

VINÍCIUS AZEVEDO MOREIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CARBON DOTS FUNCIONALIZADOS COM CUPRIZONA
E SUA APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE CU (II) EM ÁGUAS PELA ATENUAÇÃO DA
INTENSIDADE FLUORESCENTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

M838s
2017
Moreira, Vinícius Azevedo, 1992-
Síntese e caracterização de carbon dots funcionalizados
com cuprizona e sua aplicação na determinação de Cu(II) em
águas pela atenuação da intensidade fluorescente / Vinícius
Azevedo Moreira. – Viçosa, MG, 2017.
xiii, 55f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Willian Toito Suarez.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.46-55.

1. Química analítica. 2. Materias nanoestruturados.
3. Cobre. 4. Cuprizona. 5. Caldo de Cana. 6. Água .
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 543

VINÍCIUS AZEVEDO MOREIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CARBON DOTS FUNCIONALIZADOS COM
CUPRIZONA E SUA APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE CU (II) EM ÁGUAS
PELA ATENUAÇÃO DA INTENSIDADE FLUORESCENTE.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de fevereiro de 2017.



Carlos Roberto Bellato



Astréa Filomena de S. Silva



Willian Toito Suarez
(Orientador)

“A MENTE QUE SE ABRE A UMA NOVA IDÉIA
JAMAIS VOLTARA AO SEU TAMANHO
ORIGINAL”.

ALBERT EINSTEIN

*Dedico esse trabalho aos meus pais, Lúcia
e Altivo, minha irmã e minha namorada
pelo amor, apoio incondicional e força
necessária para enfrentar os momentos
de dificuldade.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Altivo e Lúcia, a minha irmã Ingrid e a minha namorada Jaíne por todo amor, carinho, confiança e força.

Ao professor Willian Toito Suarez, meu orientador e amigo, pela sua dedicação e paciência.

Ao meu parceiro de trabalho e amigo Mathews Krambeck por tornar os dias mais alegres, pela sua capacidade de trabalho e infinita dedicação.

À todos membros do Laboratório de Instrumentação e Quimiometria LINQ.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela estrutura para realização dessa pesquisa.

À FAPEMIG pela concessão da bolsa de pesquisa.

À todas as amigas criadas na UFV e na cidade de Viçosa – MG, pelo acolhimento e as velhas amigas, pois quem tem amigo tem tudo.

Muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama de Jablonski, mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível.....	04
Figura 2: Ilustração de um QDs funcionalizado com tiól.....	06
Figura 3: Imagens de diferentes formas e tamanhos de CDs. (A) esférica, (B) barra e (C) tubular.....	08
Figura 4: Métodos de síntese de nanopartículas. “Top-down” e “Bottom-up”.....	09
Figura 5: Ilustração do tratamento hidrotérmico do suco de laranja para a geração de nanopartículas de carbono fluorescentes.....	11
Figura 6: Emissão de fluorescência de CDs obtidos em diferentes comprimentos de onda de excitação aumentando progressivamente a partir de 390 nm a 630 nm, com um incremento de 40 nm.....	12
Figura 7: (A) autoclave de aço inoxidável, (B) recipiente de teflon.....	18
Figura 8: Esquema de síntese dos CDs empregando o processo hidrotérmico. (A) cana de açúcar, (B) caldo de cana após a moagem, (C) solução final de CDs.....	19
Figura 9: Estrutura da cuprizona (CPZ).....	19
Figura 10: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados, $p=0,05$	27
Figura 11: Efeito da interação entre a temperatura e o tempo na intensidade luminescente dos CDs, como superfície de resposta 3D e gráfico de contorno 2D.....	28

Figura 12: Imagem obtida a partir da microscopia eletrônica de transmissão para os CDs sintetizados.....	28
Figura 13: Histograma de distribuição de tamanho dos CDs obtidas através da técnica de espalhamento dinâmico de luz.....	30
Figura 14: Espectros de emissão de luminescência de CDs em diferentes comprimentos de onda de excitação de 330 a 390 nm em incrementos de 10 nm.....	31
Figura 15: Espectros de emissão de luminescência normalizados de CDs em diferentes comprimentos de onda de excitação de 330 a 390 nm em incrementos de 10 nm.....	32
Figura 16: Espectro UV/VIS para os CDs sintetizados.....	33
Figura 17: Intensidades de fluorescência dos CDs com emissão em 430 nm (excitação a 350 nm) com diferentes valores de pH.....	35
Figura 18: Intensidades de fluorescência dos CDs com emissão em 430 nm (excitação a 350 nm) em função do tempo.....	36
Figura 19: Histograma da intensidade de fluorescência dos CDs em solução aquosa de NaCl em função da força iônica	37
Figura 20: Potencial Zeta para CDs e CDs/CPZ em função do pH.....	38
Figura 21: Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs com diferentes íons metálicos $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (λ_{ex} 350 nm).....	39

Figura 22: Espectros de infravermelho com transformada de Fourier da CPZ (A), CDs/CPZ (B) e CDs (C).....	41
Figura 23: Proposta da provável funcionalização da superfície dos CDs e possível mecanismo de atenuação luminescente dos CDs/CPZ por Cu^{2+}	42
Figura 24: Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs/CPZ com diferentes íons metálicos $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($\lambda \text{ ex } 350 \text{ nm}$).....	43
Figura 25: (A) Espectros de emissão de luminescência dos CDs/CPZ após a adição de Cu^{2+} em diferentes concentrações na faixa de 5,12 à 100 μmol . (B) Curva analítica obtida para determinação fluorescente de Cu^{2+} empregando CDs/CPZ.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fatores com seus níveis para a síntese de CDs.....	20
Tabela 2: Ensaios experimentais.....	21
Tabela 3: Ensaios experimentais com as intensidades luminescentes experimentais e previstas dos CDs.....	25
Tabela 4: Resultados da ANOVA.....	26
Tabela 5: Rendimento quântico dos CDs a 350nm.....	34
Tabela 6: Parâmetros para CDs descritos na literatura.....	34
Tabela 7: Porcentagens de recuperação de Cu^{2+} obtidas para os três níveis de concentração estudados.....	45

LISTA DE SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

ANOVA - Análise de Variância;

CDs - Carbon Dots (Pontos de carbono);

CDs/CPZ - *Carbon Dots* (Pontos de carbono) funcionalizados com Cuprizona (bis (ciclohexanona) oxaldi-hidrazona);

CPZ - Cuprizona (bis (ciclohexanona) oxaldi-hidrazona);

DIC - N,N'-diisopropilcarbodiimida;

DTT - Ditioneitol;

EQL - Eletroquimioluminescência;

FTIR - *Fourier transform infrared spectroscopy* (Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier);

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia;

KSV - Constante de *Stern-Volmer*;

NAC - N-acetil-L-cisteína;

NHS - N-hidroxisuccinimida;

PEG200 - Polietileno glicol;

QDs - *Quantum Dots* (Pontos quânticos);

RSM - *Response surface methodology* (Metodologia de superfície de resposta);

TEM - *Transmission electron microscopy* (Microscopia eletrônica de transmissão).

RESUMO

MOREIRA, Vinícius Azevedo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2017. **Síntese e caracterização de carbon dots funcionalizados com cuprizona e sua aplicação na determinação de Cu (ii) em águas pela atenuação da intensidade fluorescente.** Orientador: Willian Toito Suarez. Coorientador: André Fernando de Oliveira

Neste estudo é apresentado um procedimento simples, de baixo custo e que segue os preceitos da química verde para a síntese de pontos de carbono (CDs) e sua aplicação para determinação de Cu^{2+} em amostras ambientais. O caldo de cana-de-açúcar foi utilizado como fonte natural renovável para a produção de CDs. Os CDs foram sintetizados por tratamento hidrotérmico mantendo a temperatura constante (250°C) por um período de 6 horas. Os CDs obtidos foram caracterizados usando as técnicas de fluorescência, espectroscopia de infravermelho por transformação de Fourier (FTIR) e UV-visível. Através da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e espalhamento dinâmico de luz foi constatada a formação de CDs com um tamanho médio de 1 nm. Os CDs sintetizados foram funcionalizados com cuprizona (CPZ) e aplicados na determinação de Cu^{2+} em água. O método baseou-se na atenuação de fluorescência emitida pelo CDs/CPZ induzida pelos íons Cu^{2+} . No estudo da seletividade, os resultados mostraram que CDs funcionalizados com CPZ apresentaram uma resposta mais seletiva para os íons Cu^{2+} em comparação os CDs não funcionalizados com a CPZ. O limite de detecção do método foi $7,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ com um intervalo linear de 5,12 a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o íon Cu^{2+} . O método proposto é uma alternativa simples, sustentável e viável para a determinação de Cu^{2+} em água natural.

ABSTRACT

MOREIRA, Vinícius Azevedo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2017. **Synthesis and characterization of carbono funcionalized with cuprizone and its application in the determination of Cu (ii) in waters by the attenuation of fluorescent intensity.** Advisor: Willian Toito Suarez. Co-advisor: André Fernando de Oliveira

A simple, low-cost and environmental friendly procedure for synthesizing of carbon dots (CDs) and its application for determination of copper (II) is presented. In this work sugarcane juice was used as a renewable natural source for the production of CDs. The CDs were synthesized from sugar cane juice, via hydrothermal treatment at 250° C temperature for 6.0 hours. Through the techniques of transmission of electron microscopy (TEM) and dynamic light scattering was found the formation of CDs with an average size of 1 nm. CDs were also characterized using fluorescence techniques, UV and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The synthesized CDs has been functionalized with cuprizone (CPZ) and applied to the selectivity determination of Cu²⁺ in water which is based on Cu²⁺-induced fluorescence quenching of CDs/CPZ. In the study of the selectivity the results showed that CDs/CPZ has a high response toward Cu²⁺ compared to other heavy metal ions. The method detection limit was 7.6×10^{-7} mol L⁻¹ with a linear dynamic range from 5 to 100 µmol L⁻¹ of Cu²⁺. Therefore, the proposed method shows a viable alternative for determining Cu²⁺ in natural water.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Sustentabilidade ambiental	2
2.2. Nanotecnologia e Nanomateriais	2
2.3. Métodos luminescentes.....	3
2.4. Nanopartículas fluorescentes: Quantum Dots	5
2.5. Nanopartículas de Carbono: Carbon Dots.....	7
2.5.1. Síntese de CDs	9
2.5.2. Caracterização	12
2.5.3. Funcionalização	13
2.5.4. Rendimento quântico.....	14
2.6. Aplicações de CDs para determinação de metais em águas	15
3. OBJETIVOS.....	16
3.1. Objetivo geral	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	17
4.1. Materiais e Soluções	17
4.2. Instrumentação.....	17
4.3. Síntese de CDs	18
4.4. Funcionalização de CDs com CPZ.....	19
4.5. Planejamento experimental para síntese de CDs	20
4.6. Rendimento quântico	21
4.7. Estudo do pH para CDs.....	22
4.8. Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs.....	22
4.9. Estudo da influência da força iônica para CDs.....	22

4.10. Potencial Zeta	22
4.11. Seletividade	23
4.12. Determinação de Cu^{2+} empregando CDs/CPZ	23
4.13. Veracidade	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	24
5.1. Planejamento experimental para a síntese de CDs	24
5.2. Caracterização dos CDs.....	28
5.2.1. Microscopia eletrônica de transmissão.....	28
5.2.2. Espalhamento dinâmico de luz.....	29
5.2.3. Luminescência	29
5.2.4. Espectrofotometria UV/VIS.....	31
5.3. Rendimento quântico	32
5.4. Estudo do pH.....	34
5.5. Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs.....	35
5.6. Força iônica.....	35
5.7. Potencial Zeta	36
5.8. Seletividade.....	37
5.9. Determinação de Cu^{2+} empregando CDs/CPZ.....	43
5.10. Veracidade	44
6. CONCLUSÕES.....	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

As amplas propriedades ópticas, elétricas e mecânicas dos nanomateriais de carbono têm despertado grande interesse acadêmico e industrial na área de desenvolvimento da nanociência e da nanotecnologia. A descoberta dos nanotubos de carbono, fulerenos e grafeno abriram uma nova área na química e na física do carbono (SCHIAVON, 2015).

As nanopartículas fluorescentes têm sido amplamente utilizadas em pesquisas atuais. Dentre estas nanopartículas, os Quantum Dots (QDs) são as mais renomadas pois, apresentam excelentes propriedades ópticas e são intensamente foto-estáveis. Todavia, estas nanopartículas possuem em seu núcleo metais pesados como o cádmio, cuja toxicidade é bem documentada academicamente (HARDMAN, 2006).

Os pontos quânticos de carbono ou Carbon Dots (CDs) apresentam características fotoluminescentes interessantes e semelhantes aos QDs, pois são sustentáveis ambientalmente, devido à ausência de metais na sua estrutura. Além disso, são solúveis em água, sua síntese é simples e de baixo custo. Novas metodologias analíticas vêm sendo desenvolvidas para a produção de CDs empregando como precursores fontes naturais e, seu campo de aplicação é amplo, pois envolve bioimagem, rotulagem biológica e detecção de metais (GU et al., 2015).

O íon Cu^{2+} pode ser encontrado frequentemente em águas naturais, tais como água do mar, lagos, rios e água potável. O Cu^{2+} é essencial para o ser humano e possui papel biológico importante, entretanto altas concentrações do metal no corpo humano estão relacionadas à doenças neurodegenerativas, tais como doença de Wilson e Alzheimer (GEDDA et al., 2016).

Mesmo com avanços científicos e tecnológicos no desenvolvimento de metodologias aplicadas à síntese de nanomateriais, há a necessidade do desenvolvimento de métodos mais eficientes, economicamente viáveis e ambientalmente aceitáveis. Assim, neste trabalho propõe-se o desenvolvimento de uma nova metodologia utilizando o caldo de cana-de-açúcar para obtenção de CDs luminescentes e solúveis em água funcionalizados com cuprizona (CPZ) para determinação de Cu^{2+} em águas naturais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Sustentabilidade ambiental

A sustentabilidade ambiental é um ideal sistemático que se perfaz principalmente pela ação e pela constante busca de equilíbrio entre desenvolvimento econômico e preservação do ecossistema. (BORELLI, 1992). Dentro deste contexto, a *Química Verde* pode trazer sensatez para este desenvolvimento, melhorando o preparo de produtos de consumo utilizando materiais mais adequados, novos métodos de produção ambientalmente recomendáveis (Torresi et al., 2013).

A Química Verde baseia-se no uso de sistemas tecnológicos ou operacionais capazes de reduzir o consumo de energia e investimento, além de promoverem a utilização cíclica de materiais e reagentes pelo uso de tecnologias inovadoras a fim de reduzir a dependência de matéria-prima não renovável (Torresi et al., 2013).

2.2. Nanotecnologia e Nanomateriais

De acordo com Richard Feynman em sua palestra intitulada "There's plenty of room at the bottom" realizada no Instituto de Tecnologia da Califórnia em 1959, a manipulação de átomos para o desenvolvimento de nanoestruturas apresenta o que veio a ser notoriamente denominado nanotecnologia (FEYNMAN, 1960). O termo nanotecnologia foi definido com base na manipulação da matéria em escala atômica molecular e supramolecular para a fabricação de produtos de macro escala (CHOUHAN, 2012).

Vários fenômenos físico-químicos se tornam mais pronunciados à medida que o tamanho da matéria diminui. Um exemplo disso seria o "efeito de tamanho quântico" onde as propriedades eletrônicas dos sólidos são alteradas em escala infinitesimais, tornando-se apreciáveis ao atingirem a faixa de tamanho do nanômetro, normalmente em escalas menores que 100 nanômetros (PANDEY, 2014).

As propriedades físicas dos nanomateriais (mecânicas, elétricas, ópticas, etc.) se alteram quando comparadas à sistemas macroscópicos. O aumento da relação superfície/volume no qual se altera as propriedades mecânicas, térmicas e catalíticas dos materiais como por exemplo: substâncias opacas podem tornar-se transparentes

(cobre); materiais estáveis se transformam em combustível (alumínio) e materiais insolúveis tornando-se solúveis (ouro). O ouro, quimicamente inerte em escalas normais, pode servir como um potente catalisador químico em nanoescala. Grande parte do êxtase com a nanotecnologia vem através desses fenômenos quânticos e superficiais que a matéria apresenta na nanoescala (BETTS, 2008).

2.3. Métodos luminescentes

A espectroscopia de luminescência molecular é uma ferramenta analítica extremamente sensível e tem sido amplamente aplicada na resolução de problemas que requerem baixos limites de detecção. Muitos trabalhos podem ser facilmente encontrados na literatura, mostrando análises ao nível de traços empregando essa técnica (SOTOMAYOR et al., 2008).

A sensibilidade desta técnica é consideravelmente maior em comparação com a espectrofotometria UV/visível, pois apresenta limites de detecção de até três ordens de grandeza maior (ng mL^{-1}), característica que se deve à suas medidas com baixo sinal de fundo (BARROS et al., 2005).

Moléculas fluorescentes apresentam comprimento de onda característico de excitação e/ou emissão. Cada tipo de onda localiza-se em uma faixa de comprimento diferente um do outro (CZARNIK, 1993).

