



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

Dissertação de Mestrado

**Determinação de cobre em vinhos usando extração
em fase sólida magnética, pontos quânticos de
carbono e espectrofluorimetria**

Matheus de Holanda Costa

João Pessoa, PB – Brasil

Maio/2018



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

Dissertação de Mestrado

**Determinação de cobre em vinhos usando extração
em fase sólida magnética, pontos quânticos de
carbono e espectrofluorimetria**

Matheus de Holanda Costa*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Mário Cesar Ugulino de Araújo

Coorientador: Dr. Francisco Antônio da Silva Cunha

*** Bolsista CAPES**

João Pessoa, PB - Brasil

Maior/2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C838d Costa, Matheus de Holanda.

Determinação de cobre em vinhos usando extração em fase sólida magnética, pontos quânticos de carbono e espectrofluorimetria / Matheus de Holanda Costa. - João Pessoa, 2018.

80 f. : il.

Orientação: Mário Cesar Ugulino de Araújo.

Coorientação: Francisco Antônio da Silva Cunha.

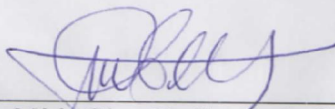
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Química analítica. 2. Metais contaminantes - Vinho.
3. Nanopartícula magnética. I. Araújo, Mário Cesar Ugulino de. II. Cunha, Francisco Antônio da Silva. III. Título.

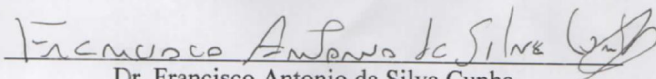
UFPB/BC

Determinação de Cobre em vinhos usando extração em fase sólida magnética, pontos quânticos de Carbono e espectrofluorimetria.

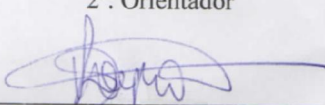
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Matheus de Holanda Costa e aprovada pela banca examinadora em 02 de maio de 2018.



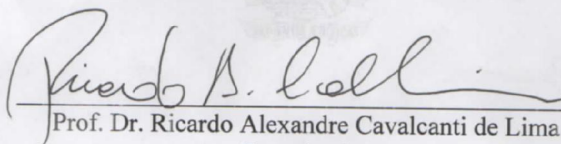
Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
Orientador/Presidente



Dr. Francisco Antonio da Silva Cunha
2º. Orientador



Dr. Wellington da Silva Lyra
Examinador



Prof. Dr. Ricardo Alexandre Cavalcanti de Lima
Examinador

Dedico esse trabalho a minha mãe Marinilza e Irmão Marcos pelo amor e incentivo.

A toda minha família.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais e irmão, especialmente a minha mãe pelo amor, carinho e paciência concedido em toda minha vida.

A todos meus Familiares em especial Tia Nilce, Tio Ascanio (in memorian), Tio Holanda, Tia Beth e minha prima Cristiane.

A minha amiga/mãe Dailva Macêdo e Dalman pelo apoio e anos de amizade.

A Laís Chantelle, Helivaldo, Isabele Peixoto, Juliana Kelly por me incentivarem a fazer a seleção do mestrado e Emily Trindade (Mel) por incentivar e emprestar todo material didático para estudar, em especial a amizade de vocês.

A minha amiga/irmã Cláudia Brandão pelo incentivo, amor, aprendizado e amizade.

Ao Professor Mário César Ugulino de Araújo pela orientação.

A José Licarion pelo grande apoio, pelo ensino e orientação no laboratório.

Francisco Cunha pela coorientação, amizade e incentivo .

Ao meu amigo Willy Castro por me ajudar a não desistir do mestrado, conseguindo um novo projeto de trabalho com Chico, e o mais importante nossa amizade.

Ao meus amigos do mestrado 2016.1, pela amizade, ensino e momentos de festas Willy, Kelly, Arquimedes, Carlos .

Aos amigos Daniela Iris, João Bosco, Jesus Cavalcante, Mayara Ferreira, Laila Barbosa, Nayara Lima, Jonathan Pádua por me incentivarem a concluir o mestrado, pela paciência comigo e a grande amizade concedida.

Os demais membros do LAQA, pela convivência e bons momentos.

Todos os professores do LAQA e do PPGQ pelo aprendizado e ensino.

A CAPES pelas bolsas concedidas durante o mestrado.

Resumo

O vinho estabelece padrões de identidade e qualidade, sendo assim realiza análises físico-químicas para verificar o seu valor nutricional e controlar a qualidade do produto. Entre os parâmetros a ser monitorado podemos citar o teor de íons metálicos em vinho. Altas concentrações desses íons podem afetar as características organolépticas como aroma, sabor e cor, formando precipitados ou turvação, como também uma ingestão excessiva causa uma possível intoxicação. Um dos metais a ser controlado é o cobre, altas concentrações do mesmo favorecem a turbidez e sedimentação, como também a deterioração do flavor, que é uma característica fisiológica associado ao paladar e olfato. Para determinação de teor de metais em vinho a espectrometria de absorção atômica é a técnica recomendada pela OIV. Como o vinho é uma matriz complexa, é necessário técnicas de preparo de amostra, antes de realizar a medida. Como pré-tratamento da amostra (vinho), a digestão da amostra por via úmida é o método mais utilizado, sendo que necessita um elevado tempo de preparo e uso de solventes químicos. Afim de otimizar o preparo de amostra para a determinação de íons metálicos utilizou duas nanopartículas: (1) extração em fase sólida magnética, onde o analito é adsorvido utilizando a nanopartículas magnéticas de magnetita (Fe_3O_4) recobertas com alumina (Al_2O_3) e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio e 1-(2-piridilazo)-2-naftol; (2) a eluição e detecção do analito utilizou pontos quânticos de carbono (PQCs) a partir de um bioprecursor de abacaxi para determinação fluorescente de cobre (II). O desempenho do método proposto foi avaliado por meio da determinação de cobre (II) em amostras de vinhos, o teste *t* emparelhado (as medidas foram feitas em triplicatas), indicou que não existe diferença significativa entre os resultados a um nível de 95%. A metodologia utilizada permitiu estimar limites de detecção e quantificação de 8,2 e 27,3 mgL^{-1} , respectivamente. O estudo de interferentes dos íons metálicos foi realizado com êxito não revelando interferência percentual significativa ($\leq 5\%$). O método proposto obteve resultados satisfatórios comparado com o método de referência.

Palavras-chave: Nanopartícula magnética; Ponto quântico de carbono; Fluorimetria; Cobre, Vinho

Abstract

The wine establishes standards of identity and quality, thus physical-chemical analyzes are realized to verify its nutritional value and control the quality of the product. Between the parameters to be monitored we can mention the content of 9 metallic ions in wine. High concentrations of these ions can affect organoleptic characteristics such as aroma, taste and color, forming precipitates or turbidity, as well as an excessive intake causes a possible intoxication. One of the metals to be controlled is copper, high concentrations of it promote turbidity and sedimentation, as well as deterioration of flavor, which is a physiological characteristic associated with taste and smell. For the determination of metals content in wine the atomic absorption spectrometry is the technique recommended by the OIV. As the wine is a complex matrix, sample preparation techniques are necessary before making the measurement. The wet digestion method is the most used as sample (wine) pretreatment, being that it needs a high time of preparation and use of chemical solvents. In order to optimize the sample preparation for determination of metal ions, two nanoparticles were used: (1) extraction in magnetic solid phase, where the analyte is adsorbed using magnetic nanoparticles³³ of magnetite (Fe_3O_4) coated with alumina (Al_2O_3) and functionalized with sodium dodecyl sulfate and 1- (2-pyridylazo) - 2-naphthol; (2) elution and detection of the analyte by quantum carbon dots (QCDs) from a bioprecursor of pineapple for the fluorescent determination of ion copper (II). The performance of the proposed method was evaluated by the determination of copper (II) in samples of wine, the paired t-test (in triplicate) indicated that there is no significant differences between the results at a confidence level of 95%. The methodology used allowed to estimate limits of detection and the limit of quantification of 8.20 and 27.34 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectively. The study of metal ion interferers was carried out successfully, revealing no significant percentage interference ($\leq 5\%$). The proposed method obtained satisfactory results compared to the reference method.

Keywords: Magnetic nanoparticle; Carbon quantum point; Fluorimetry; Copper, Wine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Representação esquemática do procedimento da extração em fase sólida magnética, Apud (Barreto,I.S.,2016).....	22
Figura 1.2 Principais métodos de síntese de NPM's., adaptado (MAHMOUDI <i>et al.</i> , 2011).....	23
Figura 1.3 Ilustração do núcleo da magnetita sem revestimento e do núcleo da magnetita com revestimento, APUD (BARRETO, I.S.,2016).....	24
Figura 1.4 Figura 2.4 Tipos de recobrimento do núcleo das partículas magnéticas. Adaptada de GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013 ^a	24
Figura 1.5 Modelo sugerido de ligação entre o SDS-PAN na superfície de nanoalumina. Apud Andrade, R.A.N,2017.....	25
Figura 1.6 Reação química entre o complexante PAN e íons de cobre (II). Apud Andrade, R.A.N., 2017.....	26
Figura 1.7 Processo de excitação e desativação molecular, Apud (Silva, A.C., 2015).....	27
Figura 1.8 Estrutura química dos PQC's. Apud (Andrade, S.I.E.de,2016).....	28
Figura 1.9 Soluções de PQC's sob radiação (a) visível e ultravioleta (365 nm). (b)	

Espectros de fluorescência dos PQC's de tamanhos 1,2; 1,5; 3,0 e 3,8 nm. (c)
 Representação da emissão de fluorescência ajustável dos PQC's. Apud (Andrade,
 S.I.E, 2016).....29

Figura 3.1 Micrografia obtida pelo MEV mostrando a morfologia das nanopartículas
 magnética.....45

Figura 3.2 Micrografia obtida por morfologia MEV mostrando a morfologia das
 nanopartículas de
 Fe₃O₄@Al₂O₃.....46

Figura 3.3 Difratoograma típico da NPM
 sintetizada.....47

Figura 3.4 Difratoograma típico de
 Fe₃O₄@Al₂O₃.....48

Figura 3.5 Espectro de emissão de fluorescência dos PQC's do biopercursor de
 abacaxi.....49

Figura 3.6 Espectro FTIR dos PQC's obtidos com temperatura de síntese de
 160°C.....50

Figura 3.7 Espectro DRX dos PQC's obtidos com temperatura de síntese de
 160°C.....50

Figura 3.8 Curva analítica para a determinação de íons de Cu²⁺
52

Figura 3.9 Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo do método
 proposto.....53

LISTA DE TABELAS

Tabela	1.1	Teores	de	açúcares	totais	em	
vinho.....							16
Tabela	1.2	Teores	de	cinzas		em	
vinhos.....							17
Tabela	1.3	Recomendações		nutricionais	de	cobre	
.....							18
Tabela 1.4 - Limites máximos, em mg/L, de metais em vinho estabelecidos pela OIV e Legislação.....							
							19
Tabela 1.5 Principais técnicas de preparo de amostras e suas descrições, adaptada de (BARRETO, I.S.,2016).....							
							20
Tabela 1.6 Características dos diferentes métodos de sínteses de PQCs, adaptada (Andrade,S.I.E.de,2016).....							
							31
Tabela 2.1 Características de aquecimento eletrotérmico para determinação de cobre em vinhos.....							
							39
Tabela 2.2 Equações para o teste da ANOVA.....							
							42
Tabela 2.2 Equações para o teste da ANOVA.....							
							41
Tabela 3.1 - Ângulos de Bragg para o plano cristalino.....							
							47

Tabela 3.2 Emissão de fluorescência dos PQCs ($\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$) na presença de diferentes íons metálicos.....	51
Tabela 3.3 Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear.....	52
Tabela 3.4 Determinação de cobre em vinhos tinto comparado com o método de referência.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA - análise de variância

DLLME - *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (Microextração líquido-líquido dispersiva)*

DRX - difração de raios-X

FTIR - *fourier transform infrared*,

JCPDS - *Joint Committee on Powder Diffraction Standards*

LLE - *liquid-liquid extraction (Extração líquido líquido)*

LOD – *limite de detecção*

LOQ – *limite de quantificação*

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

MEV - microscopia eletrônica de varredura

MQep - média quadrática devida ao erro puro

MQfaj - média quadrática da falta de ajuste

MQR - média quadrática devido à regressão

MQr - média quadrática residual

NPMs - nanopartículas magnéticas

OIV - International Organisation of Vine and Wine

PAN - (2-piridilazo)-2-naftol

PQCs - pontos quânticos de carbono

RPM – *rotações por minuto*

SBSE - *Stir Bar Sorptive Extraction (Extração sortiva em barra de agitação)*

SDS - dodecil sulfato de sódio

SPME - *Solid Phase Microextraction (Microextração em fase sólida)*

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Caracterização da problemática.....	13
1.2. Objetivo.....	15
1.3. Vinho: parâmetro e legislação.....	16
1.4. Metais como contaminantes no vinho.....	17
1.5. Preparo de amostra.....	19
1.5.1. Vinho.....	21
1.5.2. Extração em fase sólida magnética.....	21
1.5.2.1. Nano partículas magnéticas (NPMs).....	22
1.5.2.1.1 Métodos de síntese.....	23
1.5.2.1.2 Revestimento.....	24
1.5.2.1.3 Funcionalização	25
1.6. Fluorescência molecular.....	27
1.6.1 Pontos quânticos de carbono (PQC).....	28
1.6.1.1. Propriedade fluorescente	29
1.6.1.2. Mecanismo de emissão de fluorescência.....	29
1.6.1.3. Método de síntese.....	31
Capítulo 2: Experimental.....	33
2.1 Construção da curva analítica.....	34
2.2 Síntese das nanopartículas magnéticas.....	34
2.2.1. Reagente, solventes e procedimento de síntese do núcleo de Fe_3O_4	34
2.2.2 Reagentes, solventes e procedimento de revestimento do núcleo de Fe_3O_4	35
2.2.3 Reagentes, solventes e procedimento de funcionalização das nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$	35
2.3 Síntese dos Ponto Quânticos de Carbono.....	36
2.3.1 Procedimento de síntese.....	36
2.3.2 Procedimento de purificação.....	37
2.3 Caracterização das Nanopartículas.....	37
2.3.1 Caracterização NPMs.....	37

2.3.2 Caracterização dos pontos quânticos de carbono.....	37
2.4 Determinação de cobre em vinhos.....	37
2.4.1 Amostras de vinho.....	37
2.4.2 Extração do metal usando NPM e eluição com PQC.....	37
2.4.3 Teste de interferência de metais.....	38
2.4.4 Instrumentação.....	38
2.4.5 Método de referência.....	38
2.5 Avaliação do desempenho analítico.....	42
 Capítulo 3: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
3.1 Caracterização das NPMs.....	45
3.1.1. Caracterização morfológica das NPMs.....	45
3.1.3. Caracterização cristalográfica NPMs.....	46
3.2. Síntese e caracterização dos PQC's.....	48
3.2.1 Síntese dos PQC.....	48
3.2.2. Caracterização estrutural dos PQC's.....	49
3.3 Estudo de potenciais interferentes.....	50
3.4. Curva analítica.....	51
3.4.1 Construção e validação da curva analítica.....	51
3.5. Análise das amostras de vinho.....	53
 Capítulo 4: CONCLUSÃO.....	55
4.1 Conclusão.....	56
4.2. Perspectivas.....	56
 REFERÊNCIA.....	58

Capítulo 1

Introdução

1 Introdução

1.1 Caracterização da problemática

A legislação estabelece padrões de identidade e qualidade para o vinho, sendo assim realiza análises físico-químicas para verificar o seu valor nutricional e controlar a qualidade do produto em elaboração e acabado (Guillermo Grindlay et al, 2011; Oliveira, 2015). De acordo com a portaria nº 229 de 25 outubro de 1988 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o vinho é considerado uma bebida obtida da fermentação alcoólica do mosto de uva sã, fresca e madura (Brasil, 1988) .

Portanto, os níveis máximos de íons metálicos são regulamentados e fiscalizados, pelo órgão em nível mundial que é a *International Organisation of Vine and Wine (OIV)*, que regula a produção e comercialização de vinho (OIV, 2005). No Brasil, os limites são estabelecidos através do Decreto Federal nº. 99.066 de 08 de março de 1990, regulamentado pela Lei 7.678/88 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1990). No caso do teor do íon cobre é de um valor máximo de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ no vinho, em ambos órgãos fiscalizadores. O *Institute of Medicine National Academies*, recomenda-se valores de ingestão diária de cobre que varia para crianças entre 340 à 440 $\mu\text{g}/\text{dia}$, homens de 700 à 900 $\mu\text{g}/\text{dia}$ e mulheres 700 à 1300 $\mu\text{g}/\text{dia}$.

A origem dos metais em vinhos é oriunda de duas grandes fontes: a natural, que ocorre através de transferência dos metais existentes no solo para o fruto através das raízes. A outra fonte é causada pela ação humana, que pode ser dividida em três subgrupos. O primeiro compreende o uso de fertilizantes e pesticidas no cultivo das uvas, o segundo está associado à poluição ambiental e trata-se da deposição do material particulado presente no ar sobre as uvas, por último durante o processo produtivo através de maquinários que pode conter os metais, na adição de aditivos (Kment, P et al, 2005; Pyrzynska 2004). A contaminação de cobre é proveniente da aplicação de fungicidas nos cultivos de uva (Jesus, 2009), o mais utilizado é o calda bordalesa que contém cobre na sua composição e também na adição do aditivo CuSO_4 para a remoção de sulfeto de hidrogênio e outros odores (Pyrzynska, 2004).

