

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

MATHEUS VALENTIN MAIA

**PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO EM PAPEL PARA A DETERMINAÇÃO DE
ÍONS COBRE EM CACHAÇA USANDO UM FLUORÍMETRO À BASE DE LED-UV
E SMARTPHONE**

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

MATHEUS VALENTIN MAIA

**PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO EM PAPEL PARA A DETERMINAÇÃO DE
ÍONS COBRE EM CACHAÇA USANDO UM FLUORÍMETRO À BASE DE LED-UV
E SMARTPHONE**

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

Orientador: Willian Toito Suarez

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M217p
2021
Maia, Matheus Valentin, 1994-
Pontos quânticos de carbono em papel para a determinação de íons cobre em cachaça usando um fluorímetro à base de LED-UV e smartphone / Matheus Valentin Maia. – Viçosa, MG, 2021.

77 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Willian Toito Suarez.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 68-77.

1. Química quântica. 2. Cobre. 3. Fluorescência.
4. Cachaça - Análise. 5. Imagens digitais - Análise. 6. Carbono.
7. Impressão tridimensional. 8. Fluorímetro. 9. Diodos emissores de luz. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 541.28

MATHEUS VALENTIN MAIA

**PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO EM PAPEL PARA A
DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE EM CACHAÇA USANDO UM
FLUORÍMETRO À BASE DE LED-UV E SMARTPHONE**

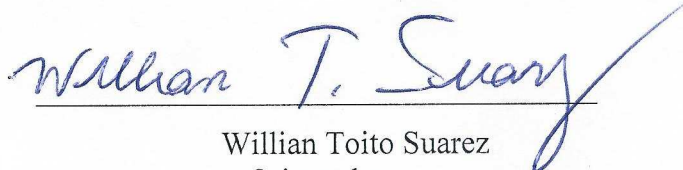
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 2 de março de 2021.

Assentimento:



Matheus Valentin Maia
Autor



Willian Toito Suarez
Orientador

Dedico este trabalho ao meu pai (in memoriam) e
à minha avó (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar esse momento único em minha vida, sendo meu amparo e refúgio em todos os momentos, transformando os vários impossíveis dessa caminhada em realidade.

Agradeço a minha família e aos amigos pelo carinho e apoio.

Ao meu orientador Prof. Dr. Willian Toito Suarez, pela oportunidade de orientação, aprendizado e amizade.

Aos professores da banca pela disponibilidade e atenção com esse trabalho.

À Capes pela bolsa e pela oportunidade de seguir com meus estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“Fiz de mim o que não soube,
E o que podia fazer de mim não o fiz”*

-Fernando Pessoa

“E todo dia vai ser pra sempre um recomeço”
- Lucas Silveira

RESUMO

MAIA, Matheus Valentin, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2021. **Pontos quânticos de carbono em papel para a determinação de íons cobre em cachaça usando um fluorímetro à base de LED-UV e smartphone.** Orientador: William Toito Suarez.

No presente trabalho foi desenvolvido um procedimento simples e de baixo custo para a síntese de nanopartículas de carbono fluorescentes (CDs) a partir do amido presente no arroz por um processo hidrotérmico. Pela primeira vez na literatura é reportado um trabalho empregando nanopartículas de carbono para determinação de cobre em cachaça por meio da utilização de um dispositivo a base de papel (PAD) acoplados a uma placa 3D, tendo como fonte de excitação dos CDs uma câmara (LED-UV) com aquisição e análise de imagens digitais realizada por um smartphone. Os CDs sintetizados foram caracterizados por meio das técnicas de espalhamento dinâmico de luz, espectroscopia de fluorescência, espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível, microscopia eletrônica de varredura, além disso foram realizados estudos do potencial zeta, pH e força iônica. O método proposto é baseado na atenuação da fluorescência emitida pelo complexo CDs/CPZ induzida pela presença de íons Cu^{2+} . Para excitação do complexo CDs/CPZ foi construída uma câmara contendo quatro diodos LED-UV com máximo de emissão a 370 nm com uma abertura na parte superior permitindo o acoplamento do smartphone. As nanopartículas sintetizadas se mostraram seletivas para a determinação de cobre, por meio da funcionalização com bis(ciclohexanona) oxaldihidrazona (CPZ). Obteve-se uma resposta linear entre a concentração de cobre em solução em relação ao canal R e o B do modelo matemático de cores RGB em uma faixa linear de 2 a 13,2 mg L^{-1} com um $R^2 = 0,9944$, e 25 a 7,2 mg L^{-1} com um $R^2 = 0,9993$. Não houve a necessidade de adição de padrão ou padrão interno uma vez que os resultados de veracidade do método indicaram que a porcentagem de recuperação variou entre 85% e 111%, demonstrando que não há efeito de matriz. Foram obtidos LD e LQ, respectivamente, de 0,66 e 1,55 mg L^{-1} para o canal R e 0,23 e 0,62 mg L^{-1} para o canal B. Amostras de cachaças foram analisadas pelos métodos propostos e pelo método de referência, a partir dos resultados obtidos foi empregando o teste t pareado com 95% de confiança, o qual indicou não haver diferenças significativas nos resultados obtidos.

Palavras-chave: Cobre. Fluorescência. PAD. Cachaça. Análise de Imagens Digitais. Carbon Dots. Nanopartículas. Impressão em 3D. Fluorímetro. LED.

ABSTRACT

MAIA, Matheus Valentin, MSc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2021. **Quantum carbon points on paper for the determination of copper ions in cachaça using a fluorimeter based on LED-UV and smartphone.** Adviser: Willian Toito Suarez.

In the present work, a simple and low cost procedure was developed for the synthesis of fluorescent carbon nanoparticles (CDs) from the starch present in rice by a hydrothermal process. For the first time in the literature, a work is reported using carbon nanoparticles for the determination of copper in cachaça using a paper-based device (PAD) coupled to a 3D plate, with a camera (LED-UV) as the excitation source for the CDs with acquisition and analysis of digital images performed by a smartphone. The synthesized CDs were characterized by the techniques of dynamic light scattering, fluorescence spectroscopy, molecular absorption spectrophotometry in the ultraviolet and visible region, scanning electron microscopy, in addition to studies of zeta potential, pH and ionic strength. The proposed method is based on the attenuation of fluorescence emitted by the CD / CPZ complex induced by the presence of Cu^{2+} ions. For excitation of the CDs / CPZ complex, a chamber was built containing four UV-LED diodes with maximum emission at 370 nm with an opening at the top allowing the smartphone to be coupled. The synthesized nanoparticles proved to be selective for the determination of copper, by means of functionalization with bis (cyclohexanone) oxaldihidrazone (CPZ). A linear response was obtained between the copper concentration in solution in relation to the R channel and the B of the mathematical model of RGB colors in a linear range of 2 to 13.2 mg L^{-1} with an $R^2 = 0.9944$, and 25 to 7.2 mg L^{-1} with an $R^2 = 0.9993$. There was no need to add a standard or internal standard since the results of the method's veracity indicated that the percentage of recovery varied between 85% and 111%, demonstrating that there is no matrix effect. LD and LQ were obtained, respectively, of 0.66 and 1.55 mg L^{-1} for channel R and 0.23 and 0.62 mg L^{-1} for channel B. Samples of cachaça were analyzed by the proposed methods and by the reference method, based on the results obtained, the t-test paired with 95% confidence was used, which indicated that there were no significant differences in the results obtained.

Keywords: Copper. Fluorescence. PAD. Cachaça. Digital Image Analysis. Carbon Dots. Nanoparticles. 3D printing. Fluorimeter. LED.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema simplificado da produção de cachaça.	17
Figura 2 – Fábrica de cachaça. a) Alambique de cobre. b) Barris de madeira para o processo de envelhecimento da cachaça.....	18
Figura 3 - Produção científica relacionada a nanopartículas de carbono.	21
Figura 4 – Métodos de síntese de nanopartículas “top down” e “bottom up”	22
Figura 5 – Diagrama de Jablonski mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível.....	27
Figura 6 – Diagrama esquemático que elucida as cores e suas respectivas cores complementares no espectro eletromagnético do visível.	30
Figura 7 – Cubo tridimensional representativo do espaço de cores RGB e da escala de cinza.	31
Figura 8 – Interface de aplicativos que decompõem imagens e um modelo numérico de cores a) Color Grab b) Color Name	32
Figura 9 – Princípio do processo de impressão por FDM	36
Figura 10 – Esquema de síntese dos CDs empregando o processo hidrotérmico. (A) arroz, (B) extração do amido, (C) solução final de CDs (D) solução de CDs submetido a radiação ultravioleta.....	41
Figura 11 – Recipiente de Teflon e autoclave de aço inoxidável utilizada no tratamento hidrotérmico.	41
Figura 12 – Estrutura da cuprizona (CPZ).....	42
Figura 13 – Câmara UV-LED utilizada para as medidas de fluorescência.	43
Figura 14 – Papel de filtro utilizado no método proposto	44
Figura 15 - a) Placa 3D impressa em PLA b) microdispositivo de papel(PAD) acoplado nas cavidades c) excitação de CDs usando a câmara UV	44
Figura 16 – Ensaios experimentais com as intensidades luminescentes experimentais e previstas dos CDs realizados com fluorímetro Avaspec-HS2048XL.	45
Figura 17 – Gráfico de Pareto com os efeitos estimados, $p=0,05$	47
Figura 18 - Efeito da interação entre a temperatura e o tempo na intensidade luminescente dos CDs, como superfície de resposta 3D e gráfico de contorno 2D.....	47
Figura 19 – Espectro UV/VIS para os CDs sintetizados	49

Figura 20 – Espectros de emissão de luminescência de CDs com comprimento diferentes comprimentos de onde de excitação: a) Comprimentos de 300 a 340 nm, b) Comprimentos de 350 a 390nm e Comprimentos de 400 a 430 nm	50
Figura 21 – Intensidades de fluorescência dos CDs com emissão em 470nm (excitação a 370 nm) em função do tempo.	51
Figura 22 – Intensidades de fluorescência dos CDs em diferentes valores de pHs.....	52
Figura 23 – Gráfico da intensidade de fluorescência dos CDs em solução aquosa de NaCl em função da força iônica.....	53
Figura 24 - Imagem dos CDs obtida por microscopia eletrônica de transmissão	54
Figura 25 - Distribuição de tamanho dos CDs obtidas através da técnica de espalhamento dinâmico de luz.....	55
Figura 26 - Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs com diferentes íons metálicos na concentração de $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	56
Figura 27 - Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs/CPZ com diferentes íons metálicos na concentração de $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	57
Figura 28 – Intensidade de fluorescência CDs/CPZ.....	58
Figura 29 - Espectros de infravermelho com transformada de Fourier da CPZ, CDs/CPZ e CDs.	59
Figura 30 - Proposta da provável funcionalização da superfície dos CDs e possível mecanismo de atenuação luminescente dos CDs/CPZ por Cu^{2+}	60
Figura 31 – Curva analítica para determinação de cobre utilizando diferentes canais do modelo RGB	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Graduação alcoólica e teores de componentes secundários e de contaminantes estabelecidos para a cachaça.....	18
Tabela 2 – Fatores com seus níveis para a síntese de CDs.....	39
Tabela 3 – Ensaio experimentais	40
Tabela 4 - Resultados ANOVA para a síntese de CDs.....	46
Tabela 5 – Potencial Zeta dos CDs.....	54
Tabela 6 - Cores registradas pelo aplicativo Color Name e recortadas da imagem, valores do canal R e B das cores registradas. Limites de detecção, limites de quantificação e coeficiente de determinação.....	62
Tabela 7 - Porcentagens de recuperação de Cu^{2+} obtidas para os dois níveis de concentração estudados.	63
Tabela 8 - Determinação de Cu^{2+} em cachaça empregando o método proposto e o de referência	64
Tabela 9 - Comparação entre métodos de identificação de cobre em cachaça relatados na literatura.....	66

LISTA DE SIGLAS

- AAS - Atomic absorption spectroscopy (Espectrometria de Absorção Atômica);
- ABS - Acrilonitrila butadieno estireno;
- ANOVA - Análise de Variância;
- CDs - Carbon Dots (Pontos de carbono);
- CDs/CPZ - Carbon Dots (Pontos de carbono) funcionalizados com Cuprizona (bis (ciclohexanona) oxaldi-hidrazona);
- CMY – Cyan, Magenta e Yellow (Ciano, Magenta e Amarelo);
- CPZ - Cuprizona (bis (ciclohexanona) oxaldi-hidrazona);
- CQD – Carbon quantum dots (Pontos quânticos de carbono) ;
- DLS – Dynamic Light Scattering (espalhamento dinâmico de luz);
- EQL – eletroquimioluminescência;
- FDM – Fused Deposition Modeling (modelagem por fusão e deposição);
- FTIR - Fourier transform infrared spectroscopy (Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier);
- GF-AAS - Graphite furnace atomic absorption spectroscopy (Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite);
- HSL - hue, saturation, lightness (Matiz, Saturação, Brilho);
- HSV - hue, saturation, value (Matiz, Saturação, Valor);
- ICP-MS - Inductively coupled plasma-mass-spectrometry (Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente);
- ICP-OS - Inductively Coupled Plasma Optical Emission spectroscopy (Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente);
- LD – Limite de Detecção;
- LED – Light Emitting Diodes (Diodos de Emissão de Luz);
- LQ – Limite de Quantificação;
- MAPA – O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
- MET - Microscopia Eletrônica de Transmissão;
- NAC - N-Acetil Cisteína;
- KSV - Constante de Stern-Volmer;
- PADs - paper-based analytical devices (Dispositivos analítico à base de papel);
- PLA – Polylactic acid (Ácido polilático);
- PET - Polietileno tereftalato;

PVA - Poly (vinyl acetate) (Poliacetato de vinila);

QDs - Quantum Dots (Pontos quânticos);

RGB – Red, Green and Blue (Vermelho, Verde e Azul);

RMS - Response surface methodology (Metodologia de superfície de resposta);

SLM – Selective Laser Melting (fusão seletiva a laser);

SLS – Selective Laser Sintering (sinterização seletiva a laser);

TEM - Transmission electron microscopy (Microscopia eletrônica de transmissão);

TPE – Termoplástico elastomérico;

UV-VIS – Ultravioleta-Visível.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Cachaça	16
2.2	Nanopartículas Fluorescentes	19
2.2.1	Síntese de Carbon Dots	22
2.2.2	Funcionalização dos CDs	24
2.2.3	Caracterização dos CDs	24
2.3	Princípios da Luminescência	25
2.4	Análise de Imagens Digitais	29
2.5	Dispositivo analítico à base de papel	33
2.6	Tecnologia de impressão 3D	34
3	OBJETIVOS	36
3.1	Objetivo geral	36
3.2	Objetivos específicos	36
4	PARTE EXPERIMENTAL	37
4.1	Materiais, soluções e equipamentos	37
4.1.1	Reagentes e soluções	37
4.1.2	Espectroscopia de fluorescência	37
4.1.3	Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR)	38
4.1.4	Potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz	38
4.1.5	Espectrofotometria de absorção UV-Vis	38
4.1.7	Tratamento hidrotérmico	38
4.1.8	Placa 3D	39
4.1.8	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	39
4.2	Planejamento experimental para síntese de CDs	39
4.3	Síntese de CDs	40
4.4	Funcionalização de CDs com Cuprizona (CPZ)	42
4.5	Aparato para análises de imagens digitais	42
4.6	Papel utilizado como PAD e metodologia de análise	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
5.1	Planejamento experimental para síntese de CDs	45

5.1	Caracterização dos CDs.....	48
5.1.1	Espectrofotometria UV/VIS.....	48
5.1.2	Luminescência	49
5.1.3	Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs	51
5.1.4	Estudo do pH	52
5.1.5	Força iônica	53
5.1.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão	53
5.1.7	Potencial Zeta	54
5.1.8	Espalhamento dinâmico de luz	54
5.2	Seletividade dos CDs	55
5.2.1	Seletividade dos CDs funcionalizados.....	56
5.2.3	Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs/CPZ.....	57
5.2.4	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier.....	58
5.3	Faixa linear do método	61
5.4	Veracidade do Método	63
5.5	Análise de Cu ²⁺ em amostras de cachaça comerciais.....	64
5.6	Outros métodos para determinação de cobre em cachaça	65
6	CONCLUSÃO.....	67
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1 INTRODUÇÃO

A cachaça é uma bebida alcoólica genuinamente brasileira, considerada um produto nacional. Cada vez mais tem conquistado a aceitação e a apreciação do mercado nacional e internacional, se tornando assim um produto com grande importância econômica, social e cultural. (GONÇALVES, UETANABARO, 2012; LIMA et al., 2009).

É uma bebida que possui características sensoriais ímpares, produzida a partir da cana-de-açúcar pelo processo de fermentação seguido de uma etapa de destilação, caracterizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como sendo uma bebida típica e exclusiva da aguardente de cana-de-açúcar com graduação alcoólica de 38 a 48% (v/v) à 20 °C (BRASIL, 2005b).

Diversas substâncias químicas podem ser encontradas na cachaça, a porcentagens desses constituintes está relacionada com a matéria prima utilizada e com as etapas de produção e de armazenagem da bebida. Como componentes principais, vale destacar a presença de água, etanol, possíveis contaminantes e congêneres (ácido acético; aldeídos, expressos em acetaldeído; ésteres totais, expressos em acetato de etila; álcoois superiores, expressos pela soma do álcool n-propílico, álcool isobutílico e álcoois isoamílicos; furfural + hidroximetilfurfural). De acordo com a legislação brasileira, o somatório desses compostos secundários não poderá ser inferior a 200mg por 100ml e não poderá ser superior a 650 mg por 100 mL de álcool anidro (BRASIL, 2005b; VENTURINI FILHO, 2010).

Historicamente o produtor de cachaça artesanal tem enfrentado dificuldades de certificação e padronização para a comercialização do produto, fato ocasionado principalmente pela presença de possíveis contaminantes em níveis maiores do que os permitidos pela legislação brasileira e/ou a internacional (ANDRADE et al., 2018; PINTO, 2019).

A química analítica se apresenta como uma área fundamental para a identificação e quantificação de possíveis contaminantes em cachaças por meio de metodologias analíticas. Tendo em vista a importância da cachaça no Brasil, faz-se necessário o desenvolvimento de técnicas que possam analisar e garantir o controle de qualidade dessa bebida tanto para o consumo nacional quanto exportação.

Este trabalho aborda o desenvolvimento e validação de uma metodologia analítica alternativa às já existentes. O método é baseado na construção de um fluorímetro composto por uma câmara escura contendo quatro diodos LED-UV com emissão máxima a 370nm, tendo como detector um smartphone (acoplado na parte superior da câmara) para aquisição

de imagens digitais de amostras fluorescente presentes papel em uma placa 3D. O fluorímetro desenvolvido permite análises no próprio lugar de produção da cachaça, ou seja, no alambique.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cachaça

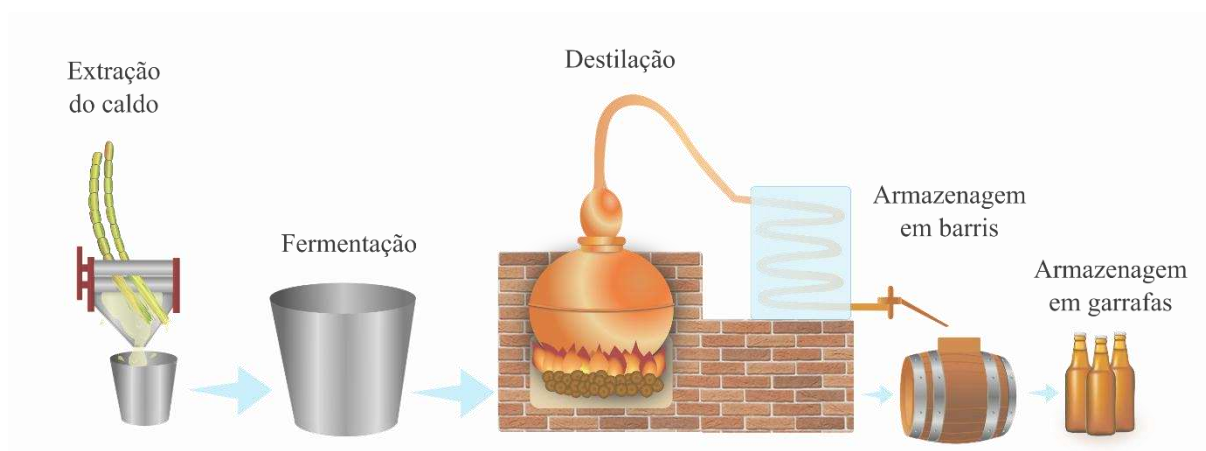
A instrução normativa nº 13 de 29 de junho de 2005 caracteriza a cachaça como uma bebida exclusivamente brasileira produzida a partir da aguardente de cana, com graduação alcoólica de 38 % v/v a 48% v/v a 20 °C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹ expressos em sacarose (BRASIL, 2005b).

A produção de cachaça tem como princípio a transformação dos açúcares presentes no caldo da cana-de-açúcar em álcool (etanol) (VENTURINI FILHO, 2010). A produção em alambiques se inicia com a extração do caldo presente na cana-de-açúcar onde estão presentes açúcares e água majoritariamente. Na etapa seguinte ocorre a fermentação, onde são inoculadas leveduras ao mosto (caldo da cana-de-açúcar) obtido na etapa anterior. As leveduras metabolizam os açúcares presentes em álcool etílico, gás carbônico e outros compostos secundários em pequenas quantidades (CARDOSO, 2013). O fermentado é levado para ser destilado, geralmente em alambique de cobre, onde separaram-se constituintes por meio da diferentes temperaturas de ebulição desses compostos (VENTURINI FILHO, 2010).