Nos métodos de espectroscopia, como por exemplo nos métodos fotoluminescentes caracterizados pela fluorescência e fosforescência, a excitação da molécula é conduzida pela absorção de fótons. A molécula é inicialmente excitada e promovida para um estado eletrônico de maior energia, cujo retorno ao estado fundamental é acompanhado pela emissão de radiação eletromagnética.

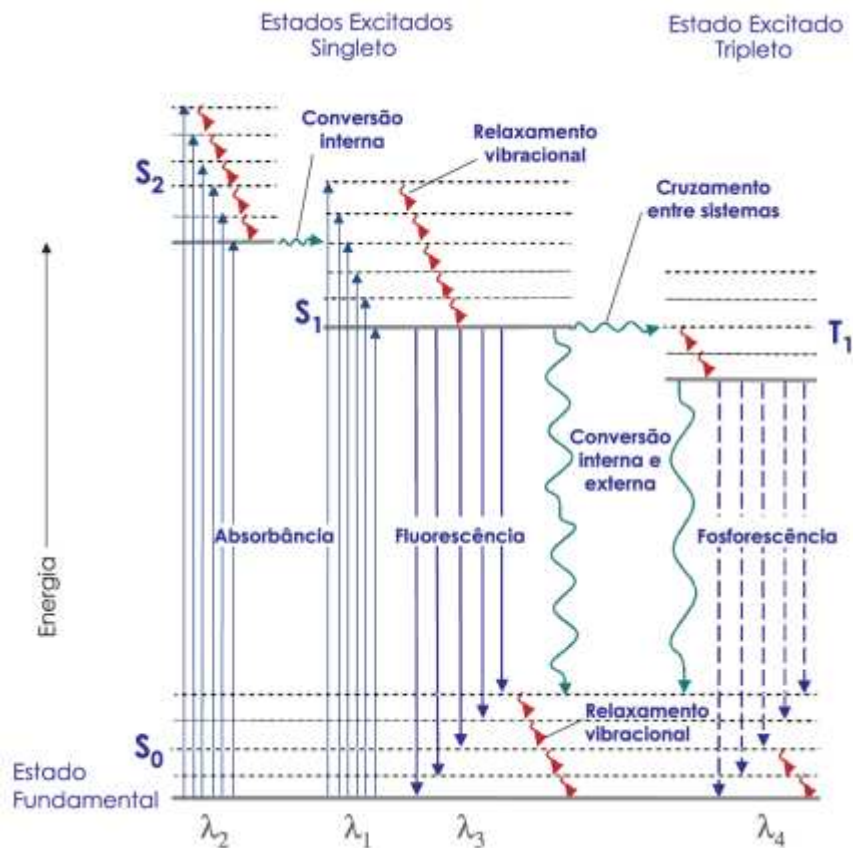


Figura 1: Diagrama de Jablonski mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível.

A energia eletrônica (Figura 1) responsável pela transição fluorescente não envolve uma mudança no número quântico do spin do elétron, ademais, ela passa do nível $S_0 \rightarrow S_1$ emitindo radiação desde o nível excitado S_1 para algum dos níveis vibracionais do estado eletrônico S_0 . Como consequência, a fluorescência possui tempo de vida extremamente curto, com a luminescência cessando quase que imediatamente, por volta de 10^{-9} a 10^{-6} s (ns a μ s). A fluorescência é emitida em comprimentos de onda maiores àqueles de excitação, deslocando-se entre 50 e 150 nm quando comparado ao comprimento de onda da luz usado para a excitação da molécula (SOTOMAYOR et al., 2008).

Metodologias baseadas na supressão da fluorescência têm sido empregadas para determinação de diversos analitos de interesse em inúmeras áreas de pesquisa. A teoria da supressão fluorescente é descrita pela Equação de Stern-Volmer Equação 1 (GEETHANJALI et al., 2015):

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv} [Q] \quad \text{(Equação 1)}$$

onde, I_0 e I são, respectivamente, a intensidade de fluorescência na ausência e na presença do metal supressor de fluorescência, $[Q]$ a concentração do metal e K_{sv} é a constante de Stern-Volmer.

2.4. Nanopartículas fluorescentes: Quantum Dots

A fluorescência é um dos muitos mecanismos pelos quais a molécula retorna ao seu estado fundamental de origem após ter sido excitada pela absorção de radiação. Todas as moléculas absorventes possuem potencial para fluorescerem, contudo, muitos compostos não o fazem porque suas estruturas fornecem caminhos para a relaxação não-radiativa mais rápida que a emissão fluorescente (SKOOG et al., 2006).

Dessa forma, as nanopartículas fluorescentes têm sido um dos principais focos de pesquisa e desenvolvimento devido às suas propriedades ópticas e químicas. Atualmente, uma das nanopartículas mais pesquisadas são as chamadas Quantum Dots (QDs) ou pontos quânticos.

O físico russo Ekimov foi o primeiro pesquisador a verificar os QDs ao analisar cristais de vidro no ano de 1980. No entanto, quase uma década se passou para que resultados relevantes utilizando os QDs fossem obtidos por Murray et al. sintetizando nanopartículas CdX coloidal ($X = S, Se, Te$) (ZHU et al., 2013).

QDs são estruturas cristalinas, com tamanhos em escala de nanômetros, formados por centenas e/ou milhares de átomos. Devido a suas pequenas dimensões, muitas de suas propriedades químicas e físicas estão relacionadas com a sua área superficial e não por seu volume total. Daí o fato de que suas propriedades diferirem em grande medida dos cristais sólidos.

Os QDs apresentam elevada fotoestabilidade com rendimentos quânticos de fluorescência elevados. Devido a essas características, os QDs são apresentados como uma nova classe de fluoróforos de extraordinário potencial para diversas aplicações, tais como o monitoramento de diversos analitos, uma vez que as nanopartículas reduzem os inconvenientes que se encontram quando se emprega fluoróforos tradicionais. No entanto, uma desvantagem dos QDs semicondutores é que estes contêm metais pesados, como o cádmio, cuja toxicidade é bem documentada (HARDMAN, 2006).

Ao serem excitados por radiação eletromagnética, os QDs (Figura 2) produzem um gap de energia que corresponde a uma "quantidade" de energia necessária para que o elétron efetue a transição para banda de condução. Neste estágio excitado, ele sofre um forte confinamento quântico nas três dimensões do espaço, o que confere aos QDs algumas propriedades ópticas interessantes, tais como a forte dependência de emissão em função do tamanho das partículas (VIEIRA, 2014).

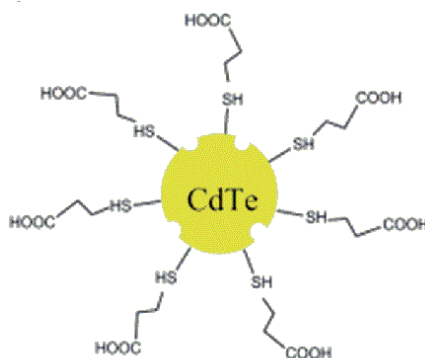


Figura 2: Ilustração de um QDs funcionalizado com tiól.

No entanto, a fim de melhorar a biocompatibilidade, bem como o rendimento quântico e estabilidade destes núcleos dos nanocristais, camadas de alguns átomos de um semicondutor com gap de energia maior são introduzidos para encapsular o núcleo desses nanocristais, formando os QDs chamados de “core-shell” ou núcleo revestido por camadas.

A eficiência de luminescência é significativamente melhorada quando os nanocristais são passivados na sua superfície por um semicondutor de gap de energia maior que contribui na prevenção da lixiviação de íons metálicos a partir do núcleo é bloqueada por essa estrutura.

Rogach e seus colaboradores, a fim de diminuir a toxicidade dos QDs dispersos em água, usaram a técnica “core-shell” para realizar o crescimento de uma camada de alguns átomos em volta do semicondutor (BERNARDES, 2015).

R.K. Ratnesh e Mohan Singh Mehata relatam a produção de QDs de multicamadas, CdSe / CdS / ZnS, com base na técnica de sucessiva adsorção e reação da camada iônica, apresentando propriedades ópticas e estruturais desejadas para diversas aplicações (RATNESH; MEHATA, 2017).

QDs sintetizados via pirolise térmica de precursores organometálicos foram revestidos por camadas de ZnSeS / ZnTe / ZnS. Observou-se que o rendimento quântico dos QDs com primeira camada de ZnSeS foi de 14% e que este valor aumentou para 27% quando foi revestido com a segunda camada ZnTe, porém, o revestimento adicional de ZnS diminuiu ligeiramente a fotoluminescência para 24% (ADEGOKE et al., 2016). Estes mesmos pesquisadores sugeriram que os QDs produzidos tivessem a sua superfície funcionalizada com L-Cisteína através do seu grupo tiol, para obter nanocristais solúveis em água pela primeira vez. O rendimento quântico desses QDs ligado a L-Cisteína foi de 71,2% (ADEGOKE; NYOKONG; FORBES, 2015).

2.5. Nanopartículas de Carbono: Carbon Dots

As nanopartículas de carbono ou Carbon Dots foram produzidas acidentalmente em 2004 durante a purificação de nanotubos de carbono (XU et al., 2004). Estudos recentes vêm demonstrando que estas nanopartículas ao apresentarem fotoluminescência com alto rendimento quântico, são uma alternativa promissora em relação aos QDs semicondutores.

Os CDs possuem uma forte intensidade de luminescência, tipicamente caracterizados pela sua dependência em relação ao comprimento de onda de excitação. Os CDs apresentam propriedades ópticas - transferência eletrônica fotoinduzida, eletroquimioluminescência (EQL), e eficiência quântica – características que os tornam um nanomaterial cada vez mais interessante para aplicações tecnológicas (MIRANDA, 2014).

Diferentes formas e tamanhos de CDs (Figura 3) são relatados na literatura, como: (A) quantum dots (nanopartículas esféricas), (B) nanorods (nanopartículas em forma de barra) e (C) nanotubes (nanopartículas em forma tubular).

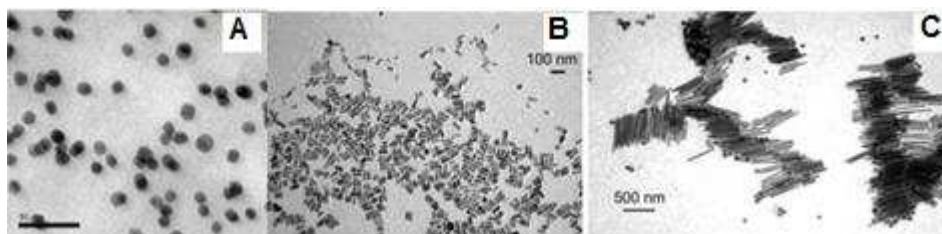


Figura 3: Imagens de diferentes formas e tamanhos de CDs. (A) esférica, (B) barra e (C) tubular.

Recentemente, muitos esforços têm sido despendidos para maior compreensão da fotoluminescência dos CDs. Embora os processos envolvidos na fotoluminescência ainda não sejam completamente compreendidos, estudos descritos na literatura apontam que as propriedades de fotoluminescência dos CDs possam ser atribuídas ao efeito de confinamento quântico devido aos tamanhos nanométricos das partículas, por diferentes armadilhas emissivas na superfície, pela recombinação radioativa de éxcitons, que podem ou não proporcionar aumento na intensidade após a passivação.

Em comparação com os QDs, os CDs são superiores em estabilidade química, biocompatibilidade e baixa toxicidade.

Os CDs são estruturas cristalinas, geralmente semiesféricas cujo diâmetro compreende o intervalo entre 1 nm e 100 nm, formados por centenas e/ou milhares de átomos (BAKER; BAKER, 2010; LECROY et al., 2014; LIU; YE; MAO, 2007). Devido a suas pequenas dimensões, muitas de suas propriedades químicas e físicas estão relacionadas com sua área superficial (BRUCHEZ JR. et al., 1998).

Os CDs apresentam fotoluminescência que pode não apenas ter a sua magnitude alterada mediante o controle de seu tamanho, mas também pelos espectros de excitação largos e bandas de emissão estreitas (tipicamente com larguras de pico a metade do máximo de emissão de até 25-35 nm) e simétricas (ZUO et al., 2015).

Variando o tamanho e a natureza do CDs, é possível gerar uma emissão fotoluminescente que abrange uma ampla faixa espectral, desde o ultravioleta até o

infravermelho. Esta propriedade permite a excitação de nanopartículas de diferentes tamanhos (distintos comprimentos de onda de emissão) a um mesmo comprimento de onda de absorção.

Estas nanopartículas são também chamadas de "carbogênio" por não serem formadas de carbono puro como os nanotubos de carbono ou nanodiamantes de carbono, mas são nanopartículas de carbono contendo átomos de oxigênio (SUN; DU; WANG, 2010).

2.5.1. Síntese de CDs

Vários procedimentos são descritos na literatura para a preparação de CDs, sendo que duas estratégias são mais amplamente aplicadas: "top-down" e "bottom-up" (Figura 4).

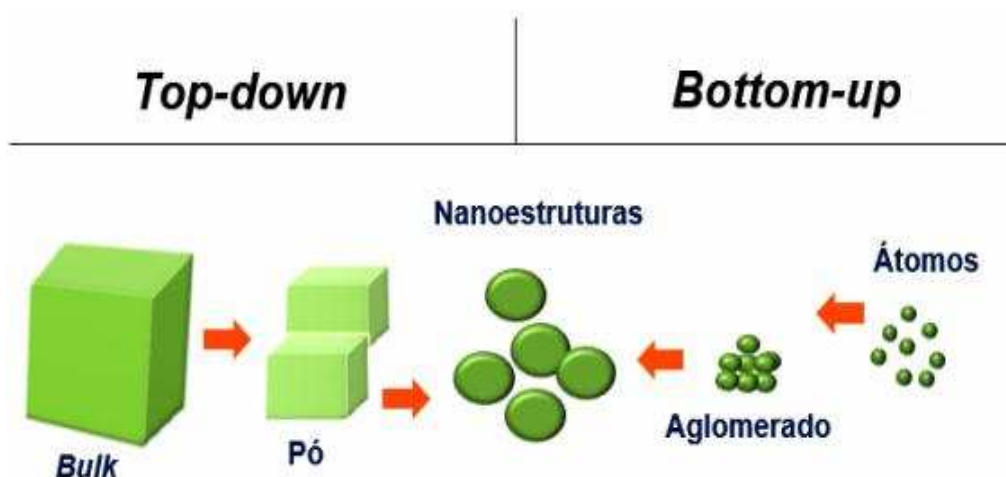


Figura 4: Métodos de síntese de nanopartículas. "Top-down" e "Bottom-up".

A metodologia "top-down" inicia-se com um material "bulk" em que há redução em partículas menores até atingir a escala nanométrica, tais como o método de ablação a laser (GONÇALVES et al., 2010; SUN et al., 2006) e esfoliação a partir de uma fonte de grafite (ZHOU et al., 2007). Por outro lado, na metodologia "bottom-up" os átomos são reorganizados e reunidos para formação de nanoestruturas, tais como: oxidação térmica dos precursores moleculares adequados (BOURLINOS et al., 2008), desidratação de hidratos de carbono usando ácido sulfúrico concentrado (PENG; TRAVAS-SEJDIC, 2009), síntese de nanopartículas de carbono altamente

luminescentes em solventes não coordenantes (WANG et al., 2010), oxidação eletroquímica (ZHOU et al., 2007) e aquecimento em forno de micro-ondas (LIU et al., 2016, 2014; ZHU et al., 2009).

Assim, há várias metodologias para a obtenção das nanopartículas, sendo a síntese hidrotérmica a mais amplamente empregada.

A produção de CDs à partir da síntese hidrotérmica apresenta uma série de vantagens: produção de partículas homogêneas e de alta pureza, boa distribuição de tamanho de partículas, processo rápido e de etapa única.

CUI. et al. sintetizaram CDs através de um método hidrotérmico a 200 °C por 12h usando metionina e ácido acrílico, sendo que as partículas obtidas foram empregadas para determinação de íons Fe^{3+} (CUI et al., 2017).

Xiaoyong Zhang et al. propuseram um método para a produção de CDs utilizando a oxidação térmica de nanodiamantes com os reagentes ácido sulfúrico concentrado, $NaNO_3$ e $KMnO_4$. Os CDs gerados foram empregados na aquisição de imagens de células (ZHANG et al., 2013).

Yu Zhu Fan et al. desenvolveram um procedimento para determinação de ácido pícrico, utilizando CDs preparados por um procedimento hidrotérmico (200 °C durante 4 h) com os precursores ureia e ácido malônico (FAN et al., 2017).

Entretanto, todos os métodos supracitados utilizam fontes inviáveis ambientalmente como precursor para a produção de CDs.

Alternativamente, a síntese de nanomateriais a partir de fontes renováveis pode ser considerada uma área promissora no campo da nanotecnologia. Várias demonstrações de sucesso são relatadas para a produção de nanomateriais como: a utilização da biomassa natural que exibem potencial aplicação em vários campos e os nanomateriais aplicados à energia (SUN; CAO; LU, 2012) em detecção analítica (LIU et al., 2012) e em materiais funcionalizados (SALAS et al., 2010).

