

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

Anderlâne Bezerra dos Santos

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CARBON DOTS DERIVADOS DE RESÍDUOS
CARBONÁCEOS DE DIFERENTES CIDADES DE ALAGOAS PARA APLICAÇÃO
COMO SONDA FLUORESCENTE DE Cr(VI)**

Maceió-AL

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

Anderlâne Bezerra dos Santos

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CARBON DOTS DERIVADOS DE
RESÍDUOS CARBONÁCEOS DE DIFERENTES CIDADES DE ALAGOAS PARA
APLICAÇÃO COMO SONDA FLUORESCENTE DE Cr(VI)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) como requisito para obtenção do grau de Bacharela em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cintya D'Angeles do Espírito Santo Barbosa

Coorientador: M. Res Kleyton Ritomar Monteiro da Silva

Maceió-AL

2022

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale – CRB4 - 661

S237s Santos, Anderlâne Bezerra dos.

Síntese e caracterização de carbon dots derivados de resíduos carbonáceos de diferentes cidades de Alagoas para aplicação como sonda fluorescente de Cr(VI) / Anderlâne Bezerra dos Santos. – Maceió, 2022.

52 f. : il., tabs., graf.

Orientadora: Cintya D'Angeles do Espírito Santo Barbosa.

Coorientador: Kleyton Ritomar Monteiro da Silva

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Química) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 54-54.

Apêndices: f. 55.

1. Carbon dots. 2. Síntese verde. 3. Sonda fluorescente. 4. Cromo (VI). I. Título.

CDU: 542.913

Dedico esse trabalho com todo meu amor e gratidão a minha mãe Helena e minha avó Francisca (*in memoriam*), que foram figuras fundamentais no meu crescimento pessoal.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, por todo amor e misericórdia em todos os momentos da minha vida, em especial os que pensei em desistir, mas Ele me ajudou a enfrentar os obstáculos encontrados ao longo do curso.

Aos meus pais, Helena e Antônio, por todo esforço, incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida. Sem vocês eu não conseguiria. Obrigada por tudo.

Ao meu irmão, que sempre me apoiou e incentivou na vida acadêmica.

A minha orientadora, Cintya Barbosa, por ter desempenhado uma orientação excelente, no qual foi indispensável para a conclusão desse trabalho. Gratidão por sua dedicação e amizade.

Ao meu coorientador, Kleyton Monteiro, por toda paciência.

A todos os colegas de laboratório que participaram da pesquisa, pela colaboração e disposição no processo de obtenção de dados.

As minhas amigas: Gabrielle, Mayra, Josy, Luciana e Carol, que foram importantes nesse processo, nos quais me proporcionaram momentos de descontração.

Por fim, quero agradecer a todos meus amigos que foram indispensáveis nesse período, com quem dividi minhas alegrias, angustias e meus desesperos para concluir esse trabalho, especialmente a Juliana, Wilson, Vinícius, Maura, Rodrigo M. e Thallison.

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que se parecia impossível.”
(Charles Chaplin)

RESUMO

A busca por métodos mais eficientes e sustentáveis para detecção de cromo (Cr (VI)) em vários compartimentos ambientais e industriais é de grande relevância, uma vez que essa espécie pode ocasionar sérios danos à saúde humana e ao meio ambiente. O desenvolvimento de sondas fluorescentes para detecção de Cr (VI) tem sido uma alternativa promissora. Dentre as sondas fluorescentes, os *carbon dots* (CDs) tem se destacado devido as inúmeras propriedades ímpares, tais como fotoestabilidade, baixa toxicidade, alta solubilidade em água, biocompatibilidade e baixo custo. Diante do exposto, neste trabalho o bagaço das cascas do *Citrus latifolia* (limão taiti) de diferentes cidades de Alagoas (Coruripe (C-Dots_AC), Rio Largo (C-Dots_AR) e Maceió (C-Dots_AM)) foram utilizados como precursores para sintetizar *carbon dots* (CDs) via método hidrotermal. Ademais, em condições otimizadas o C-Dots_AM foi aplicado na detecção de Cr (VI) em solução aquosa. Os CDs provenientes das cidades estudadas apresentaram propriedades estruturais e fotofísicas similares. Desse modo, os C-Dots_AC, C-Dots_AR e C-Dots_AM exibiram maior frequência de tamanhos inferiores a 10 nm, absorções características de transições $\pi - \pi^*$ (230 nm) e $n - \pi^*$ (286 nm) e estiramentos vibracionais de grupos oxigenados e aminas. Os C-Dots apresentaram emissão dependente do comprimento de onda de excitação (λ_{exc}), com emissão máxima em 445 nm quando excitado em 350 nm. Todos os C-Dots em um estudo preliminar exibiram resposta analítica similar frente a sensibilidade do Cr (VI) em relação a outras espécies, e assim, o C-Dots_AM foi escolhido para um estudo mais detalhado de detecção do Cr (VI). Foi realizado a otimização dos parâmetros analíticos em que a melhor resposta do método foi em pH 7, tampão tris e concentração de 50 mM. A força iônica não interfere na sensibilidade por não apresentar alteração significativa do sinal para uma faixa de concentração 0-150 mM. O tempo de espera de reação para a realização das análises foi de 20 min e tanto o Cdot_L quanto o Cdot_L + Cr (VI) apresentaram fotoestabilidade por até 60 min com exposição contínua à radiação. Nas condições otimizadas, o sistema apresentou uma faixa linear de 0,05 a 10,0 mg L⁻¹. Além disso, na avaliação do mecanismo de detecção do Cr (VI) pelo Cdot_L foi verificado que o processo de interação entre o Cdot_L e Cr (VI) está associado ao efeito de filtro interno e *quenching* estático. Por fim, os resultados obtidos indicam que o Cdot_L apresenta-se como uma sonda de baixo custo e promissora para detecção de Cr (VI).

Palavras-chaves: *Carbon dots*, sínteses verdes, sonda fluorescente, cromo.

ABSTRACT

The search for more efficient and sustainable methods to detect chromium ((Cr (VI)) in various environmental and industrial compartments is of great relevance, since this species can cause serious harm to human health and the environment. The development of fluorescent probes for Cr (VI) detection has been a promising alternative. Among the fluorescent probes, carbon dots (CDs) have stood out due to their numerous unique properties, such as photostability, low toxicity, high water solubility, biocompatibility, and low cost. Given the above, in this work the bagasse of the peels of *Citrus latifolia* (tahiti lemon) from different cities of Alagoas (Coruripe (C-Dots_AC), Rio Largo (C-Dots_AR) and Maceió (C-Dots_AM)) were used as precursors to synthesize carbon dots (CDs) via hydrothermal method. Furthermore, under optimized conditions C-Dots_AM was applied for the detection of Cr (VI) in aqueous solution. The CDs from the studied cities showed similar structural and photophysical properties. Thus, the C-Dots_AC, C-Dots_AR and C-Dots_AM exhibited higher frequency sizes below 10 nm, characteristic absorptions of $\pi - \pi^*$ (230 nm) and $n - \pi^*$ (286 nm) transitions and vibrational stretching of oxygenated groups and amines. The C-Dots showed excitation wavelength-dependent emission (λ_{exc}), with maximum emission at 445 nm when excited at 350 nm. All C-Dots in a preliminary study exhibited similar analytical response towards Cr (VI) sensitivity compared to other species, and thus, C-Dots_AM was chosen for a more detailed Cr (VI) detection study. Optimization of the analytical parameters was performed in which the best response of the method was at pH 7, tris buffer and 50 mM concentration. The ionic strength did not interfere with sensitivity as it did not show significant signal change over a concentration range of 0-150 mM. The reaction dwell time for analysis was 20 min and both Cdot_L and Cdot_L + Cr (VI) showed photostability for up to 60 min with continuous radiation exposure. Under the optimized conditions, the system showed a linear range from 0.05 to 10.0 mg L⁻¹. Furthermore, in the evaluation of the detection mechanism of Cr (VI) by Cdot_L it was found that the interaction process between Cdot_L and Cr (VI) is associated with the internal filter effect and static quenching. Finally, the results obtained indicate that Cdot_L presents itself as a low cost and promising probe for Cr (VI) detection.

Keywords: carbon dots, green synthesis, fluorescent probe, chromium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema representativo da estrutura esférica dos <i>carbon dots</i>	16
Figura 2.	Mecanismo de fluorescência de CDs com base no grau de oxidação superficial	17
Figura 3.	Tamanhos médios crescentes de <i>carbon dots</i>	18
Figura 4.	Síntese de CDs à base de ácido cítrico usando três diferentes precursores.....	19
Figura 5.	Representação esquemática do método <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i>	20
Figura 6.	Esquema do mecanismo de formação dos <i>carbon dots</i> dopados com nitrogênio	21
Figura 7.	Linha do tempo das sínteses verdes de nanopartículas de carbono ao longo dos anos.....	22
Figura 8.	Tipos de precursores verdes para sínteses de nanopartículas luminescentes de carbono	23
Figura 9.	Suspensões de CDs sintetizadas em volumes crescentes por 24 h e espectros de absorção e espectros de emissão fluorescente na excitação de 360 nm para suspensões de CDs sintetizados em volumes específicos	31
Figura 10.	Esquema representativo da síntese dos <i>carbon dots</i>	36
Figura 11.	Histogramas da distribuição de tamanho médio dos a) C-Dots_AR1, b) C-Dots_AR2, c) C-Dots_AR3, d) C-Dots_AC1, e) C-Dots_AC2 f) C-Dots_AC3, g) C-Dots_AM1, h) C-Dots_AM2 e i) C-Dots_AM3.....	37
Figura 12.	Espectros de UV-Vis dos a) C-Dots_AR1-3, b) C-Dots_AM1-3 e c) C-Dots_AC1-3	38
Figura 13.	Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para os a) C-Dots_AC1-3, b) C-Dots_AR1-3 e c) C-Dots_AM1-3	39
Figura 14.	Espectros emissão dos para os (A) C-Dots_AC1, (B) C-Dots_AC2, (C) C-Dots_AC3, (D) C-Dots_AR1, (E) C-Dots_AR2 (F) C-Dots_AR3, (G) C-	

	Dots_AM1, (H) C-Dots_AM2 e (I) C-Dots_AM3 excitados numa faixa de 290-410 nm	41
Figura 15.	Intensidade de fluorescência para os Cdot_L com diferentes íons metálicos (4 mg/L, $\lambda_{exc} = 350$ nm).....	42
Figura 16.	Sensibilidade analítica (<i>slope</i>) dos <i>carbon dots</i> em pH 5, 7 e 9. Tampão Britton-Robinson 50 mM, <i>slit</i> 3 e 3.....	43
Figura 17.	Sensibilidade analítica (<i>slope</i>) do Cdot_L com a adição do Cr (VI) em diferentes sistemas tampão. Condições: pH 7, janela espectral (<i>slit</i> , $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) de 3/3 nm com excitação em 350 nm.....	44
Figura 18.	Variação da sensibilidade analítica (<i>slope</i>) do C-dot com relação a adição de Cr (VI) em diferentes concentrações de tampão tris em pH 7. Condições: janela espectral (<i>slit</i> , $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$) de 3 / 3 nm com excitação em 350 nm.....	45
Figura 19.	Variação da sensibilidade analítica (<i>slope</i>) do C-dot com relação a adição de Cr (VI) em diferentes concentrações de tampão tris em pH 7. Condições: janela espectral (<i>slit</i> , $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$) de 3 / 3 nm com excitação em 350 nm	45
Figura 20.	Avaliação da intensidade de fluorescência do Cdot_L puro e com Cr (VI) a) diferentes períodos de tempo e b) sob radiação constante. Condições: pH 7, Tampão Tris 50 mM, janela espectral (<i>slit</i> , $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$) de 3/ 3 nm com excitação em 350 nm	46
Figura 21.	Sinal de fluorescência do <i>C-dot</i> a) espectro de emissão e b) curva analítica para quantificação de cromo hexavalente. Condições: pH 7, Tampão Tris 50 mM, janela espectral (<i>slit</i> , $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$) de 3/ 3 nm com excitação em 350 nm.	47
Figura 22.	Espectro de absorção do Cdot_L, Cdot_L + Cr(VI) (15 mg.L ⁻¹) e só Cr(VI) (15 mg.L ⁻¹)	48
Figura 23.	Espectros de FTIR e o tempo de vida	49
Figura 24.	Histogramas medidos pelo DLS do Cdot_L, Cdot_L + Cr(VI) a 4 mg/L ⁻¹ e Cdot_L + Cr(VI) a 10 mg/L ⁻¹	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	<i>Carbon dots</i> de precursores cítricos	25
Tabela 2.	Trabalhos reportados na literatura de <i>carbon dots</i> com potencial aplicação em sensores de Cr (VI)	28
Tabela 3.	Medidas de distribuição média das nanopartículas dispersas e índice de polidispersividade	38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

C-Dots	<i>Carbon dots</i>
C-Dots_AC	<i>Carbon dots</i> de Coruripe
C-Dots_AM	<i>Carbon dots</i> de Maceió
C-Dots_RC	<i>Carbon dots</i> de Rio Largo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV	Violeta de cristal
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
IFE	Efeito de Filtro Interno
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
M	Mol
mM	Milimolar
nM	Nanomolar
NPs	Nanopartículas
OMS	Organização Mundial da Saúde
QCE	Efeito de confinamento quântico
QY	Rendimento quântico
UV-Vis	Espectroscopia na região do ultravioleta e visível
WLEDs	Dispositivos de luz branca
λ_{exc}	Comprimento de excitação
λ_{em}	Comprimento de emissão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Descoberta dos <i>carbon dots</i>	15
1.2	Características dos <i>carbon dots</i>	15
1.3	Mecanismos de luminescência dos C-Dots	16
1.3.1	<i>Estado de superfície</i>	17
1.3.2	<i>Confinamento quântico</i>	17
1.3.3	<i>Fluorescência molecular</i>	18
1.4	Síntese de <i>carbon dots</i>	19
1.4.1	<i>Abordagem top-down</i>	20
1.4.2	<i>Abordagem bottom-up</i>	20
1.5	Síntese verde e trabalho pioneiro	21
1.5.1	<i>Precursores verdes</i>	22
1.5.2	<i>Precursores verdes de fontes cítricas</i>	25
1.6	Aplicações dos <i>carbon dots</i> verdes	26
1.6.1	<i>Problemática do cromo</i>	27
1.6.2	<i>Mecanismos de quenching</i>	29
1.7	Reprodutibilidade	30
2	JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA PARA A SOCIEDADE.....	32
3	OBJTIVOS	33
3.1	Objetivo geral.....	33
3.2	Objetivos específicos.....	33
4	EXPERIMENTAL	34
4.1	Reagentes e soluções.....	34
4.2	Equipamentos	34
4.3	Caracterizações.....	34
4.4	Síntese dos <i>carbon dots</i>	35
4.5	Procedimentos	36

5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
5.1	Aspectos estruturais e morfológicos dos <i>carbon dots</i>	37
5.2	Propriedades fotofísicas dos <i>carbon dots</i>	39
5.3	Aplicações dos <i>carbon dots</i>	41
5.4	Otimização dos parâmetros analíticos	42
5.4.1	<i>Efeito do pH</i>	42
5.4.2	<i>Tipo e concentração do tampão utilizado</i>	43
5.4.3	<i>Efeito da concentração do sistema tampão</i>	44
5.4.4	<i>Avaliação da força iônica</i>	45
5.4.5	<i>Cinética reacional e estudo da fotoestabilidade</i>	46
5.4.6	<i>Figuras de mérito do método proposto</i>	46
5.5	Mecanismo de Interação do <i>carbon dot</i> com o Cr(VI)	47
6	CONCLUSÃO	50
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	51
8	REFERÊNCIAS	52
9	APÊNDICE	55

