



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102019020127-4 A2



(22) Data do Depósito: 26/09/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 20/04/2021

(54) **Título:** FOTÔMETRO PORTÁTIL ASSOCIADO À RESSONÂNCIA LOCALIZADA DE PLASMON DE SUPERFÍCIE (LSPR) DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA APLICADO NA QUALIFICAÇÃO DE AÇÚCAR CRISTAL NÃO SULFITADO

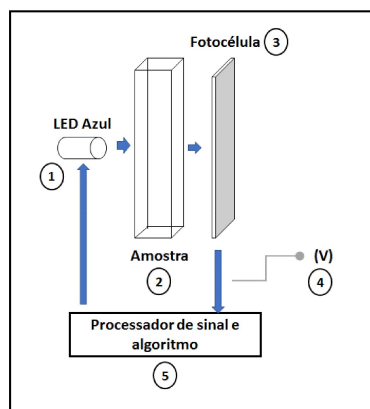
(51) **Int. Cl.:** G01N 21/64.

(52) **CPC:** G01N 21/648; G01N 21/645; G01N 21/6428; G01N 2021/6417.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** ARNALDO CÉSAR DANTAS DOS SANTOS ANDRADE; PATRÍCIA MARIA ALBUQUERQUE DE FARIAS; THIAGO TEIXEIRA SEIXAS; ANDRÉ GALEMBECK; ANDREAS STINGL.

(57) **Resumo:** FOTÔMETRO PORTÁTIL ASSOCIADO À RESSONÂNCIA LOCALIZADA DE PLASMON DE SUPERFÍCIE (LSPR) DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA APLICADO NA QUALIFICAÇÃO DE AÇÚCAR CRISTAL NÃO SULFITADO. Apresento patente de invenção do fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado, é um dispositivo que utiliza um sistema optoeletrônico composto por diodo emissor de 468 nm, câmara porta-cubeta, fotocélula de silício amorfo e microcontrolador que interpreta o sinal elétrico digital (ADC) a partir da plataforma sensora. Nesta plataforma, o hidróxido de sódio é posto a reagir com nitrato de prata e solução de açúcar e assim os monossacarídeos, produtos de clivagem da ligação glicosídica da molécula de sacarose, reduzem quimicamente o Ag^+ a Ag^0 . As NpAg resultantes desta síntese funcionam como nanossensores que geram sinais de absorbância possíveis de serem medidos e convertidos a ADC, sem precedentes para esta aplicação enquanto sistema classificador de açúcar cristal comercial não sulfitado.



**FOTÔMETRO PORTÁTIL ASSOCIADO À RESSONÂNCIA LOCALIZADA DE
PLASMON DE SUPERFÍCIE (LSPR) DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA
APLICADO NA QUALIFICAÇÃO DE AÇÚCAR CRISTAL NÃO SULFITADO**

CAMPO DE APLICAÇÃO

[01] A invenção refere-se a dispositivo fotométrico portátil com software embarcado, o qual, com base na ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR), permite qualificar açúcar cristal não sulfitado em conformidade com regulamento técnico estabelecido pela instrução normativa nº 47 do MAPA no ano 2018. O dispositivo possui um sistema óptico composto por diodo emissor de 468 nm, uma câmara porta-cubeta, uma plataforma sensora formada por nanopartículas de prata (NpAg) e fotocélula de silício amorfo. Pode ser aplicável no controle de qualidade do açúcar cristal não sulfitado por indústrias e por órgãos competentes, como ferramenta de resposta qualitativa rápida e precisa contra fraudes e adulterações de produto.

FUNDO RELEVANTE

[02] O açúcar não sulfitado comercializado em todo o mundo é apresentado em sua forma cristalina, com disposição final em pacotes ou sacos de pesos variáveis. No Brasil, o regulamento técnico do açúcar, conforme a instrução normativa nº47 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), aplica-se ao açúcar obtido a partir da cana-de-açúcar pertencente às cultivares provenientes da espécie *Saccharum officinarum* L. através de processos adequados, constituído por cristais, com exceção do açúcar líquido. Este regulamento objetiva a classificação do açúcar para consumo humano direto e garantir sua condição padronizada, conforme parâmetros estabelecidos em seus

artigos preliminares. Pode-se destacar, dentre estes, a legislação específica da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) quanto à presença de matérias estranhas indicativas de riscos à saúde humana e matérias estranhas indicativas de falhas de boas práticas de fabricação (BPF).

[03] O conteúdo do pacote de açúcar poderá sofrer substituições intencionais ou mesmo adulterações configurando uma fraude alimentar, já que não é difícil encontrar materiais xaroposas, méis, melaços e/ou açúcares de menor valor comercial para compor a massa interna do pacote. A fraude traduz a intenção de procurar uma vantagem indevida, patrimonial ou não. A literatura técnica define fraude de alimento como qualquer substituição, adição, adulteração ou falsificação de alimentos, ingredientes alimentares ou embalagens de alimentos para ganho econômico.

[04] A agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, conhecida como FDA, denomina fraude como adulteração economicamente motivada. O Código Penal Brasileiro, no artigo 171, prevê diversas modalidades de fraude, comparáveis ao estelionato. A Iniciativa Global em Segurança do Alimento (GFSI) ratifica diversos protocolos de normas de certificação em Sistemas de Gestão em Segurança do Alimento (SGSA) contra fraudes. Dentre eles, a Certificação em Sistemas para Segurança do Alimento 22000 (FSSC 22000) que em sua versão 4.1 de 2018 já apresenta requisito adicional objetivando prevenção de fraudes de alimentos. Empresas fabricantes de açúcar serão cada vez mais exigidas para atenderem padrões e regulamentos sobre fraude, seja no transporte, transações comerciais, rotulagem fraudulenta, diluição ou substituição com ingrediente, insumos impuros “*non food grade*” adicionado, dentre outros tipos de fraude. Aquelas indústrias e proprietários que misturam açúcares de diferentes especificações, por exemplo, de cores

diferentes, que remontam cargas para substituírem açúcar de alto valor agregado por açúcar bruto do tipo *very high polarization* (VHP), que compram açúcar mais barato de usina não certificada e embalam em rótulo de empresa certificada, que ocultam falhas de pontos críticos de controle e decidem vender o açúcar com risco físico associado ao invés de reprocessar o produto estão sujeitos à pena de reclusão e multas. A integridade alimentar é a garantia do consumidor, o qual precisa receber um produto aprimorado, livre de falsificações por substâncias aromatizantes, corantes, agentes invulgares e mesmo não-açúcares (areia branca e areia marrom, por exemplo, com cor, granulometria e densidades bastante semelhantes às do alimento, possíveis de serem incorporados propositalmente no produto fraudado).

[05] A fim de reduzir a vulnerabilidade à fraude alimentar são utilizadas diversas técnicas analíticas. O método de detecção de fraude a ser selecionado vai variar com condições específicas do alimento. Para avaliação de vulnerabilidade e prevenção contra fraude de açúcar cristal comercial deve ser aplicada, segundo a IN 47/MAPA, a análise de cinzas condutimétricas: o teor de cinzas em uma amostra determinada pela medida da condutividade elétrica de uma solução aquosa da amostra de concentração conhecida, expressa em porcentagem (%); a cor ICUMSA: a cor de uma solução de açúcar em concentrações e pH definidos, cuja absorbância é medida em 420 nm (quatrocentos e vinte nanômetros), expressa em unidades ICUMSA; a polarização: a quantidade de sacarose aparente medida por polarimetria, em condições padronizadas, utilizando o peso normal de 26,00 g (vinte e seis gramas) em 100 ml (cem mililitros) de água a 20°C (vinte graus Celsius), e expressa em °Z (grau Zucker); os pontos pretos: as partículas visíveis de coloração contrastantes com a dos cristais de açúcar podendo ser provenientes de açúcar caramelizado, açúcar

carbonizado, fuligem, fagulhas da queima de cana, fibras da cana ou resíduos de incrustação dos equipamentos, expressas em número de pontos pretos por 100g (cem gramas); a umidade: o teor de água livre encontrada no produto, medida por aquecimento a 105°C (cento e cinco graus Celsius), sendo expressa em gramas por 100g (cem gramas) do produto. Outras técnicas comuns no setor sucroenergético determinam açúcares na indústria alimentícia por refratometria manual, visto que é uma técnica barata e rápida. Existem os métodos que fazem uso da hidrólise tornando a análise demorada, não sendo adequadas para determinações que necessitam de frequência, mas surgem como alternativa em casos de falta de equipamentos ou recursos laboratoriais. Já a titulometria mostra-se uma técnica rápida para análise qualitativa, porém é menos precisa para análise quantitativa. Também se recorre aos dispositivos analíticos baseados em biossensores compostos por um transdutor elétrico, elementos para acondicionamento e um processador de sinal. Além de possuírem uma substância, como uma enzima ou anticorpo, que possibilita a medição seletiva de outra substância. As naturezas de sensoriamento variam entre eletroquímicos (aplicado no monitoramento de glicose), ópticos, piezoelétricos e termométricos. Podem atuar tanto na indústria de alimentos, focando na garantia da segurança alimentar e análise de contaminantes, quanto no setor da saúde, principalmente na medida de glicose no sangue humano, no controle do meio ambiente, como na quantificação de toxinas em água e pesticidas agrícolas. Para caracterizações mais exigentes do material, seja açúcar redutor ou não-redutor, pode-se recorrer a técnicas mais completas porém menos usuais e de maior custo, são a ressonância magnética nuclear (RMN), microscopia eletrônica de varredura (microestrutura dos cristais), cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) (presença de cromóforos específicos), cromatografia em

fase gasosa, espectroscopia de massas (ex. avaliando isótopos de oxigênio 16 e 18), LC/MS (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas) e espectroscopia de infravermelho.

[06] A demanda específica para testes qualitativos do açúcar classe cristal bruto tipo demerara, também conhecido como “*brown sugar*”, foi motivada por uma redefinição de classificação do MAPA, uma vez que passou a regulamentar o açúcar em função dos seus requisitos de identidade e qualidade. Também devido ao alto valor agregado deste produto diante de outros açúcares comerciais e o risco que os fabricantes genuínos e tradicionais do açúcar demerara correm quanto a possibilidade de fraudes do conteúdo. No dia-a-dia são utilizados equipamentos e métodos oficiais/tradicionais, os quais são, na maioria das vezes, dispendiosos, laboriosos, pouco práticos, consomem energia elétrica de toda a estrutura do laboratório, utilizam recursos como água e reagentes químicos. Faz-se necessária uma tecnologia de baixo custo, robusta, precisa e específica, que possa se adaptar às propriedades da amostra de açúcar em questão. Nesta invenção foi possível desenvolver um nanossensor com resposta rápida e específica para açúcar cristal demerara e acoplá-lo a um dispositivo fotométrico portátil. (Reivindicação [01]).

[07] O setor sucroenergético tem avançado significativamente com relação à pesquisa e à aplicação de tecnologias de ponta em eletrônica e automação. A fotometria tem sido importante para esse avanço ao incluir técnicas de monitoramento por infravermelho próximo (NIR) nas linhas de produção. A utilização de HPLC em laboratórios para análise de teor de sacarose na entrada da matéria-prima cana-de-açúcar nas fábricas é outro exemplo de evolução prática. Ultimamente, mesmo de modo incipiente, avanços com o desenvolvimento de nano-materiais a partir de bagaço de cana, bem como a

síntese de nanoestruturas por rotas de química verde resulta em abordagens de aspectos ópticos que são relevantes na análise físico-química, na classificação de açúcares comerciais, na detecção de fraude alimentar e no monitoramento de índices e características do processo fabril. Dentre os nanomateriais, as nanopartículas metálicas apresentam propriedade óptica única chamada ressonância localizada de plasmon de superfície (*LSPR*), que surge a partir da absorção da luz que leva à oscilação dos elétrons livres no metal. Esta característica torna as nanopartículas metálicas bastante adequadas para funcionar como plataformas em nanoescala para biossensoriamento e ensaios qualitativos. Nesta invenção foi possível desenvolver uma abordagem onde o próprio açúcar não sulfitado reduz quimicamente a prata metálica, que se agrupa formando nanopartículas de prata (NpAg) e nesse momento detecta-se o sinal plasmônico estável (Reivindicação [03]). Isso foi possível devido aos estudos de estabilidade coloidal desta invenção, os quais investigaram a influência do teor de cinzas condutimétricas presentes em açúcares. Para o açúcar classificado como demerara a condição de alto teor de cinzas foi identificada como inerente para garantir a estabilidade da suspensão coloidal formada e assim inspirar um nanossensor baseado em redução química, funcionando em comprimento de onda de 468 nm. A NpAg formada é capaz de qualificar cada tipo de açúcar e também identificar casos de fraude alimentar. Percebe-se que o sinal plasmônico possui parâmetros únicos para cada caso.