Sahu et al. (SAHU et al., 2012) sintetizaram nanopartículas de carbono fluorescentes utilizando um tratamento hidrotérmico do suco da laranja (*Citrus nobilis* deliciosa) em baixa temperatura (120°C) e em curto intervalo de tempo (150 minutos). O mecanismo utilizado por estes estudiosos para a formação das nanopartículas de carbono envolveu carbonização hidrotérmica dos constituintes majoritários do suco de laranja, tais como: sacarose, glicose, frutose, ácido cítrico e ácido ascórbico (Figura 5).

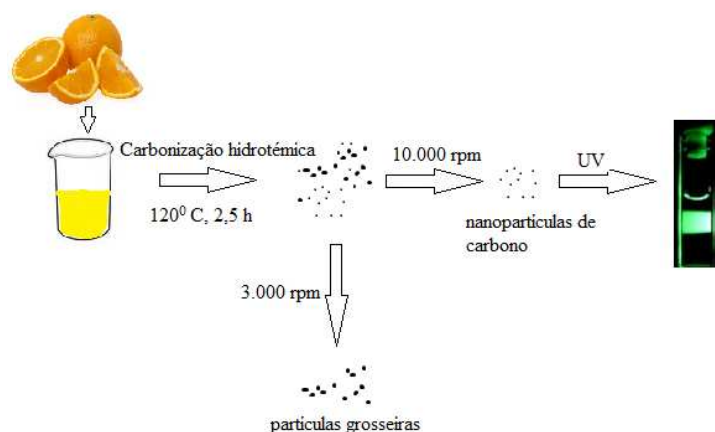


Figura 5: Ilustração do tratamento hidrotérmico do suco de laranja para a geração de nanopartículas de carbono fluorescentes.

Zhu et al. (ZHU; ZHAI; DONG, 2012) utilizaram o procedimento que consiste em tratamento hidrotérmico para a preparação de CDs empregando leite de soja como fonte natural. Liu et al (LIU; ZHAO; ZHANG, 2014) sintetizaram nanopartículas de carbono usando folhas de bambu como fonte de carbono empregando também um método via síntese hidrotérmica.

Mehta et al. (MEHTA et al., 2015) desenvolveram um método hidrotérmico para a preparação de CDs utilizando o suco de maçã como matéria-prima. Os CDs produzidos apresentaram fluorescência intensa, com comprimento de excitação máximo em 368 nm e emissão em 475 nm (região do azul).

Utilizando rabanetes como fonte de carbono, Wen Liu et al. propuseram um método verde de síntese de CDs sensíveis a Fe^{3+} . O procedimento desenvolvido apresentou diversas vantagens, dentre as quais destacam-se o rendimento quântico elevado (13,6%), a excelente biocompatibilidade, a baixa toxicidade e a estabilidade química (LIU et al., 2017).

Xiangping Wen et al. propuseram um método hidrotérmico para a preparação de CDs usando uma metodologia livre de solventes ou materiais tóxicos, utilizaram também pele de porco como fonte de CDs para detecção de Co^{2+} em células vivas (WEN et al., 2016).

Lihong Shi et al. relataram uma estratégia ecológica para a fabricação de CDs sintetizados a partir de lã, utilizando o método de pirólise e tratamento

hidrotérmico usando microondas. Os CDs foram aplicados em bioimagem alcançando resultados satisfatórios (SHI et al., 2016).

2.5.2. Caracterização

Vários métodos têm sido empregados para caracterização de CDs. O principal deles é a fluorescência devido a fotoluminescência na região do visível.

A Figura 6 apresenta o fenômeno de fluorescência em diversos comprimentos de onda de excitação para CDs produzidos em laboratório.

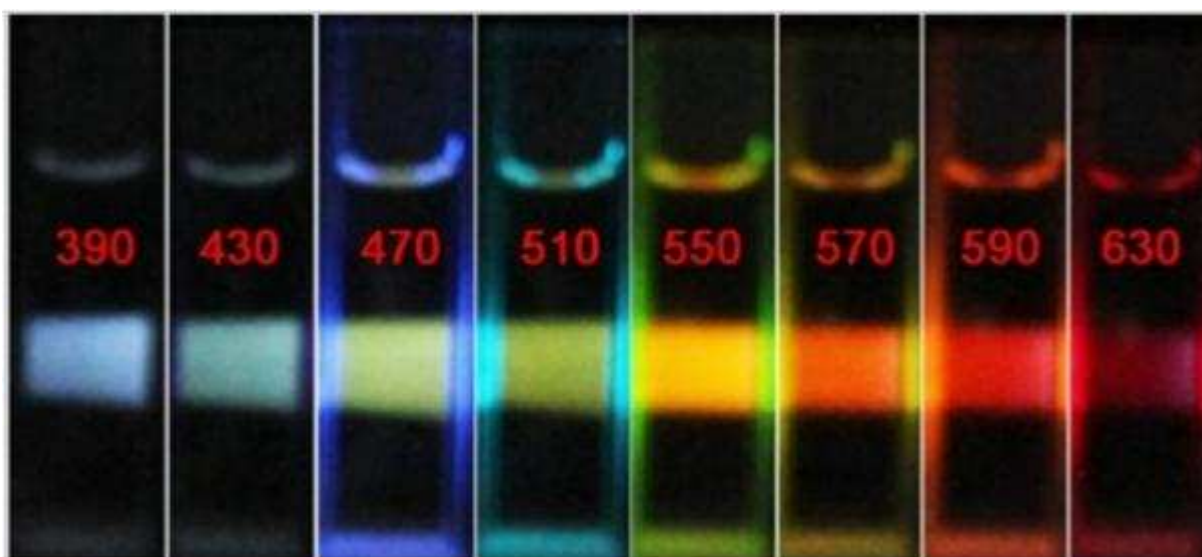


Figura 6: Emissão de fluorescência de CDs obtidos em diferentes comprimentos de onda de excitação aumentando progressivamente a partir de 390 nm a 630 nm, com um incremento de 40 nm.

Outros métodos são frequentemente empregados para caracterização dos CDs como: espectrofotometria Uv/Vis (VAZ et al., 2015), difração de raio X (MEHTA et al., 2015), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (ALVES et al., 2016; GUO et al., 2014; MEHTA et al., 2015), Raman (DING et al., 2013), microscopia eletrônica de transmissão (ALVES et al., 2016), microscopia eletrônica de varredura (HE et al., 2014; PAN et al., 2016; YU; KWAK, 2012), espalhamento dinâmico de luz, entre outras (MEHTA; JHA; KAILASA, 2014).

2.5.3. Funcionalização

Funcionalização é a modificação da superfície de um material proporcionando características distintas das originalmente encontradas. Estas modificações possibilitam a execução de funções específicas, como por exemplo: aumentar sensibilidade a um determinado íon, identificação de grupos químicos, oferecer biocompatibilidade e hidrofiliabilidade (FERREIRA; RANGEL, 2009).

CDs são ricos em grupos funcionais em sua superfície, as quais incluem carboxilas, grupos amino, tióis, hidroxilas entre outros, possibilitando dessa forma, manipular a superfície da nanoestrutura adicionando novas moléculas e modificando algumas propriedades do CDs gerados (WANG; QIU, 2016) (WANG et al., 2016).

Du et al. prepararam CDs a partir de uma mistura de ácido cítrico funcionalizada com 1,2-etilenodiamina em água. A análise de FTIR confirmou a presença de grupos -COOH e -NH₂ na superfície do CDs obtidos, enquanto que a difração de raio X revelou a composição do CDs contendo predominantemente C, O e N elementos (DU et al., 2013). Gupta et al. funcionalizaram a superfície dos CDs gerados com ditiotreitol (DTT), método ultrasensível para detecção de Hg²⁺ e biotióis (GUPTA et al., 2015).

Gonçalves et al. sintetizaram CDs com dimensões menores que 100 nm por ablação a laser. A funcionalização da superfície da nanoestrutura foi realizada em três etapas: (i) Ativação de CDs com HNO₃ 0,1 mol L⁻¹ (ii) funcionalização com PEG200 e (iii) funcionalização com N-acetil-L-cisteína (NAC). O método foi seletivo e sensível para determinar íons Hg²⁺ (GONÇALVES et al., 2010).

Caiyan Yu et al. prepararam CDs funcionalizados com gadolínio (Gd) através de um método hidrotérmico. As nanopartículas apresentaram uma fotoluminescência azul com um rendimento quântico de 69,86%. O processo foi realizado empregando ácido cítrico como fonte de carbono e cloreto de gadolínio (GdCl₃) na função de modificador. Os CDs gerados foram usados em bioimagem (YU et al., 2016).

Horst F. H. obtiveram CDs funcionalizados a partir de carbono orgânico que foi aquecido a 120 °C, e em seguida calcinado a 300 °C em mufla por 3 h e posteriormente funcionalizado com aminas para aumentar suas propriedades ópticas. Nesta metodologia, os pesquisadores adicionaram os CDs obtidos ao cloreto de tionila por duas horas em refluxo, em seguida retirou-se o excesso de tionila e um novo refluxo foi feito com etilenodiamina (Horst F. H., 2016).

CDs foram misturados com N-Boc-etilenodiamina e agitados sob atmosfera inerte, em seguida, a mistura foi deixada sob agitação à temperatura ambiente. Os CDs funcionalizados obtidos apresentaram grupos Boc-protégidos em sua superfície. A fim de conseguir aminas livres na superfície, os CDs foram aquecidos a 100 °C durante 10 min. O teor de grupos amina na sua superfície foi calculado e corroborado com outras técnicas espectroscópicas tais como IR (THESIS, 2016).

A funcionalização de CDs com “cavitands”, uma espécie de molécula que envolve outras moléculas, foi uma estratégia para melhorar a seletividade dos CDs. Dessa forma, para este procedimento, duas etapas foram utilizadas. Primeiramente, os agentes de acoplamento NHS (50 mg, 0,5 mmol) e DIC (126 mg, 1 mmol), carboximetil P-ciclodextrina (CMP-cd, 200 mg, 0,1 mmol) foram empregados para ativar os grupos carboxílicos dos “cavitands”. Posteriormente, os CDs foram misturados com os reagentes de acoplamento para a obtenção dos CDs funcionalizados (THESIS, 2016).

2.5.4. Rendimento quântico

O rendimento quântico Φ_F é definido como a razão entre o número de fótons emitidos por uma amostra e o número de fótons absorvidos pela mesma. Para esta medida, utiliza-se um corante de rendimento quântico conhecido como referência. O rendimento quântico da amostra a ser determinado é calculado através da Equação 2.

$$\Phi_F = \Phi_{FR} \cdot \frac{I}{I_R} \cdot \frac{A_R}{A} \cdot \frac{n^2}{n_R^2} \quad \text{(Equação 2)}$$

onde I é a área sob a curva do espectro de emissão, A é a absorção e n é o índice de refração ($n^2 \propto \epsilon$). O sub índice R refere-se ao corante de referência de rendimento quântico conhecido, Φ_{FR} . O Rendimento quântico é uma medida usada para quantificar a eficiência dos CDs no processo de emissão em relação à eficiência do corante de referência (XU et al., 2015).

2.6. Aplicações de CDs para determinação de metais em águas

Os metais pesados são liberados para o meio ambiente através de processos naturais e atividades antropogênicas, tornando-se um grave problema de saúde pública pelo seu aspecto toxicológico e, impactando fortemente o ecossistema. Além disso, os processos industriais geram resíduos que são na sua maioria descartados no ambiente, especialmente no campo da galvanoplastia, manufatura de produtos eletrônicos, fundição de metais e indústrias químicas. Não apenas os resíduos industriais são nocivos à natureza, mas também as águas residuais domésticas e agrícolas que não são tratadas contêm altas concentrações de metais (CHOWDHURY et al., 2016).

Metais como o cobre, presente como íons livres em solução, são absorvidos pelos organismos. Fontes dessas contaminações decorrem de meios naturais, pois o mesmo se encontra na crosta terrestre. Entretanto, também ocorrem através de atividades industriais, mineração e agricultura (fertilizantes e fungicidas).

De acordo com a RESOLUÇÃO CONAMA Nº 430/20, para águas doces classe 1 e 2, o valor máximo permitido para Cu^{2+} dissolvido é de $0,009 \text{ mg L}^{-1}$ (CONAMA, 2011).

A literatura delinea uma ampla faixa de aplicações de CDs como sensores seletivos para detecção de íons metálicos, tais como Hg^{2+} , Fe^{3+} e Cu^{2+} . A atenuação do sinal fluorescente é a base dos métodos desenvolvidos para a quantificação desses cátions.

V. Roshni, Divya Othoor propuseram uma nova abordagem para a determinação de Hg^{2+} pela supressão da fluorescência de CDs obtidos a partir de leite de coco por pirólise térmica. O limite de detecção obtido foi de $16,5 \text{ nM}$ (ROSHNI; OTTOOR, 2015).

Jing Yu *et al.* propuseram um método de baixo custo para detecção fluorescente de Hg^{2+} e Fe^{3+} baseando-se na supressão da fluorescência de nanopartículas de carbono (YU et al., 2015).

Salinas-Castillo et al. sintetizaram CDs empregando uma estratégia simples para detecção de Cu^{2+} de forma seletiva e sensível. Estes nanosensores fluorescentes apresentam baixa toxicidade e foram aplicados para detecção intracelular de Cu^{2+} em sistemas biológicos (SALINAS-CASTILLO et al., 2013).

Gangaraju Gedda et al. propuseram uma metodologia para a obtenção de CDs a partir do pó de casca de camarão para a determinação de Cu^{2+} ; como resultado, partículas de 4 nm foram obtidas, rendimento quântico de 9% e limite de detecção de 5 nM (GEDDA et al., 2016).

Jian Chen et al. sintetizaram CDs usando como precursor ácido cítrico e avaliaram as partículas como sensores para os íons Cu^{2+} e S^{2-} . Obtiveram um limite de detecção de 100nM e 130nM para Cu^{2+} e íons S^{2-} , respectivamente (CHEN et al., 2016).

Amit Kumar et al. sintetizaram CDs utilizando como precursor folhas de Tulsi (Espécie de Manjericão) para detecção de Pb^{2+} . Os CDs exibiram forte fluorescência com rendimento quântico de 9,3%, limite de detecção de 0,59 nM e região linear de 0,01-1,0 μM (KUMAR et al., 2017).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Propor o desenvolvimento de novas metodologias empregando caldo de cana de açúcar para obtenção de nanopartículas de carbono de acordo com os preceitos da *Química Verde*.

3.2. Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de carbono a partir do caldo de cana de açúcar (garapa) através de um processo hidrotérmico empregando a metodologia *bottom-up*.
- Caracterizar CDs por técnicas diversas para se obter maior quantidade de informações possíveis a respeito destas nanoestruturas.
- Funcionalizar CDs para obtenção de um método sensível e seletivo para determinação de Cu^{2+} .
- Empregar CDs/CPZ para a determinação de Cu^{2+} em sistemas de efluente aquosos baseando-se na atenuação da intensidade da fluorescência.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e Soluções

As soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade > 18,0 MΩ cm) obtida de um sistema Millipore Milli-Q (EUA). Cuprizona (bis (ciclohexanona) oxaldihidrazona, CPZ), sulfato de cobre pentahidratado, hidróxido de sódio, acetato de etila e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) foram adquiridos a Sigma-Aldrich e utilizados sem purificação adicional. A solução estoque de Cu^{2+} 500 mg L⁻¹ foi preparada a partir da dissolução de 1,96 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em 1000 mL de água destilada. Em seguida, a solução estoque de Cu^{2+} foi padronizada por titulação complexométrica utilizando EDTA. As soluções dos íons metálicos Al^{3+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{4+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} e Fe^{2+} (interferentes) foram preparadas a partir dos seus sais de nitrato ou sais de cloreto de grau analítico. O suco de cana-de-açúcar foi obtido da cana-de-açúcar moída, a amostra de água da torneira foi coletada de nosso laboratório de pesquisa e amostras de água do meio ambiente foram coletadas no lago da Universidade Federal de Viçosa em quatro pontos diferentes, posteriormente, foram filtradas com um filtro de diâmetro de poro baixo (0,22 μm) e armazenadas em garrafas de polietileno.

4.2. Instrumentação

Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados por um espectrofotômetro de fluorescência Avaspec-HS2048XL (Avantes, Holanda) e um espectrofotômetro de fluorescência Agilent Cary Eclipse (Agilent, EUA). A imagem de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foi registrada em um microscópio eletrônico de transmissão EM 109 (Zeiss, Alemanha) empregando gretas de cobre cobertas com filmes de carbono para aquisição das imagens. Os experimentos de espectroscopia de infravermelho por transformação de Fourier (FTIR) foram conduzidos num espectrômetro Spectrum 1000 FTIR (Perkin-Elmer, EUA) para caracterizar os grupos funcionais nos CDs. O tamanho dos CDs sintetizados foi medido por espalhamento dinâmico de luz (DLS) empregando um equipamento Zetasizer Nano S (Malvern, Inglaterra) no qual foi utilizado um ângulo de dispersão a

90°. Os espectros de absorção UV-Vis foram registrados num espectrofotômetro Lambda 950 UV-Vis com uma cubeta de quartzo de 1,0 cm à temperatura ambiente (Perkin-Elmer, EUA). Os potenciais zeta dos CDs foram medidos a 25 °C com um Zetasizer nano ZS90 (Malvern, Inglaterra). O pH foi monitorado em um pHmetro de bancada (Mettler Toledo, EUA). Para o tratamento hidrotérmico, um forno mufla modelo LF0910 foi empregado (JUNG, Brasil). Para a centrifugação das soluções foi utilizada a centrífuga de bancada excelsa baby II modelo 206 – R (FANEM, Brasil).