1 INTRODUÇÃO

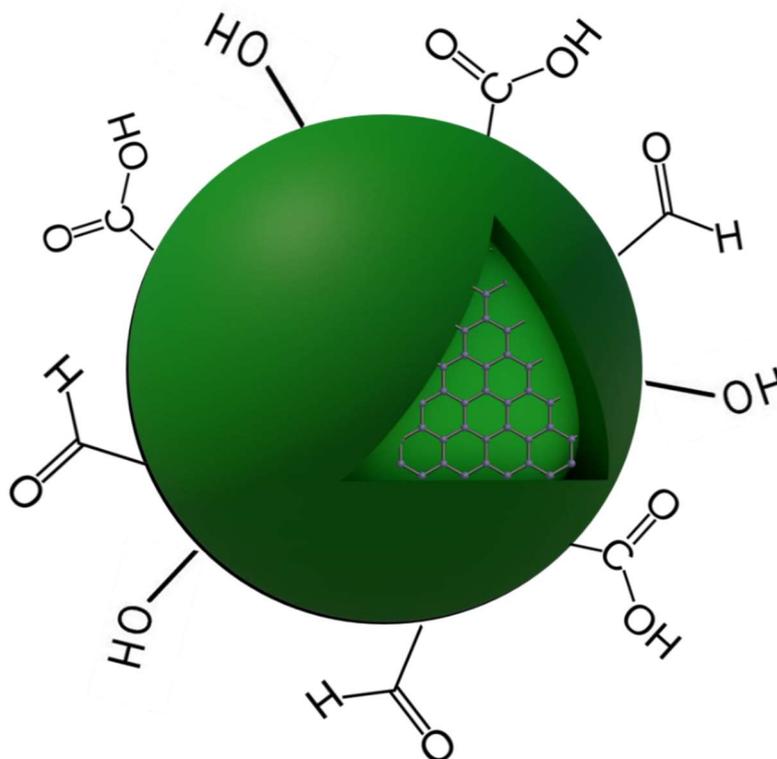
1.1 Descoberta dos *carbon dots*

Nos últimos anos, com o crescente desenvolvimento tecnológico e industrial e as questões de sustentabilidade, há uma maior preocupação pela busca de novos nanomateriais provenientes de procedimentos sintéticos que minimizem tempo, impactos ambientais e que sejam economicamente viáveis para a ciência. Visto que, a maioria desses, requerem consumos de energia altos e utilização de reagentes químicos tóxicos, sendo o oposto de desenvolvimento sustentável (SHARMA *et al.*, 2017). Nesse contexto, em 2004, quando XU e colaboradores purificavam nanotubos de carbono, por meio da eletroforese, descobriram acidentalmente as nanopartículas (NPs) luminescentes de carbono, conhecidas como *carbon dots* (C-Dots), que por sua vez, possuem geralmente morfologia esférica e tamanhos inferiores a 10 nm (XU, *et al.*, 2004). Depois dessa descoberta, em 2006, SUN e colaboradores sintetizaram C-Dots, usando uma mistura de pó de grafite e cimento, por meio de um método de ablação a laser (SUN *et al.*, 2006).

1.2 Características dos *carbon dots*

Os *carbon dots* são nanopartículas caracterizadas por pontos quânticos esféricos com confinamento quântico, formado basicamente por estruturas aromáticas de carbono hibridizado sp^2 relativas a várias folhas grafíticas conjugadas no *core* (núcleo). Além disso, possuem em sua superfície, grupos funcionais, conhecidos como “defeitos” (**Figura 1**). Esses, são formados em função dos diferentes precursores e métodos de sínteses realizados (KURIAN, 2021; LIU, 2019 & DAI, 2017). Ademais, essas NPs exibem inúmeras vantagens, tais como, fotoestabilidade, baixa toxicidade, alta solubilidade em água (devido a seus grupos hidrofílicos), biocompatibilidade e requerem métodos de síntese simples, tornando-as de baixo custo, quando comparado com algumas nanopartículas convencionais, a exemplo dos *quantum dots* (LIU *et al.*, 2019). Por isso, tornam-se promissoras em diversas aplicações, tais como dispositivos emissores de luz branca (WLEDs), células fotovoltaicas, catalizadores, sensores fluorescentes, e bioimagem em que estão substituindo lentamente os pontos quânticos semicondutores baseados em metais pesados tóxicos em estudos *in vitro* (KURIAN *et al.*, 2021 & SUN, *et al.*, 2019).

Figura 1 - Esquema representativo da estrutura esférica dos *carbon dots*.



Fonte: AUTORA, 2022.

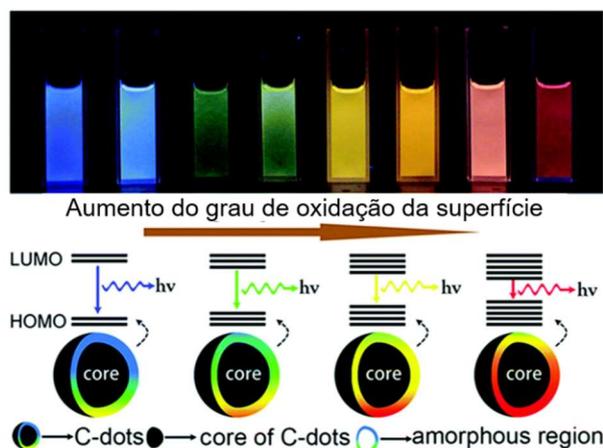
1.3 Mecanismos de luminescência dos C-Dots

A origem do mecanismo de luminescência dos C-Dots ainda é um tema de debate entre pesquisadores, uma vez que essas NPs são produzidas por abordagens sintéticas diferentes, diversos precursores e pós-tratamentos, além de possuírem diferentes níveis de energia de superfície, fazendo com que eles exibam uma diversidade significativa em estrutura, componentes e propriedades ópticas (SHARMA *et al.*, 2017 & LIU *et al.*, 2019). Assim sendo, apresentam desempenhos ópticos, estruturas e componentes diferentes, tornando-se impróprio formular uma teoria de apenas um mecanismo de luminescência universal, (DING *et al.*, 2015). Até agora, os mecanismos de luminescência mais aceitos são: estado de superfície, efeito do confinamento quântico e fluorescência molecular. Como tal, há uma necessidade de melhorar a compreensão desses mecanismos, uma vez que eles são importantes para preparação de C-Dots de propriedades ópticas desejadas (DING *et al.*, 2020 & LIU, *et al.*, 2019).

1.3.1 Estado de superfície

O mecanismo de fluorescência mais aceito até o momento é o estado de superfície (DING *et al.*, 2020 & LIU *et al.*, 2019). No qual pode ser explicado pelo grau de oxidação e grupos funcionais presentes na superfície dos *carbon dots* que ao produzirem defeitos, atuam como capturas de elétrons, causando a fluorescência. De modo que quanto maior o grau de oxidação superficial, maior a quantidade de defeitos na superfície, e, portanto, a emissão tem um deslocamento tendendo para o vermelho (**Figura 2**) (DING *et al.*, 2015). BAO *et al.*, 2015, observaram que após oxidação eletroquímica dos *carbon dots* a 2,4 V, a porcentagem de grupos C-OH e C=O aumentaram significativamente, indicando que um maior grau de oxidação da superfície, resulta em mais defeitos superficiais, introduzindo assim, diferentes níveis de emissão dos C-Dots. Além disso, os grupos funcionais superficiais, podem influenciar os centros de emissão e conseqüentemente, modificar a fluorescência dos *carbon dots* por meio de estados moleculares, tais como C=O e C=N. ZHANG *et al.*, 2017 reportaram uma síntese multicolorida de *carbon dots* dopada com nitrogênio, onde obtiveram emissão do azul para o vermelho, em que a fluorescência depende dos grupos funcionais presentes na superfície e não do grau de oxidação superficial, já que os C-Dots tinham quantidades de oxigênio semelhantes.

Figura 2 - Mecanismo de fluorescência de CDs com base no grau de oxidação superficial



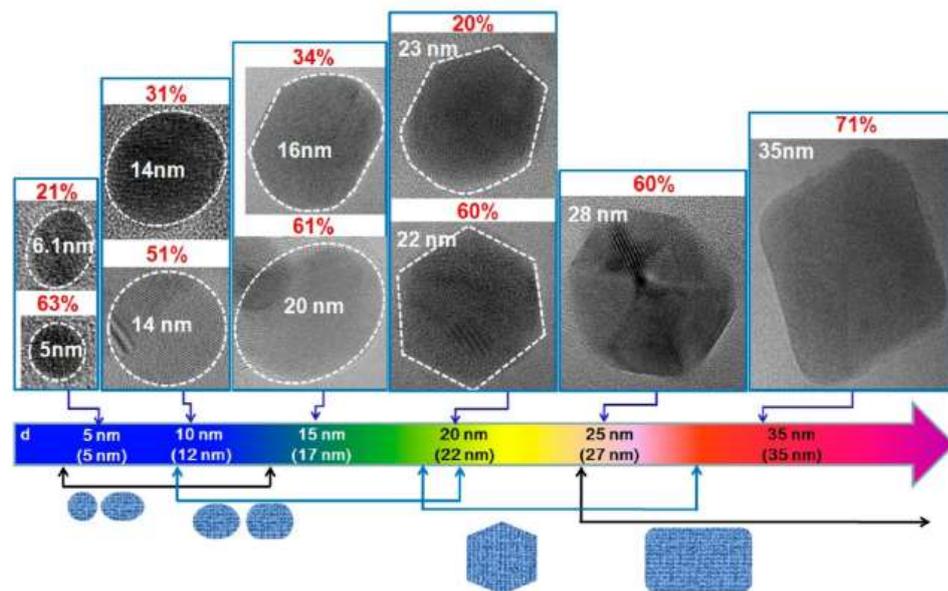
Fonte: Adaptado de DING *et al.*, 2015.

1.3.2 Confinamento quântico

O efeito de confinamento quântico (QCE) ocorre quando os *carbon dots* são menores que o raio do elétron de Bohr, de modo que quando essas nanopartículas possuem grandes domínios π conjugados e poucos grupos funcionais, acredita-se que a fluorescência esteja

relacionada com o QCE dos elétrons π conjugados, em que quanto maior o conjunto de domínios π conjugados nos C-Dots, menor a diferença de energia entre as bandas, sendo assim, maior será o *redshift* do pico de emissão (YAN *et al.*, 2019). LIU *et al.*, 2019 sugere que a fluorescência dos *carbon dots*, está relacionada com o seu tamanho. CHOI *et al.*, 2012, sintetizaram C-Dots com tamanhos variados e diferentes morfologias. Eles notaram que os espectros de absorção, dependiam do tamanho das nanopartículas, em que à medida que os C-Dots aumentavam, o pico de absorção da energia diminuía, sendo esse fator atribuído ao efeito do confinamento quântico (**Figura 3**). Além disso, em outro trabalho realizado por LEE *et al.*, 2010, sugeriram que a fluorescência dos *carbon dots* não foi modificada após a remoção de oxigênio da superfície por plasma de hidrogênio, concluindo que tem a ver com o QCE e não com os estados de superfície. Entretanto, são reportados na literatura trabalhos que mostram que ambos o estado de superfície e o efeito de confinamento quântico são responsáveis pela fluorescência dos *carbon dots* (BAO *et al.*, 2015).

Figura 3 - Tamanhos médios crescentes de *carbon dots*.



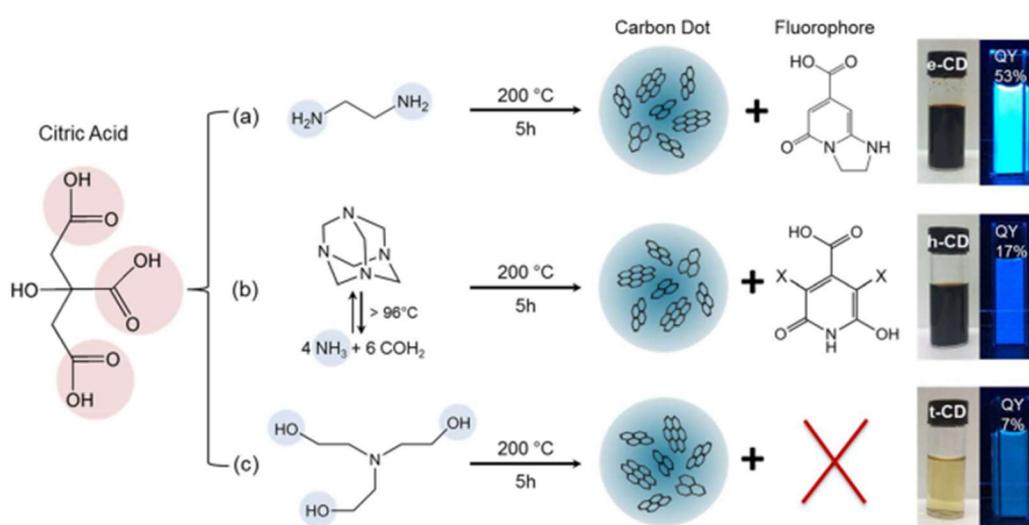
Fonte: CHOI *et al.*, 2012.

1.3.3 Fluorescência molecular

A fluorescência molecular está intimamente relacionada com a formação de “impurezas”. Tratam-se de frações de moléculas ligadas a superfície dos *carbon dots*, em que acredita-se que contribuem em sua emissão (ESSNER *et al.*, 2018). SCHNEIDER *et al.*, 2017, sintetizaram C-Dots utilizando ácido cítrico como precursor (**Figura 4**), com emissão na faixa

espectral do azul, a fim de estudar o mecanismo de luminescência desses. Então, sintetizaram três amostras, com derivados de nitrogênio, e constataram que a luminescência dos *carbon dots* estavam relacionadas com a fluorescência molecular nas amostras produzidas com etilenodiamina e hexametilenotetramina. WANG *et al.*, 2019 sintetizaram NPs utilizando ureia como matéria prima, por um método de microondas. Eles observaram que os espectros de fluorescência em diferentes estados de superfícies, e concluíram que a emissão de fluorescência dependia tanto dos fluoróforos moleculares presentes na superfície dos *carbon dots*, quanto dos defeitos superficiais.

Figura 4 - Síntese de CDs à base de ácido cítrico usando três diferentes precursores

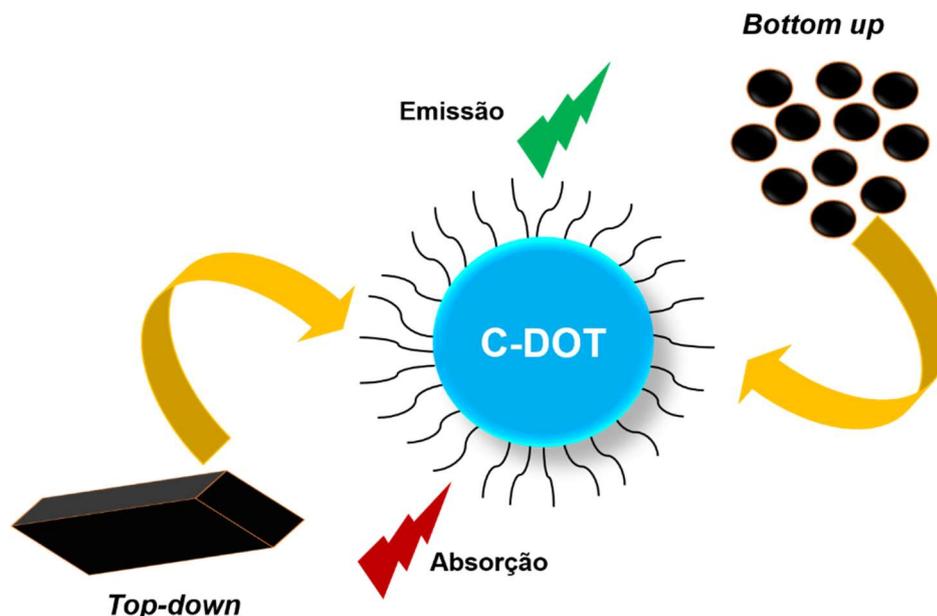


Fonte: Adaptada de SCHNEIDER *et al.*, 2017.

1.4 Síntese de *carbon dots*

Existem, de forma geral, duas abordagens para sintetizar nanopartículas de carbono, a saber *top-down* e *bottom-up* (Figura 5).

Figura 5 - Representação esquemática do método *top-down* e *bottom-up*.



Fonte: AUTORA, 2020.

