



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



LARISSA SAMÁRIA SILVA JORGE

**Pontos de carbono a partir de *Opuntia inermis* para determinação
espectrofluorimétrica de cobre(II) em cachaça artesanal**

SERRA TALHADA, PE

Julho de 2019

LARISSA SAMÁRIA SILVA JORGE

**Pontos de carbono a partir de *Opuntia inermis* para determinação
espectrofluorimétrica de cobre(II) em cachaça artesanal**

Monografia apresentada ao curso de licenciatura em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade Acadêmica de Serra Talhada, na área de Química Analítica, como requisito parcial à obtenção do título de licenciada em química.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Batista de Lima.

SERRA TALHADA, PE

Julho de 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada - PE, Brasil.

J82p Jorge, Larissa Samária Silva

Pontos de carbono a partir de *Opuntia inermis* para determinação espectrofluorimétrica de cobre(II) em cachaça artesanal / Larissa Samária Silva Jorge. – Serra Talhada, 2019.

41 f. : il.

Orientador: Marcelo Batista de Lima

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, 2019.

Inclui referências.

1. Materiais nanoestruturados. 2. Fluorescência. 3. Cachaça. I. Lima, Marcelo Batista de, orient. II. Título.

CDD 540

LARISSA SAMÁRIA SILVA JORGE

**Pontos de carbono a partir de *Opuntia inermis* para determinação
espectrofluorimétrica de cobre(II) em cachaça artesanal**

Monografia Apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade Acadêmica de Serra Talhada como pré-requisito para obtenção do título de licenciada em química. Aprovada pela banca examinadora em 19 de julho de 2019:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Batista de Lima
(UFRPE/UAST)
Orientador

Prof. Dr. Inakã Silva Barreto
(IFPB/Campus Monteiro)
Examinador

Profa. Dra. Ellen Karine Diniz Viégas
(UFRPE/UAST)
Examinadora

SERRA TALHADA, PE

Julho de 2019

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela existência até aqui e pelas oportunidades vivenciadas em toda a jornada acadêmica. Por ter me dado capacidade e meios para estar concluindo essa fase de minha vida.

Aos meus pais, por serem sempre presentes e atuantes na minha educação, me incentivando, amando e fazendo de tudo para que eu tivesse acesso ao ensino superior.

Ao meu orientador, Marcelo Lima, pelos 3 anos de orientação e aprendizagem, que me abriram os olhos para aprender ciência e construir conhecimento. Por sempre ser paciente com meus momentos de inércia e me ensinar com cuidado e dedicação. Sua contribuição científica foi decisiva na minha formação como profissional de química. Muito obrigada!

A todos os meus amigos, em especial, Lucas, Suene, Carol, Thamila e Hermógenes, pelos momentos de estudo em grupo e amizade verdadeira. A graduação foi mais agradável e os dias são sempre melhores na companhia de vocês.

Ao LAQA/UFPB, pela parceria e integral disponibilidade para realização das análises instrumentais.

RESUMO

A cachaça é uma bebida alcoólica de amplo consumo em todo o Brasil, perdendo somente para a cerveja. Esse consumo desperta reflexão sobre as condições e instalações em que a produção dessa bebida ocorre, visto que uma série de contaminantes orgânicos e inorgânicos podem se fazer presentes. Dentre esses contaminantes, o cobre(II) tem ganho destaque por ser recorrentemente encontrado em níveis superiores a $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, o limite permitido por lei. O que evidencia a necessidade de um monitoramento eficiente das concentrações de cobre em bebidas e alimentos. Pelo exposto, o trabalho buscou avaliar os teores de cobre em cachaças artesanais comercializadas na cidade de Serra Talhada, Pernambuco. Propondo uma metodologia baseada na síntese de pontos de carbono (PC) fluorescentes para atuarem como sensor químico na presença do cobre(II). Os PC foram sintetizados a partir do tratamento hidrotérmico do suco da cactácea palma forrageira em forno micro-ondas. Suas propriedades óticas foram avaliadas por meio de espectros de absorção molecular no UV-Vis e fluorescência molecular, sendo a sua distribuição de partículas avaliada através da microscopia eletrônica de transmissão. Os PC apresentaram rendimento quântico de fluorescência de 23,2 %. Os limites de detecção e quantificação foram $0,36 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,18 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A correlação entre a intensidade de fluorescência das soluções PC-Cu(II) com concentração de Cu(II) presente, expõe o sucesso do nanomaterial como sensor químico e reagente fluorescente. Essa correlação é sustentada pelo comportamento linear apresentado pela curva analítica. Os pontos de carbono a partir da palma mostraram-se um reagente versátil para determinação de concentrações de cobre, o que torna o método proposto uma alternativa a ser mais explorada.

Palavras-chave: nanomaterial, fluorescência, tratamento hidrotérmico, palma, íons cobre, cachaça.

ABSTRACT

Cachaça is a widely consumed alcoholic beverage throughout Brazil, losing only to beer. This consumption sparks reflection on the conditions and facilities in which the production of this beverage occurs, since a series of organic and inorganic contaminants can be present. Among these contaminants, copper (II) has gained prominence because it is frequently found at levels higher than 5.0 mg L⁻¹, the limit allowed by law. This shows the need for an efficient monitoring of copper concentrations in beverages and food. For the above, this work sought to evaluate the copper contents in artisanal cachaças marketed in the city of Serra Talhada, Pernambuco. Proposing a methodology based on the synthesis of fluorescent carbon points (PC) to act as a chemical sensor in the presence of copper (II). The PCs were synthesized from the hydrothermal treatment of the juice of the cactus palm in microwave oven. Its optical properties were evaluated by molecular absorption spectra in UV-Vis and molecular fluorescence, and its particle distribution was evaluated by transmission electron microscopy. The PCs showed quantum fluorescence yield of 23.2%. The limits of detection and quantification were 0.36 mg L⁻¹ and 1.18 mg L⁻¹, respectively. The correlation between the fluorescence intensity of PC-Cu (II) solutions with concentration of Cu (II) present, exposes the success of the nanomaterial as a chemical sensor and fluorescent reagent. This correlation is supported by the linear behavior presented by the analytical curve. The carbon points from the palm have been shown to be a versatile reagent for determination of copper concentrations, which makes the proposed method an alternative to be further explored.

Keywords: nanomaterial, fluorescence, hydrothermal treatment, palm, copper ions, sugarcane liquor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Palma forrageira.....	16
Figura 2. Diagrama de Jablonski.	24
Figura 3. Solução resultante após a dissolução e filtração a vácuo do suco da palma após passar pela carbonização no forno micro-ondas (4 min, 900W).	28
Figura 4. Espectro de absorção molecular no UV-VIS dos PC.....	29
Figura 5. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão dos PC sintetizados.	29
Figura 6. Espectros de emissão de fluorescência das nanopartículas de carbono (PC-Palma) sintetizadas.	30
Figura 7. Espectros de fluorescência dos PC com diferentes concentrações de cobre (0,5 a 10,0 mg L ⁻¹) excitados em 390 nm.	31
Figura 8. Curva analítica para a determinação de cobre(II) em cachaças.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características exigidas para a comercialização de aguardente de cana-de-açúcar e cachaça estabelecidas pela legislação brasileira.	19
Tabela 2. Limite permitido de contaminantes em aguardente de cana-de-açúcar e cachaças no Brasil.....	19
Tabela 3. Exemplos de metodologias analíticas encontradas na literatura para análise de cobre em cachaça.....	23
Tabela 4. Características de desempenho para o método proposto.	33

Sumário

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS	iv
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Objetivo geral.....	12
1.2. Objetivos específicos.....	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1. Origem e síntese dos pontos de carbono	13
2.2. Características óticas e aplicações dos PC na química analítica	14
2.3. <i>Opuntia inermis</i>	16
2.4. A cachaça e sua produção	17
2.5. Legislação brasileira e o controle na qualidade da cachaça.....	19
2.6. Efeito do cobre(II) à saúde e metodologias de análise em cachaça.....	20
2.7. Fluorescência molecular.....	23
3. EXPERIMENTAL	25
3.1. Soluções, reagentes e amostra.....	25
3.2. Instrumentação	26
3.3. Síntese dos pontos de carbono	26
3.4. Procedimento de análise convencional de cobre em cachaça artesanal	27
3.5. Determinação de cobre em cachaça pelo método proposto.....	27
3.6. Cálculo do rendimento quântico de fluorescência dos PC	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1. Obtenção do nanomaterial.....	28
4.3. Caracterização morfológica dos PC	29
4.4. Espectro de emissão de fluorescência e rendimento quântico dos PC	30
4.5. Avaliação da interação do cobre(II) com os PC	31
4.6. Obtenção da curva analítica	32
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

A cachaça consiste em uma bebida alcoólica bastante consumida em todo o Brasil, perdendo apenas para a cerveja. Das cachaças consumidas destaca-se as artesanais tradicionalmente produzidas em destiladores de cobre. Esse consumo desperta reflexão sobre as condições e instalações em que a produção dessa bebida ocorre, visto que uma série de contaminantes orgânicos e inorgânicos podem se fazer presentes. Entre esses contaminantes, os íons cobre(II) tem sido recorrentemente encontrados em níveis preocupantes em sua análise de qualidade (LIMA NETO & FRANCO, 1994; AZEVEDO *et al.*, 2011; VOLPE, 2013; FARIAS FILHO, 2014).

A contaminação por cobre(II), sobretudo em cachaças artesanais, decorre do material tradicionalmente utilizado na construção dos aparelhos destiladores, os alambiques. A toxicidade do cobre ocorre devido a sua afinidade por grupos sulfidrilas (S-H) presentes em muitas proteínas e aminoácidos. Sua ação pode comprometer várias funções metabólicas, levando ao surgimento de doenças como psiquiátricas, epilepsia e artrite reumatoide (WAGGONER *et al.*, 1999; AZEVEDO *et al.*, 2011). A legislação brasileira permite que a ocorrência desse contaminante em cachaças seja igual ou inferior a $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, já os países que importam este produto toleram o máximo de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ (BRASIL, 1997; MIRANDA *et al.*, 2007). Essa realidade, torna o monitoramento do teor de cobre(II) necessário e urgente, sobretudo pelo seu prejuízo à saúde.

