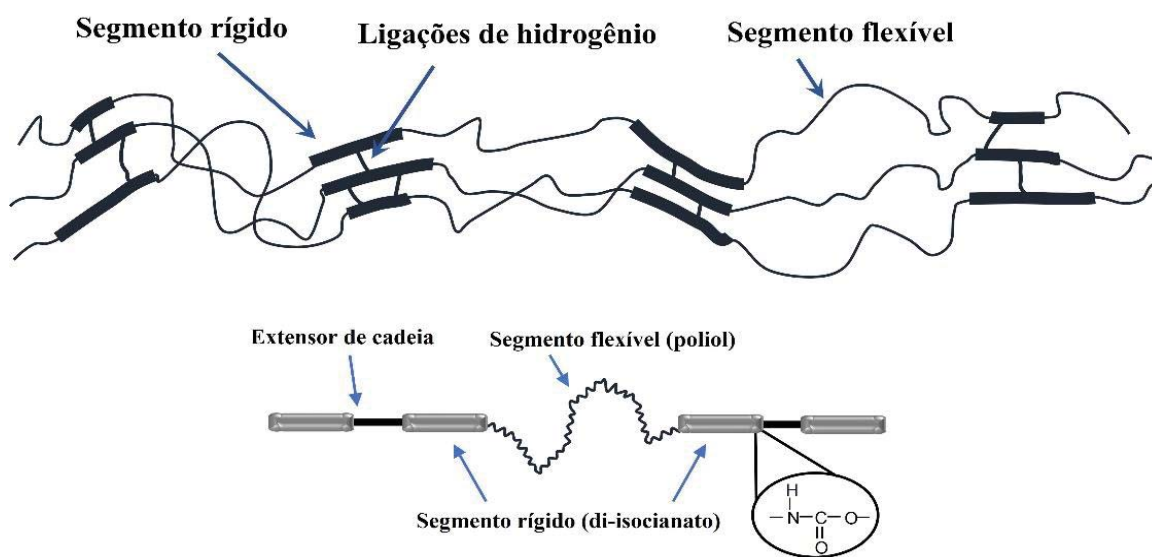
Essas vantagens exclusivas dão aos CQDs uma ampla gama de aplicações potenciais, inclusive na TFDA. No entanto, a maioria dos estudos dessas nanopartículas envolve sistemas em solução, o que limita o conhecimento a respeito da sua aplicação em dispositivos reais. A elevada quantidade de grupos funcionais na superfície dos CQDs, que por um lado é capaz de conferir excelente solubilidade em água e em solventes orgânicos polares a essas partículas, por outro lado pode impedir a obtenção de filmes finos uniformes. Além disso, o desempenho de fluorescência sólida de CQDs permaneceu inexplorado, principalmente porque a fluorescência dessas nanopartículas em estado sólido é seriamente extinta, impedindo a obtenção de dispositivos luminescentes [51, 92]. O emprego de métodos típicos para a deposição de suspensões desses materiais, como filtração a vácuo, deposição eletroforética ou revestimento por centrifugação, é mais dificultoso [51]. Nesse contexto, o uso de uma matriz polimérica como suporte pode facilitar a aplicação de CQDs. A matriz polimérica pode auxiliar na manutenção da fotoatividade em estado sólido e fornecer resistência mecânica e estabilidade catalítica adequadas à aplicação do nanocompósito. Para esse propósito, o WPU é uma alternativa atraente. Nesse caso, os CQDs solubilizam facilmente no meio polimérico, contribuindo para a dispersão, distribuição e fotoatividade dessas nanopartículas. Já foi reportado também que a incorporação *in situ* dos CQDs na matriz de WPU confere ao nanocompósito propriedades de auto-cura e resistências termomecânica e absorção de água significativamente melhoradas [25, 26, 28, 51, 93, 94]. Curiosamente, os filmes WPU/CQDs derivados exibem boa transparência, além de um forte desempenho fotoluminescente, confirmando a eficiência da matriz para impedir a extinção da FL no estado sólido.

3.3. Poliuretano à base de água (WPU)

Nos últimos anos, os PUs vêm sendo utilizados em diversas aplicações biomédicas, tais como cateteres, estofamento e roupas de cama hospitalares, dispositivos cardiovasculares, substratos de engenharia de tecidos, órgãos artificiais, implante mamário, curativos e adesivos [95-98]. Isto se deve à possibilidade de otimização das propriedades físico-químicas desses polímeros, o que também é capaz de conferir-lhes biocompatibilidade. A sua excelente transparência também os torna uma matriz ideal para a produção de materiais fluorescentes.

Os PUs são estruturalmente constituídos por dois blocos, produzidos geralmente por reações em etapas entre dióis e di-isocianatos, como pode ser observado na Figura 7. Os polióis compõem o segmento flexível, responsável pelas características elásticas do PU, semelhante aos elastômeros. O segmento rígido costuma ser formado pela reação de di-isocianatos e dióis de cadeia curta, empregados como extensores de cadeia, e afetam as características mecânicas do PU, como dureza, elasticidade e resistência ao rasgamento [95]. Existem também os PUs que não são à base de isocianatos, derivados de reações com carbonatos cíclicos e extensores de cadeia do tipo amina, dando origem à PU-ureia [99]. Devido à diferença de polaridade entre os segmentos rígido e flexível, estes são termodinamicamente incompatíveis, de modo que uma separação de fases leva a uma estrutura composta por microdomínios, que, dependendo da composição química, pode oferecer propriedades muito diferentes ao material [100, 101].

Figura 7 – Ilustração da estrutura das fases do poliuretano segmentado, constituído por segmentos rígidos e segmentos flexíveis

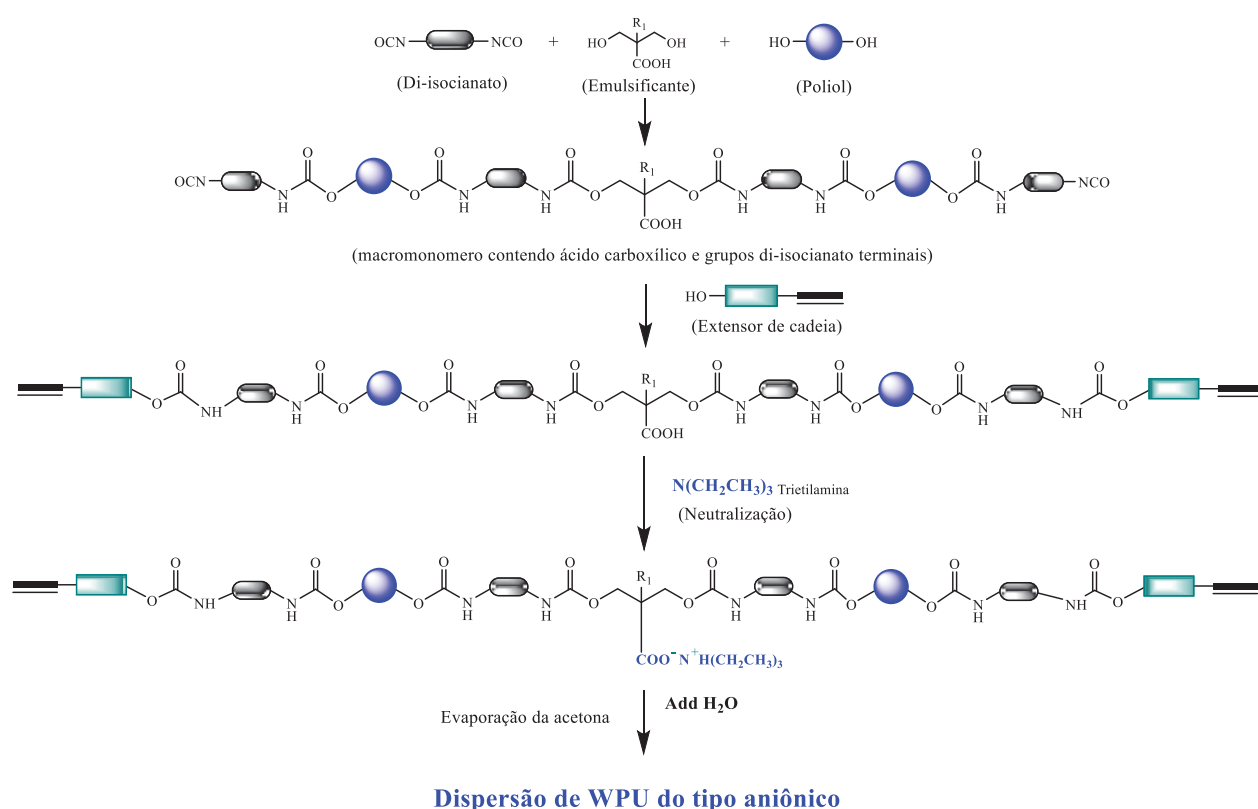


Fonte: adaptado de Javni *et al.* (2015) [102]. Copyright © 2015 Society of Chemical Industry.

Recentemente, o WPU surgiu como uma alternativa mais ecológica para a indústria de revestimento [20]. A produção de WPU traz muitas vantagens em relação aos PUs sintetizados em solventes orgânicos, tais como baixos níveis de compostos orgânicos voláteis, ausência de resíduos de isocianato, capacidade de formação de filmes à temperatura ambiente e melhores propriedades de resistência à abrasão e ao impacto [103]. Os WPU consistem em um sistema coloidal binário, no qual as partículas de PU (cilindros e domínios orientados aleatoriamente

com aparência geral de “esferas”), com tamanhos na faixa de 10–300 nm, são dispersas em um meio aquoso contínuo [27, 104]. A principal diferença química entre o PU convencional insolúvel em água e o WPU está na incorporação de segmentos hidrofílicos (grupos iônicos e/ou não iônicos) na cadeia do polímero por meio de agentes de reação (geralmente, dióis contendo grupos iônicos como ácido carboxílico, sulfonato ou sal de amônio quaternário). Dependendo da natureza desses grupos iônicos, o WPU pode ser classificado como catiônico, aniônico e não-aniônico [105]. Além disso, os WPUs podem ser produzidos por diferentes métodos, como polimerização em emulsão, polimerização em solução, polimerização via radicais livres [por transferência de cadeias (RAFT) e de átomos (ATRP)] e fusão [106]. O tipo de WPU mais importante e prático é o tipo aniônico que possui grupos carboxílicos ionizados pendentes, obtido em acetona por um processo de quatro etapas, conforme apresentado na Figura 8 [105, 107].

Figura 8 – Esquema reacional para a síntese do WPU aniônico



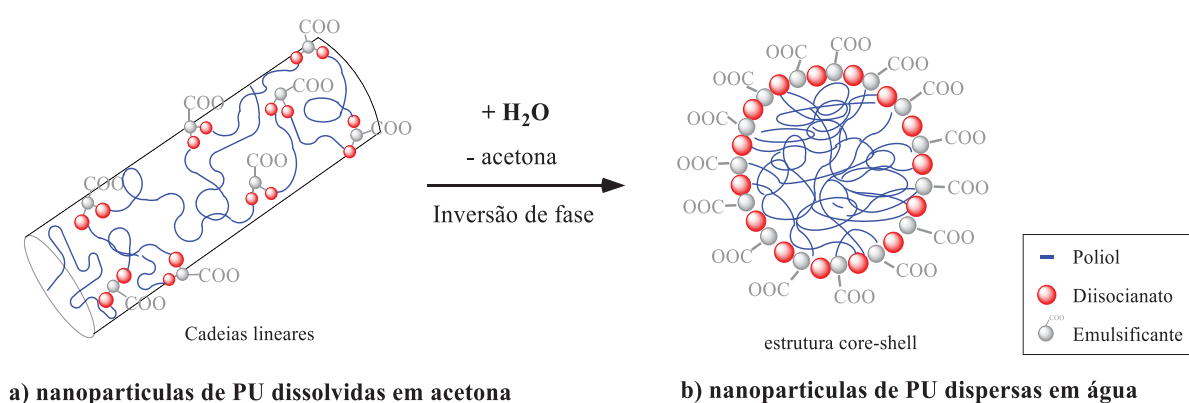
Fonte: adaptado de Dall Agnol *et al.* (2021) [108]. Copyright © 2021 Elsevier B.V.

No processo de produção do WPU, a primeira etapa consiste na formação de um pré-polímero terminado em isocianato ($-NCO$) por meio da reação do excesso de di-isocianato com um poliol de cadeia longa e/ou glicol de baixo peso molecular. Na segunda etapa, o pré-polímero contendo segmentos hidrofílicos é preparado por meio da incorporação de grupos iônicos na cadeia do polímero (por exemplo, ácido 2,2-bis (hidroximetil) propiônico, DMPA) juntamente com a adição de acetona, a fim de reduzir a viscosidade do meio. O DMPA não atua apenas como um emulsificante interno, mas também como um extensor de cadeia [109]. Embora os grupos hidrofílicos sejam essenciais para a dispersão iônica, eles retardam a secagem e reduzem a estabilidade hidrolítica dos revestimentos. Portanto, é importante minimizar o conteúdo do emulsificante o máximo possível, mantendo-se estável a dispersão. Quando o conteúdo do grupo hidrofílico ($-COOH$) no WPU é muito baixo, o polímero não pode ser completamente emulsionado e a emulsão é instável [110, 111]. O aumento da quantidade de emulsificante está diretamente relacionado à diminuição do diâmetro das partículas, devido à maior densidade de grupos iônicos e ao mecanismo estabilizador das dispersões de ionômeros. À medida que mais grupos carboxílicos são incorporados ao WPU, as propriedades de adesão, brilho, dureza, resistência ao impacto e flexibilidade do filme polimérico variam. Isso pode ser atribuído à maior fração de segmento rígido, o que induz uma maior interação entre cadeias por meio de forças coulômbicas e ligações de hidrogênio [105]. Com adição de acetona, a organização das cadeias de pré-polímero terminadas com isocianato ocorre na forma de soluções de PU (lineares ou reticuladas), nas quais segmentos rígidos e flexíveis são localizados aleatoriamente (Figura 9a). A acetona é escolhida para o controle da viscosidade do meio durante a etapa de crescimento da cadeia, pois é inerte em relação às reações de formação do PU, miscível em água e tem baixo ponto de ebulição com fácil remoção por destilação. Outra vantagem da acetona é que ela reduz a alta reatividade dos extensores de cadeia amina com isocianatos por meio da formação reversível de cetimina [105, 108].

Na terceira etapa da reação, uma amina terciária (por exemplo, TEA) é então usada para neutralizar os grupos carboxílicos e produzir centros iônicos que estabilizam as nanopartículas poliméricas em água. Finalmente, a dispersão de WPU é obtida, adicionando-se água sob agitação vigorosa à solução do polímero e o solvente introduzido (acetona) é então removido por destilação. Como resultado, as nanopartículas de PU se organizam em uma estrutura de núcleo-casca, na qual os segmentos flexíveis hidrofóbicos são cercados por segmentos rígidos hidrofílicos (Figura 9b) [104]. A transformação da solução orgânica em uma dispersão aquosa

ocorre em várias etapas. Segundo Dieterich [112], a adição de água em um estágio inicial leva a uma queda acentuada na viscosidade, devido a uma diminuição nas ligações iônicas. A ligação iônica formada pela neutralização do centro iônico é um processo reversível, e a água reduz as ligações iônicas entre as cadeias moleculares. À medida que mais água é adicionada no sistema (ou no meio), o segmento da cadeia hidrofóbica diminui, devido à redução da concentração de acetona e a interação hidrofóbica induzida pela cadeia hidrofóbica aumenta a viscosidade dessa cadeia. A incorporação adicional de água leva à turbidez e à formação de uma fase dispersa, seguida do rearranjo para microesferas, nas quais os íons são formados na superfície das partículas do agregado, resultando em redução da viscosidade. Alguns estudos sugeriram que as moléculas de água são primeiramente adsorvidas na superfície das redes microiônicas do segmento rígido e depois continuamente introduzidas nesses domínios de forma desordenada e ordenada [113]. Esses fenômenos são importantes, pois a dispersão da água interfere na ordenação do domínio rígido, resultando em uma separação de fases entre os segmentos do polímero. Como produto resultante da síntese do WPU são obtidas nanopartículas esféricas de PU aniônico com um diâmetro médio de 20–250 nm dispersas estavelmente em água, com um potencial zeta variando de -40 a -65 mV, e um índice de dispersão de tamanho de partícula relativamente estreito (0,05 a 0,22) [27, 95, 109].

Figura 9 – Morfologia do WPU dissolvido em (a) acetona e (b) água



Fonte: adaptado de Serkis-Rodzeń *et al.* (2017) [109]. Copyright © 2017 Elsevier B.V.

A estabilidade da dispersão, a dimensão das partículas e as propriedades do produto final são influenciadas por certas características, como o teor de grupos iônicos, a razão molar entre os segmentos rígidos/flexíveis e a estrutura química dos precursores. As condições de reação, tais como temperatura, velocidade de agitação, ordem e taxa de alimentação de

componentes também têm um efeito significativo nas propriedades do WPU [98, 100]. A compreensão da morfologia das partículas resultantes da síntese também é importante, pois a agregação dessas nanopartículas, que interconectam-se diretamente com os vizinhos mais próximos para formar uma rede que ocupa o volume total da dispersão, reflete notavelmente no processo de formação de filmes de WPU e nas propriedades finais do material [104]. Esse fenômeno de agregação das nanopartículas para a formação de filmes é extremamente complexo, devido à ocorrência simultânea de vários processos físico-químicos paralelos que incluem evaporação de água, reações de reticulação, separação de fases e coalescência de gotículas e outros [114]. Na busca de dispersões com melhores propriedades, compreender os processos de formação dessas microestruturas é extremamente útil para modificar e projetar nanopartículas com tamanhos, formas e densidades de reticulação desejados.

Apesar das vantagens mencionadas anteriormente, os WPUs apresentam taxas lentas de secagem e baixa resistência à água e à umidade, devido à inclusão de grupos iônicos hidrofílicos ou segmentos solúveis [115]. A baixa resistência ao risco, a dureza e o módulo elástico relativamente baixo também são limitações desses materiais. Algumas estratégias podem ser utilizadas para melhorar essas limitações, tais como a graftização de monômeros hidrofóbicos nas cadeias do polímero, a alteração do teor e do tipo de centros iônicos, o ajuste no grau de neutralização iônica, a mistura com outros polímeros, a copolimerização, a reticulação e a incorporação de nanocargas [116].

O WPU modificado com grupos acrílicos durante a síntese para formar um polímero contendo ligações duplas, que pode ser usado numa polimerização adicional ou cura por UV, é um dos métodos mais eficientes [117, 118]. As dispersões de WPUs curáveis por UV apresentam melhor desempenho mecânico e químico quando comparadas a materiais baseados em PUs lineares [118-120]. Além disso, em virtude da polifuncionalidade superficial dos CQDs que serão introduzidos aos WPUs, é possível que se formem regiões reticuladas na matriz do polímero, as quais poderão contribuir ainda mais para o aumento das propriedades mecânicas. Portanto, torna-se fundamental compreender os efeitos da incorporação de nanopartículas com polifuncionalidade nas cadeias do WPU, principalmente em termos de propriedades físico-químicas, reológicas, mecânicas e térmicas. Informações mais detalhadas a respeito dos WPUs fotocuráveis e da influência dos componentes da formulação do WPU nas propriedades finais do material podem ser encontradas nos Anexos II e III.

Capítulo 4 – Materiais e Métodos

Neste capítulo serão apresentadas a metodologia experimental e os ensaios utilizados para que os objetivos propostos sejam alcançados. Serão descritas inicialmente as técnicas empregadas na preparação e caracterização dos CQDs [espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR), espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), microscopia de força atômica (AFM) espectroscopia ultravioleta-visível e espectroscopia de fluorescência]. Em seguida, serão abordadas as condições de síntese dos nanocompósitos WPU/CQDs e as técnicas utilizadas na caracterização dos filmes obtidos [FTIR, espalhamento dinâmico de luz (DLS), resistência à tração, análise dinâmico-mecânica (DMA), reologia, calorimetria diferencial de varredura (DSC), análise termogravimétrica (TGA), energia livre de superfície, parâmetro de solubilidade de Hansen (HSP), espectroscopia UV-Vis e colorimetria]. Por fim, será apresentada a metodologia aplicada para a verificação da eficiência dos filmes na geração de $^1\text{O}_2$, sua citotoxicidade *in vitro* e atividade fotodinâmica antibacteriana.

4.1. Materiais utilizados

Os materiais a seguir foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich e utilizados como recebidos, sem nenhuma purificação adicional (exceto quando mencionado): ácido cítrico (CA, 99,5% em peso de pureza), etilenodiamina (EDA, $\geq 99\%$ em peso de pureza), trietilamina (TEA, 99,5% em peso de pureza), dilaurato de dibutilestanho (DBTDL, 95%), sulfato de quinina, diisocianato de 1,6-hexametileno (HDI, $+99\%$ em peso de pureza), 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF), ácido 2,2-bis(hidroximetil) propiônico (DMPA, 98%), Meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM), soro bovino e solução salina tamponada com fosfato (PBS). O polycarbonatodiol alifático com massa molar de 2000 g/mol e um índice de hidroxila de 56,3 mg KOH/g (PCD, $M_w = 2000$ g/mol), constituído por uma mistura de pentano-1,5-diol e hexano-1,6-diol (marca registrada Eternacoll PH200), foi adquirido da empresa UBE Corporation Europe (Espanha). Antes do uso, os reagentes DMPA e PCD foram secos em estufa a 100 °C por 4 h. Todos os solventes são de grau analítico e foram utilizados como recebidos. Água ultrapura (≥ 18.25 M Ω .cm) foi utilizada nos experimentos.

4.2. Síntese dos CQDs

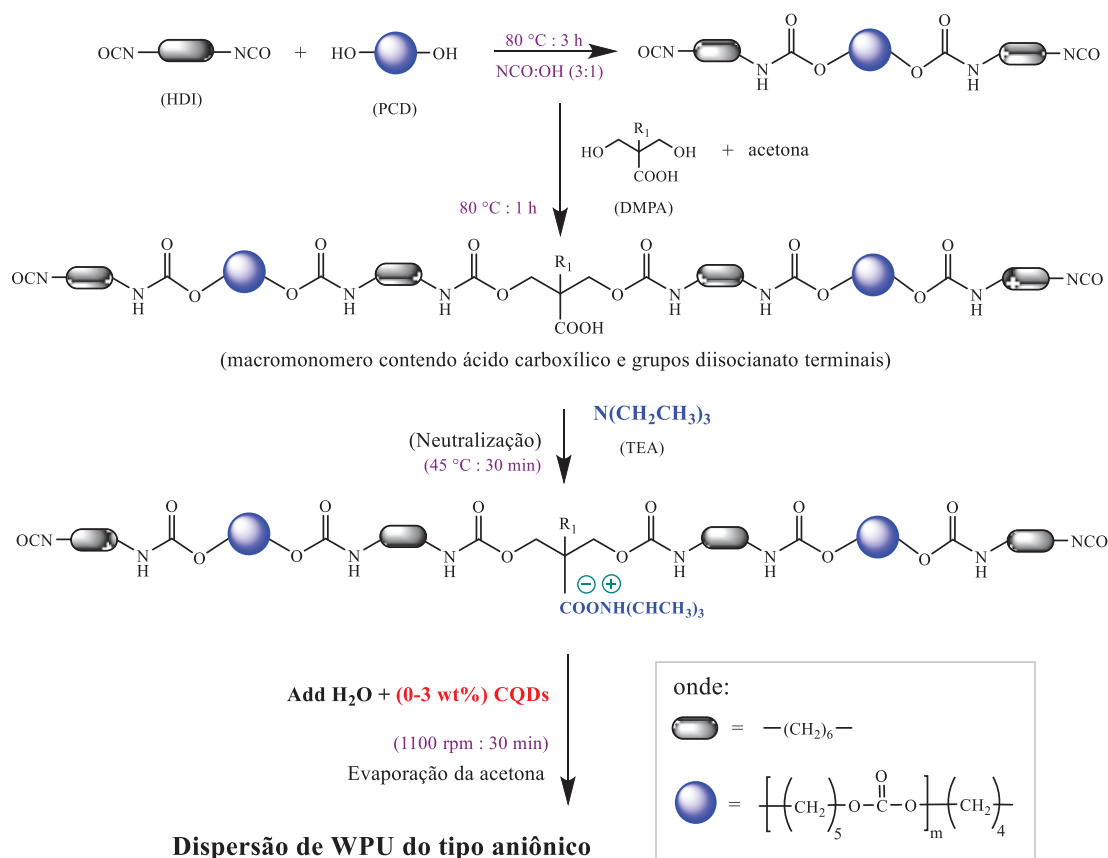
Os CQDs foram sintetizados por pirólise assistida por micro-ondas, a partir dos reagentes CA e EDA, de acordo com a literatura [70, 82, 121]. Resumidamente, os reagentes com razão molar de 1:1 foram dissolvidos em 10 mL de água ultrapura, sob agitação (180 rpm) durante 10 min. Em seguida, a solução foi aquecida em um forno de micro-ondas doméstico adaptado (650 W) durante 6 min. O sólido marrom-avermelhado resultante foi dissolvido e dialisado em água ultrapura por meio de uma membrana de diálise (MWCO = 1000) durante 3 dias. Após a diálise, os CQDs foram obtidos por secagem a 65 °C em estufa com pressão reduzida. O rendimento da reação foi de aproximadamente 78% em massa.

4.3. Síntese dos nanocompósitos WPU/CQDs

Os nanocompósitos WPU/CQDs foram preparados conforme o esquema reacional apresentado na Figura 9. Os parâmetros de reação foram selecionados com base nas literaturas [109, 122]. Inicialmente, os reagentes HDI, PCD e DBTDL (0,03% em massa com base no conteúdo total de HDI e PCD) foram adicionados a um balão reacional de quatro bocas, equipado com agitador mecânico, banho de óleo, condensador, funil de gotejamento e entrada para fluxo de nitrogênio. A razão molar de NCO:OH foi definida em 3:1. A reação foi mantida a 80 °C durante 4 h, sob atmosfera de nitrogênio e agitação constante (180 rpm) para formação do pré-polímero com terminação –NCO. Em seguida, o reagente DMPA (8% em massa com base no conteúdo total de HDI e PCD) foi adicionado lentamente ao balão e a reação foi mantida por mais 2 h a 80 °C. Sempre que necessário, foi adicionada acetona para controlar a viscosidade da mistura. Após a reação de polimerização, a temperatura foi reduzida para 45 °C e o reagente TEA (razão molar de DMPA:TEA de 1:1,2) foi então adicionado ao meio, sob agitação por mais 45 min, para a neutralização dos grupos –COOH na cadeia lateral do pré-polímero. Finalmente, o pré-polímero foi disperso em soluções aquosas contendo os CQDs (0 – 3% em massa, com base no conteúdo total de HDI e PCD), sob agitação vigorosa (1100 rpm) durante 30 min. Os resíduos de acetona e de TEA foram completamente removidos por destilação à pressão reduzida (60 °C por 1 h). O teor de sólidos da dispersão obtida foi de aproximadamente 30% em massa. Cinco nanocompósitos denominados WPU0, WPU0,5, WPU1, WPU2 e WPU3 foram preparados a partir de teores de 0, 0,5, 1,0, 2,0 e 3,0% em massa de CQDs, respectivamente. Para a confecção dos filmes nanocompósitos, 50 mL das dispersões

foram vertidas em moldes de Teflon de 15 x 12 mm. Os nanocompósitos foram secos à temperatura ambiente durante 5 dias para a evaporação lenta do solvente, seguida por aquecimento a 50 °C em estufa à pressão reduzida por mais 72 h. A espessura dos filmes foi fixada em aproximadamente 3 mm.

Figura 10 – Esquema reacional para a preparação dos nanocompósitos de WPU/CQDs



4.4. Caracterização dos CQDs

4.4.1. Estrutura química e morfologia

A obtenção da estrutura química desejada para os CQDs foi monitorada por meio das técnicas de FTIR e XPS. Os espectros de FTIR foram obtidos em um espectrômetro Perkin Elmer Impact 400, (4000–400 cm⁻¹, 64 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹), utilizando-se o acessório de refletância total atenuada (ATR, diamante a 45°) disponível no Laboratório de Caracterização de Materiais da UCS. A análise de XPS foi realizada no Laboratório Multiusuário de Análises de Superfícies (LAMAS) da UFRGS, em um espectrômetro de

fotoelétrons de raios-X Omicron EA 125 com radiação $AlK\alpha$ operando a 1486,6 eV. O procedimento de deconvolução dos espectros obtidos foi realizado utilizando-se o *software* PeakFit, versão 4.12.