1.4.1 Abordagem *top-down*

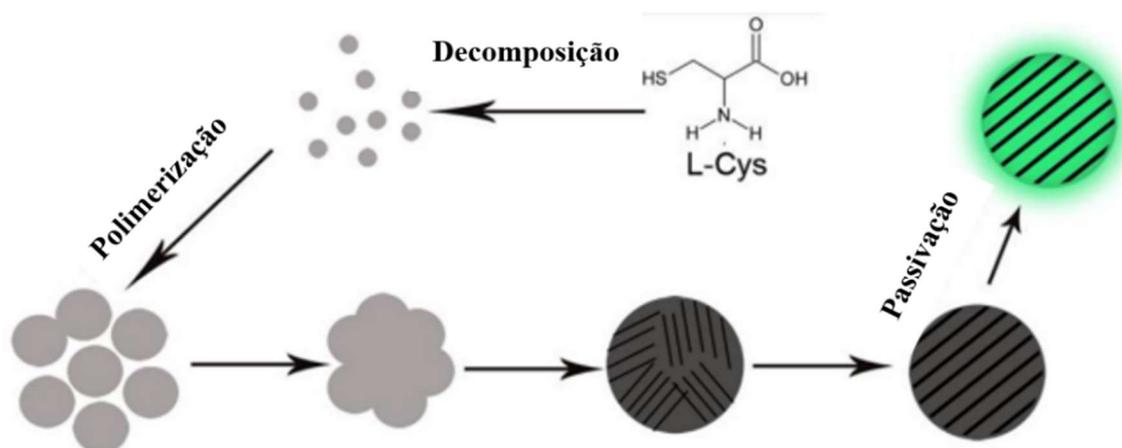
O *top-down* (de cima para baixo), visa a clivagem de materiais de carbono volumosos, tais como grafite, grafeno, nanotubos de carbono, carvão ativado, fuligem de carbono, óxido de grafeno, entre outros, por meio de abordagens químicas ou físicas, podendo ser oxidados e quebrados em C-Dots por oxidantes fortes, como H_2SO_4 ou HNO_3 , onde o mecanismo de formação depende da decomposição de átomos de carbono (LIU *et al.*, 2019). Nessa abordagem, utiliza-se oxidação ácida, esfoliação ultrassônica, ablação a laser e outros métodos eletroquímicos. Todavia, esses procedimentos têm custos altos, devido as condições de sínteses, exigência de operadores especializados, além dos longos tempos de reação (SHARMA *et al.*, 2019).

1.4.2 Abordagem *bottom-up*

Por outro lado, a abordagem *bottom-up* envolve a carbonização de pequenas moléculas orgânicas, tais como ácido cítrico, glicose, ácido ascórbico, entre outras. Essas, passam pela

etapa de condensação, polimerização, carbonização e passivação. Primeiro, os precursores de pequenas moléculas orgânicas podem formar compostos intermediários por uma reação de condensação. Seguidamente, os intermediários são polimerizados ou agregados em C-Dots poliméricos com polímeros por interações covalentes e não covalentes, posteriormente, os polímeros carbonizam para formar o núcleo de carbono em alta temperatura. Em seguida, os precursores de resíduos atuam como agentes passivadores de superfície para modificar a superfície e melhorar a eficiência da luminescência dos C-Dots (LIU *et al.*, 2019). Liu *et al.*, 2016 sugeriu a formação de *carbon dots* dopados com nitrogênio em cinco estágios: decomposição, autopolimerização, agregação, carbonização e passivação da superfície (Fig. 6).

Figura 6 - Esquema do mecanismo de formação dos *carbon dots* dopados com nitrogênio.



Fonte: Adaptada de LIU *et al.*, 2016.

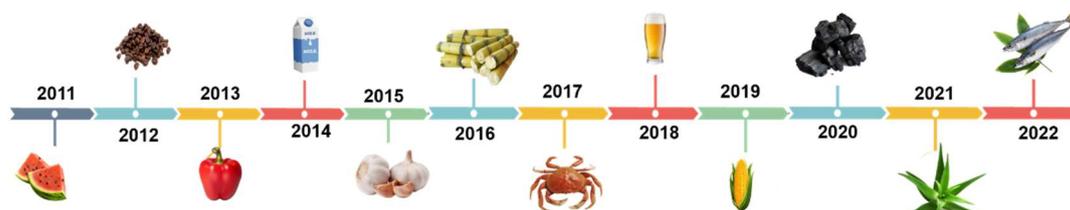
A estratégia *bottom-up* utiliza-se de métodos de carbonização hidrotermais/solvotermais, pirólise e micro-ondas, sendo frequentemente utilizada para sínteses que envolvem precursores verdes, por se tratarem na maioria das vezes, de pequenas moléculas orgânicas. Em vista disso, nesse trabalho, é utilizada essa estratégia *bottom-up*, em um processo via hidrotermal, tendo o limão taiti como precursor carbonáceo.

1.5 Síntese verde e trabalho pioneiro

A síntese verde de *carbon dots* visa o desenvolvimento sustentável, utilizando-se de matérias-primas verdes, contidas na biomassa, nas quais são biodegradáveis. Os precursores

verdes são materiais que ocorrem naturalmente na natureza, podendo ser de origens naturais e renováveis, ou podem ter origens de processos industriais (SHARMA, 2017). Sendo assim, vêm sendo utilizados nos últimos anos como precursores de nanopartículas luminescentes de carbono (**Figura 7**), por serem mais baratos, de fáceis obtenções e por muitas vezes, se tratarem de resíduos inutilizados e biodegradáveis (SHARMA, 2017). Nessa perspectiva, os trabalhos pioneiros de síntese verde de *carbon dots* surgiram em 2012, sendo um deles realizado por HSU *et al.*, 2012, quando produziram nanopartículas luminescentes de carbono utilizando borras de café como precursor carbonáceo, onde obtiveram C-Dots com emissão no azul e um rendimento quântico (QY) de 3,8%. Outro trabalho pioneiro foi produzido por HSU *et al.*, 2012 utilizando as cascas de melancia como resíduo carbonáceo em uma carbonização de baixa temperatura. Os *carbon dots* possuíam tamanhos de partícula pequenos de aproximadamente 2,0 nm, luminescência azul forte e boa estabilidade em uma ampla faixa de valores de pH (pH 2,0-11,0). Além disso, os CDs foram aplicados com sucesso em imageamento celular, podendo servir como sondas de imagens ópticas de alto desempenho.

Figura 7 - Linha do tempo das sínteses verdes de nanopartículas de carbono ao longo dos anos.

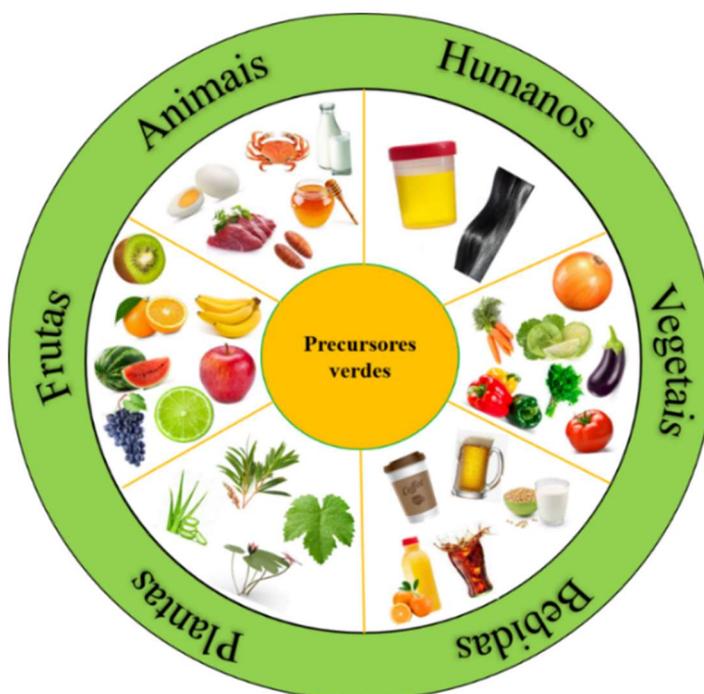


Fonte: AUTORA, 2020.

1.5.1 Precursores verdes

Nos últimos anos, foram reportadas diversas sínteses de nanopartículas utilizando precursores verdes (**Figura 8**), sendo eles derivados de fontes como frutas, vegetais, alimentos, bebidas, animais, e até mesmo derivados humanos (SHARMA *et al.*, 2017).

Figura 8 - Tipos de precursores verdes para sínteses de nanopartículas luminescentes de carbono



Fonte: AUTORA, 2022.

Os resíduos da casca de banana foram adotados por ATCHUDAN *et al.*, 2021 para realizar uma síntese hidrotermal, em que obtiveram uma fluorescência azul, um rendimento quântico de 20% e foram aplicados em bioimagem de nematóides. Uma síntese hidrotermal usando o suco de limão como precursor foi relatada por TADESSE *et al.*, 2020. Os resultados indicaram que os *carbon dots* com emissão no azul tem alta sensibilidade e boa seletividade para Hg^{2+} , onde o limite de detecção (LOD) é de 5,3 nM e o limite de quantificação (LOQ) é de 18,3 nM com um nível de confiança de 99%. Além disso, as nanopartículas apresentaram baixa citotoxicidade e boa biocompatibilidade, sendo aplicadas em uma sonda fluorescente eficaz para imageamento celular. Usando cascas de uva de resíduos de biomassa pontos de carbono fluorescentes dopados com nitrogênio foram sintetizados pelo grupo TANG *et al.*, 2022 por um método térmico de fase sólida simples. Os *carbon dots* apresentaram uma emissão no azul e um rendimento quântico de 54%.

Uma síntese hidrotermal utilizando repolho roxo foi abordada por SHARMA *et al.*, 2020. Os *carbon dots* sintetizados exibiram um tamanho médio de 3 nm, fluorescência azul e um rendimento quântico de 8,3%. Foram utilizados como uma sonda fluorescente para biomarcação de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Além disso, os *carbon dots* foram utilizados como tinta fluorescente. YIN *et al.*, 2013 sintetizaram pontos quânticos de carbono

utilizando pimentão como precursor carbonáceo, em que obtiveram rendimento quântico (QY) de 19,3%. Ademais, foram aplicados como sondas fluorescentes para detecção de hipoclorito (ClO^-) com um limite de detecção de $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,06 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os *carbon dots* sintetizados a partir de extrato de cebola usando método hidrotérmico foi reportado por DASTIDAR *et al.*, 2020. Eles obtiveram um rendimento quântico de 6,21% e foi muito sensível à presença de íons Zn^{2+} . O limite de detecção e o limite de quantificação para íons Zn^{2+} no plasma foram $6,4 \mu\text{M}$ e $21,3 \mu\text{M}$, respectivamente. SACHDEV *et al.*, 2015 utilizaram folhas de coentro em um processo hidrotermal para sintetizar *carbon dots* com emissão no azul, um rendimento quântico de 6,48, no qual foi aplicado para detecção de Fe^{3+} .

As cascas do ovo de galinha foram usadas por PRAMANIK *et al.*, 2018 como uma fonte de proteína de baixo custo para a síntese de *carbon dots* altamente fluorescentes com emissão no azul. A propriedade de fluorescência intrínseca do material foi utilizada para a ligação livre de marcação de ácido desoxirribonucléico (DNA) duplex. WANG *et al.*, 2020 utilizaram bicho de seda para sintetizar *carbon dots* via pirólise com um diâmetro médio de 2,26–9,35 nm e um rendimento quântico (QY) de 6,32%. Foram usados para avaliar a bioatividade antiinflamatória das MSC-CDs. Os resultados indicaram que as MSC-CDs exibiram bioatividade antiinflamatória, provavelmente mediada pela inibição da expressão da interleucina-6 e do fator de necrose tumoral- α . A detecção de Cr(VI) foi realizada por ATHIKA *et al.*, 2019 usando leite estragado como precursor carbonáceo via hidrotermal. A emissão foi no azul e a propriedade fotofísica resultou na detecção seletiva dos íons de cromo (Cr(VI)) com um limite de detecção de $14 \mu\text{M}$ em amostras de água de torneira e ambientais

O pó de café foi utilizado como sonda fluorescente para Fe^{3+} pelo grupo CRISTA. Os CDs foram obtidos por meio da carbonização, gerando partículas nanométricas (2,1–3,9 nm), no qual exibiram uma fluorescência azul com rendimentos quânticos moderados (2,9–5,8%) e uma característica de emissão dependente de excitação de pontos de carbono. *Carbon dots* de cerveja sintetizados por WANG *et al.*, 2018 tinham morfologia quase esférica e emitiam fluorescência azul brilhante sob luz ultravioleta com rendimentos quânticos (QYs) variando de 1,42% a 3,92%. GUO *et al.*, 2016, desenvolveram uma sonda para detecção de Hg^{2+} com emissão no azul e rendimento quântico de 10,75%, utilizando o cabelo humano como precursor carbonáceo.

O extrato de *Aloe vera* foi utilizado para sintetizar *carbon dots* em uma síntese assistida por micro-ondas. Os C-Dots esféricos com tamanho inferior a 5 nm, emitiram fluorescência azul e possuem rendimento quântico de fluorescência de 31%. Além disso, foram empregados

como fotocatalisador para a remediação ambiental para degradar o corante aniônico amarelo eosina sob irradiação de luz visível com eficiência fotocatalítica de 98,55% em 80 min e 100% de eficiência em 100 min. Ademais, as propriedades citotóxicas foram investigadas na linha de células de câncer de mama MCF-7 a uma concentração de $52,2 \pm 1,35 \mu\text{g} / \text{mL}$ (MALAVIKA *et al.*, 2021).

1.5.2 Precusores verdes de fontes cítricas

As frutas cítricas são conhecidas e cultivadas mundialmente por seus altos valores nutritivos, refrescância e diversos benefícios à saúde, além de seus baixos custos e alta disponibilidade. Os resíduos cítricos que comumente são descartados para biodegradação no meio ambiente, vêm sendo usados, nos últimos anos, como precursores carbonáceos nas sínteses de *carbon dots* (Tabela 1) devido suas diversas moléculas orgânicas, como ácido cítrico, ácido ascórbico, aminoácidos, flavonóides, óleos essenciais, pectinas, fenóis e outros (ALEXANDER, 2019 & RAFIQ *et al.*, 2016).

Tabela 1 - *Carbon dots* derivados de precursores cítricos

Precusores verdes	Emissão	Rendimento quântico (%)	Aplicação	Referência
Limão	Azul	10,20	Imageamento celular	BASAVIAH, 2018
Laranja	Azul	-	Catálise	PRASANNAN, 2013
Acerola	Azul	-	Sensor de íons	CARVALHO, 2019

Fonte: AUTORA, 2020.

PRASANNAN *et al.*, 2013, sintetizaram *carbon dots* usando a casca de laranja como precursor carbonáceo, em um método hidrotermal, a 180 °C, durante 12 h, onde tiveram uma emissão no azul e foi usado no desenvolvimento de um sistema catalítico. WANG *et al.*, 2020, produziram C-Dots por meio de uma síntese hidrotermal, utilizando a casca de laranja como precursor, a 200 °C em 4h. Obtiveram um QY de 18,57%, uma emissão no azul, e foram aplicados em sensores de Cr(VI). DING *et al.*, 2017, sintetizaram *carbon dots* usando o aquecimento de uma solução de etanol e o suco do limão como precursor, a 190 °C durante 10

h, onde obtiveram uma emissão independente da excitação no vermelho, e um rendimento quântico de 28%, e foram empregados como sonda luminescente para bioimagens. HE *et al.*, 2018, produziram C-Dots a partir do suco de limão, em um tratamento hidrotermal, a 120 °C, durante 3h. Os resultados foram nanopartículas com emissão azul esverdeadas, e um QY de 16,70%, onde serão aplicados em imagens de células vegetais. CARVALHO *et al.*, 2019 usaram a acerola como precursor das NPs por meio do método hidrotermal em temperaturas de 100, 130, 160 e 180 °C, por 12, 18, 24 e 36 h, respectivamente. Eles observaram que a absorção era maior, à medida que aumentava a temperatura. Entretanto, a maior emissão dos C-Dots foi em 160 °C, em 18h. Esses *carbon dots* foram aplicados em películas poliméricas para sensores de Fe³⁺.