4.3. Síntese de CDs

Os CDs foram sintetizados a partir do suco de cana-de-açúcar por tratamento hidrotérmico em forno mufla. Para isso, foi utilizada uma autoclave de aço inoxidável (Figura 7A), com a parte interna composta por um recipiente de Teflon com capacidade para cerca de 80 mL (Figura 7B).



Figura 7: (A) autoclave de aço inoxidável, (B) recipiente de teflon.

Cerca de 20 mL de suco de cana-de-açúcar e 20 mL de etanol foram adicionados ao recipiente de Teflon, em seguida o mesmo foi inserido dentro da autoclave, a qual foi submetida à aquecimento constante a uma temperatura de 250° C durante 6 horas.

No final desse período, a autoclave foi arrefecida à temperatura ambiente e obteve-se um produto líquido castanho uniforme, o que indicou a formação de CDs solúveis em água. A solução foi então centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos e filtrada em um filtro quantitativo para a remoção de partículas grosseiras. Para a remoção de moléculas orgânicas, o filtrado foi lavado com 5 mL de diclorometano e

centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos, sendo a parte orgânica descartada e a solução aquosa contendo os CDs utilizada. Finalmente, a solução aquosa foi filtrada com um filtro de diâmetro de poro baixo (0,22 nm). O protocolo usado é sumariamente apresentado no esquema da Figura 8. A solução final de cor marrom (Figura 8C esquerda) quando exposta a luz UV mostrou fluorescência azul apreciável (Figura 8C direita).



Figura 8: Esquema de síntese dos CDs empregando o processo hidrotérmico. (A) cana de açúcar, (B) caldo de cana após a moagem, (C) solução final de CDs.

4.4. Funcionalização de CDs com CPZ

Os CDs obtidos no tratamento hidrotérmico do suco de cana-de-açúcar foram submetidos à duas etapas que consistiram na (i) ativação e (ii) na adição de novos grupos funcionais na superfície das partículas. Na primeira etapa (i) 10 mL de solução aquosa dos CDs gerados foram adicionados em 10 mL de solução de NaOH $0,1\text{ mol L}^{-1}$, esta solução foi deixada em refluxo durante 1 hora a fim de retornar à superfície da nanoestrutura mais reativa à funcionalização. Na segunda etapa, (ii) após ativação, a solução obtida foi colocada em refluxo com 0,5 gramas do reagente CPZ durante 1 hora. Ao final desse período, a solução foi lavada seis vezes com acetato de etila para a remoção do excesso de CPZ. Em seguida, a solução resultante foi filtrada com um filtro de diâmetro de poro baixo (222 nm), obtendo CDs funcionalizados com CPZ (Figura 9).

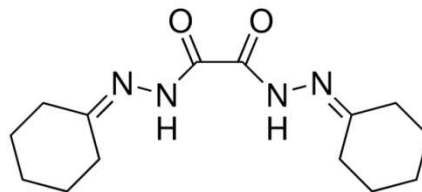


Figura 9: Estrutura da cuprizona (CPZ)

4.5. Planejamento experimental para síntese de CDs

Os principais fatores (Tempo e Temperatura) que influenciam na síntese para produção de CDs foram estudados. Portanto, um conjunto de experimentos foram conduzidos objetivando a identificação do efeito de cada um desses fatores em função da luminescência dos CDs. A avaliação do modelo aplicado é muito importante para assegurar uma previsão adequada dos resultados em comparação com os experimentos. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata para verificar as condições ótimas para a síntese e também para validar a adequação da previsão final.

A fim de otimizar os parâmetros do processo de síntese com o objetivo de maximizar a intensidade luminescente dos CDs, foi utilizada a metodologia de superfície de resposta (RSM). Este método estatístico foi utilizado para avaliar a relação entre as variáveis independentes, tempo e temperatura, para determinar as condições ótimas para produção de CDs altamente luminescentes.

Para obtenção da superfície de resposta foi realizado um planejamento composto central quadrático de 2 variáveis com 11 experimentos sendo 3 pontos centrais.

A relação matemática entre os 2 fatores X_1 e X_2 com os seus coeficientes é apresentado pela equação 3.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad \text{(Equação 3)}$$

Neste estudo, foram escolhidos os seguintes parâmetros para síntese de CDs pelo processo hidrotérmico (i) tempo em que a autoclave irá permanecer sob aquecimento na mufla e (ii) temperatura. Estes fatores, juntamente com os seus valores estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1: Fatores com seus níveis para a síntese de CDs.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Temperatura (°C)	150	200	250
Tempo (h)	6	9	12

Um total de 11 experimentos de síntese de CDs usando os dois fatores (Tempo e Temperatura) com os seus níveis foram conduzidos e são mostrados na Tabela 2. A análise de variância (ANOVA) para o projeto foi aplicada para derivar as interações entre todos os fatores possíveis para maximizar a intensidade luminescente dos CDs.

Tabela 2: Ensaios experimentais.

Planejamento		
Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (h)
1	150	6
2	250	6
3	150	12
4	250	12
5	150	9
6	250	9
7	200	6
8	200	12
9	200	9
10	200	9
11	200	9

4.6. Rendimento quântico

O corante utilizado como referência para medida do rendimento quântico das amostras de CDs foi o sulfato de quinino diluído em uma solução de 0,1 mol L⁻¹ de H₂SO₄, com $\Phi_{FR} = 0,55$.

Os parâmetros necessários para o estudo descrito anteriormente foram obtidos e, a partir deles, determinou-se o rendimento quântico dos CDs descrito no item 2.5.4 através da Equação 2.

4.7. Estudo do pH para CDs

Para verificar o efeito do pH no qual os CDs demonstravam maior pico de luminescência, foram testadas amostras de CDs na faixa de pH 3 a 9. O pH das soluções contendo CDs foi ajustado usando HCl e NaOH 0,1 mol L⁻¹.

4.8. Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs

Para demonstrar a fotoestabilidade dos CDs produzidos via tratamento hidrotérmico, as soluções contendo as nanopartículas foram irradiadas continuamente durante 1h com um comprimento de onda de excitação de 350 nm e seus espectros de excitação foram monitorados em 430 nm.

4.9. Estudo da influência da força iônica para CDs

Com o intuito de observar o comportamento da luminescência dos CDs sob o efeito do aumento da força iônica, ensaios foram realizados com crescente adição de uma solução de NaCl numa faixa de concentração de 0 a 1 mol L⁻¹.

4.10. Potencial Zeta

As medições do potencial zeta são amplamente utilizadas em estudos relacionados com a estabilidade de um sistema coloidal, uma vez que as propriedades de carga superficial estão diretamente relacionadas com essas medições (ZHANG et al., 2008).

Neste estudo, foi utilizado as medições do potencial Zeta para verificar as respostas da carga superficial dos CDs e dos CDs/CPZ. Comparando os resultados obtidos para ambos, pode-se constatar a efetiva funcionalização dos CDs por CPZ em uma faixa de pH de 2 a 10 (SUCHAOIN et al., 2016).

4.11. Seletividade

A seletividade de um método analítico é a capacidade que este possui de medir exatamente as substâncias de interesse na presença de outros componentes que possam interferir na análise (ANVISA, 2013). Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas (INMETRO, 2011).

Para verificar a seletividade do método na determinação de Cu^{2+} a partir dos CDs funcionalizados com CPZ, vários metais foram testados na proporção 1:100 de analito/interferente na concentração de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (concentração 100 vezes maior do que o ponto central da curva). O estudo de seletividade foi utilizado para verificar a eficiência da funcionalização dos CDs na determinação de Cu^{2+} . Os metais avaliados foram: Al^{3+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{4+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} e Fe^{2+} em condições idênticas.

4.12. Determinação de Cu^{2+} empregando CDs/CPZ

Estudos iniciais mostraram que há uma diluição ótima de CDs/CPZ. Visando a obtenção de um sinal analítico em que o sinal luminescente atinja maior intensidade, foi feita uma diluição onde se alterou o volume de CDs/CPZ adicionado à 3 mL de água destilada (pH 6,0). De acordo com os resultados obtidos, uma diluição de 30 μL de CDs/CPZ concentrado para 3 mL de água destilada foi fixada para estudos posteriores.

Para a determinação luminescente de Cu^{2+} pelo método de batelada, 3 mL da solução de CDs/CPZ foram transferidos para uma cubeta de quartzo com quatro lados polidos, seguido pela adição de um volume de solução de Cu^{2+} , de acordo com as concentrações previamente calculadas. Após mistura manual para homogeneização, em um intervalo de 5 minutos para a interação das partículas, os espectros de emissão luminescente foram obtidos em triplicata.

4.13. Veracidade

Foram realizados ensaios de recuperação de Cu^{2+} em três níveis de concentração diferentes, 20, 50 e 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Neste procedimento, amostras de água de lagoa e água de torneira foram filtradas com um filtro de diâmetro de poro baixo (0,22 μm), em seguida fortificadas em cada nível de interesse e, por fim, os espectros foram obtidos. A recuperação percentual foi determinada através da Equação 4.

$$\text{Recuperação (\%)} = (C_{\text{experimental}} / C_{\text{teórica}}) \times 100 \text{ (Equação 4)}$$

Onde, $C_{\text{experimental}}$ é a concentração média do analito determinada experimentalmente na amostra fortificada e $C_{\text{teórica}}$ é a concentração do analito adicionada na amostra não fortificada.

A recuperação está relacionada com a exatidão pois, reflete a quantidade de determinado analito recuperado no processo em relação à quantidade real presente na amostra (BRITO et al., 2003).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Planejamento experimental para a síntese de CDs

O modelo de previsão da otimização dos CDs é apresentado na Equação 5.

$$Y = 59685 - 412,8 X_1 - 3592,6 X_2 + 1,4 X_1^2 + 205,0 X_2^2 + 0,4 X_1 X_2 \text{ (Equação 5)}$$

Onde, X_1 e X_2 são os fatores temperatura e tempo, respectivamente, e Y é a intensidade luminescente.

Como mostrado na Tabela 3, existe uma boa relação entre os resultados previstos e os obtidos a partir dos experimentos.

Tabela 3: Ensaios experimentais com as intensidades luminescentes experimentais e previstas dos CDs.

Planejamento			Respostas	Estimadas
Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Intensidade luminescente	Intensidade luminescente
1	150	6	15991	16904
2	250	6	35900	34394
3	150	12	16764	17908
4	250	12	36950	35676
5	150	9	17620	15561
6	250	9	30411	33190
7	200	6	21401	21993
8	200	12	23008	23136
9	200	9	20971	20719
10	200	9	21008	20719
11	200	9	20899	20719

Os resultados da ANOVA de síntese de CDs são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Análise da variância (ANOVA).

TABELA ANOVA					
	SQ	GL	QM	F	p-valor
X1 (L)	502095890	1	502095890	257,9907	0,000017 SG
X1 (Q)	44819364	1	44819364	23,0294	0,004888 SG
X2 (L)	2456909	1	2456909	1,2624	0,312224
X2(Q)	3589858	1	3589858	1,8446	0,232485
X1 X2	19197	1	19197	0,0099	0,924746
Erro	9730892	5	1946178		
Total SQ	573701013	10			

SQ= Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrados médios; F= Teste de Fisher; SG= Significativo; $R^2 = 0,9830$; R^2 AJUSTE = 0,9660.

O modelo de regressão de segunda ordem para os CDs foi encontrado com um nível de confiança significativamente mais elevado (95%). Todos os coeficientes

previstos foram estimados por análise da ANOVA com um valor de p altamente significativo ($p < 0,05$) para temperatura e um R^2 de 0,9830, o que indica a maior validade para os valores luminescentes previstos. Foi obtido um valor relativamente elevado dos coeficientes R^2 ajustados (R^2 ajuste = 0,9660.), o que indica que a previsão final está em concordância com os resultados experimentais.

Uma forma de expressar graficamente as interações dos fatores para uma melhor demonstração dos resultados é apresentado no gráfico de Pareto na Figura 10 confirmando a significância dos efeitos.

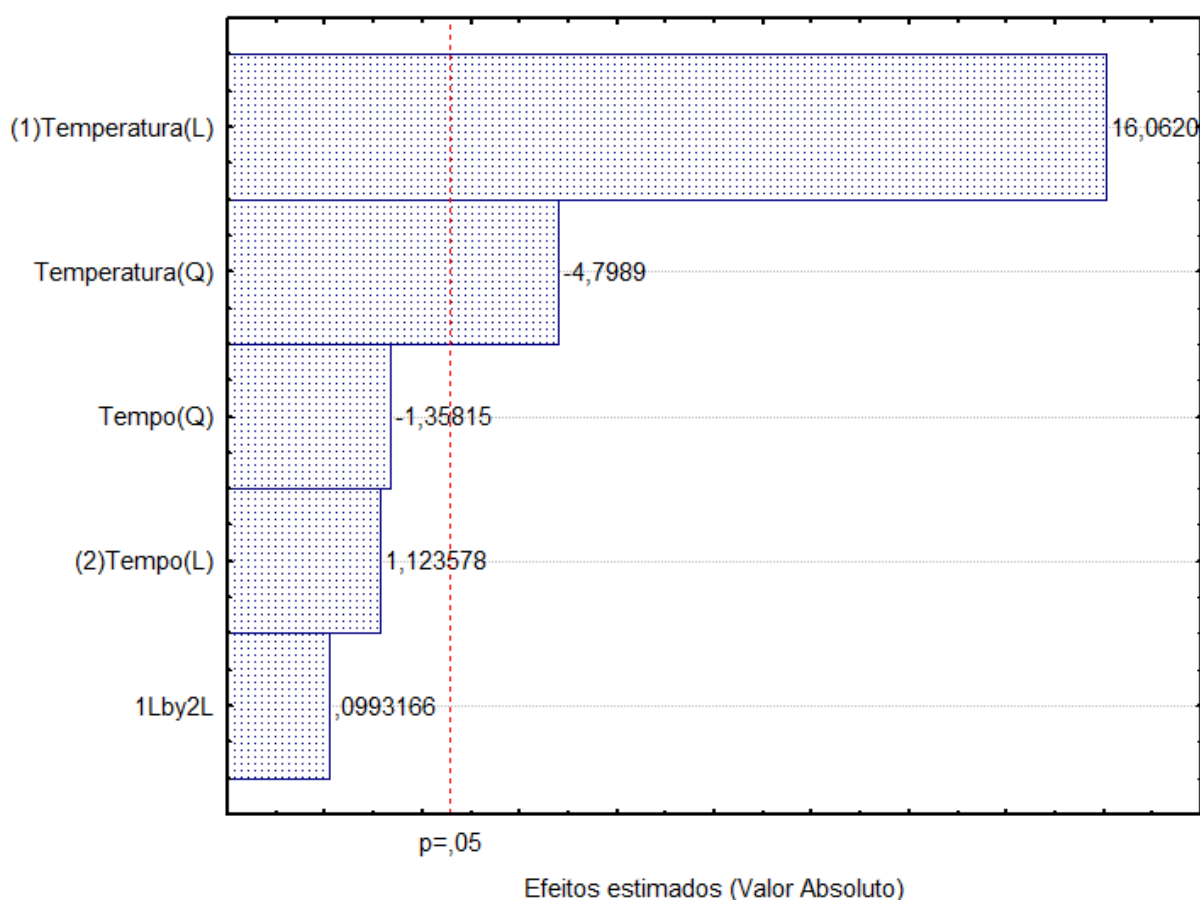


Figura 10: Gráfico de Pareto com os efeitos estimados, $p=0,05$.

Nota-se que a temperatura, tanto no modelo linear quanto no modelo quadrático, se mostrou altamente significativa com níveis confiança acima de 95%. O tempo, em ambos os modelos, quadrático e linear, se mostraram insignificante e a interação tempo e temperatura no processo de otimização da síntese de CDs mostrou-se insignificante dentro da faixa de confiança.

O efeito de cada fator sobre a síntese de CDs foi investigado em uma superfície de resposta 3-D e gráficos de contorno (2-D) foram criados, conforme demonstrado na Figura 11.