A morfologia dos CQDs foi investigada por TEM e AFM. As imagens de TEM foram obtidas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em um microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM-1011 com voltagem de aceleração de 100 kV. As imagens de AFM foram obtidas no Laboratório Central de Microscopia e Microanálise (LabCEMM) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), a partir de um equipamento Dimension Icon (Bruker) equipado com uma ponteira scanasyst-air (Bruker), frequência de 190 kHz, em modo de contato intermitente. Antes das análises, gotas de uma solução aquosa diluída dos CQDs (1,0 mg/mL) foram depositadas sob uma grade (*grid*) de cobre revestida com filme ultrafino de carbono (Carbon film 300 mesh, Copper) para a análise de TEM e em um substrato de silício para as análises de AFM e posterior secagem à temperatura ambiente. As imagens obtidas por TEM foram utilizadas para avaliar a distribuição de tamanho dos CQDs por meio da medição de aproximadamente 100 nanopartículas, utilizando o *software* de análise de imagens, ImageJ.

4.4.2. Absorvância na região do UV-Vis e fotoluminescência

As análises de espectroscopia de absorção no UV-Vis foram realizadas no Laboratório de Caracterização de Materiais da UCS, e foram obtidas em um espectrofotômetro UV-2600i (Shimadzu, Japão) na faixa de comprimento de onda de 200–600 nm e um intervalo de 0,2 nm. Os espectros de emissão de FL foram registrados em um espectrofluorímetro Perkin Elmer LS 45, a partir de um comprimento de onda de excitação de 360 nm, na faixa de comprimento de onda de 350 – 600 nm, com abertura das fendas de excitação e emissão igual a 10 nm e uma velocidade de varredura de 500 nm/min. Para os experimentos de UV-Vis e FL, foi utilizada água deionizada como solvente e cubeta de quartzo com caminho óptico igual a 1 cm. A concentração das amostras foi escolhida de tal forma que, no comprimento de excitação correspondente ao máximo de emissão, o valor da absorvância fosse inferior a 0,1 [70].

4.4.3. *Rendimento quântico (QY)*

O QY das soluções de CQDs foi determinado por um método comparativo, utilizando-se uma solução de sulfato de quinina em H_2SO_4 0,1 M (QY = 54%) como amostra padrão, conforme descrito na literatura [123]. As absorvâncias das soluções no comprimento de onda de excitação (360 nm) foram medidas em um espectrofotômetro UV-2600i (Shimadzu, Japan), utilizando uma cubeta de quartzo com caminho óptico igual a 1 cm, na região entre 200–700 nm. Seis soluções com concentrações decrescentes de sulfato de quinina e também seis soluções com teores decrescentes de CQDs (a primeira concentração medida foi de 5 mg/L e as concentrações seguintes foram diluídas com 10% a partir da concentração anterior) foram testadas nas medições. Posteriormente, os espectros de emissão de FL dessas soluções foram registrados por um espectrofluorímetro Perkin Elmer LS 45, utilizando-se um comprimento de onda de excitação de 360 nm para a obtenção da área sob a curva de FL entre 300–700 nm. As curvas de intensidade de fluorescência integrada vs. absorvância foram plotadas. A regressão linear dos dados com intercepto em zero fornece os valores absolutos do QY, de acordo com a Eq. (1):

$$QY_S = QY_Q \left(\frac{K_S}{K_Q} \right) \left(\frac{\eta_S^2}{\eta_Q^2} \right) \quad (1)$$

onde os termos subscritos Q e S denotam padrão de sulfato de quinina e solução de CQDs, respectivamente; K é o coeficiente angular da regressão linear e η é o índice de refração do solvente utilizado (para soluções aquosas, $\eta_S/\eta_Q = 1$). A concentração das amostras foi escolhida de tal forma que, no comprimento de excitação correspondente ao máximo de emissão de cada solução, o valor da absorvância fosse inferior a 0,1.

4.5. **Caracterização dos nanocompósitos de WPU/CQDs**

4.5.1. *Estrutura química e distribuição de tamanho*

A estrutura química dos nanocompósitos foi investigada por meio da técnica de FTIR. O equipamento e a metodologia utilizados foram os mesmos daqueles descritos no item 4.4.1.

Para a obtenção de informações mais detalhadas a respeito das interações químicas entre os CQDs e o WPU foi realizada a deconvolução dos espectros de FTIR na região

correspondente à absorção do grupo C=O, utilizando-se o *software* PeakFit® de acordo com Niemczyk [124]. As equações $[X_o = A_{1690}/(A_{1690} + A_{1711} + A_{1740})]$, $[X_d = A_{1711}/(A_{1690} + A_{1711} + A_{1740})]$, e $[X_b = (X_o + X_d)]$ foram utilizadas para analisar a área das três regiões deconvoluídas. Nessas equações, o termo A representa a área das bandas localizadas em 1690 cm^{-1} , 1711 cm^{-1} e 1740 cm^{-1} , X_b representa o grau relativo de ligações de hidrogênio, X_o representa a porcentagem de ligações de hidrogênio ordenadas e X_d representa a porcentagem de ligações de hidrogênio desordenadas.

A avaliação da distribuição de tamanho das nanopartículas de WPU e o efeito da adição dos CQDs na estrutura química do polímero foi realizada no Instituto de Materiais Cerâmicos (IMC) da UCS, utilizando o equipamento de espalhamento dinâmico de luz (DLS; Delsa™ Nano Series, Beckman Coulter), composto por diodo de laser (30 mW, $\lambda = 658\text{ nm}$), fonte de luz a um ângulo de dispersão de 165° , temperatura de 25°C , cubeta de polietileno com 1 cm de caminho óptico, 1 leitura com duração de 300 s e uma concentração de amostra de 5 mg/mL. Para todas as análises, foram consideradas as propriedades da água como solvente: viscosidade de 0,89 cP e índice de refração de 1,3310. A distribuição de tamanho das nanopartículas foi reportada em termos de diâmetro efetivo (nm). Todas as medidas experimentais foram realizadas em triplicata.

O peso molecular dos nanocompósitos foi investigado no Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) por meio da técnica de cromatografia de exclusão por tamanho (SEC), em um cromatógrafo Malvern HT-GPC (detector de índice de refração), usando tetraidrofurano com 1% de BHT como estabilizante, concentração de amostra de 5 mg/mL, vazão de 1 mL/min, volume injetado de 20 μL , temperatura das colunas de 45°C . Padrões de poliestireno foram usados para a curva de calibração.

4.5.2. Caracterização térmica

As propriedades térmicas dos nanocompósitos foram avaliadas pelas técnicas de DSC e TGA. As análises de DSC foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Análise Térmica (LAMAT) da UFRGS, utilizando um equipamento DSC Q2000 (TA Instruments), sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min) e taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. As amostras ($\sim 10\text{ mg}$) foram seladas em cadinhos de alumínio, aquecidas de -80°C a 180°C , e mantidas

nesta temperatura por 3 min para eliminar o seu histórico térmico. Em seguida, as amostras foram resfriadas a -80°C , mantidas nesta temperatura por 3 min e reaquecidas até 180°C . As análises de TGA foram realizadas no Laboratório de Polímeros (LPOL) da UCS, utilizando um equipamento TGA-50 Shimadzu, com aquecimento de $25\text{--}800^{\circ}\text{C}$, sob quatro taxas de aquecimento ($\beta = 5, 10, 20$ e $40^{\circ}\text{C}/\text{min}$) e atmosfera de N_2 ($50\text{ mL}/\text{min}$).

O mecanismo cinético de degradação térmica dos materiais foi avaliado por meio do tratamento das curvas de TGA pelo método de Friedman (FR), no qual é possível calcular-se o tripleto cinético, composto pela energia de ativação (E_a), pelo fator pré-exponencial (A) e pela função cinética $f(a)$ do mecanismo reacional [125]. O método de FR é um método diferencial linear no qual, por meio de relações diretas, $[\ln(da/dt)]$ vs. $1/T$ resulta em um valor de inclinação para $(-E_{aFR}/R)$ e o intercepto é o valor de A , conforme descrito pela Eq. (2) [125]:

$$\ln\left(\frac{d\alpha}{dt}\right) = \ln(A f(\alpha)) - \frac{E_{aFR}}{RT} \quad (2)$$

onde, da/dt é a taxa de degradação (min^{-1}), A é o fator pré-exponencial (min^{-1}), E_{aFR} é a energia de ativação (kJ/mol), R é a constante dos gases ($8,3144\text{ J}/\text{mol}\cdot\text{K}$), T é a temperatura absoluta (K), $f(\alpha)$ representa a função do modelo hipotético que descreve o mecanismo de reação e α é a conversão fracionária. Em um experimento não isotérmico, α pode ser calculado pela Eq. (3):

$$\alpha = \frac{w_0 - w_t}{w_0 - w_f} \quad (3)$$

onde w_0 e w_t representam a massa da amostra no tempo $t = 0$ e $t = t$, respectivamente, e w_f é a massa final da amostra.

A correlação entre os parâmetros cinéticos e termodinâmicos do processo investigado resulta da combinação das leis de Arrhenius e Eyring pela Eq. (4) [126]:

$$A = \left(\frac{e\chi k_B T_p}{h}\right) \exp\left(\frac{\Delta S^*}{R}\right) \quad (4)$$

onde A é o fator pré-exponencial obtido a partir do método FR; $e = 2,7183$ é o número de Neper; k_B é a constante de Boltzmann ($1,3806 \times 10^{-23}\text{ J}/\text{K}$); χ é o fator de transição (igual a 1 unidade para reações monomoleculares); h é a constante de Planck ($6,6261 \times 10^{-34}\text{ J}\cdot\text{s}$) e T_p é a média da temperatura máxima (K) no pico das curvas de análise térmica diferencial (DTA) a partir

das quatro taxas de aquecimento. A variação de entropia envolvida na degradação térmica pode ser determinada pela Eq. (5):

$$\Delta S^* = R \ln \left(\frac{Ah}{e\chi k_B T_p} \right) \quad (5)$$

A variação da energia livre de Gibbs (ΔG^*) do complexo de ativação pode ser obtida por meio da conhecida teoria termodinâmica [$\Delta H^* = E_{aFR} - R T_p$] e [$\Delta G^* = \Delta H^* - T_p \Delta S^*$]. As variáveis entalpia de ativação (ΔH^*), entropia de ativação (ΔS^*) e ΔG^* foram calculadas adotando-se a temperatura a 5% de degradação ($T_p = T_{5\%}$).

A resistência térmica foi calculada usando a E_{aFR} de Arrhenius gerada pelos dados de decomposição termogravimétrica de acordo com ASTM E1877-15 utilizando a Eq. (6):

$$\log[t_f] = E_{aFR}/[(2.303 R T_{5\%}) + \log[E_{aFR}/(R \beta)] - \alpha] \quad (6)$$

onde t_f é a resistência térmica estimada (vida térmica) tomada como critério de falha (min) e $T_{5\%}$ é a temperatura a 5% de degradação (K).

4.5.3. *Propriedades dinâmico-mecânicas (DMA)*

O comportamento sólido viscoelástico linear dos nanocompósitos de WPU/CQDs foi investigado no Laboratório de equipamentos do Departamento de Química Orgânica da UFRGS, em um equipamento DMA 850 (TA Instruments), utilizando a geometria de filmes. Os experimentos foram realizados na faixa de temperatura de -60 °C a 80 °C, amplitude de oscilação de $\pm 5,0 \mu\text{m}$ (regime viscoelástico linear), frequência de 1 Hz e taxa de aquecimento de 3 °C/min sob atmosfera de nitrogênio. Foram utilizadas amostras com dimensões de 15,0 mm $\times$ 6,0 mm $\times$ 1,0 mm.

4.5.4. *Propriedades reológicas*

As medições de reometria em regime de cisalhamento oscilatório em pequena amplitude (SAOS) foram realizadas no Departamento de Química Orgânica da UFRGS, utilizando-se um reômetro Anton Parr MCR 101 equipado com geometria placa-placa (25 mm de diâmetro e 0,5 mm de distância entre placas). As análises foram realizadas a 120 °C no modo de varredura

de frequência (0,1–100 rad/s) e amplitude de deformação de 1% (dentro do regime viscoelástico linear).

A relação de Cox–Merz foi utilizada para converter os dados dinâmicos em valores de viscosidades de escoamento permanente e os perfis de viscosidade complexa (η^*) foram ajustados a partir do modelo de Cross [Eq. (8)] [127] por meio do algoritmo *Orthogonal Distance Regression* (Pro) [128]. Esse modelo foi utilizado para descrever fluidos que apresentam regiões de comportamento Newtoniano e pseudoplástico.

$$\eta(\dot{\gamma})|_{\dot{\gamma} \rightarrow 0} = \eta^*(\omega)|_{\omega \rightarrow 0} \quad (7)$$

$$\eta(\dot{\gamma}) = \frac{\eta_0}{1 + (\lambda \cdot \dot{\gamma})^m} \quad (8)$$

onde η é a viscosidade dependente de cisalhamento, η_0 é a viscosidade complexa a frequência zero, $\dot{\gamma}$ representa a taxa de cisalhamento, ω é a frequência angular, λ é um parâmetro dependente do tempo associado à transição de platô newtoniano e $m = 1-n$ (onde n é o índice de lei de potência, parâmetro adimensional). Quando $m \rightarrow 1$ = comportamento pseudoplástico, $m \rightarrow 0$ = comportamento newtoniano.

4.5.5. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas (resistência à tração e alongamento na ruptura) dos nanocompósitos foram avaliadas na empresa Mantoflex Indústria de Plásticos Ltda., em uma Máquina Universal de Ensaio Emic DL2000, de acordo com a norma ASTM D638. Sete corpos de prova (10 cm × 1 cm × 0,3 cm) foram tracionados a uma velocidade de 50 mm/min até a ruptura. Os ensaios de dureza foram realizados de acordo com a norma ASTM D2240, em um equipamento analógico Bareiss Shore A, utilizando placas de 6 mm de espessura e tempo de medição de 3 s. Durante todos os ensaios mecânicos, a temperatura e a umidade relativa da sala foram mantidas controladas a 23 ± 2 °C e $36 \pm 2\%$, respectivamente.

4.5.6. Parâmetro de solubilidade de Hansen (HSP)

Hansen [129] descreveu o parâmetro de solubilidade global de sistemas, δ ou HSP, como a combinação de três componentes, considerando interações dispersivas (δ_D), polares (δ_P) e ligação de hidrogênio (δ_H), sendo denominados HSP. Ele também definiu um diagrama de solubilidade 3D (δ_D , δ_P , δ_H) onde uma esfera de solubilidade com um raio R_0 (indicativo da tolerância máxima da solução) pode ser definida para moléculas grandes. A construção deste diagrama é feita com base em testes de solubilização do sistema polimérico em solventes com HSP conhecidos, e posterior ajuste dos dados à uma esfera que engloba os bons solventes do componente no espaço 3D, conforme descrito em [130, 131]. A compreensão do HSP dos materiais é uma ferramenta útil que pode ser utilizada para a verificação da compatibilidade entre os materiais em solução, entender como o processo de solubilização ou dissolução ocorre e quais variáveis estão envolvidas neste processo. Neste caso, facilita de forma rápida e eficiente, a escolha do solvente mais apropriado para a solubilização do revestimento. Os HSPs dos nanocompósitos WPU/CQDs foram avaliados em trinta e cinco solventes diferentes, de forma a classificá-los como solventes bons (sistemas monofásicos) ou ruins (sistemas bifásicos). Diferentes solventes (com vários valores de HSP) foram selecionados com o objetivo de preencher todo o diagrama de espaço 3D (vide informações na Tabela 8). Para cada frasco de vidro contendo 3 mL de solvente, foram adicionados 10 mg de filme. Os frascos foram selados com uma rolha adequada para evitar a evaporação do solvente. Os filmes (WPU controle e o nanocompósito com propriedades físico-mecânicas mais interessantes) foram então mantidos no solvente por 20 dias a 45 °C. O comportamento dos filmes foi observado por inspeção visual. Todas as medidas experimentais foram realizadas em triplicata. Caso o filme permanecesse intacto após esse período, o solvente era considerado incompatível ou insolúvel (valor = 0). Os solventes para os quais os filmes estavam bem dissolvidos após 20 dias foram classificados como solúveis ou compatíveis (valor = 1). Os HSPs dos nanocompósitos (δ_D , δ_P , δ_H e R_0) foram estimados ajustando os dados de dispersão à esfera de solubilidade 3D por meio do algoritmo descrito por Gharagheizi (*fminsearch* implementado ao *software* Matlab®) [131, 132]. Este algoritmo encontra as melhores soluções, pois os valores da função $1 - data_fit$ tendem a 0. Isso significa que todos os solventes para os materiais testados estão localizados dentro da esfera HSP, enquanto os não solventes estão fora dela.

4.5.7. Energia livre de superfície

A energia superficial dos filmes foi determinada de acordo com o Método de Owens–Wendt [133], o qual se baseia nas medidas de ângulo de contato entre uma superfície e um líquido com tensão superficial conhecida. Owens–Wendt desenvolveram a idéia de que a energia livre de superfície é composta por duas componentes, a componente Lifshitz-van der Waals (contribuição dispersiva, γ^D) e os dipolos/componente ácido-base de Lewis (contribuição polar, γ^P). As contribuições γ^P e γ^D para a energia livre de superfície podem ser expressas pelas Eq. (9) e (10) para líquidos (γ_L) e sólidos (γ_S), respectivamente:

$$\gamma_L = \gamma_L^D + \gamma_L^P \quad (9)$$

$$\gamma_S = \gamma_S^D + \gamma_S^P \quad (10)$$

Em líquidos puros, a interação entre o líquido e o sólido pode ser descrita em termos de trabalho de adesão reversível, conforme a Eq. (11) [134].

$$W_a = 2 \cdot \left(\sqrt{\gamma_S^D \cdot \gamma_L^D} + \sqrt{\gamma_S^P \cdot \gamma_L^P} \right) \quad (11)$$

Sabendo que ($W_a = \gamma_{LV} + \gamma_{SV} - \gamma_{SL}$) e ($\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cdot \cos \theta$), resulta na Eq. (12):

$$\frac{\gamma_L(1 + \cos \theta)}{2\sqrt{\gamma_L^D}} = \sqrt{\gamma_S^P} \sqrt{\frac{\gamma_L^P}{\gamma_L^D}} \sqrt{\gamma_S^D} \quad (12)$$

A relação linear anterior escrita em termos da variável independente $(\gamma_L^P \cdot \gamma_L^D)^{\frac{1}{2}}$ e da variável dependente $\gamma_L(1 + \cos \theta)/2\sqrt{\gamma_L^D}$ permite determinar a raiz quadrada dos componentes dispersivos e polares da energia livre de superfície do sólido. A inclinação entre os pontos dos líquidos será igual a $\sqrt{\gamma_S^P}$, e a interceptação será igual a $\sqrt{\gamma_S^D}$.

As medidas do ângulo de contato foram realizadas no Laboratório de Caracterização de Materiais da UCS, em um instrumento SEO® Phoenix100 (Coréia), utilizando quatro líquidos a 23 ± 2 °C com parâmetros de tensão superficial (γ_L), componente dispersiva (γ_L^D) e componente polar (γ_L^P) bem definidos [135]: água destilada ($\gamma_L^P = 51.0$ mJ/m²; $\gamma_L^D = 21.8$ mJ/m²; $\gamma_L = 72.8$ mJ/m²), glicerina ($\gamma_L^P = 29.7$ mJ/m²; $\gamma_L^D = 33.6$ mJ/m²; $\gamma_L = 63.3$ mJ/m²), dimetil sulfóxido (DMSO; $\gamma_L^P = 8.0$ mJ/m²; $\gamma_L^D = 36.0$ mJ/m²;

$\gamma_L = 44.0 \text{ mJ/m}^2$) e hexadecano ($\gamma_L^P = 0.0 \text{ mJ/m}^2$; $\gamma_L^D = 27.6 \text{ mJ/m}^2$; $\gamma_L = 27.6 \text{ mJ/m}^2$). Para evitar erros relacionados à ação da gravidade na gota sêssil, o volume de gotas foi ajustado para $5 \mu\text{L}$ para todos os experimentos. O ângulo de contato foi medido pelo menos dez vezes em diferentes locais da superfície dos filmes para a consideração do valor médio. Antes do ensaio, a superfície dos filmes foi limpa com álcool etílico para remover possíveis contaminações de manuseio.

4.5.8. Lixiviação dos CQDs em meio aquoso

O comportamento de lixiviação em meio aquoso do nanocompósito WPU/CQDs que apresentou as propriedades físico-mecânicas mais interessantes foi estudado no Laboratório de Caracterização de Materiais da UCS, utilizando um espectrofotômetro UV-2600i (Shimadzu, Japão) na faixa de comprimento de onda de 250–600 nm. A análise foi executada da seguinte forma: amostras com aproximadamente 0,2 g foram mergulhadas em 3 mL de água ultrapura por 1700 h. A absorvância UV-Vis da água na qual os nanocompósitos foram imersos foi medida periodicamente, utilizando-se cubeta de quartzo com caminho óptico igual a 1 cm, a fim de monitorar qualquer lixiviação dos CQDs do polímero para a solução circundante. Todos os experimentos foram feitos em triplicata. A curva de calibração para a quantificação do teor de CQDs lixiviado foi igualmente construída com o auxílio dessa técnica no intervalo de concentração de 10 mg/L a 100,0 mg/L de CQDs, utilizando água deionizada como solvente. A comparação da absorvância a 360 nm da água no qual o nanocompósito foi imerso com a curva de calibração dos CQDs permitiu determinar a concentração de CQDs que foi lixiviada do WPU para a solução.

4.5.9. Absorção de água

O comportamento de absorção de água dos filmes foi investigado na empresa Mantoflex Indústria de Plásticos Ltda, seguindo-se as recomendações da norma ASTM D570. Resumidamente, três amostras de cada filme ($30 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$) foram inicialmente secas a 60°C por 48 h em estufa para a remoção da umidade e posterior determinação da massa seca das amostras (P_s). Os filmes foram então imersos em água ultrapura a temperatura ambiente, e o ganho de massa foi avaliado periodicamente, até atingir a estabilidade, numa balança analítica

modelo AUX (Shimadzu). Em cada medida, os filmes foram retirados da água e sua superfície limpa com papel de filtro para posterior pesagem e determinação da massa da amostra úmida (P_u). A capacidade de absorção de água (%) dos filmes foi então determinada de acordo com a Eq. (13) [51]:

$$\text{Absorção de água} = \frac{P_u - P_s}{P_s} \times 100\% \quad (13)$$

As medidas foram repetidas três vezes para cada amostra e o valor médio foi registrado como média e desvio padrão ($\pm$ SD).

4.5.10. Ensaio de colorimetria e fotoluminescência

O ensaio de colorimetria foi escolhido de modo a avaliar a variação da coloração dos filmes, decorrente da incorporação dos CQDs na matriz polimérica. A preservação da transparência e da cor nativa do WPU com a adição de nanopartículas carbonáceas é um fenômeno difícil de alcançar em nanocompósitos. Mapear e compreender essas alterações é importante para a aplicação na área de revestimentos. Nesse contexto, as variações de coloração dos materiais foram medidas na empresa Mantoflex Indústria de Plásticos Ltda, utilizando-se um espectrofotômetro (Colorium2, Delta Color) equipado com uma fonte de luz D65, posicionada à um ângulo de 10° e um diâmetro de janela de teste de 8 mm. O equipamento utilizado converte diretamente a resposta luminosa de um determinado objeto em coordenadas cromáticas dos sistemas C.I.E. (*Commission Internationale de L'Eclairage*): CIE $L^*a^*b^*$ [L^* (luminosidade), a^* (coordenada verde-vermelho) e b^* (coordenada amarelo-azul)]. Adicionalmente, determinou-se a variação total da cor de acordo com o procedimento descrito na norma ASTM-D2244 (2009) [Eq. (14)].

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^* + \Delta a^* + \Delta b^*} \quad (14)$$

onde, os parâmetros adimensionais ΔE = variação total da cor; ΔL^* = variação total do parâmetro colorimétrico L^* ; Δa^* = variação total do parâmetro colorimétrico a^* ; Δb^* = variação total do parâmetro colorimétrico b^* . Foram realizadas dez leituras dos parâmetros colorimétricos na superfície dos filmes (25 x 25 mm), sendo considerado o valor médio e o desvio padrão ($\pm$ SD) dessas medições.

As propriedades de FL dos nanomateriais foram investigadas por meio das técnicas de espectroscopia de absorção de UV-Vis e espectroscopia de fluorescência. Os equipamentos e a metodologia utilizados nesses ensaios foram os mesmos daqueles descritos no item 4.4.1. Nesses ensaios, os filmes nanocompósitos (cerca de 0,6 mm de espessura) foram fixados a um porta-amostra com um ângulo de 30° do feixe incidente.

4.5.11. Monitoramento da geração de oxigênio singlete (1O_2)

A capacidade dos nanocompósitos de gerar 1O_2 sob iluminação de luz visível foi determinada pelo fotobranqueamento oxidativo de 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF), devido à sua rápida reação com 1O_2 [36]. O DPBF é um dos agentes de captura química colorimétrica mais utilizados, absorvendo radiação de comprimento de onda de 410 nm. Quando o DPBF é irradiado pela luz em uma região espectral que não induza a degradação direta do composto, este reage com 1O_2 com alta especificidade, sofrendo branqueamento oxidativo para formar 1,2-dibenzoilbenzeno incolor. Deste modo, o monitoramento do consumo de DPBF, por meio do decréscimo da intensidade de absorvância em 410 nm, é uma forma indireta e simples de medição [36]. Nesse contexto, a geração de 1O_2 pelos filmes foi avaliada no Laboratório de Caracterização de Materiais da UCS. Resumidamente, o nanocompósito que apresentou propriedades físico-mecânicas mais interessantes para a área de revestimentos e o controle (WPU0) (2 × 2 cm) foram colocadas no fundo de um béquer de 10 mL e expostas à 3 mL de solução de metanol contendo 18,5 µM de DPBF, sendo o sistema posteriormente iluminado por um laser portátil à temperatura ambiente (532 nm, 100 ± 1 mW/cm²; WP Laser 303) por 90 min. A solução foi transferida para uma cubeta de quartzo com caminho óptico igual a 1 cm, e o decaimento de absorção de DPBF a 410 nm foi medido usando um espectrofotômetro UV-2600i (Shimadzu, Japão) em diferentes intervalos de irradiação. A porcentagem de decaimento da absorção do DPBF, proporcional à produção de 1O_2 , foi avaliada pela diferença entre a área da banda de absorvância inicial e a área da banda da absorvância após um determinado período de irradiação. Cada experimento foi repetido três vezes. Para comparação, os experimentos de controle foram realizados na ausência do FS, com o objetivo de confirmar que a geração de 1O_2 é derivada do FS e não dos efeitos do solvente e DPBF [36].

4.5.12. Ensaio de viabilidade celular

O ensaio de captação de vermelho neutro (do inglês, *Neutral Red Uptake*, NRU) foi usado para analisar a toxicidade potencial dos nanocompósitos WPU/CQDs em células de fibroblastos murinos BALB/3T3 clone A31 (ATCC CCL163), de acordo com a ISO 10993-5 (2009) [136]. A análise foi realizada na empresa Núcleo Vitro (Porto Alegre - RS). Para isso, as células BALB/3T3 obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (lote 001242) foram cultivadas em uma incubadora umidificada a 37 °C sob 5% de CO₂ e 95% de umidade em Meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) contendo 4 mM de L-glutamina, 1,5 g/L de bicarbonato de sódio, 4,5 g/L de glicose suplementada com 5 mM de HEPES e soro bovino até uma concentração final de 10% (p/v). Quando as células atingiram 80% de confluência, elas foram separadas usando 0,2% (p/v) de tripsina e transferidas para novos frascos de cultura. Antes dos experimentos, as amostras (WPU0 e o nanocompósito WPU/CQDs de melhores propriedades físico-mecânicas) (6 cm²) foram esterilizadas por luz UV durante 30 min. As amostras esterilizadas foram então incubadas com 3 cm²/mL de DMEM suplementado (10% PBS e antibióticos) durante 24 h a 37°C e 5% CO₂. O meio liberado após incubação foi diluído com meio fresco em diferentes concentrações (extrato puro e quatro diluições consecutivas de 10% em relação à concentração anterior) e testado em contato com células por 24 h. Resumidamente, as células foram semeadas a uma densidade de 10⁴ células/poço em uma placa de 96 poços por 24 h antes do ensaio. O meio de cultura em cada poço foi então substituído pelos extratos; o controle positivo ou o controle negativo foi inserido em placas de cultura de 96 poços. O controle positivo utilizado foi o laurilsulfato de sódio, conforme indicado no protocolo OECD 129. Após incubação por 24 h, as células foram lavadas com PBS e a viabilidade celular foi avaliada. Uma solução 100 µg/mL de corante vermelho neutro dissolvido no soro do meio livre foi adicionada à cultura celular e incubada a 37 °C por 4 h. As células foram lavadas com PBS e foram adicionados 150 µL de meio de eluição (50% de etanol e 1% de ácido acético glacial em água), seguido de agitação suave durante 60 min para a dissolução completa. A absorvância de cada poço foi registrada em comprimento de onda de 540 nm, usando um leitor de placas de microtitulação. As células não tratadas (em DMEM) foram usadas como controle e a viabilidade celular relativa (média% ± SD, n = 3) foi expressa como $\text{Abs}_{\text{amostra}}/\text{Abs}_{\text{controle}} \times 100\%$, onde $\text{Abs}_{\text{amostra}}$ e $\text{Abs}_{\text{controle}}$ são as absorvâncias dos poços (com o nanocompósito) e controle (sem nanocompósito), respectivamente. De um modo geral, a citotoxicidade pode ser classificada com base na equação acima em relação aos controles;

citotoxicidade grave (<30%), citotoxicidade moderada (30–60%), citotoxicidade leve (60–90%) e não citotóxica (>90%) [137].