1.6 Aplicações dos *carbon dots* verdes

As nanopartículas luminescentes de carbono provenientes de precursores verdes são muito utilizadas em diversas aplicações por não serem tóxicos e terem baixo custo. Podendo ser aplicadas em bioimagem, devido a sua ótima biocompatibilidade e solubilidade (WANG *et al.*, 2014). Podem ser aplicados em catálise, pois apresentam uma boa atividade fotocatalítica, devido a sua baixa toxicidade, melhor solubilidade em água e estabilidade (TEGWAN *et al.*, 2019). Ademais, em virtude de suas propriedades únicas, como pequenas dimensões, estabilidade fotoquímica e fácil incorporação da superfície, os *carbon dots* são utilizados para a detecção de moléculas e íons metálicos. No qual acontece pela facilidade das interações de espécies químicas presentes na superfície dos C-Dots, fazendo com que haja uma transferência de energia, e, por conseguinte, uma alteração na intensidade de fluorescência dos *carbon dots*. Essa detecção de íons metálicos e o controle de suas concentrações é de extrema importância para o meio ambiente. Assim sendo, é necessário desenvolver métodos eficientes de detecção de metais tóxicos nas águas.

Embora alguns metais, como ferro e zinco, sejam importantes no que diz respeito ao metabolismo humano, quando estão em suas concentrações ideais, há outros que são potencialmente tóxicos e prejudiciais à saúde humana, mesmo em baixas concentrações, uma vez que são facilmente acumulados no corpo (YOO *et al.*, 2019).

1.6.1 Problemática do cromo

O cromo é um dos elementos mais abundantes que existe na Terra. Esse, por sua vez, é facilmente encontrado no solo, rochas e poeiras vulcânicas. Por esta razão, é muito utilizado em processos industriais, como pigmentos de tintas, indústrias de curtumes, e revestimento (JUN-FEI *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2018). Em sua espécie aquosa, encontra-se nos estados de oxidação trivalente (Cr (III)) e hexavalente (Cr (VI)), nos quais apresentam diferentes toxicidades. Uma vez que o Cr (III) apresenta uma toxicidade baixa, é de extrema importância para os seres humanos, pois é essencial no processo de metabolismo da glicose, proteínas e lipídios (HUANG *et al.*, 2021; JUN-FEI *et al.*, 2019 & WANG, 2018). Por outro lado, o Cr (VI) é altamente tóxico, cancerígeno e extremamente nocivo para a saúde humana, podendo entrar no corpo por meio da água potável contaminada, alimentos e até mesmo pelo ar (BU, 2016), tornando de suma importância a sua detecção para não afetar a saúde da população. Sendo assim, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde estabelece um limite de 0,05 mg/L para Cr (VI) em águas potáveis (WANG, 2018 & MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Nos últimos anos, foram desenvolvidas diversas técnicas para detecção de Cr(VI) em amostras reais de água, tais como métodos eletroquímicos, espectroscopia de absorção atômica por chamas, cromatografia, espectroscopia de massa acoplada com plasma, entre outros (JUN-FEI *et al.*, 2019 ; WANG, 2018). Todavia, embora apresentem boa sensibilidade, tais técnicas têm altos custos, devido à exigência de equipamentos caros, e são demoradas, devido a necessidade de operadores especializados, limitando assim, o monitoramento rápido (WANG, 2018). Nessa perspectiva, a detecção rápida, de forma simples, com alto grau de sensibilidade, seletividade e de baixo custo, é altamente necessária para o monitoramento de Cr (VI).

As nanopartículas de carbono têm se tornado uma alternativa promissora quando se trata de sensores químicos fluorescentes para detecção de íons metálicos, principalmente, as que são provenientes de sínteses verdes. Uma vez que essas, apresentam um alto grau de sensibilidade, baixo custo, e são fáceis de serem sintetizadas. Entretanto, mesmo com tais características, existem poucos trabalhos reportados na literatura envolvendo nanopartículas de carbono sintetizadas via processos verdes aplicadas como sensoriamento de Cr (VI), conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Trabalhos reportados na literatura de *carbon dots* com potencial aplicação em sensores de Cr(VI)

Precursor	Síntese	QY (%)	LOD	Faixa linear	Referência
Cascas de limão	Hidrotermal	14	0,073	2,5 a 50	TYAGI <i>et al.</i> , 2016
Lã de porco	Hidrotermal	25,6	16,8	50 a 100	WANG <i>et al.</i> , 2016
Pomelo	Hidrotermal	18,7	0,52	1 a 40	SHEN <i>et al.</i> , 2017
Mamão	Pirólise	23,7	0,708	10 a 100	POOJA <i>et al.</i> , 2018
Cogumelo enokitake	Hidrotermal	11	0,73	1 a 100	PACQUIAO <i>et al.</i> , 2018
Folha de manjeriçã	Hidrotermal	3,06	1,6	1,6 a 50	BHATT <i>et al.</i> , 2018
Cascas de camarão	Pirólise	20	0,1	0 a 70	TAI <i>et al.</i> , 2019
Batata	Hidrotermal	6,08	0,012	0,5 a 100	SINHA <i>et al.</i> , 2019
Amendoim	Hidrotermal	17,6	1,9	-	MISRA <i>et al.</i> , 2019
Cuminho	Hidrotermal	5,33	1,57	-	ROSHNI <i>et al.</i> , 2019
Cascas de laranja	Hidrotermal	18,57	0,8	1 a 50	WANG <i>et al.</i> , 2020

Fonte: AUTORA, 2020.

WANG *et al.*, 2016, sintetizaram nanopartículas de carbono por meio de um processo hidrotermal utilizando lã como precursor, aquecendo a 240 °C durante 6h, onde obtiveram uma emissão no azul, QY de 25,6% e um limite de detecção (LOD) de 0,073 nM. O método de carbonização utilizando as cascas de camarão a 230 °C durante 2h, foi reportado por TAI *et al.*, 2019, onde tiveram *carbon dots* com emissão no azul, rendimento quântico de 20% e um limite de detecção de 0,1nM. Também utilizando o método de pirólise, POOJA *et al.*, 2018 reportaram uma síntese utilizando resíduos de mamão papaia como precursor, onde os C-Dots sintetizados

apresentaram rendimento quântico de 23,7% e um LOD de 0,708 nM, demonstrando serem potenciais na detecção de Cr(VI). Até o presente momento, há apenas dois trabalhos reportados na literatura utilizando materiais cítricos como precursor carbonáceo, um com cascas de laranja e outro com cascas de limão. WANG *et al.*, 2020, utilizou as cascas de laranja em uma síntese hidrotermal, a 200 °C durante 4 h. O resultado foi *carbon dots* com rendimento quântico de 18,57% e um LOD de 0,8 nM. As nanopartículas de carbono utilizando as cascas de limão como precursor, foram sintetizadas por TYAGI *et al.*, 2016, via hidrotermal, a 200 °C durante 4h. Eles obtiveram *carbon dots* com emissão no azul, um QY de 14% e um LOD de 0,703 nM.

1.6.2 Mecanismos de quenching

As nanopartículas luminescentes de carbono podem realizar a detecção de íons metálicos por meio de mecanismos de extinção ou diminuição de fluorescência, nos quais podem ser por *quenching* estático, *quenching* dinâmico, transferência de elétrons foto-induzida (PET), efeito de filtro interno (IEF), transferência de energia de ressonância de Förster (FRET), entre outros (LOU *et al.*, 2021).

O mecanismo de *quenching* estático baseia-se na formação de complexos não luminescentes no estado fundamental, em que há interação entre os grupos funcionais do *carbon dots* que estão no estado fundamental e a sonda. Esse *quenching* estático ocorre quando o tempo de vida de fluorescência dos *carbon dots* não muda quando a sonda é adicionada, por outro lado, o espectro de absorção muda após a adição da sonda, além disso, esse mecanismo ocorre quando há diminuição da constante do tempo de vida com o aumento da temperatura (LOU *et al.*, 2021). HASHEMI *et al.*, 2021 reportaram *carbon dots* derivados de beterraba vermelha que foram empregados para medição seletiva e sensível de Pd(II) em solução aquosa, em que a extinção de fluorescência de CDs ocorreu através de um mecanismo de extinção estática com um limite de detecção de 33 nM em uma faixa linear de 3 µM a 43 µM.

Quenching dinâmico ocorre quando há colisões entre os *carbon dots* e a sonda, em que as moléculas do estado excitado das nanopartículas luminescentes de carbono perdem sua energia de excitação e retornam ao estado fundamental após essa transferência de energia. Dessa forma, a extinção de fluorescência é dependente do tempo, no qual a sonda diminui o tempo de vida de fluorescência da nanopartícula. Ademais, a extinção dinâmica está ligada ao coeficiente de difusão, promovendo a interação das moléculas com o aumento da temperatura

(LOU *et al.*, 2021). Um exemplo de *quenching* dinâmico foi reportado por LOU *et al.*, 2020., em que utilizaram o bagaço de cana para fazer uma síntese de *carbon dots* via hidrotermal, onde obtiveram tamanho médio de 2,5 nm e QY de 21,32% e foram aplicados na detecção de íons de metais de transição.

A transferência de elétrons foto-induzida (PET) acontece quando os elétrons sofrem transferências intramoleculares ou intermoleculares sob indução de luz. Na extinção PET, há uma diferença de energia HOMO e LUMO entre os *carbon dots* e os íons (LOU *et al.*, 2021). Além disso, os *carbon dots* têm uma diminuição na vida útil de fluorescência após a adição do íon, em vista disso, emitem fluorescência muito fraca antes de se ligarem ao hóspede. PRAMANIK *et al.*, 2018 sintetizaram C-Dots usando folhas de *aegle marmelos* (fruta de Bael) para a detecção de Fe(III) e identificaram esse mecanismo de extinção na sonda, uma vez que os complexos Fe(III)/C-Dots formados foram responsáveis pela transferência de elétrons do HOMO (estado excitado singlete) de *carbon dots* excitados para o orbital 3d de meio campo de íons Fe(III).

A extinção de fluorescência pelo mecanismo de transferência de energia de ressonância de Förster (FRET) envolve a transferência de energia irradiada e não radiativa. Esse mecanismo de extinção acontece quando o tempo de vida de fluorescência dos *carbon dots* diminui, o espectro de emissão do C-Dots se sobrepõe ao espectro de absorção do *quenching* (LOU *et al.*, 2021), um exemplo desse mecanismo foi reportado por SUN *et al.*, 2019 que usaram *carbon dots* derivados de cascas de manga para detecção de mesotriona.

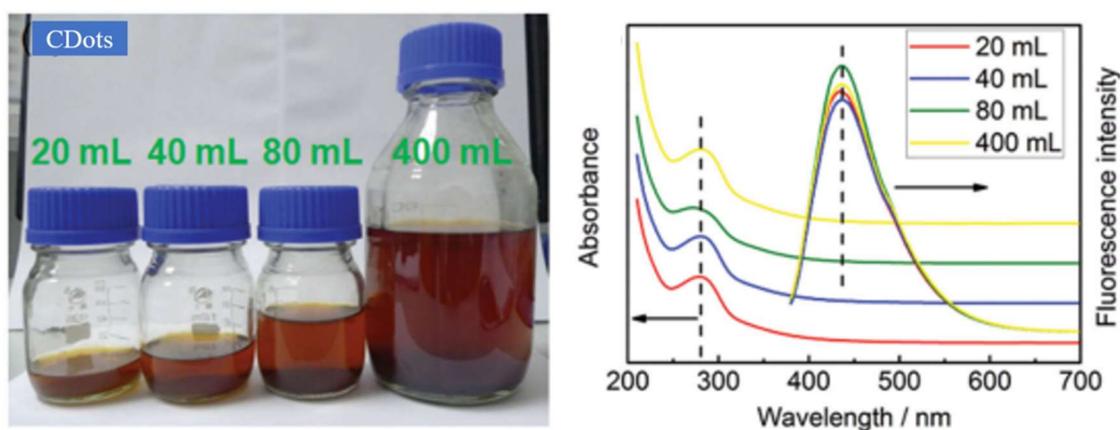
O mecanismo de extinção baseado no efeito de filtro interno (IEF) ocorre quando a luz excitada ou a luz emitida dos *carbon dots* é absorvida por determinada substância na solução, atendendo as seguintes condições: há sobreposição dos espectros de emissão e absorção dos *carbon dots*, não há alteração no pico de absorção após a adição do íon nem mudança no tempo de vida da fluorescência (LOU *et al.*, 2021). O mecanismo de IEF foi abordado por CHATZIMITAKOS *et al.*, 2017 em que utilizaram cascas de frutas cítricas para visualização de fluorescência de células cancerosas e detecção intracelular de Fr(III).

1.7 Reprodutibilidade

Quando se tratam de sínteses verdes de *carbon dots*, é de extrema importância realizar ensaios de reprodutibilidade, visto que a composição química-estrutural dessas nanopartículas podem ter diversas variações, tais como de clima, localidade e rotas sintéticas. Em vista disso,

ZHANG *et al.*, 2015, realizaram testes de reprodutibilidade para produzir *carbon dots* em larga escala que fossem reprodutíveis, utilizando três tipos de pólen de abelhas, sendo eles de flor de colza, camélia e de lótus. Eles obtiveram C-Dots com emissão azul e com propriedades ópticas similares, mesmo produzindo em volumes diferentes (**Figura 9**). Outrossim, MEILING *et al.*, 2016 também conseguiram provar que seus *carbon dots* produzidos a partir de amido eram reprodutíveis frente aos seus aspectos ópticos. Todavia, estudos de reprodutibilidade de *carbon dots* produzidos a partir de precursores verdes, aplicados em sensoriamento químico ainda não foi relatado na literatura. Sendo assim, esse trabalho relata ensaios de reprodutibilidade das sondas fluorescentes na detecção de Cr(VI).

Figura 9 - Suspensões de CDs sintetizadas em volumes crescentes por 24 h e espectros de absorção e espectros de emissão fluorescente na excitação de 360 nm para suspensões de CDs sintetizados em volumes específicos.



Fonte: Adaptada de ZHANG *et al.*, 2015.

2 JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA PARA A SOCIEDADE

O monitoramento de Cr(VI) em ambientes aquáticos e de distribuição de águas potáveis é de suma importância, uma vez que este ocasiona impactos na vida dos seres aquáticos e também nos seres humanos, visto que a sua exposição pode causar danos no DNA e até mesmo irradiar um câncer. Dessa forma, os órgãos públicos como CONAMA E MINISTÉRIO DA SAÚDE estabelecem que os níveis de Cr(VI) máximo presente na água potável seja de 0,05 mg/L. Diante do exposto, os meios de monitoramento desse íon atualmente disponíveis envolve métodos sensíveis, entretanto, precisam de pré-tratamento, equipamentos caros e operadores especializados, tornando essas abordagens demoradas e de alto custo. Em vista disso, é necessário o seu monitoramento de forma rápida, simples e de baixo custo. Nessa perspectiva, os *carbon dots* derivados de resíduos carbonáceos são uma alternativa promissora quando se trata de um sensor para detecção de Cr(VI), uma vez que esse é um método simples, de alta sensibilidade, sustentável e de baixo custo. Assim, esse trabalho busca trazer soluções as demandas sociais importantes relacionadas ao monitoramento das contaminações dos efluentes por metais potencialmente tóxicos, o qual pode contribuir com a redução dos impactos à saúde humana, através de uma rota sustentável.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Sintetizar e caracterizar *carbon dots* derivados do bagaço das cascas do limão taiti (*Citrus latifolia*) provenientes de diferentes cidades de Alagoas e aplicar como sonda fluorescente de Cromo (VI).

3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar *carbon dots* utilizando o bagaço das cascas do limão taiti (*Citrus latifolia*) como precursor carbonáceo via método hidrotermal;
- Comparar as propriedades fotofísicas e estruturais de C-Dots provenientes de diferentes cidades de Alagoas;
- Caracterizar frente aos aspectos estruturais e morfológicos por meio de técnicas de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Espalhamento Dinâmico de luz (DLS); investigar as propriedades fotofísicas por meio de medidas no espectro UV-Vis e espectroscopia de luminescência;
- Otimizar os parâmetros físico-químicos no estudo da detecção de Cr (VI) pelo CDs, tais como: pH, tipo e concentração do sistema tampão, força iônica, cinética reacional, fotoestabilidade e parâmetros instrumentais de modo a se obter a melhor sensibilidade analítica.

