



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**FERNANDO LUCIANO ALVES DE SOUZA**

**ESTUDO DE TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA MINIATURIZADAS  
PARA MONITORAMENTO DE HALOANISÓIS EM VINHOS E DE VERDE  
MALAQUITA EM ÁGUAS**

**Recife**

**2022**

**FERNANDO LUCIANO ALVES DE SOUZA**

**ESTUDO DE TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA MINIATURIZADAS  
PARA MONITORAMENTO DE HALOANISÓIS EM VINHOS E DE VERDE  
MALAQUITA EM ÁGUAS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Química Fundamental da  
Universidade Federal de Pernambuco,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de doutor em química. Área de  
concentração: química analítica.  
Correspondente ao indicado na ata de  
defesa**

**Orientadora: Prof. Dra. Ana Paula Silveira Paim.**

**Coorientador: Prof. Dr. José Licarion Pinto Segundo Neto**

**Recife**

**2022**

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Nataly Soares Leite Moro, CRB4-1722

S729e Souza, Fernando Luciano Alves de  
Estudo de técnicas de preparo de amostra miniaturizadas para monitoramento de haloanisóis em vinhos e de verde malaquita em águas / Fernando Luciano Alves de Souza. – 2022.  
107 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Ana Paula Silveira Paim.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química, Recife, 2022.  
Inclui referências e apêndice.

1. Química analítica. 2. MCR-ALS. 3. Cromatografia líquida. 4. Análise de imagens. I. Paim, Ana Paula Silveira (orientadora). II. Título.

543

CDD (23. ed.)

UFPE- CCEN 2023 - 009

**FERNANDO LUCIANO ALVES DE SOUZA**

**Estudo de técnicas de preparo de amostra miniaturizadas para monitoramento de haloanisóis em vinhos e de verde malaquita em águas.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovada em: 29/07/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Ana Paula Silveira Paim (Orientadora)**  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Prof. Aderval Severino Luna**  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

---

**Prof. Jemmyson Romário de Jesus**  
Universidade Federal de Viçosa

---

**Prof. Severino Alves Júnior**  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Prof. Vagner Bezerra dos Santos**  
Universidade Federal de Pernambuco

## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer primeiramente a Deus pela saúde e paz das quais sempre desfrutei e consequentemente pude sempre buscar meus objetivos e vencer os obstáculos que a vida normalmente provê na sua mais pura naturalidade.

Agradeço à minha família, à minha mãe Maria das Graças Santos de Souza pelo amor imensurável e apoio em tudo que decidi fazer na vida.

À minha orientadora Ana Paula Silveira Paim pela eterna paciência, educação e apoio sempre que precisei.

Ao meu co-orientador José Licarion Pinto Segundo Neto pelo suporte e disponibilidade sempre que precisei.

À professora Maria da Conceição Branco, Célia Gomes Amorim e ao professor Alberto Araujo da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto- Portugal.

Aos amigos do LEA pela boa convivência, carinho e apoio nas pesquisas.

Aos amigos de infância que mesmo distantes sempre contribuíram para meu conforto e sempre me apoiaram.

Agradeço de maneira geral ao povo recifense que me acolheu com muito carinho e me fez sentir em casa.

A todos os funcionários do Departamento de Química Fundamental pela amizade e apoio.

Ao CNPq à CAPES e à UFPE pelo financiamento e suporte.

## RESUMO

Este trabalho propõe a aplicação da Microextração Líquido-Líquido Dispersiva utilizando líquidos iônicos (IL-DLLME) como solventes extratores para a pré-concentração e extração dos analitos 2,6-dicloroanisol, 2,4,6-tricloroanisol, 2,3,5,6-tetracloroanisol e 2,3,4,5,6-pentacloroanisol em amostras de vinhos. Propõe-se também, tratamento quimiométrico dos resultados cromatográficos usando a Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS) para a eliminação dos sinais interferentes através da vantagem de segunda ordem. Na avaliação dos parâmetros, o volume de bis(trifluorometilsulfonyl)imidato de ácido 2(2-(3-metilimidazol-1- il)etoxi)carboxílico benzoico que proporcionou a maior eficiência de extração foi de 40  $\mu\text{L}$  juntamente com o pH 8 e adição de NaCl 10% (m/v). O maior fator de enriquecimento encontrado foi de 19,8 e a eficiência de recuperação foi de 15,8 %. Foi possível constatar a eficiência do tratamento quimiométrico na recuperação qualitativa e quantitativa dos sinais dos analitos para as análises que apresentaram interferência proveniente do líquido iônico. Também foi proposto o uso de nanofibras de poli-imida para adsorção e determinação de verde malaquita (VM) em água por análise de imagem como detecção. O método empregou as nanofibras como adsorvente e obteve-se limite de detecção de 0,013  $\text{mg L}^{-1}$  de VM intervalo linear de 0,05 a 0,3  $\text{mg L}^{-1}$  de VM ( $R^2 = 0,9970$ ) e o desvio padrão ( $n = 9$ ) variou de 1,01 a 3,92 %. A exatidão foi medida através de estudo de recuperação em amostras de água e foram obtidas porcentagens de recuperação que variaram de 96,6 a 102,0 %. Nos ensaios de seletividade, os resultados indicaram a interferência apenas para compostos (corantes) da mesma família do VM, como o cristal violeta. O método se mostrou robusto e adequado para o monitoramento rápido e confiável do VM em água.

**Palavras-chave:** MCR-ALS; cromatografia líquida; análise de imagens.

## ABSTRACT

In this work, a chemometric approach based on an analytical curve resolution algorithm was used for mathematical cleanup to eliminate the interferences from the ionic liquid (IL) used in the extraction method (IL-DLLME). Where the in-situ synthesis of the IL and the extraction of the analytes occurred simultaneously. The chemometric approach makes possible the use of many ionic liquids as extractor solvents regardless their interference on the analytical signals and has been applied successfully for the mathematical separation of the haloanisoles' analytical signals in spiked samples of wine from the interferences of the IL with high predictability, presenting linear correlation coefficients of about 0.999.

Malachite green (MG) is a triphenylmethane cationic dye used in aquaculture practice, although it has been banned in several countries. The illegal use by fish producers, however, persists due to its effectiveness, ready and cheap supply. To prevent indiscriminate applications, strict control measures with simple analytical approaches are therefore necessary. With this purpose, a novel, cheap and simple method applying electrospun polyimide nanofibers was developed and validated for MG control in water by color image analysis. For detection a simple apparatus and ImageJ® software to treat images captured by common smartphones were used. Detection limit of 0.013 mg L<sup>-1</sup> with a linear analytical response range within the concentration of 0.05 to 0.3 mg L<sup>-1</sup> of malachite green (MG) with a correlation coefficient of 0.997 and standard deviation (n=9) varying from 1.01 to 3.92 % was achieved with the proposed method. Accuracy was assessed by recovery assays in water samples and percentages of 96.6 to 102.0 % were obtained. The method is robust and suitable for the rapid and reliable monitoring of MG in water.

**Keywords:** MCR-ALS; liquid chromatography; image analyses.

## LLISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Mapa da região vinícola do vale do São Francisco. Fonte: [https://www.academiadovinho.com.br/\\_\\_mod\\_regiao.php?reg\\_numero=BR04](https://www.academiadovinho.com.br/__mod_regiao.php?reg_numero=BR04). 16
- Figura 2- Origem ambiental dos clorofenóis e cloroanisóis contaminando a cortiça, a madeira e outros materiais. PCF: pentaclorofenol, TCF: triclorofenol, TCA: tricloroanisol. 18
- Figura 3- Estruturas dos principais haloanisóis encontrados no ambiente.. 18
- Figura 4- Estruturas de alguns cátions e ânions usados na síntese de líquidos iônicos (Cassol, 2007). 21
- Figura 5- Rotas das reações para formação de líquidos iônicos.. 22
- Figura 6- Esquema da formação de gotículas do solvente extrator em solução. 25
- Figura 7- Representação esquemática das etapas do procedimento de extração IL-DLLME. 26
- Figura 8- Representação da estrutura do cloreto verde malaquita (a) e do verde leucomalaquita (b).. 30
- Figura 9- Esquema da fabricação de nanofibras por eletrofiação.. 33
- Figura 10- Esquema da produção de fibras por derretimento.. 34
- Figura 11- Esquema da cominação das técnicas de derretimento e eletrofiação para a fabricação de compósitos.. 35
- Figura 12- Formas possíveis para diagramas  $q_e$  versus  $t$  em processos de adsorção. 38
- Figura 13- Representação tridimensional do sistema RGB.. 42
- Figura 14- Esquema de como obter os valores para os histogramas dos canais R,G e B utilizando o programa ImageJ®. 48
- Figura 15- Histograma em forma de sino de uma imagem homogênea (a). Histograma de uma imagem heterogênea (b).. 49
- Figura 16- Esquema da construção do dispositivo para adsorção do verde malaquita. Folha com furos de 3,0 mm (a). Folha com os discos de 5,0 mm sobre os furos (b). Sobreposição da segunda folha (sem furos) sobre a primeira para o selamento (c). Discos selados antes do processo de adsorção (esquerda) e depois (direita) (d). 59
- Figura 17- Esquema da caixa utilizada para a aquisição das imagens com destaque para parte interior pintada de preto com fitas de LED e furo

- na tampa(a). Esquema mostrando a aquisição das imagens com aparelho celular e posicionamento do dispositivo com a nanofibra dentro da caixa (b). 61
- Figura 18- Passos para selecionar a área central da imagem (a) e resultado após a seleção (1). Passos para corrigir a luz de fundo da imagem (b) e resultado após a correção (2). 61
- Figura 19- Cromatograma de amostra fortificada com solução padrão dos analitos DCA (azul), TCA (vermelho), TeCA (verde) e PCA (ciano) a 3 mg L<sup>-1</sup>. Eluição isocrática com 90 % acetonitrila e 10% água deionizada. Fluxo de 1 ml min<sup>-1</sup>, temperatura de 35 °C e tempo total de 8 min. Absorbância em 210 nm. 63
- Figura 20- Líquido iônico formado em solução hidroalcolica (a) e em amostra de vinho tinto (b). 64
- Figura 21- Cromatogramas em 3D para os padrões (a), extração com volume de 20 µL (b), 40 µL (c) e 60 µL de LI. 66
- Figura 22- Variação do fator de enriquecimento e da eficiência de recuperação em função do pH do meio. 67
- Figura 23- Cromatogramas em 3D para a adição de NaCl a 15 (a) e 20 % (m/v) (b). 68
- Figura 24- Variação do fator de enriquecimento e da eficiência de recuperação em função da adição de NaCl. 69
- Figura 25- Cromatogramas típicos para as três amostras de vinho fortificadas com 3,0 mgL<sup>-1</sup> de todos os analitos (DCA, TCA, TeCA e PCA). Vinho rosé (azul), vinho tinto 1 (vermelho) e vinho tinto 2 (verde). 71
- Figura 26- Cromatogramas para as 3 amostras de vinho rosé (a), tinto 1 (b) e tinto 2 (c) fortificadas a 3,0 mg L<sup>-1</sup> dos analitos DCA (azul), TCA (vermelho), TeCA (verde) e PCA (ciano). A linha cinza representa a interferência. Foi utilizada eluição isocrática com 90 % B e 10% A e tempo total de 16 min. Fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> e temperatura a 35 °C. 73
- Figura 27- Porcentagem de adsorção em função do tempo utilizando massa de 2,0 mg de poli-imida para a concentração de 7 mgL<sup>-1</sup> de verde malaquita. Temperatura 20 °C. 75

- Figura 28- Isoterma obtida para o processo de adsorção de 40 mL de solução verde malaquita em contato com 2,0 mg de poli-imida. Temperatura 20 °C. 76
- Figura 29- Resultados para os canais (RGB) em função da velocidade de agitação de solução padrão 0,1 mg L<sup>-1</sup> de verde malaquita para adsorção em poli-imida a 20 °C. 77
- Figura 30- Resultados dos valores dos canais (RGB) em função do pH da solução padrão de verde malaquite. Volume de 50,0 mL a 0,1 mg L<sup>-1</sup>. Agitação de 250 rpm por 60 minutos. Temperatura de 20 °C. 78
- Figura 31- Curva de titulação potenciométrica do verde malaquita 0,1 mg L<sup>-1</sup> (a) e segunda derivada representando o volume de neutralização (b). 78
- Figura 32- Ponto de carga zero (pHPZC) da nanofibra de poli-imida como adsorvente. 79
- Figura 33- Espectro de infravermelho obtido para o verde malaquita antes da adsorção (a) e após a adsorção (b) com a nanofibras de poli-imida. 80
- Figura 34- Estruturas moleculares da poli-imida e do verde malaquita e possíveis interações entre os mesmos no processo de adsorção por interação  $\pi$ - $\pi$  através do carbono da amina aromática (a) e através do anel benzênico (b). 81
- Figura 35- Variação da intensidade da cor ciano em função do canal vermelho quando os canais verde (G) e azul (B) se mantêm constantes. A (0,255,255). B (75,255,255). C (150,255,255). D (225,255,255). 82
- Figura 36- Curva analítica para a concentração do verde malaquita em função do canal vermelho, onde  $R = -\log \frac{I}{I_0}$  83
- Figura 37- Porcentagem de recuperação do verde malaquita (MG) na presença de cristal violeta e alaranjado de metila. 86

## LISTA DE TABELAS

Quadro 1- Características dos sistemas de cores derivados do sistema RGB.	43
Tabela 1- Reagentes utilizados no desenvolvimento da pesquisa.	56
Tabela 2- Fatores de enriquecimento (FE) e eficiência de recuperação (%Rec) para cada analito utilizando volume de LI de 40 $\mu$ L.	65
Tabela 3- Resumo dos parâmetros estudados e selecionados na eficiência de extração IL-DLLME de DCA, TCA, TeCA e PCA em amostras de vinhos.	69
Tabela 4- Figuras de mérito e concentrações preditas dos analitos.	70
Tabela 5- Eficiência de extração e fator de enriquecimento para cada amostra obtidos por calibração univariada.	72
Tabela 6- Eficiência de extração e fator de enriquecimento para cada amostra obtidos por calibração multivariada.	73
Tabela 7- Resultado dos ensaios de adsorção para as nanofibras de diferentes materiais poliméricos e a presença ou não de coloração.	74
Tabela 8- Parâmetros das modelagens de Langmuir e Freundlich para o processo de adsorção de verde malaquite em nanofibra de poli-imida.	76
Tabela 9- Valores de pKa para o verde malaquita. Temperatura de referência = 25°C e temperatura ambiente = 28°C.	79
Tabela 10- Figuras de mérito para do método analítico para quantificação de verde malaquita em águas.	83
Tabela 11- Comparação do método proposto aos métodos similares para determinação de VM em água.	85
Tabela 12- Teores de verde malaquita adicionado em amostra de água de rio, porcentagens de recuperação e desvio padrão relativo (RSD).	87

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
1.1	Haloanisóis em vinhos	13
1.2	Corantes em água	13
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>16</b>
2.1	Haloanisóis em vinhos	16
2.1.1	<i>A origem dos contaminantes</i>	17
2.1.2	<i>Líquidos iônicos</i>	20
2.1.3	<i>Solubilidade dos líquidos iônicos</i>	23
2.1.4	<i>Microextração Dispersiva Líquido-Líquido baseada em Líquido Iônico (IL-DLLME)</i>	24
2.1.5	<i>Tratamento quimiométrico</i>	27
2.2	Verde malaquita (VM) em águas	29
2.2.1	<i>Nanofibras e microfibras e suas potenciais aplicações</i>	31
2.2.2	<i>O processo de adsorção</i>	35
2.2.3	<i>Imagens digitais</i>	41
2.2.4	<i>Processamento de imagens digitais</i>	44
2.3	Parâmetros analíticos	49
2.3.3	<i>Validação</i>	50
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>55</b>
3.1	Geral	55
3.2	Específicos	55
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>56</b>
4.1	Instrumentação	57
4.2	Amostras	57
4.3	Método de extração utilizando LI (IL-DLLME)	58
4.4	Condições cromatográficas	58
4.5	Estudos de adsorção e otimização de parâmetros	58
4.6	Preparo do dispositivo	58
4.7	Estudo do efeito da agitação	59
4.8	Estudo do efeito do pH	59
4.9	pka do verde malaquita em solução aquosa	60
4.10	Ponto de carga zero (Pzc)	60
4.11	Captura e tratamento das imagens	60

4.12	Figuras de mérito	62
5	<b>RESLTADOS E DISCUSSÃO</b>	63
5.1	<b>Parte I – Determinação de Haloanisóis em Vinhos</b>	63
5.1.2	<i>Calibração</i>	63
5.1.3	<i>Preparação do LI por reação de metátese in-situ</i>	64
5.1.4	<i>Estudo dos fatores que influenciam a extração</i>	64
5.1.4.1	Efeito do volume de líquido iônico	65
5.1.4.2	Efeito do pH	67
5.1.4.3	Efeito da força iônica	67
5.2	<b>Modelo quimiométrico usando MCR-ALS</b>	70
5.2.1	<i>Análise de amostras reais</i>	71
5.3	<b>Parte 2 – Determinação de verde malaquita em águas</b>	74
5.3.1	<i>Estudos preliminares das nanofibras</i>	74
5.3.2	<i>Estudo de adsorção do verde malaquita</i>	74
5.3.3	<i>Efeito do pH</i>	77
5.4	Figuras de mérito	81
5.5	Análise em amostra real	87
6	<b>PERSPECTIVAS</b>	88
7	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	89
	<b>REFERÊNCIAS</b>	91
	<b>APÊNDICE A - ARTIGOS PUBLICADOS</b>	107

## **1 INTRODUÇÃO**

Análises químicas geralmente constituem processos complexos envolvendo várias etapas. Apesar da diversidade de métodos analíticos e analitos a serem determinados, a maioria desses métodos requer o uso de reagentes que podem ser mais tóxicos e produz um montante significativo de resíduo. Algumas alternativas a esses métodos podem ser aplicadas não somente no sentido de serem mais ambientalmente amigáveis, mas também por serem mais sensíveis, apresentarem baixo custo, simplicidade e agilidade. Nesse sentido, o uso de métodos miniaturizados se torna importante para o tratamento de amostras que podem ser complexas, como amostras de águas e bebidas (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

### **1.1 Haloanisóis em vinhos**

Os chamados vinhos tropicais são produzidos em latitudes mais baixas, entre os trópicos de câncer e capricórnio, e definidos como aqueles obtidos de uvas produzidas em regiões onde é possível obter mais de um ciclo anual da videira com uma ou mais colheitas por ano. A produção explora a tropicalidade de cada região produtora e se adapta a suas características tropicais. Mais de dez países em diferentes continentes usufruem da produção de vinhos tropicais, destacando-se, na América do Sul, Brasil, Venezuela, Peru e Equador (MORAIS et al., 2022).

Os defeitos sensoriais do vinho são os principais responsáveis pelas perdas econômicas ocorridas na indústria vitivinícola (SEFTON E SIMPSON, 2005). Os principais defeitos sensoriais estão relacionados a problemas microbiológicos e químicos, tais como o “gosto a rolha” ou, mais corretamente, aromas fúngicos (mofo). Este defeito sensorial ocorre quando o vinho entra em contato com produtos ou atmosferas contaminadas por organohalogenados como cloroanisóis, bromoanisóis e os seus precursores, os clorofenóis. Os principais haloanisóis identificados como agentes contaminantes do vinho são os cloroanisóis e os bromoanisóis, entre eles o tricloroanisol (2,4,6-TCA), o tetracloroanisol (2,3,4,6-TeCA), o pentacloroanisol (PCA) e o tribromoanisol (2,4,6-TBA) (COQUE et al., 2006a; COQUE et al., 2006b).

### **1.2 Corantes em água**

O tingimento de tecidos é uma prática muito antiga que inicialmente utilizava corantes extraídos de fontes naturais de origem vegetal ou animal (KAMMRADT, 2004). A procura por maior variedade de corantes com propriedades específicas e mais baratos

levou ao surgimento dos corantes sintéticos, que hoje formam um grupo de mais de 8 mil compostos ou substâncias associadas à indústria têxtil (OLIVEIRA, 2007).

Entre os corantes sintéticos e de baixo custo está o verde malaquita (4-[(4-dimetilaminofenil)-fenil-metil]-N,N-dimetilanilina) que é um pigmento catiônico sintético classificado como trifenilmetano e usado para tingir seda, lã, juta, couro, algodão e papel. Também é usado em baixas concentrações como agente fungicida e antiprotozoário na aquicultura desde o início da década de 1930 (BILANDŽIĆ et al., 2012).

O verde leucomalaquita é formado pela redução metabólica do verde malaquita e é encontrado no tecido adiposo de animais expostos ao corante, geralmente peixes. Esse metabólito é excretado, e, conseqüentemente, pode ser também encontrado na água. Além disso, este composto tem toxicidade semelhante àquela apresentada pelo seu precursor, o verde malaquita (CULP et al., 2006).

O corante possui biodegradabilidade baixa e pode causar intoxicação aguda a um vasto grupo de animais, tanto aquáticos quanto terrestres, o que resulta em riscos à saúde pública e um potencial problema ambiental. Alguns efeitos toxicológicos já foram reportados em peixes, como carcinogênese, teratogênese, redução da fertilidade e insuficiência respiratória (BILANDŽIĆ et al., 2012; MIRZAJANI; AHMADI, 2015).

Em mamíferos, além de efeitos teratogênicos e carcinogênicos pode-se citar: alterações renais em coelhos; redução do crescimento e da fertilidade em ratos; danos ao fígado, baço, rim e coração; lesões de pele, olhos, pulmões e ossos (BILANDŽIĆ et al., 2012; SRIVASTAVA; SINHA; ROY, 2004).

Este trabalho teve como objetivo principal investigar a presença e concentração de haloanisóis nos vinhos produzidos no Vale Submédio do São Francisco através da técnica de microextração líquido-líquido dispersiva empregando líquidos iônicos como solventes extratores (IL-DLLME) com determinação por cromatografia a líquido de alta eficiência e detecção com arranjo de diodos (HPLC-DAD). Foi também avaliada a eficiência da calibração multivias por resolução multivariada de curvas por mínimos quadrados alternantes (MCR-ALS) na resolução de interferências nas análises cromatográficas. E, com o intuito de unir as vantagens da extração em fase sólida e da análise por imagem, neste trabalho também foi proposto um método de pré-concentração

do verde malaquita, na superfície de nanofibra de poli-imida com posterior determinação em amostras de águas, por análise de imagem.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Haloanisóis em vinhos

O cultivo da uva e a produção de vinho no semiárido brasileiro não se fazem importantes apenas pela sua grande capacidade de produção anual e melhoramento da qualidade dos vinhos produzidos. Além desses aspectos econômicos, deve-se vislumbrar a importância desse tipo de produção para o desenvolvimento social e científico da região e o fato de existirem vastas áreas verdes de plantações de uvas onde existiam apenas as vegetações típicas e improdutivas. Além disso, essa produção surpreendente no meio do semiárido e desperta a curiosidade de brasileiros e estrangeiros que visitam a área para conhecer e usufruir de passeios e visitas técnicas pelas vinícolas da região (TV BRASILGOV, 2019).

A região do Vale do São Francisco, situa-se entre Pernambuco e Bahia, Figura 1, e é responsável por 99% da exportação da uva de mesa e pela produção de cinco milhões de litros de vinho por ano, o que corresponde a 15% do mercado nacional. A região, emprega cerca de 30 mil pessoas (ARRUDA, 2019) e abrange os municípios de Casa Nova, Petrolina, Juazeiro, Santa Maria da Boa Vista, Curaçá e Irecê, sendo os três primeiros em Pernambuco e os demais na Bahia.

Figura 1- Mapa da região vinícola do vale do São Francisco.



Fonte: (ACADEMIA DO VINHO, 2022).

### **2.1.1 A origem dos contaminantes**

Inicialmente atribuía-se que a rolha era a única fonte de contaminação dos vinhos por haloanisóis. No entanto, alguns estudos (CSERJESI; JOHNSON, 1972), (FLODIN; WHITFIELD, 1999) realizados sobre a origem desses contaminantes no ambiente revelaram que a rolha é um dos destinos finais dos contaminantes e que deve ser levado em conta todo o ciclo de contaminação.

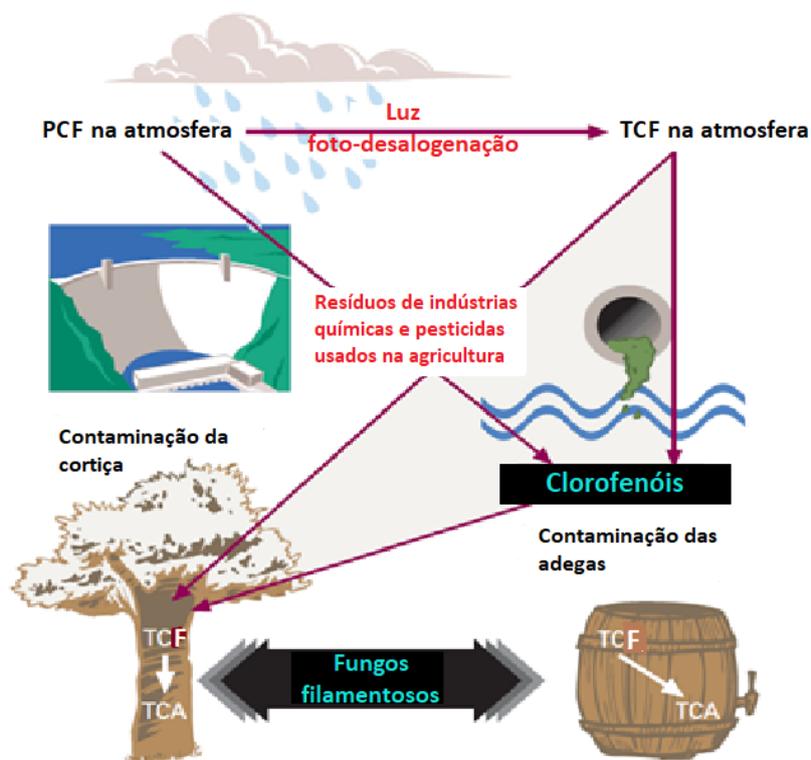
O aroma fúngico ou gosto de mofo dos vinhos é uma consequência da interação de micro-organismos presentes no ambiente com os halofenóis (pesticidas altamente tóxicos). Os micro-organismos (principalmente fungos filamentosos) executam um mecanismo de defesa conhecido como biometilação. A reação acontece quando esses fungos entram em contato com os halofenóis (principalmente clorofenóis e bromofenóis), que são amplamente usados como pesticidas e fungicidas. O resultado da biometilação é a transformação dos halofenóis em haloanisóis, que são compostos não-tóxicos (COQUE et al., 2006).

Os clorofenóis, em geral, não são compostos naturais e a principal razão de sua presença em adegas e nas placas de cortiça é o intenso uso do pentaclorofenol (PCF) e do triclorofenol (TCF) como pesticidas. Depois dos clorofenóis, os compostos mais comuns são os bromofenóis, que podem ser encontrados em ambientes marinhos, uma vez que são sintetizados por algas marrons (FLODIN; WHITFIELD, 1999). Os bromofenóis são também largamente produzidos por indústrias químicas e são aplicados como agentes antifúngicos e retardadores de chamas em madeiras, plásticos e tintas (CHATONNET; DUBOURDIEU, 1995).

A Figura 2 mostra um esquema de contaminação de vinhos considerando aspectos ambientais e os ciclos de biodegradação dos compostos primários. Todos esses fatores sobre a formação e o ciclo natural dos haloanisóis sugerem duas principais maneiras de contaminação do vinho:

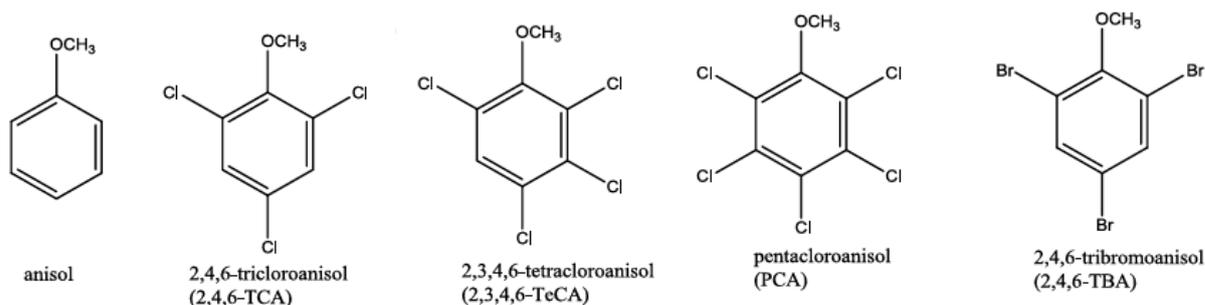
- 1- Contaminação da cortiça nas árvores de carvalho ou a contaminação das placas de cortiça nas instalações industriais;
- 2- Contaminação do vinho, ou da rolha, durante o armazenamento nas adegas. Nesse caso, a contaminação geralmente é oriunda das estruturas de madeira como parede, telhado, chão, barris e estantes.

Figura 2- Origem ambiental dos clorofenóis e cloroanisóis contaminando a cortiça, a madeira e outros materiais. PCF: pentaclorofenol, TCF: triclorofenol, TCA: tricloroanisol.



Fonte: (COQUE et al., 2006).

Os haloanisóis podem ser considerados como derivados do anisol (metoxibenzeno) contendo na molécula pelo menos um átomo de halogênio, o nome do composto é, então, dado em função dos halogênios presentes na estrutura e de suas respectivas quantidades. A Figura 3 mostra a estrutura dos principais haloanisóis encontrados no ambiente.