A determinação de cobre II em vinhos geralmente utiliza as técnicas analíticas espectrométricas como: espectrometria de absorção atômica de forno de grafite ou absorção por chama, fluorescência de raios-X (XRF), espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), embora sejam técnicas confiáveis e sensíveis tem um custo financeiro alto (Maurizio Aceto et al, 2002; Krystyna Pyrzynska 2004). No entanto, um ponto primordial que antecede as análises é o pré-tratamento da amostra, que é a etapa inicial do método. Podemos citar como pré-tratamento do vinho a digestão da amostra, que tem a finalidade de eliminar a matriz orgânica e/ou extrair os íons metálicos ligados aos complexos inorgânicos e orgânicos, também pode ser feito, a diluição da amostra, com a finalidade de reduzir o efeito matriz, ambos possuem um elevado tempo de preparo (Trajče, 2009; Guillermo Grindlay et al, 2011).

Como os métodos de referências utilizam técnicas com elevado custo e também um pré-tratamento de amostra com tempo elevado e uso de produtos químicos, o trabalho proposto vem utilizar uma técnica de extração em fase sólida magnética (MSPE) diminuindo o tempo do preparo da amostra. A mesma vem utilizar nanopartículas magnéticas dispersa na matriz para a extração, separação e/ou pré-concentração de diferentes analitos (Xie *et al.*, 2014; Wul *et al.*, 2016). Após o equilíbrio, um campo magnético é utilizado para separar a matriz da fase extratora. Por fim, o analito é eluído em outro nanomaterial, os pontos quânticos de carbono (PQCs), utilizando como bioprecursor o suco de abacaxi, sendo uma nanopartícula fluorescente, permitindo a utilização de métodos analíticos sensíveis e seletivos, como a fluorescência molecular (Andrade, S.I.E.de, 2016). Estes dois tipos de nanopartículas foram sintetizadas e caracterizadas antes do desenvolvimento do método proposto neste trabalho.

1.2 Objetivo

1.2.1 Objetivo geral

- (1) Desenvolver um método para extração em fase sólida magnética de íons de Cu^{2+} em vinhos, usando nanopartículas magnéticas;
- (2) Utilizar espectrometria de fluorescência molecular para determinação de íons de Cu^{2+} usando pontos quânticos de carbono (PQCs).

1.2.1 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas magnéticas (NPMs) de óxido de ferro revestidas com alumina e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN);
- Sintetizar pontos quânticos de carbono por rota hidrotérmica, tendo como o bioprecursor suco de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill);
- Desenvolver um método usando nanopartículas magnéticas para extração de cobre em vinho;
- Desenvolver um método usando espectrometria de fluorescência molecular para determinação de cobre(II) em vinhos usando PQCs;
- Construir e validar a curva analítica, usando ferramenta estatística;
- Validar o desempenho analítico do método proposto diante o método de referência por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF-ASS)

1.3. Vinho: Parâmetros e legislação

De acordo com a portaria nº 229 de 25 outubro de 1988 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), vinho é considerado como sendo uma bebida obtida da fermentação alcoólica do mosto de uva sã, fresca e madura (Brasil, 1988). No entanto, não se usa o termo vinho para outros produtos obtidos de quaisquer outras matérias-primas (Andrade, M.F. et al., 2008). A produção e consumo de vinhos tem aumentado no mercado nacional e internacional. O Brasil ocupa a 14ª posição na produção mundial, sendo produzido cerca de 273.100 t, no ano de 2013 (Nascimento, 2005 ; Mello, 2016).

Afim de assegurar a qualidade do produto a legislação estabelece padrões de identidade e qualidade para o vinho, sendo necessario realizar análises físico-químicas para medir o seu valor nutricional e controlar o produto em elaboração e acabado (Inmetro, 2008; Guillermo Grindlay et al, 2011 ; Oliveira, 2015). A seguir, são apresentados os parâmetros a serem controlados:

Teor alcoólico

O vinho de mesa e o vinho fino devem conter um teor alcoólico de 8,6% à 14% em volume.

Teor de açúcar

O teor de açúcares totais é calculado em termos de glicose (g/L), na tabela 1.1 mostra os teores permitos:

Tabela 1.1 Teores de açúcares totais em vinhos

Classificação do vinho	Máximo (g.L⁻¹)	Mínimo (g.L⁻¹)
Seco	5,0	-----
Meio seco	20,0	5,1
Doce ou suave	-----	20,1

Acidez total

A acidez nos vinhos influencia a estabilidade e coloração, constituindo-se numa das características gustativa. A legislação estabelece, para o vinho de mesa, um máximo de 130 mEq.L⁻¹ de acidez total.

Acidez volátil

A acidez volátil é um dos fatores que altera a qualidade do vinho. A legislação estabelece, para o vinho de mesa, um máximo de 20 mEq.L⁻¹ de acidez volátil. Neste parâmetro, valores elevados indicam a presença de microorganismos indesejáveis após a elaboração, principalmente o Acetobacter, que eventualmente pode converter o vinho a vinagre.

As cinzas representam os elementos minerais presentes no vinho. Valores baixos indicam fraude no produto, por adição de água. Os limites mínimos legislados estão na tabela 1.2

Tabela 1.2 Teores de cinzas em vinhos

Classificação do vinho	Mínimo (g.L ⁻¹) – Tinto	Mínimo (g.L ⁻¹) – Branco
Vinhos Comuns	1,5	1,3
Vinhos finos	1,5	1,0

Razão isotópica de carbono (¹³C/¹²C)

Essa análise determina se houve adulteração do vinho como, por exemplo: (1) o uso excessivo de açúcar de cana para alterar o teor alcoólico; (2) quantidade acima da permitida pela legislação de álcool não derivado da fermentação do açúcar naturalmente presente no mosto (suco) de uva.

1.4. Metais como contaminates no vinho

Alguns íons metálicos são necessários no organismo humano para o seu bom funcionamento, como o Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} , pois são essenciais na vida humana, para os processos metabólicos regulando a produção de energia.

A falta ou o excesso de metais ou de outros elementos químicos pode ser prejudicial à saúde humana (Fraga, 2005; Oliveira, 2015). No caso do íon Cu^{2+} , que é o metal de estudo deste trabalho, o mesmo em excesso acumular-se no sangue esgotando as reservas de zinco do cérebro. Níveis altos causam a oxidação da vitamina A, diminui a vitamina C, podendo levar a dores musculares, disfunções comportamentais, depressão, fadiga, náusea, vômito, hemorragia gastrointestinal. Portanto, recomenda-se valores de ingestão diárias de cobre, conforme **tabela 1.3** (*Institute of Medicine, National Academies, 2004*).

Tabela 1.3 Recomendações nutricionais de cobre

	Idade	µg/dia
Lactentes	0 a 6 meses	200
	7 a 12 meses	220
Crianças	1 a 3 anos	340
	4 a 8 anos	440
Homens	9 a 13 anos	700
	14 a 18 anos	890
	>19anos	900
Mulheres	9 a 13 anos	700
	14 a 18 anos	890
	>19anos	900
	Gravidez	1000
	Lactação	1300

Um dos parâmetros a ser monitorado são os íons metálicos em vinho. Altas concentrações desses íons (Cu^{2+} , As^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} e Cd^{2+}) no vinho podem afetar as características organolépticas como aroma, sabor, cor e formam precipitados ou

turvação durante as etapas de produção de vinificação, fermentação, maturação ou estocagem (Christaki, T.; Tzia, C. 2002 ; Pyrzynska, K., 2004 ; Jesus, R.M.,2009), como também uma ingestão excessiva destes metais poderá acarretar uma possível intoxicação (Oliveira,2015). Um dos íons ser controlado é o Cu^{2+} , altas concentrações do mesmo favorecem a turbidez e sedimentação causando a precipitação de taninos, como também a deterioração do flavor, que é uma característica fisiológica associado ao paladar e olfato (Green, 1997)

Portanto, os níveis máximos de metais são regulamentados e fiscalizados. O mais importante órgão em nível mundial é a *International Organisation of Vine and Wine (OIV)*, que regula a produção e comercialização de vinho (OIV, 2005). No Brasil, os limites são estabelecidos através da Lei 7.678/88 do ministério da agricultura (BRASIL,1990), regulamentado pelo Decreto Federal nº. 99.066 de 08 de março de 1990. A **Tabela 1.4** apresenta os limites permitidos nessas legislações.

Tabela 1.4 - Limites máximos, em mg/L, de metais em vinho estabelecidos pela OIV e Legislação Brasileira

Metais (mg/L)	OIV	Legislação Brasileira
Cobre (Cu)	1,0	1,0
Arsenio (As)	0,2	0,2
Cádmio (Cd)	0,01	0,01
Chumbo (Pb)	0,15	0,3
Zinco(Zn)	5,0	5,0

1.5 Preparo de amostras

O preparo de amostra é uma etapa primordial e fundamental nos procedimentos analíticos, o pré-tratamento das amostras pode incluir etapas como a extração, filtração, diluição, digestão, derivatização, pré-concentração dos analitos, em matrizes complexas (Chen, Y. et al, 2008 ; Lanças, F. M., 2009; Sousa, E.S., 2016). Existem diversas técnicas e métodos de preparo de amostra (Silvestre et al., 2009 ; Wang,J. et al, 2016) entre elas a extração líquido-líquido (LLE, *liquid-liquid extraction*) que é uma técnica que utiliza dois solventes imiscíveis, onde uma fase contém o analito e outra será colocada para a transferência do soluto de acordo com a solubilidade (Collins,2006; Sousa, E.S. 2016). A desvantagem dessa técnica é o grande consumo de solventes tóxicos, tem baixa seletividade e o tempo de extração

é elevado, para que ocorra a transferência do soluto, (Pichon, 2000 ; Barreto, I.S.,2016).

Devido às desvantagens da técnica de extração líquido-líquido, vem sendo empregada outras técnicas, como por exemplo a extração em fase sólida (SPE - *Solid Phase Extraction*), a microextração em fase sólida (SPME - *Solid Phase Microextraction*), extração sortiva em barra magnética (SBSE - *Stir Bar Sorptive Extraction*) e a microextração líquido-líquido dispersiva (Caldas *et al.*, 2011).

A **tabela 1.5** descreve sucintamente as características das principais técnicas de preparo de amostra :

Tabela 1.5 Principais técnicas de preparo de amostras e suas descrições, adaptada de (BARRETO, I.S.,2016)

Técnica	Descrição	Característica
Extração líquido-Líquido (LLE)	Distribuição do analito entre dois líquidos imiscíveis.	- Simplicidade de operação; - Baixo custo em termos de vidrarias; - Exige solventes puros; - Procedimento lento; - Elevada quantidade de resíduo - Grande disponibilidade adsorventes;
Extração em fase sólida (SPE)	Adsorção seletiva do analito no material sólido seguido de uma dessorção com um solvente.	- Extração exaustiva dos analitos; - Altas recuperações; - Baixo consumo de solventes; - Necessita de cartuchos/discos - Baixo consumo de solventes; - Necessita de pouca amostra; - Fibras de extração recicláveis; - Limite de quantificação alto; - Poucos adsorventes disponíveis -Dessorção térmica ou por solventes;
Microextração em fase sólida (SPME)	Distribuição do analito entre duas fases imiscíveis onde a fase extratora é um polímero que reveste uma fibra de sílica.	- Elevada relação área-volume do extrator; - Procedimento lento;
Extração sortiva em barra magnética SBSE	Sorção do analito sobre uma camada polimérica que reveste uma barra magnética envolta em uma camada de vidro.	

		- Difícil execução <i>on-line</i> .
Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)	Dispersão do solvente extrator (imiscível em água) e do solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator) na solução aquosa, em seguida realizar a centrifugação	-Baixo consumo de solventes; - Altas recuperações; - Elevado fator de enriquecimento; - Solventes tóxicos;

1.5.1 Vinho

Para determinação de teor de metais em vinho a espectrometria atômica é a técnica recomendada pela OIV devido sua seletividade e alta sensibilidade (Maurizio Aceto et al, 2002 ; Krystyna Pyrzynska 2004; Guillermo Grindlay et al, 2011). Podemos citar a espectrometria de absorção forno de grafite (GF-AAS) e absorção por chama (FAAS), como sendo as principais técnicas empregadas.

Devido o vinho ser uma matriz complexa, é necessário o uso de técnicas de preparo de amostra, antes de realizar a medida. Como pré-tratamento do vinho, a digestão da amostra por via úmida é o método mais utilizado, tendo a finalidade de eliminar a matriz orgânica e/ou extrair os íons metálicos ligados aos complexos inorgânicos e orgânicos, também temos, a diluição da amostra, com a finalidade de reduzir o efeito matriz, ambos possuem um elevado tempo de preparo (Daniela Schiavo, 2008; Trajče, 2009; Guillermo Grindlay et al, 2011).

Sendo assim, esse trabalho propõe desenvolver um método de extração mais simples e com mesma eficiência dos métodos de referência. Antes será abordado um tópico sobre técnicas de preparo de amostra.

1.5.2. Extração em fase sólida magnética

As NPMs começaram a ser utilizadas em química analítica a partir de 1996, (Towler *et al.*, 1996). Nessa situação, ela foi revestida com dióxido de manganês e utilizada para pré-concentrar e separação do Ra^{2+} , Pd^{2+} e Pb^{2+} da água do mar. Portanto, na química analítica ela passou a ser um método de preparo de amostras, conhecida como extração em fase sólida magnética (MSPE) (Šafaříková e Šafařík, 1999 ; Xie *et al* 2014; Passos *at al.*, 2015 ; Wul *at al.*, 2016).

A NPMs que é um material adsorvente magnético é adicionado a uma solução que contém o analito para que ele seja seletivamente adsorvido em sua superfície, em seguida o mesmo é recuperado pela aplicação de um campo magnético externo, posteriormente o material de interesse é eluído por um solvente apropriado (Chen *et al.*, 2011., Giakissikli; Anthemidis, 2013 ; Barreto, I.S., 2016). Na **Figura 1.1** ilustra um esquema no processo de extração em fase sólida magnética.

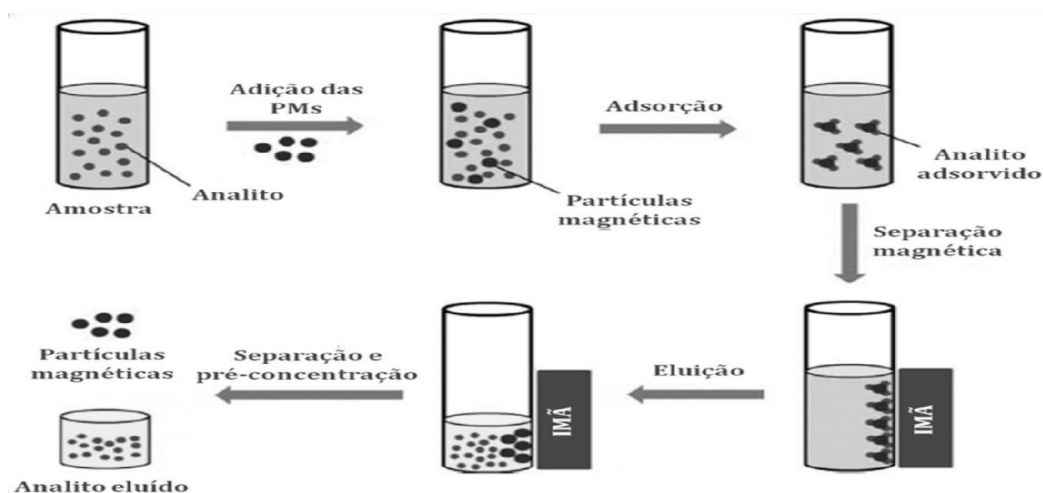


Figura 1.1 Representação esquemática do procedimento da extração em fase sólida magnética, Apud (Barreto, I.S., 2016).

1.5.2.1 Nanopartículas Magnéticas (NPMs)

As nanopartículas são materiais constituídos de átomos ou moléculas que apresentam pequenas dimensões, na escala de 1 a 100 nanômetros (nm) (Ferreira e Rangel, 2009; Hedayatnasab, Abnisa e Daud, 2017). Como o seu tamanho é finito esses materiais apresentam um aumento da razão área superficial/volume tornando os efeitos quânticos mais evidentes. Portanto, os nanomateriais tem uma característica diferente dos elementos macroscópicos (Leslie-Pelecky e Rieke, 1996 ; Barreto, 2016 ; Andrade, R.A.N, 2017), por apresentarem efeitos quânticos e efeitos superparamagnéticos (Souza, C.G.S. de, 2011 ; Xie *et al*, 2014 ; Wul *et al*, 2016).