A destilação é fracionada em três partes: a primeira fração coletada, também conhecida como destilado de cabeça ou água forte, apresenta um grau alcoólico de 50 a 70 % v/v correspondendo de 5% a 10% em volume do destilado total. A cabeça é uma mistura rica em água, aldeído acético, acetato de etila, etanol e principalmente metanol, sendo este potencialmente danoso à saúde. A segunda fração, denominada coração, já representa a cachaça produzida, apresentando grau alcoólico de 38 a 58 % v/v representando 80% do volume do destilado total, esta fração é rica em etanol e com menor concentração de impurezas voláteis sendo a fração de interesse na produção. A última fração, conhecida como água fraca ou destilado de cauda é a fração rica em ácido acético, furfural e álcoois superiores, apresentando um grau alcoólico entre 38 e 14 % v/v e corresponde de 5% a 10% do volume do destilado total (RODRIGUES FILHO, OLIVEIRA, 1999; VENTURINI FILHO, 2010).

Uma vez sendo o coração apenas a fração de interesse, a cabeça e cauda são geralmente consideradas resíduos e são descartadas. Essas duas frações normalmente não são incorporadas ao coração a fim de se produzir uma bebida de qualidade (BOZA, HORII, 1998). Por fim, a fração de interesse é armazenada por no mínimo três meses para se obter uma bebida mais equilibrada e menos agressiva ao paladar. Após esse período a cachaça já pode ser apreciada, sendo constituída principalmente por etanol e água. As etapas da produção da cachaça foram esquematizadas na Figura 1.

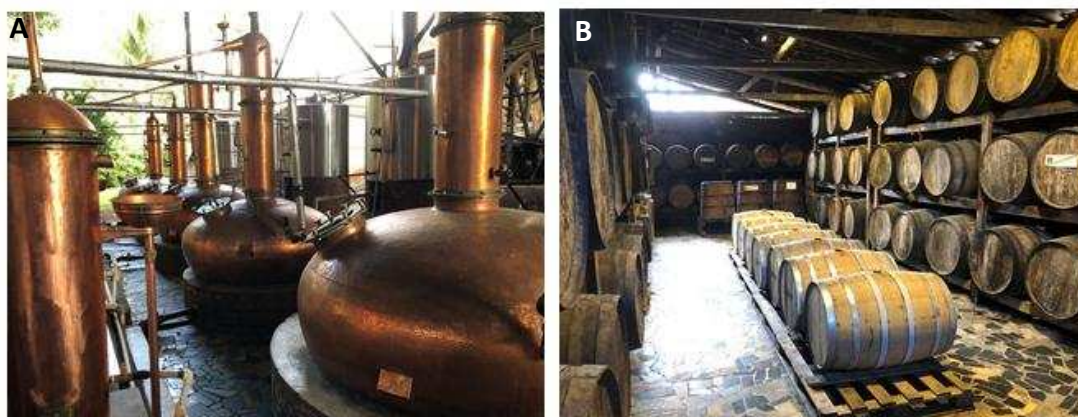
Figura 1 – Esquema simplificado da produção de cachaça.



Fonte: Autoria própria.

A cachaça pode ainda sofrer um processo de envelhecimento, no qual uma determinada quantidade da bebida é armazenada em barris de madeira por um determinado período. A variação desses dois parâmetros, quantidade de cachaça e o tempo de armazenagem, influencia na tipificação da bebida após o período de envelhecimento (VENTURINI FILHO, 2010). É considerada cachaça envelhecida aquela que contém no mínimo 50% de cachaça envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a um ano; cachaça premium, por sua vez, é aquela que contém 100% de cachaça envelhecida em recipiente de madeira apropriado, com capacidade máxima de 700 litros, por um período não inferior a um ano; cachaça extra premium contém 100% de cachaça envelhecida em um período superior a três anos (BRASIL, 2005b). Na Figura 2 são exibidas imagens de uma fábrica de cachaça com destaque para o alambique e o processo de armazenagem e envelhecimento em barris de madeira.

Figura 2 – Fábrica de cachaça. a) Alambique de cobre. b) Barris de madeira para o processo de envelhecimento da cachaça.



Fonte: Arquivo pessoal.

Além de tipificar, a instrução normativa nº 13 de 29 de junho de 2005 do MAPA, estabelece padrões de identidade e de qualidade que a cachaça deve atender, conforme mostrado na Tabela 1 (BRASIL, 2005a).

Tabela 1 - Graduação alcoólica e teores de componentes secundários e de contaminantes estabelecidos para a cachaça.

Componente	Unidade	Limite	
		Mínimo	Máximo
Graduação Alcoólica	% v/v*a 20°C	38,00	48,00
Açúcares	g L ⁻¹	6,00	30,00
Acidez volátil, em ácido	mg/100 mL*	-	150,00
Ésteres, em acetato de etila	mg/100 mL*	-	200,00
Aldeído, em acetaldeído	mg/100 mL*	-	30,00
Furfural + Hidroximetilfurfural	mg/100 mL*	-	5,00
Álcoois Superiores**	mg/100 mL*	-	360,00
Congêneres**	mg/100 mL*	200,00	650,00
Álcool metílico	mg/100 mL*	-	20,00
álcool sec-butílico (2- butanol)	mg/100 mL*	-	10,00
álcool n-butílico (1- butanol)	mg/100 mL*	-	3,00
Acroleína (propenal)	mg/100 mL*	-	5,00
Carbamato de Etila	µg L ⁻¹	-	150,00
Cobre	mg L ⁻¹	-	5,00
Arsênio	µg L ⁻¹	-	100,00
Chumbo	µg L ⁻¹	-	200,00
Extrato Seco	g L ⁻¹	-	6,00

*de álcool anidro ** Álcoois superiores: isobutílico + isoamílico + propílico *** Congêneres: acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural + hidroximetilfurfural + álcoois superiores

Fonte: BRASIL, 2005a.

Vale destacar que, muito embora a água e o etanol representem grande parte da constituição da cachaça, o que de fato a caracteriza e a confere aspectos sensoriais únicos são os componentes secundários.

A presença de cobre em cachaça acontece exclusivamente em alambiques que utilizam esse metal como revestimento dos equipamentos empregados no processo de fabricação, tal como pode ser observado na Figura 2a. A presença de íons cobre geralmente está associada a não observância de boas práticas no processo de produção, como a carência de higienização dos equipamentos (VENTURINI FILHO, 2010). A preferência pelo uso de alambiques desse metal se deve ao fato de o cobre contribuir para a eliminação de odores desagradáveis da cachaça durante o processo de destilação. Tem se assim a obtenção de um destilado de melhor qualidade sensorial se comparada à cachaça produzida em alambiques à base de outros materiais, como aço inox, alumínio e porcelana (LABANCA et al., 2006).

Com a presença de cobre na superfície do alambique, durante o processo de destilação da cachaça ocorre a formação de carbonato básico de cobre ($\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2$), o azinhavre, na superfície do metal. Este carbonato é solubilizado pelos vapores ácidos produzidos durante a destilação, causando assim a contaminação do destilado pelos íons cobre (GARBIN, BOGUSZ JUNIOR, MONTANO, 2005).

Muito embora seja necessária uma quantidade considerável de íons cobre para causar algum malefício a saúde (para um adulto a quantidade máxima permitida é 1000 $\mu\text{g}/\text{dia}$) existem disfunções relacionadas ao acúmulo desse íon no organismo. A principal patologia relacionada a ingestão excessiva de cobre é a Doença de Wilson. Esse distúrbio se caracteriza clinicamente por manifestações hepáticas e neurológicas devido ao acúmulo de cobre no fígado e nas córneas (GOW et al., 2000; LOUDIANOS, GITLIN, 2000). Um potencial agravante da presença de cobre, é a associação do mesmo à formação de carbamato de etila, que, por sua vez, é um composto cancerígeno (LIMA et al., 2009).

2.2 Nanopartículas Fluorescentes

Os pontos quânticos (QDs, do inglês Quantum Dots) são nanopartículas de estrutura cristalina com tamanhos em escala nanométrica podendo variar de 1 a 100 nm. Possuem características e propriedades singulares, sendo tais características relacionadas mais com a área superficial das nanopartículas do que com o seu volume total (BERA et al., 2010; MANSUR, 2010).

A principal propriedade que torna os QDs como objeto de estudos e pesquisa é a sua alta fotoestabilidade com rendimentos quânticos de fluorescência bem elevados. Alguns QDs podem apresentar metais pesados em suas estruturas, tais como os pontos quânticos de CdSe, LaGaAs, CdTe, InAs. A presença de metais pesados pode ser nociva tanto ao meio ambiente bem como a saúde humana se descartados ou manejados de maneira não adequada (BERA et al., 2010; HARDMAN, 2006; MANSUR, 2010). Desse modo, pesquisas recentes têm buscado a síntese de novas nanopartículas fluorescentes que possam apresentar características semelhantes aos quantum dots, mas isentos de metais pesados. Como alternativa promissora frente a essa questão, foram descobertas as nanopartículas a base de materiais de carbono (TAN et al., 2011).

As nanopartículas a base de carbono, conhecidas também como pontos quânticos de carbono (CQDs, do inglês Carbon Quantum Dots) ou também como carbon dots (CDs) foram descobertas em 2004 por Xu e colaboradores (2004) durante a purificação de nanotubos de carbono por meio da técnica de eletroforese. As nanopartículas obtidas apresentaram um tamanho de aproximadamente 1 nm e emitem fótons, com diferentes energias e comprimentos de onda na região do visível. Após essa descoberta, diversos estudos foram realizados para investigar e identificar as propriedades físicas e químicas e possíveis aplicações dessa nova classe de nanopartículas.

Atualmente os CDs se tornaram um dos grandes protagonistas da nanociência de materiais a base de carbono. Muito embora possam existir diferentes subtipos de CDs, todos são majoritariamente compostos por carbono, cuja porcentagem varia de 50% a 80% da sua composição. Podem ser compostos ainda por oxigênio, nitrogênio e hidrogênio, em geral apresentam as funções orgânicas hidroxila (-OH), carboxila (-COOH) e amina (-NH₂). Essas nanoestruturas possuem um tamanho menor que 10 nm, uma superfície densa e desordenada (CAO et al., 2007; SCIORTINO, CANNIZZO, MESSINA, 2018).

Sabe-se ainda que a fluorescência emitida está condicionada a diversos fatores, tais como solventes presentes, íons, pH, comprimento de onda da radiação incidente, eficiência quântica, absorvibilidade, temperatura, viscosidade do meio, materiais paramagnéticos e etc. (KOZÁK et al., 2013; LIU et al., 2016; PAN et al., 2010; WANG, XU, ZHANG, 2015; XU et al., 2015; ZHANG et al., 2014).

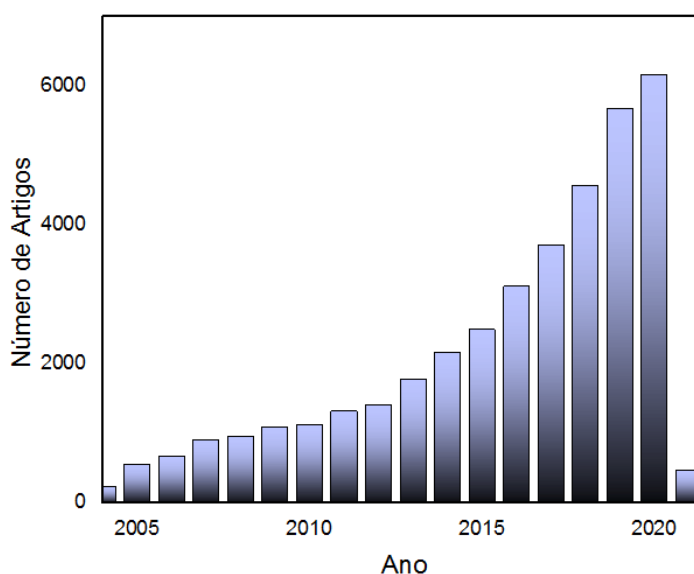
Liu e Mao (2007) observaram que mesmo quando nanopartículas eram expostas ao mesmo comprimento de onda de excitação os comprimentos de onda de emissão podiam ser diferentes, isso porque a emissão é influenciada pelo tamanho das nanopartículas. Observaram ainda que aumentando o tamanho das nanopartículas ocorre deslocamento batocrômico, ou

seja, a cor de emissão muda ligeiramente para comprimentos de onda maiores. Assim variando o tamanho e a natureza do CDs, é possível gerar uma emissão fotoluminescente que abrange uma ampla faixa espectral, desde o ultravioleta até o infravermelho.

Miranda (2014) aponta os CDs como um material promissor, surgindo com uma alternativa aos QDs, com grande possibilidades de aplicações em diversas áreas, fato este atribuído as propriedades ópticas observadas tais como, a transferência eletrônica fotoinduzida, eletroquimioluminescência (EQL), e alta eficiência quântica de fluorescência, que varia entre 4 e 11%. Quando comparados aos diversos quantum dots já conhecidos na literatura, os CDs apresentam características semelhantes e se mostram superiores em outras propriedades, tais como, maior solubilidade em meio aquoso, menor suscetibilidade a fotodegradação, podem ser sintetizados a partir de materiais de baixo custo e por não apresentarem metais pesados em sua composição, o que lhes confere baixa toxicidade (ALGARRA et al., 2014; DE e KARAK, 2013; MOHD YAZID et al., 2013).

Devido ao seu grande potencial de aplicação em diversas áreas do conhecimento, desde sua descoberta, em 2004, pode se observar um crescimento notório à produção científica relacionada aos CDs. De acordo com dados da plataforma de periódicos Web of Science observa-se uma tendência crescente na produção de artigos relacionados ao tema, como pode-se verificar na Figura 3.

Figura 3 – Produção científica relacionada a nanopartículas de carbono.

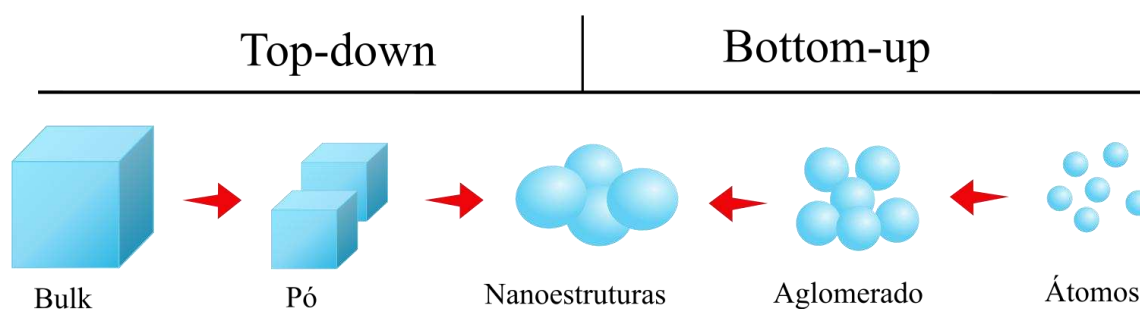


Fonte: Plataforma: Web of Science, TOPIC: (carbon dots).

2.2.1 Síntese de Carbon Dots

Os métodos de síntese de CDs podem ser classificados em dois grandes grupos, um deles é método “top down” tendo como materiais de grafite como fontes de carbono e o método “bottom up” com moléculas orgânicas como fontes de carbono (SCIORTINO, CANNIZZO, MESSINA, 2018).

Figura 4 – Métodos de síntese de nanopartículas “top down” e “bottom up”



Fonte: autoria própria

Na metodologia “top down” uma macromolécula constituída de carbonos, conhecida como “bulk”, é fragmentada em pequenas partículas menores, até que estas atinjam um tamanho nanométrico, para tal são empregados métodos físicos ou químicos de quebra de macromoléculas (WANG et al., 2019), tais como: ablação a laser (GONÇALVES et al., 2010; SUN et al., 2006), síntese eletroquímica (LIU et al., 2016), descarga de arco (XU et al., 2004) ou oxidação química (QIAO et al., 2010; SCIORTINO et al., 2017).

Por outro lado, a metodologia “bottom-up” refere-se à polimerização e a carbonização de pequenas moléculas para que ocorra um rearranjo dos átomos do material de partida constituídas de carbono para a formação dos carbon dots. (WANG et al., 2019). Dentre as principais metodologias utilizadas no método “bottom-up” vale destacar oxidação térmica (BOURLINOS et al., 2008), desidratação de hidratos de carbono usando ácido sulfúrico concentrado (PENG, TRAVAS-SEJDIC, 2009), síntese de nanopartículas de carbono em solventes não coordenantes (WANG et al., 2010), oxidação eletroquímica (ZHOU et al., 2007) tratamento hidrotermal (LIU et al., 2016; LIU et al., 2014; ZHU et al., 2009). Um esquema mostrando sumariamente ambas as metodologias de síntese de CDs é apresentado na Figura 4.

Os CDs sintetizados pelas duas técnicas apresentam estruturas simples e bem definidas (LECROY et al., 2014), entretanto, geralmente as nanopartículas sintetizadas pelo método top down não são imediatamente fluorescentes. Por isso, é necessária uma etapa extra na qual são passivadas as superfícies das nanoestruturas, ou seja, há adição de grupos funcionais ou moléculas fluorescentes para que se obtenha CDs altamente fluorescentes (SCIORTINO, CANNIZZO, MESSINA, 2018; SUN et al., 2006).

Diferentemente do método “top down”, o “bottom-up” apresenta a formação de produtos secundários indesejados. Desse modo torna-se necessária a purificação do produto obtido. Mesmo assim o método “bottom-up” se mostra como uma metodologia simples na qual as nanopartículas obtidas desse processo apresentam grande capacidade de fluorescência, sem a necessidade de outra etapa pós-síntese (SCIORTINO, CANNIZZO, MESSINA, 2018). Por esta facilidade, o método “bottom-up” é o método mais comumente empregado para a síntese de nanopartículas de carbono, sendo a síntese hidrotérmica a mais amplamente empregada, método no qual se exploram a carbonização parcial de precursores moleculares conduzidos por reações térmicas, geralmente transportadas em fase líquida após aquecimento em autoclave (SCIORTINO, CANNIZZO, MESSINA, 2018).

A primeira síntese hidrotérmica utilizada para a produção de CDs foi relatada por Bourlinos et al. (2008), utilizando como precursores os compostos 2-(2-aminoetoxi)-etanol e o citrato de octadecil amônio. Desde então diversos outros materiais de partida foram explorados para a síntese de carbon dots, tais como a metionina e ácido acrílico para determinação de íons ferro (CUI et al., 2017), nanopartículas de diamante utilizando ácido sulfúrico concentrado, NaNO_3 e KMnO_4 como precursores para síntese de CDs empregados na aquisição de imagens de células (ZHANG, X. et al., 2013) e determinação de ácido pícrico, tendo como CDs sintetizados a partir de ureia e ácido malônico (FAN et al., 2017).

Buscando uma síntese hidrotérmica de baixo custo e que tenha como precursores fontes ambientalmente viáveis, diversos autores demonstraram a viabilidade da síntese de nanopartículas a partir de fontes renováveis, tais como a carbonização de glicose, frutose, ácido cítrico e ácido ascórbico presentes no suco de laranja (SAHU et al., 2012), leite de soja (ZHU, ZHAI, DONG, 2012), folhas de bambu (LIU, YINGSHUAI, ZHAO, ZHANG, 2014), suco de maçã (MEHTA et al., 2015), rabanetes (LIU et al., 2017) e o caldo extraído da cana-de-açúcar (MOREIRA et al., 2018).

2.2.2 Funcionalização dos CDs

A variação dos grupos presentes na superfície dos CDs depende integralmente dos materiais utilizados como precursores bem como as condições de síntese. Os grupos presentes na superfície podem potencializar ou suprimir as propriedades fluorescentes das nanopartículas (SCIORTINO, CANNIZZO, MESSINA, 2018). Além da possibilidade de se modificar os CDs pelas variações nas condições de síntese bem como o de materiais precursores, é possível ainda modificar os grupos já presentes nas nanopartículas pelo método de funcionalização.

Sabendo que majoritariamente estão presentes nas superfícies grupos polares tais como carboxilas, grupos amino, tióis, hidroxilas entre outros, é possível modificá-los e/ou adicionar outros grupos funcionais e moléculas a fim de se potencializar as propriedades fluorescentes dos CDs, bem como torná-los mais seletivos e com maior sensibilidade para a determinação de íons e/ou moléculas (FERREIRA, RANGEL, 2009; WANG et al., 2016; WANG, QIU, 2016).

Diversos tipos de funcionalizações são reportados na literatura. Buscando um método mais seletivo e sensível para a determinação de Hg^{2+} Gonçalves et al. (2010), funcionalizaram CDs em três etapas, sendo a primeira considerada a etapa de ativação com ácido nítrico, posteriormente a funcionalização com polietileno glicol e por último foi utilizado N-acetil-L-cisteína (NAC). De maneira mais simples YU et al. (2016) funcionalizaram CDs com cloreto de gadolínio ($GdCl_3$) para obtenção de bioimagens. Du et al. (2013) partiram do ácido cítrico para preparar CDs que posteriormente foram funcionalizado com 1,2-etilenodiamina para a determinação de iodeto em solução aquosa explorando o aumento de fluorescência.

2.2.3 Caracterização dos CDs

Os CDs apresentam fotoluminescência como sua principal característica, sendo assim, a espectroscopia de fluorescência é a técnica mais utilizada para a sua caracterização.

Diversas outras técnicas igualmente importantes são amplamente aplicadas para a obtenção de informações acerca dos CDs, tais como: A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, A espectroscopia Raman, espectrofotometria de absorção UV-Vis, as microscopias eletrônicas de transmissão e de varredura, o espalhamento de luz.

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; baseada na interação entre a matéria e a radiação (com energia suficiente para interagir com os modos vibracionais

das moléculas). Essa técnica é especialmente útil na identificação de grupos funcionais (ALVES et al., 2016; GUO et al., 2014; MEHTA et al., 2015).

A espectroscopia Raman é uma técnica de espalhamento inelástico de luz que fornece informações sobre as vibrações intra e intermoleculares e possibilita acompanhamento de reações e caracterização de materiais. A espectroscopia Raman pode fornecer informações adicionais sobre modos de baixa frequência e vibrações que aumentam a compreensão sobre a rede dos cristais e a estrutura molecular fundamental (DING et al., 2013; FERRARO, NAKAMOTO, 2002).