4 EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados nos experimentos são de grau analítico de pureza. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) na qual foi obtida a partir do ultrapurificador de água Master System MS2000 (Gehaka, Brasil). Os reagentes foram adquiridos por Sigma-Aldrich (EUA), sendo $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e Tris/HCl com pureza de 96%. A solução estoque de dicromato de potássio (448 mg L^{-1}) foi preparada a partir da pesagem e posterior solubilização em água ultrapura. Para o ajuste do pH, foram preparadas soluções de NaOH e HCl a 1 M pela solubilização direta dos compostos em água ultrapura. As soluções tampões de dihidrogenofosfato de sódio/hidrogenofosfato de sódio (50 mM) e tris-HCl (50 mM) foram preparadas pela pesagem do respectivo sal e dissolução em água ultrapura. O tampão Britton Robinson (0,4 M) foi preparado a partir da mistura de 2,287 mL de ácido acético 99,7% (m/m), 2,4732 g de ácido bórico e 2,08 mL de ácido fosfórico 85% (m/m) para um volume final de 100 mL. Os pHs dos tampões foram ajustados utilizando NaOH ou HCl 1 M.

4.2 Equipamentos

Os experimentos descritos neste trabalho foram realizados utilizando os seguintes equipamentos: forno mufla (modelo 8370, LICiT, Brasil), balança analítica com precisão de 0,1 mg (AG-245, Mettler Toledo, 33 Alemanha), agitador magnético (RH basic KT/C, IKA, Brail), pHmetro (modelo AG200, Gehaka, Brasil), reator de teflon.

4.3 Caracterizações

A composição química dos *carbon dots* sintetizados foi analisada por meio da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) usando o Termo Scientific modelo Nicolet e IR1200 Espectroscopias de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e brometo de potássio (KBr), como agente dispersante. Para a composição das pastilhas, uma pequena promoção do material C-Dots, foi gotejado em 20 mg de KBr e levado

a estufa a 140 °C por 24 horas. A faixa espectral abrangida para todas as análises foi de 4000 – 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} .

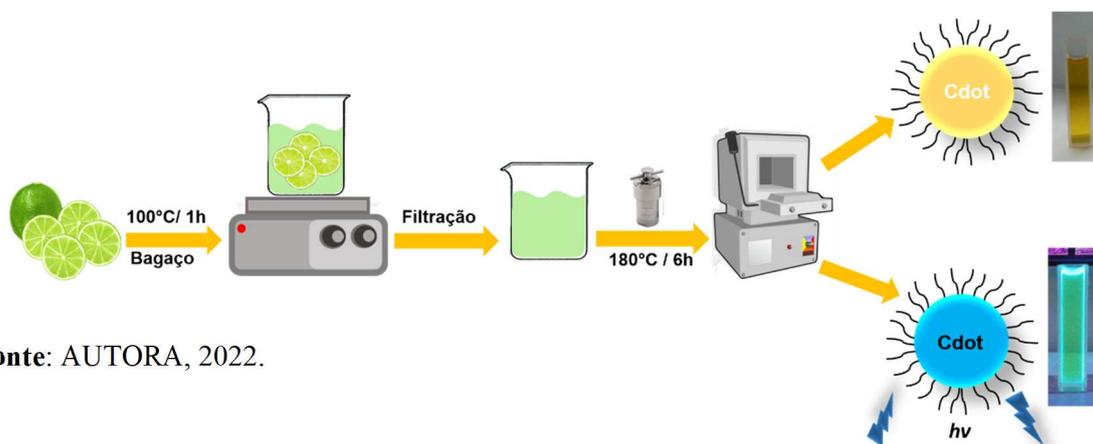
Os espectros de absorvância foram adquiridos utilizando-se de um espectrofotômetro UV-VIS modelo UV-3600 Plus, numa faixa de absorção de 200 a 1000 nm, utilizando cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. As medidas de distribuição das partículas dispersas foram feitas por meio da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), por meio do equipamento Microtrac Zetatrak 150 Particle Counter, séries S3000/S3500 à 25 °C, que por sua vez, baseia-se no movimento Browniano, onde seu tamanho pode ser obtido através de uma relação entre o coeficiente de difusão e o raio hidrodinâmico da partícula. As análises dos espectros de emissão foram realizadas com o auxílio de um Espectrofluorímetro Fluorolog 3-22 HORIBA com comprimento de onda de excitação variando de 290 a 410 nm e espectrofluorímetro (RF 5301PC, Shimadzu, Japão).

4.4 Síntese dos *carbon dots*

Limões do tipo taiti (*Citrus latifolia*), foram cortados em 4 partes, e em seguida, espremidos com o auxílio de um espremedor de limão doméstico para obtenção do suco e do bagaço (contendo as cascas). O bagaço foi adicionado a um béquer com água deionizada (100 mL), o qual foi posto em uma chapa de aquecimento durante 60 min a 100°C, para obtenção do extrato (Figura 10). Posteriormente, realizou-se uma filtração simples para separar o bagaço do extrato aquoso. Deste último, transferiu-se 14 mL para um reator de teflon, revestido de aço inox. Prontamente, o reator foi colocado na mufla, onde permaneceu por 6 h a 180°C. Após esse tempo, os Cdot_L formados, foram centrifugados a 10000 RPM durante 10 minutos e filtrados em membranas de 0,20 μm . Seguidamente, as dispersões aquosas dos Cdot_L sem diluição adicional (68 mg/mL), foram transferidas para tubos falcons e armazenadas em geladeira ($\approx 6^\circ\text{C}$), até o instante de análise. Os procedimentos descritos acima, foram realizados para limões provenientes de diferentes cidades de Alagoas, a fim de avaliar os testes de reprodutibilidade entre as cidades. Para tanto, os *carbon dots* foram designados pelas siglas C-Dots_AMx para cidade de Maceió, C-Dots_ACx para cidade de Coruripe e C-Dots_ARx para cidade de Rio Largo, onde x assume valores de 1, 2 e 3, os quais estão relacionadas as sínteses em triplicata e em dias diferentes para cada cidade. Os *carbon dots* sintetizados são hidrofílicos, e, portanto, altamente solúveis e estáveis em água, apresentando-se como uma solução de

coloração amarela. As dispersões aquosas dos *carbon dots* irradiados à luz UV, apresentaram luminescência no azul (**Figura 10**).

Figura 10 - Esquema representativo da síntese dos *carbon dots*.



Fonte: AUTORA, 2022.

4.5 Procedimentos

Para a determinação de Cr(VI), foi fixada uma concentração do *carbon dot* de 50 μL e adicionado o volume apropriado da solução da amostra de modo a se obter diferentes concentrações de Cr(VI) no meio. Por fim, foi adicionado o meio tamponante adequado até atingir um volume final de 3 mL. As medidas espectrofotométricas foram realizadas utilizando um comprimento de onda de excitação de 350 nm.

Foi realizada a otimização dos parâmetros analíticos, tais como: pH, tipo e concentração do sistema tampão, força iônica, cinética reacional e fotoestabilidade, de modo a se obter a melhor sensibilidade analítica.

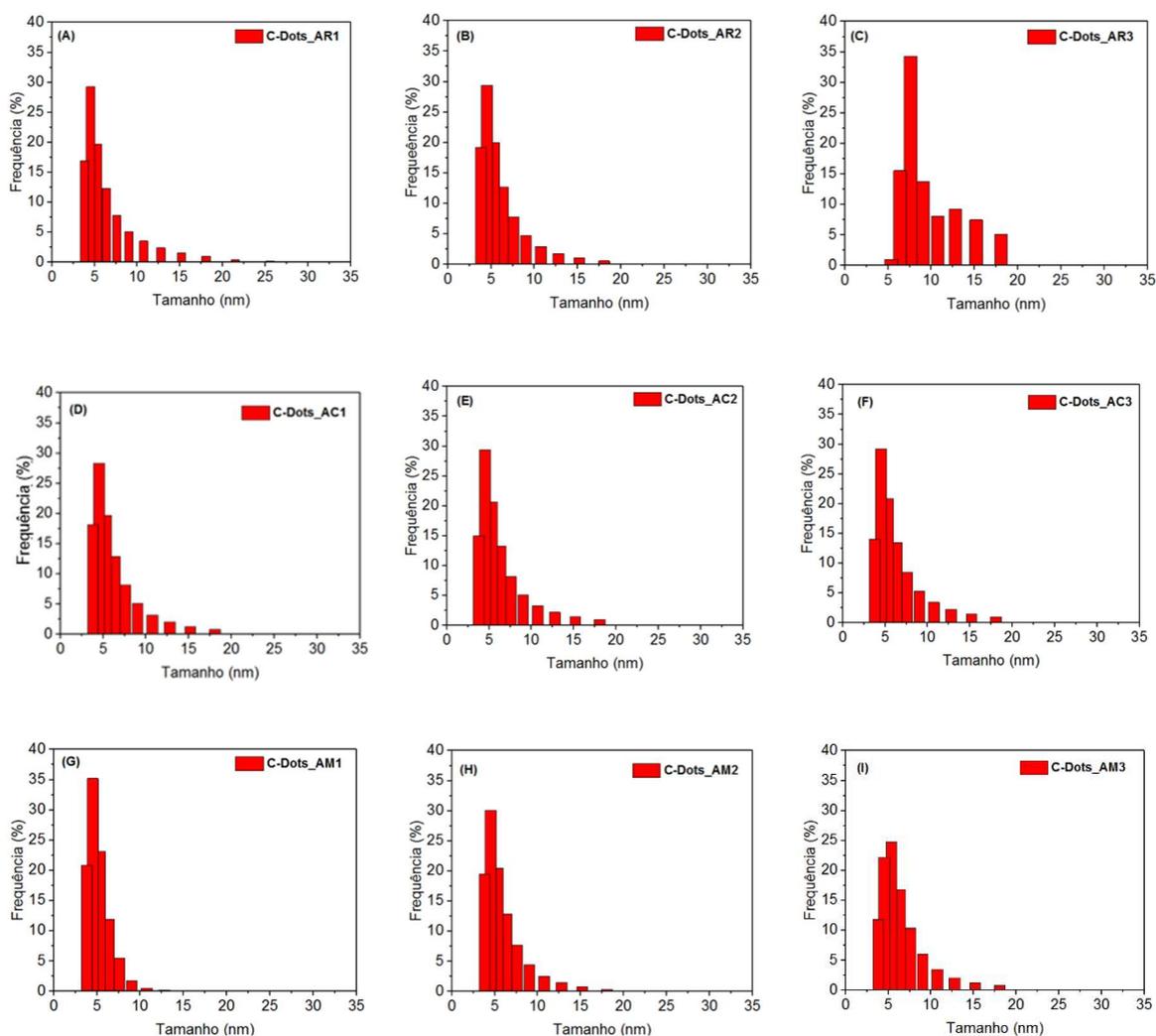
A avaliação do pH, foi usado o tampão Britton-Robinson 50 mM com pH 5,7 e 9. Na escolha do tipo de tampão, analisou-se os tampões Britton-Robinson (50 mM), Tris/HCl (50mM) e fosfato (50 mM). Para avaliação da força iônica, foi adicionado NaCl a solução tampão de modo que esta variasse entre 0 e 100 mM no meio. Para o ensaio cinético, acompanhou-se, a variação da intensidade de fluorescência do *carbon dot* na ausência e presença de Cr(VI) a 4,0 mg L^{-1} ao longo do tempo. Já para a fotoestabilidade, foi avaliado os mesmos sistemas sob irradiação constante durante um período de 60 min.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Aspectos estruturais e morfológicos dos *carbon dots*

Os resultados dos histogramas dos C-Dots_AR1-3, C-Dots_AM1-3 e C-Dots_AC1-3 foram adquiridos pelo DLS, (**Figuras 11 A-I**).

Figura 11 - Histogramas da distribuição de tamanho médio dos a) C-Dots_AR1, b) C-Dots_AR2, c) C-Dots_AR3, d) C-Dots_AC1, e) C-Dots_AC2 f) C-Dots_AC3, g) C-Dots_AM1, h) C-Dots_AM2 e i) C-Dots_AM3.



Fonte: AUTORA, 2022.

Os C-Dots exibiram uma maior frequência de tamanho abaixo de 10 nm, apresentando valores de $4,64 \pm 0,344$, $4,70 \pm 0,050$ e $5,41 \pm 1.386$ nm para o C-Dots_AM1-3, C-Dots_AC1-3 e C-Dots_AR1-3, referentes as cidades de Maceió, Coruripe e Rio Largo, respectivamente (Tabela 3).

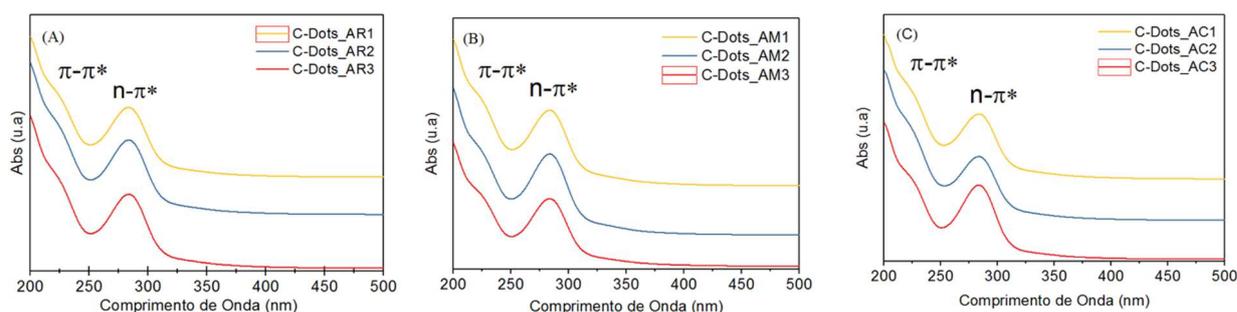
Tabela 3 - Medidas de distribuição média das nanopartículas dispersas e índice de polidispersividade

Amostras	Diâmetro médio (nm)	PDI
CDots_AM	$4,64 \pm 0,344$	0,0050
CDots_AC	$4,70 \pm 0,050$	0,0001
CDots_AR	$5,41 \pm 1.386$	0,0656

Fonte: AUTORA, 2022.

Os C-Dots obtidos foram caracterizados por espectrofotometria UV-Vis (**Figuras 12 A-C**), nos quais revelaram duas bandas de absorção características, centradas em 230 e 286 nm. A primeira banda de absorção, localizada na faixa de 190–250 nm, é atribuída à transição eletrônica $\pi - \pi^*$ das ligações C = C (domínios sp^2). A segunda faixa de absorção (250–400 nm), corresponde à transição eletrônica $n - \pi^*$ das ligações de superfície, a exemplo da C=O conforme é reportado por HOAN (2019). Todos os *carbon dots* sintetizados tiveram o mesmo perfil das bandas de absorção.

Figura 12 - Espectros de UV-Vis dos a) C-Dots_AR1-3, b) C-Dots_AM1-3 e c) C-Dots_AC1-3.

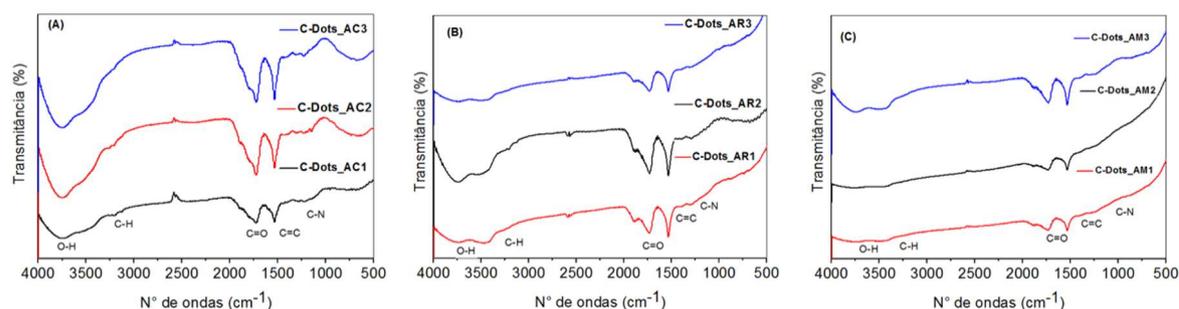


Fonte: AUTORA, 2022.