Por terem boas propriedades ópticas, eletrônicas e magnéticas, o uso das nanopartículas tem diversas áreas de aplicação como nas ciências biológicas, farmacêuticas, ambientais, ópticas, eletrônicas, químicas e bioquímicas (Pradeep, 2007; Giakisikli; Anthemidis, 2013; Barreto, I.S. 2016 ; Andrade, R.A.N, 2017)

1.5.2.1.1. Métodos de síntese

Para sintetizar as nanopartículas magnéticas existem diversos métodos na literatura como físicos, químicos e biológicos . A **figura 1.2** representa as principais formas de sintetizar e as mais utilizadas (Mahmoudi *et al.*, 2011 ; Barreto, I.S. 2016)

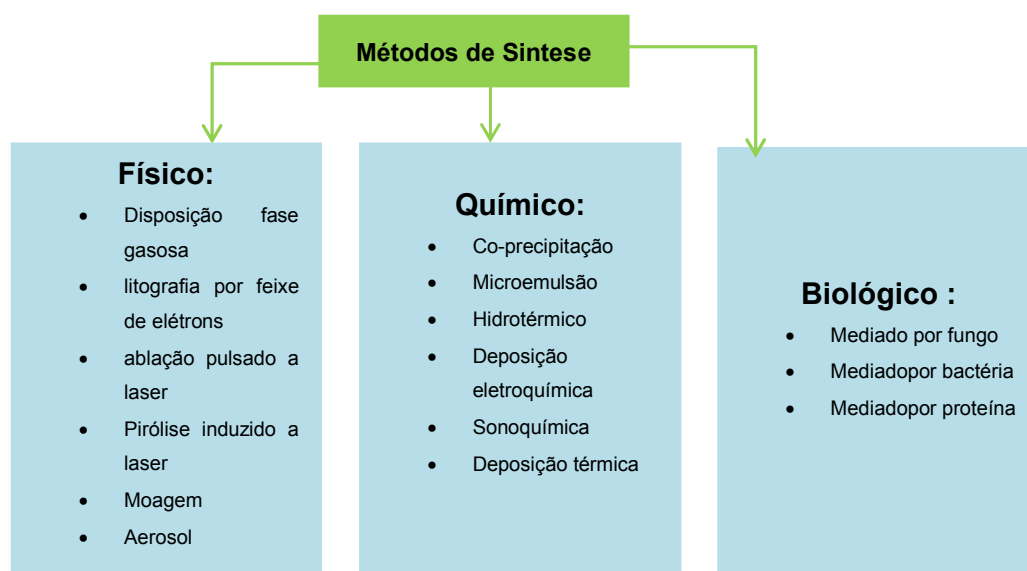
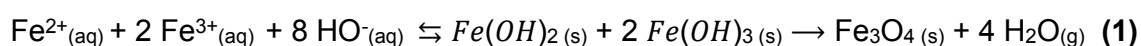


Figura 1.2 Principais métodos de síntese de NPM's., adaptado (MAHMOUDI *et al.*, 2011).

A síntese das NPMs mais utilizada e comum é o método de coprecipitação, que consiste na mistura de uma solução aquosa de sais de ferro(II) e ferro(III) na proporção molar de 1:2, tendo a precipitação por meio de uma solução alcalina (Khalil, 2015., Laurent *et al.*, 2008, Silva, A. K., 2016). A **equação (1)** representa a formação da magnetita (Fe_3O_4):



Pelo método de coprecipitação, é sintetizada uma grande quantidade de NPMs, tendo pouca aglomeração, baixo custo e reação rápida (Tarat *et al.*, 2005;

Ferreira, 2009; Barreto, I.S., 2016). Neste método são obtidos partículas com variação no tamanho na faixa de 5 a 180 nm (Wu; He; Jiang, 2008).

Para a formação da magnetita (Fe_3O_4) em boas condições devemos controlar temperatura, quantidade dos reagentes, agitação, pH e a relação estequiométrica dos íons Fe^{2+} e Fe^{3+} (Soler *et al.*, 2007; Wu, He, Jiang, 2008; Barreto, I.S., 2016).

1.5.2.1.2 Revestimento

As partículas da magnetita (Fe_3O_4) são revestidas, pois as mesmas ficando expostas ao ar, pode acarretar à instabilidade do material (JAMSHAD *et al.*, 2016). O recobrimento das NPMs é fundamental para evitar a oxidação, pois pode resultar a perda do magnetismo, (Lu; Salabas; Schüth, 2007). A **Figura 1.3.** ilustra a NPMs revestida, formado pela estrutura do tipo *core@shell* (caroço@casca).

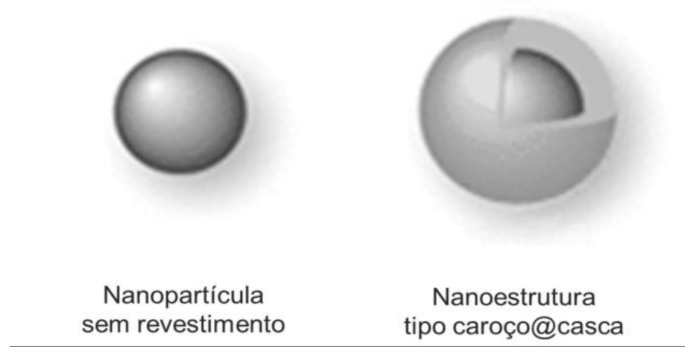


Figura 1.3 Ilustração do núcleo da magnetita sem revestimento e do núcleo da magnetita com revestimento, APUD (BARRETO, I.S., 2016)

No entanto, foi criado meios para melhorar a estabilidade e funcionalidade química da magnetita usando diversos modificadores orgânicos ou inorgânicos (Lu *et al.*, 2007; Aguilar-Arteaga *et al.*, 2010). A **Figura 1.4** mostra sucitamente alguns compostos, empregados para o revestimento do núcleo magnética.

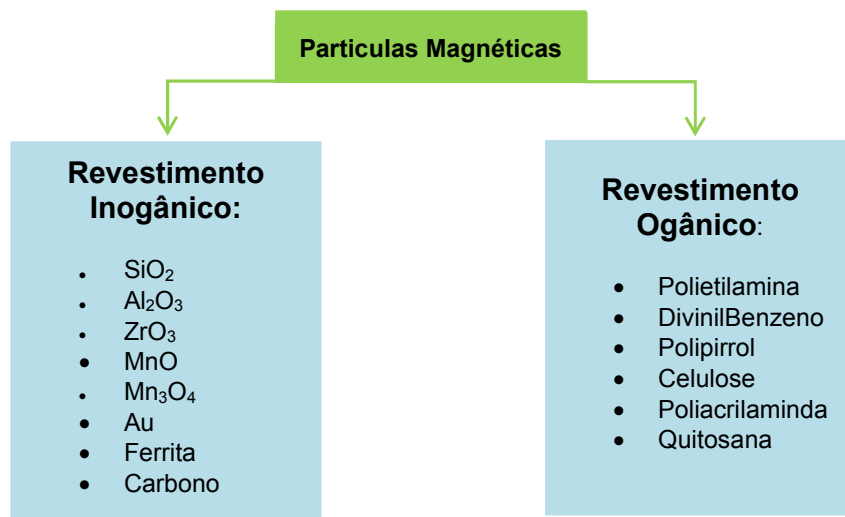


Figura 1.4 Tipos de recobrimento do núcleo das partículas magnéticas. Adaptada de GIAKISIKLI e ANTHEMIDIS, 2013a

A alumina é um eficiente revestimento inorgânico, que protege o núcleo magnético e funciona como suporte para funcionalização, pois apresenta uma elevada área superficial e tem alta capacidade de absorção (Giakisikli E Anthemidis, 2013). Por isso também é utilizada em cromatografia de coluna ou placa.

1.5.2.1.3 Funcionalização das NPMs

A funcionalização é a etapa em que uma molécula, que seja capaz de se ligar ao analito, onde é imobilizada na superfície do substrato (nessa situação, a NPM revestida com alumina). No caso o material que foi empregado é o agente complexante 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) que vem sendo utilizado para determinação de metais, através de adsorção do metal no complexante (Ezoddin *et al*, 2010; Andrade, R.A.N., 2017). A **figura 1.5** ilustra o processo de funcionalização:

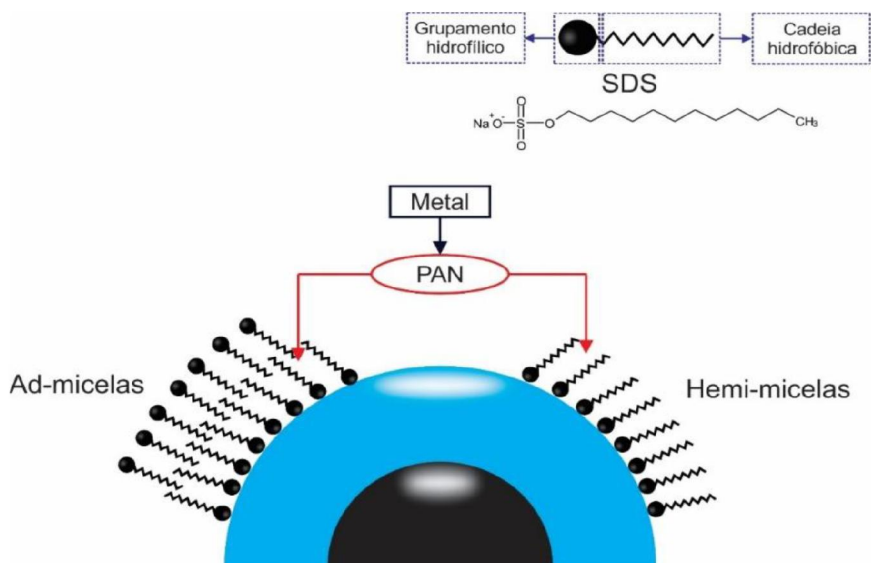


Figura 1.5 Modelo sugerido de ligação entre o SDS-PAN na superfície de nanoalumina. Apud Andrade, R.A.N.,2017.

Na complexação entre o agente complexante PAN e um íon metálico cobre (II), formam-se dois anéis quelatos de cinco membros. O nitrogênio heterocíclico, a hidroxila e o átomo de nitrogênio mais distante do anel estão envolvidos na formação do complexo (OOI, Carter; Fernando, 1967; Andrade, R.A.N, 2017). Por ser um ligante tridentado, a estequiometria do complexo é 1:2 para formação de um sítio octaédrico. A **Figura 1.6** mostra uma provável estrutura química

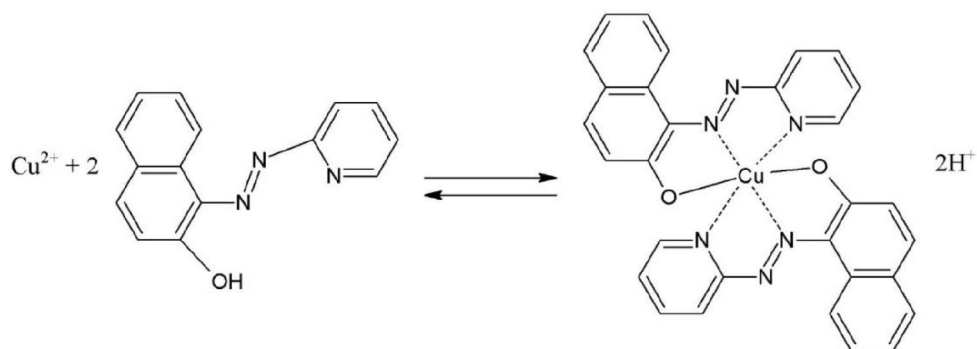


Figura 1.6 Reação química entre o complexante PAN e íons de cobre (II). Apud Andrade, R.A.N., 2017.

O controle do pH é importante com esse complexante, onde a reação do PAN com íons metálicos ocorre na faixa de pH entre 2,5 à 12, na qual o complexante encontra-se presente basicamente na forma neutra (Sousa, 2009).

O agente complexante PAN está sendo muito utilizado na determinação de íons Cu^{2+} em bebidas alcoólicas, Souza e colaboradores (2016) desenvolveram uma técnica analítica rápida e sensível para determinação espectrofotométrica de íons cobre (II) em aguardente de cana-de-açúcar, empregando o agente complexante (PAN), onde a complexação do cobre ocorre próximo ao pH 4. (Souza *et al.*, 2016).

1.6. Fluorescência Molecular

Toda molécula encontra em seu estado fundamental, que é o nível de mais baixa energia, ao receber uma radiação com energia que tenha a diferença entre os níveis eletrônicos, o elétron é excitado e passa a ocupar um nível de maior energia. Posterior, a molécula sofre a desativação, onde o elétron libera energia e ele decai para o estado de mais baixa energia (estado fundamental). O diagrama de Jablonski **Figura 1.7** explica o processo de excitação e desativação molecular (Skooh, D.A., 2006 ; Lenhardt, L., et al 2015 ; Qimeng Fan et al, 2015).

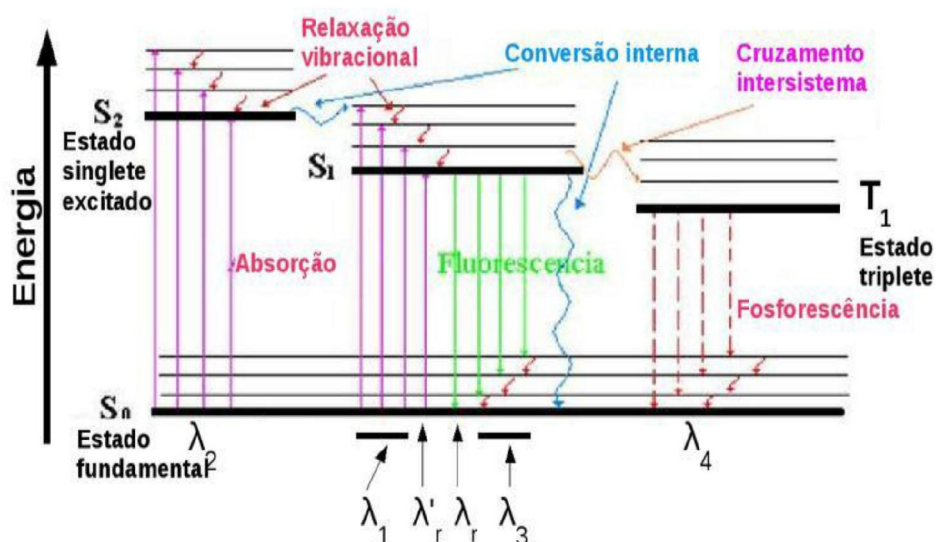


Figura 1.7 Processo de excitação e desativação molecular, Apud (Silva, A.C., 2015).

Com isso pode-se explicar o fenômeno fluorescência, onde ao absorver um fóton de luz, o elétron libera o excesso de energia e volta para o nível vibracional

fundamental do estado excitado onde esse processo é não radiativo, em seguida, o elétron retorna para o estado fundamental emitindo luz, ou seja, a fluorescência. (Skooh, D.A., 2006; Lenhardt, L., et al 2015 ; Qimeng Fan et al, 2015 ; Silva, A.C, 2015).

1.6.1. Pontos quânticos de carbono (PQC)

Os pontos quânticos de carbono (PQC) foram descobertos durante a separação e purificação de nanotubos de carbono de parede única, via método de eletroforese (Xu et al., 2004 ; Machado C.E, 2015. Esses nanomateriais são esféricos e possuem tamanhos inferiores a 10 nm. Após a sua síntese eles podem ser cristalinos ou amorfos. Não foram definidos e esclarecidos nenhuma relação com a sua formação, estrutura e característica de fluorescência (Wang,Hu, 2014; Andrade, S.I.E.de, 2016).

Em sua superfície, existem diversos radicais de ácidos carboxílicos (**Figura 1.8**), que proporciona uma boa solubilidade em água e uma possível capacidade para a sua funcionalização com diferentes espécies químicas orgânica, inorgânica, biológica ou polimérica (Lim S.Y. et al., 2014; Andrade, S.I.E.de,2016).

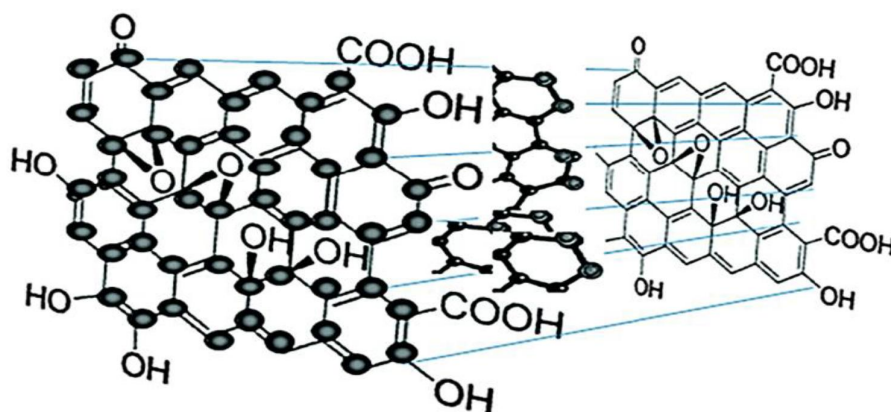


Figura 1.8 Estrutura química dos PQCs. Apud (Andrade, S.I.E.de,2016)

Os PQCs tem uma boa solubilidade em meio aquoso, estabilidade química, baixa citotoxicidade, biocompatibilidade, fácil funcionalização, e alta resistência à fotodegradação (Wang, Hu, 2014).

1.6.1.1 Propriedade fluorescente dos PQCs

Uma das características dos PQCs é a sua emissão de fluorescência, mesmo sem a sua funcionalização (Machado, 2015; Lim et al, 2014). Esse fenômeno pode ser atribuído a diferentes armadilhas emissivas existente na superfície, ou seja, sítios ativos ou também diferentes tamanhos das nanopartículas, tendo assim várias aplicações analíticas, como: determinação de íons metálicos, aplicações em bioimagens, atua como doador e receptor em processos de transferência de energia de ressonância de fluorescência (Demchenk, Dekaliuk, 2013; Wang, Hu, 2014; Guo et al, 2015; Lim et al, 2015).

Foi constatado também a dependência do pH na emissão de fluorescência dos PQCs (Shen et al., 2013; Kong et al., 2014; Pedro et al., 2014). Shen e colaboradores (2013) após sintetizarem PQCs constataram que ocorre uma diminuição da quantidade de grupos fluorófos em função do equilíbrio ácido-base dos grupos funcionais da sua superfície.

1.6.1.2 Mecanismos de emissão de fluorescência dos Péc

A emissão de fluorescência dos PQCs pode ser atribuída ao efeito de confinamento quântico e as diferentes armadilhas emissivas na superfície das nanopartículas (Baker, Baker, 2010; Li et al., 2012), embora ainda não haja um consenso sobre sua fluorescência.