A espectrofotometria UV/VIS é uma técnica versátil para identificar e/ou quantificar analitos que possuem capacidade de absorver radiação na região do espectro que compreende comprimentos de onda aproximadamente entre 200 e 800 nm (VAZ et al., 2015).

A microscopia eletrônica de transmissão A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é uma técnica que gera imagens de alta resolução, permitindo a visualização da morfologia e estrutura da amostra (ALVES et al., 2016).

A microscopia eletrônica de varredura A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica de caracterização que permite obter informações em escala nanométrica. A versatilidade da técnica resulta da sua capacidade de investigar a superfície de sólidos diversos, exigindo pouco preparo de amostra (HE et al., 2014; PAN et al., 2016; YU, KWAK, 2012).

O espalhamento dinâmico de luz é uma técnica que se divide em duas vertentes, o espalhamento dinâmico no qual se obtém informações sobre a dinâmica de partículas em fluidos e o espalhamento estático que nos dá informações sobre tamanho e massa molar de partículas (MEHTA, JHA, KAILASA, 2014).

2.3 Princípios da Luminescência

A luminescência é uma propriedade que algumas substâncias apresentam em emitir radiação. Esse fenômeno ocorre devido a transições eletrônicas de um nível de energia excitado para outro nível de energia mais baixo, com emissão de fótons. Quando essa emissão é estimulada pela absorção de uma fonte externa de energia esse fenômeno é chamado de fotoluminescência. Os compostos luminescentes podem ser divididos entre aqueles que fluorescem e outros que fosforescem. O que diferencia esses processos é a natureza dos diferentes estados eletrônicos excitados presentes nas moléculas (LAKOWICZ, 2006).

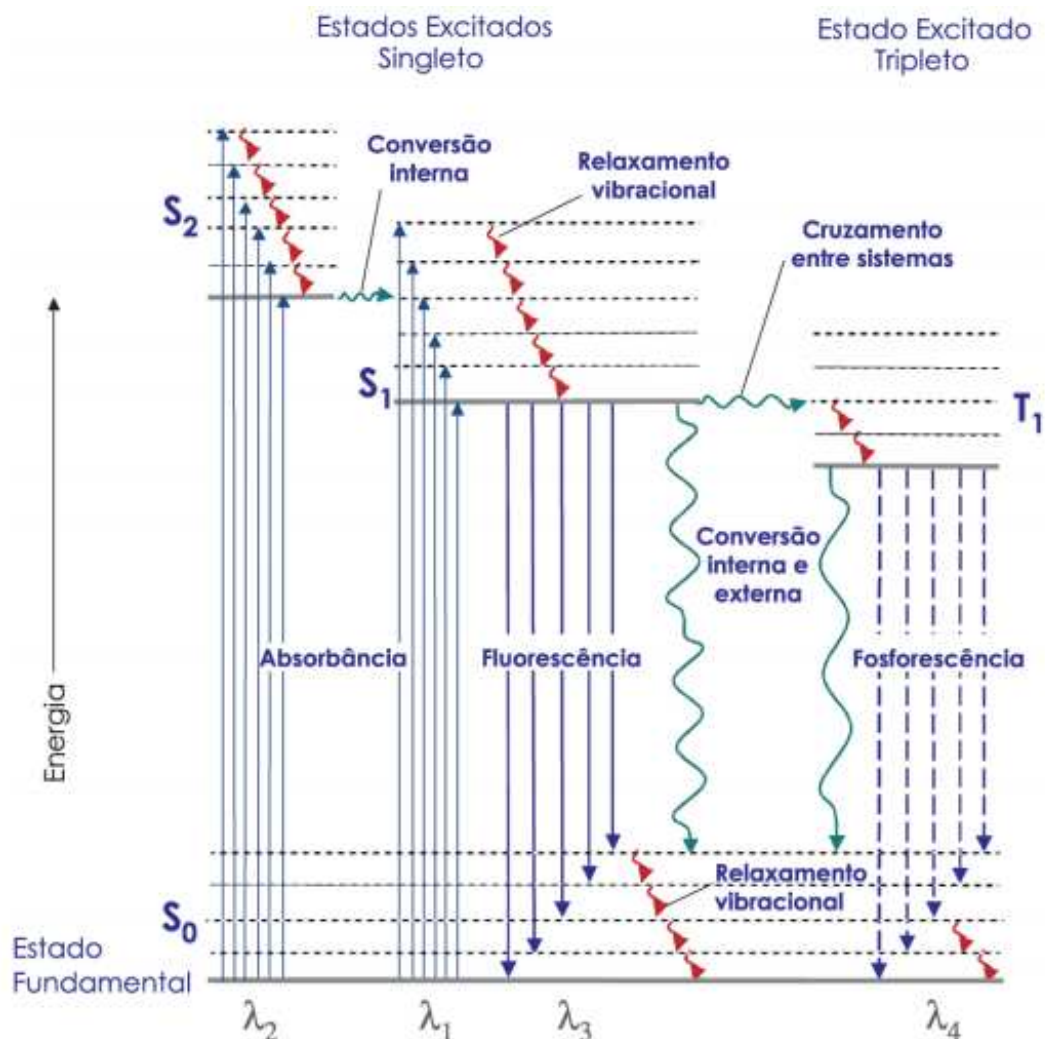
A fosforescência ocorre quando o elétron excitado é promovido para um orbital de maior energia sofrendo uma inversão de orientação do spin, desse modo o retorno para o estado fundamental é considerado uma transição proibida pelo fato de que o spin do elétron retornaria para o estado fundamental com orientação diferente da original. Para que, de fato, o elétron retorne para estado fundamental é necessário a modificação da orientação do seu spin, esse processo de retorno não instantâneo faz com que a emissão da radiação ocorra entre 10^{-4} a 10^1 segundos (LAKOWICZ, 2006; SKOOG, HOLLER, NIEMAN, 2006; SOTOMAYOR et al., 2008) fazendo com que a emissão de fóton possa ser visível, em alguns casos, algum tempo depois de as moléculas não estarem sendo irradiadas por uma fonte externa de energia.

Diferentemente da fosforescência, a fluorescência ocorre quando a direção do spin do elétron que é excitado e promovido para um orbital de maior energia é preservada. Desse modo, o retorno para o estado fundamental, e por consequência a emissão de radiação, é considerado uma transição permitida pelo fato de que o spin do elétron retorna para o estado fundamental com a mesma orientação que possuía antes de ser excitado. Essa transição ocorre em um tempo significativamente curto entre 10^{-6} e 10^{-9} segundos (LAKOWICZ, 2006; SOTOMAYOR et al., 2008) sendo praticamente instantânea. A fluorescência é fenômeno luminescente mais comum que a fosforescência. As emissões fluorescentes ocorrem em um comprimento de onda maior se comparadas ao comprimento de onda da luz usado para a excitação da molécula (SOTOMAYOR et al., 2008).

Precedendo os fenômenos de emissão pode ocorrer relaxamento vibracional fazendo com que os processos fluorescentes e fosforescentes ocorram envolvendo uma transição a partir do nível vibracional mais baixo de um estado eletrônico excitado. Esse fenômeno ocorre devido a perda de energia vibracional em excesso por meio da transferência dela para um outro sistema (solvente) por meio de colisões.

Uma maneira de se entender melhor os fenômenos supracitados, é a utilização do diagrama de Jablonski (JABŁOŃSKI, 1935). O diagrama é ilustrado de diversas maneiras para demonstrar os vários processos moleculares de absorção e emissão de energia em diversos estados eletrônicos excitados. Na Figura 5, S_0 representa o estado fundamental, S_1 é o estado excitado singleto de menor energia que corresponde a fluorescência, S_2 é um segundo estado excitado singleto, T_1 o estado excitado tripleto de menor energia que corresponde a fosforescência.

Figura 5 – Diagrama de Jablonski mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível.



Fonte: (SOTOMAYOR et al., 2008).

A fluorescência de uma molécula depende muito de sua estrutura, nem todas as moléculas que absorvem radiação ultravioleta apresentam fluorescência detectável. Compostos que contêm anéis aromáticos, insaturações, certos compostos carbonílicos, alicíclicos, estruturas rígidas, presença de heteroátomos doadores de elétrons apresentam potencial à fluorescência (LAKOWICZ, 2006; SKOOG, HOLLER, NIEMAN, 2006).

Os fenômenos de fluorescência e fosforescência são casos de liberação de energia por meio de um processo radioativo, uma vez que quando são excitadas por esses fótons liberam a energia absorvida para retornarem para o estado eletrônico de menor energia, pois são mais estáveis nesse último estado com emissão de fótons. Entretanto existem também as desativações não radioativas que convertem o excesso de energia eletrônica para energia

translacional, rotacional, ou vibracional, convertendo essa energia em energia térmica ou cinética sem emissão de fótons (SKOOG, HOLLER, NIEMAN, 2006).

O rendimento quântico é um dos parâmetros relacionados a espectroscopia de luminescência molecular, que pode ser calculado pela (equação 1). Sendo definido como a razão entre o número de fótons emitidos e o número de fótons absorvidos pela mesma. Para esta medida, utiliza-se um composto de rendimento quântico conhecido como referência (XU et al., 2015). Na equação 1, I é a área sob a curva do espectro de emissão, A é a absorção e n é o índice de refração, o sub índice R refere-se ao composto de referência de rendimento quântico conhecido, Φ_{FR} (XU et al., 2015).

$$\Phi_F = \Phi_{FR} \cdot \frac{I}{I_R} \cdot \frac{A_R}{A} \cdot \frac{n^2}{n_R^2} \quad (1)$$

Diferentemente da absorção molecular que mede a atenuação da radiação pela absorção de parte do feixe incidente, na fotoluminescência molecular é medida a intensidade fluorescente, o sinal não é relativo, e pode ser expressa pela equação 2.

$$F = kC \quad (2)$$

Onde (F) potência de fluorescência, (k) depende da eficiência quântica de absorção, volume da amostra irradiada, da intensidade de fóton incidente, da temperatura e da viscosidade, (C) é a concentração da espécie emissora.

Os fenômenos de supressão da fluorescência ocorrem por meio da interação entre o fluoróforo (espécie luminescente) com um supressor de intensidade por meio de diversas interações moleculares, tais como rearranjos moleculares, transferência de energia, formação de complexos, oxidação, efeito do átomo pesado, interconversão ou conversão interna.

Mediante a este fenômeno, metodologias analíticas foram desenvolvidas para análise de diversos analito de interesse. O fenômeno de supressão fluorescente pode ser descrito pela Equação de Stern-Volmer equação 2 (GEETHANJALI et al., 2015) onde, I_0 e I são, respectivamente, a intensidade de fluorescência na ausência e na presença do supressor de fluorescência, [Q] a concentração do supressor e K_{SV} é a constante de Stern-Volmer.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv} [Q] \quad (3)$$

A fotoluminescência que os CDs apresentam ainda é alvo de grande discussão, não se sabe ao certo exatamente a causa desse fenômeno, entretanto, atualmente existem na literatura basicamente dois mecanismos mais amplamente aceitos para explicar esse fenômeno (WANG et al., 2019). A primeira proposta relaciona a fluorescência com efeitos de confinamento quântico devido a defeitos na superfície dessas estruturas. Esses defeitos se referem a presença de sistemas sp^2 conjugados no CDs, acompanhados por domínios sp^2 imperfeitos. Esses sítios têm a capacidade de criar armadilhas para o confinamento de energia dando origem a fluorescência relacionada ao estado do defeito da superfície (LIM, SHEN, GAO, 2015; SHEN et al., 2011; WANG et al., 2019).

Outro mecanismo é observado por causa das transições eletrônicas por bandas proibidas de energia (bandgaps) dos orbitais π conjugados no núcleo construído com carbono sp^2 . Esse fenômeno ocorre quando os CDs tem um tamanho menor do que seu raio de éxciton, assim sendo a fotoluminescência dos CDs dependente do tamanho de partícula (ZHU et al., 2015).

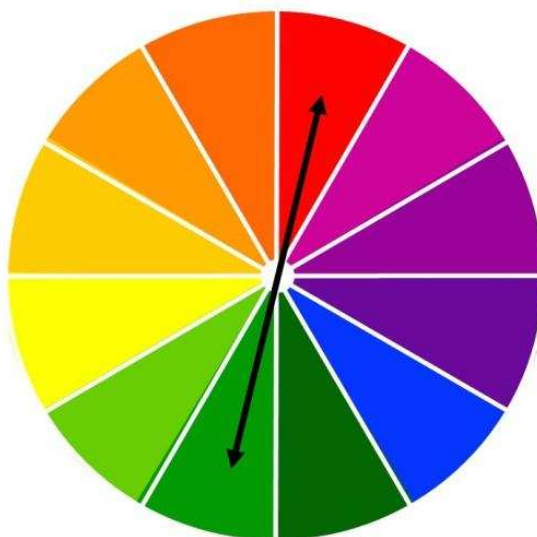
2.4 Análise de Imagens Digitais

O que conhecemos como luz é um tipo de radiação eletromagnética, constituída por um campo magnético perpendicular a um campo elétrico, que compreende radiações com comprimentos de onda entre 400 nm a 700 nm. A cor é a percepção visual provocada quando a radiação eletromagnética na região do visível é refletida por uma superfície e alcança a retina (TILLEY, 2011).

Substâncias químicas coloridas são capazes de absorver alguns comprimentos de onda da região visível e refletem outros, a coloração que conseguimos enxergar é o resultado da interação entre os comprimentos de onda que são refletidos pela substância e os comprimentos de ondas não absorvidos (DAMASCENO et al., 2015; TILLEY, 2011). Este fenômeno pode ser compreendido com o auxílio da Figura 6, onde são apresentadas as cores e suas respectivas cores complementares localizadas diametralmente opostas. Um exemplo simples seria um composto que apresenta coloração vermelha, ele emite no visível a cor vermelha, entretanto ao ser analisado por espectrofotometria de absorção UV-VIS tem um

máximo de absorção para comprimentos de onda na região do verde, assim como predito na Figura 6.

Figura 6 – Diagrama esquemático que elucida as cores e suas respectivas cores complementares no espectro eletromagnético do visível.



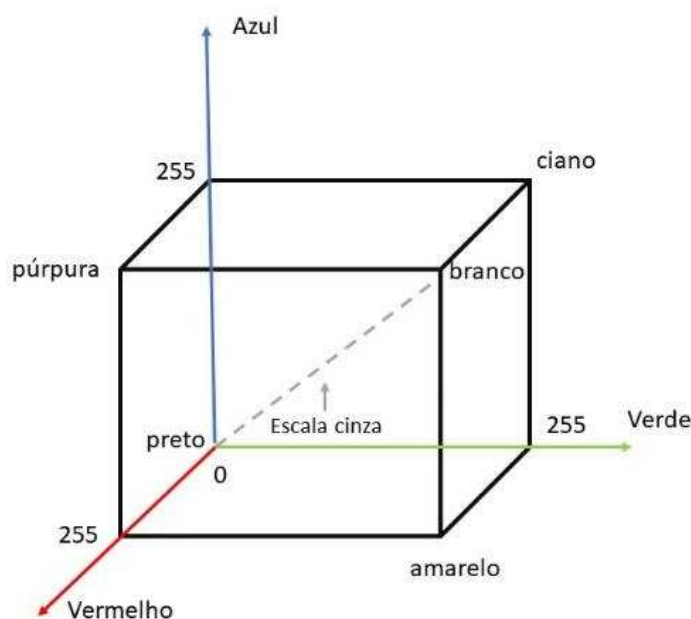
Fonte: Autoria Própria

A análise de imagens digitais para fins analíticos vem ganhando destaque em diversas áreas, diferenciando-se de outros métodos analíticos tradicionais, por apresentar uma análise que visa a rapidez, portabilidade e o baixo custo (SOUZA et al., 2014). O método é baseado na utilização de dispositivos de aquisição de imagens tais como webcams, câmeras fotográficas, aparelhos celulares com câmera e scanners (BENEDETTI et al., 2015) que tem como propósito a obtenção de imagens de reações colorimétricas (PESSOA et al., 2017) e ou luminescentes (DA SILVA et al., 2020; LI et al., 2020).

Com o auxílio de aplicativos ou programas específicos, as imagens obtidas por meio destes dispositivos são decompostas em um modelo numérico de cor, tais como RGB (Red, Green e Blue), CMY (cyan, magenta e yellow), HLS (hue, lightness e saturation), HSV (hue, saturation, value), HSI (hue, saturation, intensity) (PACIORNIK et al., 2006) os quais foram criados a fim de se ter uma padronização específica das cores (GONZALEZ, WOODS, 2008; LOPEZ-MOLINERO et al., 2010). Os valores numéricos obtidos após a decomposição das imagens digitais são intrínsecos a intensidade da cor captada pelo dispositivo, sendo possível relacionar esses valores com a concentração do analito de interesse (CAPITÁN-VALLVEY et al., 2015).

O modelo RGB é o modelo numérico de cores mais conhecido e amplamente utilizado, não só em análise de imagens digitais na química analítica bem como no cotidiano como por exemplo na exibição de imagens em sistemas eletrônicos, como televisores, computadores e celulares (BENEDETTI, 2013). O modelo é baseado no emprego das cores primárias vermelho, verde e azul, e as demais cores são resultantes de combinações lineares dessas cores, sendo que a combinação total de cores possíveis pode chegar a 16,7 milhões em um sistema de 8 bits ($2^8 \times 2^8 \times 2^8$). O modelo RGB pode ser representado em um espaço tridimensional cúbico, que distribui valores de 0 a 255, onde 0 representa a ausência de cor e 255 é a intensidade máxima de cada cor ou canal (BENEDETTI, 2013). Dessa forma, cada ponto no cubo representa uma cor em particular, criada com a combinação das coordenadas dos três canais monocromáticos, formando pixels de uma imagem colorida, Figura 7. Quando essas coordenadas possuem valores iguais, elas formam a escala de cinza, representada pela diagonal do cubo.

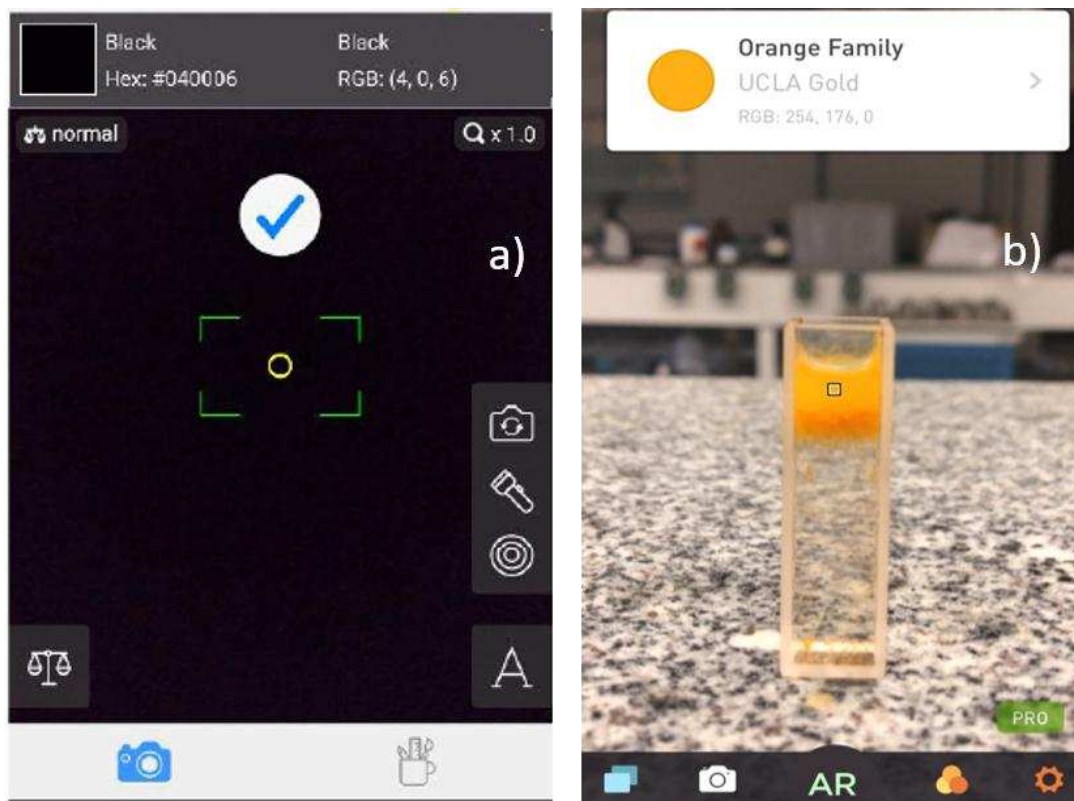
Figura 7 – Cubo tridimensional representativo do espaço de cores RGB e da escala de cinza.



Fonte: Autoria própria

A Figura 8 apresenta a interface de dois aplicativos para Smartphone (Color Grab e Color Name) que decompõe as imagens digitais no modelo numérico de cores RGB. A utilização desses aplicativos ocorre de maneira fácil e instintiva, uma vez que basta iniciar o aplicativo e apontar a câmera do celular para a região de interesse e instantaneamente será gerado um valor numérico.

Figura 8 – Interface de aplicativos que decompõem imagens e um modelo numérico de cores a) Color Grab b) Color Name



Fonte: Arquivo pessoal

Com o crescente interesse por análises baseadas em imagens digitais diversos trabalhos têm sido descritos na literatura empregando essa ferramenta analítica. Ballesteros et al. (2021) desenvolveram um método de quantificação de ferro, cujos agentes colorimétricos eram polifenóis presentes no chá verde. Os compostos extraídos do chá verde se complexam com o ferro (III) presente nas amostras analisadas e dão origem a um composto de coloração roxa que foi detectado com auxílio de uma câmera digital. Foi obtido uma faixa linear de trabalho de 2,5 a 17,5 mg L⁻¹ com limites de detecção e quantificação 0,9 mg L⁻¹ e 1,6 mg L⁻¹, respectivamente. O método proposto foi aplicado para a determinação da quantidade de Fe³⁺ em suplementos dietéticos, sendo que os resultados obtidos estão em consonância com aqueles obtidos pelo método de referência.