Para descrever os grupos funcionais presentes na superfície dos C-Dots, a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada, e apresentaram perfis similares (**Figura 13**). Os C-Dots_A1, C-Dots_A2 e C-Dots_A3 exibiram

bandas largas e intensas em 3750 cm^{-1} e 3180 cm^{-1} que podem ser atribuídas as vibrações de estiramento das ligações O-H carboxílicas e N-H (MONTE-FILHO *et al.*, 2019). Em 1712 cm^{-1} observa-se o estiramento C=O, confirmando a presença de ácido carboxílico nos *carbon dots* sintetizados, indicando que grupos funcionais oxigenados, estão presentes na superfície dos C-Dots (HOAN *et al.*, 2019). Bandas de estiramentos C-H aparecem em 2940 cm^{-1} , já em 1391 cm^{-1} observa-se as vibrações de estiramentos C=C, indicando a formação de poliaromáticos (HOAN *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2019). Estiramentos vibracionais das ligações C-N aparecem em 1180 cm^{-1} , os quais podem ser atribuídos as estruturas das vitaminas B1 e B2 presentes no extrato. A alta solubilidade em água dos C-Dots é resultado desses diferentes grupos funcionais na superfície (LIU *et al.*, 2019).

Figura 13 - Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para os a) C-Dots_AC1-3, b) C-Dots_AR1-3 e c) C-Dots_AM1-3



Fonte: AUTORA, 2022.

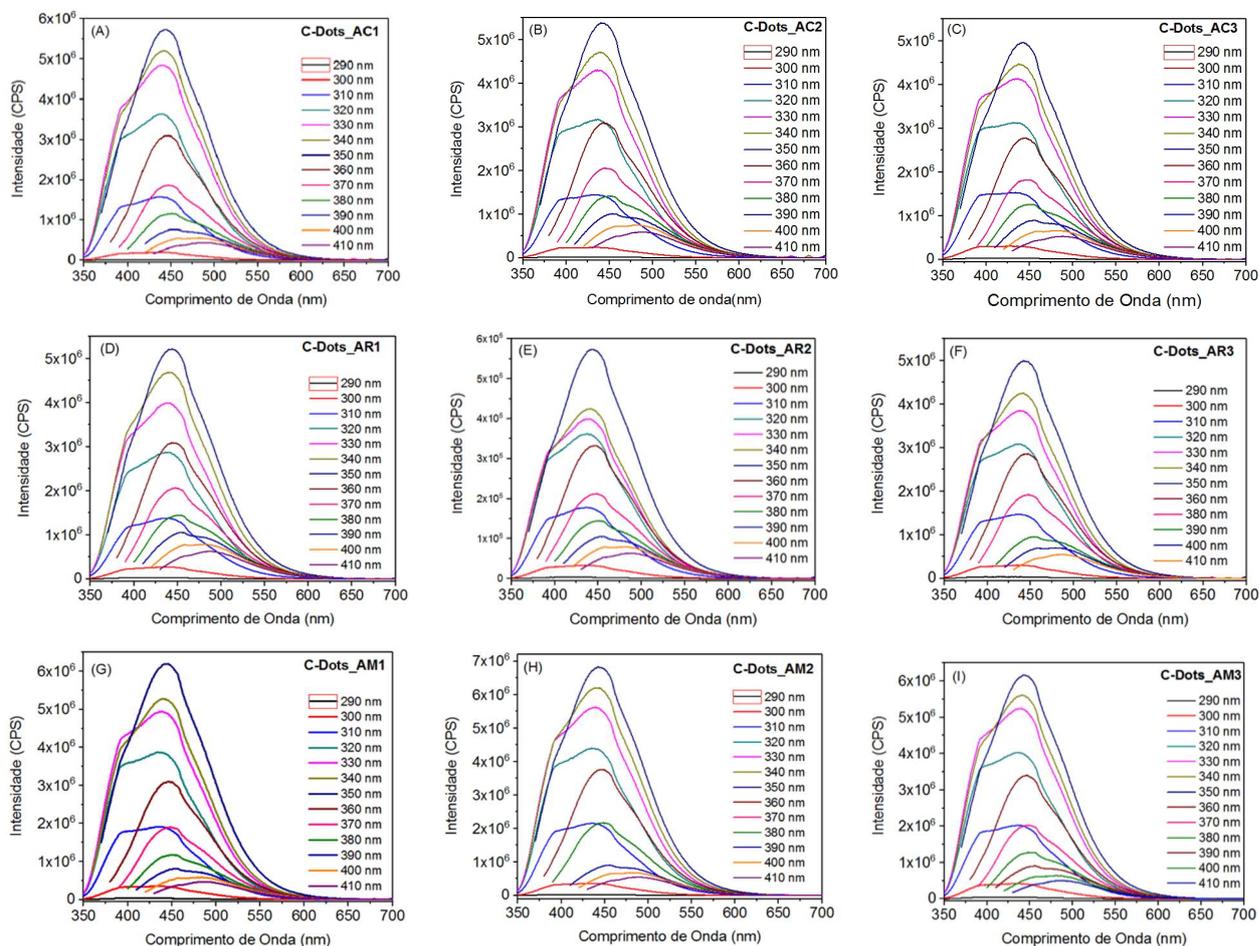
5.2 Propriedades fotofísicas dos *carbon dots*

Os espectros de emissão de fluorescência das nanopartículas foram registrados em diferentes comprimentos de onda de excitação, os quais variaram na faixa de 290 – 410 nm (**Figuras 14 A – I**). A emissão dos C-Dots apresentou um desvio para o vermelho à medida que o comprimento de onda de excitação aumentava de 290 para 410 nm. Este comportamento de fotoluminescência dependente da excitação é comum em *carbon dots* devido aos estados de superfície que afetam o *band gap* das nanopartículas (MONDAL *et al.*, 2016).

Ao analisar os espectros de emissão dos *carbon dots* de cada cidade (Maceió, Coruripe e Rio Largo), observou-se que os nanomateriais exibiram o mesmo perfil espectral com emissão máxima centrada em 445 nm (quando excitados em 350 nm). Esse perfil similar das bandas de emissão dos diferentes *carbon dots*, sugerem um comportamento similar quanto as propriedades ópticas dessas nanopartículas provenientes de diferentes cidades de Alagoas.

Embora a literatura reporte *carbon dots* que exibem emissão independente do comprimento de onda de excitação λ_{exc} (seguindo a regra de Kasha), o mecanismo de emissão dependente do λ_{exc} é ainda o fenômeno mais observado e melhor elucidado para *carbon dots* (LIU *et al.*, 2019). Esse comportamento tem sido reportado por alguns pesquisadores como uma função dos estados de superfície, os quais são associados a grupos funcionais (em muitos casos estados moleculares) como C=O, N-H, C=N e etc (DING *et al.*, 2017). Esses grupos de superfície podem introduzir diferentes níveis de energia nos *carbon dots* e promover a fluorescência com diferentes comprimentos de onda de emissão (λ_{em}). As propriedades luminescentes dos *carbon dots* relativas aos defeitos de superfície, confinamento quântico, grau de oxidação e/ou mudança composicional, são os mecanismos mais comuns associados a emissão de *carbon dots* derivados de limão. DING *et al.*, 2017 relataram uma síntese de *carbon dots* com emissão no vermelho utilizando suco de limão na presença de diferentes quantidades de etanol. A emissão no vermelho foi atribuída ao aumento de nitrogênio na estrutura das nanopartículas, o qual foi induzido pela presença de etanol. Adicionalmente, o efeito de confinamento quântico foi descartado, uma vez que os tamanhos dos *carbon dots* permaneciam praticamente inalterados frente as modificações composicionais. Entretanto, no trabalho reportado por HOAN *et al.*, 2019, a emissão com deslocamento para o vermelho e dependente do λ_{exc} foi atribuída ao efeito de confinamento quântico. Neste caso, as nanopartículas aumentavam de tamanho mediante o aumento da temperatura de síntese, e exibiam emissão em comprimento de onda mais longos.

Figura 14 - Espectros emissão dos para os (A) C-Dots_AC1, (B) C-Dots_AC2, (C) C-Dots_AC3, (D) C-Dots_AR1, (E) C-Dots_AR2 (F) C-Dots_AR3, (G) C-Dots_AM1, (H) C-Dots_AM2 e (I) C-Dots_AM3 excitados numa faixa de 290-410 nm



Fonte: AUTORA, 2022.

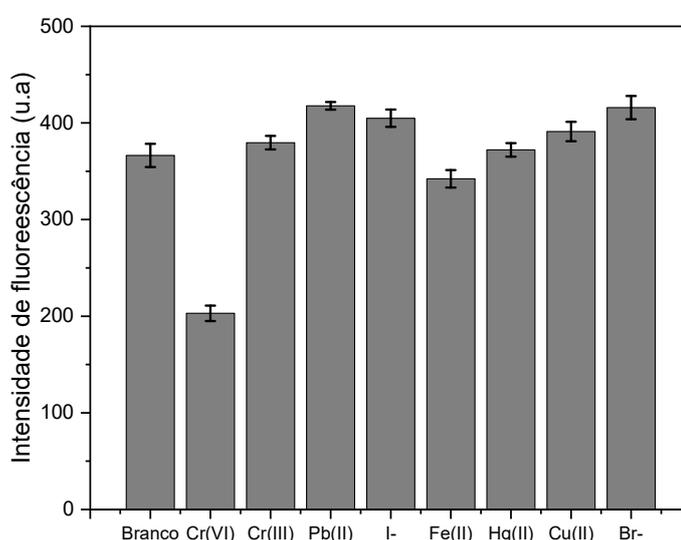
5.3 Aplicações dos *carbon dots*

Os carbon dots foram utilizados para fins de estudos na detecção de íons metálicos. Uma vez que os C-Dots_AC, C-Dots_AR e C-Dots_AM, em estudos prévios (APÊNDICE, Fig.S1) apresentaram comportamentos similares de sensibilidade, foi escolhida a cidade de Maceió para a realização de ensaios mais detalhados para detecção de Cr (VI), para tal, a nomenclatura para esse *carbon dot* será Cdot_L.

À vista disso, foi realizado o experimento de sensibilidade dos *carbon dots*, para avaliar os espectros de fluorescência de diferentes íons metálicos em solução, sendo esses: Cu(II), Cr(VI), Cr(III), Fe(III), Pb(II), I⁻, Hg(II) e Br⁻ preparados em condições idênticas (pH = 7,0, 25°C e concentração de 4 mg/L). As soluções foram excitadas em 350 nm, e a intensidade

de emissão máxima centrada em 445 nm, foi monitorada quanto a presença dos íons metálicos em relação a amostra de referência (Branco). Os resultados (**Fig. 15**) indicaram que os Cdot_L exibiram uma supressão de fluorescência mais significativa para o cromo (VI), o qual tem sua concentração controlada em diversos compartimentos aquáticos (incluindo água potável) por ser potencialmente tóxico e cancerígeno (THYAGI et al., 2016). Sendo assim, por apresentar boa seletividade específica para Cr(VI), esse é o íon metálico que será estudado nesse trabalho.

Figura 15: Intensidade de fluorescência para os Cdot_L com diferentes íons metálicos (4 mg/L, $\lambda_{exc} = 350$ nm).



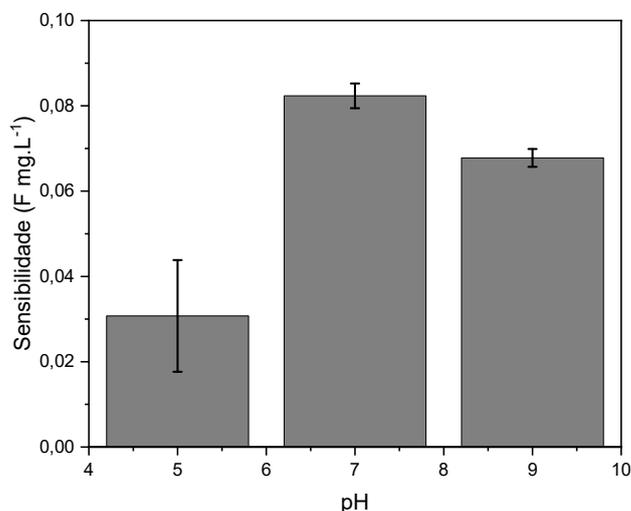
Fonte: AUTORA, 2022.

5.4 Otimização dos parâmetros analíticos

5.4.1 Efeito do pH

Analisar o efeito do pH no meio é importante para otimizar os parâmetros analíticos, uma vez que pode influenciar na intensidade de fluorescência. Sendo assim, o tampão *Britton-Robinson* (pH = 5,7 e 9) foi utilizado a fim de verificar qual pH tinha a melhor resposta frente a interação *carbon dot* + Cr (VI). Dessa forma, após tratamento dos dados, os valores de coeficiente angular (sensibilidade analítica) foram usados como parâmetros nessa avaliação (**Figura 16**).

Figura 16 - Sensibilidade analítica (*slope*) dos *carbon dots* em pH 5, 7 e 9. Tampão Britton-Robinson 50 mM, *slit* 3 e 3.



Fonte: AUTORA, 2022.

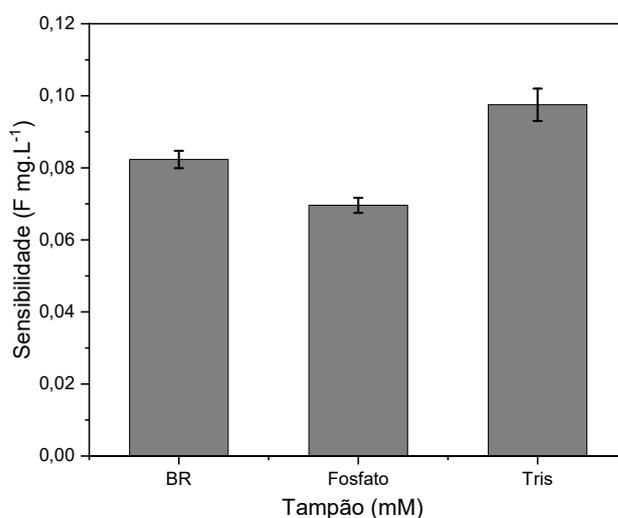
De acordo com os resultados, percebeu-se que a maior variação de sinal ocorreu em pH 7,0. Assim sendo, sabe-se que o efeito do pH depende dos grupos funcionais presentes na superfície do sensor, bem como da distribuição das espécies de Cr (VI) em solução. Conforme descrito por Chen et al., 2015 em meio alcalino, o Cr(VI) apresenta-se no equilíbrio: $2\text{CrO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 2\text{H}_2\text{O}$. Já em meio ácido, o Cr (VI) está predominantemente como dicromato, então tem menos eficiência de *quenching* quando comparado com o cromato, na interação com o sensor. Conseqüentemente, o Cr (VI) na forma de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ não teria tanta eficiência na diminuição da fluorescência em meio mais ácido. Além disso, em meio alcalino, os grupos oxigenados presentes no sensor estão desprotonados, isso implica no aumento de cargas negativas na superfície do *carbon dot*, logo, desfavorece a interação entre a sonda e o cromato carregado negativamente, e portanto, o *quenching* não seria significativo ao aumentar o pH do meio.

5.4.2 Tipo e concentração do tampão utilizado

Após selecionado o pH 7, uma vez que teve a maior sensibilidade (*Slope*), fez-se necessário analisar a influência do melhor sistema tampão na determinação do cromo hexavalente. Os tampões Britton Robinson, fosfato e tris foram analisados para avaliar a

influência de suas composições na resposta analítica (**Fig. 17**). O tampão tris apresentou maior sensibilidade quando comparado com os outros sistemas avaliados. Isso porque o tris em pH 7, está carregado com uma carga positiva, fazendo com que haja uma melhor interação com o Cr (VI). Por outro lado, o fosfato e Britton-Robinson, estão carregados negativamente.

