

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Dissertação de Mestrado

Pontos de carbono obtidos da *para*-fenilenodiamina
como sensores químicos: avaliação para cromo(III) em
suplemento alimentar

Thyago Marques Monteiro

João Pessoa - PB

Dezembro de 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Dissertação de Mestrado

**Pontos de carbono obtidos da *para*-fenilenodiamina
como sensores químicos: avaliação para cromo(III) em
suplemento alimentar**

Thyago Marques Monteiro

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Química da Universi-
dade Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mes-
tre em Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Kátia Messias Bichinho

Coorientador: Dr. Gilvan Pozzobon Pires

João Pessoa - PB

Dezembro de 2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M775p Monteiro, Thyago Marques.

Pontos de carbono obtidos da para-fenilenodiamina como sensores químicos: avaliação para cromo(III) em suplemento alimentar / Thyago Marques Monteiro. - João Pessoa, 2019.

90 f. : il.

Orientação: Kátia Messias Bichinho.

Coorientação: Gilvan Pozzobon Pires.

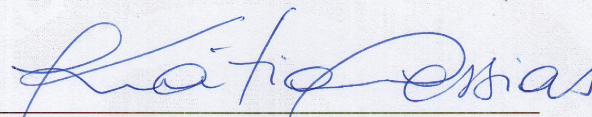
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. pontos de carbono. 2. para-fenilenodiamina. 3. luminescência. 4. suplementos alimentares. I. Bichinho, Kátia Messias. II. Pires, Gilvan Pozzobon. III. Título.

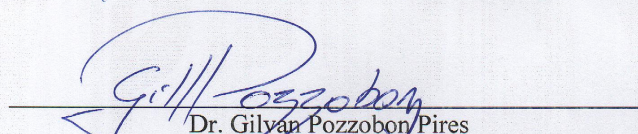
UFPB/BC

Pontos de carbono obtidos da *para-fenilenodiamina* como sensores químicos: avaliação para Cromo(III) em suplemento alimentar.

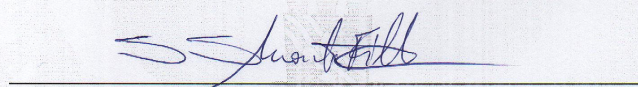
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Thyago Marques Monteiro e aprovada pela banca examinadora em 13 de dezembro de 2019.



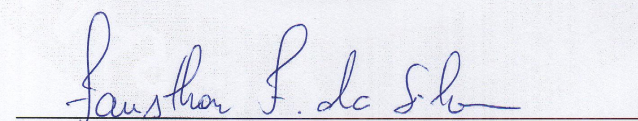
Prof. Dra. Kátia Messias Bichinho
Orientadora/Presidente



Dr. Gilvan Pozzobon Pires
Co-Orientador



Dr. Severino Silvio Monte Filho
Examinador



Prof. Dr. Fausthon Fred da Silva
Examinador

*Dedico ao meu tio Celso (in memoriam),
que mesmo com sua passagem rápida em
minha vida, me fez sempre tê-lo em pensamentos,
na vontade de fazer o melhor que o pudesse orgulhá-lo.*

AGRADECIMENTOS

Gratidão é aquele sentimento em que se têm a valorização verdadeira para com algo ou alguém que lhe propiciou um benefício em sua vida.

Diante do longo caminho que trilhei para o desenvolvimento deste trabalho, não poderia deixar de agradecer, primeiramente, a Deus, por tudo.

À minha mãe, Elizabeth, que sempre se esforçou para que eu pudesse alcançar meus sonhos. Ao meu pai, Gilberto, minha avó, Marinete, minha tia, Ozana, e minha irmã do coração, Izabella, que sempre estiveram torcendo e vibrando com cada nova conquista minha.

À minha orientadora Profa. Dra. Kátia Bichinho e ao meu coorientador Dr. Gilvan Pires por todos os ensinamentos passados, atenção e carinho que foram muito além de uma relação aluno-professor, estando presentes durante momentos de problemas pessoais. Fica aqui minha eterna gratidão e admiração pelas pessoas que são.

Aos amigos e colegas que fiz durante minha passagem pelo Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica e Quimiometria (LAQA). A turma do grupo "os perigosos" formado por pessoas especiais que me fizeram ter bons momentos durante essa jornada. Com meu agradecimento especial para Jainny Rityelle, Ana Rosa e Wallis Cavalcante, pessoas incríveis que tive o prazer de conviver, e estiveram ao meu lado durante circunstâncias complicadas que tive que enfrentar, onde cada um ao seu modo me ajudou a superá-los.

Aos amigos do Laboratório de Compostos de Coordenação e Química de Superfície (LCCQS) que tive a alegria de manter a amizade através de boas risadas e brincadeiras. Às sextas-feiras nunca mais serão as mesmas. Viva o "SEXTOL"!

Às pessoas pertencentes ao laboratório Multiusuário de Análise de Superfícies (LAMAS) e do Centro de Microscopia e Microanálise (CMM), localizados na UFRGS, e a Leonis, do departamento de química fundamental (DQF), da UFPE, por todo o auxílio para a realização das análises de caracterização e medidas realizadas nesses espaços.

Ao programa de pós-graduação em química (PPGQ), da UFPB, e ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio e incentivo à pesquisa.

E a todos os demais, que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho, que mesmo apesar das dificuldades foi possível chegar até aqui, meu profundo agradecimento.

*Nunca aceite um não como resposta
e nunca pense que algo é impossível.
Divirta-se sempre. Faça o que deseja por
paixão verdadeira e não apenas pelo dinheiro.
(Bruce Dickinson)*

RESUMO

Nesse trabalho foram estudados, pontos de carbono luminescentes para a determinação quantitativa de cromo (III) em amostras de suplemento alimentar. Para esse propósito, os pontos de carbono foram sintetizados pelo método solvotérmico, utilizando etanol, a partir da *para*-fenilenodiamina como precursor. O PC obtido foi purificado em coluna cromatográfica e caracterizado por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS), espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), bem como espectroscopia de luminescência. O PC exibiu intensa emissão na cor vermelha, apresentando um rendimento quântico igual a 11,3 %. As caracterizações realizadas permitiram relacionar a emissão observada a características da superfície do ponto de carbono, como a presença de espécies químicas contendo oxigênio e a presença de grupos como COOH. A aplicação do material para a quantificação de íons cromo(III) mostrou-se viável, sendo observada uma resposta linear entre 4 e 20 mg L⁻¹ de íons cromo(III). Os resultados da análise estatística, para um nível de confiança de 95 %, sugeriram que o método proposto não apresenta diferença significativa, quando comparado ao método por espectroscopia de raios X por dispersão em energia, para a determinação de íons cromo(III) em amostras de suplementos contendo picolinato de cromo(III).

Palavras-chave: pontos de carbono; *para*-fenilenodiamina; cromo(III); luminescência; suplementos alimentares.

ABSTRACT

In present work, we developed luminescent carbon dots for the analytical determination of chromium(III) in food supplement samples. For this purpose, carbon dots were synthesized by the solvothermal method using ethanol from *p*-phenylenediamine as a precursor. The PC obtained was purified in a chromatographic column and characterized by transmission electron microscopy (TEM), Fourier Transform Infrared Absorption Spectroscopy (FTIR), X-ray Excited Photoelectron Spectroscopy (XPS), UV-Visible Spectroscopy (UV- VIS) as well as luminescence spectroscopy. The PC obtained showed intense emission in red color, presenting a quantum yield equal to 11.3%. The characterizations carried out allowed to relate the observed emission to the carbon point surface characteristics, such like the content of chemical species containing oxygen and the presence of groups such as COOH. The application of the material for the quantification of chromium(III) ions was feasible, with a linear response between 4 and 20 mg L⁻¹ of chromium(III) ions. The results of the statistical analysis, for a confidence level of 95 %, suggested that the proposed method does not present significant difference, when compared to the method by energy dispersion X-ray spectroscopy, for the determination of chromium(III) ions in chromium(III) picolinate supplement samples.

Keywords: carbon dots; *p*-phenylenediamine; chromium(III); luminescence; food supplements.

SUMÁRIO

Agradecimentos

Resumo

Abstract

1	Introdução	1
1.1	Contexto	2
1.2	Os pontos de carbono	5
1.2.1	Propriedades	5
1.2.2	Comparação com os pontos quânticos	9
1.2.3	Rotas de síntese	10
1.3	Os pontos de carbono na química analítica	11
1.4	Suplementos alimentares	13
1.5	Estado da arte	18
2	Objetivos	22
2.1	Objetivo principal	23
2.2	Objetivos específicos	23

3	Parte experimental	24
3.1	Reagentes e solventes utilizados	25
3.2	Amostras	26
3.3	Preparação do ponto de carbono	26
3.3.1	Procedimento de síntese	27
3.3.2	Procedimento de purificação	27
3.4	Caracterização do ponto de carbono	28
3.4.1	Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)	28
3.4.2	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	28
3.4.3	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)	29
3.4.4	Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)	29
3.4.5	Espectroscopia de luminescência	29
3.4.5.1	Rendimento quântico do ponto de carbono	31
3.4.5.2	Influência do solvente sobre o ponto de carbono	31
3.4.5.3	Influência do pH	31
3.5	Ensaio analítico	32
3.5.1	Íon cromo(III)	32
3.5.2	Quantificação de cromo(III) em amostras de suplemento alimentar	32
3.5.2.1	Via luminescência empregando ponto de carbono	32
3.5.2.2	Via espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão em energia	33
3.5.3	Análise estatística	33
4	Resultados e Discussão	35
4.1	Pontos de carbono	36
4.1.1	Obtenção	36
4.1.2	Aspecto morfológico	37
4.1.3	Características químicas	39
4.1.4	Propriedades luminescentes	41
4.1.4.1	Análise de fluorescência molecular no ultravioleta-visível	41
4.1.4.2	Rendimento quântico	46
4.1.4.3	Efeito do pH	46

4.1.5	Estudos analíticos	47
4.1.5.1	Ensaaios exploratórios	47
4.2	Teor de cromo(III) em suplemento alimentar	49
5	Conclusões	53
6	Perspectivas	55
	Referências Bibliográficas	57
A	Informações complementares sobre os ensaios analíticos	71
A.0.1	Curva analítica para quantificação de cromo(III)	72

LISTA DE FIGURAS

1.1	Número de publicações científicas em artigos, revisões e patentes, pesquisados em SciFinder, sobre pontos de carbono. ^[21]	4
1.2	Número de publicações científicas de artigos e revisões, pesquisados em SciFinder, sobre pontos de carbono em química analítica. ^[22]	4
1.3	Intensidade de emissão da luminescência por fluorescência e fosforescência ao longo do tempo após a remoção da fonte de excitação. Fonte: adaptado de ^[30] .	6
1.4	Diagrama de Jablonski. Fonte: adaptado de ^[31] .	7
1.5	Comparação entre os níveis de energia com a redução do tamanho do nanomaterial, atribuído por confinamento quântico. Fonte: adaptado de ^[37] .	8
1.6	Ponto quântico de CdSe com alteração da cor de emissão da luminescência através da variação do tamanho. Fonte: adaptado de ^[41] .	9
1.7	Esquema referente as rotas de síntese dos pontos de carbono, <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i> . Fonte: adaptado de ^[44] .	10
1.8	Prevalência do percentual de diabéticos por idade (20 - 79 anos) na América Latina em 2019. Fonte: IDF 2019.	15
1.9	Número total estimado de adultos (20 - 79 anos) com diabetes no mundo em 2019. Fonte: IDF 2019.	15
1.10	Estrutura química do picolinato de cromo (PicCr).	16

3.1	a) Procedimento de síntese do PC; b) procedimento de purificação.	27
3.2	Fotografia do equipamento utilizado: (1) fonte de alimentação para o LED; (2) detector fluorescente; (3) suporte para a cubeta; (4) placa arduíno para alimentação do cooler; (5) dissipador de calor com cooler; (6) LED montado sobre dissipador estrela. Em destaque, a imagem referente ao espectro de emissão do LED utilizado com emissão máxima de 515 nm.	30
4.1	Imagem da massa de PC obtida da síntese após redução do volume em evaporador rotatório.	36
4.2	Imagem do procedimento de purificação do PC na coluna cromatográfica: a) e b) amostra sendo separada em diferentes frações através da passagem do eluente; c) e d) fração luminescente de coloração vermelha sendo distinguida com o uso de um laser com comprimento de onda de 405 nm. .	37
4.3	Imagem dos PC obtida por TEM evidenciando (a) as dimensões e morfologia dos pontos de carbono e (b) gráfico representando a dispersão dimensional das nanopartículas.	38
4.4	Espectros de FTIR para o (a) reagente de partida (<i>para</i> -fenilenodiamina) e para o (b) ponto de carbono.	39
4.5	Espectro exploratório de XPS para o ponto de carbono sintetizado.	40
4.6	Espectros de XPS de alta resolução para as regiões C 1s, N 1s e O 1s. . .	41
4.7	Espectros de emissão do PC solubilizado em diferentes solventes. Obtidas com comprimento de excitação em 352 nm (medidas realizadas no FLUOROLOG-3, da Horiba Jobin-Yvon).	42
4.8	Comprimento de onda de emissão do PC em função da polaridade do solvente. Obtidas com comprimento de excitação em 352 nm (medidas realizadas no FLUOROLOG-3, da Horiba Jobin-Yvon).	42
4.9	Luminescência das soluções do PC em diferentes solventes, sob luz ambiente (a) e luz UV (b): água ultrapura (1), metanol (2), etanol (3), ACN(4), acetona (5), clorofórmio (6), THF (7) e CCl ₄ (8).	44
4.10	Espectros de emissão para o PC em água excitado nos comprimentos de onda de 470 a 540 nm (medidas realizadas no G9800A, da Agilent Cary Eclipse).	45

4.11	Espectros absorção, excitação ($\lambda_{emi} = 622 \text{ nm}$) e emissão ($\lambda_{exc} = 490 \text{ nm}$) para o PC em água (medidas de excitação e emissão realizadas no G9800A, da Agilent Cary Eclipse).	45
4.12	Influência do pH sobre a intensidade de emissão do PC em água. Obtidas com comprimento de excitação em 515 nm (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).	46
4.13	Espectros de luminescência molecular variando o tempo de contato entre o PC com o analito de 0 a 20 minutos. Obtidas com comprimento de excitação em 515 nm (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).	47
4.14	Intensidade de luminescência do PC na presença do íon cromo(III). Obtidas com comprimento de excitação em 515 nm (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).	48
4.15	Curva da supressão da luminescência do PC na presença do íon cromo(III) na faixa de 4,16 a 20,8 mg L ⁻¹ sob excitação de 515 nm em pH= 7,0 (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).	49
4.16	Concentração de cromo(III) nos diferentes suplementos de picolinato de cromo determinada via metodologia empregando ponto de carbono (PC) e espectrometria de fluorescência e raios X (EDX), juntamente com o valor nominal informado pelo fabricante (VN).	50
4.17	Espectro de EDX para a amostra alimentar sup1.	51
4.18	Espectro de EDX para a amostra alimentar sup2.	51
4.19	Espectro de EDX para a amostra alimentar sup3.	52
A.1	Curva analítica para a quantificação do teor de cromo(III) na faixa entre 0,01 a 0,1 % de m m ⁻¹ de cromo(III).	72

LISTA DE TABELAS

1.1	Limites mínimos e máximos de cromo que devem ser fornecidos pelos suplementos alimentares na recomendação diária de consumo e por grupo populacional indicado pelo fabricante. Fonte: ANVISA	17
3.1	Descrição das informações referentes às amostras de suplementos.	26
4.1	Comparativo de PC obtidos por TEM em que as partículas apresentam luminescência na região do vermelho (λ_{emi} entre 600 - 640 nm).	38
4.2	Comprimentos de onda de emissão máximo obtidos nos respectivos solventes analisados. Obtidas com comprimento de excitação em 352 nm (medidas realizadas no FLUOROLOG-3, da Horiba Jobin-Yvon).	43
4.3	Valores obtidos para as amostra pela técnica de supressão da luminescência (PC) e espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão em energia (EDX), juntamente com o valor nominal (VN).	50

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIAD	Associação Brasileira da Indústria de Suplementos para Fins Especiais
ACN	Acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCl_4	Tetracloreto de carbono
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
IDF	Federação Internacional de Diabetes
PC	Pontos de carbono
PicCr	Picolinato de cromo
PQ	Pontos quânticos
S_0	Nível energético fundamental
S_1	Primeiro estado singleto excitado
Sup1	Suplemento de análise 1
Sup2	Suplemento de análise 2

Sup2	Suplemento de análise 3
T ₁	Primeiro estado tripleto excitado
THF	Tetraidrofurano
VN	Valor nominal
WLED	Dispositivos emissores de luz branca

CAPÍTULO

1

INTRODUÇÃO

1.1 Contexto

No final do século XX surgiu um grande interesse em torno dos materiais nanoestruturados, abrindo espaço para a consolidação de uma área reconhecida como "Nanociência".^[1,2] Na qual, propriedades ópticas, elétricas, magnéticas, de transporte, catalíticas, entre outras, podem se manifestar de forma diferenciada quando determinado material se encontra abaixo de um certo tamanho chamado de *tamanho crítico*.^[3]

Nesse contexto, encontram-se os nanomateriais constituídos majoritariamente por carbono, como os pontos de carbono (PC). Características como a ampla solubilidade em meios com diferentes polaridades e propriedades ópticas singulares permitem que este material seja encontrado em aplicações^[4] como:

- **Dispositivos optoeletrônicos:** a utilização de dispositivos emissores de luz branca (WLED, White Light Emitting Diode) apresentam-se como os atuais substitutos para as lâmpadas fluorescentes e incandescentes, uma vez que apresentam um longo tempo de vida útil, baixo consumo de energia, tempo de resposta rápida e tamanho compacto. E os pontos de carbono luminescentes surgem como uma nova classe de material para o desenvolvimento de WLED com as vantagens de emissão de luminescência ajustável, alta estabilidade térmica e fotoestabilidade, baixo custo e ambientalmente seguros.^[5,6]
- **Células solares:** o emprego de pontos de carbono no desenvolvimento de novos substratos contribuindo para a elaboração de novas células solares com consideráveis taxas de conversão de energia.^[7,8]
- **Fotocatalíticas:** Os Fotocatalisadores apresentam-se como catalisadores ambientalmente e economicamente viáveis, capazes de trabalhar de maneira limpa e segura nas questões de poluições ambientais sendo capazes de aproveitar o máximo de luz visível e ultravioleta para a degradação de contaminantes.^[9] A possibilidade de transferência eletrônica fotoinduzida, a fotoestabilidade e a larga banda de adsorção dos pontos de carbono fazem deles um ótimo material que pode ter a superfície dopada para a produção de nanocompósitos com melhora da eficiência fotocatalítica.^[10,11]

- **Bioimagens:** os PC, por possuírem excelentes propriedades fotoluminescentes, biocompatibilidade e baixa toxicidade, se tornam candidatos ideais para o uso em bioimagem, apresentando vantagens em aplicações biológicas quando funcionalizadas adequadamente. Ainda, podem ser utilizadas como sonda, na entrega e liberação controlada de fármacos no diagnóstico de tumores.^[12,13]
- **Sensores analíticos:** comparado com os quimiossensores fluorescentes convencionais, os nanossensores fluorescentes baseados em PC se destacam pela sensibilidade e seletividade que, somadas a outras características, possibilitam explorar os PC para detecção de íon metálicos como cobalto (Co^{2+})^[14], ferro (Fe^{3+})^[15] e mercúrio (Hg^{2+})^[16], bem como para a detecção de compostos como pesticidas.^[17], hormônios^[18] e corantes^[19].

Diferentes termos são utilizados para se referir ao mesmo material nanoparticulado, esferoidal, constituído principalmente de carbono. Na literatura, tais materiais são comumente reportados como *pontos de carbono*, *nanopontos de carbono* ou *pontos quânticos de carbono*.^[20] Tem sido observado um crescente número de trabalhos envolvendo pontos de carbono, o que pode ser constatado através da Figura 1.1, a qual apresenta o número de publicações científicas (artigos e revisões) juntamente com o número de patentes registradas em função do tempo. Em termos de produção acadêmica, nos últimos dez anos o crescimento foi de expressivos 1.254 %. Da mesma forma, pode ser observado um crescimento de 2.438 % para o número de patentes.

O avanço das pesquisas envolvendo os pontos de carbono sustenta sua utilização em novas aplicações. O campo é ainda incipiente, porém promissor, e é esperado um aumento natural de estudos onde os PC são empregados em metodologias analíticas. No entanto, atualmente é verificado um reduzido número de trabalhos com essa finalidade, como pode ser observado na Figura 1.2. Assim surge a motivação para o presente estudo, no qual, as propriedades ópticas dos pontos de carbono serão utilizadas na determinação de cromo(III) em suplementos alimentares.