Berasarte et al. (2021) desenvolveram uma metodologia para determinação simultânea de pH e de fosfatos em colírios utilizados normalmente no tratamento de glaucoma. Um complexo azul é formado a partir da reação entre fosfato, molibdato de amônio, tartarato de antimônio e potássio. A partir dessa reação é possível fazer a quantificação utilizando o modelo numérico de cores RGB. O pH foi medido usando o indicador azul de bromotimol,

que apresenta variações de cor entre o amarelo ($\text{pH} < 6,5$) e o azul ($\text{pH} > 7,6$). Além do uso de smartphone para aquisição das imagens, as amostras foram analisadas em poços de microtitulação com volumes inferiores a 400 μL de amostra e o sistema possui capacidade de realizar a leitura de até 92 amostras em uma única imagem.

Franco, Suarez e Santos (2017) desenvolveram um sistema portátil para determinação de metanol em cachaça empregando análise de imagens digitais com auxílio de smartphones. Um sistema similar foi desenvolvido e empregado também por Franco et al. (2017) para a determinação de furfural em cachaça. Em ambos os trabalhos o sistema portátil era baseado em uma câmara de plástico preto com dimensões aproximadas de $20 \times 17,5 \times 12$ cm e duas faixas de diodos emissores de luz branca (LED) com dimensões de $15 \times 1,0 \times 0,1$ cm, cujo controle foi realizado por potenciômetros. As faixas de LED eram dispostas paralelamente entre si e acopladas no topo de uma câmara de plástico, e uma segunda caixa com dimensões de $10,8 \times 3,0 \times 6,5$ cm foi anexado na parte superior da caixa para acomodar a célula no momento da captura da fotografia, minimizando assim os erros sistemáticos do método proposto.

2.5 Dispositivo analítico à base de papel

O papel é formado por meio de uma suspensão aquosa diluída de fibras de celulose que são drenadas através de uma peneira, prensadas e secas, para assim produzir uma folha formada por uma rede de fibras entrelaçadas (AKYAZI, BASABE-DESMONTS, BENITO-LOPEZ, 2018).

Nos últimos anos a utilização do papel como dispositivo analítico tem sido cada vez mais empregada. Diversos fatores estão associados a este uso, com o fato de ser um abundante e amplamente disponível, encontrado em um valor baixo se comparado a outros materiais. Além disso, esse material apresenta propriedades mecânicas que incluem flexibilidade, leveza e baixa espessura, além de apresentar uma composição química com alta compatibilidade permitindo facilmente a imobilização de moléculas (AKYAZI, BASABE-DESMONTS; BENITO-LOPEZ, 2018; FRANCO, 2018; LISOWSKI; ZARZYCKI, 2013).

Uma das principais aplicações dos dispositivos analíticos a base papel, conhecidos como PADs (do inglês Paper Analytical Device) é o strip test, referido em português como teste de tiras. Esse teste tem como princípio a detecção rápida utilizando o papel como meio reacional e/ou a interação do PAD (quando já se encontra revestida de algum composto) com a substância a ser testada. Na literatura é reportado o emprego de PADs para uma vasta gama

de análises. Wang et al. (2018), por exemplo, desenvolveram um strip test baseado em papel de celulose para determinação de mercúrio (II) em solução aquosa. Ballesta Claver et al. (2004) desenvolveram um teste de tiras quimioluminescente seletivo e reutilizável para determinar hipoclorito em água. Um quimiossensor flexível baseado em papel foi proposto por CHEN et al. (2020), para detecção de fluorescência e para análises colorimétricas de cloreto de oxalila, um composto tóxico.

O emprego de strip test associado à Smartphones tem ganhado cada vez mais notoriedade e utilização, valendo destacar alguns trabalhos tais como, detecção de diesel adulterado usando tiras de teste fluorescentes e leitura de smartphone (GOTOR et al., 2017), detecção de metais pesados em águas residuais usando uma única tira de papel integrada com um smartphone (MUHAMMAD-AREE; TEEPOO, 2020), detecção de baixo custo de cianeto por sensores colorimétricos e fluorogênicos simples utilizando aplicativos para smartphones e tiras de teste (ERDEMIR; MALKONDU, 2020), análise colorimétricos baseados em papel e utilizando smartphone como um espectrofotômetro (WOODBURN; LONG; CUNNINGHAM, 2019). Em um trabalho mais recente Franco et al. (2021) realizaram uma microanálise baseada em dispositivo de papel funcionalizado com CPZ para determinar Cu^{2+} em aguardente de cana-de-açúcar usando smartphone

De modo geral os strip tests apresentam uma metodologia de análise simples e fácil de usar, baseada na imersão do PAD em uma solução ou apenas a aplicação diretamente no papel. Como resultado é esperado que se possa observar uma resposta colorimétrica ou fluorescente (PAROLO; MERKOÇI, 2013).

2.6 Tecnologia de impressão 3D

A impressão de materiais em 3D é um processo de fabricação aditivo rápido em que a construção de um objeto é feita por meio da adição de sucessivas camadas a partir de um precursor de modo tridimensional baseado um modelo digital previamente elaborado com ajuda de um software (DIAÑEZ et al., 2019; HOQUE; CHUAN; PASHBY, 2012). O aumento recente da popularidade na produção desse tipo de material é creditado a facilidade obtenção de produtos finais de forma rápida, simples, automatizada e personalizada sendo aplicáveis a diversas áreas do conhecimento.

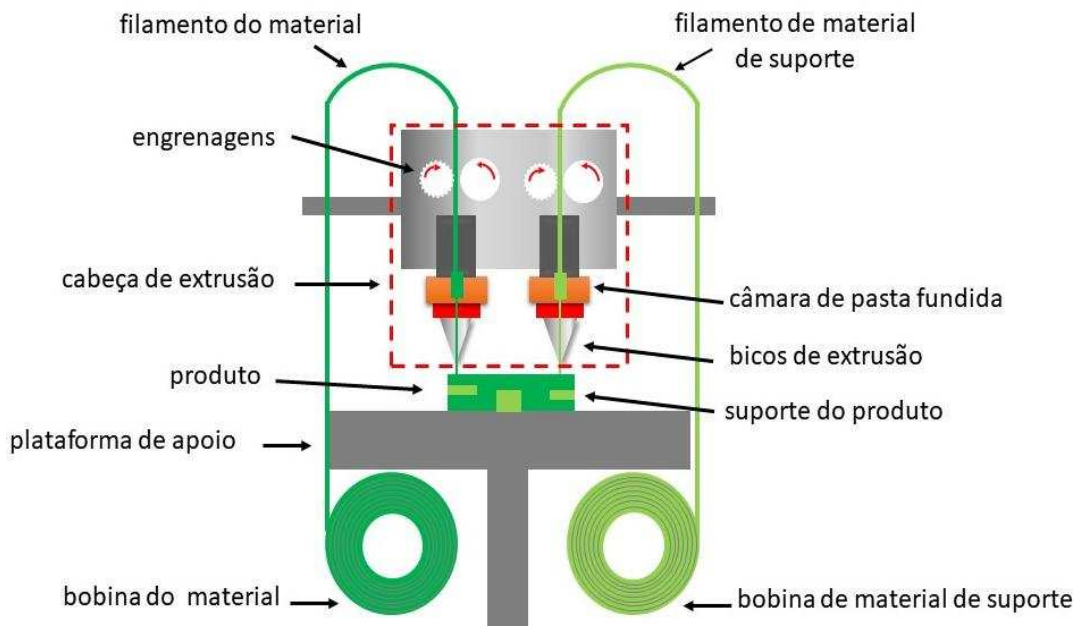
Na química analítica, o emprego da tecnologia 3D tem sido amplamente utilizado para diversos fins analíticos, tais como a impressão 3D de um eletrodo de grafeno / ácido polilático para bioanálise (CARDOSO et al., 2020), uma célula eletroquímica integrada

impressa em 3D em miniatura para determinação voltamétrica de Hg (II) (KATSELI et al., 2020), impressão 3D de modelagem por deposição fundida para fabricação de dispositivos (bio) analíticos (SALENTIYN et al., 2017), confecção de um dispositivo novo, barato e simples para impressão 3D para determinação nefelométrica e fluorimétrica utilizando smartphone como um detector (VIDAL et al., 2020), um dispositivo analítico baseado em papel origami 3D combinado com membrana de PVC para ensaio colorimétrico para determinação de Cu (II) em amostras de água (SHARIFI; TASHKHOURIAN; HEMMATEENEJAD, 2020) e uma plataforma impressa em 3D e uma câmara UV-LED feita de poliácido láctico para quantificação de quinino em bebidas (DA SILVA et al., 2020).

Atualmente existem diversas técnicas para a impressão 3D, sendo as mais utilizadas a fusão a laser seletiva (SLM), sinterização seletiva a laser (SLS) e a modelagem por deposição fundida (FDM). A tecnologia de modelagem por fusão e deposição (FDM) é o tipo de impressão mais usado, baseada na deposição de camadas de um material termo sensível, ejetado por um bico extrusor em um estado semifundido em uma plataforma de impressão. Após a deposição do material, ocorre a solidificação do mesmo rapidamente, permitindo assim a deposição da camada seguinte, e assim sucessivamente até a formação final do objeto desejado (GROSS et al., 2014; HO et al., 2015; O'NEILL et al., 2014; SHALLAN et al., 2014).

O princípio da FDM é mostrado na Figura 9, o diferencial desta técnica em relação às outras é a versatilidade em relação ao uso de diversos materiais poliméricos como matéria prima, vale destacar o ácido polilático (PLA), copolímero acrilonitrila butadieno estireno (ABS), o álcool polivinílico (PVA), polietileno tereftalato (PET), náilon, madeira e termoplástico elastomérico (TPE) (CARDOSO et al., 2018).

Figura 9 – Princípio do processo de impressão por FDM



Fonte: Autoria própria.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho foi sintetizar e caracterizar nanopartículas de carbono fluorescentes para aplicá-las na determinação de cobre em cachaças comerciais empregando análise de imagens digitais.

3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de carbono a partir do amido presente no arroz através de um processo hidrotérmico empregando a metodologia bottom-up;
- Caracterizar CDs para obter informações a respeito destas nanoestruturas;
- Funcionalizar CDs para obtenção de um método sensível e seletivo para determinação de Cu^{2+} em cachaças;
- Empregar CDs funcionalizados para a determinação de Cu^{2+} em cachaças baseando-se pelo método de atenuação da intensidade da fluorescência;

- Desenvolver um método baseado na análise de imagens digitais e dispositivo à base de papel e impressão 3D para promover uma análise quantitativa do analito de interesse.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais, soluções e equipamentos

4.1.1 Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade $> 18,0 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida de um sistema Millipore Milli-Q (EUA). Cuprizona (bis (ciclohexanona) oxaldihidrazona), sulfato de cobre pentahidratado, hidróxido de sódio, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ácido clorídrico 37% (m/v) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. As soluções dos íons metálicos Cu^{2+} , Hg^{2+} , Al^{3+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} e Cr^{2+} (possíveis interferentes) foram preparadas a partir dos seus sais de nitrato ou sais de cloreto de grau analítico, todos adquiridos da Vetec.

A solução estoque de Cu^{2+} 50 mg L^{-1} foi preparada a partir da dissolução de 0,196 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em 1 L de água destilada. Em seguida, a solução estoque de Cu^{2+} foi padronizada por titulação complexométrica utilizando EDTA. O arroz (subgrupo polido, classe longo fino, tipo 1) utilizado como precursor das nanopartículas de carbono e as amostras de cachaças não envelhecidas foram adquiridas em supermercados da cidade de Viçosa-MG.

4.1.2 Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência foram registados por dois equipamentos. Para análises com comprimento de onda fixo empregou-se um espectrofluorímetro Avaspec-HS2048XL da empresa Avantes (Holanda) com detector CCD, faixa de comprimento de onda 200 - 1160 nm e resolução entre 1 e 10 nm.

Para as análises com variação do comprimento de onda empregou-se o equipamento FluoroMax® series, da empresa Horiba (França) com lâmpada de arco de xenônio sem ozônio, de montagem vertical, de onda contínua e 150 W de potência, detector de emissão com fotomultiplicador de contagem de fótons R928P (185-850 nm) e fotodiodo de referência para monitorar a saída da lâmpada.

4.1.3 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier acoplada à técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros no infravermelho dos CDs sintetizados foram obtidos utilizando-se a técnica de reflectância total atenuada, na faixa espectral de 400 a 4000 cm^{-1} , em um equipamento Varian 660-IR, da empresa PIKE. Para cada análise foi necessário secar o material previamente, uma vez que as nanopartículas de carbono se encontram em suspensão aquosa.

4.1.4 Potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz

Os potenciais zeta e a avaliação do tamanho dos CDs sintetizados foram medidos pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) empregando um equipamento Zetasizer Nano S (Malvern, Inglaterra). O tamanho das partículas foi avaliado em um ângulo de 173° com 11 corridas de 10 minutos, repetida 3 vezes. O potencial zeta foi avaliado por meio do método Smoluchowski.

4.1.5 Espectrofotometria de absorção UV-Vis

Os espectros de absorção UV-Vis foram registrados num espectrofotômetro Lambda 950 UV-Vis da empresa Perkin-Elmer, EUA. A cubeta utilizada foi fabricada em quartzo com caminho ótico de 1,0 cm. As análises foram realizadas à temperatura ambiente.

4.1.7 Tratamento hidrotérmico

O processo de tratamento hidrotérmico, etapa da síntese das nanopartículas, foi realizado em um recipiente de teflon com capacidade de 20 mL acomodado hermeticamente em uma autoclave de inox e levado a um forno elétrico comercial multiuso (Philco) onde foi mantido por 6h à temperatura de 200°C.

4.1.8 Placa 3D

A placa utilizada como meio reacional do método proposto foi impressa com poliácido láctico (PLA, do inglês polylactic acid) através de uma impressora 3D Creality Ender 3 Pró, utilizando-se do programa fatiador Ultimaker Cura 4.5.

4.1.8 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A caracterização morfológica dos CDs sintetizados foi realizada como o auxílio de um Microscópio Eletrônico de Transmissão Tecnai G2-12 - SpiritBiotwin FEI - 120 kV (contínuo em passos de 10V, de 20V a 120kV), porta amostras single tilt, software de tomografia, câmara CCD, resolução de linha: 0,34nm, resolução de ponto: 0,49 nm, aumento: 22x a 300.000X, Cs: 6,3 (aberração esférica).

4.2 Planejamento experimental para síntese de CDs

Os planejamentos experimentais assumem função substancial na química e em demais ciências, devido à necessidade contínua de buscar métodos e procedimentos mais simples e otimizados para proporcionar a minimização de custos e descartes químicos indesejáveis (BOX, DRAPER, 1987).

Um conjunto de experimentos foi conduzido objetivando a identificação do efeito da temperatura e o tempo de síntese sobre a intensidade de luminescência dos CDs. Um planejamento composto central quadrático de 2 variáveis com 10 experimentos foi realizado para a obtenção da superfície resposta (RMS), método estatístico utilizado para avaliar a relação entre as variáveis independentes (temperatura e tempo), e assim, determinar as melhores condições para a síntese de CDs. A Tabela 2 apresenta as variáveis e níveis máximos e mínimos escolhidos para estudo.

Tabela 2 – Fatores com seus níveis para a síntese de CDs

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Temperatura (^o C)	170	200	230
Tempo(h)	6	9	12

Após a definição dos fatores e os níveis que seriam estudados, foi gerado um total de 10 ensaios experimentais, que podem ser verificados na tabela 3.

Tabela 3 – Ensaios experimentais

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (h)
1	170	6
2	230	6
3	170	12
4	230	12
5	170	9
6	230	9
7	200	6
8	200	12
9	200	9
10	200	9

4.3 Síntese de CDs

As nanopartículas de carbono foram sintetizadas por tratamento hidrotérmico a partir do amido presente no arroz como precursor dos CDs. O amido presente no arroz foi obtido, por meio de uma extração sólido-líquido, 30 gramas de arroz foram colocados em um béquer e adicionado 20 mL de água destilada, após 10 minutos pode-se observar a formação de uma solução esbranquiçada. Uma alíquota de 15 mL da solução contendo amido foi adicionada a um recipiente de Teflon, que em seguida foi inserido dentro da autoclave, figura 11. O conjunto foi submetido à aquecimento constante a uma temperatura de 200° C durante 6 horas. O processo é sumariamente apresentado no esquema da Figura 10.

Figura 10 – Esquema de síntese dos CDs empregando o processo hidrotérmico. (A) arroz, (B) extração do amido, (C) solução final de CDs (D) solução de CDs submetido a radiação ultravioleta



Fonte: Arquivo pessoal

Após esse período, a autoclave foi resfriada naturalmente até a temperatura ambiente e pôde-se constatar a presença de uma solução de coloração marrom dando indícios da formação de CDs dispersos em água. Para a remoção de possíveis moléculas orgânicas o filtrado foi lavado com 5 mL de diclorometano e centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos, sendo a parte orgânica descartada e a parte aquosa utilizada. A solução aquosa foi então filtrada com um filtro de diâmetro de poro baixo ($0,22 \mu\text{m}$) para se obter finalmente os CDs para análise.

Figura 11 – Recipiente de Teflon e autoclave de aço inoxidável utilizada no tratamento hidrotérmico.

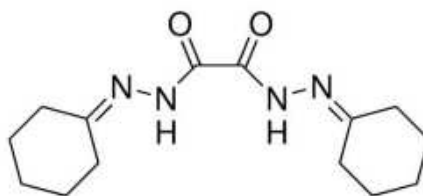


Fonte: Arquivo pessoal

4.4 Funcionalização de CDs com Cuprizona (CPZ)

A fim de se obter CDs mais seletivos para Cu^{2+} , as nanopartículas sintetizadas pela metodologia apresentada seção 4.3 foram funcionalizadas por meio da adição de 0,1 gramas de CPZ, em 10 mL da solução contendo os CDs e deixada em agitação por 1 hora. Após esse período a solução foi lavada com acetato de etila para remoção do excesso de CPZ e depois filtrada com filtro de diâmetro de poro (0,22 μm). A estrutura da CPZ e mostrada na figura 12.

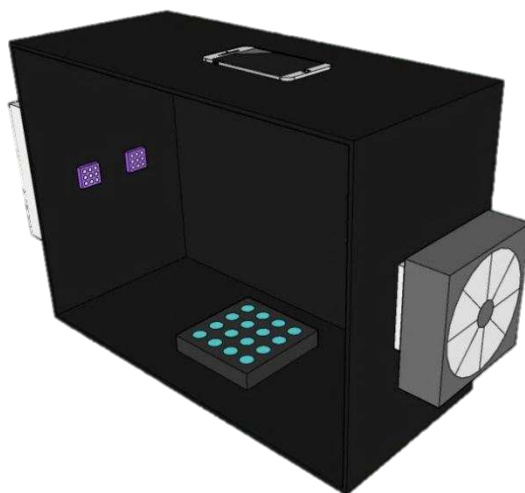
Figura 12 – Estrutura da cuprizona (CPZ)



4.5 Aparato para análises de imagens digitais

As imagens digitais das soluções fluorescentes foram obtidas em uma espécie de compartimento de 23 cm largura \times 15 cm altura \times 11 cm de profundidade. Estruturada a partir do material conhecido como papel-cartão, a câmara contém quatro diodos emissores de luz (LED) emitindo no comprimento de onda máximo de 370 nm com uma potência de 10 W cada um. Foi utilizada uma fonte de alimentação entrada: 60 Hz, 110–220 V e saída: 12 V, 10 A. Além disso, foi necessário desenvolver um sistema eficiente de dissipação de calor do LED, para isso foram utilizados dois refrigeradores (cooler) para dissipar o calor gerado. A câmara utilizada no método é um modelo similar ao descrito e utilizado por DA SILVA et al. (2020), apresentado na Figura 13, diferenciando-se apenas no material. Visando diminuir os custos de produção, ainda mais, foi modificado o material da câmara de um material polimérico 3D para papel-cartão.

Figura 13 – Câmara UV-LED utilizada para as medidas de fluorescência.



Fonte: Autoria própria

4.6 Papel utilizado como PAD e metodologia de análise

Existe atualmente, uma considerável variedade de papéis disponíveis no mercado desde para uma simples utilização no cotidiano até para fins propriamente voltados à Química Analítica. Nesse sentido diversos tipos de papéis (A4, reciclado, papel cartão, cartolina, papéis de filtro analíticos) foram testados. Pequenas quantidades de amostras de CDs suspensos em solução aquosa, 15 μ L, foram adicionadas em diferentes papéis, para escolha da melhor opção para o desenvolvimento do PAD. Foram avaliados parâmetros tais como, a capacidade de absorção, dispersão dos CDs no papel e a viabilidade do papel em relação ao custo-benefício. Foi escolhido um papel de filtro composto por uma mistura de ésteres com tamanho de poro de 0,45 μ m fabricado pela Whatman®, mostrado na Figura 14. Outros principais fatores que levaram a exclusão dos papéis testados foram: apresentar a capacidade de luminescência o que acarretaria interferência na análise, papéis pouco flexíveis fazendo com que o corte e o acoplamento na placa 3D se tornem não triviais.