4.5.13. Atividade fotodinâmica antibacteriana

Os ensaios de atividade fotodinâmica antibacteriana foram realizados no Laboratório de Toxicologia Aplicada e Bioprodutos da UCS, seguindo-se as recomendações da ISO 22196. Foram testadas as cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa). Essas espécies bacterianas foram adquiridas da ATCC (American Type Culture Collection) e foram selecionadas por estarem presentes em ambientes hospitalares [17]. Tanto a amostra WPU1 quanto a amostra-controle WPU0 foram esterilizadas com lâmpada UV (258 nm) por 4 h antes dos testes microbiológicos. As dimensões das amostras ensaiadas foram de $2,5 \times 2,5$ cm. Em resumo, os filmes foram inicialmente inseridos em poços adjacentes da placa de 24 poços e, em seguida, foi adicionado 0,1 mL de PBS contendo 1×10^4 UFC/mL de bactérias. A placa de 24 poços foi mantida em incubadora a 37 °C sob exposição à luz (distância da amostra de 50 cm, $\lambda \geq 360$ nm, 100 W, 24 h). Finalizado o período de exposição à luz, o biomaterial foi removido da placa de 24 poços e a absorvância foi lida a 600 nm (leitor de microplacas SpectraMax M2e). Em seguida, um teor de resazurina 0,01% em massa foi adicionado aos poços e as variações colorimétricas foram observadas. Os resultados são interpretados com base no controle positivo. Para o controle negativo, utiliza-se apenas meio de cultura, sem o inóculo. Todos os ensaios microbiológicos foram realizados em triplicata e os dados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão das médias ($n = 3$). Análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo Teste de *Tukey* foi usada para comparar as médias de diferentes conjuntos de dados, e $P < 0,05$ foi indicativo de significância estatística.

Capítulo 5 – Resultados e discussão da caracterização dos CQDs

Neste capítulo serão apresentados resultados relativos às propriedades estruturais, superficiais, morfológicas e fotoluminescentes (em termos de QY) dos CQDs sintetizadas via irradiação assistida por micro-ondas. Os resultados exibidos nesse capítulo contribuirão para a compreensão das características das nanopartículas produzidas, bem como para uma inferência a respeito da sua interação com a matriz polimérica nos materiais nanocompósitos.

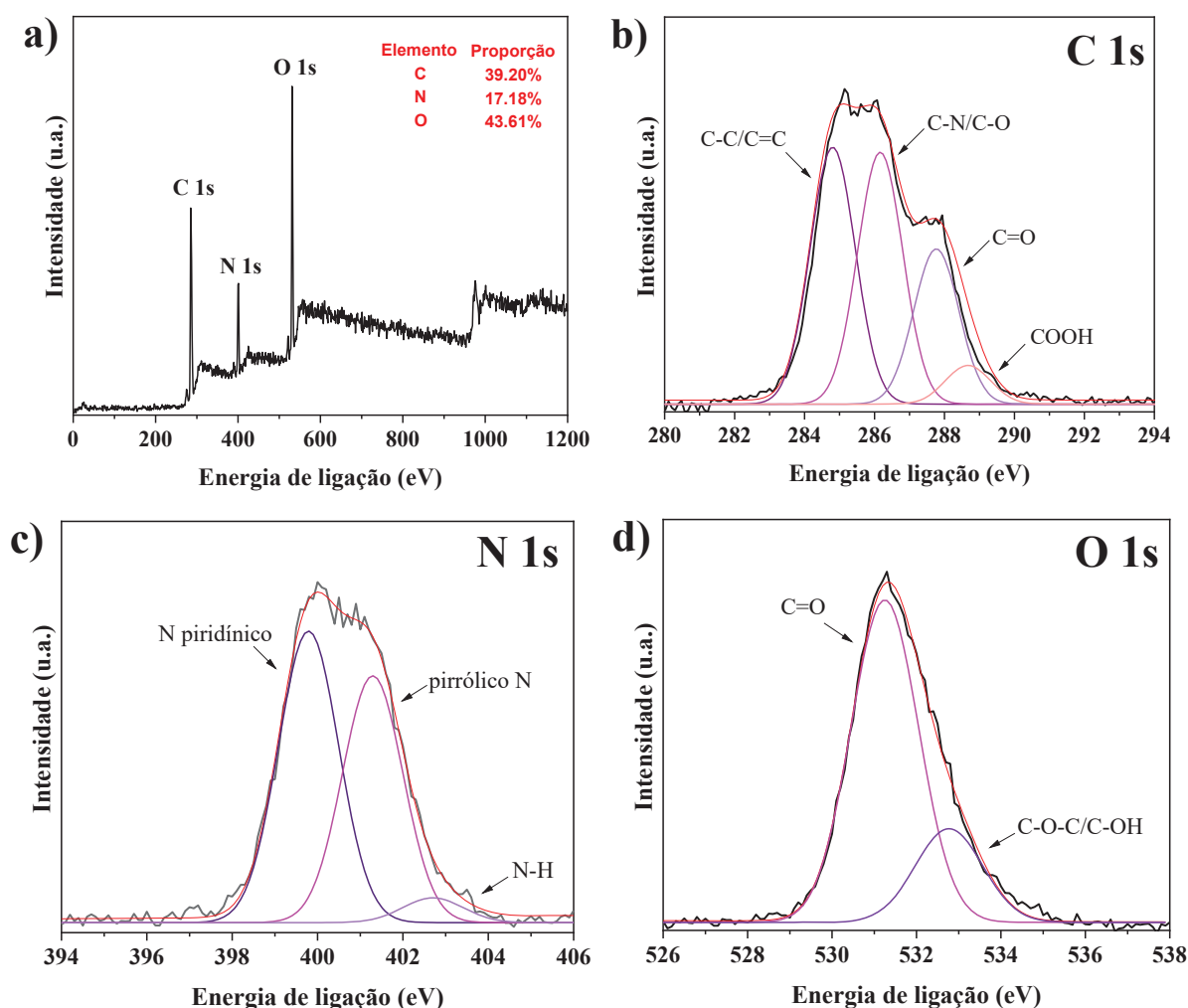
5.1. Estrutura química e morfologia

Os CQDs foram sintetizados por um método rápido de pirólise assistida por micro-ondas, a partir do ácido cítrico e da etilenodiamina (CA:EDA) em uma proporção molar de 1:1. A composição química e os principais grupos funcionais presentes na superfície dos CQDs foram verificados por meio das técnicas de FTIR e XPS. Conforme mostrado nos espectros de FTIR [Figura 11(a)], os CQDs produzidos revelaram a presença majoritária de grupos funcionais contendo carbono, oxigênio e nitrogênio, dentre eles, , estiramento de -OH/-NH_2 (3406 cm^{-1} e 3065 cm^{-1}), estiramento de C=O (1651 cm^{-1}), deformação de -NH /C-N (1558 cm^{-1} e 1228 cm^{-1}) e deformação assimétrica de C-O-C (1062 cm^{-1} e 955 cm^{-1}), assim como, estiramento assimétrico e vibração de flexão da ligação -C-H (2964 cm^{-1} e 1369 cm^{-1}), sugerindo a formação de grupos amídicos, hidroxilas e carboxílicos durante o processo reacional [53, 70, 73, 81]. A Figura 11(b) mostra uma representação esquemática hipotética da estrutura dos CQDs obtidos.

pirrólico (401,1 eV) e -NH (401,9 eV) [Figura 12(c)] [53]. O espectro de O 1s apresentou dois picos: 532,9 eV (C=O) e 534,9 eV (C-O-C/C-OH) [Figura 12(d)] [82]. Os resultados de espectroscopia por XPS estão em boa concordância com os dados de FTIR e com os estudos publicados na literatura, os quais foram resumidos na Tabela S1 (Anexo VI).

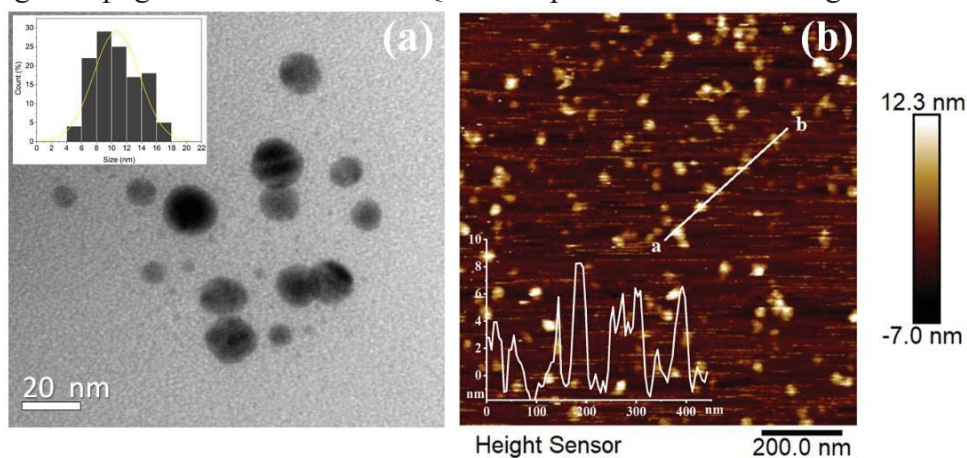
Durante a síntese de CQDs utilizando CA e moléculas enriquecidas com grupos aminas, inicialmente é detectado a presença de grupos funcionais amida no produto formado por uma simples reação de condensação intermolecular acompanhada de perda de moléculas de água [70, 78, 81]. À medida que a reação progride, pequenas moléculas fluorescentes de fluoróforos são formadas [70]. Esses fluoróforos, sob aquecimento contínuo, sofrem polimerização e condensação, seguidos por carbonização que leva à formação do núcleo de carbono com fluoróforos ou oligômeros conectada à superfície, dando origem aos CQDs [85].

Figura 12 – (a) Espectros de XPS completos dos CQDs e espectros de alta resolução das regiões: (b) C 1s, (c) N 1s e (d) O 1s



A morfologia e o tamanho dos CQDs produzidos foram investigados pelas técnicas de AFM e TEM. As micrografias de TEM [Figura 13(a)] e de AFM com análise de altura associadas [Figura 13(b)] revelaram que os CQDs são quase esféricos com um tamanho médio de $10,6 \pm 3,1$ nm, conforme mostrado no histograma de distribuição de tamanho das nanopartículas [Figura 13(a)]. Esses resultados confirmaram a eficiência do método e das condições de síntese adotadas neste trabalho para a produção de nanopartículas de CQDs.

Figura 13 – (a) Micrografia TEM (inserção: histograma de distribuição de tamanho) e (b) imagem topográfica de AFM dos CQDs com perfil de altura ao longo da linha ab

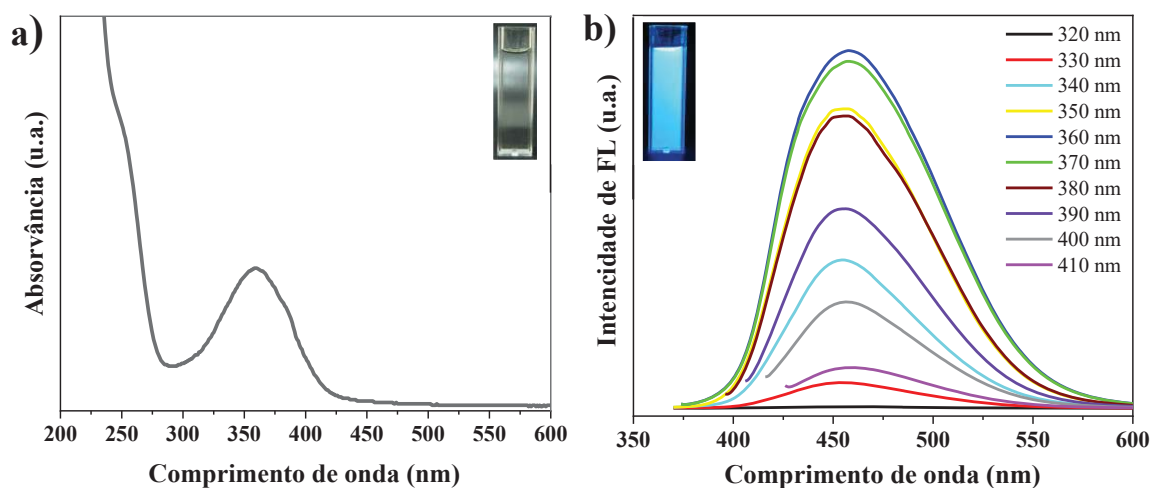


5.2. Absorvância na região do UV-Vis e fotoluminescência

As propriedades de FL dos CQDs foram investigadas por meio das técnicas de espectroscopia de absorção de UV-Vis e espectroscopia de fluorescência. Conforme apresentado na Figura 14a, os CQDs exibiram duas bandas de absorção (em 250 nm e 360 nm). A primeira banda de absorção pode ser atribuída à transição eletrônica $\pi-\pi^*$ de ligações C=C aromáticas oriundas do núcleo das nanopartículas, enquanto a segunda banda está relacionada à transição $n-\pi^*$ das ligações C=O e C-N, provavelmente presentes na superfície dos CQDs, conforme identificado nas análises de FTIR e XPS [53, 82]. Como resultado, essas nanopartículas mostraram emissão fluorescente máxima em 460 nm quando excitadas em 360 nm. A solução de CQDs obtida exibiu cores amarelo claro e azul fluorescente intenso quando observadas sob luz visível e UV (excitação de 360 nm), respectivamente [inserção na Figura 14(a) e 14(b)].

As propriedades ópticas dos CQDs foram ainda investigadas por meio de espectros de FL obtidos em diferentes comprimentos de onda de excitação (320–440 nm). Uma banda de emissão centrada em 460 nm foi observado para os comprimentos de onda de excitação [Figura 14(b)]. Os espectros de FL assumiram um comportamento independente da excitação, indicando que os CQDs têm tamanho e estado de superfície relativamente uniformes, conforme observado também por TEM e AFM [53]. A FL é bastante dependente do estado de superfície dessas nanopartículas, o qual pode envolver “armadilhas” na transição radiativa (excitação-dependente ou independente). Diferentes grupos funcionais de superfície, incluindo $-OH$, $C=O$ e $-COOH$, podem induzir a formação de estados de aprisionamento (ou *trapping*) com diferentes níveis de energia [138]. O caráter da luminescência dependerá se estes estados de aprisionamento estão passivados ou não. Para estados de superfície menos passivados, algum deles com uma sequência particular de energias ocupará o papel principal na FL, dependendo da energia de excitação [53]. Considerando ainda as propriedades ópticas, o QY dessas nanopartículas foi determinado, utilizando-se sulfato de quinina como referência. Em excitação de 360 nm, os CQDs produzidos apresentaram um QY de 63,2%, um valor muito superior à maioria daqueles reportados em estudos anteriormente (Tabela S1 – Anexo VI) [21, 139]. Como esperado, o uso de CA e EDA como agentes de passivação durante a síntese dos CQDs deu origem a nanopartículas com elevado QY, uma vez que a dopagem com nitrogênio modula os defeitos de superfície, aumentando consideravelmente a fluorescência dos CQDs [78].

Figura 14 – Espectros dos CQDs: (a) absorvância na região do UV-Vis (fotografia em inserção: solução aquosa de CQDs (0,1 mg/mL) excitada por luz visível e UV), (b) espectros de emissão de fotoluminescência sob diferentes comprimentos de onda de excitação (320–410 nm)



5.3. Conclusões parciais

Nesse capítulo foi demonstrado que os CQDs sintetizados via pirólise assistida por micro-ondas, utilizando CA e EDA como fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente, apresentaram uma morfologia esférica com tamanho médio de $10,6 \pm 3,1$ nm, grupos funcionais contendo carbono, oxigênio e nitrogênio em sua superfície e fotoluminescência em 460 nm com rendimento quântico de 63,2%, sob excitação em 360 nm.

Considerando os reagentes precursores e a rota de síntese escolhida, a estrutura química dos CQDs produzidos se mostrou bastante satisfatória, uma vez que a literatura reporta valores semelhantes de QY para sistemas/condições semelhantes. O aquecimento rápido e uniforme da irradiação por micro-ondas permitiu que o produto da reação fosse alcançado dentro de poucos minutos. Além disso, a estrutura dos CQDs dotada de grupos polares em sua superfície favorece a solubilidade em meio aquoso, requisito fundamental para uma distribuição homogênea das nanopartículas na matriz de WPU. Os grupos superficiais detectados nos CQDs sintetizados têm uma boa interação com os grupos –NCO e uretanos presentes na estrutura do WPU. Nesse caso, espera-se que esses CQDs melhorem as propriedades dos nanocompósitos, especialmente pela reticulação física que podem vir a promover nas cadeias do polímero por interações secundárias.

Capítulo 6 – Resultados e discussão da caracterização dos nanocompósitos

O principal desafio científico dessa etapa consiste em compreender e descrever as interrelações das características físico-químicas dos materiais empregados, especialmente na produção dos nanocompósitos de WPU/CQDs. A estabilidade, a reologia, o comportamento mecânico e térmico e as propriedades fotoluminescentes (em termos de geração de $^1\text{O}_2$) dos nanocompósitos obtidos refletirá diretamente na escolha de uma aplicação adequada para esses materiais. Nesse capítulo serão apresentadas as propriedades dos nanocompósitos WPU/CQDs, destacando o efeito da incorporação dos CQDs na microestrutura do WPU. Espera-se obter materiais com propriedades compatíveis com a aplicação na área de revestimentos, além de propriedades superficiais que dificultem a adesão bacteriana e a formação de biofilmes. Esses revestimentos também devem apresentar alta eficiência na geração de $^1\text{O}_2$ e elevada atividade fotodinâmica antibacteriana, sem provocar qualquer efeito citotóxico.

6.1. Distribuição de tamanho das nanopartículas e estrutura química

A distribuição de tamanho das partículas de WPU formadas, a partir da adição dos CQDs na matriz de WPU, foi avaliada pela técnica de DLS e os resultados da média do diâmetro hidrodinâmico são mostrados na Tabela 1. Como pode ser observado, o tamanho das partículas aumenta com o acréscimo no teor de CQDs incorporados na matriz polimérica, provavelmente devido às interações químicas desse composto polifuncional. Em geral, partículas grandes ($>1\ \mu\text{m}$) resultam em dispersões instáveis, devido à precipitação de partículas maiores. Nesse trabalho, teores de até 1% em massa de CQDs se mostraram mais estáveis, sem indícios de sedimentação aparente por mais de 6 meses. As dispersões formuladas com teores de CQDs superiores a 1% em massa não foram estáveis por longos períodos. Quando um teor de 2% em massa de CQDs foram adicionados ao WPU, a quantidade de água na etapa reacional de inversão de fases precisou ser dobrada e, assim mesmo, a dispersão precipitou após uma semana. Dispersões contendo 3% em massa de CQDs formaram nanopartículas com tamanhos médios de $2.178 \pm 1.093\ \text{nm}$ e alta instabilidade. Logo após a etapa de inversão de fase, o nanocompósito precipitou rapidamente, o que pode estar relacionado à formação de uma rede reticulada com aspecto esponjoso, impossibilitando a obtenção de filmes para essa

concentração. Em função da inviabilidade de formação de filme, a amostra WPU3 não foi utilizada nos experimentos seguintes de caracterização. Amostras com elevados teores de CQDs, em virtude de sua multifuncionalidade, inviabilizam seu uso como consequência de uma redução do movimento segmentar da cadeia polimérica durante a etapa de síntese, na inversão de fase. Como resultado, não há uma boa organização das cadeias em uma estrutura de núcleo-casca, na qual os segmentos flexíveis hidrofóbicos são cercados por segmentos rígidos hidrofílicos, contribuindo, assim, para uma distribuição de tamanho de partícula mais larga. No entanto, pequenas quantidades (<2% em massa) podem ser interessantes para a obtenção de propriedades específicas, de modo a sintonizar a densidade relativa de ligação de hidrogênio e a separação de fases no sistema à base de WPU [28, 51].

Tabela 1 – Distribuição de tamanho, peso molecular (M_n , M_w) e distribuição de peso molecular (M_w/M_n) para o WPU puro e os nanocompósitos de WPU/CQDs

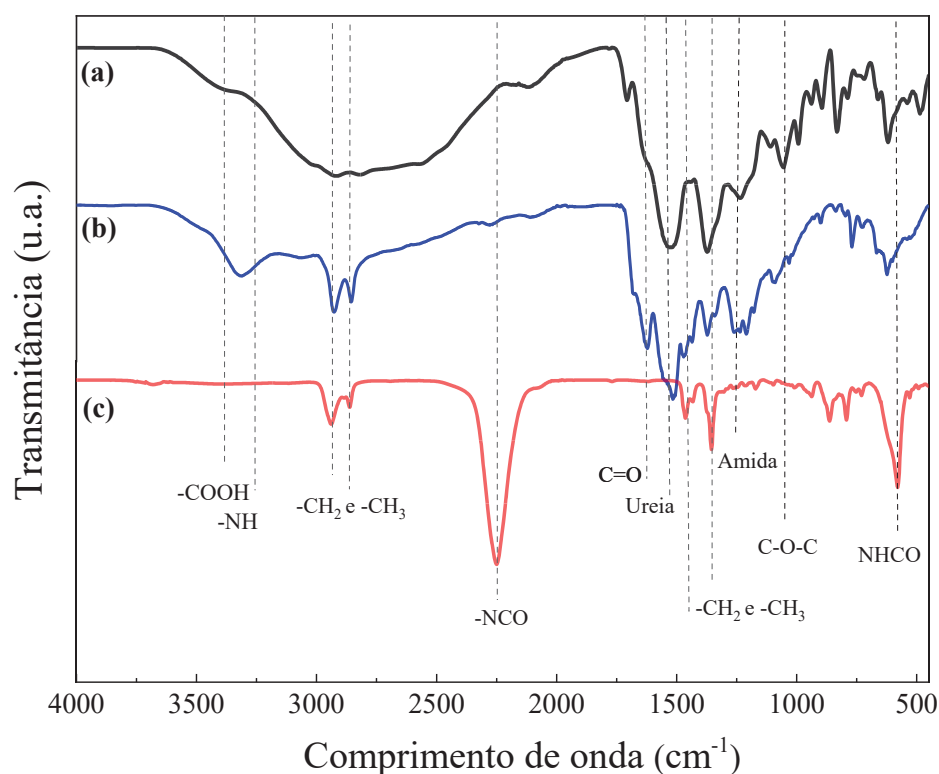
Amostra	Tamanho de partícula (nm)	M_n (Da)	M_w (Da)	M_w/M_n
WPU0	93 ± 70	26.476	53.779	2,031
WPU0.5	144 ± 108	26.248	53.358	2,033
WPU1	215 ± 140	27.066	54.762	2,023
WPU2	1843 ± 972	23.172	43.658	1,884
WPU3	2178 ± 1093	—	—	—

Além da distribuição de tamanho das partículas, a distribuição do peso molecular desses nanocompósitos também foi avaliada e os resultados estão igualmente apresentados na Tabela 1. A incorporação dos CQDs ao WPU não promoveu uma mudança expressiva tanto no peso molecular médio numérico (M_n) quanto no peso molecular médio ponderal (M_w), bem como na distribuição de peso molecular (M_w/M_n). O WPU0 apresentou uma massa molar de 26.476 g/mol, enquanto os nanocompósitos apresentaram massa molar de 26.248 g/mol, 27.066 g/mol e 23.172 g/mol para o WPU0.5, WPU1, WPU2, respectivamente. Visto que soluções aquosas contendo grandes quantidades de CQDs são adicionadas ao pré-polímero com terminação –NCO durante o processo de inversão de fases ($T = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$), acredita-se que esses CQDs se liguem rapidamente aos –NCO presentes nos terminais das cadeias, finalizando a reação e reduzindo a probabilidade de reticulação entre as cadeias poliméricas. Esse resultado também é corroborado com a solubilidade dos filmes, visto que nenhuma formação de gel foi observada para as amostras.

É previsto que a polimerização do isocianato com os grupos funcionais presentes na superfície dos CQDs ocorra mais rapidamente do que a sua reação com a água, uma vez que a reatividade entre -NCO e grupos amino (-NH_2) é 1000 vezes mais rápida do que entre -NCO e H_2O ou grupo hidroxila primário. Além disso, a reação entre -NCO e -NH_2 é termodinamicamente favorável à temperatura ambiente e não precisa ser catalisada [140]. Um estudo de Dall Agnol *et al.* [141] sobre a estabilidade dos grupos -NCO , quando expostos a uma atmosfera saturada de água mostrou que os grupos terminais de isocianato livres do pré-polímero reagem com a umidade, levando à formação de um ácido carbâmico instável, que se decompõe em dióxido de carbono e amina. No entanto, esse processo é extremamente lento em baixas temperaturas, levando mais de 18 dias para a reação total dos grupos isocianatos.

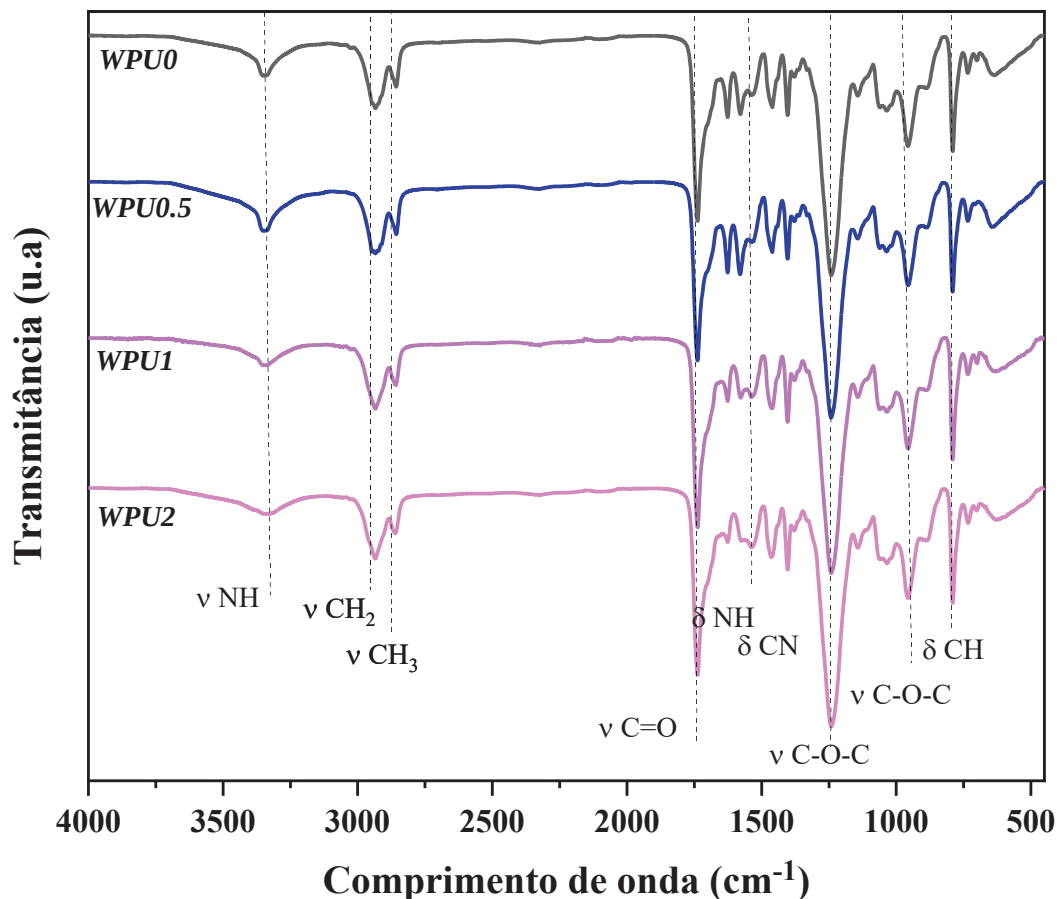
De acordo com a literatura [142], os grupos isocianato (-NCO) presentes na formulação do WPU e os grupos funcionais -OH , -NH_2 e -COOH dos CQDs podem reagir para formar ureia e amida. Devido à baixa fração molar dos grupos funcionais formados em relação ao tamanho da cadeia principal, propusemos estudar as associações entre os grupos -NCO , -NH_2 e -COOH por meio de um modelo de reação que considera que os CQDs reagiram diretamente com o HDI. Assim, uma maior quantidade relativa de grupos funcionais formados contribuirá para um melhor entendimento da reação entre os CQDs e o WPU. Os espectros de FTIR dos componentes e do modelo de reação são mostrados na Figura 15. Quando o -NCO reage com os grupos -NH_2 e -COOH , as bandas de absorção da ligação amida aparecem na região a $1595\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$. A nova banda em $1614\text{--}1629\text{ cm}^{-1}$ foi associada a formação dos grupos ureia. As absorções em 1734 cm^{-1} e 1718 cm^{-1} podem ser atribuídas a grupos carbonila livres do uretano e ligados por hidrogênio [127]. O aparecimento do pico característico dos grupos -NH (3405 cm^{-1}) indica a formação de grupos ureia e amida. Além disso, o desaparecimento da banda a 2268 cm^{-1} , associada ao grupo -NCO do HDI, confirma o sucesso da reação.