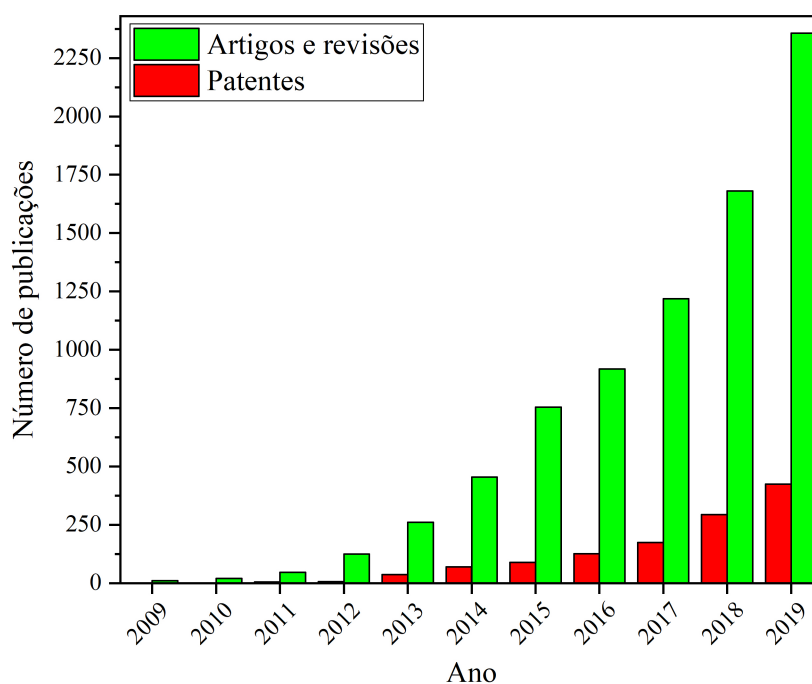


Figura 1.1 – Número de publicações científicas em artigos, revisões e patentes, pesquisados em SciFinder, sobre pontos de carbono.^[21]

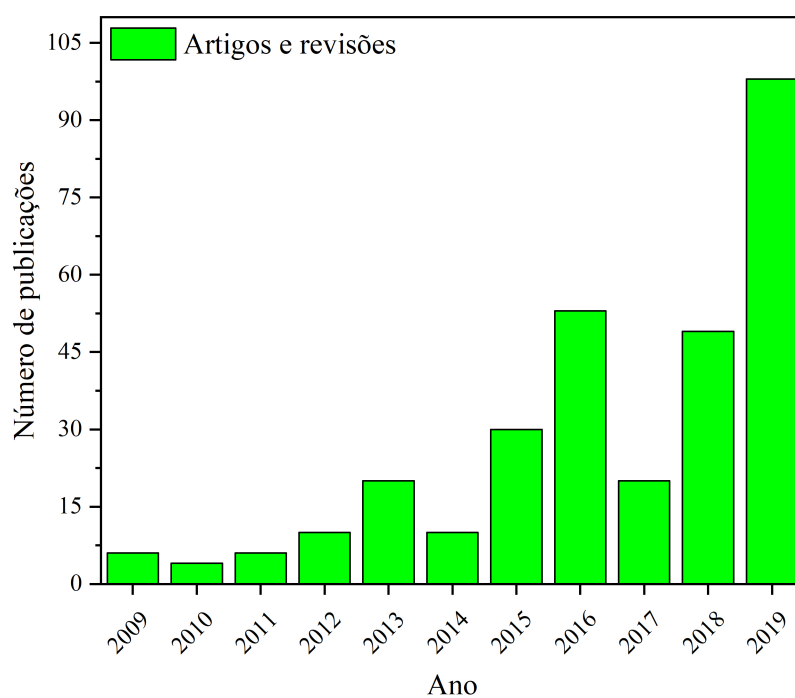


Figura 1.2 – Número de publicações científicas de artigos e revisões, pesquisados em SciFinder, sobre pontos de carbono em química analítica.^[22]

1.2 Os pontos de carbono

Observados pela primeira vez em 2004, os pontos de carbono foram descobertos por Xu e colaboradores^[23] durante o processo de purificação de nanotubos de carbono de parede única via eletroforese. À exemplo da descoberta de outros nanoalótropos de carbono, como os fulerenos (1985)^[24], nanotubos (1991)^[25] e o grafeno (2004)^[26], os pontos de carbono possuem, atualmente, grande relevância científica e tecnológica entre os nanomateriais.

O interesse pelos pontos de carbono está relacionado a propriedades como luminescência, resistência à fotodegradação e à biodegradação e suas dimensões nanométricas.^[9] Apresentando um formato esferoidal, os pontos de carbono apresentam diâmetros que variam entre 2 e 10 nm, podendo conter em sua constituição átomos de oxigênio, nitrogênio ou enxofre em proporções diversas.^[27] A distribuição de tamanhos, bem como a constituição dos PC, podem ser modificados pela rota de síntese que, em geral, é de fácil execução.

1.2.1 Propriedades

A propriedade mais relevante dos pontos de carbonos, a luminescência, está intrinsecamente relacionada a aspectos como o tamanho das nanopartículas, a composição, o comprimento de onda de excitação e a funcionalização da superfície.^[9]

Uma vez excitado por uma fonte de energia externa, em geral uma lâmpada ou um feixe de laser, sendo a energia do fóton incidente superior à diferença de energia entre o estado fundamental e o primeiro estado singlete excitado do sistema de mais baixa energia(S_1); a absorção de um quantum de luz promove a passagem dos elétrons a níveis superiores de energia. Ao retornar ao estado fundamental, parte dessa energia absorvida é reemitida, fenômeno este descrito como luminescência.^[28]

A luminescência apresenta-se como o processo inverso do fenômeno da absorção de radiação eletromagnética, ocorrendo a partir de estados eletricamente excitados, de determinada substância, com emissão de luz. Dependendo da natureza do posicionamento do elétron no orbital no estado excitado a luminescência pode se apresentar como fluorescência ou fosforescência. Se durante o processo não ocorre mudança de multiplicidade de

spin (singleto \rightarrow singleto), a emissão é fluorescente. Se há inversão de spin (singleto \rightarrow tripleto) a emissão é fosforescente.^[29] Na fluorescência, a radiação emitida cessa imediatamente depois da excitação desaparecer. Na fosforescência, a emissão espontânea persiste durante um intervalo de tempo maior, Figura 1.3.

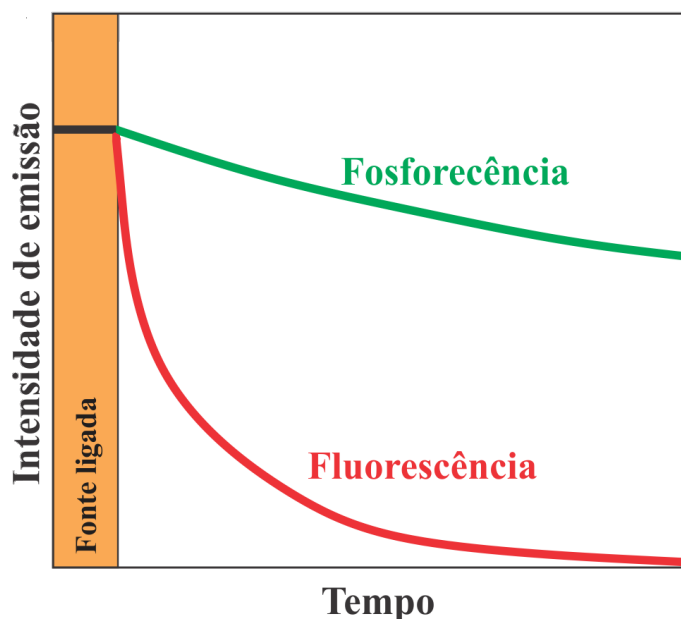


Figura 1.3 – Intensidade de emissão da luminescência por fluorescência e fosforescência ao longo do tempo após a remoção da fonte de excitação. Fonte: adaptado de ^[30].

Para que o fenômeno de luminescência ocorra nos PC, ela depende da estrutura molecular do composto em questão que precisa ser apropriada e estar num meio que favoreça o decaimento radioativo. Os elétrons correspondentes a uma ligação σ costumam estar ligados fortemente à molécula, sendo necessário fornecer uma energia maior para que os elétrons ocupem um orbital molecular vazio. Deste modo, nas transições $\sigma \rightarrow \sigma^*$ os espectros eletrônicos produzidos apresentam-se em regiões de comprimento de onda mais curto no espectro eletromagnético. Ao contrário, os elétrons π estão mais livres que os elétrons σ , fazendo com que, geralmente, a emissão venha ocorrer em comprimento de onda maior.

A absorção e emissão de luz são provenientes de processos radiativos e não-radiativos que são descritos por transições eletrônicas que ocorrem entre variados estados de energia vibracional presentes entre as bandas de energias. Dentre os processos não-radiativos estão o de relaxação vibracional, conversão interna e conversão intersistemas. Tais processos podem ser observados através de uma representação do diagrama de Jablonski, apresentado na Figura 1.4. A absorção de radiação de um sistema no estado fundamental (S_0)

depende inicialmente da energia de radiação incidida que leva o sistema para um nível vibracional de estado eletrônico excitado (S_n), onde, através de processos não-radiativos, ocorre o retorno do elétron excitado para o estado S_1 , devido a conversão interna, sem que ocorra a emissão de fótons. Estando no estado S_1 , o elétron pode voltar ao estado S_0 por processo radiativo (fluorescência) ou não-radiativo (conversão-interna). No acoplamento spin-orbita de um sistema, há incidência de cruzamento intersistema, promovendo a ocorrência de estados tripleto, em que, após ocorrida a absorção e promovendo a excitação do sistema, se tem o efeito do cruzamento intersistema, levando o elétron à ocupar um estado tripleto excitado (T_n). Através de relaxamento vibracional o elétron é levado para o estado tripleto excitado de menor energia (T_1) que pode, por conversão interna, atingir o estado S_0 de forma não-radiativa ou pode ocorrer um processo radiativo onde o elétron é levado para o estado singlete fundamental ($T_1 \rightarrow S_0$) por fosforescência.

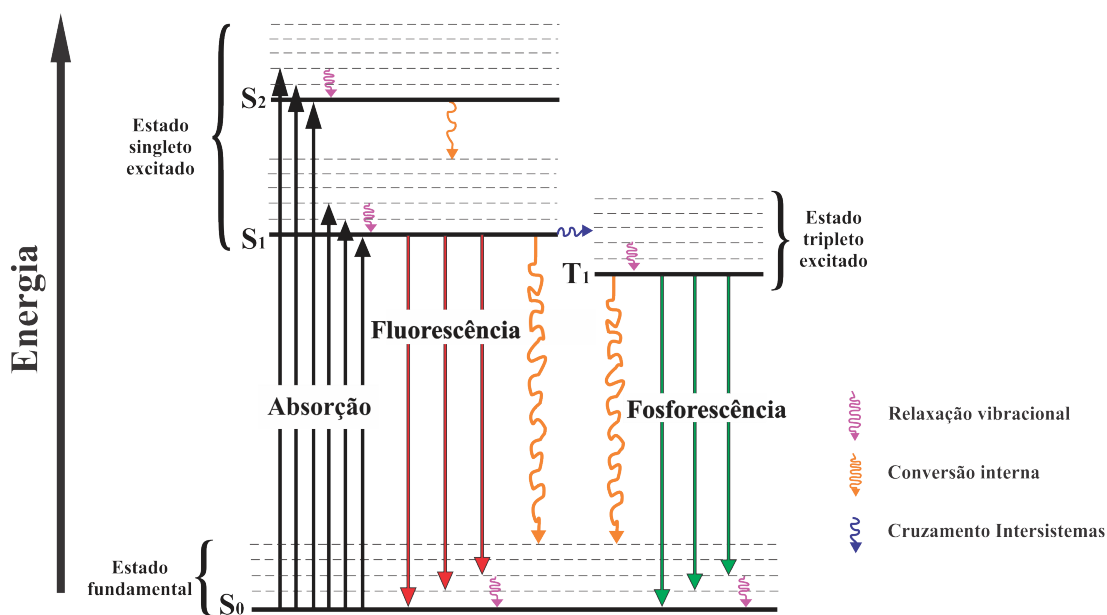


Figura 1.4 – Diagrama de Jablonski. Fonte: adaptado de [31].

A origem da luminescência dos PC ainda não está totalmente elucidada, uma vez que o controle de precursores e as diferentes rotas de sínteses encontradas na literatura, produzem partículas com características químicas significativamente distintas, que podem ser provenientes de variadas combinações de fatores, tornando difícil uma comparação adequada entre resultados. [32] Contudo, duas propostas são as mais bem aceitas, para o mecanismo de luminescência em PC: a hipótese de confinamento quântico e o efeito de superfície com presença de defeitos e grupos funcionais. [33,34]

O confinamento quântico está relacionado ao aumento da diferença energética entre as bandas de valência e de condução (*band gap*) devido a redução de tamanho do material, nas três dimensões do espaço, limitando o movimento dos elétrons deslocalizados entre os níveis de energia quantizados, gerando um aumento da própria energia cinética. A medida que o tamanho do material diminui, a distância entre os níveis de energia será maior, Figura 1.5. Como resultado, o confinamento quântico tem efeito sobre as propriedades ópticas e eletrônicas dos nanomateriais.^[35,36]

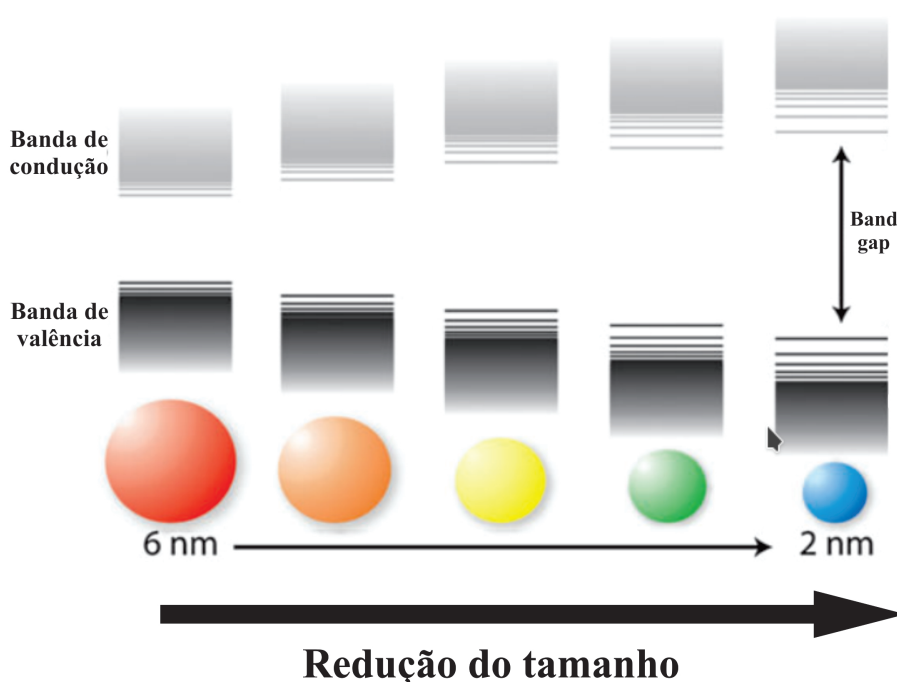


Figura 1.5 – Comparação entre os níveis de energia com a redução do tamanho do nanomaterial, atribuído por confinamento quântico. Fonte: adaptado de ^[37]

No efeito de superfície, os átomos que se encontram na região mais externa apresentam um menor número de ligações e defeitos como porosidades, grupos funcionais e ligações químicas livres em comparação com os átomos que estão no interior. Em consequência disto, os átomos externos possuem menor estabilidade eletrônica, promovendo assim, alterações nas propriedades luminescentes do nanomaterial que levam a perdas energéticas no processo de recombinação dos elétrons e buracos. Além disso, o aumento da razão entre a área superficial e o volume do mesmo produz o surgimento de estados de armadilha de superfície, que podem aprisionar os elétrons, produzindo fótons com maior comprimento de onda (menor energia).^[38]

1.2.2 Comparação com os pontos quânticos

Sintetizados na década de 1980, os pontos quânticos (PQ), provenientes de semicondutores, são nanopartículas compostas pelos elementos dos grupos 12-16 e 13-15^[39], que apresentam dimensões extremamente pequenas, menores que o raio de Bohr dos éxcitons do material que os constitui, estabelecendo um confinamento quântico nas três direções.^[40] Como já mencionado anteriormente, tal confinamento altera fortemente as propriedades dos materiais, conferindo assim características ópticas e eletrônicas distintas do material precursor, que são controláveis de acordo com o tamanho da nanopartícula, Figura 1.6.

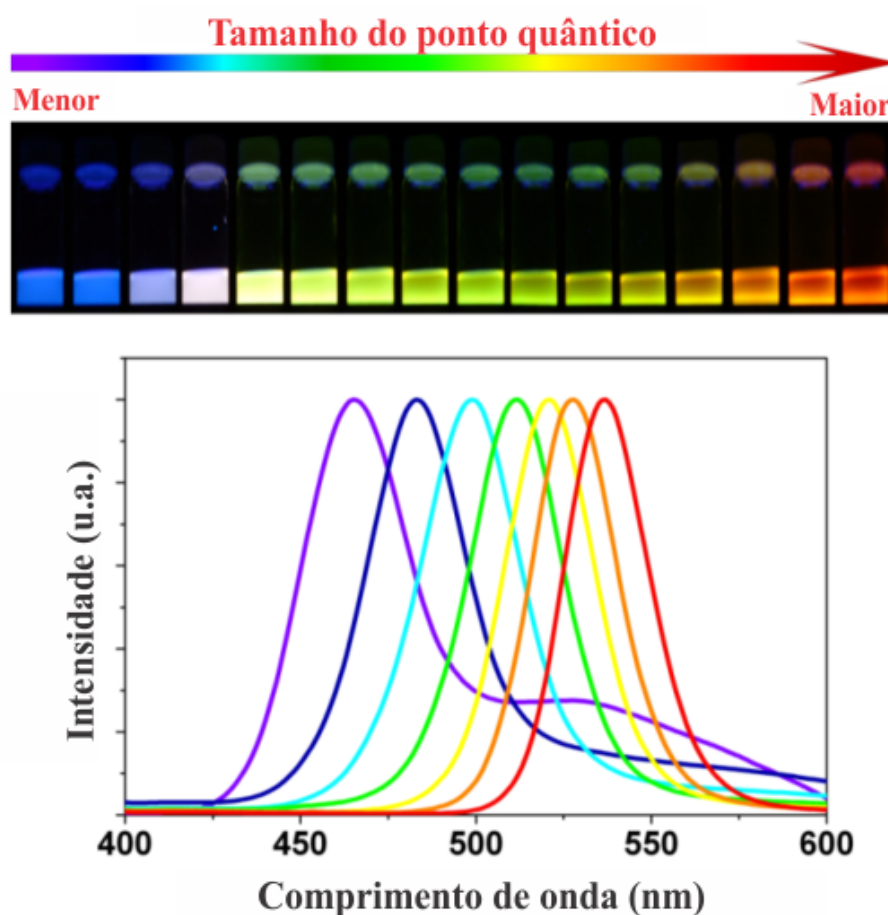


Figura 1.6 – Ponto quântico de CdSe com alteração da cor de emissão da luminescência através da variação do tamanho. Fonte: adaptado de ^[41].

Suas propriedades diferem da maioria dos cristais sólidos, apresentando alta fotoestabilidade com rendimentos quânticos de luminescência elevados. Assim, ganharam grande destaque nas últimas décadas, sendo apresentados como fluoróforos com potenciais aplicações tecnológicas.^[42] Contudo, a presença de metais pesados, como cádmio, tornam suas

sínteses e aplicações mais limitadas e com maiores cuidados no que diz respeito o manuseio, tendo em vista a toxicidade que tais materiais podem apresentar.^[43] Diante disso, os PC apresentam vantagens significativas de manuseios e aplicações por apresentarem baixa toxicidade e boa biocompatibilidade, além de possuírem uma vasta possibilidade de precursores, além de síntese relativamente rápida e de baixo custo.

1.2.3 Rotas de síntese

As rotas de síntese dos PC são determinantes para as suas propriedades, uma vez que um mesmo precursor, dependendo da rota utilizada, é capaz de produzir pontos de carbono com diferentes características. Os métodos de síntese podem ser classificados em dois grupos, ficando divididos em rota *top-down* e rota *bottom-up*, Figura 1.7.^[9]

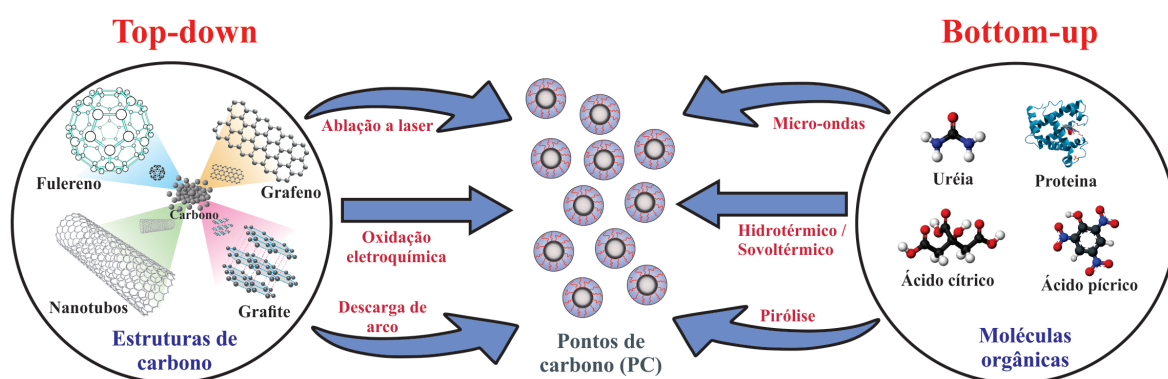


Figura 1.7 – Esquema referente as rotas de síntese dos pontos de carbono, *top-down* e *bottom-up*. Fonte: adaptado de ^[44].

Na rota *top-down* os PC são obtidos através da redução das dimensões do material até este atingir uma escala nanométrica, como nos casos onde se tem precursores de carbono como o fulereno^[45], o grafite^[46], o grafeno^[26] e os nanotubos de carbono^[47]. Entre os métodos da rota *top-down*, destacam-se a ablação à laser^[48], tratamento com plasma^[49], descarga de arco elétrico^[50] e oxidação eletroquímica^[51]. Por sua vez, na rota *bottom-up*, os pontos de carbono são sintetizados utilizando precursores moleculares por meio de reações químicas, havendo a possibilidade de os mesmos serem purificados através de diferentes técnicas de separação.^[52] Os métodos utilizados para obtenção dos PC por esse meio são as sínteses por tratamento hidrotérmico^[53], solvotérmica^[54], por micro-ondas^[55], pirólise^[56], entre outros.

Os PC obtidos pela rota *bottom-up* possuem maiores vantagens frente aos *top-down*, uma vez que a versatilidade na escolha dos precursores permite o ajuste de características físicas e químicas dos pontos de carbono possibilitando, assim, a otimização das propriedades luminescentes.^[57]

Nesse sentido, torna-se interessante a utilização de métodos simplificados e de baixo custo onde os pontos de carbono são sintetizados em uma única etapa, como no caso das sínteses hidrotérmica e solvotérmica. Os métodos de síntese via hidrotérmica ou solvotérmica são descritos na literatura como sendo reações químicas realizadas em sistemas fechados na presença de um solvente aquoso ou não, respectivamente, com temperatura controlada acima da ambiente e pressão maior que 1 atm.^[58] O uso desses métodos para a obtenção de pontos de carbono tem sido frequente, por possibilitar produtos com elevada pureza, homogêneos, com estreita distribuição de tamanho e poder trabalhar com o solvente de síntese acima da sua temperatura de ebulição.^[59]

1.3 Os pontos de carbono na química analítica

A aplicação desse material em química analítica baseia-se principalmente em alterações da resposta luminescente do ponto de carbono em função de mudanças no seu ambiente químico. Tais mudanças, produzidas pela interação entre uma determinada espécie de interesse e o ponto de carbono, podem ocasionar tanto a supressão quanto o reforço da luminescência, sendo o fenômeno de supressão o mais comumente observado.^[60] Entre os mecanismos envolvidos na supressão da luminescência dos PC, incluem-se a supressão estática, dinâmica, de transferência de energia (Föster e Dexter), de transferência de elétrons fotoinduzida e de efeito de filtro interno, resumidos a seguir.^[61]

- **Supressão estática:** ocorre com formação de um complexo, não luminescente, entre a molécula do fluoróforo (PC) e a espécie supressora. Nessa tipo de supressão o aumento da temperatura pode gerar uma instabilidade no complexo formado, resultando em uma diminuição da supressão estática.
- **Supressão dinâmica:** depende do contato ocorrido entre a molécula do PC luminescente e a molécula da espécie supressora durante o tempo de vida do estado excitado, consistindo na desativação da luminescência. Em geral, após a colisão o

PC retorna ao estado fundamental sem a emissão de fóton e sem alteração química das moléculas envolvidas. A supressão dinâmica depende do coeficiente de difusão das moléculas, uma vez que, ao se aumentar a temperatura os coeficientes de difusão aumentam, e conseqüentemente se tem aumento no efeito de supressão. Ocorre uma alteração no tempo de vida da molécula do PC na presença da espécie supressora.

- **Supressão de transferência de energia Föster:** fenômeno eletrodinâmico que consiste na transferência não radiativa da energia de uma espécie doadora (PC) no estado excitado para a espécie receptora (supressor) no estado fundamental, devido a interações do tipo dipolo-dipolo de longo alcance. Para que ocorra é necessário que entre o doador e o receptor exista uma distância específica (10 e 100 nm), uma orientação adequada no momento dipolo e ocorrer sobreposição do espectro de emissão do PC com o espectro de absorção do supressor.
- **Supressão de transferência de energia Dexter:** baseia-se em fenômenos onde há transferência de elétron ou interação multipolar, requerendo uma correspondência entre os potenciais redox de uma molécula do doador no estado excitado e uma molécula do receptor. Com isso, a transferência de energia de Dexter requer que as moléculas estejam exclusivamente próximas (distâncias menores que ≤ 1 nm), onde se tem sobreposição de orbital entre as espécies envolvidas. Deve se manter a multiplicidade do spin do sistema doador-receptor, não sendo permitido a transferência de energia entre estados eletrônicos diferentes.
- **Supressão de transferência de elétrons fotoinduzida:** depende dos potenciais de oxidação e redução do estado excitado, uma vez que se tem a ocorrência de uma reação redox, podendo a supressão ocorrer pela via oxidativa ou redutiva. Pode ocorrer através da transferência de um elétron do orbital HOMO da espécie supressora para o orbital HOMO semipreenchido do PC no estado excitado (supressão redutiva) ou com a transferência de um elétron do orbital LUMO do PC excitado para um orbital da espécie supressora (supressão oxidativa). Com isso, o elétron excitado do PC não retorna imediatamente para o seu estado fundamental, ocorrendo a supressão. Devido a mudança do estado de oxidação das espécies o processo possui uma dependência com a natureza do solvente e com a temperatura, fato que implica na reorganização da esfera de solvatação das espécies envolvidas. À temperatura

ambiente se tem liberdade na reorganização da esfera de solvatação, favorecendo ao processo de transferência de elétrons. Em temperaturas baixas ou em meio viscoso se tem dificuldade na reorganização do solvente dificultando a eficiência do processo de transferência de elétrons.

- **Supressão de efeito de filtro interno:** ocorre quando o espectro de absorção da espécie supressora no sistema se sobrepõe ao espectro de emissão dos PC. Conhecido como supressão aparente, pelo fato do processo reduzir a intensidade de luminescência mas não extinguir, uma vez que a espécie supressora esta filtrando a emissão de uma partícula. Não ocorrendo mudança nos picos de absorção dos PC, indicando também que não houve formação de nova substância, não alterando o tempo vida da luminescência dos PC.

Tanto a supressão quanto o reforço são fenômenos passíveis de serem mensurados e correlacionados com a concentração de determinada espécie presente no meio, qualificando os pontos de carbono como um material promissor para a utilização como ferramenta analítica. Nesse sentido, na literatura podem ser encontrados trabalhos envolvendo os pontos de carbono para a determinação de analitos como óxido nítrico^[62], íon cobre(II)^[63], íon ferro(III)^[64], ácido ascórbico^[65] e fungicidas como cimoxanil^[66]. Em comum, tais estudos compartilham de uma resposta linear para a diminuição da intensidade luminescente em função da concentração dos analitos no meio.

1.4 Suplementos alimentares

Suplementos alimentares têm sido bastante utilizados por atletas de alto nível e por indivíduos fisicamente ativos que procuram repor ou complementar a carência de determinados nutrientes (vitaminas e minerais) ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico, sozinhos ou combinados. São comercializados em doses formuladas e feitos para serem usados em pequenas quantidades na forma de cápsulas, pastilhas, comprimidos, pós, entre outras formas comerciais, constituídos de determinadas substâncias com efeito nutricional ou fisiológico.^[67] Assim, para se atingir os efeitos desejados, é fundamental a correta dosagem do princípio ativo nesses suplementos.

Tais suplementos podem conter diferentes compostos na sua formulação, que disponibilizam cromo^[68], selênio^[69], cobalto^[70], zinco^[71], entre outros micronutrientes. Dessa forma, a quantificação rotineira e eficaz é essencial para se garantir os níveis nutricionais presentes nos rótulos dos produtos, conseqüentemente, a eficácia dos mesmos. Assim, é pertinente o desenvolvimento de novas metodologias para a quantificação de princípios ativos. Entre as principais técnicas utilizadas para tal fim, em princípios ativos que possuem um metal na sua estrutura, as mais usuais são espectrometria de absorção atômica por atomização eletrotérmica^[72], por chama^[73], geração de hidretos^[74], ICP-MS^[75] e fluorescência^[76].

O íon cromo(III) presente em suplementos alimentares já foi possível ser determinado, a partir, da atenuação da luminescência proveniente de um ponto quântico baseado em CdSe, em que se teve a recombinação em centros ativos na superfície da nanopartícula que interagiu com íon, permitindo assim um aumento no sinal e a quantificação do mesmo.^[77]

O cromo apresenta-se como um mineral-traço que participa de forma ativa no organismo, atuando no processo de transporte de aminoácidos para os músculos, o que favorece a redução de gordura corporal.^[78] O cromo co-atua com a insulina, através da sua participação em diversos processos metabólicos como o metabolismo de carboidratos e metabolismo de síntese proteica, melhorando a tolerância à glicose uma vez que promove maior estímulo da captação de aminoácidos pelas células.^[79]

A diabetes *mellitus* (DM) refere-se a um grupo de doenças metabólicas de etiologias heterogêneas, caracterizadas por hiperglicemia e distúrbios no metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina.^[80] Os tipos de DM mais frequentes são o tipo 1, conhecido como diabetes juvenil, correspondendo a cerca de 10 % do total de casos e o tipo 2, conhecido como diabetes do adulto, relacionado a cerca de 90 % do total de casos. A DM tipo 1 é autoimune, pois o sistema imunológico destrói as células β pancreáticas, com isso, pouco ou nenhuma insulina é liberada e a glicose, então não é absorvida pelas células. Já na DM tipo 2 ela se ocasiona quando o organismo do indivíduo não consegue fazer uso de forma correta da insulina que produz, com isso não se tem um suficiente controle glicêmico.^[81]

Segundo dados divulgados em 2019, pela Federação Internacional de Diabetes (IDF, International Diabetes Federation), o Brasil tem 16,8 milhões de adultos diabéticos, entre 20 e 19 anos, o que equivale a 11,4 % da população nessa faixa etária. É o maior número

relacionado aos países da América Latina, Figura 1.8, e o quinto no mundo, atrás apenas de China, Índia, Estados Unidos e Paquistão, Figura 1.9. Deste o último levantamento realizado em 2017 pela IDF, o número de casos no Brasil cresceu 31 %, contudo cerca de metade da população desconhece ter a doença.^[82]

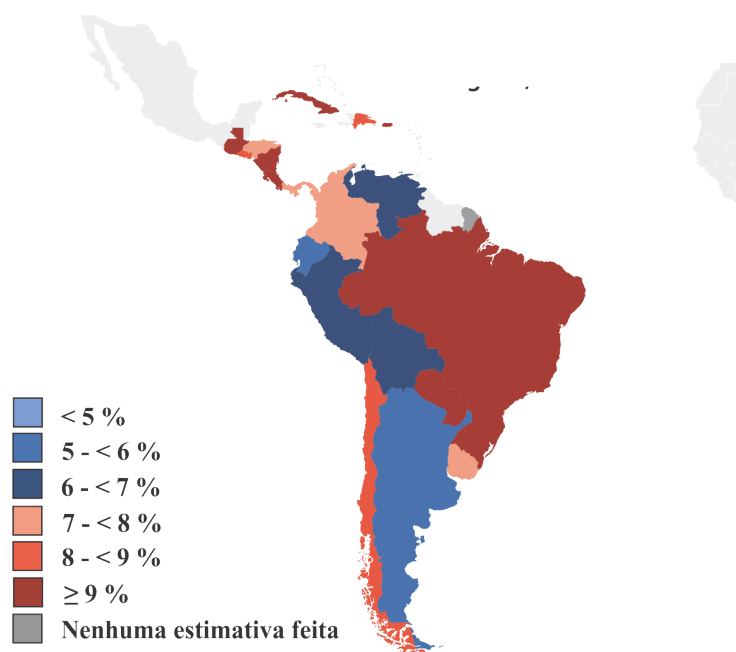


Figura 1.8 – Prevalência do percentual de diabéticos por idade (20 - 79 anos) na América Latina em 2019. Fonte: IDF 2019.

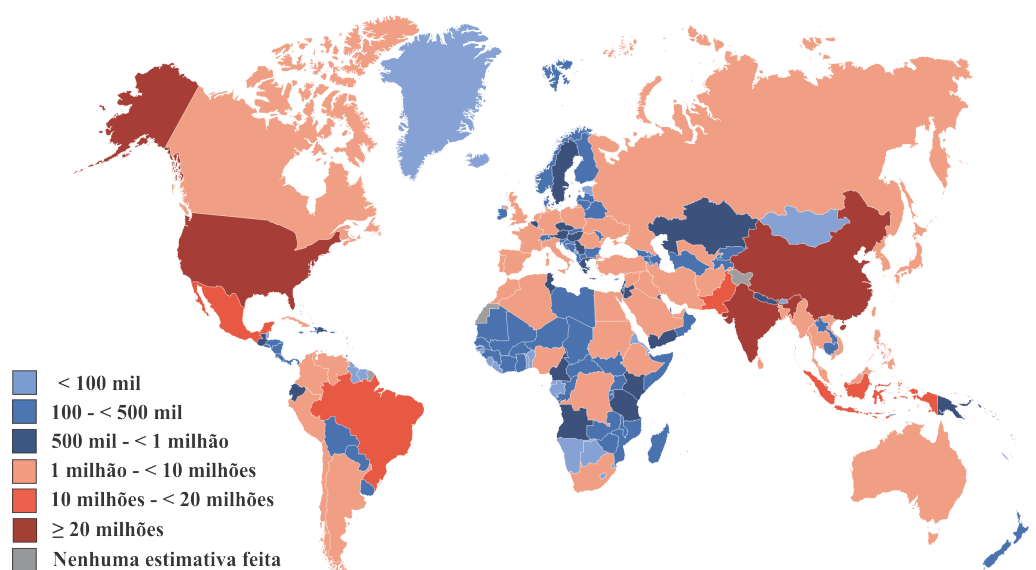


Figura 1.9 – Número total estimado de adultos (20 - 79 anos) com diabetes no mundo em 2019. Fonte: IDF 2019.

Tais dados ressaltam a importância de uma dieta alimentar rica no mineral cromo que venha à auxiliar no controle do aumento dos números de casos de diabetes, uma vez que sua deficiência na dieta contribui para a intolerância à glicose e alterações prejudiciais relacionadas ao perfil lipídico. Contudo, a absorção de cromo pelo organismo na sua forma livre é baixa, porém as formas orgânicas complexadas desse mineral atuam de forma significativa. Dentre elas destaca-se o picolinato de cromo (PicCr), Figura 1.10, um complexo não tóxico quando ingerido em dosagens adequadas.^[83,84] O PicCr é composto por três moléculas do ácido picolínico e uma molécula de cromo(III), sendo o ácido picolínico um derivado do aminoácido triptofano, o qual tende a facilitar a absorção do cromo(III) no organismo.^[85] Possui solubilidade limitada em água (0,6 mM em pH neutro), bem como, em solventes comuns a este e não apresenta-se lipofílico.^[86,87]

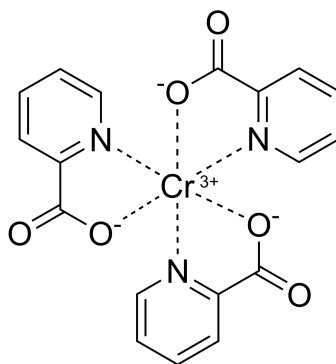


Figura 1.10 – Estrutura química do picolinato de cromo (PicCr).

O uso de suplementação de cromo, na forma de PicCr, apresenta efeitos benéficos em pacientes adultos com *diabetes mellitus* tipo 2, melhorando o controle diabético, devido o resultado de uma melhora na estimulação de absorção de glicose, e da interação com hormônios e neurotransmissores envolvidos na regulação da apetência.^[88,89] Embora não seja observado nenhum efeito nas concentrações de insulina e glicose pela utilização do PicCr por pessoas saudáveis, seu uso pode aumentar a sensibilidade pela insulina e diminuir a concentração sérica de glicose juntamente com a produção de insulina.^[90]

Os suplementos alimentares, como o PicCr, apesar de serem indicados para apenas determinadas condições, tendem a ser vastamente consumidos, praticamente sem recomendações relacionadas à quantidade, tempo e frequência de ingestão. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Suplementos para Fins Especiais (ABIAD) em 2017, cerca de 54 % dos brasileiros conhecem pelo menos uma pessoa que faz uso de suplementação em sua dieta. Facilmente é possível se confrontar em um supermercado com variados tipos de

suplementos alimentares, podendo ser obtidos sem aconselhamento de um profissional de saúde, o que pode acarretar futuras complicações para a saúde do indivíduo, bem como em canais de distribuição com venda direta ao consumidor (internet, televisão e revistas) sem garantia de qualidade e segurança. E as brechas até então existentes pela legislação brasileira possibilitam a comercialização desses produtos sem os controles necessários.

Dessa forma, recentemente foi publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a Instrução Normativa - IN nº 28 de 26/07/2018, em que a categoria de suplementos alimentares é destinada para indivíduos saudáveis que buscam complementação de nutrientes, substâncias bioativas, enzimas ou probióticos em complemento a sua dieta alimentar. Não sendo legislados como medicamentos, não podem ser prescritos para prevenção, tratamento ou cura de doenças. Atualmente a categoria suplementos substitui as antigas designações de "alimentos para atletas", "alimentos para gestantes", "suplementos vitamínicos e minerais", com regras incluindo limites mínimo e máximo, populações indicadas, constituintes autorizados e alegações com comprovação científica.^[91] No que diz respeito ao cromo, os limites mínimos e máximos que devem ser fornecidos por suplementos na recomendação diária estão apresentados na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Limites mínimos e máximos de cromo que devem ser fornecidos pelos suplementos alimentares na recomendação diária de consumo e por grupo populacional indicado pelo fabricante. Fonte: ANVISA

Limites	Mínimo (μg)	Máximo (μg)
0 a 6 meses	0,03	0,30
7 a 11 meses	0,825	8,25
1 a 3 anos	1,65	16,5
4 a 8 anos	2,25	22,5
9 a 18 anos	5,25	52,5
≥ 19 anos	5,25	250,0
Gestantes	4,5	45,0
Lactantes	6,75	67,5

O setor de suplemento alimentar devera se adequar a norma vigente até 2023, ano em que terá início a efetiva fiscalização.

1.5 Estado da arte

Materiais de dimensões nanométricas constituídos de carbono apresentam habilidades únicas, uma vez que os átomos de carbono participam de ligações covalentes com outros átomos em diferentes estados de hibridização (sp , sp^2 e sp^3) ou, ainda, com elementos não metálicos, permitindo formar uma diversidade de estruturas denominadas nanoalótropos de carbono, como é o caso dos pontos de carbono. Tal material apresenta-se em grande evidência devido ao seu diversificado potencial de utilização, o qual está intrinsecamente relacionado às suas propriedades luminescentes, permitindo, entre outros, o desenvolvimento de sensores seletivos para aplicações analíticas e bioanalíticas.^[32]

Atualmente, esforços têm sido destinados para o desenvolvimento de novas sínteses de pontos de carbono para a aplicação em química analítica, baseando-se principalmente em alterações da resposta luminescente do ponto de carbono em função de mudanças no seu ambiente químico.^[61] Fazendo atuarem como sensores analíticos para a determinação de diversas matrizes.

Nesse sentido, Zhao e colaboradores^[92] sintetizaram pontos de carbono dopados com nitrogênio através de método hidrotérmico usando poliacrilamida como fonte de carbono e nitrogênio. Os pontos de carbono, manifestando luminescência na região do azul, apresentaram rendimento quântico de 23,1 %, diâmetro médio de 3 nm, e solubilidade em água. A partícula foi empregada como sonda para detecção seletiva de dopamina. Isto foi possível devido à interação, em meio alcalino, entre a espécie de interesse e os pontos de carbono provocarem a extinção da luminescência, sendo observada uma correlação linear entre concentração da espécie de interesse e a diminuição da intensidade do sinal. Foi obtida uma faixa de 0,1 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com limite de detecção de 0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Assim, o material foi aplicado com sucesso para a determinação de dopamina em amostras de urina, com recuperações satisfatórias.

Pontos de carbono preparados por tratamento hidrotérmico, a partir de resíduos da casca de durian (*Durio zibethinus*), foram empregados por Jayaweera e colaboradores^[93] para a detecção de íon ferro(III). A presença de ácidos carboxílicos, ésteres e aminas na casca do fruto contribuíram para modificações na superfície do ponto de carbono resultando em um rendimento quântico de 6,2 %, valor duas vezes maior que de outros pontos de carbono derivados de precursores puros de celulose. As partículas apresentaram

diâmetro médio de 3,2 nm. Com luminescência na região do azul, o sensor mostrou-se seletivo para íon ferro(III) através da formação de um complexo não luminescente com os grupos funcionais de oxigênio, sendo assim, empregados para detectar concentrações em uma faixa de 0 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com limite de detecção de 120 nmol L^{-1} . O método foi aplicado com êxito para a detecção de íon ferro(III) em amostras de água potável, água proveniente de lago e água do mar.

Ju e colaboradores^[94] sintetizaram pontos de carbono pelo método hidrotérmico empregando (*orto*-fenilenodiamina como precursor. Os PC, apresentando emissão na região do vermelho, foram utilizados como sonda luminescente na detecção de hematina em glóbulos vermelhos humanos. Os pontos de carbono, obtidos em condições ácidas e com emissão dependente do pH, exibiram tamanho médio de 2,7 nm e rendimento quântico de 12,8 %, além de excelentes propriedades ópticas. O sistema de detecção desenvolvido para hematina exibiu uma resposta linear na faixa compreendida entre 0,4 a 32 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de 0,18 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Em uma outra abordagem, Hoan e colaboradores^[95] relataram, pela primeira vez, a síntese de pontos de carbono para aplicação na marcação e detecção de íon molibdênio(VI). Os pontos de carbono foram sintetizados pelo método hidrotérmico utilizando suco de limão como precursor de carbono, sendo empregadas diferentes temperaturas (200, 240 e 280 °C) a fim de controlar a luminescência do fluoróforo. O material sintetizado apresentou forte emissão na região do verde, partículas de tamanho médio de 3 nm e rendimento quântico de 24 % (síntese a 280 °C). O material mostrou-se adequado para a detecção seletiva de íon Mo^{6+} , com limite de detecção de 20 mg L^{-1} , além de potencial para aplicação em rotulagens e sistemas optoeletrônicos.

Em um outro trabalho, proposto por Jia e colaboradores^[96], os compostos *para*-fenilenodiamina e ácido cítrico foram usados para obtenção de pontos de carbono por síntese hidrotérmica. Os PC apresentaram luminescência na região do laranja, tamanho extremamente reduzido ($1,62 \pm 0,35$ nm) e rendimento quântico igual a 4,8 %, além de solubilidade em água. A interação entre o ponto de carbono e a espécie de interesse foi responsável pelo reforço da luminescência, possibilitando a utilização do material como sonda na detecção de nitrito (NO^{2-}) em amostras de salsicha, picles e água potável.

Du e colaboradores^[97] sintetizaram pontos de carbono dopados com enxofre, pelo método hidrotérmico, com luminescência estável na região do azul e rendimento quântico de

32 %. Como fontes de carbono e enxofre foram utilizados ácido ascórbico e ácido tioglicólico. Os PC obtidos apresentaram sensibilidade e seletividade com supressão na resposta luminescente para íon ferro(III) variando a concentração de 0 a 200 μM e limite de detecção de 0,05 μM . O PC também apresentou supressão de sinal luminescente na presença de H_2O_2 em solução com íon ferro(II), uma vez que este era oxidado para ferro(III) e a diferença na intensidade de luminescência antes e após a adição de H_2O_2 foi usada para detecção dos respectivos íons. Contudo o PC proposto pode ser aplicado para a detecção de íon ferro(II) e ferro(III) em amostras de gluconato ferroso (suplemento de ferro).

Fazendo uso de pontos de carbono dopados com nitrogênio Tabaraki e Abdi^[98] desenvolveram um sensor para a determinação de ácido aspártico em suplementos esportivos. A síntese foi realizada por micro-ondas utilizando ácido cítrico e uréia solubilizados em água como fonte de carbono. Os PC obtiveram tamanho médio igual a 10 nm. Foi utilizado no estudo para realização das medidas a solução da nanopartícula em pH=8, devido a desprotonação de grupos funcionais na superfície do PC e ácido aspártico que leva a intensidades de sinal nesse pH e comprimento de onda máximo de excitação de 360 nm com emissão em 450 nm. A faixa linear e o limite de detecção obtido foram de 0,5 a 50 μM e 90 nM, respectivamente.

Pontos de carbono preparado por método solvotérmico utilizando ácido cítrico e uréia foram desenvolvidos por Omer e colaboradores.^[54] Os PC sintetizados, com tamanho entre 2 e 3 nm, apresentam luminescência na região do verde com rendimento quântico de 15 %. A nanopartícula apresentou detecção seletiva para íon ferro(III), através da supressão do sinal de luminescência, com resposta linear na faixa de concentração entre 0,1 a 0,9 μM e limite de detecção de 50 nm.

Através de uma síntese por oxidação química utilizando ácido cítrico e solução aquosa de peróxido de hidrogênio, um PC com luminescência verde (emissão máxima de 490 nm), com tamanho médio de 3,6, foi obtido por Huangfu e colaboradores^[99]. O PC apresentou-se como um bom sensor para a determinação de íon cromo(III), exibindo uma resposta linear na faixa de concentração de 0,2 a 55 μM e limite de detecção de 0,2 μM . O PC pode ser empregado para a detecção de cromo(III) em água de torneira.

Em um considerável número de trabalhos, os sensores baseados em pontos de carbono compartilham a seletividade para as espécies de interesse e o consequente reforço ou supressão da luminescência, sendo capazes de produzir uma resposta linear e apresentarem

exatidão, precisão, ótimos limites de detecção e de quantificação, além de recuperação passível de ser quantificada. Assim, tais figuras de mérito qualificam os pontos de carbono como um material promissor para a utilização em química analítica.^[100]

Embora os pontos de carbono apresentem um grande potencial para diversas aplicações, é observado um reduzido número de trabalhos que os empregam no desenvolvimento de sensores para aplicações analíticas. Diante deste fato, a presente dissertação procura sintetizar e caracterizar um ponto de carbono com luminescência na região do vermelho, observando as suas características luminescentes concomitantemente às figuras de mérito, a fim de se obter um sensor otimizado para a determinação de íon cromo(III) em amostras de suplementos alimentares, amostras essas que não possuem, até então, um controle fiscal atuante sobre as concentrações presentes na formulação.

CAPÍTULO

2

OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

Sintetizar pontos de carbono portando características para atuar como sensores na determinação de cromo(III) em suplementos.

2.2 Objetivos específicos

- Obter partículas de carbono, provenientes da *para*-fenilenodiamina, de dimensões nanométricas e luminescentes, por método solvotérmica.
- Investigar as propriedades luminescentes do ponto de carbono, bem como caracterizá-lo, determinando o rendimento quântico.
- Desenvolver uma metodologia de quantificação utilizando instrumentação portátil.
- Avaliar figuras de mérito como a faixa linear de trabalho e limites de detecção e de quantificação.
- Comparar a metodologia com método por espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão em energia (EDX).

CAPÍTULO

3

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e solventes utilizados

Os reagentes e solventes empregados listados a seguir foram de grau analítico.

- Acetona (CH_3COCH_3 , $\geq 99,0$ % - Synth),
- Acetonitrila (ACN) (CH_3CN , $\geq 99,0$ % - Vetec),
- Ácido clorídrico (HCl , 37,0 % - Neon),
- Ácido nítrico (HNO_3 , 65,0 % - Sigma Aldrich),
- Álcool etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, $\geq 99,0$ % - Dinâmica),
- Cloreto de cromo(III) hexahidratado ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 97 % - Merck),
- Clorofórmio (CHCl_3 , $\geq 99,0$ % - Sigma Aldrich),
- Éter Etílico ($\text{CH}_3\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\geq 99,0$ % - Neon),
- Hexano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$, $\geq 99,0$ % - Dinâmica),
- Metanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$, 99,8% - Sigma Aldrich),
- *Para*-fenilenodiamina ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$, 98 % - Sigma Aldrich),
- Piridina ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, 99,0 % - Dinâmica),
- Tetracloreto de carbono (CCl_4)(CCl_4 , $\geq 99,0$ % - Merck),
- Tetrahidrofurano (THF)($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$, 99 % - Sigma Aldrich),
- Rodamina B ($\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_3$, 95 % - Sigma Aldrich),
- Sílica-gel de grau cromatográfico (6 nm, 70-230 mesh - Sigma Aldrich)
- 1-butanol ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$, 99 % - Merck)
- 1-octanol ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$, 99 % - Sigma Aldrich)

Todos os reagentes foram utilizados sem etapas de purificação adicionais. A água empregada foi destilada e deionizada a $18\text{ M}\Omega\text{ cm}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Milli-Q, Millipore Corporation). Toda a vidraria utilizada foi limpa com solução ácida (10 partes de água deionizada para 1 parte de HNO_3 , $v\text{ }v^{-1}$), em banho ultrassônico por 50 minutos e em seguida lavada com água ultrapura.

3.2 Amostras

Os suplementos alimentares contendo picolinato de cromo(III) foram adquiridos em estabelecimentos da cidade de João Pessoa - PB, sendo um total de três amostras contidas em forma de cápsulas utilizadas para ingestão por via oral. As informações referentes às amostras, contidas nas respectivas embalagens, estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Descrição das informações referentes às amostras de suplementos.

Identificação	Tipo	Teor de cromo(mg g^{-1})	Validade
Sup1	Comercial	0,107	05/2021
Sup2	Manipulada	0,509	11/2019
Sup3	Manipulada	0,403	11/2019

Os excipientes presentes na amostra comercial são aerosil (dióxido de silício coloidal), celulose microcristalina, lauril éter sulfato de sódio e amido, conforme descrição do rótulo do produto

3.3 Preparação do ponto de carbono

A síntese e purificação do ponto de carbono (PC) da *para*-fenilenodiamina foram realizados de forma semelhante à metodologia relatada na literatura^[101] e são descritas a seguir.

3.3.1 Procedimento de síntese

O PC foi obtido a partir da reação de síntese pela rota solvotérmica da *p*-fenilenodiamina em etanol puro, Figura 3.1. Inicialmente, 0,9 g do reagente foi solubilizados em 90 mL de etanol. A solução obtida foi vertida em um recipiente de politetrafluoretileno e acondicionado em uma autoclave de aço inox (capacidade máxima de 120 mL), o conjunto foi levado para o interior de uma mufla, previamente aquecida à 180 °C, e ficou sobre aquecimento durante o período de 12 h. Transcorrido esse tempo, o conjunto foi arrefecido à temperatura ambiente. A solução obtida, de coloração escura, foi levada a um evaporador rotatório tendo o volume reduzido para cerca de 1 mL. A solução então foi solubilizada com 20 mL de uma mistura de clorofórmio e metanol (20:1 v v⁻¹).

3.3.2 Procedimento de purificação

O material foi purificado em uma única etapa por cromatografia em coluna empregando sílica-gel, Figura 3.1. Uma alíquota de 4 mL da amostra foi cuidadosamente inserida na coluna com SiO₂, utilizando clorofórmio e metanol (20:1 v v⁻¹) como eluente. Sob a incidência de luz na faixa de 405 nm, foi possível observar três frações que eluíram, em ordem, azul, verde e vermelha, respectivamente. A adição do eluente na coluna foi interrompida somente após ocorrer a separação por completa da fração luminescente vermelha.

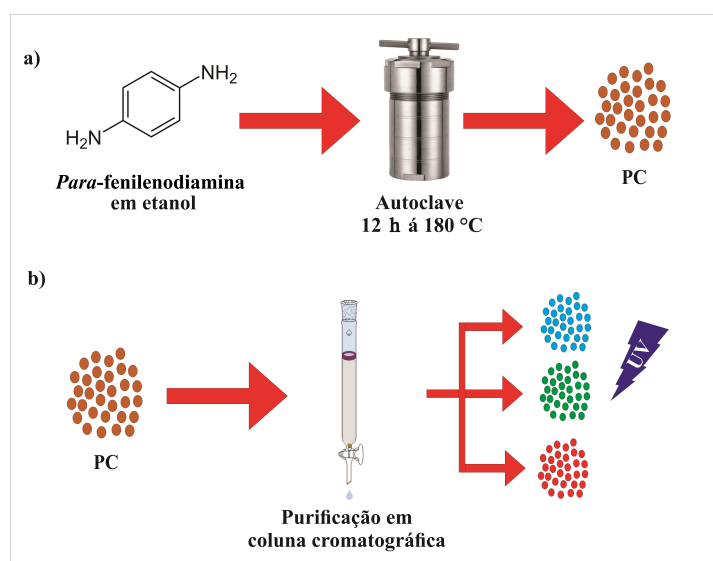


Figura 3.1 – a) Procedimento de síntese do PC; b) procedimento de purificação.

3.4 Caracterização do ponto de carbono

A caracterização do material sintetizado e purificada foi realizada empregando o conjunto de técnicas descritas a seguir. Para as análises que faziam uso da massa do PC, a mesma foi obtida deixando o solvente ser evaporado à temperatura ambiente, em capela com exaustor, e posteriormente o material ficou acondicionado em dessecador por uma semana, para análises posteriores.

3.4.1 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

Aspectos nanoestruturais das partículas foram avaliados através das micrografias adquiridas por TEM. As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de transmissão JEOL, modelo JEM-1200 operando em 120 kV. Após as amostras serem suspensas em etanol (5 minutos em banho de ultrassom à temperatura ambiente), com o auxílio de uma micropipeta, uma gota da suspensão foi depositada em uma grade de cobre de 300 mesh, recoberta com filme de carbono amorfo. As análises foram realizadas no Centro de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram selecionadas aleatoriamente 145 partículas em diferentes imagens utilizando o *software* ImageJ (versão 1.8.0.112 de 64 bit) e o histograma com a distribuição do tamanho das partículas foi obtida através do *software* OriginPro (versão 8.5.1.315 de 64 bit).

3.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises foram realizadas em um espectrofotômetro modelo IRTracer-100 FTIR (Shimadzu). Os espectros foram obtidos com 32 varreduras e com 4 cm^{-1} de resolução na faixa entre 400 e 4.000 cm^{-1} . As amostras foram preparadas pela diluição em KBr e posterior confecção de pastilhas de 10 mm de diâmetro. O pó de KBr contendo o PC compactado em uma prensa hidráulica manual Shimadzu, utilizando pressão igual a 60 kgf cm^{-2} e, logo em seguida, analisados.

3.4.3 Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)

A aquisição dos espectros de XPS foi realizada em um espectrômetro modelo EA-125 (OMICRON). Os raios X foram gerados a partir de um ânodo de alumínio, sendo utilizada a radiação Al-K α , com energia de 1.486,6 eV, incidindo a um ângulo de 90° em relação ao eixo do analisador de elétrons. As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Análise de Superfícies (LAMAS), localizado no Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A porcentagem atribuída a composição química obtida a partir dos espectros de baixa resolução foi calculada através do *software* CasaXPS (Versão 2.3.22 de 64 bit) e as imagens geradas via *software* OriginPro (versão 8.5.1.315 de 64 bit).

3.4.4 Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

O espectro de absorção molecular foi registrado à temperatura ambiente em um espectrofotômetro UV-Vis modelo 8453 (Hewlett-Packard), usando uma cubeta de quartzo com 10 mm de caminho óptico com varredura entre 200 e 800 cm⁻¹, utilizando água como solvente.

3.4.5 Espectroscopia de luminescência

Os espectros de luminescência (excitação e emissão) do ponto de carbono foram registrados à temperatura ambiente em espectrofluorímetros modelos FLUOROLOG-3 (Horiba Jobin-Yvon) e G9800A (Agilent Cary Eclipse) equipados com lâmpada de xênonio. Uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm foi empregada para realização das medidas.

Para os ensaios de quantificação do analito envolvendo o ponto de carbono foi utilizado um espectrofluorímetro portátil modelo USB4000 (Ocean Optics), sendo empregado como fonte de excitação um diodo emissor de luz (LED) com ângulo de visão de 120° e comprimento de onda de emissão máximo de 515 nm, sendo alimentado por uma fonte modelo FA-3005 (Instrutherm), utilizando-se voltagem de 3,3 V e corrente de 430 mA.

Tais valores foram utilizados considerando-se as recomendações de voltagem e amperagem máximas apresentadas pelo fabricante, 3,6 V e 700 mA, respectivamente. Foi empregado uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico para realização das medidas. O sistema, com os componentes utilizados, é apresentado na Figura 3.2. Os espectros foram obtidos utilizando o *software* spectrasuite (versão 2.0.162 de 64 bit) e posteriormente tratados usando o *software* OriginPro (versão 8.5.1.315 de 64 bit).

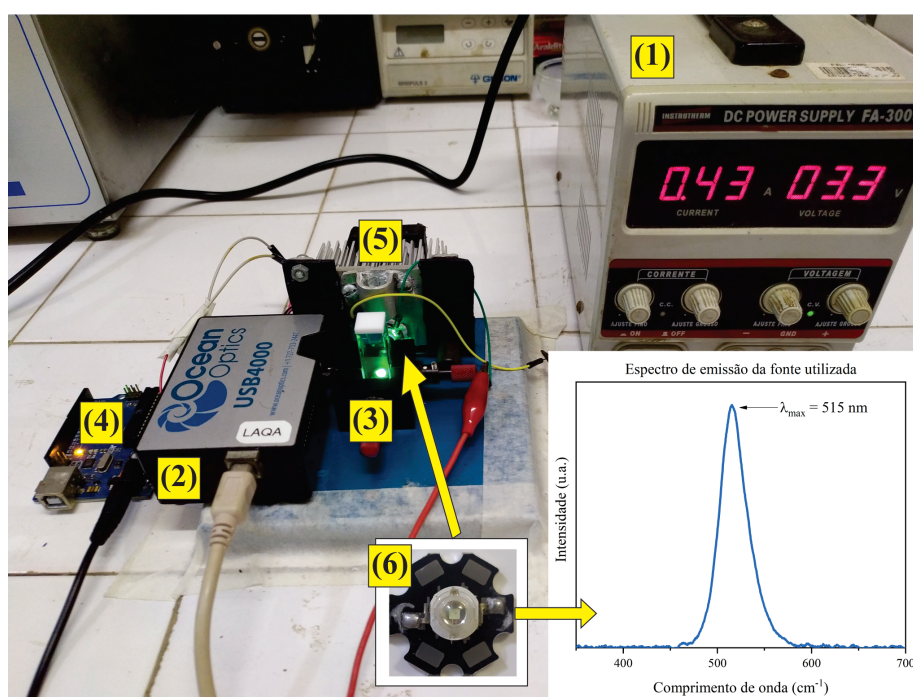


Figura 3.2 – Fotografia do equipamento utilizado: (1) fonte de alimentação para o LED; (2) detector fluorescente; (3) suporte para a cubeta; (4) placa arduino para alimentação do cooler; (5) dissipador de calor com cooler; (6) LED montado sobre dissipador estrela. Em destaque, a imagem referente ao espectro de emissão do LED utilizado com emissão máxima de 515 nm.

O LED utilizado como fonte de excitação ficou posicionado de modo a se obter um ângulo de 90° com o sistema de detecção utilizado. A fim de evitar o aquecimento do LED, foi empregado um conjunto formado por um dissipador de calor (com dimensões de 7 x 3,5 x 3,5 cm) e um cooler (de 12 V com dimensões de 4 x 4 cm) alimentado através de uma placa arduino. Manteve-se todo o conjunto fixado sobre a bancada durante a realização de todas as medidas.

3.4.5.1 Rendimento quântico do ponto de carbono

Para a determinação do rendimento quântico realizaram-se as medidas conforme descritas na literatura^[102]. Como padrão de referência foi usado rodamina B com rendimento quântico de 31 %, em água.^[103] Uma vez que, apresenta uma ampla faixa estendida de comprimento de onda relevante para o estudo, com uma resposta satisfatória de emissão na região do vermelho.^[104]

Os espectros de fluorescência e absorção do PC e do fluoróforo foram registrados em 490 nm. Foram registrados 6 distintos valores de absorbância na faixa entre 0,004 e 0,01, para minimizar o efeito de filtro interno. O valor de rendimento quântico foi então obtido pela Equação 3.1

$$\Phi_A = \Phi_P \cdot \frac{Grad_A \cdot \eta_A^2}{Grad_P \cdot \eta_P^2} \quad (3.1)$$

Onde Φ refere-se ao rendimento quântico, Grad corresponde à inclinação das curvas obtidas a partir da relação entre a absorbância e as áreas das curvas de emissão, referente ao padrão e ao PC, η é o índice de refração do solvente (1,33 para a água) e os subíndices "A" e "P" referem-se à amostra e ao padrão utilizados, respectivamente.^[105]

3.4.5.2 Influência do solvente sobre o ponto de carbono

Alíquotas de 500 μL do PC (2,8 mg L⁻¹) foram transferidas individualmente para béqueres de 10 mL e mantidas à temperatura ambiente para que o solvente fosse evaporado. Posteriormente, 1.500 μL de solventes com diferentes polaridades foram utilizados para solubilizar o PC ali contido. Os solventes utilizados, seguindo a ordem crescente de polaridades dos mesmos, foram: CCl₄, éter etílico, THF, clorofórmio, piridina, acetona, ACN, 1-octanol, 1-butanol e água, respectivamente.

3.4.5.3 Influência do pH

Realizou-se um estudo a cerca do efeito do pH sobre o PC com relação à intensidade de fluorescência. A variação do pH foi feita com o uso de soluções de HCl e NaOH em uma

faixa entre 3,5 e 10,5, sendo controlada por meio de um pHmetro modelo 713 (Metrohm). Uma alíquota de 250 μL do PC foi diluído com 250 μL da solução de pH conhecido e as medidas de luminescência foram realizadas após transcorrer o tempo de 5 minutos.

3.5 Ensaios analíticos

3.5.1 Íon cromo(III)

As soluções de íon cromo(III) foram obtidas a partir do sal de cloreto de cromo (CrCl_3). Uma solução estoque contendo 380 mg L^{-1} do íon cromo(III) foi preparada dissolvendo 9,5 mg do reagente em água ultrapura e elevando o volume final para 25 mL em balão volumétrico, com o mesmo solvente. As diluições a partir da solução estoque foram preparadas nas seguintes concentrações: 8,33; 12,5; 16,6; 21,4; 25; 28,5; 33,3; 35,7; 41,6 mg L^{-1} .

A curva analítica foi construída utilizando alíquotas de 250 μL de PC (17,5 mg L^{-1}) misturadas a alíquotas de 250 μL da solução contendo diferentes concentrações do padrão analítico, respeitando o tempo de contato de 5 minutos.

3.5.2 Quantificação de cromo(III) em amostras de suplemento alimentar

3.5.2.1 Via luminescência empregando ponto de carbono

Três amostras de suplementos (sup1, sup2 e sup3) foram utilizadas nos ensaios, contendo, segundo o fabricante, $2,5 \times 10^{-4}$ g, 6×10^{-4} g e 6×10^{-4} g de picolinato de cromo(III), respectivamente.

As amostradas foram preparadas de forma semelhante seguindo metodologia relatada na literatura^[106,107]. Inicialmente, a massa de cada amostra foi medida em balança, sendo a massa referente a 8 cápsulas para a amostra sup1 e a massa constituída de 4 cápsulas para as amostras sup2 e sup3. As amostras foram digeridas em béqueres com água régia

(3 partes de HCl para 1 parte de HNO₃, v v⁻¹) durante um período de 24 h, usando a proporção de 1 mL da solução ácida para cada 100 mg de amostra. Transcorrido esse período, foi realizado aquecimento à 75 °C durante 4 h, sendo adicionados pequenos volumes de água ultrapura à medida que o volume do solvente era evaporado. As amostras foram arrefecidas à temperatura ambiente e em seguida tiveram o valor de pH elevado para 7 com a adição de NaOH concentrado, medindo utilizando papel indicador e ajustado posteriormente com peagâmetro, afim de ter uma solução com faixa estável e sinal de emissão considerável para medição. As soluções foram aferidas em balão volumétrico de 10 mL com água ultrapura. As amostras foram analisadas em triplicata.

As medidas foram realizadas utilizando-se de 250 µL de PC (17,5 mg L⁻¹) misturadas à alíquotas de 250 µL da solução das amostras, respeitando o tempo de contato de 5 minutos.

3.5.2.2 Via espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão em energia

A metodologia empregando o ponto de carbono foi comparada com a técnica de fluorescência de raios X por dispersão em energia utilizando um espectrômetro EDX-8000 (Shimadzu). As amostras foram secas e moldadas em pastilhas de 10 mm de diâmetro utilizando pressão igual a 60 kgf cm⁻².

Para a curva analítica, alíquotas com 25 µL de soluções de cloreto de cromo(III) hexaidratado com diferentes concentrações foram depositadas em 500 mg de cera hoechst micropuverizada, sendo então, adicionados 2 mL de metanol. Após a homogeneização da suspensão em ultrassom, o solvente foi evaporado sob condições ambientes. Os pontos da curva, na forma de pó, foram prensados e analisados, sendo produzidos pontos na faixa de concentração entre 0,01 e 0,1 % (m m⁻¹) de cromo(III).

3.5.3 Análise estatística

O método de determinação de cromo(III) em amostras de suplementos empregando PC foi avaliado utilizando como método de referência a determinação por EDX. Foram utilizados para verificar a existência de diferenças estatísticas entre os métodos, o teste F,

para a avaliação da precisão, e o teste *t-Student*, para verificar se as médias obtidas pelos métodos fornecem resultados estatisticamente equivalentes para um nível de confiança de 95 %.

Para aplicação do teste *t-Student*, fez-se uso da Equação 3.2, onde, \bar{d} representa a média da diferença entre os métodos, S_d é o desvio padrão da diferença da média e N o número de graus de liberdade.

$$t_{calculado} = \frac{\bar{d}}{\frac{S_d}{\sqrt{N}}} \quad (3.2)$$

Para obtenção do valor referente do teste F usou-se a Equação 3.3, onde, s_1^2 é o quadrado do desvio padrão do método usando o PC e s_2^2 é o quadrado do desvio padrão do método de referência por EDX.

$$F_{calculado} = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (3.3)$$

CAPÍTULO

4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Pontos de carbono

As características e funcionalidades relacionadas ao ponto de carbono sintetizado e purificado são discutidos a seguir e objetivam evidenciar a integridade da nanopartícula avaliando as propriedades luminescentes do material.

4.1.1 Obtenção

Após a etapa de síntese se obteve um material de cor escura, Figura 4.1, com luminescência vermelha, ao incidir sobre a mesma um feixe de laser de 405 nm. O material então solubilizado na mistura clorofórmio:metanol (20:1 v v⁻¹) foi purificado em coluna cromatográfica. A purificação rendeu a separação de três frações luminescentes distintas de coloração azul, verde e vermelha. Na Figura 4.2 está discriminada parte das etapas ocorridas durante a purificação na coluna.



Figura 4.1 – Imagem da massa de PC obtida da síntese após redução do volume em evaporador rotatório.

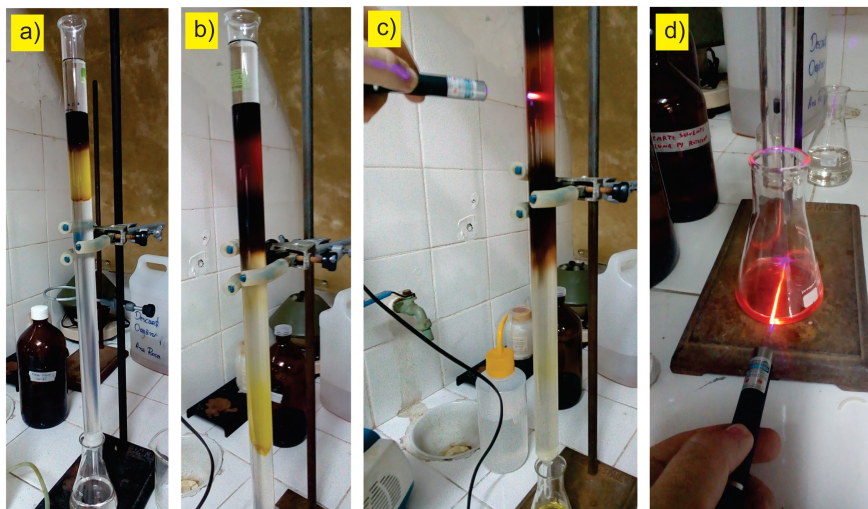


Figura 4.2 – Imagem do procedimento de purificação do PC na coluna cromatográfica: a) e b) amostra sendo separada em diferentes frações através da passagem do eluente; c) e d) fração luminescente de coloração vermelha sendo distinguida com o uso de um laser com comprimento de onda de 405 nm.

O volume coletado referente às frações luminescentes azul e verde foi extremamente reduzido, não sendo possível medir a massa obtida desses pontos de carbono, tampouco utilizá-los para as diversas caracterizações e demais testes. Diante disso, a continuação do trabalho se ateve aos estudos referentes à fração luminescente vermelha, a qual apresentou um rendimento igual a 4,0 % (m m^{-1}).

4.1.2 Aspecto morfológico

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (Figura 4.3) revelam partículas de dimensões nanométricas, esferoidais, apresentando diâmetro médio da ordem de 8 a 9 nm.

A Tabela 4.1 apresenta os resultados obtidos para o PC sintetizado nesse trabalho juntamente com os resultados de trabalhos semelhantes que obtiveram seus máximos de emissão compreendidos na região do vermelho. É possível observar que apesar das partículas apresentarem valores distintos para os tamanhos médios, seus comprimentos máximos de emissão ocorreram na região de menor energia (λ_{emi} entre 600 - 640 nm).

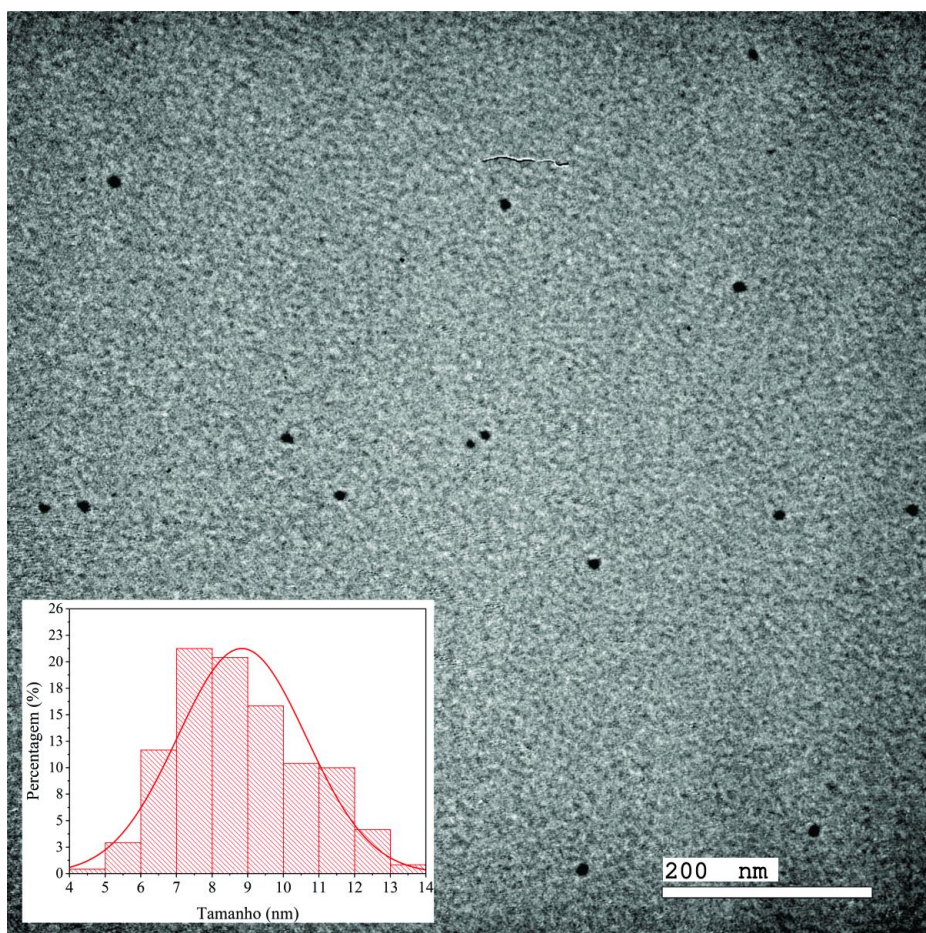


Figura 4.3 – Imagem dos PC obtida por TEM evidenciando (a) as dimensões e morfologia dos pontos de carbono e (b) gráfico representando a dispersão dimensional das nanopartículas.

Tabela 4.1 – Comparativo de PC obtidos por TEM em que as partículas apresentam luminescência na região do vermelho (λ_{emi} entre 600 - 640 nm).

Precursor	Método de síntese	Tamanho (nm)	λ_{max} de emissão (nm)	Referência
<i>para</i> -fenilenodiamina	Solvotérmico	8,5	622	O presente trabalho
Ácido cítrico + uréia + fluoreto de sódio	Micro-ondas	10,0	600	[108]
Ácido cítrico + vermelho neutro	Hidrotérmico	3,5	632	[109]
Ácido cítrico + etanodiamina	Solvotérmico	4,1	627	[110]
Suco de limão	Solvotérmico	4,6	631	[111]
<i>para</i> -fenilenodiamina + ácido fosfórico	Hidrotérmico	2,4	622	[112]
1,3-dihidroxinaftaleno	Solvotérmico	5,0	628	[6]
ácido polietiofeno fenilpropiónico	Hidrotérmico	10,0	640	[113]
<i>para</i> -fenilenodiamina	Solvotérmico	10,0	604	[101]
<i>orto</i> -fenilenodiamina	Hidrotérmico	5,7	630	[114]

4.1.3 Características químicas

Os espectros de FTIR para o ponto de carbono e para o seu reagente de partida (*para*-fenilenodiamina) são apresentados na Figura 4.4. Comparando os espectros é possível observar o surgimento de algumas bandas características entre $2.846 - 2.923 \text{ cm}^{-1}$, 1.456 cm^{-1} e 1.225 cm^{-1} , as quais podem ser atribuídas aos estiramentos C-H, C-N e C-O, respectivamente. A presença desses estiramentos significa que ocorreram reações de decomposição, ciclização intermolecular e de condensação durante a síntese dos pontos de carbono.^[101] Além de vibrações para alongamento de O-H/N-H ($3.410 - 3.200 \text{ cm}^{-1}$), C=O/C=N (1.634 cm^{-1}) e C=C (1.518 cm^{-1}), indicando a formação de estruturas poliaromáticas e a presença de muitos grupos contendo nitrogênio.^[115] A existência de grupos hidrofílicos abundantes no material e uma banda larga de O-H, garante uma boa solubilidade em água, condizente com o que é observada para este PC.^[116]

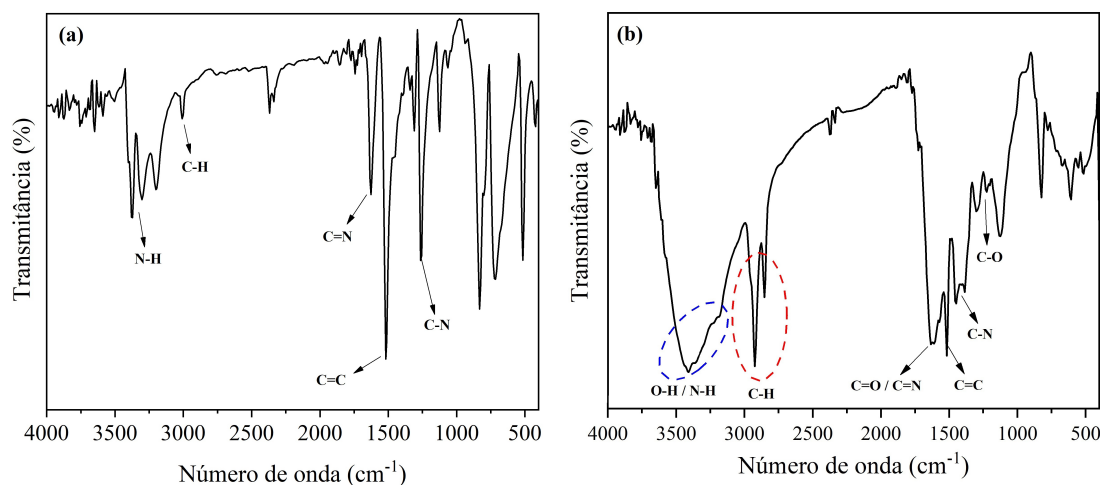


Figura 4.4 – Espectros de FTIR para o (a) reagente de partida (*para*-fenilenodiamina) e para o (b) ponto de carbono.

As atribuições de FTIR através dos grupos funcionais da superfície e a composição do PC são verificadas por análise XPS. A partir do espectro exploratório de XPS (de baixa resolução) para o ponto de carbono sintetizado (Figura 4.5) é possível observar a presença de três principais picos: C 1s (285 eV), N 1s (400 eV) e O 1s (531 eV). A composição química obtida a partir desse espectro revelou teores iguais a 57,2 % para carbono, 10,8 % para nitrogênio e 31,9 % para oxigênio.

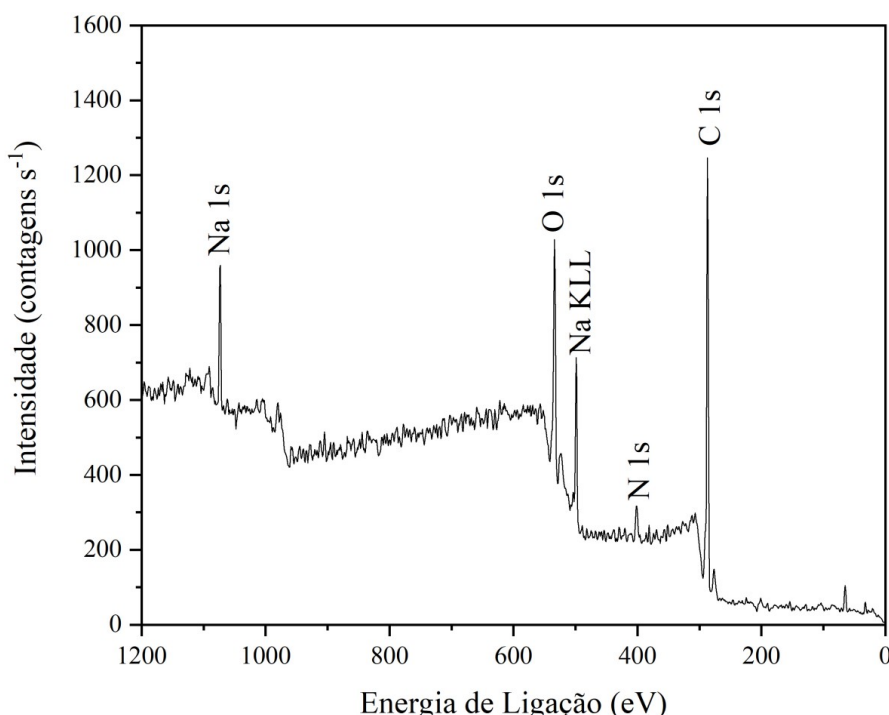


Figura 4.5 – Espectro exploratório de XPS para o ponto de carbono sintetizado.

Os espectros de alta resolução, correspondentes ao nível de energia 1s do C, 1s do N e 1s do O, são apresentados na Figura 4.6 e corroboram com os resultados obtidos por FTIR. O espectro para o C 1s pode ser deconvoluído em quatro picos correspondentes às ligações de carbono sp^2 (C-C e C=C, em 286,5 eV), carbono sp^3 (C-N e C-O, em 287,3 eV), carbonila (C=O em 288,4 eV) e carbono carboxílico (COOH, em 290,5 eV). O espectro para o N 1s pode ser deconvoluído em três picos, referentes ao nitrogênio piridínico, em 400,4 eV, ao nitrogênio amino, em 401,3 eV e ao nitrogênio pirrólico, 402,3 eV. A deconvolução do espectro do O 1s apresentou dois picos na posição de máximo de energia de ligação em 533,3 eV e 534,5 eV referentes C=O e C-O, respectivamente, com a presença de um pico em 537 eV atribuído a contaminação com sódio.^[117]

É possível ressaltar que a presença de ligações C=C, C-N, nitrogênio pirrólico, piridínico indicam a formação de estrutura poliaromática durante o processo de reação.

Através da deconvolução dos gráficos foi constatado que os grupos encontrados para o espectro de carbono e oxigênio (C-O e C=O) remetem que os carbonos presentes na superfície do PC se apresentam em alto grau de oxidação, ligados a grupos oxigenados, estando de acordo com o esperado, uma vez que, um maior grau de oxidação na superfície dos pontos de carbono é esperado que ocorra um deslocamento da banda de emissão para a região do vermelho ($\lambda_{emi} > 600$ nm).^[117,118]

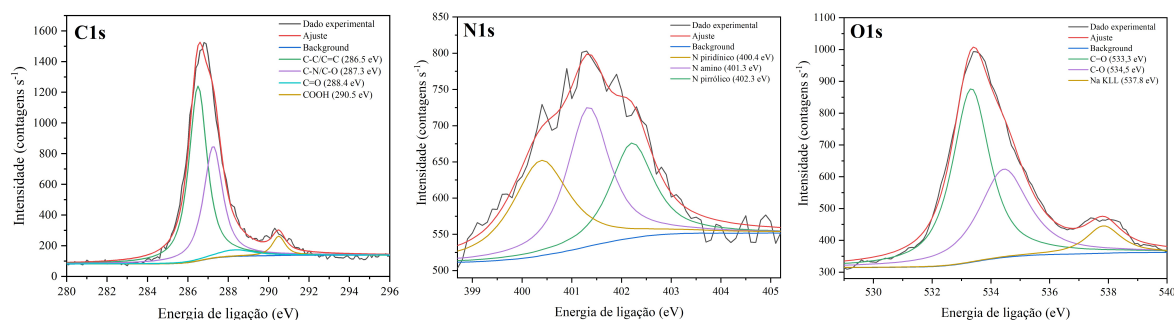


Figura 4.6 – Espectros de XPS de alta resolução para as regiões C 1s, N 1s e O 1s.

4.1.4 Propriedades luminescentes

4.1.4.1 Análise de fluorescência molecular no ultravioleta-visível

O ponto de carbono sintetizado é facilmente solubilizado em diferentes solventes. Uma vez que o solvente é capaz de interagir de forma significativa com o ponto de carbono, implicando em alterações no comprimento de onda e intensidade de emissão, torna-se importante sua escolha adequada. Sendo desejável manter a luminescência na região do vermelho, foi avaliada a influência da polaridade do solvente sobre as propriedades luminescentes.

A emissão do ponto de carbono sintetizado sofre um deslocamento para o vermelho à medida que a polaridade do solvente aumenta. Tal comportamento é semelhante ao solvatocromismo observado em corantes orgânicos, onde a luminescência de alguns corantes orgânicos muda na presença de diferentes solventes. O efeito de solvatocromismo é geralmente atribuído à transferência de carga intramolecular.^[119] Contudo, tal efeito raramente é relatado em estudos de pontos de carbono.^[120]

A Figura 4.7 mostra os espectros de luminescência do PC solubilizado em solventes de polaridades distintas, enquanto na Figura 4.8 apresenta graficamente a relação entre o comprimento de onda máximo de emissão e a polaridade. Na Tabela 4.2 estão dispostos os valores referentes ao comprimento de onda de emissão máximo observado com o PC solubilizado no respectivo solvente.

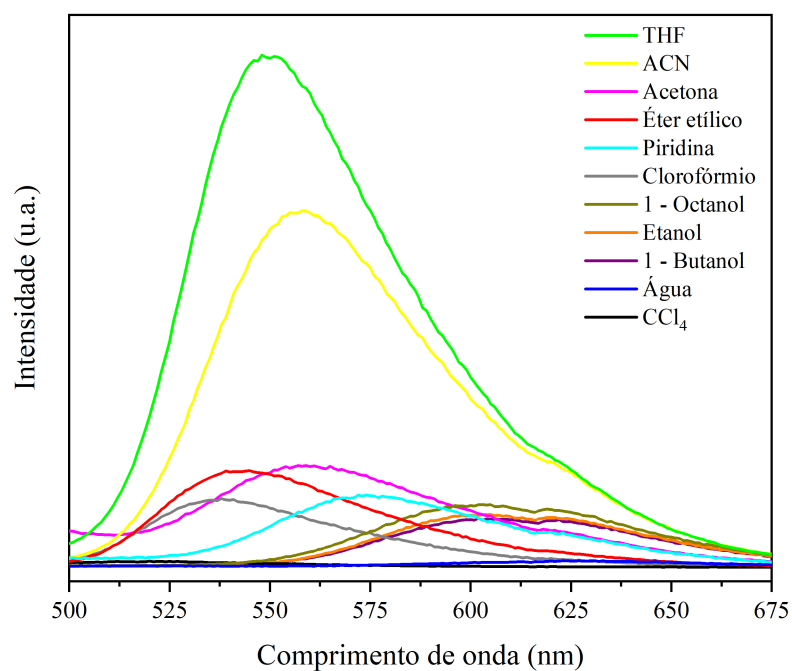


Figura 4.7 – Espectros de emissão do PC solubilizado em diferentes solventes. Obtidas com comprimento de excitação em 352 nm (medidas realizadas no FLUOROLOG-3, da Horiba Jobin-Yvon).

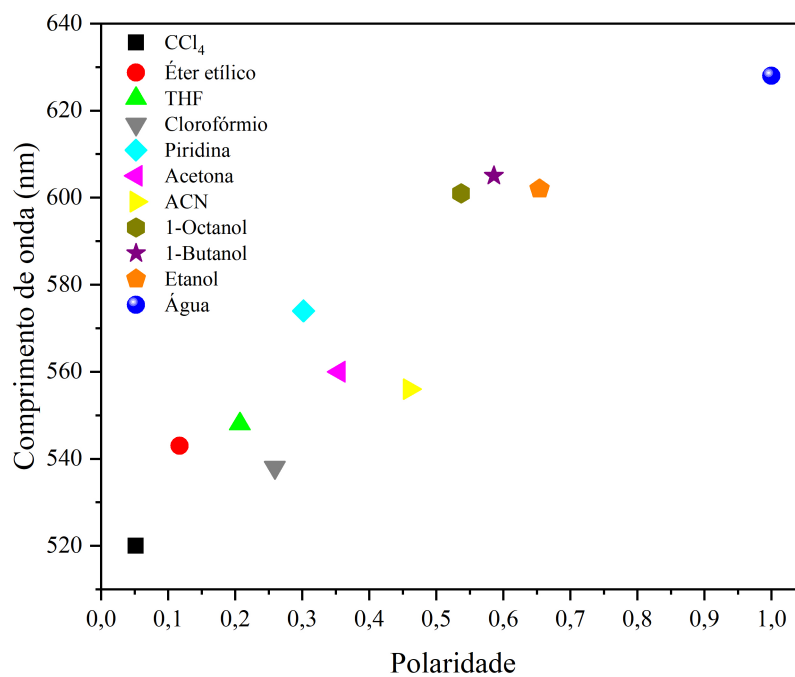


Figura 4.8 – Comprimento de onda de emissão do PC em função da polaridade do solvente. Obtidas com comprimento de excitação em 352 nm (medidas realizadas no FLUOROLOG-3, da Horiba Jobin-Yvon).

Tabela 4.2 – Comprimentos de onda de emissão máximo obtidos nos respectivos solventes analisados. Obtidas com comprimento de excitação em 352 nm (medidas realizadas no FLUOROLOG-3, da Horiba Jobin-Yvon).

Polaridade	Solvente	λ_{max} de emissão (nm)
0,052	CCl ₄	520
0,117	Éter	543
0,207	THF	548
0,259	Clorofórmio	538
0,302	Piridina	574
0,355	Acetona	560
0,460	ACN	556
0,537	1-Octanol	601
0,586	1-Butanol	605
0,654	Etanol	602
1	Água	622

O PC apresentou boa solubilidade em solventes alcoólicos com espectros de luminescência semelhantes. Os picos de emissão para o 1-butanol, 1-octanol e etanol, ficaram próximos compreendendo uma faixa entre 601 e 605 nm (Tabela 4.2). Tal resultado pode ser explicado pelo fato de nos solventes alcoólicos, os átomos de nitrogênio e oxigênio da superfície do PC formarem ligações de hidrogênio com as moléculas do álcool, levando a uma estabilização do estado excitado.^[121,122]

Tendo em vista a melhor estabilidade, não toxicidade, custo e emissão na região do vermelho realizou-se todo o estudo posterior fazendo-se uso da água como solvente para as determinações analíticas.

Para melhor visualização das diferenças luminescentes decorrentes da interação entre a partícula e o solvente, as emissões luminescentes das soluções submetidas à radiação ultravioletas (380 nm) estão apresentadas na Figura 4.9.

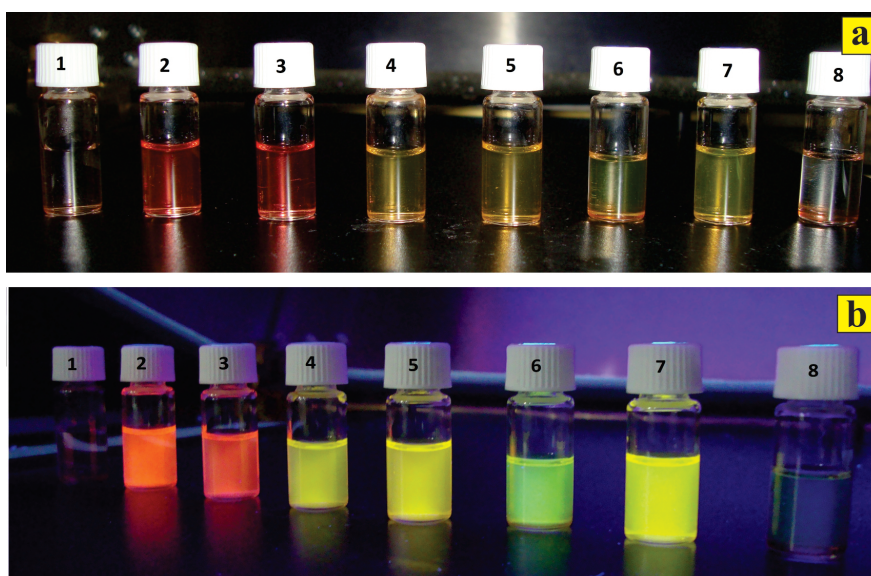


Figura 4.9 – Luminescência das soluções do PC em diferentes solventes, sob luz ambiente (a) e luz UV (b): água ultrapura (1), metanol (2), etanol (3), ACN(4), acetona (5), clorofórmio (6), THF (7) e CCl_4 (8).

Para se obter uma maior sensibilidade analítica a escolha do comprimento de onda de emissão que possua a maior intensidade de sinal é de suma relevância. Conforme apresentado na Figura 4.10 estão dispostos os espectros de fluorescência molecular do PC, solubilizado em água, que correspondem aos diferentes comprimentos de onda máximo de excitação (470 a 540 nm). Os espectros de emissão do PC mantiveram-se na região do vermelho, independentemente da variação do comprimento de onda de excitação. Indicando que a luminescência PC não possui dependência com o comprimento de onda de excitação.

Na Figura 4.11 é possível observar os espectros de absorção UV-vis, excitação e emissão para o PC em água. É observada absorção na região de 200 a 350 nm, o pico observado em 282 nm e o ombro observado em 255 nm correspondem a transição $\pi-\pi^*$ de ligação $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}-\text{N}$ de anéis aromáticos, geralmente não fluorescentes. E na região de menor energia observasse uma banda de absorção em torno de 500 nm. O espectro de excitação evidencia um pico bem definido em 490 nm e uma intensidade de emissão máxima em 622 nm. Restrições na montagem do sistema de excitação (ausência de monocromador) determinaram a escolha da fonte, procurando-se características, como emissão, em uma faixa estreita de comprimentos de onda e com o máximo dessa emissão o mais próximo possível de 490 nm. Dessa forma, foi escolhido um LED emitindo na região do verde (515

nm). Embora o LED utilizado apresente o máximo de emissão em 515 nm, a partir do espectro apresentado na Figura 4.10 é possível verificar que este comprimento de onda ainda é capaz de excitar satisfatoriamente o PC.

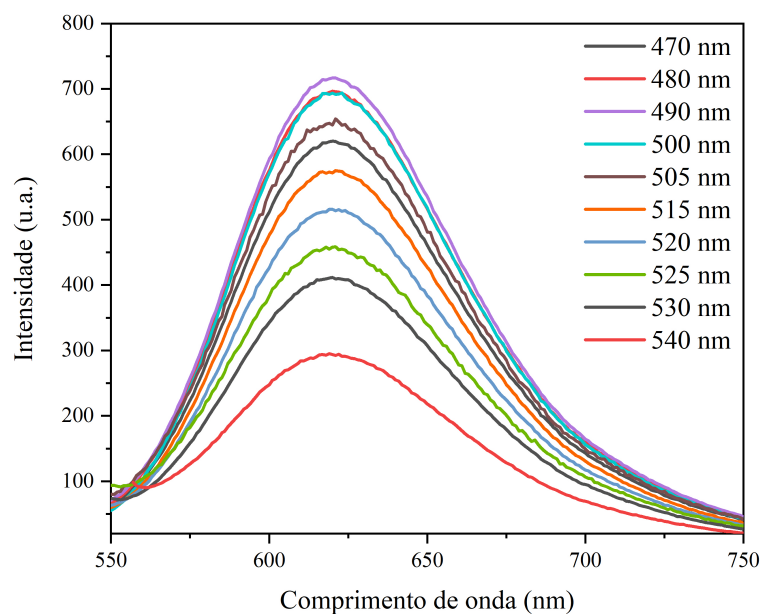


Figura 4.10 – Espectros de emissão para o PC em água excitado nos comprimentos de onda de 470 a 540 nm (medidas realizadas no G9800A, da Agilent Cary Eclipse).

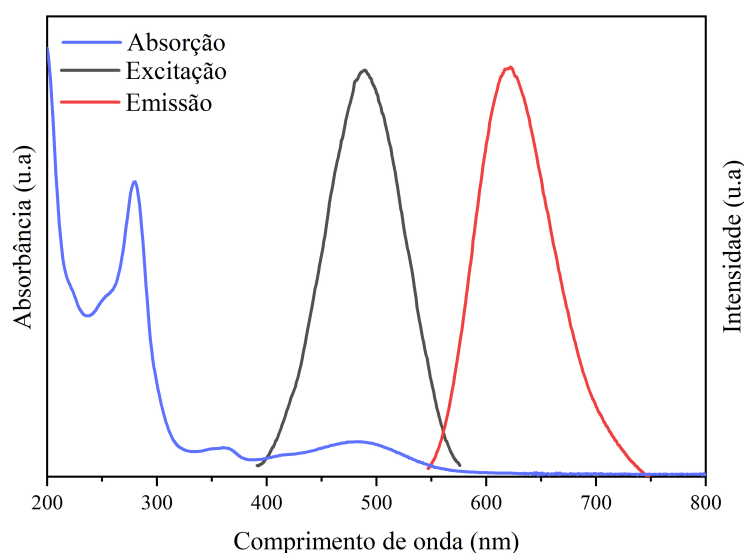


Figura 4.11 – Espectros absorção, excitação ($\lambda_{emi} = 622$ nm) e emissão ($\lambda_{exc} = 490$ nm) para o PC em água (medidas de excitação e emissão realizadas no G9800A, da Agilent Cary Eclipse).

4.1.4.2 Rendimento quântico

O ponto de carbono purificado e solubilizado em água apresentou rendimento quântico igual a 11,3 %, quando comparado com o fluoróforo empregado (rodamina B), que é relacionado à transferência de energia de ressonância ou interações π - π^* . O valor obtido condiz com valores encontrados na literatura para pontos de carbono semelhantes na mesma faixa de emissão.^[119]

4.1.4.3 Efeito do pH

O efeito da influência do pH, na intensidade de sinal de luminescência, foi avaliado entre a faixa de 2,8 e 11 e a intensidade de fluorescência do PC pode ser observada na Figura 4.12.

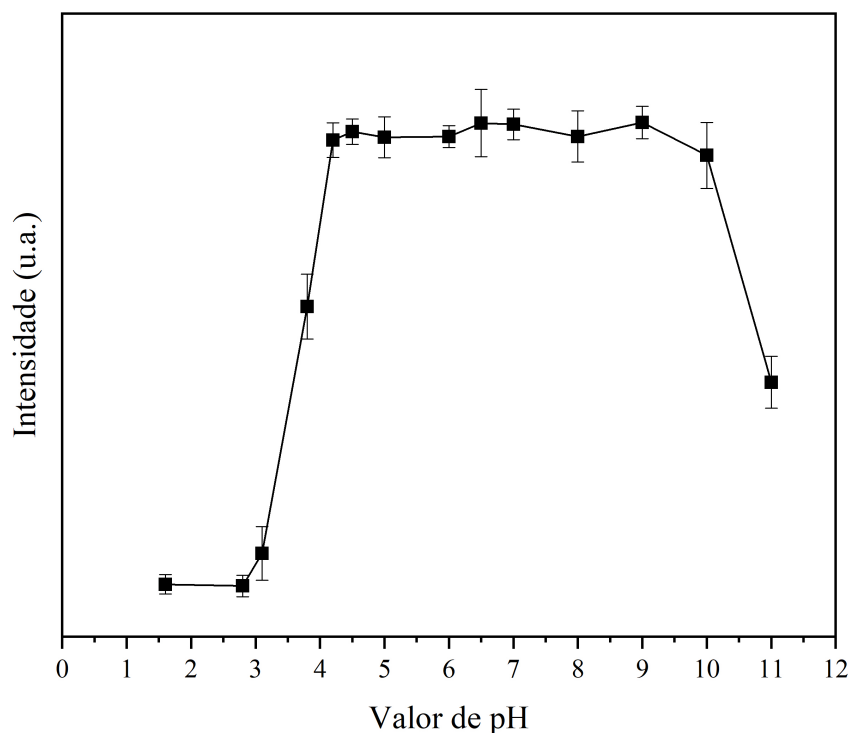


Figura 4.12 – Influência do pH sobre a intensidade de emissão do PC em água. Obtidas com comprimento de excitação em 515 nm (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).

Como apresentado na Figura 4.12, não houve uma variação significativa de intensidade de sinal entre os valores de de pH de 4,5 a 9,0. Contudo, nos pontos de valores

adjacentes foi observado uma supressão significativa da intensidade, chegando a diminuir consideravelmente a luminescência do PC em pH abaixo de 3,0. Diante dessas observações, optou-se por realizar os estudos posteriores em pH = 7,0, valor referente ao pH do PC solubilizado em água.

4.1.5 Estudos analíticos

4.1.5.1 Ensaios exploratórios

Com o intuito de se manter um padrão de tempo na realização das medidas foi realizado um estudo comparando a intensidade de sinal de luminescência em função do tempo de contato entre PC e analito (íon cromo(III), Figura 4.13. Uma vez que não foram observadas variações, foi definido o tempo de contato de 5 minutos para todas as medidas realizadas.

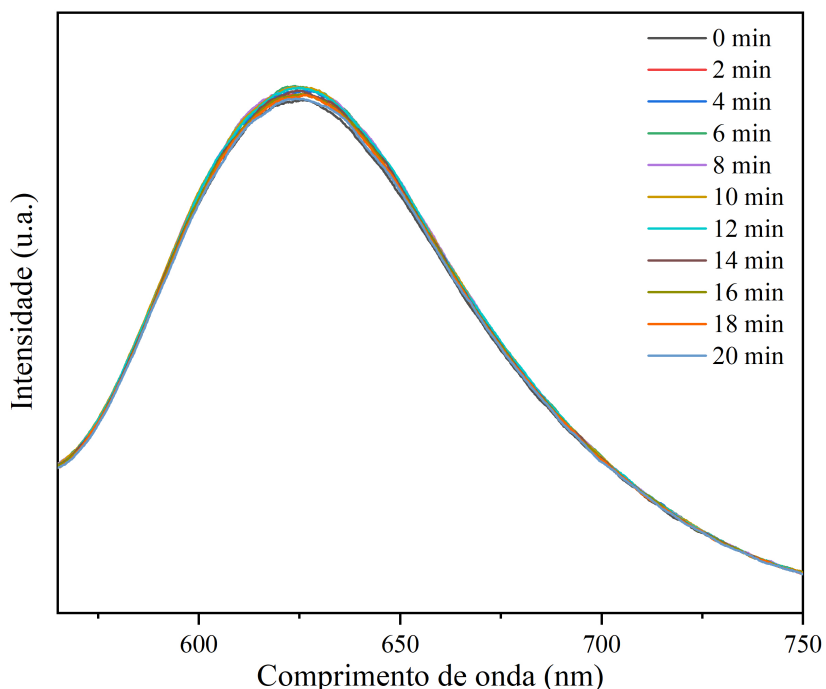


Figura 4.13 – Espectros de luminescência molecular variando o tempo de contato entre o PC com o analito de 0 a 20 minutos. Obtidas com comprimento de excitação em 515 nm (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).

Na Figura 4.14 pode-se observar a supressão ocorrida por efeito da interação do PC com diferentes concentrações do íon cromo(III) variando entre 4,16 e 20,8 mg L⁻¹, evidenciando que o aumento da concentração do íon é capaz de provocar uma diminuição mensurável, nas condições experimentais empregadas, do sinal de luminescência do PC.

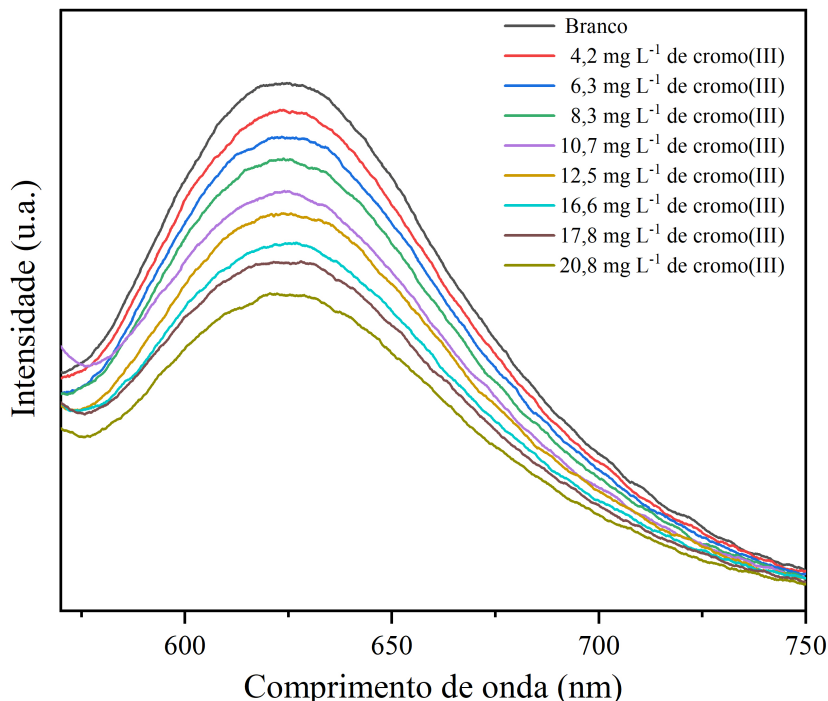


Figura 4.14 – Intensidade de luminescência do PC na presença do íon cromo(III). Obtidas com comprimento de excitação em 515 nm (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).

É possível observar a constatação do fenômeno de supressão existente através da interação entre o PC e o íon cromo(III) em diferentes concentrações. De forma indireta, a supressão existente pode estar relacionada ao mecanismo de efeito de filtro interno, porém, medidas com maiores quantidades de concentração do analito e análise do pico de absorção do PC na presença do supressor se fazem necessárias.

A capacidade de supressão da luminescência do íon cromo(III), como agente supressor, foi calculado usando a Equação 4.1^[123]

$$I_R = \frac{B - I_C}{B} \quad (4.1)$$

Onde, I_R é a intensidade relativa, B corresponde ao sinal do branco e I_C é atribuído a intensidade da concentração de cromo(III) estudada.

A Figura 4.15 apresenta a intensidade da luminescência do PC em função da concentração do íon cromo(III) no meio, sendo possível verificar a relação linear entre os dois. O coeficiente de correlação (r^2) entre intensidade e concentração do íon para a curva obtida foi 0,9975, para $n = 3$, sendo o limite de detecção (LD) e limite de quantificação iguais a $0,55 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,97 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Os coeficientes angular e linear estão descritos na equação

$$I = 0,0134 (\pm 0,0072) + 0,0019 (\pm 0,0005) \times [\text{teor de cromo(III)}],$$

onde I é a intensidade do sinal obtido e o *teor de cromo(III)*, é dado em mg L^{-1} .

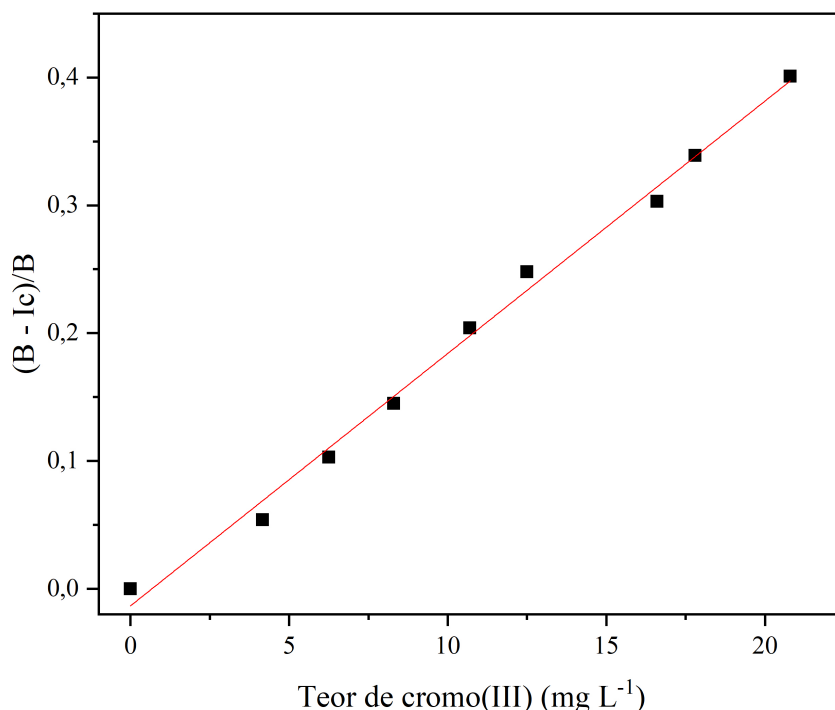


Figura 4.15 – Curva da supressão da luminescência do PC na presença do íon cromo(III) na faixa de $4,16$ a $20,8 \text{ mg L}^{-1}$ sob excitação de 515 nm em $\text{pH} = 7,0$ (medidas realizadas no USB4000, da Ocean Optics).

4.2 Teor de cromo(III) em suplemento alimentar

A quantificação do íon cromo(III) nas amostras de suplemento alimentar contendo diferentes concentrações de picolinato de cromo, como indicado pelo fabricante, foi realizada por meio da supressão da luminescência do PC e comparado com valores determinados

por espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão em energia. Os valores obtidos para as três amostras, juntamente com o valor nominal, estão listados na Tabela 4.3 e apresentados graficamente na Figura 4.16.

Tabela 4.3 – Valores obtidos para as amostras pela técnica de supressão da luminescência (PC) e espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão em energia (EDX), juntamente com o valor nominal (VN).

Identificação	PC (mg g^{-1})	EDX(mg g^{-1})	VN(mg g^{-1})	Erro relativo (%)
Sup1	0,277 ($\pm 0,027$)	0,343 ($\pm 0,014$)	0,107	23,8
Sup2	0,387 ($\pm 0,029$)	0,412 ($\pm 0,010$)	0,509	6,1
Sup3	0,197 ($\pm 0,023$)	0,228 ($\pm 0,011$)	0,403	13,6

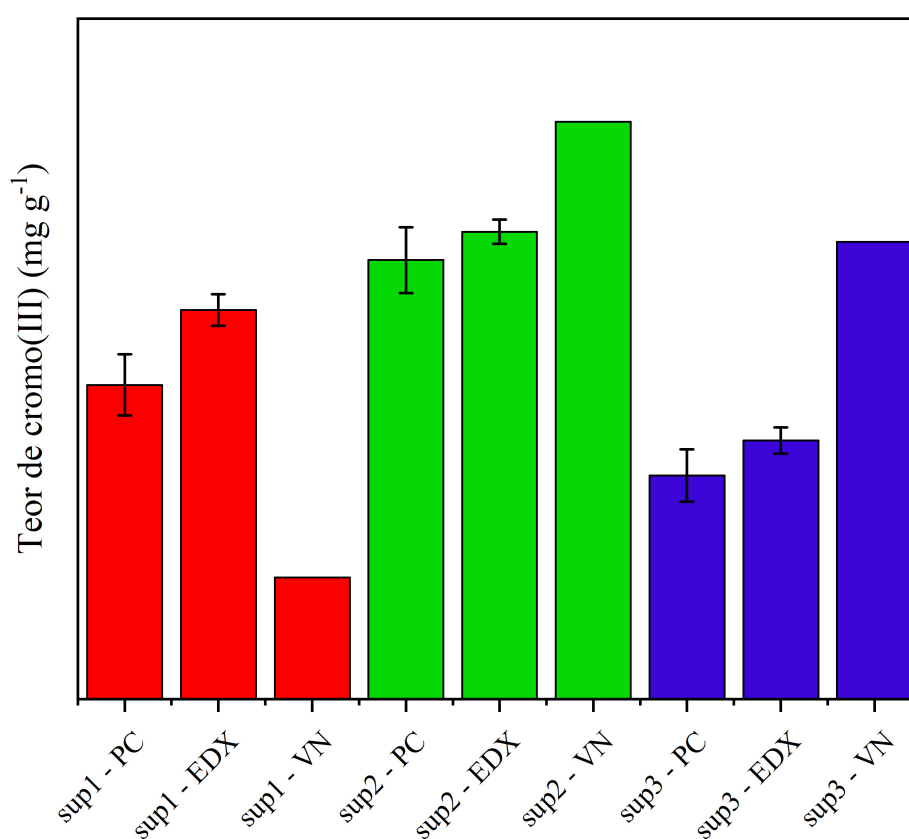


Figura 4.16 – Concentração de cromo(III) nos diferentes suplementos de picolinato de cromo determinada via metodologia empregando ponto de carbono (PC) e espectrometria de fluorescência e raios X (EDX), juntamente com o valor nominal informado pelo fabricante (VN).

A partir dos espectros de EDX das amostras, Figuras 4.17, 4.18 e 4.19, foi identificado a presença de silício ($K\alpha = 1,74$) em todas as amostras, com intensidade maior verificada na amostra comercial (Sup1), conforme rótulo do produto que descreve dióxido de silício. Ainda, além da presença de cromo, identificado em 5,42 e 5,92 para o sinal de $K\alpha$ e $K\beta$, respectivamente, existem contaminação de ferro ($K\alpha = 6,42$ e $K\beta = 7,08$), cobre ($K\alpha = 8,04$), potássio ($K\alpha = 3,32$) e enxofre ($K\alpha = 2,36$) em todas as amostras, e bromo ($K\alpha = 11,92$) na amostra comercial. Contudo, a baixa intensidade de sinal destes contaminantes não é possível determinar que pudessem atuar como interferentes na quantificação do cromo(III). Como interferente é uma espécie que causa erro na análise pelo aumento ou diminuição da quantidade que está sendo medida, uma análise com os íons na mesma concentração observados nos espectros se faz necessária para uma aferição real da não interferência.

Os picos presentes em $L\alpha = 2,70$ e $L\beta = 2,90$ é referente a radiação de ródio presente no material do tubo do equipamento.

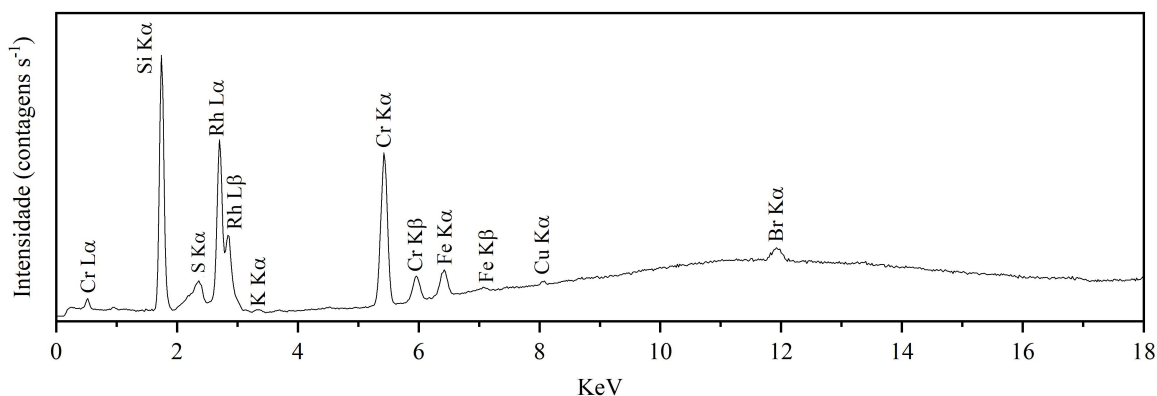


Figura 4.17 – Espectro de EDX para a amostra alimentar sup1.

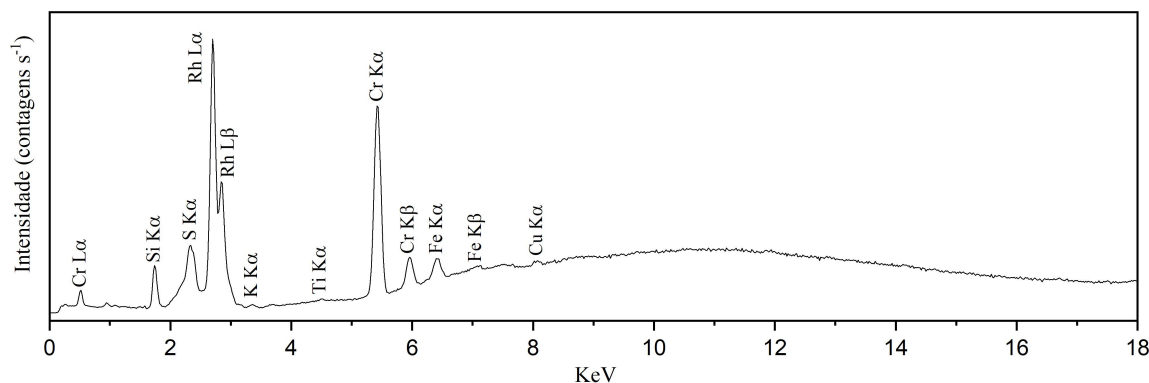


Figura 4.18 – Espectro de EDX para a amostra alimentar sup2.

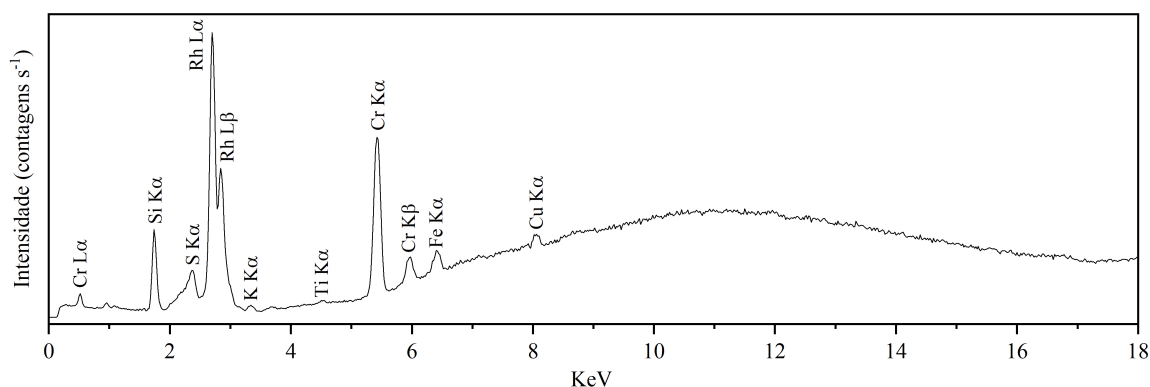


Figura 4.19 – Espectro de EDX para a amostra alimentar sup3.

Assim, o erro relativo apresentado para as três amostras pode estar relacionado, mais claramente, a erros decorrentes das etapas de preparo por digestão ácida. Ou ainda, devido à quantidade de grupos carboxilas presentes na superfície do PC. Como as medidas foram feitas em $\text{pH} = 7$, esses grupos podem estar protonados, dificultando a completa interação do íon cromo(III) presente em solução, e assim, resultando em menores valores atribuídos às medidas através da supressão luminescente do PC comparado com a espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão de energia.

Ainda, é possível observar que os valores obtidos em ambos os métodos destoam do valor nominal informado pelos fabricantes, o que justifica a importância da quantificação dos teores de metais em suplementos alimentares.

O resultado do teste *t-Student*, com grau de liberdade igual a 2 e nível de confiança de 95 % mostrou que o valor calculado de 3,18 é menor que o valor crítico de 4,30, ou seja, não existe diferença estatisticamente significativa entre as médias obtidas para os dois métodos. Para o teste F, os valores calculados para os sup1, sup2 e sup3 foram 8,56, 1,88 e 6,37, respectivamente, bem abaixo do valor crítico igual a 19, considerando 2 graus de liberdade e 95 % de confiança. Ambos confirmam que a precisão do método proposto PC é estatisticamente equivalente a precisão do método por espectroscopia de raios X por dispersão em energia. Os resultados indicam, então, que o método proposto de determinação de cromo(III) em suplementos de picolinato de cromo não apresenta diferença estatística quando comparado ao método de referência.

CAPÍTULO

5

CONCLUSÕES

No presente trabalho foram sintetizados com sucesso pontos de carbono luminescentes da *para*-fenilenodiamina, realizando-se as principais caracterizações desse material, incluindo microscopia eletrônica de transmissão, espectroscopia de fotoelétrons gerados por raios X e espectroscopia de luminescência, bem como uma aplicação analítica.

As caracterizações realizadas evidenciaram as características químicas do ponto de carbono sintetizado. Entre essas características, destacam-se a emissão na região do vermelho, a qual pode ser relacionada ao teor de espécies contendo oxigênio e a presença de grupos como COOH. Ainda, foi obtido um rendimento quântico igual a 11,3 %, determinado utilizando água como solvente.

A aplicação analítica envolvendo o ponto de carbono para a quantificação de cromo(III) em suplementos alimentares evidenciou o potencial do material para a determinação da espécie de interesse, sendo observada uma resposta linear entre 4 e 20 mg L⁻¹ de íons cromo(III). Cabe salientar que a metodologia de quantificação foi desenvolvida utilizando instrumentação portátil e de custo reduzido.

A comparação entre os resultados da quantificação realizada por espectroscopia de luminescência, empregando o ponto de carbono e por espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão em energia, evidencia que não há diferença significativa entre a metodologia proposta e o método de referência, para um nível de confiança de 95 %.

CAPÍTULO

6

PERSPECTIVAS

A partir do conhecimento adquirido neste trabalho, planeja-se explorar alguns pontos sobre os pontos de carbono sintetizados, focando na aplicação destes sistemas para diferentes tarefas. Assim, as perspectivas são:

- Investigar melhor o material através da realização de medida de espalhamento dinâmico da luz (DLS) para confirmação do tamanho das partículas;
- Análise de potencial Zeta com o ponto de carbono solubilizado em uma faixa de pH \leq a 7;
- Análise com uma maior número de amostras de suplementos alimentares de picolinato de cromo, tanto comerciais quanto manipuladas;
- Explorar o comportamento luminescente da amostra e PC utilizando outros solventes;
- Explorar a seletividade analítica uma vez que a natureza da superfície do PC sintetizado pode possibilitar a adição de novos grupos funcionais ligados covalentemente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MULVANEY, P. Nanoscience vs nanotechnology—defining the field. *ACS Nano*, v. 9, n. 3, p. 2215–2217, 2015. 2
- [2] HORNYAK, G. L.; TIBBALS, H. F.; DUTTA, J.; MOORE, J. J. *Introduction to nanoscience and nanotechnology*. CRC press, 2008. 2
- [3] ZARBIN, A. J. Química de (nano) materiais. *Química Nova*, v. 30, n. 6, p. 1469, 2007. 2
- [4] LIM, S. Y.; SHEN, W.; GAO, Z. Carbon quantum dots and their applications. *Chemical Society Reviews*, v. 44, n. 1, p. 362–381, 2015. 2
- [5] SUN, C.; ZHANG, Y.; SUN, K.; RECKMEIER, C.; ZHANG, T.; ZHANG, X.; ZHAO, J.; WU, C.; WILLIAM, W. Y.; ROGACH, A. L. Combination of carbon dot and polymer dot phosphors for white light-emitting diodes. *Nanoscale*, v. 7, n. 28, p. 12045–12050, 2015. 2
- [6] WANG, Z.; YUAN, F.; LI, X.; LI, Y.; ZHONG, H.; FAN, L.; YANG, S. 53% efficient red emissive carbon quantum dots for high color rendering and stable warm white-light-emitting diodes. *Advanced Materials*, v. 29, n. 37, p. 1702910, 2017. 2, 38
- [7] HUANG, J. J.; ZHONG, Z. F.; RONG, M. Z.; ZHOU, X.; CHEN, X. D.; ZHANG, M. Q. An easy approach of preparing strongly luminescent carbon dots and their

- polymer based composites for enhancing solar cell efficiency. *Carbon*, v. 70, p. 190–198, 2014. 2
- [8] WANG, H.; SUN, P.; CONG, S.; WU, J.; GAO, L.; WANG, Y.; DAI, X.; YI, Q.; ZOU, G. Nitrogen-doped carbon dots for “green” quantum dot solar cells. *Nanoscale research letters*, v. 11, n. 1, p. 27, 2016. 2
- [9] WANG, Y.; HU, A. Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry C*, v. 2, n. 34, p. 6921–6939, 2014. 2, 5, 10
- [10] WU, W.; ZHANG, Q.; WANG, R.; ZHAO, Y.; LI, Z.; NING, H.; ZHAO, Q.; WIEDERRECHT, G. P.; QIU, J.; WU, M. Synergies between unsaturated zn/cu doping sites in carbon dots provide new pathways for photocatalytic oxidation. *ACS Catalysis*, v. 8, n. 2, p. 747–753, 2017. 2
- [11] BOZETINE, H.; WANG, Q.; BARRAS, A.; LI, M.; HADJERSI, T.; SZUNERITS, S.; BOUKHERROUB, R. Green chemistry approach for the synthesis of znO–carbon dots nanocomposites with good photocatalytic properties under visible light. *Journal of colloid and interface science*, v. 465, p. 286–294, 2016. 2
- [12] SONG, Y.; ZHU, S.; YANG, B. Bioimaging based on fluorescent carbon dots. *RSC Advances*, v. 4, n. 52, p. 27184–27200, 2014. 3
- [13] ATABAEV, T. S. Doped carbon dots for sensing and bioimaging applications: A minireview. *Nanomaterials*, v. 8, n. 5, p. 342, 2018. 3
- [14] LI, C.-L.; HUANG, C.-C.; PERIASAMY, A. P.; ROY, P.; WU, W.-C.; HSU, C.-L.; CHANG, H.-T. Synthesis of photoluminescent carbon dots for the detection of cobalt ions. *RSC Advances*, v. 5, n. 3, p. 2285–2291, 2015. 3
- [15] WU, H.; JIANG, J.; GU, X.; TONG, C. Nitrogen and sulfur co-doped carbon quantum dots for highly selective and sensitive fluorescent detection of fe (iii) ions and l-cysteine. *Microchimica Acta*, v. 184, n. 7, p. 2291–2298, 2017. 3
- [16] MA, Y.; ZHANG, Z.; XU, Y.; MA, M.; CHEN, B.; WEI, L.; XIAO, L. A bright carbon-dot-based fluorescent probe for selective and sensitive detection of mercury ions. *Talanta*, v. 161, p. 476–481, 2016. 3

- [17] WU, X.; SONG, Y.; YAN, X.; ZHU, C.; MA, Y.; DU, D.; LIN, Y. Carbon quantum dots as fluorescence resonance energy transfer sensors for organophosphate pesticides determination. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 94, p. 292–297, 2017. 3
- [18] LUO, M.; HUA, Y.; LIANG, Y.; HAN, J.; LIU, D.; ZHAO, W.; WANG, P. Synthesis of novel β -cyclodextrin functionalized s, n codoped carbon dots for selective detection of testosterone. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 98, p. 195–201, 2017. 3
- [19] XU, H.; YANG, X.; LI, G.; ZHAO, C.; LIAO, X. Green synthesis of fluorescent carbon dots for selective detection of tartrazine in food samples. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 63, n. 30, p. 6707–6714, 2015. 3
- [20] MACHADO, C. E.; VIEIRA, K. O.; FERRARI, J. L.; SCHIAVON, M. A. Pontos quânticos de carbono: Síntese química, propriedades e aplicações. *Revista Virtual de Química*, v. 7, n. 4, p. 1306–1346, 2015. 3
- [21] CAS. Scifinder, 2019. [Base de dados; <https://scifinder.cas.org/>, acessada em 10 de outubro de 2019]". , 4
- [22] CAS. Scifinder, 2019. [Base de dados; <https://scifinder.cas.org/>, acessada em 21 de outubro de 2019]". , 4
- [23] XU, X.; RAY, R.; GU, Y.; PLOEHN, H. J.; GEARHEART, L.; RAKER, K.; SCRIVENS, W. A. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, Washington, v. 126, n. 40, p. 12736–12737, 2004. 5
- [24] KROTO, H. W.; HEATH, J. R.; O'BRIEN, S. C.; CURL, R. F.; SMALLEY, R. E. C60: Buckminsterfullerene. *nature*, v. 318, n. 6042, p. 162–163, 1985. 5
- [25] IIJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. *nature*, v. 354, n. 6348, p. 56, 1991. 5
- [26] ZHAO, S.; LAVIE, J.; RONDIN, L.; ORCIN-CHAIX, L.; DIEDERICH, C.; ROUSIGNOL, P.; CHASSAGNEUX, Y.; VOISIN, C.; MÜLLEN, K.; NARITA, A. et al. Single photon emission from graphene quantum dots at room temperature. *Nature communications*, v. 9, n. 1, p. 3470, 2018. 5, 10

- [27] GEORGAKILAS, V.; PERMAN, J. A.; TUCEK, J.; ZBORIL, R. Broad family of carbon nanoallotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures. *Chemical reviews*, v. 115, n. 11, p. 4744–4822, 2015. 5
- [28] RONDA, C. R. *Luminescence: from theory to applications*. John Wiley & Sons, 2007. 5
- [29] LAKOWICZ, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer Science & Business Media, 2013. 6
- [30] ATKINS, P. W.; DE PAULA, J. *Fisicoquímica*. Number 04; QD453. 2, A8 1991. Addison-Wesley Iberoamericana USA, 1991. , 6
- [31] FRACKOWIAK, D. The jablonski diagram. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 2, n. 3, p. 399, 1988. , 7
- [32] ZHU, S.; SONG, Y.; ZHAO, X.; SHAO, J.; ZHANG, J.; YANG, B. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Research*, v. 8, n. 2, p. 355–381, 2015. 7, 18
- [33] BHATTACHARYA, A.; CHATTERJEE, S.; PRAJAPATI, R.; MUKHERJEE, T. K. Size-dependent penetration of carbon dots inside the ferritin nanocages: evidence for the quantum confinement effect in carbon dots. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 17, n. 19, p. 12833–12840, 2015. 7
- [34] HOLA, K.; BOURLINOS, A. B.; KOZAK, O.; BERKA, K.; SISKOVA, K. M.; HAVRDOVA, M.; TUCEK, J.; SAFAROVA, K.; OTYEPKA, M.; GIANNELIS, E. P. et al. Photoluminescence effects of graphitic core size and surface functional groups in carbon dots: Co³⁺-induced red-shift emission. *Carbon*, v. 70, p. 279–286, 2014. 7
- [35] RODUNER, E. Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical Society Reviews*, v. 35, n. 7, p. 583–592, 2006. 8
- [36] BARNHAM, K.; VVEDENSKY, D. *Low-dimensional semiconductor structures: Fundamentals and device applications*. Cambridge university press, 2008. 8

- [37] DE MELLO DONEGÁ, C. Synthesis and properties of colloidal heteronanocrystals. *Chemical Society Reviews*, v. 40, n. 3, p. 1512–1546, 2011. , 8
- [38] CAYUELA, A.; SORIANO, M.; CARRILLO-CARRION, C.; VALCARCEL, M. Semiconductor and carbon-based fluorescent nanodots: the need for consistency. *Chemical Communications*, v. 52, n. 7, p. 1311–1326, 2016. 8
- [39] EKIMOV, A.; ONUSHCHENKO, A. Quantum size effect in the optical-spectra of semiconductor micro-crystals. *Soviet Physics Semiconductors-Ussr*, v. 16, n. 7, p. 775–778, 1982. 9
- [40] WOGGON, U. *Optical properties of semiconductor quantum dots*. Springer, 1997. v. 136. 9
- [41] BERA, D.; QIAN, L.; TSENG, T.-K.; HOLLOWAY, P. H. Quantum dots and their multimodal applications: a review. *Materials*, v. 3, n. 4, p. 2260–2345, 2010. , 9
- [42] SCHIFFMAN, J. D.; BALAKRISHNA, R. G. et al. Quantum dots as fluorescent probes: Synthesis, surface chemistry, energy transfer mechanisms, and applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 258, p. 1191–1214, 2018. 9
- [43] HARDMAN, R. A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors. *Environmental health perspectives*, v. 114, n. 2, p. 165–172, 2005. 10
- [44] SCIORTINO, A.; CANNIZZO, A.; MESSINA, F. Carbon nanodots: A review—from the current understanding of the fundamental photophysics to the full control of the optical response. *C—Journal of Carbon Research*, v. 4, n. 4, p. 67, 2018. , 10
- [45] ZHANG, Q.; SUN, X.; RUAN, H.; YIN, K.; LI, H. Production of yellow-emitting carbon quantum dots from fullerene carbon soot. *Science China Materials*, v. 60, n. 2, p. 141–150, 2017. 10
- [46] LIU, M.; XU, Y.; NIU, F.; GOODING, J. J.; LIU, J. Carbon quantum dots directly generated from electrochemical oxidation of graphite electrodes in alkaline alcohols and the applications for specific ferric ion detection and cell imaging. *Analyst*, v. 141, n. 9, p. 2657–2664, 2016. 10

- [47] LI, H.; XU, Y.; ZHAO, L.; DING, J.; CHEN, M.; CHEN, G.; LI, Y.; DING, L. Synthesis of tiny carbon dots with high quantum yield using multi-walled carbon nanotubes as support for selective “turn-off-on” detection of rutin and Al^{3+} . *Carbon*, v. 143, p. 391–401, 2019. 10
- [48] REYES, D.; CAMACHO, M.; CAMACHO, M.; MAYORGA, M.; WEATHERS, D.; SALAMO, G.; WANG, Z.; NEOGI, A. Laser ablated carbon nanodots for light emission. *Nanoscale research letters*, v. 11, n. 1, p. 424, 2016. 10
- [49] WANG, J.; WANG, C.-F.; CHEN, S. Amphiphilic egg-derived carbon dots: Rapid plasma fabrication, pyrolysis process, and multicolor printing patterns. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 51, n. 37, p. 9297–9301, 2012. 10
- [50] BOTTINI, M.; BALASUBRAMANIAN, C.; DAWSON, M. I.; BERGAMASCHI, A.; BELLUCCI, S.; MUSTELIN, T. Isolation and characterization of fluorescent nanoparticles from pristine and oxidized electric arc-produced single-walled carbon nanotubes. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, n. 2, p. 831–836, 2006. 10
- [51] HOU, Y.; LU, Q.; DENG, J.; LI, H.; ZHANG, Y. One-pot electrochemical synthesis of functionalized fluorescent carbon dots and their selective sensing for mercury ion. *Analytica chimica acta*, v. 866, p. 69–74, 2015. 10
- [52] DONG, Y.; WANG, R.; LI, H.; SHAO, J.; CHI, Y.; LIN, X.; CHEN, G. Polyamine-functionalized carbon quantum dots for chemical sensing. *Carbon*, v. 50, n. 8, p. 2810–2815, 2012. 10
- [53] SHEN, T.; WANG, Q.; GUO, Z.; KUANG, J.; CAO, W. Hydrothermal synthesis of carbon quantum dots using different precursors and their combination with TiO_2 for enhanced photocatalytic activity. *Ceramics International*, v. 44, n. 10, p. 11828–11834, 2018. 10
- [54] OMER, K. M.; TOFIQ, D. I.; HASSAN, A. Q. Solvothermal synthesis of phosphorus and nitrogen doped carbon quantum dots as a fluorescent probe for iron (iii). *Microchimica Acta*, v. 185, n. 10, p. 466, 2018. 10, 20
- [55] YANG, P.; ZHU, Z.; CHEN, M.; CHEN, W.; ZHOU, X. Microwave-assisted synthe-

- sis of xylan-derived carbon quantum dots for tetracycline sensing. *Optical Materials*, v. 85, p. 329–336, 2018. 10
- [56] TANG, W.; WANG, B.; LI, J.; LI, Y.; ZHANG, Y.; QUAN, H.; HUANG, Z. Facile pyrolysis synthesis of ionic liquid capped carbon dots and subsequent application as the water-based lubricant additives. *Journal of materials science*, v. 54, n. 2, p. 1171–1183, 2019. 10
- [57] WANG, W.; LU, Y.-C.; HUANG, H.; WANG, A.-J.; CHEN, J.-R.; FENG, J.-J. Solvent-free synthesis of sulfur-and nitrogen-co-doped fluorescent carbon nanoparticles from glutathione for highly selective and sensitive detection of mercury (ii) ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 202, p. 741–747, 2014. 11
- [58] KHARISOV, B. I.; KHARISSOVA, O. V.; MÉNDEZ, U. O. Microwave hydrothermal and solvothermal processing of materials and compounds. *The Development and Application of Microwave Heating*, v. 5, p. 107–140, 2012. 11
- [59] BYRAPPA, K.; ADSCHIRI, T. Hydrothermal technology for nanotechnology. *Progress in crystal growth and characterization of materials*, v. 53, n. 2, p. 117–166, 2007. 11
- [60] KONG, W.; WU, D.; LI, G.; CHEN, X.; GONG, P.; SUN, Z.; CHEN, G.; XIA, L.; YOU, J.; WU, Y. A facile carbon dots based fluorescent probe for ultrasensitive detection of ascorbic acid in biological fluids via non-oxidation reduction strategy. *Talanta*, v. 165, p. 677–684, 2017. 11
- [61] ZU, F.; YAN, F.; BAI, Z.; XU, J.; WANG, Y.; HUANG, Y.; ZHOU, X. The quenching of the fluorescence of carbon dots: a review on mechanisms and applications. *Microchimica Acta*, v. 184, n. 7, p. 1899–1914, 2017. 11, 18
- [62] SIMÕES, E. F.; LEITÃO, J. M.; DA SILVA, J. C. E. Sulfur and nitrogen co-doped carbon dots sensors for nitric oxide fluorescence quantification. *Analytica Chimica Acta*, v. 960, p. 117–122, 2017. 13
- [63] LIU, X.; ZHANG, N.; BING, T.; SHANGGUAN, D. Carbon dots based dual-emission silica nanoparticles as a ratiometric nanosensor for Cu^{2+} . *Anal. Chem*, v. 86, n. 5, p. 2289–2296, 2014. 13

- [64] LV, P.; YAO, Y.; LI, D.; ZHOU, H.; NAEEM, M. A.; FENG, Q.; HUANG, J.; CAI, Y.; WEI, Q. Self-assembly of nitrogen-doped carbon dots anchored on bacterial cellulose and their application in iron ion detection. *Carbohydrate polymers*, v. 172, p. 93–101, 2017. 13
- [65] RAVEENDRAN, V.; BABU, A. R. S.; RENUKA, N. K. Mint leaf derived carbon dots for dual analyte detection of fe (iii) and ascorbic acid. *RSC Advances*, v. 9, n. 21, p. 12070–12077, 2019. 13
- [66] JIANG, X.; JIN, H.; SUN, Y.; GUI, R. Colorimetric and fluorometric dual-channel ratiometric determination of fungicide cymoxanil based on analyte-induced aggregation of silver nanoparticles and dually emitting carbon dots. *Microchimica Acta*, v. 186, n. 8, p. 580, 2019. 13
- [67] FELÍCIO, J. A. Estudo de mercado: Consumo de suplementos alimentares em portugal. 2006. 13
- [68] LUKASKI, H. C. Effects of chromium (iii) as a nutritional supplement. In: *The Nutritional Biochemistry of Chromium (III)*. Elsevier, 2019. p. 61–77. 14
- [69] NIEDZIELSKI, P.; RUDNICKA, M.; WACHELKA, M.; KOZAK, L.; RZANY, M.; WOZNIAK, M.; KASKOW, Z. Selenium species in selenium fortified dietary supplements. *Food chemistry*, v. 190, p. 454–459, 2016. 14
- [70] WU, C.-W.; JIANG, S.-J.; SAHAYAM, A.; HUANG, Y.-L. Determination of cobalt compounds in dietary supplements using liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 154, p. 70–74, 2019. 14
- [71] OTA, E.; MORI, R.; MIDDLETON, P.; TOBE-GAI, R.; MAHOMED, K.; MIYAZAKI, C.; BHUTTA, Z. A. Zinc supplementation for improving pregnancy and infant outcome. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, , n. 2, 2015. 14
- [72] KRAWCZYK, M. Determination of macro and trace elements in multivitamin dietary supplements by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry with slurry sampling. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 88, p. 377–384, 2014. 14

- [73] GÓMEZ-NIETO, B.; GISMERA, M. J.; SEVILLA, M. T.; PROCOPIO, J. R. Determination of essential elements in beverages, herbal infusions and dietary supplements using a new straightforward sequential approach based on flame atomic absorption spectrometry. *Food chemistry*, v. 219, p. 69–75, 2017. 14
- [74] SUN, H.; LIU, X.; MIAO, Y. Speciation analysis of trace inorganic arsenic in dietary supplements by slurry sampling hydride generation atomic absorption spectrometry. *Food analytical methods*, v. 4, n. 2, p. 251–257, 2011. 14
- [75] DE SOUZA, J. R.; DA SILVA, L.; DA ROCHA, M. S.; SAINT'PIERRE, T. D. Dynamic reaction cell-icp-ms as a powerful tool for quality control of a se-enriched dietary supplement. *Food analytical methods*, v. 10, n. 9, p. 3088–3097, 2017. 14
- [76] PETROVA, A.; DAR'IN, D.; IVANOV, A.; MOSKVIN, L.; ISHIMATSU, R.; NAKANO, K.; IMATO, T.; BULATOV, A. Determination of curcumin in biologically active supplements and food spices using a mesofluidic platform with fluorescence detection. *Talanta*, v. 159, p. 300–306, 2016. 14
- [77] DE SOUZA, G. C.; DE SANTANA, É. E.; DA SILVA, P. A.; FREITAS, D. V.; NAVARRO, M.; PAIM, A. P. S.; LAJORANTE, A. F. Employment of electrochemically synthesized tga-cdse quantum dots for cr³⁺ determination in vitamin supplements. *Talanta*, v. 144, p. 986–991, 2015. 14
- [78] KREIDER, R. B. Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise. *Sports medicine*, v. 27, n. 2, p. 97–110, 1999. 14
- [79] CLARKSON, P. M. Effects of exercise on chromium levels. *Sports Medicine*, v. 23, n. 6, p. 341–349, 1997. 14
- [80] DEFINITION, W. diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. geneva: Who. *World Health Organization, Geneva, Switzerland*, 1999. 14
- [81] SKYLER, J. S.; BAKRIS, G. L.; BONIFACIO, E.; DARSOW, T.; ECKEL, R. H.; GROOP, L.; GROOP, P.-H.; HANDELSMAN, Y.; INSEL, R. A.; MATHIEU, C. et al. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes*, v. 66, n. 2, p. 241–255, 2017. 14

- [82] ATLAS, D. International diabetes federation. *IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation*, 2019. 15
- [83] KOMOROWSKI, J. R.; TUZCU, M.; SAHIN, N.; JUTURU, V.; ORHAN, C.; ULAS, M.; SAHIN, K. Chromium picolinate modulates serotonergic properties and carbohydrate metabolism in a rat model of diabetes. *Biological trace element research*, v. 149, n. 1, p. 50–56, 2012. 16
- [84] BROWNLEY, K. A.; VON HOLLE, A.; HAMER, R. M.; LA VIA, M.; BULIK, C. M. A double-blind, randomized pilot trial of chromium picolinate for binge eating disorder: results of the binge eating and chromium (beach) study. *Journal of psychosomatic research*, v. 75, n. 1, p. 36–42, 2013. 16
- [85] ANTON, S. D.; MORRISON, C. D.; CEFALU, W. T.; MARTIN, C. K.; COULON, S.; GEISELMAN, P.; HAN, H.; WHITE, C. L.; WILLIAMSON, D. A. Effects of chromium picolinate on food intake and satiety. *Diabetes technology & therapeutics*, v. 10, n. 5, p. 405–412, 2008. 16
- [86] EVANS, G.; POUCHNIK, D. Composition and biological activity of chromium-pyridine carboxylate complexes. *Journal of inorganic biochemistry*, v. 49, n. 3, p. 177–187, 1993. 16
- [87] CHAKOV, N. E.; COLLINS, R. A.; VINCENT, J. B. A re-investigation the electronic spectra of chromium (iii) picolinate complexes and high yield synthesis and characterization of $\text{Cr}(\mu\text{-OH})_2(\text{pic})_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (hpica = picolinic acid). *Polyhedron*, v. 18, n. 22, p. 2891–2897, 1999. 16
- [88] VINCENT, J. B. Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium-binding substance. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 18, n. 1, p. 6–12, 1999. 16
- [89] GARCÍA, A. G.; GARNS, P. M. Papel del cromo y del cinc en el metabolismo de la insulina. *Revista médica del IMSS*, v. 42, n. 4, 2004. 16
- [90] MORRIS, B.; KOUTA, S.; ROBINSON, R.; MACNEIL, S.; HELLER, S. Chromium supplementation improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, v. 17, n. 9, p. 684–685, 2000. 16

- [91] Instrução normativa - in nº 28, de 26 de julho de 2018. 17
- [92] ZHAO, C.; JIAO, Y.; HUA, J.; YANG, J.; YANG, Y. Hydrothermal synthesis of nitrogen-doped carbon quantum dots as fluorescent probes for the detection of dopamine. *Journal of fluorescence*, v. 28, n. 1, p. 269–276, 2018. 18
- [93] JAYAWEERA, S.; YIN, K.; HU, X.; NG, W. J. preparation of fluorescent carbon dots for label-free detection of Fe^{3+} . *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 370, p. 156–163, 2019. 18
- [94] JU, Y. J.; LI, N.; LIU, S. G.; LIANG, J. Y.; GAO, X.; FAN, Y. Z.; LUO, H. Q.; LI, N. B. Proton-controlled synthesis of red-emitting carbon dots and application for hematin detection in human erythrocytes. *Analytical and bioanalytical chemistry*, v. 411, n. 6, p. 1159–1167, 2019. 19
- [95] HOAN, B. T.; VAN HUAN, P.; VAN, H. N.; NGUYEN, D. H.; TAM, P. D.; NGUYEN, K. T.; PHAM, V.-H. Luminescence of lemon-derived carbon quantum dot and its potential application in luminescent probe for detection of Mo^{6+} ions. *Luminescence*, v. 33, n. 3, p. 545–551, 2018. 19
- [96] JING, J.; WEN-JING, L.; LIN, L.; YUAN, J.; YI-FANG, G.; SHUANG, S.-M. Orange luminescent carbon dots as fluorescent probe for detection of nitrite. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, v. 47, n. 4, p. 560–566, 2019. 19
- [97] DU, F.; CHENG, Z.; TAN, W.; SUN, L.; RUAN, G. Development of sulfur doped carbon quantum dots for highly selective and sensitive fluorescent detection of Fe^{2+} and Fe^{3+} ions in oral ferrous gluconate samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 226, p. 117602, 2020. 19
- [98] TABARAKI, R.; ABDI, O. Microwave assisted synthesis of n-doped carbon dots: an easy, fast and cheap sensor for determination of aspartic acid in sport supplements. *Journal of fluorescence*, p. 1–6, 2019. 20
- [99] HUANGFU, C.; HAO, J.; HAO, C. Highly sensitive fluorescent probe for Cr^{3+} detection using carbon quantum dots. In: . c2018. 20

- [100] WANG, Z.; XU, C.; LU, Y.; CHEN, X.; YUAN, H.; WEI, G.; YE, G.; CHEN, J. Fluorescence sensor array based on amino acid derived carbon dots for pattern-based detection of toxic metal ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 241, p. 1324–1330, 2017. 21
- [101] JIANG, K.; SUN, S.; ZHANG, L.; LU, Y.; WU, A.; CAI, C.; LIN, H. Red, green, and blue luminescence by carbon dots: full-color emission tuning and multicolor cellular imaging. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 54, n. 18, p. 5360–5363, 2015. 26, 38, 39
- [102] DEMAS, J. N. The measurement of photoluminescence quantum yields. a review. *J. Phys. Chem.*, v. 75, p. 991–1024, 1971. 31
- [103] MAGDE, D.; ROJAS, G. E.; SEYBOLD, P. G. Solvent dependence of the fluorescence lifetimes of xanthene dyes. *Photochemistry and Photobiology*, v. 70, n. 5, p. 737–744, 1999. 31
- [104] DEMASA, J.; CROSBY, G. The measurement of photoluminescence quantum yields. 1 a review2. *J. Chem. Phys*, v. 48, p. 4726, 1968. 31
- [105] WILLIAMS, A. T. R.; WINFIELD, S. A.; MILLER, J. N. Relative fluorescence quantum yields using a computer-controlled luminescence spectrometer. *Analyst*, v. 108, n. 1290, p. 1067–1071, 1983. 31
- [106] ABBRUZZINI, T. F.; SILVA, C. A.; ANDRADE, D. A. D.; CARNEIRO, W. J. D. O. Influence of digestion methods on the recovery of iron, zinc, nickel, chromium, cadmium and lead contents in 11 organic residues. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 38, n. 1, p. 166–176, 2014. 32
- [107] BOEIRA, R.; MAXIMILIANO, V.; DE SOUZA, M.; DE MORAES, M. Métodos de digestão x massas de amostra em análise de resíduos orgânicos. In: . c2003. 32
- [108] YANG, W.; ZHANG, H.; LAI, J.; PENG, X.; HU, Y.; GU, W.; YE, L. Carbon dots with red-shifted photoluminescence by fluorine doping for optical bio-imaging. *Carbon*, v. 128, p. 78–85, 2018. 38
- [109] GAO, W.; SONG, H.; WANG, X.; LIU, X.; PANG, X.; ZHOU, Y.; GAO, B.; PENG, X. Carbon dots with red emission for sensing of pt^{2+} , au^{2+} , and pd^{2+} and their

- bioapplications in vitro and in vivo. *ACS applied materials & interfaces*, v. 10, n. 1, p. 1147–1154, 2017. 38
- [110] DING, H.; WEI, J.-S.; ZHONG, N.; GAO, Q.-Y.; XIONG, H.-M. Highly efficient red-emitting carbon dots with gram-scale yield for bioimaging. *Langmuir*, Washington, v. 33, n. 44, p. 12635–12642, 2017. 38
- [111] DING, H.; JI, Y.; WEI, J.-S.; GAO, Q.-Y.; ZHOU, Z.-Y.; XIONG, H.-M. Facile synthesis of red-emitting carbon dots from pulp-free lemon juice for bioimaging. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 5, n. 26, p. 5272–5277, 2017. 38
- [112] CHEN, J.; WEI, J.-S.; ZHANG, P.; NIU, X.-Q.; ZHAO, W.; ZHU, Z.-Y.; DING, H.; XIONG, H.-M. Red-emissive carbon dots for fingerprints detection by spray method: coffee ring effect and unquenched fluorescence in drying process. *ACS applied materials & interfaces*, v. 9, n. 22, p. 18429–18433, 2017. 38
- [113] GE, J.; JIA, Q.; LIU, W.; GUO, L.; LIU, Q.; LAN, M.; ZHANG, H.; MENG, X.; WANG, P. Red-emissive carbon dots for fluorescent, photoacoustic, and thermal theranostics in living mice. *Advanced Materials*, v. 27, n. 28, p. 4169–4177, 2015. 38
- [114] LIU, J.; LI, D.; ZHANG, K.; YANG, M.; SUN, H.; YANG, B. One-step hydrothermal synthesis of nitrogen-doped conjugated carbonized polymer dots with 31% efficient red emission for in vivo imaging. *Small*, v. 14, n. 15, p. 1703919, 2018. 38
- [115] ZHOU, J.; YANG, Y.; ZHANG, C.-Y. A low-temperature solid-phase method to synthesize highly fluorescent carbon nitride dots with tunable emission. *Chemical communications*, v. 49, n. 77, p. 8605–8607, 2013. 39
- [116] PENG, J.; GAO, W.; GUPTA, B. K.; LIU, Z.; ROMERO-ABURTO, R.; GE, L.; SONG, L.; ALEMANY, L. B.; ZHAN, X.; GAO, G. et al. Graphene quantum dots derived from carbon fibers. *Nano letters*, v. 12, n. 2, p. 844–849, 2012. 39
- [117] DING, H.; YU, S.-B.; WEI, J.-S.; XIONG, H.-M. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism. *Acs Nano*, v. 10, n. 1, p. 484–491, 2015. 40

- [118] BAO, L.; LIU, C.; ZHANG, Z.-L.; PANG, D.-W. Photoluminescence-tunable carbon nanodots: surface-state energy-gap tuning. *Advanced Materials*, v. 27, n. 10, p. 1663–1667, 2015. 40
- [119] WANG, H.; SUN, C.; CHEN, X.; ZHANG, Y.; COLVIN, V. L.; RICE, Q.; SEO, J.; FENG, S.; WANG, S.; WILLIAM, W. Y. Excitation wavelength independent visible color emission of carbon dots. *Nanoscale*, v. 9, n. 5, p. 1909–1915, 2017. 41, 46
- [120] RECKMEIER, C. J.; WANG, Y.; ZBORIL, R.; ROGACH, A. L. Influence of doping and temperature on solvatochromic shifts in optical spectra of carbon dots. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 120, n. 19, p. 10591–10604, 2016. 41
- [121] DONG, J.; SOLNTSEV, K. M.; TOLBERT, L. M. Solvatochromism of the green fluorescence protein chromophore and its derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, Washington, v. 128, n. 37, p. 12038–12039, 2006. 43
- [122] TERENCEZIANI, F.; PAINELLI, A.; KATAN, C.; CHARLOT, M.; BLANCHARD-DESCE, M. Charge instability in quadrupolar chromophores: Symmetry breaking and solvatochromism. *Journal of the American Chemical Society*, Washington, v. 128, n. 49, p. 15742–15755, 2006. 43
- [123] GONG, X.; LIU, Y.; YANG, Z.; SHUANG, S.; ZHANG, Z.; DONG, C. An “on-off-on” fluorescent nanoprobe for recognition of chromium (vi) and ascorbic acid based on phosphorus/nitrogen dual-doped carbon quantum dot. *Analytica chimica acta*, v. 968, p. 85–96, 2017. 48

APÊNDICE

A

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES SOBRE OS ENSAIOS ANALÍTICOS

A.0.1 Curva analítica para quantificação de cromo(III)

A curva analítica apresentada na Figura A.1 foi construída a partir dos valores de intensidade linha espectral de Cr-K α , obtidos a partir dos espectros de EDX de padrões contendo diferentes níveis de concentração do analito (0,01 a 0,1 % de m m⁻¹ de cromo(III)). O coeficiente de correlação (r^2) entre intensidade e concentração de cromo(III) para a curva obtida foi igual a 0,995 para $n = 3$. Os coeficientes angular e linear estão descritos na equação

$$I = 1,175 (\pm 0,887) + 713,00 (\pm 16,09) \times [\text{teor de cromo(III)}],$$

onde I é dado em contagens por segundo e o teor de cromo(III), em porcentagem mássica.

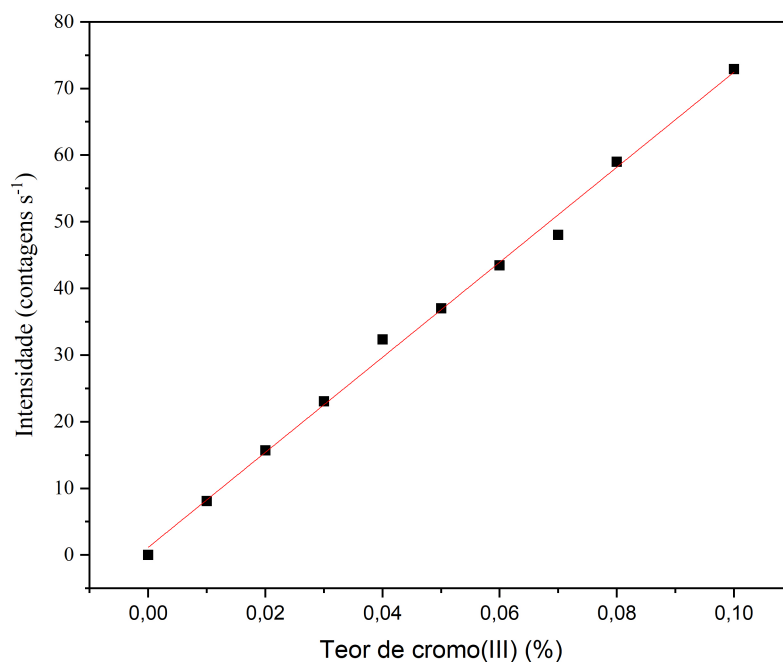


Figura A.1 – Curva analítica para a quantificação do teor de cromo(III) na faixa entre 0,01 a 0,1 % de m m⁻¹ de cromo(III).