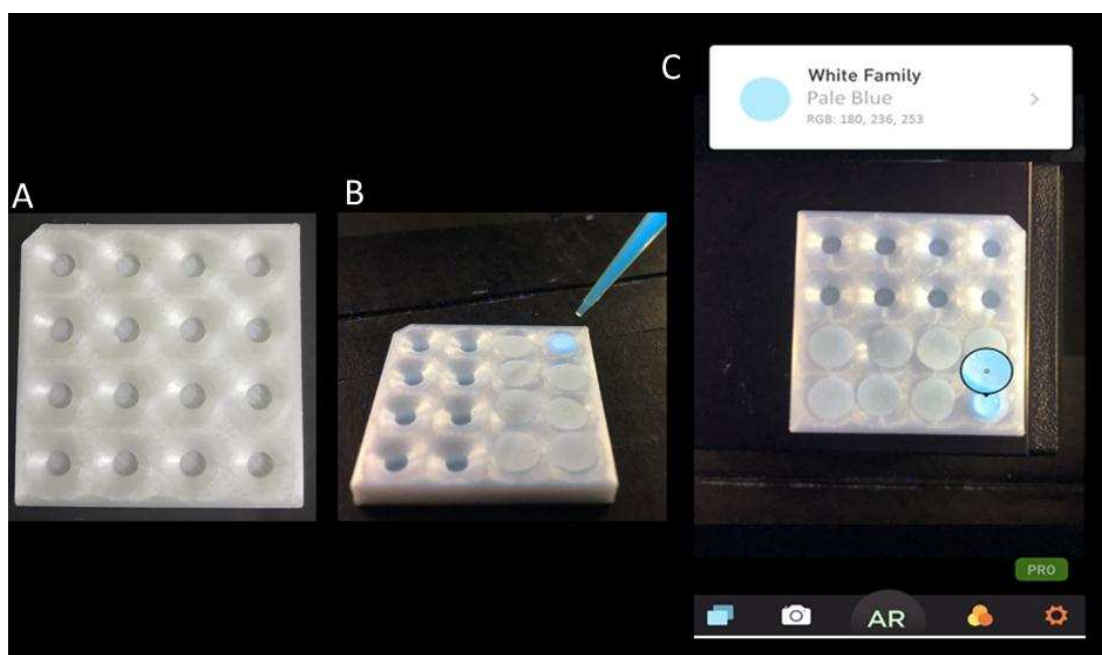
Assim, utilizando uma micropipeta, 15 μ L das soluções foram depositadas diretamente sobre a superfície do papel, previamente acomodado sobre as cavidades da placa 3D impressa no material PLA (0,5 de altura, 3 cm largura e 3 cm de comprimento). Em seguida colocados na câmara UV-LED para excitação para posterior aquisição e análise de imagem digital para obtenção de valores para cada canal do modelo RGB como mostrado na Figura 15.

Figura 14 – Papel de filtro utilizado no método proposto



Fonte: autoria própria

Figura 15 - a) Placa 3D impressa em PLA b) microdispositivo de papel(PAD) acoplado nas cavidades c) excitação de CDs usando a câmara UV



Fonte: autoria própria

A aquisição das imagens digitais foi realizada com o auxílio de um smartphone Iphone 5S colocado sobre uma abertura feita na parte superior da câmara UV e posteriormente analisadas pelo aplicativo Color Name, previamente instalado no smartphone.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Planejamento experimental para síntese de CDs

O planejamento experimental foi proposto com o intuito de encontrar as melhores condições reacionais para a síntese dos CDs. Desta forma, duas variáveis importantes foram investigadas no processo, temperatura e tempo de aquecimento, para a síntese das nanopartículas.

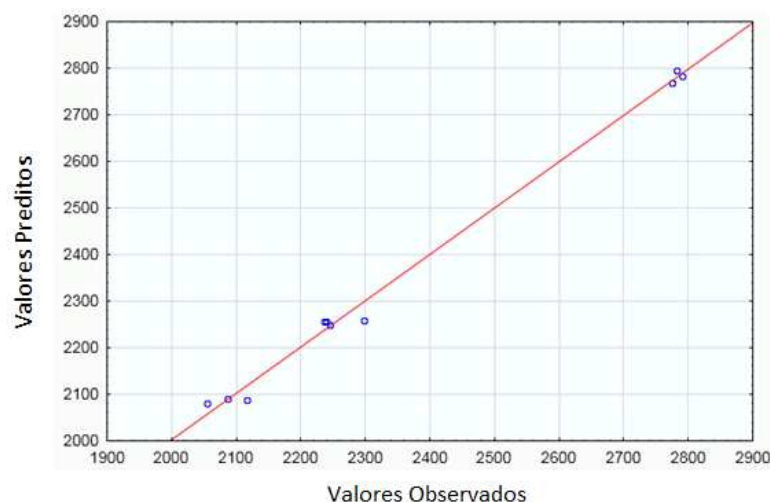
A avaliação do modelo ajustado é muito importante para garantir uma previsão adequada dos resultados em comparação com resultados observados dos experimentos. O modelo de previsão da otimização da síntese de CDs está disposto na equação 4:

$$Y = 7719,079 - 67,219261723414 X_1 + 19948625754585 X_1^2 + 23,371 X_2 - 18437381518673 X_2^2 - 10799259549751 X_1 X_2 \quad (4)$$

Sendo Y a intensidade luminescente e, X_1 e X_2 os fatores temperatura e tempo, respectivamente.

A Figura 16 mostra a relação entre os resultados experimentais e previstos a partir dos experimentos realizados. É possível observar que existe boa relação entre os resultados experimentais obtidos e os esperados.

Figura 16 – Ensaio experimentais com as intensidades luminescentes experimentais e previstas dos CDs realizados com fluorímetro Avaspec-HS2048XL.



Os resultados obtidos pelo teste ANOVA e os parâmetros estatísticos da correlação quadrática proposta, são apresentados na Tabela 4. O F-Valor é uma medida para a avaliação da variância associada ao fator da variância residual. É o quadrado médio do fator dividido pelo quadrado médio do residual. Geralmente, a "probabilidade de significância" ou "p-valor" e F-valor podem ser usados como critério para realizar o padrão de interações entre os parâmetros. Essas medidas, F-valor e o p-valor mostram as variáveis mais significativas, onde o p-valor inferior a 0,05 é considerado significativo. De acordo com a Tabela 4, pode-se observar que os fatores lineares e quadráticos para a temperatura de síntese dos CDs foram significativos.

Tabela 4 - Resultados ANOVA para a síntese de CDs

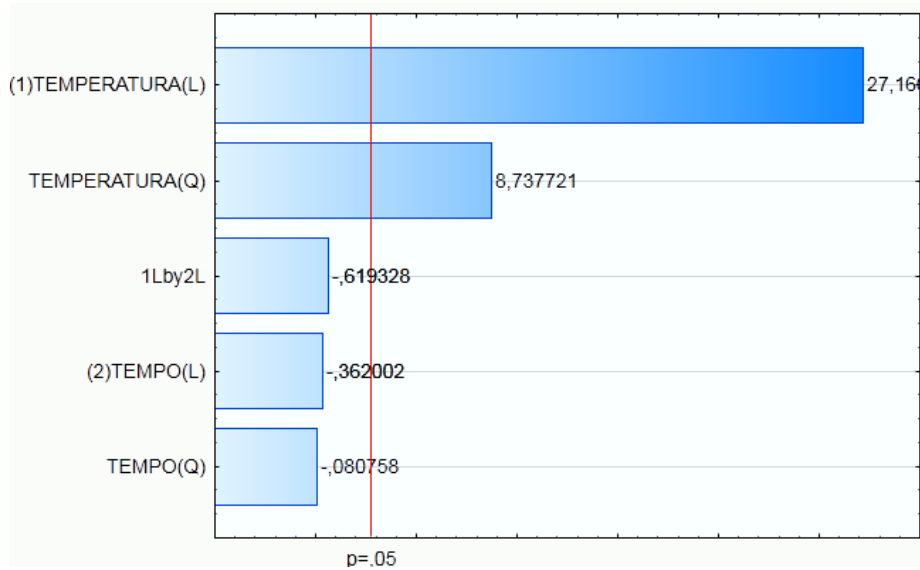
	SQ	GL	QM	F-valor	p-valor
(1)Temperatura (L)	727038,5	1	727038,5	738,0163	0,000011
Temperatura (Q)	75212,1	1	75212,1	76,3478	0,000945
(2)Tempo (L)	129,1	1	129,1	0,1310	0,735665
Tempo (Q)	6,4	1	6,4	0,0065	0,939514
(1)L by (2)L	377,9	1	377,9	0,3836	0,569233
Erro	3940,5	4	985,1		
Total SQ	808615,2	9			

SQ= Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrados médios; F= Teste de Fisher; $R^2 = 0,99513$; R^2 AJUSTE = 0,98914.

O modelo de regressão de segunda ordem para os CDs foi encontrado com um nível de confiança significativamente mais elevado (95%). Todos os coeficientes previstos foram estimados por análise da ANOVA com um p-valor altamente significativo ($p < 0,05$) para temperatura e um $R^2 = 0,99513$, o que indica a maior validade para os valores luminescentes previstos. Foi obtido um valor relativamente elevado dos coeficientes R^2 ajustados (R^2 AJUSTE = 0,98914), o que indica que a previsão final está em concordância com os resultados experimentais.

Uma forma de expressar graficamente as interações dos fatores para uma melhor demonstração dos resultados é apresentado no gráfico de Pareto na Figura 17, confirmando a significância dos efeitos.

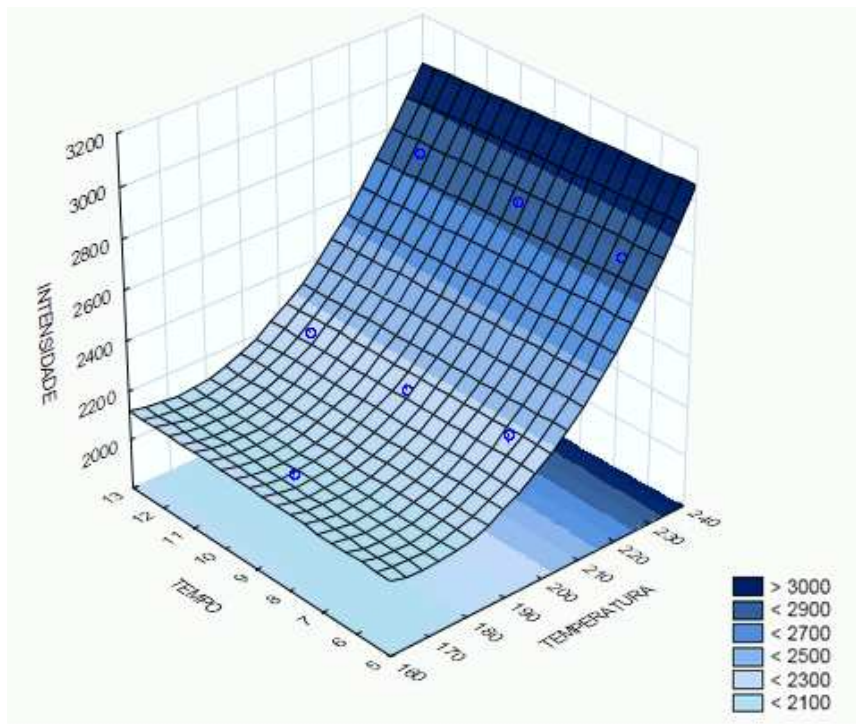
Figura 17 – Gráfico de Pareto com os efeitos estimados, $p=0,05$.



É possível notar a alta significância da temperatura, tanto para o modelo linear quanto para o modelo quadrático com níveis de confiança acima de 95%. Já o tempo não apresentou significância para os ambos os modelos, quadrático e linear no intervalo de confiança.

A Figura 18 mostra o efeito da temperatura e do tempo na síntese de CDs em uma superfície resposta 3D.

Figura 18 - Efeito da interação entre a temperatura e o tempo na intensidade luminescente dos CDs, como superfície de resposta 3D e gráfico de contorno 2D.



Através da Figura 18 é possível observar o aumento da intensidade luminescente dos CDs quando a temperatura é mais elevada e um aumento insignificante quando há um acréscimo do tempo. Com isso, conclui-se que a síntese via tratamento hidrotérmico dos CDs a uma temperatura de 230°C é a que leva a uma maior intensidade luminescente, independentemente do tempo.

Entretanto, para a síntese de CDs neste trabalho foi escolhida a temperatura de 200°C e o tempo de 6 horas. A escolha de uma temperatura mais baixa se deve ao fato de que temperaturas acima de 200°C ocasionaram a deformação do recipiente de teflon bem como o travamento da peça no interior da autoclave. A fim de se evitar a perda do material bem como maximizar reuso da peça, uma temperatura mais branda foi escolhida.

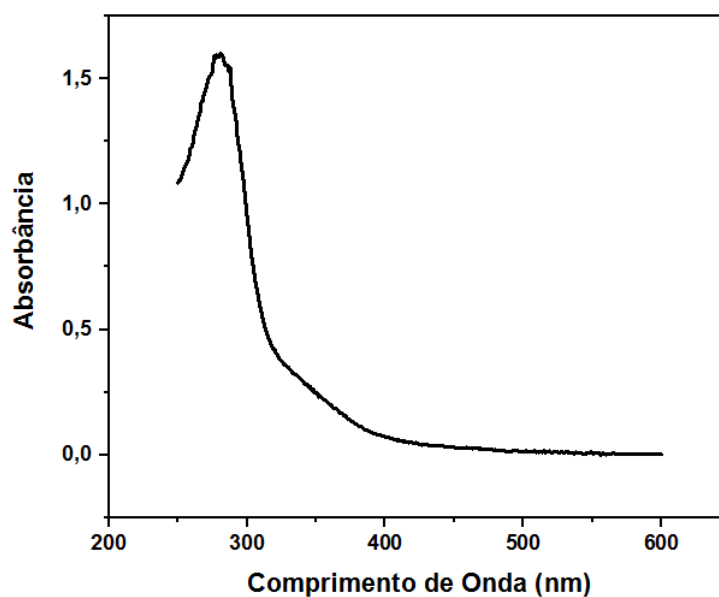
5.1 Caracterização dos CDs

5.1.1 Espectrofotometria UV/VIS

De acordo com a literatura, CDs apresentam absorção óptica na região UV estendendo-se para fora da faixa visível. Quase todos os CDs sintetizados à partir das mais diversas técnicas apresentam banda de absorção na faixa 260-320 nm (CAO et al., 2007; ZHU et al., 2009). Devido à heterogeneidade dos CDs, é difícil atribuir transições eletrônicas as bandas com exatidão, entretanto sabe-se que as transições eletrônicas podem ser da natureza $n-\pi^*$ para ligação C=O ou $\pi-\pi^*$ para ligações aromáticas C=C.

Uma banda de absorção foi observada e identificada no espectro UV/Vis. Como pode ser observado na Figura 19, o espectro mostra que os CDs absorvem fortemente no UV, sofrendo um decréscimo à medida que o comprimento de onda aumenta. O espectro mostra banda de absorção máxima em torno de 280 a 290 nm.

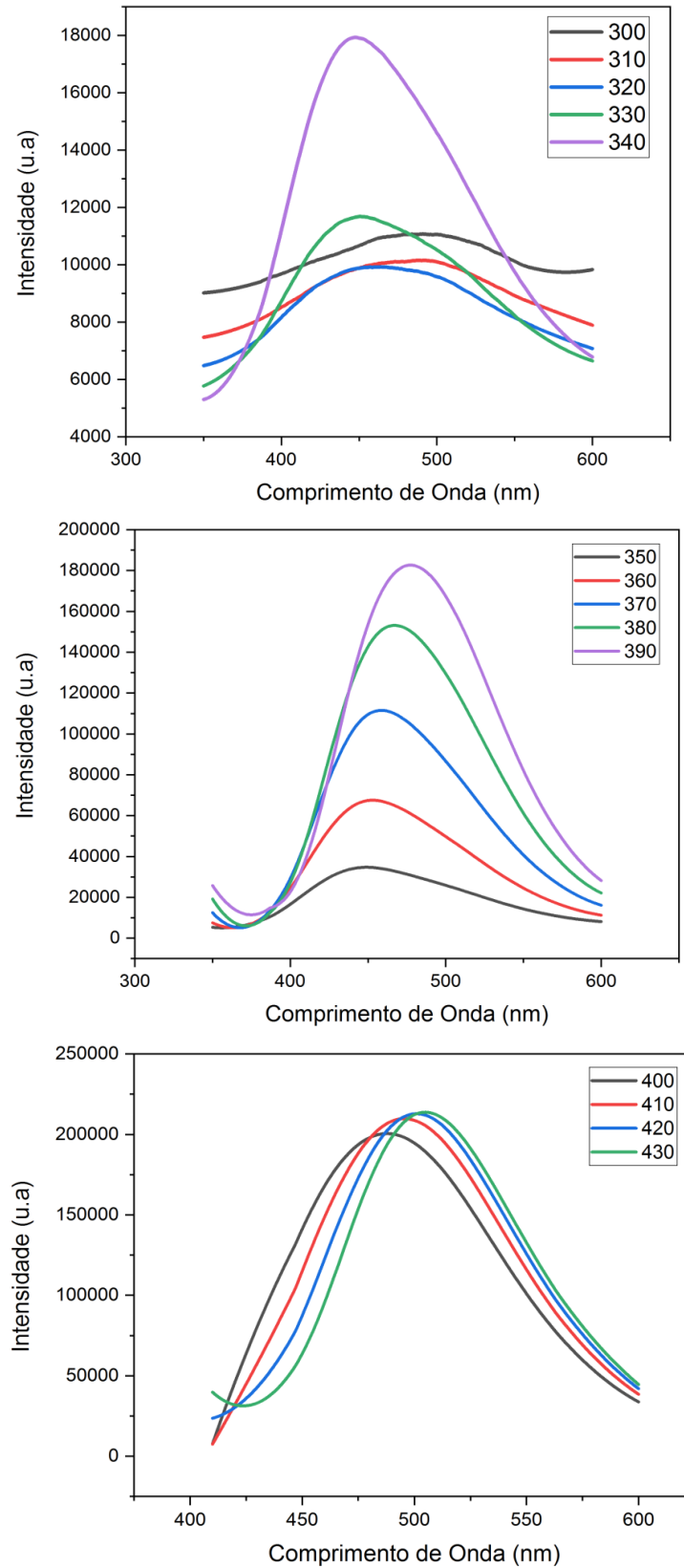
Figura 19 – Espectro UV/VIS para os CDs sintetizados



5.1.2 Luminescência

Para caracterizar as nanopartículas em relação a sua capacidade de absorver e emitir radiação foi empregado à espectroscopia de fluorescência. Nesse experimento empregou-se 3 mL da solução contendo CDs, essa amostra foi submetida a excitação em diferentes comprimentos de onda, variando entre 300 e 430 nm, com intervalos de 10 unidades.

Figura 20 – Espectros de emissão de luminescência de CDs com comprimento diferentes comprimentos de onda de excitação: a) Comprimentos de 300 a 340 nm, b) Comprimentos de 350 a 390nm e Comprimentos de 400 a 430 nm



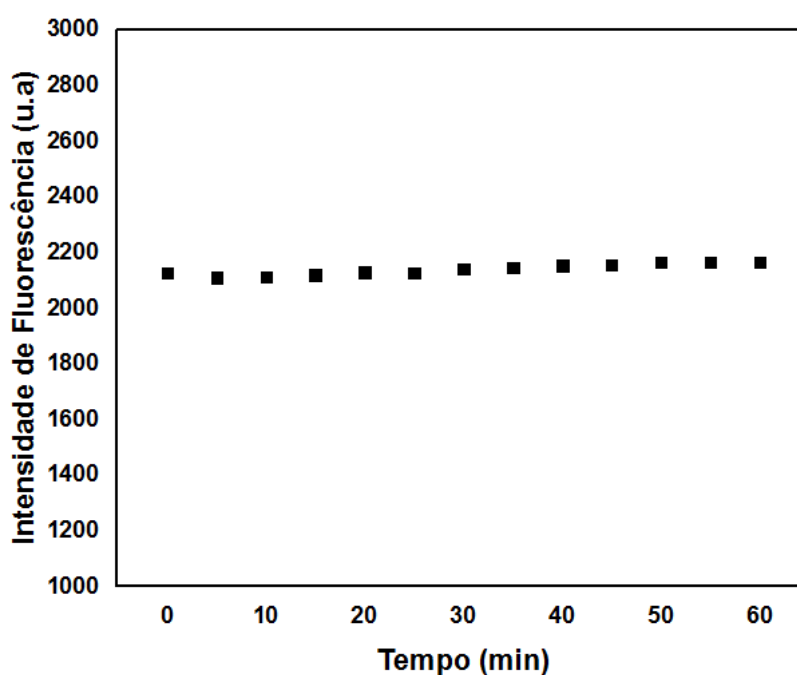
Pelos espectros obtidos, figura 20, pode-se observar uma alta capacidade luminescentes dos CDs em todo o intervalo de comprimentos de onda analisados, sendo os picos de maiores intensidades de emissão atribuídos aos comprimentos de excitação entre 400 e 430 nm.

Sendo assim, para a confecção da câmara onde seria monitorada a fluorescência das CDs para posterior análise de imagens digitais, foram empregados quatro diodos emissores de luz UV (LED) de alto brilho com um comprimento de onda de emissão máximo em 370 nm, como pode ser observado na figura 20b, neste comprimento de onda de emissão as CDs apresentam alta intensidade de fluorescência.

5.1.3 Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs

A fim de se constatar e demonstrar a fotoestabilidade dos CDs produzidos, as soluções contendo as nanopartículas foram irradiadas durante 1h com um comprimento de onda de excitação fixa de 370 nm. Na Figura 21 é apresentada a resposta de intensidade de fluorescência dos CDs quando irradiados durante 1h com intervalos de 5 minutos.

Figura 21 – Intensidades de fluorescência dos CDs com emissão em 470nm (excitação a 370 nm) em função do tempo.