Fonte: (COQUE et al., 2006).

Os haloanisóis são poluentes muito significativos, capazes de suprimir os bons aromas e sabores do vinho. Eles produzem odores indesejáveis semelhantes ao mofo e ao sabor azedo-mofado. No caso do tribromoanisol, para nível de contaminação acima de  $20 \text{ ng L}^{-1}$ , além do intenso odor a mofo, o vinho também pode exibir caráter fenólico ou iodizado (CHATONNET et al., 2004). Outro fator importante sobre esses compostos é o baixíssimo limiar em soluções hidroalcoólicas suficiente para influenciar negativamente o sabor da bebida no intervalo de  $\text{ng L}^{-1}$ , o que faz com que pouquíssimas quantidades desses compostos sejam suficientes para diminuir a qualidade da bebida. Até a escrita deste texto, não foi encontrado literatura que estabeleça os limites máximos permitidos de haloanisóis em vinhos.

A investigação dos compostos causadores do sabor e odor a mofo nos vinhos iniciou-se em 1981 quando Tanner e colaboradores realizaram estudo utilizando microextração em fase sólida com determinação por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC-MS), tendo o tricloroanisol como analito alvo (TANNER et al., 1981). Um pouco mais tarde, em 1982, o mesmo grupo realizou novo trabalho identificando o tricloroanisol como o principal causador do “gosto de rolha”, utilizando o método tradicional de extração líquido-líquido também com determinação por GC-MS (BUSER; ZANIER; TANNER, 1982). Em seguida, Amon e colaboradores em 1989, também indicaram o tricloroanisol como principal contaminante dos vinhos (AMON et al., 1989). Além dos vinhos, os haloanisóis podem ser encontrados em diversos outros tipos de bebidas e alimentos. Em 1966, ENGEL e colaboradores detectaram tetracloroanisol (2,3,4,6-TeCA) em ovos. O pentacloroanisol foi encontrado em cama de galinha (do inglês, *pulp chips*) por CSERJESI E JOHNSON (1972). Tricloroanisol e tetracloroanisol foram também reportados como responsáveis pelo odor a mofo em frutas secas (WHITFIELD et al., 1985).

Naturalmente, com o passar do tempo, diferentes técnicas vêm sendo utilizadas para a extração e pré-concentração de haloanisóis, além da mudança das matrizes investigadas. Taylor e colaboradores realizaram trabalho de extração de tricloroanisol em rolhas utilizando extração com fluido supercrítico e determinação por GC-MS (TAYLOR et al., 2000). Soleas e colaboradores investigaram a presença de triclorocompostos tanto em rolhas quanto em vinhos com o objetivo de elucidar a causa potencial do sabor a mofo atribuído a certos vinhos (SOLEAS et al., 2002). Em 2004 e 2005 os grupos de Campillo,

Martínez-Uruñuela e Gómez-Ariza ampliaram a gama de trabalhos e métodos de investigação de haloanisóis. Diferentes estratégias de extração tem sido empregadas para determinar haloanisóis, como métodos de extração que utilizam pervaporização (GÓMEZ-ARIZA; GARCÍA-BARRERA; LORENZO, 2004), líquido pressurizado (GÓMEZ-ARIZA et al., 2005), sistemas de pré-concentração de purga e armadilha (CAMPILLO et al., 2004), microextração por fase sólida (*headspace*) (MARTÍNEZ-URUÑUELA; GONZÁLEZ-SÁIZ; PIZARRO, 2004), microextração líquido-líquido dispersiva (PIZARRO et al., 2010), sorção por barra de agitação (CACHO et al., 2014), microextração por fase sólida (*headspace*) assistida à vácuo (VAKINTI et al., 2019; PATI et al., 2021), microextração por fase sólida (*headspace*) e microextração líquido-líquido dispersiva (CACHO et al., 2016), uso de filme para sorção (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2021) e nariz eletrônico (SANTOS et al., 2022).

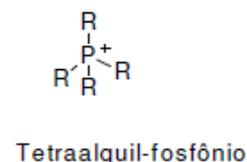
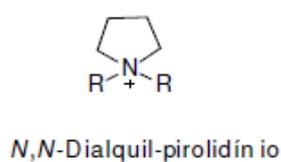
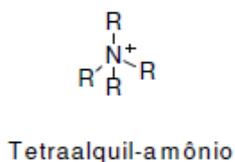
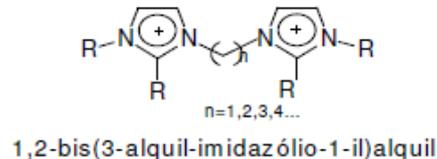
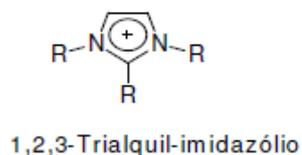
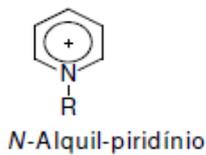
### 2.1.2 Líquidos iônicos

Diferentes definições são encontradas na literatura para os líquidos iônicos (LI), mas, geralmente são considerados como sais líquidos à temperatura ambiente que apresentam ponto de fusão abaixo de 100 °C ou sais fundidos que apresentam ampla faixa de temperatura na qual são líquidos (superior a 250 °C) (CONSORTI et al., 2001). Podem também, ser descritos como compostos que apresentam estrutura cristalina iônico-covalente (DUPONT; CONSORTI; SPENCER, 2000).

Grande quantidade de líquidos iônicos pode ser encontrada na literatura em função da variedade de cátions e ânions que podem ser utilizados com sucesso na síntese destes compostos. Os cátions geralmente são orgânicos como alquil-amônio, fosfônio, dialquil-imidazólio, trialquil-imidazólio e n-alquil-piridínio, enquanto que os ânions podem ser orgânicos ou inorgânicos tais como  $[\text{Cl}]^-$ ,  $[\text{BF}_4]^-$ ,  $[\text{PF}_6]^-$ ,  $[\text{NO}_3]^-$ ,  $[\text{CF}_3\text{COO}]^-$ ,  $[\text{SbF}_6]^-$ ,  $[\text{N}(\text{Tf}_2)]^-$ , etc. Pelo fato de serem constituídos por cátions e ânions relativamente grandes, os líquidos iônicos são capazes de dissipar a carga do composto, e, dessa forma, diminuir efetivamente a energia da rede cristalina de um possível sólido e se manterem no estado líquido mesmo a temperaturas abaixo de 100 °C (FREIRE et al., 2007). Na Figura 4 são mostradas algumas estruturas desses íons.

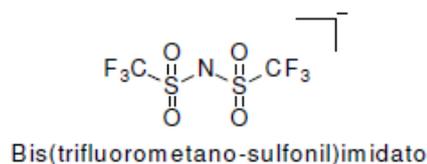
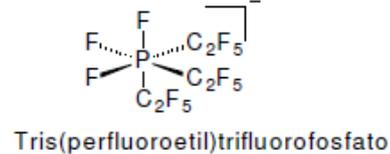
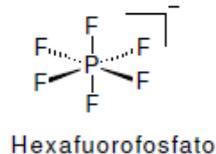
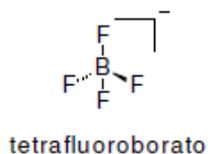
Figura 4- Estruturas de alguns cátions e ânions usados na síntese de líquidos iônicos.

Cátions:



em geral R=Me, Et, <sup>n</sup>Pr, <sup>n</sup>Bu, <sup>n</sup>Oct, <sup>n</sup>Dec, <sup>n</sup>Dodéc, MeOEt, Bz, etc.

Ânions:



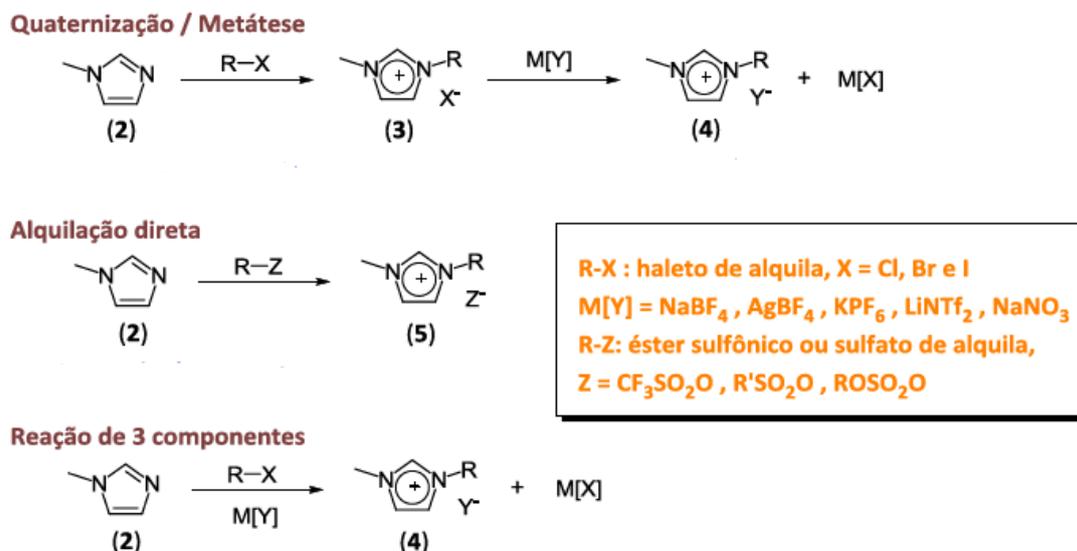
Fonte: (CASSOL, 2007).

Os líquidos iônicos podem ser usados como solventes em processos de extração e são considerados como solventes verdes que substituem vantajosamente os solventes orgânicos por possuírem características como: capacidade de permanecerem no estado líquido em grandes intervalos de temperaturas, baixa pressão de vapor, densidade maior que a da água e alta capacidade de solvatar compostos orgânicos, inorgânicos e organometálicos. Além disso, através do estudo de sua estrutura e de suas propriedades podem-se desenvolver líquidos iônicos ajustáveis às condições de trabalho e às necessidades requeridas. A escolha por diferentes substituintes alquila e/ou ânions possibilita grande mudança nas propriedades destes compostos como, hidrofobicidade, viscosidade, densidade, ponto de fusão e estabilidade química e térmica (CARDA-BROCH; BERTHOD; ARMSTRONG, 2003).

Os líquidos iônicos baseados no cátion 1,3-dialquil-imidazólio são os mais estudados e podem ser preparados de diferentes maneiras. A grande maioria das sínteses baseia-se em dois processos chamados de quaternização e metátese.

A Figura 5 mostra um esquema resumido das diferentes rotas de síntese de líquidos iônicos baseados no cátion 1,3-dialquil-imidazólio.

Figura 5- Rotas das reações para formação de líquidos iônicos.



Fonte: (DE LIMA, 2011).

Na quaternização é realizada a etapa de alquilação do metil-imidazol, que geralmente é o composto de partida, reagindo-o com um haleto de alquila formando o haleto de 1,3-dialquil-imidazólio. A metátese consiste na etapa de troca de ânions reagindo o haleto de 1,3-dialquil-imidazólio com um sal metálico do ânion desejado (LECOQC et al., 2005).

A síntese ainda pode ocorrer por alquilação direta, onde o metil-imidazólio reage com um éster sulfônico ou sulfato de alquila. Pode ocorrer também num sistema chamado de reação de pote único (reação de 3 componentes), onde os três reagentes (haleto de alquila, metil-imidazólio e sal metálico do ânion desejado) são colocados juntos para reagir de uma só vez (DE LIMA, 2011).

Os processos de extração seletiva que utilizam líquidos iônicos, valem-se das interações preferenciais estabelecidas entre o solvente e o soluto. Compostos aromáticos têm se mostrado mais solúveis em líquidos iônicos dada a ligação de hidrogênio

estabelecida entre ligações pi e hidrogênios ácidos do anel imidazólio (MATSUMOTO; INOMOTO; KONDO, 2005).

A capacidade dos líquidos iônicos em absorverem um composto é sensível tanto à estrutura do cátion quanto à do ânion. Em trabalho de extração de benzeno em n-octano (CASSOL., 2007) observou-se tendência crescente de extração dependente da natureza dos ânions, na seguinte ordem  $[\text{BF}_4]^- < [\text{CF}_3\text{SO}_3]^- < [\text{PF}_6]^- < [\text{N}(\text{Tf})_2]^- < [\text{PF}_3(\text{CF}_2\text{CF}_3)_3]^-$ . Esta tendência pode estar relacionada à força da ligação de hidrogênio, maior para  $[\text{BF}_4]^-$  e menor para  $[\text{PF}_3(\text{CF}_2\text{CF}_3)_3]^-$ .

Os líquidos iônicos derivados do cátion 1,3-dialquil-imidazólio são estáveis ao ar e à umidade e podem ser utilizados em múltiplos ciclos em processos de extração após serem recuperados. A constatação da pureza dos líquidos iônicos recuperados pode ser determinada por espectroscopia de  $^1\text{H}$  RMN para verificar ausência de alteração da estrutura e ausência de impurezas (CASSOL., 2007).

### 2.1.3 Solubilidade dos líquidos iônicos

As propriedades de coordenação e solvatação dos líquidos iônicos são dependentes tanto do ânion quanto do cátion que formam o composto. A interação eletrostática é o tipo de interação mais forte entre o cátion e o ânion que formam o LI. Em líquidos iônicos onde está presente o cátion imidazólio, as ligações de hidrogênio entre os íons também desempenham papel importante em suas propriedades, como por exemplo, na solubilidade (FREIRE et al., 2007).

A solubilidade em água de líquidos iônicos baseados no cátion imidazólio é largamente determinada pela natureza do ânion, ou seja, líquidos iônicos com ânions hidrofílicos são geralmente solúveis em água, já aqueles com ânions hidrofóbicos apresentam baixa solubilidade, dependendo da temperatura. É importante salientar que à medida que a cadeia alquila ligada ao cátion aumenta, a solubilidade do líquido iônico diminui consideravelmente. Alguns ânions podem ser agrupados em ordem crescente de hidrofobicidade, como por exemplo,  $[\text{BF}_4]^- < [\text{CH}_3(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_2\text{SO}_4]^- < [\text{C}(\text{CN})_3]^- < [\text{PF}_6]^- < [\text{N}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_2]^-$ . Seguindo esta sequência associada ao tamanho da cadeia alquila do cátion imidazólio é possível sintetizar líquidos iônicos com diferentes solubilidades em água que podem ser usados para diferentes fins (FREIRE et al., 2007).

Os líquidos iônicos podem agir tanto como aceptores de ligações de hidrogênio (ânions) quanto como doadores (cátion) e interagem com qualquer solvente que seja

doador ou acceptor de ligações de hidrogênio. Em sistemas bifásicos envolvendo água e líquido iônico, certamente as interações íon-íon e água-água são mais fortes que as interações água-íon (FREIRE et al., 2007).

Líquidos iônicos baseados nos ânions tetrafluoroborato ( $\text{BF}_4^-$ ) e hexafluorofosfato ( $\text{PF}_6^-$ ) são sensíveis à umidade e sofrem hidrólise na presença de água, produzindo, entre outros produtos, o fluoreto de hidrogênio. Esses líquidos iônicos serão cada vez menos sensíveis à umidade à medida que a cadeia alquila do cátion imidazólio aumenta. O tetrafluoroborato associado a cátions com cadeias alquila contendo menos de cinco carbonos são completamente solúveis em água. (SWATLOSKI; HOLBREY; ROGERS, 2003; FREIRE et al., 2007).

Os líquidos iônicos ditos hidrofóbicos, insolúveis ou muito pouco solúveis em água, são surpreendentemente higroscópicos e a solubilidade da água neles está muito acima do que se pode considerar diluição infinita. Nos LIs estudados por Freire et al (2007) a fração molar de água variou de 0,19 à completa miscibilidade à temperatura ambiente, dependendo sempre do cátion e do ânion, sendo o papel do ânion o mais importante.

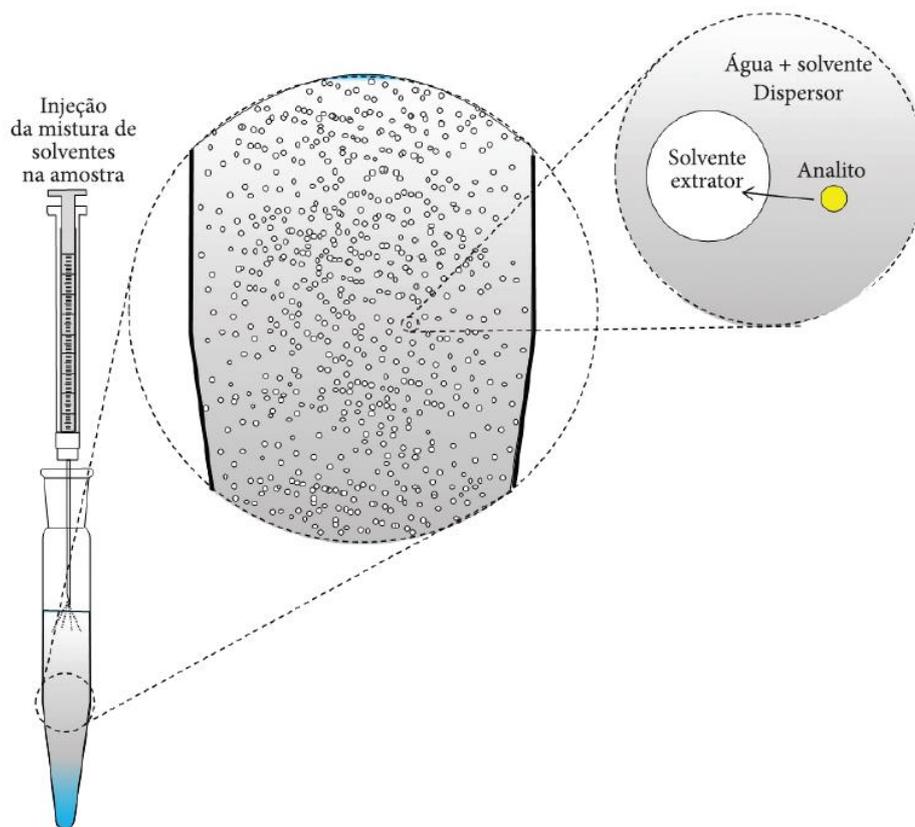
É importante observar que a tendência de solubilidade dos líquidos iônicos em água é o oposto daquela observada para álcoois, mesmo que estes sejam capazes de doar e receber ligações de hidrogênio. A solubilidade do líquido iônico em álcool aumenta de acordo com o aumento de sua cadeia alquila devido à maior intensidade de interações de Van der Waals com a cadeia alquila do álcool (FREIRE et al., 2008).

Percebe-se que existem várias possibilidades de síntese para os líquidos iônicos em relação à sua solubilidade, devendo-se considerar primeiramente o ânion, seguido do cátion e ambos relacionados ao solvente com o qual o líquido iônico possa interagir.

#### **2.1.4 *Microextração Dispersiva Líquido-Líquido baseada em Líquido Iônico (IL-DLLME)***

A DLLME é uma técnica simples, rápida e econômica para a extração de analitos de matrizes aquosas, usando solvente imiscível com água (solvente extrator) e modificador orgânico (solvente dispersante) que é miscível tanto com a água quanto com o solvente extrator. A Figura 6 mostra em detalhes a formação das gotículas em solução.

Figura 6- Esquema da formação de gotículas do solvente extrator em solução.

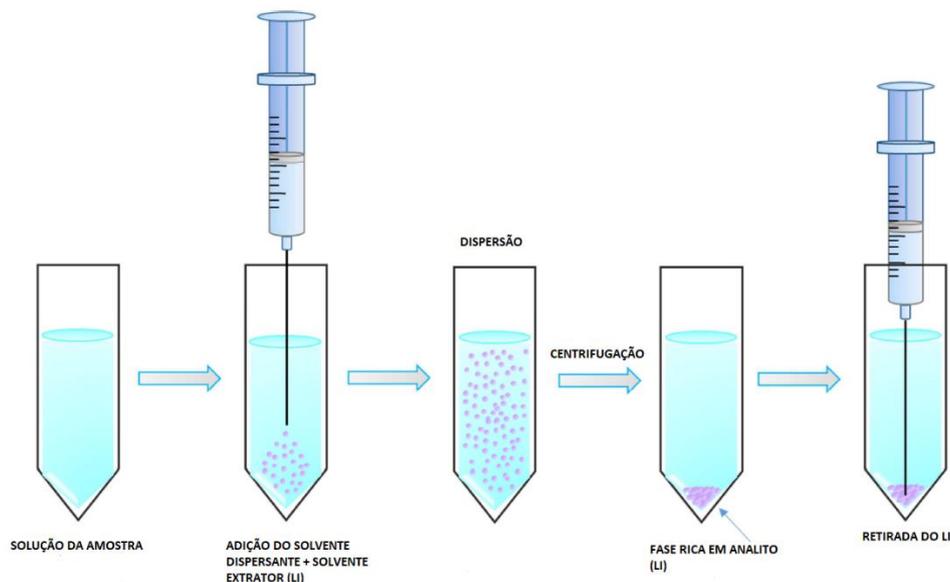


Fonte: (MARTINS; PRIMEL E CALDAS, 2012).

Conforme mostra a Figura 6, o solvente dispersor ajuda na disseminação de gotículas do solvente extrator na solução da amostra. A grande área de superfície entre o solvente extrator e a fase aquosa resulta em rápida transferência de massa, de modo que os analitos migram para as gotículas do extrator em um tempo muito curto. Depois disso, o solvente extrator é separado, geralmente por centrifugação (HO et al., 2014).

O fator de pré-concentração e a eficiência do método são altos, assim a DLLME tornou-se uma técnica popular de preparo de amostras que tem atraído muita atenção durante a última década. Normalmente são utilizados como solventes dispersantes o metanol, o etanol, a acetonitrila e a acetona. Hidrocarbonetos halogenados são frequentemente aplicados como extratores devido à sua alta densidade, facilitando a separação da fase enriquecida pelo analito (MARTINS; PRIMEL; CALDAS, 2012). O esquema do procedimento é mostrado na Figura 7.

Figura 7- Representação esquemática das etapas do procedimento de extração IL-DLLME



Fonte: (PŁOTKA-WASYLKA et al., 2017).

Conforme mostra a Figura 7, a solução contendo a amostra recebe o solvente dispersante + extrator (LI), após ocorrer a dispersão a mistura é centrifugada e a fase contendo o analito decanta no recipiente junto com o extrator (LI). Em seguida, com uma seringa, retira-se o LI contendo o analito.

A utilização de líquidos iônicos como solventes extratores em DLLME foi introduzida pela primeira vez em 2008 (XIA et al., 2008), para determinar pesticidas organofosforados em amostra. O emprego de líquidos iônicos resulta em aumento da sensibilidade e seletividade do método. Além disso, a quantidade de solventes orgânicos tóxicos é minimizada, e a densidade do líquido iônico facilita sua separação da solução aquosa da amostra (HO et al., 2014). Outra vantagem do uso de líquidos iônicos como solventes extratores na técnica de DLLME é a possibilidade de eliminar o uso de solventes dispersantes realizando a reação de metátese *in situ*, ou seja, na solução contendo o analito. Então, à medida que o líquido iônico é formado ocorre o processo de extração dispersiva (MESA et al., 2013).

Ao final do processo de extração espera-se que a maior proporção do analito esteja presente na fase extratora. Quando esta proporção é próxima de 100% a técnica é considerada exaustiva e a exatidão do método pode ser expressa em termos de recuperação (R), sendo calculada pela Equação 1.

$$R(\%) = \frac{c_f - c_{nf}}{c_{ad}} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

$c_f$  é a concentração após a fortificação da matriz;

$c_{nf}$  é a concentração antes da fortificação;

$c_{ad}$  é a concentração do analito adicionado à matriz.

Nos casos em que a transferência do analito para a fase orgânica não ocorrer em sua totalidade, o processo de extração é considerado uma técnica de equilíbrio e a recuperação (R) é definida como a maior quantidade de analito transferida para a fase orgânica ao final do processo.

Um parâmetro comumente utilizado para demonstrar a eficiência de processos de microextração em fase líquida é o fator de enriquecimento (E), que informa o quanto um analito foi pré-concentrado antes da análise. O fator de enriquecimento é dado pela Equação 2:

$$E = \frac{V_d R}{100 V_{org}} \quad (2)$$

Onde:

$V_d$  = volume da fase doadora ou aquosa

$V_{org}$  = volume de fase orgânica

R = eficiência de recuperação

Algumas variáveis como pH, força iônica, volume de solvente extrator e volume de solvente dispersante influenciam na eficiência de extração dos analitos e dependem muito das características do meio e do analito. Esses fatores geralmente são difíceis de serem previstos teoricamente e devem ser estabelecidos experimentalmente com o intuito de otimizar o deslocamento do equilíbrio de solubilidade dos analitos entre as duas fases no sentido da fase orgânica (MARTINS; PRIMEL; CALDAS, 2012).

### 2.1.5 Tratamento quimiométrico

Em geral, se busca a qualidade dos resultados obtidos nos diferentes métodos analíticos. Nos métodos cromatográficos, seja cromatografia a gás ou a líquido, essa qualidade está centrada nos cromatogramas provenientes das análises, principalmente no que se trata da resolução e forma dos picos. Portanto, busca-se alternativas para garantir confiabilidade na identificação e separação dos analitos em relação a eventuais

interferentes presentes na matriz. No entanto, obter cromatogramas com boa resolução e forma dos picos nem sempre é possível, seja pela complexidade da amostra, quando se tem muitas espécies a serem analisadas ou poucos analitos em meio a muitos interferentes, ou pela limitação instrumental. Os sinais dos analitos nestas situações tendem a se misturar, ou seja, pode ocorrer coeluição tanto entre os analitos de interesse quanto entre os analitos e os interferentes. Além disso, alguns picos de interesse podem ser sobrepostos por outros, mesmo que não haja coeluição. Dessa forma, na falta de instrumentação adequada para resolver estes sinais, existe a alternativa do emprego de ferramentas computacionais para manipular e interpretar as informações obtidas (PARASTAR; TAULER, 2014).

O método de Resolução Multivariada de Curvas (MCR, do inglês *Multivariate Curve Resolution*) é uma ferramenta de processamento de sinal analítico amplamente utilizada, que tem o objetivo de resolver misturas de sinais, ou seja, visa extrair o perfil puro dos analitos. Esse método é aplicado a dados oriundos de sinais registrados em pelo menos dois arranjos de sensores e então a concentração de um analito presente em uma amostra pode ser relacionada a dados multivias tornando possível a predição confiável da concentração mesmo na presença de interferentes, essa é uma característica conhecida como “vantagem de segunda ordem” (PINTO et al., 2016)

A análise de dados por MCR pode ser realizada sobre uma única matriz (dados de primeira ordem) ou sobre matrizes de dados para cada amostra (dados de segunda ordem), simultaneamente (MARÇO et al., 2014).

O modelo geral do MCR pode ser ilustrado pela Equação 3.

$$D = CS^T \quad (3)$$

Onde D é a matriz de resposta instrumental, C é a matriz de concentração relativa e S é a matriz de espectros puros.

O método de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS, do inglês *Multivariate Curve Resolution With Alternating Least-Squares*) é um tipo de MCR que realiza a resolução iterativa da equação 3 por ALS. Todas aproximações iterativas possuem etapa comum na otimização, que se inicia com as estimativas iniciais de C e  $S^T$  adaptadas de acordo com as informações químicas e/ou matemáticas incluídas no processo de otimização sob a forma de restrições. O método

MCR-ALS torna possível a calibração pseudo-univariada extraindo ambos perfis espectrais e perfis de eluição e utilizando a área sob os espectros e os perfis dos picos cromatográficos (*scores*) para desenvolver uma relação linear entre os scores e a concentração dos padrões utilizados (SANTANA; BREITKREITZ; PINTO, 2021).

Para que esse método possa ser aplicado, algumas condições precisam ser satisfeitas: o sinal analítico deve obedecer a uma relação semelhante à lei de Beer-Lambert e o posto da matriz deve ser igual ao número de espécies que produzem sinal analítico, que é o número de linhas ou colunas linearmente independentes. Vale lembrar que nem sempre o posto da matriz será igual ao número de espécies químicas ou de sinais gerados. Nesse caso, métodos que permitem a estimativa do posto são necessários (MARÇO et al., 2014).

Um bom exemplo de como funcionam os cálculos por MCR-ALS são os sistemas de HPLC-DAD que fornecem conjuntos de dados bidimensionais, chamados de segunda ordem (uma matriz  $D$ ), com duas respostas: uma relacionada aos perfis de eluição (linhas) e a outra relacionada aos espectros (colunas) que pode ser desmembrado em analitos  $A$  ( $D_A$ ) e  $B$  ( $D_B$ ) conforme apresentado na Equação 4:

$$D = D_A + D_B = C_A S_A^T + C_B S_B^T \quad (4)$$

Finalmente, todos os perfis de concentração e todos os espectros podem ser agrupados nas matrizes  $C$  (perfil cromatográfico) e  $S^T$  (perfil espectral transposto), respectivamente. Esta é a forma mais comum de representar a lei de Beer-Lambert em forma de matriz.

Na resolução de curvas por MCR não é necessário incluir os interferentes no modelo de calibração, possibilitando a quantificação dos analitos na presença de interferentes mesmo que eles não estejam presentes na calibração, além disso, existe a possibilidade de se utilizar quantidade reduzida de amostras de calibração. Assim, o modelo assume uma forma matemática mais simples e as figuras de mérito podem ser calculadas como na calibração univariada (MARÇO et al., 2014).