A análise de íons Cu(II) é comumente realizada a partir de métodos de espectrofotometria de absorção em chama (PINTO *et al.*, 2005; CALDAS *et al.*, 2007), além de métodos como a espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta-visível (ROCHA *et al.*, 2008) e eletroquímicos, como potenciométrico (KÜCHLER *et al.*, 1999). Esses métodos necessitam de analistas mais qualificados, demandando maiores recursos (PETTEYS & FRANK, 2011). Por estes motivos, novos métodos vêm sendo propostos na literatura a fim de servir como alternativa às análises tradicionais (KUMAR *et al.*, 2015). Nessa perspectiva, é possível empregar novos reagentes, que serviriam como sensores químicos para análise de íons metálicos, como o Cu(II). Os pontos de carbono surgem como uma opção para o desenvolvimento de métodos analíticos mais simples, sensíveis e seletivos.

Os pontos de carbono compreendem nanopartículas fluorescentes que desde a sua descoberta, em 2004, vem permitindo um avanço na química analítica, sobretudo no desenvolvimento de novos sensores sensíveis e seletivos para diferentes aplicações, em especial, determinações de fosfato (ZHAO *et al.*, 2011), nitrito (LIN *et al.*, 2012), cloretos

(XUE *et al.*, 2015), amônia (GANIGA & CYRIAC, 2016) e, principalmente, íons metálicos como: K(I), Ag(I), Hg(II), Cu(II), Fe(III), Pb(II), Sn(II), U(VI) e Cr(VI) (GUO *et al.*, 2015). A aplicação também é promovida no desenvolvimento de dispositivos optoeletrônicos, biosensores, sensores eletroquímicos e em fotocatalise (WANG & HU, 2014; DAS *et al.*, 2018; DING *et al.*, 2016).

A literatura evidencia o uso de fontes de carbono alternativas para a síntese, a exemplo, cascas de frutas cítricas como laranja (SAHU *et al.*, 2012) e uva (HUANG *et al.*, 2014); borra de café (HSU *et al.*, 2012), cerveja (DE & KARAK, 2013; HIMAJA *et al.*, 2015), folhas, dentre outras, menos convencionais, como pena de aves, cabelo e sêmen de peixe (BARATI *et al.*, 2015, DING *et al.*, 2016, SUN & LEI, 2017). Neste cenário, os esforços são direcionados para simplificar e baratear o custo do processo de obtenção dos nanomateriais, fazendo uso de bioprecusores renováveis (HU *et al.*, 2010).

Neste trabalho, foram sintetizados pontos de carbono (PC) fluorescentes a partir da cactácea *Opuntia inermis*, popularmente conhecida como palma forrageira, para serem empregados como sensor químico para determinação espectrofluorimétrica de íons cobre(II) em amostras de cachaça artesanal, de consumo popular na cidade de Serra Talhada, Pernambuco. Os pontos de carbono foram obtidos a partir do tratamento hidrotérmico em forno micro-ondas doméstico do suco proveniente da polpa dessa cactácea. Suas propriedades óticas foram avaliadas por meio de espectros de absorção molecular no UV-Vis e fluorescência molecular, sendo a sua distribuição de partículas avaliada através da microscopia eletrônica de transmissão.

1.1. Objetivo geral

Desenvolver um método analítico baseado em nanopartículas de carbono fluorescentes a partir de *Opuntia inermis* para determinação de cobre(II) em cachaças artesanais.

1.2. Objetivos específicos

- Sintetizar e funcionalizar os pontos de carbono a partir do bioprecursor requerido;
- Avaliar as propriedades óticas e morfológicas do material sintetizado;
- Desenvolver o método analítico para determinação espectrofluorimétrica do cobre(II) com os pontos de carbono;
- Avaliar o desempenho analítico no tratamento dos dados experimentais.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Origem e síntese dos pontos de carbono

Os pontos de carbono (PC) são nanopartículas fluorescentes que apresentam comumente formato esférico e dimensões inferiores a 10 nanômetros (nm), podem ser preparados por métodos físicos ou químicos. Foram descobertos acidentalmente, em 2004, durante a purificação de nanotubos de carbonos de parede única através de eletroforese em gel. Os pesquisadores obtiveram quantidades de pontos de carbono com tamanhos diferentes, que ao serem excitados em 365 nm apresentaram forte fluorescência nas regiões do azul, amarelo e laranja, sendo cada cor para cada fração de nanomaterial obtida. Diante disso, os PC têm adquirido popularidade e sendo cada vez mais estudados a fim de se elucidar explicações sobre sua morfologia, mecanismos de formação, configuração óptica, fluorescência e aplicação. É a nanopartícula da família do carbono que mais tem despertado o interesse nos últimos anos (HIMAJA *et al.*, 2015; WANG & HU, 2014).

Desde a sua descoberta, possibilidades de sínteses vêm sendo estudadas objetivando funcionalizar oticamente os PC, por meio do controle da sua dimensão e da composição da sua superfície ativa. Pode-se destacar dentre esses métodos a irradiação com laser (SUN *et al.*, 2006), a oxidação eletroquímica (LI *et al.*, 2010), o tratamento ultrassônico (LI *et al.*, 2011), a irradiação por micro-ondas e o tratamento hidrotérmico (WANG & HU, 2014). Todos esses métodos envolvem processos complexos, equipamentos robustos e analistas qualificados para manuseio dos instrumentos; realidade que faz necessário pensar em possibilidades de sínteses mais acessíveis e que apresentem rendimentos semelhantes ou superiores aos desses procedimentos já conhecidos.

Estudos atuais sobre a síntese de PC têm valorizado a utilização de métodos químicos, devido as vantagens frente aos métodos físicos convencionais: são ambientalmente sustentáveis, sínteses eficientes sob baixas temperaturas, redução de custos com solventes e instrumentação robusta e a possibilidade de empregar como fonte de carbono qualquer precursor orgânico (HOU *et al.*, 2016). Dentre os métodos químicos observados em sínteses dessa natureza, o tratamento hidrotérmico em forno micro-ondas tem ganho destaque como possibilidade de síntese simples, versátil e ecológica. Sendo possível o preparo dos PC em etapa única e rápida, a carbonização ocorre em baixas temperaturas e sem a necessidade de grandes quantidades de substrato carbonáceo (GUO *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2012). Ao fim, tem-se um material fluorescente de síntese versátil, solúvel em água e com uma superfície altamente ativa, com um baixo custo de produção e sem a geração de resíduos tóxicos.

Os procedimentos de síntese são complementados por purificação, através de filtração, centrifugação, diálise e eletroforese, ou outra técnica que se faça necessária (SHEN *et al.*, 2017).

2.2. Características óticas e aplicações dos PC na química analítica

Os PC apresentam uma forte absorção na região espectral do ultravioleta estendendo-se até o visível. Comumente, como a região superficial dos PC está repleta de diversos radicais de ácidos carboxílicos, hidroxilas, carbonilas, alquilas e outros grupos polares, as bandas de absorção conferidas a esse nanomaterial se dá graças às transições $\pi-\pi^*$, provenientes das ligações C=C, e $n-\pi^*$, proveniente das ligações C=O (LI *et al.*, 2011). Essa estrutura formada por grupos polares também confere aos pontos de carbono grande solubilidade em água e potencial de reatividade com diversas moléculas, tornando-os altamente biocompatíveis.

Lim e coautores (2014) consideram a emissão de fluorescência (EF) dos PC como uma característica fundamental, uma vez que é particular desse nanomaterial a possibilidade de regular a EF sem a funcionalização de sua espécie. A explicação para esse fato é justificada pela presença de radicais polares potencialmente reativos na superfície dos PC, o que cria um ambiente de armadilhas emissivas, bem como também as diferentes dimensões das nanopartículas. Essas armadilhas seriam corresponsáveis pela propriedade de emissão ajustável de fluorescência, típica deste nanomaterial, ou seja, PC possuem fluorescência variável de acordo com a excitação ultravioleta (UV) recebida em comprimentos de onda distintos. Justificar a regulação da EF pelo tamanho das partículas é considerar que os PC, assim como os pontos quânticos semicondutores, também sofrem o confinamento quântico, mas para os PC, não só o confinamento pode ser responsável pela emissão fluorescente (LI *et al.*, 2014; BAKER & BAKER, 2010).

Por apresentar propriedades óticas atrativas e reguláveis, alguns estudos feitos com os PC têm explorado a sua emissão de fluorescência para transferência de energia utilizando o processo de ressonância por fluorescência (ZHOU *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2015), outros métodos empregam o aumento da emissão de fluorescência dos PC na presença de alguns íons metálicos (ZHANG *et al.*, 2014). Entretanto, grande parte dos trabalhos tem explorado a extinção de emissão da fluorescência para a produção de sensores sensíveis e seletivos (DONG *et al.*, 2012; GUO *et al.*, 2015). As espécies de interesse estudadas e determinadas são diversas, a exemplo, fosfato (ZHAO *et al.*, 2011), nitrito (LIN *et al.*, 2012), cloro (XUE *et*

al., 2015) e, principalmente, íons metálicos como: K(I), Ag(I), Hg(II), Cu(II), Fe(III), Pb(II), Sn(II), U(VI) e Cr(VI) (GUO *et al.*, 2015).

Dong e coautores (2012), sugeriram um método seletivo e sensível para a determinação de Cu(II) em água empregando PC, usando ácido cítrico como precursor carbonáceo e polietilenoimina como agente funcionalizante. Os PC sintetizados mostraram-se sensíveis à presença dos íons cobre(II), em meio ácido (pH 4,0), apresentando uma forte extinção de fluorescência. Essa extinção de fluorescência foi atribuída à formação de um complexo entre o íon Cu(II) e os grupos aminas presentes na superfície do nanomaterial. Essa mesma interação Cu(II)-PC e os grupos aminas presentes na superfície dos PC foi verificada por Liu e coautores (2014) e Gedda e colaboradores (2016).

Outra aplicação analítica empregando PC como sensores para íons metálicos foi proposta por Zhang e colaboradores (2014). O método aponta uma determinação fluorescente seletiva dos íons Fe(III) e Cu(II) em águas através da interação com os PC. Observou-se que a intensidade de fluorescência era reduzida com o aumento da concentração dos íons Fe(III) e Cu(II), não sofrendo alteração pela presença de outros íons. O preparo do sensor químico ocorreu pelo aquecimento da uréia. Este método permitiu a análise de Fe(III) e Cu(II) em uma faixa linear de concentração de 5 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limites de detecção de 1,0 e 0,5 nmol L^{-1} para os íons Fe(III) e Cu(II), respectivamente.

