



**ISEL**

INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

# **Valorização de Borrás de Café na Obtenção de Nanopontos de Carbono Luminescentes: Síntese Sustentável, Caracterização e Aplicações**

**BIANCA MORAES**

(Licenciada em Engenharia Química e Biológica)

Trabalho Final de Mestrado para obtenção do  
Grau de Mestre em Engenharia Química e Biológica

Orientadores:

Professora Doutora Alexandra Isabel Costa

Professora Doutora Patrícia Miranda David Barata

Júri:

Presidente: Professor Doutor José Augusto Paixão Coelho

Vogais: Professora Doutora Alexandra Isabel Costa

Professora Doutora Luísa Margarida D. R. S. Martins

Professor Doutor Ruben A. Elvas Leitão



**INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA**

**Departamento de Engenharia Química**

**Valorização de Borrás de Café na Obtenção de  
Nanopontos de Carbono Luminescentes: Síntese  
Sustentável, Caracterização e Aplicações**

**BIANCA MORAES**

(Licenciada em Engenharia Química e Biológica)

Trabalho final de Mestrado para obtenção do  
Grau de Mestre em Engenharia Química e Biológica

Orientadores:

Professora Doutora Alexandra Isabel Costa  
Professora Doutora Patrícia Miranda David Barata

Júri:

Presidente: Professor Doutor José Augusto Paixão Coelho  
Vogais: Professora Doutora Alexandra Isabel Costa  
Professora Doutora Luísa Margarida D. R. S. Martins  
Professor Doutor Ruben A. Elvas Leitão

**Junho de 2022**



---

## **Agradecimentos**

A Professora Doutora Alexandra Costa, orientadora deste trabalho, pela oportunidade que me deu ainda na Licenciatura em desenvolver o projeto de investigação que resultou nesta dissertação de Mestrado, por todo o conhecimento transmitido, pela disponibilidade, dedicação e apoio constante.

A Professora Doutora Patrícia Barata, orientadora deste trabalho, por todo o apoio desde a Licenciatura e auxílio fundamental nesta dissertação com sua disponibilidade, dedicação e conhecimentos.

Ao Professor Doutor José Prata, pela oportunidade dada em desenvolver este trabalho de investigação, por me apoiar e transmitir seus conhecimentos.

Aos meus pais, Rosane Andrades e José Alberto Moraes, pelo apoio que me deram durante toda a minha trajetória, por me proporcionarem a educação que tenho, pelo suporte, carinho, orgulho e dedicação.

Ao meu namorado, Nathan Demoliner, pelo apoio e motivação diária, por me incentivar e inspirar a fazer mais e melhor, e por ser amparo nos dias de cansaço e insucesso.

Aos meus colegas de laboratório, Diogo Sousa, Sérgio Costa e Hani Cavalcante pela ajuda que me deram durante o desenvolvimento dessa tese e por compartilharem o vosso conhecimento.

Aos meus amigos e colegas de ensino por serem compreensivos com a minha ausência e por me apoiarem e incentivarem. Em especial ao Ailton Gonçalves, colega de trabalho na monitoria, por compartilhar desta trajetória me dando suporte e motivação.



---

## Resumo

A presente dissertação apresenta a síntese de nanopontos de carbono (NPsC) luminescentes a partir de borras de café (BsC) com origens distintas, recolhidas em máquinas industriais de cafetarias e de venda automática, através de métodos sustentáveis envolvendo a carbonização hidrotérmica com aquecimento convencional em reator de alta-pressão e por irradiação assistida por microondas.

Os produtos obtidos foram purificados por filtração e extração líquido-líquido e as suas propriedades fotofísicas foram analisadas por Espectroscopia de Absorção de Estado Fundamental (UV-Vis) e Espectroscopia de Fluorescência de Estado Estacionário. A caracterização estrutural dos NPsC foi realizada com recurso a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e sempre que se justificou, por Ressonância Magnética Nuclear de Protão e Análise Elementar.

Os NPsC que apresentaram rendimentos quânticos de fluorescência adequados foram testados como sensores fluorescentes de poluentes ambientais (e.g. nitroanilinas isoméricas; NAs), metais pesados (e.g. Cu(II), Fe(II), Fe(III), Cd(II), Pb(II), Hg(II), Ni(II) e Cr(VI)) e nitroaromáticos precursores de explosivos ((e.g. 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), 2,4-dinitrotolueno (DNT) e ácido pícrico (AP)). Recorrendo ao formalismo de Stern-Volmer, os NPsC sintetizados revelaram sensibilidade e seletividade na deteção de *p*-NA, crómio (VI) e AP.

**Palavras-chave:** Nanopontos de carbono (NPsC) luminescentes, borras de café, poluentes, metais pesados, explosivos, valorização de resíduo.



---

## Abstract

The present work reports the synthesis of luminescent carbon nanodots (CNDs) prepared from spent coffee grounds (SCGs) with distinct origins, collected from industrial coffee shops and vending machines, through sustainable methods, involving hydrothermal carbonization with conventional heating in a high-pressure reactor and by microwave-assisted irradiation.

The obtained products were purified by filtration and liquid-liquid extraction and their photophysical properties were analyzed by ground state absorption spectroscopy (UV-Vis) and steady-state fluorescence. Structural characterization of the CNDs was performed using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and, whenever justified, by Proton Nuclear Magnetic Resonance and Elemental Analysis.

CNDs that showed adequate fluorescence quantum yields were tested as fluorescent sensors for environmental pollutants (*e.g.* isomeric nitroanilines; NAs), heavy metals (*e.g.* Cu(II), Fe(II), Fe(III), Cd(II), Pb(II), Hg(II), Ni(II) and Cr(VI)) and nitroaromatic explosives precursors (*e.g.* 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), 2,4-dinitrotoluene (DNT) and picric acid (PA)). Using Stern-Volmer formalism', the synthesized CNDs showed sensitivity and selectivity in the detection of *p*-NA, chromium (IV) and PA.

**Keywords:** Luminescent carbon nanodots (CNDs), spent coffee grounds (SCGs) pollutants, heavy metals, explosives, waste recovery.



---

## Divulgação Científica

No âmbito desta dissertação resultaram as seguintes comunicações e publicações:

### Publicações

- Costa, A. I., Barata, P. D., Moraes, B., Prata, J. V., “*Carbon Dots from Coffee Grounds: Synthesis, Characterization, and Detection of Noxious Nitroanilines*”. *Chemosensors*, **2022**, *10*, 113. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10030113>
- Moraes, B., Costa, A. I., Barata, P. D., Prata, J. V., “*Carbon Dots Synthesis from Coffee Grounds and Sensing of Nitroanilines*”. *Chemistry Proceedings*, **2021**. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-25-11777> (provisório).

### Comunicações em Conferências (Comunicações em painel)

- Moraes, B., Costa, A. I., Prata, J. V., “*Valorização de Borrás de Café na Síntese de Nanopontos de Carbono Fluorescentes*”, iFEQB - Fórum de Engenharia Química e Biológica, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, 7 a 9 de maio de 2019, Lisboa, Portugal.
- Moraes, B., Costa, A. I., Prata, J. V., “*Carbon Nanomaterials from Coffee Grounds of Vending Machines: Synthesis and Characterization*”, XXVI Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Química, 24 a 26 de julho de 2019, Porto, Portugal.
- Costa, A. I., Moraes, B., Prata, J. V., “*Coffee Grounds of Vending Machines: A Sustainable Route for Synthesis of Luminescent Carbon Nanomaterials*”, XXV Encontro Galego-Portugues de Química, 20 a 22 novembro 2019, Santiago de Compostela, Espanha.

- 
- Moraes, B., Costa, A. I., Barata, P. D., Prata, J. V., *“Processos Sustentáveis na Produção de Nanomateriais de Carbono Fluorescentes a partir de Borrás de Café”*, iFEQB - Fórum de Engenharia Química e Biológica, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, 11 a 13 de maio de 2021, Lisboa, Portugal.
  - Moraes, B., Costa, A. I., Barata, P. D., Prata, J. V., *“Coffee Grounds as a Valuable Source for Production of Fluorescent Carbon Nanomaterials for Nitroanilines Detection”*, XXVII Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Química, 14 a 16 de julho de 2021, Braga, Portugal.
  - Moraes, B., Costa, A. I., Barata, P. D., Prata, J. V., *“Carbon Dots from Coffee Grounds by a One-Pot-Microwave-Assisted Method”*, The 25th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC 25), 15 a 30 de novembro de 2021.

---

## Lista de Figuras

<b>Figura I.1</b> - Diferentes tipos de pontos de carbono. Adaptado de Xia et al. <sup>7</sup> .....	5
<b>Figura I.2</b> - Métodos de síntese dos PsC: top-down e bottom-up. Adaptado de Ross et al. <sup>14</sup> .....	6
<b>Figura I.3</b> - Modo de aquecimento convencional e por irradiação microondas. Adaptado de Nizamuddin et al. <sup>27</sup> .....	10
<b>Figura I.4</b> - Estrutura da Cafeína. ....	18
<b>Figura I.5</b> - Fruto do café com corte longitudinal. Adaptado de Verhagen. <sup>97</sup> .....	19
<b>Figura I.6</b> – Estruturas de polissacáridos presentes nas borras de café.....	22
<b>Figura I.7</b> - Estrutura de aminoácidos presentes nas borras de café.....	22
<b>Figura I.8</b> - Estrutura de lípidos presentes no café.....	23
<b>Figura II.1</b> - Espectros de FTIR das borras (B-MAC-1) e dos grãos de café (G-MAC-1) em pastilha de KBr. ....	36
<b>Figura II.2</b> - Espectros de FTIR das cinzas das borras (B-MAC-1) e dos grãos de café (G-MAC-1) em pastilha de KBr.....	37
<b>Figura II.3</b> - Espectros de FTIR do extrato aquoso das borras (B-MAC-1) e dos grãos (G-MAC-1) em pastilha de KBr.....	37
<b>Figura II.4</b> - Espectros de FTIR em pastilhas de KBr dos NPsC sintetizados por CHAC a diferentes temperaturas.....	39
<b>Figura II.5</b> - Espectros de FTIR em pastilhas de KBr dos NPsC sintetizados por CHAC com diferentes rácios mássicos ED/borras. ....	42
<b>Figura II.6</b> - Espectros de FTIR em pastilha de KBr das frações orgânicas e da dispersão aquosa. ....	48
<b>Figura II.7</b> - Espectros de absorção (cheio), excitação (tracejado) e de emissão (pontilhado) ( $\lambda_{exc} = 380$ nm) da dispersão aquosa de NPsC-B-MAC-1 e NPsC-B-MVA (0.1 mgmL <sup>-1</sup> ). ....	49
<b>Figura II.8</b> - NPsC em dispersão aquosa sob luz natural (A); NPsC em dispersão aquosa sob lâmpada UV ( $\lambda = 366$ nm) (B). ....	50
<b>Figura II.9</b> - Espectros de absorção (cheio), excitação (tracejado) e de emissão (pontilhado) ( $\lambda_{exc} = 380$ nm) da dispersão aquosa dos NPsC-B-MAC-1 e NPsC-B-MVA (0.1 mgmL <sup>-1</sup> ). ....	51

---

<b>Figura II.10</b> - Espetros de emissão da dispersão aquosa dos NPsC-B-MAC-1 (0.1 mgmL <sup>-1</sup> ) com excitação a diferentes comprimentos de onda (340 a 440 nm). .....	52
<b>Figura II.11</b> - Variação da intensidade de fluorescência ( $\lambda_{exc} = 380$ nm, monitorizado a 462 nm) da dispersão aquosa de NPsC (0.1 mgmL <sup>-1</sup> ) em função do pH.....	52
<b>Figura II.12</b> - Espectros de emissão de dispersão aquosa (0.1 mgmL <sup>-1</sup> ) de NPsC ( $\lambda_{em} = 461$ nm) obtidos por CHAC após 1 hora de irradiação contínua ( $\lambda_{exc} = 380$ nm). .	53
<b>Figura II.13</b> - Espectros de FTIR em pastilha de KBr dos NPsC-B-MAV-CHMO, NPsC-B-MAC-1-CHMO, NPsC-B-MVA-CHAC e NPsC-B-MAC-1-CHAC. ....	54
<b>Figura II.14</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H dos NPsC-B-MAC-1-CHAC, NPsC-B-MVA-CHMO, NPsC-B-MAC-1-CHMO em D <sub>2</sub> O a 25 °C. ....	55
<b>Figura II.15</b> - Estruturas das nitroanilinas isoméricas: o-nitroanilina, m-nitroanilina, p-nitroanilina. ....	58
<b>Figura II.16</b> - Espectros de emissão de dispersões aquosas dos NPsC-B-MAC-1-CHAC (0.01 mgmL <sup>-1</sup> ) na presença de quantidades crescentes de p-NA. Inset: Curva de Stern-Volmer. ....	59
<b>Figura II.17</b> - Espectros de emissão de dispersões aquosas dos NPsC-B-MAC-1-CHMO (0.01 mgmL <sup>-1</sup> ) na presença de quantidades crescentes de p-NA. Inset: Curva de Stern-Volmer. ....	60
<b>Figura II.18</b> - Espectros de RMN <sup>1</sup> H da titulação de p-NA (5 mM em D <sub>2</sub> O; A) com adições sucessivas de NPsC-B-MAC-1-CHAC (B a F) a 25 °C.....	61
<b>Figura II.19</b> - Variação do desvio químico dos prótons ArH da p-NA com o aumento da concentração de NPsC-B-MAC-1-CHAC. ....	62
<b>Figura II.20</b> - Espectros de emissão de dispersões aquosas dos NPsC-B-MAC-1-CHAC (0.01 mgmL <sup>-1</sup> ) na presença de quantidades crescentes de Cr(VI). Inset: Curva de Stern-Volmer. ....	64
<b>Figura II.21</b> - Estruturas do ácido pícrico (AP), 2,4-dinitrotolueno (DNT) e 2,4,6-trinitrotolueno (TNT). ....	65
<b>Figura II.22</b> - Espectros de emissão de dispersões aquosas de NPsC-B-MAC-1-CHAC (0.01 mgmL <sup>-1</sup> ) na presença de quantidades crescentes de AP. Inset: Curva de Stern-Volmer. ....	66

---

## Lista de Tabelas

<b>Tabela I.1</b> - Composição química do café. Adaptado de Belitz et al. <sup>91</sup> .....	18
<b>Tabela I.2</b> - Composição química da borra de café. Adaptado de Verhagen. <sup>97</sup> .....	21
<b>Tabela II.1</b> - Quantificação de sólidos totais do extrato aquoso. ....	28
<b>Tabela II.2</b> - Quantificação de açúcares totais. ....	29
<b>Tabela II.3</b> - Quantificação de flavonoides. ....	30
<b>Tabela II.4</b> - Quantificação de fenóis totais. ....	31
<b>Tabela II.5</b> - Quantificação de proteínas. ....	32
<b>Tabela II.6</b> - Quantificação de cinzas. ....	34
<b>Tabela II.7</b> - Quantificação de lípidos. ....	35
<b>Tabela II.8</b> - Efeito da temperatura no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC. <sup>1</sup> .....	39
<b>Tabela II.9</b> - Efeito do tempo de reação no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC. <sup>1</sup> .....	40
<b>Tabela II.10</b> - Efeito da natureza do aditivo no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC. <sup>1</sup> .....	40
<b>Tabela II.11</b> - Efeito da quantidade de ED no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC. <sup>1</sup> .....	41
<b>Tabela II.12</b> - Efeito da atmosfera de reação no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC. <sup>1</sup> .....	42
<b>Tabela II.13</b> - Efeito da origem da matéria-prima no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC. <sup>1</sup> .....	43
<b>Tabela II.14</b> - Efeito da temperatura no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO. <sup>1</sup> .....	44
<b>Tabela II.15</b> - Efeito do tempo de reação no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO. <sup>1</sup> .....	44
<b>Tabela II.16</b> - Efeito da natureza do aditivo no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO. <sup>1</sup> .....	45
<b>Tabela II.17</b> - Efeito da quantidade de aditivo no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO. <sup>1</sup> .....	45
<b>Tabela II.18</b> - Efeito do desarejamento no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO. <sup>1</sup> .....	46

---

<b>Tabela II.19</b> - Efeito da origem da matéria-prima no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO. <sup>1</sup> .....	46
<b>Tabela II.20</b> - Efeito do tipo de aquecimento no rendimento quântico e mássico dos NPsC. ....	47
<b>Tabela II.21</b> - Valores de $K_{SV}$ corrigidos e % extinção em resposta à adição progressiva das NAs isoméricas (até $2.31 \times 10^{-4}$ M) em dispersões aquosas de NPsC. ....	59
<b>Tabela II.22</b> - Valores de $K_{SV}$ e % extinção em resposta à adição progressiva das NAs isoméricas (até $2.31 \times 10^{-5}$ M) nas dispersões aquosas de NPsC. ....	60
<b>Tabela II.23</b> - Valores de $K_{SV}$ e de % extinção em respostas às adições progressivas de Cr(VI) (até $1.60 \times 10^{-4}$ M) nas dispersões aquosas de NPsC. ....	64
<b>Tabela II.24</b> - Valores de $K_{SV}$ e da % extinção em resposta às adições progressivas de AP nas dispersões aquosas de NPsC. ....	66

---

## Lista de Abreviaturas e Símbolos

### A

---

AcOEt	Acetato de etilo
AE	Análise elementar
AP	Ácido pícrico

### B

---

B-MAC-1	Borras de café do lote Nicola® Premium (Máquina Automática de Cafeteria 1)
B-MAC-2	Borras de café do lote Camelo® Qattara El Dorado (Máquina Automática de Cafeteria 2)
B-MVA	Borras de café do lote Sical® Vending (Máquina de Venda Automática)
BSA	Albumina de soro bovino ( <i>Bovine Serum Albumin</i> )
BsC	Borras de café

### C

---

ca.	Quantidade aproximada
CHAC	Carbonização Hidrotérmica com Aquecimento Convencional
CHMO	Carbonização Hidrotérmica Assistida por Irradiação Microondas
Csp <sup>2</sup>	Carbono com hibridação sp <sup>2</sup>
Csp <sup>3</sup>	Carbono com hibridação sp <sup>3</sup>

### D

---

DNT	2,4-dinitrotolueno
DET	Dietilenotriamina

### E

---

e.g.	<i>exempli gratia</i> (do Latim, por exemplo)
EAG	Equivalente ácido gálico
ED	Etilenodiamina
EFI	Efeito de filtro interno
em	Emissão
exc	Excitação
Ext	Extinção

---

**F**

---

F	Intensidade de fluorescência
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

**G**

---

G-MAC-1	Grãos de café do lote Nicola® Premium (Máquina Automática de Cafeteria 1)
G-MAC-2	Grãos de café do lote Camelo® Qattara El Dorado (Máquina Automática de Cafeteria 2)
G-MVA	Grãos de café do lote Sical® Vending (Máquina Automática de Venda)

**K**

---

$K_{sv}$	Constante de Stern-Volmer
----------	---------------------------

**L**

---

LOD	Limite de detecção
-----	--------------------

**M**

---

<i>m</i> -NA	<i>m</i> -nitroanilina
m.r.	Misturas reacionais

**N**

---

NAs	Nitroanilinas
NMsC	Nanomateriais de Carbono
NPsC	Nanopontos de Carbono

**O**

---

<i>o</i> -NA	<i>o</i> -nitroanilina
--------------	------------------------

**P**

---

<i>p</i> -NA	<i>p</i> -nitroanilina
PEG	poli(etilenoglicol)
PLEDs	Diodos Emissores de Luz de Polímero ( <i>Polymer Light Emitting Diodes</i> )
PPEI-EI	Poli(propioniletilenoimina-co-etilenoimina)
PPG	poli(propilenoglicol)
PQsC	Pontos Quânticos de Carbono
PQsG	Pontos Quânticos de Grafeno
PsC	Pontos de Carbono
PsPC	Pontos de Polímero Carbonizado

---

**Q**

---

QE Quercetina

**R**

---

RMN <sup>1</sup>H Ressonância Magnética Nuclear de Protão

RQ Rendimento Quântico

**T**

---

TiO<sub>2</sub> Dióxido de titânio

TNT 2,4,6-trinitrotolueno

**U**

---

u.a. Unidades arbitrárias

UV Ultravioleta

UV-Vis Espectroscopia de Ultravioleta-visível

**Símbolos**

---

 $\delta$  Desvio químico $\lambda$  Comprimento de onda $\Phi_F$  Rendimento quântico

[Q] Concentração do analito

Ag<sup>+</sup> Ião prata (I)Al<sup>3+</sup> Ião alumínio (III)AlCl<sub>3</sub> Tricloreto de alumínioAu<sup>3+</sup> Ião ouro (III)Be<sup>2+</sup> Ião berílioBi<sup>3+</sup> Ião bismuto (III)C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup> Ião oxalatoCd<sup>2+</sup> Ião cádmioCdCl<sub>2</sub> Cloreto de cádmio (II)CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> DiclorometanoClO<sup>-</sup> Ião hipocloritoCN<sup>-</sup> Ião cianetoCo<sup>2+</sup> Ião cobalto (II)Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup> Ião dicromatoCr<sup>6+</sup> Ião crómio (VI)Cu<sup>2+</sup> Ião cobre (II)CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O Cloreto de cobre (II) dihidratado

---

$D_2O$	Óxido de deutério
$F^-$	lão fluoreto
$Fe^{2+}$	lão ferro (II)
$Fe^{3+}$	lão ferro (III)
$FeCl_2$	Cloreto de ferro (II)
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	Cloreto de ferro (III) hexahidratado
$H_2SO_4$	Ácido sulfúrico
$HCl$	Ácido clorídrico
$Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$	Nitrato de mercúrio (II) monohidratado
$Hg^{2+}$	lão mercúrio (II)
$HNO_3$	Ácido nítrico
$I^-$	lão iodeto
$K^+$	lão potássio
$K_2Cr_2O_7$	Dicromato de potássio
$KBr$	Brometo de potássio
$Mn^{2+}$	lão manganês (II)
$NaHCO_3$	Bicarbonato de Sódio
$NaOH$	Hidróxido de sódio
$Ni^{2+}$	lão níquel (II)
$NiCl_2$	Cloreto de níquel (II)
$Pb(NO_3)_2$	Nitrato de chumbo (II)
$Pb^{2+}$	lão chumbo (II)
$Pd^{2+}$	lão paládio (II)
$PO_4^{3-}$	lão fosfato
$S^{2-}$	lão sulfureto
$Sn^{2+}$	lão estanho (II)
$Zn^{2+}$	lão zinco

---

## Índice

<b>I. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>I.1 PREÂMBULO</b> .....	<b>3</b>
<b>I.2 NANOMATERIAIS DE CARBONO</b> .....	<b>4</b>
I.2.1 Métodos de Síntese.....	6
I.2.2 Propriedades Óticas .....	11
I.2.3 Aplicações .....	14
<b>I.3 SÍNTESE DE NM<sub>s</sub>C A PARTIR DE RESÍDUOS</b> .....	<b>17</b>
I.3.1 Resíduos Industriais e Biomassa .....	17
I.3.2 Resíduos da Indústria do Café .....	17
<b>II. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>II.1 PREÂMBULO</b> .....	<b>27</b>
<b>II.2 CARACTERIZAÇÃO DAS BORRAS E DOS GRÃOS DE CAFÉ</b> .....	<b>28</b>
II.2.1 Quantificação de Sólidos Totais .....	28
II.2.2 Quantificação de Açúcares.....	29
II.2.3 Quantificação de Flavonoides .....	30
II.2.4 Quantificação de Fenóis Totais .....	31
II.2.5 Quantificação de Proteínas .....	32
II.2.6 Quantificação do Teor de Cinzas .....	33
II.2.7 Quantificação do Teor de Lípidos.....	34
II.2.8 Caracterização Estrutural .....	35
<b>II.3 SÍNTESE DE NP<sub>s</sub>C A PARTIR DAS BORRAS DE CAFÉ</b> .....	<b>38</b>
II.3.1 Carbonização Hidrotérmica com Aquecimento Convencional (CHAC)...	38
II.3.3 Purificação de Nanomateriais de Carbono.....	47
<b>II.4 PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS</b> .....	<b>48</b>
<b>II.5 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL</b> .....	<b>54</b>
<b>II.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL DOS NP<sub>s</sub>C</b> .....	<b>56</b>
II.6.1 Detecção de Nitroanilinas .....	57
II.6.2 Detecção de Metais Pesados.....	62
II.6.3 Detecção de Explosivos .....	65

---

<b>III. PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>69</b>
<b>III.1 PREÂMBULO .....</b>	<b>71</b>
<b>III.2 REAGENTES, TÉCNICAS GERAIS E EQUIPAMENTOS .....</b>	<b>72</b>
<b>III.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS E DAS BORRAS DE CAFÉ.....</b>	<b>73</b>
III.3.1 Extração em Soxhlet .....	73
III.3.2 Quantificação de Sólidos Totais .....	73
III.3.3 Quantificação de Açúcares Totais .....	73
III.3.4 Quantificação de Flavonoides Totais .....	74
III.3.5 Quantificação de Fenóis Totais .....	74
III.3.6 Quantificação de Proteínas .....	74
III.3.7 Quantificação de Cinzas.....	75
III.3.8 Quantificação de Lípidos .....	75
<b>III.4 SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DOS NPSC .....</b>	<b>75</b>
III.4.1 Síntese dos NPsC por Aquecimento Convencional .....	76
III.4.2 Síntese dos NPsC por Irradiação Microondas .....	76
III.4.3 Isolamento e Purificação dos NPsC por Extração Líquido-Líquido.....	76
<b>IV. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS DE TRABALHO FUTURO .....</b>	<b>79</b>
<b>V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>81</b>

---

## I. INTRODUÇÃO



---

## I.1 PREÂMBULO

O presente trabalho descreve a síntese de nanomateriais de carbono luminescentes (NMsC) obtidos a partir de borras café (BsC), um resíduo produzido em larga escala e rico em matéria orgânica.

Atendendo à sua potencial valorização, foram produzidos NMsC recorrendo a metodologias sustentáveis, designadamente tratamento hidrotérmico em reator de alta-pressão e irradiação assistida por microondas.

Neste capítulo será feita uma revisão da literatura, sendo descritas diferentes nanoestruturas de carbono, os métodos de síntese empregues na sua obtenção, bem como as suas propriedades óticas e potenciais áreas de aplicação.

De forma a evidenciar o potencial da utilização das BsC como precursores na síntese de NMsC e a importância da valorização deste resíduo, será feita uma breve descrição da indústria do processamento dos grãos de café e dos resíduos inerentes à sua obtenção, apresentando outras abordagens atualmente empregues que direcionam para uma economia circular.