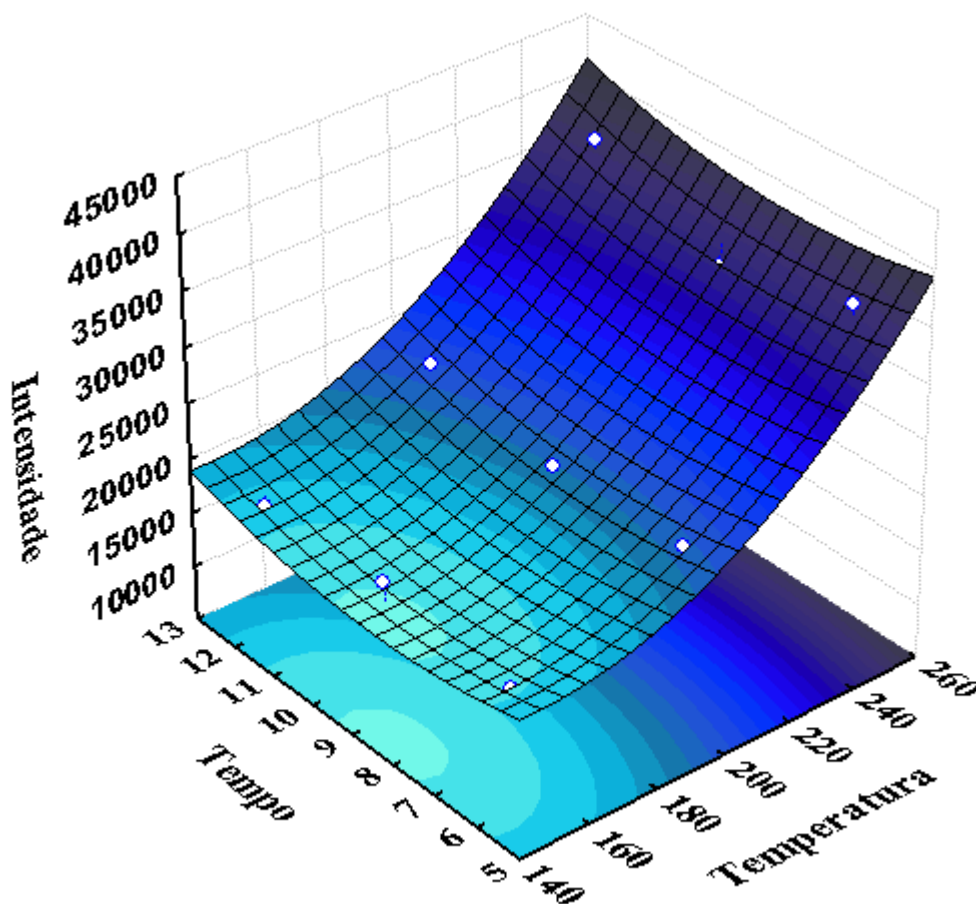


Figura 11: Efeito da interação entre a temperatura e o tempo na intensidade luminescente dos CDs, como superfície de resposta 3D e gráfico de contorno 2D.

O efeito da temperatura e do tempo são demonstrados na Figura 10, observa-se o aumento da intensidade luminescente dos CDs quando a temperatura é mais elevada e, paralelamente, um leve aumento quando há um acréscimo do tempo. Porém, este último é insignificante, como demonstrado pela ANOVA. Com isso, conclui-se que em temperaturas elevadas, há um crescente aumento da intensidade luminescente dos CDs, independentemente do tempo.

5.2. Caracterização dos CDs

5.2.1. Microscopia eletrônica de transmissão

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM) é uma técnica que possibilita a aquisição de imagens com resolução muito superior às obtidas com microscópios ópticos. As imagens obtidas pela TEM revelam a forma da amostra, a sua distribuição e também a sua dimensão, ou seja, é possível identificar o tamanho das partículas formadas.

A Figura 12 mostra uma imagem das nanopartículas obtida por TEM e produzidas com uma ampliação de 250.000 vezes.

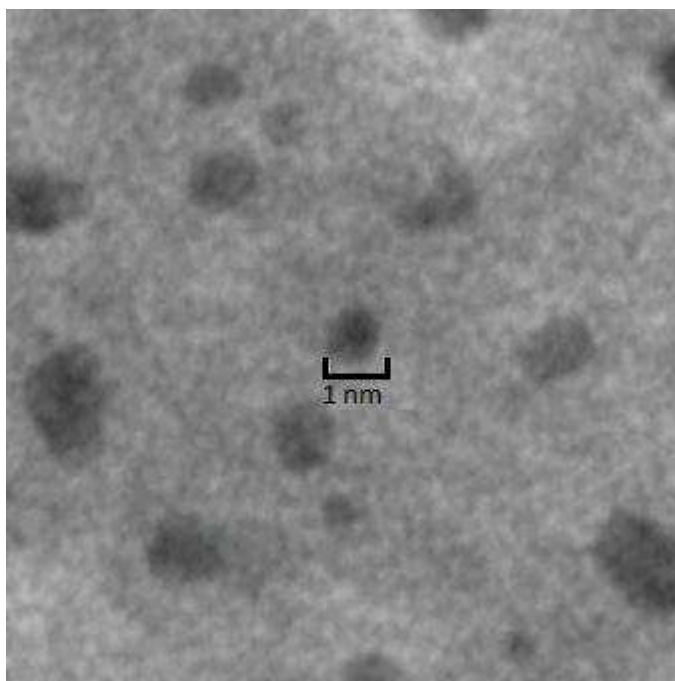


Figura 12: Imagem obtida a partir da microscopia eletrônica de transmissão para os CDs sintetizados.

Pela imagem obtida, nota-se o pequeno diâmetro das partículas formadas. Ademais, é possível perceber que os CDs gerados apresentam formato esférico e boa dispersão.

5.2.2. Espalhamento dinâmico de luz

O espalhamento dinâmico de luz é uma técnica de medição do tamanho e da distribuição de moléculas e partículas, caracteriza-se por não ser destrutiva e bem estabelecida. Esta técnica foi utilizada para caracterizar o tamanho dos CDs gerados.

O tamanho das partículas é mostrado no histograma na Figura 13. Constatou-se que o tamanho médio das partículas geradas é de aproximadamente 1 nm.

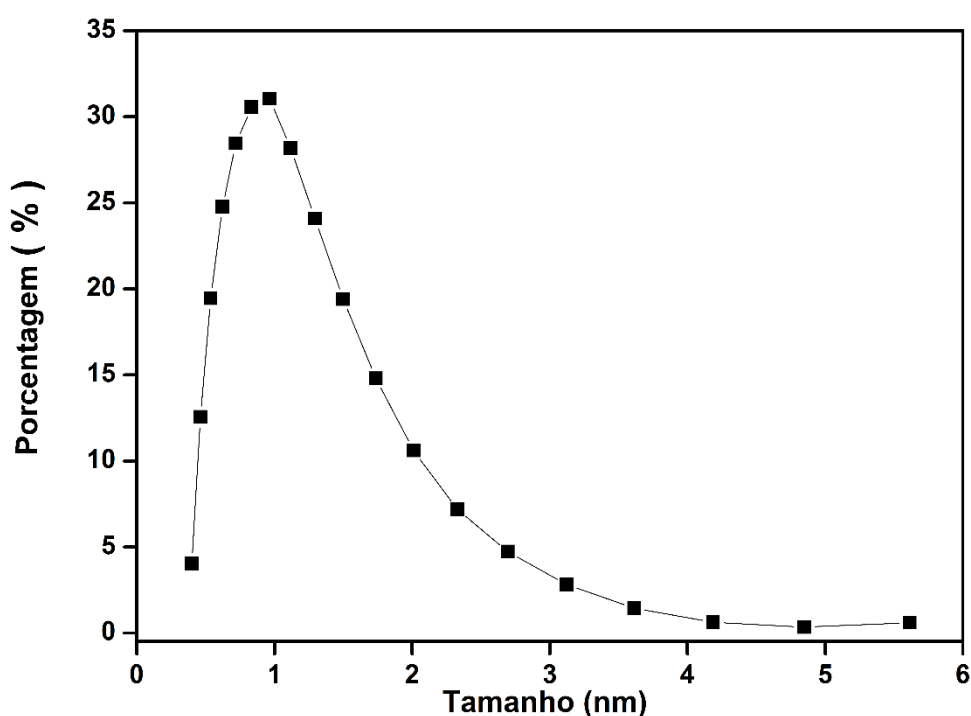


Figura 13: Histograma de distribuição de tamanho dos CDs obtidas através da técnica de espalhamento dinâmico de luz.

Os resultados obtidos pela técnica de espalhamento são concordantes com os resultados obtidos pela microscopia eletrônica de varredura (diâmetro médio de 1 nm).

5.2.3. Luminescência

Uma das técnicas mais empregadas para a caracterização de CDs é a luminescência devido aos rendimentos quânticos elevados das nanopartículas. Como pode ser observado pela Figura 14, com o aumento do comprimento de onda de

excitação, houve um acréscimo na intensidade luminescente dos CDs de 330 a 350. A partir de 360, houve um decréscimo na intensidade luminescente, fato que pode estar relacionado ao confinamento quântico, distribuição de tamanho ou a presença de armadilhas emissoras na superfície dos CDs (FAN et al., 2017).

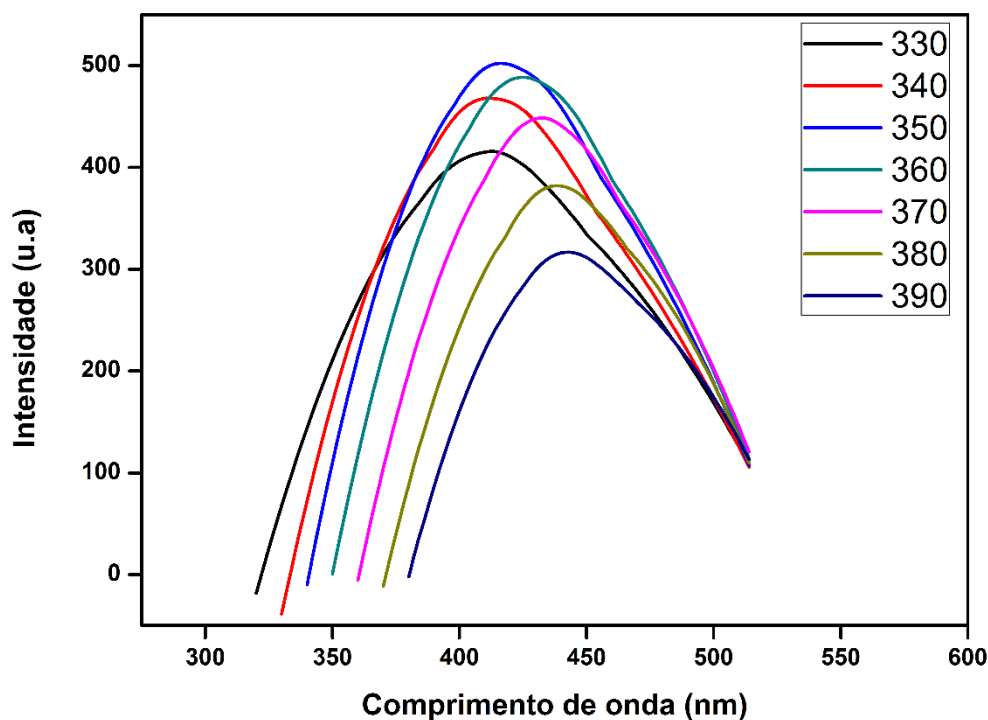


Figura 14: Espectros de emissão de luminescência de CDs em diferentes comprimentos de onda de excitação de 330 a 390 nm em incrementos de 10 nm.

Os espectros de emissão de fluorescência normalizados de CDs excitados sob vários comprimentos de onda são mostrados na Figura 15. Quando o comprimento de onda de excitação varia de 330 a 390 nm, a emissão máxima do comprimento de onda varia de 410 para 460 nm. Os CDs exibem fotoluminescência dependente do comprimento de onda de excitação.

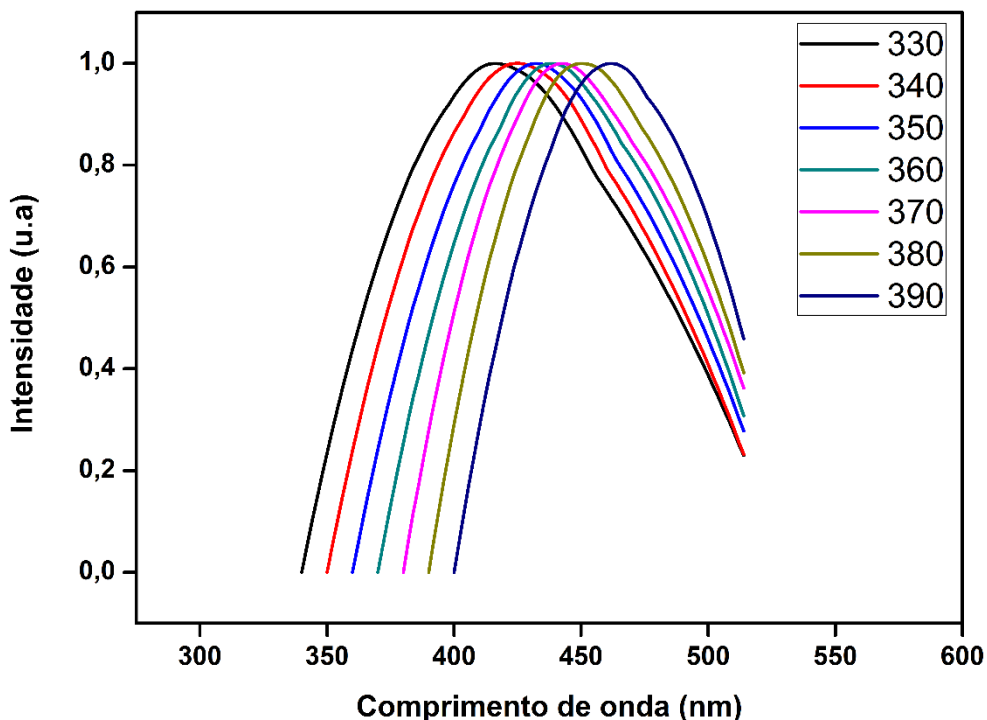


Figura 15: Espectros de emissão de luminescência de CDs em diferentes comprimentos de onda de excitação de 330 a 390 nm em incrementos de 10 nm.

Com base nos resultados obtidos, o comprimento de onda de excitação de 350 nm foi selecionado para os estudos subsequentes por apresentar um pico de emissão de maior intensidade. Ademais, nota-se que CDs apresentam espectros de emissão com bandas largas, além de apresentarem um pico de emissão na região do azul (YANG et al., 2013).

5.2.4. Espectrofotometria UV/VIS

De acordo com a literatura, CDs apresentam absorção óptica na região UV estendendo-se para fora da faixa visível. Quase todos os CDs sintetizados à partir das mais diversas técnicas apresentam banda de absorção na faixa 260-320 nm (CAO et al., 2007; YANG et al., 2009, 2013; ZHU et al., 2009). Duas bandas de absorções foram observadas e identificadas no espectro UV/VIS.

Como pode ser observado na Figura 16, o espectro de absorção mostra que os CDs absorvem fortemente o UV, sofrendo um decréscimo à medida que o

comprimento de onda aumenta. O espectro demonstra uma primeira banda de absorção em torno de 300 nm e, a segunda banda em torno de 350 nm, ambas associadas às transições eletrônicas. É necessário levar em conta que devido à heterogeneidade da estrutura química desses materiais, é muito difícil atribuir as transições eletrônicas associadas ao ombro e bandas com exatidão. No entanto, sabe-se que as transições eletrônicas podem ser da natureza $n-\pi^*$, ligação C=O ou $\pi-\pi^*$ ligações aromáticas C=C.

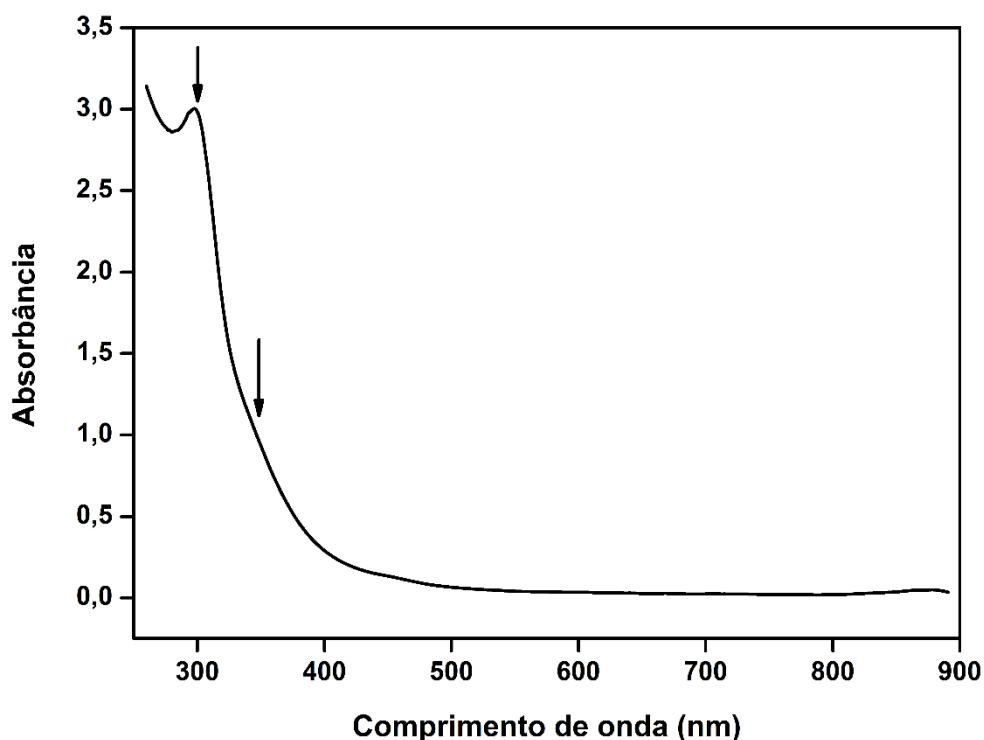


Figura 16: Espectro UV/VIS para os CDs sintetizados.

5.3. Rendimento quântico

De acordo com o que foi descrito no item 4.4., o rendimento quântico para os CDs gerados foi estimado em 5,4 % por calibração com sulfato de quinino.