A natureza ainda que não esclarecida desses nanomateriais faz com que eles sejam estudados por diferentes áreas a fim de explicar a suas particularidades e darem uso e aplicações as suas características. Outro fator que contribui para a notoriedade dessas nanopartículas se encontra na sua natureza benigna, que diferente dos pontos quânticos tradicionais, os PC não poluem o meio ambiente por não conterem elementos tóxicos em sua formação; também a síntese desses nanomaterias é facilitada pela abundância de matéria-prima (matéria orgânica) e pelo baixo custo de sua produção, comparada a síntese dos pontos quânticos tradicionais. Os PC já são reconhecidos por serem menos citotóxicos, altamente biocompatíveis, além de apresentarem rotas de síntese aquosas menos complexas e um expressivo rendimento quântico de fluorescência (RQF) (DING *et al.*, 2016; GANIJA & CYRIAC, 2016; SUN & LEI, 2017; DAS *et al.*, 2018).

2.3. *Opuntia inermis*

A família *Cactaceae*, popularmente conhecida como cactos, amplamente encontrada no nordeste brasileiro, compreende plantas predominantemente americanas, mas também que podem ser encontradas em países da África, na Austrália e Índia. Possuem como características próprias o caule suculento rodeado por espinhos, a capacidade de reter água, resistência tanto a variações bruscas de temperatura em diferentes períodos do dia quanto à luz solar. Alguns cactos produzem frutos comestíveis, a exemplo, o gênero *Opuntia*, no qual suas plantas são conhecidas como palma forrageira ou figueira da Índia (Figura 1).

Figura 1. Palma forrageira



Devido ao seu enorme potencial produtivo, cactos são aproveitados em tempos de seca como alimento para bovinos e caprinos por serem ricos em compostos nutricionais como o ácido ascórbico, aminoácidos, carboidratos, sais minerais, polifenóis, vitaminas e outros (SOUZA, 2012). Vegetais dessa família são comumente empregados na medicina popular pela crença de possuírem propriedades medicinais, sendo usados na produção de remédios caseiros como cicatrizantes, anti-inflamatórios, diuréticos e no tratamento de doenças respiratórias e do sistema digestório (SALEHIA, 2018). Apesar do preparo dificultado pela presença de espinhos, algumas cactáceas são usadas como ingredientes em receitas de bolo, biscoitos e doces, como é o caso do xiquexique (ALMEIDA *et al.*, 2007).

A palma forrageira (*Opuntia inermis*) é uma planta originária do México e que se adaptou bem ao Brasil, principalmente na região nordeste, graças à sua capacidade de se adaptar às condições climáticas. Tem em sua composição cálcio, sódio, ferro, vitamina A,

fósforo, nitrogênio, proteínas, aminoácidos, carboidratos e água (SALEHIA, 2018). É uma planta usada na culinária de países como México, Estados Unidos e Japão, é visto como ingrediente principal em receitas nobres. Além do seu uso alimentício, desse vegetal também é possível extrair subprodutos da celulose sendo usados para produzir adesivos, bioadesivos, xaropes e bebidas para dietas específicas (SALEHIA, 2018).

Pelo exposto, pode-se identificar uma grande quantidade de compostos orgânicos responsáveis pelo uso da palma forrageira. Essa cactácea pode também ser empregada como bioprecursor para a síntese hidrotérmica dos PC. Essa alternativa se mostra ainda significativa pela ausência de registros na literatura do seu uso na síntese de nanomateriais.

2.4. A cachaça e sua produção

A cachaça é uma bebida alcoólica genuinamente brasileira amplamente encontrada e consumida em todo o território nacional, movimentando anualmente cerca de 7,5 bilhões de reais segundo o Instituto Brasileiro da Cachaça (IBRAC) (2018). Seu consumo é mais intenso na região nordeste, graças à cultura e seu baixo custo. Se tornou expressão para designação geográfica em 2001 com o Decreto nº 4.062, que considera o produto como sendo puramente brasileiro, não podendo existir cachaça que não seja a produzida aqui (BRASIL, 2001). Em termos de definição, cachaça é a bebida de cana produzida no Brasil, a 20°C, a partir da destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar. Apresenta características sensoriais peculiares e teor etílico podendo variar entre 38 a 48 % (v/v), podendo sofrer adição de açúcar até 6 g L⁻¹ (BRASIL, 2005).

Apesar da cana-de-açúcar não ser um vegetal nativo, o pioneirismo brasileiro na produção de cachaça não é trivial, geograficamente, o clima e o solo favorecem a plantação e desenvolvimento da espécie vegetal. Seis estados brasileiros destacam-se na produção em alta escala dessa bebida: São Paulo, Minas Gerais, Pernambuco, Ceará e Rio de Janeiro (VOLPE, 2013). Desde o período colonial, com a introdução da cana-de-açúcar no Brasil, essas regiões estão à frente na produção alcoólica graças as condições geográficas favoráveis.

A produção da cachaça inicia-se com a colheita da cana-de-açúcar, que se prioriza que seja realizada manualmente para evitar a deterioração da matéria-prima. Após a coleta, a cana é higienizada em água corrente e levada para a moenda. Na moenda, é feita a extração do caldo da cana, que será filtrado e transferido para a dorna de decantação a fim de ser separado de impurezas como areia, restos de bagaços e solo. O bagaço residual é usado como combustível para aquecer as fornalhas do alambique. Em seguida, é feita a diluição do caldo pela adição de água potável na dorna de diluição, esse processo se faz necessário para que o

caldo atinja um teor de sacarose entre 14° e 16 ° Brix (escala numérica que afere a quantidade de sólidos solúveis em frutas, cana-de-açúcar etc; sendo a sacarose o sólido mais avaliado. Quanto maior o Brix, maior a qualidade e doçura do alimento). Ainda nesta etapa, pode-se adicionar ácido sulfúrico para evitar a contaminação do caldo por bactérias que podem produzir outros compostos prejudiciais à qualidade final da cachaça (CHAVES *et al.*, 2003).

Com o caldo diluído, tem-se a adição de nutrientes para que ocorra a fermentação. A depender das condições do produtor da cachaça, a fermentação ocorrerá pela ação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* ou pela ação da mistura de fubá de milho com farelo de arroz. A mistura então é acomodada em dornas em uma sala arejada com uma temperatura ambiente em torno de 28 a 32 °C. O processo de fermentação dura aproximadamente 24 horas (ou até quando as misturas começarem a liberar borbulhas de modo uniforme e apresentar um odor semelhante a aroma de frutas) e não pode sofrer interrupção (CHAVES *et al.*, 2003).

As dornas usadas são de madeira, aço inoxidável, ou plástico, depende muito das condições do produtor. Após a fermentação, o produto formado é chamado de vinho ou mosto fermentado e está pronto para ser destilado. Uma característica muito importante nesse vinho é que por ser recém-saído da fermentação e não ter passado por nenhuma técnica de refino ou filtração, se encontra com uma concentração etílica baixa e rico em componentes tóxicas à saúde humana, como aldeídos, ácidos e bactérias (CHAVES *et al.*, 2003).

O mosto fermentado é retirado por gravidade das dornas de fermentação e levado diretamente para a destilação nos alambiques (de cobre ou aço inoxidável) onde será fervido, produzindo vapores que são condensados por resfriamento o que contribui para a elevação da concentração de álcool etílico na bebida. Nesse processo de destilação, obtém-se três frações de cachaça: a inicial, conhecida como cabeça; a do meio (e de interesse), chamada de corpo ou coração, é a cachaça propriamente dita, com qualidade sensorial. E, a fração final, chamada de cauda (VOLPE, 2013).

Apenas a cachaça de corpo é comercializada por apresentar melhor estabilidade e baixas concentrações de compostos voláteis. A cachaça de cabeça representa 5 a 10% do total destilado, o coração representa 75 a 85 % e a cachaça de cauda de 5 a 20%. Após o fim da destilação, a cachaça pode passar por filtração para correção de aspectos físicos como brilho, limpidez e transparência. O teor etílico também pode ser corrigido para que se adeque ao exigido em lei. Finalmente, a cachaça está pronta para ser comercializada. Antes de ser engarrafada, ainda há opção de envelhecimento da bebida em barris de madeira para conferir mais sabor e valor ao produto (FARIAS FILHO, 2014).

2.5. Legislação brasileira e o controle na qualidade da cachaça

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio do Decreto Nº 2314 de 4 de setembro de 1997 impõe parâmetros de fiscalização para avaliar a produção e qualidade da cachaça brasileira, esse documento especifica os compostos e suas quantidades limites permitidas conforme indicado na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Características exigidas para a comercialização de aguardente de cana-de-açúcar e cachaça estabelecidas pela legislação brasileira.

Parâmetro	Unidade	Limite
Acidez volátil (em ácido acético)	mg 100 mL ⁻¹ de etanol anidro	≤ 150
Ésteres (em acetato de etila)		≤ 200
Aldeídos (em aldeído acético)		≤ 30
Furfural + hidroximetilfurfural		≤ 5
Álcoois superiores*		≤ 360
Congêneres**		200 ≤ limite ≤ 650
Metanol	g L ⁻¹	≤ 300
Açúcar (em sacarose)		≤ 6***

* = isobutílico + isoamílicos + n-propílico ** = acidez volátil + ésteres + aldeídos + furfural/hidroximetilfurfural + álcoois superiores *** = Aguardente de cana ou cachaça “adoçada” = máximo 30 g L⁻¹.

Fonte: BRASIL (1997).

A tabela acima diz respeito aos componentes que obrigatoriamente precisam estar presentes para garantir que a cachaça brasileira apresente suas peculiaridades e identidade sensorial que lhe são próprias. No que diz respeito ao consumo, o Decreto trata também de espécies contaminantes que eventualmente possam ser encontradas ao fim da destilação (Tabela 2).

Tabela 2. Limite permitido de contaminantes em aguardente de cana-de-açúcar e cachaças no Brasil.

Contaminantes		Unidade	Limite máximo
Orgânicos	Acroleína	mg 100 mL ⁻¹ de etanol anidro	≤ 5
	Metanol		≤ 20
	Diacetil		≤ 2
	Carbamato de etila	µg L ⁻¹	≤ 220
Inorgânicos	Cobre	mg L ⁻¹	≤ 5
	Chumbo	µg L ⁻¹	≤ 200
	Arsênio		≤ 100

Fonte: BRASIL (1997).