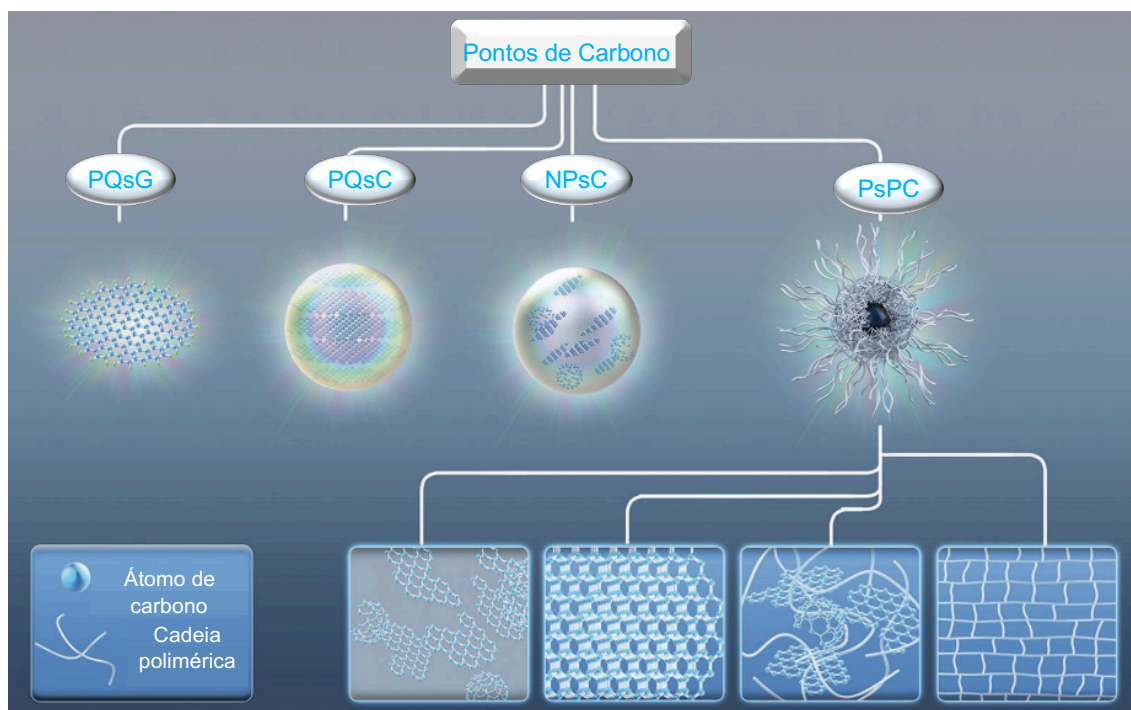
Serão também descritas as propriedades físico-químicas mais relevantes destes resíduos.

---

## I.2 NANOMATERIAIS DE CARBONO

O carbono é conhecido pela sua capacidade de formar alótropos no estado sólido com estruturas e propriedades distintas, nomeadamente o diamante e a grafite, com hibridação  $sp^3$  e  $sp^2$ , respetivamente. Os nanomateriais de carbono (NMsC) são constituídos maioritariamente por carbono e possuem múltiplas dimensões.<sup>1</sup> A primeira nanoestrutura de carbono com dimensão zero (0D) foram os fulerenos isolados por Kroto *et al.*<sup>2</sup> em 1985. Em 1991, Iijima<sup>3</sup> obteve nanotubos de carbono unidimensionais e em 2004, estruturas bidimensionais como o grafeno, foram isoladas e caracterizadas por Novoselov *et al.*<sup>4</sup> Neste mesmo ano, Xu *et al.*<sup>5</sup> descobriram os pontos quânticos de carbono (PQsC). Todos os materiais fluorescentes compostos principalmente por carbono e com dimensão inferior a 10 nm são designados de pontos de carbono (PsC). Neste grupo encontram-se os pontos quânticos de grafeno (PQsG), os nanopontos de carbono (NPsC), os pontos quânticos de carbono (PQsC) e os pontos de polímero carbonizado (PsPC) (Figura I.1).<sup>6,7</sup>

Os PQsG possuem uma ou mais camadas de grafeno, geralmente inferior a 5, com grupos funcionais à superfície ou dentro do defeito da camada intermédia. Possuem dimensão lateral significativamente maior do que a altura, sendo geralmente anisotrópicos. Os NPsC apresentam uma estrutura quase esférica com o núcleo composto por uma mistura desordenada de  $Csp^3$  e grupos funcionais presentes na superfície, não sendo fácil o controlo da sua estrutura e da sua dimensão. Os PQsC têm também uma estrutura quase esférica, mas com um núcleo cristalino composto por  $Csp^2$  e  $Csp^3$  e grupos funcionais ligados à superfície. Os PsPC possuem estrutura híbrida de polímero/carbono com grupos funcionais fixados à superfície. O núcleo pode ainda ser subdividido em quatro subclasses: com estruturas completamente carbonizadas semelhantes aos NPsC, semelhante aos PQsC, com estrutura de carbono cristalina composta por aglomerados de carbono de pequena dimensão rodeados por estruturas poliméricas, e ainda com estrutura reticulada.<sup>7,8</sup>



**Figura I.1** - Diferentes tipos de pontos de carbono. Adaptado de Xia *et al.*<sup>7</sup>

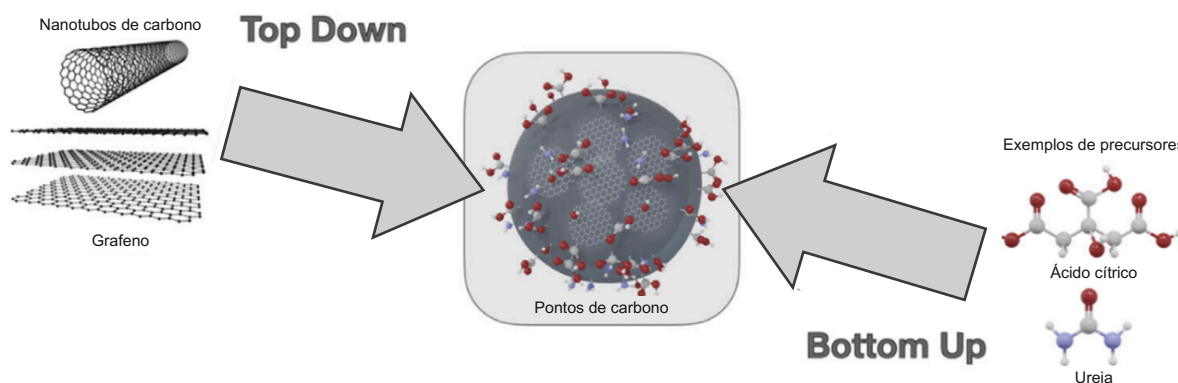
Também conhecidos como C-dots, os NPsC são compostos principalmente por átomos de carbono, hidrogénio e oxigénio, independente do método de síntese empregue na sua obtenção. Na sua superfície podem ser encontrados diversos grupos funcionais derivados do processo de oxidação, tais como epóxido, éter, carbonilo, hidroxilo e carboxílico. A existência destes grupos confere a estes materiais características muito interessantes, designadamente hidrofiliicidade e também a facilidade de funcionalização com diversas espécies orgânicas, poliméricas, inorgânicas ou biológicas. Elementos como o azoto e o enxofre podem ser facilmente dopados nos NPsC consoante a composição química da matéria-prima escolhida.<sup>9,10</sup>

Desde a sua descoberta em 2004, os NPsC têm atraído particular atenção por parte da comunidade científica, devido às suas propriedades de fotoluminescência ajustável, fotoestabilidade, biocompatibilidade e fácil funcionalização aliada à abundância de fontes de carbono possíveis para a sua produção e facilidade de síntese.<sup>11</sup> Estas propriedades permitem a sua aplicação nas mais diversas áreas, nomeadamente em bioimagemologia, como (bio)sensores, em fotocatalise e na libertação de fármacos.<sup>12</sup>

## I.2.1 Métodos de Síntese

Os PsC podem ser sintetizados por diversas metodologias, onde se incluem como principais classes os métodos *top-down* e *bottom-up* (Figura I.2). No primeiro método, ocorre a clivagem ou a quebra de materiais com grandes estruturas de carbono, tais como pó de grafite, carbono amorfo, nanofibras e nanotubos de carbono de parede múltipla, obtendo-se partículas de menores dimensões. A sua obtenção recorre a descarga elétrica com arco, ablação com laser, oxidação eletroquímica e o tratamento com plasma. No método *bottom-up*, a síntese de NPsC utiliza como fonte de carbono precursores moleculares orgânicos, nomeadamente resíduos alimentares, aminoácidos, ácido cítrico, recorrendo a tratamento térmico, irradiação assistida por microondas e ultrassons.<sup>9,11</sup>

Os métodos de síntese, materiais de partida e a variação dos parâmetros de reação durante a produção dos NPsC contribuem diretamente para as suas propriedades, nomeadamente dimensão, cristalinidade, composição superficial, estabilidade, biocompatibilidade e características luminescentes.<sup>10,13</sup>



**Figura I.2** - Métodos de síntese dos PsC: *top-down* e *bottom-up*. Adaptado de Ross *et al.*<sup>14</sup>

### I.2.1.1 Método *Top-down*

Tal como mencionado anteriormente, os métodos *top-down* incluem a descarga elétrica com arco, a ablação com laser, a oxidação eletroquímica e o tratamento com plasma.<sup>13</sup> Para tal, são utilizadas fontes de carbono com  $Csp^2$  que após modulação do seu tamanho e química superficial originam NPsC fluorescentes.<sup>6</sup>

Xu *et al.*<sup>5</sup> purificaram nanotubos de carbono de parede simples derivados da fuligem de descarga elétrica com arco. A fuligem foi previamente sujeita a oxidação com  $HNO_3$  para promover a hidrofiliabilidade do material, seguida de extração com

---

NaOH. A suspensão preta obtida foi purificada por eletroforese em gel, obtendo-se NPsC com rendimento quântico (RQ) de 1.6%. O rendimento quântico é definido como o número de fótons emitidos em relação ao número de fótons absorvidos.<sup>6</sup> Este método apresenta como desvantagem a ocorrência de grande diversidade de compostos difíceis de purificar e com baixo rendimento quântico.<sup>13</sup>

Sun *et al.*<sup>15</sup> efetuaram a primeira síntese de NPsC por um processo *top-down* recorrendo a ablação com laser de uma mistura de pó de grafite e cimento utilizando como gás de arraste argon na presença de vapor de água a 900 °C e 75 kPa. A ausência de fluorescência levou à realização de uma oxidação com HNO<sub>3</sub> 2.6 M, seguida de passivação da superfície com polietilenoglicol (PEG) ou poli(propioniletienoimina-co-etienoimina) (PPEI-EI), tendo os NPsC obtidos apresentado RQs entre 4 e 10%. Apesar de ser um método de preparação simples que origina uma grande variedade de nanoestruturas, apresenta como principal desvantagem a necessidade de utilizar grandes quantidades de matéria-prima na preparação do composto-alvo. Embora as nanopartículas de maior dimensão sejam facilmente separadas por centrifugação, ainda assim este método conduz a baixos rendimentos.<sup>13</sup>

A preparação de NPsC por oxidação eletroquímica foi realizada pela primeira vez por Zhou *et al.*<sup>16</sup> recorrendo à utilização de nanotubos de carbono de parede múltipla inseridos numa célula eletroquímica como elétrodo de trabalho, um fio de Pt como contra-elétrodo e ainda um elétrodo de Ag/AgCl como referência, imersos numa solução desarejada de perclorato de tetrabutylamónio em acetonitrilo como eletrólito de suporte. Os NPsC preparados exibiram um RQ de 6.4%.

Jiang *et al.*<sup>17</sup> foram os primeiros a descrever a preparação de nanopartículas de carbono utilizando um reator de plasma de arco submerso a partir de benzeno e etilenodiamina, possibilitando a síntese e a funcionalização em apenas uma etapa.

### **1.2.1.2 Método *Bottom-up***

Os métodos *bottom-up* incluem processos de pirólise, oxidação química e térmica, método suportado, micela reversa, ultrassons, tratamento hidrotérmico e irradiação assistida por microondas.<sup>13</sup> São normalmente empregues elevadas temperaturas (150-300 °C), soluções ácidas ou básicas concentradas e água ou solventes orgânicos, estes últimos, por vezes tóxicos. Esta via tem como vantagens o controlo e a produção eficiente de NPsC fluorescentes em larga escala.<sup>6,10</sup>

---

Zhuo *et al.*<sup>18</sup> sintetizaram NPsC com RQ de 80.3% através de um processo pirolítico utilizando ácido cítrico e glutatona a 200 °C durante 10 minutos. Liu *et al.*<sup>19</sup> submeteram a fuligem de combustão da vela a tratamento oxidativo com HNO<sub>3</sub> 5M, sob refluxo, durante 12 horas. Após arrefecimento, os NPsC obtidos foram fracionados por eletroforese em gel de poliácridamida e apresentaram rendimentos quânticos entre 0.8% e 1.9%.

O método de oxidação química de fontes de carbono foi descrito por Sun *et al.*<sup>20</sup> que carbonizaram fibras de cabelo com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. As misturas reacionais foram sujeitas a ultrassons a 40, 100 e 140 °C durante 24 horas, obtendo-se RQs de 9, 16 e 29% respectivamente. As partículas com menor dimensão e com emissão a maiores comprimentos de onda foram obtidas com temperaturas de reação mais elevadas.

Na síntese de NPsC por oxidação térmica a partir de ácido cítrico e *L*-tirosina, as matérias-primas foram solubilizadas em água, secas e submetidas a temperatura de 220 °C sob atmosfera oxidante durante 30 minutos. Após arrefecimento e purificação, os produtos apresentaram um RQ de 4%.<sup>21</sup>

O método suportado recorre à utilização de sílica e zeólitos como suportes para a formação de NPsC, bloqueando a aglomeração das nanopartículas durante o tratamento a altas temperaturas.<sup>22</sup> Liu *et al.*<sup>23</sup> introduziram resinas precursoras de carbono em esferas de sílica modificada na presença de um surfactante não iónico, o Pluronic® F127 (copolímero PEG-PPG-PEG), ocorrendo polimerização a 900 °C após 2 horas sob atmosfera de argon. As esferas foram removidas com NaOH 2 M e os NPsC resultantes foram funcionalizados com grupos carboxilo e passivados com PEG, apresentando um rendimento quântico de 14.7%.

Kwon *et al.*<sup>24</sup> utilizaram micelas invertidas como nano-reatores na síntese de PQsG via polimerização hidrolítica e subsequente carbonização de glucose e passivação *in situ*. O tamanho das nanopartículas variou de forma proporcional à razão entre a água e o surfactante existente dentro da micela e o RQ máximo alcançado foi de 35%.

Em 2011, Li *et al.*<sup>25</sup> sintetizaram pontos de carbono em meio ácido e básico recorrendo a ultrassons. Numa solução de glucose 1 M foi adicionado NaOH 1 M e em ensaio paralelo, utilizou-se HCl 36-38%. Ambas as misturas reacionais foram sujeitas a ultrassons durante 4 horas, obtendo-se NPsC com rendimento quântico de

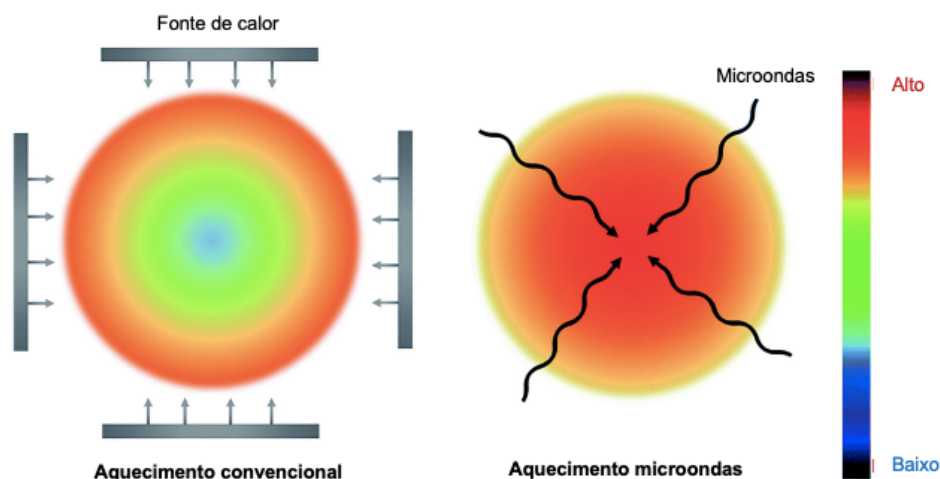
---

7%. A utilização deste método permitiu a obtenção de PsC com menores dimensões e uniformes.<sup>26</sup>

O tratamento hidrotérmico, em geral, é realizado por aquecimento convencional, no qual a fonte de calor está localizada no exterior do reator, sendo a mistura reacional aquecida por condução do calor através das paredes do reator e das correntes de convecção criadas no seu interior (Figura I.3).<sup>27</sup> Zhu *et al.*<sup>28</sup> prepararam NPsC com RQ de 80.6%, aplicando tratamento hidrotérmico a ácido cítrico e etilenodiamina em água desionizada, a 200 °C durante 5 horas em autoclave, seguido de purificação por diálise. Este método é comumente utilizado por permitir a obtenção de estruturas com boa morfologia, sendo simultaneamente um processo economicamente viável, com fácil operação e não tóxico por utilizar água como solvente.<sup>26,29</sup> PsC com fotoluminescência ajustável podem ser sintetizados controlando os parâmetros da reação, contribuindo para a sua aplicação em biomedicina e como sensores.<sup>30</sup> Este processo apresenta como principais desvantagens o elevado tempo de reação e consumo de energia.<sup>31</sup> Por ser um método ambientalmente sustentável é utilizado frequentemente na síntese de NPsC a partir de biomassa, como por exemplo folhas de bambu,<sup>32</sup> casca de laranja<sup>33</sup> e bagaço.<sup>34</sup>

O aquecimento por irradiação assistida por microondas é um método alternativo ao aquecimento convencional, no qual o modo de geração de calor é diferente, sendo este produzido através das microondas que penetram no material, resultando na conversão da energia elétrica em energia térmica (Figura I.3). Este processo conduz a um rápido e homogêneo aumento de temperatura, apresentando como principais vantagens uma maior eficiência energética, um controlo mais eficaz do processo, uma redução do tempo de reação, da quantidade de solvente e da energia necessária, revelando-se por isso uma metodologia mais sustentável.<sup>27,35,36</sup> Uma desvantagem deste método é ter a sua utilização limitada a substâncias que absorvem irradiação microondas. Além disto, não permite a realização de sínteses a alta-pressão, podendo resultar em reações descontroladas e explosões.<sup>36</sup> Zhu *et al.*<sup>37</sup> obtiveram NPsC com RQs que variaram entre 3.1% e 6.3%, por aquecimento de uma solução aquosa de polietilenoglicol e um sacarídeo (*e.g.* glucose, frutose, entre outros). A mistura reacional foi aquecida num reator microondas com uma potência de 500 W durante 2 a 10 minutos. Os NPsC obtidos com tempos de aquecimento mais prolongados, exibiram o seu máximo de emissão a maiores comprimentos de onda. Tal como no

tratamento hidrotérmico, este método de síntese também tem sido utilizado na preparação de PsC a partir de resíduos e biomassa como farinha,<sup>38</sup> casca de cebola<sup>39</sup> e café.<sup>40</sup>



**Figura I.3** - Modo de aquecimento convencional e por irradiação microondas. Adaptado de Nizamuddin *et al.*<sup>27</sup>

### I.2.1.3 Funcionalização da Superfície e Dopagem

Os PsC sintetizados pela grande maioria dos métodos não são fluorescentes ou possuem baixo rendimento quântico, resultado da existência de lacunas na sua superfície. As operações de passivação e funcionalização da superfície dos PsC contribuem eficazmente para a redução de recombinações não radiativas, promovendo um aumento da sua fluorescência, biocompatibilidade e estabilidade.<sup>13,26</sup>

A passivação envolve a formação de uma cobertura na superfície dos PsC, geralmente através da formação de uma fina camada isolante utilizando para o efeito polímeros orgânicos, sendo o PEG o agente de passivação mais comum, sofrendo prévia oxidação com ácidos fortes (*e.g.* HNO<sub>3</sub>).<sup>13</sup> Shen *et al.*<sup>41</sup> conseguiram duplicar o rendimento quântico de PsC (13.1% para 28.0%) após utilizarem este polímero como agente de passivação. Outras moléculas orgânicas também podem ser utilizadas como agentes de passivação, designadamente o PPEI-EI, ácido mercapto-succínico, etilenodiamina e oleilamina. O processo de passivação origina nanopartículas mais brilhantes, biocompatíveis e fotoestáveis, contribuindo no entanto para o aumento do tamanho das nanopartículas, impondo limitações nas suas aplicações.<sup>11-13,26</sup>

No processo de passivação, vários grupos funcionais, nomeadamente amino, hidroxilo e carboxilo, podem ser introduzidos na superfície dos PsC, anulando os

---

defeitos da superfície, sem que ocorra alteração no estado do centro, melhorando a sua solubilidade e reatividade química.<sup>13</sup> O tratamento com ácidos oxidantes, como o HNO<sub>3</sub> é uma via simples e eficaz para inserir grupos carbonilo e carboxilo na superfície dos PsC, contudo é necessário o controlo do grau de oxidação, sendo que os grupos oxidados podem atuar como armadilhas emissivas de superfície, comprometendo as propriedades fotoluminescentes.<sup>11,12</sup> Agentes de passivação, como o PEG oligomérico com funcionalidade diamina, introduz alterações quer nas propriedades físicas, quer nas propriedades óticas dos PsC.<sup>12</sup> A incorporação de grupos doadores de elétrons tais como diamina, tiol, hidrazina e alquilamina aumentam o rendimento quântico, inviabilizando recombinações não radiativas.<sup>11</sup>

Após passivação, os PsC também podem sofrer reticulação, promovendo a ocorrência de partículas fluorescentes de maiores dimensões e com melhores propriedades óticas, devido à estabilização da funcionalização da superfície.<sup>13</sup>

A presença de heteroátomos pode influenciar as propriedades eletrónicas, óticas e a reatividade da superfície, sendo o azoto o elemento mais frequentemente utilizado.<sup>10</sup> Li *et al.*<sup>42</sup> doparam PQsG com tetrabutilamónio em acetonitrilo, deslocando a luminescência do verde para o azul, decorrente da capacidade electroatractora do azoto.<sup>10</sup> A utilização de boro como agente dopante por Zhao *et al.*<sup>43</sup> conduziu à obtenção de PsC com emissão desviada para o vermelho e maior intensidade de fluorescência quando comparado com os PsC antes da dopagem. Outros elementos como o silício, o fósforo e o enxofre também têm sido explorados tendo em vista a melhoria das propriedades dos PsC.<sup>11</sup>

## 1.2.2 Propriedades Óticas

Os NPsC têm despertado grande interesse na comunidade científica devido às suas propriedades óticas excepcionais, designadamente a fotoluminescência ajustável, excitação de múltiplos fótons, electro e quimio-luminescência, fotoestabilidade e absorção de banda alargada. Fatores como a funcionalidade da superfície, designadamente a presença de heteroátomos, o tamanho, a forma e os defeitos existentes nos NPsC, influenciam diretamente as suas propriedades óticas.<sup>9-11</sup>

Os NPsC apresentam forte absorção no ultravioleta (UV) (230-320 nm) com uma cauda que se estende até à região do visível. A banda *ca.* 230 nm é atribuída a

---

transições eletrônicas  $\pi$ - $\pi^*$  dos anéis aromáticos e ligações C=C, com existência de um ombro a aproximadamente 300 nm, associado às transições de  $n$ - $\pi^*$  das ligações C=O ou de outros cromóforos semelhantes.<sup>6,10</sup> Estas transições eletrônicas exibem forte absorção na região do UV, embora fraca ou inexistente emissão de fluorescência devido à presença de lacunas.<sup>12</sup> Os grupos funcionais existentes na superfície dos NPsC contribuem para a absorção na região do UV-Vis, cujos desvios observados podem indicar diferenças na composição ou estruturas com hibridação distinta.<sup>6,13</sup>

A fotoluminescência ajustável é uma das principais características dos NPsC, permitindo adequar a sua estrutura para uma dada aplicação. O perfil das bandas de emissão dos NPsC é geralmente amplo devido à estrutura química não homogênea e conseqüentemente, a existência de diversos locais emissivos. A sua emissão relaciona-se com o comprimento de onda de excitação, isto é, consoante este aumenta ocorrem simultaneamente desvios no máximo de emissão de fluorescência.<sup>6,11</sup> Devido à grande heterogeneidade de dimensão, diferente composição química e distribuição de diferentes locais emissivos, já foram sintetizados NPsC de diversas cores, variando desde o UV ao vermelho, sendo mais comum o azul e o verde,<sup>11</sup> permitindo a sua utilização em aplicações de imagens multicoloridas.<sup>6</sup>

Zhu *et al.*<sup>6</sup> apresentaram como possíveis mecanismos de fluorescência o efeito do confinamento quântico, o estado molecular e o estado de superfície. As propriedades fotoluminescentes dos PsC podem ser explicadas apenas por um destes mecanismos ou pelo efeito sinérgico dos três.<sup>30</sup>

O efeito do confinamento quântico refere-se ao estado do centro de carbono dos PsC e relaciona-se com a existência de aglomerados  $sp^2$ , onde ocorre recombinação radiativa de elétron-lacuna. Quanto menores estes aglomerados, menor é a lacuna e maior o comprimento de onda de emissão.<sup>30</sup>

O estado molecular refere-se à fluorescência dominada por fluoróforos moleculares. PsC sintetizados por métodos *bottom-up* utilizam precursores capazes de formar fluoróforos moleculares através da desidratação e condensação entre pequenas moléculas.<sup>30</sup>

O estado de superfície refere-se à hibridação sinérgica entre a estrutura do centro de carbono e as funcionalidades presentes, onde ocorre a recombinação entre elétrons e lacunas, culminando na emissão de fluorescência.<sup>6</sup> Quanto maior a oxidação da superfície, mais a sua emissão se desloca para o vermelho.<sup>30</sup>

---

Independentemente do método de síntese aplicado, a maioria dos NPsC, apresenta resistência à fotodegradação após exposição por longos períodos a irradiação contínua, devido ao efeito do confinamento quântico.<sup>6,13,44</sup> Wang *et al.*<sup>45</sup> demonstraram que a fotodegradação depende principalmente da duração e da intensidade de exposição, mas também de outros factores como da concentração dos NPsC, da presença de oxigénio e do solvente. Li *et al.*<sup>46</sup> sintetizaram NPsC por tratamento hidrotérmico que ao serem irradiados com laser com excitação de 470 nm combinado com laser de depleção de 775 nm durante 1000 ciclos, apresentaram redução da intensidade de fluorescência para apenas 88%. Yin *et al.*<sup>47</sup> sintetizaram NPsC que, após serem submetidos a excitação ao comprimento de onda de 360 nm durante 1 hora, não apresentaram alteração de fluorescência significativa. Li *et al.*<sup>48</sup> produziram PQsC por ablação a laser e submeteram a irradiação a laser durante 4 horas, observando-se um decaimento de apenas 4.5%. Wei *et al.*<sup>49</sup> sintetizaram NPsC por irradiação assistida por microondas a partir de glucose e análogos de aminoácidos, que sob excitação durante 60 minutos exibiram redução de apenas 10% da intensidade.<sup>11,13</sup>

Em algumas situações, os NPsC podem apresentar eletroquimioluminescência, devido à formação do estado excitado que após relaxamento para o estado fundamental emitem um sinal luminescente. Isso acontece através da aniquilação por transferência de eletrões entre NPsC em estado reduzido e oxidado.<sup>6,11</sup> Diferenças no perfil da eletroquimioluminescência e no espectro de fotoluminescência permitem identificar a presença de lacunas na superfície que não sofreram passivação.<sup>22</sup>

A fluorescência pode ainda ser influenciada pelo solvente e pelo pH, devido à ocorrência de protonação/desprotonação de alguns grupos funcionais presentes na superfície.<sup>6</sup> NPsC sintetizados por tratamento hidrotérmico, por exemplo, possuem melhor dissolução em solventes orgânicos ou em água, podendo ter comprimentos de onda máximos de emissão de fluorescência distintos.<sup>13</sup> Alterações na intensidade de fluorescência em função do pH, resultam do estado da molécula que é afetado consoante o pH do meio.<sup>6,12</sup>

Os NPsC possuem também outra propriedade ótica interessante com aplicação em bioimagem *in vivo*, designada por emissão de fluorescência de conversão ascendente. Neste fenómeno, o comprimento de onda de emissão é inferior ao comprimento de onda de excitação, permitindo que sejam utilizados comprimentos de onda maiores, facilitando a penetração nos tecidos.<sup>12</sup> Jia *et al.*<sup>50</sup> sintetizaram NPsC

---

recorrendo por processo hidrotérmico que ao serem excitados na região do infravermelho próximo, apresentaram um pico de emissão fixo a 540 nm. Este fenômeno foi relatado como resultado do processo de excitação de múltiplos fótons. Shen *et al.*<sup>51</sup> atribuíram a emissão de fluorescência de conversão ascendente ao retorno de elétrons à orbital  $\sigma$  após fótons de baixa energia excitarem elétrons da orbital  $\pi$  que transitaram para um estado de alta energia, retornando para um estado de energia inferior.<sup>12</sup>

Inicialmente, os PsC sintetizados apresentavam RQs inferiores a 1%, verificando-se que o seu valor é dependente do método de síntese escolhido. Posteriormente, o recurso a processos de modificação da superfície, nomeadamente passivação, funcionalização e dopagem, têm vindo a contribuir para uma melhoria significativa das propriedades luminescentes dos NPsC.<sup>6</sup>

### **I.2.3 Aplicações**

As promissoras propriedades óticas e biocompatibilidade dos NPsC obtidos por diferentes abordagens, torna estes materiais versáteis para aplicação nas mais diversas áreas, nomeadamente como sensores fluorescentes, em bioimagem, nanomedicina, fotocatalise e optoeletrónica.