Os resultados para comparação com valores típicos da literatura estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5: Rendimento quântico dos CDs a 350nm.

Amostra	Intensidade de emissão integrada	UV Absorbância	Índice de refração	Rendimento quântico (%)
CDs	8828417	0,0112	1.33 (padrão)	5,4

A partir da tabela 5, observa-se que há similaridade satisfatória entre o rendimento quântico dos CDs e os resultados descritos na literatura.

Tabela 6: Parâmetros para CDs descritos na literatura:

T (°C)	Tempo (h)	Tamanho (nm)	Precursor Principal	RQ (%)	Referência
180	12	6,8	Albumina de soro bovino	7	(WANG et al., 2013)
160	4	70-100	Carboidratos	0,55-17	(HE et al., 2011)
200	2	3-5	Quinol	3,4	(ZHOU et al., 2013)
160	7	3,2	Pena	11,6	(HOU et al., 2016)
200	3	35	Rizoma da planta <i>Giant Knotweed</i>	11,5	(WU et al., 2013)
180	3	12-40	Leite de soja	2,6	(ZHU; ZHAI; DONG, 2012)
250	6	1	Caldo de cana	5,4	Metodologia proposta

RQ = Rendimento quântico

5.4. Estudo do pH

O efeito do pH na intensidade de fotoluminescência foi avaliado na faixa de pH 3 a 9.

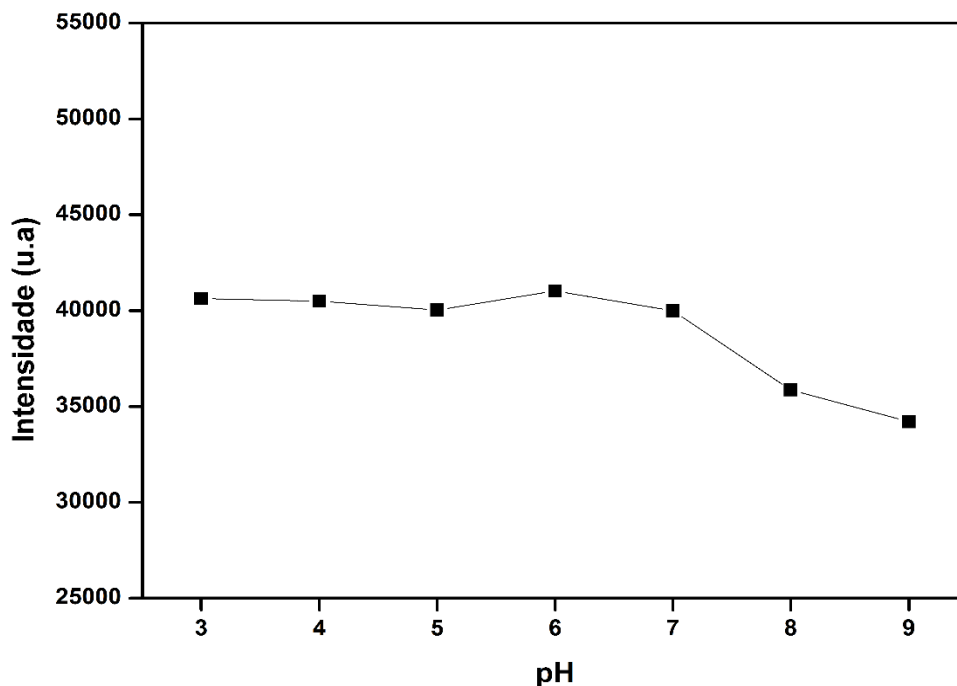


Figura 17: Intensidades de fluorescência dos CDs com emissão em 430 nm (excitação a 350 nm) com diferentes valores de pH.

Na Figura 17, observa-se que a fotoluminescência é praticamente a mesma na região de pH 3 a 6, ocorrendo uma diminuição da intensidade a partir de pH 6. Assim, para estudos posteriores, utilizou-se pH 5 para evitar uma possível precipitação de Cu^{2+} . Todavia, em termos de intensidade de sinal, poderia ser utilizado qualquer pH abaixo de 5, demonstrando que os CDs obtidos a partir de suco de cana podem ter potencial de aplicação em ambiente com pHs diferentes.

5.5. Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs

A Figura 18 mostra a resposta de fluorescência dos CDs quando irradiados continuamente durante 1h com um comprimento de onda de excitação de 350 nm.

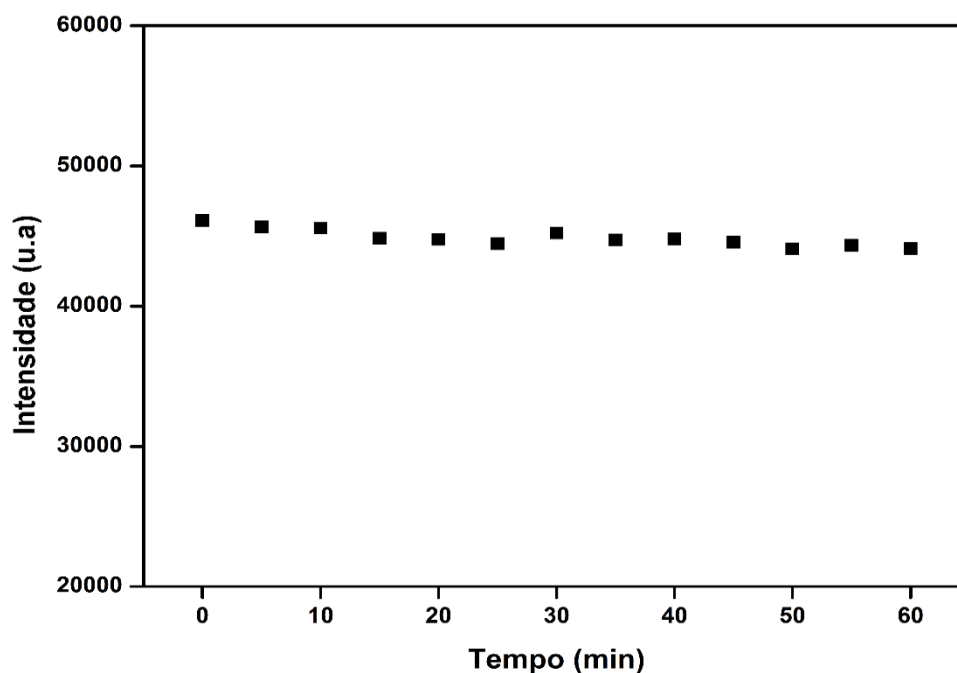


Figura 18: Intensidades de fluorescência dos CDs com emissão em 430 nm (excitação a 350 nm) em função do tempo.

Os CDs produzidos foram capazes de manter a luminescência por mais de uma hora, evidenciando que são altamente foto-estáveis e extremamente resistentes a fotodegradação, portanto, superiores aos fluoróforos orgânicos.

Estudos realizados 6 meses após a produção dos CDs (armazenados sob refrigeração) mostraram que a magnitude da intensidade luminescente se manteve praticamente a mesma, constatando a grande estabilidade das nanopartículas.

5.6. Força iônica

Os CDs obtidos foram avaliados quanto a sua intensidade luminescente quando submetidos a um aumento da força iônica do meio, uma vez que nos efluentes

aquáticos a força iônica pode variar. Este estudo foi conduzido com o pH fixo em 5 e com adição crescente de concentração de NaCl, variando-a de 0 a 1 mol L⁻¹ e monitorando a resposta luminescente.

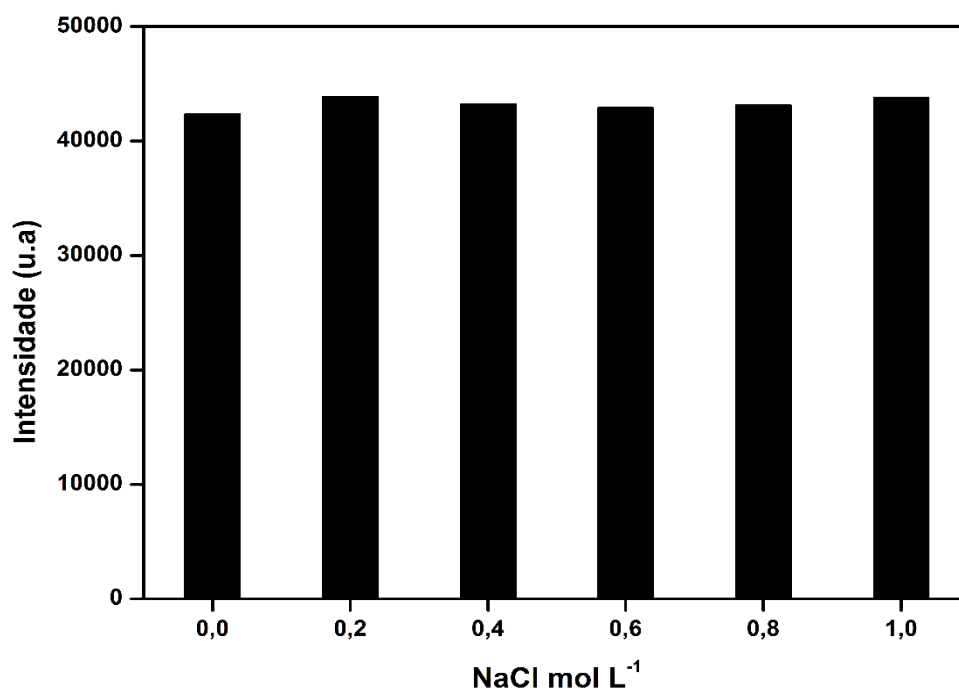


Figura 19: Histograma da intensidade de fluorescência dos CDs em solução aquosa de NaCl em função da força iônica.

Pelo gráfico da Figura 19, pode-se observar que a intensidade de fluorescência dos CDs não foi alterada mesmo com o aumento da força iônica indicando alta estabilidade dos CDs produzidos.

5.7. Potencial Zeta

O potencial zeta determina principalmente a carga superficial de estruturas químicas. Na Figura 20, está disposto os potenciais zeta dos CDs e CDs/CPZ com a variação do pH. Com isso, nota-se um decréscimo no sinal e, o aumento do Ph, indica cargas negativas na superfície dos CDs e CDs/CPZ.

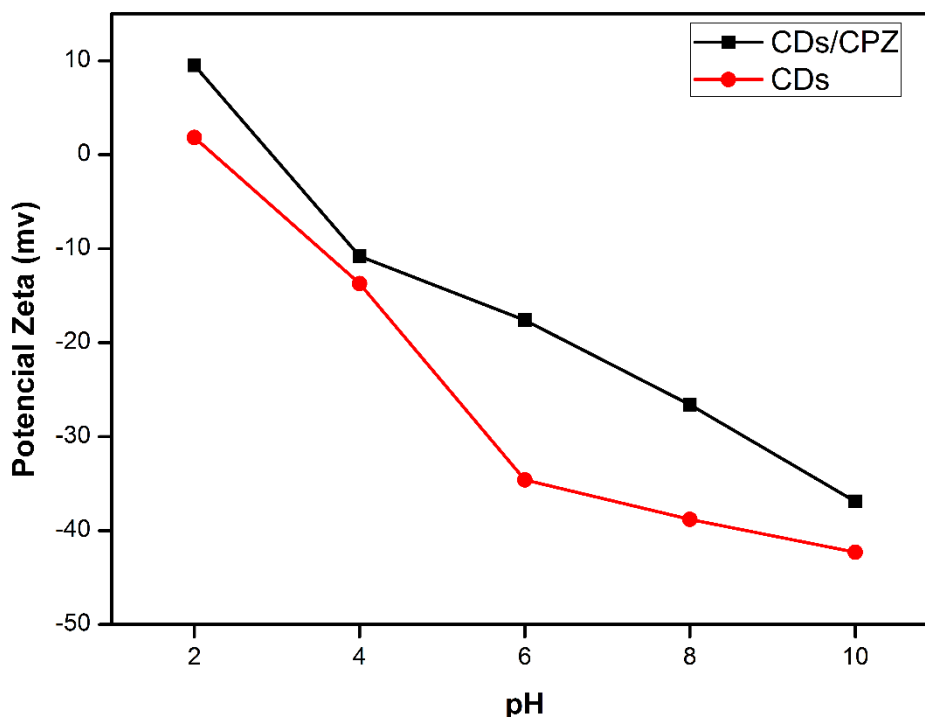


Figura 20: Potencial Zeta para CDs e CDs/CPZ em função do pH.

Verificou-se que o potencial zeta medido em pH 5 foi de -24,3 e -14,2 mV indicando a presença de carga negativa na superfície dos CDs e CDs/CPZ, respectivamente.

Nota-se, portanto, ligeiro aumento no valor obtido do potencial zeta para CDs/CPZ em comparação com os CDs, indicando a interação da CPZ com os CDs.

Os potenciais negativos estão de acordo com os grupos funcionais contendo oxigênio, tais como álcoois e ácidos carboxílicos que são eletronegativos. Além disso, a presença desses grupos tanto na superfície dos CDs quanto nos CDs/CPZ, gera o potencial negativo.

5.8. Seletividade

Inicialmente, estudou-se a viabilidade da utilização dos CDs na determinação somente do íon Cu^{2+} . Esta proposta baseou-se na análise do decaimento (atenuação) da fluorescência dos CDs em função da presença de Cu^{2+} . Outro aspecto considerado foi a seletividade do método, ou seja, a possibilidade de as nanoestruturas geradas

proporcionarem seletividade para o Cu^{2+} . A Figura 21 apresenta o estudo de decaimento do sinal de emissão para soluções de vários metais na concentração de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para CDs sem funcionalização.

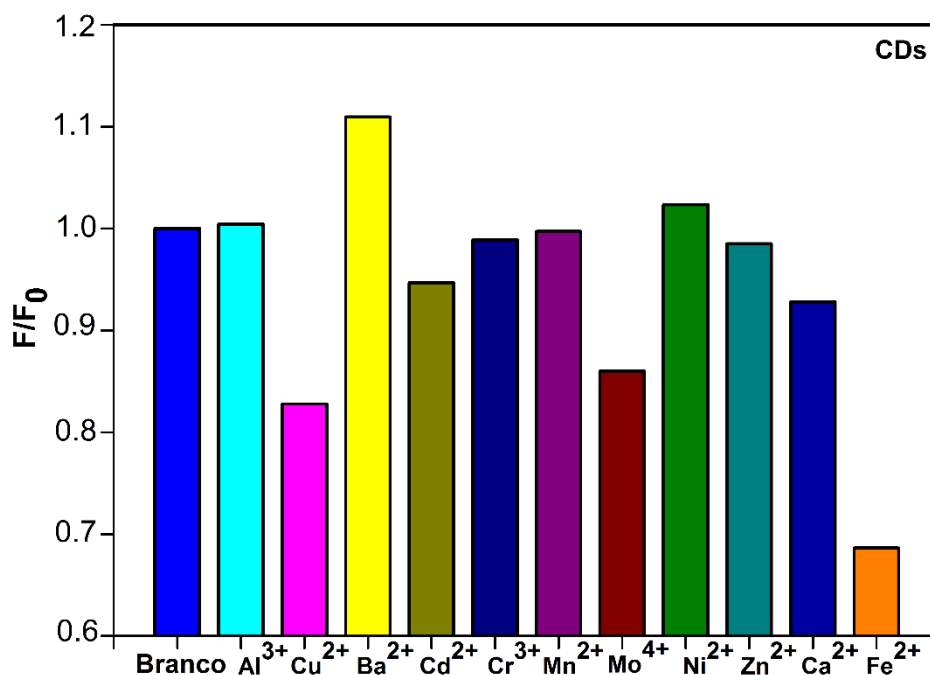


Figura 21: Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs com diferentes íons metálicos $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($\lambda \text{ ex } 350 \text{ nm}$).

Na Figura 21 observa-se que houve uma atenuação significativa da fluorescência para os íons Cu^{2+} , Ba^{2+} , Mo^{4+} e Fe^{2+} quando analisados sob as mesmas condições. No entanto, os resultados obtidos mostram que a seletividade para o íon Cu^{2+} não foi alcançada. Uma possibilidade seria o emprego de tampões que possivelmente melhorariam a seletividade devido ao fato dos CDs possuírem afinidade mais elevada com determinados tampões. (YU et al., 2015). No entanto, estudou-se uma alternativa inovadora com o objetivo de potencializar a seletividade funcionalizando a superfície da nanoestrutura.

Diante disso, foi levado em consideração o uso da cuprizona (CPZ), um dos reagentes mais amplamente utilizados para a determinação seletiva de Cu^{2+} . Assim, foram conduzidos experimentos para verificar a possibilidade da funcionalização dos

CDs com este reagente a fim de reduzir a interferência dos íons Ba^{2+} , Mo^{4+} e Fe^{2+} em relação ao Cu^{2+} .

Após a funcionalização, como descrito no item 4.4, foi necessária a utilização da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier - *Fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR), técnica empregada para definir a presença de grupos funcionais na superfície de moléculas.