Com essa legislação, uma cachaça de qualidade se apresenta com concentrações do cobre contaminante inferiores a 5 mg L^{-1} . Esse limite se mostra consideravelmente alto se comparado a padrões internacionais (2 mg L^{-1}) (MIRANDA *et al.*, 2007). Essa discrepância de valores não só promove uma reflexão sobre a necessidade de repensar as concentrações dos parâmetros fiscalizados como também resulta em uma desvalorização da nossa cachaça para o mercado internacional. Essa realidade se traduz em barreiras para o escoamento da produção nacional de cachaça para o exterior.

Outra substância química que merece atenção em análises de qualidade e fiscalização de aguardentes é o Carbamato de Etila (CE). Essa espécie química é considerada um contaminante orgânico pelo MAPA e está presente em alimentos fermentados e em grande parte das bebidas destiladas, sendo essa a maior fonte de exposição humana. O CE é um éster de etila oriundo do ácido carbâmico e tem um perfil potencialmente carcinogênico (ARESTA *et al.*, 2001). Sua origem e formação ainda estão sendo elucidadas, mas estudos têm apontado três possíveis hipóteses para explicar a presença de CE em destilados.

A primeira explicação da presença de CE em destilados corresponde a uma reação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* com o etanol durante a fermentação, o que produziria o CE (MONTEIRO *et al.*, 1989). A segunda hipótese diz respeito a uma série de reações em cadeia envolvendo a hidrólise e oxidação de compostos cianoglicosídeos que leva a formação do íon cianato (CNO^-), que ao reagir com o álcool em meio ácido forma o CE (ARESTA *et al.*, 2001; FISCHER *et al.*, 2002). A terceira, e última hipótese, aponta uma correlação na concentração do aminoácido arginina que ao ser degradado em ureia e ornitina, favorece o aumento da concentração de ureia em solução, essa ureia reage com etanol e forma o carbamato de etila (BEATTIE & POLYBLANK, 1995).

Essa possível relação do cobre como agente catalisador na formação do carbamato de etila, como também seu próprio prejuízo à saúde humana ressaltam a urgência e a necessidade de metodologias analíticas sensíveis, eficientes e acessíveis que facilitem a introdução de uma frequência de fiscalização para um monitoramento competente da presença e concentrações desses contaminantes em aguardentes e cachaças por todo o território nacional. Permitindo que, de fato, só chegue às prateleiras um produto com qualidade e adequado para consumo.

2.6. Efeito do cobre(II) à saúde e metodologias de análise em cachaça

O cobre(II) está presente em todos os fluidos e em muitos tecidos humanos, tornando-se essencial para a saúde. Juntamente com aminoácidos, ácidos graxos e vitaminas, em

concentrações ideais, esse metal é fundamental para os processos metabólicos; atuando como cofator de diversas enzimas celulares como a catalase, citocromoxidase, dopamina- β -hidroxilase e peroxidases (PEDROZO & LIMA, 2001). Em grandes concentrações, entretanto, a ação do cobre deixa de ser benéfica e se torna uma interferência às atividades catalíticas normais dessas enzimas.

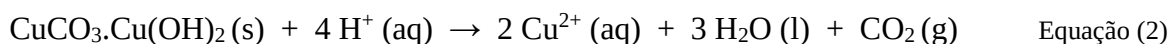
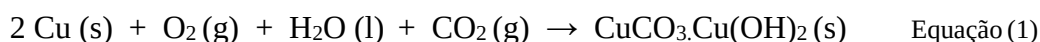
A ocorrência natural desse analito é em carnes, frutos do mar, vegetais, cereais e nozes. Sua ingestão diária ideal é de 2 a 5 mg, valores acima (hipocupremia) ou abaixo (hipercupremia) dessa margem podem provocar distúrbios e/ou até doenças decorrentes da desregulação do metabolismo do cobre no corpo (FARIAS FILHO, 2014). A toxicidade desse metal se manifesta pela ação do mesmo no organismo, sua afinidade com grupos sulfidrilas (S-H) presentes em muitas proteínas e aminoácidos, pode causar o comprometimento de funções metabólicas importantes, levando ao surgimento de doenças como artrite reumatoide, epilepsia, doenças psiquiátricas entre outras (VOLPE, 2013).

Atualmente, a doença mais diagnosticada decorrente da desregulação do metabolismo do cobre é a degeneração Hepato-Lenticular ou doença de Wilson, causada pelo acúmulo de cobre em tecidos, principalmente cérebro e fígado. Os sintomas apresentados pelas vítimas são: alterações musculares que causam dor e dificultam a realização de atividades como caminhada ou corrida, perturbações nervosas que levam a tremores dos membros periféricos (dedos), expansão e alteração na função bioquímica do fígado e modificação na coloração da pele para amarela (AZEVEDO *et al.*, 2011). Waggoner e colaboradores (1999) ainda atribuem ao cobre(II) associação com outras doenças degenerativas do sistema nervoso, a exemplo: doença de Menke (atraso mental e hipoglicemia), aceruloplasminemia (diabetes mellitus, degeneração da retina e problemas neurológicos), esclerose e mal de Alzheimer.

A contaminação por íons cobre (Cu^{2+}) em destilados provém do material tradicionalmente utilizado na construção dos aparelhos destiladores (alambiques) e esse tem sido um dos problemas intrínsecos à produção, pois, desde o início da fabricação de cachaças artesanais, o cobre é o material mais exaustivamente usado nas construções dos alambiques. Essa realidade ainda que nociva, apresenta aspectos favoráveis às condições de produção de destilados, uma vez que o cobre nos alambiques proporciona resistência do material à corrosão, boa condutividade térmica (calor), elimina odores desagradáveis (sulfetos) e atua como um catalisador em reações favoráveis às características sensoriais da bebida (FRANÇA *et al.*, 2011).

Durante o processo de destilação da cachaça artesanal, ocorre a oxidação do cobre metálico, originando o carbonato básico de cobre ou azinhavre [$\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$] (Equação

1), um composto de coloração verde que se forma nas paredes dos alambiques. O azinhavre em contato com vapores alcoólicos ácidos produzidos durante a destilação, se solubiliza (Equação 2), contaminando o destilado pela liberação de íons Cu^{2+} (Equação 1) (FARIAS FILHO, 2014). Por essa razão, a higienização adequada dos equipamentos empregados e as instalações em que ocorre toda a produção do destilado possuem influência direta na concentração final de cobre(II) na bebida produzida (AZEVEDO *et al.*, 2011).



Alguns estudos para avaliação do teor de cobre(II) em cachaças e aguardentes são de Pinto e colaboradores (2005), que analisaram 52 amostras de produtores do Alto Vale do Jequitinhonha do estado de Minas Gerais. Os resultados obtidos para concentrações do íon metálico encontraram-se entre não-detectável e $21,3 \text{ mg L}^{-1}$. Das 52 amostras analisadas, 18 estavam acima do limite permitido pela legislação brasileira. Os desvios padrão relativos para todas as análises feitas encontraram-se na faixa de 0,32 a 9,82%.

Lima Neto & Franco (2004) e Bezerra (1995) avaliando amostras de aguardentes de cana de diversas regiões produtoras do país, compreendendo produtos comerciais e artesanais, verificaram que os teores de cobre(II) em suas amostras estavam entre $3,9$ e $4,2 \text{ mg L}^{-1}$, abaixo do limite estabelecido por lei. Ainda neste estudo, os autores avaliaram amostras cujo teor de cobre(II) atingiram 14 mg L^{-1} . Volpe (2013) avaliou amostras de cachaças industriais e artesanais adquiridas na região central do norte do Paraná, o estudo constatou a irregularidade de 33,3% das mesmas com respeito ao teor de íons cobre(II) avaliado, tendo as cachaças artesanais em relação às industriais, apresentado valores mais elevados desse contaminante.

Azevedo *et al.* (2011) também analisando amostras aguardentes de cana produzidas em Minas Gerais, detectaram que 6,7% das cachaças analisadas possuíam uma quantidade de cobre(II) acima dos padrões. Vargas e Glória (1995) também avaliando a qualidade de aguardente de cana produzidas, comercializadas e/ou engarrafadas nesse estado ente 1989 a 1992, analisaram 511 amostras. Dessas, 32,9%, não atenderam à legislação vigente, tendo sido encontrado um teor máximo de cobre igual a 26 mg L^{-1} .

Buscando mais controle e respostas fiéis da natureza das matrizes estudadas, propostas de técnicas analíticas surgem para auxiliar a análise de contaminantes em cachaça, em destaque, o cobre, visto o seu grau de comprometimento à saúde humana. A tabela 3 abaixo apresenta algumas metodologias empregadas em análises de quantificação desse metal.

Tabela 3. Exemplos de metodologias analíticas encontradas na literatura para análise de cobre em cachaça.

Referência	Substância de interesse	Técnica Instrumental	Faixa linear de resposta (mg L ⁻¹)	Limite de detecção (mg L ⁻¹)
Pinto <i>et al.</i> , (2005)	Zinco e cobre	FAAS ¹	0,0 - 5,0 mg L ⁻¹	0,06 mg L ⁻¹
Rocha <i>et al.</i> , (2008)	Cobre	UV-Vis ²	0,20 - 20,0 mg L ⁻¹	0,05 mg L ⁻¹
aldas <i>et al.</i> , (2007)	Arsênio, Cobre e Chumbo	GFAAS ³	20,0 - 200,0 µg L ⁻¹	9,20 µg L ⁻¹
Küchler <i>et al.</i> , (1999)	Cobre	Potenciometria	0,063 - 6,300 mg L ⁻¹	0,03 mg L ⁻¹

¹ FAAS (Espectrofotometria de absorção atômica por chama)

² UV-Vis (Espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta-visível)

³ GFAAS (Espectrofotometria de absorção atômica em forno grafite)

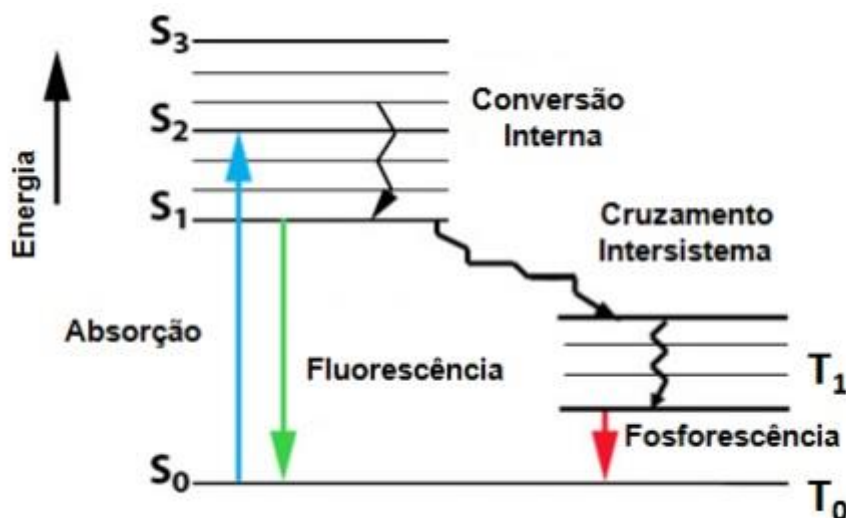
2.7. Fluorescência molecular

A fluorescência juntamente com a fosforescência e quimiluminescência compõem o grupo de técnicas chamadas luminescentes. Estas técnicas têm como princípio a emissão de radiação eletromagnética por uma espécie, geralmente através de um grupo fluoróforo, quando a mesma absorve energia suficiente para ser promovida a um estado eletrônico de maior energia (S₁). Após um curto período de tempo, ocorre o retorno dos elétrons da espécie ao estado fundamental (S₀), com a liberação da energia absorvida na forma de fótons, gerando um espectro de emissão característico de sua composição (DODEIGNE *et al.*, 2000).