#### **I.2.3.1 Sensores**

Sendo as propriedades luminescentes dos NPsC sensíveis a pequenas perturbações, a sua síntese tem sido amplamente explorada, de forma a modular as propriedades óticas para a aplicação sensorial pretendida.<sup>11</sup> A primeira tentativa de utilizar os NPsC como sensores químicos foi descrita por Gonçalves *et al.*<sup>52</sup> na deteção seletiva de  $\text{Hg}^{2+}$  em soluções aquosas e células vivas. A intensidade de fluorescência dos PsC diminuiu significativamente quando na presença de  $1.3 \mu\text{M}$  de  $\text{Hg}^{2+}$ . Desde então, foi estudada a sensibilidade dos PsC numa vasta diversidade de iões metálicos, podendo citar-se como exemplos o  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , entre outros.<sup>10</sup> Por outro lado, quando na presença de aniões como o  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{ClO}^-$  e  $\text{I}^-$  verificou-se, embora com menor sensibilidade, a ocorrência de “*turn-on*” na emissão dos PsC.<sup>9,12</sup> Os PsC também demonstraram sensibilidade à presença de moléculas orgânicas como a anilina, o ácido ascórbico, a glucosamina e o diniconazol.<sup>10</sup> A sua capacidade de detetar radicais e

---

ões metálicos tanto no meio ambiente, como em biosistemas,<sup>26</sup> aliado ao seu tamanho reduzido, confere aos NPsC boa sensibilidade e seletividade como biossensor.<sup>11</sup> A utilização de NPsC em ensaios imunológicos como marcadores fluorescentes, na detecção de ácidos nucleicos, proteínas, bioanalitos e na contagem de células bacterianas em águas residuais encontra-se reportada na literatura.<sup>12</sup>

### **I.2.3.2 Bioimagem**

Como resultado das suas propriedades de fotoluminescência ajustável e boa estabilidade física e química, os NPsC têm despertado grande interesse na área da bioimagiologia. A sua principal vantagem relativamente aos pontos quânticos semicondutores atualmente utilizados, reside na ausência de toxicidade,<sup>12</sup> uma vez que estes possuem metais pesados, gerando problemas ambientais e para a saúde humana.<sup>22</sup> Face às suas características, os NPsC são assim empregues na visualização de sistemas biológicos *in vitro* e *in vivo*. Contudo, apesar dos núcleos de carbono não exibirem (cito)toxicidade, os agentes de passivação podem não ser completamente inócuos. Assim, a sua utilização deve considerar baixas concentrações e/ou tempos de incubação relativamente curtos.<sup>12</sup> Yang *et al.*<sup>53</sup> exploraram a viabilidade dos NPsC como agentes de contraste *in vivo* injetando NPsC passivados com PEG em murganhos, tendo verificado uma diminuição da fluorescência 24 horas após a sua aplicação.

### **I.2.3.3 Nanomedicina**

A biocompatibilidade destes nanomateriais tem igualmente despertado interesse no ramo da nanomedicina, com especial destaque na terapia do cancro. Wang *et al.*<sup>54</sup> utilizaram os NPsC como doadores na transferência de energia para o fotossensibilizador meso-tetraquis-(*N*-metil-4-piridil)-porfirina, aplicado em terapia fotodinâmica no tratamento de tumores superficiais, sendo registada uma eficiência de 45%. Na vertente da aplicação na área da radioterapia, Kleinauskas *et al.*<sup>55</sup> analisaram o uso de NPsC passivados com PEG e revestidos de prata. Tem sido também explorada a utilização de NPsC como nanotransportadores para a entrega de genes ou de drogas aos locais do tumor-alvo.<sup>13</sup> Tang *et al.*<sup>56</sup> utilizaram NPsC como transportadores de doxorubicina, uma droga anti-tumoral, acompanhando a libertação do fármaco em tempo real através da variação da emissão de fluorescência.

#### I.2.3.4 Fotocatálise

A capacidade de absorção dos NPsC na região do visível e emissão para menores comprimentos de onda, motivaram a comunidade científica no estudo da sua potencial aplicação como fotocatalisadores em síntese orgânica, funcionando como um componente de transferência de energia.<sup>12</sup> Li *et al.*<sup>57</sup> usaram NPsC como fotocatalisadores na oxidação seletiva de álcool benzílico em benzaldeído com 100% de seletividade e conversão de 92%. Noutro trabalho, Li *et al.*<sup>58</sup> incorporaram PQsC na superfície de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> e utilizaram este sistema na degradação de azul de metileno (50 mgmL<sup>-1</sup>) sob irradiação de luz visível durante 25 minutos, atingindo uma redução ca. 100%, valor de degradação que não ultrapassou os 5% quando foi utilizado TiO<sub>2</sub>. Os NPsC facilitam a dispersão das partículas de catalisador, melhorando a separação de carga e aumentando a concentração de moléculas orgânicas perto da superfície.<sup>59</sup> Adicionalmente, a sua atividade fotocatalítica pode ser modulada modificando as funcionalidades da superfície.<sup>12</sup>

Devido ao seu tamanho reduzido, alta estabilidade e boa condutividade elétrica, os NPsC também estão a ser explorados para aplicação na produção de energia como alternativa aos eletrocatalisadores de platina utilizados na reação de redução do oxigénio.<sup>12</sup> Zhu *et al.*<sup>60</sup> reportaram a utilização de PQsC dopados com azoto que apresentaram boa atividade eletrocatalítica nesta reação.

#### I.2.3.5 Optoeletrónica

A estrutura eletrónica deslocalizada dos NPsC aliada à capacidade de modificação dos grupos funcionais presentes na superfície e ao ajuste da lacuna de energia alterando o seu diâmetro, permite personalizar as propriedades óticas e optoeletrónicas dos materiais.<sup>1,22</sup> A sua fotoestabilidade, hidrofiliabilidade e excelentes propriedades fotoluminescentes, estimularam a sua aplicação como potenciais fotossensibilizadores para aplicações fotovoltaicas.<sup>59</sup> Sun *et al.*<sup>61</sup> descreveram a utilização de nanocompostos constituídos por PQsC e TiO<sub>2</sub> numa célula solar obtendo uma fotocorrente superior comparativamente à utilização de um eléctrodo composto apenas por TiO<sub>2</sub> sob iluminação de luz visível. Choi *et al.*<sup>62</sup> utilizaram nanopartículas de prata suportada em PsC para fabricar diodos emissores de luz de polímero processáveis em solução (PLEDs) e células solares de polímero obtendo uma eficiência de corrente quase três vezes superior comparativamente ao dispositivo de controlo.

### I.3 SÍNTESE DE NM<sub>s</sub>C A PARTIR DE RESÍDUOS

Mundialmente são produzidos mais de 100 trilhões de quilos de biomassa por ano. A sua degradação origina metano e chorume, e a sua queima gera CO<sub>2</sub> e outros poluentes. A gestão inadequada da biomassa contribui assim para as alterações climáticas, contaminando os cursos de água e os solos, com grande contribuição para a poluição atmosférica e impacto na fauna e na flora.<sup>63</sup>

A biomassa tem assim sido aplicada com sucesso como precursora na síntese de PsC, proporcionando a redução da exposição química, contribuindo para a minimização de resíduos, além de promover a utilização de um recurso renovável e abundante.<sup>32,64</sup>

#### I.3.1 Resíduos Industriais e Biomassa

Desde que Hsu *et al.*<sup>65</sup> sintetizaram pela primeira vez NPsC a partir de borras de café, diversos materiais renováveis e resíduos têm sido testados como precursores.<sup>66</sup> O recurso à utilização de resíduos ricos em carbono tem possibilitado a síntese de PsC fluorescentes em larga escala e com baixo custo, por processos que conduzem à sua polimerização e carbonização a altas temperaturas, tirando partido da presença natural de heteroátomos como azoto, enxofre e fósforo na sua composição que potenciam as suas propriedades óticas.<sup>67</sup> Até aos dias de hoje, têm sido estudados precursores de origens muito diversificadas, nomeadamente frutas (e.g. sumo de laranja,<sup>68</sup> casca de melancia<sup>69</sup> e bagaço de lima<sup>66</sup>), vegetais (e.g. casca de cebola,<sup>39</sup> sumo de cenoura<sup>70</sup> e couve<sup>71</sup>), cereais (e.g. pão,<sup>72</sup> farinha<sup>73</sup> e aveia<sup>74</sup>), bebidas (e.g. leite,<sup>75</sup> cerveja<sup>76</sup> e café<sup>77</sup>), folhas e flores (e.g. folhas de bambo<sup>32</sup> e pétalas de rosa<sup>78</sup>), ovos de galinha,<sup>79</sup> mel<sup>80</sup> e carne de vaca cozida,<sup>81</sup> cabelo<sup>82</sup> e urina humana,<sup>83</sup> bem como cinzas de papel,<sup>84</sup> óleo de fritura,<sup>85</sup> água residuais do processamento do azeite<sup>86</sup> e da cortiça.<sup>87</sup>

#### I.3.2 Resíduos da Indústria do Café

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, tendo sido na Etiópia o início do seu consumo em meados do ano de 850.<sup>88</sup> Apreciado por milhões de pessoas, o café tal como o conhecemos é o resultado da torrefação de sementes

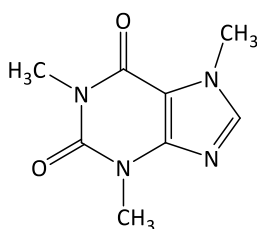
provenientes de árvores da família *Rubiaceae* e do género *Coffea L.*. Atualmente, estão catalogadas mais de 100 espécies deste género, porém as principais variedades são a Arábica e a Robusta e o seu cultivo localiza-se essencialmente na zona entre os trópicos de Capricórnio e de Câncer.<sup>88</sup> De acordo com a Organização Internacional do Café (OIC),<sup>89</sup> a produção global deste grão no ano cafeeiro de 2019/20 atingiu mais de 10 milhões de toneladas. Em 2019, Portugal importou aproximadamente 73 mil toneladas de café, representando um crescimento de ca. 14% em 4 anos.<sup>90</sup>

A composição química do café (Tabela I.1) inclui uma grande diversidade de compostos, nomeadamente celulose, minerais, açúcares, lípidos, fenóis e polifenóis, onde se incluem nestes últimos, os flavonoides e os taninos.

**Tabela I.1** - Composição química do café. Adaptado de Belitz *et al.*<sup>91</sup>

Componente	Conteúdo (g/100 g)	
	Arábica	Robusta
Proteínas	10.0	10.0
Hidratos de carbono	38.0	41.5
Lípidos	17.0	11.0
Cafeína	1.3	2.4
Minerais	4.5	4.7
Ácido clorogénico	2.7	3.1

Entre os açúcares, estão por exemplo, a sacarose, a frutose, a galactose e a manose. Também estão identificados na sua composição vários aminoácidos, como a alanina, a glicina, a fenilglicina, a valina, entre outros. Vitaminas do complexo B e ácido clorogénico também estão presentes, além do componente mais conhecido, a cafeína (Figura I.4).<sup>92</sup>

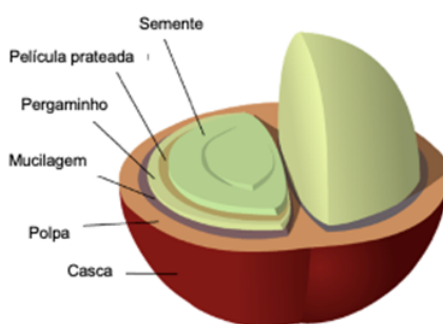


**Figura I.4** - Estrutura da Cafeína.

Os diversos passos de produção do café, desde a maturação da semente até à produção da bebida, tem impacto na sua composição química.<sup>93</sup>

O processamento do café envolve duas etapas principais, a transformação dos frutos em grãos de café verde e a sua torrefação. Inicialmente, após a sua colheita, os frutos são secos e descascados, podendo aplicar-se métodos distintos (húmido ou seco).<sup>94</sup> Em ambos os processos, os frutos são previamente lavados e passados por um processo criterioso de seleção.<sup>91</sup>

O processamento a seco é o método mais simples e menos poluente, sendo utilizado maioritariamente para o café do tipo Robusta e para uma grande quantidade do tipo Arábica produzido no Brasil.<sup>95</sup> O processo consiste na secagem dos frutos ao sol até atingirem cerca de 10-11% de humidade e a semente se desprender do pergaminho (Figura I.5). Em seguida, são encaminhados para a remoção da casca por ação mecânica (descascadora).<sup>94</sup> Este método dispensa gastos com equipamento e energia, porém requer grandes áreas de secagem e um clima seco e quente. Também exige alguns cuidados, nomeadamente evitar a proliferação de fungos e promover uma secagem homogênea.<sup>94,96</sup>



**Figura I.5** - Fruto do café com corte longitudinal. Adaptado de Verhagen.<sup>97</sup>

No processamento húmido, os frutos são descascados mecanicamente e enviados para um tanque de fermentação onde a mucilagem é degradada por ação enzimática e removida com água.<sup>91,96</sup> Posteriormente, os grãos são secos até atingirem ca. 12% de humidade, voltando novamente à descascadora para remover o pergaminho e a película prateada.<sup>94</sup> A produção de compostos voláteis durante a fermentação resulta num café mais rico em aroma, porém, esta etapa também representa uma desvantagem devido à necessidade de utilizar grandes volumes de água.<sup>92</sup>

---

Os resíduos sólidos de ambos os métodos levantam preocupações ambientais devido às elevadas quantidades geradas. Por cada tonelada de grãos de café produzido, é gerada ca. uma tonelada de resíduos sólidos.<sup>98</sup> Por serem ricos em proteínas de difícil digestão e compostos anti-nutricionais como a cafeína e os taninos, a sua utilização como ração animal é limitada.<sup>94</sup> De acordo com estudos realizados, um destino mais adequado para este desperdício é como cobertura de solos pobres em potássio visto que a casca e a polpa do café são ricas neste nutriente.<sup>99</sup> Os grãos de café defeituosos são comercializados a preços inferiores e muitas vezes misturados com os de boa qualidade nas torrefadoras.<sup>94</sup>

A água utilizada tanto na lavagem, em ambos os métodos, como nas outras etapas do processo por via húmida, não pode ser diretamente descarregada em cursos hídricos, devido à elevada carga de compostos orgânicos e inorgânicos.<sup>100</sup> Assim, as águas residuais geradas neste processo devem ser previamente tratadas antes de serem descartadas ou podem ser aproveitadas na fertirrigação de culturas agrícolas após filtração.<sup>101</sup> O processo húmido tradicional gera 20 m<sup>3</sup> de água residual por cada tonelada de fruto, porém, melhorias do processo permitem atualmente que esta quantidade seja reduzida para ca. 20 vezes.<sup>95</sup>

Numa segunda fase do processamento dos grãos de café, ocorre a produção do café torrado. Este processo pode ser em contínuo ou em lote, com queimadores a gás ou a óleo.<sup>96</sup> Os grãos verdes são submetidos ao processo de torra com aumento progressivo de temperatura até aproximadamente 200 °C, quando os grãos adquirem a sua coloração característica.<sup>91</sup> No final deste processo, o grão de café possui humidade entre 1.5 e 3.5% com 50 a 80% mais volume e 11 a 20% menos massa.<sup>91</sup> O processo de torrefação altera consideravelmente a composição química do grão devido às transformações que ocorrem nos compostos polifenólicos, nos polissacáridos e proteínas, resultando numa mistura complexa de produtos da reação de Maillard.<sup>92</sup>

Durante a torra, a película prateada remanescente no grão verde é queimada e removida. Estima-se que cada tonelada de café torrado produz aproximadamente 8 kg de película prateada,<sup>98</sup> com elevada carga orgânica, tendo um impacto ambiental preocupante, e adicionalmente, a presença de cafeína, taninos e polifenóis que conferem toxicidade a estes resíduos.<sup>92</sup> Atualmente são encaminhados para aterros ou queimados, porém tem sido explorada a sua aplicação devido às suas propriedades antioxidantes.<sup>102</sup>

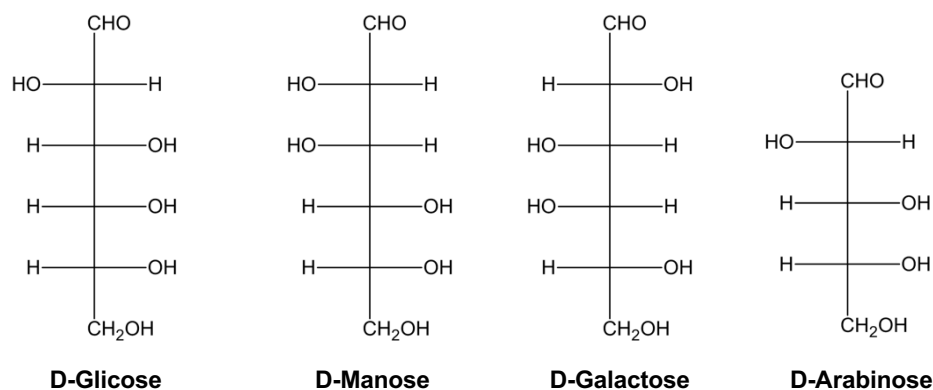
A produção de café instantâneo é realizada após os grãos terem sido torrados e moídos. Os sólidos solúveis são extraídos com água a 175 °C e pressurizada a fim de manter o seu estado líquido. Em seguida, ocorre a etapa de concentração por evaporação ou congelamento.<sup>92</sup> O resíduo insolúvel é altamente fibroso com elevada carga orgânica, exigindo grandes quantidades de oxigénio para a sua decomposição. Atualmente são encaminhados para aterros ou utilizados como combustível em caldeiras da própria indústria do café.<sup>94</sup> Estima-se que para a obtenção de 1 kg de café instantâneo seja gerado 2 kg de resíduo.<sup>98</sup>

Na extração do café com a finalidade de produzir a bebida, ocorre preferencialmente a extração dos compostos solúveis, assim como na preparação do café instantâneo, porém com condições menos severas, resultando numa extração incompleta.<sup>96</sup> A preparação da bebida de café é muito diversificada e cada uma resulta numa bebida com composição química diferente devido às condições utilizadas (rácio café/água, temperatura e pressão da água, volume final e armazenamento do café) (Tabela I.2). O café expresso, por exemplo, é o mais rico em antioxidante e consegue extrair mais lípidos do que o filtrado.<sup>92</sup>

**Tabela I.2** - Composição química da borra de café. Adaptado de Verhagen.<sup>97</sup>

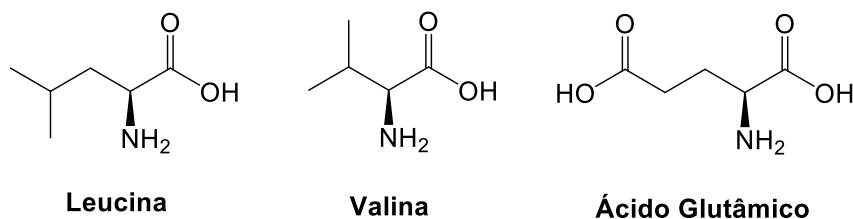
<b>Componente</b>	<b>Conteúdo (g/100 g base seca)</b>
Hidratos de carbono	45
Proteínas	13
Lípidos	13
Polifenóis	2.5
Cinzas	1.9

Durante a preparação da bebida, a maioria dos polissacáridos permanece na fração insolúvel, sendo os principais a manose (46.8%), a galactose (30.4%), a glucose (19%) e a arabinose (3.8%) (Figura I.6).<sup>103</sup> A quantidade de polissacáridos que são extraídos varia consoante a torra do café visto que quanto mais escura, maior a quantidade deste componente é degradada em frações solúveis.<sup>96</sup> A determinação de hidratos de carbono numa matriz complexa como o café é um processo difícil, estando por isso disponíveis diversos métodos para a quantificação dos açúcares redutores, nomeadamente técnicas de titulação, espectroscopia e cromatografia.<sup>96</sup>



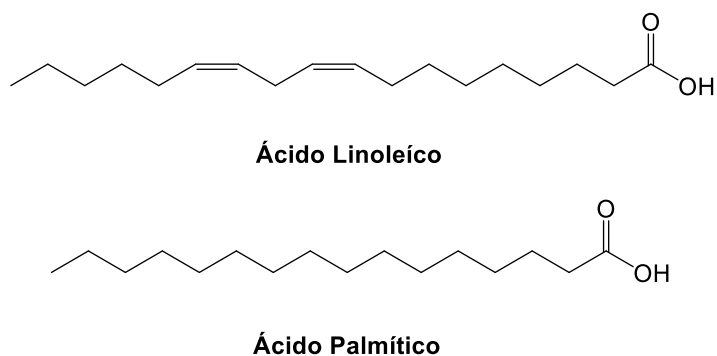
**Figura I.6** – Estruturas de polissacáridos presentes nas borras de café.

Segundo Lago *et al.*,<sup>104</sup> as borras são ricas em aminoácidos essenciais como a leucina e a valina e ainda em ácido glutâmico (Figura I.7). Assim, tal como para os hidratos de carbono, as proteínas são de difícil quantificação, sendo aplicados métodos gerais de determinação do azoto bruto, sendo este valor objeto de correção posterior.<sup>96</sup> Contudo, devido à presença de outras substâncias azotadas como a cafeína, o conteúdo proteico é por vezes sobrestimado, variando entre 6.7 e 14%.<sup>105</sup>



**Figura I.7** - Estrutura de aminoácidos presentes nas borras de café.

Os lípidos presentes em todos os subprodutos do café são compostos maioritariamente pelo ácido linoleico e palmítico (Figura I.8), sendo que o processo de obtenção da borra influencia diretamente o teor deste composto.<sup>92,105</sup> A sua quantificação é sempre feita por extração em Soxhlet com solvente orgânico.<sup>96</sup>



**Figura I.8** - Estrutura de lípidos presentes no café.

Os compostos fenólicos possuem atividade antioxidante, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória e anti-carcinogénica.<sup>105</sup> São representados pela cafeína e os ácidos clorogénicos, principalmente o ácido cafeoilquínico.<sup>98</sup> São compostos solúveis em água que tem o seu teor reduzido a cada etapa do processo do café. Os compostos fenólicos podem ser analisados por cromatografia ou espectroscopia e o seu resultado é habitualmente expresso em equivalente de ácido gálico.<sup>105</sup>

A maioria dos minerais é facilmente extraído durante a preparação do café, sendo o potássio o mais abundante (40%), seguido do magnésio, cálcio e fósforo.<sup>98,105</sup>

Atualmente as borras de café são queimadas, enviadas para aterros ou utilizadas na compostagem de solos para o cultivo de cogumelos. Porém, destinos alternativos para as borras de café têm vindo a ser explorados.<sup>97</sup> Silva *et al.*<sup>106</sup> atestaram a potencial utilização deste resíduo como combustível em fornalhas da indústria do café devido ao seu elevado poder calorífico (ca. 5000 kcalkg<sup>-1</sup>). Kondamudi *et al.*<sup>107</sup> demonstraram que as borras podem ser utilizadas como fonte para a produção de biodiesel de qualidade e *pellets* combustíveis. Machado *et al.*<sup>108</sup> estudaram o crescimento de fungos neste resíduo e a sua capacidade de produzir compostos fenólicos para a indústria alimentar e farmacêutica. Mussato *et al.*<sup>109</sup> avaliaram a utilização das borras como matéria-prima na produção de etanol e Sampaio *et al.*<sup>110</sup> na produção de bebida com cheiro e sabor de café.

A insolubilidade das borras de café, o seu elevado teor em matéria orgânica e a sua grande disponibilidade, tornam este resíduo um potencial precursor na síntese de PsC verdes, contribuindo para uma economia circular.<sup>111</sup> Os compostos aromáticos e a grande diversidade de grupos funcionais presentes, possibilitam a obtenção de maiores rendimentos e um melhor controlo sobre a dimensão dos nanomateriais

---

produzidos, bem como das funcionalidades presentes na superfície.<sup>40</sup> A presença de cafeína e outras moléculas contendo azoto, permite uma dopagem *in situ* através do processo de carbonização simples.

Hsu *et al.*<sup>65</sup> produziram NPsC a partir do café com diâmetro de 5 nm e rendimento quântico de fluorescência de 3.8%. Ge *et al.*<sup>111</sup> sintetizaram NPsC por tratamento hidrotérmico das borras de café a 190 °C durante 5 horas, obtendo um RQ de 5%. O recurso a irradiação assistida por microondas, utilizando água como solvente, permitiu a obtenção de PQsC a partir das borras de café com rendimento mássico de 96%, porém sem avaliação do rendimento quântico.<sup>40</sup> Outros autores<sup>77</sup> solubilizaram 4 g de café instantâneo em 200 mL de água a 90 °C. Após filtrada, a mistura foi analisada e observou-se a presença de NPsC fluorescentes com tamanho médio de 4.4 nm e RQ de 5.5%. Outras fontes de borras têm sido estudadas na produção de NPsC, nomeadamente provenientes de cápsulas de café expresso de marcas distintas, recorrendo a aquecimento a 200 °C durante 4 horas na ausência de solvente. As nanopartículas obtidas apresentaram um tamanho médio entre 2.1 e 3.9 nm e rendimento quântico até ca. 0.06.<sup>112</sup>

---

## **II. RESULTADOS E DISCUSSÃO**



---

## II.1 PREÂMBULO

A valorização de resíduos como precursores de síntese sustentáveis tem sido um tema com especial destaque na comunidade científica. Desde a sua descoberta, os NPsC têm despertado particular atenção devido às suas propriedades fotofísicas e baixa toxicidade, fomentando a exploração do seu potencial em diversas áreas, como por exemplo na aplicação como sensores, fotossensibilizadores, fotocatalisadores e nanotransportadores de drogas no tratamento contra o cancro.

Neste capítulo serão apresentados os métodos utilizados na síntese de NPsC recorrendo a borras de café de diferentes origens como fonte de carbono. Recorreu-se à recolha de borras de café em máquinas de cafetaria e de venda automática existentes no Campus do ISEL, sendo designadas ao longo do texto como B-MAC-1 (Nicola® Premium), B-MAC-2 (Camelo® Qattara El Dorado) e B-MVA (Sical® Vending). A elevada produção deste resíduo associado à sua baixa biodegradabilidade gera forte impacto ambiental. Realizou-se a caracterização físico-química (sólidos totais, açúcares, flavonoides, fenóis totais, proteínas, cinzas e lípidos) das borras e dos respetivos grãos do café virgem e foram traçados os seus espectros de FTIR.

Os NPsC sintetizados por processos hidrotérmicos, quer num reator de alta pressão, quer por irradiação assistida por microondas, foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de protão (RMN  $^1\text{H}$ ), análise elementar (AE) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As propriedades fotofísicas dos NPsC foram avaliadas por espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-Vis) e por fluorescência de estado estacionário. Os NPsC que mostraram rendimentos quânticos de fluorescência mais relevantes, foram empregues na deteção de poluentes, designadamente nitroanilinas isoméricas. O processo de extinção de fluorescência foi seguido por espectroscopia de fluorescência de estado estacionário e fluorescência resolvida no tempo.