Na Figura 22 são mostrados os espectros de FTIR com a banda de absorção da CPZ (A), CDs / CPZ (B) e CDs (C). Os grupos funcionais da superfície dos CDs apresentam bandas de absorção características em 3393 cm^{-1} para vibrações de estiramento OH, $2979\text{-}2871\text{ cm}^{-1}$ para vibrações de estiramento CH, 1692 cm^{-1} para estiramento C = O e 1607 cm^{-1} para vibrações de estiramento C = C. As principais bandas de absorção de CPZ são 2935 cm^{-1} , 2853 cm^{-1} e 1442 cm^{-1} devido ao CH_2 , 1671 cm^{-1} indicando os grupos NC = O e C = N, 1636 cm^{-1} para C = O a partir do grupo amina, e 3225 cm^{-1} e 725 cm^{-1} devido ao NH para a amina secundária. Após a funcionalização (CDs / CPZ), os espectros FTIR mostraram as bandas de absorção a 3225 cm^{-1} e 725 cm^{-1} referentes a NH a partir de amina secundária.

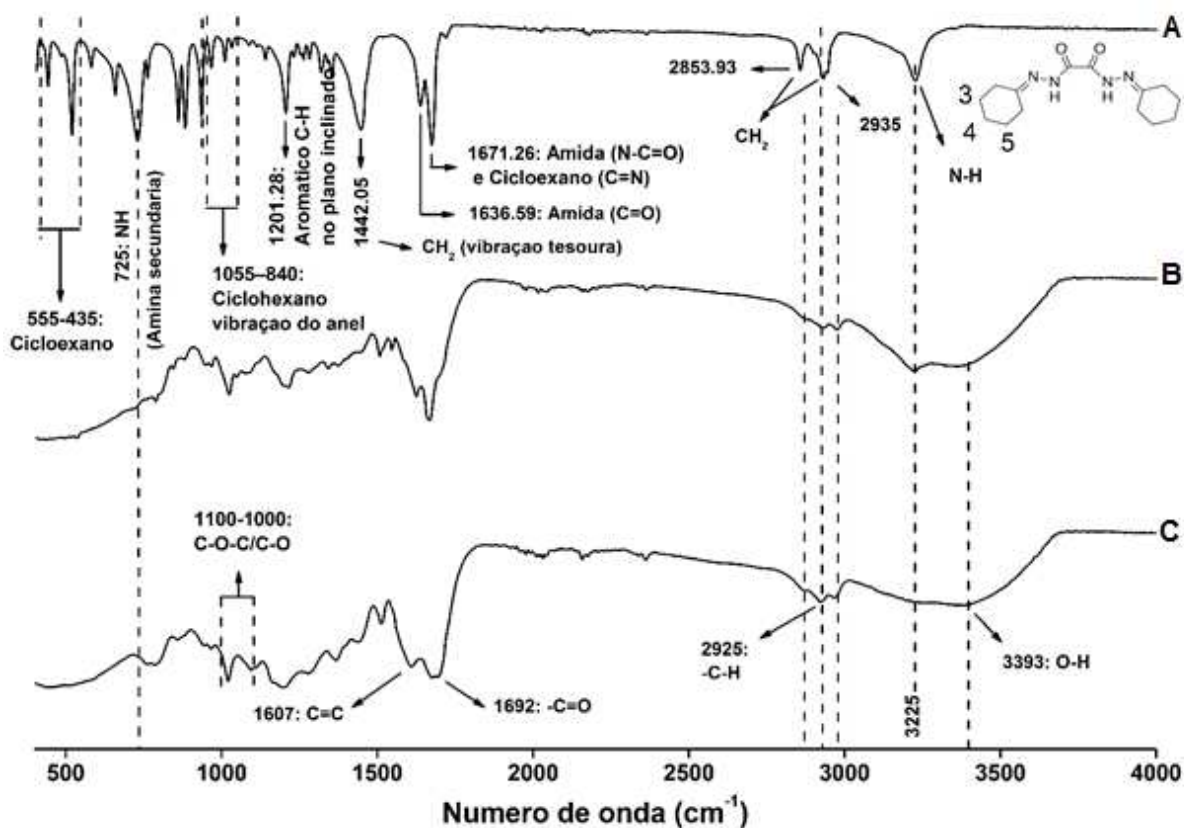


Figura 22: Espectros de infravermelho com transformada de Fourier da CPZ (A), CDs/CPZ (B) e CDs (C).

Como pode ser visto na Figura 22, uma banda de absorção de NH é emergida a 3225 nm como mostrado na (Figura 22A). As aminas secundárias ligadas ao hidrogênio têm um modo de deformação NH cerca de 720 cm^{-1} . Ambos os sinais permanecem quando há a mistura de CPZ e CDs (Figura 22B). A oxaldi-hidrazona é a parte central negativamente carregada da CPZ e a ligação NH é a parte positiva. Portanto, se esta ligação permanecer após a funcionalização, toda a parte carregada negativamente de CPZ está intacta. CPZ contém ciclohexanona que está carregada negativamente no N e positivamente no lado oposto, isto é, a CPZ é positiva nas posições CH₂ dos carbonos 3, 4 e 5, uma vez que o carbono 1 é a ligação dupla ao N. O espectro de FTIR de CPZ (Figura 22A) registra as bandas de absorção 2935, 2853, 1442, 1055 a 840 e 555 a 435 cm^{-1} para CH₂. Essas bandas de absorção desaparecem quando os CDs são funcionalizados com CPZ (Figura 22B). Portanto, ocorre a ligação da parte positiva do ciclo-hexano com a parte negativa (C = O e C = C) dos CDs.

Isto pode ser observado com a diminuição da intensidade da banda de absorção em 1692 (C = O) e 1607 (C = C) nm e o aumento da banda de absorção em 3393 (OH) devido à formação de nova ligação entre o oxigênio dos CDs e o hidrogênio da CPZ (parte eletropositiva) (Figura 22B). A parte carregada positivamente da CPZ desaparece, tornando-a mais eficiente na ligação com Cu^{2+} . Uma vez que o Cu^{2+} é adicionado, ocorrem ligações de duas maneiras: com a parte negativa da CPZ, dado que toda a CPZ é negativa e diretamente sob a superfície dos CDs.

Através da análise da técnica de *espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier*, pode-se constatar que a funcionalização dos CDs foi efetiva, visto que apresenta picos de absorção, como por exemplo os grupos funcionais NH, ausentes no CDs sem funcionalização.

Na Figura 23 é demonstrado o mecanismo da atenuação na intensidade luminescente dos CDs/CPZ pelo Cu^{2+} , assim como a provável funcionalização da superfície dos CDs por CPZ, onde a ligação da parte positiva do ciclohexano da CPZ com a parte negativa (C = O e C = C) da superfície dos CDs é efetivada.

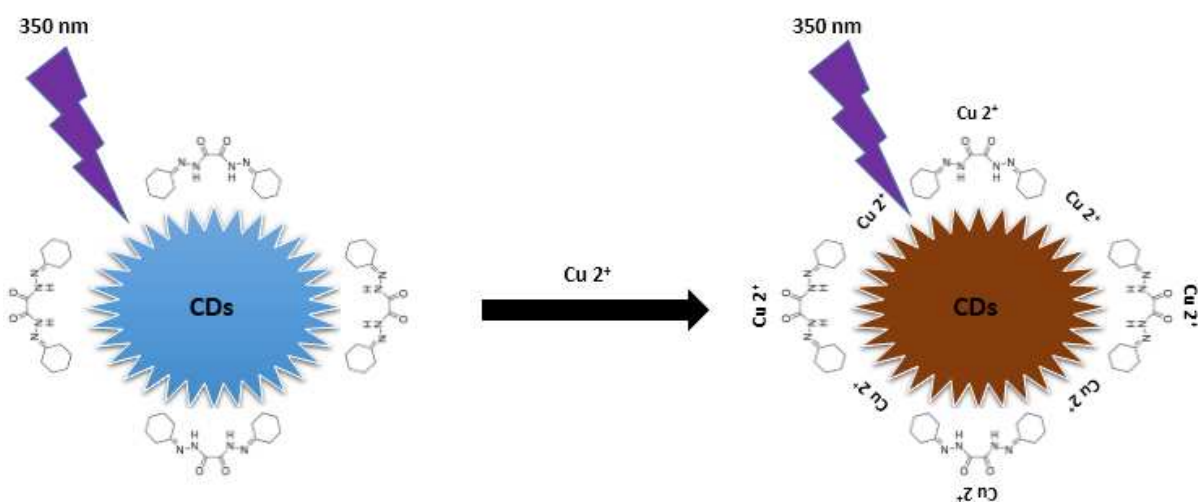


Figura 23: Proposta da provável funcionalização da superfície dos CDs e possível mecanismo de atenuação luminescente dos CDs/CPZ por Cu^{2+} .

Esse efeito específico de extinção de fluorescência pode originar-se das interações fortes entre íons Cu^{2+} e os grupos superficiais dos CDs/CPZ que transferiram os fotoelétrons dos CDs/CPZ para íons Cu^{2+} . Devido a essa interação de coordenação, o elétron no estado excitado dos CDs/CPZ se transfere para a órbita

não preenchida do Cu^{2+} e leva à recombinação não radiativa, o que resulta na extinção da fluorescência.

Após a constatação da funcionalização através do FTIR, novos estudos foram conduzidos para verificar se houve melhora na seletividade para o íon Cu^{2+} .

Como pode ser observado na Figura 24, a funcionalização resultou na redução significativa na interferência dos íons Ba^{2+} , Mo^{4+} e Fe^{2+} diante do Cu^{2+} em comparação com CDs não funcionalizados. Em termos de seletividade, a funcionalização dos CDs diminuiu a interferência de todos os metais testados. Por outro lado, Al^{3+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} e Ca^{2+} tiveram a interferência praticamente eliminada. Portanto, a funcionalização dos CDs com CPZ foi de extrema importância para a seletividade, tornando-a quase específica para o Cu^{2+} . Dessa forma, com base nos resultados obtidos, foi desenvolvida uma metodologia aplicada na determinação de Cu^{2+} em águas.

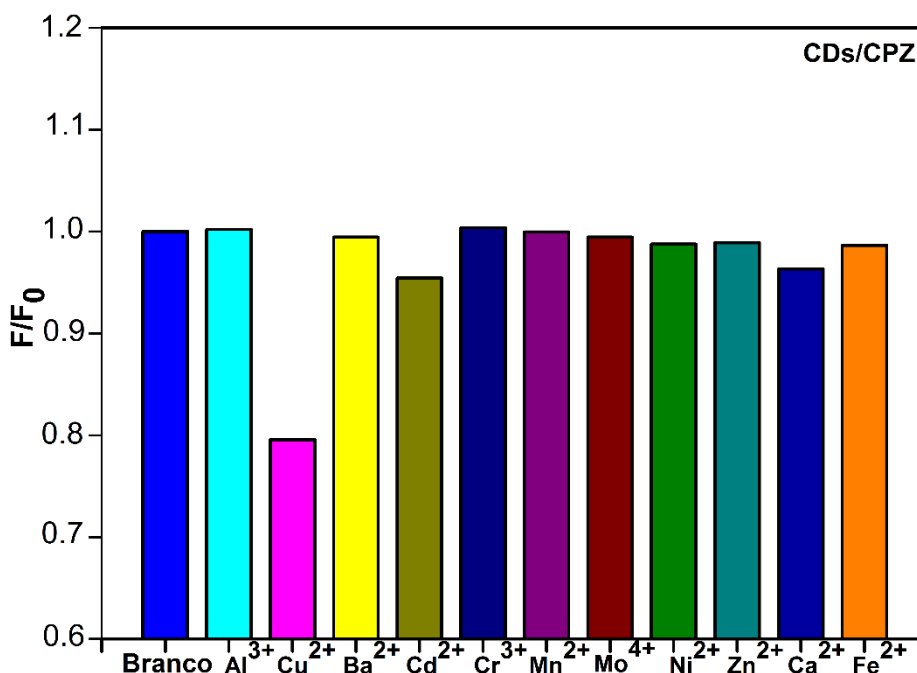


Figura 24: Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs/CPZ com diferentes íons metálicos $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($\lambda \text{ ex } 350 \text{ nm}$).

5.9. Determinação de Cu^{2+} empregando CDs/CPZ

A Figura 25A mostra uma diminuição gradual da intensidade luminescente dos CDs/CPZ com o crescente aumento da concentração na faixa de 5,12 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu^{2+} revelando que este sistema é sensível a esse metal.

Após a otimização das melhores condições de trabalho, uma curva de calibração (Figura 25B) foi obtida para a determinação fluorescente de Cu^{2+} . A curva de calibração apresentou-se linear na faixa de concentração de Cu^{2+} entre 5,12 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($I = 11,93 [\text{Cu}^{2+}] + 283$; onde I é a intensidade luminescente e $[\text{Cu}^{2+}]$ é a concentração de Cu^{2+} dada em $\mu\text{mol L}^{-1}$). O coeficiente de determinação da regressão linear obtido foi alto (>0.996), indicando que o modelo consegue explicar os valores observados. O limite de detecção do método proposto foi $7,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ($LD = 3 \times \frac{dp_{\text{branco}}}{ic}$) e o de quantificação foi de $2,53 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($LQ = 10 \times \frac{dp_{\text{branco}}}{ic}$).

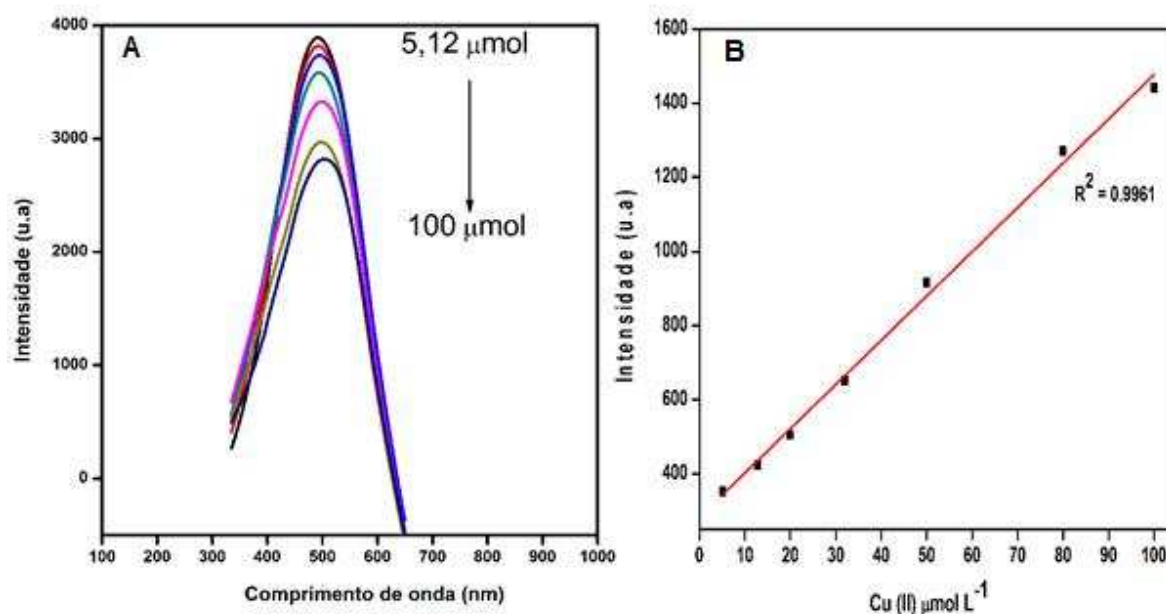


Figura 25: (A) Espectros de emissão de luminescência dos CDs/CPZ após a adição de Cu^{2+} em diferentes concentrações na faixa de 5,12 à 100 μmol . (B) Curva analítica obtida para determinação fluorescente de Cu^{2+} empregando CDs/CPZ.

Estudou-se a precisão do procedimento analítico desenvolvido para concentrações de solução de Cu^{2+} $7,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $60 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ obtendo-se desvios padrões relativos de 0,4% e 1,0%, respectivamente.

5.10. Veracidade

Estudos de recuperação foram realizados em três níveis da curva analítica: $20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $80 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ nas amostras coletadas na lagoa e de torneira do laboratório situado na Universidade Federal de Viçosa, conforme descrito no item 4.12. Os resultados obtidos para a recuperação de Cu^{2+} são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7: Porcentagens de recuperação de Cu^{2+} obtidas para os três níveis de concentração estudados (n=3).

Amostras	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
	20,00	$20,43 \pm 0,34$	102,14
Água de Lagoa	50,00	$49,93 \pm 0,25$	99,87
	80,00	$78,76 \pm 0,29$	98,45
	20,00	$20,27 \pm 0,30$	101,33
Água de torneira	50,00	$49,83 \pm 0,26$	99,67
	80,00	$79,91 \pm 0,32$	99,89

Os resultados são expressos: média \pm desvio padrão

Os resultados de recuperação foram obtidos e comparados com o da literatura, o qual recomenda um intervalo de recuperação entre 80 a 110% para níveis de concentração de 100 ppb a 10 ppm. Portanto, todos os valores obtidos para a recuperação de Cu^{2+} foram satisfatórios. (BRITO et al., 2003)

6. CONCLUSÕES

A síntese de CDs a partir do suco de cana-de-açúcar via tratamento hidrotérmico permitiu a geração de partículas com diâmetro médio de 1 nm e de morfologia esférica, como constatado pela técnica TEM.