Li e colaboradores (2010), afirmaram que a origem da emissão de fluorescência é devido o tamanho das partículas obtidas **Figura 1.9 (a) e (b)**. No estudo foi realizado cálculos quânticos para buscar relação entre a fluorescência e o tamanho das partículas, onde foi evidenciado teoricamente que o intervalo do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) e o orbital molecular não ocupado de menor energia (LUMO) diminui com o aumento das nanopartículas **Figura 2.9 (c)**, onde os autores concluíram que a emissão de fluorescência dos PQCs pode ser atribuída ao tamanho quântico da estrutura.

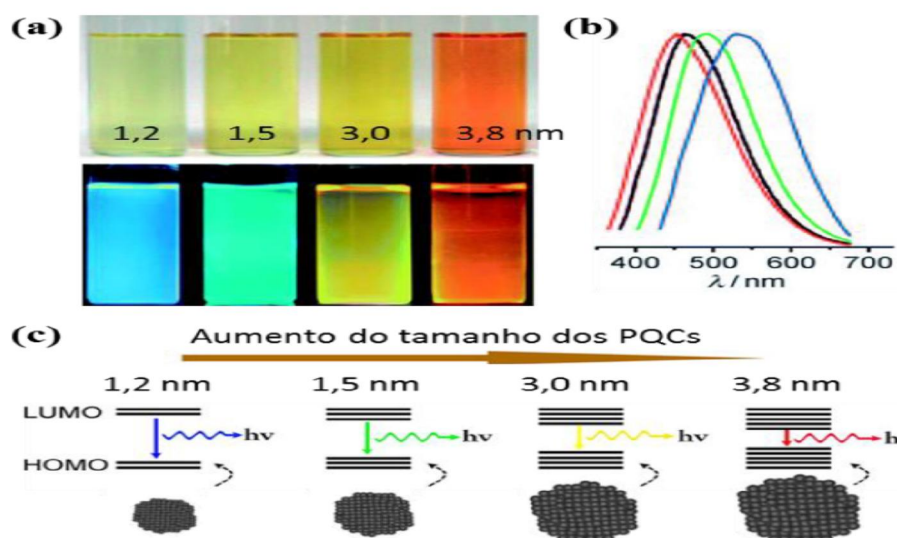


Figura 1.9 Soluções de PQC's sob radiação (a) visível e ultravioleta (365 nm). (b) Espectros de fluorescência dos PQC's de tamanhos 1,2; 1,5; 3,0 e 3,8 nm. (c) Representação da emissão de fluorescência ajustável dos PQC's. Apud (Andrade, S.I.E, 2016)

Existe também outra teoria onde os diferentes sítios ativos presentes na superfície dos PQC's são formados principalmente como resultado da oxidação da região superficial do nanocristal, servindo como centros de captura dos éxcitons, tendo assim sua fluorescência. No entanto nessa teoria, quanto maior o grau de oxidação na região superficial maior o número de regiões ativas (Costas-Mora et al., 2014; Lim et al., 2014 ; Bao et al., 2015).

Ding e colaboradores (2016) produziram vários PQC's, onde após a excitação em 365 nm os mesmos apresentaram picos de emissão de fluorescência na região do azul para o vermelho, entre 440 e 625 nm (**Figura 1.9 (a)**). Essa teoria apresentou desvio dos picos para a região do vermelho com aumento do grau de oxidação nas superfícies. Desse modo, a fluorescência desta teoria é associada aos sítios ativos.

Na **Figura 1.9 (b)** mostra o modelo de fluorescência dos PQC's proposto por Ding e colaboradores (2016), que corresponde ao intervalo entre os orbitais HOMO e LUMO, e depende fortemente do grau de oxidação da superfície dos mesmos. Desse modo, o *bandgap* diminui com o aumento do número de átomos de oxigênio na estrutura dos PQC's, deslocando a emissão para a região do vermelho.

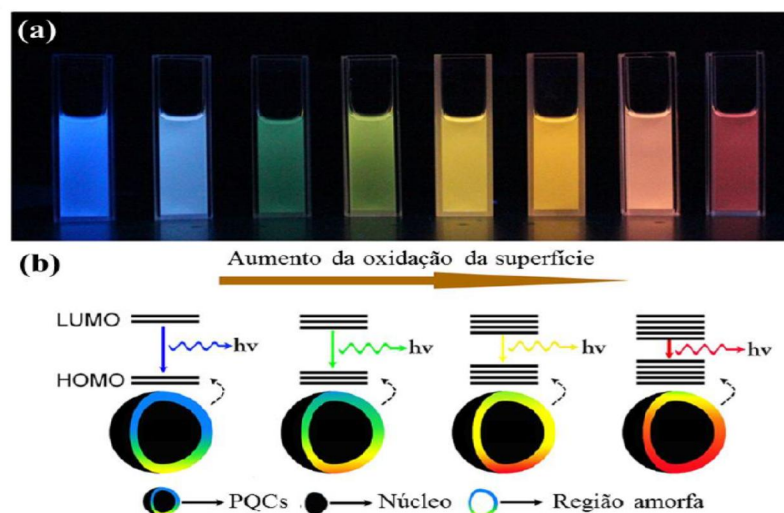


Figura 1.9 (a) Fotografia de oito amostras de PQC's excitadas sob a luz ultravioleta (365 nm) com máximos de emissão em 440, 458, 517, 553, 566, 580, 594 e 625 nm. **(b)** Modelo da emissão de fluorescência ajustável dos PQC's. Apud (Andrade, S.I.E.de, 2016)

Embora existam essas duas teorias, a presença de armadilhas (sítios ativos) emissivas na superfície dos PQC's, introduzidas pela oxidação química e funcionalização, acredita-se que ela seja o principal responsável pela emissão de fluorescência dos PQC's (Ganiga, Cyriac, 2016 ; Yan, et al., 2016).

1.6.1.3 Métodos de síntese dos PQC's

As sínteses de PQC's podem ser realizadas por técnicas físicas ou químicas (Wang & Hu, 2014), podendo serem funcionalizadas, dopadas e revestidas.

Os métodos físicos, consistem em técnicas como irradiação com *laser*, oxidação eletroquímica ou tratamento ultrassônico, onde as nanopartículas são produzidas pela redução do tamanho de estruturas maiores, como grafeno ou grafite. Os métodos químicos consiste no tratamento hidrotérmico, de vários precursores orgânicos, e a oxidação ácida (Silva & Gonçalves, 2011; Guo et al., 2016 ; Andrade, S.I.E. de ,2016).

Alguns dos métodos de síntese físicos necessitam de equipamentos dispendiosos e grande quantidade de ácidos fortes são utilizados. Portanto vários estudos têm sido feitos utilizando tratamento hidrotérmico para preparação de PQC's

a partir de bioprecusores naturais por apresentarem simplicidade, versatilidade e baixo custo (Wang & Hu, 2014; Barati et al, 2015; Andrade,S.I.E.de, 2016).

Na literatura temos PQC's usando bioprecusores naturais a partir de banana (De & Karak, 2013), suco de morango (Huang et al., 2013), suco de uva (Huang et al., 2014), suco de manga (Jeong et al., 2014), suco de laranja (Sahu et al., 2012), alho (Zhao et al., 2015). Na **Tabela 1.6** resume as vantagens e desvantagens de alguns métodos de síntese dos PQC's.

Tabela 1.6 Características dos diferentes métodos de sínteses de PQC's, adaptada (Andrade,S.I.E.de,2016).

	Síntese	Vantagens	Desvantagens
Físico	<i>Oxidação eletroquímica</i>	- Tamanho controlável; - Etapa única.	- Poucos precursores de baixa massa molecular
	<i>Irradiação com laser</i>	- Rápido; - Superfície dos PQC's ajustável.	- Baixo rendimento quântico; - Difícil controle do tamanho
	<i>Tratamento ultrassônico</i>	- Rápido; Ambientalmente amigável; - Custo reduzido.	- Baixo controle sobre o tamanho.
Químico	<i>Oxidação ácida</i>	- Instrumentação simples; - Vários precursores	- Baixo controle sobre o tamanho; - ;Processos lentos.
	<i>Tratamento hidrotérmico</i>	Baixo custo; - Ambientalmente amigável; - Não tóxico.	- Baixo controle sobre o tamanho.

O método de síntese por rota hidrotérmica adiciona uma alíquota da solução precursora de carbono em uma autoclave de teflon, que posteriormente é submetido a aquecimento em uma mufla, a temperatura inferior a 200°C (Barati et al., 2015).

Capítulo 2

Experimental

2.0 Experimental

2.1 Construção da curva analítica

Para construção da curva de calibração foi realizado um estudo variando a quantidade de PQC's de 20 µl à 300 µl e variando a solução tampão de acetato de sódio pH 4, entre 100 µl à 400 µl.

As soluções de Cu^{2+} foram preparadas a partir da solução estoque Standart For AAS 1000 mg/Z (Fluka Analytical) com água deionizada. Foram preparadas soluções padrões de 20 mg/L, 40mg/L, 60mg/L, 80mg/L e 100mg/L a partir da diluição da solução estoque e foi utilizado 1,5ml de cada padrão para construção da curva. Após os testes verificou-se que 200 µl de PQC, mais 300 µl de tampão acetato sódio de pH 4,0 e adicionando 1,5 ml solução padrão de cobre, mostrou uma curva satisfatória.

2.2 Síntese das nanopartículas magnéticas

2.2.1 Reagente, solventes e procedimento de síntese do núcleo de Fe_3O_4

Os solventes e reagentes utilizados na primeira etapa da síntese, que é a formação do núcleo da magnetita são: Ácido Clorídrico (Vetec), Hidróxido Sódio (Vetec), Etanol Anidro (Sigma-Aldrich), Cloreto de Ferro (III) hexahidratado (Sigma-Aldrich), Cloreto de Ferro (II) tetra hidratado (Sigma-Aldrich).

Água sempre recém-destilada e posteriormente deionizada por um sistema de purificação do sistema Milli-Q (*Millipore Corporation*) com resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

O gás nitrogênio (Linde gás) foi utilizado a fim de obter uma atmosfera inerte para evitar oxidação das NPMs.

A síntese das nanopartículas magnéticas foi realizado por processo químico de coprecipitação, semelhante ao procedimento reportado por Kang e colaboradores (KANG *et al.*, 1996 ; BARRETO, I.S., 2016).

Num balão de três vias contendo 25 mL de água deionizada à temperatura ambiente, adicionou 2,0 g de cloreto de ferro(II) tetra hidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 5,2 g de cloreto de ferro(III) hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e 0,85 mL de ácido clorídrico (12 mol L^{-1}). Em seguida, a uma temperatura de 80 °C, foi adicionado por gotejamento

250 mL de NaOH 1,5 mol L⁻¹ e em fluxo de nitrogênio para remover o oxigênio do balão a fim de evitar a oxidação no núcleo da magnetita, formando de imediato um precipitado negro na solução, constatando assim a formação do óxido de ferro. A solução resultante permaneceu sob essas condições por duas horas. Em seguida, foi resfriado à temperatura ambiente e o sólido resultante foi separado sob a ação do campo magnético (ímã de neodímio) e lavado cinco vezes com 50 mL de água deionizada e seco à 60 °C na estufa.

2.2.2 Reagentes, solventes e procedimento de revestimento do núcleo de Fe₃O₄

Os solventes e reagentes utilizados na segunda etapa que foi o recobrimento do núcleo foram: Isopropóxido de Alumínio (Sigma-Aldrich), Etanol Anidro (Sigma-Aldrich),

O recobrimento das NPMs de óxido de ferro com alumina foi realizado conforme o procedimento descrito anteriormente na literatura (Li, Y, 2007; Barreto, 2016 ; Tekiye; Aghajani; Sharif, 2017). Adicionou-se 1,0 g do isopropóxido de alumínio em 60 mL de etanol formando uma solução, em seguida 0,1 g de Fe₃O₄ foram adicionado a esta solução e colocado por 5 minutos no banho ultrassom para ajudar a dispersa as NPMs. Foram adicionado 100 mL de etanol lentamente e a mistura agitada lentamente por 30 minutos à temperatura ambiente. Por fim, com a ajuda de um ímã de neodímio, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado cinco vezes com 50 mL com etanol. O material foi seco na estufa (60 °C) e encaminhado para mufla, onde foi efetuado um tratamento térmico durante 6h, a temperatura inicial de 25 °C e foi aquecida até a temperatura de 500 °C, com uma rampa de aquecimento de aproximadamente de 4°C/min. Esse tratamento térmico foi realizado para eliminar o grupo hidroxila e aumentar o grau de cristalinidade da amostra.

2.2.3 Reagentes, solventes e procedimento de funcionalização das nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$

Os solventes e reagentes utilizados na etapa de funcionalização do núcleo $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$ são: 1-(2-piridilazo)-2-naftol (Sigma-Aldrich), dodecil sulfato de sódio (merck), Etanol Anidro (Sigma-Aldrich). O complexante 1-(2-piridilazo)-2-naftol foi utilizado em solução alcoólica, onde esta solução foi preparada utilizando 0,25g do quelante em 100 mL de etanol.

A funcionalização das nanopartículas magnéticas foi realizada conforme o procedimento descrito por Shemirani e Akhavi (Shemirani E Akhavi, 2001). Inicialmente, 1,5 g das nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$, 100 mg do surfactante SDS e 1 mL da solução do complexante PAN foram misturados com um volume final de 100 mL de etanol. O pH foi ajustado a aproximadamente 1, com uma solução de HCl 3 mol L⁻¹.

Posteriormente a mistura foi submetida a uma agitação mecânica com rotação de 200 rpm, durante 15 minutos. Finalmente, as nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$ funcionalizadas com SDS e PAN foram isoladas sob a ação de um campo magnético externo. O sobrenadante foi descartado e o conteúdo restante lavado três vezes com 50 mL de etanol.

2.3 Síntese dos Ponto Quânticos de Carbono

2.3.1 Procedimento de síntese

Os pontos quânticos de carbono (PQCs) foram preparados a partir do bioprecursor de abacaxi, por ser abundante na região e uma fruta tipicamente brasileira, os mesmos foram sintetizados pelo tratamento hidrotérmico do suco de abacaxi em etanol anidro, conforme os procedimentos da literatura descrito por Sahu et al. (2012) e De & Karak (2013).

O suco de abacaxi foi preparado com 100g de abacaxi adicionando 100 mL de água deionizada. O suco foi então filtrado por uma filtração simples em papel de filtro quantitativo (tarja azul, JP42 Quanta), com a finalidade de separar o suco da polpa. Em seguida, 50 mL do filtrado foi adicionado 30 mL de etanol anidro, e transferido para uma autoclave com a parte externa de aço inoxidável e uma cápsula interna com tampa em Teflon, com capacidade de 100 mL, onde a mistura foi

aquecida em um forno tipo mufla a uma temperatura de 160°C durante um período de seis horas.

Após o arrefecimento a temperatura ambiente, foi adicionado 50 mL de etanol anidro, para remover partículas maiores e indesejáveis utilizando uma filtração simples com papel de filtro quantitativo.

2.3.2 Procedimento de purificação

Quando o produto sintetizado atingiu a temperatura ambiente, o mesmo passou pela etapa de diálise, onde foi utilizado um kit de diálise (PURG10015, SIGMA) com os tamanhos dos poros de 1000 Dalton. O produto foi adicionado no kit e colocado sob agitação constante em água deionizada, por um período de 72 horas, com a finalidade de remover material não fluorescente.

2.4 Caracterização das Nanopartículas

2.4.1 Caracterização NPMs

As NPMs foram caracterizadas por dois métodos: a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a difração de raios-X (DRX). Com os métodos de MEV e DRX, é possível caracterizar com relação à sua morfologia e tamanhos de partícula, como também a caracterização cristalográfica das nanopartículas magnéticas.

2.4.2 Caracterização dos pontos quânticos de carbono

Para determinar os grupos funcionais na superfície dos PQC's foi feita análise de espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (do inglês: *fourier transform infrared*, FTIR) e difração de raios-X (DRX)

2.5 Determinação de cobre em vinhos

2.5.1 Amostras de vinho

Para as análises do método proposto foram utilizados seis amostras de vinho tinto, oriundos no Vale do São Francisco, em Pernambuco, Brasil.

2.5.2 Extração do metal usando NPM e eluição com PQC

Foi coletado 20 ml de cada amostra e colocado num bequer para realizar a leitura de pH. A coleta foi realizada sem a abertura da garrafa, utilizando uma seringa e agulha pra furar a rolha. Em seguida, adicionou 3ml de NPMs no bequer que contém o vinho, onde 30mg de NPMs estavam dispersas em 50ml álcool etílico, agitou-se por 02 minutos com ajuda de um bastão de vidro, em seguida colocou um imã de neodímio na parte externa e inferior do bequer, onde as NPM foram depositadas do fundo do bequer e a amostra de vinho descartado. Após a extração com as NPMs a amostra foi eluida com 200 μ l pqc e adicionado 1,8 ml de água deionizada e transferida para um frasco, em seguida levou a amostra para medição no espectrofluorímetro.

2.5.3 Teste de interferência de metais

Foi preparado uma solução de 100 ml a 50 ppb de Cu (II), onde foi adicionado a esta solução uma outra mistura de solução com diferentes mix de metais como (Fe,Pb,Zn, Ni e B) em concentrações variando de 100, 300 e 500 ppb. Este estudo tem o objetivo de verificar se nesta faixa de PH 4 ocorre adsorção desses outros metais, pois próximo ao pH 4 que ocorre a adsorção do cobre com o complexante PAN (Souza et al, 2016).