Figura 15 – Esquema reacional para a produção dos nanocompósitos WPU/CQDs: (a) CQDs, (b) HDI/CQDs e (c) HDI



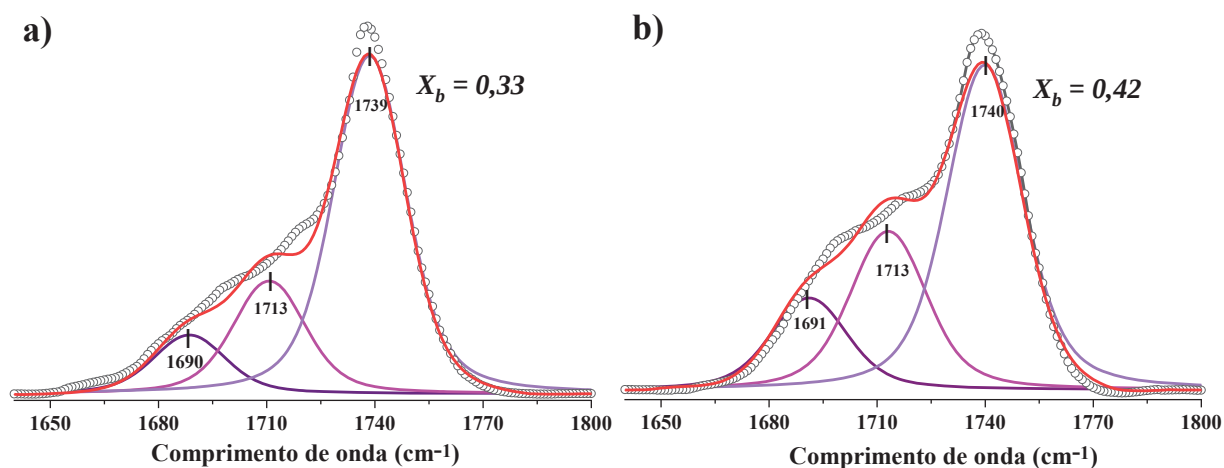
A análise de FTIR também foi utilizada para confirmar a estrutura química dos nanomateriais e as mudanças estruturais que ocorreram da interação entre os CQDs com a matriz de WPU. Em todos os espectros, bandas de absorção características atribuídas ao WPU foram observadas em torno de $3360\text{--}3420\text{ cm}^{-1}$ (associadas à deformação N-H), 2955 cm^{-1} e 2865 cm^{-1} (estiramento assimétrico de CH_2), $1738\text{--}1637\text{ cm}^{-1}$ (C=O), 1525 cm^{-1} (deformação C-N e N-H), 1238 cm^{-1} e 955 cm^{-1} (deformação assimétrica C-O-C) atribuídos ao WPU (Figura 16) [27, 143, 144]. No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os espectros do WPU puro e dos nanocompósitos, sugerindo que as absorções do polímero se sobrepõem aos vestígios reacionais entre os CQDs e o WPU. As únicas variações observadas nesses espectros foram mudanças na região entre 1738 cm^{-1} e 1637 cm^{-1} , atribuídos a C=O do grupo uretano [145].

Figura 16 – Espectros de FTIR do WPU puro e dos nanocompósitos WPU/CQDs



A região da banda C=O é muito importante para o entendimento da microseparação de fases de poliuretanos. Ela pode ser decomposta em três subcomponentes: a que está associada por ligação de hidrogênio ($\sim 1670\text{ cm}^{-1}$), outra que não está associada por hidrogênio, mas por dipolo ($\sim 1698\text{ cm}^{-1}$) e uma terceira associada por carbonila livre ($\sim 1719\text{ cm}^{-1}$) (Figura 17). Assim, a intensidade dessas bandas é uma função da magnitude das interações que o grupo C=O forma, sendo sensível à natureza da separação das fases entre os segmentos rígidos e flexíveis, bem como às interações entre os CQDs e o WPU, uma vez que este possui grupos funcionais em sua superfície capazes de formar ligações de hidrogênio [143, 146].

Figura 17 – Deconvolução dos espectros de FTIR na região de absorção do grupo C=O para as amostras de (a) WPU0 e (b) WPU1. As linhas sólidas representam os ajustes matemáticos e os símbolos (○) são os dados experimentais



Conforme apresentado na Tabela 2, é possível observar variações nas áreas das bandas mediante a incorporação dos CQDs no sistema, o que evidencia a influência da presença das nanopartículas na quantidade relativa de ligação de hidrogênio. A área da banda relacionada à carbonila ligada por ligação hidrogênio torna-se mais significativa, ao passo que a área da banda relacionada a carbonila livre diminui. Além disso, os valores de X_b também aumentaram à medida que a quantidade de CQDs aumentou. Os grupos funcionais polares dos CQDs formam facilmente ligações de hidrogênio, conforme mencionado, o que pode contribuir para uma maior separação de fases entre os segmentos rígidos e flexíveis na matriz [144, 145].

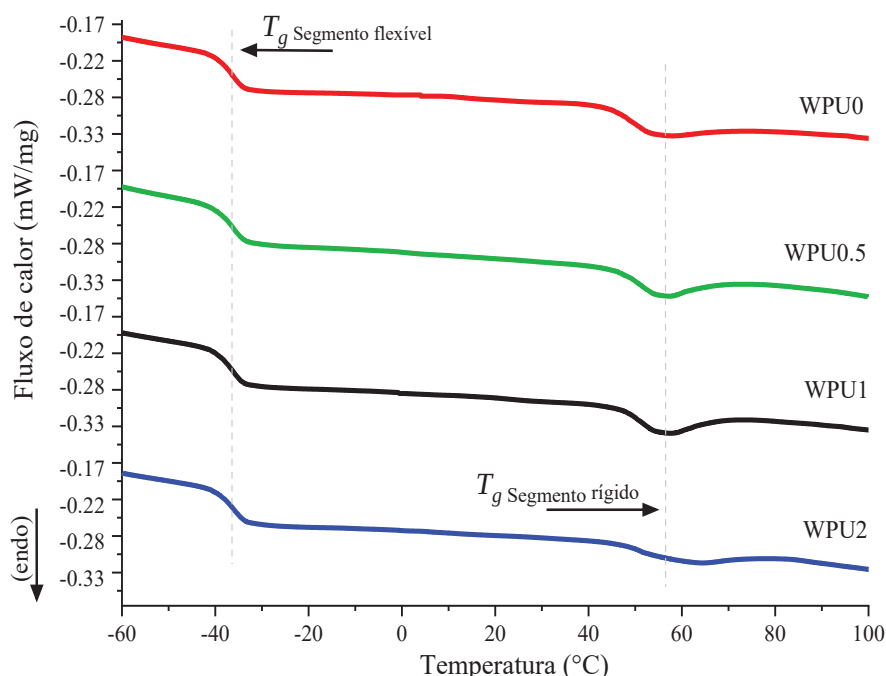
Tabela 2 – Grau relativo de ligações de hidrogênio (X_b) e porcentagens de C=O ligada (X_o) e C=O não ligadas (X_d) presentes no WPU puro e nos nanocompósitos de WPU/CQDs

Amostra	C=O ligada		C=O não ligada		C=O livre		X_o	X_d	X_b
	ν (cm ⁻¹)	Área (%)	ν (cm ⁻¹)	Área (%)	ν (cm ⁻¹)	Área (%)			
WPU0	1690	0,113	1711	22,1	1739	66,5	0,11	0,22	0,33
WPU0.5	1690	0,115	1711	22,6	1739	65,9	0,11	0,23	0,34
WPU1	1691	0,146	1713	27,1	1740	58,2	0,15	0,27	0,42
WPU2	1691	0,170	1718	27,0	1739	56,0	0,17	0,27	0,44

6.2. Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos nanocompósitos foram investigadas pelas técnicas de DSC e TGA. Os resultados da análise de DSC estão apresentados na Figura 18. O fenômeno de transição vítrea associado aos movimentos moleculares dos segmentos flexíveis (T_{gSF}) (parte amorfa) dos nanocompósitos foi observado em temperatura próxima a $-36\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabela 3). Um segundo evento térmico, possivelmente relacionado à transição vítrea de segmentos rígidos (T_{gSR}) foi observado próximo a $54\text{ }^{\circ}\text{C}$ [130, 147]. A incorporação dos CQDs na matriz polimérica influenciou discretamente o valor de T_{gSF} . Já o segundo evento térmico (a T_{gSR}) é deslocado para temperaturas mais elevadas com a inclusão dos CQDs, podendo estar relacionado a restrições na mobilidade da cadeia em regiões de transição de fases, resultantes da presença das nanopartículas [100, 148]. Esses resultados estão em concordância com os resultados já observados por FTIR. Para melhor visualização dos eventos ocorridos, a Figura 18 apresenta as curvas até $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, pois acima dessa temperatura até a temperatura máxima de análise ($180\text{ }^{\circ}\text{C}$), nenhum outro evento térmico foi observado.

Figura 18 – Curvas de DSC para o WPU puro e os nanocompósitos WPU/CQDs



O aumento discreto nos valores de T_{gSF} e aumento da T_{gSR} com a inclusão dos CQDs sugere que há mudanças no grau de separação de fases entre os segmentos rígidos e flexíveis.

Para confirmar essa suposição, o grau de segregação de fases foi determinado considerando-se a diferença entre a temperatura de T_{gSF} nos nanomateriais e a temperatura de transição vítrea dos segmentos flexíveis puros T_{gSF0} , (para o PCD = -52,26 °C, avaliado por DSC), ($T_{gSF} - T_{gSF0}$) [149]. Quanto maior a diferença ($T_{gSF} - T_{gSF0}$), maior a miscibilidade ou grau de compatibilidade dos segmentos rígido-flexíveis. Além disso, os valores da temperatura de T_{gSF} no WPU também podem estar relacionados à miscibilidade entre as duas fases, ou seja, à fração do segmento rígido disperso na fase flexível (w_H). Dessa forma, de acordo com o princípio geral de adição, para o qual a mudança na propriedade térmica de um sistema monofásico de dois componentes é a adição linear de duas mudanças de componentes individuais nessa propriedade, a seguinte relação é válida [149]:

$$T_{gSF} = (1 - w_H)T_{gSF0} + (w_H)T_{gSR0} \quad (12)$$

onde T_{gSF} é a T_g da fase flexível e T_{gSR0} é considerada como a transição vítrea do segmento rígido formado pela reação entre HDI e DMPA (140,86 °C, avaliado por DSC).

Conforme pode ser observado na Tabela 3, a adição dos CQDs provocou um pequeno aumento na diferença ($T_{gSF} - T_{gSF0}$) para os nanocompósitos em comparação ao WPU puro, indicando um aumento na miscibilidade ou grau de compatibilidade dos segmentos rígido-flexíveis, devido aos grupos polares presentes na superfície dos CQDs que interagem com a matriz polimérica [148]. Entretanto, baixos valores de ($T_{gSF} - T_{gSF0}$) indicam que os WPUs, independente da adição dos CQDs, possuem um elevado grau de separação de fases entre segmentos rígidos e flexíveis. A mesma tendência é observada quando se compara os valores de w_H . Para o WPU puro (WPU0) são encontrados valores de $w_H = 0,08$. Esse valor permanece praticamente constante quando 2% em massa de CQDs são adicionados à matriz (WPU2), sugerindo que a quantidade de fase rígida dispersa na flexível não é alterada. A incorporação dos CQDs no sistema poderia provocar um aumento da quantidade de fase parcialmente misturada, devido ao aumento nas interações moleculares que refletem numa melhor miscibilidade da fase flexível com a fase amorfa dos segmentos rígidos [148, 149]. Entretanto, a restrição de movimentos macromoleculares pode ser um fator fundamental para aumento da separação de fases, conforme é notado pelo aumento das T_g s.

Pela Tabela 3, é possível também inferir que a variação da capacidade calorífica (ΔC_p) da T_{gSF} aumenta com o aumento do teor de CQDs incorporado ao WPU. Esse aumento pode ser explicado pelas mudanças no segmento flexível envolvidos na transição. Ainda, com base nas

hipóteses de Camberlin e Pascault [150], o grau de separação de fases foi estimado (Tabela 3) [130]. Como esperado, o grau de separação de fases nos nanocompósitos também aumenta em função do acréscimo do teor de CQDs, comparativamente ao WPU puro, o que provavelmente está relacionado à restrição de mobilidade molecular na interface entre os segmentos.

Tabela 3 – Propriedades térmicas do WPU puro e dos nanocompósitos de WPU/CQDs

Amostra	T_{gSF} (°C)	ΔC_{p_SF} (J/g)	$T_{gSF} - T_{gSF0}$ (°C)	T_{gSR} (°C)	w_{H_DSC}	Separação de fase (%)
WPU0	-36,3	0.058	15,9	54,0	0,08	86,9
WPU0,5	-35,9	0.060	16,3	56,3	0,08	89,7
WPU1	-35,9	0.061	16,3	57,0	0,08	91,3
WPU2	-35,5	0.063	16,7	64,0	0,08	93,6

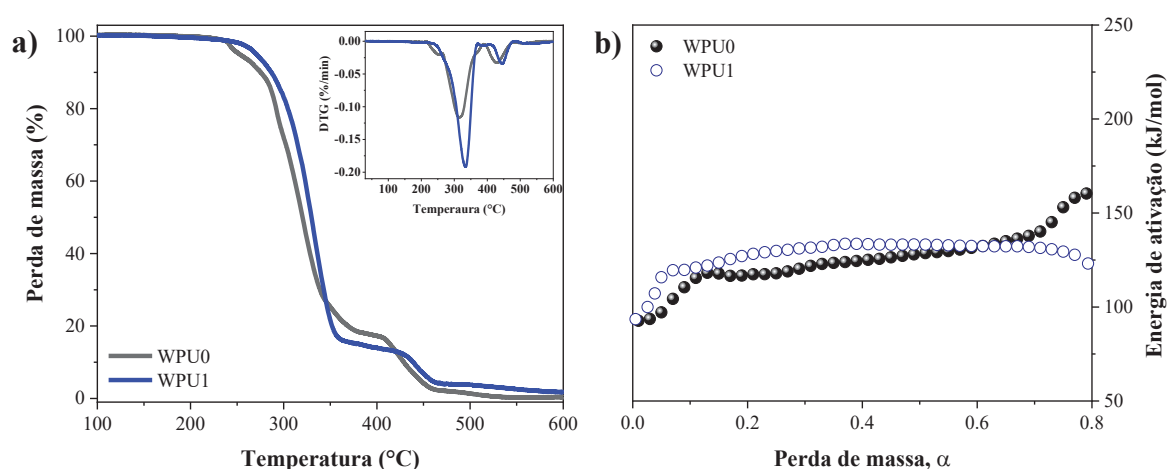
T_{gSF} = temperatura de transição vítrea do segmento flexível; ΔC_p = variação da capacidade calorífica; T_{gSR} = temperatura de transição vítrea do segmento rígido; w_H = fração em massa do segmento rígido na fase flexível.

Ainda, a estabilidade térmica dos filmes (WPU puro e do nanocompósito com melhores propriedades físico-mecânicas) foi avaliada por meio das análises de TG e DTG. Como pode ser observado na Figura 19(a), a temperatura de degradação térmica com 5% de perda de massa ($T_{5\%}$) aumentou de 252 °C para 270 °C, a partir da incorporação de 1% em massa de CQDs ao WPU. As reações e interações específicas entre o WPU e os CQDs, como a formação de ligações covalentes, ligações de hidrogênio e interações polares, restringem a mobilidade macromolecular das cadeias poliméricas, podendo resultar na mudança de estrutura do polímero de linear para um tipo de rede reticulada e adquira rigidez [144]. Além disso, essa interação entre o WPU e os CQDs pode dificultar a difusão dos produtos de degradação como gases. Assim, em comparação com o WPU puro, o processo de ruptura de ligação nos nanocompósitos WPU/CQDs precisará de mais calor. Quanto ao comportamento de decomposição térmica dos nanocompósitos, podem ser identificados três estágios: o primeiro correspondente à decomposição das ligações uretano do segmento rígido; o segundo associado à decomposição do segmento flexível e dos demais produtos resultantes do primeiro estágio, e o terceiro, relacionado ao consumo da porção carbônica da cadeia polimérica, restando apenas a fração dos CQDs.

A Figura 19(b) mostra a dependência das energias de ativação (E_a) no grau de conversão [α_T] calculado pelo método de Friedman (FR), com base em quatro diferentes taxas de aquecimento. A partir do perfil da curva E_a versus α_T , é possível confirmar as três etapas

de degradação térmica, sendo a primeira em $0 \leq \alpha \leq 0,2$, a segunda em $0,2 \leq \alpha \leq 0,6$ e a terceira em $0,6 \leq \alpha \leq 1$. Foram obtidos os seguintes valores médios de E_a e A : WPU0 ($E_a = 124,8$ kJ/mol; $A = 8,48$ s⁻¹) e WPU1 ($E_a = 133,6$ kJ/mol; $A = 9,01$ s⁻¹). Esses valores estão em concordância com os dados reportados na literatura e sugerem um aumento na estabilidade térmica da primeira e da segunda etapas de degradação da amostra WPU1, comparativamente ao WPU puro [151, 152].

Figura 19 – (a) Curvas termogravimétricas (na inserção, termogravimetria diferencial) e (b) dependência da energia de ativação vs. grau de conversão para o WPU0 e WPU1



Visando investigar a natureza termodinâmica da degradação térmica dos materiais, foram determinadas também as variações de entropia (ΔS^*), entalpia (ΔH^*) e energia livre de Gibbs (ΔG^*) para o processo. Os resultados estão resumidos na Tabela 4. Comparativamente, a $\Delta S^*_{\text{WPU1}} > \Delta S^*_{\text{WPU0}}$ sugere um sistema mais ordenado e uma reação de degradação mais lenta. Além disso, os valores positivos encontrados para ΔH^* indicam que a decomposição é de natureza endotérmica, cujo comportamento também foi confirmado pelos resultados de TGA. Por fim, os valores positivos assumidos por ΔG^* atestam um mecanismo de degradação térmica não-espontâneo para os materiais, justificando a necessidade de fornecimento de calor externo. Os materiais WPU0 e WPU1 exibiram valores termodinâmicos relativamente próximos uns dos outros. No entanto, para a amostra WPU1, mais energia é necessária para a degradação do nanocompósito. Pelo tripleto termodinâmico do 1º pico de DTG, observa-se que as nanopartículas retardam a degradação da fase rígida do WPU, pois interagem por meio de ligações de hidrogênio com os grupos uretano, restringindo assim o movimento aleatório das

cadeias poliméricas sob energia térmica [143]. Esse efeito é menos significativo para a fase flexível do WPU (2º pico de DTG).

O cálculo do tempo de resistência térmica permitiu a investigação da resistência dos materiais por um período prolongado de exposição a elevadas temperaturas. Enquanto o WPU0 exibiu um tempo de resistência térmica de 0,018 h, o nanocompósito WPU1 apresentou um valor de 2,094 h. Esse fenômeno pode ser atribuído às fortes interações físico-químicas entre os CQDs e as cadeias de WPU.

Tabela 4 – Parâmetros termodinâmicos e tempo de resistência para WPU0 e WPU1

Amostra	1º pico de DTG			2º pico de DTG			Tempo de resistência $t_f(5\%)$ (h)
	ΔH^* (kJ/mol)	ΔS^* (J/mol·K)	ΔG^* (kJ/mol)	ΔH^* (kJ/mol)	ΔS^* (J/mol·K)	ΔG^* (kJ/mol)	
WPU0	120,44	-188,14	231,32	152,27	-169,54	271,10	0,018
WPU1	128,34	-183,74	240,00	121,70	-190,15	258,85	2,094

6.3. Propriedades dinâmico-mecânicas

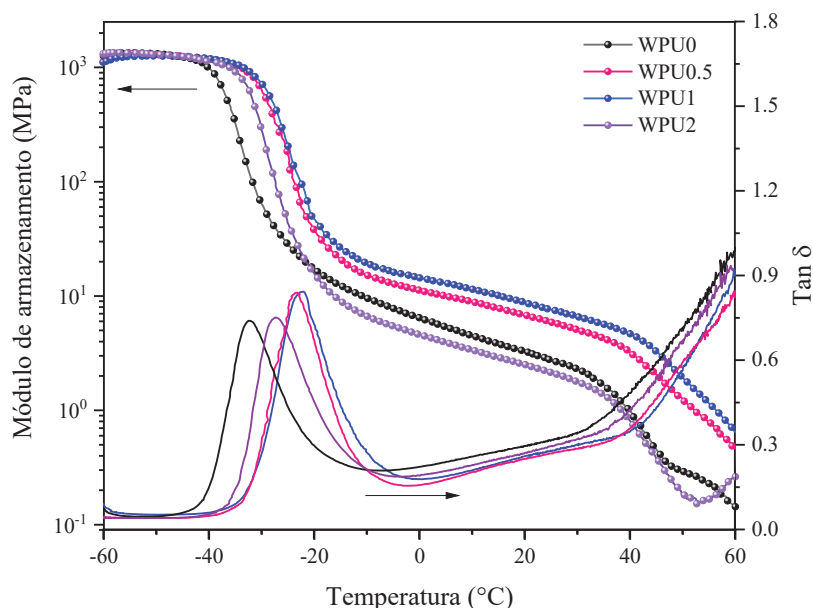
O comportamento sólido viscoelástico linear dos nanocompósitos foi avaliado pela técnica de DMA. Conforme comprovado em resultados anteriores (FTIR e XPS), os CQDs contêm grupos superficiais carboxílicos, hidroxílicos e aminos, capazes de interagir fortemente com os segmentos flexíveis e rígidos do WPU. Assim, a presença dessas nanopartículas na matriz pode afetar as interações originais e a separação de fases do WPU. As literaturas [153, 154] comentam que a flexibilidade pode ser fruto de inúmeros fatores, como aumento da componente viscosa ocasionada pelo excesso de partículas ou pelo escorregamento observado em sistemas com pequenas partículas [155]. Embora, os CQDs possam atuar como pontos de restrição de movimento segmental, devido a suas interações e aumentar a separação de fases. Sistemas com pequenas partículas esféricas costumam ter comportamentos anômalos a compósitos clássicos [156, 157].

Todos os sistemas de WPU/CQDs apresentaram um comportamento mecânico do tipo pseudo-sólido (Figura 20). É possível observar que a incorporação das nanopartículas provocou um aumento da região vítrea em temperaturas mais elevadas, quando comparado ao WPU0. Além disso, os valores de T_{gSF} aumentam quando o teor de CQDs foi aumentado: -32,3 °C (WPU0), -23,5 °C (WPU0,5), -21,9 °C (WPU1) e -26,7 °C (WPU2). Isso pode ser

correlacionado com um possível efeito de lubrificação dos CQDs não ligados ao WPU. Essa hipótese poderá ser comprovada, a partir dos experimentos reológicos em baixa amplitude de deformação que serão apresentados na seção posterior [153, 158]. Acima de 40 °C, os valores de T_{gSR} para as amostras podem ser detectados: 48,1 °C (WPU0), 52,3°C (WPU0,5), 52,8 °C (WPU1) e 52,8 °C (WPU2). Esse aumento na T_{gSR} , decorrente da adição dos CQDs, provavelmente está associado às interações de hidrogênio entre os CQDs e os grupos C=O do WPU. Resultados semelhantes também foram relatados na literatura [148, 158].

Em relação à região do *plateau* elástico, nota-se que para o WPU0, os valores de E' são inferiores àqueles dos nanocompósitos, exceto quando comparado ao WPU2. Levando-se em consideração a teoria da elasticidade, é possível inferir que há um possível aumento de massa molar [159]. Entretanto, os resultados de SEC apresentados nesta tese, mostraram que as massas molares dos materiais são semelhantes, mesmo quando elevadas concentrações de CQDs são adicionados. Sendo assim, é possível que o decréscimo dos valores de E' na região do *plateau* para as amostras contendo CQDs esteja associado ao escorregamento que pequenas partículas podem promover no sistema e não ao comportamento da massa molar. Uma vez que as polidispersões das massas molares são próximas, torna-se difícil discorrer com clareza a respeito da formação de cadeias ramificadas. Ainda nota-se que o fator de dissipação no estado sólido pouco muda na região vítrea com o aumento da quantidade de CQDs. No entanto, na região do *plateau* elástico, a amostra de WPU0 apresenta maiores valores de $\tan \delta$, o reflete o fato de que ambos E' e E'' estão reduzindo com a adição de CQDs. Ainda, fica evidente que parte das partículas de CQDs estão atuando na restrição aos movimentos moleculares e outra porção está atuando no ganho de mobilidade.

Figura 20 – Módulo de armazenamento (E') (linhas solidas) e o fator de perda ($\tan \delta$) (linhas tracejadas) em função da temperatura para WPU0, WPU0,5, WPU1 e WPU2



6.4. Propriedades reológicas

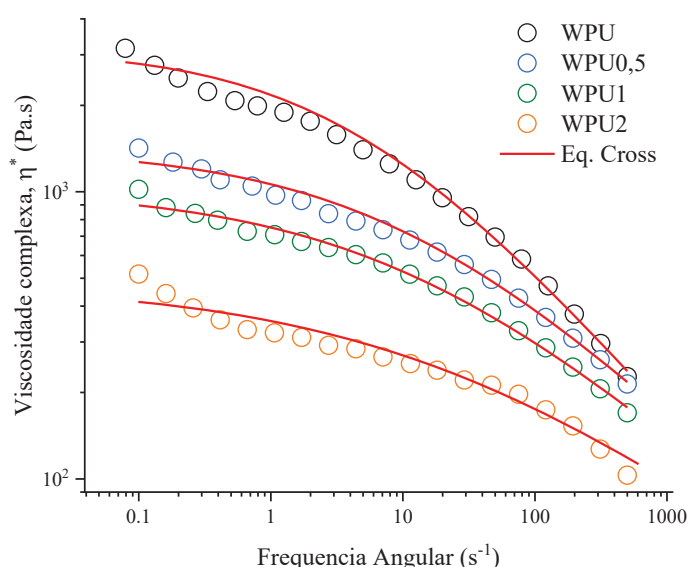
A reologia tem sido amplamente utilizada como uma técnica precisa para investigar o comportamento viscoelástico de polímeros, dispersões poliméricas e compósitos. Nesse contexto, o efeito da incorporação dos CQDs nas propriedades reológicas do WPU no estado fundido foi investigado. A Figura 21 mostra a dependência da viscosidade complexa (η^*) em função da frequência angular (ω) para os nanocompósitos contendo diferentes quantidades de CQDs. É possível observar que a η^* diminui com o aumento do teor de CQDs incorporado à matriz em comparação com o WPU puro, especialmente em baixas frequências. Esse comportamento está relacionado a um efeito lubrificante induzido pelo CQDs [156, 160].

Para polímeros com massas molares semelhantes, a adição de partículas pequenas ($d < 10$ nm) a um líquido altamente viscoso pode provocar uma diminuição nos valores de viscosidade de cisalhamento zero (η_0). O efeito dessa adição em amostras poliméricas causa um desvio no comportamento líquido, previsto pela Lei das Esferas de Suspensão de Einstein, e foi reportado para nanocompósitos de poli(fluoreto de vinilideno)/poliedros oligoméricos silsesquioxano (PVDF/POSS) [156]. Tal desvio também foi detectado para os nanocompósitos à base de CQDs, conforme mostrado na Figura 21. As estruturas de silsesquioxanos em forma

de poliedros possuem grupos funcionais ligados ao seu redor, analogamente aos CQDs assim, não é surpreendente que o comportamento reológico tenha certas semelhanças [156].