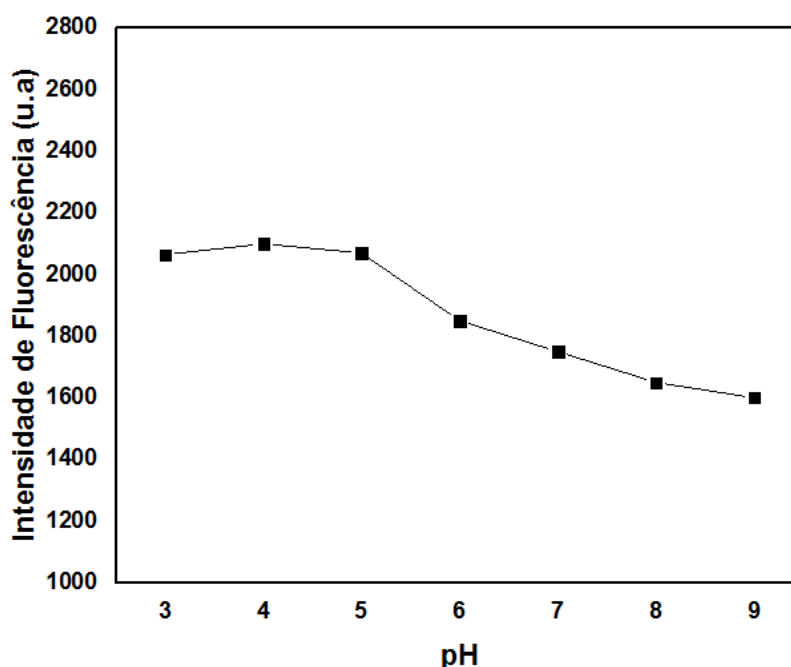


Os CDs produzidos foram capazes de manter a luminescência estável durante o intervalo analisado, evidenciando que são altamente foto-estáveis e extremamente resistentes a fotodegradação.

5.1.4 Estudo do pH

O efeito do pH na intensidade de fotoluminescência foi avaliado na faixa de pH 3 a 9 buscando encontrar o pH ideal em que os CDs apresentem máxima capacidade de luminescência. O pH das soluções contendo CDs foi ajustado usando HCl e NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Figura 22 – Intensidades de fluorescência dos CDs em diferentes valores de pHs



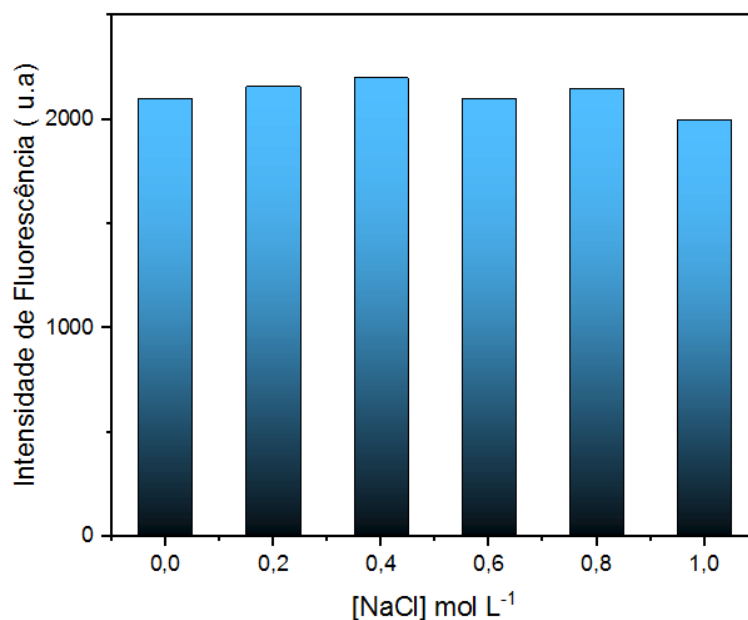
Na Figura 22, observa-se que a fotoluminescência é praticamente a mesma na região de pH 3 a 5, ocorrendo uma diminuição da intensidade a partir de pH 6. Assim, utilizou-se pH 5 para estudos seguintes. Entretanto, em termos de intensidade de sinal, poderia ser utilizado qualquer pH entre 3 e 5, demonstrando que os CDs obtidos a partir do amido podem ter potencial de aplicação em ambiente com pHs diferentes. Vale salientar ainda que em pH 9, os CDs apresentaram a menor intensidade de fluorescência neste estudo, entretanto ainda apresentaram fluorescência suficiente para que possam ser analisados. Além disso, os CDs se destinam a análise de um produto (cachaça) que comumente não apresenta o pH muito ácido

ou muito básico, sendo assim, decréscimos na intensidade de fluorescência em pH mais extremos não afetam a proposta de utilização dessas nanopartículas.

5.1.5 Força iônica

Os CDs obtidos foram também avaliados em relação a sua intensidade luminescente quando submetidos a um aumento da força iônica do meio. Este estudo foi conduzido com o pH fixo em 5 e com adição crescente de concentração de NaCl, variando-a de 0 a 1 mol L⁻¹ e monitorando a resposta luminescente.

Figura 23 – Gráfico da intensidade de fluorescência dos CDs em solução aquosa de NaCl em função da força iônica

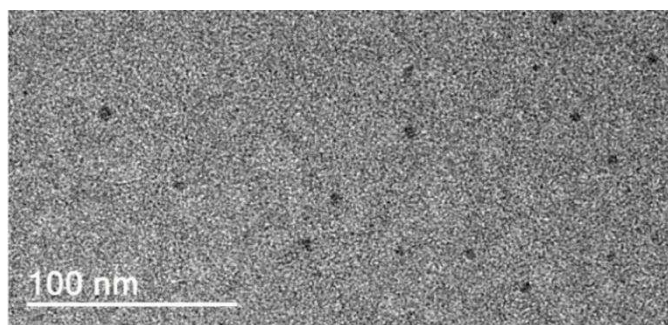


Por meio do gráfico da Figura 23, pode-se observar que a intensidade de fluorescência dos CDs não foi alterada com o aumento da força iônica, indicando alta estabilidade dos CDs produzidos em diferentes meios.

5.1.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Por meio da imagem formada na análise da microscopia eletrônica de transmissão, presente na figura 24, foi possível constatar que as nanopartículas sintetizadas apresentam um “formato” esférico.

Figura 24 - Imagem dos CDs obtida por microscopia eletrônica de transmissão



5.1.7 Potencial Zeta

O potencial zeta determina principalmente a carga superficial de estruturas químicas. Na Tabela 5 são mostrados os potenciais zeta dos CDs a 25 °C. Para essa análise o pH das nanopartículas foi fixado em 5.

Tabela 5 – Potencial Zeta dos CDs

Potencial Zeta(mV)	Duplicata		Média Potencial Zeta(mV)
pH = 5	-7,37	-8,26	-7,81

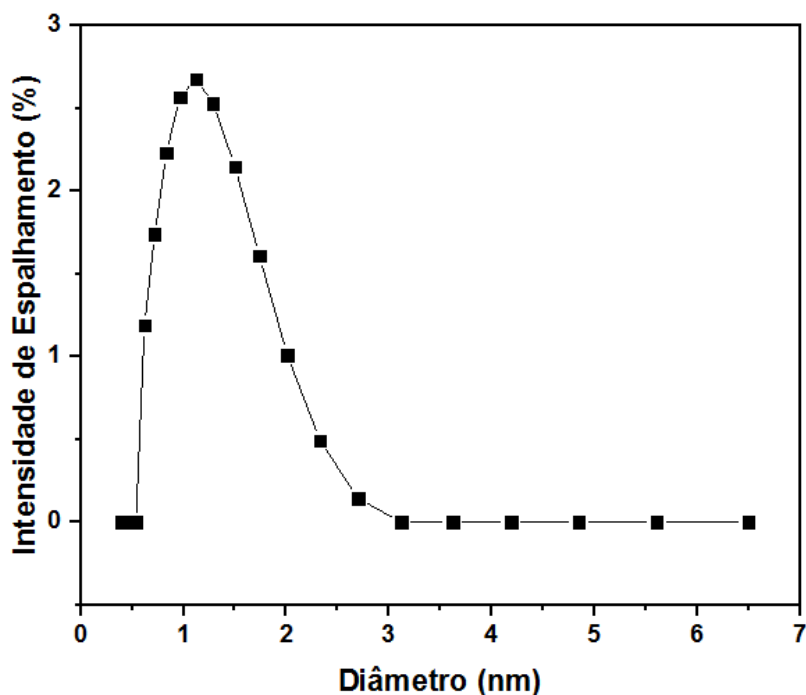
Verificou-se que o potencial zeta médio para a amostra em pH 5 foi de -7,81 indicando a presença de cargas negativas na superfície dos CDs. Os potenciais zeta negativos indicam a presença de grupos funcionais eletronegativos na superfície das estruturas como grupos hidroxilas e carboxílicos.

5.1.8 Espalhamento dinâmico de luz

Um dos principais métodos para a avaliação das dimensões de nanopartículas em suspensão é o DLS. Os diâmetros das nanopartículas foram determinados por essa técnica, a análise foi realizada com um ângulo de detecção de 173° e a amostra foi diluída em água MilliQ. Três medidas subsequentes foram realizadas para a amostra, sendo que cada medida contém dez repetições de dez segundos.

A distribuição do tamanho das partículas é mostrada na Figura 25. Constatou-se que os CDs apresentam tamanho entre 0,5 e 3 nm, sendo o tamanho médio das partículas geradas é de aproximadamente 1 nm, correspondendo ao pico máximo presente na Figura 25.

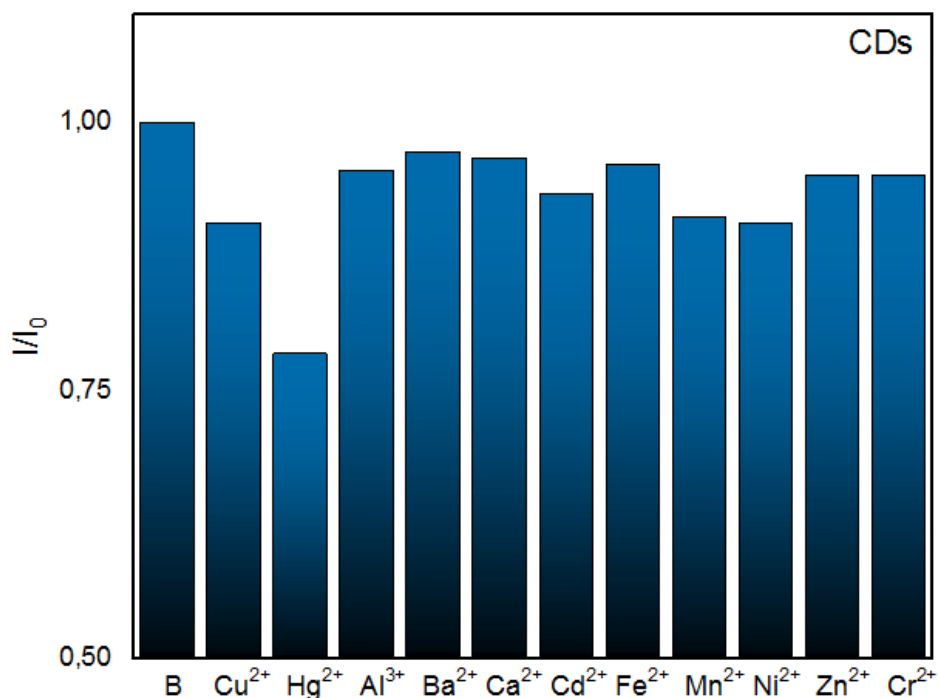
Figura 25 - Distribuição de tamanho dos CDs obtidas através da técnica de espalhamento dinâmico de luz.



5.2 Seletividade dos CDs

Inicialmente, estudou-se a viabilidade da utilização dos CDs sem qualquer modificação em sua estrutura para a determinação de Cu^{2+} . Esta proposta baseou-se na análise do decaimento (atenuação) da fluorescência dos CDs em função da presença de Cu^{2+} . Outro aspecto considerado foi a seletividade do método, ou seja, a possibilidade de as nanoestruturas geradas proporcionarem seletividade apenas para o cobre. A Figura 26 apresenta o estudo de decaimento do sinal de emissão para soluções de vários íons de metais na concentração de $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando CDs não funcionalizados.

Figura 26 - Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs com diferentes íons metálicos na concentração de $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$



Na Figura 26 observa-se que houve uma atenuação significativa da fluorescência para os íons Cu^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} e Ni^{2+} quando analisados sob as mesmas condições. Os resultados obtidos mostram que a seletividade para o íon Cu^{2+} não foi alcançada. Com o intuito de se obter e potencializar a seletividade dos CDs, estudou-se como alternativa funcionalização da superfície da nanoestrutura.

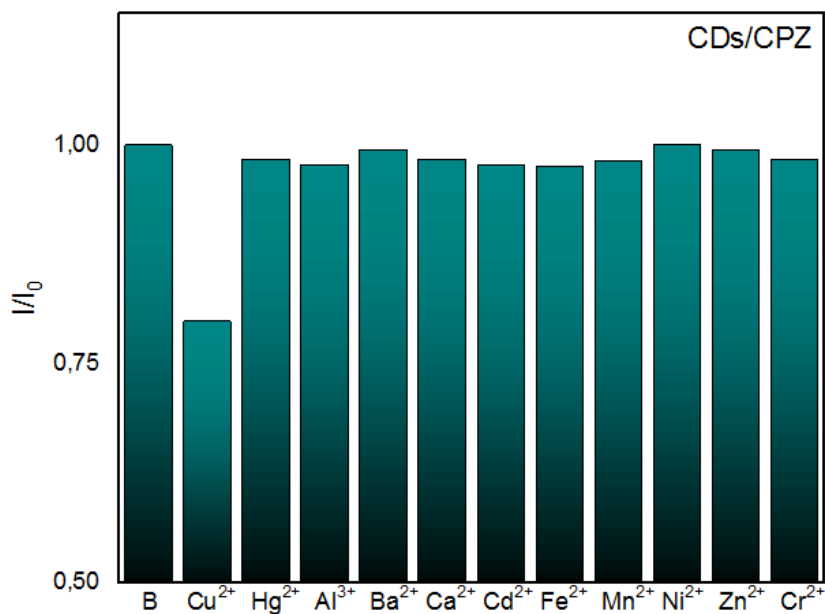
5.2.1 Seletividade dos CDs funcionalizados

Diante da interferência dos íons Hg^{2+} , Mn^{2+} e Ni^{2+} , foi levado em consideração o uso da CPZ, um dos reagentes mais utilizados para a determinação seletiva de Cu^{2+} . Assim, foram conduzidos experimentos para verificar a possibilidade da funcionalização com este reagente a fim de reduzir a interferência de outros íons em relação ao Cu^{2+} . Após a funcionalização, como descrito no item 4.4, novos estudos foram conduzidos para verificar se houve uma resposta mais seletiva para o Cu^{2+} .

Como pode ser observado na Figura 27, a funcionalização resultou na redução significativa da interferência dos íons Hg^{2+} , Mn^{2+} e Ni^{2+} diante do Cu^{2+} em comparação com CDs não funcionalizados. Em termos de seletividade, a funcionalização dos CDs diminuiu a

interferência de todos os metais testados, mostrando assim maior eficiência do método proposto com a funcionalização.

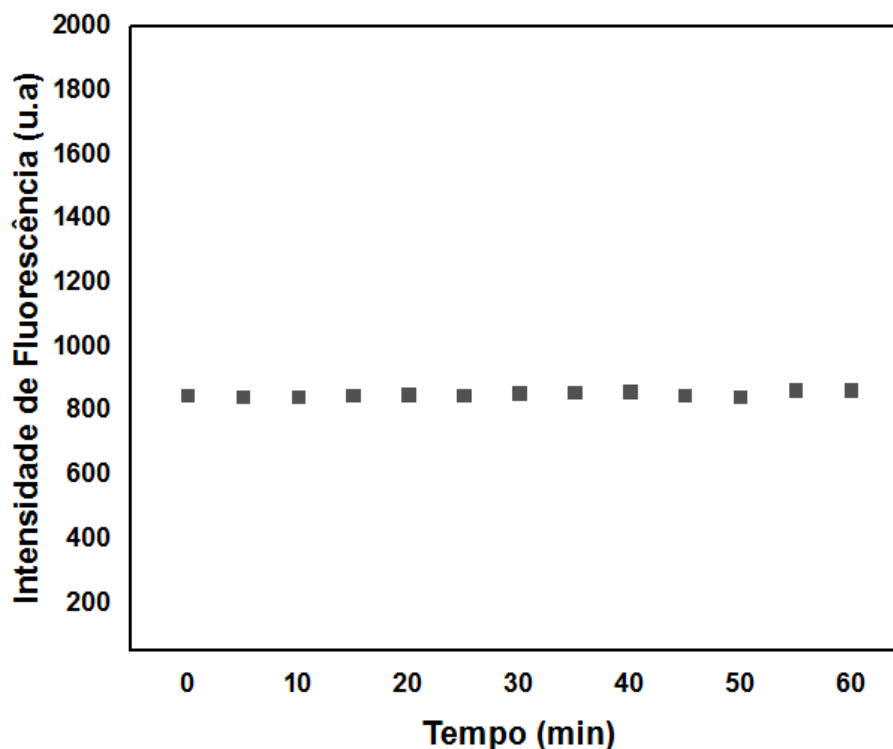
Figura 27 - Diferença entre as intensidades luminescentes relativas dos CDs/CPZ com diferentes íons metálicos na concentração de $1,25 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$



5.2.3 Estudo da estabilidade da luminescência dos CDs/CPZ

Semelhante ao estudo realizado na seção 5.1.3, realizado o teste de fotoestabilidade para CDs/CPZ também, sendo a amostra irradiada durante 1h com um comprimento de onda de excitação fixa de 370 nm.

Figura 28 – Intensidade de fluorescência CDs/CPZ



Foi observado uma diminuição da intensidade emitida pelos CDs/CPZ se comparado com os CDs não funcionalizados, como pode ser visto na Figura 28. O que pode explicar este fato é a interação entre uma espécie não fluorescente como a CPZ com os CDs. Entretanto a atenuação da fluorescência observada não interfere na metodologia proposta neste presente trabalho, bem como pode ser observado as nanopartículas funcionalizadas também apresentam foto estabilidade.

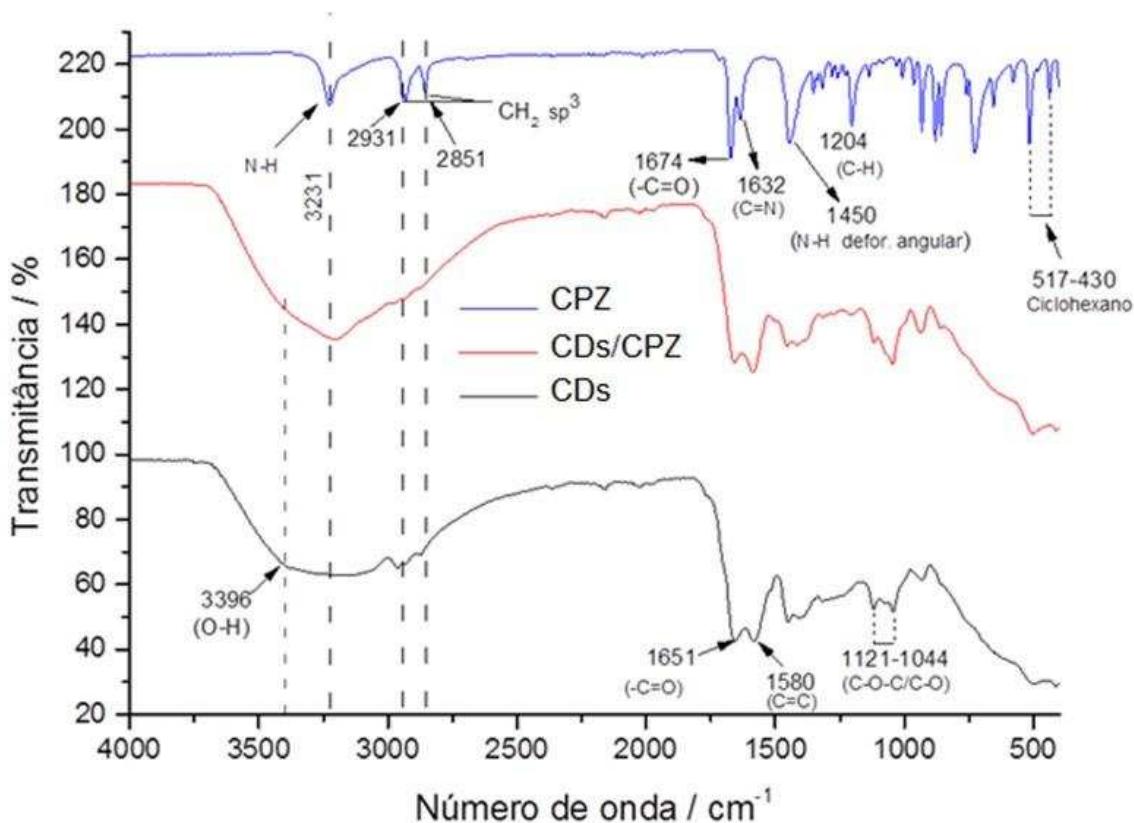
5.2.4 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A fim de constatar a funcionalização dos CDs com CPZ, uma amostra foi analisada por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), com o intuito de identificar os grupos funcionais presentes na superfície das moléculas.

Como pode ser visualizado na figura 29, o espectro de infravermelho das nanopartículas apresentou uma banda larga em 3396 cm^{-1} típica do estiramento das hidroxilas presentes na estrutura. A banda intensa 2931 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento assimétrico da ligação C-H com hibridização sp^3 . A banda observada em 1651 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial da ligação C=O e, as bandas da deformação axial e angular das ligações C-O foram observadas em 1121 e 1044 cm^{-1} , respectivamente. Foi também observada uma

banda em 1580 cm^{-1} referente à deformação angular das ligações C=C, presentes na estrutura das nanopartículas. Essa identificação corrobora com o resultado obtido pelo potencial zeta para que indicou a presença de grupos eletronegativos nas superfícies dos CDs.

Figura 29 - Espectros de infravermelho com transformada de Fourier da CPZ, CDs/CPZ e CDs.