2.5.4 Instrumentação

Foi utilizado um espectrofotômetro de fluorescência, Cary eclipse (agilent modelo G9800A, EUA), equipado com cubeta de quartzo 1.0cm X 0,5cm com fendas de emissão e excitação na largura de 10mm no caminho óptico, para realização das medidas dos espectros de fluorescência. Para o método de referência foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica de forno de grafite, que será abordado com mais detalhes no próximo tópico.

2.5.5 Método de referência

O método de referência foi realizado utilizando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) (Aceto M, 2002). As soluções de trabalho foram preparadas na faixa de 2,0 a 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, variando em cinco níveis de concentrações, onde foram preparadas por diluição apartir de uma solução estoque. As amostras foram diluídas para reduzir o teor de etanol (Aceto M, 2002) com a mesma acidez das soluções padrão. O volume utilizado para os padrões e amostras foram de 20 μl e 5 μl de nitrato de paládio (modificador químico), respectivamente. As características de aquecimento do forno de grafite para determinação de cobre são apresentados na **tabela 2.1**

Tabela 2.1 Características de aquecimento eletrotérmico para determinação de cobre em vinhos.

Temperatura (° C)	Tempo (s)	Modo de aquecimento	Fluxo de gás
150	20	Ramp	ON
250	10	Ramp	ON
1300	30	Ramp	ON
1300	10	Step	ON
1300	3	Step	ON
2300	2	Step (medida)	OFF
2500	2	Step	ON

2.6 Avaliação do desempenho analítico

O desenvolvimento de um método analítico, envolve etapas de avaliação para se o novo método apresenta desempenho analítico estatisticamente satisfatório. Esses parâmetros foram norteados pelas normas de validação de metodologias analíticas (THOMPSON *et al.*, 2002). A seguir temos uma breve discussão.

Linearidade

Refere-se a capacidade que um método analítico tem que demonstrar que os seus resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito, através do método dos mínimos quadrados, num intervalo específico (Ribani ., 2004; Neto *et al.*, 2010 ; Andrade,R.A.N, 2017). A linearidade obtém-se a partir da expressão matemática que relaciona a resposta analítica e a concentração do analito na amostra.

Seletividade

Seletividade, muitas vezes é utilizado como sinónimo de especificidade, indicando a capacidade de um método de produzir resposta para vários analitos, distinguindo o sinal do analito frente aos outros. (Holler; Skoog; Crouch, 2009).

Portanto, seletividade é o quanto a resposta está livre de interferentes de outras espécies contidas na amostra. Na análise quantitativa, a seletividade pode ser estimada pela comparação dos resultados obtidos de amostras contaminadas com quantidades apropriadas de impurezas ou excipientes e amostras não contaminadas, para demonstrar que o teste não é afetado por estes materiais (Skoog, D. A., 2006 ; Andrade,R.A.N, 2017).

Sensibilidade

A sensibilidade é a capacidade de um método distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas (Holler; Skoog; Crouch, 2009) . Podendo ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear e ser determinada simultaneamente aos testes de linearidade. A mesma depende do analito e da técnica analítica a ser utilizada

Análise de variância

Em análise química, o modelo de calibração somente pode ser usado para determinar a concentração do analito se o mesmo descrever satisfatoriamente o comportamento dos valores experimentais. Portanto, não pode apresentar evidência estatística de falta de ajuste e ter uma regressão estatisticamente significativa.

Portanto, precisa a validação do modelo, que pode ser feita análise de variância, ANOVA (Neto; Scarminio; Bruns, 2010) e (Pimentel; Neto, 1996). A seguir temos a **Tabela 2.2** que mostra as equações para ANOVA do modelo ajustado aos dados experimentais usando o método dos mínimos quadrados (MMQ).

Tabela 2.2 Equações para o teste da ANOVA

Fonte de Variação	Soma Quadrática (SQ)	Graus de Liberdade	Média Quadrática (MQ)
Regressão (R)	$SQR = \sum \sum (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	p-1	$MQR = SQR / p-1$
Resíduos (r)	$SQr = \sum \sum (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	n-p	$MQr = SQr / n-p$
Falta de ajuste(faj)	$SQfaj = \sum \sum (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	m-p	$MQfaj = SQfaj / m-p$
Erro Puro(ep)	$SQep = \sum \sum (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	n-m	$MQep = SQep / n-m$

A validação do modelo pela aplicação do método dos mínimos quadrados, se dar por análise dos resíduos, teste de significância da regressão e teste de falta de ajuste.

No teste de significância da regressão, compara a razão entre a média quadrática devido à regressão (MQR) e a média quadrática residual (MQr) com o valor do ponto da distribuição *F* referente aos graus de liberdade de MQR e MQr a um certo nível de confiança estatística, que geralmente é de, 95% de confiança. Conclui-se então que se a razão for maior que o valor de *F*, a regressão é estatisticamente significativa, caso contrário, não se pode admitir a existência de uma relação funcional possa ser descrita pelo modelo.

O teste de falta de ajuste compara os vários níveis da variável X, a média quadrática da falta de ajuste (MQfaj) com a média quadrática devida ao erro puro (MQep). Onde temos que, a razão (MQfaj)/(MQep) for menor que o valor do ponto de distribuição *F*, referentes aos graus de liberdade de MQfaj e MQep e para um nível de 95% de confiança, temos um modelo sem falta de ajuste. Neste caso, as duas médias quadráticas refletirão apenas os erros aleatórios associados aos desvios em relação à média. Caso contrário, apresenta falta de ajuste e necessita reestimar e revalidar o modelo estudado.

Teste *t* emparelhado

O teste *t* emparelhado, baseia no conceito de intervalo de confiança, onde requer o cálculo da média das diferenças entre os valores de concentração, obtidos por dois métodos distintos, para cada par de resultados. Admitindo-se que a diferença média verdadeira entre os resultados dos dois métodos, o intervalo de confiança é determinado pela equação (3), abaixo:

$$\Delta = \bar{d} \pm t_{v} s_d / \sqrt{n} \quad (3)$$

onde: *n* é o número de amostras, *S_d* é o desvio padrão da média das diferenças, *t_v* é o ponto de distribuição *t* correspondente ao número de graus de liberdade (*v*) no nível de confiança desejado (Neto; Scarminio; Bruns, 2010 ; Andrade, R.A.N., 2017).

Podemos interpretar o intervalo de confiança com sendo: se o valor “zero” estiver dentro do intervalo construído, não existe diferença sistemática estatisticamente significativa entre os resultados dos dois métodos. Neste caso, a hipótese nula não pode ser rejeitada e a média das diferenças (*d*) deve ser um ponto da distribuição *t* com $\Delta = 0$. Caso contrário, existe uma diferença sistemática significativa entre os resultados dos métodos ao nível adotado de confiança estatística.

Limite de detecção e quantificação

Temos o limite de detecção (LOD) como sendo a menor concentração da espécie de interesse podendo ser detectada por um dado método analítico sob condições experimentais estabelecida (Holler; Skoog; Crouch, 2009). O LOD mede-se em termos do desvio-padrão das medidas do branco.

O LOD pode ser determinado pela equação 4:

$$LOD = 3.s / S \quad (4)$$

Onde,

onde *s* é o desvio-padrão da resposta do branco; *S* é o coeficiente angular da curva analítica.

Já o limite de quantificação (LOQ) corresponde a menor concentração do analito, podendo ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, conforme as condições experimentais adotadas (Holler; Skoog; Crouch, 2009). O LOQ pode ser determinado pela **Equação 5**:

$$\text{LOQ} = 10.s / S \quad (5)$$

Onde, “s” é o desvio-padrão da resposta do branco; S é o coeficiente angular da curva analítica.

Capítulo 3

Resultados e Discussão

3.0. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização das NPMs

3.1.1 Caracterização morfológica das NPMs

Após a síntese, a sua morfologia e a distribuição do tamanho das NPMs foram caracterizada por imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), onde foram feitas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) ZEISS DSM, modelo 940 A. Uma pequena quantidade de NPMs foram dispersas em acetona, gotejadas no suporte do porta amostra do MEV e em seguida seca. Antes das análises as partículas foram recobertas com uma fina camada de ouro de aproximadamente 40 nm. Esse procedimento é necessário para a uniformização, dispersão e espalhamento eletrônico na superfície do material. O metalizador Mtech, modelo K 550X foi empregado para realizar a deposição do ouro, pela técnica de *sputtering*, no material sintetizado. As análises foram feitas no Laboratório de Tecnologia de Novos Materiais (Tecnomat), no Departamento de Engenharia de Materiais/CT da UFPB.

A partir da micrografia feita no MEV, as partículas se encontravam ligeiramente agregadas, devido à força de interação entre elas, ou seja, as partículas tem um elevado momento magnético, constatando uma característica superparamagnéticas (Alves, 2012) e (Deng *et al.*, 2003). Na **figura 3.1.**, temos a micrografia eletrônica do núcleo sem o recobrimento.

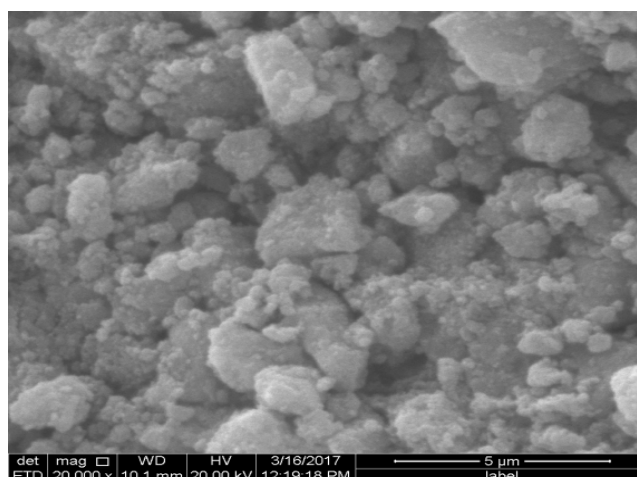


Figura 3.1 Micrografia obtida pelo MEV mostrando a morfologia das nanopartículas magnéticas

Na **figura 3.2** encontra-se a microscopia eletrônica das nanopartículas, após a etapa do recobrimento com a alumina

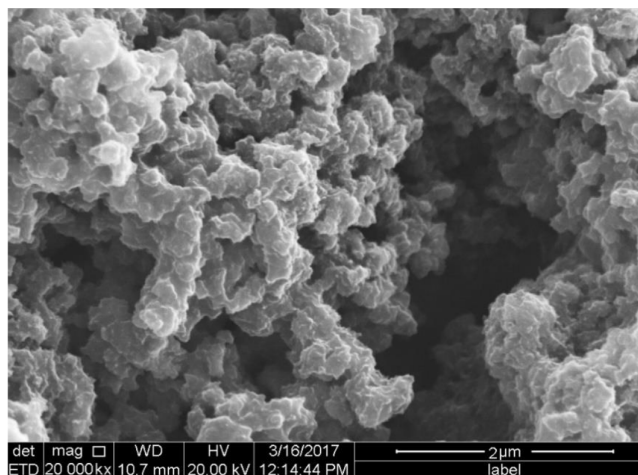


Figura 3.2 Micrografia obtida por morfologia MEV mostrando a morfologia das nanopartículas de Fe₃O₄@Al₂O₃.

Através da análise da morfologia superficial das nanopartículas recobertas com alumina, ver que o núcleo magnético recoberto não prejudica as características morfológicas após seu revestimento, indicando assim a semelhança nos resultados obtidos (Tekiye; Aghajani; Sharif, 2017) e (Barreto, 2016).

3.1.2 Caracterização cristalográfica das NPMs

A partir do resultado do difratograma da **Figura 3.3**, podemos observar a presença de picos característicos da magnetita no intervalo de 20° a 70°, onde os valores estão concisos com a identificação (2θ) da ficha cristalográfica de referência JCPDS **19-0629**. Podendo assim dizer que a fase predominante corresponde à estrutura cristalina cúbica do tipo espinélio inversa característica de magnetitas, que apresenta os planos cristalográficos (220), (311), (400), (422), (511), (440), bem definidos (Souza, 2011) e (Yu; Kwak, 2010).

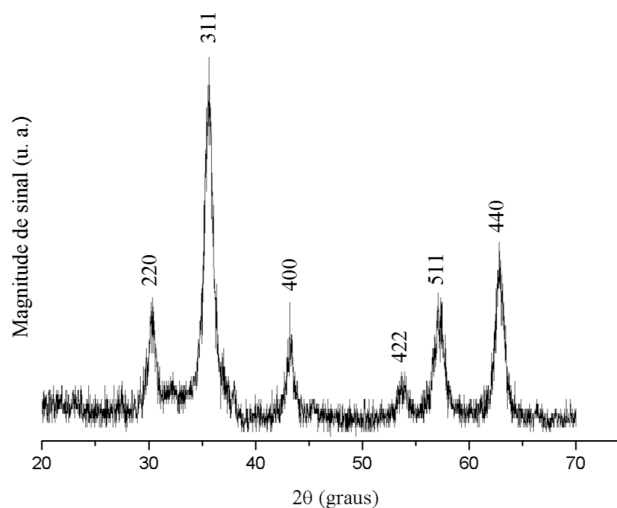


Figura 3.3 Difratograma típico da NPM sintetizada

A **Tabela 3.1** apresenta os ângulos de Bragg para o plano cristalino identificando NPMs.

Tabela 3.1 - Ângulos de Bragg para o plano cristalino

Plano de reflexão	2θ (graus) Ficha catalográfica JCPDS 19-0629	2θ (graus) Experimental Fe ₃ O ₄
220	30,10	30,22
311	35,42	35,54
400	43,05	43,12
422	53,39	53,43
511	56,94	57,12
440	62,52	62,58

Por meio dessa tabela observa-se um pequeno desvio sistemático nos valores de 2θ (graus) com relação aos valores de referência, provavelmente a um pequeno desalinhamento no sistema de medida, mas que não afeta a conclusão e resultados de maneira significativa. Onde os resultados obtidos para síntese das NPMs por coprecipitação foram satisfatórios, pois os picos característicos do material obtido encontram se próximos aos valores de referência da ficha cristalográfica do JCPDS 19-0629. Vale ressaltar que não houve formação de outros materiais que é bastante comum nesta reação (BRANCO, 2013), como a hematita (Fe₂O₃) (em 2θ = 33,15°, JCPDS 86-0550) e magnetita (γ-Fe₂O₃), (em 2θ = 32,17°, JCPDS 04-0755), (YU; KWAK, 2010).

Análise semelhante foram feitas nas nanopartículas revestidas com alumina, onde no difratograma da **Figura 3.4**, podemos observar a presença da fase de magnetita e picos extras nas posições indicadas com os pontos em verde, indicando a presença da alumina, de acordo a referência da ficha cristalográfica JCPDS 29-0063

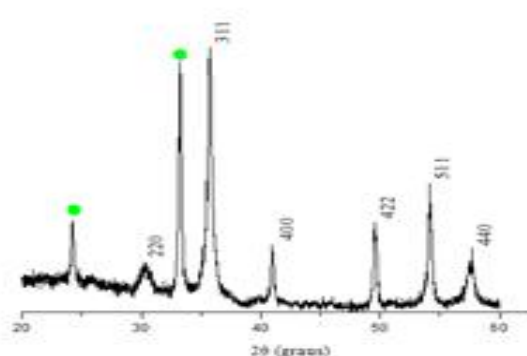


Figura 3.4 Difratograma típico de Fe₃O₄@Al₂O₃

3.2 Síntese e caracterização dos PQC

3.2.1 Síntese dos PQC

Os PQCs foram sintetizados por tratamento hidrotérmico, a uma temperatura de 160°C por 06 horas na mufla, tendo como bioprecursor de carbono o suco de abacaxi, por conter carboidratos, como: glucose, sacarose e ácido ascórbico (Cárnara et al., 1995 e Andrade, S.I.E, 2016).

Na **Figura 3.5** mostra o espectro de emissão de fluorescência dos PQCs, onde eles são excitados em 370nm e são emitidos em 390nm, e observa que apresenta uma alta intensidade de emissão de fluorescência na região de 480 nm.

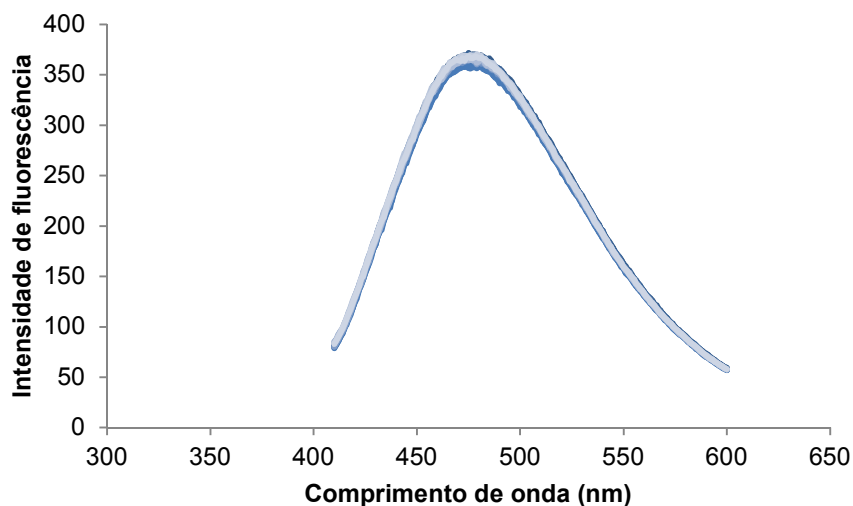


Figura 3.5 Espectro de emissão de fluorescência dos PQC's do biopercursor de abacaxi

3.2.2 Caracterização estrutural dos PQC's

A fluorescência dos PQC's se dá pela presença de armadilhas emissivas presentes na superfície da mesma (Ding et al., 2016), como abordado seção 2.3.3. Assim, a presença desses grupos funcionais na superfície dos PQC's pode ser vista empregando a espectroscopia infravermelha com transformada de fourier (do inglês: *fourier transform infrared*, FTIR).