Ainda, deve ser levado em consideração que, em sistemas polímero/nanopartículas esféricas, costuma-se notar que a concentração crítica para a aglomeração é da ordem de 0,2% [156, 160]. Esses aglomerados podem ter comportamento pseudo-líquido, o que também contribui para a redução da viscosidade [160]. Ao formarem aglomerados, essas partículas podem contribuir para o aumento da componente viscosa, provocando a redução das propriedades mecânicas e, muitas vezes, da T_g . Esse comportamento foi observado em sistemas à base de nanopartículas de poliestireno e POSS [157, 160].

Figura 21 – Viscosidade complexa, η^* em função da frequência angular para o WPU puro e os nanocompósitos contendo diferentes quantidades de CQDs



Na Tabela 5 são apresentados os parâmetros reológicos determinados pelo ajuste da equação de Cross. Os sistemas WPU/CQDs possuem comportamento pseudoplástico, ou seja, sofrem decréscimo de viscosidade em função do aumento da frequência de oscilação. Os coeficientes de correlação para os ajustes do modelo de Cross ficaram acima de 0,99.

A adição de CQDs provocou uma redução nos valores de m e λ . Um alto valor da constante de tempo λ implica na necessidade de um cisalhamento oscilatório relativamente alto para provocar a ruptura estrutural do sistema. Quando λ é grande (ou seja, o parâmetro dependente do tempo associado à transição de platô newtoniano é grande), a quebra ocorre em

taxas de cisalhamento relativamente baixas (frequências). Portanto, a transição do *platô* newtoniano ocorre em frequências mais baixas. Essa tendência é atribuída ao aumento da dissipação viscosa. O parâmetro η_0^* é reduzido proporcionalmente ao aumento da quantidade de CQDs, e, embora ele forneça uma indicação da massa molar, os resultados de SEC mostram que elas são semelhantes. Levando-se em consideração que os CQDs são polifuncionais, acredita-se que uma porção que está ligada não seja capaz de unir-se com mais de duas cadeias de WPU até um teor de 2% em massa de nanopartículas. No entanto, para teores superiores a esse valor, foi identificada a formação de polímero reticulado na síntese. Isso também se reflete no maior tamanho das partículas observado nas suspensões, medidas por DLS. Em relação aos valores de m , nota-se que a pseudoplasticidade do sistema diminui com o aumento do teor de nanopartículas, com o valor de m em direção à zero ($m \rightarrow 0$ = comportamento newtoniano). Esse comportamento está relacionado diretamente com o efeito de escorregamento que essas pequenas partículas provocam nas cadeias do polímero.

Tabela 5 – Parâmetros reológicos obtidos através do ajuste da equação de Cross para o WPU puro e para os nanocompósitos de WPU/CQDs

Amostra	η_0^* (Pa.s)	λ (s)	m	r^2
WPU0	3159	0,245	0,52	0,9951
WPU0.5	1420	0,098	0,45	0,9994
WPU1	1019	0,084	0,41	0,9907
WPU2	477	0,048	0,34	0,9969

η_0^* : viscosidade complexa na frequência zero; λ : parâmetro dependente do tempo associado à transição do *platô* newtoniano; m : adimensional ($m \rightarrow 1$ = comportamento pseudoplástico, $m \rightarrow 0$ = comportamento do fluido newtoniano); r^2 : coeficiente de correlação

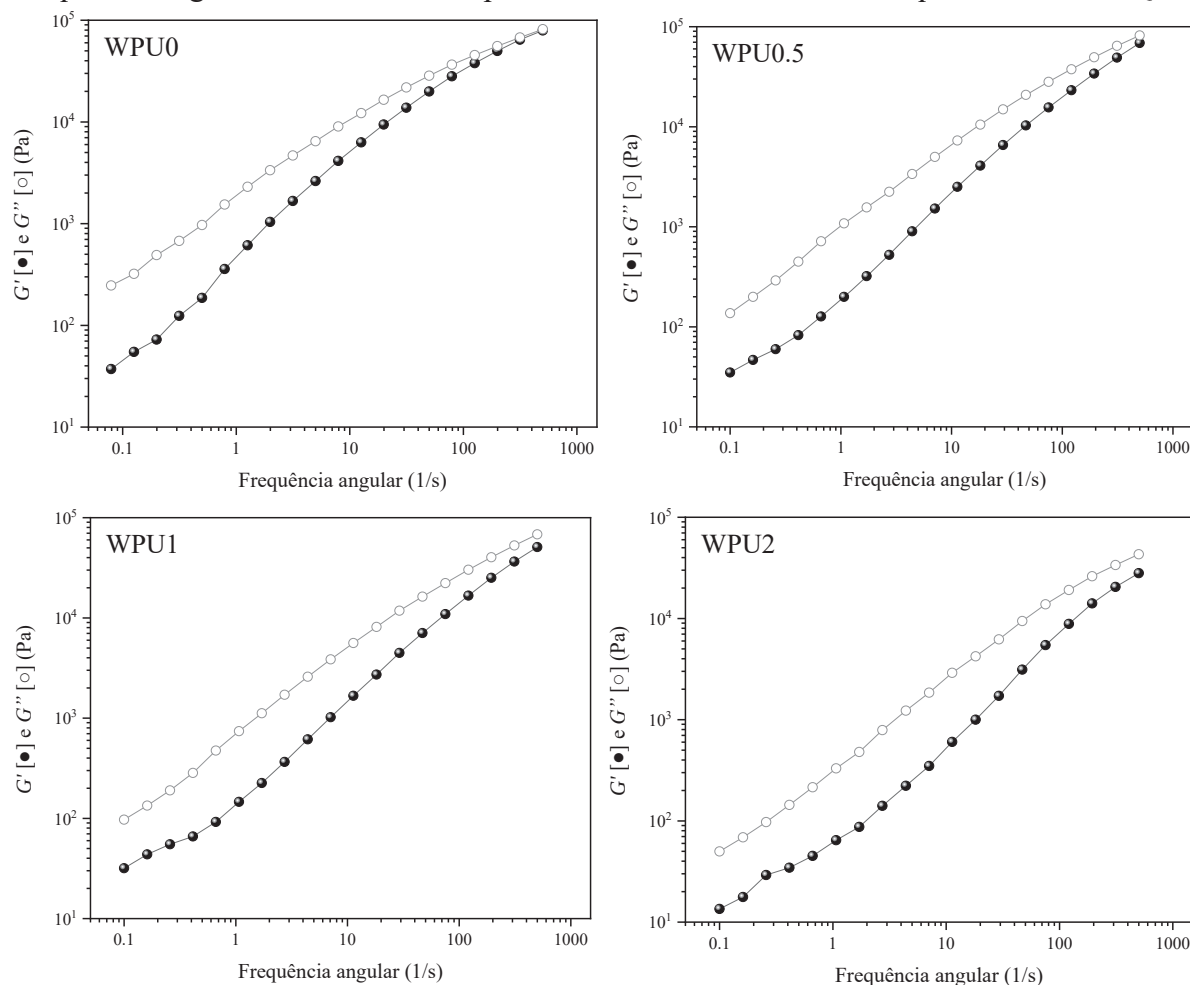
De fato, a dinâmica cooperativa e as propriedades viscoelásticas são afetadas pela presença de nanopartículas pequenas, como a literatura tem mostrado para sistemas de POSS com tamanho $< 1,5$ nm. A redução anômala da viscosidade é uma característica recorrente. Wang e Hill [161] atribuíram que a redução da viscosidade é devida à formação de uma camada de polímero na interface nanopartícula-polímero com viscosidade e densidade diferentes do polímero puro. O modelo teórico descrito por esses autores também mostrou que mesmo pequenas frações de nanopartículas induziriam à redução da viscosidade. Já Kalati *et al.* [162] realizaram simulações de dinâmica molecular de misturas de nanopartículas e polímeros de fraca interação, e mostraram que nanopartículas menores que o tamanho da malha de emaranhamento induziriam taxas de relaxação monomérica mais rápidas e desentrelaçamento

de cadeia. Mais recentemente, Senses *et al.* [163] mostraram a partir de dados experimentais que pequenas nanopartículas induzem a dilatação do tubo de reptação e, conseqüentemente, o desentrelaçamento da cadeia, desde que o tamanho da partícula seja menor que o tamanho da malha de emaranhamento. Assim, os CQDs poderiam induzir um processo de redução de viscosidade de modo a modificar a relaxação das cadeias do WPU.

A Figura 22 apresenta os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') em função da frequência angular (ω) para o WPU puro e os nanocompósito. É possível observar que G' e G'' diminuem com o aumento do teor de CQDs, em comparação com o WPU puro, e em todas as amostras é observado um comportamento pseudo-líquido viscoso $G'' \gg G'$. Seria esperado que os CQDs quando individualizados resultariam em aumento do comportamento pseudo-sólido; no entanto, em virtude da sua natureza esférica e de pequeno tamanho, esse comportamento não é observado. Contudo, a região de *crossover* ($G'' = G'$) também é afetada, ou seja, ocorre em maiores frequências em virtude do aumento da componente viscosa.

O ponto de *crossover* ($G' = G''$) encontrado para o WPU puro foi de 501 s^{-1} . Quando os CQDs são adicionados à matriz polimérica, o ponto de *crossover* apresenta uma tendência de deslocamento para frequências mais elevadas. O ponto de *crossover* marca o início da região de escoamento do polímero. A frequência de cruzamento corresponde aproximadamente ao tempo de relaxação terminal (reptação), τ_t em polímeros lineares ($\tau_t \sim 1/\omega G' = G''$) [164]. Assumindo a validade desta relação para o WPU e os WPU/CQDs, como uma aproximação, os resultados mostram que as nanopartículas induziram uma diminuição de τ_t , ou seja, ocorre uma aceleração da dinâmica molecular. Assim, os CQDs são eficientes em induzir a aceleração da dinâmica da reptação macromolecular, permitindo que as cadeias emaranhadas fiquem mais espaçadas e proporcionando mais volume para a reptação.

Figura 22 – Curvas de módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G'') versus frequência angular obtidas a 120 °C para o WPU contendo diferentes quantidades de CQDs



6.5. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes também foram avaliadas e estão apresentadas na Tabela 6. Comparado ao WPU puro, é possível observar que a incorporação de 1% em massa de CQDs causou um aumento considerável nas propriedades de resistência à tração, alongamento na ruptura e dureza do nanocompósito. Esse efeito não foi tão significativo, considerando a adição de 0,5% em massa de CQDs ao WPU. A incorporação dos CQDs aumenta as interações secundárias de caráter topológico e a interação interfacial com a matriz, refletindo no aumento da rigidez do sistema e, consequentemente, no aumento da resistência à tração [25, 144]. Além disso, os grupos funcionais polares presentes na superfície dos CQDs podem formar uma interface difusa entre os segmentos rígidos e flexíveis com contribuição das ligações de hidrogênio [144, 165]. Essas interações entre os segmentos do WPU e a camada de

interface difusa desempenham um papel de transição quando a matriz é estirada, o que faz com que a propriedade de alongamento na ruptura também aumente. No entanto, esse aumento nas propriedades mecânicas não foi observada para teores superiores a 1% em massa de CQDs, o que pode estar associado a um limite crítico na separação de fases do WPU [143]. Elevados teores de nanopartículas podem propiciar a formação de aglomerados, conforme já reportado para outros sistemas poliméricos [155]. Essas nanopartículas em excesso podem facilitar o escorregamento das cadeias poliméricas, ou seja, podem atuar diretamente no aumento de mobilidade das cadeias, de forma análoga a sistemas de poliestireno e nanopartículas de POSS, reduzindo assim as propriedades mecânicas do sistema [155, 160]. Considerando a aplicação desse sistema na área de revestimentos, a formulação WPU1 foi a que se mostrou a mais interessante.

Tabela 6 – Propriedades mecânicas do WPU puro e dos nanocompósitos de WPU/CQDs

Amostra	Dureza (Shore A)	Resistência à tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
WPU0	74,2 ± 1,5	129 ± 18	340 ± 14
WPU0.5	75,4 ± 0,9	131 ± 26	351 ± 36
WPU1	81,5 ± 2,5	198 ± 14	389 ± 24
WPU2	65,8 ± 1,7	64 ± 36	260 ± 112

6.6. Energia livre de superfície

Os WPUs têm sido amplamente desenvolvidos para aderir a vários substratos, como couro, vidro, madeira, plásticos, metais, concreto e cerâmica [166]. Sabe-se que a energia livre de superfície (γ_s) desses substratos é o parâmetro dominante na molhabilidade e força de adesão do revestimento. Além disso, sabe-se que a adesão bacteriana é enfraquecida em materiais com baixa γ_s , motivo pelo qual as propriedades dos filmes nanocompósitos foram avaliadas [8]. A Tabela 7 mostra o efeito da incorporação dos CQDs nos valores de γ_s dos filmes nanocompósitos à temperatura ambiente. É possível observar que os parâmetros γ_s e γ_s^P dos filmes aumentam com a incorporação de teores mais elevados de CQDs, o que está de acordo com os valores da literatura [20, 97, 166]. O encapsulamento de CQDs na matriz polimérica contribuiu para aumentar a hidrofiliabilidade dos nanocompósitos, devido às características da superfície polar dessas nanopartículas [167]. Quando o teor de CQDs é elevado, um número

relativamente alto de grupos --COOH ou --OH está presente na superfície do WPU; portanto, a γ_s e a hidrofilicidade desses grupos são maiores, em relação a outros grupos funcionais presentes no WPU. Além disso, de um modo geral, a baixa γ_s do WPU também está associada à polaridade localizada dos segmentos rígidos e grupos iônicos na superfície do material [168]. Moradlou *et al.* [33] sintetizaram poliuretanos termoplásticos (TPUs) com diferentes razões entre os segmentos rígidos e flexíveis e mostraram que os materiais tornaram-se mais polares à medida que a fração do segmento rígido foi aumentada (componentes de maior polaridade e ligação de hidrogênio).

Infelizmente, esse aumento na polaridade do material, e consequentemente, diminuição no valor ângulo de contato para líquidos polares, não favorece a aplicação pretendida, já que pode contribuir para a adesão bacteriana. Alguns estudos sugerem que a adesão bacteriana é favorecida quando o ângulo de contato entre a superfície e a água está próximo de 70° , enquanto ângulos de contato mais altos ou mais baixos diminuem essa susceptibilidade [47]. A discussão a respeito do efeito da hidrofobicidade na colonização de cepas de bactérias ainda é contraditória na literatura, mas uma tendência geral é que as superfícies hidrofílicas atraem mais bactérias [37]. Obviamente, o mecanismo de adesão e interação bacteriana com um substrato não será ditado apenas pelo valor de γ_s , mas também dependerá da rugosidade do substrato, da natureza do micro-organismo e de suas características estruturais e superficiais como por exemplo, a carga elétrica de sua membrana.

Tabela 7 – Ângulos de contato (θ , $^\circ\text{C}$) e energia livre de superfície (γ_s) dos filmes sólidos, incluindo contribuições dispersivas (γ_s^D) e polares (γ_s^P)

Amostra	Ângulo de contato (θ , $^\circ\text{C}$)				Energia livre de superfície (mN/m)			r^2
	Água	Glicerina	DMSO	Hexadecano	γ_s	γ_s^D	γ_s^P	
WPU0	$76,1 \pm 0,8$	$78,6 \pm 1,6$	$46,7 \pm 0,5$	$16,1 \pm 2,1$	30,9	22,6	8,3	0,8869
WPU0.5	$74,3 \pm 1,7$	$75,1 \pm 0,8$	$45,3 \pm 1,6$	$16,1 \pm 2,8$	32,2	22,8	9,5	0,9207
WPU1	$73,5 \pm 0,8$	$72,8 \pm 0,9$	$40,5 \pm 0,8$	$17,3 \pm 1,4$	33,3	23,6	10,7	0,9394
WPU2	$70,4 \pm 1,5$	$70,2 \pm 1,2$	$36,2 \pm 0,9$	$17,9 \pm 1,8$	35,1	23,7	11,3	0,9480

6.7. Determinação dos parâmetros de solubilidade de Hansen (HSP)

A solubilidade do WPU puro (WPU0) e do nanocompósito que apresentou as melhores propriedades físico-mecânicas (WPU1) foi avaliada em trinta e cinco solventes diferentes e

classificada como insolúvel (valor = 0) ou solúvel (valor = 1). Os resultados de solubilidade estão apresentados na Tabela 8. Estes dados experimentais foram ajustados a uma esfera de solubilidade para determinar os valores de HSP dos filmes, seguindo o procedimento descrito em [131]. Conforme mostrado na Figura 23, todos os solventes que solubilizaram os materiais testados estão localizados dentro da esfera de HSP, enquanto os não-solventes permaneceram fora dela. Esse comportamento também é observado na Tabela 8, por meio dos valores da diferença de energia relativa (RED) ($RED < 1$ = forte interação entre os filmes e o solvente testado, enquanto $RED > 1$ = fraca interação entre as duas substâncias).

Os valores obtidos para o HSP do WPU0 e do nanocompósito WPU1 foram iguais [δ_D (24,856 MPa^{0.5}), δ_P (8,203 MPa^{0.5}), δ_H (7,643 MPa^{0.5}) e R_0 (16,311)] e são semelhantes aos resultados encontrados na literatura para TPUs [130]. Essa igualdade entre os HSPs de ambos os filmes é decorrente das pequenas diferenças na solubilidade entre ambos. Moradlou *et al.* [33] mostrou que o aumento do teor de segmentos rígidos em um TPU levou a parâmetros de solubilidade mais altos e a uma diminuição no raio da esfera de solubilidade, devido a componentes de ligações polares e de hidrogênio mais altos, sugerindo que o TPU se torna mais polar à medida que a fração de segmento rígido aumenta. Resultado semelhante foi encontrado na análise da energia superficial dos nanocompósitos de WPU/CQDs. Entretanto, Mieczkowski *et al.* [169] mostrou que os parâmetros de solubilidade dos PUs são muito dependentes da arquitetura molecular do segmento flexível, o que justificaria a semelhança nos HSPs de ambos os WPUs (WPU0 e WPU1), uma vez que a inclusão dos CQDs na estrutura do WPU afeta a fase rígida do material e a microseparação de fases, tendo pouco efeito sobre a fase flexível.

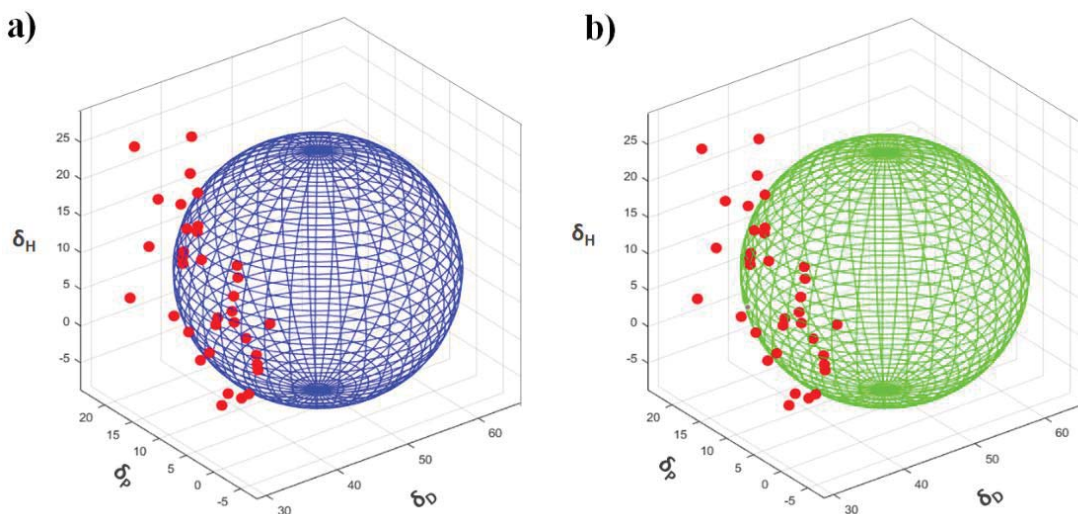
O conhecimento do HSP do nanocompósito se torna interessante, uma vez que esse material pode servir como revestimento em diversas superfícies e poderá ser submetido ao contato direto com diferentes produtos e solventes decorrente de processos de limpeza, desinfecção e esterilização.

Tabela 8 – Solventes testados nos ensaios de solubilidade à 23 °C e seus valores de diferença de energia relativa (RED)

Nº	Solvente	*Parâmetros de solubilidade (MPa ^{1/2})			**RED	***Solubilidade experimental	
		δ _D	δ _P	δ _H		WPU0	WPU1
1	Ácido fórmico	14,3	11,9	16,6	1,4242	0	0
2	Éter etílico	14,5	2,9	5,1	1,3201	0	0
3	Dietilamina	14,9	2,3	6,1	1,4010	0	0
4	Hexano	14,9	0,0	0,0	1,2768	0	0
5	Metanol	15,1	12,3	22,3	1,5171	0	0
6	Acetonitrila	15,3	18,0	6,1	1,3201	0	0
7	Trietilamina	15,5	0,4	1,0	1,3080	0	0
8	Acetona	15,5	10,4	7,0	1,1558	0	0
9	Propan-2-ol	15,8	6,1	16,4	1,2401	0	0
10	Etanol	15,8	8,8	19,4	1,3244	0	0
11	Dietilenoglicol	16,0	7,0	10,6	1,0981	0	0
12	Metil-etil-cetona	16,0	9,0	5,1	1,0856	0	0
13	n-dibutilamina	16,2	4,5	8,0	1,2543	0	0
14	Hexadecano	16,3	0,0	0,0	1,3114	0	0
15	Ciclohexano	16,8	0,0	0,2	1,1987	0	0
16	Tetrahidrofurano	16,8	5,7	8,0	0,9999	1	1
17	1,2-propanodiol	16,8	9,4	23,3	1,3794	0	0
18	Glicerol/etanol 60/40	16,8	10,8	25,3	1,4741	0	0
19	Octan-1-ol	17,0	3,3	11,9	1,0423	0	0
20	DEG/m-cresol 70/30	17,0	9,9	18,4	1,1721	0	0
21	Trietanolamina	17,3	22,4	23,3	1,5929	0	0
22	Glicerol	17,4	12,1	29,3	1,6297	0	0
23	N, N-dimetilformamida	17,4	13,7	11,3	0,9998	1	1
24	Clorofórmio	17,8	3,1	5,7	1,0105	1	1
25	Xileno	17,8	1,0	3,1	0,9277	0	0
26	DMSO/ethanol 80/20	17,9	14,9	12,0	0,9836	1	1
27	Tolueno	18,0	1,4	2,0	1,0002	0	0
28	m-cresol	18,0	5,1	12,9	0,9202	1	1
29	Água	18,1	12,9	15,5	1,0006	0	0
30	Diclorometano	18,2	6,3	6,1	0,8299	1	1
31	Álcool benzílico	18,4	6,3	13,7	0,8821	1	1
32	Dimetilsulfóxido	18,4	16,4	10,2	0,9507	1	1
33	Dioxano	19,0	1,8	7,4	0,8185	1	1
34	Monoclorobenzeno	19,0	4,3	2,0	0,8322	1	1
35	Piridina	19,0	8,8	5,9	0,7269	1	1

*Os HSPs dos solventes testados foram obtidos das refs. [131, 132]; **RED foi calculada usando os valores de HSPs a partir do algoritmo *fminsearch* solver (RED < 1 = interação forte entre o filme e o solvente enquanto RED > 1 = interação fraca entre as duas substâncias); *** valor zero = insolúvel e valor um = solúvel.

Figura 23 – Esfera de solubilidade de Hansen calculada a partir do HSP e R_0 para (a) WPU0 e (b) WPU1. Os círculos em vermelho indicam os solventes utilizados, com base na Tabela 8



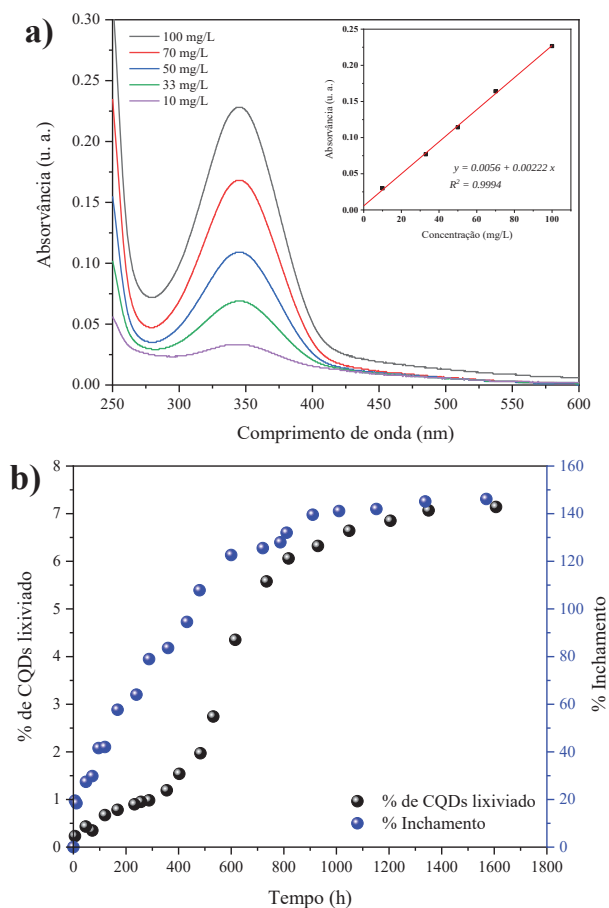
6.8. Lixiviação dos CQDs em meio aquoso

Uma das principais preocupações sobre a modificação de materiais poliméricos com nanopartículas é a possível lixiviação destas em relação à matriz, o que pode resultar em poluição secundária e representar um risco para a saúde de organismos não-alvo. Em virtude disso, a taxa de lixiviação dos CQDs incorporados no filme WPU1 foi investigada em meio aquoso por meio da técnica de espectroscopia na região do UV-Vis. A Figura 23 mostra a curva de calibração construída para a solução de CQDs e o comportamento das porcentagens de CQDs lixiviado e de inchamento em função do tempo. A análise comparativa da densidade óptica a 360 nm da solução aquosa circundante aos filmes imersos em relação à curva de calibração, propiciou a determinação da concentração de CQDs lixiviados da matriz polimérica. Nas primeiras 24 h, apenas 0,2% das nanopartículas haviam sido lixiviadas para o meio [Figura 23(b)]. Essa lixiviação inicial dos CQDs provavelmente está atribuída às nanopartículas que estavam apenas adsorvidas na superfície dos filmes e que acabaram por migrar imediatamente para a solução [168]. Para um período de até 500 h, a taxa de lixiviação dessas nanopartículas foi lenta e apenas 1,5% dos CQDs foram transferidos para o meio circundante. Após esse período, a taxa de lixiviação aumentou rapidamente para 7% e então atingiu a estabilidade. Vale ressaltar que, durante a polimerização dos nanocompósitos, nem todos os CQDs foram ligados covalentemente ao WPU e, mesmo assim, essas nanopartículas

apresentaram resistência à lixiviação da matriz, como decorrência das interações nanopartícula-WPU. Outro fenômeno que também pode ter favorecido a lixiviação dos CQDs da matriz para o meio aquoso é o de inchamento do filme nanocompósito [comportamento também mostrado na Figura 23(b)]. Quando em contato com o meio aquoso, os filmes nanocompósitos absorveram água e aumentaram o seu volume. Essa dilatação aumenta o espaçamento entre as cadeias poliméricas, fazendo com que os CQDs não-ligados ao polímero possam então migrar para o meio aquoso [155]. A baixa resistência à água tem sido outro fator importante para a restrição de uso dos WPUs em aplicações avançadas [167]. Esse comportamento de absorção de água pelo filme a base de WPU é influenciado por muitos fatores, incluindo a estrutura da rede hidrofóbica, a densidade de reticulação do material e a presença de nanopartículas polares entre as cadeias poliméricas. Após 1700 h, o valor de inchamento para o WPU0 foi de 105%, enquanto para o WPU1, o valor foi de 145%. Essa diferença no comportamento de absorção de água entre os materiais se deve principalmente à presença dos CQDs na matriz polimérica. Como citado anteriormente, essas nanopartículas são polares, apresentando elevada solubilidade em água e sua presença no WPU, torna o polímero mais polar.

A baixa taxa de lixiviação e de inchamento desse material nas primeiras 24 h indicam que o nanocompósito pode ser aplicado em sistemas que estão em contato direto com fluidos. Essas nanopartículas lixiviadas não provocam danos ao indivíduo, uma vez que os CQDs são atóxicos e já foram identificados inclusive no café solúvel da marca Nescafé [170]. Contudo, ao longo do tempo, esses filmes absorvem água e praticamente dobram de tamanho, havendo assim, um limite para o qual o material pode permanecer em contato com estes fluidos.