A emissão de luz a partir de um fenômeno de fluorescência acontece de um estado excitado singleto, no qual o elétron promovido a níveis superiores de energia mantém a orientação original do seu spin, continuando assim desemparelhado com o elétron no estado fundamental. Devido os estados singletes requererem grande energia e, por essa razão, serem instáveis, o elétron promovido rapidamente retorna ao seu estado fundamental, liberando a energia absorvida na forma de fótons na ordem de nanossegundos (10⁻⁹ s) (HOOLER *et al.*, 2009).

O Diagrama de Jablonski (Figura 2) abaixo demonstra graficamente os possíveis fenômenos e energia a eles associados quando há absorção de radiação eletromagnética por parte de um elétron de uma espécie química, em comprimentos de onda compreendidos na faixa do ultravioleta-visível (UV-Vis).

Figura 2. Diagrama de Jablonski.



O diagrama esquematiza os níveis energéticos de uma espécie química e as transições eletrônicas possíveis entre eles. Os níveis S₀, S₁, S₂ e S₃ correspondem, respectivamente, aos níveis singleto fundamental, primeiro, segundo e terceiro estados eletrônicos excitados. Enquanto os níveis T₀ e T₁ correspondem aos estados tripleto fundamental e primeiro estado eletrônico excitado tripleto. O arranjo dos estados na vertical ilustra o sentido em que a energia da transição se eleva, estados superiores, portanto, demandam mais energia. O agrupamento horizontal ocorre pela multiplicidade de spin do elétron. Os estados fundamentais vibracionais de cada estado eletrônico são indicados por linhas grossas e os estados vibracionais mais altos por linhas mais finas (PANTOJA, 2010).

O nível energético fundamental (S₀) é onde a maioria das espécies químicas se encontram em temperatura ambiente. Neste nível, a absorção de um fóton pode promover o elétron a um dos níveis vibracionais de um dos estados singletes excitados, S₁, S₂ etc. Disso, o elétron retorna ao estado fundamental S₀ pelos processos de decaimento radiativo e não radiativo, que são a fluorescência, fosforescência, conversão interna e o cruzamento intersistema. Cada decaimento tem a si uma energia absorvida associada e um tempo de duração, o que especifica cada fenômeno e o nível ao que elétron é promovido (PAVIA, 2010).

Um fluoróforo apresenta como características de interesse seu rendimento quântico fluorescência (RQF) e o tempo de vida de sua emissão fluorescente. O RQF é o cálculo da razão do número de fótons emitidos pelo número de fótons absorvidos, seu valor numérico encontra-se entre o 0 (ausência de emissão ou emissão parcial) e o 1 (máxima emissão).

Substâncias com um expressivo RQF como a rodamina, a fluoresceína e o sulfato de quinino, apresentam emissões visivelmente brilhantes e, por terem propriedades já conhecidas e estudadas, são usadas como padrões para análise e avaliação de novos grupos fluoróforos (SKOOG *et al.*, 2006). O tempo de vida de fluoróforo se refere ao espaço de tempo disponível para interação com o meio (matriz) ou sua difusão no mesmo, e assim emitir sua resposta fluorescente (HOOLER *et al.*, 2009).

Em uma solução em estudo, a intensidade de fluorescência pode ser diminuída por diversos fatores. A essas diminuições dar-se o nome de supressão (*queching*). A supressão é resultante de encontros difusivos entre os grupos fluoróforos e moléculas supressoras durante o tempo de vida do estado excitado do fluoróforo (SUN & LEI, 2017), de forma que há relação direta na ocorrência desses encontros com a quantidade de moléculas (interferentes) presentes na amostra. Interações moleculares, reações de estado excitado, formação de complexos no estado fundamental e transferência de energia são alguns fenômenos que podem ser apontados como responsáveis pela supressão de fluorescência em uma solução (GANIGA & CYRIAC, 2016).

O *queching* tem sido reconhecido como fenômeno fundamental no emprego da espectrofluorimetria como técnica em análises quantitativas, por permitir inferir sobre sistemas em estudos por meio das relações moleculares observadas entre um grupo fluoróforo e seu supressor (analito) (GEDDA *et al.*, 2016). Essas relações têm sido estudadas através da intensidade de radiação absorvida e emitida por um fluoróforo e a concentração do analito em solução.

3. EXPERIMENTAL

3.1. Soluções, reagentes e amostra

Uma solução estoque de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ foi preparada pela adição de 0,1964 g do sal a 100,0 mL de água destilada para uma concentração final de íons Cu^{2+} de 500 mg L^{-1} . Dessa solução, foram feitas diluições adequadas até o preparo de 5 padrões de cobre(II) com concentrações de 0,5; 1,0; 3,0; 5,0 e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$.

A solução de tampão amoniacal com EDTA com agente estabilizante foi preparada dissolvendo-se 6,700 g NH_4Cl , 4,716 g EDTA e 3,230 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em água destilada, adicionando-se em seguida 572 mL de NH_4OH comercial (concentrado) e completando o volume a 1000 mL.

3.2. Instrumentação

Para registro dos espectros de absorção molecular UV-Vis foi empregado um espectrofotômetro UV-Vis da Hewlett-Packard (HP), modelo 8453, equipado com uma cubeta de quartzo com 10 mm de caminho ótico. Um espectrofluorímetro Cary Eclipse (Agilent, modelo G9800A), foi empregado para obtenção dos espectros de excitação e de emissão das nanopartículas de carbono. Uma cubeta de quartzo para fluorescência com 10 mm de caminho ótico foi utilizada nas medições.

Para análise do método de referência um espectrômetro de absorção atômica AA 6800 Shimadzu equipado com um amostrador automático ASC-6100 foi usado com uma lâmpada de deutério para correção de fundo, uma lâmpada catódica oca operada a 20,0 mA, um tubo de grafite pirolítico grafitado com aquecimento transversal e um monocromador com uma fenda 0,7 nm. As absorvências integradas (área do pico) foram medidas na linha de 324,8 nm. O argônio 99,999% (White Martins, www.praxair.com.br) foi utilizado como gás de purga com vazão de 250 mL min⁻¹ em todos os estágios, exceto a atomização, quando o fluxo foi interrompido. O volume utilizado para todos os padrões e amostras foi de 20 µL e 5 µL de nitrato de paládio foi utilizado como modificador químico.

3.3. Síntese dos pontos de carbono

A síntese dos PC foi realizada no Laboratório de Química (LAQUIM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) na Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) no mês de janeiro de 2019. O bioprecursor (a palma forrageira IPA) foi adquirido no cactário dessa unidade. A metodologia adotada se baseou nos estudos de Sahu e colaboradores (2012).

A princípio, foi coletada uma porção de aproximadamente 100,0 g para o preparo do suco, a partir da polpa do material vegetal. Posteriormente, o material foi higienizado em água corrente, para remoção de fungos e impurezas superficiais. Em seguida, realizou-se o corte da planta em cubos e a massa medida foi triturada em um liquidificador doméstico juntamente com 100,0 mL de água destilada para a produção do suco. Na sequência, realizou-se uma filtração simples e posteriormente foi realizada uma filtração à vácuo. Após as duas filtrações, o suco foi armazenado em frasco âmbar e conservado a 4° C em geladeira.

Em um erlenmeyer, foram adicionadas 40,0 mL do suco filtrado da palma forrageira juntamente 10,0 mL de tampão amoniacal pH 10,0 (com EDTA como agente estabilizante), sendo a mistura formada homogeneizada manualmente. A carbonização ocorreu a 900 Watts (W) durante 4 minutos (min) em um micro-ondas doméstico. Como suporte para o erlenmeyer usou-se um cadinho de porcelana.

Ao fim da carbonização e o arrefecimento a temperatura ambiente, o produto foi solubilizado em 100,0 mL de água destilada sob agitação durante 4 min. Para a remoção de partículas maiores e indesejáveis, foi realizada uma filtração simples e, em seguida, uma filtração à vácuo. Após, a solução foi centrifugada durante 30 min a uma velocidade de 6000 rpm. Nesse momento, constatou-se um pH 4,5.

Após arrefecimento até a temperatura ambiente, a parte sobrenadante foi descartada e a solução final foi armazenada em frascos âmbar e conservada em geladeira a 4° C para futura análise. As amostras foram levadas para as devidas medições com proporções de 1:5 (v/v) nos instrumentos espectrofotômetro e espectrofluorímetro. Todas as análises foram realizadas no laboratório de automação e instrumentação, LAQA/DQ/UFPB.

3.4. Procedimento de análise convencional de cobre em cachaça artesanal

A quantificação das concentrações de íons Cu(II) foi realizada pela técnica de espectrometria de absorção atômica (EAA) pelo método do padrão externo, conforme proposto pela Instrução Normativa N° 13 de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005).

3.5. Determinação de cobre em cachaça pelo método proposto

Para determinação de cobre em cachaça a amostra foi diluída na proporção de 1:1 (v/v), misturada a igual volume da solução reagente dos PC com o tampão fosfato, pH 6,5.