Figura 17 - Sensibilidade analítica (*slope*) do Cdot_L com a adição do Cr (VI) em diferentes sistemas tampão. Condições: pH 7, janela espectral (*slit, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$*) de 3/3 nm com excitação em 350 nm

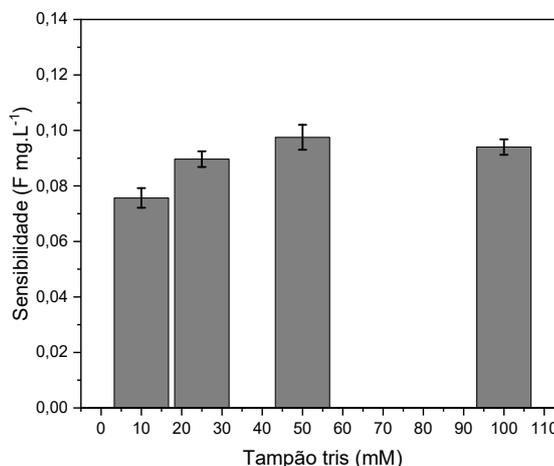


Fonte: AUTORA, 2022.

5.4.3 Efeito da concentração do sistema tampão

Uma vez que foi selecionado o sistema tampão, fez-se necessário analisar a melhor concentração (10, 30, 50 e 100 mM) do meio na resposta analítica (**Fig.18**), em que se observou que em 50 mM houve uma maior sensibilidade. Embora nas concentrações 50 e 100 mM os resultados tenham sido próximos, foi escolhida a concentração de 50 mM em virtude de se obter um melhor efeito tamponante nos ensaios.

Figura 18 - Variação da sensibilidade analítica (*slope*) do C-dot com relação a adição de Cr (VI) em diferentes concentrações de tampão tris em pH 7. Condições: janela espectral (*slit*, $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$) de 3 / 3 nm com excitação em 350 nm.

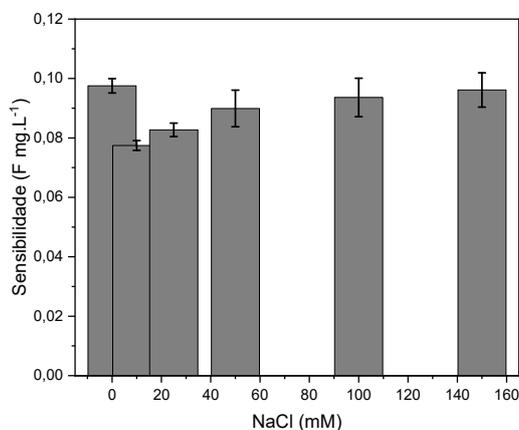


Fonte: AUTORA, 2022.

5.4.4 Avaliação da força iônica

A avaliação da estabilidade dos Cdot_L na presença de Cr(VI) em ambientes altamente iônicos foi analisada. Para tanto, variou-se a concentração de NaCl (0-150 mM) no meio. Dessa forma, conforme mostrado na **Fig. 19**, em concentrações menores do sal ocorreu uma pequena redução da sensibilidade na intensidade dos Cdot_L, contudo, após 50 mM, observa-se que houve uma estabilização, sugerindo assim, a alta estabilidade luminescente dos Cdot_L + Cr(VI), mesmo em um ambiente salino.

Figura 19 - Sensibilidade analítica para Cr (VI) com o aumento da força iônica. Condições: janela espectral (*slit*, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) de 3/3 nm com excitação em 350 nm.

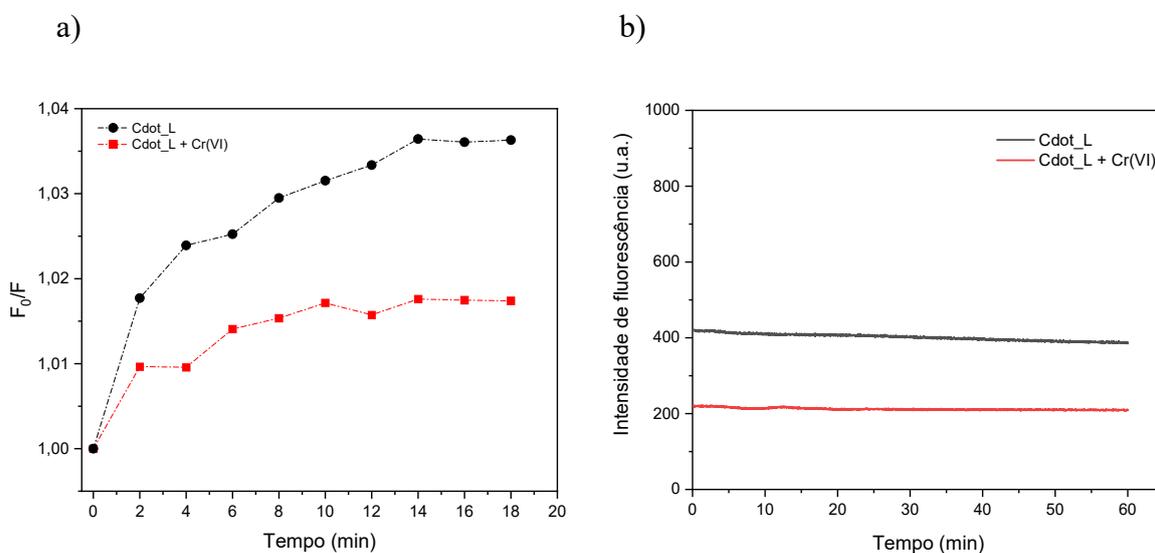


Fonte: AUTORA, 2022.

5.4.5 Cinética reacional e estudo da fotoestabilidade

Nessa etapa, se monitorou a intensidade de fluorescência do Cdot_L na ausência e na presença de Cr (VI) (10 mg L^{-1}) ao longo do tempo **Fig. 20 (a)**. Conforme pode ser observado, o Cdot_L se estabiliza no sistema avaliado após cerca de 20 min de reação. Assim, durante o processo de análise o tempo mínimo antes das medidas foi fixado em 20 min, para os Cdot_L e na presença de Cr (VI). Ademais, a fotoestabilidade do Cdot_L foi demonstrada através de exposição contínua à radiação eletromagnética ($\lambda_{\text{ex}} = 350\text{nm}$). A intensidade de fluorescência se manteve estável durante o período de 60min **Fig. 20 (b)**, revelando uma boa fotoestabilidade dentro das condições em que foi avaliada.

Figura 20 - Avaliação da intensidade de fluorescência do Cdot_L puro e com Cr (VI) a) diferentes períodos de tempo e b) sob radiação constante. Condições: pH 7, Tampão Tris 50 mM, janela espectral (*slit*, $\lambda_{\text{ex}} / \lambda_{\text{em}}$) de 3/ 3 nm com excitação em 350 nm.



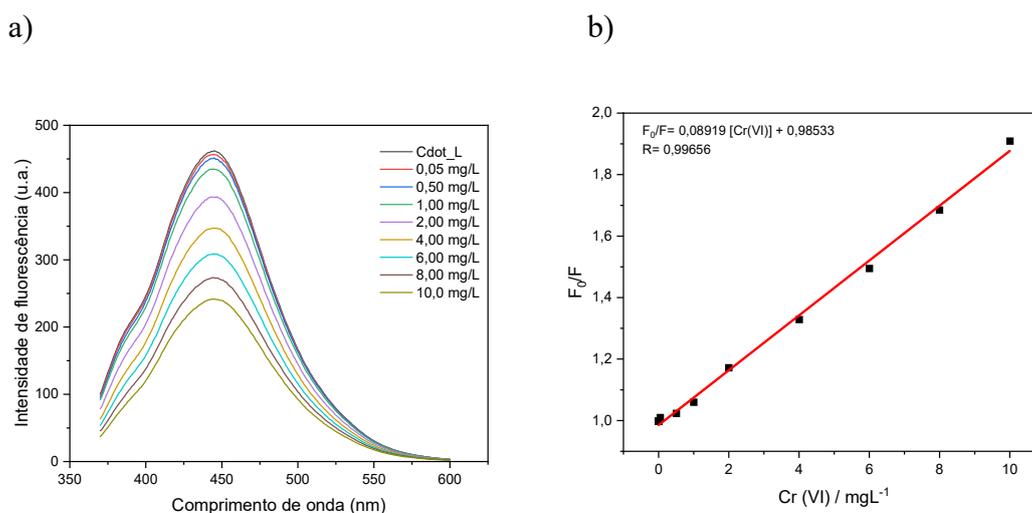
Fonte: AUTORA, 2022.

5.4.6 Figuras de mérito do método proposto

De acordo com os parâmetros otimizados foi possível estabelecer uma curva analítica para a determinação da espécie de cromo hexavalente. Observou-se no espectro da **Figura 21**

(a) que a intensidade de fluorescência dos *carbon dots* diminui à medida que vai aumentando a concentração de Cr (VI). O método proposto apresentou faixa linear de 0,05 a 10 mg/L⁻¹, correspondente a equação $[F_0/F] = 0,008919 [Cr(VI)] + 0,9853$ com coeficiente de correlação linear $r = 0,99656$ (Figura 21 (b)).

Figura 21 - Sinal de fluorescência do *C-dot* a) espectro de emissão e b) curva analítica para quantificação de cromo hexavalente. Condições: pH 7, Tampão Tris 50 mM, janela espectral (slit, $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$) de 3/ 3 nm com excitação em 350 nm.

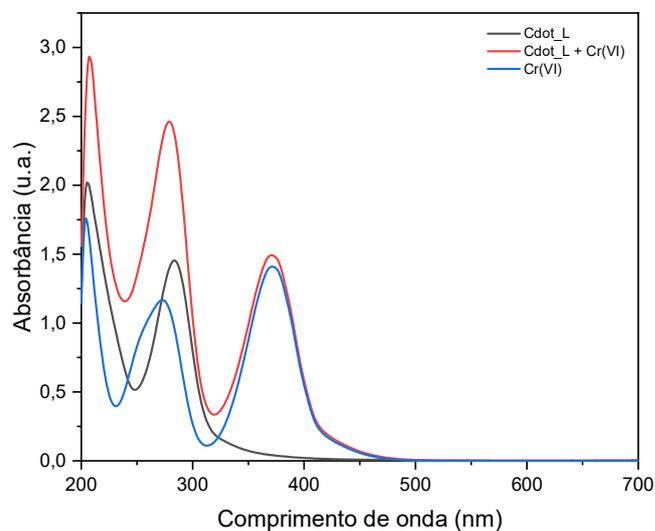


Fonte: AUTORA, 2022.

5.5 Mecanismo de Interação do *carbon dot* com o Cr(VI)

O mecanismo de interação do Cdot_L com o Cr(VI) foi analisado, avaliando o perfil dos espectros de absorção do Cdot_L, Cdot_L + Cr(VI) e o espectro só do Cr(VI). De acordo com a Figura 22, o espectro de UV-VIS do Cr(VI) em pH 7 apresenta bandas em 260 e 380nm. O Cdot_L apresenta bandas de absorção em 230 e 280nm, já o Cdot_L na presença de Cr(VI) apresentou bandas em 270 e 380 nm, em que observa-se um desvio para o vermelho. Dessa forma, os resultados indicam que há sobreposição espectral entre o espectro de absorção do Cr(VI) e os espectros dos *carbon dots*, sugerindo que houve a formação de complexos. Desse modo, o Cr(VI) blindava uma parte da radiação para a excitação dos *carbon dots*, ocorrendo uma mudança na intensidade de fluorescência, e conseqüentemente, levando a um IFE (BU et al., 2016).

Figura 22 - Espectro de absorção do Cdot_L, Cdot_L + Cr(VI) (15 mg.L⁻¹) e só Cr(VI) (15 mg.L⁻¹).

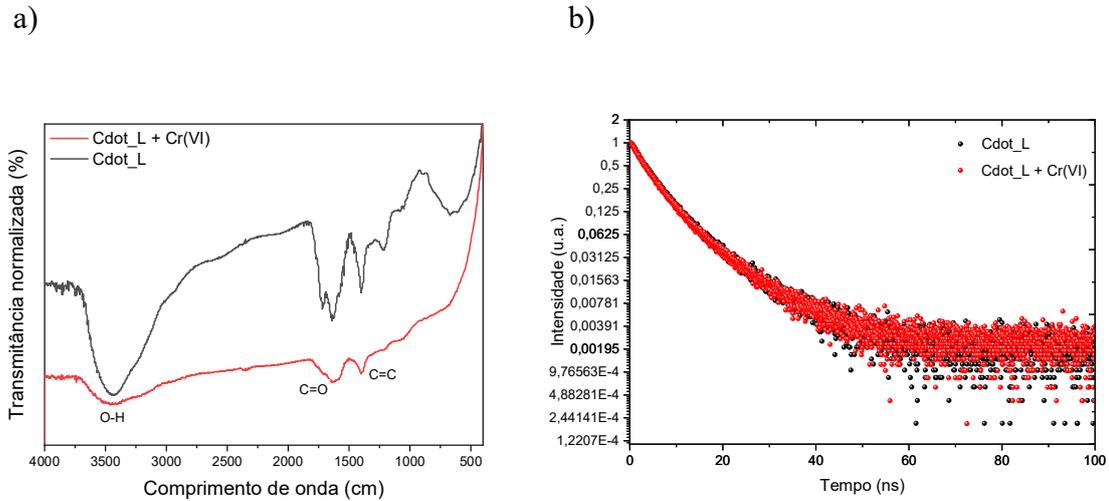


Fonte: AUTORA, 2022.

O FTIR e o tempo de vida foram usados como parâmetros para investigar melhor o mecanismo de extinção de fluorescência dos *carbon dots*. Como pode ser mostrado na **Fig. 23 (a)** o pico largo centrado em 3750 cm⁻¹ representa a existência de alongamento O-H e vibrações de estiramento N-H de grupos aminas. Em 1712 cm⁻¹ observa-se estiramentos C=O e em 1391cm⁻¹ a banda característica das vibrações C=C. Contudo, com a adição de Cr(VI), as intensidades de proporção das bandas diminuí gradualmente, sugerindo que a extinção da fluorescência foi atribuída à interação de ligações Cr(VI) e dos grupos oxigenados na superfície dos Cdot_L (BU *et al.*, 2016).

A **Figura 23 (b)** mostra que o Cr(VI) não apresentou alteração significativa do tempo de vida de fluorescência da sonda, dessa forma, pode-se inferir que o Cr(VI) dificilmente pode alterar o tempo de vida do estado excitado, então sugere-se que o mecanismo de extinção de fluorescência pertence ao processo de *quenching* estático. O tempo de vida médio de fluorescência calculado do Cdot_L e Cdot_L + Cr(VI) a 10 mg/L foi de 5,57 e 5,48 ns, respectivamente, no comprimento de onda de excitação de 350 nm.

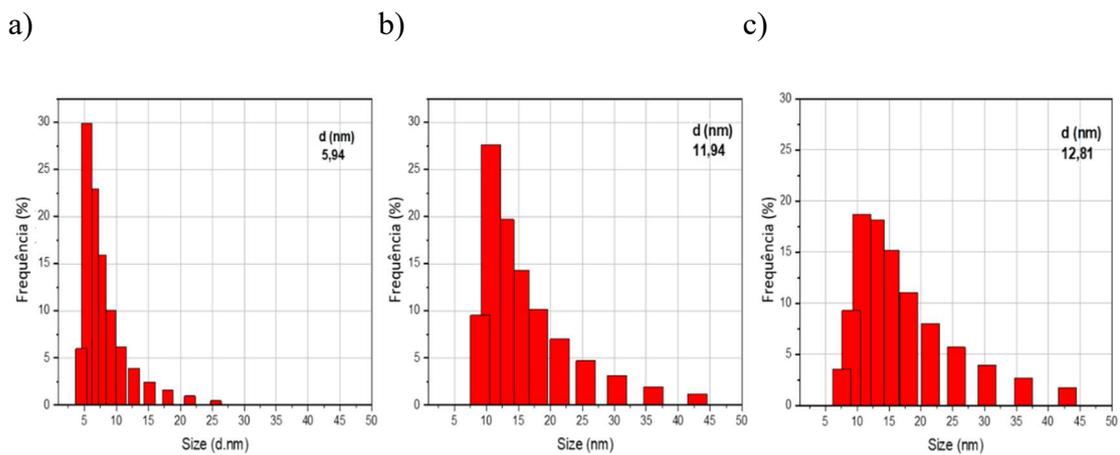
Figura 23 - (a) Espectros de FTIR e (b) tempo de vida



Fonte: AUTORA, 2022.