Figura 24 – (a) Curva de calibração para os CQDs e (b) porcentagem de CQDs lixiviados em função do tempo vs. inchamento para o nanocompósito WPU1



6.9. Propriedades ópticas

As características ópticas dos nanocompósitos quando observados sob as luzes visível e UV são mostradas na Figura 25. Enquanto o filme WPU0 puro é incolor e transparente, os nanocompósitos apresentaram um aumento nos níveis de coloração amarela sob iluminação da luz visível. Essa alteração de cor, provocada pela presença das nanopartículas no polímero, foram medidas pela técnica de colorimetria (Tabela 9). Os resultados da Tabela 9 mostram que o aumento da concentração de CQDs tornou os filmes nanocompósitos mais escuros (ΔL^*) e com maior índice de amarelecimento (Δb^*). Todas as amostras exibiram pequenos valores de diferença de índice de verde-vermelho (Δa).

Essas características colorimétricas são intrínsecas aos próprios CQDs no estado sólido. Contudo, a transmitância da luz visível e a transparência original do WPU foram mantidas, mesmo com a incorporação dos CQDs, o que se deve ao tamanho quântico dessas nanopartículas e sua distribuição uniforme pela matriz polimérica [26]. Tal comportamento é bastante interessante, uma vez que a preservação da transparência de filmes nanocompósitos,

especialmente daqueles a base de partículas carbonáceas (tais como óxido de grafeno, nanotubo de carbono, etc.), é um fenômeno difícil de se garantir.

Tabela 9 – Comparações colorimétricas do espaço de cor CIE $L^*a^*b^*$ utilizando-se o filme de WPU puro (WPU0) como referência, (ΔL^* , Δb^* e Δa^* iguais a 0)

Amostra	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*
WPU0.5	$4,99 \pm 0,93$	$-1,76 \pm 0,79$	$0,14 \pm 0,24$	$4,26 \pm 0,79$
WPU1	$4,67 \pm 0,32$	$-5,86 \pm 0,30$	$3,92 \pm 0,07$	$7,35 \pm 0,26$
WPU2	$1,28 \pm 0,16$	$-5,74 \pm 0,07$	$18,11 \pm 0,03$	$18,50 \pm 0,03$

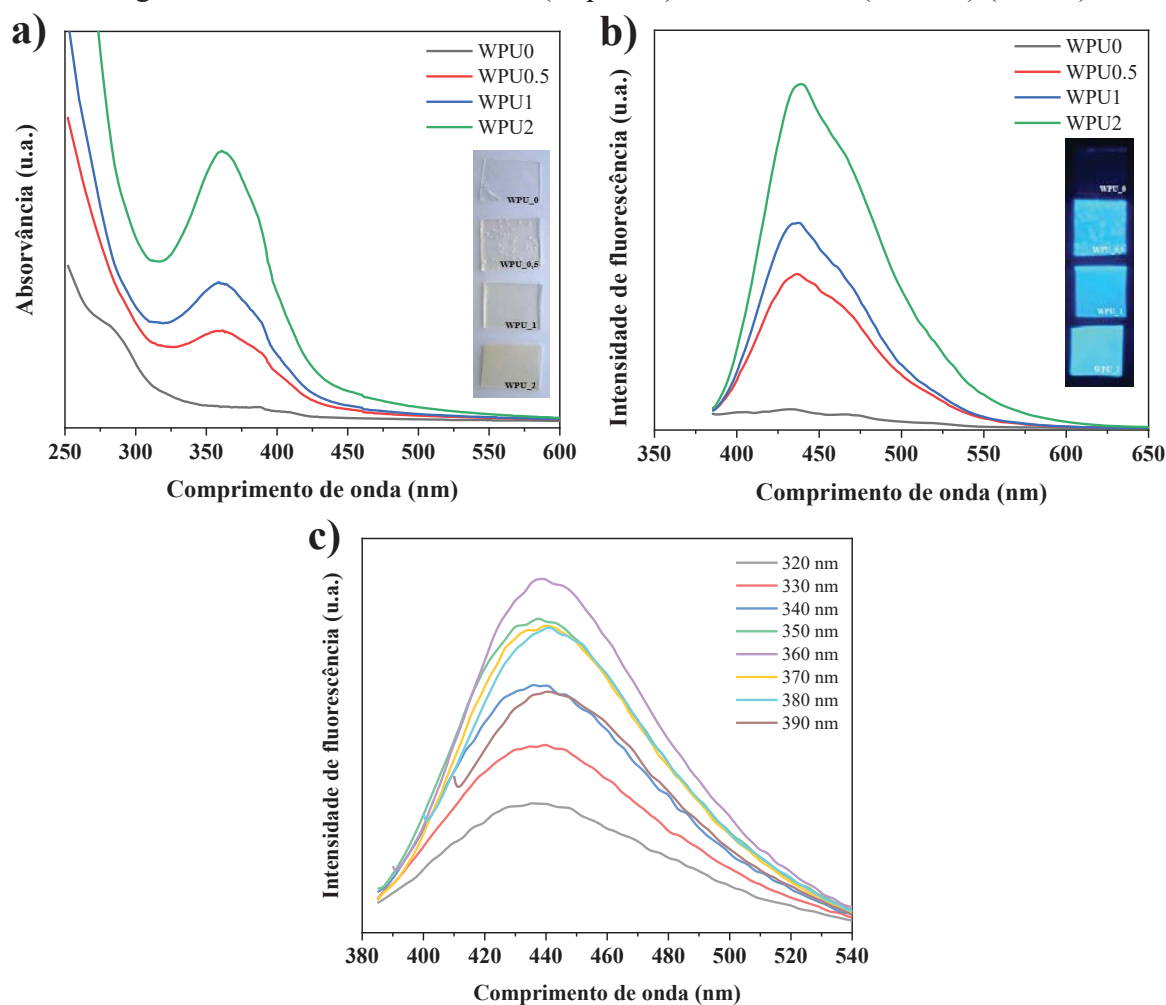
ΔL^* = luminosidade; Δa^* = verde-vermelho; Δb^* = amarelo-azul; ΔE^* = variação total da cor

A Figura 25(a) mostra os espectros de absorção UV-Vis dos filmes. Os espectros dos filmes nanocompósitos apresentaram bandas de absorção largas com máximos em 360 nm, indicativos da presença dos CQDs, já que tais nanopartículas também absorvem nesse comprimento de onda. A intensidade das bandas de absorção dos nanocompósitos aumentou em função do incremento no teor de CQDs. O mesmo comportamento foi observado para as propriedades de fluorescência dos filmes [Figura 25(b)]. Quando excitados no comprimento de onda de 360 nm, os filmes exibiram fluorescência com emissão máxima em 440 nm, confirmando a incorporação das nanopartículas na matriz polimérica, sem a perda das propriedades específicas originais dos CQDs [26, 144]. Bai *et al.* [145] produziram nanocompósitos de TPU/CQDs e demonstraram que os filmes exibiram valores absolutos de QY surpreendentemente maiores do que aqueles observados para os CQDs isolados, atribuindo esse efeito de emissão intensificada a uma maior preservação dos CQDs quando incorporados à estrutura polimérica reticulada. Durante a síntese, os grupos funcionais presentes na superfície dos CQDs podem ser quimicamente ligados às cadeias do WPU para formar uma estrutura de rede ligeiramente reticulada. Assim, a rotação e a vibração desses grupos funcionais são imobilizados eficientemente, o que leva a uma transição radiativa aprimorada, exibindo propriedades de FL aumentadas.

As propriedades ópticas do WPU1 (nanocompósito que apresentou as propriedades físico-mecânicas mais interessantes) também foram investigadas por meio de espectros de FL, obtidos em diferentes comprimentos de onda de excitação (320–390 nm). Uma banda de emissão centrada em 440 nm foi observada para todos os comprimentos de onda de excitação, com intensidade de fluorescência máxima em 360 nm [Figura 25(c)]. Esse comportamento de FL independente da excitação, indica que os CQDs mantêm um tamanho e estado de superfície relativamente uniformes, ou seja, estão bem dispersos na matriz polimérica [53]. O discreto

deslocamento observado nos valores máximos de emissão pode estar associado à ligação física entre os grupos funcionais superficiais dos CQDs e as cadeias do WPU [51].

Figura 25 – Espectros de (a) absorvância na região do UV-Vis, (b) emissão de fluorescência (excitado em 360 nm) dos WPU/CQDs e (c) espectros de emissão de fotoluminescência do WPU1 sob diferentes comprimentos de onda de excitação (320–410 nm). As inserções são fotografias dos filmes sob luz solar (esquerda) e sob luz UV (360 nm) (direita)

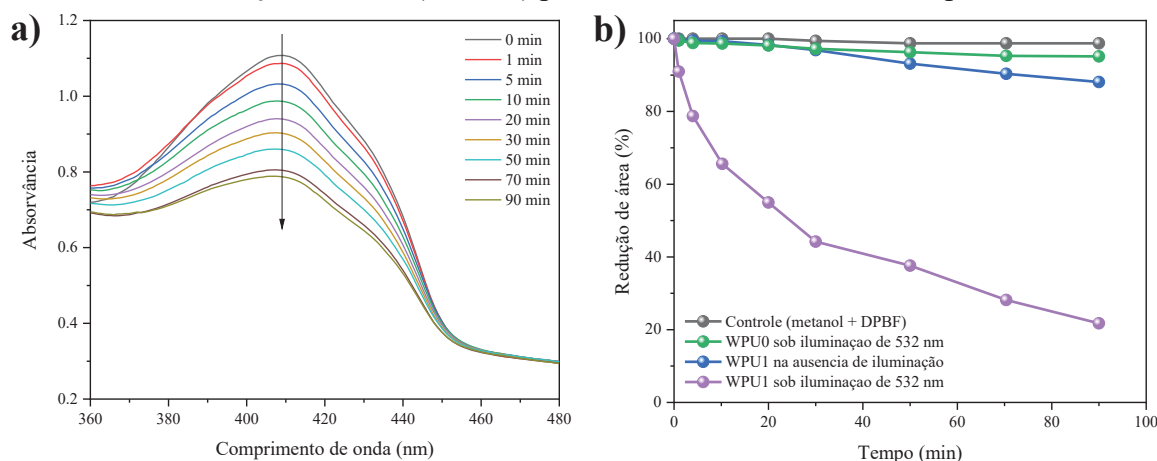


6.10. Monitoramento da geração de oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$)

O princípio de ação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) baseia-se na capacidade do material em produzir espécies citotóxicas radiculares de oxigênio, tais como o $^1\text{O}_2$. Nesse trabalho, a produção de $^1\text{O}_2$ pelo nanocompósito WPU1 foi investigada por meio da diminuição da intensidade de absorvância espectroscópica na região de 410 nm pelo composto DPBF durante a irradiação com um laser de comprimento de onda de 532 nm. A Figura 26(a)

mostra os espectros de absorvância da solução de DPBF em metanol registrados durante a iluminação do WPU1 com o laser em diferentes intervalos de tempo. A reação da espécie $^1\text{O}_2$ produzida pelos CQDs presentes no nanocompósito com as moléculas de DPBF, gerando 1,2-dibenzoilbenzeno, pode ser nitidamente observada. Considerando a curta vida útil dessa espécie radicalar ($\sim 12 \mu\text{s}$), o nanocompósito WPU1 passa a funcionar como um reservatório de $^1\text{O}_2$ por um tempo relativamente alto após a excitação (várias dezenas de μs), sendo capaz de liberar gradualmente oxigênio singlete para o ambiente, onde é efetivamente extinto [8]. Quando os ensaios foram realizados em metanol puro (controle sem o nanocompósito) ou sem iluminação (controle escuro com o WPU1), nenhuma redução significativa no comportamento de absorção do DPBF foi observada [Figura 26(b)]. A possibilidade de auto-oxidação do DPBF foi descartada, uma vez que, na ausência do nanocompósito, o oxigênio do ar dificilmente degrada o DPBF e a banda de absorção em 410 nm permanece praticamente inalterada [171]. Esses resultados fornecem evidências da geração de $^1\text{O}_2$ pelo nanocompósito sob iluminação de luz visível e também foram observados para outros sistemas semelhantes [36, 46, 172, 173]. Isto propicia a aplicação do nanocompósito em estudo como um revestimento com ação antibacteriana.

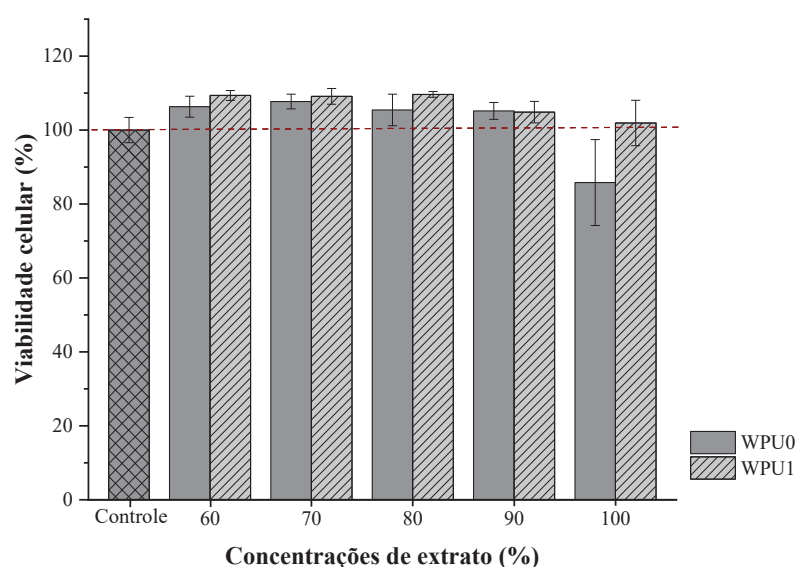
Figura 26 – (a) Espectro UV-Vis da fotooxidação do 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) na presença do WPU1 sob irradiação de laser (532 nm) por diferentes intervalos de tempos e (b) decréscimo percentual na absorvância de DPBF na presença do WPU0 e WPU1 sob irradiação de laser (532 nm) por diferentes intervalos de tempos



6.11. Viabilidade celular

Um dos requisitos mais importantes para qualquer material com aplicação em medicina ou biotecnologia é a baixa toxicidade. Nesse estudo, a viabilidade de células BALB/3T3 quando em contato com os filmes WPU0 e WPU1 foi investigada por meio do ensaio NRU. Conforme apresentado na Figura 27, ambos os materiais (WPU0 e WPU1) não apresentaram qualquer efeito citotóxico contra BALB/3T3 após 24 h de contato, independentemente da concentração do extrato. Os resultados de viabilidade celular acima de 100% representados na Figura 27 podem ser explicados como uma resposta de compensação direta a baixos níveis de estresse ou dano quando a ruptura da homeostase é alcançada [136]. Esse pequeno aumento não foi considerado significativo por estar relacionado a um efeito de hormese (ou seja, está associado a compostos tóxicos que, em baixas doses, mostram efeito estimulatório ou benéfico ao organismo exposto e em altas doses podem apresentar um efeito inibitório ou tóxico), sendo plausível considerá-lo semelhante ao do controle celular. É possível inferir, portanto, que o uso do nanomaterial em dispositivos médicos para contato de curta duração com o corpo humano não provocaria citotoxicidade ao indivíduo e que a presença dos CQDs na matriz polimérica também não provocou alterações na resposta biológica do WPU, conforme observado por outros autores [11, 20, 47].

Figura 27 – Viabilidade celular de BALB/3T3 utilizando o ensaio NRU após 24 h de exposição aos extratos dos filmes WPU0 e WPU1. Os valores representam a viabilidade celular percentual (média $\pm$ SD, n = 3)

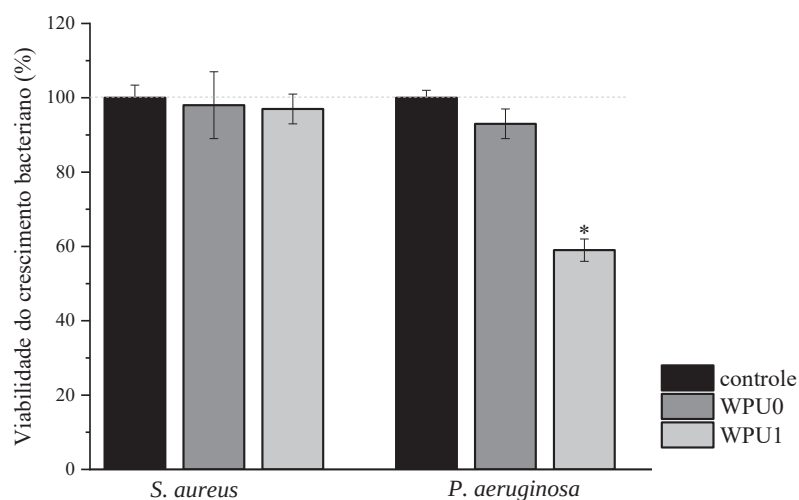


6.12. Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana do nanocompósito WPU1 (material que apresentou as propriedades físico-mecânicas mais interessantes neste estudo) foi investigada por meio de ensaios de inativação fotodinâmica *in vitro* com irradiação de luz de 360 nm, na presença das bactérias *S. aureus* (Gram-positiva) e *P. aeruginosa* (Gram-negativa). Os resultados são mostrados na Figura 28. É possível observar que o nanocompósito WPU1 apresentou atividade antibacteriana contra a espécie *P. aeruginosa*, com redução de 40% nas bactérias viáveis após exposição à luz ($\lambda \geq 360$ nm, 100 W; 24 h). O controle (WPU0) não provocou uma redução estatisticamente significativa na viabilidade da espécie *P. aeruginosa*. É possível observar também que o nanocompósito WPU1 foi mais eficaz na inativação fotodinâmica das bactérias *P. aeruginosa*, em comparação à sua ação biocida contra a espécie *S. aureus*.

Apesar das diferenças de estrutura da parede celular dessas bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas), era esperado que os alvos e mecanismos de morte celular de ambas fossem semelhantes ou até mesmo idênticos [34]. No entanto, esses resultados não foram observados aqui. Essa diferença entre a atividade bacteriana destas cepas também foi encontrada por Nie *et al.* [36], que avaliaram a atividade fotodinâmica antibacteriana de CQDs sintetizados por um processo solvotérmico, a partir de CA e 1,5-diaminonaftaleno. Jiang *et al.* [174] também reportaram resultados semelhantes para fotossensibilizadores antimicrobianos à base de pontos quânticos de sulfeto de zinco dopados com manganês. Uma possível justificativa para esses resultados é que as bactérias *S. aureus* tendem a formar cachos semelhantes a uvas, e as bactérias no interior desses cachos possam ser protegidas contra danos, dada a difusibilidade limitada do $^1\text{O}_2$ gerado a partir dos CQDs incorporados aos WPU [36, 37, 46]. Apesar dos resultados obtidos aqui para o WPU1 apresentarem redução da viabilidade bacteriana, essa eficiência ainda deve ser melhorada.

Figura 28 – Estudos de inativação fotodinâmica empregando WPU0 e WPU1 contra *Staphylococcus aureus* (Gram-positivo) e *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativo). Cada coluna representa a média $\pm$ SD, n = 3 o $\pm$ SD. * < 0,05 vs. controle



6.13. Conclusões parciais

A incorporação dos CQDs à matriz de WPU resultou em nanocompósitos com excelentes propriedades ópticas, térmicas e mecânicas. A incorporação de 1,0% em massa de CQDs ao WPU provocou um aumento de ~7% na temperatura a 5% de degradação, em comparação ao WPU puro. Esse acréscimo de resistência térmica está relacionado à interação das nanopartículas com a matriz polimérica por meio do aumento da densidade relativa de ligações de hidrogênio. As propriedades mecânicas, tais como dureza, resistência à tração e alongamento na ruptura do WPU também foram significativamente melhoradas, após a incorporação dos CQDs. Além disso, os nanocompósitos exibiram transparência, baixa energia superficial e elevada fotoluminescência (espectros UV-Vis e FL semelhantes aos dos CQDs puros, com excitação e emissão centrados em 360 nm e 440 nm, respectivamente), confirmando a eficiência da matriz polimérica na proteção das nanopartículas contra a extinção da FL em estado sólido. Estudos de biocompatibilidade revelaram que esses nanocompósitos não apresentam qualquer citotoxicidade em relação à linhagem celular de fibroblastos de camundongo em qualquer concentração de extrato. Testes antibacterianos realizados mostraram que o nanocompósito é eficiente, e cerca de 40% de redução da viabilidade bacteriana é observada após 24 h de irradiação em comprimentos de onda de 360 nm. Portanto, de um modo geral, os resultados obtidos aqui demonstraram o grande potencial dos nanomateriais como revestimentos de superfície transparente com propriedades fotodinâmicas antibacterianas.

Conclusão

Nesse estudo, os CQDs foram sintetizados via pirólise assistida por micro-ondas, utilizando ácido cítrico e etilenodiamina como fontes de carbono e nitrogênio. Essas nanopartículas apresentaram morfologia esférica com tamanho médio de $10,6 \pm 3,1$ nm, grupos funcionais contendo oxigênio e nitrogênio em sua superfície e exibiram fotoluminescência em 460 nm com rendimento quântico de 63,2% sob excitação em 360 nm. A adição desses CQDs ao WPU não promoveu uma mudança expressiva no peso molecular médio dos nanocompósitos, mas ainda assim, materiais com excelentes propriedades ópticas, térmicas e mecânicas foram obtidos. A incorporação de 1,0% em massa de CQDs ao WPU provocou um aumento de ~7% na temperatura inicial de degradação do nanocompósito, em comparação ao polímero puro. Esse acréscimo de resistência térmica está relacionado à interação das nanopartículas com a matriz polimérica por meio do aumento da densidade relativa de ligações de hidrogênio que aumenta o grau de separação de fases nos nanocompósitos, e provavelmente restringe a mobilidade molecular na interface entre os segmentos. Embora os CQDs possam atuar como pontos de restrição de movimento segmental devido a suas interações, os sistemas de WPU/CQDs apresentaram indícios de que parte dos CQDs não-ligadas ao WPU também atuam no ganho de mobilidade das cadeias devido ao efeito de escorregamento que essas pequenas nanopartículas provocam nas cadeias, alterando o comportamento dinâmico-mecânico e reduzindo a viscosidade dos materiais. Apesar disso, propriedades mecânicas tais como dureza, resistência à tração e alongamento na ruptura do WPU foram significativamente melhoradas após a incorporação de 1% em peso dos CQDs. Os nanocompósitos exibiram boa transparência, baixa energia superficial e elevada fotoluminescência, confirmando a eficiência da matriz polimérica na proteção das nanopartículas contra a extinção da FL em estado sólido. Estudos de biocompatibilidade revelaram que esses nanocompósitos não apresentam qualquer citotoxicidade em relação à linhagem celular de fibroblastos de camundongo (Balb/c 3T3) em todas as concentrações de extrato avaliadas. Os testes antibacterianos realizados mostraram que o nanocompósito é eficiente, e cerca de 40% de redução da viabilidade bacteriana é observada após 24 h de irradiação em comprimentos de onda de 360 nm. De um modo geral, os resultados obtidos aqui demonstraram o grande potencial dos nanomaterial como revestimentos de superfície transparente com propriedades fotodinâmicas antibacterianas. Contudo, como pode ser observado, a redução da viabilidade bacteriana ainda deve ser melhorada.

Perspectivas futuras

Apesar de promissor, os nanocompósitos produzidos aqui ainda necessitam de otimização com relação ao efeito na redução da viabilidade bacteriana, bem como de testes adicionais referentes a avaliação do efeito da irradiação de luz UV e da geração de $^1\text{O}_2$ sobre os possíveis danos estruturais ao polímero. Os pesquisadores também pretendem avaliar a distribuição das nanopartículas na matriz polimérica por meio de análise de espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS), realizar estudos do comportamento reológico sob diferentes temperaturas, além da investigação da microestrutura e morfologia dos nanocompósitos por análises de TEM e AFM. Além disso, pretende-se testar outros CQDs, obtidos por diferentes matérias primas que sejam solúveis em acetona para serem adicionados durante o processo in situ de formação do pré-polímero, aumentando assim a ligação $-\text{NCO}$, $-\text{OH}$.

A partir dos resultados relatados nesse estudo, os pesquisadores pretendem avaliar também o efeito dos CQDs sobre outras formulações de WPU de modo a encontrar novas aplicações para os sistemas poliméricos. Com uma compreensão mais profunda da química desses revestimentos em nível molecular, será possível criar micro e nanossistemas específicos com propriedades ajustáveis, pois o apelo por produtos e processos sustentáveis e verdes, a substituição de derivados de petróleo por fontes renováveis de energia e o advento de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis resultarão na necessidade de formulação de materiais avançados, principalmente nas áreas biofarmacêutica e biomédica. Definitivamente, esses revestimentos de WPU com propriedades fotoativas trarão benefícios atraentes para o campo de polímeros, principalmente devido à sua tecnologia de produção, que além de ser à base de água sem solventes, também faz uso de nanopartículas de fontes renováveis e de baixo custo de produção. Além de serem materiais verdes, esses revestimentos ainda apresentam flexibilidade, durabilidade, resistência química e alta força adesiva. Portanto, acabam sendo mais vantajosas em comparação com as resinas solventes termofixas convencionais.

Referências

- [1] Francolini I, Donelli G, Crisante F, Taresco V, Piozzi A. Antimicrobial polymers for anti-biofilm medical devices: state-of-art and perspectives. *Adv Exp Med Biol* 2015;831:93-117.
- [2] Prade SS, Oliveira ST, Rodrigues R, Aguiar F, Martins Neto E, Félix JQ, et al. Estudo brasileiro da magnitude das infecções hospitalares em hospital terciário. *Rev Controle de Infecção Hospitalar* 1995;2:11-24.
- [3] Office of Disease P, Health P. National action plan to prevent health care-associated infections: road map to elimination. 2015.
- [4] Padoveze MC, Fortaleza CM. Healthcare-associated infections: challenges to public health in Brazil. *Rev Saude Publica* 2014;48:995-1001.
- [5] Rodrigues LR. Inhibition of bacterial adhesion on medical devices. *Adv Exp Med Biol* 2011;715:351-67.
- [6] Lin F, Li C, Chen Z. Bacteria-derived carbon dots inhibit biofilm formation of *Escherichia coli* without affecting cell growth. *Front Microbiol* 2018;9:259.
- [7] Spagnul C, Turner LC, Boyle RW. Immobilized photosensitizers for antimicrobial applications. *J Photochem Photobiol B* 2015;150:11-30.
- [8] Marković ZM, Kováčová M, Humpolíček P, Budimir MD, Vajdák J, Kubát P, et al. Antibacterial photodynamic activity of carbon quantum dots/polydimethylsiloxane nanocomposites against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2019;26:342-9.
- [9] Roohpour N, Moshaverinia A, Wasikiewicz JM, Paul D, Wilks M, Millar M, et al. Development of bacterially resistant polyurethane for coating medical devices. *Biomed Mater* 2012;7:015007.
- [10] García-Arnáez I, Palla B, Suay J, Romero-Gavilán F, García-Fernández L, Fernández M, et al. A single coating with antibacterial properties for prevention of medical device-associated infections. *Eur Polym J* 2019;113:289-96.
- [11] Duarah R, Singh YP, Gupta P, Mandal BB, Karak N. High performance bio-based hyperbranched polyurethane/carbon dot-silver nanocomposite: a rapid self-expandable stent. *Biofabrication* 2016;8:045013.
- [12] Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces. *Biomaterials* 2013;34:8533-54.
- [13] Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin Infect Dis* 2001;33:1387-92.
- [14] Sehmi SK, Noimark S, Pike SD, Bear JC, Peveler WJ, Williams CK, et al. Enhancing the antibacterial activity of light-activated surfaces containing crystal violet and ZnO nanoparticles: investigation of nanoparticle size, capping ligand, and dopants. *ACS Omega* 2016;1:334-43.
- [15] Felgentrager A, Maisch T, Spath A, Schroder JA, Baumler W. Singlet oxygen generation in porphyrin-doped polymeric surface coating enables antimicrobial effects on *Staphylococcus aureus*. *Phys Chem Chem Phys* 2014;16:20598-607.
- [16] Naik AJT, Ismail S, Kay C, Wilson M, Parkin IP. Antimicrobial activity of polyurethane embedded with methylene blue, toluidene blue and gold nanoparticles against *Staphylococcus aureus*; illuminated with white light. *Mater Chem Phys* 2011;129:446-50.
- [17] Walker T, Canales M, Noimark S, Page K, Parkin I, Faull J, et al. A light-activated antimicrobial surface is active against bacterial, viral and fungal organisms. *Sci Rep* 2017;7:15298.
- [18] Oleinick NL, Evans HH. The photobiology of photodynamic therapy: cellular targets and mechanisms. *Radiat Res* 1998;150:S146-S56.