Foi ainda explorada a sensibilidade dos NPsC sintetizados a metais pesados e compostos nitroaromáticos empregues no fabrico de explosivos.

## II.2 CARACTERIZAÇÃO DAS BORRAS E DOS GRÃOS DE CAFÉ

No presente trabalho foi realizada a síntese de NPsC utilizando borras de café de diferentes origens. Nesta Secção será efetuada a sua caracterização por técnicas adaptadas da literatura.

A quantificação dos açúcares, proteínas, fenóis e flavonoides foi realizada no extrato aquoso obtido após extração em Soxhlet utilizando água como solvente; o teor de lípidos e as cinzas foram determinadas diretamente a partir das amostras originais.

### II.2.1 Quantificação de Sólidos Totais

Realizou-se a determinação do teor de sólidos presente no extrato aquoso obtido (ca. 260 mL) após extração em Soxhlet de 20 g de borras (ou grão) de café levando à secura tomas de 10 mL. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela II.1.

**Tabela II.1** - Quantificação de sólidos totais do extrato aquoso.

	Amostra	Sólidos Totais	
		(mg/mL extrato)	(g/100 g borra ou grão)
	B-MAC-1	9.58	12.45
<b>Borra</b>	B-MAC-2	5.70	7.41
	B-MVA	5.28	6.85
	G-MAC-1	21.72	28.20
<b>Grão</b>	G-MAC-2	17.23	22.38
	G-MVA	16.77	21.77

Atendendo que as borras sofreram previamente um processo extrativo resultante da preparação da bebida (café expresso), é expectável que o teor de sólidos obtido nas amostras dos grãos de café seja superior. Passos *et al.*<sup>113</sup> quantificaram o teor de sólidos solúveis em borras de café utilizando irradiação assistida por microondas, tendo obtido valores que variaram entre 8.3 a 13.8%. Outros autores determinaram o teor de sólidos solúveis numa vasta diversidade de amostras de borras de café obtendo valores entre 11.6 e 27.5%.<sup>114</sup> Segundo Illy e Viani,<sup>115</sup> no processo de percolação a que o café moído é submetido para obtenção da bebida, o rendimento da extração varia entre 20 e 30%, dependendo da temperatura da água,

do rácio mássico café/água, da torrefação a que os grãos foram submetidos, bem como a sua origem. Os resultados apresentados na Tabela II.1 são comparáveis com os reportados na literatura.<sup>113–115</sup>

## II.2.2 Quantificação de Açúcares

O conteúdo de açúcares totais do extrato aquoso foi determinado recorrendo a um método espectrofotométrico<sup>116</sup> adaptado. Utilizou-se como padrão a  $\beta$ -D-glucose dado que se desconhece a natureza dos açúcares que possam estar presentes nas amostras em estudo. O método baseia-se na desidratação sofrida pelos açúcares em condições ácidas e/ou a altas temperaturas. Os derivados das unidades de pentose e hexose são o furfural e o hidróxi-metil furfural respetivamente, que condensam quando na presença de fenol, produzindo compostos estáveis de coloração amarelada. Os produtos com origem nas unidades de pentose apresentam maior absorção no UV-Vis a 480 nm e para as hexoses ocorre um desvio batocrómico para 490 nm.<sup>117</sup>

**Tabela II.2** - Quantificação de açúcares totais.

	<b>Amostra</b>	<b>Equiv. <math>\beta</math>-D-glucose (g/100 g extrato)</b>
	B-MAC-1	22.04 $\pm$ 0.98
<b>Borra</b>	B-MAC-2	25.77 $\pm$ 1.61
	B-MVA	27.62 $\pm$ 0.60
	G-MAC-1	10.87 $\pm$ 0.69
<b>Grão</b>	G-MAC-2	12.22 $\pm$ 0.82
	G-MVA	16.26 $\pm$ 1.00

Diversos estudos demonstraram que cerca de metade do grão verde de café é composto por polissacáridos, em particular a manose, o arabinogalactano (polissacárido formado por arabinose e galactose) e a celulose.<sup>118</sup> O processo de torrefação aumenta a solubilidade dos dois primeiros devido à perda da estrutura da parede celular. Por outro lado, a maioria dos polissacáridos permanece na fração insolúvel durante a produção da bebida, nomeadamente, na borra de café.<sup>119</sup> Segundo Illy e Viani,<sup>115</sup> o teor de açúcares solúveis presentes na bebida representa apenas 15% dos sólidos presentes, pois apesar da elevada quantidade de açúcares presentes

no grão, apenas uma pequena parte é solúvel em água. Além do processo de torrefação, o método de obtenção da bebida pode influenciar a degradação hidrolítica dos hidratos de carbono insolúveis, aumentando o conteúdo de compostos solúveis.

Simões *et al.*<sup>119</sup> quantificaram os açúcares presentes numa borra torrada a 220 °C antes e após extração com água. Recorrendo a cromatografia gasosa, verificaram-se que a percentagem total de açúcar passou de 60% para ca. 21% do extrato seco. Passos *et al.*<sup>113</sup> utilizaram o mesmo método para quantificar o teor de açúcares numa solução aquosa resultante da extração de borras de café por irradiação assistida por microondas, tendo quantificado 40 a 65% de açúcares nos extratos obtidos.

Este aumento do conteúdo de açúcares no extrato aquoso das borras comparativamente aos grãos (*cf.* Tabela II.2) é corroborado por dados da literatura,<sup>120</sup> verificando-se que após sucessivas extrações das borras de café, embora o rendimento de sólidos extraídos diminuísse, a fração de açúcar presente nos mesmos aumentava progressivamente.

### II.2.3 Quantificação de Flavonoides

Para a determinação do teor de flavonoides, utilizou-se um método espectrofotométrico,<sup>121</sup> tendo por base a formação de complexos entre a amostra (borra ou grão) e o catião  $Al^{3+}$  (método do cloreto de alumínio), exibindo máximos de absorção entre 410 e 430 nm. Na Tabela II.3 estão reunidos os resultados obtidos.

**Tabela II.3** - Quantificação de flavonoides.

Amostra	Equiv. Quercetina (EQ)		
	(mg/g extrato)	(mg/g borra ou café)	
B-MAC-1	20.1	2.50 ± 0.06	
<b>Borra</b>	B-MAC-2	24.3	1.80 ± 0.03
	B-MVA	32.4	2.02 ± 0.06
G-MAC-1	16.2	4.56 ± 0.08	
<b>Grão</b>	G-MAC-2	21.0	4.68 ± 0.09
	G-MVA	28.1	6.06 ± 0.13

Estudos recentes conduziram à obtenção de 0.65 mg de equivalente de EQ/g de borra de café para o teor de flavonoides em borra de café previamente hidratada, valor bastante mais baixo do que o observado para as borras analisadas neste trabalho (Tabela II.3).<sup>122</sup> Panusa *et al.*<sup>123</sup> realizaram a extração de duas amostras de borras de café utilizando água pura e metanol a 60% e procederam à quantificação dos flavonoides. Os extratos aquosos apresentaram teores de 3.24 e 3.31 mg EQ/g de borra, respetivamente e nos extratos orgânicos os valores encontrados foram 5.63 e 8.03 mg EQ/g de borra, respetivamente. Outros investigadores<sup>124</sup> procederam à extração com água de várias amostras de café torrado durante 30 minutos, obtendo teores em flavonoides entre 0.15 e 1.03 mg EQ/g de café. Globalmente, nas condições testadas, os resultados obtidos (Tabela II.3) estão concordantes com os dados da literatura;<sup>122,123</sup> o valor bastante mais elevado obtido nos grãos de café, poderá ser justificado atendendo ao período extrativo ter sido mais prolongado comparativamente ao reportado.<sup>124</sup>

#### II.2.4 Quantificação de Fenóis Totais

A quantificação dos fenóis totais nos extratos aquosos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu<sup>125</sup> no qual ocorre a formação de um complexo de fosfotungstato-fosfomolibdato de cor azul intensa.<sup>126</sup>

Os resultados estão apresentados na Tabela II.4.

**Tabela II.4** - Quantificação de fenóis totais.

Amostra	Equiv. Ácido Gálico (EAG)	
	(mg/g extrato)	(mg/g borra ou café)
B-MAC-1	60.5	7.52 ± 0.12
<b>Borra</b> B-MAC-2	98.7	7.31 ± 0.19
B-MVA	98.7	6.76 ± 0.10
G-MAC-1	91.4	25.82 ± 0.28
<b>Grão</b> G-MAC-2	102.1	22.81 ± 0.31
G-MVA	128.9	28.06 ± 0.44

Utilizando o mesmo método de doseamento, Mussatto *et al.*<sup>127</sup> quantificaram o teor de fenóis da fração aquosa proveniente da extração de borras de café obtendo 7.4 mg de EAG/g de borra extratada. Kreicbergs *et al.*<sup>124</sup> recorreram a HPLC para determinar o conteúdo de fenóis totais num lote de amostras de café torrado, tendo obtido valores entre 13 e 37 mg EAG/g de amostra. Num estudo realizado onde foram avaliados diversos parâmetros de extração de fenóis a partir das borras, foi verificado que os fatores que mais influenciam o processo são a temperatura, o tempo de extração, o rácio líquido/sólido e a concentração de etanol em água. Manipulando estes parâmetros, verificaram para uma mesma amostra, resultados entre 9.23 e 17.09 mg EAG/g de borra de café. O teor de fenóis totais mais elevado foi alcançado realizando a extração a 50 °C, durante 2 horas, utilizando EtOH a 70%/g de solvente.<sup>128</sup> Os resultados apresentados são concordantes com os valores reportados na literatura<sup>124,127,128</sup> para extrações aquosas, porém ligeiramente inferiores quando comparados com extrações realizadas com etanol.

### II.2.5 Quantificação de Proteínas

O teor de proteínas no extrato aquoso foi determinado através de um método espectrofotométrico<sup>129</sup> recorrendo a azul de Coomassie, resultando na formação de um complexo com as proteínas presentes na amostra, que exibe cor laranja-acastanhada e um máximo de absorção a 620 nm. Na Tabela II.5 são apresentados os resultados obtidos para os grãos de café e respetivas borras.

**Tabela II.5** - Quantificação de proteínas.

Amostra	Equiv. albumina de soro bovino (BSA)		
	(mg/g extrato)	(mg/g borra ou café)	
B-MAC-1	25.3	3.05 ± 0.59	
<b>Borra</b>	B-MAC-2	25.8	1.90 ± 0.36
	B-MVA	32.2	2.43 ± 0.66
G-MAC-1	10.3	2.94 ± 0.60	
<b>Grão</b>	G-MAC-2	11.4	2.56 ± 0.69
	G-MVA	38.9	6.98 ± 0.83

---

Segundo Arya e Rao,<sup>130</sup> o conteúdo de proteínas solúveis no café torrado varia entre 10 e 20 mg/g, atingindo ca. 110 mg/g para as proteínas insolúveis. Estes valores corroboram os apresentados por Moreira *et al.*<sup>131</sup> que quantificaram as proteínas totais no café torrado do tipo Arábica e Robusta em 133 e 161 mg/g de café torrado, respetivamente, recorrendo à determinação do teor azoto pelo método Kjeldahl, com um incremento de 6.25. Também Brand *et al.*<sup>132</sup> referem que dada a presença de compostos azotados não proteicos como a cafeína, no café e respetivas borras, a determinação do teor de proteínas utilizando este método, conduz a valores sobreestimados, sendo o resultado real ca. 75% do referido.

A aplicação deste método conduziu à obtenção do teor de proteínas totais numa borra de café de 136 mg/g.<sup>103</sup> Em 2016, Conde e Mussato<sup>102</sup> submeteram borra de café a tratamento hidrotérmico e quantificaram o teor de proteínas pelo método espectrofotométrico, obtendo o valor de 15.24 mg de BSA/g borra.

Os resultados apresentados são efetivamente inferiores aos reportados na literatura,<sup>102,103,130,131</sup> porém, é necessário referir que foram quantificadas apenas as proteínas solúveis por um método direto que, como mencionado anteriormente, conduz a valores inferiores aos obtidos pelo método de determinação de proteínas com base no teor de azoto.

### II.2.6 Quantificação do Teor de Cinzas

A quantificação do teor de cinzas permite inferir sobre a quantidade de compostos inorgânicos presentes nas borras e grãos de café. Esta análise foi realizada em mufla a 600 °C durante 4 horas, tendo sido obtido um resíduo cinzento-esbranquiçado em todas as amostras. As condições empregues foram baseadas no método descrito por Rabemanolontsoa *et al.*<sup>133</sup> para a determinação das cinzas em biomassa. Na tabela seguinte encontram-se reunidos os valores obtidos.

**Tabela II.6** - Quantificação de cinzas.

	Amostra	Cinzas
		(g/100 g borra ou café)
<b>Borra</b>	B-MAC-1	1.5 ± 0.04
	B-MAC-2	1.8 ± 0.08
	B-MVA	1.2 ± 0.04
<b>Grão</b>	G-MAC-1	4.4 ± 0.00
	G-MAC-2	4.2 ± 0.06
	G-MVA	4.6 ± 0.05

Segundo a literatura,<sup>91</sup> o conteúdo de cinzas do café torrado varia consoante a origem do grão, sendo 4.5% para o lote Arábica e 4.7% para o lote Robusta. Ballesteros *et al.*<sup>134</sup> e Mussato *et al.*<sup>103</sup> determinaram o teor de cinzas em borras de café, tendo ambos obtido valores muito semelhantes, 1.3% e 1.6%, respetivamente.

Os resultados obtidos são assim concordantes com os reportados.<sup>91,103,134</sup> O fato dos teores das borras serem inferiores ao dos grãos de café é expectável devido à natureza hidrofílica dos compostos inorgânicos e minerais, que no processo de produção da bebida se solubilizam na fase aquosa.

### II.2.7 Quantificação do Teor de Lípidos

A quantificação dos lípidos foi realizada por extração em Soxhlet com *n*-hexano durante 8 h, seguida de evaporação do solvente e secagem do resíduo sob vácuo. Este método é habitualmente aplicado para a determinação do teor de lípidos em diversos tipos de amostras, incluindo todos os produtos e subprodutos da produção do café.<sup>97,114,122</sup> Os valores obtidos para as amostras em avaliação são apresentados na Tabela II.7.

**Tabela II.7** - Quantificação de lípidos.

	Amostra	Lípidos
		(g/100 g borra ou café)
<b>Borra</b>	B-MAC-1	10.7
	B-MAC-2	10.3
	B-MVA	11.6
<b>Grão</b>	G-MAC-1	9.6
	G-MAC-2	7.9
	G-MVA	8.5

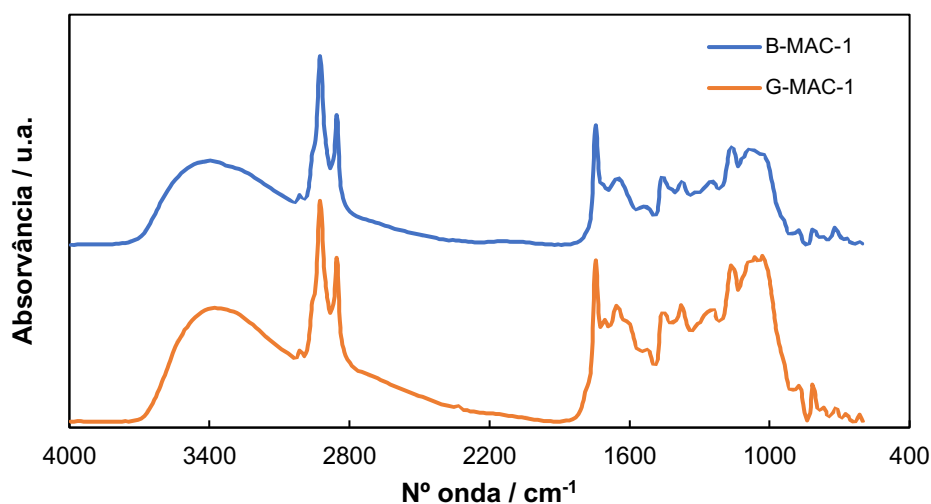
Segundo Pérez-Sariñana e Saldaña-Trinidad,<sup>135</sup> o teor de lípidos presente no café torrado varia entre 11 e 16%, podendo esta diferença ser justificada pelo fato do grão do tipo Arábica possuir um teor mais alto que o tipo Robusta, de 17 e 11% respectivamente.<sup>91</sup>

Scully *et al.*<sup>122</sup> realizaram a extração de borra de café por extração em Soxhlet com *n*-hexano durante 6 horas, tendo obtido um teor de 13.1%. Cruz *et al.*<sup>114</sup> analisaram um lote de maior amplitude e encontraram valores entre 9.3 e 16.2%.

A razão para as borras apresentarem um maior teor de lípidos comparativamente aos grãos de café, está relacionada com o fato dos compostos hidrofílicos já terem sido previamente removidos no processo de obtenção da bebida, aumentando assim o teor de compostos hidrofóbicos.

### II.2.8 Caracterização Estrutural

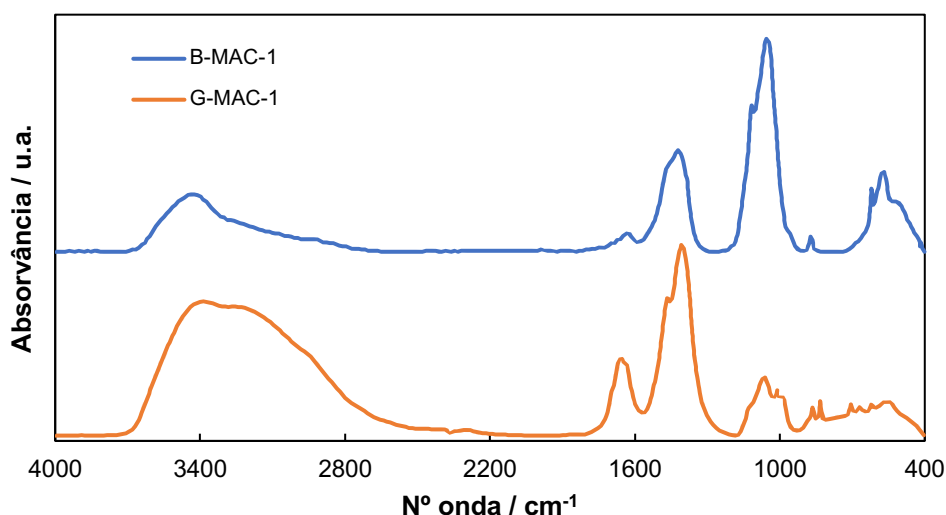
As borras de café recolhidas nos diferentes locais e respectivos grãos foram analisadas por FTIR em pastilha de KBr, sendo possível identificar alguns grupos funcionais presentes. A Figura II.1 apresenta os espectros obtidos para as borras e grãos de café provenientes da amostra MAC-1, observando-se perfis análogos para os restantes lotes.



**Figura II.1** - Espectros de FTIR das borras (B-MAC-1) e dos grãos de café (G-MAC-1) em pastilha de KBr.

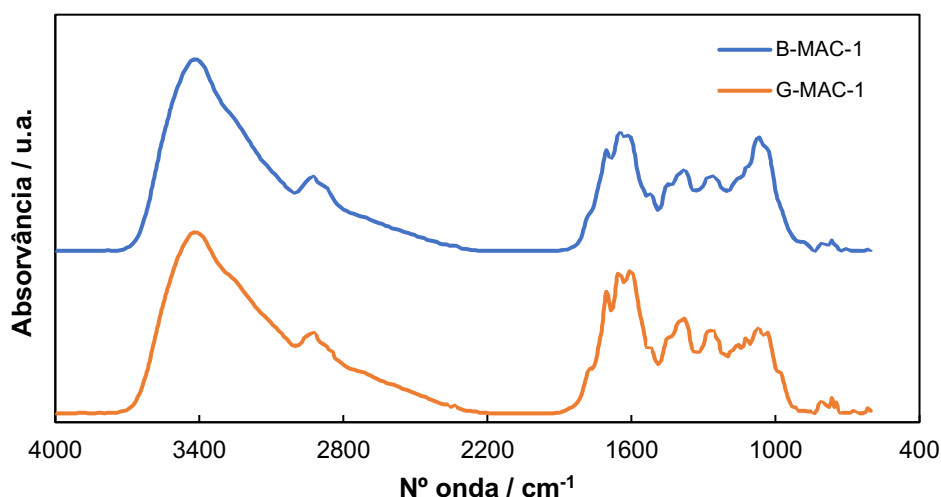
A banda larga a  $3397\text{ cm}^{-1}$  é atribuível às vibrações de extensão O-H e N-H. Verifica-se também a presença de bandas de vibração de extensão C-H a  $2962$ ,  $2925$  e  $2857\text{ cm}^{-1}$  correspondentes a grupos alifáticos, bem como bandas de extensão a  $1745$  e  $1655\text{ cm}^{-1}$  associadas C=O e C=C. As bandas a  $1378$ ,  $1243$ ,  $1164$  e  $1087\text{ cm}^{-1}$  têm origem nas vibrações de deformação das ligações C-O, C-H e C-N presentes nos polissacáridos e ácidos clorogénicos.<sup>134,136</sup>

As cinzas e os extratos aquosos previamente secos a  $105\text{ °C}$  foram igualmente caracterizados por FTIR (Figura II.2 e Figura II.3, respetivamente). Apenas os espectros referentes às borras da MAC-1 são apresentados, verificando-se mais uma vez perfis similares para as restantes borras em avaliação.



**Figura II.2** - Espectros de FTIR das cinzas das borras (B-MAC-1) e dos grãos de café (G-MAC-1) em pastilha de KBr.

Nos espectros apresentados na Figura II.2 verifica-se a presença de uma banda larga da vibração O-H a  $3410\text{ cm}^{-1}$ , possivelmente associada à presença de água na amostra, assim como a banda de C=O a ca.  $1640\text{ cm}^{-1}$ . A banda a  $1440\text{ cm}^{-1}$  é atribuível à presença de carbonatos e nitratos, sendo mais expressiva nos grãos devido à solubilidade destes sais. As bandas entre  $1100$  e  $950\text{ cm}^{-1}$  podem ser associadas aos ácidos clorogênicos e aos polissacáridos devido às vibrações das ligações de C-H, C-O-C, C-N e P-O.<sup>136</sup>



**Figura II.3** - Espectros de FTIR do extrato aquoso das borras (B-MAC-1) e dos grãos (G-MAC-1) em pastilha de KBr.

Os espectros de FTIR dos extratos aquosos (Figura II.3) apresentam perfis similares aos espectros das borras e grãos de café sem processo extrativo (Figura

II.1), embora com uma menor contribuição das vibrações C-H de grupos alifáticos e grupo C=O.

A análise elementar da amostra de borras de café B-MAC-1 revelou os seguintes teores: C, 45.86%; H, 5.26%; N, 4.16%; O (calc.), 43.21%; S, <0.3%, enquanto para a amostra de G-MAC-1 foram obtidos os valores de C, 47.44%; H, 5.24%; N, 4.69%; O (calc.), 38.24%; S, <0.3%. Os valores apresentados foram obtidos após correção do teor de cinzas em 1.51 e 4.39% para B-MAC-1 e G-MAC-1, respectivamente.

### **II.3 SÍNTESE DE NPsC A PARTIR DAS BORRAS DE CAFÉ**

A síntese dos NPsC foi realizada por carbonização hidrotérmica recorrendo a aquecimento convencional (CHAC) num reator de alta-pressão e também por carbonização hidrotérmica assistida por irradiação microondas (CHMO). As misturas reacionais foram purificadas por extração líquido-líquido.

Os resultados obtidos serão discutidos correlacionando as propriedades exibidas pelos NPsC com as fontes de matéria-prima, os agentes de passivação e as condições operacionais empregues.

#### **II.3.1 Carbonização Hidrotérmica com Aquecimento Convencional (CHAC)**

O vaso do reator de alta-pressão foi carregado com 3.69 g de borras de café e 120 mL de água Millipore®. A mistura reacional foi submetida a tratamento hidrotérmico por tempo previamente estabelecido, a uma dada temperatura, na presença ou ausência de aditivo (e.g. etilenodiamina, dietilenotriamina, ureia ou melamina). Os resultados obtidos revelaram que a variação da temperatura foi o parâmetro com maior impacto, quer no rendimento quântico, quer no rendimento mássico dos NPsC produzidos (Tabela II.8). Os resultados apresentados foram realizados utilizando as borras de café B-MAC-1 sob atmosfera inerte durante 4 horas e com ED com um rácio mássico de 0.16.

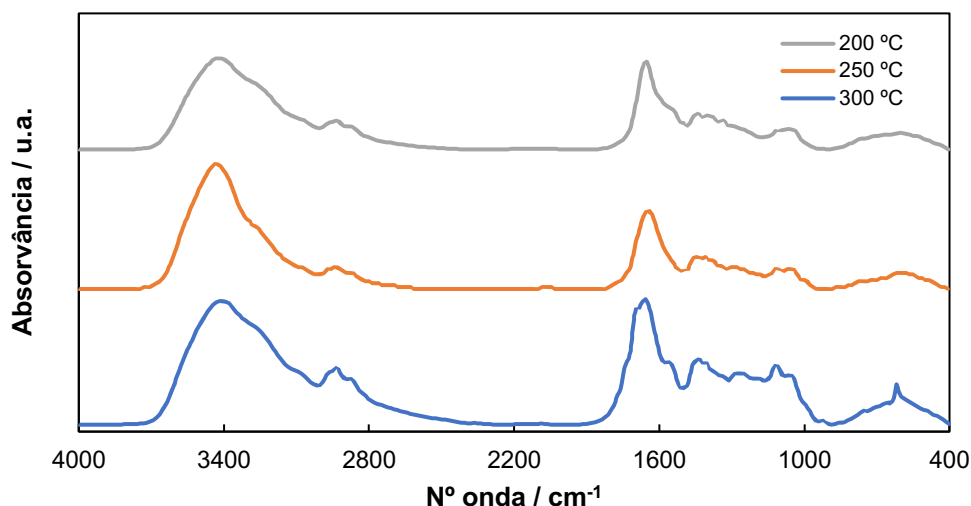
**Tabela II.8** - Efeito da temperatura no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC.<sup>1</sup>

Entrada	T (°C)	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	200	15.5	6.63	0.07
2	250	16.5	6.78	0.12
3	300	9.8	4.20	0.18

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 3.69 g), ED (9.67 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 4h, agitação.

A análise dos resultados permite concluir que o melhor rendimento quântico (18%) foi alcançado a 300 °C, sendo que a percentagem mássica dos NPsC obtidos variou de modo inverso. De acordo com o reportado na literatura, este resultado é inesperado uma vez que o aumento da temperatura da reação promove a degradação das espécies emissivas, e consequentemente a diminuição do RQ dos NPsC.<sup>137</sup>

Através da análise dos espectros de FTIR (Figura II.4) verifica-se que com o aumento da temperatura as bandas referentes ao estiramento da ligação N-H a 3400 cm<sup>-1</sup> e o seu desdobramento a 1550 cm<sup>-1</sup> se tornam mais pronunciadas. As bandas correspondentes ao estiramento da ligação C=O a 1640 cm<sup>-1</sup> e aos alifáticos a 2900 cm<sup>-1</sup> também sofrem aumento da sua intensidade.



**Figura II.4** - Espectros de FTIR em pastilhas de KBr dos NPsC sintetizados por CHAC a diferentes temperaturas.

O impacto do tempo de residência das borras de café MAC-1 no reator nas características dos NPsC sintetizados foi avaliado a 250 °C sob atmosfera inerte, na presença de ED (Tabela II.9).

**Tabela II.9** - Efeito do tempo de reação no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC.<sup>1</sup>

Entrada	Tempo (h)	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	4	16.5	6.78	0.12
2	6	14.5	6.18	0.15
3	8	16.6	7.07	0.15
4	12	14.7	5.98	0.15

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 3.69 g), ED (9.67 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 250 °C, agitação.