A Fig. 24 mostra os histogramas medido pelo espalhamento dinâmico de luz dinâmica (DLS), em que o Cdot_L apresentou frequência máxima de tamanho de 5,94 nm (Fig. 24 (a)), e os Cdot_L na presença de Cr(VI) apresentaram valores de 11,94 nm (4 mg/L⁻¹) e 12,81 nm (10 mg/L⁻¹) (Fig. 24 (b-c)) sugerindo que não houve efeito de agregação significativa, logo o mecanismo por agregação parece não ser predominante nesse estudo.

Figura 24 - Histogramas medidos pelo DLS do Cdot_L, Cdot_L + Cr(VI) a 4 mg/L⁻¹ e Cdot_L + Cr(VI) a 10 mg/L⁻¹.



Fonte: AUTORA, 2022.

6 CONCLUSÃO

A síntese via hidrotermal utilizando limão taiti de diferentes cidades de Alagoas como precursor carbonáceo se mostrou eficiente, uma vez que foram produzidos *carbon dots* com intensa luminescência, além de uma emissão no azul dependente do comprimento de onda de excitação. Ademais, todos os *carbon dots* tiveram tamanhos médios inferiores a 10nm, absorções características de transições $\pi - \pi^*$ (230 nm) e $n - \pi^*$ (286 nm) e estiramentos vibracionais de grupos oxigenados e aminas.

Foi otimizado diante dos parâmetros físico-químicos o método empregando os *carbon dots* como sensor fluorescente para detecção de Cr(VI), em que as condições foram tampão tris em pH 7 a 50mM. Além disso, observou-se que a força iônica não interfere no método. A cinética reacional para a realização das análises foi de 20 min para estabilização e sob radiação constante foi possível monitorar a fotoestabilidade por 60 min. Nesse contexto, nas condições otimizadas, o sistema apresentou uma faixa linear de 0,05 a 10,0 mg L⁻¹. Ademais, foi verificado que o mecanismo de interação entre o Cdot_L e Cr(VI) está associado ao efeito de filtro interno e *queching* estático.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Diante do exposto, esse trabalho tem como perspectivas futuras a realização de:

- Experimentos para elucidar as figuras de mérito do método proposto (LOD e LOQ);
- Realizar testes de interferentes e recuperação em amostras reais (água de torneira e da lagoa Mundaú)
- Realizar ensaios de recuperação da sonda

8 REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, I. Exploitative Beneficial Effects of Citrus Fruits. Citrus. **Health Benefits and Production Technology**, 2019.
- ATHIKA, M., Prasath, A., Duraisamy, E., Sankar Devi, V., Selva Sharma, A., & Elumalai, P. Carbon-quantum Dots Derived from Denatured Milk for Efficient Chromium-ion Sensing and Supercapacitor Applications. **Materials Letters**, 2019.
- ATCHUDAN, R., Jebakumar Immanuel Edison, T. N., Shanmugam, M., Perumal, S., Somanathan, T., & Lee, Y. R. Sustainable synthesis of carbon quantum dots from banana peel waste using hydrothermal process for in vivo bioimaging. **Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures**, 114417, 2020.
- BAO, L., Zhang, Z.-L., Tian, Z.-Q., Zhang, L., Liu, C., Lin, Y., ... Pang, D.-W. Electrochemical Tuning of Luminescent Carbon Nanodots: From Preparation to Luminescence Mechanism. **Advanced Materials**, 23(48), 5801–5806, 2011.
- CARVALHO, J., Santos, L. R., Germino, J. C., Terezo, A. J., Moreto, J. A., Quites, F. J., & Freitas, R. G. Hydrothermal Synthesis to Water-stable Luminescent Carbon Dots from Acerola Fruit for Photoluminescent Composites Preparation and its Application as Sensors. **Materials Research**, 22(3), 2019.
- CHATZIMITAKOS, T., Kasouni, A., Sygellou, L., Avgeropoulos, A., Troganis, A., & Stalikas, C. Two of a kind but different: Luminescent carbon quantum dots from Citrus peels for iron and tartrazine sensing and cell imaging. **Talanta**, 175, 305–312, 2017.
- CHEN., Y., Yongqiang Dong, Huan Wu, Congqiang Chen, Yuwu Chi, Guonan Chen. Electrochemiluminescence sensor for hexavalent chromium based on the graphene quantum dots/peroxodisulfate system, **Electrochimica Acta**, 151, 552-557, 2015.
- CRISTA, D. M. A., El Mragui, A., Algarra, M., Esteves da Silva, J. C. G., Luque, R., & Pinto da Silva, L. Turning Spent Coffee Grounds into Sustainable Precursors for the Fabrication of Carbon Dots. **Nanomaterials**, 10(6), 1209, 2020.
- D., P., Singh, L., Thakur, A., & Kumar, P. Green Synthesis of Glowing Carbon Dots from Carica papaya Waste Pulp and Their Application as a Label-free Chemo probe for Chromium Detection in Water. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 2018.
- DAI, B., Wu, C., Lu, Y., Deng, D., & Xu, S. Synthesis and formation mechanism of s-doped carbon dots from low-molecule-weight organics. **Journal of Luminescence**, 190, 108–114, 2017.
- DASTIDAR, D. G., Mukherjee, P., Ghosh, D., & Banerjee, D. Carbon Quantum Dots Prepared from Onion Extract as Fluorescence Turn-On Probes for Selective Estimation of Zn²⁺ in Blood Plasma. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 125781, 2020.
- 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**, 10(1), 484–491, 2015.
- 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**, 5(26), 5272–5277, 2017.
- ESSNER, J. B., Kist, J. A., Polo-Parada, L., & Baker, G. A. Artifacts and Errors Associated with the Ubiquitous Presence of Fluorescent Impurities in Carbon Nanodots. **Chemistry of Materials**, 30(6), 1878–1887, 2018.
- GUO, Y., Zhang, L., Cao, F., & Leng, Y. Thermal treatment of hair for the synthesis of sustainable carbon quantum dots and the applications for sensing Hg²⁺. **Scientific Reports**, 6(1), 2016.
- HE, M., Zhang, J., Wang, H., Kong, Y., Xiao, Y., & Xu, W. Material and Optical Properties of Fluorescent Carbon Quantum Dots Fabricated from Lemon Juice via Hydrothermal Reaction. **Nanoscale Research Letters**, 13(1), 2018.

- HOAN, B. T., Tam, P. D., & Pham, V.-H. Green Synthesis of Highly Luminescent Carbon Quantum Dots from Lemon Juice. **Journal of Nanotechnology**, 1–9, 2019.
- HSU, P.-C., Shih, Z.-Y., Lee, C.-H., & Chang, H.-T. Synthesis and analytical applications of photoluminescent carbon nanodots. **Green Chemistry**, 14(4), 917, 2012.
- HUANG, Q., Bao, Q., Wu, C., Hu, M., Chen, Y., Wang, L., & Chen, W. Carbon dots derived from Poria cocos polysaccharide as an effective “on-off” fluorescence sensor for chromium (VI) detection. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 2021.
- JUN-FEI, Z., & Shi-Li, L. Sensors for detection of Cr(VI) in water: a review. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 1–23, 2019.
- LIU, M. L., Yang, L., Li, R. S., Chen, B. B., Liu, H., & Huang, C. Z. Large-scale simultaneous synthesis of highly photoluminescent green amorphous carbon nanodots and yellow crystalline graphene quantum dots at room temperature. **Green Chemistry**, 19(15), 3611–3617, 2017.
- LIU, S., Tian, J., Wang, L., Zhang, Y., Qin, X., Luo, Y., ... Sun, X. Hydrothermal Treatment of Grass: A Low-Cost, Green Route to Nitrogen-Doped, Carbon-Rich, Photoluminescent Polymer Nanodots as an Effective Fluorescent Sensing Platform for Label-Free Detection of Cu(II) Ions. **Advanced Materials**, 24(15), 2037–2041, 2012.
- LIU, M. L., Chen, B. B., Li, C. M., & Huang, C. Z. Carbon dots: synthesis, formation mechanism, fluorescence origin and sensing applications. **Green Chemistry**, 2019.
- LOU, Y., Hao, X., Liao, L., Zhang, K., Chen, S., Li, Z., ... Li, Z. Recent advances of biomass carbon dots on syntheses, characterization, luminescence mechanism, and sensing applications. **Nano Select**, 2(6), 1117–1145, 2021.
- MEILING, T. T., Cywiński, P. J., & Bald, I. White carbon: Fluorescent carbon nanoparticles with tunable quantum yield in a reproducible green synthesis. **Scientific Reports**, 6(1), 2016.
- PRAMANIK, S., Chatterjee, S., Suresh Kumar, G., & Sujatha Devi, P. Egg-shell derived carbon dots for base pair selective DNA binding and recognition. **Physical Chemistry Chemical Physics**, 20(31), 20476–20488, 2018.
- PRAMANIK, A., Biswas, S., & Kumbhakar, P. Solvatochromism in highly luminescent environmental friendly carbon quantum dots for sensing applications: Conversion of bio-waste into bio-asset. **Spectrochimic. Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 191, 498–512, 2018.
- PRASANNAN, A., & Imae, T. One-Pot Synthesis of Fluorescent Carbon Dots from Orange Waste Peels. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 52(44), 15673–15678, 2013.
- RAFIQ, S., Kaul, R., Sofi, S. A., Bashir, N., Nazir, F., & Ahmad Nayik, G. Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2016.
- KIM, S., Hwang, S. W., Kim, M.-K., Shin, D. Y., Shin, D. H., Kim, C. O., ... Hong, B. H. Anomalous Behaviors of Visible Luminescence from Graphene Quantum Dots: Interplay between Size and Shape. **ACS Nano**, 6(9), 8203–8208, 2012.
- SACHDEV, A., & Gopinath, P. Síntese verde de pontos multifuncionais de carbono de folhas de coentro e sua potencial aplicação como antioxidantes, sensores e agentes de bioimagem. **The Analyst**, 140 (12), 4260–4269, 2015.
- SCHNEIDER, J., Reckmeier, C. J., Xiong, Y., von Seckendorff, M., Sussha, A. S., Kasák, P., & Rogach, A. L. Molecular Fluorescence in Citric Acid-Based Carbon Dots. **The Journal of Physical Chemistry C**, 121(3), 2014–2022, 2017.
- SHARMA, A., & Das, J. Small molecules derived carbon dots: synthesis and applications in sensing, catalysis, imaging, and biomedicine. **Journal of Nanobiotechnology**, 17(1), 2019.
- SHARMA V, Tiwari P, Mobin SM. Sustainable carbon-dots: recent advances in green carbon dots for sensing and bioimaging. **J Mater Chem B**. 5(45), 8904–8924, 2017.

SHARMA N, Das GS, Yun K. Green synthesis of multipurpose carbon quantum dots from red cabbage and estimation of their antioxidant potential and bio-labeling activity. **Appl Microbiol Biotechnol**, 104(16), 7187-7200, 2020.

SONG, Z., Quan, F., Xu, Y., Liu, M., Cui, L., & Liu, J. Multifunctional N,S co-doped carbon quantum dots with pH- and thermo-dependent switchable fluorescent properties and highly selective detection of glutathione. **Carbon**, 104, 169–178, 2016.

SUN, Y.-P., Zhou, B., Lin, Y., Wang, W., Fernando, K. A. S., Pathak, P., Xie, S.-Y. Quantum-Sized Carbon Dots for Bright and Colorful Photoluminescence. **Journal of the American Chemical Society**, 128(24), 7756–7757, 2006.

SUN, Z., & Qu, D. (2019). The formation mechanism and fluorophores of carbon dots from the bottom-up route. **Materials Chemistry Frontiers**, 2019.

SUN, X., Liu, Y., Niu, N. et al. Síntese de sonda fluorescente de impressão molecular baseada em pontos quânticos de carbono derivados de biomassa para detecção de mesotriona. **Anal Bioanal Chem** 411, 5519-5530, 2019.

TADESSE, A., Hagos, M., RamaDevi, D., Basavaiah, K., & Belachew, N. Fluorescent-Nitrogen-Doped Carbon Quantum Dots Derived from Citrus Lemon Juice: Green Synthesis, Mercury(II) Ion Sensing, and Live Cell Imaging. **ACS Omega**, 2020.

TAI, D., Liu, C., & Liu, J. Facile synthesis of fluorescent carbon dots from shrimp shells and using the carbon dots to detect chromium(VI). **Spectroscopy Letters**, 1–6, 2019.

TEJWAN, N., Saha, S. K., & Das, J. Multifaceted applications of green carbon dots synthesized from renewable sources. **Advances in Colloid and Interface Science**, 102046, 2019.

V., R., Gujar, V., Pathan, H., Islam, S., Tawre, M., Pardesi, K., ... Ottoor, D. Bioimaging Applications of Carbon dots (C. dots) and its Cystamine Functionalization for the Sensitive Detection of Cr(VI) in Aqueous Samples. **Journal of Fluorescence**, 29(6), 1381–1392, 2019.

XU X, Ray R, Gu Y, Ploehn HJ, Gearheart L, Raker K, Scrivens WA. Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotube Fragments. **J Am Chem Soc.**, 126(40), 12736–12737, 2004.

WANG, M., Shi, R., Gao, M., Zhang, K., Deng, L., Fu, Q., ... Gao, D. Sensitivity fluorescent switching sensor for Cr (VI) and ascorbic acid detection based on orange peels-derived carbon dots modified with EDTA. **Food Chemistry**, 318, 126506, 2020.

WANG, S., Niu, H., He, S., & Cai, Y. One-step fabrication of high quantum yield sulfur- and nitrogen-doped carbon dots for sensitive and selective detection of Cr(vi). **RSC Advances**, 6(109),107717–107722, 2016.

YAN, F., Sun, Z., Zhang, H., Sun, X., Jiang, Y., & Bai, Z. The fluorescence mechanism of carbon dots, and methods for tuning their emission color: a review. **Microchimica Acta**, 186(8), 2019.

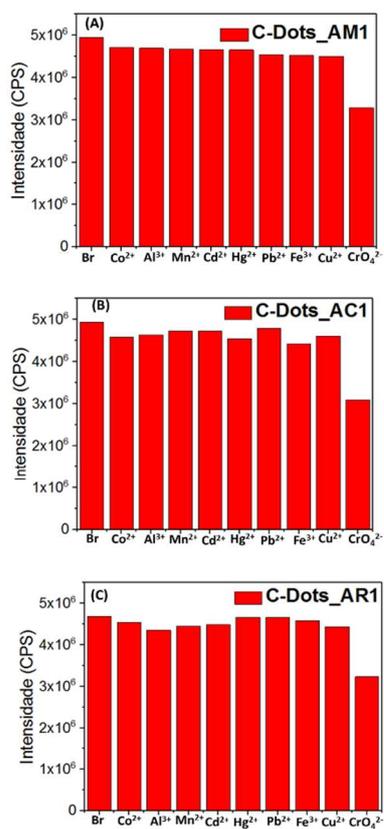
YIN, B., Deng, J., Peng, X., Long, Q., Zhao, J., Lu, Q., ... Yao, S. Green synthesis of carbon dots with down- and up-conversion fluorescent properties for sensitive detection of hypochlorite with a dual-readout assay. **The Analyst**, 138(21), 6551, 2013.

ZHANG, Y., Yuan, R., He, M., Hu, G., Jiang, J., Xu, T., ... Liang, X. Multicolour nitrogen-doped carbon dots: tunable photoluminescence and sandwich fluorescent glass-based light-emitting diodes. **Nanoscale**, 9(45), 17849–17858, 2017.

ZHANG, J., Yuan, Y., Liang, G., & Yu, S.-H. Scale-Up Synthesis of Fragrant Nitrogen-Doped Carbon Dots from Bee Pollens for Bioimaging and Catalysis. **Advanced Science**, 2(4), 1500002, 2015.

9 APÊNDICE

Figura S1 - Intensidade de fluorescência para os (A) C-Dots_AM1, (B) C-Dots_AC1 e (C) C-Dots_AR1 com diferentes íons metálicos 300 μM ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$).



Fonte: AUTORA, 2022.