[08] A síntese convencional de nanopartículas pode envolver elevado custo, os quais demandam em geral, a utilização de reagentes que apresentam riscos potenciais à saúde humana e ao meio ambiente. Os riscos de efeitos adversos, em geral, são relacionados ao uso de compostos que atuam como precursores, redutores e estabilizantes. Exemplos de agentes utilizados para a redução de

íons de prata Ag^+ em solução aquosa ou não aquosa, orgânicos e inorgânicos, são o borohidreto de sódio, citrato de sódio, ascorbato de sódio, reagente de Tollens e polietilenoglicol. Os agentes de tamponamento também são usados para controle do tamanho e estabilização das nanopartículas. Uma das vantagens destes métodos convencionais é que uma grande quantidade de nanopartículas pode ser sintetizada em curto espaço de tempo. Na produção de NpAg através de biossíntese, busca-se o desenvolvimento e utilização de processos compatíveis ambientalmente. A biossíntese pode ser definida como um grupo de métodos de síntese que envolve abordagens baseadas em entidades biológicas unicelulares e pluricelulares, tais como actinomicetos, bactérias, vírus e leveduras. Por exemplo, plantas e seus extratos são eficientes fábricas biológicas, sintetizando nanopartículas de modo relativamente simples e vantajoso. Em comparação com microorganismos, a síntese em plantas tende a ser mais rápida, além de ser mais rentável e relativamente mais fácil de dimensionar a produção de grandes quantidades de nanoestruturas. As diversas metodologias de síntese de nanopartículas, mediadas por microorganismos, têm apresentado dificuldades para garantir condições assépticas. Para o caso das NpAg, a utilização de extratos vegetais apresenta vantagens sobre os microorganismos pois minimiza riscos biológicos e evita processos elaborados de manutenção de culturas celulares. É importante que a plataforma para sínteses esteja livre de químicos tóxicos, forneça agentes de cobertura naturais para a estabilização das NpAg. Além disso, o custo com o isolamento de microorganismos e seus meios de cultura é mais alto que aqueles com a preparação e uso de extratos vegetais. A maior parte dos protocolos já publicados lidam com a síntese química do NpAg envolvendo alta pressão, temperatura, energia e habilidades técnicas diversas. Assim, métodos que

envolvam condições mais amenas e amigáveis ao meio ambiente são necessários atualmente e vem sendo desenvolvidos. É o caso do uso de glicídios com açúcares redutores de íons metálicos. Por exemplo, pesquisadores desenvolveram um método simples e eficiente em termos de consumo de energia elétrica necessária à síntese. As NpAg foram sintetizadas na presença de luz solar, usando açúcar branco e nitrato de prata (AgNO_3) e hidróxido de sódio (NaOH). Essas nanopartículas foram caracterizadas por espectroscopia UV-vis, Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), análise e rastreamento de nanopartículas (NTA) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). A formação de NpAg foi confirmada pela mudança na cor da mistura de reação de incolor para amarelo, após o tratamento com AgNO_3 . A espectroscopia UV-vis mostrou pico a 409 nm e NpAg de diâmetro entre 15 a 30 nm. O FTIR mostrou a presença de ácido glucônico como agente de cobertura, o que aumentou a estabilidade no colóide. O MET demonstrou a presença de nanopartículas esféricas na faixa de 10-25 nm. O método confirmou a síntese de NpAg usando açúcar branco, AgNO_3 como precursor de íons metálicos e NaOH . O efeito de NaOH na taxa de síntese de NpAg foi estudado. Para alguns autores, o NaOH participa da reação, não sendo um catalisador genuíno. A Figura 2 traz uma reação plausível para a hidrólise de sacarose e consequente formação de monossacarídeos em meio alcalino. A degradação alcalina se inicia com a clivagem da ligação glicosídica da molécula de sacarose resultando em D-glicose e D-frutose e/ou suas formas iônicas. Durante a reação de oxido-redução, caso o NaOH seja posto a reagir com AgNO_3 antes da adição de solução de sacarose, pode-se formar precipitado de Ag_2O . Assim como a temperatura, o pH é um importante fator para a formação de nanopartículas. O pH alcalino é visto como mais favorável à formação de nanopartículas do que o

pH ácido. A precipitação em pH ácido pode ocorrer devido à falta de agentes estabilizantes, devido à diminuição da velocidade de formação e agregação de NpAg já que aumenta a repulsão eletrostática de ânions presentes na solução. Sabe-se que balanços estequiométricos baseados em alterações de concentrações do precursor de átomos metálicos, durante uma síntese coloidal de nanopartículas, predispõe um aumento gradual das bandas *LSPR*, bem como a utilização de atenuadores de acidez dos sistemas coloidais.

[09] Cada cristal de açúcar é único para cada fábrica. A cadeia produtiva, desde a escolha da variedade de cana-de-açúcar (CdA), o modo de funcionamento dos equipamentos e seu contexto de eficiência operacional irão definir o padrão de cristalização da sacarose. A bibliografia disponível para compreensão da dinâmica da cristalização de sacarose de CdA é conservadora e, dessa forma, apresenta pontual aprofundamento quanto aos efeitos quânticos e nanoestruturais envolvidos. Conceitos básicos em físico-química das soluções, propriedades como solubilidade, cristalografia do açúcar, mecanismos e etapas de cristalização são fundamentais no entendimento do funcionamento do mecanismo do invento apresentado. Todo o processo termodinâmico, requerido para formar o cristal de açúcar, será útil para entender sua desconstrução quando em solução, através da oxidação gradual durante a formação do nanossensor proposto nesta invenção. O hábito cristalino do cristal de açúcar é definido pela taxa relativa de crescimento das diferentes faces. As taxas podem variar em função de diferentes parâmetros como a temperatura, a supersaturação e a presença de não-açúcares. Pesquisadores, utilizando a técnica de difração de nêutrons, tornaram possível diferenciar a estrutura das diferentes faces do cristal. Um estudo detalhado com relação aos cristais de sacarose os classifica na classe esfenoidal de um sistema monoclinico, que é caracterizado por duas dobras axiais de única simetria. A

morfologia de um cristal depende geralmente das taxas de crescimento para as diferentes faces cristalográficas. Algumas faces apresentam maiores efeitos sobre o crescimento, são aquelas que crescem a velocidades maiores, assim o crescimento de uma fase particular será governado por um lado, pela natureza química do cristal junto com seus defeitos e por outro pelas condições operacionais. Também é comum observar a presença de certas substâncias que modificam morfologia e pureza de um cristal. Estes tipos de substâncias são conhecidos como impurezas. Um exemplo disso são as taxas de nucleação primária heterogênea e secundária podem ser aumentadas ou diminuídas pela presença de alguma partícula externa que foi incorporada ao processo de forma deliberada. As taxas de crescimento das faces estão relacionadas com a energia da inclusão do íon ou molécula às superfícies do cristal. Isto significa que a morfologia pode ser grandemente influenciada por fatores externos como o nível de supersaturação, temperatura, solvente utilizado e a pureza da solução. As taxas de crescimento das diferentes superfícies cristalinas dependem das condições do meio. Como as faces diferentes podem crescer com diferentes mecanismos, diferentes meios podem influenciar diferentemente as faces do cristal, levando à obtenção de diferentes morfologias, devido à adsorção seletiva de componentes não-cristalizantes. A presença de impurezas, em níveis de parte por milhão, pode provocar grande efeito na morfologia do cristal. Quando as impurezas adsorvem fortemente em uma superfície bloqueando os sítios de crescimento, a taxa de crescimento da superfície diminui. Na maioria dos sistemas orgânicos típicos da indústria química há uma tendência maior para formar agulhas do que nos sistemas inorgânicos, mesmo quando a solubilidade do componente é alta. Essa tendência é atribuída à presença de impurezas específicas, mecanismos de adesão por forças de covalência ou razões

associadas a arranjos espaciais. Na maioria dos casos, pelo menos uma das faces dos cristais orgânicos tem seu crescimento mais lento que os inorgânicos. Especialistas sinalizam para uma grande quantidade de dados referentes as principais substâncias responsáveis pelos efeitos de oligossacarídeos, dextranas, glucose, frutose e compostos inorgânicos na morfologia dos cristais. Já a taxa de crescimento deve seguir o modelo de três estágios, onde as interações da solução, na superfície e na integração na estrutura cristalina são mais complicadas que na solução de sacarose pura. A ordem global de reação aumenta com o aumento da concentração de não- açúcares. Na fabricação de açúcar, é prática comum, a indução da cristalização por semeadura como forma de se minimizar a nucleação secundária e assim obter-se cristais com uma distribuição granulométrica mais uniforme. É notório para peritos do setor produtivo de sacarose que a indução da nucleação pode se dar, basicamente, de três maneiras: por espera (*“waiting”*), por choque (*“shock seeding”*), ou semeadura (*“full seeding”*). Na indução por espera, a solução de sacarose é gradativamente concentrada até atingir a zona lábil, aguardando-se neste ponto o aparecimento espontâneo dos núcleos. Na indução por choque a solução é concentrada até a zona metaestável ser atingida, para uma supersaturação, provocando-se um abaixamento de temperatura mediante um aumento da intensidade de vácuo, ou a introdução de pequena quantidade de água ou xarope mais frio que a solução, aguardando-se o aparecimento de cristais. Recomenda-se, neste caso, que a supersaturação não ultrapasse o limite da zona metaestável para que não haja formação de aglomerados. Finalmente, o processo de indução mais recomendado, por semeadura. É efetuado concentrando-se a solução de sacarose introduzindo-se uma suspensão de

cristais, com um tamanho médio da ordem de 10 µm, em isopropanol, etanol ou glicerina.

[10] Os mecanismos de interações molécula-íon têm sido explorados em diversos campos do conhecimento, desde a biologia celular, à exemplo de proteínas cotransportadoras de sódio (Na^+) até na elucidação da físico-química em suspensões coloidais. Este invento tem suporte no efeito de íons metálicos, naturalmente presentes em suspensões açucaradas preparadas com açúcar de mesa, na estabilização de nanopartículas de prata (NpAg). Confirma-se com a literatura científica que durante a síntese coloidal de NpAg envoltas por monossacarídeos, estes agem sobre íons de prata reduzindo-os a prata metálica. Tal fato deve-se a particularidades dessas moléculas de carboidratos quando suspensas, seja relacionado a configuração eletrônica, presença de carbono anomérico estrutural e/ou disposição das hidroxilas nos monossacarídeos. Ou seja, íons diversos ao interagirem com macromoléculas orgânicas também influenciam na síntese de NpAg por redução glicídica. A atuação das espécies iônicas sobre as moléculas do tipo hexossacarídeos de glicose, frutose, e outras como manose, um epímero da glicose, está intimamente ligada à performance de estabilização das NpAg.

[11] Devido ao complexo conjunto de interações presentes na suspensão de açúcar, ativadas por NpAg, íons metálicos, íons não-metálicos, macromoléculas (açúcares, aminoácidos, polifenóis, etc), é notório que a diferença de polarizações entre açúcares de mesa cristal branco refinado e cristal bruto demerara, utilizados na síntese de NpAg, podem influenciar na estabilização destas, uma vez que as concentrações (mg/kg) de resíduos fenólicos e aminoácidos, bem como os teores (%) de resíduos minerais fixos (cinzas

condutimétricas) e açúcares redutores diferem em pelo menos duas ordens de grandeza. Íons metálicos como Fe^{+3} , Ca^{+2} catalisam reações auxiliando na formação de produtos de glicação avançada, por exemplo: glicose+proteína, glicose+lipídeo, etc. O efeito de íons metálicos como, Sódio (Na^{+}), Magnésio (Mg^{+2}), Potássio (K^{+}), Cálcio (Ca^{+2}), Zinco (Zn^{+2}), Cobre (Cu^{+2}), Alumínio (Al^{+3}), na estabilização de NpAg suspensas em meio a íons de átomos diversos como Cl, P, N, S, Si é específico para cada composição molecular, em meio a diferentes concentrações de oligossacarídeos, glicopiranoses e frutofuranoses, maximizada indiretamente por desidratação química de carboidratos. Neste contexto, é importante observar que o estado de hidratação molecular dos carboidratos pode determinar condições específicas de agregação e/ou aglomeração das NpAg e é influenciado pela presença de anidridos fosfóricos (P_2O_5 , íons derivados de ácidos ortofosfóricos e/ou polifosfóricos). Estes podem transitar e preservar ligações entre moléculas, ou hidrolisá-las. Para o caso de alto grau de íons ortofosfóricos, também atuam como agentes tamponantes e sequestradores de íons polivalentes de metais. A existência de íons fosfatos no ambiente reacional poderá interferir na estabilização de NpAg devido a interação destes e íons metálicos típicos em suspensões de açúcar de mesa. Pode-se considerar que os fosfatos sejam oriundos da matéria-prima ou de ácido fosfórico adicionado no processo fabril. O ácido fosfórico, além de tamponar a reação como já mencionado, promove ligações entre monossacarídeos por mecanismo de desidratação química, remove a água livre e disponibiliza prótons resultando em uma rede de estabilidade molecular. Ácidos fosfóricos competem por sítios de encadeamento de glicose e impedem a formação de cadeias orgânicas longas. É possível que a ação dos fosfatos se repita sobre compostos orgânicos (aminoácidos, ácidos fenólicos, polifenóis e quinonas) em suspensão de açúcar

demerara, minimamente preservados durante a fabricação industrial, como também poderão influenciar na estabilização das NpAg.

[12] Conforme postulado na equação de *Rasching*, a degradação alcalina da molécula de sacarose promove o peróxido de hidrogênio a partir da conversão de glicose a formaldeído seguindo-se a ácido málico. De modo semelhante, a frutose converte-se a glicolaldeído, glicerol e ácido láctico. O controle estequiométrico e suas transições com o tempo são previstas no equilíbrio reversível entre moléculas de monossacarídeos através das transformações de *Bruyn-Van Ekenstein*. Em meio aquoso, a nucleofilicidade das hidroxilas dos açúcares promove a formação de íons intermediários com Ag^+ . Nesse caso, fatores estéricos seriam consideráveis devido à presença prévia de ligações de *Van der Waals* de presença de carbonilas oriundas da glicose e da frutose. A presença de radicais de enxofre e nitrogênio, também sob condições de *Rasching*, poderão desfavorecer a formação da rede de estabilidade dos carboidratos por originar complexos de dionas e sulfonilas os quais antecipam-se na interação molécula-NpAg. O açúcar branco comercial (sacarose, 99,97%) pode apresentar impurezas de enxofre devido ao processo de clarificação, no qual utiliza-se anidrido sulfuroso (SO_2) para arraste de corantes naturais e assim o enxofre pode permanecer fixo ao cristal e tornar-se disponível em suspensão coloidal preparada com açúcar branco. Já o açúcar demerara (sacarose, 97,3%), não recebe anidrido sulfuroso durante seu processo produtivo, logo não sofre o arraste em fluxo contracorrente dentro da coluna preenchida por SO_2 . Sendo assim, não deveria apresentar impurezas de enxofre no cristal. Entretanto, a sacarose do açúcar demerara conserva teores de enxofre devido a cobertura natural dos seus cristais por uma camada de mel impregnada de sais minerais e

vitaminas remanescentes do solo e da própria cana-de-açúcar, resultando na disponibilidade destes elementos em sua suspensão coloidal.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[13] A seguir, a invenção será descrita em maiores detalhes. As características e vantagens adicionais deste tópico detalhado serão relevantes para profissionais e avaliadores. Aspectos peculiares e não inclusivos neste contexto de avaliação serão aparentes aos peritos no assunto, tendo em conta a circunscrição da especificação do fotômetro e o auxílio de elementos delineadores. Desenhos técnicos, tabelas, gráficos, fórmulas, fluxogramas, fotografias serão organizados e apresentados em Figuras na seção breve descrição das Figuras.