3.6. Cálculo do rendimento quântico de fluorescência dos PC

O rendimento quântico de fluorescência dos PC foi calculado conforme proposto pela literatura, empregando o sulfato de quinino (RQF = 54%), em meio alcoólico, como padrão de referência (QIAN *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2015). A equação 3 foi usada para o cálculo do RQF.

$$\Phi_A = \Phi_P \times \frac{Grad_A \times \eta_A^2}{Grad_P \times \eta_P^2} \quad \text{Equação (3)}$$

onde: Φ corresponde ao rendimento quântico, $Grad$ corresponde à área da curva de emissão de fluorescência obtida no mesmo comprimento de onda de excitação e η corresponde ao índice de refração do solvente utilizado. Os subscritos “A” e “P” referem-se a amostra e o padrão, respectivamente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Obtenção do nanomaterial

Como pode-se observar nas Figuras 3a e 3b, após a etapa de síntese, a solução de PC preparada apresentou forte emissão de fluorescência, com coloração verde-azulada, quando expostas à radiação ultravioleta de uma lâmpada negra (comprimento de onda de 380 nm), característica típica da formação das nanopartículas de carbono (HUANG *et al.*, 2014).

Figura 3. Solução resultante após a dissolução e filtração a vácuo do suco da palma após passar pela carbonização no forno micro-ondas (4 min, 900W).



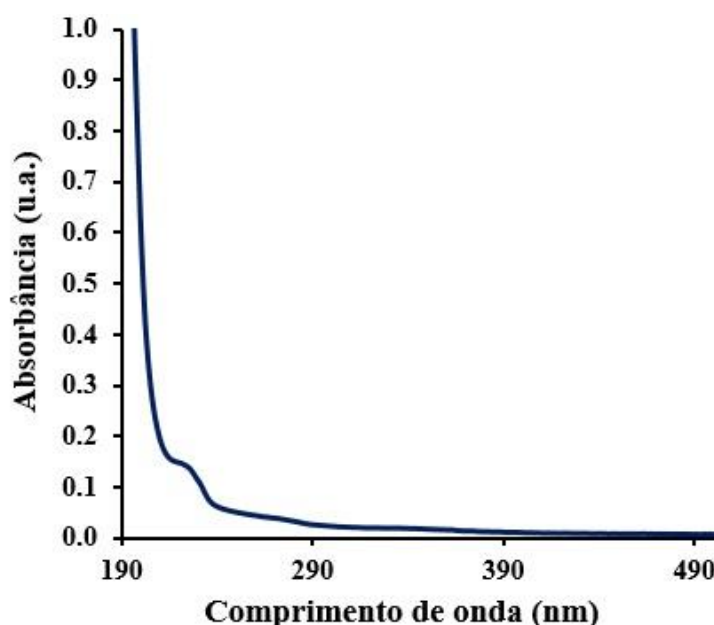
Os principais constituintes compostos por carbono presentes da palma forrageira são ácido ascórbico, aminoácidos, carboidratos, polifenóis e vitaminas (SOUZA *et al.*, 2016). Devido à presença desses constituintes, a formação hidrotérmica dos PC a partir desse precursor regional, é provavelmente atribuída aos carboidratos. Assim, o processo de formação dos PC pode envolver etapas de desidratação, polimerização e carbonização (SÍSDE & KARAK, 2013). Entretanto, não tem sido relatado um mecanismo claro de formação e estrutura desse nanomaterial, o que pode ser o resultado da formação de um grande número de intermediários durante a reação hidrotérmica (BARATI *et al.*, 2015; SUN & LEI, 2017).

4.2. Caracterização espectroscópica dos PC

A Figura 4 apresenta o perfil espectral de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-VIS) dos PC obtidos a partir do tratamento hidrotérmico do suco da palma forrageira via micro-ondas. A banda de absorção no UV observada na figura é uma

característica comumente apresentada pelos PC (SUN & LEI, 2017). Esse pico de absorção em aproximadamente 240 nm pode ser atribuído as transições $n-\pi^*$ e $\pi-\pi^*$ provenientes das ligações C=O e C=C (HSU *et al.*, 2012, XU *et al.*, 2015). Ainda é possível observar que próximo de 260 nm, há um prolongamento de banda que se estende até próximo da região do visível, outro comportamento reportado como característico da formação de PC (XU *et al.*, 2014; DAS *et al.*, 2018).

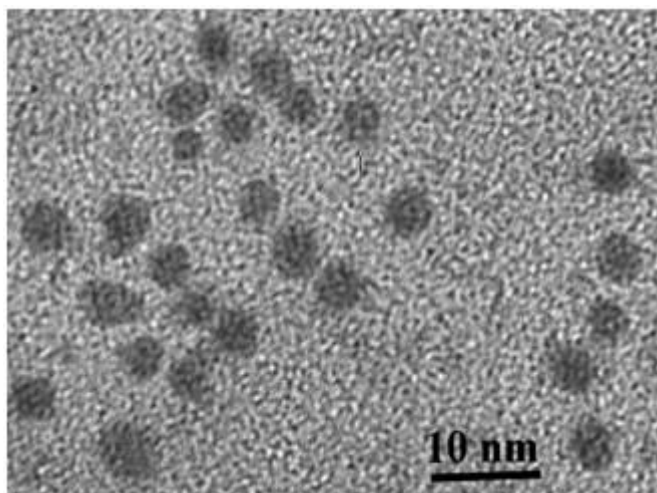
Figura 4. Espectro de absorção molecular no UV-VIS dos PC.



4.3. Caracterização morfológica dos PC

A caracterização morfológica foi possível devido à análise de microscopia eletrônica de transmissão (MET) realizada pelo laboratório de microscopia eletrônica do Instituto de Química de São Carlos, USP (Figura 5). Com a imagem, é possível perceber que os pontos de carbono sintetizados apresentam tamanho e forma correspondentes com os resultados previstos pela literatura: diâmetro de aproximadamente 7 nm e formato esférica (WANG & HU, 2014).

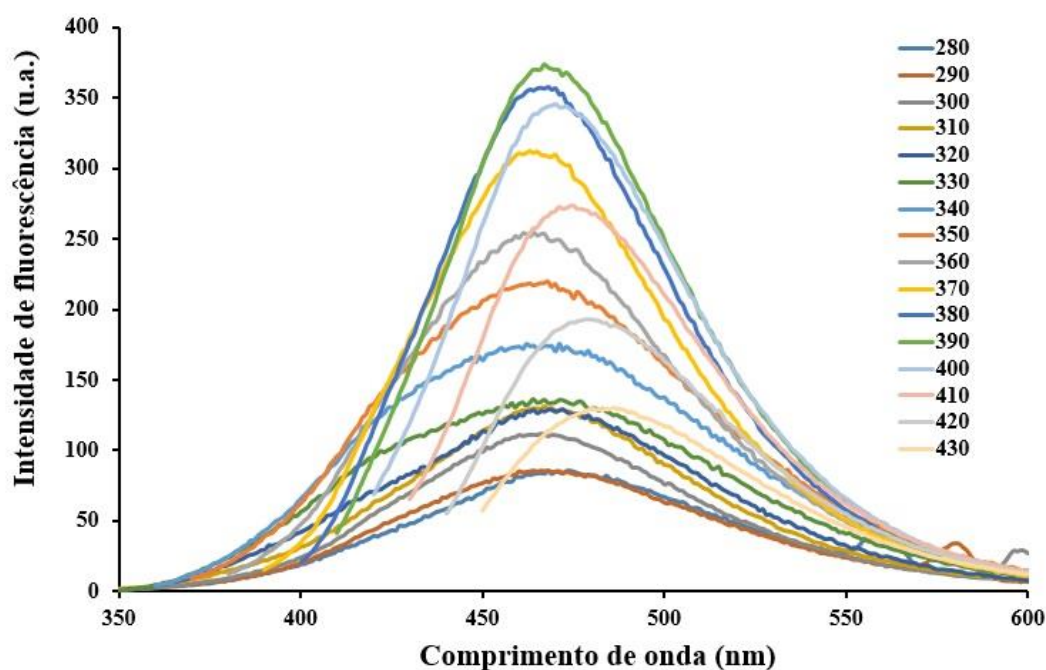
Figura 5. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão dos PC sintetizados.



4.4. Espectro de emissão de fluorescência e rendimento quântico dos PC

A Figura 6 apresenta os espectros de emissão de fluorescência das nanopartículas sintetizadas em diferentes comprimentos de onda de excitação com diluição 1:1 (v/v) (280 a 430 nm).

Figura 6. Espectros de emissão de fluorescência das nanopartículas de carbono (PC-Palma) sintetizadas.



Os espectros de emissão dos PC apresentam um deslocamento da banda de fluorescência para a região do vermelho, a partir de 460 nm a 540 nm, com o aumento do comprimento de onda de excitação (de 280 a 430 nm). Esse desvio é acompanhado por uma

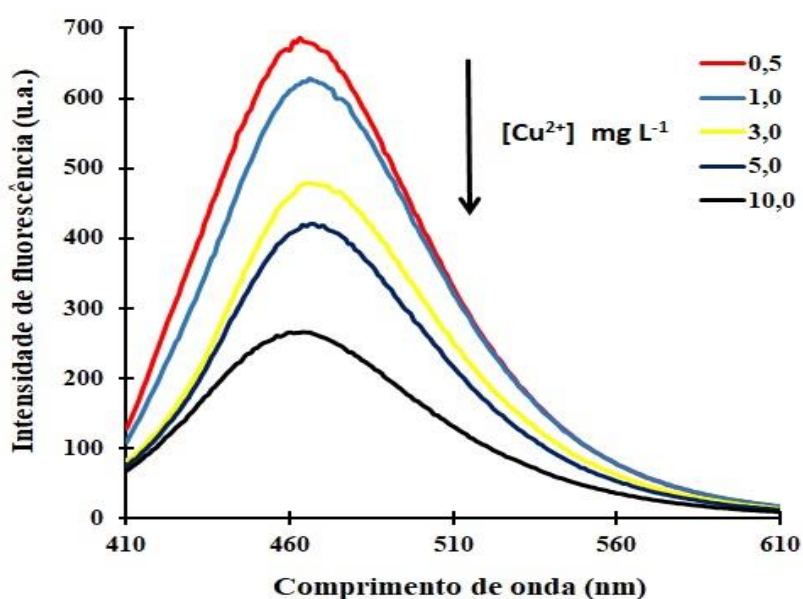
diminuição significativa da intensidade de fluorescência, revelando que a fluorescência do nanomaterial é fortemente dependente do comprimento de onda de excitação. A máxima intensidade de fluorescência dos PC foi obtida em 470 nm quando a excitação foi em 390 nm.