Verifica-se que períodos mais prolongados favorecem o rendimento quântico, o que é expectável devido à formação do núcleo de carbono.<sup>138</sup> Porém, para tempos superiores a 6 horas não se observa benefício relevante. A estagnação do rendimento quântico com o aumento do tempo de reação encontra-se reportada na literatura,<sup>139</sup> assim como seu decréscimo<sup>140</sup> sendo este relacionado com o aumento da dimensão dos NPsC.

O parâmetro reacional avaliado de seguida foi o efeito do aditivo. Para além da ED, foram testadas outras aminas (melamina, ureia e DET) e comparados os resultados obtidos com um ensaio realizado na ausência de aditivo (Tabela II.10).

**Tabela II.10** - Efeito da natureza do aditivo no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC.<sup>1</sup>

Entrada	Aditivo	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	—	10.0	3.69	0.05
2	ED	16.0	7.20	0.18
3	Melamina	10.3	5.16	0.05
4	Ureia	10.8	4.39	0.08
5	DET	20.4	7.90	0.15

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 3.69 g), rácio mássico (Aditivo/B-MAC-1) = 0.16, 250 °C, 6h, agitação.

Embora seja evidente um maior rendimento mássico na presença de dietilenotriamina, a ED apresentou melhor desempenho comparativamente aos outros aditivos testados, exibindo o rendimento quântico mais elevado.

A análise elementar do ensaio realizado com ED (Tabela II.10, entrada 2) revelou, após correção do teor de cinzas em 5.26%, os valores de C, 56.82%; H, 6.52%; N, 11.20%; O (calc.), 20.03%; S, 0.16%. Para o ensaio na presença de DET (Tabela II.10, entrada 5), o teor de azoto obtido foi da mesma ordem de grandeza (N, 12.07%), justificando que estes aditivos contribuem para o aumento significativo do RQ, contrastando com o valor obtido na ausência de amina (N, 6.09%; Tabela II.10, entrada 1).

O efeito da quantidade de aditivo nas características dos NPsC foi igualmente explorado. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na Tabela II.11.

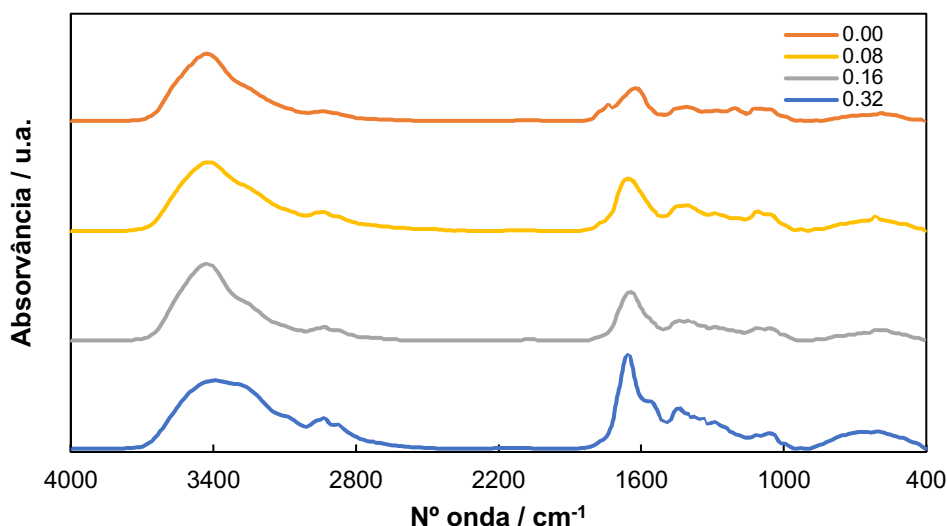
**Tabela II.11** - Efeito da quantidade de ED no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC.<sup>1</sup>

Entrada	Rácio mássico	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	0.00	10.0	3.69	0.05
2	0.08	14.5	5.24	0.09
3	0.16	16.5	6.78	0.12
4	0.32	25.5	11.22	0.14

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 3.69 g), 250 °C, 4h, agitação.

Verificou-se que o aumento do rácio mássico do aditivo contribuiu favoravelmente, quer no rendimento quântico, quer no rendimento mássico, sendo evidente uma tendência crescente para ambos os parâmetros. Este resultado terá na sua origem a capacidade de passivação/funcionalização da ED.<sup>7</sup>

Através dos espectros de FTIR (Figura II.5) verifica-se as mudanças estruturais causadas pelo acréscimo de ED que conduziram a melhores resultados. A banda de C=O a 1745 cm<sup>-1</sup>, observada nas borras (*vide* Figura II.1), desaparece na presença de aditivo, ocorrendo o surgimento (e aumento) de bandas a 1660 e 1440 cm<sup>-1</sup>, indiciando a presença de funcionalidades ácidas e amidas na superfície. O ombro mais proeminente no ensaio com 0.32 de rácio mássico, a ca. 3290 cm<sup>-1</sup>, está associado às vibrações de O-H e N-H. Verifica-se também o aumento de compostos alifáticos evidenciado pelo aparecimento progressivo das bandas entre 2850 e 2950 cm<sup>-1</sup>.



**Figura II.5** - Espectros de FTIR em pastilhas de KBr dos NPsC sintetizados por CHAC com diferentes rácios mássicos ED/borras.

O efeito do desarejamento da mistura reacional nas propriedades dos NPsC sintetizados foi igualmente avaliado (Tabela II.12). Os resultados obtidos demonstraram que a presença de atmosfera inerte não surtiu impacto nas características luminescentes, nem no rendimento dos NPsC produzidos.

**Tabela II.12** - Efeito da atmosfera de reação no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC.<sup>1</sup>

Entrada	Atmosfera	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	Ar	15.4	8.20	0.17
2	N <sub>2</sub>	14.5	6.18	0.15

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 3.69 g), ED (9.67 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 250 °C, 6h, agitação.

Considerando que a origem dos grãos de café, bem como o seu processamento, designadamente a secagem e a torrefação, têm impacto direto nas características físico-químicas dos diferentes lotes de café, antecipou-se que as respetivas borras obtidas da bebida pudessem produzir NPsC com características diferenciadas.

Nessa perspetiva, foram realizados ensaios com os três lotes de borras objeto de estudo no presente trabalho, nas condições típicas da reação. (Tabela II.13).

**Tabela II.13** - Efeito da origem da matéria-prima no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHAC.<sup>1</sup>

Entrada	Borras	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	B-MAC-1	15.4	8.20	0.17
2	B-MAC-2	16.5	6.42	0.16
3	B-MVA	11.6	7.20	0.18

<sup>1</sup>Condições típicas: Borras (ca. 3.69 g), ED (9.67 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 250 °C, 6h, agitação.

Verifica-se que a origem das borras de café não evidencia um impacto significativo no rendimento quântico dos NPsC obtidos. Parâmetros como a granulometria do café e a eficiência do processo extrativo aquando da preparação da bebida (e.g. compactação do café, pressão exercida pela máquina automática) contribuirão para uma composição diferenciada das borras produzidas, mas aparentemente sem impacto nas características dos NPsC sintetizados.

### II.3.2 Carbonização Hidrotérmica Assistida por Irradiação Microondas (CHMO)

Atendendo às limitações impostas pela capacidade do tubo a utilizar no reator microondas, os ensaios foram realizados utilizando aproximadamente 154 mg de borras de café e 5 mL de água Millipore®. Após ser selado o tubo de *pyrex* com septo de teflon, a mistura reacional foi submetida a tratamento hidrotérmico nas condições de temperatura e tempo de irradiação previamente estabelecidos. As sínteses foram conduzidas na presença e ausência de aditivo.

Sendo um dos objetivos inicialmente delineados avaliar o efeito do tipo de aquecimento nas características dos NPsC, foram igualmente explorados os mesmos parâmetros anteriormente descritos para os ensaios realizados por CHAC.

A gama de temperaturas testada variou de 130 a 210 °C. Os resultados encontram-se descritos na seguinte tabela.

**Tabela II.14** - Efeito da temperatura no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO.<sup>1</sup>

Entrada	T (°C)	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	130	13.7	12.20	0.01
2	160	8.70	31.00	0.02
3	190	17.0	10.07	0.06
4	210	10.4	12.33	0.07

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 154 mg), ED (0.40 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 1h, agitação.

O aumento da temperatura revelou um impacto positivo no rendimento quântico dos NPsC obtidos, resultado que corrobora o anteriormente observado nos NPsC produzidos por CHAC. O ensaio a 210 °C revelou-se assim vantajoso atendendo às características dos NPsC, contudo, nestas condições operatórias, atinge-se o limite de pressão do reator, não sendo viável explorar temperatura superiores.

O tempo de reação também foi analisado, percorrendo tempos de residência de 1 a 4 horas, a 190 °C, sob atmosfera inerte. Os resultados estão apresentados na Tabela II.15.

**Tabela II.15** - Efeito do tempo de reação no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO.<sup>1</sup>

Entrada	Tempo (h)	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	1	17.0	10.07	0.06
2	2	16.2	10.70	0.09
3	3	15.2	9.00	0.09
4	4	9.7	8.60	0.09

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 154 mg), ED (0.40 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 190 °C, agitação.

O aumento do tempo de reação é desfavorável ao rendimento mássico, observando-se um decréscimo considerável, no entanto sem impacto significativo no rendimento quântico nos NPsC obtidos após 2h.

Da avaliação do desempenho dos diferentes aditivos, embora a DET se destaque no rendimento mássico (20.5%), continua a ser a ED que conduz a NPSC com melhores características luminescentes (9.1%; Tabela II.16).

**Tabela II.16** - Efeito da natureza do aditivo no rendimento quântico e mássico dos NPSC obtidos por CHMO.<sup>1</sup>

Entrada	Aditivo	Rendimento NPSC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	ED	15.2	9.00	0.09
2	Melamina	11.5	6.80	0.04
3	Ureia	12.0	7.10	0.03
4	DET	20.5	1.40	0.08

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 154 mg), aditivo (0.40 mmol), rácio mássico (aditivo/B-MAC-1) = 0.16, 190 °C, 3h, agitação.

Em ambos os métodos de tratamento hidrotérmico (aquecimento convencional e irradiação assistida por microondas), a ED originou NPSC com maiores rendimentos quânticos e teor de sólidos, enquanto a DET apenas se revelou benéfica no rendimento mássico.

A influência da quantidade de ED foi avaliada até um rácio mássico de 0.32. As reações decorreram a 190 °C durante 1 hora sob atmosfera inerte e os resultados são apresentados na tabela abaixo.

**Tabela II.17** - Efeito da quantidade de aditivo no rendimento quântico e mássico dos NPSC obtidos por CHMO.<sup>1</sup>

Entrada	Rácio mássico	Rendimento NPSC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	0.00	7.0	3.60	0.05
2	0.08	14.6	6.93	0.06
3	0.16	17.0	10.07	0.06
4	0.32	21.7	12.50	0.07

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 154 mg), 190 °C, 1h, agitação.

O incremento de ED mostrou ser vantajoso em todos os parâmetros analisados dos NPSC, conduzindo ao melhor rendimento quântico, rendimento mássico e teor de sólidos.

O efeito do desarejamento da m.r. nas características dos NPsC também foi explorado (Tabela II.18). É possível observar que o desarejamento da m.r. não demonstrou ser vantajoso nas características dos NPsC sintetizados. À semelhança do observado para os NPsC obtidos por CHAC, a ausência de oxigênio não surtiu efeito nas características dos NPsC sintetizados por este método.

**Tabela II.18** - Efeito do desarejamento no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO.<sup>1</sup>

Entrada	Atmosfera	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	Ar	17.5	10.40	0.07
2	N <sub>2</sub>	17.0	10.07	0.06

<sup>1</sup>Condições típicas: B-MAC-1 (ca. 154 mg), ED (0.40 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 190 °C, 1h, agitação.

Foi também explorado o potencial efeito da origem da matéria-prima nos NPsC produzidos. Os três lotes de borras de café em estudo foram submetidos a CHMO e os resultados obtidos encontram-se reunidos na Tabela II.19.

**Tabela II.19** - Efeito da origem da matéria-prima no rendimento quântico e mássico dos NPsC obtidos por CHMO.<sup>1</sup>

Entrada	Origem	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	B-MAC-1	15.2	9.00	0.09
2	B-MAC-2	15.8	9.40	0.09
3	B-MVA	15.3	9.10	0.10

<sup>1</sup>Condições típicas: Borras de café (ca. 154 mg), ED (0.40 mmol), rácio mássico (ED/B-MAC-1) = 0.16, 190 °C, 3h, agitação.

Embora com pouca relevância, também nestas condições se verifica uma melhor resposta nas características dos NPsC obtidos das borras provenientes das máquinas de venda automática (B-MVA), quando comparados com os provenientes das borras de máquinas de cafeteria (B-MAC-1 e B-MAC-2).

Embora o tipo de aquecimento dos dois métodos utilizados na síntese dos NPsC tenha características diferentes, foram realizados ensaios em condições idênticas, nomeadamente quantidade e natureza do aditivo (ED), tempo de reação (4 horas), rácio aditivo/borras (0.16) e temperatura (190-200 °C). Pela análise da tabela

seguinte verifica-se que a CHMO demonstrou vantagem na produção de NPsC com rendimento quântico superior, valor este que poderia ser alcançado com menos tempo de reação (*vide* Tabela II.15) diminuindo os custos energéticos e o impacto ambiental. Contudo, o rendimento mássico dos NPsC sintetizados por CHAC revelou-se significativamente superior.

**Tabela II.20** - Efeito do tipo de aquecimento no rendimento quântico e mássico dos NPsC.

Entrada	Aquecimento	Rendimento NPsC (%)	Sólidos (mgmL <sup>-1</sup> )	$\Phi_F$ (380 nm)
1	Convencional	15.5	6.63	0.07
2	Irradiação Assistida por Microondas	9.7	8.60	0.09

Considerando a tendência observada de que temperaturas elevadas conduzem a rendimentos quânticos superiores, antecipa-se que, se não existissem limitações operacionais inerentes à capacidade do reator de microondas que permitissem a realização dos ensaios a temperaturas superiores, a utilização deste método de aquecimento poderá produzir NPsC com propriedades óticas melhoradas.

### II.3.3 Purificação de Nanomateriais de Carbono

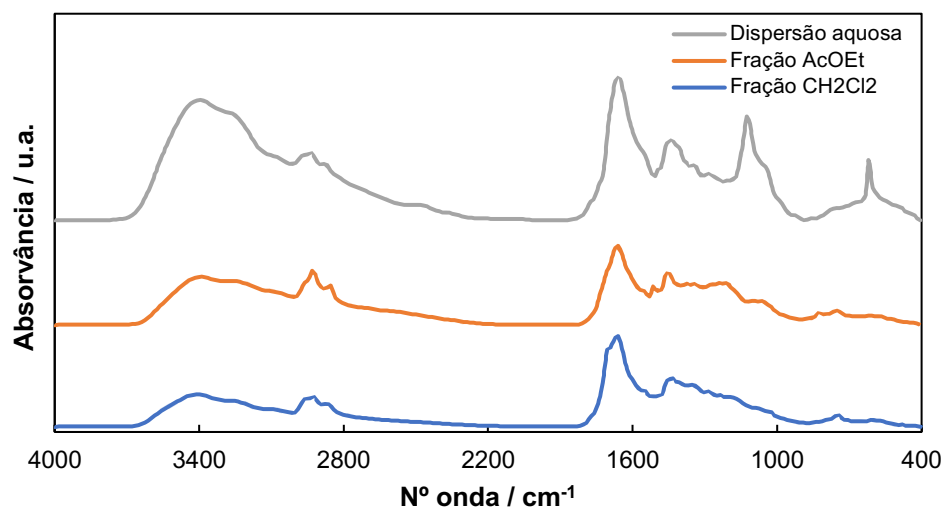
O processo de purificação que de seguida se descreve tem como finalidade remover no todo ou em parte impurezas presentes na mistura reacional, de forma a melhorar as propriedades luminescentes do NPsC produzidos.

As misturas reacionais foram filtradas por membrana de acetato de celulose de 0.20  $\mu\text{m}$  e purificadas por extração líquido-líquido com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , seguido de AcOEt. A fase aquosa final foi levada à *secura* no evaporador rotativo para remover o solvente residual.

As fases orgânicas foram evaporadas e os respetivos resíduos quantificados. Nos ensaios realizados por CHAC (Tabela II.13) o resíduo médio obtido de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  foi ca. 5.2 e 0.8% para a fração de AcOEt, relativamente à massa inicial de borras e de aditivo, que juntamente com a fração insolúvel recuperada da filtração (4.6%), originou um rendimento de conversão de 27%. Nos extratos provenientes da CHMO (Tabela II.19), o rendimento das frações orgânicas ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e AcOEt) foi em média 10% que,

conjuntamente com a fração insolúvel (19%), conduziu à obtenção de um rendimento total da reação de 44%.

Na Figura II.6 são apresentados os espectros de FTIR das frações orgânicas ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e AcOEt) e da dispersão aquosa, após secagem a 105 °C.



**Figura II.6** - Espectros de FTIR em pastilha de KBr das frações orgânicas e da dispersão aquosa.

O espectro de FTIR da dispersão aquosa dos NPsC apresenta como bandas mais características as vibrações de extensão das ligações O-H e N-H a 3372 e 3240  $\text{cm}^{-1}$ , respetivamente, a 2950 e 2855  $\text{cm}^{-1}$  as bandas das ligações C-H de grupos alquilo. A presença de grupos amida é evidenciada pela banda forte e afilada a 1654  $\text{cm}^{-1}$  característica de vibrações de extensão de ligações C=O, acompanhada de um ombro a 1560  $\text{cm}^{-1}$ , seguindo-se uma banda a 1430  $\text{cm}^{-1}$  associada a vibrações de flexão de ligações C-H. São ainda observadas bandas a 1117  $\text{cm}^{-1}$  (C(O)-O-C, C-O e O-H) e a 614  $\text{cm}^{-1}$ , inexistentes nos espectros das frações orgânicas.

#### II.4 PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS

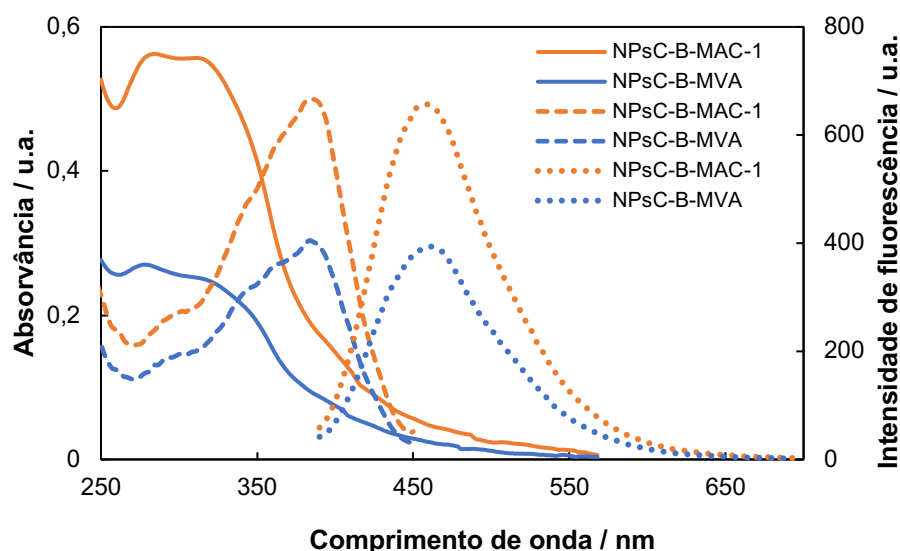
Perspetivando o estudo das potenciais aplicações sensoriais destes NPsC, as suas propriedades fotofísicas foram previamente analisadas recorrendo a técnicas de espectroscopia de absorção de estado fundamental (UV-Vis) e de fluorescência de estado estacionário (emissão e excitação). O tempo de vida dos NPsC com

rendimento quântico relevante foi determinado por espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo.

Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente utilizando células de quartzo de 1 cm. Os espectros de estado fundamental foram traçados com um varrimento de 250 a 700 nm e os espectros de fluorescência foram realizados a um comprimento de onda de excitação de 380 nm, na janela espectral de 300 a 700 nm.

A capacidade de emissão ajustável dos NPsC foi ainda avaliada, adquirindo os espectros de emissão a comprimentos de onda distintos (adiante Figura II.10). Os espectros de emissão foram todos realizados em dispersões aquosas e recolhidos com geometria a 90° (*right angle*). As dispersões utilizadas nos diversos estudos foram sempre recém-preparadas em água ultrapura Millipore®, sendo a concentração usada indicada caso a caso.

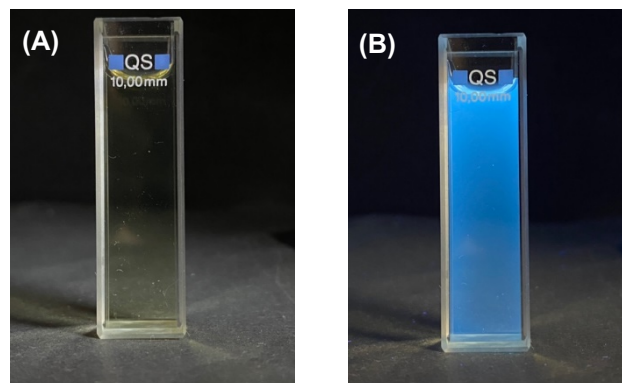
Apresentam-se na figura seguinte os resultados espectroscópicos dos NPsC obtidos por CHAC a 250 °C durante 6 horas, na presença de ED com um rácio de 0.16 e sem desarejamento, a partir de dois tipos de borras (Nicola® Premium (NPsC-B-MAC-1) e Sical® Vending (NPsC-B-MVA)).



**Figura II.7** - Espectros de absorção (cheio), excitação (tracejado) e de emissão (pontilhado) ( $\lambda_{exc} = 380$  nm) da dispersão aquosa de NPsC-B-MAC-1 e NPsC-B-MVA ( $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

Para os NPsC-B-MAC-1, as bandas de absorção a 284 nm e a 318 nm podem ser atribuídas às transições  $\pi-\pi^*$  do centro de carbono e às transições de  $n-\pi^*$  ou mistura de transições  $\pi-\pi^*$  e  $n-\pi^*$  das ligações C=O de amidas.<sup>6,9,10</sup>

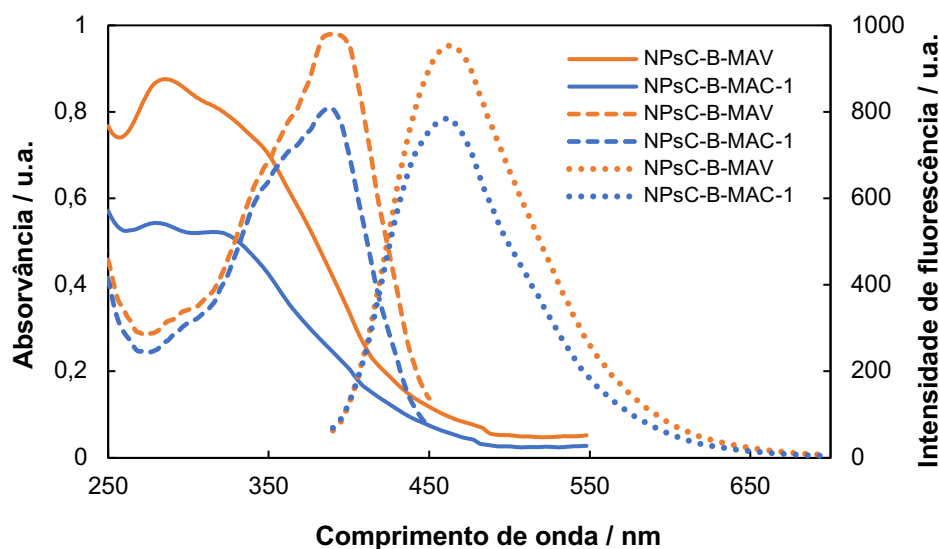
Quando excitadas a  $\lambda_{exc} = 380$  nm, ambas as dispersões aquosas emitem no azul (Figura II.7), apresentando o máximo de emissão centrado a 460 nm. A Figura II.8 mostra a cor azul da emissão das dispersões aquosas sob luz UV com  $\lambda = 366$  nm.



**Figura II.8** - NPsC em dispersão aquosa sob luz natural (A); NPsC em dispersão aquosa sob lâmpada UV ( $\lambda = 366$  nm) (B).

Os respectivos espectros de excitação monitorizados ao comprimento de onda de emissão máximo, indicam que a transição eletrônica dos cromóforos que contribuem para a emissão dos NPsC ocorre a *ca.* 390 nm. Os NPsC obtidos das borras de café do lote Sical® Vending exibiram um rendimento quântico ligeiramente superior (18% vs. 17%), contudo, embora com perfis semelhantes, apresentam intensidades bastante inferiores nos seus espectros de UV-Vis e fluorescência.

Na Figura II.9 apresentam-se os espectros de absorção, excitação e emissão dos NPsC obtidos por CHMO a partir de borras dos lotes Sical® Vending e Nicola® Premium. Ambos os ensaios foram realizados a 190 °C, irradiados durante 3 horas, sob atmosfera inerte e na presença de ED (rácio mássico = 0.16), exibindo rendimentos quânticos similares (*ca.* 10%).



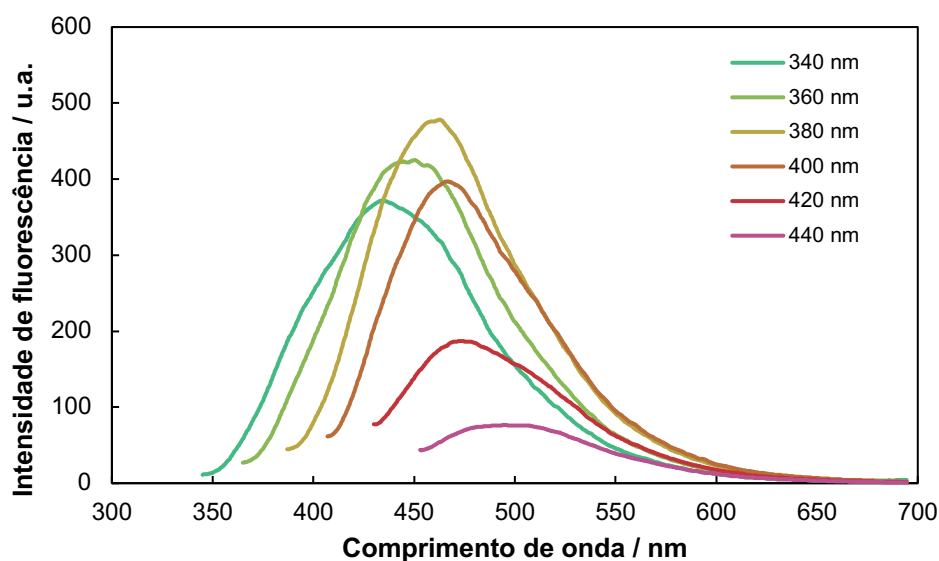
**Figura II.9** - Espectros de absorção (cheio), excitação (tracejado) e de emissão (pontilhado) ( $\lambda_{exc} = 380$  nm) da dispersão aquosa dos NPSC-B-MAC-1 e NPSC-B-MVA ( $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

Os NPSC produzidos por CHAC a partir das borras do lote Sical® *Vending* (NPSC-B-MVA) apresentaram elevada intensidade de absorção e emissão. Os perfis dos espectros, quer de absorção, quer de emissão dos NPSC sintetizados por ambos os métodos são semelhantes, embora se verifique um ligeiro desvio batocrômico para os NPSC obtidos por CHMO. A transição eletrónica dos cromóforos responsáveis pela emissão ocorre a ca. 389 nm.

Recorrendo a fluorescência resolvida no tempo, foi registado o decaimento da intensidade de fluorescência de dispersões aquosas de NPSC sintetizadas por CHAC, obtendo-se um tempo de vida médio ( $\tau_{médio}$ ) de 6.15 ns.