## 2.2 Verde malaquita (VM) em águas

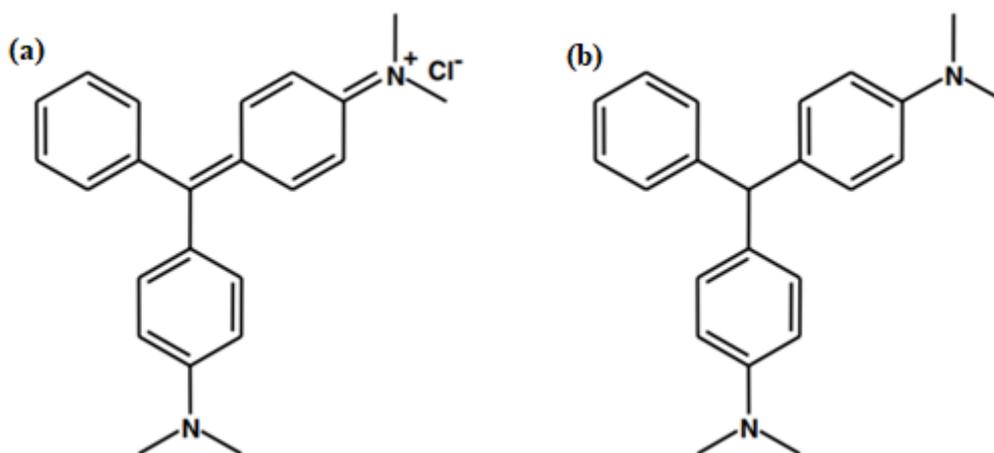
A indústria têxtil brasileira é um setor que contribui fortemente com a poluição dos recursos hídricos, cerca de 20% dos corantes usados para tingimento são descartados como efluentes (DALLAGO; SMANIOTTO; OLIVEIRA, 2005) e 90% dos produtos

químicos empregados no beneficiamento do tecido são eliminados (COSTA; CRUZ, 2012). Além do descarte direto de corantes e outros produtos químicos como efluentes pela indústria, ainda existem as fontes de contaminação oriundas de vários setores, como o setor de síntese de corantes.

A aquicultura no Brasil mostra crescimento significativo desde os anos 90, com taxas de crescimento até mesmo superiores às de criações de aves e bovinos. Com o intuito de alavancar a produtividade, os sistemas intensivos de cultura de peixes têm como consequência a maior incidência de doenças causadas por vírus, bactérias, fungos e parasitas

O VM é um corante da classe dos trifenilmetanos, tóxico para os seres humanos e que apresenta característica antiparasitária e fungicida. Estas características aliadas ao baixo custo levaram ao uso indiscriminado do VM na aquicultura (HASHIMOTO et al., 2011). O verde leucomalaquita formado pela redução metabólica do verde malaquita é também encontrado nas águas após ser excretado e possui toxicidade semelhante à de seu precursor (CULP et al., 2006). As estruturas do verde malaquita e seu metabólito são mostradas na Figura 8.

Figura 8- Representação da estrutura do cloreto verde malaquita (a) e do verde leucomalaquita (b).



Fonte: (CULP et al., 2006).

O VM se comporta como um ácido de Bronsted-Lowry, tendo valores de pKa entre 3,7 e 4,8. Devido suas características químicas, torna a solução amarela quando o

pH do meio é inferior a 1, verde para valores de pH entre 2 e 12 e incolor para pH superior a 12 (APOLÔNIO et al., 2020).

No aspecto legislativo, o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal – PNCRC prevê o controle de resíduos em carne, leite, mel e peixe quando decorrentes de acidentes envolvendo contaminantes ambientais, onde também se enquadra o VM. De acordo com o PNCRC, o limite de referência para peixe de cultivo e camarão é de  $2 \mu\text{g kg}^{-1}$  da soma do VM e do seu metabólito. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), por meio da Resolução nº. 430, de 2011, estabelece os padrões de qualidade de corpos hídricos, bem como de lançamentos de efluentes. Portanto, a determinação do VM como contaminante, justifica-se tanto no caso da produção animal quanto no caso do controle da qualidade da água.

Diversas técnicas de detecção têm sido utilizadas para determinar o verde malaquita, entre elas destacam-se os métodos de separação por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica (AFKHAMI; MOOSAVI; MADRAKIAN, 2010) e espectrofotométrica (CHEN et al., 2013), eletroforese capilar (MITROWSKA; POSYNIK; ZMUDZKI, 2008) , além dos imunoenaios (ELISA) associados aos métodos de pré-concentração, como a extração em fase sólida magnética (MSPE) e a extração em ponto de nuvem (XIE et al., 2013). Embora existam vários trabalhos que descrevam procedimentos para a determinação do VM em tecidos de peixes, poucos trabalhos relatam métodos de monitoramento desse composto em águas, sejam essas oriundas da aquicultura ou de recursos naturais (MIRZAJANI; AHMADI, 2015; MITROWSKA; POSYNIK; ZMUDZKI, 2008) (APOLÔNIO et al., 2020).

### **2.2.1 Nanofibras e microfibras e suas potenciais aplicações**

As microfibras e as nanofibras são fibras poliméricas com diâmetro, na faixa de micrômetros e nanômetros, respectivamente e podem ser geradas a partir de diferentes polímeros e, portanto, apresentam diferentes propriedades físicas. Devido à redução significativa do diâmetro, esses materiais possuem elevada área superficial, que somada às características e funcionalidades dos polímeros, torna-os importantes para serem aplicados nos mais variados campos da ciência, como filtração, sensores, catalizadores, liberação controlada de fármacos, armazenamento de energia e outros (FANG et al., 2008). Recentemente esses materiais tem sido empregados com sucesso na química

analítica como substitutos de cartuchos de extração em fase sólida (HÁKOVÁ et al., 2018a, 2018b; ŠRÁMKOVÁ et al., 2019).

O material possui alta diversidade química que depende basicamente do polímero utilizado em sua fabricação, além disso, a estrutura da fibra pode ser modificada para aplicação específica ou interação seletiva com algum analito de interesse (ZHANG et al., 2008). Algumas modificações podem ser realizadas para conferir características magnéticas às estruturas (SABZROO et al., 2018), as fibras podem ser impregnadas com algum material que interage com o analito de interesse (WANG et al., 2012) e também podem ser modificadas quimicamente (GONZÁLEZ-CEBALLOS et al., 2020).

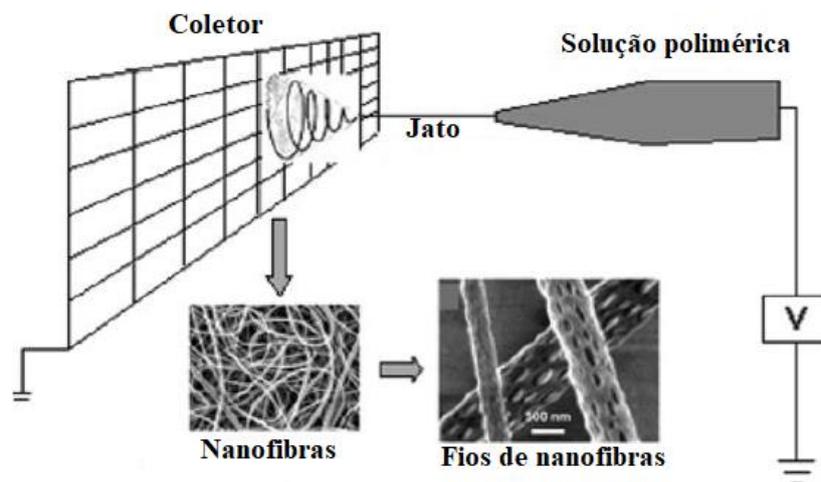
A estrutura física das fibras também pode ser modificada variando sua densidade durante a fabricação, e também através da fabricação de compósitos que podem ser do mesmo polímero ou de polímeros diferentes (HÁKOVÁ et al., 2018b).

Existem várias técnicas que são utilizadas na fabricação das fibras, entre elas, modelagem (*template*), automontagem (*self-assembly*), separação de fases (*phase separation*), derretimento (*meltblown*) e eletrofiação (*electrospinning*). As técnicas mais utilizadas atualmente são por eletrofiação e derretimento (FANG et al., 2008).

A fabricação de nanofibras por eletrofiação utiliza fortes campos eletrostáticos para formação de fios com diâmetros muito pequenos. A solução de um polímero ou um polímero liquefeito (ELLISON et al., 2007) é depositada numa espécie de seringa, onde também é colocado um eletrodo. Um jato da solução é expelido em direção a outro eletrodo, chamado eletrodo de coleta. A formação da fibra ocorre no caminho entre os dois eletrodos (HUANG et al., 2003).

Quando o fluido viscoso é submetido a alta voltagem, a força eletrostática transforma-o em um jato líquido. A interação desse jato com o campo magnético externo somada à repulsão de cargas dentro do jato, fazem com que o mesmo sofra movimentos circulares, transformando-se num fio mais fino e mais longo. Por último, a evaporação do solvente resulta na formação de fibras sólidas. No caso de polímeros liquefeitos, o jato descarregado solidifica no ar. Esta técnica é capaz de produzir nanofibras com diâmetros de 1 a 10 nanômetros (ELLISON et al., 2007). A Figura 9 representa o equipamento utilizado na fabricação de nanofibras por eletrofiação.

Figura 9- Esquema da fabricação de nanofibras por eletrofiação.

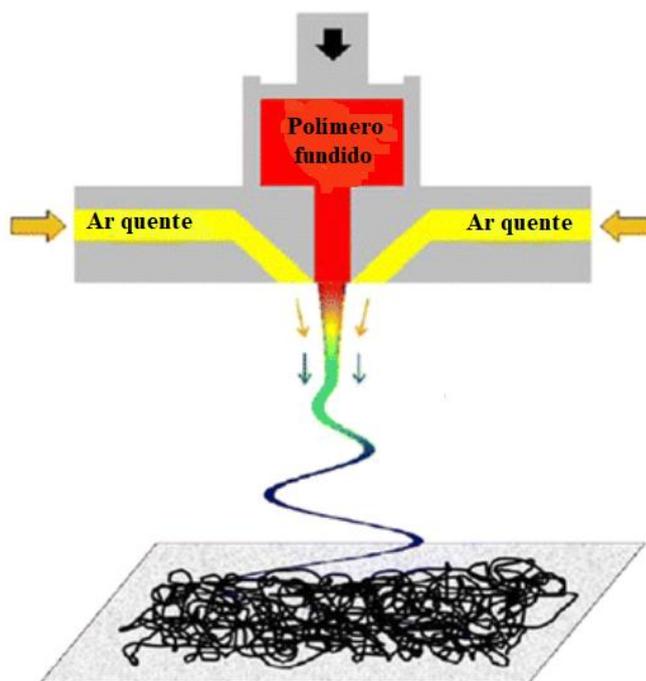


Fonte: (HUANG et al., 2003).

As nanofibras fabricadas por eletrofiação não são muito estáveis em relação à sua estrutura tridimensional devido ao seu minúsculo diâmetro e são melhor utilizadas na forma de tecidos bidimensionais (HÁKOVÁ et al., 2019).

A produção de fibras por derretimento baseia-se na extrusão do polímero liquefeito através de um orifício, que em seguida é carregado para baixo com ar quente, geralmente o ar tem a mesma temperatura do polímero fundido. A força exercida pelas correntes de ar quente transforma o polímero liquefeito em fibras que são coletadas num suporte situado abaixo do orifício. O movimento circular das fibras é similar àquele apresentado na técnica de eletrofiação. A Figura 10 mostra um esquema do equipamento utilizado em na fabricação por derretimento. As fibras produzidas possuem diâmetros maiores, 1 a 2 micrômetros, e são chamadas de microfibras. As estruturas tridimensionais das microfibras produzidas por derretimento são estáveis e podem ser aplicadas em sistemas que oferecem alta pressão (ELLISON et al., 2007).

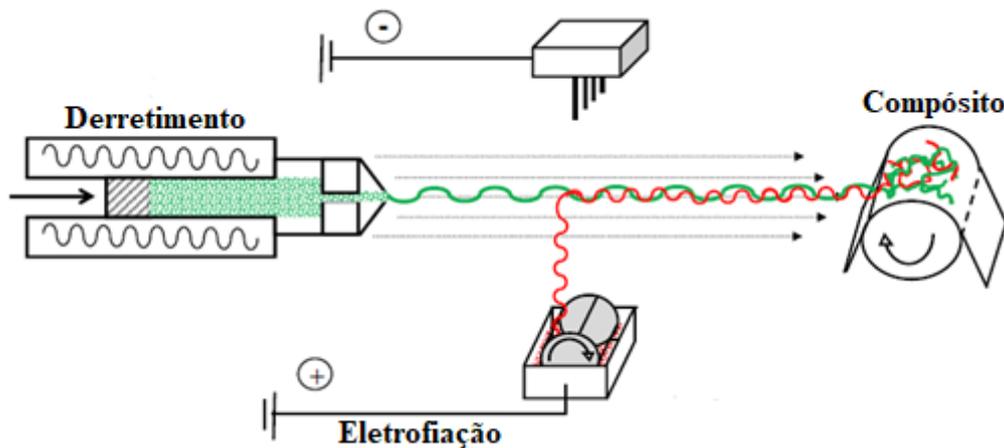
Figura 10- Esquema da produção de fibras por derretimento.



Fonte: (ELLISON et al., 2007).

As técnicas de eletrospinning e derretimento podem ser combinadas para a fabricação de compósitos, ou seja, estruturas que podem combinar mais de um polímero ou nanofibras e microfibras em um único tecido resultando em maior resistência e maior área superficial (HÁKOVÁ et al., 2018b, 2019). Um esquema da combinação das técnicas é mostrado na Figura 11.

Figura 11- Esquema da combinação das técnicas de derretimento e eletrofição para a fabricação de compósitos.



Fonte: (HÁKOVÁ et al., 2018b).

### 2.2.2 O processo de adsorção

A adsorção é um processo de transferência de massa onde é estudada a habilidade de certos sólidos em concentrar na sua superfície determinadas substâncias que podem estar presentes em soluções líquidas, por exemplo, resultando na separação e concentração dessas substâncias. Como a adsorção ocorre na superfície externa, adsorventes ideais são aqueles que possuem grande área superficial por unidade de massa, destacando-se os sólidos porosos. A espécie que se concentra na superfície do material é denominada de adsorvato, e o material é, por sua vez, chamado de adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014).

Os processos de adsorção podem ocorrer de duas maneiras gerais, pela adsorção física e pela adsorção química. A adsorção física ocorre através de interações mais fracas entre o adsorvente e o adsorvato, seria o que podemos chamar de interação de Van der Waals. Esse tipo de adsorção permite, com mais facilidade, a formação de mais de uma camada na superfície do adsorvente. A adsorção química ocorre quando existe ligação química entre o adsorvato e o adsorvente, sendo mais forte e seletiva, uma vez que existirá apenas para compostos capazes de se ligarem ao adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014).

De maneira geral, mesmo que possa ocorrer adsorção puramente química ou física, os processos de adsorção são uma soma de interações físicas e químicas que devem levar em conta os aspectos gerais do meio. Devem ser consideradas as condições de

operação como, temperatura, pH e natureza do solvente; as características do adsorvente, por exemplo, área superficial, tamanho do poro, densidade e grupos funcionais ativos e hidrofobicidade; e as características do adsorvato como polaridade, tamanho da molécula, solubilidade, acidez e basicidade (NASCIMENTO et al., 2014).

As características do adsorvente e adsorvato geralmente permanecem constantes durante o processo de adsorção e, portanto, não há a necessidade de controle das mesmas, a não ser que se pretenda provocar alguma mudança, principalmente no adsorvente, para alterar as condições de adsorção. Sendo assim, os parâmetros mais importantes a serem considerados no processo de adsorção são a temperatura e o pH do meio.

Os efeitos da temperatura podem ser percebidos tanto em relação ao adsorvato quanto em relação ao adsorvente. O aumento da temperatura sobre o sistema ocasiona aumento de energia cinética e mobilidade das espécies do adsorvato assim como pode afetar a solubilidade e o potencial químico do mesmo. Na estrutura do adsorvente, o aumento de temperatura pode produzir desobstrução de poros e permitir a penetração de moléculas do adsorvato. Em resumo, a variação da temperatura altera o estado de equilíbrio do processo de adsorção para um determinado adsorvato (DOĞAN et al., 2006).

O pH afeta tanto o grau de distribuição das espécies do adsorvato em solução quanto a distribuição de cargas na superfície do adsorvente. O grau de distribuição das espécies do adsorvato depende de sua acidez e basicidade. A distribuição de cargas na superfície do adsorvente depende da composição e das características da superfície. Uma maneira conveniente de avaliar as condições da superfície de um adsorvente quanto a sua distribuição de cargas é através da medida do ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{PZC}}$ ), que é executada através da variação do pH do meio. Assume-se que os prótons ( $\text{H}^+$ ) e os grupos hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) constituem íons determinantes em potencial. O adsorvente em solução aquosa pode adsorver íons  $\text{OH}^-$  ou  $\text{H}^+$ , dessa forma, a carga superficial do adsorvente dependerá do pH da solução. Para valores de pH inferiores ao  $\text{pH}_{\text{PZC}}$ , a carga superficial é positiva e a adsorção de ânions é favorecida, e para valores de pH superiores ao  $\text{pH}_{\text{PZC}}$ , a carga superficial é negativa e a adsorção de cátions é favorecida (ČEROVIĆ et al., 2007).

O pH do ponto de carga zero pode ser usado como parâmetro para verificar modificações químicas nas superfícies dos adsorventes, essas modificações podem ser

realizadas no sentido de remover ou adicionar ligantes à superfície do adsorvente para aumentar sua afinidade com o adsorvato num determinado sistema. Ligantes que sofrem modificações químicas apresentam deslocamento do pH do ponto de carga zero (SOUSA NETO et al., 2011).

O equilíbrio de adsorção é atingido quando um adsorvente é colocado em contato com uma solução contendo determinado soluto (adsorvato) e parte do soluto se desloca para a superfície do adsorvente e a concentração da solução permanece constante. Quando o equilíbrio de adsorção é atingido, a capacidade de adsorção ( $q_e$ ) pode ser calculada.

No equilíbrio de adsorção as velocidades de sorção e dessorção são iguais e, portanto, a concentração ( $c_e$ ) da solução permanece constante, assim como a massa de soluto adsorvida. A capacidade de adsorção ( $q_e$ ) de determinado adsorvente pode ser calculada ao realizarem-se ensaios de adsorção em função do tempo utilizando massa constante de adsorvente para diferentes concentrações do soluto de interesse. Assim, um gráfico de  $q_e$  versus  $c_e$  pode ser obtido através de dados experimentais e a relação  $q_e$  versus  $c_e$  pode ser expressa de forma matemática através de modelagens com equações de isotermas.

Isotermas são diagramas que representam a variação da concentração de equilíbrio de adsorção em função da concentração da fase líquida. Esses diagramas são obtidos através de medidas da variação da concentração do adsorvato, em contato com massa constante de adsorvente, em função do tempo para diferentes concentrações iniciais até que seja atingida a concentração de equilíbrio. Então, é possível calcular a capacidade de carga ( $q_e$ ) e desta forma obter a isoterma para o sistema avaliado. Os valores de  $q_e$  são calculados através da variação de massa dos ensaios de adsorção para cada concentração inicial ( $c_i$ ) e concentração de equilíbrio ( $c_e$ ) de acordo com a Equação 5 (NASCIMENTO et al., 2014).

$$q_e = \frac{(c_i - c_e) v}{m} \quad eq. 5$$

Onde:

$q_e$ = capacidade de adsorção parcial

$c_i$ = concentração inicial

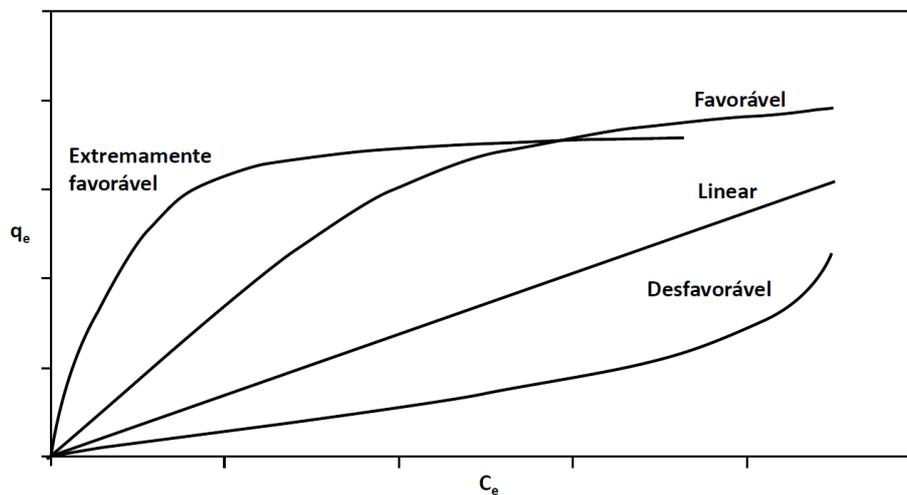
$c_e$ = concentração de equilíbrio

$v$  = volume de solução

$m$  = massa de adsorvente

A partir dos valores de  $q_e$  e  $c_e$  é obtido o diagrama  $q_e$  versus  $c_e$ , que de acordo com sua forma, fornece informações sobre o mecanismo do processo de adsorção e a modelagem pode ser realizada utilizando o modelo de isotermas que melhor descreva o processo (NASCIMENTO et al., 2014). A Figura 12 mostra as formas possíveis para diagramas  $q_e$  versus  $c_e$ .

Figura 12- Formas possíveis para diagramas  $q_e$  versus  $c_e$  em processos de adsorção.



Fonte: (NASCIMENTO et al., 2014).

A análise das formas das isotermas é muito importante para decidir em relação ao tipo de adsorvente a ser utilizado em função do objetivo do processo de adsorção. A isoterma extremamente favorável indica que a massa de adsorvato retida por unidade de massa do adsorvente é alta para baixas concentrações de equilíbrio do adsorvato na solução e pode prever com mais exatidão as condições de equilíbrio. Esse tipo de processo de adsorção é muito favorável para estudos de pré-concentração, uma vez que a capacidade de carga é alta. A isoterma favorável mostra tendência similar, porém com baixa capacidade de prever as condições de equilíbrio e sua maior capacidade de carga ocorre para concentrações um pouco mais altas (MOREIRA et al., 2009).

A isoterma linear mostra que a capacidade de carga do adsorvente é proporcional à concentração do adsorvato em solução, processos de adsorção com tal característica não são os melhores para serem empregados em processos de pré-concentração e podem ser

melhor utilizados para processos que envolvem a determinação da concentração de certo analito em função do processo de adsorção propriamente dito, como processos que envolvem mudança de cor do adsorvente em função da concentração do adsorvato em solução (MOREIRA et al., 2009).

Existe uma variedade de isotermas que podem ser utilizadas na modelagem de um processo de adsorção e as duas mais utilizadas são a isoterma de Freundlich e a isoterma de Langmuir.

O modelo de Langmuir é um dos mais utilizados para representar processos de adsorção e leva em consideração os seguintes aspectos.

- Existe um número definido de sítios.
- A energia dos sítios é equivalente e as moléculas adsorvidas não interagem umas com as outras.
- A adsorção ocorre em uma monocamada.
- Cada sítio pode comportar apenas uma molécula adsorvida.

A Equação 6 representa a isoterma de Langmuir.

$$q = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad eq. 6$$

Onde:

$q$  = quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ )

$q_{\max}$  = capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ )

$K_L$  = constante de interação adsorvente/adsorvato ( $\text{L mg}^{-1}$ )

$C_e$  = concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ )

A Equação 6 pode ser rearranjada de diversas maneiras para a construção de gráficos lineares que fornecem os valores dos parâmetros de Langmuir para um determinado processo de adsorção. A Equação 7 é frequentemente utilizada.

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{q_{\max}} c_e + \frac{1}{k_L q_{\max}} \quad eq. 7$$

Após a realização dos experimentos e calculados os valores de  $c_e$  e  $q_e$ , pode-se facilmente construir um gráfico  $\frac{c_e}{q_e}$  versus  $c_e$ , onde o valor de  $\frac{1}{q_{\max}}$  é o coeficiente angular

da equação da reta e o valor de  $\frac{1}{k_L q_{max}}$  é o coeficiente linear. Dessa forma, a capacidade de adsorção máxima e a constante de interação adsorvente/adsorvato podem ser facilmente obtidas.

A constante  $k_L$  está relacionada à energia livre de adsorção, ou seja, a afinidade entre a superfície do adsorvente e o adsorvato. Portanto, adsorventes eficientes apresentam alto valor de  $k_L$  (LANGMUIR, 1916).

O modelo proposto por Freundlich apresenta algumas diferenças importantes em relação àquele apresentado por Langmuir, pois pode ser aplicado a sistemas não ideais que apresentam superfícies heterogêneas e adsorção em multicamada. Uma distribuição exponencial é utilizada para caracterizar os diferentes tipos de sítios de adsorção, que possuem energias diferentes. A Equação da isoterma de Freundlich assume a forma;

$$q_e = k_F c_e^{1/n} \quad eq. 8$$

A Equação 8 pode ser linearizada facilmente aplicando logaritmo a ambos os seus termos, tornando-a:

$$\log q_e = \log k_f + \frac{1}{n} \log c_e \quad eq. 9$$

Em que:

$q_e$  = quantidade de soluto adsorvido ( $\text{mg g}^{-1}$ )

$c_e$  = concentração de equilíbrio em solução ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$1/n$  = constante relacionada à heterogeneidade da superfície

$k_F$  = constante de capacidade de adsorção ( $\text{mg}^{1-(1/n)} \text{g}^{-1} \text{L}^{-1/n}$ )

Assim os parâmetros da equação de Freundlich podem ser calculados por regressão linear pela construção de um gráfico de  $\log q_e$  versus  $\log c_e$  que fornecerá uma inclinação de  $1/n$  e um intercepto de  $\log k_f$  (FEBRIANTO et al., 2009).

A equação de Freundlich não impõe exigências como a formação de monocamada à medida que  $c_e$  aumenta ou a uniformidade dos sítios. A forma da equação também mostra que o valor de  $q_e$  pode continuar a aumentar à medida que  $c_e$  aumenta, o que se mostra fisicamente impossível e, portanto, dados para valores elevados de  $c_e$  podem não ser bem ajustados à equação de Freundlich.

Uma adsorção favorável modelada segundo a isoterma de Freundlich tende a ter valores de  $n$  entre 1 e 10. Quanto maior o valor de  $n$ , mais forte é a interação adsorvente/adsorvato. Quando o valor de  $1/n$  for igual a 1 a adsorção é linear, ou seja, as energias são idênticas para todos os sítios de adsorção. Por fim, quando o valor de  $1/n$  for maior que 1, o adsorvente tem maior afinidade pelo solvente, sugerindo forte atração intermolecular (DELLE SITE, 2001).

### 2.2.3 *Imagens digitais*

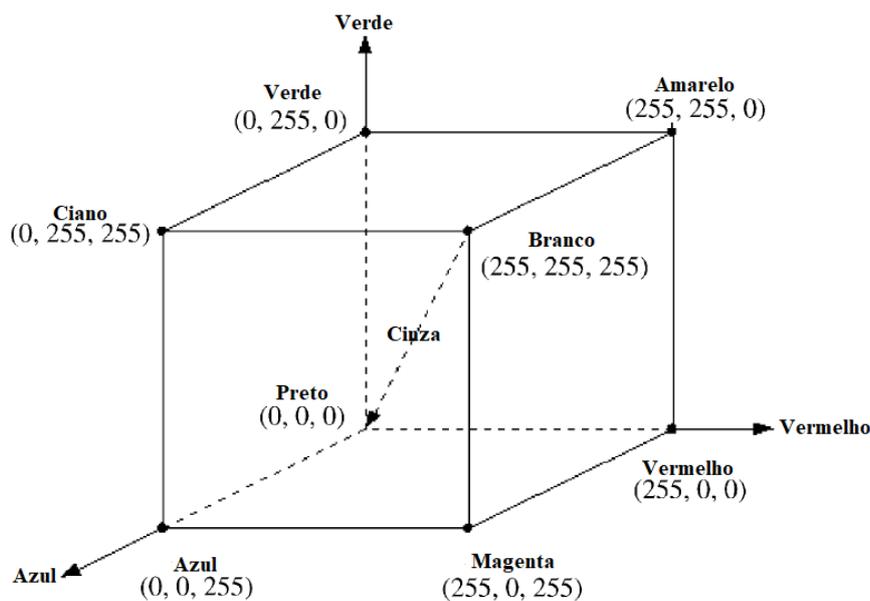
Toda imagem é uma representação espacial e contínua de um objeto ou cena, e pode ser interpretada e observada também de forma contínua aos olhos do ser humano. Porém, em termos de processamento e análise de imagem, toda imagem precisa ser convertida em números na forma de matriz como arranjos bidimensionais de pontos. Na conversão de uma imagem em números, a imagem é subdividida em pequenos quadrados de igual tamanho, os pixels, e cada um deles é associado a um valor numérico de intensidade da cor naquele ponto. Os valores desses pixels representam a intensidade luminosa captada por uma determinada área da imagem, variando em valores ou porcentagem, o que depende do sistema de cor utilizado (DE ALBUQUERQUE; DE ALBUQUERQUE, 2000).