Os resultados obtidos pela ANOVA, com níveis de confiança acima de 95%, evidenciaram que a temperatura mostrou ser o fator de maior importância para obtenção de CDs altamente luminescentes. A força iônica não demonstrou influência na intensidade fluorescente dos CDs confirmando a possibilidade de se trabalhar com diversas matrizes de diferentes forças iônicas.

A faixa de pH de trabalho se mostrou ampla, uma vez que pouca variação do pico de intensidade fluorescente foi constatada, tornando possível trabalhar com diversas amostras em diferentes faixas de pH.

A excitação eletrônica no comprimento de onda de 350 nm promoveu picos máximos de emissões fluorescentes em 430 nm, apresentando rendimento quântico de 5,4 %. Adicionalmente os CDs demonstraram alta estabilidade e forte resistência a fotodegradação.

As medições de potencial zeta feitas para os CDs estabelecem uma carga à superfície negativa (-24,3mV), possivelmente atribuída pela presença de grupos funcionais contendo oxigênio, tais como álcoois e ácidos carboxílicos (eletronegativos).

A interação da CPZ aos CDs, gerou ligeiro aumento no valor obtido do potencial zeta para CDs/CPZ (-14,2 mV) em comparação com os CDs isolados, indicando que a CPZ se mostrou eficiente na funcionalização de superfície dos mesmos. A interação possibilitou um caráter quase específico dos CDs/CPZ para detecção do íon Cu^{2+} , quando submetidos as condições estabelecidas, o limite de detecção foi de $7,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ com uma região dinâmica linear de 5,12 a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu^{2+} .

O método pode ser considerado de baixo custo, seletivo e preciso na determinação de Cu^{2+} . Apresenta-se como uma alternativa viável para a determinação Cu^{2+} em sistemas aquáticos devido à sua baixa toxicidade e alta sensibilidade.

A estratégia proposta é simples, robusta e apresenta grande potencial em aplicação como um sensor ambiental.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEGOKE, O. et al. Fluorescence properties of alloyed ZnSeS quantum dots overcoated with ZnTe and ZnTe/ZnS shells. **Optical Materials**, v. 54, p. 104–110, 2016.

ADEGOKE, O.; NYOKONG, T.; FORBES, P. B. C. Optical properties of water-soluble l-cysteine-capped alloyed CdSeS quantum dot passivated with ZnSeTe and ZnSeTe/ZnS shells. **Optical Materials**, v. 46, n. MAY, p. 548–554, 2015.

ALVES, L. A. et al. Characterization of acid functional groups of carbon dots by nonlinear regression data fitting of potentiometric titration curves. **Applied Surface Science**, v. 370, p. 486–495, 2016.

BAKER, S. N.; BAKER, G. A. Luminescent Carbon Nanodots: Emergent Nanolights. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, n. 38, p. 6726–6744, set. 2010.

BARROS, B. S. et al. Caracterização morfológica e luminescente de nanopartículas de aluminato de zinco dopadas com Eu³⁺. **Cerâmica**, v. 51, p. 63–69, 2005.

BERNARDES, L. M. C. Células Solares Sensibilizadas por Pontos Quânticos. p. 27, 2015.

BETTS, K. Court bans widely used flame retardant. **Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 11, p. 3910, 2008.

BORELLI, E. Sustentabilidade e Riscos Ambientais na Indústria química. p. 1–14, 1992.

BOURLINOS, A. B. et al. Surface functionalized carbogenic quantum dots. **Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)**, v. 4, n. 4, p. 455–8, abr. 2008.

BRITO, N. M. et al. Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.

BRUCHEZ JR., M. et al. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. **Science**, v. 281, n. 5385, p. 2013–2016, set. 1998.

CAO, L. et al. Carbon Dots for Multiphoton Bioimaging. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 37, p. 11318–11319, set. 2007.

CHEN, J. et al. Cyclam-functionalized carbon dots sensor for sensitive and selective detection of copper(II) ion and sulfide anion in aqueous media and its imaging in live cells. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 224, p. 298–306, 2016.

CHOUHAN, P. Nanotechnology: changes and challenges for world. **International Journal of Innovative Research in Engineering and Science**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 2012.

CHOWDHURY, S. et al. Heavy metals in drinking water: Occurrences, implications, and future needs in developing countries. **Science of the Total Environment**, v. 569–570, p. 476–488, 2016.

COMISSÃO TÉCNICA DE QUÍMICA (CT-05). Orientação sobre validação de métodos analíticos. **Inmetro**, p. 20, 2011.

CONAMA. Resolução n 357, 18 de março de 2005. **Diário Oficial**, n. 53, p. 58–63, 2011.

CUI, X. et al. Dual functional N- and S-co-doped carbon dots as the sensor for temperature and Fe³⁺ ions. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 242, p. 1272–1280, 2017.

CZARNIK, A. W. Supramolecular Chemistry , Fluorescence , and Sensing. n. 1990, p. 1–9, 1993.

DING, H. et al. Luminescent carbon quantum dots and their application in cell imaging. **New Journal of Chemistry**, v. 37, n. 8, p. 2515, 2013.

DU, F. et al. Carbon dots-based fluorescent probes for sensitive and selective detection of iodide. **Microchimica Acta**, v. 180, n. 5–6, p. 453–460, abr. 2013.

FAN, Y. Z. et al. A facile synthesis of water-soluble carbon dots as a label-free fluorescent probe for rapid, selective and sensitive detection of picric acid. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 240, p. 949–955, 2017.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. DO C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1860–1870, 2009.

FEYNMAN, R. P. There's Plenty of Room at the Bottom. **Engineering and Science**, v. 23, n. December, p. 22–36, 1960.

GEDDA, G. et al. Sensors and Actuators B : Chemical Green synthesis of carbon dots from prawn shells for highly selective and sensitive detection of copper ions. v. 224, p. 396–403, 2016.

GEETHANJALI, H. S. et al. Fluorescence quenching of boronic acid derivatives by aniline in alcohols – A Negative deviation from Stern–Volmer equation. **Journal of Luminescence**, v. 167, p. 216–221, 2015.

GONÇALVES, H. et al. Hg(II) sensing based on functionalized carbon dots obtained by direct laser ablation. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 145, n. 2, p. 702–707, 2010.

GU, J. et al. Biosensors and Bioelectronics Carbon dot cluster as an efficient “ off – on ” fluorescent probe to detect Au (III) and glutathione. **Biosensors and Bioelectronic**, v. 68, p. 27–33, 2015.

GUO, Y. et al. Synthesis and characterization of the nickel@carbon dots hybrid material and its application in the reduction of Cr(vi). **New J. Chem.**, v. 38, n. 12, p. 5861–5867, set. 2014.

GUPTA, A. et al. Nitrogen-doped, thiol-functionalized carbon dots for ultrasensitive Hg(II) detection. **Chemical Communications**, v. 51, n. 51, p. 10750–10753, 2015.

HARDMAN, R. A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors. **Environmental health perspectives**, v. 114, n. 2, p. 165–72, fev. 2006.

HE, L. et al. Carbon nanodots zeolitic imidazolate framework-8 nanoparticles for simultaneous pH-responsive drug delivery and fluorescence imaging. **CrystEngComm**, v. 16, n. 16, p. 3259, 2014.

HE, X. et al. Water soluble carbon nanoparticles: Hydrothermal synthesis and excellent photoluminescence properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 87, n. 2, p. 326–332, 2011.

HOU, J. et al. A sensitive fluorescent sensor for selective determination of dichlorvos based on the recovered fluorescence of carbon dots-Cu(II) system. **Food Chemistry**, v. 202, p. 81–87, 2016.

KOH, O. H. *Quim. Nova*, v. 32, n. 3, p. 639–648, 2013.

KUMAR, A. et al. Green synthesis of carbon dots from *Ocimum sanctum* for effective fluorescent sensing of Pb²⁺ ions and live cell imaging. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 242, p. 679–686, 2017.

LECROY, G. E. et al. Toward structurally defined carbon dots as ultracompact fluorescent probes. **ACS nano**, v. 8, n. 5, p. 4522–9, maio 2014.

LIU, H.; YE, T.; MAO, C. Fluorescent Carbon Nanoparticles Derived from Candle Soot. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 34, p. 6473–6475, ago. 2007.

LIU, S. et al. Hydrothermal treatment of grass: a low-cost, green route to nitrogen-doped, carbon-rich, photoluminescent polymer nanodots as an effective fluorescent sensing platform for label-free detection of Cu(II) ions. **Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)**, v. 24, n. 15, p. 2037–41, abr. 2012.

LIU, W. et al. Green synthesis of carbon dots from rose-heart radish and application for Fe³⁺ detection and cell imaging. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 241, p. 190–198, 2017.

LIU, X. et al. Microwave synthesis of carbon dots with multi-response using denatured proteins as carbon source. **RSC Adv.**, v. 6, n. 14, p. 11711–11718, 2016.

LIU, Y. et al. One-step microwave-assisted polyol synthesis of green luminescent carbon dots as optical nanoprobe. **Carbon**, v. 68, p. 258–264, 2014.

LIU, Y.; ZHAO, Y.; ZHANG, Y. One-step green synthesized fluorescent carbon nanodots from bamboo leaves for copper(II) ion detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 196, p. 647–652, 2014.

MEHTA, V. N. et al. One-step hydrothermal approach to fabricate carbon dots from apple juice for imaging of mycobacterium and fungal cells. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 213, p. 434–443, 2015.

MEHTA, V. N.; JHA, S.; KAILASA, S. K. One-pot green synthesis of carbon dots by using *Saccharum officinarum* juice for fluorescent imaging of bacteria (*Escherichia coli*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cells. **Materials Science and Engineering: C**, v. 38, p. 20–27, 2014.

MIRANDA, J. E. B. Carbon Dots : Nanopartículas de carbono fluorescentes para marcação e visualização de células. p. 113, 2014.

PAN, J. et al. Fabrication of carbon quantum dots modified granular SnO₂ nanotubes for visible light photocatalysis. **Materials Letters**, v. 170, p. 187–191, 2016.

PANDEY, A. International Journal of Modern Engineering and Research Technology. v. 1, n. 2, p. 26–35, 2014.

PENG, H.; TRAVAS-SEJDIC, J. Simple Aqueous Solution Route to Luminescent Carbogenic Dots from Carbohydrates. **Chemistry of Materials**, v. 21, n. 23, p. 5563–5565, dez. 2009.

PÚBLICO, C. et al. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – Anvisa Prova B. 2013.

RATNESH, R. K.; MEHATA, M. S. Synthesis and optical properties of core-multi-shell CdSe/CdS/ZnS quantum dots: Surface modifications. **Optical Materials**, v. 64, p. 250–256, 2017.

ROSHNI, V.; OTTOOR, D. Synthesis of carbon nanoparticles using one step green approach and their application as mercuric ion sensor. **Journal of Luminescence**, v. 161, p. 117–122, 2015.

SAHU, S. et al. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. **Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 48, n. 70, p. 8835–7, set. 2012.

SALAS, E. C. et al. Reduction of graphene oxide via bacterial respiration. **ACS nano**, v. 4, n. 8, p. 4852–6, ago. 2010.

SALINAS-CASTILLO, A. et al. Carbon dots for copper detection with down and upconversion fluorescent properties as excitation sources. **Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 49, n. 11, p. 1103–5, 2013.

SALINAS-CASTILLO, A. et al. Evaluation of a reconfigurable portable instrument for copper determination based on luminescent carbon dots. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 11, p. 3013–3020, abr. 2016.

SCHIAVON, A. **Artigo Pontos Quânticos de Carbono: Síntese Química, Propriedades e Aplicações Carbon Quantum Dots: Chemical Synthesis, Properties and Applications Resumo Pontos Quânticos de Carbono: Síntese Química, Propriedades e Aplicações Cláudia Emanuele Macha.** [s.l.: s.n.]. v. 7

SHI, L. et al. Eco-friendly synthesis of nitrogen-doped carbon nanodots from wool for multicolor cell imaging, patterning, and biosensing. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 235, p. 316–324, 2016.

SOTOMAYOR, M. D. P. T. et al. Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1755–1774, 2008.

SUCHAOIN, W. et al. Development and in vitro evaluation of zeta potential changing self-emulsifying drug delivery systems for enhanced mucus permeation. v. 510, p. 255–262, 2016.

SUN, H.; CAO, L.; LU, L. Bacteria promoted hierarchical carbon materials for high-performance supercapacitor. **Energy & Environmental Science**, v. 5, n. 3, p. 6206, 2012.

SUN, W.; DU, Y.; WANG, Y. Study on fluorescence properties of carbogenic nanoparticles and their application for the determination of ferrous succinate. **Journal of Luminescence**, v. 130, n. 8, p. 1463–1469, 2010.

SUN, Y.-P. et al. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 24, p. 7756–7, jun. 2006.

THESIS, D. Contributions to developments of Carbon (Quantum) Dots as fluorescent sensors Contribuciones al desarrollo de los Carbon (Quantum) Dots como sensores fluorescentes Doctoral Thesis Angelina Cayuela Marín. n. March, 2016.

Toxicidade in vitro e in vivo de quantum dots de carbono recobertos com boronato Frederico Hillesheim Horst Toxicidade in vitro e in vivo de quantum dots de carbono recobertos com boronato. 2016.

VAZ, R. et al. Preparation of carbon dots and their optical characterization: an experiment of nanoscience for undergraduate course. **Química Nova**, v. 38, n. 10, p. 1366–1373, 2015.

VIEIRA, K. D. O. Preparação e caracterização de nanomateriais contendo pontos quânticos de CdTe e nanotubos de carbono para aplicações em dispositivos fotovoltaicos. p. 1–19, 2014.

WANG, D. et al. Surface Functionalization of Carbon Dots with Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane (POSS) for Multifunctional Applications. **Advanced Materials Interfaces**, v. 3, n. 1, p. 1500439, jan. 2016.

WANG, F. et al. One-Step Synthesis of Highly Luminescent Carbon Dots in Noncoordinating Solvents. **Chemistry of Materials**, v. 22, n. 16, p. 4528–4530, ago. 2010.

WANG, J.; QIU, J. A review of carbon dots in biological applications. **Journal of Materials Science**, v. 51, n. 10, p. 4728–4738, maio 2016.

WANG, Q. et al. Hollow luminescent carbon dots for drug delivery. **Carbon**, v. 59, p. 192–199, 2013.

WEN, X. et al. Green and facile synthesis of nitrogen-doped carbon nanodots for multicolor cellular imaging and Co^{2+} sensing in living cells. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 235, p. 179–187, 2016.

WU, D. et al. Preparation of photoluminescent carbon nanodots by traditional Chinese medicine and application as a probe for Hg²⁺. **Analytical Methods**, v. 5, n. 12, p. 3023, 2013.

XU, J. et al. Formation of fluorescent carbon nanodots from kitchen wastes and their application for detection of Fe³⁺. **Luminescence**, v. 30, n. 4, p. 420–424, 2015.

XU, X. et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 40, p. 12736–7, out. 2004.

YANG, S.-T. et al. Carbon Dots as Nontoxic and High-Performance Fluorescence Imaging Agents. **The journal of physical chemistry. C, Nanomaterials and interfaces**, v. 113, n. 42, p. 18110–18114, set. 2009.

YANG, Z. et al. Controllable Synthesis of Fluorescent Carbon and Their Detection Application as Nanoprobes. **Nano-micro letters**, v. 5, n. 4, p. 247–259, 2013.

YU, B. Y.; KWAK, S.-Y. Carbon quantum dots embedded with mesoporous hematite nanospheres as efficient visible light-active photocatalysts. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 17, p. 8345, 2012.

YU, C. et al. Gadolinium-doped carbon dots with high quantum yield as an effective fluorescence and magnetic resonance bimodal imaging probe. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 688, p. 611–619, 2016.

YU, J. et al. Sensors and Actuators B : Chemical Green preparation of carbon dots by Jinhua bergamot for sensitive and selective fluorescent detection of Hg²⁺ and Fe³⁺. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 214, n. 3, p. 29–35, 2015.

ZHANG, X. et al. Carbon-dots derived from nanodiamond: Photoluminescence tunable nanoparticles for cell imaging. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 397, p. 39–44, 2013.

ZHANG, Y. et al. Zeta potential: A surface electrical characteristic to probe the interaction of nanoparticles with normal and cancer human breast epithelial cells. **Biomedical Microdevices**, v. 10, n. 2, p. 321–328, 2008.

ZHOU, J. et al. An Electrochemical Avenue to Blue Luminescent Nanocrystals from Multiwalled Carbon Nanotubes (MWCNTs). **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 4, p. 744–745, jan. 2007.

ZHOU, J. et al. Facile synthesis of halogenated carbon quantum dots as an important intermediate for surface modification. **RSC Advances**, v. 3, n. 25, p. 9625, 2013.

ZHU, C.; ZHAI, J.; DONG, S. Bifunctional fluorescent carbon nanodots: green synthesis via soy milk and application as metal-free electrocatalysts for oxygen reduction. **Chemical Communications**, v. 48, n. 75, p. 9367, 2012.

ZHU, H. et al. Microwave synthesis of fluorescent carbon nanoparticles with electrochemiluminescence properties. **Chemical Communications**, v. 7, n. 34, p. 5118, 2009.

ZHU, J.-J. et al. Quantum Dots for DNA Biosensing. **Quantum**, p. 9–25, 2013.

ZUO, J. et al. Preparation and Application of Fluorescent Carbon Dots. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, 2015.