Os PC obtidos por meio tratamento hidrotérmico do suco da palma forrageira, apresentaram rendimento quântico de 23,2 %, quando comparados com o padrão de referência de sulfato de quinino, medidos a um comprimento de onda de excitação de 390 nm. Os valores são comparáveis com os reportados anteriormente na literatura, utilizando bioprecusores de carbono (LIU *et al.*, 2012; PURBIA & PARIA, 2016).

4.5. Avaliação da interação do cobre(II) com os PC

Para avaliação da interação dos PC com o analito, soluções padrões de cobre(II) foram colocadas em contato com os PC e tiveram suas emissões de fluorescência avaliadas. Como resultado, foi detectada uma resposta instrumental dessa interação, uma vez que a Figura 7 expõe que os espectros de emissão de fluorescência da solução PC-Cu(II) apresentam uma inibição da resposta fluorescente na presença do íon metálico, em pH 6,5. A intensidade de emissão da fluorescência, em 470 nm, é significativamente suprimida com o aumento da concentração do metal em solução (0,5 a 10 mg L⁻¹). Resultados estes que indicam a ação dos PC como sensor sensível ao íon metálico Cu(II).

Figura 7. Espectros de fluorescência dos PC com diferentes concentrações de cobre (0,5 a 10,0 mg L⁻¹) excitados em 390 nm.

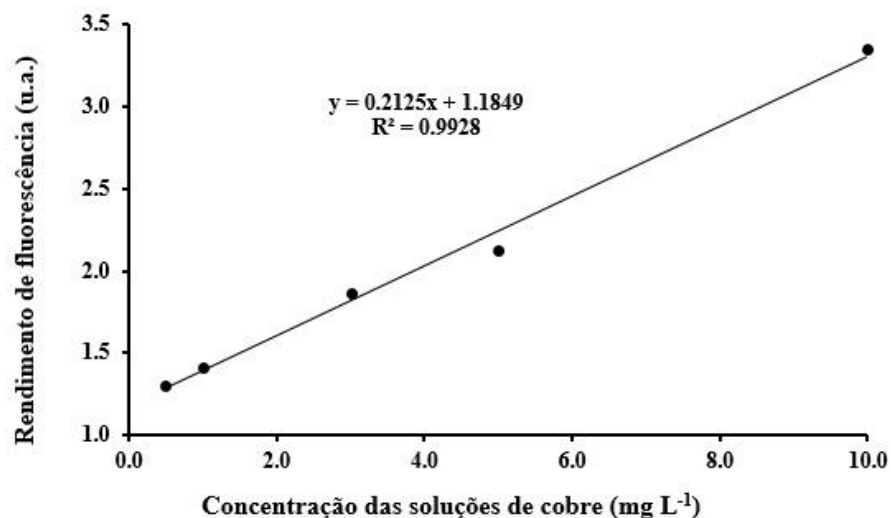


O efeito da supressão de fluorescência dos PC vem sendo relatado como consequência da formação de um complexo entre o nanomaterial e o íon metálico (XU *et al.*, 2014a). Esse comportamento pode ser atribuído à transferência de carga entre os grupos funcionais presentes na superfície dos PC (O–H, N–H, C–H, C–N, C=C, C–O–C) e o íon cobre(II), como referenciado anteriormente (DONG *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2014; GEDDA *et al.*, 2016). No estudo em questão, a formação do complexo entre o íon Cu(II) e os grupos aminas presentes na superfície dos PC é apontada como responsável pela diminuição na intensidade de fluorescência.

4.6. Obtenção da curva analítica

As análises de cobre(II) foram realizadas pelo emprego do método de calibração externa. A curva de calibração é o método de quantificação que consiste na determinação de uma resposta instrumental às várias concentrações avaliadas de um analito em estudo. A linearidade da curva é um importante parâmetro em um método analítico, pois define sua capacidade de fornecer respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de cobre(II). A correlação entre o sinal instrumental medido e a concentração é obtida experimentalmente analisando soluções de diferentes concentrações em uma faixa de concentração de interesse na pesquisa. A faixa de resposta obtida pela regressão linear da curva é considerada linear quando seu coeficiente (R^2) é igual ou superior a 0,90 (ANVISA, 2003).

A resposta instrumental de interesse nesse estudo foi a intensidade de emissão de fluorescência apresentada pelos PC na presença de íons Cu(II). Uma curva analítica foi construída para as concentrações 0,5; 1,0; 3,0; 5,0 e 10 mg L⁻¹ de cobre(II), a partir dos espectros de fluorescência obtidos pelo método proposto. A figura 8 mostra que a curva analítica apresenta um comportamento linear entre o valor da relação de fluorescência e a concentração de cobre das soluções padrão.

Figura 8. Curva analítica para a determinação de cobre(II) em cachaças.

Com a curva analítica, foi possível calcular para o método proposto os valores do limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e sensibilidade. Os valores estimados para essas características de desempenho são mostrados na tabela 4.

Tabela 4. Características de desempenho para o método proposto.

LOD (mg L ⁻¹)	0.36
LOQ (mg L ⁻¹)	1.18
Sensibilidade	0,2125

O limite de detecção (LOD) pode ser entendido como a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada por um dado método analítico, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais estabelecidas. Essa figura de mérito é definida em termos do desvio-padrão de medidas do branco. Já o limite de quantificação (LOQ) é a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, sob as condições experimentais adotadas (Holler *et al.*, 2009).

Outro parâmetro importante avaliado foi a sensibilidade apresentada pela curva analítica, este parâmetro representa a variação da resposta instrumental em função da concentração do analito e pode ser expresso pela inclinação da curva de regressão linear ($m = 0,2125$).

4.7. Análise das amostras

Considerando o que foi exposto nas seções anteriores, o método se encontra adequado para a determinação de Cu(II) nas amostras de cachaça artesanal pelo método proposto. A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos para determinação de Cu(II) em cinco amostras empregando o método especfluorimétrico com os PC e o método de absorção atômica em forno de grafite, com análises realizadas em triplicata.

Tabela 5. Resultados da determinação do Cu(II) em amostras de cachaça artesanal pelo método proposto e de referência.

Amostras	Concentração de Cu(II) (mg L ⁻¹) ± DP ^a	
	Método PC	Método Ref.
A	3,6 ± 1,4	3,3 ± 0,9
B	1,9 ± 1,1	1,5 ± 0,5
C	N.D. ^b	0,8 ± 0,3
D	2,1 ± 0,8	2,3 ± 0,8
E	4,8 ± 1,5	5,4 ± 1,2

^aDP – Desvio Padrão das replicatas (N = 3).

^bN.D – Não detectado

Os resultados obtidos empregando os PC quando comparados com o método de referência, apresentam desempenho semelhante.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, buscou-se o aproveitamento das características dos PC para o desenvolvimento de um novo método sensível, baseado na supressão de fluorescência para determinação de cobre em amostras de cachaças artesanais. Fazendo uso da *Opuntia inermis* como precursor carbonáceo para a síntese do nanomaterial.

Diante dos resultados obtidos, pode-se confirmar a formação dos pontos de carbono fluorescentes pelo método proposto, sugerindo a síntese por carbonização hidrotérmica em baixa temperatura em forno micro-ondas como uma alternativa versátil aos métodos de síntese convencionais. Os PC sintetizados apresentaram uma considerável emissão de

fluorescência e rendimento quântico, o que é atribuído a dopagem feita com o tampão amoniacal com EDTA como agente estabilizante.

Algumas características óticas e morfológicas dos PC do ponto de vista analítico foram apresentadas. A banda de absorção observada em torno de 240 nm, atribuída às transições $n-\pi^*$ e $\pi-\pi^*$ provenientes das ligações C=O e C=C, é uma característica comumente apresentada pelos PC. Bem como o prolongamento dessa banda em direção à região do visível. A caracterização morfológica também sinalizou tamanho e forma desse nanomaterial conforme indicado pela literatura.

A correlação entre a intensidade de fluorescência das soluções PC-Cu(II) com concentração de Cu(II) presente, expõe o sucesso do nanomaterial como sensor químico e reagente fluorescente. Essa correlação é sustentada pelo comportamento linear apresentado pela curva analítica. O mecanismo de extinção da fluorescência pode ser atribuído as interações entre os grupos presentes na superfície dos PC com os íons Cu(II), conforme relatado na literatura.

Os valores de LOQ e LOD encontrados sinalizam uma flutuação considerável nos valores do branco, o que pode ser explicada pela composição orgânica facilmente degradável dos PC. O que se mostra um obstáculo para garantir a reprodutividade e confiança dos resultados alcançados. Ainda que exista essa dificuldade, os pontos de carbono a partir da palma forrageira mostraram-se um reagente versátil para determinação de concentrações de cobre, o que torna o método proposto uma alternativa a ser mais explorada.

REFERÊNCIAS

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos.** Resolução – RE Nº 899, de 29 de maio de 2003.

ARESTA, M.; BOSCOLO, M.; FRANCO, D. W. **Copper(II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 49, 2819-2824, 2001.

AZEVEDO, S.M. *et al.* **Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, 27, 3, 618- 624, 2011.

BAKER, S. N.; BAKER, G. A. **Luminescent carbon nanodots:** emergent nanolights. Angewandte Chemie International Edition, 49, 6726-6730, 2010.

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. Materials Science and Engineering C, 47, 325-332, 2015.

BEATTIE J. K.; POLYBLANK, G. A. **Copper-catalyzed oxidation of cyanide by peroxide in alkaline aqueous solution.** Australian Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 861-868, 1995.

BEZERRA, C. W. B. Caracterização química da aguardente de cana-de açúcar: determinação de álcoois, ésteres e dos íons Li^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} e Hg^{2+} . São Carlos, 1995. 53 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

BRASIL. Decreto nº 4.062, de 21 de Dezembro de 2001. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E. A. M. Brasil: Presidência da República - Casa Civil. Decreto nº 4.062 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto no. 2314, de 04 de setembro de 1997. Publicado no Diário Oficial da União de 05/09/1997, Brasília, seção 1, p.19549.

CHAVES, J. B. P.; FERNANDES, A. R.; SILVA, C. A. da. **Produção artesanal de cachaça de qualidade (Capacidade 3000 litros por dia). Projetos de Empreendimentos Agroindustriais** - Produtos de origem Vegetal: Editora UFV. Ed. 1, Capítulo 3, 59-118, 2003.

DAS, R., BANDYOPADHYAY, R., PRAMANIK, P. **Carbon quantum dots from natural resource:** A review. Materials Today Chemistry, 8, 96-109, 2018.