[14] A descrição a seguir é fornecida para adicionar uma compreensão abrangente da presente invenção e os termos e as palavras utilizadas não se limitam aos significados bibliográficos. Os detalhes são específicos para auxiliar no entendimento do dispositivo. Enquanto a aplicação do invento que se segue seja fundamentada na qualificação de açúcar não sulfitado com alto teor de cinzas, um perito na área de estudo pertinente reconhecerá que o dispositivo pode ser bem-sucedido na qualificação de uma grande variedade de açúcares comerciais, seja cristal, refinado, amorfo, glacê, VHP e/ou mascavo.

[15] O dispositivo do presente invento é um fotômetro que trabalha num intervalo de comprimento de onda do espectro eletromagnético, associado à respectiva faixa de frequência. Os valores apresentados nas leituras referentes a grandezas físico-químicas não representam plena necessidade de exatidão, mas os desvios ou variações, incluindo, por exemplo, tolerâncias, erro de medição, limitações de precisão de medição e outros fatores conhecidos por peritos na tecnologia, podem ocorrer em quantidades que não impedem o efeito da característica

desejado. A Figura 3 traz a representação esquemática do mesmo, em modelo 3D e em perspectiva bidimensional. O equipamento pode ser visualizado, em funcionamento, na foto da Figura 4-A. Na Figura 4-B percebe-se que é composto por (1) fonte de luz; (2.1) porta-cubeta e (2.2) célula de absorção, para armazenar o analito e nanossensor para absorver parte da energia radiante; (3) fotocélula, que converte a luz em (4) sinal elétrico; (5) dispositivo de leitura, formado por um processador e conversor dos sinais. Outra forma de ilustração está representada no diagrama esquemático da Figura 5 que, didaticamente, detalhará a seguir: a fonte de luz (1), o porta-cubeta ou célula de absorção (2), para armazenamento do nanossensor, a fotocélula (3), que converte a luz em sinal elétrico (4) e o dispositivo de leitura, formado por um processador e conversor dos sinais (5).

[16] O componente (1) é um LED azul que funciona como emissor de radiação eletromagnética resultando em um fluxo radiante de potência definida. Este fluxo é uma grandeza radiométrica suficiente para estimular o fenômeno da *LSPR*. A equação matemática que define a intensidade da luz que atravessa um material é expressa como a Lei de Beer $I = I_0 \times e^{-\mu l}$, onde I_0 é a intensidade do feixe incidente, I é a intensidade do feixe transmitido após atravessar um caminho de comprimento l centímetros e μ é o coeficiente de absorção linear para o material. O fato da emissão no LED ser espontânea faz com que a luz emitida não seja muito direcionada, apresentando ângulos de divergência dispersos. Entretanto o aspecto inovador (Reivindicação [02]) está no comprimento de onda e pico de emissão correspondente do LED azul que é de 468 nm, suficiente para gerar a resposta desejada. O LED azul opera com voltagem de 3,7V (máxima de 4,5V) e corrente elétrica de 20mA (máxima de 30mA). No espectrograma da Figura 6 fica evidente que ao emitir em 468 nm fica possível segregar os espectros *LSPR*

para açúcar cristal não sulfitado. Em quaisquer outras faixas do espectro haverá mais dificuldade para distinguir absorbâncias, inclusive no pico de emissão máximo *LSPR* de $420\pm 5,32\text{nm}$ para NpAg reduzidas pelo açúcar, demonstrado claramente na Figura 6. Os espectros de absorção UV-vis utilizados para caracterizar as suspensões em estudo foram obtidos em espectrofotômetro de bancada.

[17] O componente (2) do dispositivo é um porta-cubeta e um modelo de célula de absorção de poliestireno, também denominado cubeta. Pode-se conferir este item nas fotos da Figura 4-B e na ilustração da Figura 5. O objetivo é de manter uma amostra líquida na trajetória de um feixe de luz. A cubeta do modelo é constituída de material plástico, descartável, apresenta superfícies ópticas planas e paralelas, com trajetória de luz constante e seção transversal quadrangular de 10 mm de espessura, conforme o padrão ajustado do porta-cubeta, este com 11 mm de espessura, conforme desenho técnico da Figura 3 (A-2D). Durante as medições, as cubetas foram preenchidas até a capacidade total com água destilada e assim foi adotado a absorção contra o branco, cujo valor é essencialmente zero (réplica de $n=3$). Durante o percurso de inserção da cubeta na câmara do dispositivo, ela alcança o botão de disparo do emissor LED azul, detalhe possível de ser conferido na Figura 4-B (item 6).

[18] De modo complementar ao componente (2), e não menos importante, recorreu-se à construção integrada de uma plataforma para biossensoriamento em nanoescala. A caracterização das nanoestruturas está disponível nas Figuras de 7 a 9-B. O estado da arte deste componente e sua importância para o ensaio qualitativo será detalhado na sequência, lembrando que o mesmo é performado quando o açúcar cristal não sulfitado é solubilizado em concentração

pré-definida, é hidrolisado a monossacarídeos redutores de íons de prata livres, presentes na suspensão coloidal da plataforma.

[19] O parâmetro de qualidade aplicado na determinação da polarização em amostras de açúcar demerara, adotado pela IN 47/MAPA, é de no mínimo 96 °Z. De acordo com o método ICUMSA GS1/2/3/9-1. Para determinação de umidade segue-se o método ICUMSA GS2/1/3/9-15 onde o parâmetro aceitável é de no máximo 1,2%. Na análise de cinzas condutimétricas, o teor de cinzas máximo aceitável é de 0,5% (metodologia ICUMSA GS2/3/9-17) e para análise de cor o valor máximo especificado pela IN 47, com base na metodologia ICUMSA GS2/3-9, é de 5.000 UI. Não obstante, recorre-se a determinação granulométrica a partir do tamanho médio (AM) do cristal e coeficiente de variação (CV) % passante pela peneira ABNT 70 em amostra de açúcar. O AM e o CV são calculados graficamente ou eletronicamente. A presente invenção utiliza, nesta forma de realização, o açúcar cristal não sulfitado tipo demerara para compor a solução de sacarose a 0,2% (m/v). O açúcar demerara utilizado para validação dos parâmetros de qualidade desta invenção foi cedido por fabricante de açúcar do estado de Pernambuco no seguinte padrão (valores correspondem a uma média $\pm$ desvio padrão da média das medidas realizados em triplicata $n=3$): pol de $99,39 \pm 0,53^\circ\text{Z}$, umidade de $0,12 \pm 0,01\%$, teor de cinzas de $0,31 \pm 0,01\%$, cor de $2118,57 \pm 172,45$, além de AM $1,12 \pm 0,05\text{mm}$ e CV de $27,89 \pm 1,00\%$. Para um intervalo de confiança de 95% (análise de variância, ANOVA) o resultado para teor de cinzas em açúcares brancos sulfitados, os quais também foram cedidos pelo mesmo fabricante, é diferente, sendo $0,014 \pm 0,004\%$ e $0,009 \pm 0,001\%$ para classe branco tipo cristal e classe branco tipo refinado, respectivamente. Análises de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) apresentadas em estudos recentes confirmam diferenças

significativas entre quantidades de minerais em diferentes tipos de açúcares comerciais. A empresa fabricante de açúcar demerara também disponibilizou laboratório, instrumentos, reagentes e amostras de açúcares diversos de uma safra completa, os quais, juntos a infraestrutura dos laboratórios da UFPE (DQF: Central Analítica, Laboratório de Compostos Híbridos, Interfaces e Colóides; DF- Laboratório de MEV) foram imprescindíveis para o pleno alcance das caracterizações que se seguem. A plataforma deste invento é composta por 10 mL de solução sacarídica (0,2 %m/v) de açúcar demerara, adicionada à 5 mL solução de AgNO_3 (1 mM) e por fim soma-se 0,3 mL de NaOH (0,1 M). Após adição de NaOH coexiste uma rede complexa de NpAg, impurezas e compostos orgânicos reduzidos quimicamente. Os monossacarídeos glicose e frutose, produtos da hidrólise da molécula de sacarose, reduziram prata (Ag), de Ag^{+1} para Ag^0 . Este mecanismo de redução monossacarídica foi validado a temperatura ambiente e após algumas variações de concentrações de reagentes. Um parâmetro relevante foi o tempo de síntese de NpAg, praticamente instantâneo (duração de 30 minutos) em meio ao açúcar demerara. A síntese de NpAg de amostras foram confirmadas por espectroscopia de absorção no UV-visível, através do comprimento de onda de absorção máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) e o alargamento da banda em longa ou estreita. Nas Figuras 7-A e 7-B temos os espectros cuja evolução temporal da formação das NpAg foi monitorada. Durante os trabalhos também se pode confirmar que a estabilidade das nanopartículas se relaciona coerentemente com o pH das soluções, comportamento já abordado em literatura. O pH das suspensões estabilizadas atingiu seu valor mínimo 6,0 e valor máximo 10,75. Recorreu-se a utilização de NaOH, um reagente que pode alcalinizar, acelerar a degradação da sacarose e ao mesmo tempo agir como agente redutor, promovendo ainda mais carbonilas

reativas. A adição de NaOH levou ao aumento do pH das suspensões coloidais e estreitamento da curva de absorção das amostras que utilizaram açúcar demerara, quando comparado com açúcar branco, visto na Figura 6. Também é considerável o tempo em que as NpAg permanecem estáveis (*shelflife*), monitorado por 365 dias. Durante esse período o pH decaiu de 10,75 a 6,5, o perfil espectrográfico modificou-se, pois, a banda de absorção alargou-se. A suspensão em meio a açúcar demerara solubilizado em água destilada ($0,99\mu\text{S}/\text{cm}$), permaneceu estável a temperatura ambiente e foi preparada. O espectrograma das amostras deste tipo de açúcar foi medido durante a safra anual 2018/2019 e é exibido na Figura 6 (espectros de cor azul). O resultado apresentado mostra, através de caracterizações específicas para açúcar demerara comercial, que há possibilidade de se montar um nanossensor para classificar açúcar, já que as absorbâncias são peculiares a cada tipo de açúcar comercial. A caracterização por espectroscopia UV-vis foi obtida de amostras puras, sem alíquotas diluídas. Os valores estão representados como média $\pm$ desvio padrão da média das medidas realizadas em triplicata, com intervalo de confiança de 95%. Para se obter melhor resultado com a magnificação e resolução de imagem de MEV, a suspensão de NpAg foi preparada em alíquota diluída por fator 10. Segue a especificação do nanossensor: comprimento de onda máximo do *LSPR* para NpAg de $420\pm 5,32$ nm (amostra pura, não diluída), absorbância máxima de $0,87\pm 0,31$ (amostra pura, não diluída) com a aplicação do LED azul a 468 nm, pH de $10,45\pm 0,26$ (amostra pura, não diluída), morfologia esférica e diâmetro das NpAg estimado por MEV de $62,47\pm 16,71$ nm (Figura 8, em detalhe, nos seus itens de 1 a 10-B) (amostra diluída em água, 1:10), sendo 56% das NpAg entre 46-58 nm e 25% entre 75-82 nm. O diâmetro estimado pela largura a meia altura (FWHM) no UV-vis foi de $87,50\pm 2,28$ nm (amostra pura,

não diluída). Para os valores de FWHM, os espectros das NpAg variaram entre extremos de 325 nm até 510 nm com desvio para o azul. As quantidades de átomos de prata por NpAg e demais contagens de NpAg se basearam em metodologias conhecidas na literatura. O número médio de átomos de prata por NpAg foi de 7.480.015 átomos, concentração de 0,01mg/L, $1,18 \times 10^{+11}$ NpAg/mL e $3,54 \times 10^{+18}$ NpAg/mg. Outras caracterizações: HPLC, onde a fase móvel usada foi uma mistura de metanol: água, sendo 10% de metanol por 5 min, 95% de metanol de 5 - 45 min, 10% de metanol por 10 min, volume de injeção de 5 µL, fluxo de 0,2 mL/min com coluna C18 (250 x 2 mm, DI) e detecção realizada por UV de 210 nm e 250nm. Na Figura 9, os tempos de retenção possuem ordem de grandeza próximos, porém os picos diferentes apontam a presença de mais agentes cromóforos na suspensão de NpAg preparada com o açúcar demerara (cromatograma 9-B) do que na suspensão de NpAg preparada com o açúcar classe cristal branco tipo refinado (cromatograma 9-A). Esta característica do invento sugere que compostos orgânicos presentes naturalmente no açúcar demerara podem proteger e estabilizar as NpAg. Estes cromóforos podem conter estruturas orgânicas de fenóis, flavonas, flavanonas, flavanóis, antocianinas e outros subprodutos da própria ação do NaOH, complexos de degradação os monossacarídeos glicose e frutose. A confirmação da presença de Ag nas NpAg vem na espectroscopia por dispersão de energia (EDS) (Figura 8, detalhe 10-B), que também apresenta presença de substâncias provenientes das cinzas condutimétricas como K, Na, Si, Zn, Al, Cl. Os átomos de oxigênio (O) e carbono (C) no EDS confirmam a ação de recobrimento de NpAg por moléculas orgânicas. Já a análise da estabilidade da suspensão foi realizada por espalhamento dinâmico de luz (DLS). As medições do tamanho das NpAg em dispersão aquosa, especificamente o diâmetro hidrodinâmico, resultaram em

49,93±1,24 nm, com índice de polidispersividade (PDI) médio de 0,31±0,01, valor que sinaliza uma monodispersividade moderada. O valor do potencial zeta (PZ) de superfície das NpAg foi de -22,62±1,79 mV, valor favorável ao recobrimento por moléculas carregadas positivamente e que evidencia, juntamente com a baixa PDI, a baixa tendência das NpAg se agregarem em suspensão. As amostras expostas na Figura 1 foram estáveis no *shelflife* o suficiente para garantir a leitura e monitoramento. Estas amostras analisadas apresentaram síntese instantânea de NpAg à temperatura ambiente (entre 30 e 120 minutos). Além de atender os objetivos específicos para obtenção de NpAg estáveis, capazes de auxiliar enquanto plataforma *LSPR*, a invenção foi viável economicamente por utilizar pequenas alíquotas de reagentes. Num volume de concretização, a solução de sacarose 0,2% (m/v) necessária para cada ensaio é de 10 mL, adicionada à 5 mL solução de AgNO₃ (1 mM) e 0,3 mL de NaOH (0,1 M). Em outras formas de realização desta invenção, NpAg podem ser reduzidas por açúcares comerciais diversos.