A cor é uma percepção visual que resulta da percepção ou detecção da luz refletida após a interação da mesma com um objeto e sua natureza física pode ser expressa numa base formal suportada por resultados teóricos e experimentais. O uso de cores em análise de imagens é motivado pelo fato de a cor ser um descritor poderoso que facilita e simplifica a identificação de um objeto ou de seu estado qualitativo, e, além disso, o ser humano é capaz de discernir milhares de tons e intensidades de cores comparado a cerca de apenas duas dúzias de tons de cinza (DE ALBUQUERQUE; DE ALBUQUERQUE, 2000).

Os seres humanos percebem as mais variadas cores pela combinação de três cores que são o vermelho (R), o verde (G) e o azul (B), ou seja, a combinação dessas três cores dá origem a todas às imagens coloridas que somos capazes de enxergar, constituindo o sistema RGB. O sistema RGB (*red, green, blue*) é o mais comumente utilizado em sistemas de televisão e imagens capturadas por câmeras digitais. As cores são exibidas através da modulação da intensidade de cada uma das três cores para cada pixel da imagem (ZHENG; SUN; ZHENG, 2006)

O sistema RGB pode ser representado por um cubo, Figura 13, que ilustra como podem ser originadas outras cores através das diferentes misturas das três cores, que são representadas por coordenadas dentro do cubo e suas intensidades variam de 0 a 255.

Figura 13- Representação tridimensional do sistema RGB.



Fonte: (CHENG et al., 2001).

Embora o sistema RGB seja adequado para exibição de cores, ele não é muito recomendado para análises de cores em função da alta correlação entre os componentes R, G e B. Isso significa que a variação na intensidade da cor reflete na variação da intensidade de todos os três componentes, tornando difícil vincular a variação de intensidade de um único componente à variação de intensidade de uma determinada cor. Portanto, a análise de cores utilizando esses componentes pode ser mais difícil se houver a necessidade de eliminar interferentes (LITTMANN; RITTER, 1997; PIETIKAINEN et al., 1996).

Outros sistemas de cores podem ser derivados do sistema RGB tanto através de transformações lineares quanto não-lineares. A transformação de uma imagem para outros sistemas de cores é simples e existem vários softwares que podem ser usados para o processo. Informações adicionais sobre operações matemáticas e as funções dos canais de cores em determinado sistema de cores podem ser encontradas em VIDAL et al., 2018.

O Quadro 1 mostra resumidamente algumas características dos principais sistemas de cores e informa algumas vantagens e desvantagens em relação à análise por processamento de imagens.

Quadro 1- Características dos sistemas de cores derivados do sistema RGB.

SISTEMA	VANTAGENS	DESVANTAGENS
RGB	Conveniente para exibição	Não recomendado para processamento de imagens devido à alta correlação entre os componentes.
YIQ	Pode ser usado para codificar informações de cores em sinais de TV do sistema americano. Envolve menos tempo de computação.	Correlação ainda existe devido à transformação linear, mas menor que a existente em sistemas RGB
YUV	Pode ser usado para codificar informações de cores em sinais de TV do sistema europeu. Envolve menos tempo de computação.	Correlação ainda existe devido à transformação linear, mas menor que a existente em sistemas RGB
$I_1I_2I_3$	Envolve menos tempo de computação. Pode ser usado para processamento de cores em imagens	Correlação ainda existe devido à transformação linear, mas menor que a existente em sistemas RGB
HSV	Baseado na percepção de cor pelo ser humano. Útil em casos em que há variação de luminosidade. Útil para separar objetos de cores diferentes	Numericamente instável a níveis baixos de saturação devido à transformação não-linear. Singularidade não-removível.
NRGB (Normalized RGB)	Os componentes individuais das cores são independentes em relação ao brilho da imagem. Resiste a mudanças de iluminação. Conveniente para representar planos.	Apresenta muito ruído em baixas intensidades devido à transformação não-linear.
CIE ( $L^*u^*v^*$ ou $L^*a^*b^*$ )	Capaz de controlar informações de cores e intensidade	Possui os mesmos problemas de singularidade

	independentemente. Eficiente em medir pequenas diferenças de cores.	devido à transformação não-linear
--	------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------

Fonte : (CHENG et al., 2001).

Além dos sistemas apresentados acima, são também utilizados os sistemas CYMK e LSI.

A abreviação CMYK traz as iniciais de *cyan*, *magenta*, *yellow* e *key*. Das cores ciano, magenta, amarelo e a cor chave. Esse sistema é considerado subtrativo, indicando que é necessário remover cores para chegar ao tom pretendido. Assim, o processo de identificação das cores é realizado através do método reticulado meio tom, isso significa que a cor é aplicada ao substrato através de pontos que ao se misturarem causam ilusão de ótica, fazendo com que cérebro projete as cores de acordo com os espaços e tamanhos dos pontos (PHAM et al., 2007).

Já o sistema LSI, latent semantic indexing, é método que usa co-ocorrência de termos para encontrar semelhanças entre documentos ou imagens presentes em documentos, como as próprias letras presentes em um documento (WESTERVELD, 2000).

#### **2.2.4 Processamento de imagens digitais**

A análise de imagens é entendida como uma subárea do processamento de imagens, que consiste no melhoramento visual de uma imagem através da redução de ruído, calibração e padronização de pixel, etc. A análise de imagens baseia-se nas diferentes propriedades da imagem como, cor, morfologia e textura. A análise de uma imagem geralmente retorna valores numéricos ou informações gráficas de acordo com o objetivo da análise, que pode ser classificação de objetos, determinação da presença ou concentração de uma substância ou até mesmo fazer suposições a respeito da qualidade do objeto fotografado. Em resumo, análises de imagens retornam números ou decisões e não apenas imagens melhoradas (PARK; LU, 2015).

Os trabalhos pioneiros em processamento e/ou análise de imagens eram limitados à ciência da computação, lidando com detecção de defeitos, segmentação e classificação. Com a evolução em desenvolvimento de *hardwares* e *softwares* também vieram os avanços em análises de imagens digitais. Além disso, a conveniência, a praticidade e a

capacidade de realizar análises complexas em menor tempo sem o uso de aparelhos muito sofisticados contribuiu para a expansão dessas análises para outros campos da ciência (PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011).

Pode-se dizer que o primeiro passo na evolução em análises de imagens foi dado em direção ao controle de qualidade de produtos alimentícios. Com a demanda por melhor qualidade e segurança de produtos alimentícios, essas análises começaram a ser utilizadas para o controle de características externas, como cor, tamanho, forma e também características internas desses produtos. Foram desenvolvidas técnicas como análises multiespectrais e hiperespectrais de imagens eliminando algumas dificuldades e limitações provenientes das técnicas humanas e instrumentais utilizadas até então (DU; IQBAL; SUN, 2016). Essas técnicas se relacionam muito bem a parâmetros físicos, químicos e sensoriais de qualidade dos alimentos (VALOUS et al., 2009; FRANCO et al., 2021a).

Recentemente as análises de imagens têm sido aplicadas na determinação de compostos que podem ser quantificados através da análise de cores. Seja de maneira direta, monitorando compostos naturalmente coloridos ou de maneira indireta, com compostos que ao interagirem quimicamente com algum reagente produzem cor. A análise quantitativa e/ou qualitativa pode ser realizada rapidamente e, na maioria das vezes, sem o uso de solventes orgânicos tóxicos geralmente usados em algumas técnicas analíticas. As análises relacionam a intensidade da cor à concentração do analito. A cor pode ser proveniente da pré-concentração de um determinado composto na superfície de um suporte (SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019 c) ou de uma determinada reação que também pode ocorrer na superfície de um suporte modificado,. (GONZÁLEZ-CEBALLOS et al., 2020; WANG et al., 2012; MONOŠÍK; BEZERRA DOS SANTOS; ANGNES, 2015).

Análises de imagens geralmente seguem uma série de etapas desde a aquisição da imagem até a interpretação dos resultados. A aquisição da imagem, o pré-processamento e a escolha da área para análise, quando não se usa a imagem inteira, são os principais passos que levam a resultados reprodutíveis e confiáveis provenientes de uma calibração realizada com imagens de alta qualidade.

É recomendado que a captura da imagem seja realizada em ambiente com iluminação controlada para evitar certas interferências da luz externa, embora existam

trabalhos que realizaram a captura da imagem sob a luz do dia (SAFARIK et al., 2019; SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019). Outros estudos nesse âmbito reportam dispositivos que podem ser descritos como uma caixa fechada que não permite passagem de luz externa, no seu interior é colocada uma lâmpada que emite luz branca e também é reservado um espaço para colocar o material que será fotografado. Um furo na lateral da caixa permite a captura da imagem do material localizado em seu interior (WONGTHANYAKRAM; HARFIELD; MASAWAT, 2019; DE OLIVEIRA KRAMBECK FRANCO; SUAREZ; SANTOS, 2017).

Entre os dispositivos de captura de imagem direcionados para quantificação em processamento de imagens, podem ser utilizados desde equipamentos sofisticados como câmeras hiperespectrais (PARK; LU, 2015) até os equipamentos mais simples como câmeras digitais comuns ou smartphones (DE OLIVEIRA et al., 2020). As câmeras hiperespectrais por serem caras e demandarem, na maioria das vezes, pré-tratamento complexo de imagens, nem sempre estão disponíveis. As câmeras digitais demandam pré-tratamento mais simples das imagens utilizando algoritmos ou aplicativos específicos (VIDAL et al., 2018). As imagens capturadas utilizando smartphones, geralmente podem ser tratadas nos próprios aparelhos utilizando alguns aplicativos desenvolvidos para esse fim (BAUMANN et al., 2019; SAFARIK et al., 2019; SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019)

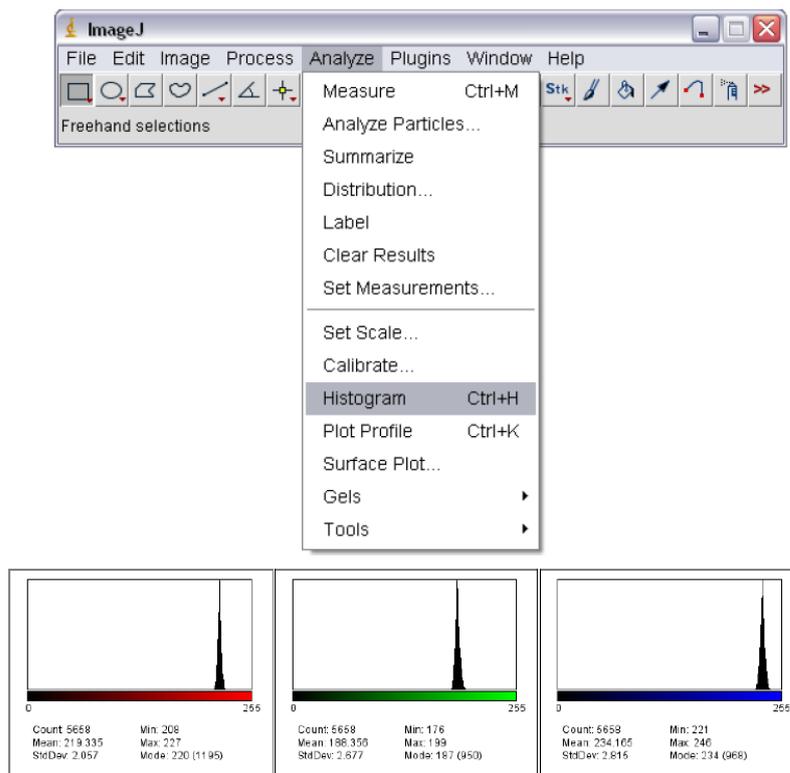
No pré-processamento das imagens é onde são realizadas as operações de melhoramento das imagens, como remoção ou diminuição de degradações, supressão de distorções e melhoramento das características de interesse para uma posterior aplicação específica. Esta etapa é importante para garantir um bom desempenho nos processos posteriores e está relacionada com o tipo de informação que se deseja obter, que conseqüentemente demanda dispositivos que possam cumprir com tal objetivo.

Trabalhos mais simples de quantificação por imagem que procuram relacionar a intensidade de uma determinada cor à concentração de uma substância, na maioria dos casos, apenas têm o compromisso de obterem uma superfície homogênea da qual será capturada a imagem e um dispositivo que possa fornecer informações que verifiquem a variação da intensidade da cor naquela superfície de acordo com a variação da concentração da substância. (SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019).

Boa parte dos trabalhos em processamento de imagens e análise de cores utiliza softwares livres como o XnView<sup>®</sup>, usado para processar e ajustar imagens; o ImageJ<sup>®</sup> que é um programa para processamento de imagem desenvolvido para análise de imagens (SAFARIK et al., 2019; SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020; GONZÁLEZ-CEBALLOS et al., 2020).

Aplicativos de smartphones também são muito utilizados, embora possam ser mais limitados em relação ao melhoramento da imagem. Softwares como o ImageJ<sup>®</sup> permitem análise mais completa da imagem por lançarem mão de plugins como o Color Inspector 3D que pode reduzir o intervalo original de cores antes de ser aplicado o sistema desejado para a obtenção dos respectivos parâmetros. (SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020; GONZÁLEZ-CEBALLOS et al., 2020). A imagem é carregada no programa, onde é possível selecionar o tamanho e a forma da parte da imagem que será analisada. Em seguida é aplicado o comando, *analyze-histogram*, para obter os valores médios dos canais RGB e L(*grey*) através dos seus respectivos histogramas. A Figura 14 ilustra os comandos mencionados.

Figura 14- Esquema de como obter os valores para os histogramas dos canais R, G e B utilizando o programa ImageJ®.

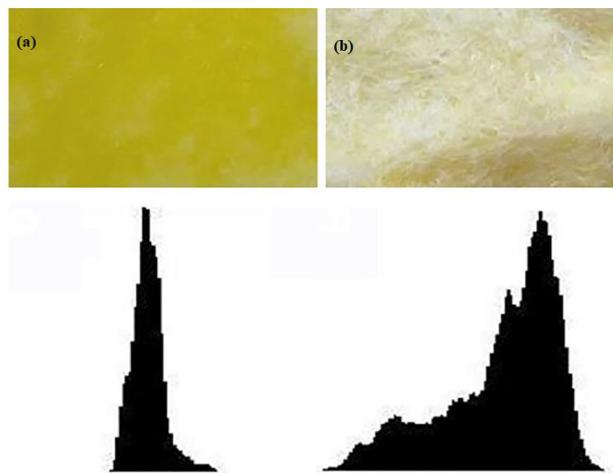


Fonte: (SAFARIK et al. 2019).

A Figura 14 mostra os valores máximos, mínimos e o valor médio dos histogramas de cada canal. O valor médio de cada canal é utilizado na calibração e determinação das concentrações dos analitos de interesse.

Os histogramas descrevem distribuições estatísticas dos pixels selecionados como uma função da componente da cor gravada. Quanto mais a forma de um histograma se aproxima da forma gaussiana, mais homogênea é a superfície da imagem em análise, como mostra a Figura 15 (SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020).

Figura 15- Histograma em forma de sino de uma imagem homogênea (a). Histograma de uma imagem heterogênea (b).



Fonte: (SAFARIK; MULLEROVA; POSPISKOVA, 2019).

### 2.3 Parâmetros analíticos

A calibração, de uma maneira geral, é uma operação que relaciona uma resposta a um estímulo causador dessa resposta para um sistema de medidas sob determinadas condições. Em processos de medidas químicas, o estímulo é dado pela quantidade ou concentração de um analito, que então são relacionadas a uma resposta ou sinal.

Em resumo, em química analítica a curva analítica, também chamada por alguns autores de curva de calibração, refere-se à relação entre uma função analítica que representa o analito e uma função medida que pode ser representada por um espectro, um cromatograma, etc. (DANZER, 1998).

A calibração com padrão externo envolve soluções padrão em diferentes concentrações que são utilizadas para a construção da curva analítica do instrumento, que é obtida pela resposta do instrumento como uma função da concentração conhecida do analito.

A maneira mais comum de se obter a curva de calibração é através da construção de um gráfico da resposta do instrumento versus as concentrações conhecidas do analito. É desejável que a curva analítica, seja linear no intervalo de concentração no qual se deseja trabalhar. Esse modelo linear é então utilizado para prever concentrações desconhecidas do analito presente nas amostras.

Esse tipo de calibração é mais comumente utilizado em análises onde se garante ausência do efeito de matriz, interferências, influência das características da amostra

sobre a resposta do analito, ou em análises em que as características da amostra possam ser representadas sinteticamente para o preparo das soluções padrão. Métodos estatísticos são utilizados para encontrar a equação matemática que descreve o modelo de calibração (MENDHAM, 2002).

### 2.3.3 *Validação*

O processo de validação de um método leva em conta a avaliação de diversos parâmetros em função da finalidade do método e dos possíveis pré-requisitos estabelecidos. Além disso, os requisitos mínimos para a validação de um método dependem do guia a ser seguido, que geralmente é escolhido em função da metodologia aplicada e tipo de amostra a ser analisada. Alguns cuidados prévios à validação do método devem ser considerados para garantir a confiabilidade dos resultados como, verificar a qualificação analítica do equipamento e a estabilidade das soluções padrão e amostras.

A qualificação analítica do equipamento diz respeito às condições de uso, calibração, manutenção e capacidade de fornecer os requisitos de análise demandados pelas condições reais em que se encontram os analitos e amostras. A estabilidade das amostras e a maneira de conservá-las deve ser conhecida e executada de maneira correta para evitar resultados inconsistentes em relação à qualificação e à quantificação dos analitos em questão (PASCHOAL et al., 2008).

A seletividade é um dos parâmetros que são avaliados na validação. É a etapa de eliminação de interferências provenientes da matriz e também de compostos semelhantes àqueles a serem analisados. É onde as técnicas adequadas são utilizadas para que certo analito seja determinado de maneira independente. A seletividade do método é verificada a partir da comparação entre a resposta instrumental para a matriz fortificada e para o analito puro em solvente, com o objetivo de demonstrar que o resultado da análise não é afetado por compostos similares ao analito que podem estar presentes na matriz e eluir com tempo de retenção semelhante. Para garantir a resolução dos picos cromatográficos e certificar que determinado pico representa um único analito, testes de resolução podem ser realizados utilizando, por exemplo, detector de arranjo de fotodiodos ou espectrometria de massas (MAPA, 2011).

A sensibilidade relaciona-se à variação mínima na concentração ou massa de um analito que pode gerar uma significativa variação no sinal obtido, como por exemplo, intensidade do pico em um cromatograma. Dessa forma, um método é sensível se uma

pequena variação na concentração do analito originar grandes alterações nas respostas obtidas. Essa figura de mérito é definida pela inclinação, coeficiente angular, da reta gerada pela curva analítica (MESQUITA et al., 2009).

A linearidade é a faixa de concentração em que é possível trabalhar e é dada pela resposta obtida em função da concentração ou massa do analito. A relação entre a resposta obtida e a concentração ou massa do analito é expressa por uma equação matemática proveniente da curva analítica, que deve ser construída no mínimo com 5 pontos sem incluir o ponto zero. Para isto, é utilizado mais comumente o modelo linear dos mínimos quadrados por onde a linearidade é frequentemente testada pelos valores do coeficiente de correlação (r). Quando o valor de r se aproxima de 1, significa que todos os pontos estão sobre uma linha reta. Por outro lado, quando os valores de r se aproximam de zero, indica a falta de correlação entre a resposta obtida, área do pico, por exemplo, e a concentração ou massa do analito (ARAGÃO et al., 2009).

O efeito de matriz é também um estudo de seletividade, que visa averiguar interferências causadas por substâncias presentes na própria matriz e que podem causar diminuição ou ampliação da resposta instrumental. O estudo desse efeito é indispensável quando se pretende trabalhar com a curva de calibração do analito em solvente puro (MAPA, 2011).

A precisão representa o grau de dispersão ou repetibilidade entre ensaios independentes de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições idênticas (RIBANI, 2004; ANVISA, 2003). A precisão, Equação 10, em validação de métodos analíticos é avaliada pela estimativa do desvio padrão absoluto (s).

$$s = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (10)$$

Onde:

$\bar{X}$  é a média aritmética do número de medições,

$X_i$  é o valor individual de cada medição e

n é o número de medições.

Outra equação bastante utilizada para mensurar a precisão é o coeficiente de variação (CV), Equação 11.

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \quad (11)$$

A precisão de um método analítico pode ser avaliada em três níveis distintos: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade.

A repetibilidade expressa a concordância entre os resultados obtidos de repetições de análises realizadas sob condições definidas: único analista, curto período de tempo, mesmo laboratório, equipamento, método, etc. É medida através da estimativa do desvio padrão relativo ou coeficiente de variação. Recomenda-se como procedimento de determinação dessa figura de mérito a análise de um conjunto de amostras constituídas de matrizes brancas fortificadas em pelo menos três níveis de concentração e de 6 a 15 repetições para cada nível (MAPA, 2011), (EURACHEM, 2014).

O cálculo da precisão intermediária segue as mesmas regras relacionadas ao estudo de repetibilidade e como objetiva estudar as variações dentro do laboratório, propõe mudanças como: análise em dias diferentes, analistas diferentes ou uma combinação dos mesmos. Tem a finalidade de verificar que no mesmo laboratório o método fornecerá resultados idênticos. É também expressa pela estimativa do desvio padrão relativo (RIBANI, 2004). Seu procedimento de determinação é equivalente ao estudo de repetibilidade realizado em pelo menos três dias diferentes e com possíveis mudanças de analistas, instrumentos, condições ambientais, etc. (MAPA, 2011).

A reprodutibilidade tem o objetivo de conferir e garantir a reprodução do método em diferentes laboratórios, medindo o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra em diferentes laboratórios. Alguns órgãos, como a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), recomenda a realização do estudo em oito laboratórios diferentes. Esta é uma etapa recomendada apenas para métodos que serão usados em laboratórios diferentes daquele onde foram realizados os estudos de repetitividade e precisão intermediária. Métodos desenvolvidos para serem utilizados em apenas um laboratório não necessitam de passar por essa etapa de validação (RIBANI, 2004).

Geralmente, para fins de aceitação, métodos que quantificam macro quantidades requerem coeficiente de variação de 1 a 2% e para análises de traços ou impurezas, são aceitos coeficientes de variação de até 20% (RIBANI et al., 2004). Há ainda uma relação matemática estabelecida por Horwitz et al para expressar a dependência entre os valores do coeficiente de variação e a concentração da substância, os valores obtidos por essa relação matemática são introduzidos em gráfico, originando a trombeta de Horwitz (HORWITZ, 1995).

A exatidão mede a concordância entre a média de valores individuais encontrados e um valor de referência aceito como verdadeiro. A determinação da exatidão pode ser

feita por meio da fortificação de matrizes brancas. Recomenda-se para seu estudo, a análise de três níveis de concentração com, no mínimo, três repetições cada.

O fator de recuperação ( $f_{rec}$ ) pode ser calculado da seguinte maneira, Eq. 12:

$$f_{rec} = \frac{c_f - c_{nf}}{c_{ad}} \times 100 \quad (12)$$

Onde:

$c_f$  é a concentração após a fortificação da matriz;

$c_{nf}$  é a concentração antes da fortificação;

$c_{ad}$  é a concentração do analito puro adicionada à matriz. (MAPA, 2011).

Os valores de recuperação considerados adequados são estabelecidos em função da concentração de fortificação. Geralmente, para os valores de concentração médios e superiores em relação à curva analítica aceita-se entre 85 e 115% e para o valor inferior aceita-se entre 80 e 120% (PASCHOAL et al., 2008).

O limite de detecção (LD) representa a menor quantidade do analito que pode ser detectada, mas não quantificada (RIBANI, 2004). A maneira mais comum para calcular o limite de detecção e também recomendada para métodos de separação é utilizando o método baseado em parâmetros da curva analítica que pode ser expresso como mostra Eq. 13:

$$LD = 3,3 \frac{s}{SEN} \quad (13)$$

Onde:

$s$  é estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear

$SEN$  é o coeficiente angular da curva analítica (RIBANI, 2004).

O limite de quantificação (LQ) representa a menor quantidade do analito que pode ser quantificada, e como consequência disso, a determinação do limite de quantificação demanda compromisso entre a concentração, precisão e exatidão. Os mesmos parâmetros adotados para determinar LD podem ser adotados para calcular o LQ mudando apenas a proporção, como mostra a Equação 14 (RIBANI, 2004).

$$LQ = 10 \frac{s}{SEN} \quad (14)$$

A robustez mede a sensibilidade que um método tem em relação a pequenas variações em seus parâmetros. Um método cromatográfico, por exemplo, pode ter sua robustez avaliada pela variação do pH da fase móvel em 0,1 unidades, variação da temperatura da coluna em  $\pm 5$  °C, variação da proporção da fase móvel em  $\pm 2\%$ , etc. São mudanças que ilustram as variações que podem ocorrer quando o método é executado por

analistas diferentes, usando equipamentos diferentes ou transferido para outros laboratórios (RIBANI, 2004).

Se resultados de precisão, exatidão e seletividade satisfatórios forem obtidos sob tais condições de variação, o método possui robustez e as variações podem ser incorporadas ao mesmo (ARAGÃO et al., 2009).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Desenvolver um método para determinar haloanisóis em vinhos empregando microextração dispersiva líquido-líquido baseada em líquido iônico (IL-DLLME) e cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por UV-DAD. Além de desenvolver um dispositivo baseado em nanofibras de poli-imida para determinação de verde malaquita por análise de imagem digital.

#### **3.2 Específicos**

Avaliar a solubilidade dos LIs em amostras de vinho;

Avaliar a eficiência de extração em função do volume de LI utilizado, do pH e da força iônica da solução da amostra;

Estabelecer as condições cromatográficas para realizar a separação e detecção dos haloanisóis;

Construir dispositivo de nanofibras de poli-imida para a adsorção do verde malaquita;

Avaliar influência do pH na adsorção do verde malaquita em nanofibras de poli-imida;

Elucidar as interações físicas de adsorção entre o verde malaquita e a nanofibra;

Obter os principais parâmetros para validação dos métodos cromatográficos e análise de imagem;

Determinar haloanisóis em amostras reais de vinhos produzidos no vale do São Francisco e verde malaquita em amostras reais de águas.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos do primeiro trabalho envolvendo IL-DLLME foram desenvolvidos no Laboratório de Espectroanalítica Aplicada (LEA) na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O segundo trabalho foi desenvolvido durante o doutorado sanduíche, no Laboratório de Química Aplicada, Sensores & Biosensores, da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP) como parte do Projeto Institucional de Internacionalização (PrInt) das Universidades com apoio da CAPES/UFPE.

Todas as soluções foram preparadas a partir de reagentes analíticos de alta pureza e água destilada-deionizada com resistividade específica de 18,2 MΩ cm (Milli-Q, Millipore, EUA).

Os padrões de dicloroanisol (2,6-DCA), tricloroanisol (2,4,6-TCA), tetracloroanisol (2,3,5,6-TeCA) e pentacloroanisol (2,3,4,5,6-PCA) foram adquiridos na Sigma-Aldrich (99%). Para cada solução padrão de haloanisol foi pesada massa de 10,0 mg em balança analítica seguida de diluição em 25,0 mL de etanol, resultando em soluções de 400 mg L<sup>-1</sup> que foram estocadas em freezer.

O padrão de oxalato de verde de malaquita foi adquirido na VWR Chemicals (95 a 100%). A solução padrão foi preparada dissolvendo-se 5,0 mg do oxalato em 500 mL de água ultrapura, resultando em solução estoque de 10,0 mg L<sup>-1</sup>. A solução estoque foi mantida sob refrigeração.

As soluções de trabalho das soluções padrão foram preparadas a partir da diluição das soluções estoque.

Na Tabela 1 constam os reagentes/solventes utilizados e suas respectivas purezas e marcas.

Tabela 1- Reagentes utilizados no desenvolvimento da pesquisa.

COMPOSTO/SOLVENTE	PROCEDÊNCIA	PUREZA (%)
Acetonitrila	J.T. Baker	99,98 HPLC
Etanol	Êxodo científica	99,5
Bis(trifluorometilsulfonil)imidato de lítio	Sigma Aldrich	99,95
Brometo de ácido 2(2-(3-metilimidazolio-1-il)etoxi)carboil)benzoico	-----	-----

Ácido clorídrico	Dinâmica	-----
Hidróxido de sódio	Quimex	99,0
Cloreto de sódio	Cinética	99,0
Ácido cítrico	Sigma Aldrich	99,0
Alaranjado de metila	Merck	>90,0
Cristal violeta	Riedel-de Haen	>90,0

Fonte: (AUTOR, 2022)

As nanofibras de poli-imida, assim como as outras fibras, foram doadas pelo grupo do Prof. Dalibor Šatínský, do Departamento de Química Analítica da Faculdade de Farmácia da Charles University, República Checa.

#### 4.1 Instrumentação

As análises foram realizadas no cromatógrafo a líquido de alta eficiência, operando com um sistema de bombeamento binário de solventes do tipo LC-20AD, amostrador automático SIL-20A, detector UV-Vis SPD-20A, forno para coluna CTO-20<sup>a</sup>. O módulo de comunicação entre o HPLC e o computador é do tipo CBM-20A, contendo degaseificador DGU-20 A. A coluna cromatográfica utilizada foi Ascentis Express C18 de 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e fase estacionária com partículas de 5µm.

O dispositivo de nanofibra de poli-imida foi construído usando máquina de plastificar documentos (Lervia laminator model KH4412). Para os ensaios de adsorção foi usado agitador magnético (modelo RT15 Power e RSLab-5C), espectrofotômetro UV-Vis e cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico. Para os ensaios de pH e pH<sub>PZC</sub> foi usado pHmetro (Sension + pH 31).

#### 4.2 Amostras

As amostras de vinhos comerciais foram adquiridas no comércio local da região metropolitana de Recife e as amostras de vinhos experimentais foram doadas pela EMBRAPA Semiárido. As amostras foram filtradas em filtro de papel (25 µm) para remover impurezas grosseiras, em seguida foram filtradas novamente à vácuo com membrana de celulose de 0,45 µm e submetidas às condições de análise.

As amostras de água foram coletadas em garrafas de vidro âmbar no Rio Douro, em Portugal, foram filtradas à vácuo com membrana de celulose de 0,45  $\mu\text{m}$ , tiveram seu pH ajustado para 5 e foram estocadas em câmara fria a 4,0 °C.

#### **4.3 Método de extração utilizando LI (IL-DLLME)**

No método de DLLME aplicado neste trabalho, a volume de 10,0 mL de amostra (pH 8,0) foram adicionados 500,0 mg de NaCl seguidos da adição de 50,0 mg do líquido iônico (Brometo de ácido 2(2-(3- metilimidazolio-1- il)etoxi)carboil)benzoico) e 70,0 mg do líquido iônico (Bis(trifluorometilsulfonil)imidato de lítio) contendo o ânion de interesse, então o líquido iônico (Bis(trifluorometilsulfonil)imidato de ácido 2(2-(3- metilimidazolio-1- il)etoxi)carboil)benzoico) foi formado na solução pela reação de metátese.

#### **4.4 Condições cromatográficas**

Constituiu-se de uma corrida de 16 minutos com fluxo de 1,0 mL  $\text{min}^{-1}$  e eluição isocrática com 90 % B (acetonitrila) e 10 % A (água ultrapura). A coluna cromatográfica utilizada foi uma Ascentis Express C18 de 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e fase estacionária com partículas de 5 $\mu\text{m}$ .

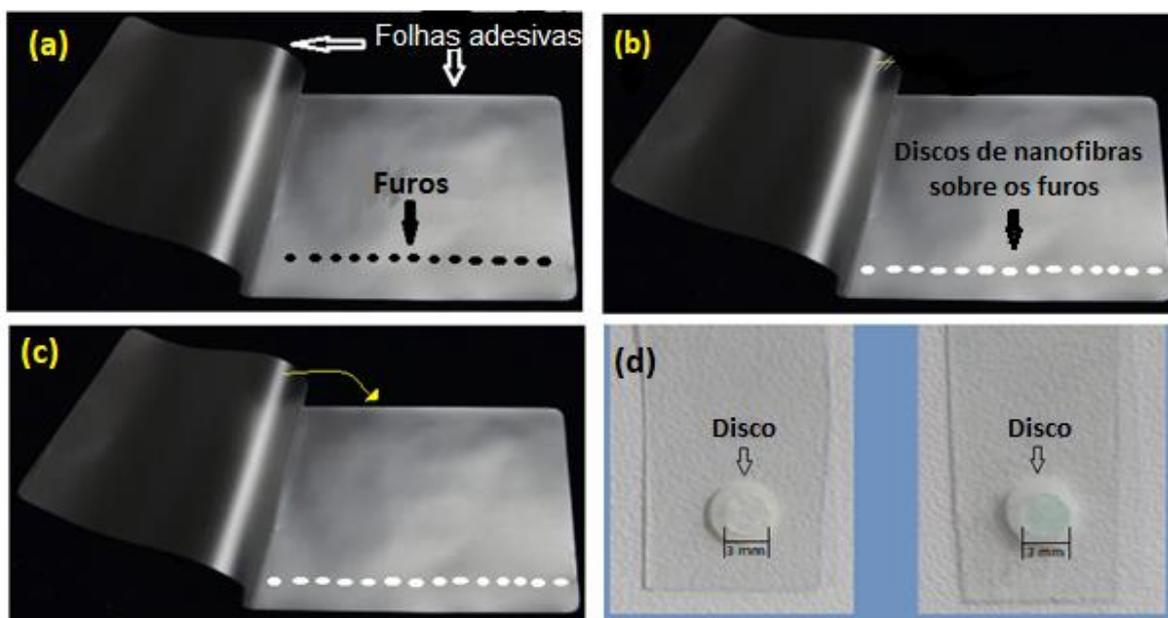
#### **4.5 Estudos de adsorção e otimização de parâmetros**

O estudo de adsorção para a poli-imida foi realizado em triplicata utilizando massa de 2,0 mg da nanofibras que foram colocadas em contato com 50,0 mL de solução de verde malaquita na faixa de concentração de 0,1 a 1,0 mg  $\text{L}^{-1}$ . O sistema foi agitado por 4 horas a 150 rpm. Nas primeiras 2 horas foram coletadas alíquotas a cada 15 min e no tempo restante as alíquotas foram coletadas a cada 30 min, resultando num total de 36 alíquotas para cada triplicata.

#### **4.6 Preparo do dispositivo**

Para o preparo do dispositivo a nanofibra de poli-imida foi cortada em pequenos discos de 5,0 mm de diâmetro, que foram impressos em plástico adesivo. A Figura 16 mostra o esquema de impressão dos pequenos discos de poli-imida.

Figura 16- Esquema da construção do dispositivo para adsorção do verde malaquita. Folha com furos de 3,0 mm (a). Folha com os discos de 5,0 mm sobre os furos (b). Sobreposição da segunda folha (sem furos) sobre a primeira para o selamento (c). Discos selados antes do processo de adsorção (esquerda) e depois (direita) (d).



Fonte: (AUTOR, 2022)

O sistema é constituído de duas folhas que contêm um filme, que ao ser aquecido cola as duas partes fixando o disco de nanofibra. Previamente à impressão, uma das duas folhas foi perfurada com circunferência de 3,0 mm de diâmetro, ligeiramente menor que a circunferência do disco de nanofibras. Parte da nanofibra fica impressa e parte fica exposta à solução da amostra.

#### 4.7 Estudo do efeito da agitação

A velocidade de agitação foi estudada com o intuito de maximizar a adsorção do verde malaquita aos discos de nanofibra. As velocidades estudadas foram 150, 250 e 350 rpm. Os dispositivos foram fixados nas paredes internas dos béqueres com volume fixo de 50,0 mL de solução padrão de verde malaquita  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ . Cada velocidade de agitação foi avaliada, em triplicata, por 60 minutos.

#### 4.8 Estudo do efeito do pH

O pH de cada ensaio foi ajustado utilizando 5,0 mL de solução de ácido cítrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e soluções de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . O volume final foi completado para 50,0 mL com água destilada e solução de verde malaquita de modo a

obter, no final, solução de verde malaquita  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  e ácido cítrico  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ . Os valores de pH estudados foram 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10 e 12.

#### **4.9 pka do verde malaquita em solução aquosa**

O pka do verde malaquita foi calculado com auxílio da titulação potenciométrica. Foram utilizados 15,0 mL de solução de verde malaquita na concentração de  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  e 5,0 mL de solução de cloreto de sódio  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  para ajuste da força iônica. Esta solução foi ajustada a pH 2 e titulada com solução de hidróxido de sódio  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ .

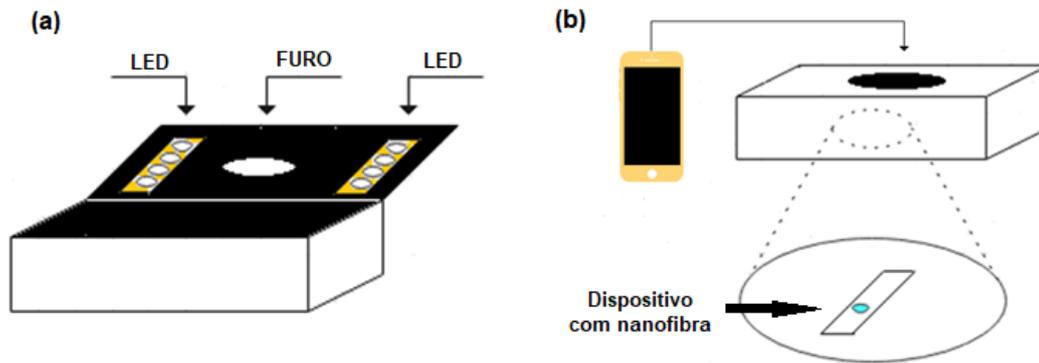
#### **4.10 Ponto de carga zero (P<sub>ZC</sub>)**

O ponto de carga zero foi calculado utilizando 50 mL de soluções de NaCl 0,01 M e massa de 2,0 mg de nanofibra de poli-imida. O pH nos valores de 2, 4, 6, 8 e 10 foi ajustado com soluções aquosas de HCl e NaOH.

#### **4.11 Captura e tratamento das imagens**

Após os ensaios de adsorção e otimização dos parâmetros, os sensores de nanofibra já submetidos ao processo de adsorção foram secos à temperatura ambiente antes de terem suas imagens capturadas. A captura das imagens foi realizada dentro de uma caixa com a superfície interna pintada de preto, para prevenir excesso de reflexo de luz. Além disso, a caixa foi iluminada interiormente com fitas de LED de luz branca. As imagens foram capturadas com *smartphone* através de um furo feito na tampa da caixa. A Figura 17 ilustra a caixa utilizada para a captura de imagens.

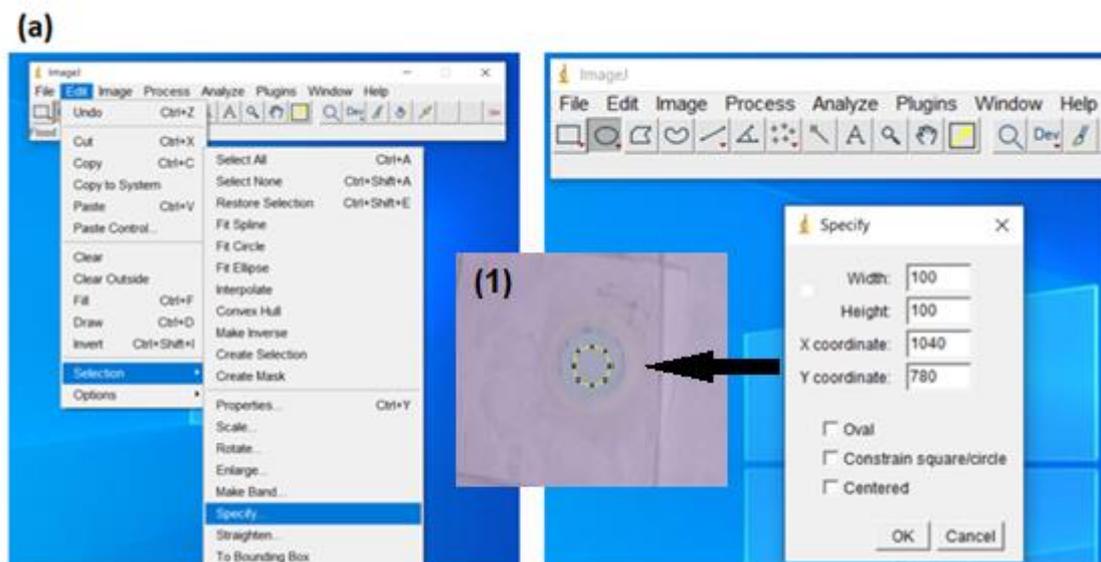
Figura 17- Esquema da caixa utilizada para a aquisição das imagens com destaque para parte interior pintada de preto com fitas de LED e furo na tampa(a). Esquema mostrando a aquisição das imagens com aparelho celular e posicionamento do dispositivo com a nanofibra dentro da caixa (b).

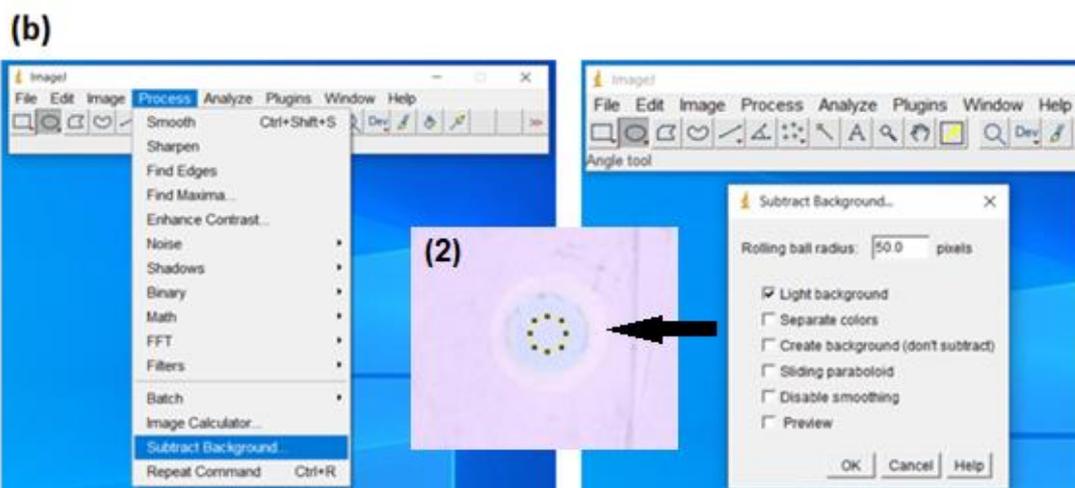


Fonte: (AUTOR, 2022)

Após a captura, as imagens foram carregadas no software ImageJ® para serem processadas. Primeiramente foi selecionada a área da imagem a ser analisada e em seguida foi corrigida a luz de fundo com o intuito de intensificar a cor exibida. A Figura 18 ilustra os passos realizados no ImageJ® para a análise das imagens.

Figura 18- Passos para selecionar a área central da imagem (a) e resultado após a seleção (1). Passos para corrigir a luz de fundo da imagem (b) e resultado após a correção (2).





Fonte: (AUTOR, 2022)

Após o tratamento da imagem foram obtidos histogramas para cada canal do sistema RGB, os valores médios apresentados nos histogramas do canal vermelho foram considerados para calibração.

#### 4.12 Figuras de mérito

Para a obtenção das figuras de mérito, curvas de calibração foram construídas sob as condições otimizadas. Para a calibração, o dispositivo construído foi submetido a ensaios de adsorção em contato com 50,0 mL de soluções 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 e 0,30 mg L<sup>-1</sup> de verde malaquita, por 60 minutos. Após o processo de adsorção os dispositivos foram secos à temperatura ambiente e suas imagens foram capturadas. A curva de calibração foi construída com os valores das intensidades das cores para cada concentração em triplicata. Os valores para o canal R foram obtidos pelo software ImageJ<sup>®</sup> e tratados utilizando a equação 15.

$$R = -\log \frac{I}{I_0} \quad \text{eq. 15}$$

Onde I é o valor médio do canal R para cada concentração e I<sub>0</sub> é o valor médio do branco (valores de R para o sensor em contato com água destilada). A equação 15 considera a contribuição do branco e é utilizada para reduzir a imprecisão.

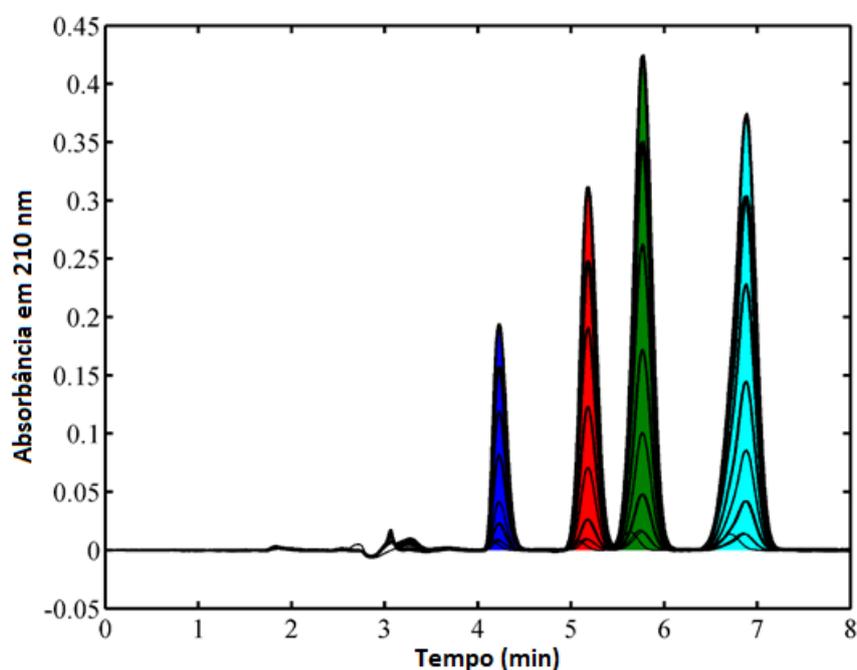
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Parte I – Determinação de Haloanisóis em Vinhos

#### 5.1.2 Calibração

A curva analítica, a linearidade e a significância foram inicialmente avaliadas usando o método de análise de variância univariada (ANOVA). Os resultados da calibração univariada foram comparados àqueles obtidos pela calibração multivariada. A Figura 19 mostra os cromatogramas registrados em comprimento de onda de 210 nm para uma amostra de vinho (branco analítico) fortificada com os padrões dos haloanisóis estudados. O intervalo linear de concentração foi de 1 a 25 mg L<sup>-1</sup> para cada analito, resolução acima de 1,5 e fator de assimetria próximo de 1 foram obtidos para todos os analitos.

Figura 19- Cromatograma de amostra fortificada com solução padrão dos analitos DCA (azul), TCA (vermelho), TeCA (verde) e PCA (ciano) a 3 mg L<sup>-1</sup>. Eluição isocrática com 90 % acetonitrila e 10% água deionizada. Fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>, temperatura de 35 °C e tempo total de 8 min. Absorbância em 210 nm.



Fonte: (AUTOR, 2022)

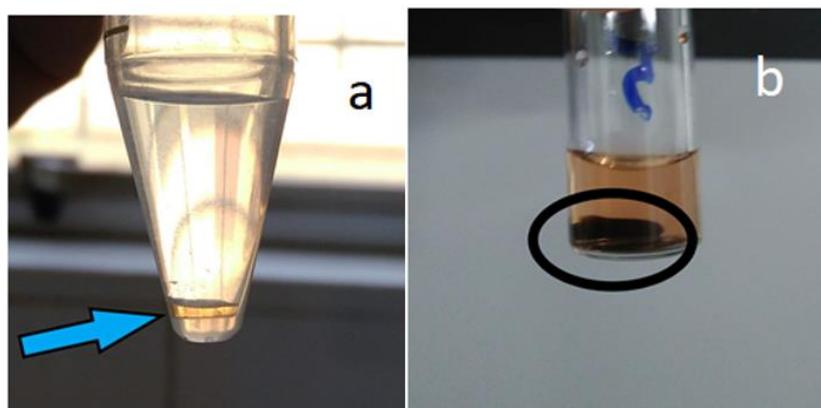
A análise estatística indicou que a equação linear ajustada não apresentou significância para o intercepto de acordo com o teste *t* ( $\alpha = 0,05$ ), então o intercepto foi considerado zero. A nova equação com o intercepto igual a zero apresentou significância

para regressão de acordo com o teste F ( $\alpha = 0,05$ ) e não significância para falta de ajuste F ( $\alpha = 0,05$ ). Além disso, constatou-se homocedasticidade para os resíduos das curvas de calibração univariadas. A equação linear e a variância explicada ( $R^2$ ) para cada analito DCA, TCA, TeCA e PCA foram, respectivamente,  $Y = 1,28 \cdot 10^{-3} X$ ,  $R^2 = 0,998$ ;  $Y = 2,49 \cdot 10^{-3} X$ ,  $R^2 = 0,999$ ;  $Y = 3,95 \cdot 10^{-3} X$ ,  $R^2 = 0,999$  e  $Y = 4,29 \cdot 10^{-3} X$ ,  $R^2 = 0,999$ . Onde Y é a área dos picos em ua.min e X representa a concentração dos respectivos analitos, em  $\text{mg L}^{-1}$ .

### 5.1.3 Preparação do LI por reação de metátese in-situ

Como descrito anteriormente, os reagentes foram adicionados diretamente à amostra para que ocorresse, ao mesmo tempo, a reação de metátese in situ e o processo de extração, à medida que o líquido iônico (Bis(trifluorometilsulfonil)imidato de ácido 2-(2-(3-metilimidazolio-1-il)etoxi)carboil)benzoico) se formasse. A Figura 20 mostra o líquido iônico depositado no fundo dos frascos após centrifugação.

Figura 20- Líquido iônico formado em solução hidroalcológica (10% etanol) (a) e em amostra de vinho tinto (b).



Fonte: (AUTOR, 2022)

O líquido iônico apresentado na Figura 20 (b) é de coloração roxa porque foi formado em solução de vinho tinto, indicando que o LI adsorve também parte dos pigmentos da solução.

### 5.1.4 Estudo dos fatores que influenciam a extração

O estudo foi realizado visando alcançar tanto o melhor fator de enriquecimento como a melhor porcentagem de recuperação. As variáveis consideradas mais relevantes foram, o volume de LI gerado no processo de extração, o pH das amostras e a adição de sal (NaCl) para avaliar a influência da força iônica da solução.

#### 5.1.4.1 Efeito do volume de líquido iônico

O volume do líquido iônico é um fator importante que pode influenciar no desempenho do enriquecimento. Foram testados três volumes de LI (20, 40 e 60  $\mu\text{L}$ ), mantendo fixo o volume da amostra em 5,0 mL e foram avaliados o fator de enriquecimento (FE) a eficiência de extração (%Rec). A Tabela 2 mostra os valores para cada analito em relação apenas ao volume de 40  $\mu\text{L}$ . O volume de 20  $\mu\text{L}$  teve eficiência de extração relativa muito baixa e o volume de 60  $\mu\text{L}$  de LI apresentou intensa interferência, impossibilitando a recuperação dos sinais (picos) dos analitos mesmo usando as ferramentas quimiométricas.

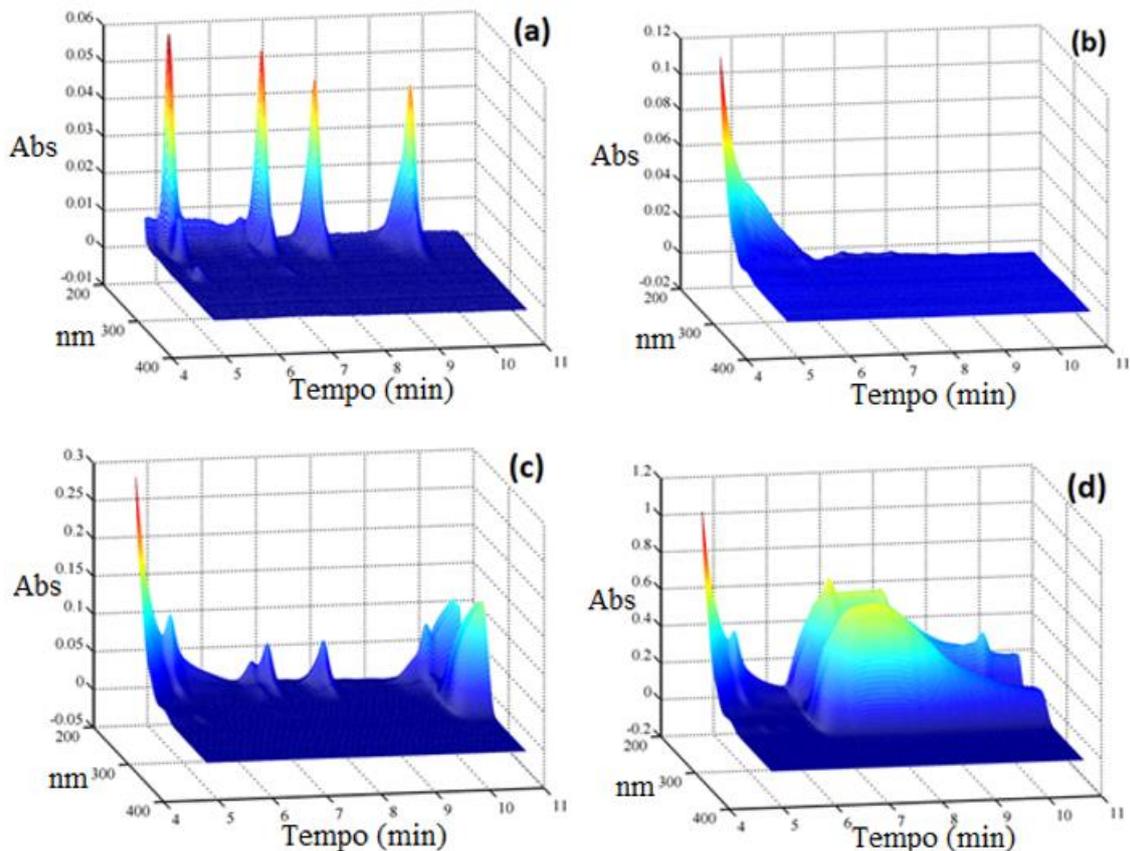
Tabela 2- Fatores de enriquecimento (FE) e eficiência de recuperação (%Rec) para cada analito utilizando volume de LI de 40  $\mu\text{L}$ .

Analito	FE	% Rec
DCA	10,3	8,2
TCA	10,6	8,5
TeCA	16,0	12,8
PCA	20,5	16,5

Fonte: (AUTOR, 2022)

A Figura 21 mostra os cromatogramas em 3D para os analitos DCA, TCA, TeCA e PCA nos três volumes estudados.

Figura 21- Cromatogramas em 3D para os padrões (a), extração com volume de 20  $\mu\text{L}$  (b), 40  $\mu\text{L}$  (c) e 60  $\mu\text{L}$  de LI.



Fonte: (AUTOR, 2022)

Observa-se, na Figura 21 (c), que o volume de 40  $\mu\text{L}$  foi o único que apresentou sinais relacionados aos analitos. Para este volume, pode-se dizer que existiu um equilíbrio entre a interferência do LI no processo de extração e a eficiência de recuperação.

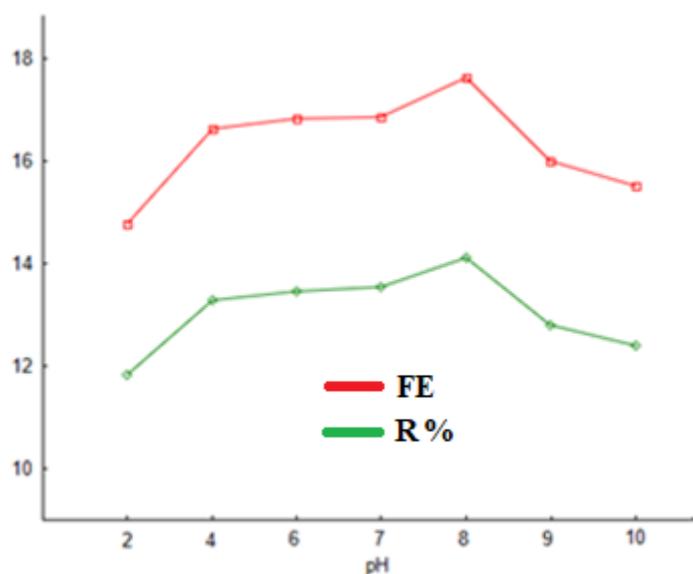
O volume de 20  $\mu\text{L}$  (Figura 21b) não foi o suficiente para promover a extração dos analitos e, portanto, o cromatograma, mesmo apresentando baixa interferência do LI, apresenta também ausência dos sinais dos analitos em função da baixa eficiência de recuperação. Ao utilizar 60  $\mu\text{L}$  de LI houve intensa interferência no processo de extração, ao passo que não foi possível recuperar bem os sinais do TCA e do TeCA que eluem entre 5 e 6 minutos, através do tratamento quimiométrico. Fez-se uma análise quimiométrica do perfil recuperado do DCA e PCA da eluição usando 40  $\mu\text{L}$  e 60  $\mu\text{L}$  de LI e observou-se que a diferença não é tão significativa quando comparado ao ganho em recuperação entre 20  $\mu\text{L}$  e 40  $\mu\text{L}$  de LI. Por isso optou-se por usar o volume de 40  $\mu\text{L}$  de LI por apresentar um bom compromisso entre eficiência de extração e interferência.

A queda da eficiência de extração com o aumento de volume do LI formado pela reação de metátese pode estar relacionada à maior quantidade de LI que se forma rapidamente na solução e acelera o processo de deposição no fundo do recipiente. Processo de deposição muito rápido impede o contato das gotículas do LI com os analitos em solução (ZHANG et al., 2012).

#### 5.1.4.2 Efeito do pH

O efeito do pH no fator de enriquecimento e eficiência de extração (recuperação) foi avaliado na faixa de 2 a 10. Os resultados, Figura 22, mais satisfatórios foram alcançados quando as amostras foram submetidas ao processo de extração a pH 8. Os analitos que foram estudados não têm tendência de sofrer influência do pH do meio em que estão inseridos, uma vez que sua basicidade e/ou acidez podem ser desconsideradas por possuir nenhum átomo ionizável. O LI, mais exatamente o cátion que o constitui, apresenta uma terminação de ácido carboxílico podendo ser a ele atribuída tal influência do pH no processo de extração. O pH 8 foi o escolhido para as análises posteriores.

Figura 22- Variação do fator de enriquecimento e da eficiência de recuperação em função do pH do meio.



Fonte: (AUTOR, 2022)

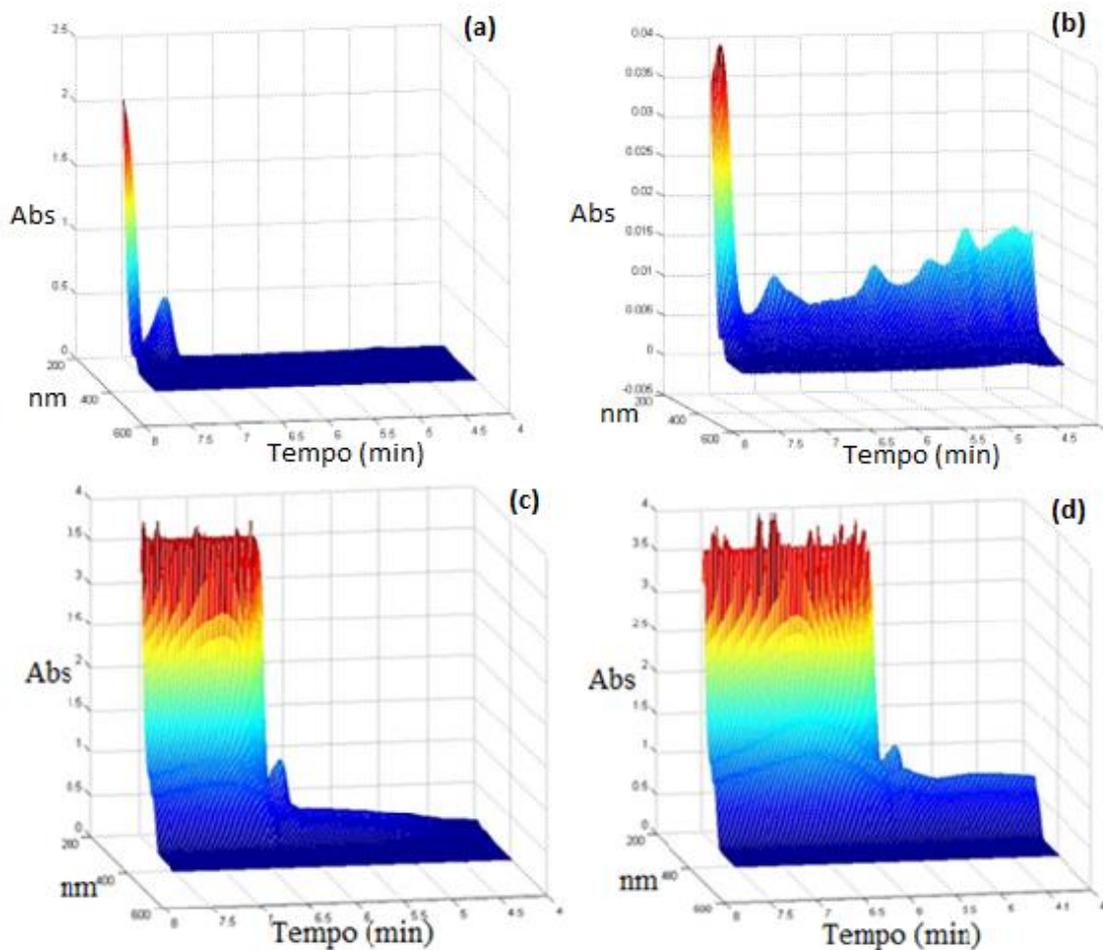
#### 5.1.4.3 Efeito da força iônica

A força iônica pode aumentar a partição dos analitos no solvente de extração, o que melhora o fator de enriquecimento. Para o estudo da força iônica, foi adicionado 5,

10, 15 e 20 % (m/v) de NaCl nas amostras fortificadas de vinhos. A Figura 23 ilustra os cromatogramas em 3D provenientes dos resultados para as adições de NaCl a 5, 10, 15 e 20 % (m/v).

Figura 23- Cromatogramas em 3D para a adição de NaCl a 5 (a), 10 (b), 15 (c) e 20 % (m/v) (d).

Mg

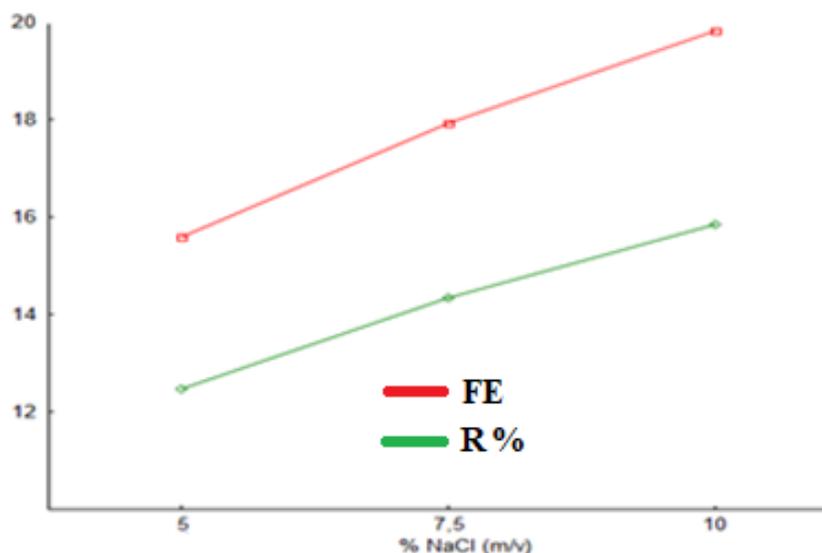


Fonte: (AUTOR, 2022)

Conforme observa-se na Figura 23, para os valores de 15 e 20 % (m/v) de NaCl não foi possível recuperar o sinal dos analitos, o que pode ser atribuído à diminuição da solubilidade do LI no meio fazendo com que seu volume final fosse superior a 40  $\mu$ L. Volume maior de LI representou maior interferência, como mostrado para o volume de 60  $\mu$ L.

Constatados os resultados satisfatórios apenas para as adições de NaCl a 5 e 10 % (m/v), foi realizado também um estudo com adição de NaCl 7,5 % (m/v). O gráfico da Figura 24 mostra a comparação entre os três valores de adição de NaCl.

Figura 24- Variação do fator de enriquecimento e da eficiência de recuperação em função da adição de NaCl.



Fonte: (AUTOR, 2022)

O estudo adicionando NaCl a 7,5% (m/v) foi realizado com o intuito de comparar com os resultados obtidos para a adição de NaCl a 10% (m/v), uma vez que este já havia sido mais satisfatório comparado à adição do sal a 5% (m/v). Entretanto, como pode ser observado, a adição de 10% continuou sendo a mais satisfatória e conseqüentemente a escolhida para as análises posteriores.

Em resumo, conforme mostra a Tabela 3, de acordo com os resultados provenientes da otimização foi estabelecido o volume de LI de 40  $\mu$ L, o pH 8 e a adição de sal de 10% (m/v). Dessa forma, as análises posteriores foram realizadas utilizando estes parâmetros.

Tabela 3- Resumo dos parâmetros estudados e selecionados na eficiência de extração IL-DLLME de DCA, TCA, TeCA e PCA em amostras de vinhos.

Parâmetros	Faixa estudada	Selecionado
Volume de LI ( $\mu$ L)	20 a 60	40
pH	2 a 10	8
Adição de NaCl (% m/v)	5 a 20	10

Fonte: (AUTOR, 2022)

Considerando os estudos isolados o maior valor médio para o fator de enriquecimento foi de 19,8 proveniente do estudo de adição de NaCl (10% m/v). Neste

mesmo estudo de adição de sal, foram obtidos para os analitos tricloroanisol (TCA) e pentacloroanisol (PCA) valores de 21,2 e 28,3 para fator de enriquecimento, respectivamente.

Lai e colaboradores obtiveram fator de enriquecimento de, aproximadamente, 30 na determinação de ocratoxina em vinhos de arroz utilizando o líquido iônico hexafluorofosfato de hexilmetilimidazólio ([HMIM] [PF<sub>6</sub>]) como solvente extrator (LAI et al., 2014).

Fatores de enriquecimento elevados são alcançados ao passo que se obtém elevados valores para a eficiência de recuperação, mas esses fatores também levam em consideração o volume de LI utilizado no processo de extração. Zhang e colaboradores obtiveram valores de 244 a 268 para o fator de enriquecimento em trabalho de extração de pesticidas de fenilureia em amostras de água, com eficiência de recuperação variando de 93,1 a 106,1 (ZHANG et al., 2012).

Gure e colaboradores em estudo para determinação de herbicidas de sulfonilureia utilizando o mesmo LI, [HMIM] [PF<sub>6</sub>] empregado por Lai e colaboradores (2014) como solvente extrator, obtiveram recuperação de 79 a 104 % (GURE et al., 2015).

## 5.2 Modelo quimiométrico usando MCR-ALS

Previamente à análise das amostras, foi avaliada a capacidade de predição da concentração dos analitos em amostras fortificadas em triplicata tomando como referência uma simples curva analítica por padronização externa. Os dados em relação às figuras de mérito e à predição das concentrações são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4- Figuras de mérito e concentrações preditas dos analitos.

Analito	Fortificação (mgL <sup>-1</sup> )	Concentração predita (mgL <sup>-1</sup> )	Desvio padrão (mgL <sup>-1</sup> )	LD (mgL <sup>-1</sup> )	LQ (mgL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	Intervalo (mgL <sup>-1</sup> )
DCA	3,00	2,96	0,09	0,37	1,12	0,9992	1,0-25
TCA	3,00	3,00	0,12	0,45	1,37	0,9994	1,0-25
TeCA	3,00	2,91	0,14	0,32	0,95	0,9964	1,0-25
PCA	3,00	2,97	0,09	0,30	0,91	0,9969	1,0-25

Fonte: (AUTOR, 2022)

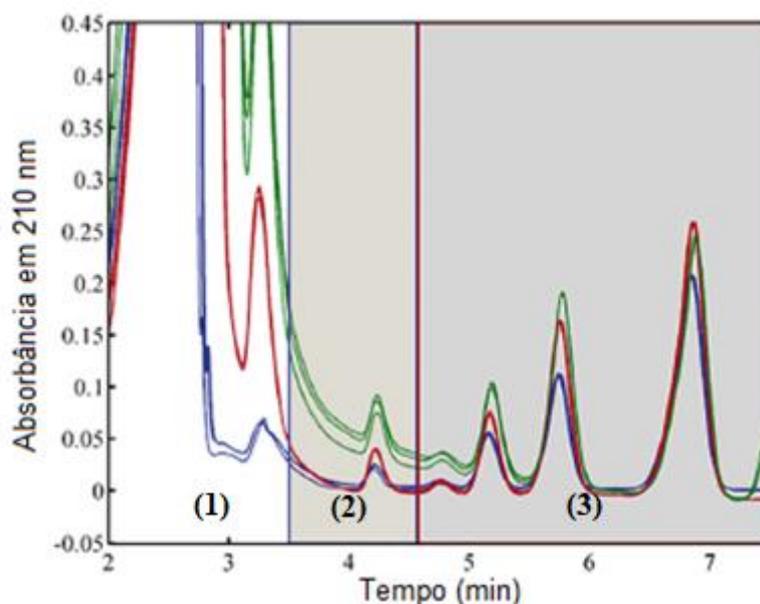
A Tabela 4 apresenta dados satisfatórios tanto em relação às figuras de mérito quanto aos valores das concentrações recuperadas pelo tratamento quimiométrico, evidenciando a confiabilidade do mesmo para a execução do estudo em questão. É importante lembrar que os valores de concentração recuperados apresentados na Tabela 4 não são referentes à eficiência de recuperação do método de extração, e, sim, referentes à capacidade de predição das concentrações pelo algoritmo utilizado no tratamento matemático.

### 5.2.1 *Análise de amostras reais*

As análises em amostras reais foram conduzidas com o principal objetivo de comparar os resultados obtidos com a calibração univariada aos resultados obtidos com a calibração multivariada proposta. Para esse estudo, foram analisadas 3 amostras de vinhos, dois vinhos tintos e um vinho rosé. As amostras foram submetidas ao método de extração com aplicação dos parâmetros otimizados anteriormente.

Para a análise univariada os picos de cada analito foram integrados e suas respectivas áreas foram utilizadas na quantificação. A Figura 25 mostra os cromatogramas das amostras fortificadas a  $3,0 \text{ mgL}^{-1}$  com os padrões dos analitos.

Figura 25- Cromatogramas típicos para as três amostras de vinho fortificadas com  $3,0 \text{ mgL}^{-1}$  de todos os analitos (DCA, TCA, TeCA e PCA). Vinho rosé (azul), vinho tinto 1 (vermelho) e vinho tinto 2 (verde).



Fonte: (AUTOR, 2022)

O corte realizado no cromatograma, Figura 25, foi utilizado para facilitar o tratamento quimiométrico. Uma vez que boa parte do interferente que está fora do intervalo de retenção dos analitos foi removida e não precisa ser computada nos cálculos realizados pelo algoritmo.

A Tabela 5 mostra a concentração média predita, os valores de eficiência de recuperação (R) e os fatores de enriquecimento (FE) para a quantificação dos analitos nas três amostras usando a calibração univariada.

Tabela 5- Eficiência de extração (R) e fator de enriquecimento (FE) para cada amostra obtidos por calibração univariada. Fortificação com 30 mg L<sup>-1</sup>.

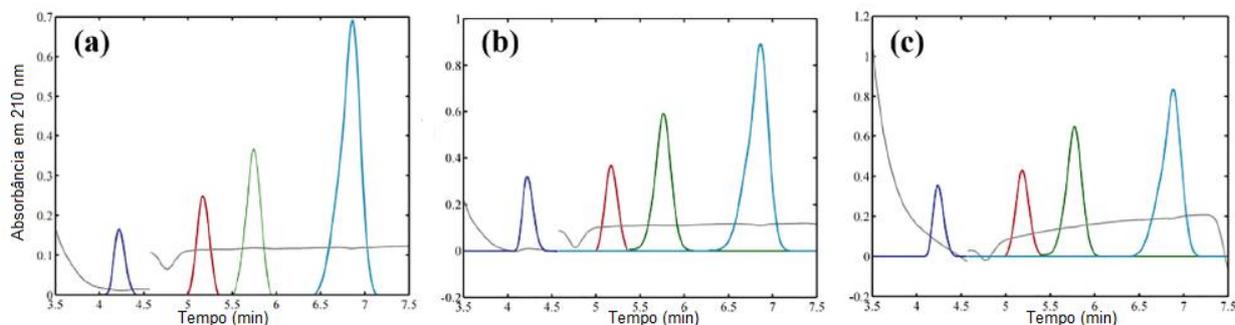
Amostra	Rosé			Tinto 1			Tinto 2		
	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	R (%)	FE	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	R (%)	FE	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	R (%)	FE
DCA	2,35	7,83	11,75	4,55	15,16	22,76	3,98	13,27	19,89
TCA	4,33	14,43	21,63	5,48	18,27	27,42	6,27	20,90	31,35
TeCA	6,04	20,12	30,19	8,56	28,53	42,81	9,33	31,10	46,65
PCA	13,33	44,43	66,64	15,68	52,27	78,39	15,23	50,77	76,17

Fonte: (AUTOR, 2022)

Os mesmos cromatogramas tratados utilizando calibração univariada foram também tratados com MCR-ALS. Nesse caso, os cromatogramas em 3 dimensões foram modelados. As diferenças nas interferências, espectros dos analitos e tempos de retenção permitem a separação matemática e torna possível a quantificação de cada analito. A Figura 26 mostra as regiões modeladas com aplicação do algoritmo. A região 1, delimitada pela linha azul, foi eliminada uma vez que é uma região onde não há picos dos analitos. A região 2, região de maior interferência sobre o DCA entre a linha azul e a linha vermelha, foi utilizada para separar o DCA dos demais analitos.

A Figura 26 mostra os resultados após a modelagem por MCR-ALS onde as interferências foram separadas matematicamente. A linha cinza representa o sinal da interferência e mostra que a amostra de vinho tinto 2 apresentou a maior interferência e conseqüentemente a maior diferença no valor predito de concentração quando comparado ao tratamento univariado, observar Tabelas 5 e 6.

Figura 26- Cromatogramas para as 3 amostras de vinho rosé (a), tinto 1 (b) e tinto 2 (c) fortificadas a  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$  dos analitos DCA (azul), TCA (vermelho), TeCA (verde) e PCA (ciano). A linha cinza representa a interferência. Foi utilizada eluição isocrática com 90 % B e 10% A e tempo total de 8 min. Fluxo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$  e temperatura a  $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .



Fonte: (AUTOR, 2022)

Pelos perfis recuperados na Figura 26 e pelas diferenças nas concentrações preditas quando comparado o tratamento univariado ao tratamento multivariado, é possível destacar a interferência do LI sobre as áreas dos analitos, principalmente para o DCA. Os resultados mostram que é possível aplicar tanto o tratamento univariado quanto o multivariado, este sendo utilizado para eliminar as interferências e aquele para quando a interferência não estiver presente.

A Tabela 6 mostra os valores médios preditos para a eficiência de recuperação e o fator de enriquecimento para a quantificação dos analitos nas 3 amostras utilizando MCR-ALS.

Tabela 6- Eficiência de extração (R) e fator de enriquecimento (FE) para cada amostra de vinho, obtidos por calibração multivariada. Fortificação  $30 \text{ mg L}^{-1}$ .

Amostra	Rosé			Tinto 1			Tinto 2		
	Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ )	R (%)	FE	Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ )	R (%)	FE	Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ )	R (%)	FE
DCA	2,18	7,27	10,90	4,20	14,01	21,01	4,57	15,24	22,85
TCA	4,15	13,84	20,75	5,96	19,85	29,78	6,56	21,88	32,82
TeCA	6,07	20,24	30,35	9,16	30,52	45,78	10,25	34,16	51,24
PCA	13,49	44,96	67,43	16,97	56,57	84,86	15,60	52,01	78,02

Fonte: (AUTOR, 2022)

A utilização do tratamento quimiométrico, além de possibilitar uma eluição cromatográfica mais simples e econômica em função da eliminação dos interferentes matematicamente, ela também torna possível o uso de variados tipos de líquidos iônicos em análises por HPLC-DAD. Um exemplo da restrição de trabalhos que podem ser executados com líquidos iônicos utilizando HPLC com detector por fluorescência (FLD)

foi o trabalho realizado por Lai e colaboradores. Os autores não puderam utilizar o LI, hexafluorofosfato de octilmetilimidazólio ([OMIM] [PF<sub>6</sub>]), como solvente extrator por causa de severa interferência com o pico da ocratoxina (LAI et al., 2014). Possivelmente, com tratamento quimiométrico teria sido possível apresentar mais esta opção de solvente extrator.

### 5.3 Parte 2 – Determinação de verde malaquita em águas

#### 5.3.1 Estudos preliminares das nanofibras

Foi realizado teste de coloração das fibras com o objetivo de excluir dos ensaios posteriores aquelas que não apresentassem coloração. As fibras foram mergulhadas em 100 mL de solução padrão de verde malaquita 0,1 mg L<sup>-1</sup>, considerada como a concentração mínima esperada para lagoas de criação de peixes. Os ensaios foram realizados em triplicata sob agitação a 150 rpm por 60 min em agitador magnético. A Tabela 7 mostra os resultados dos testes de coloração.

Tabela 7- Resultado dos ensaios de adsorção para as nanofibras de diferentes materiais poliméricos e a presença ou não de coloração.

Material	Coloração
PID	sim
PAD*	não
PVDF	não
PVDF + PCL	não
PCL	não
PCL + PCL	não
PP	não

\*Apresentou coloração satisfatória apenas enquanto estava umedecida.

Fonte: (AUTOR, 2022)

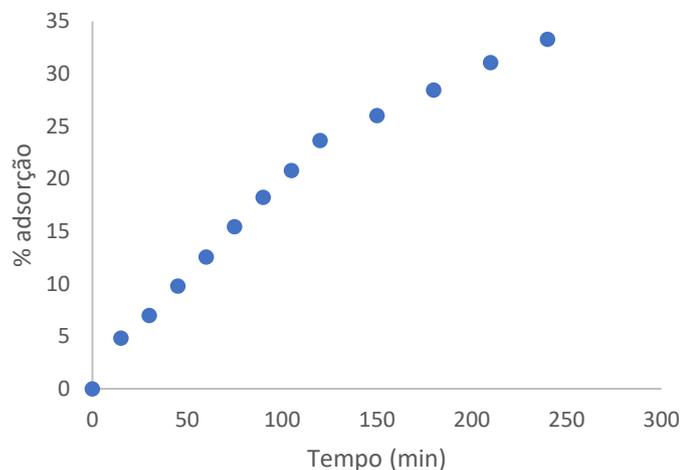
Pode-se concluir da Tabela 7 que apenas a nanofibra de poli-imida (PID) apresentou coloração intensa e favorável à determinação do verde malaquita por análise de imagens, portanto para os estudos posteriores apenas a poli-imida foi utilizada.

#### 5.3.2 Estudo de adsorção do verde malaquita

O estudo de adsorção do verde malaquita em nanofibras de poli-imida se fez necessário para a compreensão do processo de adsorção e para a avaliação da qualidade da fibra para tal finalidade.

A Figura 27 mostra uma curva característica dos estudos de porcentagem de adsorção em função do tempo para a poli-imida.

Figura 27- Porcentagem de adsorção em função do tempo utilizando massa de 2,0 mg de poli-imida para a concentração de 7 mg L<sup>-1</sup> de verde malaquita. Temperatura 20 °C.

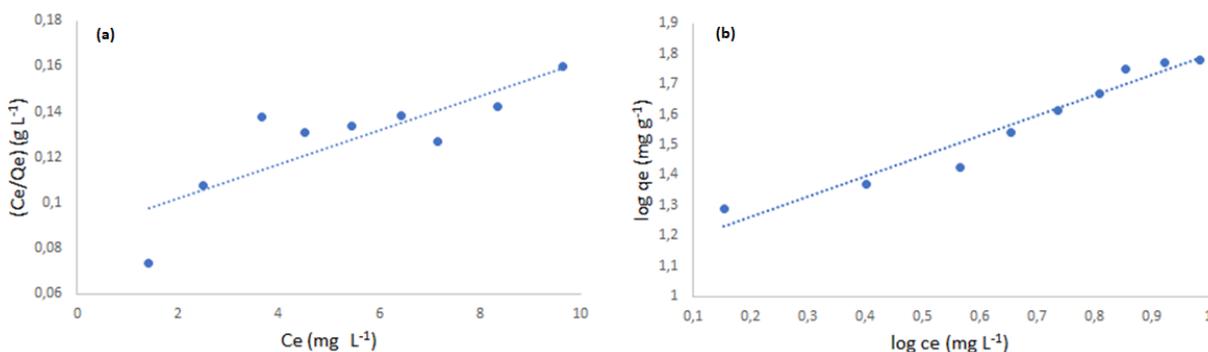


Fonte: (AUTOR, 2022)

A aparência de escada da curva mostrada na Figura 27 indica adsorção superficial pela poli-imida e também a formação de mais de uma camada de adsorvato, pode-se imaginar que cada queda na porcentagem de adsorção seja provocada pela instabilidade das camadas externas de adsorvato que se desprendem e voltam para a solução periodicamente, o número de camadas é imprevisível e será maior para concentrações maiores (NASCIMENTO et al., 2014).

A isoterma de adsorção é uma maneira complementar de se extrair informações do processo de adsorção e de calcular os parâmetros de acordo com o modelo de melhor ajuste. A Figura 28 mostra as isotermas obtidas para adsorção do verde malaquite pela nanofibra de poli-imida de acordo com o modelo de Langmuir (a) e Freundlich (b).

Figura 28- Isotermas obtidas para o processo de adsorção de 50 mL de solução verde malaquita em contato com 2,0 mg de poli-imida. Temperatura 20 °C de acordo com a modelagem de Langmuir (a) e Freundlich (b).



Fonte: (AUTOR, 2022)

A Tabela 8 mostra os parâmetros das modelagens de Langmuir e Freundlich para a isotermas da Figura 28.

Tabela 8- Parâmetros das modelagens de Langmuir e Freundlich para o processo de adsorção de verde malaquita em nanofibras de poli-imida.

Modelo	Parâmetros		
Langmuir	$q_{\max}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$K_L$ ( $\text{L mg}^{-1}$ )	$R^2$
	$13,26 \pm 0,02$	$0,87 \pm 0,12$	$0,69$
Freundlich	$1/n$	$k_F(\text{mg g}^{-1}) (\text{L mg}^{-1})^{1/n}$	$R^2$
	$0,67 \pm 0,06$	$13,26 \pm 0,45$	$0,95$

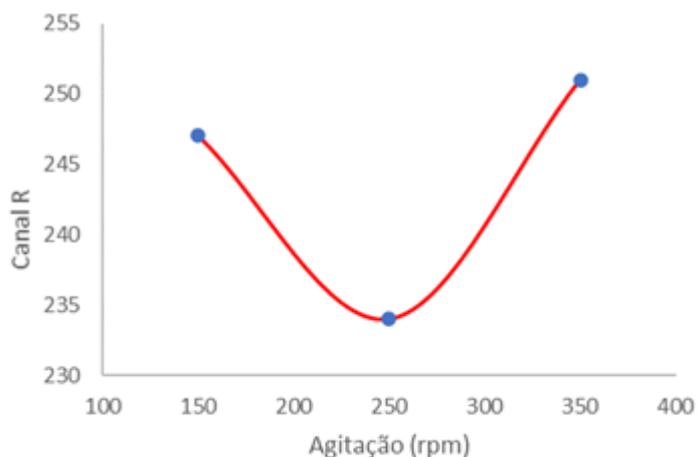
Fonte: (AUTOR, 2022)

De acordo com os dados da Tabela 8, pode-se observar que o processo de adsorção se ajustou melhor ao modelo de Freundlich, já que para esse modelo o ajuste linear apresentou maior coeficiente de correlação linear. O valor de  $1/n$  entre 1 e 10 está relacionado a adsorvente que possui superfície heterogênea e à distribuição heterogênea de energia entre os sítios de adsorção. O  $K_F$  é a constante de Freundlich e está relacionado à força de adsorção e também à distribuição de energia entre os sítios (AFKHAMI; MOOSAVI; MADRAKIAN, 2010). Efeito da velocidade de agitação

O efeito da velocidade de agitação foi realizado para avaliar a influência da intensidade de agitação sobre a eficiência de transferência de massa da solução para o adsorvente. A velocidade de agitação com melhor resultado foi selecionada em função da intensidade de coloração apresentada pela nanofibra ao final do estudo. A Figura 29

representa os resultados para o canal vermelho do sistema (RGB) para as diferentes velocidades de agitação.

Figura 29- Resultados para os canais (RGB) em função da velocidade de agitação de solução padrão  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  de verde malaquita para adsorção em poli-imida a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ .



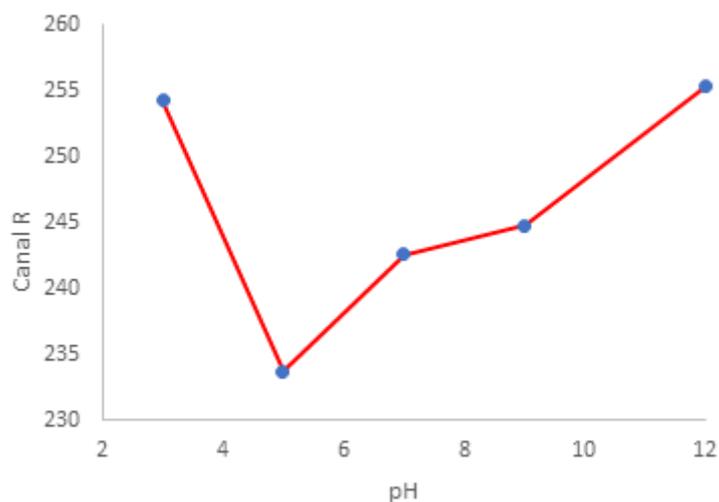
Fonte: (AUTOR, 2022)

A velocidade de agitação a 250 rpm apresentou melhor resultado de coloração da nanofibra, quanto menor os valores para os canais R, G e B, maior a intensidade da cor observada.

### 5.3.3 Efeito do pH

A adsorção na superfície do adsorvente é influenciada pela carga do mesmo e também pelo estado de dissociação do analito. Portanto, estudos para avaliar a intensidade da cor em função do pH da solução foram realizados para diferentes valores de pH. A Figura 30 mostra os resultados para o canal vermelho do sistema (RGB) para cada pH, onde é possível observar que no pH 5 obteve-se melhor resposta para a variação da coloração.

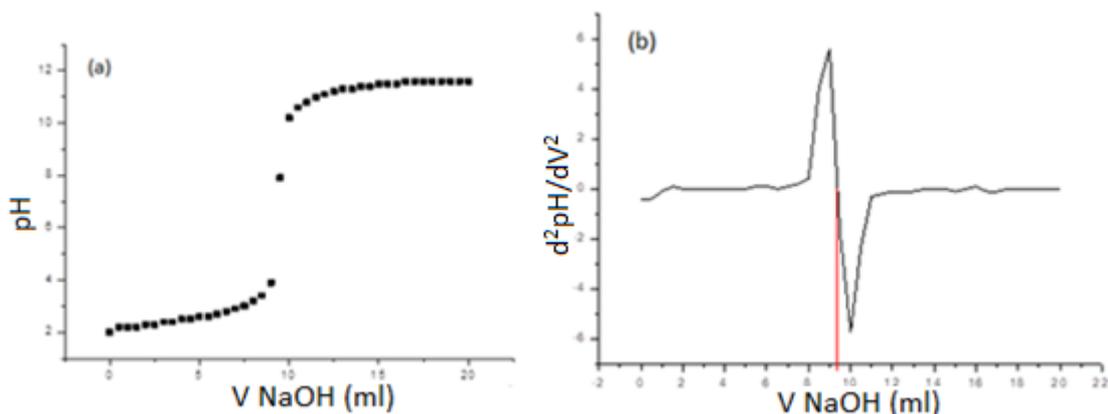
Figura 30- Resultados dos valores dos canais (RGB) em função do pH da solução padrão de verde malaquite. Volume de 50,0 mL a  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ . Agitação de 250 rpm por 60 minutos. Temperatura de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ .



Fonte: (AUTOR, 2022)

Para melhor compreensão dos resultados apresentados pelo estudo do pH da solução, foram calculados os valores de  $pK_a$  e  $pH_{PZC}$ . Os valores desses parâmetros podem indicar o tipo de interação entre adsorvente e adsorvato em função da previsão de suas cargas em determinado valor de pH. As Figuras 31a e 31b mostram a curva de titulação e sua segunda derivada, respectivamente, onde é mostrado o volume de titulante no ponto final da titulação de neutralização.

Figura 31- Curva de titulação potenciométrica de 15 mL verde malaquita  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  com NaOH  $0,01 \text{ M}$  (a) e segunda derivada representando o volume de neutralização (9,3 mL) (b).



Fonte: (AUTOR, 2022)

Através da avaliação da curva de titulação potenciométrica, o pKa pode ser obtido como a metade do volume de neutralização do titulado (PEREIRA et al., 2011). A Tabela 9 mostra o valor obtido para o pKa do verde malaquita.

Tabela 9- Valores de pKa para o verde malaquita. Temperatura de referência = 25 °C e temperatura ambiente = 28 °C.

COMPOSTO	LITERATURA*	EXPERIMENTAL
Verde malaquita	3,7 – 4,8	4,68± 0,02**

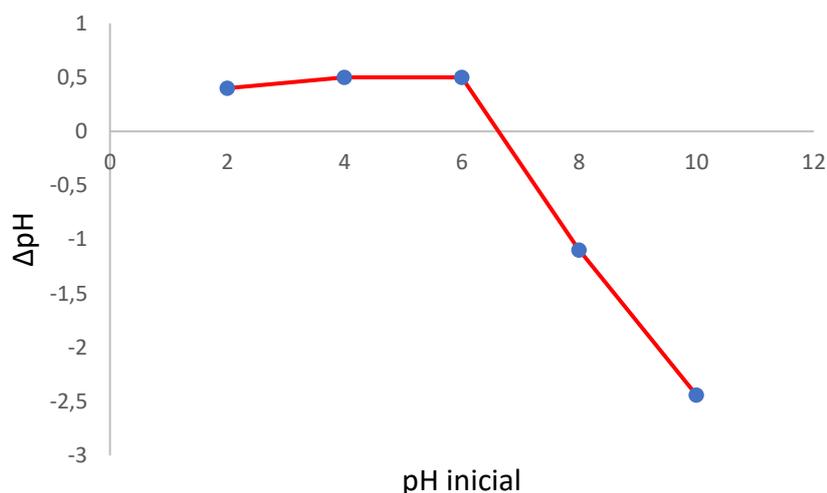
\*APOLÔNIO et al., 2020

\*\*Desvio padrão, n = 3

Fonte: (APOLÔNIO et al., 2020)

A Figura 32 mostra os resultados para o cálculo do pH<sub>PZC</sub>.

Figura 32- Ponto de carga zero (pHPZC) da nanofibra de poli-imida como adsorvente.



Fonte: (AUTOR, 2022)

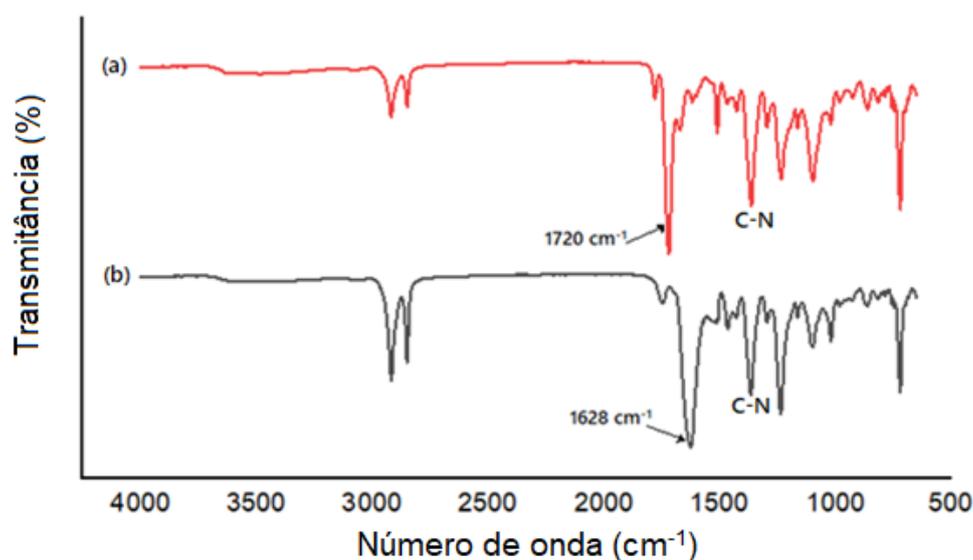
Na Figura 32 pode-se observar que o valor de pH<sub>PZC</sub> para a nanofibra de poli-imida nas condições do experimento foi de 6,75.

O pH da solução juntamente com o pH<sub>PZC</sub> são úteis para inferir sobre a interação no processo de adsorção. Através dos valores desses parâmetros é possível prever a forma dissociada do adsorvato assim como a carga superficial do adsorvente. A pH 5 o verde malaquita não está protonado, uma vez que seu pKa (4,68) é mais baixo que 5, então o verde de malaquita (MG) permanece na forma de cátion não protonado (MG<sup>+</sup>) (DE ASSIS GONSALVES et al., 2013). Além disso, a pH 5 a superfície da nanofibra possui carga

positiva, já que seu  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  (6,75) é maior que 5 (SABZROO et al., 2018). Esses resultados sugerem que a principal interação entre o adsorvente e o adsorvato não é eletrostática, uma vez que ambos possuem carga positiva. A estrutura básica de nanofibras de poli-imida (DING et al., 2016) não favorecem interações por ligações de hidrogênio em função da ausência de hidrogênios ácidos. A interação mais provável de ocorrer, nesse caso, é a interação pi-pi.

Para um melhor entendimento foi obtido o espectro de infravermelho com o intuito de identificar as principais interações entre o verde malaquita e a nanofibra de poli-imida. A Figura 33 mostra os espectros antes e após a interação entre o analito e a nanofibra.

Figura 33- Espectro de infravermelho obtido para o verde malaquita antes da adsorção (a) e após a adsorção (b) com a nanofibras de poli-imida.

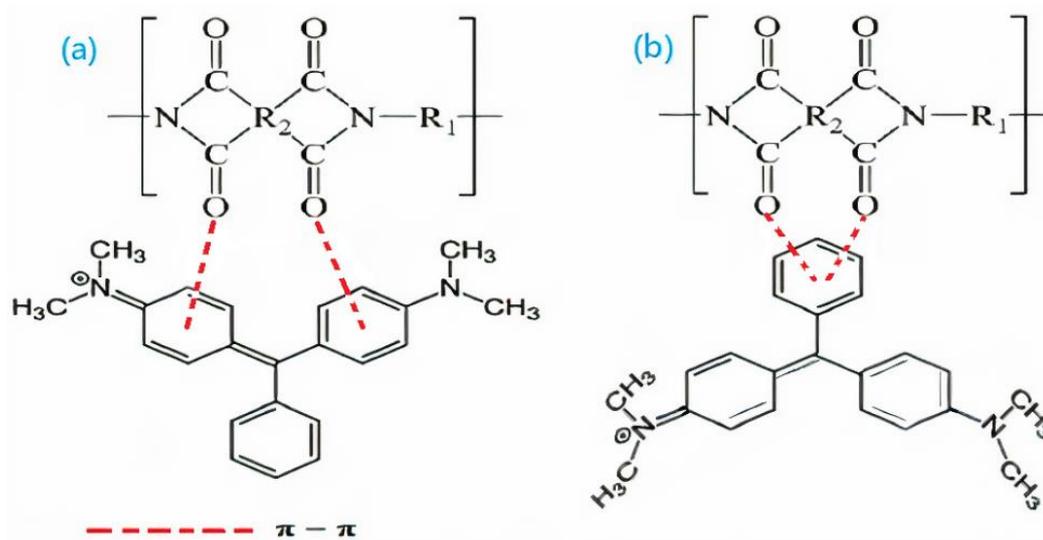


Fonte: (AUTOR, 2022)

Como pode ser observado na Figura 33 (a), a banda em  $1720\text{ cm}^{-1}$  confirma a presença de ligação C=O e a banda em  $1361\text{ cm}^{-1}$  confirma a presença de ligação C-N do anel de imida. A Figura 33 (b) mostra a interação entre o verde malaquita e a nanofibra de poli-imida. A banda de C=O presente na nanofibra foi deslocada para  $1628\text{ cm}^{-1}$  após a adsorção, sugerindo que a interação  $\pi$ - $\pi$  entre a ligação C=O e o anel aromático presente na estrutura do verde malaquita é a principal interação entre adsorvente e adsorvato.

A Figura 34 ilustra como poderia ser esse tipo de interação entre a nanofibra e o verde malaquita nas condições apresentadas.

Figura 34- Estruturas moleculares da poli-imida e do verde malaquita e possíveis interações entre os mesmos no processo de adsorção por interação  $\pi$ - $\pi$  através do carbono da amina aromática (a) e através do anel benzênico (b).



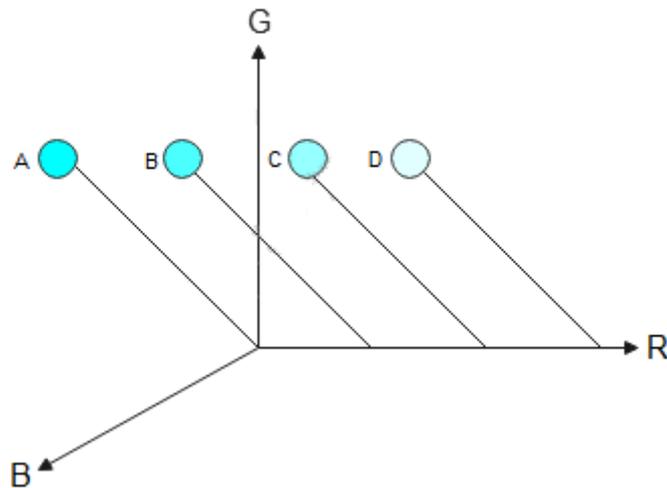
Fonte: (AUTOR, 2022)

#### 5.4 Figuras de mérito

As figuras de mérito são referências para assegurar a confiabilidade do método e foram obtidas através da avaliação de alguns parâmetros como descrito a seguir.

Para o sistema de cores RGB, apenas o canal vermelho apresentou intervalo linear satisfatório para quantificar o verde de malaquita com boa confiabilidade. Isso pode ser explicado pela cor que o analito apresenta após ser adsorvido pela nanofibra sob as condições do trabalho. Após a adsorção os discos de nanofibra se tornam ciano e não verde como se apresenta a solução do analito. Como representado na Figura 35, a intensidade da cor ciano pode variar perfeitamente se apenas a intensidade do canal vermelho, eixo x, variar, isto é, mantendo os outros dois canais verde e azul constantes. Neste trabalho os canais verde e azul não foram sensíveis à variação da cor dos discos, eles se mantiveram praticamente constantes.

Figura 35- Variação da intensidade da cor ciano em função do canal vermelho quando os canais verde (G) e azul (B) se mantêm constantes. A (0,255,255). B (75,255,255). C (150,255,255). D (225,255,255).

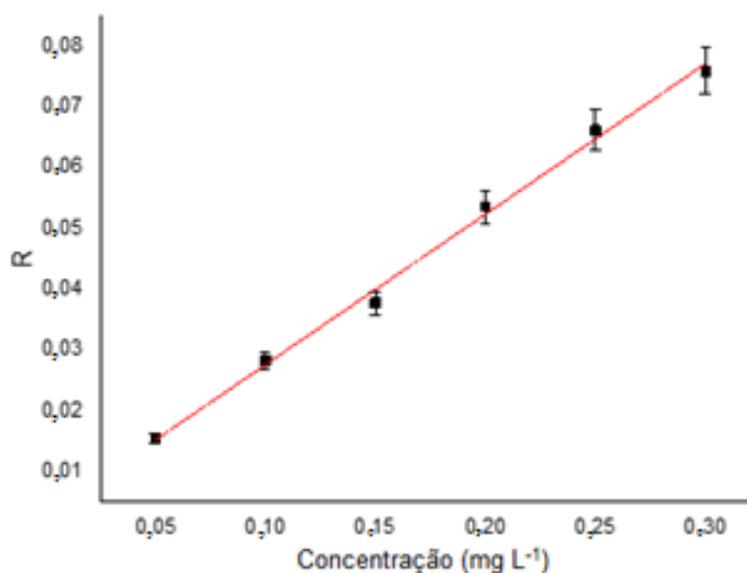


Fonte: (AUTOR, 2022)

Como pode ser observado na Figura 35, quando os canais verdes (direção Y) e azul (direção Z) são mantidos constantes e o canal vermelho (direção X) varia, a intensidade da cor ciano varia. Os valores entre parênteses indicam a variação da cor, o primeiro retângulo representa intensidade máxima (0, 255, 255) e o último retângulo, a intensidade próxima à mínima (250, 255, 255), caso o canal vermelho assumisse o valor de 255 a cor seria branca. A intensidade máxima para a cor ciano é quando os canais verde e azul são iguais a 255 e o canal vermelho igual a 0. À medida que o canal vermelho aumenta, a intensidade da cor ciano diminui como demonstrado em CHENG et al. (2001).

A curva analítica foi construída com as concentrações do verde malaquita em função da intensidade da cor representada pelo canal vermelho obtida através da análise de imagens adquiridas utilizando *smartphone* e dispositivo descrito anteriormente. A curva é representada na Figura 36.

Figura 36- Curva analítica para a concentração do verde malaquita em função do canal vermelho, onde  $R = -\log \frac{I}{I_0}$ .



Fonte: (AUTOR, 2022)

Foi possível obter um intervalo linear de 0,05 a 0,3 mg L<sup>-1</sup> de verde malaquita, com equação da reta  $S = 0,253C + 0,0016$  (onde S é sinal e C é a concentração, em mg L<sup>-1</sup>) e coeficiente de correlação de 0,9970 que indica correlação linear satisfatória entre a concentração de verde malaquita e a variação da intensidade da cor pelo canal vermelho. O limite de detecção foi de 0,013 mg L<sup>-1</sup>, o limite de quantificação foi 0,039 mg L<sup>-1</sup> e o desvio padrão variou de 1,01 a 3,92%, conforme mostra a Tabela 10.

Tabela 10- Figuras de mérito do método analítico para quantificação de verde malaquita em águas

Parâmetros	Resultados
Modelo de regressão (n = 3)	$S=0,253C+0,0016$
Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )	0,05 a 0,3
R <sup>2</sup>	0,997
LD (mg L <sup>-1</sup> )	0,013
LQ (mg L <sup>-1</sup> )	0,039
Desvio padrão % (n = 9)	1,01 (0,1 mg L <sup>-1</sup> )
	2,97 (0,2 mg L <sup>-1</sup> )
	3,92 (0,3 mg L <sup>-1</sup> )

S= valores do canal vermelho. C= concentração de verde malaquita. Desvio padrão = 3 fotos de cada triplicata. Total de 9 fotos.

Fonte: (AUTOR, 2022)

Os métodos para a determinação de verde malaquita por análises de imagens são escassos na literatura. Para fins de comparações, a Tabela 12 apresenta métodos com as características mais importantes para a determinação de verde malaquita em águas. Como pode ser visto na Tabela 11, devido à alta sensibilidade da nanofibra de poli-imida para adsorver o verde malaquita e se tornar colorida o método desenvolvido emprega pequena quantidade de material adsorvente. Além disso, o adsorvente usado é de baixo custo e fácil de ser adaptado ao sistema utilizado. Diferentemente dos métodos de separação e espectrofotométricos indicados, o tempo total de análise é mais curto, uma vez que existe apenas a etapa de adsorção/pré-concentração antes do tratamento da imagem, e se mostra mais amigável ambientalmente e apresenta limites de detecção e quantificação satisfatórios.

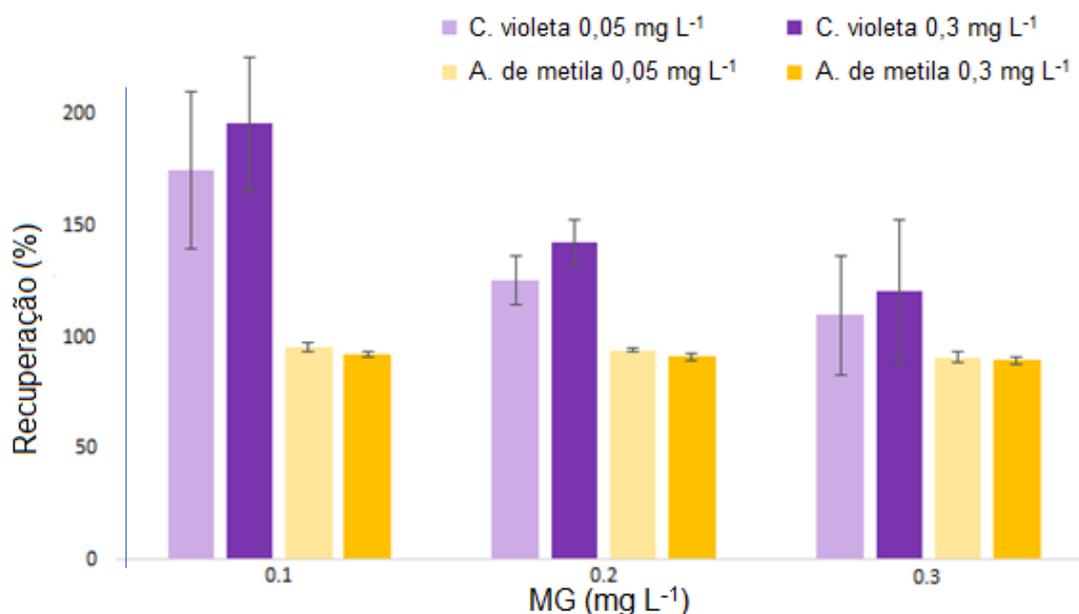
Tabela 11- Comparação do método proposto aos métodos encontrados na literatura para determinação de verde malaquita em água.

Métodos	Adosrventes	Matriz	Massa de sorvente/volume de amostra	Tempo de análise (min)	Limite linear	R <sup>2</sup>	LD	Recuperação (%)	RSD (%)	Refs
HPLC-UV	MISPE <sup>b</sup>	Água de torneira	--	--	0,5 – 10 (µg L <sup>-1</sup> )	---	0,67 ng mL <sup>-1</sup>	76,8 – 93,7	2,12 – 10,09	(LI et al., 2008)
Fluorescência	MIP <sup>a</sup> +CdTe quantum dots	Água e peixe	0,25 mg mL <sup>-1</sup>	--	0,36-7,30 (mg L <sup>-1</sup> )	0,994	0,02 (mg L <sup>-1</sup> )	94,8 – 106,2	5,2 – 9,8	(LIN; LEE, 2016)
UV	Nanofibras magnéticas	Água	80 µg mL <sup>-1</sup>	25	0,3 – 1,8 (mg L <sup>-1</sup> )	0,991	0,03 (mg L <sup>-1</sup> )	95-103	4,31 – 7,68	(SABZROO et al., 2018)
Análise de imagem	Filme de florissil	Água	5,0 mg mL <sup>-1</sup>	60	0,036 – 0,36 (mg L <sup>-1</sup> )	0,996	0,011 (mg L <sup>-1</sup> )	102,48 – 123,43	1,79 – 7,08	(APOLÔNIO et al., 2020)
Análise de imagem	Nanofibra de Poli-imida	Água	9,0 µg mL <sup>-1</sup>	60	0,05 – 0,3 (mg L <sup>-1</sup> )	0,997	0,013 (mg L <sup>-1</sup> )	96,66 – 102,0	0,56-2,5	Este trabalho

a = polímero impresso molecularmente. b = polímero impresso molecularmente baseado em extração em fase sólida.

O estudo de seletividade foi realizado com o objetivo de avaliar a interferência de outros corantes sobre a determinação do verde malaquita. O cristal violeta foi escolhido como um dos interferentes por ser da mesma família do analito e o alaranjado de metila foi escolhido por ser de família diferente e apresentar cor que possivelmente causaria interferência no canal vermelho do sistema de cores RGB. O estudo foi conduzido pela avaliação da porcentagem de recuperação do verde malaquita na presença dos dois corantes em dois níveis de concentração (0,05 e 0,3 mg L<sup>-1</sup>). As concentrações do verde malaquita foram constantes e iguais a 0,1; 0,2 e 0,3 mg L<sup>-1</sup> para cada nível de concentração de cada interferente. Os resultados são mostrados na Figura 37.

Figura 37- Porcentagem de recuperação do verde malaquita (MG) na presença de cristal violeta e alaranjado de metila.



Fonte: (AUTOR, 2022)

A Figura 37 mostra altos valores de recuperação do verde malaquita na presença do cristal violeta, isso já era esperado uma vez que o interferente em questão é da mesma família do analito e possivelmente interage com a nanofibra de maneira similar, ocorrendo uma interferência aditiva (soma da contribuição do analito + interferente) no resultado de recuperação. Por outro lado, o alaranjado de metila não apresentou interferência significativa na recuperação do verde malaquita, permanecendo no intervalo permitido.

Em resumo, a Figura 37 mostra que o cristal violeta apresenta interferência mais intensa quando o verde malaquita está em níveis baixos de concentração e o interferente

está em níveis altos de concentração e que mesmo fora de tal condição ainda há interferência significativa. O alaranjado de metila não apresentou interferência significativa em qualquer das condições, mantendo a porcentagem de recuperação entre 89,6 e 95,4%. Esses resultados sugerem que a nanofibra de poli-imida pode ser seletiva para compostos da família do verde malaquita.

### 5.5 Análise em amostra real

Após avaliar todos os parâmetros, o método foi aplicado em amostra de água coletada no Rio Douro, Porto – Portugal. A amostra foi coletada, filtrada à vácuo e mantida a temperatura de 4 °C após ter o pH ajustado para 5, utilizando ácido cítrico e soluções de NaOH e HCl. A amostra foi fortificada com verde malaquita nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,3 mg L<sup>-1</sup>. A Tabela 12 mostra os valores das porcentagens de recuperação para cada concentração em triplicata.

Tabela 12- Teores de verde malaquita adicionado em amostra de água de rio, porcentagens de recuperação e desvio padrão relativo (RSD).

Adicionado (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperado (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)	RSD (%) (n=3)
0,10	0,109 ± 0,008	99,0	0,6
0,20	0,204 ± 0,001	102,0	0,4
0,30	0,290 ± 0,007	96,7	2,5

Fonte: (AUTOR, 2022)

As porcentagens de recuperação obtidas variaram de 96,7 a 102,0% e o RSD foi de até 2,5%. Esse desempenho foi satisfatório e corrobora com resultados obtidos em trabalhos que se basearam em eficiência de recuperação usando análises por imagens digitais (FRANCO et al., 2021b).

Desta forma, os resultados foram satisfatórios e demonstram que é possível fazer análise de verde malaquita em amostras reais de águas e obter resultados confiáveis para a quantificação do corante.

## **6 PERSPECTIVAS**

Facilitar a aplicação de líquidos iônicos como solventes extratores, servindo como referência e orientação para eliminação de interferências tanto provenientes do líquido iônico quanto das amostras.

Provocar reflexão sobre a aplicação de métodos simples e fáceis de serem aplicados no tocante à análise de águas e bebidas. Principalmente métodos que possam ser utilizados e aplicados diretamente no campo, sem a necessidade de laboratórios sofisticados.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível realizar extração dos analitos utilizando pequeno volume de LI devido a sua baixa solubilidade em amostras de vinho.

A eficiência de extração não foi satisfatória sendo obtido baixo fator de enriquecimento o que se deve à interação entre o líquido iônico utilizado e os analitos.

O método cromatográfico utilizado foi simplificado devido ao uso de tratamento quimiométrico para eliminar sinais interferentes.

Os estudos realizados permitiram constatar a eficiência do tratamento quimiométrico na recuperação qualitativa e quantitativa dos sinais dos analitos em detrimento da manipulação dos parâmetros de análise.

O uso do algoritmo para quantificar os analitos permitiu o uso de corridas cromatográficas menores, resultando em economia de tempo e reagentes, como os solventes utilizados como fases móveis.

Além disso, pôde-se observar que o tratamento quimiométrico permite que análises de matrizes complexas possam ser realizadas em equipamentos mais simples. E que muitas vezes alguns interferentes que poderiam impossibilitar a análise podem ser eliminados sem a necessidade de serem separados dos sinais dos analitos pelo equipamento utilizado.

Foi possível construir um dispositivo usando nanofibra de poli-imida que funcionou como adsorvente para análise de imagem do verde malaquita em água.

A nanofibra mostrou boa estabilidade e sensibilidade no desempenho da função de adsorvente e suporte para a análise de imagens.

O ponto de carga zero (Pzc) e a análise por infravermelho permitiram concluir que a interação do analito com a nanofibra não é eletrostática e sim por interações pi-pi.

O sistema simples, envolvendo uma pequena caixa plástica, um celular smartphone com pequeno tratamento da imagem pelo imageJ<sup>®</sup> foi o bastante para calibração do método, que mostrou confiabilidade satisfatória com baixos limites de detecção e quantificação.

Constatou-se que o dispositivo é confiável para a determinação de verde malaquita em água se não há presença de compostos de sua mesma família, que mostraram ser potenciais interferentes.

## REFERÊNCIAS

ACADEMIA DO VINHO. Academia do vinho, 2022. O mundo do vinho. Brasil-Vale do São Francisco. Disponível em: [https://www.academiadovinho.com.br/\\_\\_mod\\_regiao.php?reg\\_num=BR04](https://www.academiadovinho.com.br/__mod_regiao.php?reg_num=BR04). Acesso em: 18 de agosto de 2020.

AFKHAMI, A., MOOSAVI, R., & MADRAKIAN, T. (2010). Preconcentration and spectrophotometric determination of low concentrations of malachite green and leucomalachite green in water samples by high performance solid phase extraction using maghemite nanoparticles. *Talanta*, 82(2), 785–789. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.05.054>

AMON, J. M.; VANDEPEER, J. M.; SIMPSON, R. F. Compounds responsible for cork taint in wine. **Australian and New Zealand Wine Industry Journal**, v. 4, p. 62-69, 1989.

ANVISA-Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos.RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

APOLÔNIO, L. F., DE OLIVEIRA, A. F., ALMEIDA, C. A., NEVES, A. A., DE QUEIROZ, M. E. L. R., & ZAMPIER, L. M. (2020). Direct determination of malachite green and leucomalachite green in natural waters by exploiting solid-phase sorption and digital image. *Orbital*, 12(4), 193–204. <https://doi.org/10.17807/orbital.v12i4.1499>

ARAGÃO, N. M.; VELOSO, M. C. C.; ANDRADE, J. B. validação de métodos cromatográficos de análise – um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da “química verde” na determinação de metilxantinas em bebidas. *Quím. Nova*, vol.32, no.9, São Paulo. 2009.

ARRUDA, C. A. Academia do vinho: vinhos da região do vale do são Francisco. 2019. Disponível em: [https://www.academiadovinho.com.br/\\_\\_mod\\_regiao.php?reg\\_num=BR04](https://www.academiadovinho.com.br/__mod_regiao.php?reg_num=BR04). Acesso em: 30/04/22.

“B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).”

BAUMANN, L. et al. Uso do aplicativo PhotoMetrix no monitoramento da concentração de flúor em sistemas alternativos de abastecimento de água. *Águas Subterrâneas*, v. 33, n. 2, p. 1–9, 2019.

BILANDŽIĆ, N. et al. Malachite green residues in farmed fish in Croatia. **Food Control**, v. 26, n. 2, p. 393–396, 2012.

BUSER, H. R.; ZANIER, C.; TANNER, H. Identification of 2,4,6-trichloroanisole as a potent compound causing cork taint in wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 359–362, mar. 1982.

CACHO, J. I.; CAMPILLO, N.; VIÑAS, P.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Stir bar sorptive extraction polar coatings for the determination of chlorophenols and chloroanisoles in wines using gas chromatography and mass spectrometry. **Talanta**, v. 118, p. 30–36, 2014.

CACHO, J. I. et al. Control of halophenol and haloanisole concentration in wine cellar environments, wines, corks and wood staves using gas chromatography with mass spectrometry. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 22, n. 3, p. 391–398, 2016.

CAMPILLO, N.; AGUINAGA, N.; VIÑAS, P.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Purge-and-trap preconcentration system coupled to capillary gas chromatography with atomic emission detection for 2,4,6-trichloroanisole determination in cork stoppers and wines. **Journal of chromatography. A**, v. 1061, n. 1, p. 85–91, 17 dez. 2004.

CARDA–BROCH, S.; BERTHOD, A.; ARMSTRONG, D. W. Solvent properties of the 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ionic liquid. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 2, p. 191–199, 4 jan. 2003.

CASSOL, C. Líquidos iônicos em processos de extração seletiva de compostos aromáticos, nitrogenados e sulfurados em frações de petróleo. Dissertação de mestrado. Porto Alegre, Julho de 2007.