Em relação à CPZ, a banda observada em 3228 cm^{-1} ao estiramento simétrico das ligações N-H, sendo que em 1450 cm^{-1} foi observada uma banda típica da deformação das ligações N-H pertencentes aos grupos amida. A banda em 1674 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial da ligação C=O da amida, enquanto a banda em 1632 cm^{-1} é referente à vibração da ligação C=N. A banda observada em 2931 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento assimétrico da ligação C-H dos carbonos com hibridização sp^3 e, a banda observada em 2851 cm^{-1} é referente ao estiramento simétrico das ligações C-H.

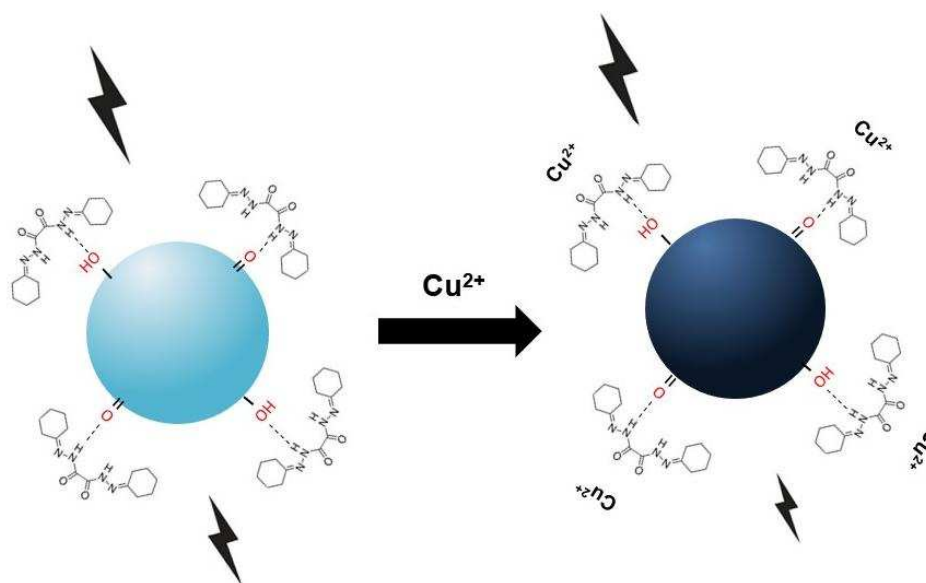
No que tange à interação entre a CPZ e as nanopartículas (CDs), observa-se que a CPZ pode interagir com as CDs através das ligações de hidrogênio entre os grupos N-H, C=O, C=N e os hidrogênios dos grupos hidroxila, presentes na estrutura das nanopartículas. A partir do espectro de infravermelho observa-se uma diminuição da intensidade da banda de estiramento simétrico da ligação N-H da CPZ, quando esta interage com as nanopartículas,

uma evidência da interação por ligações de hidrogênio. As bandas das ligações N=O, e C=N na CPZ também sofreram uma diminuição da intensidade, quando o quelante (CPZ) interage com as nanopartículas, evidenciando, portanto, a interação entre ambas, via ligações de hidrogênio. Um aspecto que merece destaque é que, em todos os casos, observa-se um pequeno deslocamento no número de onda para valores menores, quando as novas ligações se estabelecem, isto porque, a formação das ligações de hidrogênio, entre os hidrogênios das hidroxilas das CDs com os átomos eletronegativos dos grupos funcionais da CPZ, pode ter levado ao enfraquecimento das ligações N-H, C=O e C=N, resultando, portanto, na vibração das mesmas, com menor energia.

A banda larga das hidroxilas, observada em 3396 cm^{-1} no espectro do IV das CDs, praticamente foi sutil, quando esta interagiu com a CPZ, significando com isso que, podem ter se estabelecido ligações de hidrogênio entre ambas.

As bandas características do ciclohexano, na estrutura da CPZ, mostraram baixa intensidade, quando esta interagiu com as CDs, provavelmente porque os hidrogênios metilênicos do ciclohexano podem ter estabelecido ligações de hidrogênio com as carbonilas presentes na estrutura das CDs. Deste modo, o perfil do espectro de infravermelho da CDs/CPZ, leva-nos a concluir que a interação entre ambas foi efetiva, se comparado com os espectros isolados das CDs e da CPZ. Uma proposta para a funcionalização dos CDs com a CPZ é apresentado na figura 30.

Figura 30 - Proposta da provável funcionalização da superfície dos CDs e possível mecanismo de atenuação luminescente dos CDs/CPZ por Cu^{2+}



Fonte: Autoria própria

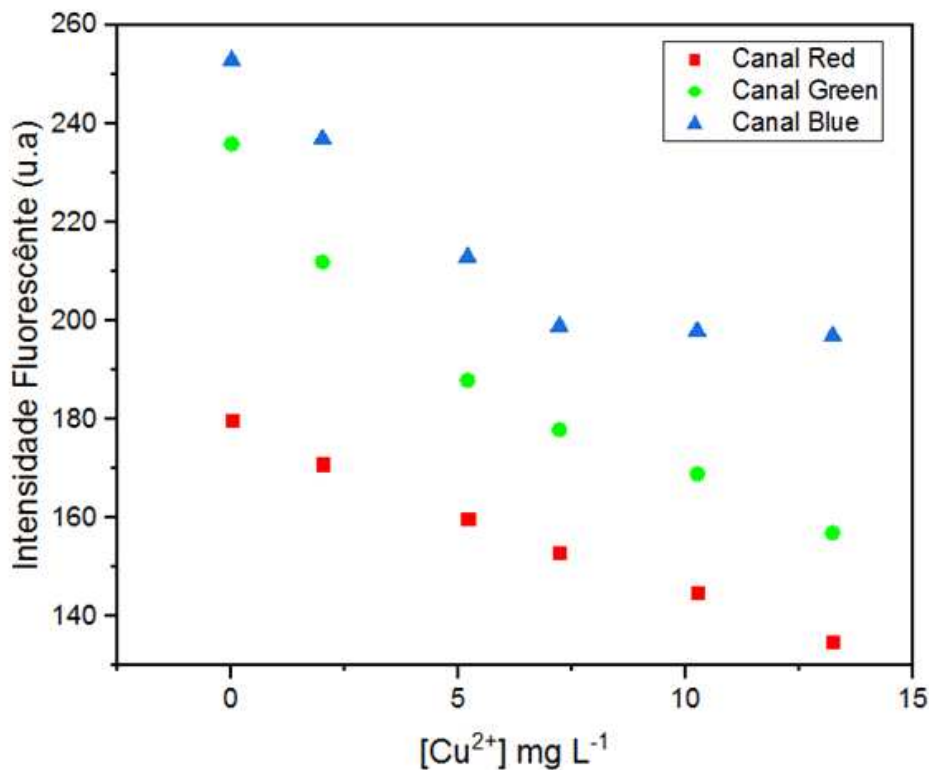
5.3 Faixa linear do método

Através do uso do aplicativo Color Name, foram construídas curvas analíticas para verificar a capacidade da metodologia proposta em responder quantitativamente à determinação de Cu^{2+} .

O aplicativo Color Name foi responsável por fazer a decomposição das imagens em um modelo RGB. Para construção da curva analítica foi preparado uma solução estoque de Cu^{2+} , e por meio da diluição da mesma com a solução de CDs obteve-se seis soluções variando a concentração do analito entre 2 e $13,24 \text{ mg L}^{-1}$.

Como pode ser observado na figura 31, o canal R e o canal B (do modelo RGB) apresentaram boa correlação entre a intensidade de fluorescência e a concentração do analito. Embora o canal B não tenha apresentado uma linearidade em toda a faixa de trabalho proposto, ele ainda pode ser usado para detecção de cobre em níveis acima do permitido da legislação (até o limite 5mg) uma vez que sai linearidade se estende até 7mg.

Figura 31 – Curva analítica para determinação de cobre utilizando diferentes canais do modelo RGB









A equação que representa a reta de regressão pode ser expressa da seguinte forma: $y = a [\text{Cu}^{2+}] + b$, onde y é o sinal analítico correspondente à resposta para cada canal, e $[\text{Cu}^{2+}]$ é a concentração de cobre dada em mg L^{-1} , a é o coeficiente angular e b é o coeficiente linear.

A partir dos dados apresentados na Figura 31 e na Tabela 6 obteve-se as seguintes equações da reta:

Para o canal R $\rightarrow y = -3,3117[\text{Cu}^{2+}] + 178,32$ com um bom coeficiente de correlação $R^2 = 0,9944$.

Já para o canal B $\rightarrow y = -7,4823[\text{Cu}^{2+}] + 252,47$ com um bom coeficiente de correlação $R^2 = 0,9993$.

Tabela 6 - Cores registradas pelo aplicativo Color Name e recortadas da imagem, valores do canal R e B das cores registradas. Limites de detecção, limites de quantificação e coeficiente de determinação.

$[\text{Cu}^{2+}] \text{mg L}^{-1}$	0	2	5,2	7,22	10,36	13,24	R^2	LOQ*	LOD*
Cor							-	-	-
Valor R	180	171	160	153	145	135	0,9944	1,55	0,66
Valor B	253	237	213	199	-	-	0,9993	0,62	0,23

A partir dos dados da curva analítica, foi possível calcular os limites de detecção e quantificação do método, duas figuras de mérito importantes no desenvolvimento de metodologias analíticas.

O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) do método foram calculados a partir de parâmetros da curva analítica obtida através das equações 5 e 6 respectivamente.

$$LD = \frac{(3 \times SD)}{S} \quad (5)$$

$$LQ = \frac{(10 \times SD)}{S} \quad (6)$$

Onde SD é a estimativa do desvio padrão da resposta do branco ($n=15$) e S é o coeficiente angular da curva analítica. O limite de detecção para o método utilizando o canal R foi de $0,77 \text{ mg L}^{-1}$ e limites de quantificação de $1,55 \text{ mg L}^{-1}$, já para o canal B foi obtido

0,23 mg L⁻¹ e 0,62 mg L⁻¹ respectivamente.

5.4 Veracidade do Método

O teste de recuperação é um teste de exatidão aplicado para avaliar possíveis efeitos de matriz, uma vez que a matriz da amostra pode conter componentes que interferem no sinal analítico de interesse.

Esse teste foi estabelecido adicionando quantidades conhecidas de Cu²⁺ em cinco amostras de cachaça comerciais e verificou-se qual o valor recuperado a partir do valor adicionado. A recuperação percentual foi calculada através da equação 7.

$$\text{Recuperação}(\%) = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (7)$$

onde:

C₁ = concentração determinada na amostra adicionada,

C₂ = concentração determinada na amostra não adicionada,

C₃ = concentração adicionada.

A Tabela 7 mostra os resultados obtidos para o estudo de recuperação para determinação de cobre em cachaça. Os ensaios foram feitos em triplicata (n=3).

Tabela 7 - Porcentagens de recuperação de Cu²⁺ obtidas para os dois níveis de concentração estudados.

Amostra	Adicionado^a	Recuperado^a	Recuperação(%)
A	2,50	2,03±0,09	81,20
	8,00	7,10±0,06	88,75
B	2,50	2,25±0,08	90,00
	8,00	7,33±0,06	91,63
C	2,50	2,44±0,03	97,60
	8,00	7,77±0,02	97,13
D	2,50	2,73±0,10	109,20
	8,00	7,10±0,10	88,75
E	2,50	2,10±0,07	84,00
	8,00	6,90±0,06	86,25
F	2,50	2,64±0,10	105,60

Amostra	Adicionado ^a	Recuperado ^a	Recuperação(%)
G	8,00	7,10±0,08	88,75
	2,50	2,10±0,07	84,00
	8,00	7,20±0,07	90,00
	2,50	2,55±0,08	102,00
H	8,00	7,20±0,10	90,00

^a Concentração expressa em mgL⁻¹

Os resultados de recuperação foram comparados com os valores descritos por Brito et al. (2003), cuja recomendação é que o intervalo de recuperação esteja entre 80 e 110%, para níveis de concentração de 100 ppb a 10 ppm. Portanto, todos os valores obtidos para a recuperação de Cu²⁺ foram satisfatórios. Pode-se afirmar, portanto, que não foram encontrados efeitos de matriz significativos nas amostras analisadas.

5.5 Análise de Cu²⁺ em amostras de cachaça comerciais

Para a análise de cobre em cachaça, oito amostras de cachaça comerciais não envelhecidas foram analisadas empregando o método proposto e o de referência. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8 - Determinação de Cu²⁺ em cachaça empregando o método proposto e o de referência

Amostra	Método ^a Proposto ^a		Método de Referência (AAS ^a)	Erro Relativo (%)	
	Blue	Red		Blue	Red
1	2,31±0,6	2,38±0,8	2,17±0,2	6,45	9,68
2	3,19±0,4	2,75±0,9	2,99±0,7	6,69	8,02
3	<LQ	<LQ	0,20±0,4	-	-
4	1,26±0,6	<LQ	1,16±0,2	8,62	-
5	2,6±0,7	2,55±0,5	2,91±0,5	10,65	12,37
6	<LQ	<LQ	<LQ	-	-
7	<LQ	<LQ	<LQ	-	-
8	3,6±0,4	3,56±0,7	3,76±0,2	4,26	5,32

^a Concentração expressa em mgL⁻¹

Como pode ser visto na Tabela 8, os níveis de Cu^{2+} do método proposto e do método de referência estão relativamente próximos, indicando a precisão do método proposto. Todas as amostras analisadas estão de acordo com a legislação brasileira, no que tange a presença de cobre em cachaças abaixo do limite de 5 mgL^{-1} .

O erro percentual para a amostra cinco foi de 12,37% e 10,65% utilizando o canal R e o B respectivamente, sendo o maior entre todas as analisadas. O resultado para essa amostra específica pode ser justificado em virtude de esta cachaça apresentar uma coloração amarelada (não envelhecida) diferentemente do aspecto incolor das outras amostras, fato esse que poderia influenciar na cor observada e decomposta pelo modelo RGB, resultando em erro maior que as outras amostras.

Com o propósito de comparar os resultados alcançados através dos dois métodos, foi empregado o teste t pareado com 95% de confiabilidade. O teste citado indicou um p-valor de 0,31 para o canal Red e um p-valor de 0,95 para o canal Blue, ambos maiores que o valor de significância 0,05, portanto, indicando que não há diferença entre os dados obtidos a um nível de confiança de 95%.

Por meio desse modelo pode-se comprovar a inexistência de distinções estatísticas significativas na determinação de Cu (II) entre os métodos propostos e o de referência.

5.6 Outros métodos para determinação de cobre em cachaça

Na literatura há disponível uma vasta gama de métodos analíticos estabelecidos para a determinação de cobre em cachaça, sendo o principal, e também o método de referência, a espectrometria de absorção atômica (AAS). Essa técnica apresenta alta seletividade e sensibilidade, baixos limites de quantificação e de detecção. Entretanto apresenta uma instrumentação cara, exige um técnico altamente qualificado para operar o equipamento, além do alto custo de manutenção, em alguns casos é necessária a utilização de adição de padrão ou uso de padrão interno quando se tem um efeito de matriz devido a presença de álcool na amostra.

O método proposto não busca se equiparar aos limites de detecção do método de referência, uma vez que o interesse de fato é analisar cobre em uma faixa que seja adequada aos limites das amostras em concordância com a legislação. Para utilização do método proposto neste trabalho faz-se necessário treinamento do analista, no entanto, fica evidente que com a simplicidade do equipamento elaborado há uma maior facilidade de operação. Além disso, o baixo custo desde a sua produção bem como a manutenção de peças, facilmente

comercializadas, torna o equipamento muito mais acessível do que um espectrômetro. Outro aspecto positivo do método aqui proposto é a sua portabilidade, as dimensões da câmara e seu baixo peso tornam seu transporte extremamente simples.

Outros métodos que empregam técnicas modernas, como GF-AAS, ICP-MS ou ICP-OES, são rápidos e eficientes, mas nem todo laboratório possui tais instrumentações disponíveis, sendo estas pouco viáveis para análise de rotina.

No que tange métodos de determinação de cobre em cachaça que empregam a análise de imagens digitais, o presente trabalho se mostra vantajoso em alguns aspectos se comparados a outros encontrados na literatura, como pode ser observado na Tabela 9.

Fernandes et al (2020) por exemplo, utiliza 60 µL por análise, um volume maior do que os 15 µL da metodologia aqui proposta. Pessoa et al. (2017), utilizam para cada análise 600µL, além disso, fizeram uso de análise em duas etapas, primeiramente fotografando com uma câmera e posteriormente realizando a análise no computador, o que torna necessária a aquisição desses dois equipamentos e torna o processo mais demorado. Além disso, sua metodologia requer o controle do pH.

O trabalho realizado por Franco et al. (2021) apresenta faixa linear semelhante à deste trabalho, no entanto há necessidade de se preparar o PAD com uma solução, ocasionando numa etapa extra, além disso, após o contato do analito com o papel faz necessária a espera de 3 minutos

Tabela 9 - Comparação entre métodos de identificação de cobre em cachaça relatados na literatura.

Método	Técnica	Aquisição De Imagens Digitais	Faixa Linear*	LD*	LQ*	Volume por análise**	Tempo de Reação***
Fernandes et al (2020)	Colorimétrica	Smartphone	3,0 – 25,0	1,6	4,7	60	5
Pessoa et al. (2017)	Colorimétrica	Câmera Fotográfica	0,75 - 5,0	0,078	0.26	600	7
Franco et al. (2021)	Colorimétrica	Smartphone	2,0 – 13,0	0,034	0,103	-	3
Presente trabalho (Canal Blue)	Fluorimétrica	Smartphone	2,0– 7,22	0,23	0,62	15	Instantânea
Presente trabalho (Canal Red)	Fluorimétrica	Smartphone	2,0 - 13,24	0,66	1,55	15	Instantânea

* Concentração expressa em mgL⁻¹ ** Volume expresso em µL *** Tempo expresso em minutos

6 CONCLUSÃO

A síntese de CDs a partir do amido via tratamento hidrotérmico permitiu a geração de partículas em escala nanométrica com diâmetro médio de 1 nm e como constatado pela técnica DLS. As nanopartículas sintetizadas pelo método proposto se mostraram estáveis e com pouca variação de intensidade fluorescente mesmo com a variação do pH e da força iônica do meio. A funcionalização dos CDs com CPZ possibilitou uma maior seletividade dos CDs para a determinação de cobre.

O trabalho propõe com sucesso um dispositivo à base de papel acoplado a uma placa 3D para identificação de Cu^{2+} em cachaça, que em razão da sua portabilidade conjuntamente com a câmara LED-UV, pode ser levado para análises em campo para além dos laboratórios. Ademais, os parâmetros de validação avaliados apresentaram resultados satisfatórios ao serem comparados com o método de referência.

O método proposto exibe vantagens por sua simplicidade de operação e por ser sensível o suficiente para quantificar cobre em cachaças não envelhecidas.

Pela primeira vez na literatura é reportado um trabalho envolvendo nanopartículas de carbono funcionalizadas com CPZ para a determinação de cobre em cachaças, utilizando um dispositivo fabricado com papel acoplado em placa 3D, e análises de imagens digitais monitorando a atenuação da fluorescência devido a interação do analito em interesse e as CDs.

Além disso, o método proposto corrobora com os preceitos da química verde, desde a obtenção das CDs, por meio da extração de amido de uma fonte renovável e a síntese hidrotérmica sem adição de nenhum reagente tóxico. O único reagente utilizado e possivelmente nocivo ao meio ambiente e seres humanos é a CPZ, entretanto foi empregada em pequena quantidade para a funcionalização. A baixa quantidade de consumo de reagentes bem como a pequena quantidade de amostra tem como consequência a formação de pouco resíduo e de fácil descarte, reforçando a sustentabilidade do método.

Por fim, como futuras perspectivas o sistema de análise desenvolvido poderia ser aplicado para a determinação de outros analitos em cachaça e/ou em outras matrizes, para tal seria necessário modificar o tipo de funcionalização das CDs para se obter uma resposta específica para o método proposto. Um aprimoramento deste trabalho poderia ser um estudo da produção de CDs a partir de amido oriundo de fontes não alimentícias, tendo em vista a reutilização de rejeitos da agroindústria para dar novos fins a esses materiais e também para evitar a utilização de matéria-prima direcionada à alimentação humana.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKYAZI, T.; BASABE-DESMONTS, L.; BENITO-LOPEZ, F. Review on microfluidic paper-based analytical devices towards commercialisation. *Analytica Chimica Acta*, v. 1001, p. 1–17, fev. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000326701731262X>>.

ALGARRA, M. et al. Carbon dots obtained using hydrothermal treatment of formaldehyde. Cell imaging in vitro. *Nanoscale*, v. 6, n. 15, p. 9071–9077, 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4NR01585A>>

ALVES, L. A. et al. Characterization of acid functional groups of carbon dots by nonlinear regression data fitting of potentiometric titration curves. *Applied Surface Science*, v. 370, p. 486–495, maio 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433216303063>>

ANDRADE, L. P. et al. Cachaça sob uma Perspectiva Histórica, Cultural e Simbólica. *Revista Gestão em Análise*, v. 7, n. 2, p. 184, 18 dez. 2018. Disponível em: <<http://periodicos.unichristus.edu.br/index.php/gestao/article/view/1831>>.

BALLESTA CLAVER, J.; VALENCIA MIRÓN, M. C.; CAPITÁN-VALLVEY, L. F. Determination of hypochlorite in water using a chemiluminescent test strip. *Analytica Chimica Acta*, v. 522, n. 2, p. 267–273, set. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267004008025>>.

BALLESTEROS, J. I.; CALEJA-BALLESTEROS, H. J. R.; VILLENA, M. C. Digital image-based method for iron detection using green tea (*Camellia sinensis*) extract as natural colorimetric reagent. *Microchemical Journal*, v. 160, p. 105652, jan. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X20330526>>.

BENEDETTI, L. P. dos S. et al. A digital image analysis method for quantification of sulfite in beverages. *Anal. Methods*, v. 7, n. 18, p. 7568–7573, 2015.