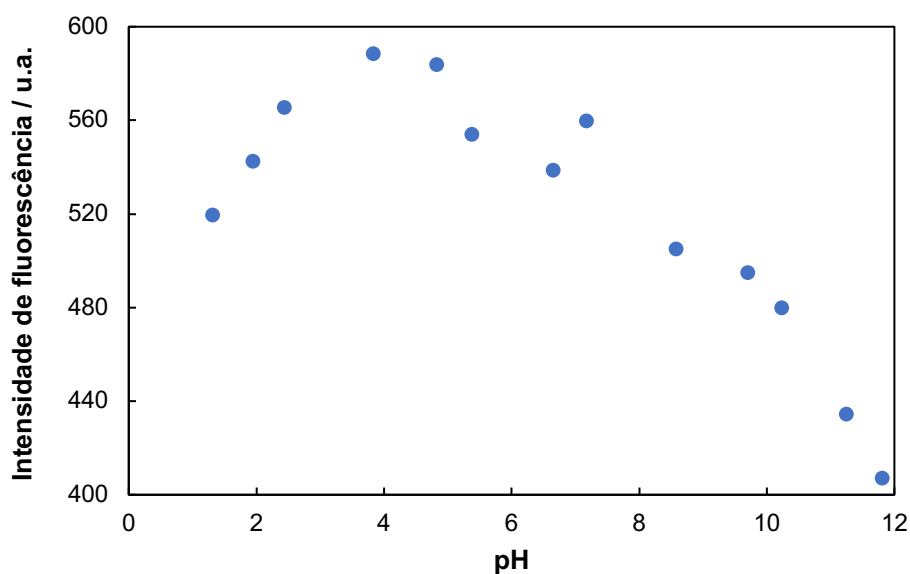
O comprimento de onda de emissão dos NPSC é fortemente dependente do comprimento de onda de excitação devido aos diferentes tamanhos de partículas, grupos funcionais na superfície e locais de armadilhas emissivas,<sup>12</sup> tornando estes nanomateriais compostos versáteis para aplicações distintas.<sup>6</sup>

A figura seguinte ilustra esse comportamento, onde a variação do comprimento de onda de excitação de 340 nm a 440 nm origina progressivos desvios batocrômicos.



**Figura II.10** - Espectros de emissão da dispersão aquosa dos NPSC-B-MAC-1 (0.1 mgmL<sup>-1</sup>) com excitação a diferentes comprimentos de onda (340 a 440 nm).

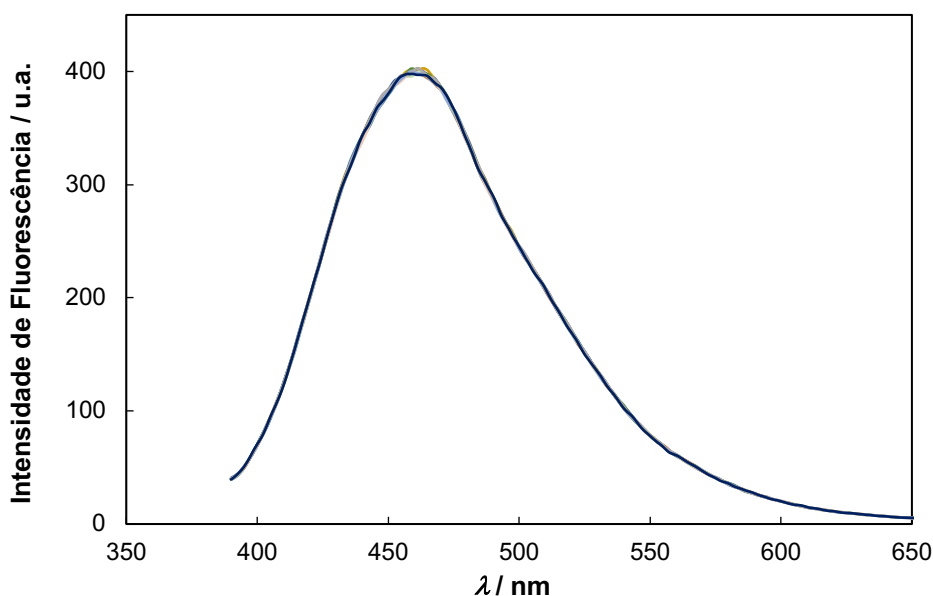
O efeito do pH na intensidade de fluorescência foi também avaliado. Para o estudo utilizou-se uma dispersão aquosa de NPSC-B-MAC-1 (0.1 mgmL<sup>-1</sup>; pH inicial 7.176) fazendo-se variar o pH de 1 a 11 com adição de soluções aquosas de HCl e NaOH, mantendo a concentração dos NPSC inalterada. A Figura II.11 apresenta os resultados obtidos.



**Figura II.11** - Variação da intensidade de fluorescência ( $\lambda_{exc} = 380$  nm, monitorizado a 462 nm) da dispersão aquosa de NPSC (0.1 mgmL<sup>-1</sup>) em função do pH.

Atendendo ao perfil obtido, verifica-se que a fotoluminescência dos NPsC é sensível às variações de pH do meio, atingindo o seu máximo a pH 4 com um incremento de 5% relativamente ao pH inicial. A pH 7 ocorre novo aumento da intensidade de fluorescência, observando-se a partir daí um decréscimo muito acentuado, atingindo ca. 22% a pH 11. A intensidade de fluorescência é, no entanto, recuperada até 96% quando se levou o pH ao valor inicial (pH = 7.176), comprovando as características ácido/base das funcionalidades existentes na superfície destes nanomateriais.

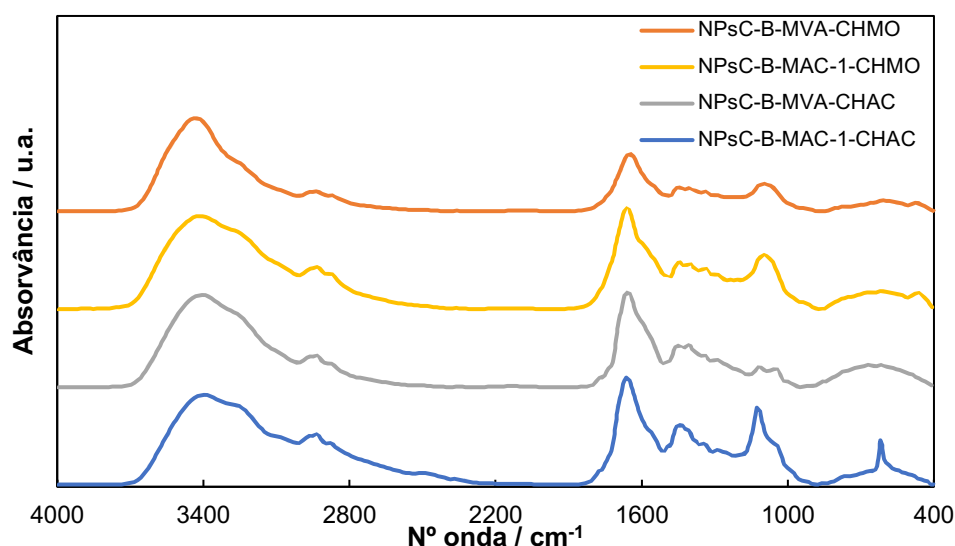
Dado o interesse da potencial aplicabilidade dos NPsC em exames de diagnóstico, nomeadamente na área da bioimagem, a sua fotoestabilidade é uma propriedade de importância relevante.<sup>13</sup> A dispersão aquosa dos NPSC-B-MAC-1 foi sujeita a irradiação contínua ( $\lambda_{exc} = 380$  nm) durante 1 hora. A intensidade de fluorescência não sofreu alteração, permitindo inferir da fotoestabilidade destes nanomateriais (Figura II.12).



**Figura II.12** - Espectros de emissão de dispersão aquosa ( $0.1 \text{ mgmL}^{-1}$ ) de NPsC ( $\lambda_{em} = 461$  nm) obtidos por CHAC após 1 hora de irradiação contínua ( $\lambda_{exc} = 380$  nm).

## II.5 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

Os NPsC produzidos foram analisados por FTIR em pastilha de KBr a partir de dispersões aquosas secas a 105 °C (NPsC-B-MAV-CHMO, NPsC-B-MAC-1-CHMO, NPsC-B-MVA-CHAC e NPsC-B-MAC-1-CHAC) (Figura II.13).

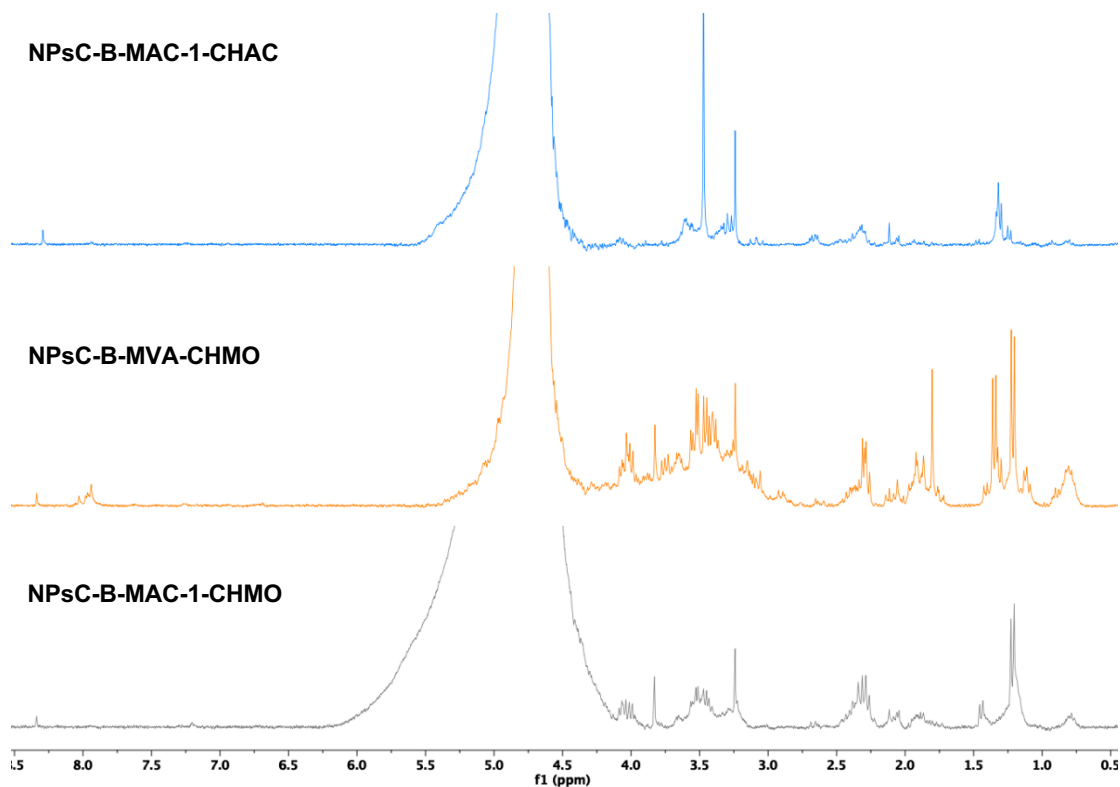


**Figura II.13** - Espectros de FTIR em pastilha de KBr dos NPsC-B-MAV-CHMO, NPsC-B-MAC-1-CHMO, NPsC-B-MVA-CHAC e NPsC-B-MAC-1-CHAC.

Os espectros dos NPsC obtidos, independentemente da origem dos lotes (Sical® Vending ou Nicola® Premium) das borras de café e/ou do método hidrotérmico (aquecimento convencional ou irradiação assistida por microondas) utilizado na sua obtenção apresentam, na sua globalidade, perfis semelhantes na zona das vibrações de extensão (OH, NH, CH). Analisando os espectros identificam-se as bandas mais relevantes a ca. 3400  $\text{cm}^{-1}$  com um ombro a 3230-3240  $\text{cm}^{-1}$  associadas à vibração de O-H e N-H. A existência de compostos alifáticos é identificada pelas bandas de fraca intensidade a 2950 e 2855  $\text{cm}^{-1}$ , acompanhadas do desaparecimento da banda de C=O a 1745  $\text{cm}^{-1}$  (*vide* Figura II.1), presentes nas borras de café antes do tratamento hidrotérmico. O surgimento das bandas a 1654  $\text{cm}^{-1}$  e a 1430  $\text{cm}^{-1}$  permite inferir a presença de funcionalidades ácidas e amidas na superfície dos NPsC. As bandas a 1117, 1049 e 614  $\text{cm}^{-1}$  terão origem nas vibrações de deformação das ligações C-O, C-H e C-N.

Adicionalmente, e na tentativa de rastrear quais as funcionalidades predominantes na superfície dos NPsC, foram obtidos os espectros de RMN  $^1\text{H}$  em

D<sub>2</sub>O (Figura II.14) dos NPsC-B-MAC-1-CHAC, NPsC-B-MVA-CHMO e NPsC-B-MAC-1-CHMO.



**Figura II.14** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H dos NPsC-B-MAC-1-CHAC, NPsC-B-MVA-CHMO, NPsC-B-MAC-1-CHMO em D<sub>2</sub>O a 25 °C.

Da análise global dos espectros é evidente a presença de CH alifáticos (C<sub>sp3</sub>-H) com ressonâncias entre 0.8 e 4.7 ppm. De 3.25 a 4.15 ppm existe uma grande complexidade de sinais associados à presença de ligações CH-N e CH-O. A presença prótons aromáticos (ArC-H) é muito dispersa (ca. 7.9 a 8.3 ppm), surgindo como um conjunto alargado de ressonâncias de fraca intensidade.

## II.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL DOS NPsC

A descoberta de novas abordagens para a detecção de vestígios de analitos é atualmente um enorme desafio na área dos sensores químicos.

A enorme diversidade de fontes e métodos sustentáveis disponíveis para a obtenção de NPsC com características únicas, originam nanomateriais com uma grande amplitude de aplicação em áreas diversificadas. No presente trabalho foi explorada a capacidade sensorial dos NPsC obtidos a partir de borras de café na detecção de nitroanilinas e metais pesados com impacto ambiental e ainda a sua sensibilidade quando na presença de compostos nitroaromáticos utilizados na formulação de explosivos.

A capacidade sensorial dos NPsC foi testada a partir das dispersões aquosas que exibiram um rendimento quântico de fluorescência relevante.

A resposta dos NPsC como sensores fluorescentes baseia-se na alteração da intensidade de fluorescência destes quando em contacto com determinadas espécies químicas. Esta variação de luminescência pode ocorrer por dois mecanismos distintos, designados de dinâmico e estático. No primeiro caso, o fluoróforo (NPsC) e o analito não se encontram associados no estado fundamental, ocorrendo a extinção de fluorescência quando este último colide com o fluoróforo no estado excitado. No segundo mecanismo, a extinção de fluorescência pode ocorrer igualmente quando o fluoróforo e o analito formam um complexo no estado fundamental que, após excitação, volta de imediato ao estado fundamental sem emissão de radiação.<sup>141</sup>

O processo de extinção depende essencialmente das propriedades químicas de cada molécula que determinam a interação que ocorre entre o fluoróforo e o analito.<sup>141</sup>

A quantificação da interação NPsC-analito em solução foi realizada recorrendo ao formalismo de Stern-Volmer (Eq. 1), onde o declive da curva obtida do gráfico de  $(F_0/F)$  em função de  $[Q]$  é a constante de Stern-Volmer ( $K_{SV}$ ), sendo  $F_0$  e  $F$  as intensidades de fluorescência na ausência e na presença do analito, respetivamente e  $[Q]$  representa a concentração do analito.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] \quad \text{Eq. 1}$$

Quando a solução a ser analisada contém um cromóforo que absorve luz ao mesmo comprimento de onda de excitação e/ou de emissão do composto em estudo, ocorre o chamado efeito de filtro interno (EFI). Este fenômeno resulta da absorção de parte da radiação incidente pelo cromóforo (absorção ao comprimento de onda de excitação ou reabsorção da radiação de emissão, caso haja absorção ao comprimento de onda de emissão). Como consequência, ocorre uma diminuição da intensidade de fluorescência observada. O EFI pode ser corrigido utilizando as equações a seguir apresentadas (Eq. 2 e Eq. 3).<sup>142</sup>

$$\frac{F_0}{F} \eta = 1 + K_{SV \text{ corr}}[Q] \quad \text{Eq. 2}$$

Sendo o fator de correção,  $\eta$ , dado por:

$$\eta = \frac{A_{x_0} A_{y_0} (1 - 10^{-A_{x_i}}) (1 - 10^{-A_{y_i}})}{A_{x_i} A_{y_i} (1 - 10^{-A_{x_0}}) (1 - 10^{-A_{y_0}})} \quad \text{Eq. 3}$$

$A_{x_0}$  - absorção do fluoróforo ao  $\lambda_{exc}$ ;

$A_{y_0}$  - absorção do fluoróforo ao  $\lambda_{emis}$ ;

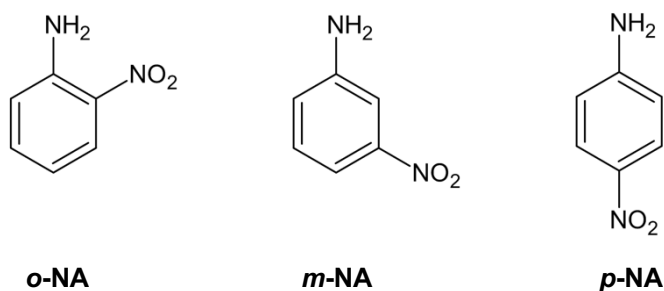
$A_{x_i}$  - soma da absorção do fluoróforo e do analito ao  $\lambda_{exc}$ ;

$A_{y_i}$  - soma da absorção do fluoróforo e do analito ao  $\lambda_{emis}$ .

### II.6.1 Detecção de Nitroanilinas

As nitroanilinas (NAs) são compostos orgânicos de baixa biodegradabilidade, muito utilizados como intermediários na síntese de produtos farmacêuticos, plásticos de engenharia, agroquímicos e fotoestabilizadores.<sup>143</sup> Identificados como perigosos poluentes ambientais, são encontrados em diversos resíduos industriais, além de serem colocados em contacto direto com o meio ambiente decorrente da sua utilização na formulação de pesticidas e herbicidas. As suas propriedades hidrofílicas facilitam a sua permeação no solo, atingindo os lençóis freáticos e conseqüentemente, contaminando os cursos de água. Exibem uma maior toxicidade comparativamente a outras anilinas, sendo potenciais agentes carcinogênicos, podendo ser absorvidos

pelo ser humano através da pele e pelas vias respiratórias, causando envenenamento sanguíneo, eczema na pele e dermatite. A determinação direta e seletiva do principal isômero, a *p*-nitroanilina, é uma tarefa difícil devido às suas propriedades físicas serem semelhantes às dos restantes isômeros (Figura II.15).<sup>143-145</sup>



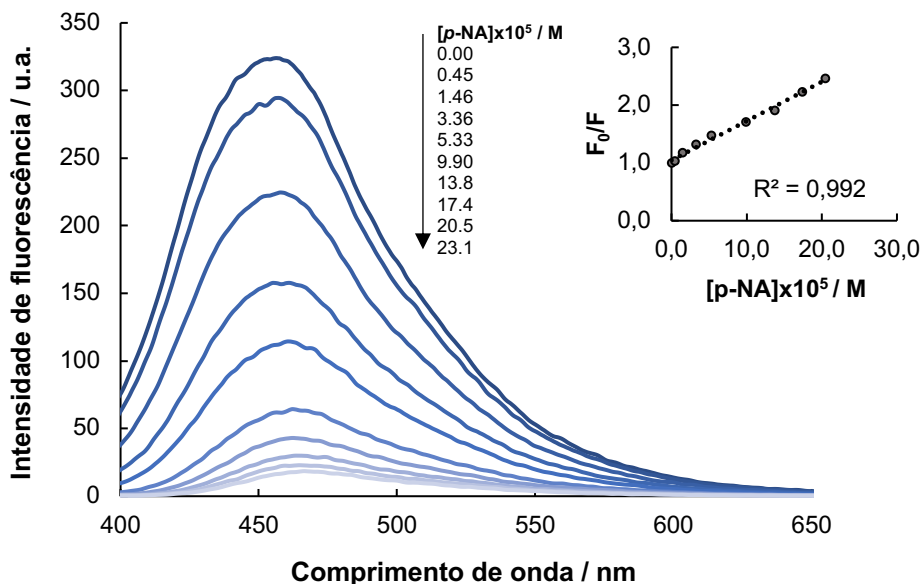
**Figura II.15** - Estruturas das nitroanilinas isoméricas: *o*-nitroanilina, *m*-nitroanilina, *p*-nitroanilina.

Yuan *et al.*<sup>146</sup> sintetizaram NPsC dopados com azoto a partir do citoplasma de uma planta por tratamento hidrotérmico com um rendimento quântico de 2.4% e avaliaram a sua sensibilidade a *p*-NA numa gama de 0 a  $1 \times 10^{-4}$  M, tendo obtido  $K_{sv}$  de  $8.82 \times 10^3$  M<sup>-1</sup>. A extinção da fluorescência observada foi associada ao estabelecimento de ligações de hidrogénio entre os NPsC e a *p*-NA, seguida de transferência eletrónica para o analito.

A aplicação dos NPsC como sensores na deteção de NAs foi estudada recorrendo a espectroscopia de fluorescência como técnica de deteção. Foi registada a redução da intensidade de fluorescência durante da adição progressiva de quantidades conhecidas de analito, mantendo sempre constante a concentração dos NPsC. Foram realizados ensaios com NAs isoméricas em duas gamas de concentração ( $4.47 \times 10^{-6}$  -  $2.31 \times 10^{-4}$  M e  $4.47 \times 10^{-7}$  -  $2.31 \times 10^{-5}$  M). Os ensaios foram realizados num espectrofluorímetro Perkin Elmer, a 20 °C, com geometria a 90°, utilizado células de quartzo de 1 cm. O comprimento de onda de excitação foi de 380 nm com monitorização da intensidade máxima de emissão dos NPsC em estudo.

Decorrente da absorção das NAs ao comprimento de onda de excitação e ao máximo de emissão dos NPsC, verificou-se um desvio significativo à linearidade quando o ensaio foi realizado na gama de concentração até  $2.3 \times 10^{-4}$  M, tendo sido efetuada a correção ao EFI.

A figura seguinte mostra o decréscimo da intensidade de fluorescência dos NPsC (NPsC-B-MAC-1-CHAC) com as adições progressivas de *p*-NA, exibindo um máximo de emissão ca. 460 nm. Metodologia idêntica foi aplicada na detecção dos outros dois isômeros.



**Figura II.16** - Espectros de emissão de NPsC-B-MAC-1-CHAC ( $0.01 \text{ mg mL}^{-1}$ ) na presença de *p*-NA ( $4.47 \times 10^{-6}$  -  $2.31 \times 10^{-4}$  M). *Inset*: Curva de Stern-Volmer corrigida.

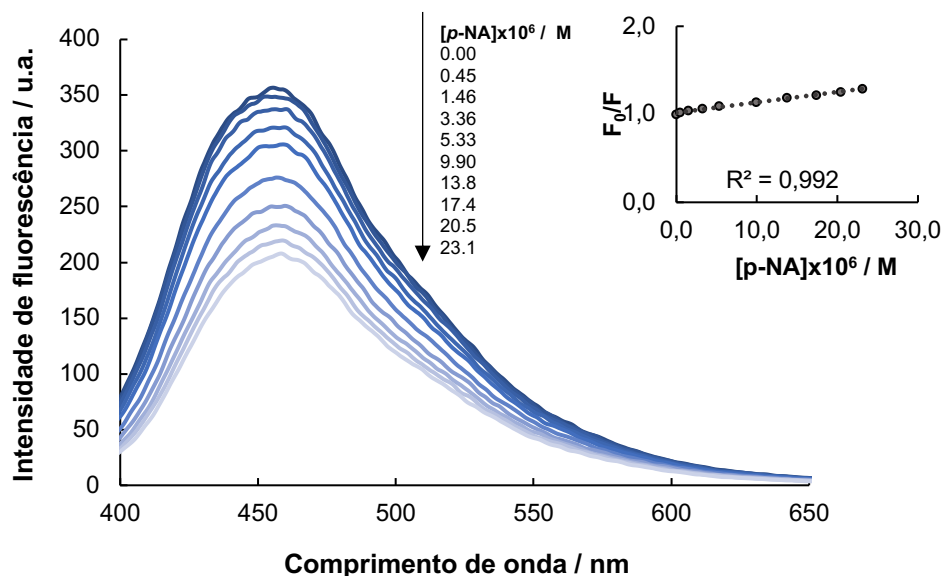
Procedimento idêntico foi aplicado aos NPsC-B-MAC-1-CHMO obtidos por CHMO na presença de *p*-NA, tendo-se verificado menor sensibilidade destes materiais. Os valores de  $K_{SV}$  corrigidos e a percentagem da extinção de fluorescência dos NPsC na presença das NAs isoméricas são apresentados na Tabela II.21.

**Tabela II.21** - Valores de  $K_{SV}$  corrigidos e % extinção na presença de NAs isoméricas em dispersões aquosas de NPsC.

Ensaio	o-NA		m-NA		p-NA	
	$K_{SV \text{ corr}} (\text{M}^{-1})$	% Ext.	$K_{SV \text{ corr}} (\text{M}^{-1})$	% Ext.	$K_{SV \text{ corr}} (\text{M}^{-1})$	% Ext.
NPsC-B-MAC-1-CHAC	5294	86.1	1169	41.9	6898	95.0
NPsC-B-MAC-1-CHMO	—	—	—	—	4782	93.4

Atendendo aos resultados obtidos, verifica-se uma maior sensibilidade para a *p*-NA, seguida de *o*-NA e por último, *m*-NA.

Na tentativa de minimizar o efeito de filtro interno, foi testada a sensibilidade dos NPsC numa gama de concentração mais baixa (até  $2.31 \times 10^{-5}$  M, ca. 10x inferior). Na Figura II.17 são apresentados os perfis das curvas de fluorescência após sucessivas adições de *p*-NA à solução de NPsC-B-MAC-1-CHMO e a respetiva curva de Stern-Volmer. Ensaio equivalentes foram realizados para os restantes fluoróforos e analitos.



**Figura II.17** - Espectros de emissão de NPsC-B-MAC-1-CHMO ( $0.01 \text{ mgmL}^{-1}$ ) na presença de *p*-NA ( $4.47 \times 10^{-7}$  -  $2.31 \times 10^{-5}$  M). *Inset*: Curva de Stern-Volmer corrigida.

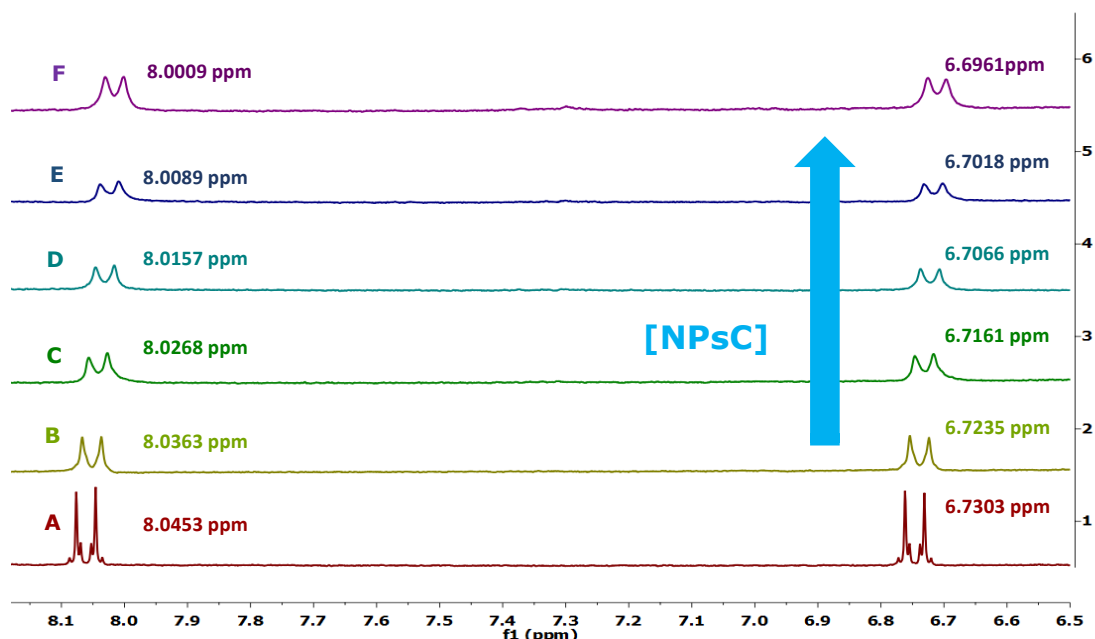
A tabela seguinte reúne os resultados obtidos para as dispersões aquosas dos NPsC-B-MAC-1-CHAC, NPsC-B-MVA-CHAC, NPsC-B-MAC-1-CHMO e NPsC-B-MVA-CHMO (entradas 1 a 4, Tabela II.22, respetivamente) na presença das NAs em estudo.