[20] O componente (3) é uma fotocélula de silício amorfo (A-Si) que converte energia luminosa em tensão elétrica. É composto por um substrato de vidro revestido com óxido condutor transparente que aumenta a transmitância da luz dispersa pelas NpAg. A estrutura da película é uma dupla junção A-Si/A-Si de 60x30x3mm (comprimento, largura, espessura) que trabalha em circuito de faixas 0,01V a 3,60V, 20μA a 25μA, funcionando em temperaturas de -40°C a 85°C. Este componente é de baixo custo, possui resposta razoável a baixos níveis de luminosidade e é aplicado em equipamentos portáteis como calculadores de bolso, relógios, etc. Esta invenção favorece uma nova aplicação para a fotocélula de silício amorfo e adapta sua característica de captura do feixe luminoso para então funcionar como transdutor de sinal do feixe luminoso que

atravessa a amostra de NpAg (Reivindicação [05]) em sinal de tensão elétrica. A Figura 4-B apresenta imagens do fotômetro com detalhes da montagem do sistema optoeletrônico. Na Figura 5-A é apresentado um diagrama ilustrando o posicionamento dos componentes relacionados e a geração do sinal de tensão elétrica resultante no componente (4). O circuito equivalente da fotocélula é representado, segundo a literatura, como um modelo de diodo. A Figura 10 mostra o circuito equivalente sendo I_L a corrente fotogeradora, R_s e R_p suas resistências série e paralela, V e I a tensão e corrente de saída da fotocélula, respectivamente.

[21] O LED azul, utilizado como emissor de luz, é pulsado por um microcontrolador a cada 10 ms, o que corresponde a 100 Hz. O mesmo funciona em comprimento de onda de 468 nm e segue a lei de Lambert-Beer, já enunciada no item [16] desta patente. Os sinais são detectados na fotocélula e estão representados na Figura 5-A como componente (4). Este sinal é medido, convertido e processado digitalmente pelo componente (5). O componente (5) é um dispositivo de leitura, formado por um processador e conversor dos sinais. Mais especificamente, é uma plataforma Arduino implementada por microcontrolador ATMEGA328 com memória flash, memória de dados EEPROM, RAM e três temporizadores. O microcontrolador permite uma redução drástica do número de componentes no fotômetro, torna possível introduzir ou alterar funcionalidades neste invento sem qualquer modificação de hardware e pode ser configurado para aquisição de dados. O fotômetro em questão opera com representação binária, onde sinais são convertidos de analógico para digital (ADC). O ADC trabalha com 10 *bits* (2^{10}), o qual, corresponde a 1.024 eventos inteiros. Além dos componentes eletrônicos conectados, implementou-se um algoritmo de controle em linguagem C++, cujo código está aberto na Figura 5-B

e representado no fluxograma esquemático da Figura 11 (Reivindicação [06]). A tensão de saída do sinal digital é dada por $V_{ADC} = V_{fotocélula} * (2^{10}) / (5,0)V$, onde V_{ADC} é um valor digital adimensional. Uma vez analisado, o resultado é indicado por um LED vermelho, presente no painel principal do invento (ver Figura 4-A). O dispositivo, que é portátil, está configurado para aceitar uma única amostra por vez e apresentar o resultado da qualificação do açúcar diretamente no painel principal do equipamento. Também está programado para transmitir os resultados através de porta USB. Os resultados típicos para absorbância não ultrapassaram o valor máxima de 0,89, com comprimento de onda de 468 nm (Figura 6), os quais foram convertidos a sinais digitais ADC (faixa de 500 a 700 ADC) (Reivindicação [04]). Valores abaixo do ADC programado remetem a outros açúcares, sulfitados e/ou não sulfitados não previstos para este invento. Na Figura 12 temos representados espectrogramas de açúcares com características naturais que os distinguem no momento da qualificação proposta. A alimentação é realizada por bateria com um tamanho portátil e fácil de manusear. Na Figura 13, o esquema traz as interligações entre elementos de circuito.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[22] As características anteriormente mencionadas, os objetivos da presente invenção e a maneira de os atingir se tornarão mais claros por referência ao conjunto de figuras que se segue, em que:

[23] A figura 1 é uma imagem que confirma o aspecto típico, de cor amarela, de suspensão de NpAg reduzidas quimicamente em solução aquosa. A coloração foi confirmada após mudança na cor de incolor para amarela após o tratamento da solução de sacarose (0,2%, m/v), oriunda de açúcar cristal bruto não sulfitado,

com AgNO_3 e NaOH . Esta suspensão coloidal de NpAg funciona como nanossensor, uma vez que estará na trajetória do feixe de luz.

[24] A figura 2 traz uma reação plausível para a formação de NpAg em meio a produtos de hidrólise alcalina e clivagem da ligação glicosídica da molécula de sacarose. A degradação alcalina, por NaOH , resulta em $R\text{-CHO}$ (D-glicose e D-frutose e/ou suas formas iônicas). Na representação da reação de oxido-redução da Equação 1, o NaOH é posto a reagir com AgNO_3 , ao mesmo tempo em que os monossacarídeos passam a reduzir Ag^+ a Ag^0 . As NpAg são representadas na forma reduzida da prata metálica (Ag^0) na Equação 2.

[25] A figura 3 traz a representação esquemática do invento. No lado esquerdo da figura (Figura 3-A), uma representação em perspectiva bidimensional. Através das secções A-A, B-B, C-C e D-D, o equipamento pode ser visualizado. No lado direito da figura (Figura 3-B), um modelo 3D. As dimensões estão plotadas em escala milimétrica.

[26] A figura 4 traz fotos do equipamento. Nos detalhes da foto da figura 4-A, o equipamento está conectado via USB. Na Figura 4-B percebe-se o equipamento desmontado com seus componentes aparentes. É composto por (1) fonte de luz; (2.1) porta-cubeta e (2.2) célula de absorção em poliestireno, para armazenar o analito e nanossensor para absorver parte da energia radiante; (3) fotocélula, que converte a luz em (4) sinal elétrico; (5) dispositivo de leitura, formado por um processador e conversor dos sinais.

[27] A figura 5 mostra um diagrama esquemático da arquitetura do fotômetro, concretizado na presente invenção. A figura 5-A ilustra o posicionamento desde a fonte de luz até os componentes relacionados a geração do sinal de tensão elétrica. Didaticamente, tem-se a fonte de luz como componente (1), o porta-

cubeta ou célula de absorção como componente (2), para armazenamento do nanossensor, a fotocélula como componente (3), que converte a luz em sinal elétrico no componente (4) e o dispositivo de leitura, formado por um processador e conversor dos sinais no componente (5). Além dos componentes eletrônicos conectados, implementou-se um algoritmo em linguagem C++, cujo código está aberto no componente (6) da figura 5-B.

[28] A figura 6 apresenta espectros de absorção UV-vis utilizados para caracterizar as suspensões, durante o desenvolvimento do fotômetro. Foram obtidos, em espectrofotômetro de bancada, uma gama de espectros para açúcares utilizados para síntese por redução química de NpAg. Na figura fica evidente que emissões em 468 nm tornam possível segregar os espectros para qualificar açúcar cristal não sulfitado. Em quaisquer outras faixas do espectro haverá mais dificuldade para distinguir absorbâncias, inclusive no pico de emissão máximo *LSPR* para NpAg, o qual ficou próximo a 420 nm. Esses espectros foram obtidos de amostras puras e aqueles, representados pela cor azul, são de amostras em meio a açúcar cristal não sulfitado.

[29] Nas figuras 7-A e 7-B estão demonstrados os monitoramentos da evolução de formação de NpAg reduzidas por açúcar comercial sulfitado (7-A) e não sulfitado (7-B). A referência para o acompanhamento é a absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) e o alargamento de banda medidos em espectrômetro de bancada, onde o *LSPR* para as NpAg foi de $420 \pm 5,32$ nm.

[30] Na figura 8 temos imagens de microscopia eletrônica de varredura de amostras de NpAg. De acordo com as micrografias nos detalhes em (1), (2) e (3) foi possível evidenciar agregados de NpAg com magnificação a $10\mu\text{m}$, $2\mu\text{m}$ e $1\mu\text{m}$, respectivamente. Estas estruturas foram melhor visualizadas, em suas

morfologias e diâmetros nas imagens de (4) a (8), de magnificação 500 nm. Já na imagem (5) temos a mesma imagem (4), entretanto em campo escuro, o que definiu a melhor maneira de constatar a morfologia esférica das NpAg, possibilitando a medida de distribuição de tamanho também nas imagens (7) e (8), além da montagem do gráfico em (9). Este gráfico apresenta a distribuição de tamanho estimado por técnica de MEV onde 56% das NpAg estão entre 46-58nm e 25% entre 75-82 nm. A confirmação da presença de Ag nas NpAg, utilizando AgNO_3 como precursor, vem na espectroscopia por dispersão de energia (EDS) (Figura 8, detalhes dos itens 10-A e 10-B), que também apresentam presença de substâncias provenientes das cinzas condutimétricas como K, Na, Si, Zn, Al, Cl. Os átomos de oxigênio (O) e carbono (C) no EDS confirmam a ação de recobrimento de NpAg por moléculas orgânicas.

[31] Na figura 9 são apresentados os cromatogramas realizados com coluna C18 (250 x 2 mm, DI) e detecção por UV de 250 nm. Percebe-se que os tempos de retenção em 9-A e 9-B possuem ordem de grandeza próximos, porém com picos diferentes, os quais apontam a presença de mais agentes cromóforos na suspensão de NpAg preparada com o açúcar demerara (cromatogramas 9-B) do que na suspensão de NpAg preparada com o açúcar classe cristal branco tipo refinado (cromatograma 9-A). Esta característica sugere que compostos orgânicos presentes naturalmente no açúcar demerara podem proteger e estabilizar as NpAg. Estes cromóforos podem conter estruturas orgânicas de fenóis, flavonas, flavanonas, flavanóis, antocianinas e outros subprodutos oriundos naturalmente do mel conservado nos cristais de sacarose e/ou da própria ação do NaOH durante a degradação os monossacarídeos glicose e frutose, gerando estes ou demais estruturas complexas orgânicas.

[32] A Figura 10 mostra o circuito equivalente da fotocélula, sendo I_L a corrente fotogeradora, R_s e R_p suas resistências série e paralela, V e I a tensão e corrente de saída, respectivamente.

[33] A figura 11 mostra um fluxograma esquemático aplicado ao algoritmo de controle em linguagem C++, cujo código está aberto na Figura 5-B deste invento.

[34] Na Figura 12 temos representados espectrogramas de açúcares com características naturais que os distinguem no momento da qualificação proposta. São açúcares adquiridos no mercado nacional e internacional. O espectro de cor azul é distinguível dos demais espectros de absorção, uma vez que apresenta um sinal ADC específico em 468 nm (amostras diluídas em água 1:2).

[35] Na Figura 13, o esquema traz as interligações entre elementos de circuito. Basicamente é uma representação do percurso eletrônico dos valores de absorbância convertidos em tensão, os quais serão digitalizados pelo microcontrolador. É um layout eletrônico da unidade de detecção, onde cada componente é utilizado para diferentes fins: (U2) é o regulador de tensão de 5V, (J1) é o conector micro USB, (U3) é o conversor de USB para serial, (U1) é o microcontrolador, (PD1) é a fotocélula, (D5) é o emissor LED azul e (D1 a D4) representam indicadores de saída para açúcares a serem qualificados.

REFERÊNCIAS

[36] Parágrafo [02]

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 47, de 30 de agosto de 2018. Estabelecer o Regulamento Técnico*

do Açúcar, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto, na forma desta Instrução Normativa e dos Anexos I a IV. Diário Oficial da União, n. 185, 2018.

[37] Parágrafos [03], [04]

ABNT. Associação brasileira de normas técnicas. NBR ISO 22000:2018: *Sistema de gestão da segurança de alimentos – Requisitos para qualquer organização na cadeia produtiva de alimentos*, 2019.

MALAGUTTI, C. *Webinar: Food Fraud. DNV.GL – Treinamento*, 2017.

MARCOVIQ, L.; PINHEIRO, L.G.; MALAGUTTI, C. *Guia para mitigação de fraude em alimentos, Food Safety System Certification 22000, Versão 5*, 2019.

[38] Parágrafo [05]

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 47, de 30 de agosto de 2018. Estabelecer o Regulamento Técnico do Açúcar, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto, na forma desta Instrução Normativa e dos Anexos I a IV. Diário Oficial da União, n. 185, 2018.*

DORNEMANN, G. M. *Comparação de métodos para determinação de açúcares redutores e não-redutores*, 2016.

[39] Parágrafo [06]

ANDRADE, L. D. A. et al. *Açúcar mascavo adicionado de açúcar bruto de alta polarização (Very High Polarization-VHP): uma avaliação tecnológica visando o desenvolvimento rural da agroindústria familiar*, 2017.

BETTANI, S.R.; LAGO, C.E.; FARIA, D.A.M.; BORGES, M.T.M.R.; VERRUMA-BERNARDI, R. *Avaliação físico-química e sensorial de açúcares orgânicos e convencionais*. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 16, n. 2, pág. 155-162, 2014.

[40] Parágrafo [07]

AGUDELO, W.; MONTOYA, Y.; BUSTAMANTE, J. *Cytotoxic effect of gold and silver nanoparticles synthesized by chemical reduction method using sucrose on in vitro model of cardiomyocytes*. Global Medical Engineering Physics Exchanges/Pan American Health Care Exchanges (GMEPE/PAHCE). IEEE, 2018.

DORNEMANN, G. M. *Comparação de métodos para determinação de açúcares redutores e não-redutores*, 2016.

EL-RAFIE, M. H.; AHMED, H. B.; ZAHRAN, M. K. *Facile precursor for synthesis of silver nanoparticles using alkali treated maize starch*. International scholarly research notices, 2014.

HEMMATI, S.; RETZLAFF-ROBERTS, E.; SCOTT, C.; HARRIS, M.T. *Artificial Sweeteners and Sugar Ingredients as Reducing Agent for Green Synthesis of Silver Nanoparticles*. Journal of Nanomaterials, 2019.

WAN, YU et al. *Quasi-spherical silver nanoparticles: Aqueous synthesis and size control by the seed-mediated Lee-Meisel method*. Journal of colloid and interface science, v. 394, p. 263-268, 2013.

[41] Parágrafo [08]

AGUDELO, W.; MONTOYA, Y.; BUSTAMANTE, J. *Cytotoxic effect of gold and silver nanoparticles synthesized by chemical reduction method using sucrose on*

in vitro model of cardiomyocytes. Global Medical Engineering Physics Exchanges/Pan American Health Care Exchanges (GMEPE/PAHCE). IEEE, 2018.

AGUDELO, W.; MONTOYA, Y.; BUSTAMANTE, J. *Using a non-reducing sugar in the green synthesis of gold and silver nanoparticles by the chemical reduction method*. Dyna, v. 85, n. 206, p. 69-78, 2018.

AHMAD, A.; SENAPATI, S.; KHAN, M.I.; KUMAR, R.; SASTRY, M. *Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, Thermomonospora sp.* Langmuir, v.19, p. 3550–3553, 2003.

AHMAD, H.; RAJAGOPAL, K.; SHAH, A. H. *The Green route of Silver nanotechnology: Phytosynthesis and applications*. International Journal of Nano Dimension, v. 7, n. 2, p. 97-108, 2016.

BAR, H.; BHUI, D.K.; SAHOO, G.P.; SARKAR, P.; DE SANKAR, P.; MISRA, A. *Green synthesis of silver nanoparticles using latex of Jatropha curcas*. Colloids Surf. A, v. 339, p. 134-139, 2009.

DARROUDI, M. *et al.* *Green synthesis and characterization of gelatin-based and sugar-reduced silver nanoparticles*. International journal of nanomedicine, v. 6, p. 569, 2011.

FERREIRA, J. *et al.* *Ressonância de plasmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares*. Química nova, v. 39, n. 9, p. 1098-1111, 2016.

GERICKE, M.; PINCHES, A. *Biological synthesis of metal nanoparticles*. Hydrometallurgy, v.83, p. 132–140, 2006.

IRAVANI, S. *Green synthesis of metal nanoparticles using plants*. Green Chemistry, v.13, n. 10, p. 2638–2650, 2011.

JAIN, N.; BHARGAVA, A.; MAJUMDAR, S.; PANWAR, J. *Extracellular biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using Aspergillus flavus NJP08: A mechanism prospective*. Nanoscale, v. 3, 635–641, 2011.

KULKARNI, N.; MUDDAPUR, U. *Biosynthesis of metal nanoparticles: a review*. J Nanotechnol, p. 1-8, 2014.

MAYER, K.; HAFNER, J. *Localized surface plasmon resonance sensors*. Chemical reviews, v. 111, n. 6, p. 3828-3857, 2011.

MULFINGER, L.; SOLOMON, S.D.; BAHADORY, M.; JEYARAJASINGAM, A.V.; RUTKOWSKY, S.A.; BORITZ, C. *Synthesis and study of silver nanoparticles*. Journal of chemical education, v. 84, n. 2, p. 322, 2007.

ROH, Y.; LAUF, R.J.; MCMILLAN, A.D.; ZHANG, C.; RAWN, C.J.; BAI, J.; PHELPS, T.J. *Microbial synthesis and the characterization of metal-substituted magnetites*. Solid State Commun, v.118, p. 529–534, 2001.

SACHIN, M.M.; SHITAL, R.B.; INDARCHAND, R.G.; ANIKET, K.G.; MAHENDRA, K.R. *Green synthesis of silver nanoparticles using white sugar*. IET Nanobiotechnology, v. 7, n.1, 28-32, 2013.

SASTRY, M.; AHMAD, A.; KHAN, M.I.; KUMAR, R. *Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete*. Curr. Sci., v. 85, p. 162–170, 2003.

WAN, YU et al. *Quasi-spherical silver nanoparticles: Aqueous synthesis and size control by the seed-mediated Lee–Meisel method*. Journal of colloid and interface science, v. 394, p. 263-268, 2013.

[42] Parágrafo [09]

BROWN, G.M.; LEVY, H.A.; Acta Cryst. B29, p. 790-797, 1973 in VAN DER POEL, P.H.; SCHIWECK, H.; SCHWARTZ, T. *Sugar Technology: Beet and Cane Sugar Manufacture*, Berlin, p. 657, 1998.

MANTOVANI, G.; VACCARI, G. *Standpoint of cooling crystallization as a method of beet or cane sugar purification*. Association AVH - 6º Symposium - Reims, France, p. 36-43, 1999.

MANTOVANI, G.; VACCARI, G.; SGUALDINO, D.; AQUILANO, D.; RUBBO, M. *Investigation on Industrial Factors Decreasing Sugar Crystal Colour*. Zuckerind, v. 11, n. 7, p. 643-648, 1986.

[43] Parágrafo [10]

BETTANI, S.R.; LAGO, C.E.; FARIA, D.A. M.; BORGES, M.T.M.R.; VERRUMABERNARDI, R. *Avaliação físico-química e sensorial de açúcares orgânicos e convencionais*. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 16, n. 2, p.155-162, 2014.

KENNEDY, D. C. *et al. Carbohydrate functionalization of silver nanoparticles modulates cytotoxicity and cellular uptake*. Journal of nanobiotechnology, v. 12, n. 1, p. 59, 2014.

OHGAKI, R.; WEI, L.; YAMADA, K.; HARA, T.; KURIYAMA, C.; OKUDA, S.; ANAI, Y. *Interaction of the sodium/glucose cotransporter (SGLT) 2 inhibitor canagliflozin with SGLT1 and SGLT2: inhibition kinetics, sidedness of action, and transporter-associated incorporation accounting for its pharmacodynamics and pharmacokinetic features*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 358, n. 1, p. 94-102, 2016.

[44] Parágrafo [11]

KENNEDY, D. C. *et al.* *Carbohydrate functionalization of silver nanoparticles modulates cytotoxicity and cellular uptake*. Journal of nanobiotechnology, v. 12, n. 1, p. 59, 2014.

[45] Parágrafo [16]

BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R.; BRUNS, David, E.T. *Fundamentos de química clínica*, 6ª. ed., Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 959p, 2008.

PETER, M.C.; LAKOWICZ, J.R. *Langmuir Blodgett: An introduction*. Cambridge: University Press, 1996.

[46] Parágrafo [19]

HURTADO, R.B. *et al.* *Instant synthesis of gold nanoparticles at room temperature and SERS applications*. Physics Letters A, v. 380, n. 34, p. 2658-2663, 2016.

LIU, X. *et al.* *Extinction coefficient of gold nanoparticles with different sizes and different capping ligands*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 58, n. 1, p. 3-7, 2007.

NAVARRO, J. R.; WERTS, M.H. *Resonant light scattering spectroscopy of gold, silver and gold–silver alloy nanoparticles and optical detection in microfluidic channels*. Analyst, v. 138, n. 2, p. 583-592, 2013.

SACHIN, M.M.; SHITAL, R.B.; INDARCHAND, R.G.; ANIKET, K.G.; MAHENDRA, K.R. *Green synthesis of silver nanoparticles using white sugar*. IET Nanobiotechnology, v. 7, n.1, 28-32, 2013.

SILVA, A.F.S. *Caracterização e determinação de minerais em amostras de açúcares brasileiros*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2017.

[47] Parágrafo [20]

HECKTHEUER, L.A. *Análise de Associações de Módulos Fotovoltaicos*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2001.

US2008/006453 – Cosentino, Daniel L., Louis C. Cosentino, and Brian A. Golden. *Glucose meter system and monitor*. U.S. Patent Application No. 11/805,726, 2008.

[48] Parágrafo [21]

NALON, J.A. *Introdução ao processamento digital de sinais*. 1ª ed, Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 216p, 2009.

US2008/006453 – Cosentino, Daniel L., Louis C. Cosentino, and Brian A. Golden. *Glucose meter system and monitor*. U.S. Patent Application No. 11/805,726, 2008.

REIVINDICAÇÕES

[01] Fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado caracterizado por conter um diodo emissor do tipo LED azul, uma plataforma nanossensora baseada em redução química de nitrato de prata (AgNO_3) a NpAg por açúcar comercial não sulfitado, uma fotocélula de silício amorfo (A-Si) que atua como fotodetector e um microcontrolador que interpreta e converte o sinal analógico em sinal ADC.

[02] Fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado, de acordo com a reivindicação [01], caracterizado pelo fato de que o comprimento de onda e pico de emissão correspondente do diodo emissor do tipo LED azul é de 468 nm.

[03] Fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado, de acordo com a reivindicação [01], caracterizado pelo fato de funcionar por captura do sinal espectral do efeito plasmônico das NpAg em meio a suspensões de açúcar classe cristal bruto tipo demerara a 0,2 % (m/v) após sua hidrólise alcalina.

[04] Fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado, de acordo com a reivindicação [03], caracterizado pelo fato de estabelecer resposta optoeletrônica específica para reações de redução química entre açúcar classe cristal bruto e NpAg em sinais digitais na faixa de 500 a 700 ADC;

[05] Fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado, de acordo com a reivindicação [01], caracterizado pelo fato de que utiliza uma fotocélula de silício amorfo para fotodetectar e transduzir o sinal óptico - resultante da dispersão da luz que atravessa a plataforma nanossensora - em sinal de tensão elétrica de faixas 0,01V a 3,60V, 20µA a 25µA;

[06] Fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado, de acordo com a reivindicação [01], caracterizado pelo fato do microcontrolador possuir algoritmo decisório específico implementado em linguagem C++, que somado a isso, pulsa o LED emissor de luz a cada 10 ms, o que corresponde a 100 Hz.

FIGURAS

Figura 1

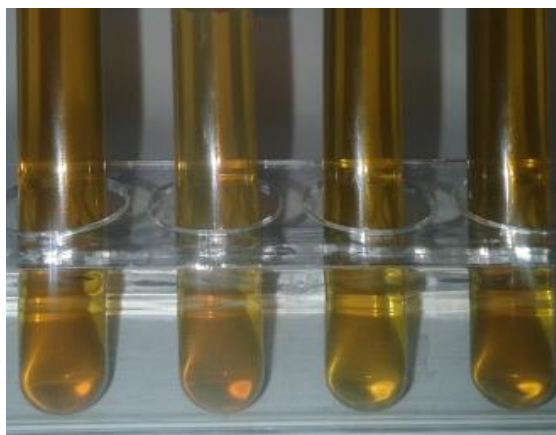


Figura 2

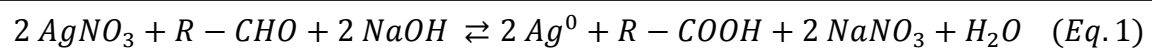


Figura 3

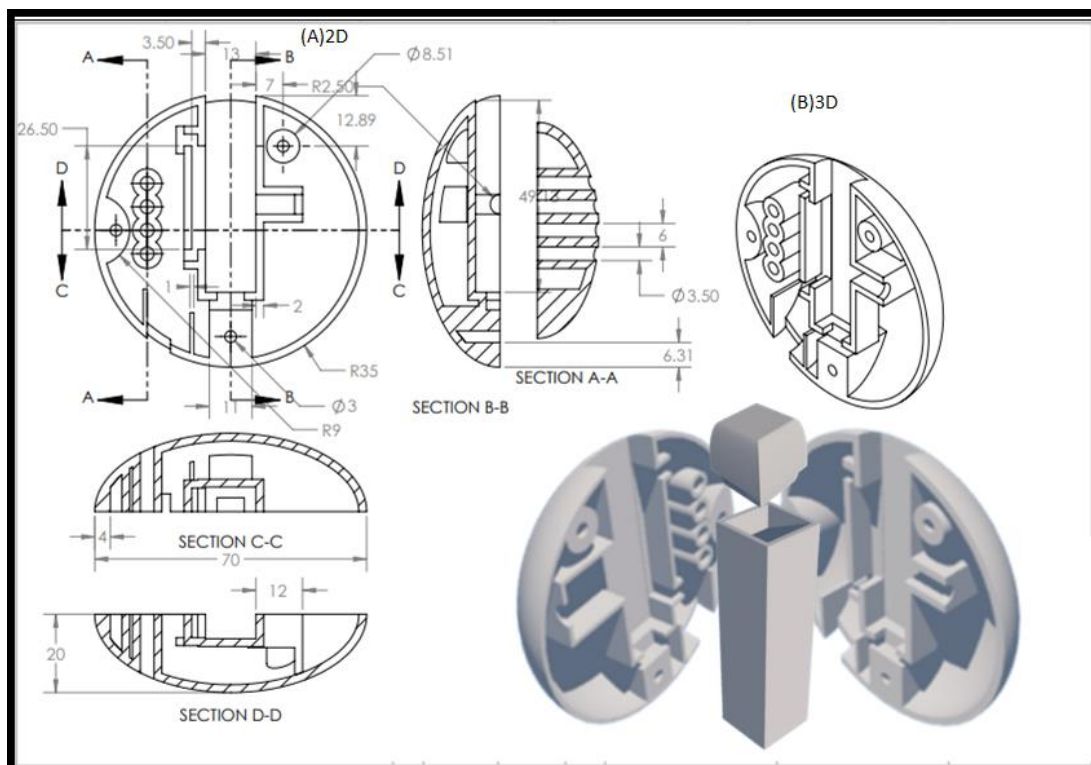


Figura 4-A

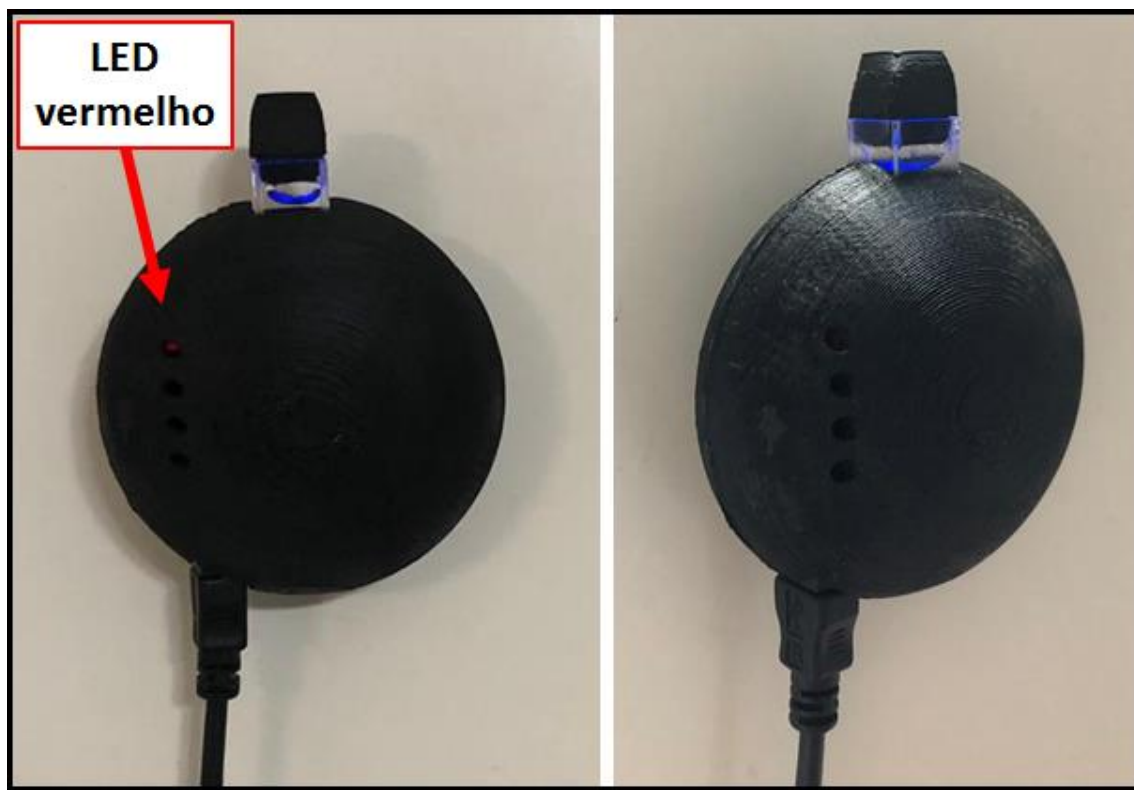


Figura 4-B

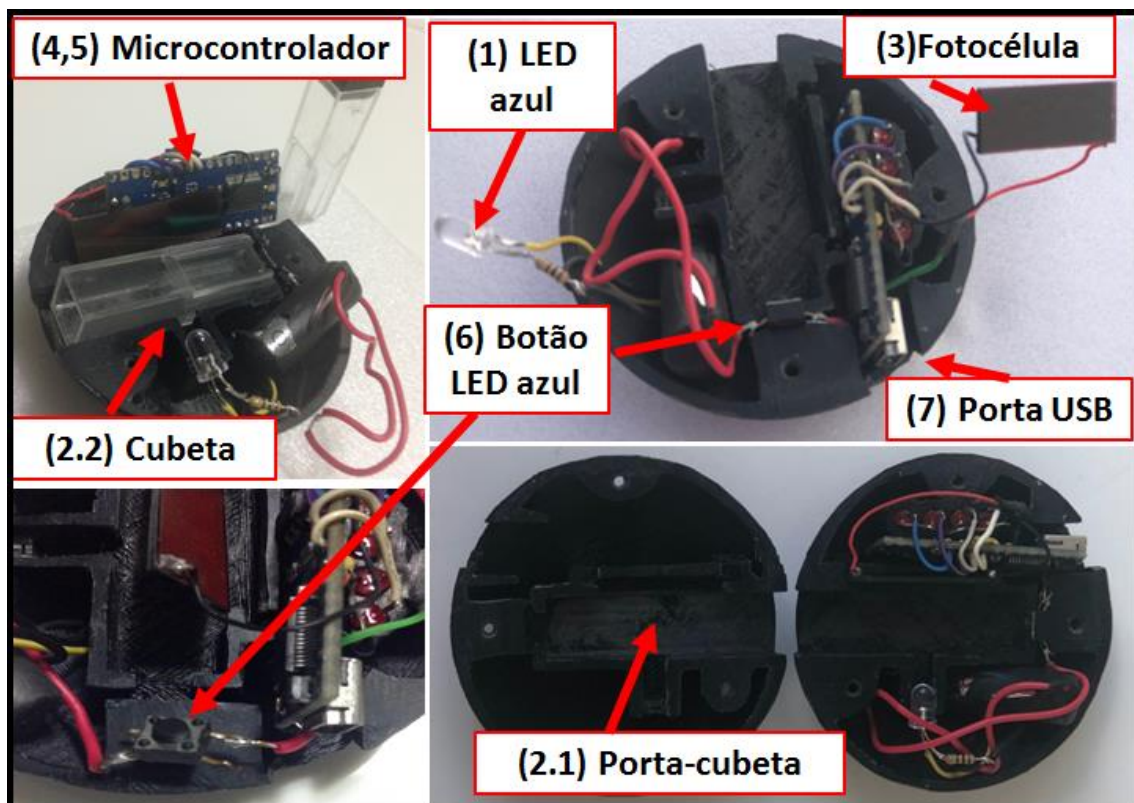


Figura 5-A

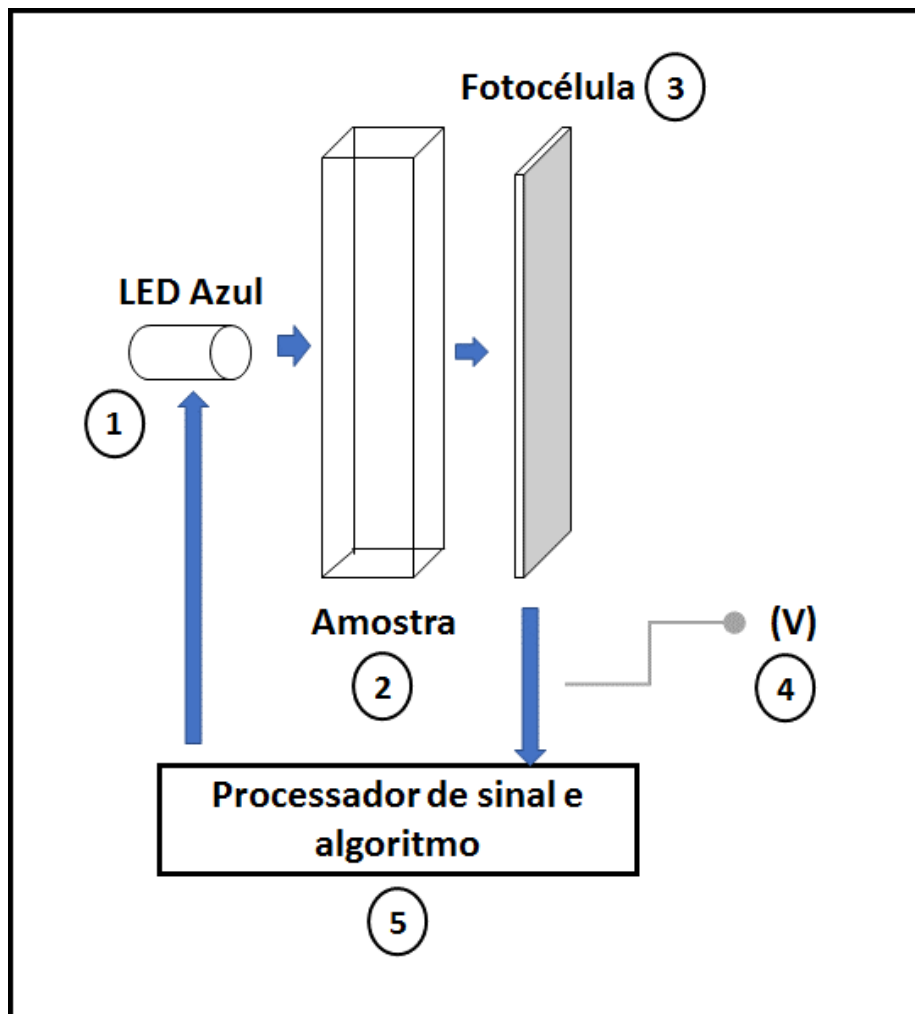


Figura 5-B

6

```

1#define LED1
2#define LED2
3#define led3
4#define LED azul
5#define PHOTOCELL A0
#define FILTER_SIZE 100
#define DEMERARA 800
#define DIFERENTE1 500

#define DIFERENTE2 400

unsigned long accumulated;
unsigned int filter_vector[FILTER_SIZE];
void setup()
{ // put your setup code here, to run once:
  pinMode(2,OUTPUT);
  // led 1 pinMode(3,OUTPUT);
  // led 2 pinMode(5,OUTPUT);
  // led 3 pinMode(4,OUTPUT);
  // led 4 pinMode(6,OUTPUT);
  // LASER
  //A0 PhotoCell Serial.begin(9600);}
void ligaLed(int led)
{ int i; for(i=2;i<=5;i++) digitalWrite(i,LOW);
  if(led==0) return; digitalWrite(led,HIGH);}
unsigned int filter(unsigned int input)
{ static int i=0; filter_vector[i] = input;
  accumulated += input;
  if(i<=(FILTER_SIZE-1)) accumulated -= filter_vector[i+1];
  else accumulated -= filter_vector[0];
  i++;
  if(i>(FILTER_SIZE-1))i=0;
  return (float)accumulated/FILTER_SIZE;}
void loop()
{ /* digitalWrite(LED1,HIGH);
  digitalWrite(LEDazul,HIGH);
  int absorb = 1024-analogRead(PHOTOCELL);
  if(absorb < DEMERARA+100 && absorb > DEMERARA-100){ digitalWrite(LED2,HIGH); }
  while(true);
  */ int zero = analogRead(PHOTOCELL);
  // Serial.print("LEDazul Desligado: ");
  // Serial.println(analogRead(PHOTOCELL)/zero*100);
  digitalWrite(LEDazul,HIGH);
  delay(10);
  if(filter(analogRead(PHOTOCELL))>600) ligaLed(LED1);
  else if(filter(analogRead(PHOTOCELL))<550) ligaLed(LED3);
  else ligaLed(LED2);
  if(filter(analogRead(PHOTOCELL))>640) ligaLed(0);
  Serial.print("LEDazul Ligado: ");
  Serial.println(filter(analogRead(PHOTOCELL))/zero*100);
  // Serial.print(" Percentual: ");
  // Serial.print((float)analogRead(PHOTOCELL)/zero*100);
  // Serial.print(" Zero: "); // Serial.println(zero);
  digitalWrite(LEDazul,LOW); delay(10); }

```

Figura 6

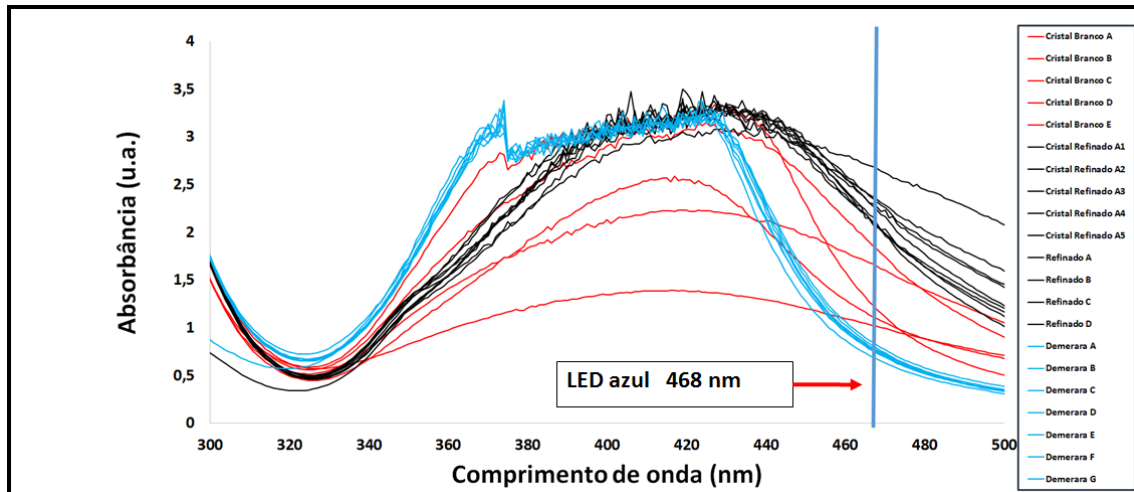


Figura 7-A

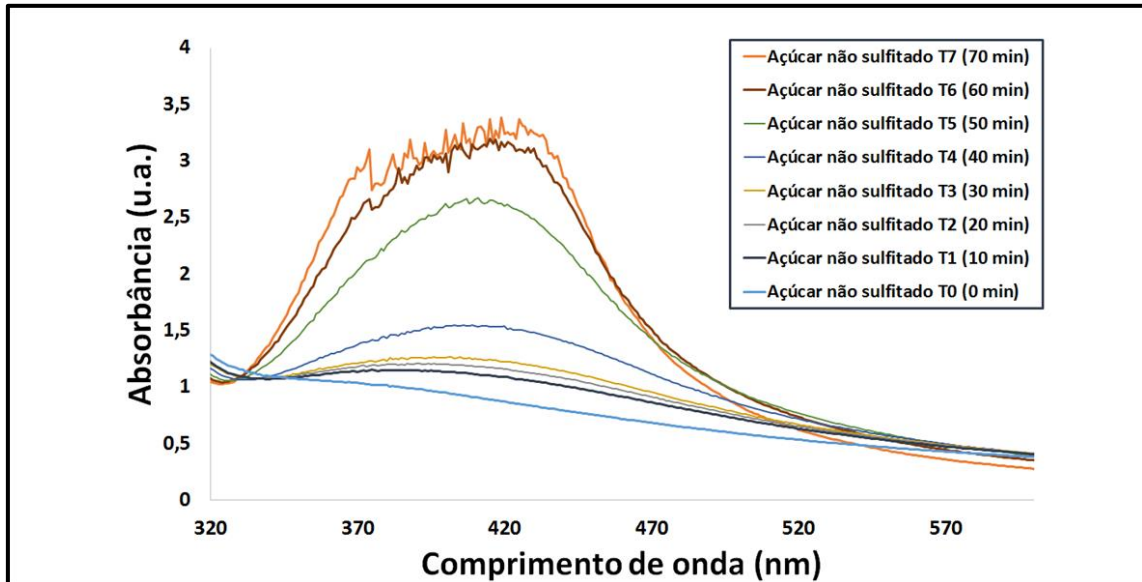


Figura 7-B

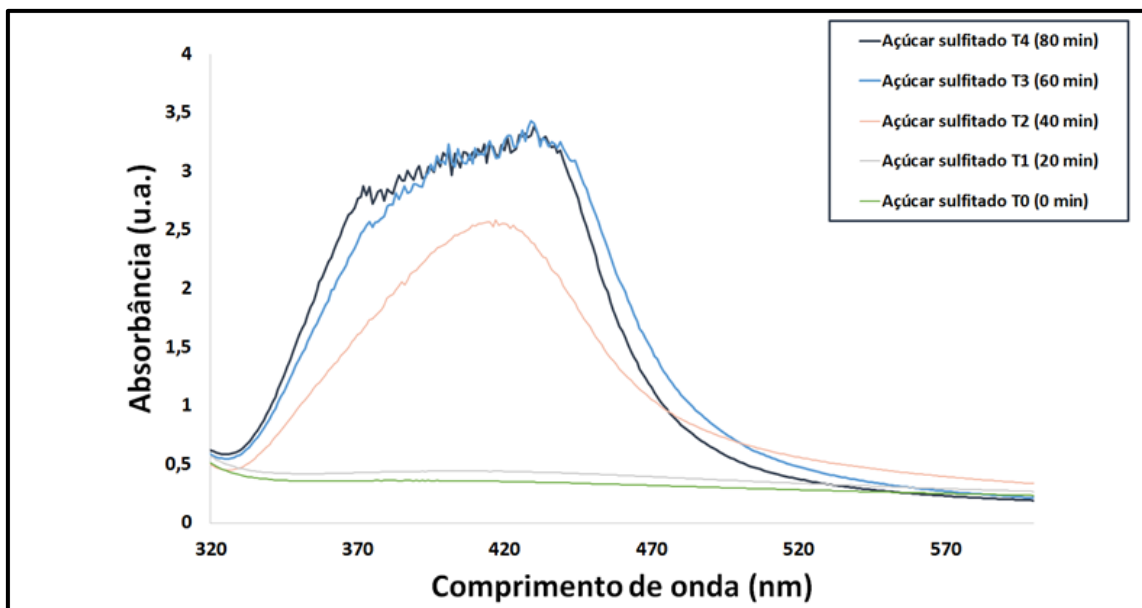


Figura 8 (detalhe, nos seus itens de 1 a 8)

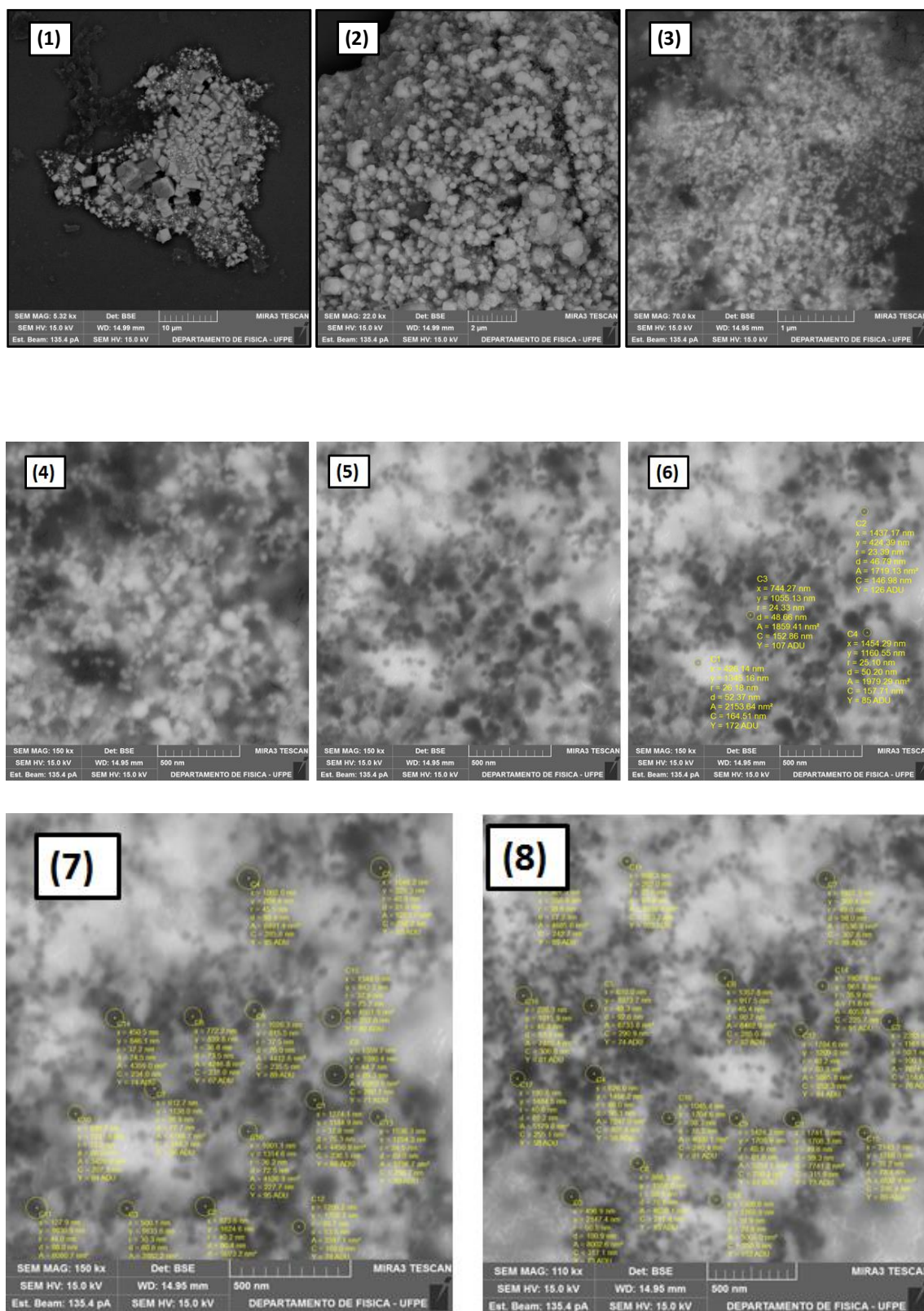


Figura 8 (detalhe, nos seus itens 9, 10-A, 10-B)

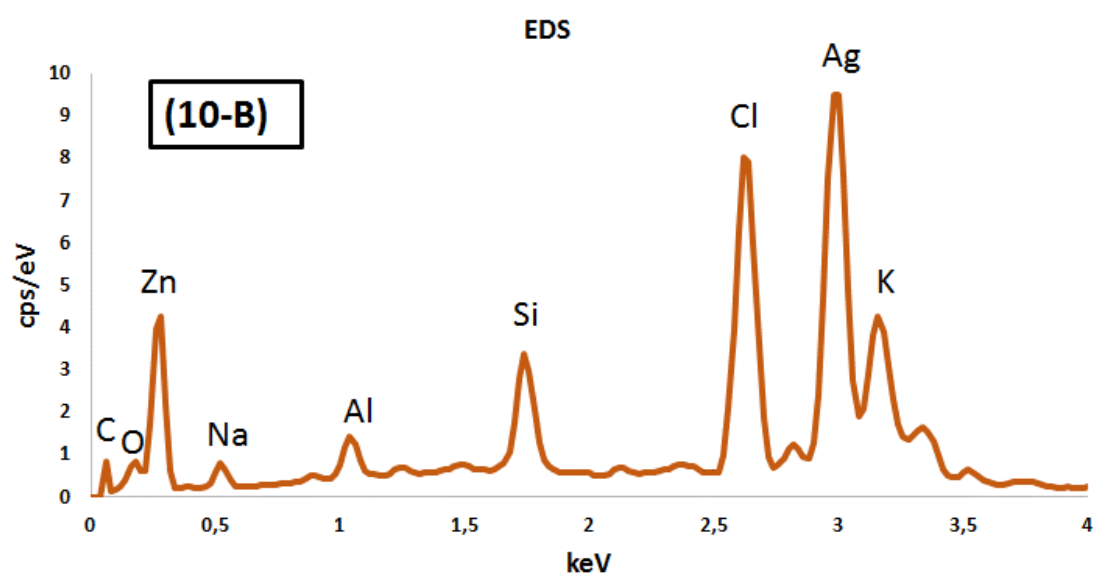
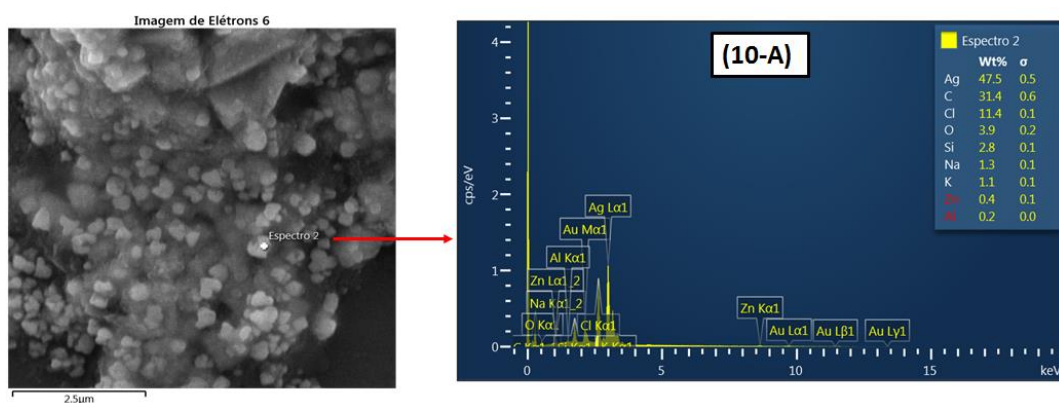
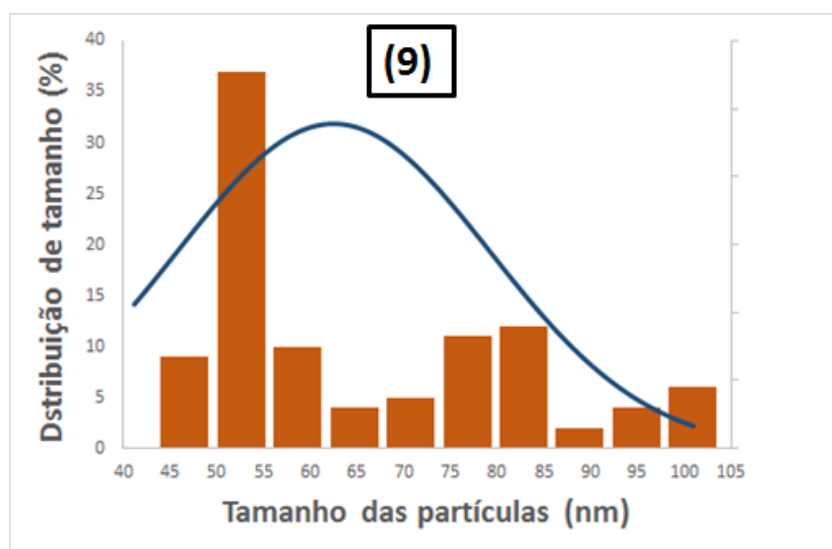


Figura 9

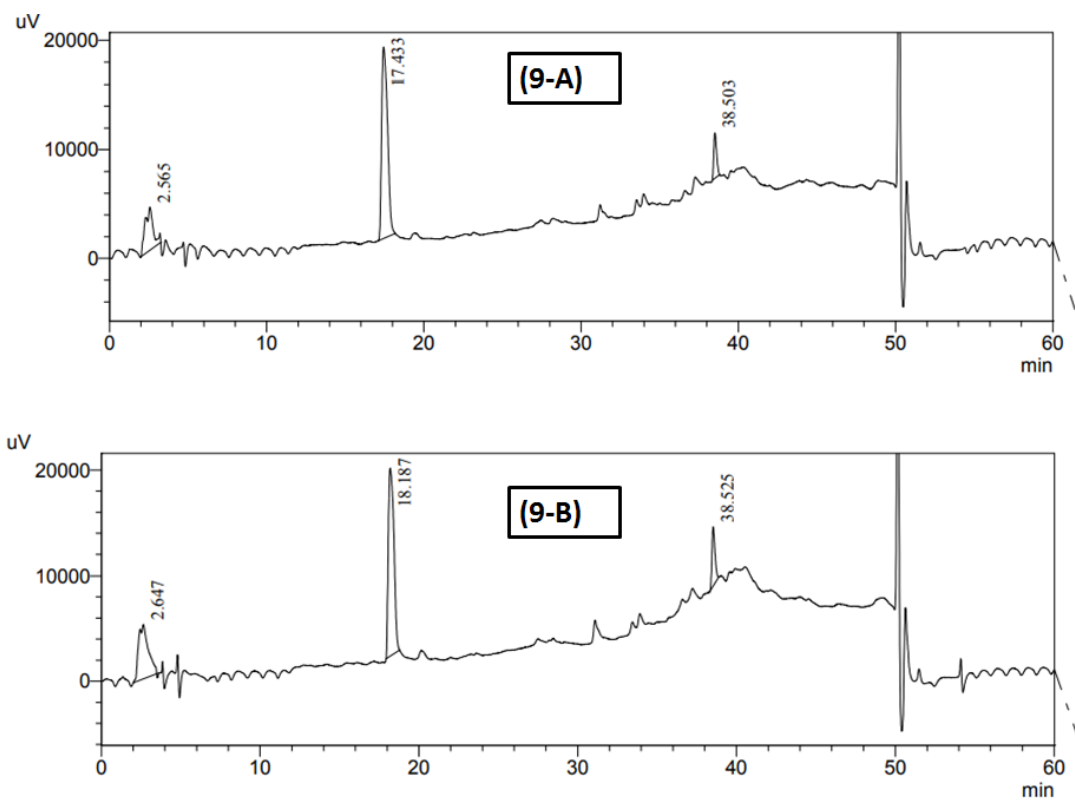


Figura 10

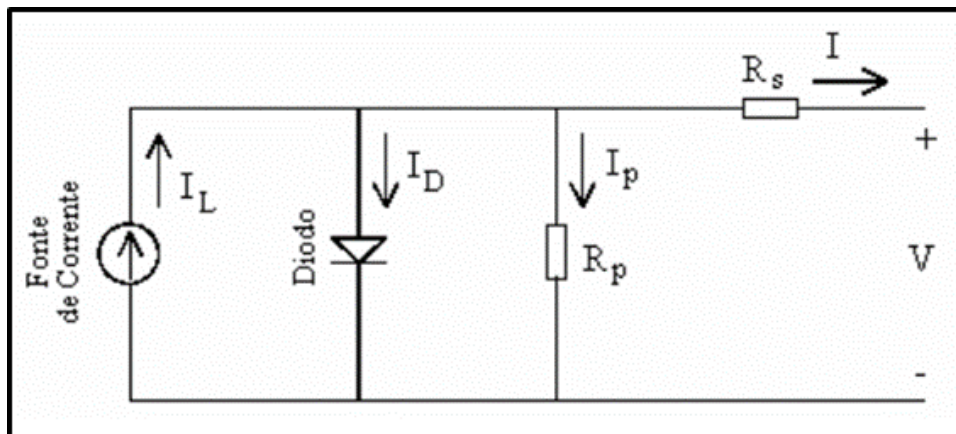


Figura 11

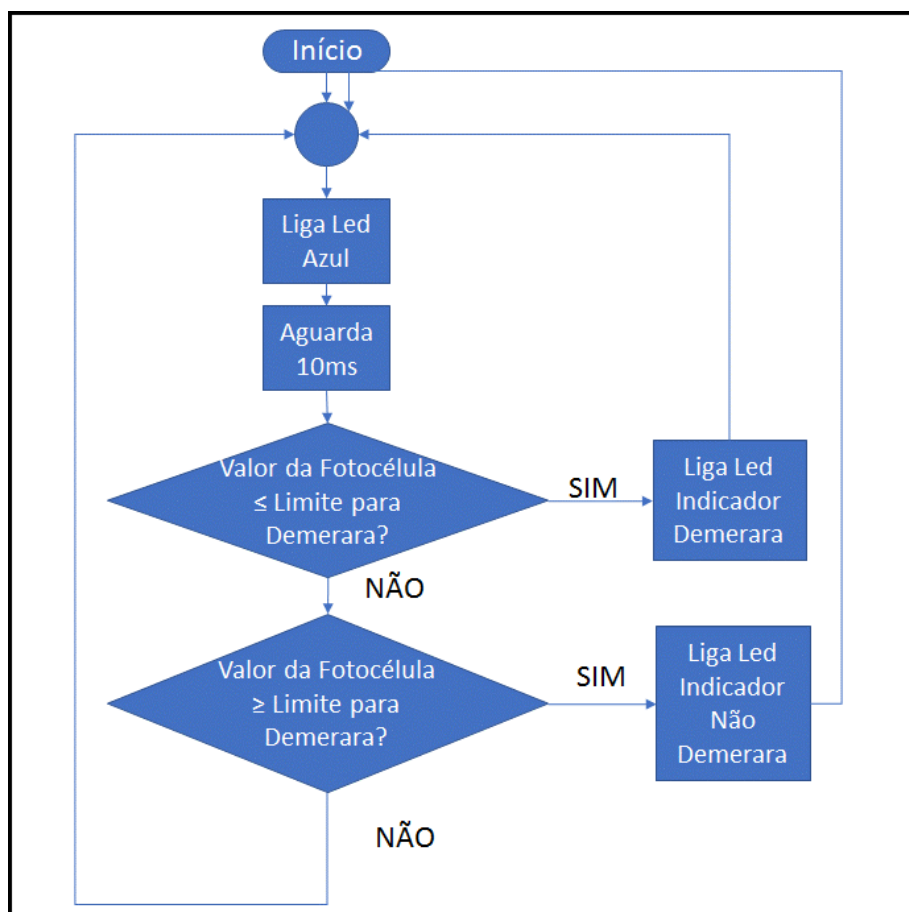


Figura 12

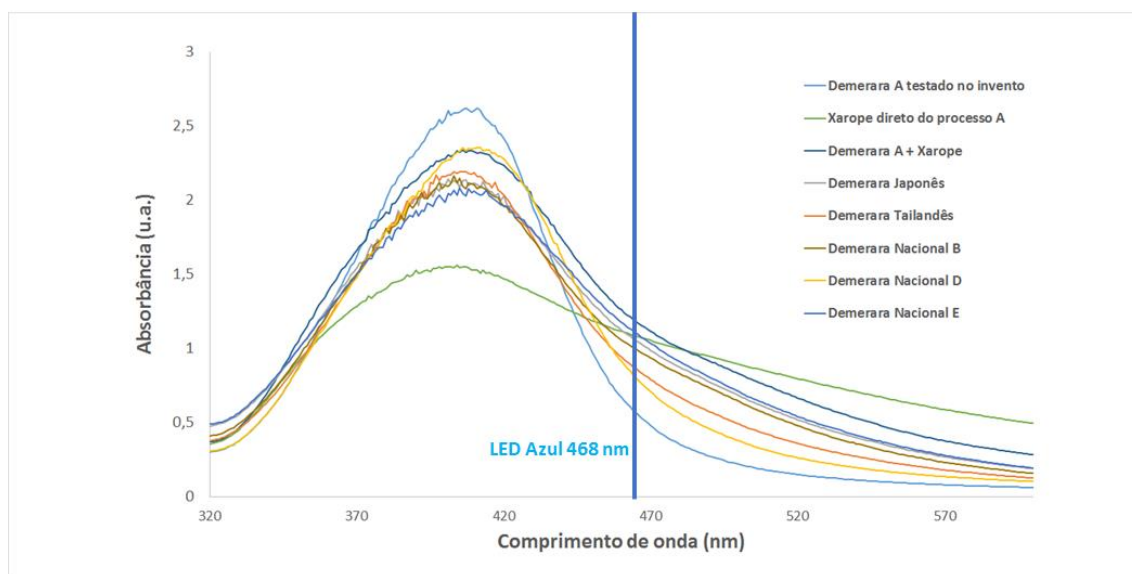
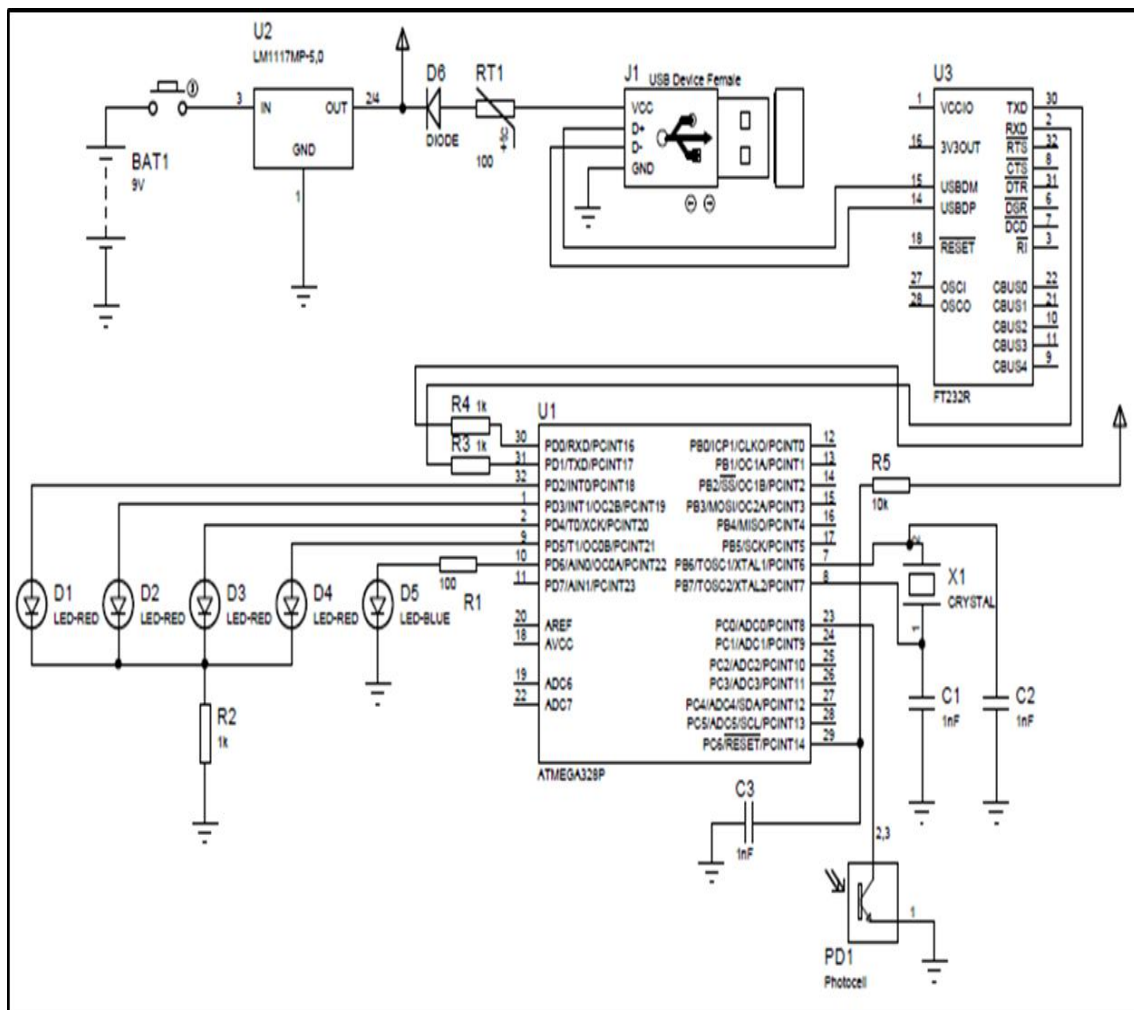


Figura 13



**FOTÔMETRO PORTÁTIL ASSOCIADO À RESSONÂNCIA LOCALIZADA DE
PLASMON DE SUPERFÍCIE (LSPR) DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA
APLICADO NA QUALIFICAÇÃO DE AÇÚCAR CRISTAL NÃO SULFITADO**

Apresento patente de invenção do fotômetro portátil associado à ressonância localizada de plasmon de superfície (LSPR) de nanopartículas de prata (NpAg), aplicado na qualificação de açúcar cristal não sulfitado, é um dispositivo que utiliza um sistema optoeletrônico composto por diodo emissor de 468 nm, câmara porta-cubeta, fotocélula de silício amorfo e microcontrolador que interpreta o sinal elétrico digital (ADC) a partir da plataforma sensora. Nesta plataforma, o hidróxido de sódio é posto a reagir com nitrato de prata e solução de açúcar e assim os monossacarídeos, produtos de clivagem da ligação glicosídica da molécula de sacarose, reduzem quimicamente o Ag^+ a Ag^0 . As NpAg resultantes desta síntese funcionam como nanossensores que geram sinais de absorbância possíveis de serem medidos e convertidos a ADC, sem precedentes para esta aplicação enquanto sistema classificador de açúcar cristal comercial não sulfitado.