DE, B.; KARAK, N. **A green and facile approach for the synthesis of water soluble fluorescent carbon dots from banana juice.** RSC Advances, 3, 8286-8290, 2013.

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.

DODEIGNE, C.; THUNUS, L.; LEJEUNE, R. **Chemiluminescence as diagnostic tool**. A review. *Talanta*, 51, 415–439, 2000.

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**. *Analytical Chemistry*, 84, 6220-6224, 2012.

FARIAS FILHO, B. B. Mecanização das medidas em ring oven por espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS): determinação de cobre em cachaça e identificação de origem. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. – Campinas, SP : [s.n], 2014.

FISCHER, G.; GEITH, J; KLAPOTKE, T. M.; KRUMM, B. **Synthesis, Properties and Dimerization Study of Isocyanic Acid**. *Z. Naturforsch.* 57, 19–24, 2002.

FRANÇA, N.; SÁ, O. R. de; FIORINI, J. E. **Avaliação da qualidade da cachaça artesanal produzidas no município de Passos (MG)**. *Ciência et Praxis* v. 4, n. 7, 2011.

GANIGA, M., CYRIAC, J. **FRET based ammonia sensor using carbon dots**. *Sensors and Actuators B*, 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**. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 224, 396-403, 2016.

GUO, Y.; ZHANG, L.; ZHANG, S.; YANG, Y.; CHEN, X.; ZHANG, M. **Fluorescent carbon nanoparticles for the fluorescence detection of metals ions**. *Biosensors and Bioelectronics*, 63, 61-71, 2015.

HIMAJA, A. L.; KARTHIK, P. S.; SINGH, S.P. **Carbon Dots: The Newest Member of the Carbon Nanomaterials Family**. *The Chemical Record*, 46, 33-35, 2015.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6ª edição, Porto Alegre, Bookman, 2009.

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 fluorescent of carbon dots-Cu (II) system**. *Food Chemistry*, 202, 81-87, 2016.

HSU, P.C.; SHIH, Z.Y.; LEE, C.H.; CHANG, H.T. **Synthesis and analytical applications of photoluminescent carbon nanodots**. *Green Chemical*, 14, 917-920, 2012.

HU, B.; WANG, K.; WU, L.; YU, S. H.; ANTONIETTI, M.; TITIRICI, M. M. **Engineering carbon materials from the hydrothermal carbonization process of biomass**. *Advanced Materials*, 22, 813-828, 2010.

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 Journal Chemical*, 38, 784-789, 2014.

_____. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, 29 jun. 2005.

KÜCHLER, I. L. & SILVA, F. A. M. **Método potenciométrico para determinação de cobre em cachaça**. *QUÍMICA NOVA*, 22, 3, 339-341, 1999.

KUMAR, P.; KIM, K. H.; DEEP, A. **Recent advancements in sensing techniques based on functional materials for organophosphate pesticides**, *Biosensors and Bioelectronics* 70, 469-481, 2015.

LI, H.; HE, X.; KANG, Z.; HUANG, H.; LIU, Y.; LIU, J.; LIAN, S.; TSANG, C.H. A.; YANG, X.; LEE, S.T. **Water-soluble fluorescent carbon quantum dots and photocatalyst design**. *Angewandte Chemie International Edition*, 49, 4430-4434, 2010.

LI, H.; HE, X.; KANG, Z.; HUANG, H.; LIU, Y.; LIU, J.; LIAN, S.; TSANG, C. H. A.; LANG, X.; LI, H.; ZHANG, Y.; WANG, L.; TIAN, J.; SUN, X. **Nucleic acid detection using carbon nanoparticles as a fluorescent sensing platform**. *Chemical Communication*, 47, 961-963, 2011.

LI, H.; KANG, Z.; LIU, Y.; LEE, S. T. **Carbon nanodots: synthesis, properties and applications**. *Journal Material Chemical*, 22, 24230-24253, 2012.

LIM, S.Y.; SHEN, W.; GAO, Z. **Carbon quantum dots and their applications**. *Chemical Society Review*, 44, 362-381, 2014.

LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. **A aguardente e o controle químico de sua qualidade**. *Engarrafador Moderno*, São Caetano do Sul, 4, 33, 5-8, 1994.

LIN, Z.; XUE, W.; CHEN, H.; LIN, J. M. **Classical oxidant induced chemiluminescence of fluorescent carbon dots**. *Chemical Communication*, 48, 1051-1053, 2012.

LIU, S.; TIAN, J.; WANG, L.; ZHANG, Y.; QIN, X.; LUO, Y.; ASIRI, A. M.; AL-YOUBI, A.O.; SUN, X. **Hydrothermal treatment of grass: a low-cost, green route to nitrogen-doped, carbon-rich, photoluminescent polymer nanodots as an effective fluorescent sensing platform for label-free detection of Cu(II) ions**. *Advanced Materials*, 24, 2037-2041, 2012.

MIRANDA, M. B.; MARTINS, N. G. S.; BELLUCO, A. E. S.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. **Qualidade química das aguardentes brasileiras de cana-de-açúcar.** Ciência e Tecnologia de Alimentos. 27(4), 897-901, 2007.

MONTEIRO, F. F.; TROUSDALE, E. K.; BISSON, L. F. **Ethyl carbamate formation in Wine:** use a radioactively labeled precursors to demonstrate the involvement of urea. American J. Enol. Vitic.40, 1, 1-8, 1989.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução à espectroscopia.** 1.ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 716 p.

PANTOJA, P. A. Caracterização do petróleo por técnicas espectroscópicas e sua utilização na avaliação e desenvolvimento de métodos de inferência em processo de refino. Tese de Doutorado. São Paulo: Escola politécnica – Universidade de São Paulo, 2010.

PETTEYS, B. J.; FRANK, E. L. **Rapid determination of vitamin B₂ (riboflavin) in plasma by HPLC.** Clin Chim Acta, 412 (1-2), 38-43, 2011.

PINTO, F. G.; ROCHA, S. S.; CANUTO, M. H.; HELMUTH, G. L. S.; SILVA, J. B. B. da. **Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz.** Revista Analytica, 17, 48-50, 2005.

PURBIA R., PARIA S. **A simple turn on fluorescent sensor for the selective detection of thiamine using coconut water derived luminescent carbon dots.** Biosens. Bioelectron. 79, 467-475, 2016.

QIAN, Z.S.; CHAI, L.J.; HUANG, Y.Y.; TANG, C.; SHEN, J.J.; CHEN, J.R.; FENG, H. **A real-time fluorescent assay for the detection of alkaline phosphatase activity based on carbon quantum dots.** Biosens. Bioelectron. 68, 675-680, 2015.

ROCHA, S. A. N.; DANTAS, A. F.; JAEGER, H. V.; COSTA, A. C.; LEÃO, E. S.; GONÇALVES, M. R. **Spectrofotometric determination of copper in sugar cane spirit using biquinoline in the presence of ethanol and Triton X-100.** Spectrochim Acta A Mol Espectrosc Biomol. 71, 4, 1414-1418, 2008.

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. Chemical Communication, 48, 8835-8837, 2012.

SALEHIA, E.; EMAM-DJOMEHA, Z. et al. **Opuntia ficus-indica fruit gum: Extraction, characterization, antioxidant activity and functional properties.** Carbohydrate polymers, v. 206, p. 565-572, fev. 2018.

SHEN, Y.; GEE, M. Y.; GREYTAK, A. B. **Purification technologies for colloidal nanocrystals**. Chemical Communications, 53, 827-841, 2017.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

SOUZA, C. M. P. *Opuntia ficus-indica* (L) Mill: caracterização físico-química e avaliação do efeito antioxidante, antibacteriano, fotoprotetor e inibidor da tirosinase. Dissertação de mestrado, UFPE, Recife-PE, 2012.

SOUZA, M. T. F., ALMEIDA, C. A., SANTOS, E. A. L. B., FREITAS, T. K. F. S., MANHOLER, D. D., CARVALHO, G. M., GARCIA, J. C. **Extraction and use of *Cereus peruvianus* cactus mucilage in the treatment of textile effluents**. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 67, 174-183, 2016.

SUN, X.; LEI, Y. **Fluorescent carbon dots and their sensing applications**. Trends in Analytical Chemistry, 89, 163-180, 2017.

SUN, Y.; ZHOU, B.; LIN, Y.; WANG, W.; FERNANDO, K. A. S.; PATHAK, P.; MEZIANI, M. J.; HARRUFF, B. A.; WANG, X.; WANG, H.; LUO, P. G.; YANG, H.; KOSE, M. E.; CHEN, B.; VECA, M. V.; XIE, S. **Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence**. Journal of the American Chemical Society, 128, 7756-7757, 2006.

VARGAS, E. A.; GLÓRIA, M. B. A. **Determinação dos Teores de Cobre e Grau Alcoólico em Aguardentes de Cana Produzidas no Estado de Minas Gerais**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1995, 15, 43.

VARGAS, E. A.; GLÓRIA, M. B. A. **Determinação dos Teores de Cobre e Grau Alcoólico em Aguardentes de Cana Produzidas no Estado de Minas Gerais**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1995, 15, 43.

VOLPE, T. C. **Avaliação das características físico-químicas da cachaça industrial e artesanal comercializadas no centro norte paranaense**. 2013. 92 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

WAGGONER, D. J.; BARTNIKAS, T. B.; GITLIN, J. D. **The role of copper in neurodegenerative disease**. Neurobiology of Disease, 6, 221-230, 1999.

WANG, Y.; HU, A. **Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications**. Journal Material Chemical C, 2, 6921-6925, 2014.

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, 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.** Analytical Methods, 6, 2086-2090, 2014a.

XUE, M.; ZHANG, L.; ZOU, M.; LAN, C.; ZHAN, Z.; ZHAO, S. **Nitrogen and sulfur co-doped carbon dots: A facile and green fluorescence probe for free chlorine.** Sensors and Actuators B: Chemical, 219, 50-56, 2015.

ZHOU, Z. M.; ZHOU, J.; CHEN, J.; YU, R. N.; ZHANG, M. Z.; SONG, J. T.; ZHAO, Y. D. **Carcino-embryonic antigen detection based on fluorescence resonance energy transfer between quantum dots and graphene oxide.** Biosensors and Bioelectronics, 59, 397-403, 2014.

ZUO, J.; JIANG, T.; ZHAO, X.; XIONG, X.; XIAO, S.; ZHU, Z. **Preparation and Application of Fluorescent Carbon Dots.** Journal of Nanomaterials, 15, 13p, 2015.