- [19] Ben-Hur E, Moor ACE, Margolis-Nunno H, Gottlieb P, Zuk MM, Lustigman S, et al. The photodecontamination of cellular blood components: Mechanisms and use of photosensitization in transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 1996;10:15-22.
- [20] Kováčová M, Marković ZM, Humpolíček P, Mičušík M, Švajdlenková H, Kleinová A, et al. Carbon quantum dots modified polyurethane nanocomposite as effective photocatalytic and antibacterial agents. *ACS Biomater Sci Eng* 2018;4:3983-93.
- [21] Al Awak MM, Wang P, Wang S, Tang Y, Sun YP, Yang L. Correlation of carbon dots' light-activated antimicrobial activities and fluorescence quantum yield. *RSC Adv* 2017;7:30177-84.
- [22] Clement S, Sobhan M, Deng W, Camilleri E, Goldys EM. Nanoparticle-mediated singlet oxygen generation from photosensitizers. *J Photochem Photobiol A* 2017;332:66-71.
- [23] Dela Cruz MIS, Thongsai N, de Luna MDG, In I, Paoprasert P. Preparation of highly photoluminescent carbon dots from polyurethane: Optimization using response surface methodology and selective detection of silver (I) ion. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2019;568:184-94.
- [24] Song Y, Zhu S, Shao J, Yang B. Polymer carbon dots-a highlight reviewing their unique structure, bright emission and probable photoluminescence mechanism. *J Polym Sci A Polym Chem* 2017;55:610-5.
- [25] Ghosh B, Gogoi S, Thakur S, Karak N. Bio-based waterborne polyurethane/carbon dot nanocomposite as a surface coating material. *Prog Org Coat* 2016;90:324-30.
- [26] Gogoi S, Kumar M, Mandal BB, Karak N. High performance luminescent thermosetting waterborne hyperbranched polyurethane/carbon quantum dot nanocomposite with in vitro cytocompatibility. *Compos Sci Technol* 2015;118:39-46.
- [27] García-Pacios V, Costa V, Colera M, Martín-Martínez JM. Waterborne polyurethane dispersions obtained with polycarbonate of hexanediol intended for use as coatings. *Prog Org Coat* 2011;71:136-46.
- [28] Gogoi S, Karak N. Solar-driven hydrogen peroxide production using polymer-supported carbon dots as heterogeneous catalyst. *Nanomicro Lett* 2017;9:40.
- [29] Li X, Gao M, Xin K, Zhang L, Ding D, Kong D, et al. Singlet oxygen-responsive micelles for enhanced photodynamic therapy. *J Control Release* 2017;260:12-21.
- [30] Noimark S, Bovis M, MacRobert AJ, Correia A, Allan E, Wilson M, et al. Photobactericidal polymers; the incorporation of crystal violet and nanogold into medical grade silicone. *RSC Adv* 2013;3:18383.
- [31] Tavares A, Carvalho CM, Faustino MA, Neves MG, Tome JP, Tome AC, et al. Antimicrobial photodynamic therapy: study of bacterial recovery viability and potential development of resistance after treatment. *Mar Drugs* 2010;8:91-105.
- [32] Xing C, Xu Q, Tang H, Liu L, Wang S. Conjugated polymer/porphyrin complexes for efficient energy transfer and improving light-activated antibacterial activity. *J Am Chem Soc* 2009;131:13117-24.
- [33] Moradlou O, Rabiei Z, Delavari N. Antibacterial effects of carbon quantum dots@hematite nanostructures deposited on titanium against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J Photochem Photobiol A Chem* 2019;379:144-9.
- [34] Dahl TA, Midden WR, Hartman PE. Comparison of killing of gram-negative and gram-positive bacteria by pure singlet oxygen. *J Bacteriol* 1989;171:2188-94.
- [35] Pajerski W, Ochonska D, Brzychczy-Wloch M, Indyka P, Jarosz M, Golda-Cepa M, et al. Attachment efficiency of gold nanoparticles by Gram-positive and Gram-negative bacterial strains governed by surface charges. *J Nanopart Res* 2019;21:1-12.

- [36] Nie X, Jiang C, Wu S, Chen W, Lv P, Wang Q, et al. Carbon quantum dots: A bright future as photosensitizers for in vitro antibacterial photodynamic inactivation. *J Photochem Photobiol B* 2020;206:111864.
- [37] Stanković NK, Bodik M, Šiffalović P, Kotlar M, Mičušik M, Špitalsky Z, et al. Antibacterial and antibiofouling properties of light triggered fluorescent hydrophobic carbon quantum dots Langmuir–Blodgett thin films. *ACS Sustain Chem Eng* 2018;6:4154-63.
- [38] Li H, Huang J, Song Y, Zhang M, Wang H, Lu F, et al. Degradable carbon dots with broad-spectrum antibacterial activity. *ACS Appl Mater Interfaces* 2018;10:26936-46.
- [39] Pardo J, Peng Z, Leblanc RM. Cancer targeting and drug delivery using carbon-based quantum dots and nanotubes. *Molecules* 2018;23:378.
- [40] Dong X, Liang W, Meziani MJ, Sun YP, Yang L. Carbon Dots as potent antimicrobial agents. *Theranostics* 2020;10:671-86.
- [41] Ristic BZ, Milenkovic MM, Dakic IR, Todorovic-Markovic BM, Milosavljevic MS, Budimir MD, et al. Photodynamic antibacterial effect of graphene quantum dots. *Biomaterials* 2014;35:4428-35.
- [42] Knoblauch R, Harvey A, Ra E, Greenberg KM, Lau J, Hawkins E, et al. Antimicrobial carbon nanodots: photodynamic inactivation and dark antimicrobial effects on bacteria by brominated carbon nanodots. *Nanoscale* 2021;13:85-99.
- [43] Zhang J, Liu X, Wang X, Mu L, Yuan M, Liu B, et al. Carbon dots-decorated $\text{Na}_2\text{W}_4\text{O}_{13}$ composite with WO_3 for highly efficient photocatalytic antibacterial activity. *J Hazard Mater* 2018;359:1-8.
- [44] Zhang J, Lu X, Tang D, Wu S, Hou X, Liu J, et al. Phosphorescent carbon dots for highly efficient oxygen photosensitization and as photo-oxidative nanozymes. *ACS Appl Mater Interfaces* 2018;10:40808-14.
- [45] Zhao F, Gu W, Zhou J, Liu Q, Chong Y. Solar-excited graphene quantum dots for bacterial inactivation via generation of reactive oxygen species. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2019;37:67-80.
- [46] Nie X, Wu S, Mensah A, Lu K, Wei Q. Carbon quantum dots embedded electrospun nanofibers for efficient antibacterial photodynamic inactivation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2020;108:110377.
- [47] Budimir M, Marković Z, Vajdak J, Jovanović S, Kubat P, Humpoliček P, et al. Enhanced visible light-triggered antibacterial activity of carbon quantum dots/polyurethane nanocomposites by gamma rays induced pre-treatment. *Radiat Phys Chem* 2021;185:109499.
- [48] Kavitha T, Kumar S. Turning date palm fronds into biocompatible mesoporous fluorescent carbon dots. *Sci Rep* 2018;8:16269.
- [49] Fernandes D, Heslop KA, Kelarakis A, Krysmann MJ, Estevez L. In situ generation of carbon dots within a polymer matrix. *Polymer* 2020;188:122159.
- [50] Yang H, He L, Long Y, Li H, Pan S, Liu H, et al. Fluorescent carbon dots synthesized by microwave-assisted pyrolysis for chromium(VI) and ascorbic acid sensing and logic gate operation. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2018;205:12-20.
- [51] Xiao L, Shi J, Nan B, Chen W, Zhang Q, Zhang E, et al. Highly sensitive detection of Fe^{3+} ions using waterborne polyurethane-carbon dots self-healable fluorescence film. *Macromol Mater Eng* 2020;305:1900810.
- [52] He H, Wang X, Feng Z, Cheng T, Sun X, Sun Y, et al. Rapid microwave-assisted synthesis of ultra-bright fluorescent carbon dots for live cell staining, cell-specific targeting and in vivo imaging. *J Mater Chem B* 2015;3:4786-9.

- [53] Wang Y, Zheng J, Wang J, Yang Y, Liu X. Rapid microwave-assisted synthesis of highly luminescent nitrogen-doped carbon dots for white light-emitting diodes. *Opt Mater (Amst)* 2017;73:319-29.
- [54] Qian K, Guo H, Chen G, Ma C, Xing B. Distribution of different surface modified carbon dots in pumpkin seedlings. *Sci Rep* 2018;8:7991.
- [55] Kováčová M, Špitalská E, Markovic Z, Špitálský Z. Carbon quantum dots as antibacterial photosensitizers and their polymer nanocomposite applications. *Part Part Syst Charact* 2019;37:1900348.
- [56] Agnol LD, Neves RM, Maraschin M, Moura S, Ornaghi HL, Dias FTG, et al. Green synthesis of *Spirulina*-based carbon dots for stimulating agricultural plant growth. *Sustain Mater Technol* 2021;30:e00347.
- [57] Demchenko AP, Dekaliuk MO. Novel fluorescent carbonic nanomaterials for sensing and imaging. *Methods Appl Fluoresc* 2013;1:042001.
- [58] Jelinek R. *Carbon Quantum Dots*. 1st ed. ed: Springer eBooks; 2017.
- [59] Sun YP, Wang X, Lu F, Cao L, Meziani MJ, Luo PG, et al. Doped carbon nanoparticles as a new platform for highly photoluminescent dots. *J Phys Chem C Nanomater Interfaces* 2008;112:18295-8.
- [60] Al Awak MM, Wang P, Wang S, Tang Y, Sun YP, Yang L. Correlation of carbon dots light-activated antimicrobial activities and fluorescence quantum yield. *RSC Adv* 2017;7:30177-84.
- [61] Xu X, Ray R, Gu Y, Ploehn HJ, Gearheart L, Raker K, et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *J Am Chem Soc* 2004;126:12736-7.
- [62] Sun YP, Zhou B, Lin Y, Wang W, Fernando KA, Pathak P, et al. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. *J Am Chem Soc* 2006;128:7756-7.
- [63] Li H, Huang J, Lu F, Liu Y, Song Y, Sun Y, et al. Impacts of carbon dots on rice plants: boosting the growth and improving the disease resistance. *ACS Appl Bio Mater* 2018;1:663-72.
- [64] Sun X, Liu Z, Welsher K, Robinson JT, Goodwin A, Zaric S, et al. Nano-graphene oxide for cellular imaging and drug delivery. *Nano Res* 2008;1:203-12.
- [65] Hsu P-C, Chen P-C, Ou C-M, Chang H-Y, Chang H-T. Extremely high inhibition activity of photoluminescent carbon nanodots toward cancer cells. *J Mater Chem B* 2013;1:1774.
- [66] Hsu P-C, Shih Z-Y, Lee C-H, Chang H-T. Synthesis and analytical applications of photoluminescent carbon nanodots. *Green Chem* 2012;14:917.
- [67] Sun X, Lei Y. Fluorescent carbon dots and their sensing applications. *Trends Analyt Chem* 2017;89:163-80.
- [68] Lu W, Qin X, Liu S, Chang G, Zhang Y, Luo Y, et al. Economical, green synthesis of fluorescent carbon nanoparticles and their use as probes for sensitive and selective detection of mercury(II) ions. *Anal Chem* 2012;84:5351-7.
- [69] Dang H, Huang L-K, Zhang Y, Wang C-F, Chen S. Large-scale ultrasonic fabrication of white fluorescent carbon dots. *Ind Eng Chem Res* 2016;55:5335-41.
- [70] Song Y, Zhu S, Zhang S, Fu Y, Wang L, Zhao X, et al. Investigation from chemical structure to photoluminescent mechanism: a type of carbon dots from the pyrolysis of citric acid and an amine. *J Mater Chem C Mater* 2015;3:5976-84.
- [71] Bourlinos AB, Stassinopoulos A, Angelos D, Zboril R, Karakassides M, Giannelis EP. Surface functionalized carbogenic quantum dots. *Small* 2008;4:455-8.
- [72] Sajid PA, Chetty SS, Praneetha S, Murugan AV, Kumar Y, Periyasamy L. One-pot microwave-assisted in situ reduction of Ag^+ and Au^{3+} ions by Citrus limon extract and their

carbon-dots based nanohybrids: a potential nano-bioprobe for cancer cellular imaging. *RSC Adv* 2016;6:103482-90.

[73] Xiao Q, Liang Y, Zhu F, Lu S, Huang S. Microwave-assisted one-pot synthesis of highly luminescent N-doped carbon dots for cellular imaging and multi-ion probing. *Mikrochim Acta* 2017;184:2429-38.

[74] Yu T, Wang H, Guo C, Zhai Y, Yang J, Yuan J. A rapid microwave synthesis of green-emissive carbon dots with solid-state fluorescence and pH-sensitive properties. *R Soc Open Sci* 2018;5:180245.

[75] Song L, Cui Y, Zhang C, Hu Z, Liu X. Microwave-assisted facile synthesis of yellow fluorescent carbon dots from o-phenylenediamine for cell imaging and sensitive detection of Fe^{3+} and H_2O_2 . *RSC Adv* 2016;6:17704-12.

[76] Li H, Xu Y, Ding J, Zhao L, Zhou T, Ding H, et al. Microwave-assisted synthesis of highly luminescent N- and S-co-doped carbon dots as a ratiometric fluorescent probe for levofloxacin. *Mikrochim Acta* 2018;185:104.

[77] De B, Karak N. Recent progress in carbon dot-metal based nanohybrids for photochemical and electrochemical applications. *J Mater Chem A Mater* 2017;5:1826-59.

[78] Zhu S, Zhao X, Song Y, Lu S, Yang B. Beyond bottom-up carbon nanodots: Citric-acid derived organic molecules. *Nano Today* 2016;11:128-32.

[79] Xu M, He G, Li Z, He F, Gao F, Su Y, et al. A green heterogeneous synthesis of N-doped carbon dots and their photoluminescence applications in solid and aqueous states. *Nanoscale* 2014;6:10307-15.

[80] Hou J, Yan J, Zhao Q, Li Y, Ding H, Ding L. A novel one-pot route for large-scale preparation of highly photoluminescent carbon quantum dots powders. *Nanoscale* 2013;5:9558-61.

[81] Zhai X, Zhang P, Liu C, Bai T, Li W, Dai L, et al. Highly luminescent carbon nanodots by microwave-assisted pyrolysis. *Chem Commun (Camb)* 2012;48:7955-7.

[82] Zhang Y, Liu X, Fan Y, Guo X, Zhou L, Lv Y, et al. One-step microwave synthesis of N-doped hydroxyl-functionalized carbon dots with ultra-high fluorescence quantum yields. *Nanoscale* 2016;8:15281-7.

[83] de Medeiros TV, Manioudakis J, Noun F, Macairan J-R, Victoria F, Naccache R. Microwave-assisted synthesis of carbon dots and their applications. *J Mater Chem C Mater* 2019;7:7175-95.

[84] Kokorina AA, Bakal AA, Shpuntova DV, Kostritskiy AY, Beloglazova NV, De Saeger S, et al. Gel electrophoresis separation and origins of light emission in fluorophores prepared from citric acid and ethylenediamine. *Sci Rep* 2019;9:14665.

[85] Krysmann MJ, Kelarakis A, Dallas P, Giannelis EP. Formation mechanism of carbogenic nanoparticles with dual photoluminescence emission. *J Am Chem Soc* 2012;134:747-50.

[86] Tetsuka H, Nagoya A, Fukusumi T, Matsui T. Molecularly designed, nitrogen-functionalized graphene quantum dots for optoelectronic devices. *Adv Mater* 2016;28:4632-8.

[87] Yao B, Huang H, Liu Y, Kang Z. Carbon Dots: A small conundrum. *Trends Chem* 2019;1:235-46.

[88] Wu ZL, Liu ZX, Yuan YH. Carbon dots: materials, synthesis, properties and approaches to long-wavelength and multicolor emission. *J Mater Chem B* 2017;5:3794-809.

[89] Dhenadhayalan N, Lin K-C, Suresh R, Ramamurthy P. Unravelling the multiple emissive states in citric-acid-derived carbon dots. *J Phys Chem C* 2016;120:1252-61.

[90] Tan X, Li Y, Li X, Zhou S, Fan L, Yang S. Electrochemical synthesis of small-sized red fluorescent graphene quantum dots as a bioimaging platform. *Chem Commun (Camb)* 2015;51:2544-6.

- [91] Wu ZL, Gao MX, Wang TT, Wan XY, Zheng LL, Huang CZ. A general quantitative pH sensor developed with dicyandiamide N-doped high quantum yield graphene quantum dots. *Nanoscale* 2014;6:3868-74.
- [92] Zhou D, Li D, Jing P, Zhai Y, Shen D, Qu S, et al. Conquering aggregation-induced solid-state luminescence quenching of carbon dots through a carbon dots-triggered silica gelation process. *Chem Mater* 2017;29:1779-87.
- [93] Gogoi S, Maji S, Mishra D, Devi KS, Maiti TK, Karak N. Nano-bio engineered carbon dot-peptide functionalized water dispersible hyperbranched polyurethane for bone tissue regeneration. *Macromol Biosci* 2017;17:1600271.
- [94] Wu B, Yuan A, Xiao Y, Wang Y, Lei J. Study on a polyacrylate-based waterborne coating: facile preparation, convenient self-healing behavior and photoluminescence properties. *J Mater Chem C Mater* 2020;8:12638-47.
- [95] Kim GB, Guo J, Hu J, Shan D, Yang J. Novel applications of urethane/urea chemistry in the field of biomaterials 2016.
- [96] Dall Agnol L, Dias FTG, Nicoletti NF, Falavigna A, Bianchi O. Polyurethane as a strategy for annulus fibrosus repair and regeneration: a systematic review. *Regen Med* 2018;13:611-26.
- [97] Dall Agnol L, Dias FTG, Nicoletti NF, Marinowicz D, Moura ESS, Marcos-Fernandez A, et al. Polyurethane tissue adhesives for annulus fibrosus repair: Mechanical restoration and cytotoxicity. *J Biomater Appl* 2019;34:673-86.
- [98] Shin EJ, Choi SM. Advances in waterborne polyurethane-based biomaterials for biomedical applications. *Adv Exp Med Biol* 2018;1077:251-83.
- [99] Maisonneuve L, Lamarzelle O, Rix E, Grau E, Cramail H. Isocyanate-free routes to polyurethanes and poly(hydroxy urethane)s. *Chem Rev* 2015;115:12407-39.
- [100] Santamaria-Echart A, Arbelaiz A, Saralegi A, Fernández-d'Arlas B, Eceiza A, Corcuera MA. Relationship between reagents molar ratio and dispersion stability and film properties of waterborne polyurethanes. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2015;482:554-61.
- [101] Wang H, Shen Y, Fei G, Li X, Liang Y. Micromorphology and phase behavior of cationic polyurethane segmented copolymer modified with hydroxysilane. *J Colloid Interface Sci* 2008;324:36-41.
- [102] Javni I, Bilić O, Bilić N, Petrović ZS, Eastwood EA, Zhang F, et al. Thermoplastic polyurethanes with controlled morphology based on methylenediphenyldiisocyanate/isosorbide/butanediol hard segments. *Polymer International* 2015;64:1607-16.
- [103] Hsu SH, Tseng HJ, Lin YC. The biocompatibility and antibacterial properties of waterborne polyurethane-silver nanocomposites. *Biomaterials* 2010;31:6796-808.
- [104] Zhou X, Fang C, Lei W, Du J, Huang T, Li Y, et al. Various nanoparticle morphologies and surface properties of waterborne polyurethane controlled by water. *Sci Rep* 2016;6:34574.
- [105] Honarkar H. Waterborne polyurethanes: A review. *J Dispers Sci Technol* 2017;39:507-16.
- [106] Zhou X, Li Y, Fang C, Li S, Cheng Y, Lei W, et al. Recent advances in synthesis of waterborne polyurethane and their application in water-based ink: A Review. *J Mater Sci Technol* 2015;31:708-22.
- [107] Lu MG, Lee JY, Shim MJ, Kim SW. Synthesis and properties of anionic aqueous polyurethane dispersions. *J Appl Polym Sci* 2002;86:3461-5.
- [108] Dall Agnol L, Dias FTG, Ornaghi HL, Sangermano M, Bianchi O. UV-curable waterborne polyurethane coatings: A state-of-the-art and recent advances review. *Prog Org Coat* 2021;154:106156.

- [109] Serkis-Rodzeń M, Špírková M, Matějček P, Štěpánek M. Formation of linear and crosslinked polyurethane nanoparticles that self-assemble differently in acetone and in water. *Prog Org Coat* 2017;106:119-27.
- [110] He JY, Liu Y, He LC, Wang Q. Research on the Modification of Waterborne UV-Curable Polyurethane Acrylate. *Advanced Materials Research* 2013;864-867:698-701.
- [111] Guo Y, Chen C, Chu F. Study on the Preparation of Waterborne UV-Curable Polyurethane Acrylate. In: Ouyang Y. XM, Yang L., Ouyang Y, editor. *Advanced Graphic Communications, Packaging Technology and Materials Lecture Notes in Electrical Engineering*. Singapore: Springer; 2016.
- [112] Dieterich D. Aqueous emulsions, dispersions and solutions of polyurethanes; synthesis and properties. *Prog Org Coat* 1981;9:281-340.
- [113] Chan W-C, Chen S-A. Polyurethane ionomers: effects of emulsification on properties of hexamethylene diisocyanate-based polyether polyurethane cationomers. *Polymer* 1988;29:1995-2001.
- [114] Otts DB, Cueva-Parra LA, Pandey RB, Urban MW. Film formation from aqueous polyurethane dispersions of reactive hydrophobic and hydrophilic components; spectroscopic studies and Monte Carlo simulations. *Langmuir* 2005;21:4034-42.
- [115] Pan H, Chen D. Preparation and characterization of waterborne polyurethane/attapulgite nanocomposites. *Eur Polym J* 2007;43:3766-72.
- [116] Ahmadi Y, Ahmad S. Recent progress in the synthesis and property enhancement of waterborne polyurethane nanocomposites: promising and versatile macromolecules for advanced applications. *Polym Rev* 2019;60:226-66.
- [117] Sangermano M, Razza N, Crivello JV. Cationic UV-Curing: Technology and Applications. *Macromolecular Materials and Engineering* 2014;299:775-93.
- [118] Aizpurua J, Martin L, Fernández M, González A, Irusta L. Recyclable, remendable and healing polyurethane/acrylic coatings from UV curable waterborne dispersions containing Diels-Alder moieties. *Progress in Organic Coatings* 2020;139.
- [119] Xu H, Qiu F, Wang Y, Wu W, Yang D, Guo Q. UV-curable waterborne polyurethane-acrylate: preparation, characterization and properties. *Progress in Organic Coatings* 2012;73:47-53.
- [120] Peng S, Li Y, Wu L, Zhong J, Weng Z, Zheng L, et al. 3D Printing Mechanically Robust and Transparent Polyurethane Elastomers for Stretchable Electronic Sensors. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020;12:6479-88.
- [121] Loukanov A, Sekiya R, Yoshikawa M, Kobayashi N, Moriyasu Y, Nakabayashi S. Photosensitizer-conjugated ultrasmall carbon nanodots as multifunctional fluorescent probes for bioimaging. *J Phys Chem C* 2016;120:15867-74.
- [122] Mirmohseni A, Akbari M, Najjar R, Hosseini M. Self-healing waterborne polyurethane coating by pH-dependent triggered-release mechanism. *J Appl Polym Sci* 2018;136:47082.
- [123] Gong N, Wang H, Li S, Deng Y, Chen X, Ye L, et al. Microwave-assisted polyol synthesis of gadolinium-doped green luminescent carbon dots as a bimodal nanoprobe. *Langmuir* 2014;30:10933-9.
- [124] Niemczyk A, Piegat A, Sonseca Olalla Á, El Fray M. New approach to evaluate microphase separation in segmented polyurethanes containing carbonate macrodiol. *Eur Polym J* 2017;93:182-91.
- [125] Friedman HL. Kinetics of thermal degradation of char-forming plastics from thermogravimetry. Application to a phenolic plastic. *J Polym Sci Part C Polym Symp* 2007;6:183-95.

- [126] Boonchom B, Puttawong S. Thermodynamics and kinetics of the dehydration reaction of $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Physica B Condens Matter* 2010;405:2350-5.
- [127] Dall Agnol L, Ceratti HL, Favero D, Rempel SP, Schiavo LdSA, Ernzen JR, et al. Transurethanization reaction as an alternative for melt modification of polyamide 6. *J Polym Res* 2019;26:1-15.
- [128] Cox WP, Merz. EH. *Rheology of Polymer Melts - A Correlation of Dynamic and Steady Flow Measurements*. ASTM International; 1959.
- [129] Hansen CM. Three dimensional solubility parameter-key to paint-component affinities: Dyes, emulsifiers, mutual solubility and compatibility, and pigments. *J Paint Technol* 1967;39:505.
- [130] Gallu R, Méchin F, Dalmas F, Gérard J-F, Perrin R, Loup F. On the use of solubility parameters to investigate phase separation-morphology-mechanical behavior relationships of TPU. *Polymer* 2020;207:122882.
- [131] Zuaznabar-Gardona JC, Fragoso A. Determination of the Hansen solubility parameters of carbon nano-onions and prediction of their dispersibility in organic solvents. *J Mol Liq* 2019;294:111646.
- [132] Gharagheizi F. New procedure to calculate the Hansen solubility parameters of polymers. *J Appl Polym Sci* 2007;103:31-6.
- [133] Owens DK, Wendt RC. Estimation of the surface free energy of polymers. *J Appl Polym Sci* 1969;13:1741-7.
- [134] Van Krevelen DW, Te Nijenhuis K. *Interfacial Energy Properties. Properties of Polymers*. 4th edition ed: Elsevier Science; 2009. p. 229-44.
- [135] Comyn J. *Adhesion science. Chapter 8 - Contact Angles in the Study of Adhesion: Royal Society of Chemistry*; 2007. p. 98-113.
- [136] Tomoda BT, Corazza FG, Beppu MM, Lopes PS, Moraes MA. Silk fibroin membranes with self-assembled globular structures for controlled drug release. *J Appl Polym Sci* 2019;137:48763.
- [137] Zhu R, Wang X, Yang J, Wang Y, Zhang Z, Hou Y, et al. Influence of hard segments on the thermal, phase-separated morphology, mechanical, and biological properties of polycarbonate urethanes. *Appl Sci* 2017;7:306.
- [138] Bao L, Zhang ZL, Tian ZQ, Zhang L, Liu C, Lin Y, et al. Electrochemical tuning of luminescent carbon nanodots: from preparation to luminescence mechanism. *Adv Mater* 2011;23:5801-6.
- [139] Wu F, Yue L, Su H, Wang K, Yang L, Zhu X. Carbon dots @ platinum porphyrin composite as theranostic nanoagent for efficient photodynamic cancer therapy. *Nanoscale Res Lett* 2018;13:357.
- [140] Chan-Chan LH, González-García G, Vargas-Coronado RF, Cervantes-Uc JM, Hernández-Sánchez F, Marcos-Fernandez A, et al. Characterization of model compounds and poly(amide-urea) urethanes based on amino acids by FTIR, NMR and other analytical techniques. *Eur Polym J* 2017;92:27-39.
- [141] Agnol LD, Dias FTG, Nicoletti NF, Marinowic D, Moura ESS, Marcos-Fernandez A, et al. Polyurethane tissue adhesives for annulus fibrosus repair: Mechanical restoration and cytotoxicity. *J Biomater Appl* 2019;34:673-86.
- [142] Chattopadhyay DK, Raju KVS. Structural engineering of polyurethane coatings for high performance applications. *Prog Polym Sci* 2007;32:352-418.
- [143] Bayan R, Karak N. Photoluminescent oxygeneous-graphitic carbon nitride nanodot-incorporated bioderived hyperbranched polyurethane nanocomposite with anticounterfeiting attribute. *ACS Omega* 2019;4:9219-27.