BENEDETTI, L. P. dos S. Determinação em situ de analitos de interesse alimentício empregando tratamento de imagens digitais de spot tests. 2013. 94 f. Universidade Federal de São Carlos., 2013.

BERA, D. et al. Quantum Dots and Their Multimodal Applications: A Review. *Materials*, v. 3, n. 4, p. 2260–2345, 24 mar. 2010. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1996-1944/3/4/2260>>.

BERASARTE, I. et al. pH measurement and phosphate determination in pharmaceutical eye drops for eye diseases by digital image analysis. *Microchemical Journal*, v. 162, p. 105854, mar. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X20337966>>.

BOURLINOS, A. B. et al. Surface Functionalized Carbogenic Quantum Dots. *Small*, v. 4, n. 4, p. 455–458, 18 mar. 2008. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/sml.200700578>>.

BOZA, Y.; HORII, J. INFLUÊNCIA DA DESTILAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO E A QUALIDADE SENSORIAL DA AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, out. 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000400006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

BRASIL, MAPA. Instrução normativa no 24, de 08 de setembro de 2005. Manual operacional de bebidas e vinagres. , 2005a.

BRASIL, MAPA. Instrução Normativa nº13, de 29 de junho de 2005. 2005b

CAO, L. et al. Carbon Dots for Multiphoton Bioimaging. *Journal of the American Chemical Society*, v. 129, n. 37, p. 11318–11319, set. 2007. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja073527l>>.

CAPITÁN-VALLVEY, L. F. et al. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. *Analytica Chimica Acta*, v. 899, p. 23–56, out. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000326701501243X>>.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardente. Produção de aguardente de cana. 3. ed. Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 150–188.

CARDOSO, R. M. et al. 3D-Printed graphene/polylactic acid electrode for bioanalysis: Biosensing of glucose and simultaneous determination of uric acid and nitrite in biological fluids. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 307, p. 127621, mar. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400519318209>>.

CARDOSO, R. M. et al. 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. *Analytica Chimica Acta*, v. 1033, p. 49–57, nov. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267018307864>>.

CHEN, T. et al. A flexible paper-based chemosensor for colorimetric and ratiometric fluorescence detection of toxic oxalyl chloride. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 319, p. 128289, set. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400520306341>>.

CUI, X. et al. Dual functional N- and S-co-doped carbon dots as the sensor for temperature and Fe³⁺ ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 242, p. 1272–1280, abr. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400516314496>>.

DA SILVA, E. K. N. et al. A fluorescence digital image-based method using a 3D-printed platform and a UV-LED chamber made of polyacid lactic for quinine quantification in beverages. *Microchemical Journal*, v. 157, n. March, p. 104986, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104986>>.

DAMASCENO, D. et al. Análise multivariada de imagens na química: um experimento para determinação do pH de águas potáveis. *Quim. Nova*, v. 38, n. 6, p. 836–841, 2015.

DE, B.; KARAK, N. A green and facile approach for the synthesis of water soluble fluorescent carbon dots from banana juice. *RSC Advances*, v. 3, n. 22, p. 8286, 2013.

Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ra00088e>>.

DIAÑEZ, I. et al. 3D printing in situ gelification of κ -carrageenan solutions: Effect of printing variables on the rheological response. *Food Hydrocolloids*, v. 87, p. 321–330, fev. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X18307720>>.

DING, H. et al. Luminescent carbon quantum dots and their application in cell imaging. *New Journal of Chemistry*, v. 37, n. 8, p. 2515, 2013. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3nj00366c>>.

DU, F. et al. Carbon dots-based fluorescent probes for sensitive and selective detection of iodide. *Microchimica Acta*, v. 180, n. 5–6, p. 453–460, 5 abr. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00604-013-0954-2>>.

ERDEMIR, S.; MALKONDU, S. On-site and low-cost detection of cyanide by simple colorimetric and fluorogenic sensors: Smartphone and test strip applications. *Talanta*, v. 207, p. 120278, jan. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914019309117>>.

FAN, Y. Z. et al. A facile synthesis of water-soluble carbon dots as a label-free fluorescent probe for rapid, selective and sensitive detection of picric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 240, p. 949–955, mar. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400516314812>>.

FERNANDES, G. M. et al. Paper-based analytical device for colorimetric detection of Cu^{2+} in Brazilian sugarcane spirits by digital image treatment. *Microchemical Journal*, v. 159, p. 105463, dez. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X20322736>>.

FERRARO, J. R.; NAKAMOTO, K. *Introductory Raman Spectroscopy*. 2. ed. New York: Elsevier, 2002.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. do C. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. *Química Nova*, v. 32, n. 7, p. 1860–1870, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000700033&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

FRANCO, M. de O. K. Dispositivos microfluídicos à base de papel para determinação de cobre em cachaça. 2018. 101 f. Universidade Federal de Viçosa, 2018.

FRANCO, M. de O. K.; SUAREZ, W. T.; SANTOS, V. B. dos. Digital Image Method Smartphone-Based for Furfural Determination in Sugarcane Spirits. *Food Analytical Methods*, v. 10, n. 2, p. 508–515, jul. 2017.

FRANCO, M. de O. K. et al. Microanalysis based on paper device functionalized with cuprizone to determine Cu^{2+} in sugar cane spirits using a smartphone. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, p. 119580, fev. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142521001566>>.

FRANCO, M. de O. K. et al. Smartphone Application for Methanol Determination in Sugar

Cane Spirits Employing Digital Image-Based Method. *Food Analytical Methods*, v. 10, n. 6, p. 2102–2109, 2017.

GARBIN, R.; BOGUSZ JUNIOR, S.; MONTANO, M. A. Níveis de cobre em amostras de cachaça produzidas na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 35, n. 6, p. 1436–1440, 2005.

GEETHANJALI, H. S. et al. Fluorescence quenching of boronic acid derivatives by aniline in alcohols – A Negative deviation from Stern–Volmer equation. *Journal of Luminescence*, v. 167, p. 216–221, nov. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022231315003580>>.

GONÇALVES, C. M.; UETANABARO, A. P. T. Higienização, biossegurança e controle dos resíduos no processamento da cachaça de alambique. 1. ed. Ilheus: Editus, 2012.

GONÇALVES, H. et al. Hg (II) sensing based on functionalized carbon dots obtained by direct laser ablation. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 145, n. 2, p. 702–707, 19 mar. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400510000535>>.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. *Digital Image Processing*. [S.l.: s.n.], 2008.

GOTOR, R. et al. Detection of Adulterated Diesel Using Fluorescent Test Strips and Smartphone Readout. *Energy & Fuels*, v. 31, n. 11, p. 11594–11600, 16 nov. 2017. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.energyfuels.7b01538>>.

GOW, P. J. et al. Diagnosis of Wilson’s disease: an experience over three decades. *Gut*, v. 46, n. 3, p. 415–9, 2000.

GROSS, B. C. et al. Evaluation of 3D Printing and Its Potential Impact on Biotechnology and the Chemical Sciences. *Analytical Chemistry*, v. 86, n. 7, p. 3240–3253, 30 abr. 2014. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac403397r>>.

GUO, Y. et al. Synthesis and characterization of the nickel@carbon dots hybrid material and its application in the reduction of Cr(VI). *New J. Chem.*, v. 38, n. 12, p. 5861–5867, 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4NJ01087F>>.

HARDMAN, R. A Toxicologic Review of Quantum Dots: Toxicity Depends on Physicochemical and Environmental Factors. *Environmental Health Perspectives*, v. 114, n. 2, p. 165–172, fev. 2006. Disponível em: <<https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.8284>>.

HE, L. et al. Carbon nanodots@zeolitic imidazolate framework-8 nanoparticles for simultaneous pH-responsive drug delivery and fluorescence imaging. *CrystEngComm*, v. 16, n. 16, p. 3259, 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ce42506a>>.

HO, C. M. B. et al. 3D printed microfluidics for biological applications. *Lab on a Chip*, v. 15, n. 18, p. 3627–3637, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5LC00685F>>.

HOQUE, M. E.; CHUAN, Y. L.; PASHBY, I. Extrusion based rapid prototyping technique: An advanced platform for tissue engineering scaffold fabrication. *Biopolymers*, v. 97, n. 2, p. 83–93, fev. 2012. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/bip.21701>>.

JABLONSKI, A. Über den Mechanismus der Photolumineszenz von Farbstoffphosphoren. *Zeitschrift für Physik*, v. 94, n. 1–2, p. 38–46, jan. 1935. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF01330795>>.

KATSELI, V. et al. Miniature 3D-printed integrated electrochemical cell for trace voltammetric Hg(II) determination. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 308, p. 127715, abr. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400520300629>>.

KOZÁK, O. et al. Surfactant-Derived Amphiphilic Carbon Dots with Tunable Photoluminescence. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 117, n. 47, p. 24991–24996, 27 nov. 2013. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp4040166>>.

LABANCA, R. A. et al. Determinação dos teores de cobre e grau alcoólico em aguardentes de cana produzidas no estado de Minas Gerais. *Quim. Nova*, v. 29, n. 5, p. 1110–1113, 2006.

LAKOWICZ, J. R. Principles of fluorescence spectroscopy, 3rd Edition, Joseph R. Lakowicz, editor. [S.l: s.n.], 2006.

LECROY, G. E. et al. Toward Structurally Defined Carbon Dots as Ultracompact Fluorescent Probes. *ACS Nano*, v. 8, n. 5, p. 4522–4529, 27 maio 2014. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nm406628s>>.

LI, W. et al. Fluorescent paper-based sensor based on carbon dots for detection of folic acid. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 412, n. 12, p. 2805–2813, 2020.

LIM, S. Y.; SHEN, W.; GAO, Z. Carbon quantum dots and their applications. *Chemical Society Reviews*, v. 44, n. 1, p. 362–381, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4CS00269E>>.

LIMA, A. DE J. B. et al. Efeito de substâncias empregadas para remoção de cobre sobre o teor de compostos secundários da cachaça. *Química Nova*, v. 32, n. 4, p. 845–848, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000400004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

LISOWSKI, P.; ZARZYCKI, P. K. Microfluidic Paper-Based Analytical Devices (μ PADs) and Micro Total Analysis Systems (μ TAS): Development, Applications and Future Trends. *Chromatographia*, v. 76, n. 19–20, p. 1201–1214, 22 out. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10337-013-2413-y>>.

LIU, H.; YE, T.; MAO, C. Fluorescent Carbon Nanoparticles Derived from Candle Soot. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 46, n. 34, p. 6473–6475, 27 ago. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200701271>>.

LIU, M. et al. Carbon quantum dots directly generated from electrochemical oxidation of graphite electrodes in alkaline alcohols and the applications for specific ferric ion detection and cell imaging. *The Analyst*, v. 141, n. 9, p. 2657–2664, 2016. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5AN02231B>>.

LIU, W. et al. Green synthesis of carbon dots from rose-heart radish and application for Fe³⁺

detection and cell imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 241, p. 190–198, mar. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092540051631694X>>.

LIU, X. et al. Microwave synthesis of carbon dots with multi-response using denatured proteins as carbon source. *RSC Advances*, v. 6, n. 14, p. 11711–11718, 2016. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA23081K>>.

LIU, Y. et al. One-step microwave-assisted polyol synthesis of green luminescent carbon dots as optical nanoprobes. *Carbon*, v. 68, p. 258–264, mar. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008622313010488>>.

LIU, Y.; ZHAO, Y.; ZHANG, Y. One-step green synthesized fluorescent carbon nanodots from bamboo leaves for copper(II) ion detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 196, p. 647–652, jun. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400514002019>>.

LOPEZ-MOLINERO, A. et al. Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics. *Microchemical Journal*, v. 96, n. 2, p. 380–385, 2010.

LOUDIANOS, G.; GITLIN, J. D. Wilson's Disease. *Seminars in Liver Disease*, v. 20, n. 3, p. 353–364, 2000.

MANSUR, H. S. Quantum dots and nanocomposites. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 2, n. 2, p. 113–129, mar. 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/wnan.78>>.

MEHTA, V. N. et al. One-step hydrothermal approach to fabricate carbon dots from apple juice for imaging of mycobacterium and fungal cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 213, p. 434–443, jul. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400515002890>>.

MEHTA, V. N.; JHA, S.; KAILASA, S. K. One-pot green synthesis of carbon dots by using *Saccharum officinarum* juice for fluorescent imaging of bacteria (*Escherichia coli*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cells. *Materials Science and Engineering: C*, v. 38, p. 20–27, maio 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493114000460>>.

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

MOHD YAZID, S. N. A. et al. Detection of Sn(II) ions via quenching of the fluorescence of carbon nanodots. *Microchimica Acta*, v. 180, n. 1–2, p. 137–143, 17 jan. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00604-012-0908-0>>.

MOREIRA, V. A. et al. Eco-friendly synthesis of cuprizone-functionalized luminescent carbon dots and application as a sensor for the determination of copper(ii) in wastewater. *Analytical Methods*, v. 10, n. 37, p. 4570–4578, 2018.

MUHAMMAD-AREE, S.; TEEPOO, S. On-site detection of heavy metals in wastewater

using a single paper strip integrated with a smartphone. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 412, n. 6, p. 1395–1405, 9 fev. 2020. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00216-019-02369-x>>.

O'NEILL, P. F. et al. Advances in three-dimensional rapid prototyping of microfluidic devices for biological applications. *Biomicrofluidics*, v. 8, n. 5, p. 52112, set. 2014. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.4898632>>.

PACIORNIK, S. et al. Scanner image analysis in the quantification of mercury using spot-tests. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, n. 1, p. 156–161, 2006.

PAN, D. et al. Observation of pH-, solvent-, spin-, and excitation-dependent blue photoluminescence from carbon nanoparticles. *Chemical Communications*, v. 46, n. 21, p. 3681, 2010. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c000114g>>.

PAN, J. et al. Fabrication of carbon quantum dots modified granular SnO₂ nanotubes for visible light photocatalysis. *Materials Letters*, v. 170, p. 187–191, maio 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X1630194X>>.

PAROLO, C.; MERKOÇI, A. Paper-based nanobiosensors for diagnostics. *Chem. Soc. Rev.*, v. 42, n. 2, p. 450–457, 2013. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C2CS35255A>>.

PENG, H.; TRAVAS-SEJDIC, J. Simple Aqueous Solution Route to Luminescent Carbogenic Dots from Carbohydrates. *Chemistry of Materials*, v. 21, n. 23, p. 5563–5565, 8 dez. 2009. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cm901593y>>.

PESSOA, K. D. et al. A digital image method of spot tests for determination of copper in sugar cane spirits. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 185, p. 310–316, out. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142517304584>>.

PINTO, T. P. Desafios enfrentados pela indústria no Brasil. p. 29–30, 2019.

QIAO, Z. A. et al. Commercially activated carbon as the source for producing multicolor photoluminescent carbon dots by chemical oxidation. *Chemical Communications*, v. 46, n. 46, p. 8812, 2010. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cc02724c>>.

RODRIGUES FILHO, A.; OLIVEIRA, R. N. Tecnologia de produção de cana-de-açúcar e Cachaça de Minas de qualidade. Belo Horizonte: Emater, 1999.

SAHU, S. et al. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. *Chemical Communications*, v. 48, n. 70, p. 8835, 2012. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c2cc33796g>>.

SALENTIEN, G. I. et al. Fused Deposition Modeling 3D Printing for (Bio)analytical Device Fabrication: Procedures, Materials, and Applications. *Analytical Chemistry*, v. 89, n. 13, p. 7053–7061, 5 jul. 2017. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.7b00828>>.

SCIORTINO, A. et al. Different natures of surface electronic transitions of carbon

nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 19, n. 34, p. 22670–22677, 2017. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C7CP04548D>>.

SCIORTINO, A.; CANNIZZO, A.; MESSINA, F. Carbon Nanodots: A Review—From the Current Understanding of the Fundamental Photophysics to the Full Control of the Optical Response. *C*, v. 4, n. 4, p. 67, 13 dez. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2311-5629/4/4/67>>.

SHALLAN, A. I. et al. Cost-Effective Three-Dimensional Printing of Visibly Transparent Microchips within Minutes. *Analytical Chemistry*, v. 86, n. 6, p. 3124–3130, 18 mar. 2014. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac4041857>>.

SHARIFI, H.; TASHKHOURIAN, J.; HEMMATEENEJAD, B. A 3D origami paper-based analytical device combined with PVC membrane for colorimetric assay of heavy metal ions: Application to determination of Cu(II) in water samples. *Analytica Chimica Acta*, v. 1126, p. 114–123, ago. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267020306541>>.

SHEN, J. et al. Facile preparation and upconversion luminescence of graphene quantum dots. *Chem. Commun.*, v. 47, n. 9, p. 2580–2582, 2011. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C0CC04812G>>.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. .; NIEMAN, T. A. *Pricípios de Análise Instrumental*. 5. ed. [S.l.]: Bookman, 2006.

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

SOUZA, F. R. DE et al. Evaluation of digital image capture devices for colorimetric detection on printed microzones. *Química Nova*, v. 37, n. 7, p. 1171–1176, 2014.

SUN, Y. P. et al. Quantum-Sized Carbon Dots for Bright and Colorful Photoluminescence. *Journal of the American Chemical Society*, v. 128, n. 24, p. 7756–7757, jun. 2006. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja062677d>>.

TAN, A. et al. Quantum dots and carbon nanotubes in oncology: a review on emerging theranostic applications in nanomedicine. *Nanomedicine*, v. 6, n. 6, p. 1101–1114, ago. 2011. Disponível em: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/nnm.11.64>>.

TILLEY, R. J. D. *Colour and the Optical Properties of Materials – An Exploration of the Relationship Between Light, the Optical Properties of Materials and Colour*. 2. ed. Wes Sussex, United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd, 2011.

VAZ, R. et al. Preparation of carbon dots and their optical characterization: an experiment of nanoscience for undergraduate course. *Química Nova*, 2015. Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0100-4042.20150150>>.

VENTURINI FILHO, W. G. *Bebidas Alcoólica*. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2010.

VIDAL, E. et al. New, inexpensive and simple 3D printable device for nephelometric and

fluorimetric determination based on smartphone sensing. *RSC Advances*, v. 10, n. 33, p. 19713–19719, 2020. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=D0RA02975K>>.

WANG, C.; XU, Z.; ZHANG, C. Polyethyleneimine-Functionalized Fluorescent Carbon Dots: Water Stability, pH Sensing, and Cellular Imaging. *ChemNanoMat*, v. 1, n. 2, p. 122–127, jun. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cnma.201500009>>.

WANG, D. et al. Surface Functionalization of Carbon Dots with Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane (POSS) for Multifunctional Applications. *Advanced Materials Interfaces*, v. 3, n. 1, p. 1500439, jan. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/admi.201500439>>.

WANG, F. et al. One-Step Synthesis of Highly Luminescent Carbon Dots in Noncoordinating Solvents. *Chemistry of Materials*, v. 22, n. 16, p. 4528–4530, 24 ago. 2010. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cm101350u>>.

WANG, J.; QIU, J. A review of carbon dots in biological applications. *Journal of Materials Science*, v. 51, n. 10, p. 4728–4738, 10 maio 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10853-016-9797-7>>.

WANG, S. et al. Development of Cellulosic Paper-Based Test Strips for Mercury(II) Determination in Aqueous Solution. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 2018, p. 1–7, 1 nov. 2018. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jamc/2018/3594020/>>.

WANG, X. et al. A Mini Review on Carbon Quantum Dots: Preparation, Properties, and Electrocatalytic Application. *Frontiers in Chemistry*, v. 7, 4 out. 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fchem.2019.00671/full>>.

WOODBURN, E. V.; LONG, K. D.; CUNNINGHAM, B. T. Analysis of Paper-Based Colorimetric Assays With a Smartphone Spectrometer. *IEEE Sensors Journal*, v. 19, n. 2, p. 508–514, 15 jan. 2019. Disponível em: <<https://ieeexplore.ieee.org/document/8494768/>>.

XU, J. et al. Formation of fluorescent carbon nanodots from kitchen wastes and their application for detection of Fe³⁺. *Luminescence*, v. 30, n. 4, p. 420–424, jun. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/bio.2754>>.

XU, Q. et al. Preparation of highly photoluminescent sulfur-doped carbon dots for Fe(III) detection. *Journal of Materials Chemistry A*, v. 3, n. 2, p. 542–546, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4TA05483K>>.

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

YU, B. Y.; KWAK, S.-Y. Carbon quantum dots embedded with mesoporous hematite nanospheres as efficient visible light-active photocatalysts. *Journal of Materials Chemistry*, v. 22, n. 17, p. 8345, 2012. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c2jm16931b>>.

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

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925838816322617>>.

ZHANG, S. et al. Polymer nanodots of graphitic carbon nitride as effective fluorescent probes for the detection of Fe³⁺ and Cu²⁺ ions. *Nanoscale*, v. 6, n. 8, p. 4157, 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3nr06744k>>.

ZHANG, X. et al. Carbon-dots derived from nanodiamond: Photoluminescence tunable nanoparticles for cell imaging. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 397, p. 39–44, maio 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979713001203>>.

ZHOU, J. et al. An Electrochemical Avenue to Blue Luminescent Nanocrystals from Multiwalled Carbon Nanotubes (MWCNTs). *Journal of the American Chemical Society*, v. 129, n. 4, p. 744–745, jan. 2007. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja0669070>>.

ZHU, C.; ZHAI, J.; DONG, S. Bifunctional fluorescent carbon nanodots: green synthesis via soy milk and application as metal-free electrocatalysts for oxygen reduction. *Chemical Communications*, v. 48, n. 75, p. 9367, 2012. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c2cc33844k>>.

ZHU, H. et al. Microwave synthesis of fluorescent carbon nanoparticles with electrochemiluminescence properties. *Chemical Communications*, n. 34, p. 5118, 2009. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=b907612c>>.

ZHU, S. et al. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Research*, v. 8, n. 2, p. 355–381, 19 fev. 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12274-014-0644-3>>.