**Tabela II.22** - Valores de  $K_{SV}$  e % extinção na presença de NAs isoméricas em dispersões aquosas de NPsC.

Entrada	<i>o</i> -NA				<i>m</i> -NA				<i>p</i> -NA			
	$K_{SV}$ ( $M^{-1}$ )	$K_{SV \text{ corr}}$ ( $M^{-1}$ )	LOD (ppb)	% Ext.	$K_{SV}$ ( $M^{-1}$ )	$K_{SV \text{ corr}}$ ( $M^{-1}$ )	LOD (ppb)	% Ext.	$K_{SV}$ ( $M^{-1}$ )	$K_{SV \text{ corr}}$ ( $M^{-1}$ )	LOD (ppb)	% Ext.
1	12521	6193	125	22.1	3589	2250	344	7.4	30032	11252	68	41.0
2	13693	7392	105	25.4	4124	2455	315	9.4	32975	12827	60	43.2
3	14038	7093	109	24.5	3624	2227	347	8.1	30953	11816	65	42.5
4	6966	3928	197	14.8	5702	3860	200	11.9	29942	10686	72	41.0

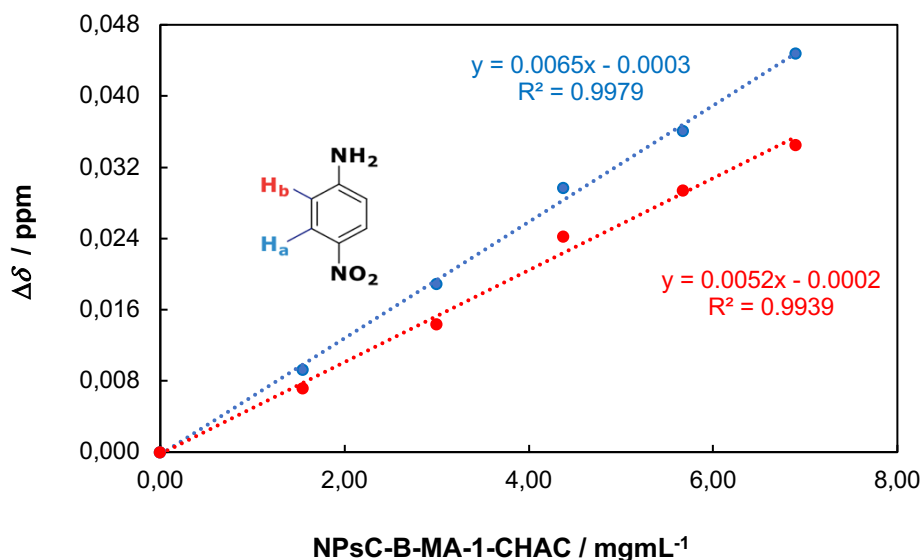
Nesta gama de concentração, não se verificam diferenças significativas na sensibilidade à presença de NAs dos NPsC provenientes de diferentes fontes de borras quando obtidos por CHAC. Por outro lado, os NPsC obtidos por CHMO das B-MVA exibiram uma resposta para *o*-NA bastante inferior.

A interação observada entre os NPsC e a *p*-NA foi também corroborada recorrendo a espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$ , titulando uma solução de *p*-NA (5 mM) com adições sucessivas de uma dispersão de NPsC-B-MAC-1-CHAC em  $\text{D}_2\text{O}$  (Figura II.18).



**Figura II.18** - Espectros de RMN  $^1\text{H}$  da titulação de *p*-NA (5 mM em  $\text{D}_2\text{O}$ ; **A**) com adições sucessivas de NPsC-B-MAC-1-CHAC (**B** a **F**) a 25 °C.

Com base na figura anterior, e atendendo à variação dos desvios químicos observados para os prótons arílicos da *p*-NA para campo mais alto, destacando-se os prótons adjacentes ao grupo nitro ( $\text{H}_b$ ; Figura II.19), é possível inferir a ocorrência de complexação entre o analito e os NPsC. Este resultado, associado ao elevado valor de  $K_{\text{SV}}$ , permite antecipar a ocorrência de um mecanismo de extinção estático.



**Figura II.19** - Variação do desvio químico dos prótons ArH da *p*-NA com o aumento da concentração de NPsC-B-MA-1-CHAC.

## II.6.2 Detecção de Metais Pesados

Os metais pesados são elementos com densidade acima de  $5 \text{ gcm}^{-3}$  e podem ser classificados em duas categorias, designados de metais essenciais e não essenciais, sendo diferenciados pela sua toxicidade. O cádmio (Cd), o chumbo (Pb), o mercúrio (Hg) e o arsênio (As) são metais não essenciais, extremamente tóxicos, carcinogênicos e mutagênicos. São elementos não biodegradáveis ou metabolizáveis que, mesmo em pequenas quantidades, causam danos severos à saúde e ao meio ambiente.<sup>147</sup> Por outro lado, o cobre (Cu), o zinco (Zn) e o crômio (Cr) possuem uma toxicidade específica para um determinado alvo.<sup>147</sup> O crômio é um metal pesado que existe em dois estados de oxidação, o trivalente, Cr(III), elemento essencial para o corpo humano e o hexavalente, Cr(VI), tóxico e carcinogênico.<sup>148</sup> A poluição causada pelos metais pesados acontece por processos naturais, mas principalmente devido a atividades antropogênicas.<sup>147</sup>

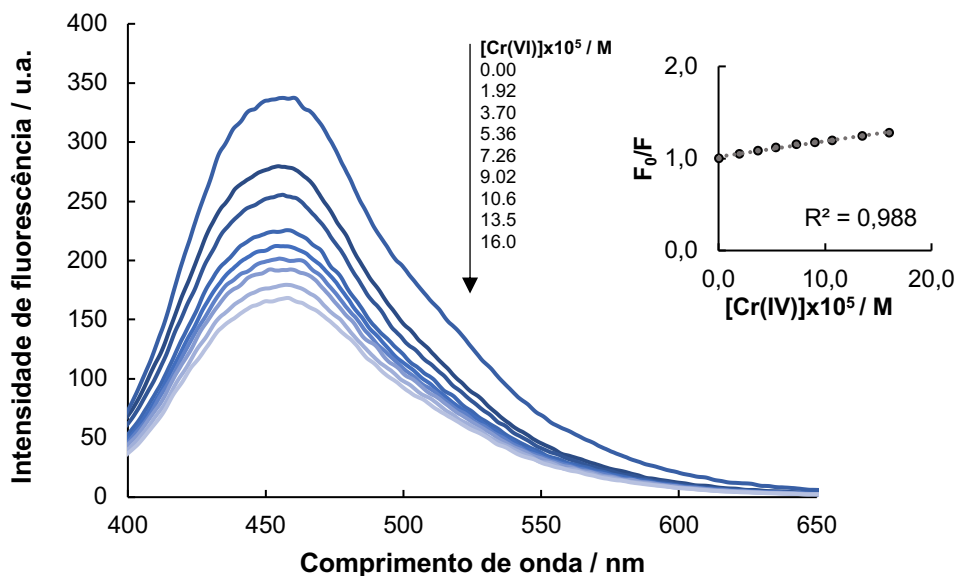
Os grupos funcionais presentes na superfície dos nanomateriais de carbono, como o grupo C=O de ácidos carboxílicos e/ou amidas, bem como o N-H, estabelecem facilmente interações de superfície com estes metais. Este contacto mais próximo facilita a transferência eletrônica, que geralmente contribui para a extinção da fluorescência.<sup>149</sup> Zhang *et al.*<sup>148</sup> sintetizaram NPsC dopados com azoto a partir de ácido cítrico e ácido glutâmico, com um rendimento quântico de 54%. Estes NPsC

foram avaliados como sensores de Cr(VI) numa gama de concentração de  $0.01 \times 10^{-6}$  M a  $250 \times 10^{-6}$  M, obtendo-se um  $K_{sv}$  de  $9.1 \times 10^4$  M<sup>-1</sup> com extinção de 73% da fluorescência. Um mecanismo de extinção estático foi proposto pelos investigadores, apontando também uma significativa contribuição de EFI, atendendo à forte absorção deste metal a ca. 360 nm, com um ombro que se estende até aos 500 nm.<sup>149</sup> Qiao *et al.*<sup>150</sup> também sintetizaram nanomateriais de carbono a partir de ácido cítrico e de *m*-fenilenodiamina dispersos em dimetilformamida, tendo obtido um rendimento quântico de 65%. A capacidade sensorial destes nanomateriais foi avaliada para Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup> em gamas de concentração distintas, uma até  $5 \times 10^{-6}$  M e outra 5x superior, obtendo-se  $K_{sv}$ 's de  $20 \times 10^4$  M<sup>-1</sup> e  $5.8 \times 10^4$  M<sup>-1</sup>, respetivamente.

Neste contexto, foi também explorada a resposta sensorial dos NPsC obtidos a partir das borras de café a metais pesados, designadamente a Cu<sup>2+</sup> [CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O], Fe<sup>2+</sup> [FeCl<sub>2</sub>], Fe<sup>3+</sup> [FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O], Cd<sup>2+</sup> [CdCl<sub>2</sub>], Pb<sup>2+</sup> [Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], Hg<sup>2+</sup> [Hg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O], Ni<sup>2+</sup> [NiCl<sub>2</sub>] e Cr<sup>6+</sup> [K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] em duas gamas de concentração, até  $1.60 \times 10^{-3}$  e uma outra até  $1.60 \times 10^{-4}$  M. Os ensaios foram realizados com excitação a 380 nm e a intensidade de fluorescência registada ao comprimento de onda máximo de emissão (ca. 455 nm). Os resultados obtidos para Cr(VI) na presença de NPsC-B-MAC-1-CHAC revelaram uma resposta significativa, indicando existir seletividade para este metal.

Na gama de concentração mais elevada, observou-se acentuado desvio à linearidade, sendo possível após correção do EFI e concentração até  $1.60 \times 10^{-3}$  M, obter uma resposta linear com um  $K_{sv}$  de  $1143$  M<sup>-1</sup> e 93.5% de extinção.

As curvas apresentadas na Figura II.20 ilustram o resultado da resposta dos NPsC na gama mais baixa de Cr(VI), tendo conduzido a um  $K_{sv}$  de  $4148$  M<sup>-1</sup>.



**Figura II.20** - Espectros de emissão de NPsC-B-MAC-1-CHAC ( $0.01 \text{ mgmL}^{-1}$ ) na presença de Cr(VI) ( $1.92 \times 10^{-5} - 1.60 \times 10^{-4} \text{ M}$ ). *Inset*: Curva de Stern-Volmer corrigida.

A sensibilidade dos NPsC-B-MVA-CHAC, NPsC-B-MVA-CHMO e NPsC-B-MAC-1-CHMO a Cr(VI) na gama mais baixa encontram-se compilados na tabela seguinte.

**Tabela II.23** - Valores de  $K_{SV}$  e de % extinção na presença de Cr(VI) em dispersões aquosas de NPsC.

Reator	Ensaio	Cr(VI)			
		$K_{SV}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$K_{SV \text{ corr}}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	LOD (ppb)	% Ext.
Aquecimento	NPsC-B-MAC-1-CHAC	4148	1686	958	40.3
Convencional	NPsC-B-MVA-CHAC	4450	1822	905	42.7
Microondas	NPsC-B-MAC-1-CHMO	7408	2842	580	54.3
	NPsC-B-MVA-CHMO	5459	2331	708	47.3

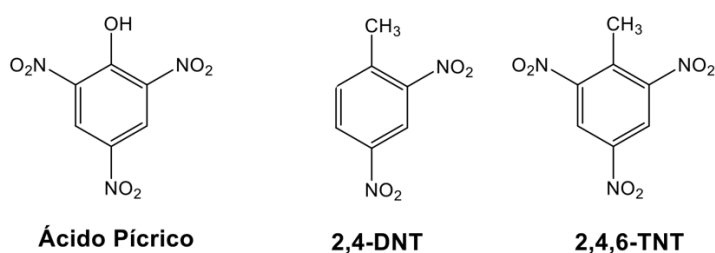
Embora os valores de  $K_{SV}$  sejam inferiores aos reportados na literatura,<sup>148,150</sup> pode afirmar-se que os NPsC sintetizados apresentaram seletividade para Cr(VI), face à ausência de resposta dos NPsC aos restantes metais testados. Considerando os dados reportados por Qiao *et al.*,<sup>150</sup> outras gamas de concentração poderão ser exploradas, perspetivando respostas superiores.

Resultados ligeiramente superiores foram observados nos NPsC produzidos por CHMO quando comparado com os nanomateriais sintetizados com aquecimento convencional.

### II.6.3 Detecção de Explosivos

Nos últimos anos, a rápida e precisa detecção de engenhos explosivos tem sido uma prioridade na manutenção da segurança dos estados, operações militares, investigação forense, descontaminação ambiental, entre outras.<sup>151</sup> Grande parte dos materiais explosivos englobam na sua composição uma vasta diversidade de compostos, entre os quais nitroaromáticos, sendo o 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), o 2,4-dinitrotolueno (DNT) e o ácido pícrico (AP) alguns exemplos (

Figura II.21).



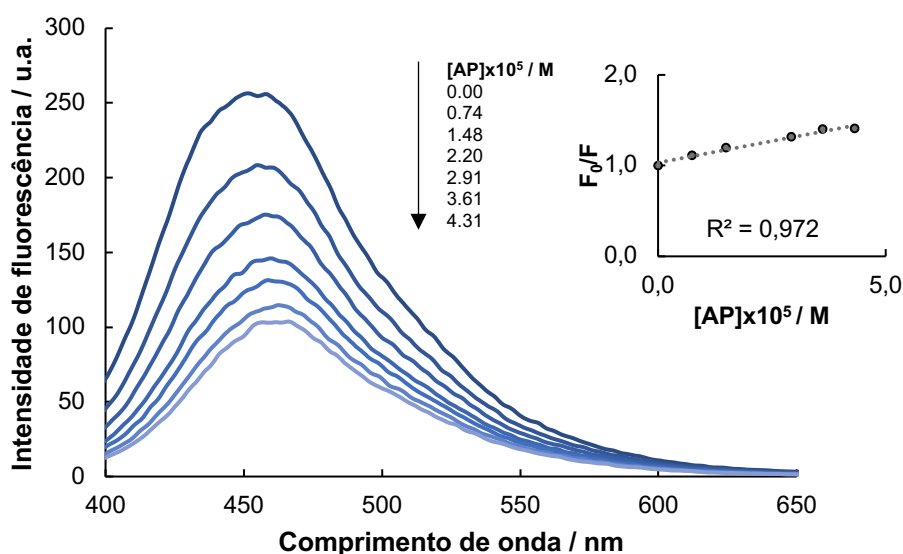
**Figura II.21** - Estruturas do ácido pícrico (**AP**), 2,4-dinitrotolueno (**DNT**) e 2,4,6-trinitrotolueno (**TNT**).

A poluição causada por estes compostos pode causar efeitos adversos em humanos como anemia, deficiência da função hepática e descoloração do cabelo, pele e unhas, dado que são facilmente absorvidos pela pele, apresentando elevada toxicidade e ação mutagénica em humanos, peixes, algas e microrganismos.<sup>151,152</sup>

Sun<sup>153</sup> sintetizou nanomateriais de carbono e os testou como sensores de explosivos, nomeadamente AP, TNT e DNT. Os ensaios foram realizados numa gama de concentração até  $8 \times 10^{-5}$  M, porém para o AP, o decaimento da intensidade de fluorescência apresentou duas regiões com comportamento linear, de 0 a  $1 \times 10^{-6}$  M, e de  $1 \times 10^{-6}$  M até  $8 \times 10^{-5}$  M. Os valores de  $K_{sv}$  obtidos para o AP na gama baixa foi de  $1.26 \times 10^6$  M<sup>-1</sup> e na gama alta foi de  $5.08 \times 10^4$  M<sup>-1</sup>. Já para o TNT e para o DNT a constante de Stern-Volmer obtida para toda a gama de concentração do ensaio foi de  $1.80 \times 10^5$  M<sup>-1</sup> e de  $7.52 \times 10^4$  M<sup>-1</sup>, respetivamente. Noutro estudo realizado por Kumar

*et al.*<sup>154</sup>, os nanomateriais sintetizados apresentaram maior sensibilidade na detecção de AP face a presença de DNT e TNT. Os valores de  $K_{sv}$  obtidos foram  $1.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ,  $1.1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$  e  $1.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ , respetivamente.

No presente trabalho, a sensibilidade dos NPsC na detecção de compostos nitroaromáticos foi avaliada para AP, DNT e TNT. Os resultados obtidos mostraram existir seletividade para AP (ca. 62% de extinção), enquanto o decréscimo de fluorescência para TNT e DNT apenas atingiu 5.0 e 3.7%, respetivamente. A Figura II.22 apresenta as curvas de emissão da resposta de NPsC-B-MAC-1-CHAC a AP.



**Figura II.22** - Espectros de emissão de NPsC-B-MAC-1-CHAC ( $0.01 \text{ mg mL}^{-1}$ ) na presença de AP ( $7.44 \times 10^{-6}$  -  $4.31 \times 10^{-5} \text{ M}$ ). *Inset*: Curva de Stern-Volmer corrigida.

A Tabela II.24 reúne os valores de  $K_{sv}$  para os ensaios realizados com NPsC-B-MAC-1-CHAC, NPsC-B-MVA-CHAC, NPsC-B-MAC-1-CHMO e NPsC-B-MVA-CHMO.

**Tabela II.24** - Valores de  $K_{sv}$  e da % extinção na presença de AP em dispersões aquosas de NPsC.

Reator	Ensaio	Ácido Pícnico			
		$K_{sv}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$K_{sv \text{ corr}}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	LOD (ppb)	% Ext.
Aquecimento	NPsC-B-MAC-1-CHAC	38547	10642	85	62.2
Convencional	NPsC-B-MVA-CHAC	37642	10854	84	61.5
Microondas	NPsC-B-MAC-1-CHMO	36168	11181	81	60.7
	NPsC-B-MVA-CHMO	34741	11530	79	59.8

---

Os resultados obtidos indicam um excelente desempenho dos NPsC sintetizados como sensores seletivos de AP apresentando valores condizentes aos reportados pela literatura.<sup>153,154</sup> Os resultados obtidos permitem inferir de que o método de preparação dos NPsC (aquecimento convencional vs. microondas) não influenciou a sua sensibilidade ao analito em avaliação.



---

### **III. PARTE EXPERIMENTAL**



---

### III.1 PREÂMBULO

Neste capítulo serão apresentados os reagentes, bem como as técnicas gerais e os equipamentos utilizados no decorrer do trabalho experimental. Os procedimentos de caracterização das borras e grãos de café, a síntese e a purificação dos NPsC serão igualmente descritos.

A parte experimental integra as seguintes Secções:

III.2 - REAGENTES, TÉCNICAS GERAIS E EQUIPAMENTOS

III.3 - CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS E DAS BORRAS DE CAFÉ

III.4 - SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DOS

### III.2 REAGENTES, TÉCNICAS GERAIS E EQUIPAMENTOS

Os reagentes/solventes utilizados nas etapas de caracterização, síntese e purificação possuem pureza analítica e foram utilizados conforme recebidos.

Os NPsC foram sintetizados por carbonização hidrotérmica em reator de alta-pressão em aço inox da marca Parr, modelo 4560 com capacidade de 300 mL e controlado com sensores e controladores de pressão, temperatura e agitação também da marca Parr, modelo 4843. Paralelamente, a carbonização hidrotérmica realizada por irradiação assistida por microondas decorreu num reator microondas monomodo da marca CEM, modelo Discover, em tubos de *pyrex* com capacidade de 10 mL.

As misturas reacionais obtidas foram filtradas por membrana de celulose regenerada com tamanho de poro de 0.2  $\mu\text{m}$ . Atendendo à diferença de escala utilizada nos dois processos, as membranas utilizadas na filtração foram da Whatman® RC58 e filtros de seringa Whatman® Spartan, respetivamente.

Os espectros de ultravioleta-visível (UV-Vis) foram realizados no espectrofotómetro de dicroísmo circular da Jasco, modelo J-815 e no espectrofotómetro Jasco, modelo V-530. Os reagentes e concentrações empregues serão descritas em cada caso.

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos num espectrofotómetro Brüker Vertex 70 com uma resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$  em pastilhas de brometo de potássio (KBr).

Os espectros de fluorescência no estado estacionário foram traçados num espectrofluorímetro Perkin Elmer, modelo LS45, a 20 °C, utilizando geometria a 90° e células de quartzo de 1 cm.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de protão (RMN  $^1\text{H}$ , 300 MHz e 400 MHz) foram realizados no espectrofotómetro Brüker AVANCE II+ utilizando  $\text{D}_2\text{O}$  como solvente.

As análises elementares foram efetuadas no Serviço de Microanálise (C.A.C.T.I.) da Universidade de Vigo.

Os rendimentos quânticos de fluorescência foram determinados em água Millipore® recorrendo ao método do declive,<sup>155</sup> utilizando como padrão sulfato de quinino (>98%, Fluka) em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.01 M ( $\phi_F = 0.54$ ,<sup>156</sup> com geometria a 90°).

A determinação do pH durante as etapas de síntese e de caracterização foram realizadas num aparelho de pH VWR, modelo UM 6100L. Nos casos em que o volume

da mistura reacional foi insuficiente para mergulhar adequadamente o eletrodo de pH, recorreu-se a papel indicador universal.

As borras de café utilizadas e os grãos dos respetivos lotes, foram recolhidos no Campus do Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, sendo B-MAC-1 e G-MAC-1 provenientes do lote Nicola® Premium, B-MAC-2 e G-MAC-2 do lote Camelo® Qattara El Dorado, ambos disponíveis nas cafetarias do ISEL e B-MVA e G-MVA do lote Sical® Vending, que abastece as máquinas de venda automática instaladas no Campus. As borras foram secas em estufa a 60 °C durante várias horas até peso constante, peneiradas e armazenadas a 5 °C em frascos de plástico. Os grãos foram moídos, peneirados e armazenados nas mesmas condições.

### **III.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS E DAS BORRAS DE CAFÉ**

#### **III.3.1 Extração em Soxhlet**

A caracterização das borras de café e dos respetivos grãos virgem foi realizada recorrendo a amostras do extrato obtido após extração em Soxhlet (20 g de amostra extratada com 300 mL de água).

#### **III.3.2 Quantificação de Sólidos Totais**

A quantificação do teor de sólidos totais nas borras e nos grãos de café foi realizada levando 10 mL do extrato aquoso obtido na extração em Soxhlet à secura no evaporador rotativo, sendo o resíduo posteriormente seco sob vácuo a 105 °C durante 24-72 horas.

#### **III.3.3 Quantificação de Açúcares Totais**

Foi utilizado um método colorimétrico adaptado da literatura,<sup>116</sup> verificando-se que os açúcares ao serem tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado, sofrem redução, exibindo uma coloração amarelo-laranja estável.

Os extratos aquosos foram previamente diluídos na concentração adequada à reta de calibração previamente traçada. A uma toma de 0.5 mL de extrato, juntou-se 0.5 mL de fenol (80% m/m), adicionando-se rapidamente 2.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

---

concentrado na superfície da mistura que foi então agitada e incubada a 25 °C. Decorridos 25 minutos de repouso, realizou-se a leitura da absorvância a 488 nm. A curva de calibração foi obtida utilizando como padrão  $\beta$ -D-glucose (para bioquímica e microbiologia, Merck) numa gama de concentração de 0 a 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A determinação dos açúcares totais nas amostras em estudo foi realizada em triplicado.

### III.3.4 Quantificação de Flavonoides Totais

A determinação do conteúdo de flavonoides presente nas borras e grãos de café foi realizada por método espectrofotométrico<sup>121</sup> baseado na reação de complexação dos flavonoides com o alumínio. Adicionou-se 0.5 mL de  $\text{AlCl}_3$  (2% m/v) e 0.5 mL de água Millipore® a uma alíquota de 1 mL do extrato aquoso previamente diluído. A mistura foi então agitada e incubada durante 10 minutos a 25 °C, a que se seguiu a leitura da absorvância a 427 nm, sendo a determinação realizada em triplicado. A quercetina (cristalizada, Merck) foi utilizada como padrão na gama de concentração 0 a 75  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

### III.3.5 Quantificação de Fenóis Totais

A quantificação dos fenóis totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu<sup>125</sup> utilizando como padrão o ácido gálico (97.5%, Sigma) numa gama de concentração de 0 a 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  do extrato aquoso previamente diluído, adicionou-se 1.5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (10% v/v) e incubou-se durante 5 minutos. De seguida, adicionou-se 1.5 mL de  $\text{NaHCO}_3$  (60 g/L) e incubou-se novamente durante 90 minutos a 25 °C. Decorrido este período, efetuou-se a leitura da absorvância a 725 nm. A quantificação de fenóis totais foi realizada em triplicado.

### III.3.6 Quantificação de Proteínas

A quantificação das proteínas foi realizada por um método espectrofotométrico<sup>129</sup> utilizando azul brilhante de Coomassie como reagente, que quando em contato com proteínas, altera a cor laranja-acastanhada para azul intenso. Adicionou-se 1 mL da solução azul brilhante de Coomassie (G250  $\geq$  0.06% (m/m) em HCl 0.6 N) a uma alíquota de 1 mL de extrato aquoso previamente diluído, agitou-se

---

e deixou-se em repouso. Após 2 minutos, realizou-se a leitura da absorvância a 620 nm. A curva de calibração foi obtida utilizando como padrão BSA (*Bovine Serum Albumin*) numa gama de concentração de 0 a 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A quantificação de proteínas foi efetuada em triplicado.

### III.3.7 Quantificação de Cinzas

Para a realização da quantificação de cinzas, os cadinhos foram previamente calcinados a 600 °C durante 4 horas, arrefecidos num exsiccador até à temperatura ambiente e pesados. A cada cadinho, adicionou-se a amostra em análise (grão, borra, ou extrato aquoso seco), levou-se à ignição à chama e os cadinhos foram colocados numa mufla a 600 °C durante 6 horas. Decorrido esse período, foram arrefecidos em exsiccador e o resíduo quantificado. O tempo e a temperatura utilizados foram baseados no método de determinação de cinzas em biomassa.<sup>133</sup> Os ensaios foram efetuados em duplicado.

### III.3.8 Quantificação de Lípidos

Para a quantificação do teor de lípidos realizou-se uma extração com Soxhlet de ca. 16 g do grão ou da borra de café com 300 mL de *n*-hexano durante 8 horas. Decorrido esse período e após arrefecimento, a fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada por gravidade e o solvente evaporado. O resíduo foi seco a 60 °C durante 48 horas e quantificado.

## III.4 SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DOS NPsC

Os NPsC foram sintetizados por carbonização hidrotérmica utilizando 3 fontes de borras de café e recorrendo a dois métodos de aquecimento, o convencional, em reator de alta-pressão da Parr, e por irradiação assistida por microondas num reator monomodo.