ČEROVIĆ, L. S. et al. Point of zero charge of different carbides. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 297, n. 1–3, p. 1–6, 2007.

CHATONNET, P.; DUBOURDIEU, D.; BOIDRON, J. N. The Influence of *Brettanomyces/Dekkera* sp. Yeasts and Lactic Acid Bacteria on the Ethylphenol Content of Red Wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 46, n. 4, p. 463–468, 1995.

CHATONNET, P.; BONNET, S.; BOUTOU, S.; LABADIE, M. D. Identification and Responsibility of 2,4,6-Tribromoanisole in Musty, Corked Odors in Wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1255–1262, 2004.

CHEN, L. et al. Application of graphene-based solid-phase extraction for ultrafast determination of malachite green and its metabolite in fish tissues. *Food Chemistry*, v. 141, n. 2, p. 1383–1389, 2013.

CHENG, H. D. et al. Color image segmentation: Advances and prospects. *Pattern Recognition*, v. 34, n. 12, p. 2259–2281, 2001.

CONSORTI, C. S.; DE SOUZA R.; DUPONT J.; SUAREZ P. Líquidos iônicos contendo o cátion dialquilimidazólio: estrutura, propriedades físico-químicas e comportamento em solução. **Quim. Nova**, v. 24, n. 6, p. 830-837, 2001.

COQUE, J.J.R.; PÉREZ, E.R.; GOSWAMI, M.; MARTINEZ, R.F.; GARCIA, S.C., RODRIGUEZ, M.L.A.; MARTIN, J.F.M. Contaminação do vinho por haloanisóis: Desenvolvimento de estratégias biotecnológicas para prevenir a contaminação de rolhas de cortiça por cloroanisóis, Versão Portuguesa, INBIOTEC, APCOR, 1-66, Santa Maria de Lamas, Portugal, 2006a.

COQUE, J.J.R.; RODRIGUEZ, M.L.A.; GOSWAMI, M.; MARTINEZ, R.F. Causes and origins of wine contamination by haloanisoles (chloroanisoles and bromoanisoles). INBIOTEC, ASECOR, 7-26, Espanha, 2006b.

COSTA, A. F. DE S., & CRUZ, A. M. DE L. (2012). Tingimento natural uma alternativa sustentável para a área têxtil. VIII Colóquio de Moda – 5o Congresso Internacional, 1–9.

CSEJESI, A. J.; JOHNSON, E. L. Methylation of pentachlorophenol by *Trichoderma virgatum*. **Canadian journal of microbiology**, v. 18, n. 1, p. 45–9, 1972.

- CULP, S. J., MELLICK, P. W., TROTTER, R. W., GREENLEES, K. J., KODELL, R. L., & BELAND, F. A. (2006). Carcinogenicity of malachite green chloride and leucomalachite green in B6C3F1 mice and F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44(8), 1204–1212. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.01.016>
- DALLAGO, R. M., SMANIOTTO, A., & OLIVEIRA, L. C. A. de. (2005). Resíduos sólidos de curtumes como adsorventes para a remoção de corantes em meio aquoso. *Química Nova*, 28(3), 433–437. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422005000300013>
- DANZER, K. AND CURRIE, L.A. (1998) Guidelines for Calibration in Analytical Chemistry. *Pure and Applied Chemistry*, 70, 993.
- DE ALBUQUERQUE, M. P. M. P. M. P.; DE ALBUQUERQUE, M. P. M. P. M. P. Processamento de Imagens SAR Processamento de Imagens SAR. Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, p. 12 p., 2000.
- DE ASSIS GONSALVES, A. et al. Contextualizando reações ácido-base de acordo com a teoria protônica de brønsted-lowry usando comprimidos de propranolol e nimesulida. *Química Nova*, v. 36, n. 8, p. 1236–1241, 2013.
- DELLE SITE, A. Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A review. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, v. 30, n. 1, p. 187–439, 2001.
- DE LIMA, P. G. Micro-ondas na Síntese de Líquidos Iônicos. **Virtual Quim**, v. 3, n. 4, p. 325–338, 2011.
- DE OLIVEIRA KRAMBECK FRANCO, M.; SUAREZ, W. T.; SANTOS, V. B. DOS. Digital Image Method Smartphone-Based for Furfural Determination in Sugarcane Spirits. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 2, p. 508–515, 2017.
- DE OLIVEIRA, L. M. A. et al. An environment-friendly spot test method with digital imaging for the micro-titration of citric fruits. **Talanta**, v. 206, n. May 2019, p. 120219, 2020.
- DING, Y. et al. Electrospun polyimide nanofibers and their applications. *Progress in Polymer Science*, v. 61, p. 67–103, 2016.

DOĞAN, M. et al. Adsorption kinetics of maxilon blue GRL onto sepiolite from aqueous solutions. **Chemical Engineering Journal**, v. 124, n. 1–3, p. 89–101, 2006.

DU, C. J.; IQBAL, A.; SUN, D. W. Quality Measurement of Cooked Meats. Elsevier Inc., 2016.

DUPONT, J.; CONSORTI, C. S.; SPENCER, J. Room temperature molten salts: neoteric "green" solvents for chemical reactions and processes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 4, p. 337–344, 2000.

ELLISON, C. J. et al. Melt blown nanofibers: Fiber diameter distributions and onset of fiber breakup. *Polymer*, v. 48, n. 11, p. 3306–3316, 2007.

ENGEL, C.; DE GROOT, A. P.; WEURMAN, C. Tetrachloroanisole: A Source of Musty Taste in Eggs and Broilers. **Science**, v. 154, n. 3746, p. 270–271, 1966.

FANG, J. et al. Applications of electrospun nanofibers. *Chinese Science Bulletin*, v. 53, n. 15, p. 2265–2286, 2008.

FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies. *Journal of Hazardous Materials*, v. 162, n. 2–3, p. 616–645, 2009.

FLODIN, C.; WHITFIELD, F. B. 4-Hydroxybenzoic acid: a likely precursor of 2,4,6-tribromophenol in *Ulva lactuca*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 2, p. 249–255, 1999.

FRANCO, M. DE O. K. et al. A novel digital image method for determination of reducing sugars in aged and non-aged cachaças employing a smartphone. **Food Chemistry**, v. 338, p. 127800, 2021a.

FRANCO, M. DE O. K. et al. Microanalysis based on paper device functionalized with cuprizone to determine Cu<sup>2+</sup> in sugar cane spirits using a smartphone. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 253, p. 119580, 2021b.

FREIRE, M. G.; SANTOS, L. M. N. B. F.; FERNANDES, A. M.; COUTINHO, J. A. P.; MARRUCHO, I. M. An overview of the mutual solubilities of water-imidazolium-based ionic liquids systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 261, n. 1–2, p. 449–454, 2007.

FREIRE, M. G.; SANTOS, L. M. N. B. F.; VENTURA, S. P. M.; COUTINHO, J. A. P.; MARRUCHO, I. M. Evaluation of COSMO-RS for the prediction of LLE and VLE of water and ionic liquids binary systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 268, n. 1–2, p. 74–84, 2008.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013.

GÓMEZ-ARIZA, J. L.; GARCÍA-BARRERA, T.; LORENZO, F. Analysis of anisoles in wines using pervaporation coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1049, n. 1–2, p. 147–153, 2004.

GÓMEZ-ARIZA, J. L.; GARCÍA-BARRERA, T.; LORENZO, F.; GONZÁLEZ, G. A. Optimisation of a pressurised liquid extraction method for haloanisoles in cork stoppers. **Analytica Chimica Acta**, v. 540, n. 1, p. 17–24, 2005.

GONZÁLEZ-CEBALLOS, L. et al. Functional aromatic polyamides for the preparation of coated fibres as smart labels for the visual detection of biogenic amine vapours and fish spoilage. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, v. 304, 2020.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R. et al. Use of alimentary film for selective sorption of haloanisoles from contaminated red wine. **Food Chemistry**, v. 350, p. 128364, 2021.

GURE, A.; LARA, F.J.; GARCÍA-CAMPAÑA, A. M.; MEGERSA, N.; DEL OLMO-IRUELA, M. Vortex-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of sulfonylurea herbicides in wine samples by capillary high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 170, p. 348–353, 2015.

HÁKOVÁ, M. et al. Nanofiber polymers as novel sorbents for on-line solid phase extraction in chromatographic system: A comparison with monolithic reversed phase C18 sorbent. *Analytica Chimica Acta*, v. 1018, p. 26–34, 2018a.

HÁKOVÁ, M. et al. A comparison study of nanofiber, microfiber, and new composite nano/microfiber polymers used as sorbents for on-line solid phase extraction in chromatography system. *Analytica Chimica Acta*, v. 1023, p. 44–52, 2018b.

HÁKOVÁ, M. et al. Electrospun nanofiber polymers as extraction phases in analytical chemistry – The advances of the last decade. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 110, p. 81–96, 2019.

HASHIMOTO, J. C., PASCHOAL, J. A. R., DE QUEIROZ, J. F., & REYES, F. G. R. (2011). Considerations on the use of malachite green in aquaculture and analytical aspects of determining the residues in fish: A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20(3), 273–294. <https://doi.org/10.1080/10498850.2011.569643>

HO, T. D.; ZHANG, C.; HANTAO, L. W.; ANDERSON, J. L. Ionic Liquids in Analytical Chemistry: Fundamentals, Advances, and Perspectives. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 262–285, 2014.

HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n. 2, p. 331–343, 1995.

HUANG, Z. M. et al. A review on polymer nanofibers by eletrofiação and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, v. 63, n. 15, p. 2223–2253, 2003.

KAMMRADT, P. B. Remoção de cor de efluentes de tinturarias industriais através de processo de oxidação avançada. 2004. 92p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

LAI, X.; RUAN, C.; LIU, R.; LIU, C. Application of ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of ochratoxin A in rice wines. **Food Chemistry**, v. 161, p. 317–322, 2014.

LANGMUIR, I. The dissociation of hydrogen into atoms. III. The mechanism of the reaction. *Journal of the American Chemical Society*, v. 38, n. 6, p. 1145–1156, 1916.

LECOCQ, V.; GRAILLE, A.; SANTINI, C. C.; BAUDOUIN, A.; CHAUVIN, Y.; BASSET, J. M.; ARZEL, L.; BOUCHUB, D.; FENETC, B. Synthesis and characterization of ionic liquids based upon 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium chloride/ZnCl<sub>2</sub>. **New Journal of Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 700, 2005.

LI, Y. HUI et al. Development of a group selective molecularly imprinted polymers based solid phase extraction of malachite green from fish water and fish feed samples.

**Analytica Chimica Acta**, v. 624, n. 2, p. 317–325, 2008.

LIN, K. Y. A.; LEE, W. DER. Highly efficient removal of Malachite green from water by a magnetic reduced graphene oxide/zeolitic imidazolate framework self-assembled nanocomposite. **Applied Surface Science**, v. 361, p. 114–121, 2016.

LITTMANN, E.; RITTER, H. Adaptive color segmentation - A comparison of neural and statistical methods. *IEEE Transactions on Neural Networks*, v. 8, n. 1, p. 175–185, 1997.

MAPA. Manual de garantia da qualidade analítica. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : MAPA/ACS, 2011.

MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P.; ALEXANDRINO, G. L.; POPPI, R. J.; TAULER, R. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. **Química nova**, v. 37, n. 9, p. 1525–1532, 2014.

MARTÍNEZ-URUÑUELA, A.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M.; PIZARRO, C. Optimisation of the derivatisation reaction and subsequent headspace solid-phase microextraction method for the direct determination of chlorophenols in red wine. **Journal of chromatography. A**, v. 1048, n. 2, p. 141–51, 2004.

MARTINS, M.; PRIMEL, E.; CALDAS, S. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME) fundamentos e aplicações. v. 4, n. 1, p. 35–51, 2012.

MATSUMOTO, M.; INOMOTO, Y.; KONDO, K. Selective separation of aromatic hydrocarbons through supported liquid membranes based on ionic liquids. **Journal of Membrane Science**, v. 246, n. 1, p. 77–81, 2005.

MENDHAM, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M.J.K., Vogel - Análise Química Quantitativa, 6a Edição, Editora LTC, 2002.

MESA, L. B. A.; PADRO, J. M.; RETA, M. Analysis of non-polar heterocyclic aromatic amines in beefburguers by using microwave-assisted extraction and dispersive liquid-ionic liquid microextraction. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1694–1701, 2013.

MESQUITA, P. L. AFONSO, R. J. C. F. AQUINO, S. F. LEITE, G. S. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis

intermediários da digestão anaeróbia. *Eng. Sanit. Ambiental*, v.18 n.4 , 295-302, 2013.  
*Quim. Nova*, Vol. 32, No. 9, 2476-2481, 2009.

MIRZAJANI, R., & AHMADI, S. (2015). Melamine supported magnetic iron oxide nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> at Mel) for spectrophotometric determination of malachite green in water samples and fish tissues. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 23, 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.08.011>

MITROWSKA, K.; POSYNIAK, A.; ZMUDZKI, J. Determination of malachite green and leucomalachite green residues in water using liquid chromatography with visible and fluorescence detection and confirmation by tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1207, n. 1–2, p. 94–100, 2008.

AFKHAMI, A.; MOOSAVI, R.; MADRAKIAN, T. Preconcentration and spectrophotometric determination of low concentrations of malachite green and leucomalachite green in water samples by high performance solid phase extraction using maghemite nanoparticles. *Talanta*, v. 82, n. 2, p. 785–789, 2010.

APOLÔNIO, L. F. et al. Direct determination of malachite green and leucomalachite green in natural waters by exploiting solid-phase sorption and digital image. *Orbital*, v. 12, n. 4, p. 193–204, 2020.

BAUMANN, L. et al. Uso do aplicativo PhotoMetrix no monitoramento da concentração de flúor em sistemas alternativos de abastecimento de água. *Águas Subterrâneas*, v. 33, n. 2, p. 1–9, 2019.

BILANDŽIĆ, N. et al. Malachite green residues in farmed fish in Croatia. *Food Control*, v. 26, n. 2, p. 393–396, 2012.

BUSER, H. R.; ZANIER, C.; TANNER, H. Identification of 2,4,6-trichloroanisole as a potent compound causing cork taint in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 30, n. 2, p. 359–362, mar. 1982.

CACHO, J. I. et al. Control of halophenol and haloanisole concentration in wine cellar environments, wines, corks and wood staves using gas chromatography with mass spectrometry. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, v. 22, n. 3, p. 391–398, 2016.

CARDA–BROCH, S.; BERTHOD, A.; ARMSTRONG, D. W. Solvent properties of the

1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ionic liquid. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 2, p. 191–199, 4 jan. 2003.

ČEROVIĆ, L. S. et al. Point of zero charge of different carbides. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 297, n. 1–3, p. 1–6, 2007.

CHATONNET, P. et al. Identification and Responsibility of 2,4,6-Tribromoanisole in Musty, Corked Odors in Wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1255–1262, mar. 2004.

CHEN, L. et al. Application of graphene-based solid-phase extraction for ultra-fast determination of malachite green and its metabolite in fish tissues. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1383–1389, 2013.

CHENG, H. D. et al. Color image segmentation: Advances and prospects. **Pattern Recognition**, v. 34, n. 12, p. 2259–2281, 2001.

COQUE, J. J. R. et al. **Causes and origins of wine contamination by haloanisoles (chloroanisoles e bromoanisoles)**. León: INBIOTEC, 2006.

COSTA, A. F. DE S.; CRUZ, A. M. DE L. Tingimento natural uma alternativa sustentável para a área têxtil. **VIII Colóquio de Moda – 5º Congresso Internacional**, p. 1–9, 2012.

CSERJESI, A. J.; JOHNSON, E. L. Methylation of pentachlorophenol by *Trichoderma virgatum*. **Canadian journal of microbiology**, v. 18, n. 1, p. 45–9, jan. 1972.

CULP, S. J. et al. Carcinogenicity of malachite green chloride and leucomalachite green in B6C3F1 mice and F344 rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 8, p. 1204–1212, 2006.

DALLAGO, R. M.; SMANIOTTO, A.; OLIVEIRA, L. C. A. DE. Resíduos sólidos de curtumes como adsorventes para a remoção de corantes em meio aquoso. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 433–437, 2005.

DE ALBUQUERQUE, M. P. M. P. M. P.; DE ALBUQUERQUE, M. P. M. P. M. P. Processamento de Imagens SAR Processamento de Imagens SAR. **Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas**, p. 12 p., 2000.

DE ASSIS GONSALVES, A. et al. Contextualizando reações ácido-base de acordo com a teoria protônica de brönsted-lowry usando comprimidos de propranolol e nimesulida.

**Quimica Nova**, v. 36, n. 8, p. 1236–1241, 2013.

DE LIMA, P. G. Micro-ondas na Síntese de Líquidos Iônicos. **Virtual Quim**, v. 3, n. 4, p. 325–338, 2011.

DE MACÊDO MORAIS, S. et al. Identification of Chemical Markers of Commercial Tropical Red Wine Candidates for the São Francisco Valley Geographical Indication. **Food Analytical Methods**, p. 1237–1255, 2022.

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

DE OLIVEIRA, L. M. A. et al. An environment-friendly spot test method with digital imaging for the micro-titration of citric fruits. **Talanta**, v. 206, n. May 2019, p. 120219, 2020.

DELLE SITE, A. Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A review. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v. 30, n. 1, p. 187–439, 2001.

DING, Y. et al. Electrospun polyimide nanofibers and their applications. **Progress in Polymer Science**, v. 61, p. 67–103, 2016.

DOĞAN, M. et al. Adsorption kinetics of maxilon blue GRL onto sepiolite from aqueous solutions. **Chemical Engineering Journal**, v. 124, n. 1–3, p. 89–101, 2006.

DU, C. J.; IQBAL, A.; SUN, D. W. **Quality Measurement of Cooked Meats**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016.

DUPONT, J.; CONSORTI, C. S.; SPENCER, J. Room temperature molten salts: neoteric &quot;green&quot; solvents for chemical reactions and processes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 4, ago. 2000.

ELLISON, C. J. et al. Melt blown nanofibers: Fiber diameter distributions and onset of fiber breakup. **Polymer**, v. 48, n. 11, p. 3306–3316, 2007.

FANG, J. et al. Applications of electrospun nanofibers. **Chinese Science Bulletin**, v. 53, n. 15, p. 2265–2286, 2008.

FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using

biosorbent: A summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, n. 2–3, p. 616–645, 2009.

FLODIN, C.; WHITFIELD, F. B. 4-Hydroxybenzoic acid: a likely precursor of 2,4,6-tribromophenol in *Ulva lactuca*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 2, p. 249–255, 1 maio 1999.

FRANCO, M. DE O. K. et al. A novel digital image method for determination of reducing sugars in aged and non-aged cachaças employing a smartphone. **Food Chemistry**, v. 338, p. 127800, 2021a.

FRANCO, M. DE O. K. et al. Microanalysis based on paper device functionalized with cuprizone to determine  $\text{Cu}^{2+}$  in sugar cane spirits using a smartphone. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 253, p. 119580, 2021b.

FREIRE, M. G. et al. An overview of the mutual solubilities of water-imidazolium-based ionic liquids systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 261, n. 1–2, p. 449–454, 2007.

FREIRE, M. G. et al. Evaluation of COSMO-RS for the prediction of LLE and VLE of water and ionic liquids binary systems. **Fluid Phase Equilibria**, v. 268, n. 1–2, p. 74–84, 25 jun. 2008.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013.

GONZÁLEZ-CEBALLOS, L. et al. Functional aromatic polyamides for the preparation of coated fibres as smart labels for the visual detection of biogenic amine vapours and fish spoilage. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 304, 2020.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R. et al. Use of alimentary film for selective sorption of haloanisoles from contaminated red wine. **Food Chemistry**, v. 350, p. 128364, 2021.

HÁKOVÁ, M. et al. Testing of nylon 6 nanofibers with different surface densities as sorbents for solid phase extraction and their selectivity comparison with commercial sorbent. **Talanta**, v. 181, n. October 2017, p. 326–332, 2018a.

HÁKOVÁ, M. et al. A comparison study of nanofiber, microfiber, and new composite nano/microfiber polymers used as sorbents for on-line solid phase extraction in chromatography system. **Analytica Chimica Acta**, v. 1023, p. 44–52, 2018b.

HÁKOVÁ, M. et al. Electrospun nanofiber polymers as extraction phases in analytical chemistry – The advances of the last decade. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 110, p. 81–96, 2019.

HASHIMOTO, J. C. et al. Considerations on the use of malachite green in aquaculture and analytical aspects of determining the residues in fish: A review. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 20, n. 3, p. 273–294, 2011.

HO, T. D. et al. Ionic Liquids in Analytical Chemistry: Fundamentals, Advances, and Perspectives. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 262–285, 7 jan. 2014.

HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n. 2, p. 331–343, 1995.

HUANG, Z. M. et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 63, n. 15, p. 2223–2253, 2003.

LANGMUIR, I. The dissociation of hydrogen into atoms. III. The mechanism of the reaction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, n. 6, p. 1145–1156, 1916.

LECOCQ, V. et al. Synthesis and characterization of ionic liquids based upon 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium chloride/ZnCl<sub>2</sub>. **New Journal of Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 700, 28 abr. 2005.

LI, Y. HUI et al. Development of a group selective molecularly imprinted polymers based solid phase extraction of malachite green from fish water and fish feed samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 624, n. 2, p. 317–325, 2008.

LIN, K. Y. A.; LEE, W. DER. Highly efficient removal of Malachite green from water by a magnetic reduced graphene oxide/zeolitic imidazolate framework self-assembled nanocomposite. **Applied Surface Science**, v. 361, p. 114–121, 2016.

LITTMANN, E.; RITTER, H. Adaptive color segmentation - A comparison of neural and statistical methods. **IEEE Transactions on Neural Networks**, v. 8, n. 1, p. 175–185, 1997.

MARTINS, M.; PRIMEL, E.; CALDAS, S. (artigo 27) Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME) fundamentos e aplicações. v. 4, n. 1, p. 35–51, 2012.

MATSUMOTO, M.; INOMOTO, Y.; KONDO, K. Selective separation of aromatic hydrocarbons through supported liquid membranes based on ionic liquids. **Journal of Membrane Science**, v. 246, n. 1, p. 77–81, jan. 2005.

MESA, L. B. A.; PADRO, J. M.; RETA, M. Analysis of non-polar heterocyclic aromatic amines in beefburguers by using microwave-assisted extraction and dispersive liquid-ionic liquid microextraction. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1694–1701, 2013.

MIRZAJANI, R.; AHMADI, S. Melamine supported magnetic iron oxide nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> at Mel) for spectrophotometric determination of malachite green in water samples and fish tissues. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 23, p. 171–178, 2015.

MITROWSKA, K.; POSYNIK, A.; ZMUDZKI, J. Determination of malachite green and leucomalachite green residues in water using liquid chromatography with visible and fluorescence detection and confirmation by tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1207, n. 1–2, p. 94–100, 2008.

MONOŠÍK, R.; BEZERRA DOS SANTOS, V.; ANGNES, L. A simple paper-strip colorimetric method utilizing dehydrogenase enzymes for analysis of food components. **Analytical Methods**, v. 7, n. 19, p. 8177–8184, 2015.

MOREIRA, S. A. et al. Remoção de metais de solução aquosa usando bagaço de caju. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1717–1722, 2009.

NASCIMENTO, RONALDO FERREIRA DO. LIMA, ARI CLECIUS ALVES DE. VIDAL, CARLA BASTOS. MELO, DIEGO DE QUADROS. RAULINO, G. S. C. **ADSORÇÃO : Aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: [s.n.].

P. CHATONNET, D. DUBOURDIEU, J. N. B. The Influence of Brettanomyces/Dekkera sp. Yeasts and Lactic Acid Bacteria on the Ethylphenol Content of Red Wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 46, n. 4, p. 463–468, 1 jan. 1995.

PARASTAR, H.; TAULER, R. Multivariate curve resolution of hyphenated and multidimensional chromatographic measurements: A new insight to address current chromatographic challenges. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 286–297, 2014.

PARK, B.; LU, R. **Hyperspectral imaging technology in food and agriculture**. [s.l.: s.n.].

PARK, B.; LU, R. Hyperspectral imaging technology in food and agriculture. **Hyperspectral Imaging Technology in Food and Agriculture**, p. 1–390, 2015b.

PASCHOAL, J. A. R. et al. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1190–1198, 2008.

PATI, S. et al. Quantification of volatile compounds in wines by HS-SPME-GC/MS: Critical issues and use of multivariate statistics in method optimization. **Processes**, v. 9, n. 4, 2021.

PAULO HENRIQUE MARÇO, PATRÍCIA VALDERRAMA, GUILHERME LIONELLO ALEXANDRINO, R. J. P. E R. T. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. v. 37, n. 9, p. 1525–1532, 2014.

PEREIRA, A. V. et al. Determinação da constante de dissociação ( $K_a$ ) do captopril e da nimesulida - Experimentos de química analítica para o curso de farmácia. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1656–1660, 2011.

PHAM, N. A. et al. Quantitative image analysis of immunohistochemical stains using a CMYK color model. **Diagnostic Pathology**, v. 2, n. 1, p. 1–10, 2007.

PIETIKAINEN, M. et al. Accurate color discrimination with classification based on feature distributions. **Proceedings - International Conference on Pattern Recognition**, v. 3, p. 833–838, 1996.

PINTO, L. et al. Analytica Chimica Acta Handling time misalignment and rank deficiency in liquid chromatography by multivariate curve resolution: Quantitation of five biogenic amines in fish. v. 902, p. 59–69, 2016.

PRATS-MONTALBÁN, J. M.; DE JUAN, A.; FERRER, A. Multivariate image analysis: A review with applications. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, n. 1, p. 1–23, 2011.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, out. 2004.

SABZROO, N. et al. Synthesis and characterization of magnetic poly(acrylonitrile-co-acrylic acid) nanofibers for dispersive solid phase extraction and pre-concentration of

malachite green from water samples. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 60, p. 237–249, 2018.

SAFARIK, I. et al. Smartphone-based image analysis for evaluation of magnetic textile solid phase extraction of colored compounds. **Heliyon**, v. 5, n. 12, p. e02995, 2019.

SAFARIK, I.; MULLEROVA, S.; POSPISKOVA, K. Semiquantitative determination of food acid dyes by magnetic textile solid phase extraction followed by image analysis. **Food Chemistry**, v. 274, n. August 2018, p. 215–219, 2019.

SANTANA, I. M.; BREITKREITZ, M. C.; PINTO, L. Multivariate curve resolution alternating least squares applied to chromatographic data: From the basics to the recent advances. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 8, n. 32, p. 22–44, 2021.

SANTOS, J. P. et al. Rapid and Non-Destructive Analysis of Corky Off-Flavors in Natural Cork Stoppers by A Wireless and Portable Electronic Nose. n. May, p. 1–8, 2022.

SOUSA NETO, V. O. et al. Use of coconut bagasse as alternative adsorbent for separation of copper (II) ions from aqueous solutions: Isotherms, kinetics, and thermodynamic studies. **BioResources**, v. 6, n. 3, p. 3376–3395, 2011.

ŠRÁMKOVÁ, I. H. et al. Screening of extraction properties of nanofibers in a sequential injection analysis system using a 3D printed device. **Talanta**, v. 197, n. January, p. 517–521, 2019.

SRIVASTAVA, S.; SINHA, R.; ROY, D. Toxicological effects of malachite green. **Aquatic Toxicology**, v. 66, n. 3, p. 319–329, 2004.

SWATLOSKI, R. P.; HOLBREY, J. D.; ROGERS, R. D. Ionic liquids are not always green: hydrolysis of 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate. **Green Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 361, 1 ago. 2003.

VALOUS, N. A. et al. Colour calibration of a laboratory computer vision system for quality evaluation of pre-sliced hams. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 132–141, 2009.

VIDAL, M. et al. Simultaneous determination of color additives tartrazine and allura red in food products by digital image analysis. **Talanta**, v. 184, p. 58–64, 2018.

WANG, X. et al. A facile and highly sensitive colorimetric sensor for the detection of formaldehyde based on electro-spinning/netting nano-fiber/nets. **Sensors and Actuators**,

**B: Chemical**, v. 163, n. 1, p. 186–193, 2012.

WESTERVELD, T. Image retrieval: Content versus context. **Content-Based Multimedia Information Access, RIAO 2000 Conference**, n. May 2000, p. 276–284, 2000.

WONGTHANYAKRAM, J.; HARFIELD, A.; MASAWAT, P. A smart device-based digital image colorimetry for immediate and simultaneous determination of curcumin in turmeric. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 166, n. August, 2019.

XIA, L. et al. Ionic liquids based single drop microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry for determination of Co, Hg and Pb in biological and environmental samples. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 11, p. 1290–1296, 2008.

XIE, J. et al. Determination of malachite green, crystal violet and their leuco-metabolites in fish by HPLC-VIS detection after immunoaffinity column clean-up. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 913–914, p. 123–128, 2013.

ZHANG, Y. et al. Fiber-packed SPE tips based on electrospun fibers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 391, n. 6, p. 2189–2197, 2008.

ZHENG, C.; SUN, D. W.; ZHENG, L. Recent developments and applications of image features for food quality evaluation and inspection - a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 12, p. 642–655, 2006.

**APÊNDICE A - ARTIGOS PUBLICADOS**

Chemometric cleanup to Eliminate Ionic Liquid Interferences and Enable its Application on in-situ IL-DLLME Using HPLC-DAD Detection

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115627>

Malaqchite Green Optical Sensor Based on Electrospun Polyimide Nanofiber

DOI: <https://doi.org/10.3390/chemosensors10090348>