Na **Figura 3.6** o espectro FTIR dos PQC's que foi obtido com temperatura de síntese de 160°C, indica a presença dos grupos funcionais como OH (390nm), NH (3300nm), CH (2930nm), C=C (1650nm), C-O-C (1080nm), em sua superfície. Onde a presença desses grupos funcionais resultam em uma série de armadilhas emissivas, as quais podem ser as responsáveis pela origem da fluorescência dos PQC's segundo (Sahu et al., 2012; Wei et al., 2014).

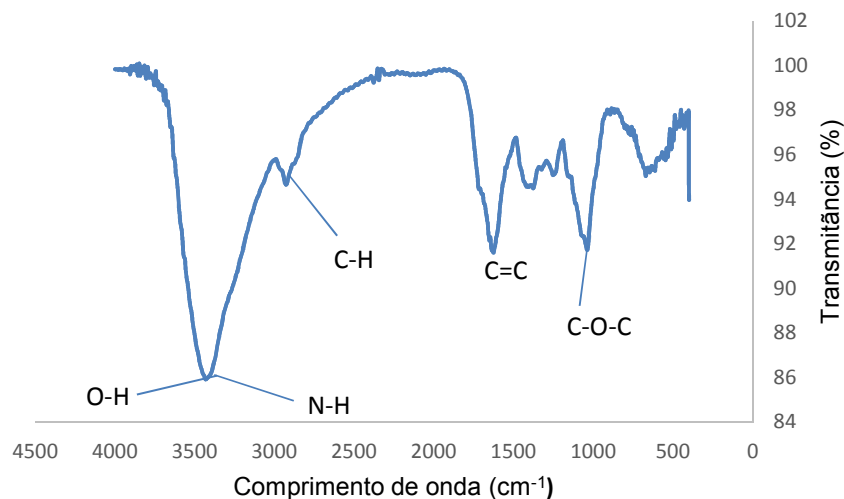


Figura 3.6 Espectro FTIR dos PQCs obtidos com temperatura de síntese de 160°C.

Esses grupos funcionais são comuns nos PQCs derivados de bioprecusores de carbono, conforme a literatura (Xu et al., 2015).

Através do espectro de DRX apresentado na **figura 3.7**, na faixa entre $2\theta = 15-30$, vimos que o PQC apresenta uma estrutura amorfa (Maria dos Asha Jhons, 2016 ; Chan Jin Jeong, 2014).

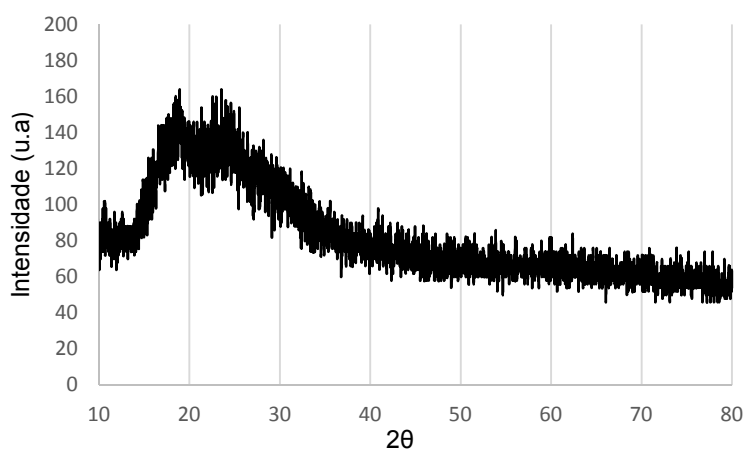


Figura 3.7 Espectro DRX dos PQCs obtidos com temperatura de síntese de 160°C.

3.3 Estudo de potenciais interferente

Foi realizado um estudo com interferentes metálicos (Fe^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , BO_3^{3-}) em diferentes níveis de concentração, que pudessem causar alguma alteração na emissão de fluorescência do sistema PQC/Cu(II), como resultado de

interações destes interferentes com as nanopartículas, durante a extração magnética bem como na eluição com os pontos quânticos de carbono no pH em que foi desenvolvido o método proposto. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 3.2**.

Tabela 3.2 Emissão de fluorescência dos PQCs ($\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$) na presença de diferentes íons metálicos

Solução	Média intensidade
Cu 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$	344.8
Cu 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ + Mix 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$	335.9
Cu 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ + Mix 300 $\mu\text{g.L}^{-1}$	331.5
Cu 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ + Mix 500 $\mu\text{g.L}^{-1}$	253.6

A avaliação destes resultados não mostram alteração significativa de $\pm 5\%$ (Lima et al., 2015) no sinal de fluorescência devido à adição de contaminantes na amostra de vinho em diferentes concentrações. Pode-se observar que o método foi seletivo até concentrações menores que 500 ppb.

3.4 Curva analítica

3.4.1 Construção e validação da curva analítica

A curva analítica foi construída assumindo-se uma relação linear entre a resposta analítica e a concentração do analito, variando de 20, 40, 60, 80 e 100 mg/L, onde as soluções Cu^{2+} foram preparadas pela diluição da solução estoque com água deionizada, após os testes verificou-se que 200 μl de PQC, mais 300 μl de tampão acetato sódico de pH 4,0 e adicionando 1,5 ml solução padrão de cobre, mostrou uma curva satisfatória, para assim calcular a concentração de cobre em amostras de vinho tinto. Na **figura 3.8** mostra a curva analítica e o espectro de fluorescência que foi excitado em 370nm e são emitidos em 390nm.

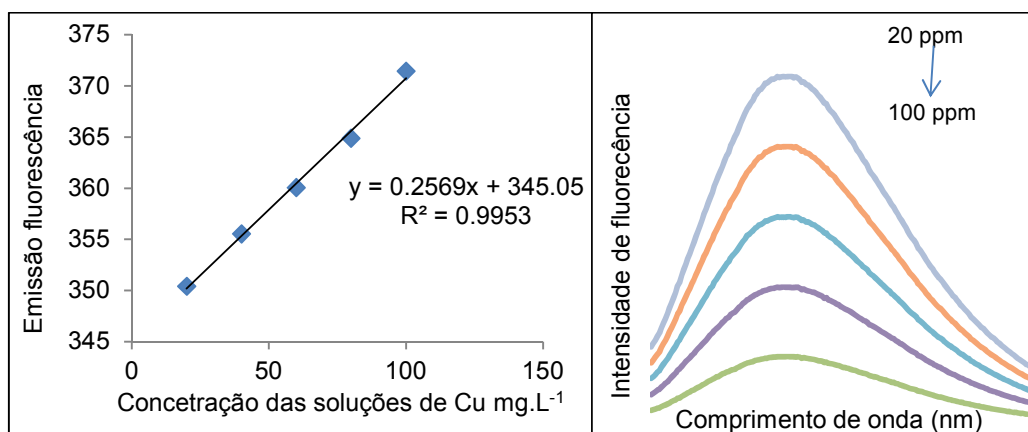


Figura 3.8 Curva analítica para a determinação de íons de Cu²⁺

A curva analítica, foi construída a partir das faixas de concentrações 20 à 100 mg.L⁻¹ de cobre(II). Para validar o modelo de calibração aplicou-se ANOVA, para o estudo proposto, onde os resultados são mostrados **Tabela 3.3**.

Tabela 3.3 Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear

Variações	SQ	GL	MQ
Regressão (R)	548,53	1	548,53
Resíduo (r)	3,62	13	0,278
Falta de ajuste (faj)	2,47	3	0,823
Erro Puro (ep)	552,06	10	55,21

Para verificar se o modelo sugerido não apresenta falta de ajuste, compara-se o valor da relação MQ_{faj}/MQ_{ep} com o valor tabelado de $F_{3,10}$ (ponto de distribuição F para 3 e 10 graus de liberdade ao nível de confiança de 95%) que é igual a 3,71. Como o valor obtido pela razão ($MQ_{faj}/MQ_{ep} = 0,0149$) é menor que o valor tabelado, então não existe evidência de falta de ajuste. Para avaliar a significância estatística da regressão, compara-se o valor da razão MQR/MQ_r , cujo valor obtido é 1.968,83 com o valor de distribuição $F_{1,13}$ (igual a 4,67). Concluindo que a regressão é expressivamente significativa.

Após a curva analítica ser validada, foram estimados para o método proposto os valores do limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ). Os valores estimados para esses parâmetros de desempenho são:

$$LOD = 8,20 \mu\text{g.L}^{-1}$$

$$LOQ = 27,34 \mu\text{g.L}^{-1}$$

Os valores de LOD e LOQ, estimados para o método proposto, são satisfatórios.

O Gráfico de resíduos do modelo validado é exibido na **figura 3.9**.

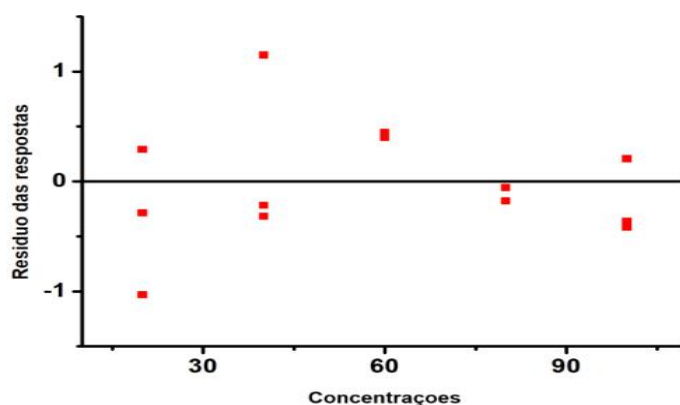


Figura 3.9 Gráfico dos resíduos deixados pelo modelo do método proposto.

Esta figura exhibe variações aleatórias nas medidas, o que mostra que não existem erros sistemáticos para a construção do modelo. Porém, deve-se notar que não são dados heterocedásticos, ou seja, não possuem variâncias constantes. Isto foi um resultado esperado pois estamos tratando de um processo de transferência de uma espécie entre dois tipos de nanopartículas, que irá sofrer dois tipos diferentes de interações durante as transições, ou seja, a dessorção do material magnético e a interação com o ponto quântico e posterior medida de fluorescência.

3.5 Análise das amostras de vinho

Após os estudos realizados e a construção da curva analítica, o desempenho do método proposto foi avaliado para determinação de cobre em seis amostras de vinhos tinto, e as mesmas foram comparadas pelo método de referência, que é a absorção atômica em forno de grafite (Maurizio Aceto et al, 2002), os resultados estão na **tabela 3.4**.

Tabela 3.4 Determinação de cobre em vinhos tinto comparado com o método de referência

Amostras	Concentração (mg.L ⁻¹) Metódo proposto	Concentração (mg.L ⁻¹) Método referência
Branco	-----	-----
01	0.155 ± 0.02	0.154 ± 0.01
02	0.148 ± 0.02	0,147 ± 0.02
03	0,110 ± 0.01	0.110 ± 0.02
04	0,145 ± 0.01	0.146 ± 0.02
05	0.227± 0.01	0.226 ± 0.02
06	0.272 ± 0.01	0.270 ± 0.02

n=3, quantidade de repetições

A partir dos resultados da **Tabela 4.4** observa-se uma concordância entre os valores do método proposto e o de referência. Para validar esta inferência, foi realizado o teste *t* emparelhado, verificando-se que não existe diferença significativa entre os resultados a um nível de 95% de confiança. (Neto; Scarminio; Bruns, 2010). O teste da hipótese nula deu um resultado de 1,47, ou seja, abaixo do valor crítico que é 2,57. Esse resultado mostra que podemos considerar que não há diferenças significativas entre o método proposto e o de referência.

Capítulo 4

Conclusão

4.1 Conclusão

Neste trabalho foi desenvolvido um método de preparo de amostra para extração e quantificação de Cu^{2+} em amostras de vinho. Onde foi utilizado a extração em fase sólida magnética com nanopartículas sintéticas de Fe_3O_4 , revestidas com alumina e funcionalizadas com dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN). Essas nanopartículas foram caracterizadas por meio da análise de difratometria de raios-X e pela técnica de microscopia eletrônica de varredura, mostrando um resultado satisfatório.

A segunda parte do trabalho foi utilizar outro nanomaterial, no caso o PQC, para quantificar o cobre II na matriz vinho, tal material possui característica fluorescente. Foi utilizado uma estratégia simples, econômica e ambientalmente amigável para a síntese dos PQC's a partir do tratamento hidrotérmico do suco de abacaxi, que é um bioprecursor abundante na região. Os pontos quânticos de carbono (PQC's) foram caracterizados por técnicas DR-X e FT-IR.

Devido os vinhos analisados ter uma faixa de pH 3,8 à 4,0 não foi preciso fazer correção de pH, pois a complexação do cobre com a NPMs funcionalizada ocorre em pH quatro (SOUZA *et al.*, 2016), após a extração com NPMs a eluição foi feita com os PQC's, e realizado a medida no fluorímetro.

O desempenho do método desenvolvido foi avaliado por meio da determinação de cobre (II) em seis amostras de vinhos tintos. Onde, os resultados das análises foram estatisticamente similares ao método de referência. As seis amostras apresentaram valores de concentração dentro do limite da legislação que é de 1 mg L^{-1} .

Diante a problemática vimos que o método do preparo de amostra proposto é eficiente, reduzindo assim o uso de reagentes químicos e otimizando o tempo do preparo. As concentrações das amostras pelo método proposto e o de referência aprenstam valores similares, onde no teste t emparelhado mostra que não existe diferença significativa entre os resultados a um nível de 95% de confiança .

4.2 Perspectivas

Como propostas futuras esta metodologia pode ser empregada em outras matrizes com diferentes graus de complexidade como alimentos, medicamentos e combustíveis para a determinação de outros íons legislados como Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , utilizando outros tipos de nanopartículas magnéticas e pontos quânticos de carbono.

Referências

Aceto M, Abollino O, Bruzzoniti MC, et al (2002) Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. Food Addit Contam 19:126–133 . doi: 10.1080/02652030110071336.

Aguilar-Arteaga, K.; Rodriguez, J. A.; Barrado, E. Magnetic Solids In Analytical Chemistry: A Review. Analytica Chimica Acta, V. 674, P. 157–165, 2010.

Alison M. Green, Andrew C. Clark, Geoffrey R. Scollary. Determination Of Free And Total Copper And Lead In Wine By Stripping Potentiometry. Fresenius J Anal Chem (1997) 358 : 711–717,1997.

Andrade, M. F. De, Et Al., Análise Multivariada De Parâmetros Físico-Químicos Em Amostras De Vinhos Tintos Comercializados Na Região Metropolitana Do Recife, Química Nova, **31: 296, 2008**

Andrade, R.A.N., Um Analisador Quimiluminescente Em Fluxo-Batelada Baseado Em Filmes Digitais Com Extração Em Fase Sólida Magnética Aplicado A Determinação De Cobre Em Cachaças, Tese (Doutorado Em Química) - João Pessoa, Universidade Federal Da Paraíba, 2017.

Andrade, S.I.E. de, Pontos Quânticos De Carbono Aplicado À Determinação Fluorimétrica De Cobre(II) Em Óleos Usando Um Sistema Em Fluxo-Batelada Com Extração Em Fase Única, Tese (Doutorado Em Química) - João Pessoa, Universidade Federal Da Paraíba, 2016.

Baker S.N., Baker G.A., Luminescent Carbon Nanodots: Emergent Nanolights. Angew. Chem., Int. Ed. 49, 6726-6744, 2010.

Bao L., Liu C., Zhang Z.L., Pang D.W., Photoluminescence-Tunable Carbon Nanodots: Surface-State Energy-Gap Tuning. Adv. Mater. 27, 1663-1667, 2015.

Barati A., Shamsipur M., Arkan E., Hosseinzadeh L., Abdollahi H., Synthesis Of Biocompatible And Highly Photoluminescent Nitrogen Doped Carbon Dots From

Lime: Analytical Applications And Optimization Using Response Surface Methodology. Mater. Sci. Eng. C 47, 325-332, 2015.

Barreto, I.S, Um Método Automático Para Extração Em Fase Sólida Magnética De Cd E Pb Em Águas E De Cd Em Óleo Comestível E Detecção Por Gf Aas, Tese (Doutorado Em Química) - João Pessoa: Universidade Federal Da Paraíba, 2016.

Brasil, Ministério Da Agricultura, Portaria Nº 229, De 25 De Outubro De 1988. Disponível Em < [Http://Www.Agricultura.Gov.Br/Assuntos/Vigilancia Agropecuaria/lvegetal/Bebidas-Arquivos/Portaria-No-229-De-25-De-Outubro-De-1988.Pdf/View](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/lvegetal/bebidas-arquivos/portaria-no-229-de-25-de-outubro-de-1988.pdf/view) >. Acessado Em: 29 De Agosto De 2017

Brasil, Ministério Da Agricultura E Do Abastecimento, Coordenação De Inspeção Vegetal Civ/Ddiv, Serviço De Inspeção Vegetal Siv/Dfa/Rs. Padrões De Identidade E Qualidade Do Vinho E Derivados Da Uva E Do Vinho, 1999.