- [144] Qiang T, Han M, Wang X. Waterborne polyurethane/carbon quantum dot nanocomposite as a surface coating material exhibiting outstanding luminescent performance. *Prog Org Coat* 2020;138:105433.
- [145] Bai J, Ren W, Wang Y, Li X, Zhang C, Li Z, et al. High-performance thermoplastic polyurethane elastomer/carbon dots bulk nanocomposites with strong luminescence. *High Perform Polym* 2020;32:857-67.
- [146] Li Q, Guo L, Qiu T, Ye J, He L, Li X, et al. Polyurethane/polyphenylsilsequioxane nanocomposite: From waterborne dispersions to coating films. *Prog Org Coat* 2018;122:19-29.
- [147] Vaidya SM, Jadhav SM, Patil MJ, Mestry SU, Mahajan UR, Mhaske ST. Recent developments in waterborne polyurethane dispersions (WPUDs): a mini-review on thermal and mechanical properties improvement. *Polymer Bulletin* 2021;79:5709-45.
- [148] Costa V, Nohales A, Félix P, Guillem C, Gutiérrez D, Gómez CM. Structure-property relationships of polycarbonate diol-based polyurethanes as a function of soft segment content and molar mass. *J Appl Polym Sci* 2014;132:41704.
- [149] Asensio M, Costa V, Nohales A, Bianchi O, Gomez ACM. Tunable Structure and Properties of Segmented Thermoplastic Polyurethanes as a Function of Flexible Segment. *Polymers* 2019;11:1910.
- [150] Camberlin Y, Pascault JP. Quantitative DSC evaluation of phase segregation rate in linear segmented polyurethanes and polyurethaneureas. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition* 1983;21:415-23.
- [151] Zhang Y, Xia Z, Huang H, Chen H. A degradation study of waterborne polyurethane based on TDI. *Polym Test* 2009;28:264-9.
- [152] Ourique PA, Ornaghi FG, Ornaghi HL, Wanke CH, Bianchi O. Thermo-oxidative degradation kinetics of renewable hybrid polyurethane-urea obtained from air-oxidized soybean oil. *J Therm Anal Calorim* 2019;137:1969-79.
- [153] Asensio M, Costa V, Nohales A, Bianchi O, Gomez ACM. Tunable structure and properties of segmented thermoplastic polyurethanes as a function of flexible segment. *Polymers (Basel)* 2019;11:1910.
- [154] Liu N, Zhao Y, Kang M, Wang J, Wang X, Feng Y, et al. The effects of the molecular weight and structure of polycarbonatediols on the properties of waterborne polyurethanes. *Prog Org Coat* 2015;82:46-56.
- [155] Bianchi O, Júnior HLO, Canto LB, Mauler RS, de Oliveira RVB. Viscoelastic properties of PS-POSS hybrid materials prepared by reactive processing. *Polymer Testing* 2016;54:159-67.
- [156] Martins JN, Bianchi O, Wanke CH, Castel CD, Oliveira RVB. Effects of POSS addition on Non-isothermal crystallization and morphology of PVDF. *J Polym Res* 2015;22:1-10.
- [157] Bianchi O, Barbosa LG, Machado G, Canto LB, Mauler RS, Oliveira RVB. Reactive melt blending of PS-POSS hybrid nanocomposites. *J Appl Polym Sci* 2013;128:811-27.
- [158] Xiao L, Shi J, Wu K, Lu M. Self-healing supramolecular waterborne polyurethane based on host-guest interactions and multiple hydrogen bonds. *React Funct Polym* 2020;148:104482.
- [159] Rahul R, Kitey R. Effect of cross-linking on dynamic mechanical and fracture behavior of epoxy variants. *Composites Part B: Engineering* 2016;85:336-42.
- [160] Bianchi O, Ornaghi Jr HL, N. Martins J, Dal Castel C, Bresciani Canto L. A survey of the rheological properties, phase morphology, and crystallization behavior of PP-POSS materials with weak phase separation. *Polym Eng Sci* 2020;60:2272-84.
- [161] Wang M, Hill RJ. Anomalous bulk viscosity of polymer-nanocomposite melts. *Soft Matter* 2009;5.

- [162] Kalathi JT, Kumar SK, Rubinstein M, Grest GS. Rouse mode analysis of chain relaxation in polymer nanocomposites. *Soft Matter* 2015;11:4123-32.
- [163] Senses E, Ansar SM, Kitchens CL, Mao Y, Narayanan S, Natarajan B, et al. Small Particle Driven Chain Disentanglements in Polymer Nanocomposites. *Phys Rev Lett* 2017;118:147801.
- [164] Romo-Uribe A, Reyes-Mayer A, Paredes-Pérez M, Lichtenhan J, Yañez-Lino M, Sarmiento-Bustos E. POSS driven chain disentanglements, decreased the melt viscosity and reduced O₂ transmission in polyethylene. *Polymer* 2019;165:61-71.
- [165] Koutsky JA, Hien NV, Cooper SL. Some results on electron microscope investigations of polyether-urethane and polyester-urethane block copolymers. *J Polym Sci B* 1970;8:353-9.
- [166] Bao L, Fan H, Chen Y, Yan J, Yang T, Guo Y. Effect of surface free energy and wettability on the adhesion property of waterborne polyurethane adhesive. *RSC Adv* 2016;6:99346-52.
- [167] Mishra V, Desai J, Patel KI. (UV/Oxidative) dual curing polyurethane dispersion from cardanol based polyol: Synthesis and characterization. *Ind Crops Prod* 2018;111:165-78.
- [168] Ghosal K, Kovacova M, Humpolicek P, Vajdak J, Bodik M, Spitalsky Z. Antibacterial photodynamic activity of hydrophobic carbon quantum dots and polycaprolactone based nanocomposite processed via both electrospinning and solvent casting method. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2021;35:102455.
- [169] Mieczkowski R. Solubility parameter components of some polyurethanes. *Eur Polym J* 1992;28:53-5.
- [170] Jiang C, Wu H, Song X, Ma X, Wang J, Tan M. Presence of photoluminescent carbon dots in Nescafe(R) original instant coffee: applications to bioimaging. *Talanta* 2014;127:68-74.
- [171] Feng J, Chen S, Yu YL, Wang JH. Red-emission hydrophobic porphyrin structure carbon dots linked with transferrin for cell imaging. *Talanta* 2020;217:121014.
- [172] Blacha-Grzechnik A, Drewniak A, Walczak KZ, Szindler M, Ledwon P. Efficient generation of singlet oxygen by perylene diimide photosensitizers covalently bound to conjugate polymers. *J Photochem Photobiol A Chem* 2020;388:112161.
- [173] Su J, Lu S, Hai J, Liang K, Li T, Sun S, et al. Confining carbon dots in porous wood: The singlet oxygen enhancement strategy for photothermal signal-amplified detection of Mn²⁺. *ACS Sustain Chem Eng* 2020;8:17687-96.
- [174] Jiang C, Scholle F, Ghiladi RA. Mn-doped Zn/S quantum dots as photosensitizers for antimicrobial photodynamic inactivation. *SPIE Photonic Diagnosis and Treatment of Infections and Inflammatory Diseases II* 2019;10863:115-28.
- [175] Liu H, He Z, Jiang LP, Zhu JJ. Microwave-assisted synthesis of wavelength-tunable photoluminescent carbon nanodots and their potential applications. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015;7:4913-20.
- [176] Liu Q, Zhang N, Shi H, Ji W, Guo X, Yuan W, et al. One-step microwave synthesis of carbon dots for highly sensitive and selective detection of copper ions in aqueous solution. *New Journal of Chemistry* 2018;42:3097-101.
- [177] Wang Q, Liu X, Zhang L, Lv Y. Microwave-assisted synthesis of carbon nanodots through an eggshell membrane and their fluorescent application. *Analyst* 2012;137:5392-7.
- [178] Zhu H, Wang X, Li Y, Wang Z, Yang F, Yang X. Microwave synthesis of fluorescent carbon nanoparticles with electrochemiluminescence properties. *Chem Commun (Camb)* 2009:5118-20.
- [179] Liu C, Zhang P, Tian F, Li W, Li F, Liu W. One-step synthesis of surface passivated carbon nanodots by microwave assisted pyrolysis for enhanced multicolor photoluminescence and bioimaging. *Journal of Materials Chemistry* 2011;21.

- [180] 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. *Journal of Materials Chemistry* 2011;21.
- [181] Guo J, Mei T, Li Y, Hafezi M, Lu H, Li J, et al. One-pot synthesis and lubricity of fluorescent carbon dots applied on PCL-PEG-PCL hydrogel. *J Biomater Sci Polym Ed* 2018;29:1549-65.
- [182] Zhong Z, Luo S, Yang K, Wu X, Ren T. High-performance anionic waterborne polyurethane/Ag nanocomposites with excellent antibacterial property via in situ synthesis of Ag nanoparticles. *RSC Advances* 2017;7:42296-304.
- [183] Li H, Shao F-Q, Zou S-Y, Yang Q-J, Huang H, Feng J-J, et al. Microwave-assisted synthesis of N,P-doped carbon dots for fluorescent cell imaging. *Microchimica Acta* 2015;183:821-6.
- [184] Jaiswal A, Ghosh SS, Chattopadhyay A. One step synthesis of C-dots by microwave mediated caramelization of poly(ethylene glycol). *Chem Commun (Camb)* 2012;48:407-9.
- [185] 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 Engl* 2012;51:12215-8.
- [186] Gong X, Lu W, Paau MC, Hu Q, Wu X, Shuang S, et al. Facile synthesis of nitrogen-doped carbon dots for Fe(3+) sensing and cellular imaging. *Anal Chim Acta* 2015;861:74-84.
- [187] Shi L, Li X, Li Y, Wen X, Li J, Choi MMF, et al. Naked oats-derived dual-emission carbon nanodots for ratiometric sensing and cellular imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2015;210:533-41.
- [188] 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. *Chem Commun (Camb)* 2012;48:9634-6.
- [189] Lin Z, Xue W, Chen H, Lin JM. Classical oxidant induced chemiluminescence of fluorescent carbon dots. *Chem Commun (Camb)* 2012;48:1051-3.
- [190] Liu C, Zhang P, Zhai X, Tian F, Li W, Yang J, et al. Nano-carrier for gene delivery and bioimaging based on carbon dots with PEI-passivation enhanced fluorescence. *Biomaterials* 2012;33:3604-13.
- [191] Tang L, Ji R, Cao X, Lin J, Jiang H, Li X, et al. Deep ultraviolet photoluminescence of water-soluble self-passivated graphene quantum dots. *ACS Nano* 2012;6:5102-10.
- [192] Liu S, Tian J, Wang L, Luo Y, Sun X. A general strategy for the production of photoluminescent carbon nitride dots from organic amines and their application as novel peroxidase-like catalysts for colorimetric detection of H₂O₂ and glucose. *RSC Adv* 2012;2:411-3.
- [193] Chandra S, Das P, Bag S, Laha D, Pramanik P. Synthesis, functionalization and bioimaging applications of highly fluorescent carbon nanoparticles. *Nanoscale* 2011;3:1533-40.

Anexo I*Sustainable Materials and Technologies***GREEN SYNTHESIS OF SPIRULINA-BASED CARBON DOTS FOR STIMULATING
AGRICULTURAL PLANT GROWTH**

Lucas Dall Agnol, Roberta Motta Neves, Marcelo Maraschin, Sidnei Moura, Heitor Luiz
Ornaghi Jr., Fernanda Trindade Gonzalez Dias, Otávio Bianchi

Anexo II*Progress in organic coatings*

UV-CURABLE WATERBORNE POLYURETHANE COATINGS: A STATE-OF-THE-ART AND RECENT ADVANCES REVIEW

Lucas Dall Agnol, Fernanda Trindade Gonzalez Dias, Heitor Luiz Ornaghi Jr., Marco Sangermano, Otávio Bianchi

Anexo III

Polymer Engineering & Science

POLYURETHANES SYNTHETIZED WITH POLYOLS OF DISTINCT MOLAR
MASSES: USE OF THE ARTIFICIAL NEURAL NETWORK FOR PREDICTION OF
DEGREE OF POLYMERIZATION

Lucas Dall Agnol, Heitor Luiz Ornaghi Jr., Francisco Monticeli, Fernanda Trindade Gonzalez
Dias, Otávio Bianchi

Anexo IV

Tabela S1. Resumo das principais matérias-primas, condições de síntese e resultados de alguns estudos publicados na literatura para a produção dos CQDs. (continua)

Síntese Assistida por Micro-ondas					Caracterização						
Equipamento	Método de preparação	Tempo de reação	Etapa de purificação	Estabilidade	HRTEM e AFM	XPS e análise elemental	Tempo de vida (τ)	UV-VIS	FTIR	QY (Φ)	Ref.
Sistema CEM Discover, Matthews (200 W) temperatura de reação controlada	B-CDs: solução aquosa de PEI (5 mg/mL) T-CDs: 0–800 µL de glutaraldeído adicionado à solução aquosa de PEI	B-CDs: 180 °C por 15 min T-CDs: 180 °C por 30 min	dialise por 5 dias Mw: 1000 Da.	+ 1 mês	B-CDs = 2–7 nm Y-CDs = 10 nm alta cristalinidade e monodispersidade	C 1s, N 1s e O 1s Y-CDs: C1s (C–C, C–N, C–O e C=O)	τ = B-CDs ↑ de 5,7 para 8,4 µs após adicionar glutaraldeído	azul a amarelo λ _{em} = 464–556 nm ↑ oxigênio + ↑ glutaraldeído (mudança para emissão vermelha)	(C=O, N–H, CH ₂ , –OH e C–N)	B-CDs (Φ = 10%) Y-CDs (Φ = 8%) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[175]
Forno de micro-ondas doméstico (800 W) (Cu ²⁺ na água)	0,19 g de ácido cítrico 0,11 g de L-cisteína 0,30 g de dextrina dissolvido em 15 mL de água ultrapura	3 min	Adição de água → filtração (membrana de 0,22 mm) → diálise por 2 dias → liofilização	+ 3 meses estável em soro fisiológico	2,61 nm estrutura cristalina, rede com espaçamento de 0,15 nm	C 1s (36,0%) (C–C, C–S, C–N/CO e C=O); O 1s (61,2%) (C–O e C–OH); N 1s (1,4%) (N–(C) ₃ e N–H); S 2p (1,4 %) (–C–S–)	–	λ _{em} = 320–420 nm forte emissão em pH 7,0; ↑ nitrogênio e ↑ enxofre dopado (mudar para vermelho)	(O–H, C–H, C=O e C–O)	(Φ = 22%) Rodamina B em água (referência)	[176]
Forno de micro-ondas doméstico (n.d. W) (detecção de glutatona)	3 mg de cinzas de membrana de casca de ovo (400 °C por 2 h) foram adicionados a 5 mL de solução de NaOH (1 mol/L)	5 min	Adição de água → centrifugação a 12.000 rpm por 10 min → dialise por 2 dias → armazenamento (4 °C)	–	5 nm	C 1s (13,78%) (C–C, C–N e C=N/C=O); N 1s (1,60%) (C–N–C e N–(C) ₃); O 1s (56,86%) (C=O e C–OH/C–O–C) Na 1s (27,75%) (proveniente de NaOH)	–	λ _{em} = 450 nm	(–OH, COO [–] na superfície)	(Φ = 14%) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[177]
Forno de micro-ondas doméstico (500 W)	2g de glicose e 10 mL de poli(etilenoglicol) dissolvidos em 3 ml de água destilada	A (5 min) B (10 min)	purificado e diluído com água	–	2,7–3,6 nm natureza amorfa	C1s e O1s	τ = ± 8,7 ns	A: λ _{ex} =330nm, λ _{em} = 425nm B: λ _{ex} =380nm, λ _{em} = 485nm	(C–OH,C–H e C–O–C)	(Φ = 6,3–3,1%) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[178]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W)	5 mL de glicerol, 2 mL de fosfato 10 mM + 1 ml de TTDDA sob agitação vigorosa	10 min	diluído e dialisado com água por 4 dias (MWCO de 1000) → liofilização	–	3,5 nm natureza amorfa	C (56,8%), H (8,5%), N (7,8%) e O (26,9%)	τ = ± 8,7 ns	azul, turquesa, verde, jacinto e vermelho, sob excitação de luz UV, violeta, azul, verde e amarelo	amida I, C=O, amida II, N–H, amida III, C–N, –OH, N–H e C–O	(Φ = 12%) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[179]
Forno de micro-ondas doméstico (750 W)	70% (v:v) de glicerol, 70% de glicol, 20% de glicose ou 20% de sacarose + solução de fosfato 7,1 mM (pH 7,4)foi misturado com diferentes sais inorgânicos (NaCl, Na ₂ SO ₄ , NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ , CaCl ₂ ,	14 min	purificado e diluído com água	–	(AFM) altura ~2,1 nm	–	τ = ± 8 ns	λ _{em} azul, amarelo e vermelho sob λ _{ex} luz UV, azul e verde intensidade independente do pH (4,5–9,5)	–COOH, C=C e –OH	Φ = 3,2–9,5%; Φ↑ com a ↑ valência do cátion ou ânion QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[180]

AlCl ₃ , CuSO ₄ , NaOH and H ₂ SO ₄)										
Equipamento não especificado	1,2 g de DL-alanina disperso em água desionizada (30 mL)	200 °C por 50–70 min sob irradiação de micro-ondas	dispersão em água → centrifugação por 30 min → dialise por 7 semanas (MW = 1000Da)	–	6–8 nm nanocristalino com estrutura esférica	C 1s (59.3%) (C–C e C–H) correspondem a carbonos sp ² e sp ³ ; C–OH/C–O–C, C–O e COOH; N 1s (22.6%) (pirrólico e –NH); O 1s (18.1%) (C=O e C–OH)	–	λ_{ex} =360 nm λ_{em} = 430 nm	(–COOH, –OH, C–O, C=C, C–H e CH ₂)	– [181]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W) (<i>Deteção de pH em meio aquoso</i>)	ácido ftálico + trietilenodiamina hexahidratado em 3 mL de água desionizada	1 min	dispersão em água → dialise por 24 h → liofilização solubilidade em solventes orgânicos polares	forte fluorescência verde-amarelo em estado sólido	2–6 nm rede com espaçamento de 0,34 nm correspondente à rede (100) e (002) do grafeno	C1s (47.8%) (C–C/C=C, C–O/C–N e grupos COOH); N1s (8.15%) (pirrólico, grafítico e nitro); O1s (43.7%) (C=O e C–OH/C–O–C)	$\tau = \pm 4,9$ ns	λ_{ex} =350–480 nm λ_{em} = 480–510 nm	–OH, –NH, –COOH, amida e, C=C	($\Phi = 16,1\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência) [74]
Forno de micro-ondas doméstico (n.d. W) (<i>deteção de arginina e Cu²⁺</i>)	0,5 g de quitosana + 5 mL de ácido acético + 3 mL de etilenodiamina	15 min	dispersão em água → filtração (MWCO=500-1000) → diálise por 72 h → liofilização	nenhuma alteração após 150 min de exposição à luz UV	2–6 nm estrutura cristalina, planos de difração (100) e espaçamento de rede entre camadas de 0,18 nm	C 1s (C–C/C=C, C–N, C–O e C=O) O 1s (C–OH e C=O) N 1s (piridina, N-C ₃ grafítico e amino)	$\tau = 10,6$ ns	λ_{ex} = 365 nm λ_{em} = 454 nm	O–H, C–H, C=O, N–H, C–N, C–O, C–N e C–O–C	($\Phi = 23,4\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência) [182]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W) (<i>bioimagem</i>)	0,5 mL de etilenodiamina e 1,0 g de ácido N-fosfonometilaminodiacético em 25 mL de água deionizada	7 min	dispersão em água → centrifugação (5 min) → purificação (filtro 0,45 µm)	–	3,3 nm espaçamento de rede entre camadas de 0,212 nm e planos de difração (100)	C1s (C=O, C–N e C–C) O1s (C=O, O=C–OH, e C–OH/C–O–C) N 1s (N–H, N–(C) ₃ , C–N–C e N–C (sp ³)) P 2p (C=P e P–O)	$\tau = 7,8$ ns	λ_{em} = 418 nm fluorescência dependente do pH	NH/OH, C–H, C=O em COOH, P=O, P–O	($\Phi = 17,5\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência) [183]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W) (<i>bioimagem</i>)	1 g de ácido cítrico + 1,2-etilenodiamina em 10 ml de água deionizada fluorescência ótima, razão molar –NH ₂ : COOH (2:3)	2 min	dispersão em água → dialise por 3 dias (MWCO = 100) → precipitação → 2x lavagem com etanol → seco a vácuo (rendimento = 75%)	–	2,2–3,0 nm ausência de qualquer estrutura de rede discernível	C 1s, O 1s, Si 2p e N 1s (amida-N e átomos de dopagem de N na superfície)	–	λ_{ex} = 360 nm λ_{em} = 460 nm	OH, C–H; C=O e C–N, formação –CONR e –NH na superfície	($\Phi = 30,2\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência) [81]
Forno de micro-ondas doméstico (900 W)	PEG 200 em água ultrapura na proporção de 3:1 (v/v)	10 min	–	estável entre pH 3–8	4,5 nm ausência de qualquer estrutura de rede discernível	–	$\tau = 7,94$ ns	λ_{ex} = 325 nm λ_{em} = 445 nm	–	($\Phi = 16\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência) [184]
Forno de micro-ondas doméstico (750 W)	3g de ácido cítrico e 3 g de ureia solubilizados em 10 mL de água destilada	4–5 min	forno a vácuo (60 °C por 1 h) → purificação em centrífuga (3000 rpm/min, 20 min)	–	1–5 nm esférico com espaçamento de rede e estrutura grafítica	C (41.54 wt%) H (4.41 wt%) N (20.79 wt%) O (33.12 wt%)	–	λ_{ex} = 340–500 nm λ_{em} = 440–570 nm	O–H, N–H, C=O e CH ₂	($\Phi = 14\%$) esfera de integração [185]

Forno de micro-ondas doméstico (700 W) <i>(bioimagem e sonda de Fe³⁺)</i>	N-CDs: 1 g de quitosana e 10 mL de ácido acético e 5–8% de 1,2-etilenodiamina CDs (sem EDA)	15 min	dispersão em água → centrifugação (13000 rpm/15 min) → dialise por 3 dias (MWCO de 500–1000 Da) → liofilização	+ 6 meses secagem e redispersão em água sem agregação	CDs =1,2–4,3nm N-CDs =2,7–6,7 nm estrutura cristalina parcialmente desordenada e alto grau de grafitização espaçamento de rede de 0,21 nm e planos de difração (100)	C1s (C=C, C–O, C=O, O–C=O, C–H, C–N–C, C–N) O1s (–N–O, C–OH) N1s (C–N–C, N–(C) ₃ , N–H)	–	CDs: $\lambda_{\text{em}} = 422\text{--}428\text{ nm}$ $\lambda_{\text{ex}} = 280\text{--}340\text{ nm}$ N-CDs: $\lambda_{\text{em}} = 417\text{--}421\text{ nm}$ $\lambda_{\text{ex}} = 280\text{--}340\text{ nm}$	O–H, C–H, C–O e C–O–C, N–H, C=C, amido e –CONH	CDs: $\Phi = 7,3\%$ N-CDs: $\Phi = 20,1\%$ QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[186]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W) <i>(detecção de Al³⁺ e nanossondas ópticas)</i>	1 g de aveia pirolisada a 400 °C por 2 h e 5 mL de água	12 min	centrifugação (12.000 rpm 10 min)	+ 2 meses excitação UV por + 2	8,6 ± 0,8 nm planos de difração (002) e espaçamento de rede entre camadas de 0,301 nm	C:O (1.05:1) P, B, Pr e Ag (traços de elementos da aveia) C1s (C=C, C–C e O=C–O); O1s (C=O e C–OH/ C–O–C)	$\tau = \pm 8,59\text{ ns}$	$\lambda_{\text{ex}} = 310\text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 347\text{--}428\text{ nm}$	O–H, C–H, COO [–] , C–O	($\Phi = 3\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[187]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W)	2 g de histidina + 20 mL de ácido ortofosfórico (0,5 mol/L) ou NaOH (0,5 mol/L) (50 µL de CDs + 50 µL de solução de H ₂ O ₂ 0,1 mol/L e 50µL de NaIO ₄ 0,05 mol/L)	2 min 40 s	dispersão em água → centrifugação (12000 rpm/20 min) → dialise por 48h	–	2 ± 0,4 nm planos de difração (002)	C1s, N1s, O1s (64,6 : 22,5 : 12,8)	–	$\lambda_{\text{ex}} = 360\text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 440\text{ nm}$ $\lambda_{\text{abs}} = 299\text{ nm}$ ↓ intensities ↑ pH (5–13)	amida I, C=O, amida II, N–H, amida III, C–N, CH ₂ , –OH, NH ₂ , C–O	($\Phi = 44,9\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[188]
Forno de micro-ondas doméstico (n.d. W)	1 g de PEG + 15 mL de glicerina + 1 g de serina	10 min	purificado por diálise (Mw = 2000) → concentrado por evaporador rotativo	–	3–4 nm	C, N e O (67.7 : 1.3 : 31.0)	–	$\lambda_{\text{ex}} = 360\text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 440\text{ nm}$	–OH, –CH ₃ , –CH ₂ , C–O–C e amina	($\Phi = 12\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[189]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W) <i>(bioimagem)</i>	20 mL de glicerol + 6 mL de solução de fosfato 10 mM pH 7,4 + 0,5 g de polietilenimina ramificada (PEI-25 kD)	10 min	diluição em água → dialise por 4 dias → liofilização	estável em pH 5–12	4–12 nm natureza amorfa	C (54,1%) N (22,9%) H (9,4%) O (13,5%)	$\tau = 5,4\text{ ns}$	$\lambda_{\text{em}} = \text{azul, verde e vermelho}$ $\lambda_{\text{ex}} = 330\text{--}550\text{ nm}$ intensidade ↑ em condições ácidas	amida I, C=O, NH, CH ₂ , C–N e –OH	($\Phi = 15,3\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[190]
Forno de micro-ondas doméstico (700 W com curva de aquecimento) <i>(bioimagem)</i>	ED-CD: razão molar 1:1 de ácido cítrico (CA) e etilenodiamina (EDA) EA-CD: (1:1 de CA e etanolamina (EA)) Tris-CD: (1:1 de CA e tris(hidroxilmetil)-aminometano (Tris)) em 20 mL de água destilada	5 min	dispersão em água → centrifugação (5000 rpm/5 min) → sobrenadante foi purificado (filtro 0,02 µm) dispersão em água → liofilização	excitação UV por 2 h	0,8–2,1 nm espaçamento de rede de 2,1 Å; planos de difração (100)	(C 1s, N 1s, O 1s) C 1s (sp ² em C=C, sp ³ em C–N, C–O e C=O) N 1s (nitrogênio pirrólico e nitrogênio grafítico) O 1s (C=O e C–O–C/ C–O–H)	τ Tris-CD = 14,73 ns τ EA-CDs = 14,78 ns	$\lambda_{\text{ex}} = 234\text{ e }332\text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 410\text{ nm}$	–OH, NH, C–H, C=O e C–O–C	ED-CD ($\Phi = 67,5\%$) Tris-CD ($\Phi = 99,3\%$) EA-CD ($\Phi = 96,3\%$) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[82]
Forno de micro-ondas (280, 336, 462, 595 e 700 W)	soluções de glicose (2–11% em massa) em água	1–11 min	–	–	1,65–21 nm ↑ com ↑ tempo de aquecimento; alta cristalinidade; parâmetro de rede de 0,352 nm	C, H e O (1:2:1) C1s (sp ² (C=C), sp ³ (C–C, e C–H), C–OH C–O–C, C=O)	$\tau = 6,29\text{ ns}$	$\lambda_{\text{abs}} = 228\text{ e }282\text{ nm}$ $\lambda_{\text{ex}} = 263\text{ e }329\text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = \text{ultraviolet}$	–OH, –CH, –C–O–R C=C, –OH, C–O e C–H	($\Phi = 7\text{--}11\%$) esfera de integração	[191]

Forno de micro-ondas doméstico (700 W) <i>(detecção de H₂O₂ e glicose)</i>	1 mL de H ₂ SO ₄ + 5 mL de solução de dimetilamina	1 min	diálise por 1 dia	+ 7 dias excitação UV por 10 h	2–8 nm (002) espaçamento entre camadas: 3,5 Å°	C, N, O e S (O e S podem ser devido ao H ₂ SO ₄) C1s (C–C, C–N (sp ²) e C–N (sp ³)) N1s (C=N–C, C–N–C, N–(C) ₃ e N–H	–	λ _{abs} = 262 nm λ _{em} = 454 nm λ _{ex} = 380 nm fluorescência depende do pH	–	(Φ = 8,9%) QS em 0,1M H ₂ SO ₄ (referência)	[192]
Forno de micro-ondas doméstico (100 W) <i>(bioimagem e liberação controlada)</i>	1 g de sacarose dissolvido em 4 mL de água + 20 mL de ácido ortofosfórico	3 min 40 s	dispersão em água → centrifugação (4000 rpm por 10 min) → purificação por lavagem → centrifugação → secagem	–	3–10 nm natureza cristalina	–	–	verde sob luz UV	–OH, C–H, –COOH, C=O, C–O–C, C–O e amina	–	[193]

AFM: microscopia de força atômica; DLS: espalhamento dinâmico de luz; FTIR: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier; HRTEM: microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução; UV-VIS: fluorescência UV-Vis; XPS: espectroscopia de fotoelétrons de raios-X; QY: rendimento quântico; PEI: poli(etilenimina); QS: sulfato de quinina; TTDDA: 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanodiamina.