



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS  
FACULDADE DE QUÍMICA**

**Ian Santana Resque**

**Pontos quânticos de Carbono (CQDs) com atividades fluorescentes para  
aplicações analíticas com imagens digitais**

**Belém - PA**

**2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS**  
**FACULDADE DE QUÍMICA**

**Pontos quânticos de Carbono (CQDs) com atividades fluorescentes para  
aplicações analíticas com imagens digitais**

**IAN SANTANA RESQUE**

Trabalho de conclusão de  
curso apresentado a Faculdade  
de Química–UFPA, como  
requisito para a conclusão da  
GRADUAÇÃO DE QUÍMICA  
INDUSTRIAL

**ORIENTADOR (A): Prof. Dr. Vagner Bezerra dos Santos**

**Belém - PA**

**2018**

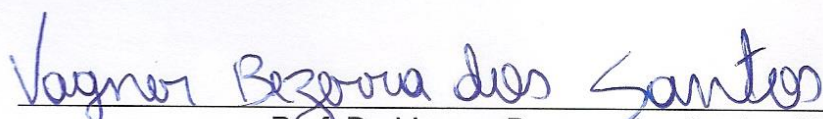
IAN SANTANA RESQUE

**Pontos quânticos de Carbono (CQDs) com atividades fluorescentes para  
aplicações analíticas com imagens digitais**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado à obtenção do título de Bacharel em Química e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Química, da Faculdade de Química, Universidade Federal do Pará.

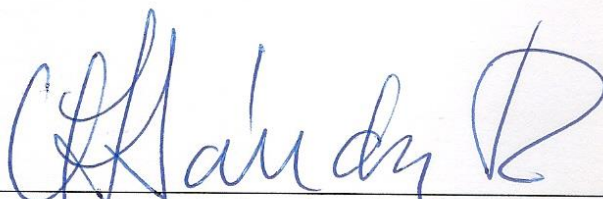
Conceito: Excedente;

Belém, 18 de dezembro de 2018



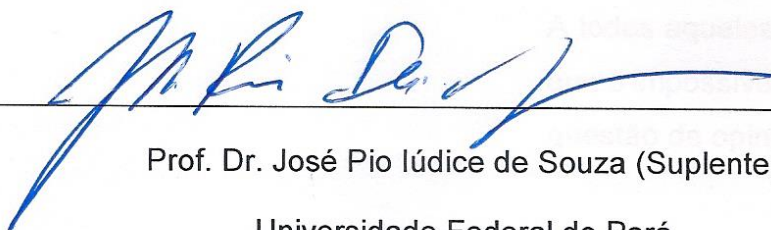
Prof. Dr. Wagner Bezerra dos Santos (Presidente)

Universidade Federal do Pará



Prof. Dr. Oscar Augusto Sanchez Romero (Membro interno)

Universidade Federal do Pará



Prof. Dr. José Pio Iúdice de Souza (Suplente)

Universidade Federal do Pará

A todos aqueles que acreditam  
que o impossível é apenas uma  
questão de opinião.

## **Agradecimento**

A Yrvana P. dos Santos Brito que me amou e me ensinou a amar, durante todos os momentos dessa jornada sempre me apoiou e sei que continuará apoiando-me. Te conhecer foi o maior presente que ganhei na vida, compartilhar momentos especiais com você é como experimentar chocolates em Gramado, na qual cada mordida tem um gosto fantástico que faz querermos ficar com cada pedaço para o resto da vida. Jamais esqueçamos da solene frase de amor e força que usamos para seguir em frente “ Tudo vai dar certo”. Te dedico todo meu amor.

A minha mãe corajosa e destemida (Maria Euridice Santana Resque) que é um exemplo de dedicação, perseverança, solidariedade, fé e amor. Ao conhecer sua trajetória me encho de orgulho e felicidade, por possuir uma mãe tão forte e resistente. Possuo muita alegria de Deus dar-me a oportunidade de ser seu filho.

Ao meu pai obstinado e gentil (Paulo de Sergio de Melo Resque) que descobrir seu meu melhor amigo, o qual sempre busquei ser reflexo de sua força, paciência, calma e amor. Quando eu crescer quero ser que nem você, e sei que quando crescer ainda vou ter muito a aprender com você. Graça a você sei que tipo de pessoa quero ser.

Aos meus irmãos queridos e amados (Bruno Rafael Santana Resque e Ana Paula Santana Resque), os quais nunca esqueci independente do lugar em que estivesse. Obrigado por toda a paciência, preocupação e carinho. Amo vocês!

Ao padrinho Sandro Resque por todo o apoio, incentivo, as conversas e a disponibilidade para todos os momentos de dificuldade. Sou muito grato pela sua presença minha vida, considero-lhe como um segundo pai.

A minha avó materna (Ilza Santana) por toda simplicidade, bondade e puro amor que transborda a todas as pessoas ao seu redor. E independentemente da situação nunca deixou falta carinho e amor.

Ao meu falecido avô materno (Vandico Santana) que tinha um grande desejo de ver seu sobrinho formando. Vô, estou concluindo e gostaria muito de sua presença entre nós, mas sei que os melhores precisam ir primeiro para o céu, pois eles darão as boas vindas quando for nossa vez.

Ao meu falecido primo (Junior Santana), que crescemos e aprontamos muitas coisas. Nunca esquecerei dos nossos dias juntos, aprontávamos e aprontamos muito. Você está em meu coração primo.

A minha avó paterna (Raimunda Resque) que possibilitou-me a começar a andar nesta direção e incentivou-me a dar o meu melhor.

Ao meu querido “maninho” Leandro um grande melhor amigo e irmão que Deus me concedeu a oportunidade de conhecer e ajudar. Além de tudo, agradeço por apoiar-me e ser presente sempre que quando precisei.

Ao Prof. Dr, Vagner Bezerra pela orientação, ensinamento, amizade e confiabilidade depositada em mim. Pela paciência e esforço para ajustes desse trabalho. Por todo o conhecimento que compartilhou comigo. Sou muito grato.

Ao Prof. Dr. Carlos Neves, primeiramente por todos os momentos de aprendizado, descontração e risadas. Segundamente, por aceitar o convite de participar como membro da banca examinadora, sinceramente obrigado.

Ao Prof. Dr. Oscar Romero por compartilha seu conhecimento e amor pela química. Também por aceitar o convite para participar da banca examinadora. Obrigado.

Ao Pro. Dr. Pio ao ceder espaços em seu laboratório para realizar este trabalho.

As Prof. Dr. Kelly e ao Heron por abrirem as portas do GEAAp e oferecerem o suporte para realizar este trabalho.

Aos meus amigos do grupo Lia<sup>3</sup> (Emelle, Larissa, Paulo e Inácio) por estarem no meu lado nos momentos de pressão, cobrança e na dura batalha que foi terminar este trabalho.

Aos voluntários Jacklyne e Gregório por toda a ajuda, sem a ajudas deles teria sido muito mais difícil finalizar esse trabalho.

Aos colegas do GEAAp por todos os momentos descontraídos (Bianca, Josélia, Mariane, Rafael e Dorazilma).

Aos companheiros (sabotadores) do LECAC por todas os momentos de descontração e alívio do estresse.

“É só com o coração que conseguimos ver de verdade, o que é essencial é invisível aos olhos”

(Antoine de Saint-Exupéry)

## RESUMO

Neste trabalho, foram sintetizados pontos quânticos de carbono (CQDs), sua fluorescência foi aplicada para detecção de hipoclorito de sódio (NaClO) empregando o método de análise por imagem digital (DIA). Foram estudadas condições de síntese, como composição, procedimento, temperatura e tempo para obtenção de CQDs com bom sinal fluorescentes. Estes foram sintetizados partir da composição de ácido cítrico (AC) e etilenodiamina (ETA) na razão de molar de 1:1, com glicerol como solvente, pelo procedimento em duas etapas e a temperatura e tempo ótimos de 180° e 90 minutos, respectivamente. A detecção de NaClO foi pela inibição da fluorescência dos CQDs, medida pelo modelo de cores primarias RGB como sinal analítico para a construção da curva de calibração. As imagens foram obtidas por uma *smartphone* e os valores de Vermelho (R), Verde (G) e Azul (B) foram obtidos pelo programa image J e empregado regressão linear para obtenção das equações da reta. A curva de calibração foi construída com uma solução de CQDs na condição ótima de 6,0 mg L<sup>-1</sup> em pH 4 com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,02 mol L<sup>-1</sup> e faixa dinâmica de NaClO de 51 a 242 nmol L<sup>-1</sup>. A curva analítica com maior sensibilidade foi o cálculo vetorial com uma equação de Vetor (R, G, B) = 214 (± 20,6) \* [NaClO] + 5,2 (± 3,3) com um R<sup>2</sup> = 0,991, limite de detecção e quantificação de 13 e 43 nmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. O coeficiente de variação para as medidas de branco foram de 3,58%, 1,23%, 0,49% e 0,35% para o R, G, B e Vetor (R, G, B), respectivamente. Tais resultados mostrarão que houve poucos erros experimentais e pouco ruído do sinal analítico.

**Palavra-chave:** Pontos quânticos de carbono, fluorescência, imagens digitais, hipoclorito de sódio.

## ABSTRACT

On reserch, carbon quantum dots (CQDs) were synthesized, their fluorescence was applied to the detection of sodium hypochlorite using the digital image analysis method (DIA). Synthesis conditions were studied, such as composition, procedure, temperature and time to obtain CQDs with good fluorescent signal. These were synthesized from the composition of citric acid and ethylenediamine on the molar ratio of 1: 1, with glycerol as the solvent, by the two step procedure and the optimum temperature and time of 180 °C and 90 minutes, respectively. The detection of NaClO was by the inhibition of the fluorescence of the CQDs, as measured by the RGB primary color model as an analytical signal for the construction of the calibration curve. The images were obtained by a smartphone and the values of Red (R), Green (G) and Blue (B) were obtained by the image J software and used linear regression to obtain the equations of the line. The calibration curve was constructed with a solution of CQDs in the optimal condition of 6.0 mg L<sup>-1</sup> at pH 4 with 0.02 mol L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and dynamic NAClO range of 51 to 242 nmol L<sup>-1</sup>. The most sensitive analytical curve was the vector calculation with an equation  $Vector_{(R, G, B)} = 214 (\pm 20.6) * [NaClO] + 5.2 (\pm 3.3)$  with a  $R^2 = 0.991$ , limit of detection and quantification of 13 nmol L<sup>-1</sup> and 43 nmol L<sup>-1</sup>, respectively. The coefficient of variation for the white measurements was 3.58%, 1.23%, 0.49% and 0.35% for the R, G, B and vector (R, G, B), respectively. These results show that there were few experimental errors and little analytical signal noise.

**Keywords:** Carbon quantum dots, fluorescence, Digital image, sodium hypochlorite.

## LISTA DE ABREVIATURAS

CQDs	Pontos quânticos de carbono (do inglês, <i>Carbon Quantum Dots</i> ).
DIA	Análise por Imagem Digital (do inglês, <i>Digital Image Analysis</i> ).
DIB	Baseado em imagem digital (DIB, do inglês <i>Digital Image Based</i> ).
CCD	Dispositivo de carga acoplada (do inglês, <i>Charge Coupled Device</i> ).
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia (do inglês <i>highest occupied molecular orbital</i> ).
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia (do inglês <i>lowest unoccupied molecular orbital</i> ).
AC	Ácido Cítrico
ETA	Etilenodiamina
RGB	Vermelho, verde e azul (do inglês, <i>Red, Green e Blue</i> )
PLA	Poliácido láctico (do inglês <i>polyactic acid</i> )
CO-Uv	Compartimento Optico Ultravioleta
CG 1:1	Síntese com precursores de ácido cítrico e glicerol na razão molar de 1:1, pelo procedimento P1 a 180° durante 90 minutos.
CG 2:1	Síntese com precursores de ácido cítrico e glicerol na razão molar de 2:1, pelo procedimento P1 a 180° durante 90 minutos.
CG 10:1	Síntese com precursores de ácido cítrico e glicerol na razão molar de 10:1, pelo procedimento P1 a 180° durante 90 minutos.
CE 1:1	Síntese com precursores de ácido cítrico e etilenodiamina na razão molar de 1:1, pelo procedimento P1 a 180° durante 90 minutos.
CE 2:1	Síntese com precursores de ácido cítrico e etilenodiamina na razão molar de 2:1, pelo procedimento P1 a 180° durante 90 minutos.
CE 10:1	Síntese com precursores de ácido cítrico e etilenodiamina na razão molar de 10:1, pelo procedimento P1 a 180° durante 90 minutos.
GCE 1:1-P2-180-90	CQDs sintetizado com os precursores de ácido cítrico e etilenodiamina na razão 1:1, com glicerol como solvente, pelo procedimento P2 a 180°C durante 90 minutos.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características das transições eletrônicas entre os orbitais $\sigma$ , $n$ e $\pi$ . Absortividade molecular ( $\epsilon$ ). .....	5
<b>Tabela 2.</b> Composições de precursor secundário estudado nas sínteses. Sob as condições do procedimento P1, a 180°C durante 30 minutos. ....	19
<b>Tabela 3.</b> Resultados da cromatografia em coluna preenchida com sílica, com uma vazão do eluente (metanol) de 0,1 mL min <sup>-1</sup> . .....	30
<b>Tabela 4.</b> Volumes utilizados para o preparo dos brancos e dos pontos da curva de calibração. ....	34
<b>Tabela 5.</b> Resultados analíticos, equação da reta das curvas de calibração, coeficiente de correlação ( $R^2$ ), desvio padrão do branco ( $n = 10$ ) ( $\sigma$ ), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ). ....	35
<b>Tabela 6.</b> Parâmetros analíticos de algumas técnicas em pregadas na literatura para detecção de NaClO. ....	36

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Espectro eletromagnético representando o processo molecular que ocorre quando a radiação em cada região é absorvida. O espectro do visível abrange a faixa de comprimento de onda de 380 e 780 nm ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ). .....3
- Figura 2.** Representação dos níveis eletrônicos (E), vibracionais (V) e rotacionais (R) de uma molécula (a); transições eletrônicas entre orbitais  $\sigma$ ,  $\pi$  e n. ....4
- Figura 3.** Processo desativação para uma molécula excitada. ....6
- Figura 4.** Ilustração do fenômeno de absorção e reflexão da radiação visível pela cereja ácida (*Prunus cerasus* L) (a) e cor complementar a região de absorção de suas moléculas cromóforas (b). .....8
- Figura 5.** Ilustração do processo de fluorescência. ....9
- Figura 6.** Fotografia de diferentes emissões fluorescentes com CQDs assistida por radiação UV em 365 nm. .... 10
- Figura 7.** Representação do CQDs preparados a partir de precursores com grupos funcionais amina (a) e grupos carboxílicos (b). .... 11
- Figura 8.** Representação gráfica do compartimento óptico com excitação Ultravioleta (CO-Uv) com a placa de toque confeccionada em impressora 3D, utilizados para as medidas de fluorescência. .... 15
- Figura 9.** Procedimentos e materiais utilizados para a síntese dos CQDs. No (P1) todos os precursores são adicionados juntos e seguem para o aquecimento. No (P2) é adicionado o precursor primário e levado ao aquecimento (etapa I) depois é retirado e resfriado a temperatura ambiente, e adicionado o precursor secundário (etapa II). Por fim ele é posto no aquecimento novamente (etapa III). .... 17
- Figura 10.** Fotografias dos produtos (a) e de suas respectivas emissões fluorescentes das dispersões a  $14,4 \text{ mg L}^{-1}$  (b) das sínteses utilizando o procedimento P1, a  $180^\circ \text{ C}$  durante 30 minutos. GC 1 = ácido cítrico, sem etilenodiamina com glicerol como solvente, GCE 1:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 1:1, com glicerol como solvente. GCE 2:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 2:1 e GCE 10:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 10:1, ambas com glicerol como solvente. ....20
- Figura 11.** Rendimento mássico das sínteses utilizando glicerol como solvente pelo procedimento P1 a  $180^\circ \text{ C}$  durante 30 minutos e medidas de fluorescência nos canais de cor vermelho, verde e azul realizadas no CO-Uv, com as dispersões a  $14,4 \text{ mg L}^{-1}$  de cada uma das sínteses, realizadas em triplicata. GC 1 = ácido cítrico 1:1, sem etilenodiamina com glicerol como solvente, GCE 1:1 = ácido cítrico e etilenodiamina

na razão 1:1, com glicerol como solvente. GCE 2:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 2:1 e GCE 10:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 10:1, ambas com glicerol como solvente.....	21
<b>Figura 12.</b> Rendimento dos CQDs preparados nos procedimentos P1 e P2, com a composição de GCE 1:1 a 180°C durante 30 minutos. GCE 1:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 1:1, com glicerol como solvente. ....	22
<b>Figura 13.</b> Mecanismo de formação dos CDs ( <i>Carbon dots</i> ), IPCA e outras moléculas a partir de AC e ETA via reação de substituição nucleofílica. ....	24
<b>Figura 14.</b> Processo de formação dos CQDs a partir do CA e do ETA, pelo procedimento 2.....	25
<b>Figura 15.</b> Fotografia dos CQDs preparados em diferentes temperaturas, utilizando o procedimento P2, composição GCE 1:1 durante 30 minutos.....	26
<b>Figura 16.</b> Rendimento das sínteses realizadas em diferentes temperaturas, procedimento P2 com a composição de GCE 1:1 durante 30 minutos. ....	26
<b>Figura 17.</b> Fotografia dos CQDs sintetizados em diferentes tempos de síntese com procedimento P2, composição de GCE1:1 a 180°C durante 30 minutos. ....	27
<b>Figura 18.</b> Rendimento das sínteses obtidas em diferentes tempos, utilizado o procedimento 2 com a composição de GCE 1:1 a uma temperatura de 180°C .....	28
<b>Figura 19.</b> Fotografia das placas cromatográficas de papel antes (a) e depois (b) da fase móvel.....	29
<b>Figura 20.</b> Cromatografia em coluna empacotada com sílica gel e forte adsorção da espécie D na sílica. ....	30
<b>Figura 21.</b> Fotografia das frações coletadas após cromatografia em coluna empacotada com sílica gel contendo as espécies fluorescentes separadas, todas em metanol, exceto a espécie D em água. ....	31
<b>Figura 22.</b> Gráfico referente ao estudo da influência do solvente com a fluorescência. ....	32
<b>Figura 23.</b> Gráfico referente ao estudo da influência o pH com o sinal fluorescente. ....	33
<b>Figura 24.</b> Fotografia da placa de toque (a), onde nas duas primeiras linhas estão as soluções do branco (B) para os cálculos de LD e LQ. Nas duas últimas linhas correspondem as soluções da curva de calibração (1, 2, 3, 4 e 5); Gráfico das regressões lineares da calibração para o canal do vermelho, verde e azul (b) nas concentrações de $5,1 \times 10^{-7}$ a $2,42 \times 10^{-8}$ mol L <sup>-1</sup> .....	34

## SÚMARIO

### Sumário

Capítulo 1 - Introdução.....	1
Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica.....	2
Fundamentos da espectroscopia .....	2
Análise de imagens digitais.....	7
Pontos quânticos de carbono.....	9
Capítulo 3 Objetivo .....	12
Objetivos específicos .....	12
Capítulo 4 – Procedimento experimental .....	14
Reagentes e amostras .....	14
Instrumentos .....	14
Síntese dos CQDs .....	16
Estudos cromatográficos.....	17
Estudo do pH sobre a fluorescência dos CQDs.....	18
Aplicação dos CQDs.....	18
Capítulo 5 – Resultados e Discussão.....	19
Síntese dos CQD - Composição de síntese.....	19
Estudo da temperatura de síntese dos CQDs.....	25
Estudo do tempo de síntese dos CQDs .....	27
Separação dos diferentes CQDs por cromatografia.....	28
Estudo dos fatores que influenciam na fluorescência: Natureza e pH do dispersor dos CQDs. ....	31
Aplicação analítica .....	33
Capítulo 6 Conclusão .....	37
Referências .....	38

## Capítulo 1 - Introdução

O desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis é de grande interesse para o campo da pesquisa, controle de qualidade na indústria, ambiental e outros, pois permite determinar com precisão pequenas variações dos analitos de interesse. Os métodos fluorescentes são vantajosos nesse sentido, pois são capazes de detectar pequenas concentrações dos analitos, contudo, geralmente os reagentes para estes métodos são onerosos, por isso, tem-se pesquisado materiais de baixo custo com propriedades fluorescentes (TAN e colaboradores, 2011).

Nesse contexto, a descoberta dos pontos quântico de carbono (CQDs, do inglês *Carbon Quantum Dots*) têm recebido muita atenção, pois são abundantes as matérias primas para a síntese desses materiais e os métodos de síntese são simples e de baixo custo. Em particular, os CQDs possuem diversos procedimentos de síntese e entre as suas várias propriedades interessantes, uma de grande interesse para a química verde é a sua baixa toxicidade (LAI e colaboradores, 2012).

O método de análise por imagens digitais (DIA, do inglês *Digital Image Analysis*), ou baseado em imagem digital (DIB, do inglês *Digital Image Based*), emprega o uso de dispositivos eletrônicos para captura de imagens digitais para realizar a detecção de analitos de interesses obtidos de reações colorimétricas ou de fenômenos luminescentes, logo a principal vantagem desse método é a utilização de detectores de baixo custo. Nestes eletrônicos, os dispositivos de carga acoplada (CCD, do inglês *Charge-Coupled Device*) são muito empregados, por serem sensíveis, compactos, e por serem produzidos em larga escala, apresentam seu custo de fabricação baixo (THEUWISSEN, 2008). Enquanto que, a técnica de *spot test* faz utilização de pequenos volumes para a detecção dos analitos (volumes menores que 1 mL), portanto a utilização em conjunto do método DIA com a técnica de *spot test* garante o desenvolvimento de métodos econômicos e que geram poucos resíduos (PESSOA e colaboradores, 2017).

O desenvolvimento de métodos analíticos que empregam os CQD em química analítica teve aumento significativo nessa última década, como reflexo da ampla aplicabilidade que o CQD possui para detecção de analitos. Porém, poucas foram as técnicas desenvolvidas que empregam o uso de DIA, *spot test* e CQDs conjuntamente, as quais permitiriam criar um método analítico sustentável, que não

agride o meio ambiente, pelo uso de poucos reagentes, dispositivos portáteis e de baixo consumo de energia e que utilizam reagentes não tóxicos (NAMDARI e colaboradores, 2017).

## Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica

### Fundamentos da espectroscopia

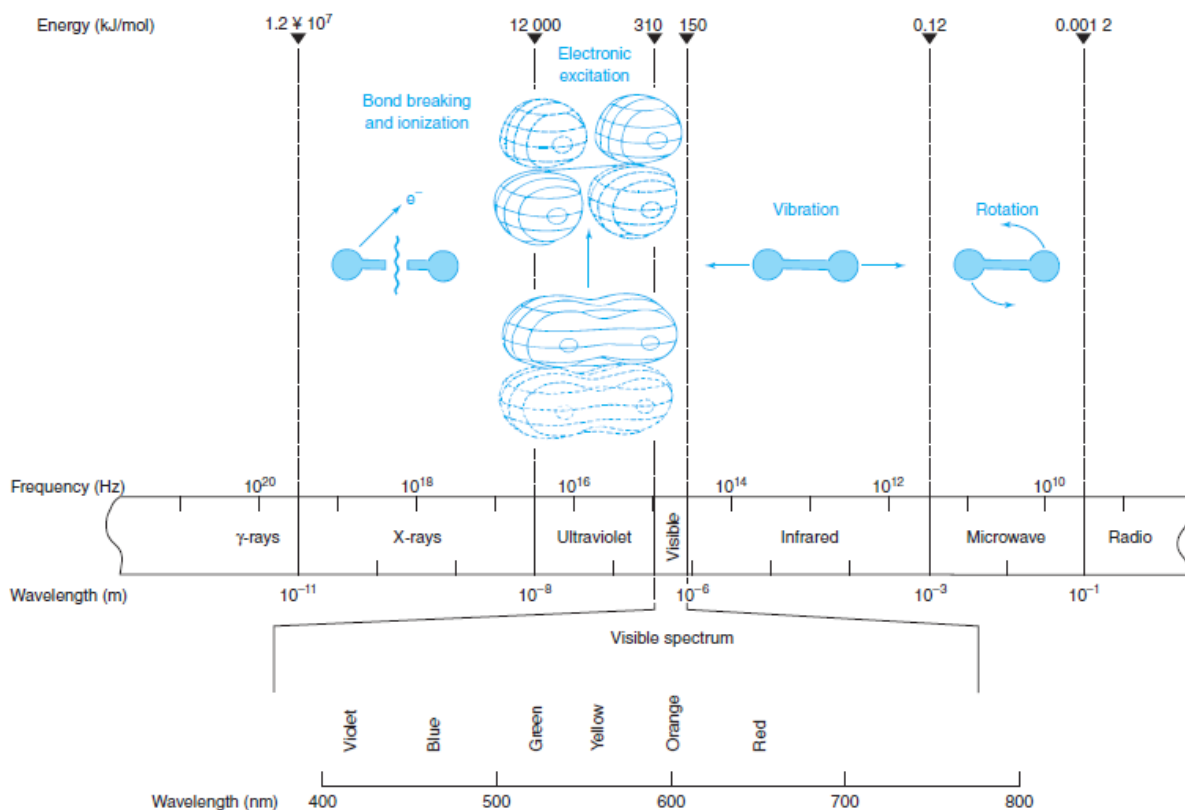
A espectroscopia é a ciência que estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria. Muitas são as interações da radiação eletromagnética com as espécies químicas, muitas dessas interações envolvem transições eletrônicas de níveis de energia específicos. Pois, a radiação eletromagnética possui, ao mesmo tempo, propriedades ondulatórias e corpuscular (HARRIS, 2016).

Os fenômenos da ótica física como a refração, reflexão, interferência, difração, polarização e dispersão são explicados satisfatoriamente, considerando apenas a propriedade ondulatória da radiação eletromagnética. Enquanto que, os tipos de interações de absorção e emissão são explicados pela natureza corpuscular da radiação eletromagnética (VINADÉ; VINADÉ, 2005). Nesse tipo de interação considera-se que a radiação eletromagnética é composta de pacotes discretos de energia que são chamados de fótons. Pode-se relacionar as propriedades ondulatórias com as corpusculares, por meio, da relação da energia do fóton com a frequência ou o comprimento de onda pela Equação 1 (VINADÉ; VINADÉ, 2005).

$$\text{Equação 1} \quad E = h \nu = \frac{h c}{\lambda}$$

Onde E é a energia em Joule (J),  $\nu$  é a frequência em Hertz (Hz ou  $s^{-1}$ ), h é a constante de Planck ( $6,63 \cdot 10^{-34}$  J s), c é a velocidade de propagação da luz no vácuo (aproximadamente  $3,0 \cdot 10^8$  m  $s^{-1}$ ) e  $\lambda$  o comprimento de onda (m). Os fótons interagem com a matéria de forma discreta, ou seja, a matéria não interage com qualquer energia, pois para que ocorram transições em diferentes estados energéticos é preciso uma quantidade exata de energia. O espectro da radiação eletromagnética pode ser dividido em zonas nas quais a energia dos fótons atuam em diferentes níveis da matéria, como mostrado na **Figura 1**.

**Figura 1.** Espectro eletromagnético representando o processo molecular que ocorre quando a radiação em cada região é absorvida. O espectro do visível abrange a faixa de comprimento de onda de 380 e 780 nm ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ).



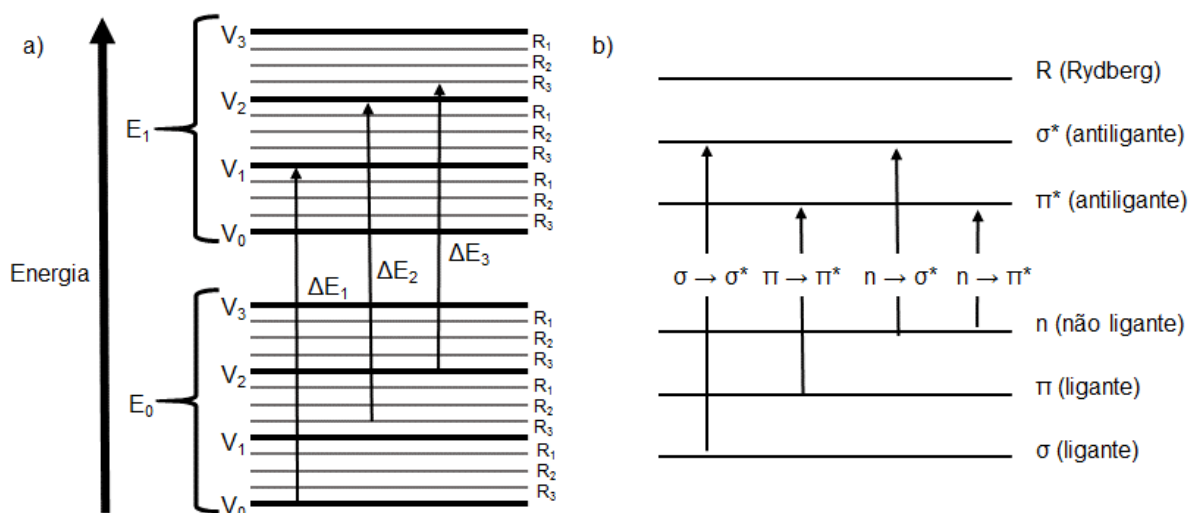
Fonte: HARRIS, 2016.

O intervalo entre os comprimentos de onda 400 a 800 nm corresponde a espectro de luz visível e o intervalo entre 200 a 400 nm corresponde ao espectro na região do ultravioleta próximo. As energias correspondentes a essas regiões são em torno de 299 a 599  $\text{KJ mol}^{-1}$ , para a região do ultravioleta, e de 150  $\text{KJ mol}^{-1}$  a 299  $\text{KJ mol}^{-1}$  para a região do visível. Nas moléculas fótons com estas energias podem, por exemplo, estar envolvidos nas transições de elétrons do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO, do inglês *highest occupied molecular orbital*) para o orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO, do inglês *lowest unoccupied molecular orbital*), **Figura 2** (a). Onde  $E_0$  corresponde ao HOMO,  $E_1$  o LUMO e  $\Delta E$  é a energia necessária para que ocorra a transição entre os níveis eletrônicos, a qual está relacionada com o comprimento de onda da radiação eletromagnética absorvida através da Equação 1 (VINADÉ; VINADÉ, 2005). Dentro de cada nível eletrônico, subníveis de menor energia são encontrados, estes são os níveis de energia associados a estados vibracionais ( $V_0, V_1, V_2, V_n...$ ). Estes níveis estão relacionados

a fato de ligações química sofrerem processos de estiramento da ligação, compressão, deformação angular, entre outras possibilidades, atuando assim, similarmente como um oscilador harmônico. Vale salientar também que dentro de cada nível vibracional, níveis de energia ainda mais baixos, do tipo rotacional ( $R_0, R_1, R_2, R_3, R_n$ ) também estão presentes, correlacionados com diferentes modos de rotação das moléculas. Assim, durante uma transição eletrônica, transições vibracionais e rotacionais também ocorrem, pois o elétron passa um a ocupar numa molécula um diferente nível eletrônico, vibracional e rotacional (HARRIS, 2016; INGLE; CROUCH, 1988).

As transições eletrônicas para moléculas são mais bem descritas pela teoria do orbital molecular (OM). Para muitas moléculas poliatômicas é possível considerar transições envolvendo OM ligantes tipo sigma ( $\sigma$ ) e pi ( $\pi$ ), OM antiligantes  $\sigma$  e  $\pi$  ( $\sigma^*$  e  $\pi^*$ ) e OM não ligantes (n), **Figura 2** (b). As transições que ocorrem de um orbital ligante para um antiligante ( $N \rightarrow V$ ) são fortemente permitidas. Enquanto que, a promoção do elétron de um orbital não ligante para um orbital antiligante são ( $N \rightarrow Q$ ), geralmente, menos favorecidas que as transições  $N \rightarrow V$ . A ordem de energia entre estas transições são apresentadas na **Figura 2**. Algumas das características dessas transições eletrônicas são mostradas na **Tabela 1**.

**Figura 2.** Representação dos níveis eletrônicos (E), vibracionais (V) e rotacionais (R) de uma molécula (a); transições eletrônicas entre orbitais  $\sigma$ ,  $\pi$  e n.



Fonte: Próprio autor.

**Tabela 1.** Características das transições eletrônicas entre os orbitais  $\sigma$ ,  $n$  e  $\pi$ . Absortividade molecular ( $\epsilon$ ).

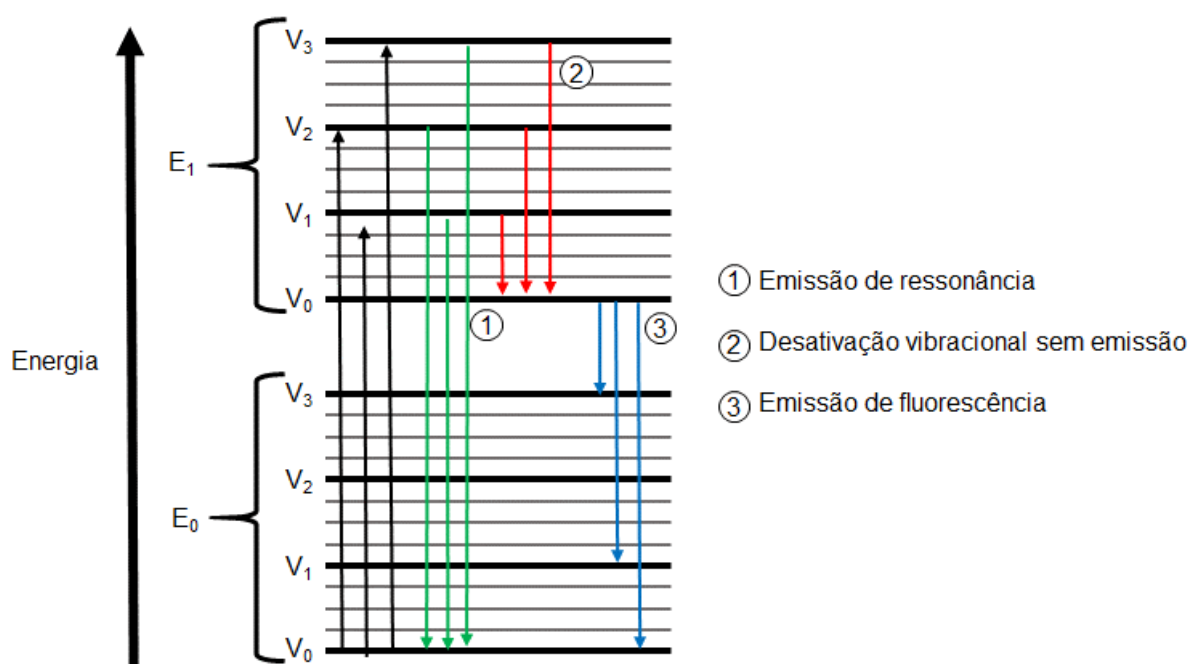
Transição	Designação Mulliken	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$ (L mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	Exemplos
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	N $\rightarrow$ V	< 200	-	Hidrocarbonetos saturados
$\pi \rightarrow \pi^*$	N $\rightarrow$ V	200 - 500	$\approx 10^4$	Alquenos, alquinos, aromáticos.
$n \rightarrow \sigma^*$	N $\rightarrow$ Q	160 - 260	$10^2 - 10^3$	H <sub>2</sub> O, CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> Cl, CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>
$n \rightarrow \pi^*$	N $\rightarrow$ Q	250 - 600	$10^1 - 10^2$	Carbonilas carboxiladas, nitradas, nitrosadas

As espécies químicas que são excitadas por esses fótons liberam a energia absorvida para retornarem para o estado eletrônico de menor energia, pois são mais estáveis nesse último estado. A liberação dessa energia ocorre por dois processos: desativação não-radioativa e radioativa, como mostrado na **Figura 3**. A desativação não-radiante, converte o excesso de energia eletrônica para energia translacional, rotacional, ou vibracional, convertendo essa energia em energia térmica ou cinética sem emissão de fótons. Em contra partida, o processo de dissipação radiante envolve emissão de fótons (INGLE; CROUCH, 1988).

Quando o átomo retorna a exatamente ao mesmo nível de energia antes da excitação, chama-se de emissão ressonante, sendo o comprimento de onda emitido similar ao absorvido, o que ocorre pouco na prática, pois processos de desativação não-radioativo são comuns, no sistema condensado. Nos sistemas moleculares condensados (líquidos e sólidos) ocorrem colisões moleculares com frequência entre moléculas do solvente ou do soluto, provocando o decaimento da energia absorvida em energética cinética translacional e vibracional, de modo que o elétron retorna ao nível de menor energia sem emitir radiação, chama-se esse tipo de transição não radiante de conversão interna. Assim, a molécula perde energia ocupando níveis vibracionais menores, e ao atingir o menor nível vibracional dentro de um estado eletrônico excitado, ela pode emitir fótons de menor energia (maior comprimento de onda), causando uma transição eletrônica de conversão externa, gerando a

fluorescência. (INGLE; CROUCH, 1988; VINADÉ; VINADÉ, 2005), Figura 3. Se ocorresse antes da transição externa, uma alteração do spin eletrônico, para um estado ainda menor de energia, estado tripleto, ocorreria uma transição inter-sistema, que caracteriza uma fosforescência, cuja duração do fenômeno pode durar segundos, ao passo que na fluorescência dura em média ms a  $\mu$ s, após o estímulo de excitação. Contudo, essa transição inter-sistema é de baixa probabilidade de ocorrência, sendo rara a quantidade de moléculas que a fazem (INGLE; CROUCH, 1988).

**Figura 3.** Processo desativação para uma molécula excitada.



Fonte: Próprio autor.

Em moléculas orgânicas as transições entre o estado fundamental e o estado excitado podem envolver transições  $\pi$ - $\pi^*$  ou transições  $n$ - $\pi^*$ . A maior fluorescência usualmente envolve transições  $\pi$ - $\pi^*$ , pois a probabilidade de ocorrência é alta devido à alta absorvidade, alta taxa de absorção e baixo tempo de vida da fluorescência. Enquanto que, para as transições  $n$ - $\pi^*$  a probabilidade de transição fluorescente é baixa, porque são poucas as sobreposições entre os orbitais  $n$  e  $\pi^*$ .

A taxa de emissão de fótons fluorescentes de uma espécie fluorofora depende de alguns fatores, como o número de elétrons no estado fundamental ( $n_{s_0}$ ), a taxa de absorção ( $K_A$ ), ao rendimento quântico ( $\Phi_F$ ) e o volume de amostra irradiada ( $V$ ), conforme a Equação 2. Além disso, a intensidade fluorescente é diretamente

proporcional a intensidade da fonte de excitação ( $F = K P_0$ ), seja, quanto maior a intensidade da fonte de excitação maior será o sinal fluorescente e conseqüentemente a sensibilidade analítica que utiliza essa intensidade como sinal (INGLE; CROUCH, 1988).

$$\text{Equação 2} \quad \Phi_{F,p} = n_{S_0} K_A \phi_F V$$

O fenômeno da fluorescência do ponto de vista analítico, permite detecção de baixas concentrações dos analitos, pois, diferente do método de absorção, em que o detector está medindo a atenuação da radiação da fonte, no método da fluorescência, o detector apenas realiza as medidas da radiação das espécies que emitem a um ângulo de 90°. Como resultado, para moléculas que possuem bons rendimentos quânticos as variações de sinais são muito mais acentuadas e, conseqüentemente, alcança-se baixas concentrações dos analitos, com limites de detecção tão baixos quanto pM ( $1,0 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ ) (INGLE; CROUCH, 1988).

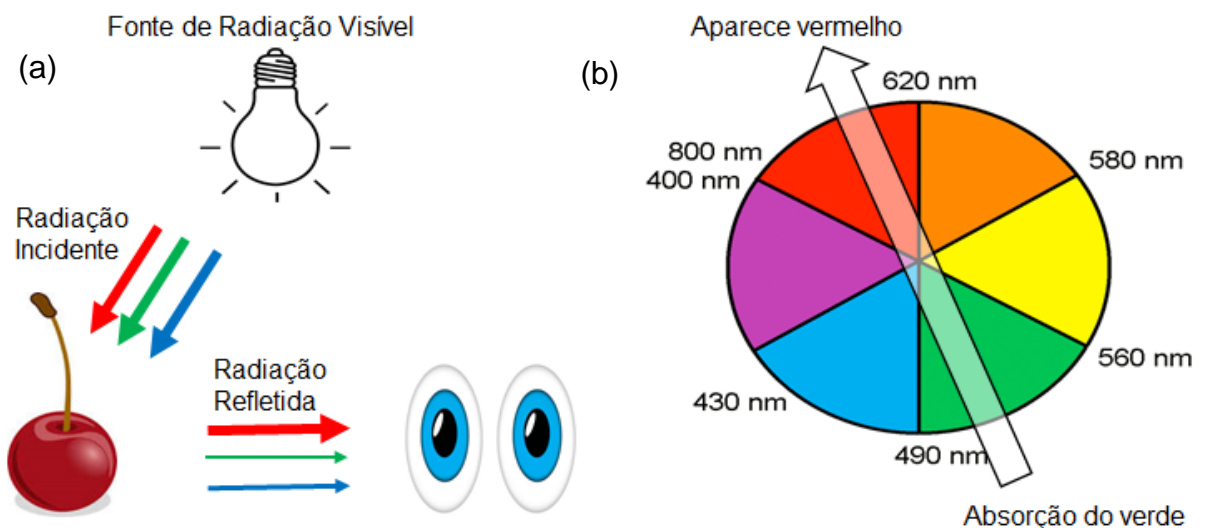
## **Análise de imagens digitais**

A método DIA consiste na utilização de câmeras digitais para registrar imagens digitais de reações colorimétricas. Essas imagens digitais são arquivadas na forma de bits que armazenam informações no modelo de cores primárias (RGB, do inglês *Red, Blue and Green*), que fornece uma grande combinação de cores ( $255^3$ ) (MEDEIROS DE MORAIS; DE LIMA, 2014).

A cor é um fenômeno relacionado a absorção de radiação na região do visível e a reflexão das radiações não absorvidas, conforme ilustrado na **Figura 4** (a). Quando um comprimento de onda é absorvido por um grupo cromóforo, são as radiações não absorvidas que determinam a cor observada do objeto. As cores observáveis podem ser mais bem classificadas como cores complementares, essa corresponde às cores não absorvidas pelas moléculas cromóforas (VINADÉ; VINADÉ, 2005). Existe uma correlação entre a cor absorvida e a cor observada, **Figura 4** (b). No caso da cereja ácida (*Prunus cerasus L*) as antocianinas tipo cianidina 3-glicosídeo existentes absorvem na região do visível com comprimento de onda entre 470 nm a 550 nm. Essa faixa corresponde a comprimentos de onda da cor verde (BLANDO e

colaboradores, 2004). Portanto, a cor verde será majoritariamente absorvida e será observada a cor vermelha, refletida. A absorção da cor verde possui correlação com a concentração da espécie cromófora.

**Figura 4.** Ilustração do fenômeno de absorção e reflexão da radiação visível pela cereja ácida (*Prunus cerasus* L) (a) e cor complementar a região de absorção de suas moléculas cromóforas (b).

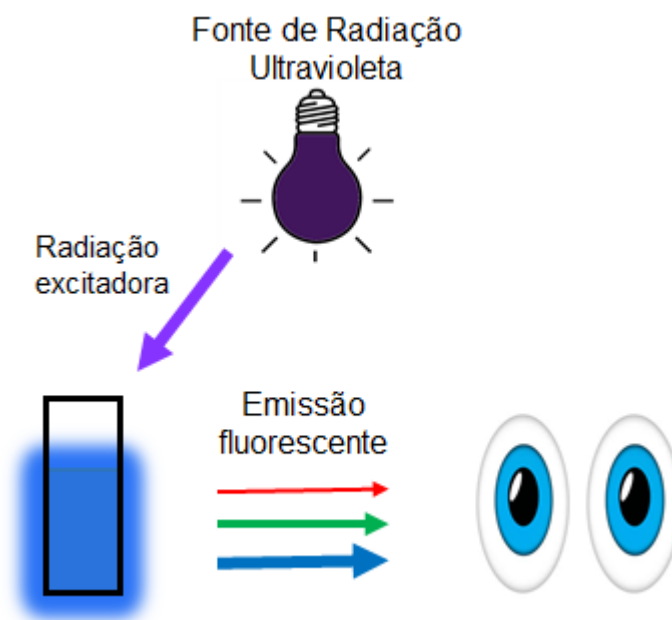


Fonte: Próprio autor.

A cor gerada pela fluorescência também pode ser registrada no modelo RGB, sobretudo, se a radiação de excitação da espécie fluorófora for na região do ultravioleta. Logo, apenas a radiação proveniente da espécie fluorescente será

observada, **Figura 5**. Dessa forma, para DIA essa característica é extremamente interessante, pois procura-se eliminar interferências de reflexão e sombra durante o registro da imagem. Essas reflexões podem levar a interpretações errôneas dos resultados e afetar a precisão das análises realizadas (FRANCO e colaboradores, 2017).

**Figura 5.** Ilustração do processo de fluorescência.



Fonte: Próprio autor.

### **Pontos quânticos de carbono**

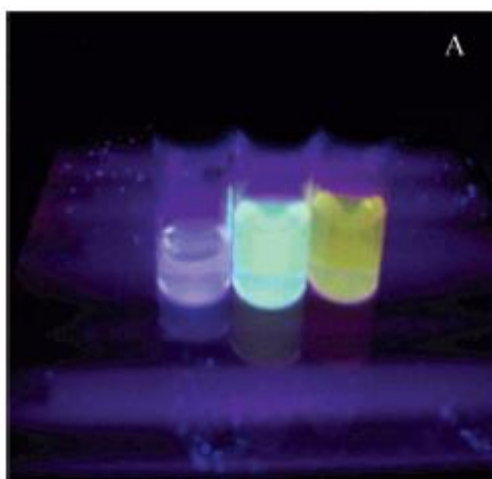
Os pontos quânticos (QD, do inglês *Quantum Dots*) são tradicionalmente compostos por materiais semicondutores que geram fluorescência, geralmente

produzidos de metais pesados, tais como CdSe, LaGaAs, CdTe, InAs (HARDMAN, 2006). Desta forma, a utilização desses materiais para análises químicas de rotina pode gerar problemas ambientais e a saúde, se descartados de maneira inadequada. Nesse contexto, nanopartículas a base de materiais de carbono descoberta na última década tem se mostrado uma boa alternativa a esses materiais (TAN e colaboradores, 2011).

Os CQDs foram descobertos em 2004, durante uma separação de eletroforese de nanotubos de carbono de paredes simples derivados de fuligem da descarga de arco elétrico (XU e colaboradores, 2004). Estes materiais chamaram a atenção por apresentarem fluorescência com fótons de diferentes energias sob o estímulo de radiação UV em 365 nm, um tamanho de partícula de  $1,00 \pm 0,03$  nm e possuir grupos funcionais carboxilas em sua estrutura, conforme mostrado na **Figura 7**

. Com essas características, estas nanopartículas estão sendo aplicadas para diversos estudos e aplicações químicas (NAMDARI e colab., 2017) e biotecnológicas (NAMDARI e colab., 2017).

**Figura 6.** Fotografia de diferentes emissões fluorescentes com CQDs assistida por radiação UV em 365 nm.



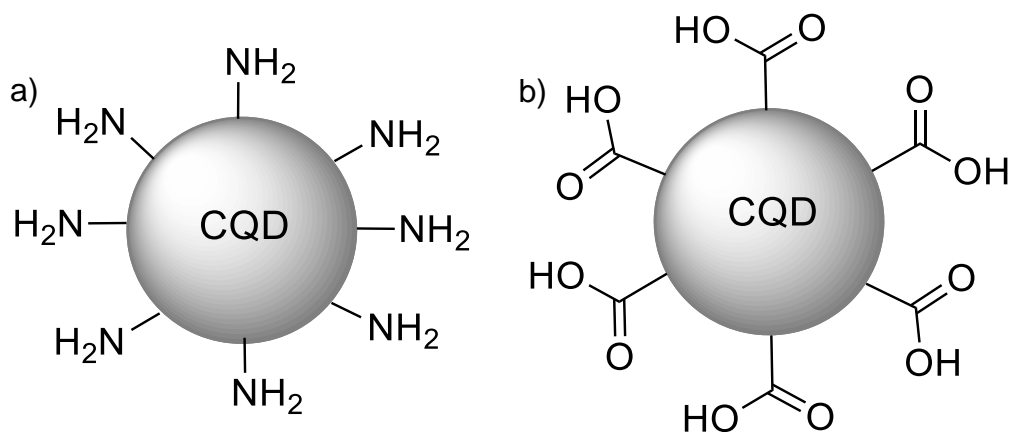
Fonte: XU e colaboradores, 2004.

Desde a sua descoberta, várias foram as rotas de síntese desenvolvida para a fabricação dessas nanoestruturas, de maneira geral os métodos de síntese são classificados em dois grupos: método “*Top-Down*”, o qual consiste no “corte” de precursores de carbono maiores para produção dos CQDs, como varas de grafite, pó

de grafite, fibra de carbono (ZHU e colaboradores, 2015). Porém, a maior dificuldade de utilizar este método consiste nas complicadas condições de síntese, processos demasiadamente energéticos, matérias primas não facilmente disponíveis e/ou instrumentos de pouca acessibilidade (ZHU e colaboradores., 2015). O método “*Bottom-Up*” consiste na utilização de moléculas pequenas como precursores de carbono para síntese dos CQDs, como por exemplo, o ácido cítrico, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), carboidratos, glicerol, etc. Além disso, as técnicas utilizadas para a síntese são muitas, como abrasão a laser, descarga de arco, oxidação eletroquímica, carbonização, combustão, uso de radiação microondas, etc (LI e colaboradores, 2012). Assim, o método *Bottom-Up* permite a utilização de materiais e equipamentos de baixo custo e as nanoestruturas geradas são quimicamente mais homogêneas (MACHADO e colaboradores, 2015).

Os CQDs possuem estrutura esférica com grupos funcionais quimicamente ligados, e são divididos em nanopartículas de carbono sem estrutura cristalina e com estrutura cristalina (NIE e colaboradores, 2014), **Figura 7**. A estrutura depende do método de síntese, enquanto que os grupos funcionais na superfície depende dos precursores de carbono, pois por exemplo, pode haver grupo amina se o precursor possuir grupo amina em sua estrutura, ou grupo carboxila, se o precursor possuir grupo carboxílico (YAN e colaboradores, 2018).

**Figura 7.** Representação do CQDs preparados a partir de precursores com grupos funcionais amina (a) e grupos carboxílicos (b).



Fonte: Próprio autor

Com as pesquisas desenvolvidos sobre os CQDs hoje sabe-se sobre algumas de suas propriedades ópticas, tais como absorção de radiação na região do ultravioleta ZHU e colaboradores (2013), fotoluminescência (TAN e colaboradores, 2016; WANG e colaboradores, 2017), conversão fotoluminescente superior e inferior (AKIZUKI e colaboradores, 2015), transferência de elétrons fotoinduzida (WANG e colaboradores, 2009). Além disso, os CDQs possuem baixa toxicidade, biocompatibilidade, estabilidade química, portanto são nanomaterais com um grande potencial de aplicação em vários tipos de sistemas químicos (HARDMAN, 2006; TAN, Aaron e colaboradores, 2011).

Os CQDs por possuírem terminações com grupos funcionais em sua estrutura que permitem modificações químicas de interesse podem ser realizadas para estudos como inibição ou aumento da fluorescência, como sondas químicas (WANG e colaboradores, 2017). Explorando estas potencialidades, os CQDs são utilizados na literatura como carreamento de fármacos (TAN, Aaron e colaboradores, 2011), quantificação de metais (ZHU e colaboradores, 2013), quantificação de peptídeos, para diagnóstico de células cancerígenas (YAN e colaboradores., 2018), entre outras aplicações.

OS CQDs podem ser uma excelente alternativa para os pontos quânticos inorgânicos, semicondutores tradicionais, que também apresentam fluorescência, uma vez que estes semicondutores, quando utilizados em análises de rotina podem gerar problema ambientais e a saúde, se descartados de maneira inadequada, e cujos tratamento de resíduos não são triviais (TAN e colaboradores, 2011).

### **Capítulo 3 Objetivo**

Sintetizar pontos quânticos de carbono (CQDs) e aplicar sua fluorescência para detecção de hipoclorito empregando análises de imagem digitais e a técnica de *spot test*.

### **Objetivos específicos**

Realizar a síntese dos CQDs utilizando com precursor principal ácido cítrico e estudar a utilização de um precursor secundário;

Avaliar o procedimento, temperatura e tempo para a melhor rota de síntese;

Analisar o sinal fluorescente para os CQDs sintetizados;

Realizar a separação dos CQDs sintetizados;

Verificar o comportamento da fluorescência dos CQDs dispersos em diferentes solventes.

Construir uma curva de calibração para o hipoclorito de sódio e calcular o limite de detecção e limite de quantificação.

## Capítulo 4 – Procedimento experimental

### Reagentes e amostras

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e utilizados sem purificação. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (18,2 MΩ cm a 25° C) obtida de um sistema ELGA (PURELAB UHQ II). Foram utilizados ácido cítrico (AC) (99,5%), etilenodiamina (ETA) (99%) e glicerol (99,5%) como precursores para a síntese dos CQDs comprados da NUCLEAR (Brasil). Foram utilizados ácido bórico (99,5%), acetato de amônio (99,5%), fosfato de potássio monobásico (98%) para avaliar o sinal fluorescente em diferentes soluções, todos adquiridos da NEON (Brasil). Foi utilizado hidróxido de sódio (98% e potássio (98%) comprados da NUCLEAR (Brasil) para preparar as soluções com diferentes pH. Foi utilizado uma solução padrão de hipoclorito de sódio da marca NEON com um teor de 10% a 12%. Foi realizada uma titulação pelo método da ASTM D 2022 (1995) para estimar o real teor, e foi encontrado o valor de 10,62% de hipoclorito de sódio neste padrão. Foi diluído o padrão de hipoclorito de sódio para uma concentração de 712 nmol L<sup>-1</sup> (1 nmol L<sup>-1</sup> = 10<sup>-9</sup> mol L<sup>-1</sup>), esta solução foi utilizada como solução padrão estoque. Foram utilizados metanol da Dinâmica (Brasil) como fase móvel e papel filtro e sílica gel 60 Vetec (Brasil) com tamanho de partículas em uma faixa de 0,063 a 0,200 mm como fases estacionárias para a separação em coluna dos CQDs sintetizados.

### Instrumentos

Uma balança analítica CELTAC (FA2104N) foi utilizada para realizar as medidas de massa para o estudo das sínteses. Um termômetro digital portátil INSTRUTHERM (TE - 400) foi utilizado para a medição da temperatura durante a síntese dos CQDs. Foi utilizado uma chapa aquecedora LAB 1000 (MS-H280-Pro), para elevar a temperatura do sistema utilizado para realizar a síntese. Um pHmetro de bancada PHS-3D (Shangai San-Xin Instrumentations) com eletrodo de vidro combinado com referência interna de Ag/AgCl K38-1465 (KASVI) foi utilizado para preparar as soluções com diferentes pH.

As medidas de fluorescência foram realizadas sobre uma placa de toque com 25 cavidades de cor preta com a capacidade de 280 µL cada, a qual foi impressa com poliácido láctico (PLA, do inglês *polylactic acid*) em uma impressora 3D do tipo RepRep Plusa i3 utilizando o software Cad 3D OpenSCAD **Figura 8**. Para a transferência dos

volumes exatos de reagente e/o amostras par as cavidades foram duas micropipetas automáticas LABMATE+ Pro de 100-1000  $\mu\text{L}$  e de 20-200  $\mu\text{L}$  (Alemanaha).

As medidas DIA-Fluorescentes foram realizadas em um compartimento óptico com iluminação interna UV fabricado em laboratório (CO-Uv), que consiste de uma caixa fechada de papel reciclado de dimensões 21,5 x 10,0 x 16,5 cm (comprimento, largura e altura), com uma iluminação interna realizada por quatro diodos emissores de luz (LED, do inglês *Light Emission Diode*) no comprimento de onda de 365 nm, potência de 10 W (9 unidades internas de aproximadamente 1,1 W cada), com ângulo de feixe de 120 a 140 graus, alimentado por uma fonte de 10 A. Para o controle da corrente foi utilizado um driver que fornece 10 W de potência, numa tensão nominal de 12 V de entrada e saída com tensão de 9 a 12 V, **Figura 8**.

**Figura 8.** Representação gráfica do compartimento óptico com excitação Ultravioleta (CO-Uv) com a placa de toque confeccionada em impressora 3D, utilizados para as medidas de fluorescência.



As imagens digitais da fluorescência foram captadas por um *Smartphone* Samsung (Galaxy J2 Prime), e exportadas para a computador, no qual os valores de RGB eram obtidos utilizando o *plug-in* ReadPlate do programa livre Image J.

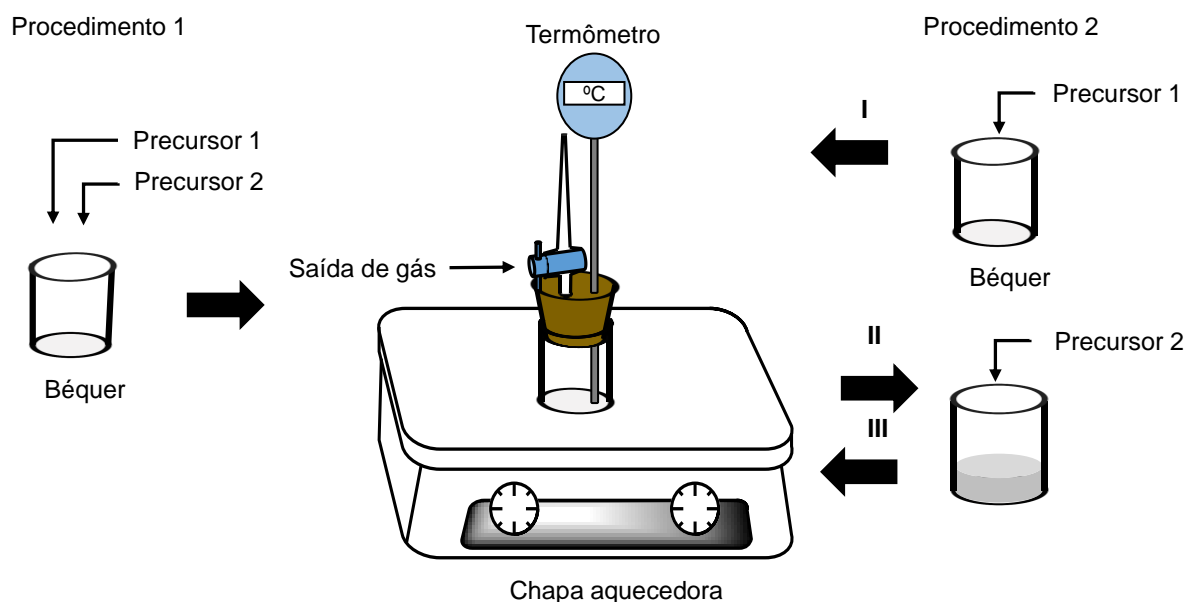
Posteriormente, os valores de RGB foram tratados em planilha digital EXCEL® e os gráficos plotados no programa ORIGINPro 2017.

### **Síntese dos CQDs**

Empregou-se o método *Bottom-Up* por carbonização utilizando como principal percussor o ácido cítrico para síntese dos CQDs. Foram estudadas diferentes misturas com precursores secundários com fontes de carbono, nitrogênio e oxigênio, pois um dos fatores que pode aumentar o rendimento quântico é o aumento de heteroátomos doadores de elétrons na estrutura (MACHADO e colaboradores, 2015). Foram realizadas sínteses nas seguintes razões molares: 1:1, 2:1, 10:1, massa/massa (m/m), de ácido cítrico e do precursor secundário (etilenodiamina e glicerol), respectivamente. Estas sínteses foram conduzidas a 180° C durante 30 minutos.

O procedimento de síntese consistiu na adição dos precursores em um sistema constituído de um Béquer usando uma rolha como tampa, a qual continha a haste de um termômetro e uma válvula para permitir a saída dos gases gerados (H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> e CO). Esse sistema foi aquecido por chapa aquecedora, conforme **Figura 9**. Além disso, foram estudados dois procedimentos de síntese, um no qual os precursores eram adicionados todos juntos (P1), e outro no qual o precursor secundário era adicionado após ter-se realizado a condensação do AC por algum tempo (P2).

**Figura 9.** Procedimentos e materiais utilizados para a síntese dos CQDs. No (P1) todos os precursores são adicionados juntos e seguem para o aquecimento. No (P2) é adicionado o precursor primário e levado ao aquecimento (etapa I) depois é retirado e resfriado a temperatura ambiente, e adicionado o precursor secundário (etapa II). Por fim ele é posto no aquecimento novamente (etapa III).



Foi investigado o tempo de síntese, tal como: 3, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120 minutos a uma temperatura de 180°C. Assim como, as temperaturas de síntese: 100°C, 120°C, 140°C, 160°C, 180°C e 200° C, durante 30 minutos.

As melhores condições de síntese foram avaliadas através do sinal fluorescente, portanto, foram preparadas soluções das diferentes condições de síntese em água na concentração de 14 mg L<sup>-1</sup>, para realizar as medidas fluorescentes em triplicata. As mediadas foram realizadas no CO-Uv, e o sinal de fluorescência avaliado em nos valores de cor do RGB das imagens coletadas pelo detector.

### Estudos cromatográficos

Para avaliar quantos diferentes tipos de espécies fluorescentes foram formados, realizou-se cromatografia de papel. Utilizaram-se tiras de papel com dimensões de 8,5 x 2,5 cm (altura e largura, respectivamente).

Para a separação e coleta dessas substâncias realizou-se uma cromatografia de coluna com sílica. Uma coluna preparativa de 2,5 mm de diâmetro foi utilizada com

uma massa de 7,00 g de sílica gel 60 com tamanho de partículas em uma faixa de 0,063 a 0,200 mm, além disso, foi utilizada como fase móvel metanol. Foram medidas a vazão do eluente e o volume de retenção das espécies fluorescentes pelas equações abaixo.

$$\text{Equação 3} \quad V_E = \frac{\Delta V}{\Delta t}$$

$$\text{Equação 4} \quad V_R = t_r * V_E$$

Onde  $\Delta V$  é a variação do volume (mL),  $\Delta t$  a variação de tempo (min),  $V_E$  a vazão do eluente ( $\text{mL min}^{-1}$ ),  $V_R$  o volume de retenção (mL) e  $t_r$  o tempo de retenção (min).

### **Estudo do pH sobre a fluorescência dos CQDs**

Foi avaliada a influência do solvente e do pH na fluorescência dos CQDs. Para isso, utilizou-se soluções de ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH = 5), fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH = 5) e acetato de amônio ( $\text{NH}_4\text{O}_2\text{C}_2\text{H}_3$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH = 5).

As soluções de CQDs e de solvente foram realizadas na placa de toque em triplicata e as imagens capturadas no CO-Uv, essas imagens foram tratadas em computador, extraído os valores de cores primárias de cada *spot test*, conforme descrito na secção anterior. Após a seleção do melhor solvente, realizou-se o estudo de sinal fluorescente em função do pH do meio reacional.

### **Aplicação dos CQDs**

Foi realizada uma curva de calibração com hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ) para demonstrar a aplicabilidade desse CQDs. Os valores de RGB das imagens foram tratados pelas equações descritas abaixo:

$$\text{Equação 5} \quad |\Delta R| = |R - R_0|$$

$$\text{Equação 6} \quad |\Delta G| = |G - G_0|$$

$$\text{Equação 7} \quad |\Delta B| = |B - B_0|$$

$$\text{Equação 8} \quad \text{Vetor } (R, G, B) = \sqrt{(\Delta R)^2 + (\Delta G)^2 + (\Delta B)^2}$$

Onde R, G e B, correspondem aos valores de vermelho, verde e azul das amostras, e R<sub>0</sub>, G<sub>0</sub> e B<sub>0</sub> correspondem aos valores do branco. Além disso, foram calculados os limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), conforme cálculo abaixo:

$$\text{Equação 9} \quad LD = \frac{3 * \sigma_B}{m}$$

$$\text{Equação 10} \quad LQ = \frac{10 * \sigma_B}{m}$$

Onde  $\sigma_B$  representa o desvio padrão das medidas de branco e m representa o coeficiente angular da reta da curva de calibração.

## Capítulo 5 – Resultados e Discussão

### Síntese dos CQD - Composição de síntese

Na **Tabela 2** são apresentadas razões molares entre o precursor primário (ácido cítrico) e secundários (glicerol ou etilenodiamina) numa configuração de síntese dos CQDs. Cada razão é utilizada em cada condição de síntese dos CQDs, portanto seis diferentes condições foram estudadas. Para isso, o procedimento P1 a 180° C durante 30 minutos foi empregado.

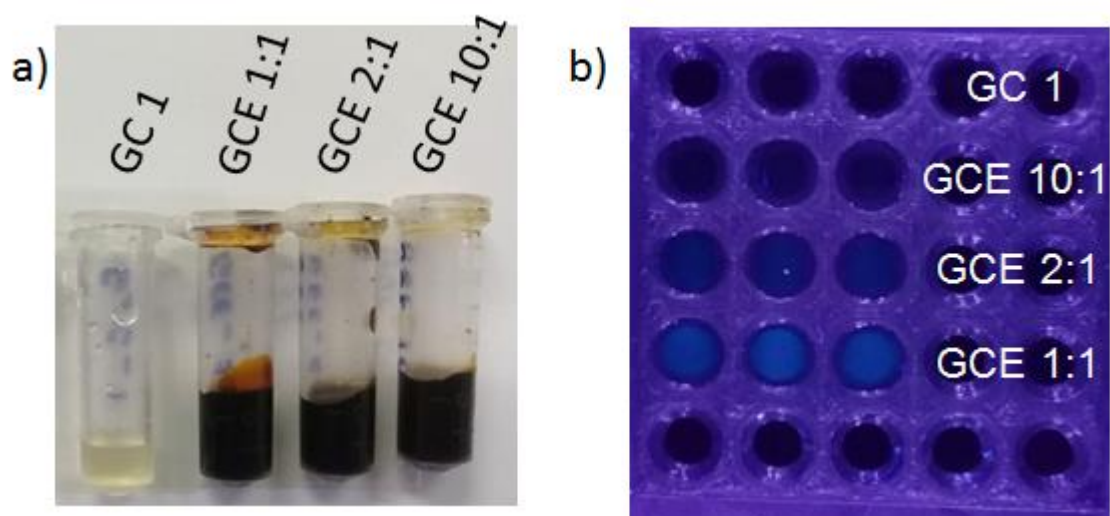
**Tabela 2.** Composições de precursor secundário estudado nas sínteses. Sob as condições do procedimento P1, a 180°C durante 30 minutos.

Fonte de Carbono Secundária	Razão molar
Glicerol	1:1
Glicerol	2:1
Glicerol	10:1
Etilenodiamina	1:1
Etilenodiamina	2:1
Etilenodiamina	10:1

Primeiramente observou-se o uso de glicerol como precursor na síntese. Na razão 1:1 (ácido cítrico: glicerol) verificou-se que o produto da carbonização era líquido a temperatura ambiente e houve uma pequena formação dos CQDs, visto que havia

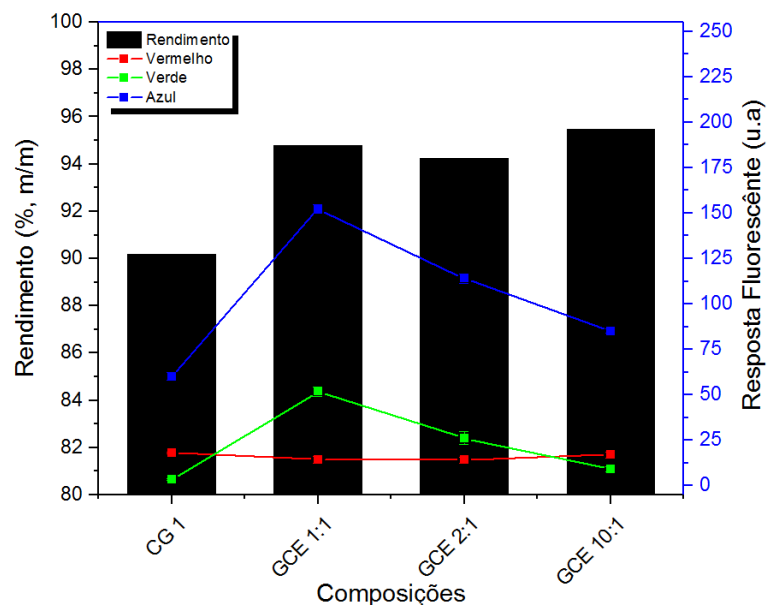
pouca fluorescência, nas condições de síntese a 180° C por 30 minutos. Este resultado pode ser atribuído a alta estabilidade do glicerol a essa temperatura, pois o seu ponto de ebulição é em torno de 280°C, ou devido a formação de um éster estável a temperatura de 180°C (HALPERN e colaboradores, 2014). Além disso, segundo LAI e colaboradores (2012) os CQDs são sintetizados a partir do glicerol quando utilizada a temperatura de 230°C e atmosfera de ar pressurizado, portanto, a temperatura de 180°C, o glicerol não forma os CQDs, pois não sofre carbonização. Similar resultado foi observado também para as razões molares 2:1 e 10:1. Contudo, a presença do glicerol na síntese foi mantida, pois permitia pós a carbonização, a solubilização do sólido sintetizado, o qual não era possível retirá-lo facilmente. Sendo assim, o procedimento descrito na Figura 10 foi modificado, pela adição de glicerol para ambos procedimentos P1 e P2. Para isso, empregou-se uma quantidade de glicerol aproximadamente 10 vezes maior que a dos precursores da reação. As composições estudadas para síntese dos CQDs utilizando o glicerol como solvente e etilenodiamina (ETA) como precursor secundário e ácido cítrico como precursor primário formaram produtos líquidos de fácil solubilização, e com boa intensidade de emissão fluorescente, **Figura 10**.

**Figura 10.** Fotografias dos produtos (a) e de suas respectivas emissões fluorescentes das dispersões a 14,4 mg L<sup>-1</sup> (b) das sínteses utilizando o procedimento P1, a 180° C durante 30 minutos. GC 1 = ácido cítrico, sem etilenodiamina com glicerol como solvente, GCE 1:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 1:1, com glicerol como solvente. GCE 2:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 2:1 e GCE 10:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 10:1, ambas com glicerol como solvente.



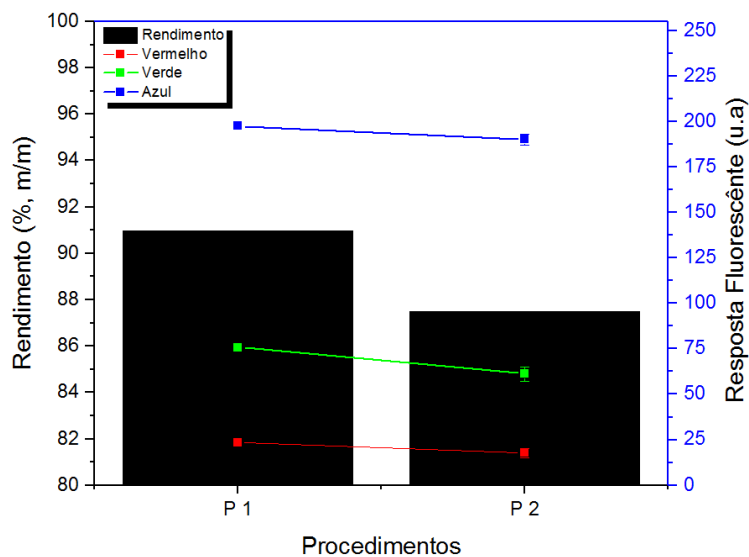
Foi calculado o rendimento mássico (m/m) após a carbonização para estimar as perdas que ocorram durante as sínteses, e medidas do sinal fluorescente, para verificar a maior emissão fluorescente possível, **Figura 11**. Conforme, os valores de rendimento de 90,2%, 94,8%, 94,2%, 95,5% (m/m) para as sínteses de GC 1, GCE 1:1, GCE 2:1 e GCE 10:1, respectivamente, entende-se que as perdas são primeiramente devido a condensação dos precursores, e posteriormente, pela formação de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e monóxido de carbono (CO). Contudo, é de interesse que a estrutura possua a maior quantidade de heteroátomos doadores de elétrons possível, tal como átomos de oxigênio, nitrogênio, carbonos SP2, SP3, os quais levam a um maior rendimento quântico (MACHADO e colaboradores, 2015).

**Figura 11.** Rendimento mássico das sínteses utilizando glicerol como solvente pelo procedimento P1 a  $180^\circ\text{C}$  durante 30 minutos e medidas de fluorescência nos canais de cor vermelho, verde e azul realizadas no CO-Uv, com as dispersões a  $14,4\text{ mg L}^{-1}$  de cada uma das sínteses, realizadas em triplicata. GC 1 = ácido cítrico 1:1, sem etilenodiamina com glicerol como solvente, GCE 1:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 1:1, com glicerol como solvente. GCE 2:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 2:1 e GCE 10:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 10:1, ambas com glicerol como solvente.



Os rendimentos mássicos observados para as sínteses GCE e de AC indicam que houve uma menor perda por carbonização para os GCE. Pois, com ETA ocorre a reação de substituição nucleofílica entre os grupos aminas e ácidos carboxílicos do AC, enquanto que a síntese GC 1 apenas a esterificação e polimerização (HALPERN e colab., 2014). Esses resultados estão de acordo com o mecanismo dos CQDs a partir de AC e ETA propostos por SONG e colaboradores (2015), **Figura 13**. A proporção com maior quantidade de ETA gerou maior emissão fluorescente GCE 1:1. A maior concentração de ETA na síntese GCE 1:1 é favorável a fluorescência, possivelmente pela maior fixação de grupos nitrogenados doadores de elétrons nos CQDs. Assim, essa melhor condição de síntese foi novamente avaliada nos procedimentos 1 e 2 apresentados na Figura 9 para fins de comparação. Os resultados destes experimentos são apresentados na Figura 12 na forma de rendimento mássico e intensidade de fluorescência.

**Figura 12.** Rendimento dos CQDs preparados nos procedimentos P1 e P2, com a composição de GCE 1:1 a 180°C durante 30 minutos. GCE 1:1 = ácido cítrico e etilenodiamina na razão 1:1, com glicerol como solvente.

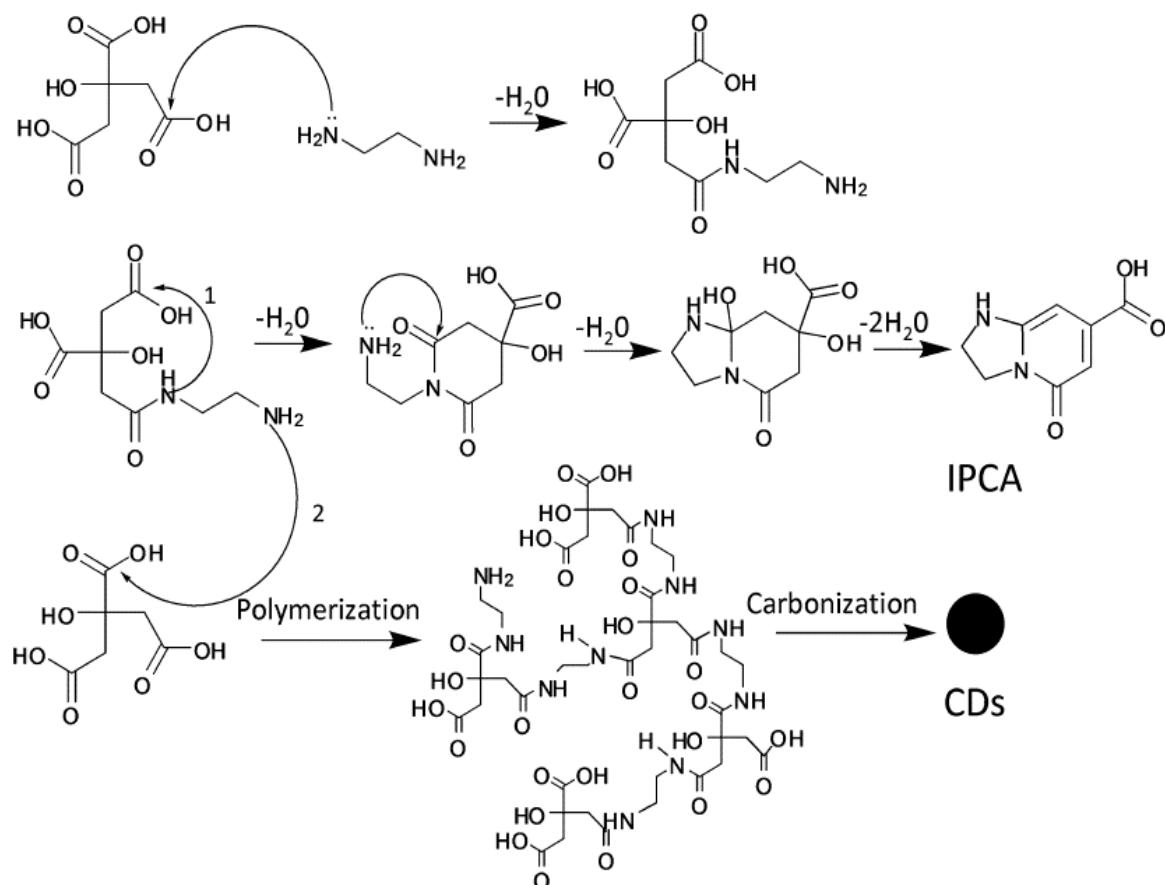


Conforme a **Figura 12**, o P1 obteve um rendimento de 91,0%, enquanto que, P2 o rendimento foi de 87,5%. Como a adição de ETA foi feita após 10 min durante P2 na temperatura de 180° C, após cessar a liberação notável de vapor de água, o que diminui o rendimento mássico. Nessas condições ocorre a esterificação do AC com glicerol formando um éster liberando água, e conseqüentemente forma-se um polímero como estudo por HALPERN e colaboradores (2014), mostrado na **Figura 14**. Como as amins são mais nucleofílicas que álcoois e transformam os ésteres em amida (VOLLHARDT, K. PETER C.; NEIL, 1994), logo quando ETA era adicionado formavam-se amidas. Utilizando uma temperatura alta a entropia do sistema é alta, logo torna-se favorável para formação das amidas e a ciclização, conseqüentemente a formação dos CQDs, conforme por SONG e colaboradores (2015). As etapas de carbonização para formação dos CQDs são muitos complexas e ainda não totalmente esclarecidas.

Quanto a fluorescência, existe uma diferença pequena, porém significativa entre o sinal fluorescente dos procedimentos testados,  $197,6 \pm 1,7$  e  $190,1 \pm 2,9$  para o P1 e P2, respectivamente. A maior fluorescência do P1 pode ser devido a presença da molécula fluorófora ido imidazo [1,2-a] piridina-7- ácido carboxílico, 1,2,3,5-tetra-hidro-5-oxo- (IPCA), cuja fluorescência é erroneamente atribuída aos CQDs (SONG e colaboradores, 2015). A menor fluorescência em P2 reflete a menor quantidade de IPCA formada, pois haverá poucas moléculas de AC livres para ocorre a formação do IPCA e as reações principais são a formação das amidas, a ciclização do polímero e

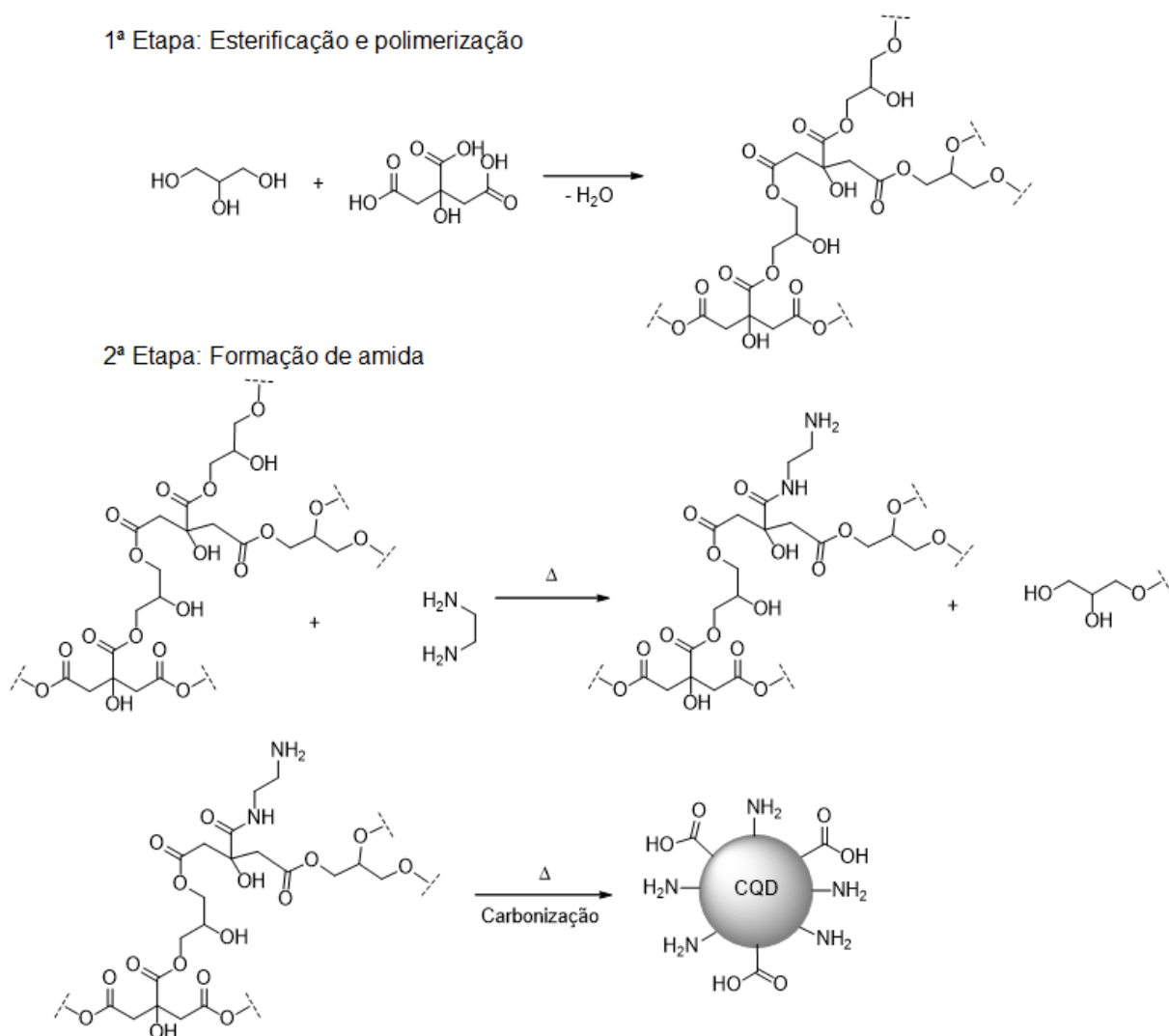
a formação dos CQDs, **Figura 14**. Baseados apenas na fluorescência devido a CQDs, o procedimento P2 foi escolhido para os posteriores estudos.

**Figura 13.** Mecanismo de formação dos CDs (*Carbon dots*), IPCA e outras moléculas a partir de AC e ETA via reação de substituição nucleofílica.



Fonte: SONG e colaboradores, 2015.

**Figura 14.** Processo de formação dos CQDs a partir do CA e do ETA, pelo procedimento 2.



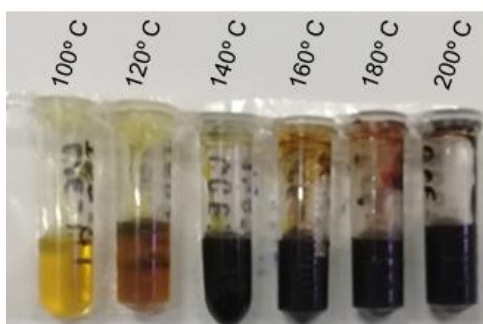
Fonte: (Adaptado de HALPERN e colaboradores, 2014)

### Estudo da temperatura de síntese dos CQDs

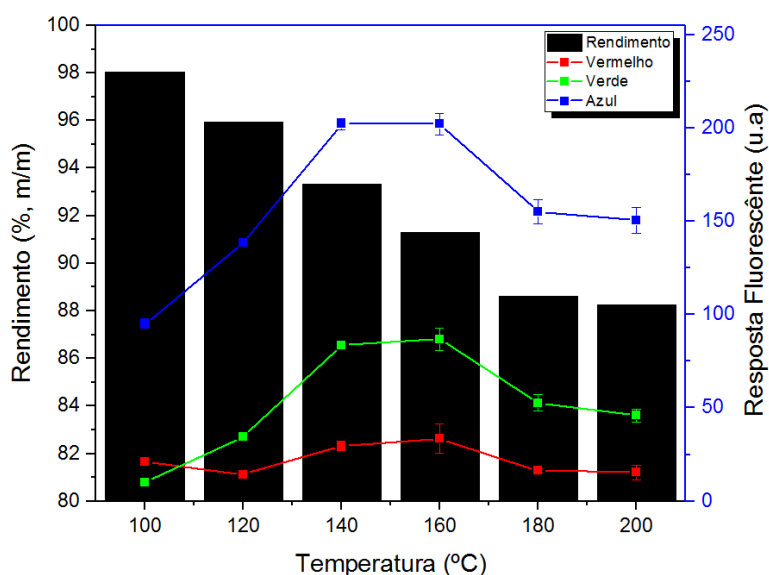
A temperatura de síntese dos CQDs foi investigada em 5 níveis (100°C, 120°C, 140°C, 160°C, 180°C e 200°C) durante 30 minutos utilizando a composição de GCE 1:1, com o P2, **Figura 15**. Resultados de rendimento mássico e do sinal fluorescentes estão na **Figura 16**. Os rendimentos das sínteses diminuem com o aumento da temperatura, pois com o aumento da temperatura aumenta-se a taxa da carbonização

e conseqüentemente a liberação de H<sub>2</sub>O, CO e CO<sub>2</sub>. Foram preparadas dispersões das sínteses em água com a concentração de 14,4 mg L<sup>-1</sup> e a fluorescência foi medida no CO-Uv.

**Figura 15.** Fotografia dos CQDs preparados em diferentes temperaturas, utilizando o procedimento P2, composição GCE 1:1 durante 30 minutos.



**Figura 16.** Rendimento das sínteses realizadas em diferentes temperaturas, procedimento P2 com a composição de GCE 1:1 durante 30 minutos.



O aumento da fluorescência observado até 140° C é devido a formação da molécula fluorofora IPCA que possui um alto rendimento quântico (85,84%) o qual o mecanismo de reação é mostrado na **Figura 13**. Porém em temperaturas acima de 160° C observa-se uma diminuição da fluorescência devido conversão do IPCA em CQDs, que possuem uma eficiência quântica menor (SONG e colaboradores, 2015). A partir da temperatura de 180° C não ocorre uma mudanç significativa na

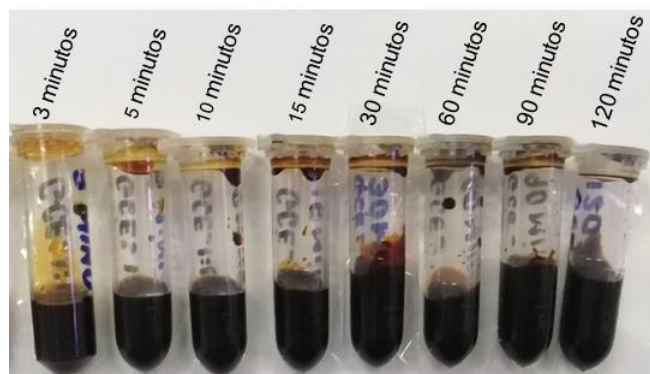
fluorescência dos CQDs, portanto, empregou-se a temperatura de 180° C para os posteriores estudos.

### Estudo do tempo de síntese dos CQDs

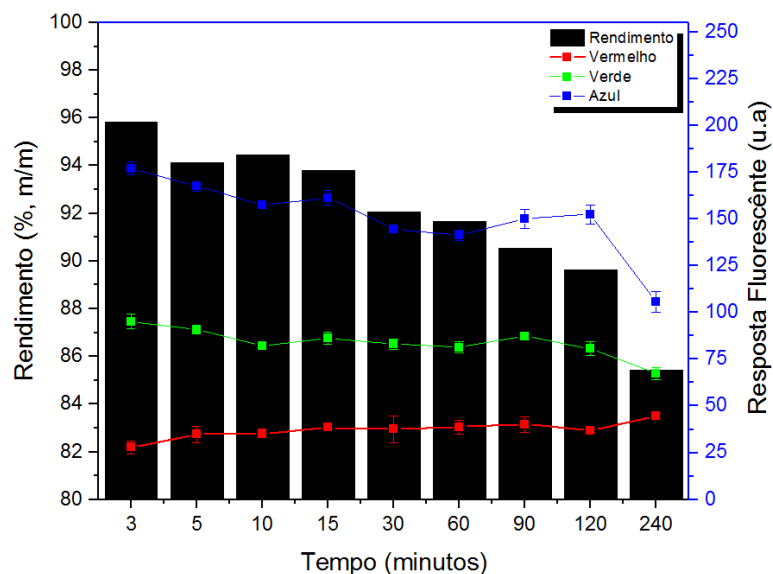
O tempo de duração da síntese foi investigado em 3, 5, 10,15, 30, 60, 90 e 120 minutos, com a temperatura de 180° C na composição de GCE 1:1, procedimento P2, cujas fotografias dos produtos da síntese são apresentadas **Figura 17**, e os resultados de rendimento mássico e fluorescência na **Figura 18**. Nota-se que quanto maior é o tempo de síntese menor foi o rendimento, de fato isso está de acordo com a carbonização e liberação de CO<sub>2</sub>, CO e H<sub>2</sub>O. O sinal da fluorescência diminui até 30 minutos de reação, após esse tempo a variação da fluorescência não é significativamente, exceto em 240 minutos o qual as emissões de CO e CO<sub>2</sub> retiram os doadores de elétrons da estrutura dos CQDS e afetam a sua fluorescência. A diminuição da fluorescência está relacionada com a formação e consumo da molécula fluorófora IPCA para forma os CQDs, conforme já discutido anteriormente. Dessa forma a fluorescência predominante dos CQDs ocorre a partir de 90 minutos de síntese.

Portanto para todos as seguintes aplicações analíticas foi utilizado os CQDs produzido com a composição GCE 1:1, procedimento P2, durante 90 minutos por 180°, cuja codificação é CGE1:1-P2-180-90.

**Figura 17.** Fotografia dos CQDs sintetizados em diferentes tempos de síntese com procedimento P2, composição de GCE1:1 a 180°C durante 30 minutos.



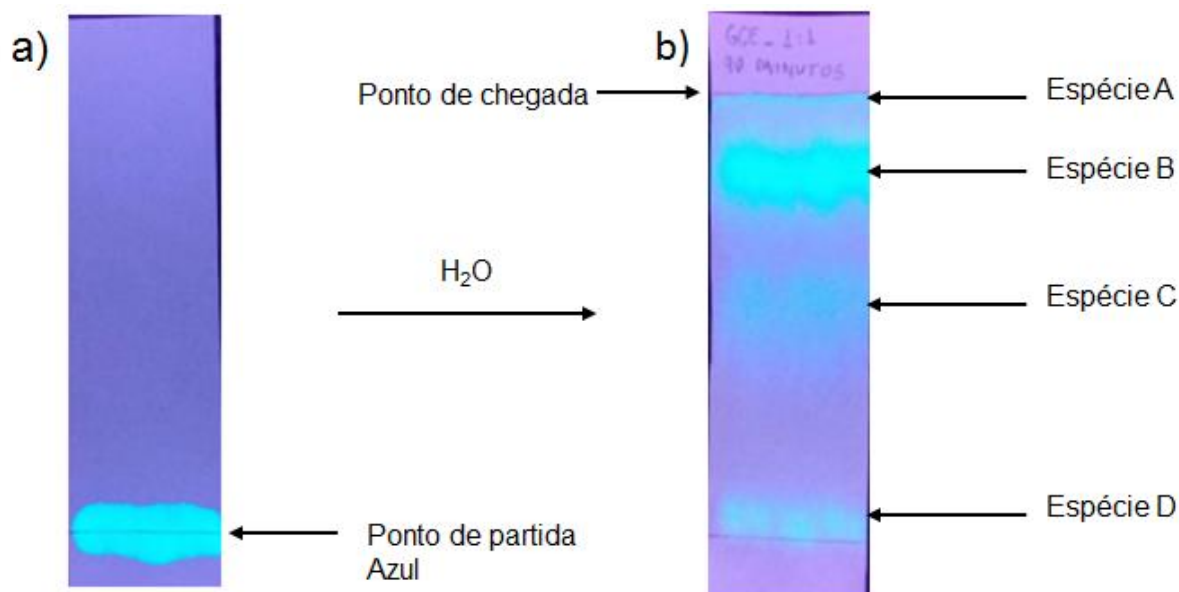
**Figura 18.** Rendimento das sínteses obtidas em diferentes tempos, utilizado o procedimento 2 com a composição de GCE 1:1 a uma temperatura de 180°C



### Separação dos diferentes CQDs por cromatografia

Foi realizada uma cromatografia em papel com a intenção de verificar a diversidade de espécies fluorescentes sintetizadas. Preparou-se uma solução de 5,0 mg L<sup>-1</sup> usando CGE1:1-P2-180-90 e distribuiu-se uma fração da solução sob o ponto de partida, com auxílio de um capilar de vidro, conforme **Figura 19 (a)**, usando água como solvente no papel cromatográfico para realizar a separação. Em seguida, o papel foi posto sob excitação de radiação Uv a 365 nm no CO-Uv e 4 diferentes espécies fluorescentes foram observadas, conforme a **Figura 19 (b)**.

**Figura 19.** Fotografia das placas cromatográficas de papel antes (a) e depois (b) da fase móvel.



Foram observadas 4 espécies fluorescentes na placa cromatográfica de papel, pois houve uma boa separação das espécies, porém um pequeno alargamento das bandas foi observado, diminuindo a resolução cromatográfica. Isso se deve a dois fatores distintos, afinidade dos CQDs com a fase móvel e a difusão dos mesmos, que dependem entre outros fatores da mobilidade destas espécies. De acordo com SONG e colaboradores (2015), o IPCA possui fotoluminescência azul e boa solubilidade em solventes orgânicos. Dessa forma, a espécie A com fluorescência azul deve corresponder a molécula fluorófora de IPCA ainda existente na síntese GCE-P2-180-90. As espécies B e C de fluorescência verde e violeta devem corresponder a diferentes CQDs de maior polaridade que A, respectivamente, formados durante a síntese. De fato, são descritos na literatura CQDs com estas mesmas características quando o glicerol é utilizado como solvente (LAI e colaboradores, 2012; TIAN e colaboradores, 2017). A espécie D, de maior polaridade ou de menor mobilidade, pode ser atribuída a um polímero com uma grande cadeia compostas por grupos carboxílicos e amidas, sendo bastante polar.

Foi realizada uma separação por cromatografia em coluna (**Figura 20**) preenchida com sílica gel para obtenção de diferentes frações dos CQDs sintetizados para realizar os testes aplicações analíticas. Após o empacotamento da sílica na coluna preparativa com 7,0 g de sílica gel, a vazão do eluente (metanol) foi  $0,102 \pm$

0,002 mL min<sup>-1</sup>, as medidas de vazão foram realizadas 10 vezes ao longo da separação cromatográfica. A separação das três primeiras espécies (espécies A, B e C) foi realizado com sucesso, e os volumes de retenção para as espécies A, B e C foram de 8,61 mL, 12,23 mL e 19,73 mL do eluato, respectivamente, os dados de tempo de retenção estão na **Tabela 3**. Porém, a forte interação da espécie D com a fase estacionária impediu que a mesma fosse eluída em metanol, e utilizou-se água. As frações coletadas são apresentadas na Figura 20. Dessa forma, optou-se por retirar a parte na qual estava confinada a espécie D e utilizar água para solubilizá-la, **Figura 20**.

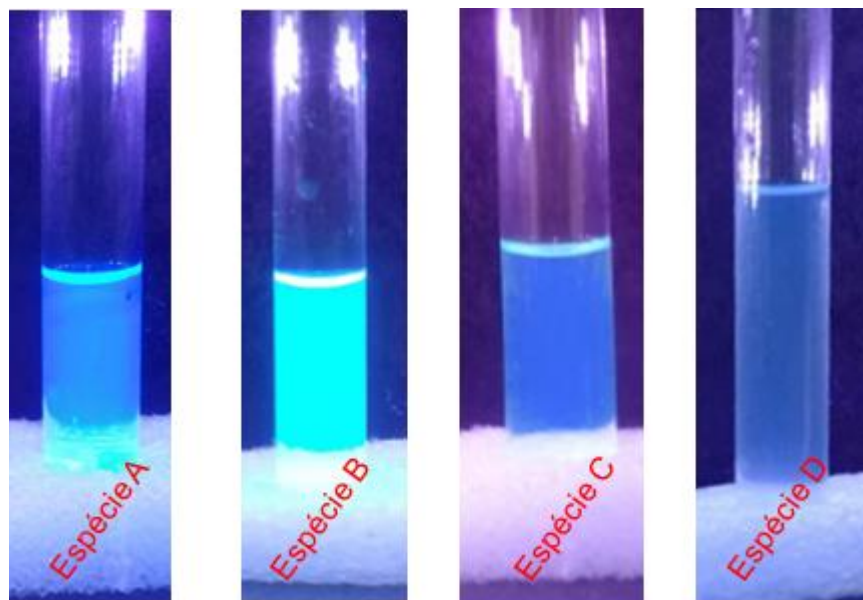
**Tabela 3.** Resultados da cromatografia em coluna preenchida com sílica, com uma vazão do eluente (metanol) de 0,1 mL min<sup>-1</sup>.

Espécie Fluorescente	Tempo de retenção (minutos)			Volume de retenção (mL)
	Início	Fim	Média	
<b>A</b>	71,83	100,77	86,06	8,61
<b>B</b>	104,00	140,67	122,35	12,23
<b>C</b>	157,65	237,00	197,32	19,73

**Figura 20.** Cromatografia em coluna empacotada com sílica gel e forte adsorção da espécie D na sílica.



**Figura 21.** Fotografia das frações coletadas após cromatografia em coluna empacotada com sílica gel contendo as espécies fluorescentes separadas, todas em metanol, exceto a espécie D em água.

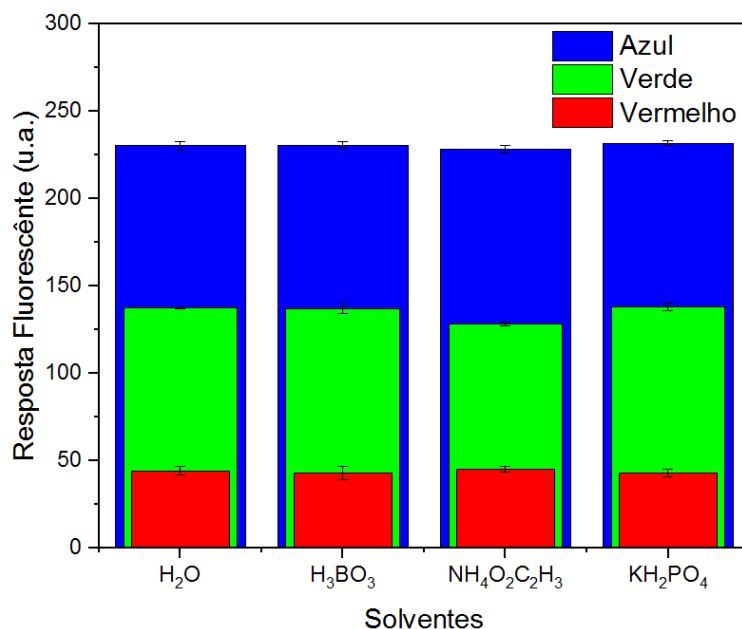


Com as quatro espécies fluorescentes separadas, mostrada na **Figura 21** sua fluorescência é mais pronunciada que a das outras espécies, logo esta espécie está em maior quantidade ou possui um alto rendimento quântico.

### **Estudo dos fatores que influenciam na fluorescência: Natureza e pH do dispersor dos CQDs.**

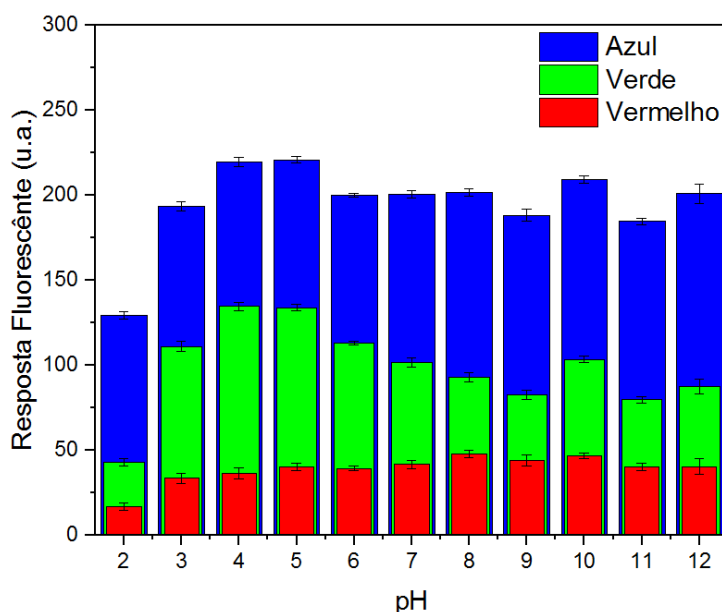
Foi estudada a influência da natureza do elemento dispersor dos CQDs sintetizados. Utilizou-se diferentes soluções como uma ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}= 5$ ), fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}= 5$ ), e acetato de amônio ( $\text{NH}_4\text{O}_2\text{C}_2\text{H}_3$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH}= 5$ ) e água. Os resultados da resposta fluorescente estão dispostos na **Figura 22**. Os resultados demonstram que não houve uma diferença significativa para nenhum das soluções testadas como dispersoras. Dessa forma para o estudo da influência do pH selecionou-se a solução de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pois esta possui mais de uma constante de acidez e maior número de regiões tampões.

**Figura 22.** Gráfico referente ao estudo da influência do solvente com a fluorescência.



O estudo de pH foi realizado com a solução de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> entre os valores de 2 a 12, conforme mostrado na **Figura 23**. Em ambiente ácido o sinal fluorescente foi atenuado, enquanto que houve um máximo de emissão entre pH 4 e 5, para maiores valores de pH manteve-se constante o sinal fluorescente. Esse comportamento pode ser devido aos grupos funcionais carboxilas e amina na superfície do CQDs (ZHU e colaboradores, 2015). Para a aplicação analítica foi selecionado como solvente dispersor solução de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> em pH 4.

**Figura 23.** Gráfico referente ao estudo da influência o pH com o sinal fluorescente.



### Aplicação analítica

Primeiramente, realizou-se a calibração do CO-Uv com uma solução de quinino de concentração de  $5,6 \text{ mg L}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , em todas as 25 cavidades da placa de toque, conforme mostrado na **Figura 8**. Os coeficientes de variação para os canais vermelho, verde e azul foram 3,32%, 2,87% e 1,80%, respectivamente. Portanto, a distribuição da fonte de irradiação Uv está satisfatória para realizar medidas quantitativas, por apresentar uma boa exatidão do método DIA.

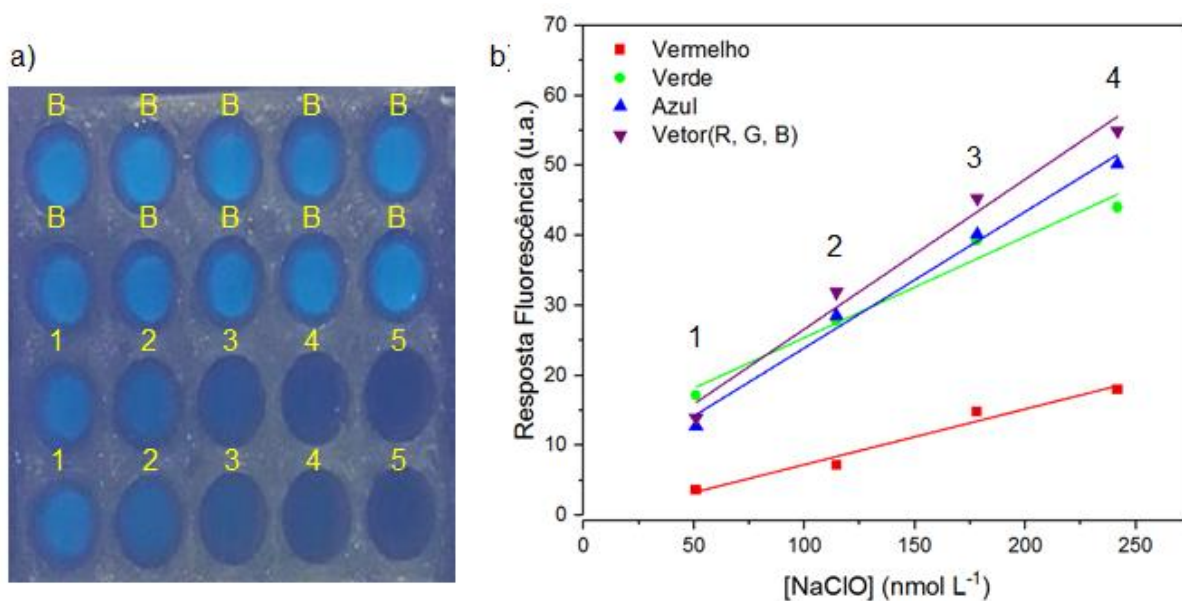
Com os CQDs sintetizado nas condições CGE1:1-P2-180-90 desenvolveu-se um método DIA para a quantificação de hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ) por inibição da fluorescência. Foram preparadas uma solução estoque de CGE1:1-P2-180-90 com a concentração de  $44,8 \text{ mg L}^{-1}$ , solução estoque de  $\text{NaClO}$  de  $712 \text{ nmol L}^{-1}$  e uma solução de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  com pH 4.

Na **Tabela 4**. Volumes utilizados para o preparo dos brancos e dos pontos da curva de calibração. São descritos os volumes utilizados para realizar as medidas do branco e a construção da curva de calibração, apresentada na **Figura 24** (a). Foi obtida uma curva de calibração linear na faixa de concentrações de 51 a  $242 \text{ nmol L}^{-1}$  de  $\text{NaClO}$ . Com os valores de RGB extraídos de cada cavidade dos padrões foram construídas regressões lineares de acordo as Equação 5, Equação 6, Equação 7 e Equação 8, sendo estas mostradas na **Figura 24** (b).

**Tabela 4.** Volumes utilizados para o preparo dos brancos e dos pontos da curva de calibração.

Cavidades	CQDs ( $\mu\text{L}$ )	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ ( $\mu\text{L}$ )	$\text{NaClO}$ ( $\mu\text{L}$ )	$\text{H}_2\text{O}$ ( $\mu\text{L}$ )	Volume total ( $\mu\text{L}$ )
Branco	50	50	0	150	250
1	50	50	20	130	250
2	50	50	45	105	250
3	50	50	70	80	250
4	50	50	95	55	250
5	50	50	120	30	250

**Figura 24.** Fotografia da placa de toque (a), onde nas duas primeiras linhas estão as soluções do branco (B) para os cálculos de LD e LQ. Nas duas últimas linhas correspondem as soluções da curva de calibração (1, 2, 3, 4 e 5); Gráfico das regressões lineares da calibração para o canal do vermelho, verde e azul (b) nas concentrações de  $5,1 \times 10^{-7}$  a  $2,42 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ .



As equações obtidas para as regressões na **Figura 24**, juntamente com o coeficiente de correlação ( $R^2$ ), desvio padrão do Branco ( $\sigma_B$ ), limite de detecção (LD) e o limite e quantificação (LQ) são demonstradas na **Tabela 5**. Na medida 5 da curva de calibração na **Figura 24** (b) ocorreu a inibição completa da fluorescência, de forma, que os sinais obtidos não correspondem ao sinal analítico mas um ruído. Portanto, não foi observado um comportamento linear dessa medida com as outras e optou-se em retirá-la das regressões lineares

**Tabela 5.** Resultados analíticos, equação da reta das curvas de calibração, coeficiente de correlação ( $R^2$ ), desvio padrão do branco ( $n = 10$ ) ( $\sigma$ ), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

	<b>Equação</b> ( $y = m \times [\text{NaClO}] + n$ )	<b><math>R^2</math></b>	<b><math>\sigma_B</math></b>	<b>LD</b> ( $\text{nmol L}^{-1}$ )	<b>LQ</b> ( $\text{nmol L}^{-1}$ )
<b>Vermelho</b>	$y = 79,5 (\pm 9,5) * [\text{NaClO}] - 0,7 (\pm 1,5)$	0,985	1,16	44	146
<b>Verde</b>	$y = 144,4 (\pm 10,9) * [\text{NaClO}] + 10,9 (\pm 2,8)$	0,986	1,83	35	127
<b>Azul</b>	$y = 194,8 (\pm 14,5) * [\text{NaClO}] + 4,4 (\pm 2,4)$	0,994	1,05	18	49
<b>Vetor</b> (R,G,B)	$y = 214,2 (\pm 20,6) * [\text{NaClO}] + 5,2 (3,3)$	0,991	0,93	13	43

A sensibilidade foi maior para a cor azul e para o vetor, esses resultados são esperados pelo fato da emissão dos CQDs serem da cor azul, ou seja a atenuação da cor primária azul será maior que para as outras cores primárias. Contudo, pelo cálculo do vetor, por considerar todo os dados do sistema modelo RGB, este possui maior sensibilidade. Porém, o risco de utilizar o cálculo vetorial baseia-se na contribuição de erro oriunda de algum canal fornecer resultado espúrio, principalmente o vermelho.

Contudo, os coeficientes de variação para as medidas de branco foram de 3,58%, 1,23%, 0,49% e 0,35% para o vermelho, verde, azul, e o vetor, respectivamente. Tais resultados mostram que houveram poucos erros experimentais e pouco ruído do sinal analítico. Portanto, para a detecção de NaClO em baixas

concentrações deve-se utilizar o cálculo para os valores do canal do azul e cálculo vetorial, pois apresentaram maior sensibilidade e possuem boa exatidão.

Na **Tabela 6** é apresentada uma revisão sobre os métodos descritos na literatura para a determinação de hipoclorito e seus parâmetros analíticos para demonstração comparativa do método proposto.

O método *DIB-spot test* desenvolvido com os CQDs apresenta boa linearidade e sensibilidade para detecção de NaClO, além de gerar uma quantidade menor de resíduo por análise em relação aos outros métodos. Este faz a utilização instrumentos simples e de baixo custo, além disso, faz a utilização de nanopartículas que não tóxicas e biocompatibilidade (TAN e colaboradores, 2011). Ao passo que, alguns métodos fazem uso de reagentes cromóforos que possuem ação promotora de câncer por exemplo O-dianisidina (ICARDO e colab., 2001), o-Toluidina (MARCH e colaboradores, 2002), tionina (NARAYANA e colaboradores., 2005).

**Tabela 6.** Parâmetros analíticos de algumas técnicas em pregadas na literatura para detecção de NaClO.

Técnica	Range ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Volume/análise (mL)	Autor
Titulométrico	Não aplicável	-	70	(ASTM, 1995)
FIA -	350 - 2300	40	1,8	(ICARDO e colaboradores, 2001)
Espectrofotometria	450 - 3000	60	10,9	(MARCH e colaboradores., 2002)
FIA -	200 - 1200	80	4,0	(NARAYANA e colaboradores, 2005)
Espectrofotométrica	2000 - 10300	400	-	(BALLESTA CLAVER e colaboradores., 2004)
Quimioluminescente	740–5215x10 <sup>3</sup>	410	--	(SENTHILKUMAR; ZEN, 2014)
Eletroquímico	3,8 – 18,0	0,9	0,25	Este trabalho
DIB				

## Capítulo 6 Conclusão

Neste trabalho, avaliou-se a influência das condições de síntese, como composição, procedimento, temperatura e tempo para obtenção de CQDs com bom sinal fluorescentes. Estes foram sintetizados partir da composição de AC e ETA na razão de molar de 1:1, pelo procedimento em mais de uma etapa, P2, a temperatura ótima de 180°C e tempo ótimo de 90 minutos. Com os resultados obtidos pelas separações cromatográficas 4 espécies fluorescente foram observadas e isoladas.

OS CQDs utilizados em conjunto com o método de DIA e a técnica de *spot test* foram capazes de detectar NaClO em níveis nanomolares com baixos LD e LQ (13 nmol L<sup>-1</sup> e 43 nmol L<sup>-1</sup>, respectivamente), utilizando um apenas 250 µL por análise. O método desenvolvido apresenta superioridade em termos de sensibilidade e mostra que a utilização do CQDs em análise por DIA oferece resultados promissores, pois os resultados obtidos são superiores a resultados descritos na literatura.

A estratégia proposta pode ser empregada para diversos fins como a detecção da utilização de hipoclorito como adulterantes em alimentos, como poluente oriundo de instalações industriais, devido a sua alta sensibilidade e aos baixos valores de LD e LQ. Além disso, alguns outros fatores como a quantidade de resíduo gerado, o baixo custo dos materiais de síntese e a não toxicidade dos CQDS faz que o método empregue uma química com sustentabilidade que visa minimizar os impactos do ser humano sob o meio ambiente.

## Referências

AKIZUKI, Naoto e colab. Efficient near-infrared up-conversion photoluminescence in carbon nanotubes. *Nature Communications*, v. 6, 2015.

ASTM. *Standard Test Methods of Sampling and Chemical Analysis of Chlorine-Containing*. Disponível em: <[https://compass.astm.org/EDIT/html\\_annot.cgi?D2022+89\(2016\)](https://compass.astm.org/EDIT/html_annot.cgi?D2022+89(2016))>. Acesso em: 17 set 2018.

BALLESTA CLAVER, J.; VALENCIA MIRÓN, M. C.; CAPITÁN-VALLVEY, L. F. Determination of hypochlorite in water using a chemiluminescent test strip. *Analytica Chimica Acta*, v. 522, n. 2, p. 267–273, 2004.

BLANDO, Federica; GERARDI, Carmela; NICOLETTI, Isabella. Sour cherry (*Prunus cerasus* L) anthocyanins as ingredients for functional foods. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2004, n. 5, p. 253–258, 2004.

FRANCO, Mathews de Oliveira Krambeck e colab. Smartphone Application for Methanol Determination in Sugar Cane Spirits Employing Digital Image-Based Method. *Food Analytical Methods*, v. 10, n. 6, p. 2102–2109, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12161-016-0777-y>>.

HALPERN, Jeffrey M. e colab. A biodegradable thermoset polymer made by esterification of citric acid and glycerol. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, v. 102, n. 5, p. 1467–1477, 2014.

HARDMAN, Ron. A toxicologic review of quantum dots: Toxicity depends on physicochemical and environmental factors. *Environmental Health Perspectives*, v. 114, n. 2, p. 165–172, 2006.

HARRIS, Daniel C. *Quantitative Chemical Analysis*. 9ª ed. [S.l.]: Kate Parker, 2016.

ICARDO, M. Catalá; GARCÍA-MATEO, J. V.; CALATAYUD, J. Martínez. o-Dianisidine: a new reagent for selective spectrophotometric, flow injection determination of chlorine. *The Analyst*, v. 126, n. 11, p. 2087–2092, 2001. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=b107000m>>.

INGLE, James D.; CROUCH, Stanley R. *Spectrochemical analysis*. [S.l.]: Englewood Cliffs, N.J. : Prentice Hall, c1988., 1988.

LAI, Chih Wei e colab. Facile synthesis of highly emissive carbon dots from pyrolysis of glycerol; Gram scale production of carbon dots/mSiO<sub>2</sub> for cell imaging and drug release. *Journal of Materials Chemistry*, v. 22, n. 29, p. 14403–14409, 2012.

LI, Haitao e colab. Carbon nanodots: Synthesis, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry*, reference 2, 3, 4, v. 22, n. 46, p. 24230–24253, 2012.

MACHADO, Cláudia Emanuele e colab. Pontos Quânticos de Carbono: Síntese Química, Propriedades e Aplicações. *Revista Virtual de Química*, v. 7, n. 4, p. 1306–1346, 2015.

MARCH, J. G.; GUAL, M.; SIMONET, B. M. Determination of residual chlorine in greywater using o-tolidine. *Talanta*, v. 58, n. 5, p. 995–1001, 2002.

MEDEIROS DE MORAIS, Camilo De Lelis; DE LIMA, Kássio Michell Gomes. A colorimetric microwell method using a desktop scanner for biochemical assays. *Talanta*, v. 126, p. 145–150, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.03.066>>.

NAMDARI, Pooria; NEGAHDARI, Babak; EATEMADI, Ali. Synthesis, properties and biomedical applications of carbon-based quantum dots: An updated review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 87, n. 88, p. 209–222, 2017.

NARAYANA, B. e colab. An easy spectrophotometric method for the determination of hypochlorite using thionin. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 60, n. 8, p. 706–709, 2005.

NIE, Hui e colab. Carbon Dots with Continuously Tunable Full-Color Emission and Their Application in Ratiometric pH Sensing. *Chemistry of Materials*, v. 26, n. 10, p. 3104–3112, 27 Mai 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/cm5003669>>.

PESSOA, Kenia Dias e colab. A digital image method of spot tests for determination of copper in sugar cane spirits. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 185, p. 310–316, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.072>>.

SENTHILKUMAR, Krishnan; ZEN, Jyh-Myng. Free chlorine detection based on EC mechanism at an electroactive polymelamine-modified electrode. *Electrochemistry Communications*, v. 46, p. 87–90, 2014.

SONG, Yubin e colab. Investigation from chemical structure to photoluminescent mechanism: A type of carbon dots from the pyrolysis of citric acid and an amine. *Journal of Materials Chemistry C*, v. 3, n. 23, p. 5976–5984, 2015.

TAN, Aaron e colab. Quantum dots and carbon nanotubes in oncology: a review on emerging theranostic applications in nanomedicine. *Nanomedicine*, v. 6, n. 6, p. 1101–1114, Ago 2011. Disponível em: <<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L362459399%0Ahttp://dx.doi.org/10.2217/nnm.11.64>>.

TAN, Jing e colab. Large-scale synthesis of N-doped carbon quantum dots and their phosphorescence properties in a polyurethane matrix. *Nanoscale*, v. 8, n. 8, p. 4742–4747, 2016.

THEUWISSEN, Albert J P. CMOS image sensors: State-of-the-art. *Solid-State Electronics*, v. 52, n. 9, p. 1401–1406, 2008.

TIAN, Zhen e colab. Full-Color Inorganic Carbon Dot Phosphors for White-Light-Emitting Diodes. *Advanced Optical Materials*, v. 5, n. 19, p. 1–9, 2017.

VINADÉ, Maria Elisabeth do Canto; VINADÉ, Elsa Regina do Canto. *Métodos Espectroscópicos de Análise Quantitativa*. 1º ed. [S.l.]: EditoraUFSM, 2005.

VOLLHARDT, K. PETER C.; NEIL, E. Schore. *Organic Chemistry: Structure and Function*. [S.l: s.n.], 1994.

WANG, Qin e colab. Preparation of Yellow-Green-Emissive Carbon Dots and Their Application in Constructing a Fluorescent Turn-On Nanoprobe for Imaging of Selenol in Living Cells. *Analytical Chemistry*, v. 89, n. 3, p. 1734–1741, 2017.

WANG, Xin e colab. Photoinduced electron transfers with carbon dots. *Chemical Communications*, n. 25, p. 3774–3776, 2009.

XU, Xiaoyou e colab. Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotube Fragments. *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, n. 40, p. 12736–12737, 2004. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja040082h>>.

YAN, Fanyong e colab. Surface modification and chemical functionalization of carbon dots: a review. *Microchimica Acta*, v. 185, n. 9, p. 424, 2018. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.1007/s00604-018-2953-9>>.

ZHU, Shoujun e colab. Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging. *Angewandte Chemie - International Edition*, v. 52, n. 14, p. 3953–3957, 2013.

ZHU, Shoujun e colab. 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.