Brasil, Ministério Da Agricultura, Instrução Normativa Nº 24, De 08 De Setembro De 2005. Disponível Em < [Http://Www.Ibrac.Net/Index.Php/Servicos/Legislacao/191-Instrucao-Normativa-N-24-De-08-De-Setembro-De-2005-Do-Ministerio-Da-Agricultura-Pecuaria-E-Abastecimento](http://www.ibrac.net/index.php/servicos/legislacao/191-instrucao-normativa-n-24-de-08-de-setembro-de-2005-do-ministerio-da-agricultura-pecuaria-e-abastecimento) >. Acessado Em: 14 De Outubro De 2017

Brasil. Decreto Nº 99.066, De 08 De Março De 1990. Regulamenta A Lei 7.678, De 08 De Novembro De 1988 Que Dispõe Sobre A Produção, Circulação E Comercialização Do Vinho E Derivados Do Vinho E Da Uva. Diário Oficial [Da] União, Poder Executivo, Brasília, Df, 9 Mar. 1990. Seção 1. P. 4755-4763.

C. Bendicho, C. Bendicho-Lavilla, I. Lavilla, Nanoparticle-Assisted Chemical Speciation Of Trace Elements, *Trends In Analytical Chemistry* (2016), [Http://Dx.Doi.Org/Doi: 10.1016/J.Trac.2015.12.015](http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.trac.2015.12.015).

Caldas, S.S. et al: Principais Técnicas De Preparo De Amostra Para A Determinação De Resíduos De Agrotóxicos Em Água Por Cromatografia Líquida Com Detecção

Por Arranjo De Diodos E Por Espectrometria De Massas. Química Nova, V. 34, P. 1604-1617, 2011.

Cárnara M., Díez C., Torija E., Chemical Characterization Of Pineapple Juices And Nectars. Principal Components Analysis. Food Chem. 54, 93-100, 1995.

Chan Jin Jeong, et al: Fluorescent carbon nanoparticles derived from natural materials of mango fruit for bio-imaging probes Nanoscale, 2014, 6, 15196–15202, 2014.

Chen, B. Et Al. Magnetic Solid Phase Microextraction On A Microchip Combined With Electrothermal Vaporization-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry For Determination Of Cd, Hg And Pb In Cells. Journal Of Analytical Atomic Spectrometry, V. 25, P. 1931–1938, 2010.

Chen, B. Et Al. Speciation Of Selenium In Cells By Hplc-Icp-MS After (On-Chip) Magnetic Solid Phase Extraction. Journal Of Analytical Atomic Spectrometry, V. 28, P. 334–343, 2013.

Chen, L.; Wang, T.; Tong, J. Application Of Derivatized Magnetic Materials To The Separation And The Preconcentration Of Pollutants In Water Samples. Trends In Analytical Chemistry, V. 30, P. 1095-1108, 2011.

Chen, Y. Et Al. Sample Preparation. Journal Chromatography A, V. 1184, P. 191-219, 2008.

Cheng, G.U. , Hanzhong, Jia , Hui Li , Brian J. Teppen , Stephen A. Boyd. Synthesis Of Highly Reactive Subnano-Sized Zero Valent Iron Using Smectite Clay Templates. *Environ. Sci. Technol.* 44, 4258–4263, 2010.

Christaki, T.; Tzia, C. Quality And Safety Assurance In Winemaking. Food Control, V. 13, P. 503-517, 2002.

Clarissa M. Moreira, Fábio A. Duarte , Julia Lebherz, Dirce Pozebon , Erico M.M. Flores, Valderi L. Dressler. Arsenic Speciation In White Wine By Lc-Icp-MS. Food Chemistry 126 (2011) 1406–1411, 2011.

Collins, C. H.; Braga, G.L.; Bonato, P. S.; Fundamentos De Cromatografia. Campinas: Editora Da Unicamp, 2006.

Costas-Mora I., Romero V., Lavilla I., Bendicho C., An Overview Of Recent Advances In The Application Of Quantum Dots As Luminescent Probes To Inorganic-Trace Analysis. Trends Anal. Chem. 57, 64-72, 2014.

Daniela Schiavo, Jose´ Y. Neira, Joaquim A. No´ Brega. Direct Determination Of Cd, Cu And Pb In Wines And Grape Juices By Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry. Talanta 76, 1113–1118, 2008.

Dawei Qi, Jin Lu, Chunhui Deng, Xiangmin Zhang. Magnetically Responsive Fe₃O₄@C@SnO₂ Core-Shell Microspheres: Synthesis, Characterization And Application In Phosphoproteomics. J. Phys. Chem. C 2009, 113, 15854–15861, 2009.

De B., Karak N., A Green And Facile Approach For The Synthesis Of Water Soluble Fluorescent Carbon Dots From Banana Juice. Rsc Adv. 3, 8286-8290, 2013.

Demchenko A.P., Dekaliuk M.D., Novel Fluorescent Carbonic Nanomaterials For Sensing And Imaging. Methods Appl. Fluoresc. 1, 1-17, 2013.

Deng, J. Et Al. Magnetic And Conductive Fe₃O₄-Polyaniline Nanoparticles With Core-Shell Structure. Synthetic Metals, V. 139, N. 2, P. 295–301, 2003.

Dietary Reference Intakes: Recommended Intakes for Individuals Elements, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies, 2004

Ding H., Yu S-B., Wei J-S, Xiong H-M., Full-Color Light-Emitting Carbon Dots With A Surface-State-Controlled Luminescence Mechanism, ACS Nano, 10, 484-491, 2016.

Dong Y., Wang R., Li G., Chen C., Chi Y., Chen G., Polyamine-Functionalized Carbon Quantum Dots As Fluorescent Probes For Selective And Sensitive Detection Of Copper Ions. Anal. Chem. 84, 6220-6224, 2012.

Elisa Vereda Alonso, M.M. López Guerrero, Pilar Colorado Cueto, José Barreno Benítez, José Manuel Cano Pavón, Amparo García De Torres. Development Of An On-Line Solid Phase Extraction Method Based On New Functionalized Magnetic Nanoparticles. Use In The Determination Of Mercury In Biological And Sea-Water Samples. *Talanta* 153, 228–239, 2016.

Ezoddin, M. Et Al. Application Of Modified Nano-Alumina As A Solid Phase Extraction Sorbent For The Preconcentration Of Cd And Pb In Water And Herbal Samples Prior To Flame Atomic Absorption Spectrometry Determination. *Journal Of Hazardous Materials*, V. 178, N. 1, P. 900–905, 2010.

Fariborz Omid, Mohammad Behbahani, Majid Kalate Bojdi And Seyed JamaledinShahtaheri, Solid Phase Extraction And Trace Monitoring Of Cadmium Ions In Environmental Water And Food Samples Based On Modified Magnetic Nanoporous Silica, *Journal Of Magnetism And Magnetic Materials*, [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/J.Jmmm.2015.07.093](http://dx.doi.org/10.1016/j.jmmm.2015.07.093)

Farzaneh Shemirani & Bibi Tahereh Sadat Akhavi . PRECONCENTRATION AND DETERMINATION OF TRACE CADMIUM USING 1-(2-PYRIDYLAZO)-2-NAPHTHOL (PAN) IMMOBILIZED ON SURFACTANT-COATED ALUMINA, *Analytical Letters*, 34:12, 2179-2188,2001. DOI: [Http://Dx.Doi.Org/10.1081/AL-100106849](http://dx.doi.org/10.1081/AL-100106849)

Ferreira, H. S.; Rangel, M. C. Nanotecnologia: Aspectos Gerais E Potencial De Aplicação Em Catálise. *Química Nova*, V. 32, P. 1860-1870, 2009.

Ferreira, R. V. Síntese E Caracterização De Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas Com Núcleo Magnético De Magnetita. Dissertação (Mestrado Em Química)—Belo Horizonte: Universidade Federal De Minas Gerais, 2009.

Fraga Cg. *Relevance, Essentialy And Toxicity Of Trace Elements In Human Health*. *Molecular Aspects Of Medicine*., 2005; P. 235-244.

Ganiga M., Cyriac J., FRET Based Ammonia Sensor Using Carbon Dots, *Sens. Actuat. B: Chem.* 225, 522-528, 2016.

Gedda G., Lee C.Y., Lin Y.C., Wu H., Green Synthesis Of Carbon Dots From Prawn Shells For Highly Selective And Sensitive Detection Of Copper Ions. *Sens. Actuat. B: Chem.* 224, 396-403, 2016.

Giakisikli, G.; Anthemidis, A. N. Automated Magnetic Sorbent Extraction Based On Octadecylsilane Functionalized Maghemite Magnetic Particles In A Sequential Injection System Coupled With Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry For Metal Determination. *Talanta*, V. 110, P. 229–235, 2013b.

Giakisikli, G.; Anthemidis, A. N. Magnetic Materials As Sorbents For Metal/Metalloid Preconcentration And/Or Separation. A Review. *Analytica Chimica Acta*, V. 789, P. 1-16, 2013a.

Gian P.G. Freschi, Carolina S. Dakuzaku, Mercedes De Moraes, Joaquim A. N'Obrega, Jos'E A. Gomes Neto. Simultaneous Determination Of Cadmium And Lead In Wine By Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 56, 1987 – 1993, 2001.

Green, A. M.; Clark A. C.; Scollary G. R. Determination Of Free And Total Copper And Lead In Wine By Stripping Potentiometry. *Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie*. V. 358, P. 711-717, 1997.

Guillermo Grindlay, Juan Mora , Luis Gras , Margaretha T.C. De Loos-Vollebregt. Atomic Spectrometry Methods For Wine Analysis: A Critical Evaluation And Discussion Of Recent Applications. *Analytica Chimica Acta* 691, 18–32, 2011.

Guo L., Ge J., Liu W., Niu G., Jia Q., Wang H., Wang P., Tunable Multicolor Carbon Dots Prepared From Well-Defined Polythiophene Derivatives And Their Emission Mechanism. *Nanoscale* 8, 729-734, 2016.

Guo Y., Zhang L., Zhang S., Yang Y., Chen X., Zhang M., Fluorescent Carbon Nanoparticles For The Fluorescent Detection Of Metal Ions. *Biosens. Bioelectron.* 63, 61-71, 2015.

Haitao Li, Zhenhui Kang, Yang Liu , Shuit-Tong Lee. Carbon Nanodots: Synthesis, Properties And Applications. *Journal Of Materials Chemistry J. Mater. Chem.*, 2012, 22, 24230,2012.

Hedayatnasab, Z.; Abnisa, F.; Daud, W. M. A. W. Review On Magnetic Nanoparticles For Magnetic Nanofluid Hyperthermia Application. *Materials & Design*, V. 123, P. 174–196, 2017.

Holler, F. J.; Skoog, D. A.; Crouch, S. R. *Princípios De Análise Instrumental*. Tradução Celio Pasquini. Porto Alegre: Bookman, 2009.

Hong Luo, Xinyi Wang, Rui Dai, Yan Liu, Xue Jiang, Xiaoli Xiong, Ke Huang , Simultaneous Determination Of Arsenic And Cadmium By Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry Using Magnetic Zero-Valent Iron Nanoparticles For Separation And Pre-Concentration. *Microchemical Journal*, 2017. Doi: 10.1016/J.Microc.2017.04.030

Hong-Mei Jiang , Tingyang, Yan-Hongwang , Hong-Zhenlian, Xinhui. Magnetic Solid-Phase Extraction Combined With Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry For Speciation Of Cr(III) And Cr(VI) In Environmental Waters. *Talanta* 116(2013)361–367, 2013.

Hou J., Dong G., Tian Z., Lu J., Wang Q., Ai S., Wang M., A Sensitive Fluorescent Sensor For Selective Determination Of Dichlorvos Based On The Recovered Fluorescence Of Carbon Dots-Cu(II) System. *Food Chem.* 202, 81-87, 2016.

Huang H., Lv J.J., Zhou D.L., Bao N., Xu Y., Wang A.J., Feng J.J., One-Pot Green Synthesis Of Nitrogen-Doped Carbon Nanoparticles As Fluorescent Probes For Mercury Ions. *RSC Adv.* 2013, 3, 21691-21696, 2013.

Huang H., Xu Y., Tang C.J., Chen J.R., Wang A.J., Feng J.J., Facile And Green Synthesis Of Photoluminescent Carbon Nanoparticles For Cellular Imaging. *New J. Chem.* 38, 784-789, 2014.

JAMSHAD, T. et al. Magnetic particles: From preparation to lab-on-a-chip, biosensors, microsystems and microfluidics applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 79, p. 344–362, 2016.

James Jaganathan, Alan L. Reisig, And Sumer M. Dugar. Determination Of Cadmium In Wines Using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry With Zeeman Background Correction. *Microchemical Journal* 56, 221–228 , 1997.

Jamshidi, M. Et Al. Determination Of Some Metal Ions By Flame-Aas After Their Preconcentration Using Sodium Dodecyl Sulfate Coated Alumina Modified With 2-Hydroxy-(3-((1-H-Indol 3-Yle) Phenyl) Methyl) 1-H-Indol (2-Hiypmi). *Food And Chemical Toxicology*, V. 49, N. 6, P. 1229–1234, 2011.

Jaqueline Azevedo Nascimento, Amália Geíza Gama Dionísio, Elaine Cristina Lima Do Nascimento, Sueny Kêlia Barbosa Freitas E Mário César Ugulino De Araújo. *Análise Screening De Vinhos Empregando Um Analisador Fluxo-Batelada, Espectroscopia Uv-Vis e Quimiometria, Quim. Nova*, Vol. 33, No. 2, 351-357, 2010.

Jeong C.J., Roy A.K., Kim S.H., Lee J.E., Jeong J.H., In I., Park S.Y., Fluorescent carbon nanoparticles derived from natural materials of mango fruit for bio-imaging probes. *Nanoscale* 6, 15196-15202, 2014.

Jesus, R.M., Desenvolvimento De Método Analítico Para A Determinação De Cádmio Em Vinho E Estudo Preliminar De Especificação De Cádmio, Ferro, Manganês, Zinco E Cobre Em Vinho, Bahia, Pós-Graduação Em Química, UFBA, 2009.

Jing Yang, Ji -Yuan Li, Jun-Qin Qia, Hong-Zhen Lian, Hong-Yuan Chen. Solid Phase Extraction Of Magnetic Carbon Doped Fe₃O₄ Nanoparticles. *Journal Of Chromatography A*, 1325 (2014) 8– 15, 2014.

Joaquim C.G. Esteves Da Silva, Helena M.R. Gonçalves. Analytical And Bioanalytical Applications Of Carbon Dots. Trends In Analytical Chemistry, Vol. 30, No. 8, 2011.

Juan Wang, Zhiyan Chen, Zhiming Li, Yaling Yang. Magnetic Nanoparticles Based Dispersive Micro-Solid-Phase Extraction As A Novel Technique For The Determination Of Estrogens In Pork Samples. Food Chemistry 204 (2016) 135–140, 2016.

Kang, Y.S. Et Al. Synthesis And Characterization Of Nanometer-Size Fe₃O₄ And γ -Fe₂O₃ Particles. Chemistry Of Materials, V. 8, P. 2209–2211, 1996.

Khalil, M. I. Co-Precipitation In Aqueous Solution Synthesis Of Magnetite Nanoparticles Using Iron(III) Salts As Precursors. Arabian Journal Of Chemistry, V. 8, P. 279-284, 2015.

Kment, P.; Mihaljevič, M.; Ettler, V.; Šebek, O.; Strnad, L.; Rohlová, L. Differentiation Of Czech Wines Using Multielement Composition A Comparison With Vineyard Soil. Food Chemistry, V. 91, P. 157-165, 2005.

Kong W., Wu H., Ye Z., Li R., Xu T., Zhang B., Optical Properties Of Ph-Sensitive Carbon-Dots With Different Modifications. J. Lumin. 148, 238-242, 2014

Krystyna Pyrzyńska. Analytical Methods For The Determination Of Trace Metals In Wine, Critical Reviews In Analytical Chemistry, 34:2, 69-83, 2004.. Doi: [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408340490475858](http://dx.doi.org/10.1080/10408340490475858).

Krystyna Przysnka (2007) Chemical Speciation And Fractionation Of Metals In Wine, Chemical Speciation & Bioavailability, 19:1, 1-8, 2007. DOI: 10.3184/095422907X198040.

Lanças, F. M.; Cromatografia Líquida Moderna: Hplc/Clae. Campinas, Sp: Editora Átomo, 2009.

Laurent, S. et al. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, And Biological Applications. *Chemical Review*, V. 108, P. 2064-2010, 2008.

Lenhardt, L.; Bro, R.; Zekovic', I.; Dramicanin, T.; Dramicanin, M. Fluorescence Spectroscopy Coupled With PARAFAC And PLS DA For Characterization And Classification Of Honey. *Food Chem* 175 (2015) 284–291.

Leslie-Pelecky, D. L.; Rieke, R. D. Magnetic Properties Of Nanostructured Materials. *Journal Of Materials Chemistry*, V. 8, P. 1770-1783, 1996.

Li H., Kang Z., Liu Y., Lee S.T., Carbon Nanodots: Synthesis, Properties And Applications. *J. Mater. Chem.* 22, 24230-24253, 2012.

Lim S.Y., Shen W., Gao Z., Carbon Quantum Dots And Their Applications. *Chem. Soc. Rev.* 44, 362-381, 2014.

Li, Y. Et Al. Fe₃O₄@Al₂O₃ Magnetic Core–Shell Microspheres For Rapid And Highly Specific Capture Of Phosphopeptides With Mass Spectrometry Analysis. *Journal Of Chromatography A*, V. 1172, P. 57–71, 2007.

Lima M.B., Andrade S.I.E., Barreto I.S., Araújo M.C.U., In-Line Single-Phase Extraction For Direct Determination Of Total Iron In Oils Using Cdte Quantum Dots And A Flow-Batch System. *Anal. Methods* 7, 7707-7714, 2015.

Lin X., Gao G., Zheng L., Chi Y., Chen G., Encapsulation Of Strongly Fluorescent Carbon Quantum Dots In Metal–Organic Frameworks For Enhancing Chemical Sensing. *Anal. Chem.* 86, 1223-1228, 2014.

Lin Z., Xue W., Chen H., Lin J.M., Classical Oxidant Induced Chemiluminescence Of Fluorescent Carbon Dots. *Chem. Commun.* 48, 1051-1053, 2012.

Lu, A.; Salabas, E. L.; Schuth, F. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and application. *Angewandte Chemie International Edition*, V. 46, P. 1222-1244, 2007.

M.J. Anjos, R.T. Lopes, E.F.O. De Jesus, S. Moreira, R.C. Barroso, C.R.F. Castro. Trace Elements Determination In Red And White Wines Using Total-Reflection X-Ray Fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B* 58, 2227–2232, 2003.

Machado C.E., Vieira K.O., Ferrari J.L., Schiavon M.A., Pontos Quânticos De Carbono: Síntese Química, Propriedades E Aplicações. *Rev. Virtual Quim.* 7, 1306-1346, 2015.

Mahmoudi, M. Et Al. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (Spions): Development, Surface Modification And Applications In Chemotherapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, V. 63, P. 24-26, 2011.

Maria dos Asha Jhonsi, Sekar Thulasi: A novel fluorescent carbon dots derived from tamarin *Chemical Physics Letters* 661 (2016) 179–184, 2016.

Maurizio Aceto, Ornella Abollino, Maria Concetta Bruzzoniti, Edoardo Mentasti, Corrado Sarzanini & Mery Malandrino (2002): Determination Of Metals In Wine With Atomic Spectroscopy (Flame-AAS, GFAAS And ICP-AES); A Review, *Food Additives And Contaminants: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 19:2, 126-133. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/02652030110071336>.

Mello, L.M.R De, *Desempenho Da Vitivinicultura Brasileira Em 2015*, Ano Publicação, 2016.

Mello, L.M.R De, *O Brasil No Contexto Do Mercado Vitivinícola Mundial: Panorama 2015*. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva E Vinho, 2016. (Embrapa Uva E Vinho. Comunicado Técnico, 192).

Nascimento, J. A., *Screening Analysis De Vinhos Usando Um Sistema Automático Em Fluxo Batelada, Espectrometria Uv-Vis E Métodos Quimiométricos*, João

Pessoa, Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Tecnologia De Alimentos, Ufpb, 2005,112p

Neto, B. B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. Como Fazer Experimentos-: Pesquisa E Desenvolvimento Na Ciência E Na Indústria. [S.L.] Bookman Editora, 2010.

Niina J. Ronkainen. Determination Of Trace Elements In Wine By Atomic Spectroscopy And Electroanalytical Methods. Intech Open Science/ Open Minds,C.20. [Http://Dx.Doi.Org/10.5772/64932](http://dx.doi.org/10.5772/64932)

Oliveira, A.F.R Da, Análise De Produtos Agroalimentares, Utilizando Técnicas Espectrofotométricas, Mestrado Em Química Departamento De Química E Bioquímica Da Fcup 2015, P.24 – 112.

Ooi, S.; Carter, D.; Fernando, Q. The Structure Of A Chelate Of Copper (Ii) With 1-(2-Pyridylazo)-2-Naphthol. Chemical Communications (London), N. 24, P. 1301–1302, 1967.

Passos, M. L.C. Et. Al. Nanoparticle-Based Assays In Automated Flow Systems: A Review. Analytica Chimica Acta, V. 889, P. 22-34, 2015.

Pedro S.G., Salinas-Castillo A., Ariza-Avidad M., Lapresta-Fernández A., Sánchez-González C., Martínez-Cisneros C.S., Puyol M., Capitan-Vallvey L.F., Alonso-Chamarro, J.. Microsystem-Assisted Synthesis Of Carbon Dots With Fluorescent And Colorimetric Properties For Ph Detection. Nanoscale 6, 6018-6024, 2014.

Pichon, V. Solid-Phase Extraction For Multiresidue Analysis Of Organic Contaminants In Water. Journal Of Chromatography A, V. 885, P. 195-2015, 2000.

Pimentel, M. F.; Neto, B. B. Calibração: Uma Revisão Para Químicos Analíticos. Química Nova, V. 19, N. 3, P. 268–277, 1996.

Pradeep, T., Nano: The Essentials. New Delhi: Mcgraw-Hill, 2007. 215 P.

Programa de análise de produtos : relatório de vinho. Rio de Janeiro: Inmetro, 2008.

Pyrzynska, K. Analytical Methods For Determination Of Trace Metals In Wine. Analytical Chemistry, V. 34, P. 69-83, 2004.

Qimeng Fan.; Chaoyin Chen.; Zaiqiang Huang.; Chunmei Zhang.; Pengjuan Liang.; Shenglan Zhao. Discrimination Of Rhizoma Gastrodiae (Tianma) Using 3D Synchronous Fluorescence Spectroscopy Coupled With Principal Component Analysis. Spectrochim Acta A 136 (2015) 1621–1625, 2015.

R. Lucena, B.M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Potential Of Nanoparticles In Sample Preparation. Journal Of Chromatography A, 1218 (2011) 620–637, 2011.

Recueil Des Méthods Internationales D'analyse Des Vins Et Des Mouts. Organisation International De La Vigne Et Du Vin. Paris: OIV, 2005

Ribani, M. et al. Validação Em Métodos Cromatográficos E Eletroforéticos. Química Nova, 2004.

Rogerta Dalipi, Laura Borgese, Annalisa Zacco, Kouichi Tsuji, Emanuele Sangiorgi, Roberto Piro, Elza Bontempi & Laura E. Depero (2015): Determination Of Trace Elements In Italian Wines By Means Of Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectroscopy, International Journal Of Environmental Analytical Chemistry, 2015. Doi: 10.1080/03067319.2015.1036861

Sahu S., Behera B., Maiti T.K., Mohapatra S., Simple One-Step Synthesis Of Highly Luminescent Carbon Dots From Orange Juice: Application As Excellent Bio-Imaging Agents. Chem. Commun. 48, 8835-8837, 2012

S. Galani-Nikolakaki, N. Kallithrakas-Kontos, A.A. Katsanos. Trace elemento analysis of Cr, 2002etan wines and wine products. The Science of the Total Environment 285,155 – 163, 2002.

Šafaříková, M.; Šafařík I. Magnetic solid-phase extraction. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 194, p. 108-112, 1999.

Sahu S., Behera B., Maiti T.K., Mohapatra S., Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. *Chem. Commun.* 48, 8835-8837, 2012.

Shemirani, F.; Akhavi, B. T. S. Preconcentration And Determination Of Trace Cadmium Using 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol (PAN) immobilized on surfactant-coated alumina. *Analytical Letters*, v. 34, p. 2179-2188, 2001.

Shen L., Zhang L., Chen M., Chen X., Wang J., The production of pH-sensitive photoluminescent carbon nanoparticles by the carbonization of polyethylenimine and their use for bioimaging. *Carbon* 55, 343-349, 2013.

Shengxiao Zhang, Hongyun Niu, Zhengjun Hu, Yaqi Cai, Yali Shi. Preparation of carbon coated Fe₃O₄ nanoparticles and their application for solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 4757–4764.

Shu-Wen Xue, Min-Qiong Tang, Li Xu, Zhi-guo Shib. Magnetic nanoparticles with hydrophobicity and hydrophilicity for solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, 1411 (2015) 9–16, 2015.

Silva J.C.F.E., Gonçalves H.M.R., Analytical and bioanalytical applications of carbon dots. *Trends Anal. Chem.* 30, 1327-1336, 2011.

Silva, A. K. Da Et Al. Extração Em Fase Sólida Magnética (Mspe): Fundamentos E Aplicações. *Scientia Chromatographica*, V. 8, N. 4, P. 239–256, 2016.

Silva, A.C. Da, Um Modelo De Calibração De Segunda Ordem Para Determinação Espectrofluorimétrica De Hidrocarbonteos Policíclicos Aromáticos Em Bebidas Destiladas, Dissertação (Mestrado Em Química) - João Pessoa, Universidade Federal Da Paraíba, 2015.

Silvestre, C. I .C. Et Al. Liquid-Liquid Extraction In Flow Analysis: A Critical Review. *Analytica Chimica Acta*, V. 652, P. 54-65, 2009.

Silvia Illuminati, Anna Annibaldi, Cristina Truzzi, Carolina Finale, Giuseppe Scarponi. Square-wave anodic-stripping voltammetric determination of Cd, Pb and Cu in wine: Set-up and optimization of sample pre-treatment and instrumental parameters. *Electrochimica Acta* 104, 148– 161, 2013.

Skoog, D. A; West, D. M; Holler, F. J; Crouch, S. R. Fundamentos da Química Analítica. 8º Ed. São Paulo: Thomson, 2006.

Sofia Pessanha , Maria Luisa Carvalho, Maria Becker , Alex von Bohlen. Quantitative determination on heavy metals in different stages of wine production by Total Reflection X-ray Fluorescence and Energy Dispersive X-ray Fluorescence: Comparison on two vineyards. *Spectrochimica Acta Part B* 65, 504–507, 2010.

Soler, M. A. G. Et Al. Study Of Molecular Surface Coating On The Stability Of Maghemite Nanoparticles. *Surface Science*, V. 601, P. 3921-3925, 2007.

Sousa, E.S, Desenvolvimento E Validação De Uma Metodologia Analítica Para Determinação De Resíduos De Agrotóxicos Em Hortaliças Empregando Cromatografia Líquida Com Detector De Arranjo De Diodos, João Pessoa, Programa De Pós-Graduação Em Química, Ufpb, 2016.

Sousa, F. A. De. Extração Em Fase Sólida De Zinco (II) E Cobre (II) Em Amostras Aquosas E Determinação Por Espectroscopia De Reflectância Difusa. Dissertação (Mestrado Em Química)—Viçosa: Universidade Federal De Viçosa, 2009.

Souza, A. T. Síntese E Caracterização De Nanopartículas Magnéticas De Óxido De Ferro Para Aplicações Biomédicas - Um Estudo Citotóxico Em Linhagem Celular De Carcinoma Cervical Humano (Células Hela). 2011. 110 P. Dissertação (Mestrado Em Biofísica Molecular). Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

Souza, C.G.S. De, Nanopartículas Magnéticas Multifuncionais: Síntese E Propriedades Visando Aplicação Em Diagnóstico E Terapia Em Biomedicina , São Carlos/Sp, Programa De Pós-Graduação Em Ciências Com Área De Concentração Em Físico-Química, Usp, 2011.

Souza, J. C. De; Pezza, H. R.; Pezza, L. A Simple And Green Analytical Method For Determination Of Copper(Ii) In Whisky And Sugarcane Spirit By Diffuse Reflectance Spectroscopy. Analytical Methods, V. 8, N. 8, P. 1867–1875, 18 Feb. 2016.

Souza, J. C. Et Al. Spectrophotometric Determination Of Copper(Ii) In Sugarcane Spirit Using 1-(2-Pyridylazo)-2-Naphthol And A Homogeneous Ternary Mixture Of The Solvents Water, Ethanol And Methyl Isobutyl Ketone. Revista Virtual De Química, V. 8, 2016.

T. Capote, L.M. Marc’o, J. Alvarado, E.D. Greaves. Determination of copper, iron and zinc in spirituous beverages by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. Spectrochimica Acta Part B 54, 1463 -1468, 1999.

T. Christaki, C. Tzia. Quality and safety assurance in winemaking. Food Control 13 (2002) 503–517, 2002.

Tartaj, P. Et Al. Advances In Magnetic Nanoparticles For Biotechnology Applications. Journal Of Magnetism And Magnetic Materials, V. 290, P. 28–34, 2005.

Tekiye, E.-S.; Aghajani, Z.; Sharif, M. A. Synthesis And Characterization Of Fe₃O₄@Al₂O₃ Nanoparticles And Investigation Its Catalyst Application. Journal Of Materials Science: Materials In Electronics, V. 28, N. 7, P. 5360–5365, Abr. 2017.

Thompson M., Ellison S.L.R., Wood R., Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. International Union of Pure and Applied Chemistry 74, 835-855, 2002.

Tôres, A.R, Determinação da Acidez Total de Vinhos Tintos Empregando Titulações Baseadas em Imagens Digitais. Dissertação (Mestrado em Química)—João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2010

Towler, P. H.; Smith, J. D.; Dixon, D. R. Magnetic Recovery Of Radium, Lead And Polonium From Seawater Samples After Preconcentration on a magnetic adsorbent of manganese dioxide coated magnetite. *Analytica Chimica Acta*, v. 328, p. 53-59, 1996.

Trajče Stafilov, Irina Karadjova, Atomic Absorption Spectrometry in Wine Analysis – A review . *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, Vol. 28, No. 1, pp. 17–31, 2009.

Trindade Jm, Marques Al, Lopes Gs, Et Al (2006) Arsenic Determination In Gasoline By Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy Combined With A Factorial Experimental Design Approach. *Fuel* 85:2155–2161. Doi: 10.1016/J.Fuel.2006.04.010

Tripathy, D.; Adeyeye, A. O.; Shannigrahi, S. Magnetic And Tunneling Magnetoresistive Properties Of An All-Oxide $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Al}_2\text{O}_3$ Granular System. *Physical Review B*, V. 76, N. 17, P. 174429, 2007

Wang Q., Zhang S., Ge H., Tian G., Cao N., Li Y. A fluorescent turn-off/on method based on carbon dots as fluorescent probes for the sensitive determination of Pb^{2+} and pyrophosphate in an aqueous solution. *Sens. Actuat. B: Chem.* 207, 25-33, 2015.

Wang Y., Hu A., Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. *J. Mater. Chem. C*. 2, 6921-6940, 2014.

Wang, J. et al. Magnetic nanoparticles based dispersive micro-solid-phase extraction as a novel technique for the determination of estrogens in pork samples. *Food Chemistry* V. 204 P. 135–140, 2016.

Wei-Chang Tseng, Keng-Chang Hsu, Christopher Stephen Shiea, Yeou-Lih Huang. Recent Trends in Nanomaterial-Based Microanalytical Systems for the Speciation of Trace Elements: A Critical Review, *Analytica Chimica Acta*, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.041>

Wei W., Xu C., Wu L., Wang J., Ren J., Qu X., Non-Enzymatic-Browning-Reaction: A Versatile Route For Production Of Nitrogen-Doped Carbon Dots With Tunable Multicolor Luminescent Display. *Sci. Rep.* 4, 3564-3571, 2014.

Wu, W.; He, Q.; Jiang, C. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis And Surface Functionalization Strategies. *Nanoscale Research Letters*, V. 3, N. 11, P. 397, 2008.

Wul, H. Et Al. Automated Magnetic Solid-Phase Extraction For Synthetic Food Colorant Determination. *Food Analytical Methods*, V. 9, P. 614-623, 2016 .

XIE L, Jiang R, Zhu F, et al (2014) Application of functionalized magnetic nanoparticles in sample preparation. *Anal Bioanal Chem* 406:377–399. doi: 10.1007/s00216-013-7302-6

Xu H., Yang X., Li G., Zhao C., Liao X., Green synthesis of fluorescent carbon dots for selective detection of tartrazine in food samples. *J. Agric. Food Chem.* 63, 6707-6714, 2015.

Xu X., Ray R., Gu Y., Ploehn H.J., Gearheart L., Raker K., Scrivens W.A., Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 12736-12737, 2004.

Xu Y., Liu J., Gao C., Wang E., Applications Of Carbon Quantum Dots In Electrochemiluminescence: A Mini Review. *Electrochem. Commun.* 48, 151-154, 2014b.

Xu Y., Wu M., Liu Y., Feng X.Z., Yin X.B., He X.W., Zhang Y.K., Nitrogen-Doped Carbon Dots: A Facile And General Preparation Method, Photoluminescence Investigation, And Imaging Applications. *Chem. Eur. J.* 19, 2276-2283, 2013.

Xu, J.; Zhou, Y.; Liu, S.; Dong, M.; Huang, C.. Low-Cost Synthesis Of Carbon Nanodots From Natural Products Used As A Fluorescent Probe For The Detection Of Ferrum(III) Ions In Lake Water. *Anal. Methods* 6, 2086-2090, 2014a.

Yan Z., Zhang Z., Chen J., Biomass-Based Carbon Dots: Synthesis And Application In Imatinib Determination, *Sens. Actuat. B: Chem* 225, 469-473, 2016.

Yu, B. Y.; Kwak, S.-Y. Assembly Of Magnetite Nanocrystals Into Spherical Mesoporous Aggregates With A 3-D Wormhole-Like Pore Structure. *Journal Of Materials Chemistry*, V. 20, N. 38, P. 8320–8328, 2010.

Zarrin Es'haghi, Ghasem Rezanejade Bardajee, Salameh Azimi. Magnetic Dispersive Micro Solid-Phase Extraction For Trace Mercury Pre-Concentration And Determination In Water, Hemodialysis Solution And Fish Samples. *Microchemical Journal* 127, 170–177, 2016.

Zeitschrift Fur Analytische Chemie. V. 358, P. 711-717, 1997.

Zhao S., Lan M., Zhu X., Xue H., Ng T.W., Meng X., Lee C.S., Wang P., Zhang W., Green synthesis of bifunctional fluorescent carbon dots from garlic for cellular imaging and free radical scavenging. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 17054-17060, 2015.

Zsolt Ajtony, Norbert Szoboszlai , Emo´ Ke Klaudia Susko´, Pa´ L Mezei, Krisztina Gyo´ Rgy, La´ Szlo´ Bencs. Direct Sample Introduction Of Wines In Grafite Furnace Atomic Absorption Spectrometry For The Simultaneous Determination Of Arsenic, Cadmium, Copper And Lead Content. *Talanta* 76, 627–634 , 2008.