### III.4.1 Síntese dos NPsC por Aquecimento Convencional

Pesou-se aproximadamente 3.69 g de borras de café e colocaram-se no reator de aço inox de alta-pressão com capacidade de 300 mL. Adicionou-se 120 mL de água Millipore®, mediu-se o pH, seguido da adição de ED (>99.5%, Fluka) em quantidades que variaram de 0 a 1.29 mL e mediu-se novamente o pH. O reator foi devidamente selado e programado com as condições desejadas. Como alternativa à ED, foram ainda testados outros aditivos como ureia (recristalizada), melamina (99%, Acros Organics) e DET (99%, Aldrich). As condições de cada ensaio são descritas no sub-capítulo II.3.1.

### III.4.2 Síntese dos NPsC por Irradiação Microondas

Pesou-se aproximadamente 153 mg de borras de café diretamente para tubo de *pyrex* com capacidade de 10 mL. Adicionou-se 5 mL de água Millipore® e mediu-se o pH. Adicionou-se uma porção de ED (0 - 54 µL), medindo-se novamente o pH. Introduziu-se uma barra magnética e procedeu-se ao desarejamento da mistura reacional com azoto, sempre que adequado. O tubo foi devidamente selado e colocado no reator microondas previamente programado. Foram igualmente testados outros aditivos *cf.* referido para os ensaios realizados no reator de alta-pressão. As condições de cada ensaio estão descritas no sub-capítulo II.3.2.

### III.4.3 Isolamento e Purificação dos NPsC por Extração Líquido-Líquido

Após arrefecimento, as misturas reacionais (m.r.) foram filtradas por membrana de celulose regenerada com diâmetro de poro de 0.2 µm, sendo medido o pH do filtrado. O resíduo retido na membrana foi seco a 105 °C durante 24-72 horas e quantificado.

O filtrado (ca. 110 mL) obtido nos ensaios realizados no reator de alta-pressão foi extraído com duas porções de 100 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, seguido de duas porções de 100 mL de AcOEt. O solvente orgânico residual foi removido por evaporação e a fração aquosa armazenada em frasco escuro sob atmosfera inerte. Cada uma das fases orgânicas foi seca sob MgSO<sub>4</sub>, evaporada, seca sob vácuo e quantificada.

As m.r. dos NPsC obtidos por tratamento hidrotérmico com irradiação assistida por microondas foram sujeitas a tratamento análogo, sendo a filtração realizada com

---

recurso a filtro de seringa e adequando as quantidades de solvente orgânico à escala do respectivo ensaio (ca. 2x4 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e AcOEt).



---

## IV. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS DE TRABALHO FUTURO

Foram sintetizados nanopontos de carbono recorrendo à valorização de borras de café por carbonização hidrotérmica com aquecimento convencional em reator de alta-pressão e por irradiação assistida por microondas, exibindo rendimentos quânticos muito promissores.

A sensibilidade dos NPsC produzidos foi testada na deteção de NAs, revelando especial seletividade para *p*-nitroanilina. Foi também explorada a sua capacidade sensorial para vários metais pesados e compostos nitroaromáticos empregues no fabrico de explosivos, destacando-se a resposta para crómio (VI) e ácido pícrico.

Os resultados obtidos parecem demonstrar a utilidade deste resíduo produzido em larga escala como fonte de carbono na síntese de NPsC, contribuindo para a economia circular.

Perspetivando a melhoria das propriedades destes nanomateriais, poderão futuramente ser explorados alguns parâmetros reacionais, nomeadamente outros agentes de passivação, a concentração da fonte de carbono, bem como o rácio aditivo/fonte de carbono.

O aumento de escala do reator de micro-ondas poderá ser uma vertente a investigar, trabalhando a temperaturas mais elevadas que poderão fazer diminuir o tempo de residência.

Futuramente, e atendendo à comprovada fotoluminescência ajustável e fácil funcionalização, estudos de toxicidade e biocompatibilidade poderão ser realizados perspetivando a aplicação dos NPsC produzidos na deteção de biomoléculas. A incorporação de NPsC em dispositivos sensoriais com aplicação prática, poderá ser também uma potencial linha de investigação.



---

## V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jariwala, D., Sangwan, V. K., Lauhon, L. J., Marks, T. J., Hersam, M. C. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 2824-2860.
2. Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F., Smalley, R. E. *Nature* **1985**, 318, 162-163.
3. Iijima, S. *Nature* **1991**, 354, 56-58.
4. Novoselov, K. S., Geim, A. K., Morozov, S. V., Jiang, D., Zhang, Y., Dubonos, S. V., Grigorieva, I. V., Firsov, A. A. *Science* **2004**, 306, 666-669.
5. Xu, X., Ray, R., Gu, Y., Ploehn H. J., Gearheart, L., Raker K., Scrivens, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12736-12737.
6. Zhu, S., Song, Y., Zhao, X., Shao, J., Zhang, J., Yang, B. *Nano Res.* **2015**, 8, 355-381.
7. Xia, C., Zhu, S., Feng, T., Yang, M., Yang, B. *Adv. Sci.* **2019**, 6, 1-23.
8. Liu, Y., Roy, S., Sarkar, S., Xu, J., Zhao, Y., Zhang, J. *Carbon Energy* **2021**, 3, 1-32.
9. Roy, P., Chen, P., Periasamy, A. P., Chen, Y., Chang, H. *Materials Today* **2015**, 18, 447-458.
10. Li, M., Chen, T., Gooding, J. J., Liu, J. *ACS Sensors* **2019**, 4, 1732-1748.
11. Zheng, X. T., Ananthanarayanan, A., Luo, K. Q., Chen, P. *Small* **2015**, 11, 1620-1636.
12. Lim, S. Y., Shen, W., Gao, Z. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 362-381.
13. Zuo, P., Lu, X., Sun, Z., Guo, Y., He, H. *Microchim. Acta* **2016**, 183, 519-542.
14. Ross, S., Wu, R. S., Wei, S. C., Ross, G. M., Chang, H. T. *J. Food Drug Anal.* **2020**, 28, 677-695.
15. Sun, Y. P., Zhou, B., Lin, Y., Wang, W., Fernando, K. A. S., Pathak, P., Mezziani, M. J., Harruff, B. A., Wang, X., Wang, H., Luo, P. G., Yang, H., Kose, M. E., Chen, B., Veca, L. M., Xie, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7756-7757.
16. Zhou, J., Booker, C., Li, R., Zhou, X., Sham, T. K., Sun, X., Ding, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 744-745.
17. Jiang, H., Chen, F., Lagally, M. G., Denes, F. S. *Langmuir* **2010**, 26, 1991-1995.
18. Zhuo, Y., Miao, H., Zhong, D., Zhu, S., Yang, X. *Mater. Lett.* **2015**, 139, 197-200.
19. Liu, H., Ye, T., Mao, C. *Chemie - Int. Ed.* **2007**, 46, 6473-6475.
20. Sun, D., Ban, R., Zhang, P. H., Wu, G. H., Zhang, J. R., Zhu, J. J. *Carbon N. Y.*

- 
- 2013**, 64, 424-434.
21. Gude, V., *Beilstein J. Nanotechnol.* **2014**, 5, 1513-1522.
22. Baker, S. N., Baker, G. A. *Angew. Chemie, Int. Ed.* **2010**, 49, 6726-6744.
23. Liu, R., Wu, D., Liu, S., Koynov, K., Knoll, W., Li, Q. *Angew. Chemie, Int. Ed.* **2009**, 48, 4598-4601.
24. Kwon, W., Rhee, S. W. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5256-5258.
25. Li, H., He, X., Liu, Y., Huang, H., Lian, S., Lee, S. T., Kang, S. *Carbon N. Y.* **2011**, 49, 605-609.
26. Himaja, A. L., Karthik, P. S., Singh, S. P. *Chem. Rec.* **2015**, 15, 595-615.
27. Nizamuddin, S., Baloch, H. A., Siddiqui, M. T. H., Mubarak, N. M., Tunio, M. M., Bhutto, A. W., Jatoi, A. S., Griffin, G. J., Srinivasan, M. P. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **2018**, 17, 813-837.
28. Zhu, S., Meng, Q., Wang, L., Zhang, J., Song, Y., Jin, H., Zhang, K., Sun, H., Wang, H., Yang, B. *Angew. Chemie, Int. Ed.* **2013**, 52, 3953-3957.
29. Gayen, B., Palchoudhury, S., Chowdhury, J. *J. Nanomater.* **2019**, 2019, 1-19.
30. He, C., Xu, P., Zhang, X., Long, W. *Carbon* **2022**, 186, 91-127.
31. Pan, M., Xie, X., Liu, K., Yang, J., Hong, L., Wang, S. *Nanomaterials* **2020**, 10, 1-25.
32. Liu, Y., Zhao, Y., Zhang, Y. *Sen. Actuators B Chem.* **2014**, 196, 647-652.
33. Prasannan, A., Imae, T. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, 52, 15673-15678.
34. Du, F., Zhang, M., Li, X., Li, J., Jiang, X., Li, Z., Hua, Y., Shao, G., Jin, J., Shao, Q., Zhou, M., Gong, A. *Nanotechnology* **2014**, 25, 1-10.
35. Xin-hui, D., Srinivasakannan, C., Jin-hui, P., Li-bo, Z., Zheng-yong, Z. *Biomass and Bioenergy* **2011**, 35, 3920-3926.
36. Nayak, J., Devi, C., Vidyapeeth, L. *Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci.* **2016**, 3, 278-285.
37. Zhu, H., Wang, X., Li, Y., Wang, Z., Yang, F., Yang, X. *Chem. Commun.* **2009**, 5118-5120.
38. Manioudakis, J., Victoria, F., Thompson, C. A., Brown, L., Movsum, M., Lucifero, R., Naccache, R. *J. Mater. Chem. C* **2019**, 7, 853-862.
39. Bankoti, K., Rameshbabu, A. P., Dat, S., Das, B., Mitra, A., Dhara, S. *J. Mater. Chem. B* **2017**, 5, 6579-6592.
40. Xu, H., Xie, L., Hakkarainen, M. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, 5, 5360-5367.
41. Shen, J., Zhu, Y., Yang, X., Zong, J., Zhang, J., Li, C. *New J. Chem.* **2012**, 36, 97-101.

- 
42. Li, Y., Zhao, Y., Cheng, H., Hu, Y., Shi, G., Dai, L., Qu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 134, 15-18.
  43. Zhao, X., Dong, L., Ming, Y., Wang, M., Lu, Z., Xu, Y., Li, H. *Talanta* **2019**, 200, 9-14.
  44. Longo, A. V., Sciortino, A., Cannas, M., Messina, F. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, 22, 13398-13407.
  45. Wang, W., Damm, C., Walter, J., Nacken, T. J., Peukert, W. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, 18, 466-475.
  46. Li, H., Ye, S., Guo, J., Wang, H., Yan, W., Song, J., Qu, J. *Nano Res.* **2019**, 12, 3075-3084.
  47. Yin, B., Deng, J., Peng, X., Long, Q., Zhao, J., Lu, Q., Chen, Q., Li, H., Tang, H., Zhang, Y., Yao, S. *Analyst* **2013**, 138, 6551-6557.
  48. Li, X., Wang, H., Shimizu, Y., Pyatenko, A., Kawaguchi, K., Koshizaki, N. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 932-934.
  49. Wei, W., Xu, C., Wu, L., Wang, J., Ren, J., Qu, X. *Sci. Rep.* **2014**, 4, 1-7.
  50. Jia, X., Li, J., Wang, E. *Nanoscale* **2012**, 4, 5572-5575.
  51. Shen, J., Zhu, Y., Chen, C., Yang, X., Li, C. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 2580-2582.
  52. Gonçalves, H. M. R., Duarte, A. J., Esteves da Silva, J. C. G. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, 26, 1302-1306.
  53. Yang, S. T., Cao, L., Luo, P. G., Lu, F., Wang, X., Wang, H., Mezziani, M. J., Liu, Y., Qi, G., Sun, Y. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 11308-11309.
  54. Wang, J., Zhang, Z., Zha, S., Zhu, Y., Wu, P., Ehrenberg, B., Chen, J. Y. *Biomaterials* **2014**, 35, 9372-9381.
  55. Kleinauskas, A., Rocha, S., Sahu, S., Sun, Y. P., Juzenas, P. *Nanotechnology* **2013**, 24, 1-10.
  56. Tang, J., Kong, B., Wu, H., Xu, M., Wang, Y., Wang, Y., Zhao, D., Zheng, G. *Adv. Mater.* **2013**, 25, 6569-6574.
  57. Li, H., Liu, R., Lian, S., Liu, Y., Huang, H., Kang, Z. *Nanoscale* **2013**, 5, 3289-3297.
  58. Li, H., He, X., Kang, Z., Huang, Z., Liu, Y., Liu, J., Lian, S., Tsang, C. H. A., Yng, X., Lee, S. T. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2010**, 49, 4430-4434.
  59. Li, H., Kang, Z., Liu, Y., Lee, S. T. *J. Mater. Chem.* **2012**, 22, 24230-24253.
  60. Zhu, C., Zhai, J., Dong, S. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 9367-9369.
  61. Sun, M., Ma, X., Chen, X., Sun, Y., Cui, X., Lin, Y. *RSC Adv.* **2014**, 4, 1120-1127.
  62. Choi, H., Ko, S. J., Choi, Y., Joo, P., Kim, T., Lee, B. R., Jung, J. W., Choi, H. J.,

- 
- Cha, M., Jeong, J. R., Hwang, I. W., Song, M. H., Kim, B. S., Kim, J. Y. *Nat. Photonics* **2013**, 7, 732-738.
63. Kaur, S., Dhillon, G. S., Sarma, S. J., Brar, S. K., Misra, K., Oberoi, H. S., Waste Biomass: A Prospective Renewable Resource for Development of Bio-Based Economy/Processes. Em *Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals*; Brar, S. K., Dhillon, G. S., Soccol, C. R. Ed.; Springer, 2014; pp 3-27.
64. Sharma, V., Tiwari, P., Mobin, S. M. *J. Mater. Chem. B* **2017**, 5, 8904-8924.
65. Hsu, P. C., Shih, Z. Y., Lee, C. H., Chang, H. T. *Green Chem.* **2012**, 14, 917-920.
66. Dos Santos, A. B., Nascimento, J. C., Oliveira, I. M., Dos Santos, T. V., Barbosa, C. D. A. E. S. *Sci. Plena* **2020**, 16, 1-9.
67. Liu, M. L., Chen, B. Bin, Li, C. M., Huang, C. Z. *Green Chem.* **2019**, 21, 449-471.
68. Sahu, S., Behera, B., Maiti, T. K., Mohapatra, S. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 8835-8837.
69. Zhou, J., Sheng, Z., Han, H., Zou, M., Li, C. *Mater. Lett.* **2012**, 66, 222-224.
70. Jin, H., Gui, R., Wang, Y., Sun, J. *Talanta* **2017**, 169, 141-148.
71. Alam, A. M., Park, B. Y., Ghouri, Z. K., Park, M., Kim, H. Y. *Green Chem.* **2015**, 17, 3791-3797.
72. Saxena, M., Sarkar, S. *Mater. Express* **2013**, 3, 201-209.
73. Qin, X., Lu, W., Asiri, A. M., Al-Youbi, A. O., Sun, X. *Sensors Actuators, B Chem.* **2013**, 184, 156-162.
74. Yu, C., Xuan, T., Chen, Y., Zhao, Z., Sun, Z., Li, H. *J. Mater. Chem. C* **2015**, 3, 9514-9518.
75. Wang, L., Zhou, H. S. *Anal. Chem.* **2014**, 86, 8902-8905.
76. Wang, Z., Liao, H., Wu, H., Wang, B., Zhao, H., Tan, M. *Anal. Methods* **2015**, 7, 8911-8917.
77. Jiang, C., Wu, H., Song, X., Ma, X., Wang, J., Tan, M. *Talanta* **2014**, 127, 68-74.
78. Feng, Y., Zhong, D., Miao, H., Yang, X. *Talanta* **2015**, 140, 128-133.
79. Wang, J., Wang, C. F., Chen, S. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, 51, 9297-9301.
80. Yang, X., Zhuo, Y., Zhu, S., Luo, Y., Feng, Y., Dou, Y. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, 60, 292-298.
81. Wang, J., Sahu, S., Sonkar, S. K., Tackett II, K. N., Sun, K. W., Liu, Y., Maimaiti, H., Anilkumar, P., Sun, Y. P. *RSC Adv.* **2013**, 3, 15604-15607.
82. Guo, Y., Zhang, L., Cao, F., Leng, Y. *Sci. Rep.* **2016**, 6, 1-7.

- 
83. Essner, J. B., Laber, C. H., Ravula, S., Polo-Parada, L., Baker, G. A. *Green Chem.* **2016**, 18, 243-250.
84. Wei, J., Shen, J., Zhang, X., Guo, S., Pan, J., Hou, X., Zhang, H., Wang, L., Feng, B. *RSC Adv.* **2013**, 3, 13119-13122.
85. Hu, Y., Yang, J., Tian, J., Jia, L., Yu, J. S. *Carbon N. Y.* **2014**, 77, 775-782.
86. a) Sousa, D. A., Costa, A. I., Alexandre, M. R., Prata, J. V. *Sci. Total Environ.* **2019**, 647, 1097-1105. b) José V. Prata, Alexandra I. Costa, "Nanomateriais de carbono luminescentes obtidos por conversão química das águas residuais do processamento industrial do azeite", Patente Portuguesa Nº 110131; registada em 8 de Junho de 2017; publicada no Boletim do INPI Nº 91/2021 em 11 de Maio de 2021.
87. a) Alexandre, M. R., Costa, A. I., Berberan-Santos, M. N., Prata, J.V. *Molecules* **2020**, 25, 1-18. b) José V. Prata, Marta S. Alexandre, Alexandra I. Costa, "Process for Producing Luminescent Carbon Nanomaterial from Cork Industry Wastewater", Patente Portuguesa Nº 109379; registada em 10 de Maio de 2016; publicada no Boletim do INPI Nº 143/2020 em 23 de Julho de 2020.
88. Herrera, J. C., Lambot, C. The Coffee Tree-Genetic Diversity and Origin. Em *The Craft and Science of Coffee*; Folmer, B. Ed.; Elsevier Inc., 2017; pp 1-16.
89. International Coffee Organization. *Relatório sobre o mercado cafeeiro - Outubro 2020*. <https://www.ico.org/documents/cy2020-21/cmr-1020-p.pdf>, Data de acesso: 31 de novembro de 2020.
90. International Coffee Organization. *Imports by selected importing countries*. <https://www.ico.org/historical/1990%20onwards/PDF/2b-imports.pdf>, Data de acesso: 31 de novembro de 2020.
91. Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. *Food Chemistry*, Springer-Verlag, Heidelberg, 2009.
92. Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., Teixeira, J. A. *Food Bioprocess Technol.* **2011**, 4, 661-672.
93. Oestreich-Janzen, S. *Compr. Nat. Prod. II Chem. Biol.* **2010**, 3, 1085-1117.
94. Franca, A. S., Oliveira, L. S. Coffee processing solid wastes: Current uses and future perspectives. Em *Agricultural Wastes*; Azevedo, P., Ashworth, G. S. Ed.; Nova Science Publishers, 2009; pp 155-190.
95. Calvert, K. C., Sanh, K., Hoa, H., Tri, Q. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, 42, 132-137.
96. Clarke, R. J., Macrae, R. *Coffee.*, Elsevier, Londres, 1985.

- 
97. Verhagen, S. Tese de Bacharelato, *Improving the Value of Spent Coffee Grounds by Converting Carbohydrates into Fermentable Sugars*, Wageningen University and Research **2017**.
  98. Gemechu, F. G. *Trends Food Sci. Technol.* **2020**, 104, 235-261.
  99. Zoca, S. M. Tese de Mestrado, *Avaliação da Liberação de Potássio por Resíduos do Benefício de Café.*, Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista **2014**.
  100. Campos, C. M. M., Prado, M. A. C., Pereira, E. L. *Biosci. J.* **2010**, 26, 514-524.
  101. Matos, A. T., Magalhães, M. A., Fukunaga, D. C. *Eng. Agrícola* **2005**, 26, 610-616.
  102. Conde, T., Mussatto, S. I. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **2016**, 46, 406-409.
  103. Mussatto, S. I., Carneiro, L. M., Silva, J. P. A., Roberto, I. C., Teixeira, J. A. *Carbohydr. Polym.* **2011**, 83, 368-374.
  104. Lago, R. C. A., Antoniassi, R., Freitas, S. C. Composição centesimal e de aminoácidos de café verde, torrado e de borra de café solúvel. Em *II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil Vitória*, 2001; pp 1473-1477.
  105. Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H. A., Dave Oomah, B. *Trends Food Sci. Technol.* **2015**, 45, 24-36.
  106. Silva, M. A., Nebra, S. A., Machado Silva, M. J., Sanchez, C. G. *Biomass and Bioenergy* **1998**, 14, 457-467.
  107. Kondamudi, N., Mohapatra, S. K., Misra, M. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 11757-11760.
  108. Machado, E. M. S., Rodriguez-Jasso, R. M., Teixeira, J. A., Mussatto, S. I. *Biochem. Eng. J.* **2012**, 60, 87-90.
  109. Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Carneiro, L. M., Teixeira, J. A. *Appl. Energy* **2012**, 92, 763-768.
  110. Sampaio, A., Dragone, G., Vilanova, M., Olivera, J. M., Teixeira, J. A., Mussato, S. I. *LWT - Food Sci. Technol.* **2013**, 54, 557-563.
  111. Ge, L., Yu, H., Li, J., Ren, H. *J. Mater. Sci.* **2017**, 52, 9979-9989.
  112. Crista, D. M. A., Mragui, A. E., Algarra, M., da Silva, J. C. G. E., Luque, R., da Silva, L. P. *Nanomaterials* **2020**, 10, 1-17.
  113. Passos, C. P., Rudnitskaya, A., Neves, J. M. M. G. C., Lopes, G. R., Evtuguin, D. V., Coimbra, M. A. *Carbohydr. Polym.* **2019**, 214, 53-61.
  114. Cruz, R., Cardoso, M. M., Fernandes, L., Oliveira, M., Mendes, E., Baptista, P.,

- 
- Morais, S., Casal, S. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, 60, 7777-7784.
115. Illy, A., Viani, R. *Espresso Coffee: The Science of Quality*, Elsevier, San Diego, 2005.
116. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. *Anal. Chem.* **1956**, 28, 350-356.
117. Nielsen, S. S. *Food Analysis Laboratory Manual*, Springer, West Lafayette, 2017.
118. Bradbury, A. G. W., Halliday, D. J. *J. Agric. Food Chem.* **1990**, 38, 389-392.
119. Simões, J., Nunes, F. M., Domingues, M. R., Coimbra, M. A. *Carbohydr. Polym.* **2013**, 97, 81-89.
120. Passos, C. P., Moreira, A. S. P., Domingues, M. R. M., Evtuguin, D. V., Coimbra, M. A. *Carbohydr. Polym.* **2014**, 103, 333-338.
121. Pełkal, A., Pyrzyńska, K. *Food Anal. Methods* **2014**, 7, 1776-1782.
122. Scully, D. S., Jaiswal, A. K., Abu-Ghannam, N. *Bioengineering* **2016**, 3, 1-13.
123. Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., Petrucci, R. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 4162-4168.
124. Kreicbergs, V., Dimins, F., Mikelsone, V., Cinkmanis, I. Biologically active compounds in roasted coffee. Em *6<sup>th</sup> Baltic Conference on Food Science and Technology: Innovations for Food Science and Production*, 2011; pp 110-115.
125. Hajimahmoodi, M., Moghaddam, G., Ranjbar, A. M., Khazani, H., Sadeghi, M., Oveisi, M. R., Jannat, B. *Am. J. Plant Sci.* **2013**, 04, 1815-1820.
126. Schofield, P., Mbugua, D. M., Pell, A. N. *West Leather Animal Feed Sci. Technol.* **2001**, 91, 21-40.
127. Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S., Teixeira, J. A. *Sep. Purif. Technol.* **2011**, 83, 173-179.
128. Zuorro, A., Lavecchia, R. *J. Clean. Prod.* **2012**, 34, 49-56.
129. Sedmak, J. J., Grossberg, S. E. *Anal. Biochem.* **1977**, 79, 544-552.
130. Arya, M., Rao, L. J. M. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2007**, 47, 51-67.
131. Moreira, A. S. P., Nunes, F. M., Simões, C., Maciel, E., Domingues, P., Domingues, M. R. M., Coimbra, M. A. *Data Br.* **2017**, 13, 145-161.
132. Brand, D., Pandey, A., Roussos, S., Soccol, C. R. *Enzyme Microb. Technol.* **2000**, 27, 127-133.
133. Rabemanolontsoa, H., Ayada, S., Saka, S. *Biomass and Bioenergy* **2011**, 35, 4630-4635.

- 
134. Ballesteros, L. F., Teixeira, J. A., Mussatto, S. I., *Food Bioprocess Technol.*, **2014**, 7, 3493-3503.
  135. Pérez-Sariñana, B. Y., Saldaña-Trinidad, S. Chemistry and Biotransformation of Coffee By-Products to Biofuels. Em *The Question of Caffeine*; Latosińska, J. N. Ed.; InTechOpen, 2017, pp 143-162.
  136. Pujol, D., Liu, C., Gominho, J., Olivella, M. À., Fiol, N., Villaescusa, I., Pereira, H. *Ind. Crops Prod.* **2013**, 50, 423-429.
  137. Song, Y., Zhu, S., Zhang, S., Fu, Y., Wang, L., Zhao, X., Yang, B. *J. Mater. Chem. C* **2015**, 3, 5976-5984.
  138. He, G., Shu, M., Yang, Z., Ma, Y., Huang, D., Xu, S., Wang, Y., Hu, N., Zhang, Y., Xu, L. *Appl. Surf. Sci.* **2017**, 422, 257-265.
  139. Ray, S. C., Saha, A., Jana, N. R., Sarkar, R. *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 18546-18551.
  140. Wang, X., Qu, K., Xu, B., Ren, J., Qu, X. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 2445-2450.
  141. Lakowicz, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy, Springer, New York, 2006.
  142. Valeur, B., Berberan-Santos, M. N. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim, 2012.
  143. Wu, P., Liu, Y., Li, Y., Jiang, M., Li, X. L., Shi, Y., Wang, J. *J. Mater. Chem. A* **2016**, 4, 16349-16355.
  144. Guo, X., Lv, J., Zhang, W., Wang, Q., He, P., Fang, Y. *Talanta* **2006**, 69, 121-125.
  145. Chen, X., Cheng, X., Gooding, J. J. *Anal. Chem.* **2012**, 84, 8557-8563.
  146. Yuan, H., Li, D., Liu, Y., Xu, X., Xiong, C. *Analyst* **2015**, 140, 1428-1431.
  147. Li, P., Li, S. F. Y. *Nanophotonics* **2021**, 10, 877-908.
  148. Zhang, Y., Fang, X., Zhao, H., Li, Z. *Talanta* **2018**, 181, 318-325.
  149. Dhenadhayalan, N., Lin, K. C., Saleh, T. A. *Small* **2020**, 16, 1-24.
  150. Qiao, G., Lu, D., Tang, Y., Gao, J., Wang, Q. *Dye. Pigment.* **2019**, 163, 102-110.
  151. Babar, D. G., Garje, S. S. *ACS Omega* **2020**, 5, 2710-2717.
  152. Singh, S. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 144, 15-28.
  153. Sun, X. Tese de Doutorado, *Nanomaterials Based Fluorescent Sensors for Sensitive and Selective Nitro-explosives Detection*, University of Connecticut, **2015**.

- 
154. Kumar, V., Maiti, B., Chini, M. K., De, P., Satapathi, S. *Sci. Rep.* **2019**, 9, 1-10.
155. Annon, 2018. *A Guide to Recording Fluorescence Quantum Yields*, Horiba Scientific.  
<http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/Fluorescence/quantumyieldstrad.pdf>, Data de acesso: 11 de abril de 2021.
156. Melhuish, W. H. *J. Phys. Chem.* **1961**, 65, 229-235.