



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAULO ROBERTO DE OLIVEIRA

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO  
MODIFICADOS COM BIOCHAR PARA DESENVOLVIMENTO DE SENSORES  
ELETROQUÍMICOS

CURITIBA  
2016

PAULO ROBERTO DE OLIVEIRA

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO  
MODIFICADOS COM BIOCHAR PARA DESENVOLVIMENTO DE SENSORES  
ELETROQUÍMICOS

Tese apresentada como requisito à obtenção do grau de Doutor em Química Analítica, pelo Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Márcio F. Bergamini  
Coorientador: Prof. Dr. Luiz H. Marcolino Jr.

CURITIBA  
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR  
BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

---

OL48c      Oliveira, Paulo Roberto de  
              Construção e avaliação de eletrodos de pasta de carbono modificados com biochar para desenvolvimento  
              de sensores eletroquímicos / Paulo Roberto de Oliveira. – Curitiba, 2016.  
              198 p. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em  
Química, 2016.

Orientador: Márcio F. Bergamini.  
Coorientador: Luiz H. Marcolino Jr.

1. Biochar. 2. Eletrodo de pasta de carbono. 3. Cobre (II). 4. Zinco (II). 5. Metil paration.  
I. Universidade Federal do Paraná. II. Bergamini, Márcio F. III. Marcolino Jr, Luiz H. IV. Título.

CDD: 541.37

---

Bibliotecária: Romilda Santos - CRB-9/1214

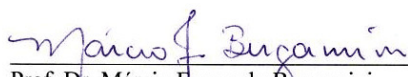
TERMO DE APROVAÇÃO

**CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE  
CARBONO MODIFICADOS COM BIOCHAR PARA  
DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS**

por

PAULO ROBERTO DE OLIVEIRA

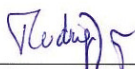
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini  
Orientador  
Dep. de Química – UFPR



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Christiana Andrade Pessoa  
Dep. de Química - UEPG



Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz  
Instituto de Química - UFU



Prof. Dr. Marcio Eduardo Vidotti Miyata  
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi  
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 28 de abril de 2016.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pois sem ele nada seria possível.

Aos meus orientadores, Professores Márcio e Luiz por toda a orientação durante todo o período que passei com eles. Tanto pela dedicação, atenção e ensinamentos, mas também por toda amizade e companheirismo.

A todos os alunos e amigos da Universidade Federal do Paraná que contribuíram diretamente, ou indiretamente na construção deste trabalho e também pela amizade. A todos os amigos do LabSensE, presentes ainda ou não. Que me acompanharam durante todo tempo que passei no laboratório. Que me ajudaram não só no desenvolvimento do meu trabalho, mas em todos os momentos, bons ou ruins. Fico imensamente grato por tudo. Vou sentir muita falta de toda esta vivência.

Aos meus mais que amigos, irmãos de coração, André, Rogério, Renan, Marivan, Marinho, Lu, Robson, Ronaldo, Cleverson, Brunão, e a todos que não lembrei no momento, e peço desculpas por isto. Agradeço muito por vocês participarem da minha vida, mesmo longe. Valeu!

À CAPES pela bolsa concedida.

E por fim, quero agradecer a Cris, minha amiga, parceira, namorada, por tudo. Por me aguentar e me ajudar a ser uma pessoa melhor. Por me fazer se sentir feliz mesmo em momentos muito difíceis. No desenvolvimento deste trabalho. Mas sobre tudo, por me fazer a pessoa mais feliz do mundo. Te amo. E a toda minha família, em especial minha mãe, meu pai e meus irmãos João, Juninho e Pedro, sem eles não chegaria tão longe e não seria a pessoa que sou hoje. Por todos os ensinamentos e educação o amor integral que me deram, por serem as pessoas mais especiais da minha vida juntamente com meus pais, por todos os anos que passamos juntos, seja felizes ou tristes, por todo apoio e respeito, por serem meus melhores amigos e estarem sempre ao meu lado. Amo muito todos vocês e sinto demais a falta de vocês.

## RESUMO

O biochar é um material carbonáceo que apresenta superfície rica em grupamentos funcionais o que o torna uma alternativa bastante atraente para sua utilização como modificador de eletrodos, principalmente do ponto de vista da pré-concentração de espécies de interesse. Neste aspecto, o presente trabalho descreve diferentes metodologias utilizando o biochar, primeiramente para determinação de íons cobre (II) e metil paration, explorando sua capacidade de pré-concentrar estas espécies. Além de utilizar o biochar como uma matriz para a incorporação de espécies eletroativas, como mercúrio e hexacianoferrato de cobre, para a determinação de íons zinco (II) e isoniazida, respectivamente. Para a determinação de íons cobre (II) o eletrodo modificado com biochar apresentou desempenho muito superior ao eletrodo não modificado, com faixa linear de  $1,5 \times 10^{-6}$  a  $3,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e limite de detecção de  $4,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. O eletrodo foi empregado com sucesso para a determinação de íons cobre (II) em amostras de bebidas alcoólicas, apresentando resultados concordantes aos obtidos para o método comparativo (ICP OES), em um nível de confiança de 95 %. Para a determinação de metil paration, o eletrodo modificado com biochar também apresentou melhor capacidade de pré-concentração quando comparado ao eletrodo não modificado e modificado com carvão ativado. A metodologia para tal determinação apresentou faixa linear de  $1,0 \times 10^{-6}$  a  $7,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e limite de detecção de  $5,5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. A aplicação do método para a determinação de metil paration em amostras enriquecidas apresentou bom desempenho em diferentes níveis de concentração, com percentuais de recuperação entre 102 a 110 %. O biochar também serviu como uma matriz para a incorporação de nanoestruturas de mercúrio, o que permitiu a determinação de íons zinco (II) em amostras farmacêuticas, com faixa linear de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $3,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e limite de detecção de  $1,7 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Além disso, o método apresentou boa concordância em comparação aos resultados obtidos por ICP OES, em um nível de confiança de 95 %. Por fim, o eletrodo modificado com biochar apresentou potencialidade no ancoramento de nanoestruturas de hexacianoferrato de cobre. O eletrodo contendo estas nanoestruturas apresentou elevada eficiência na determinação de isoniazida, obtendo faixa linear de  $1,0 \times 10^{-6}$  a  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, com limite de detecção de  $5,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. A determinação em amostras simuladas, utilizando o eletrodo proposto, atingiu níveis de recuperação considerados satisfatórios, que variaram de 97,9 a 99,4 %. Desta maneira, em virtude das propriedades adsorptivas e da capacidade de interação do biochar, a utilização do carbonáceo como modificador de eletrodos se mostrou bastante viável, de acordo com as finalidades propostas, sendo possível a sua aplicação para diferentes estratégias de determinação eletroanalítica.

Palavras-chave: biochar, eletrodo de pasta de carbono, cobre (II), zinco (II), metil paration, isoniazida.

## ABSTRACT

Biochar is a carbonaceous material with a rich surface of functional groups, that becomes an attractive alternative for its use as modifier electrodes, especially from the point of view of preconcentration of species of interest. In this way, the present work describes different methodologies using biochar, firstly for determination of copper (II) ions and methyl parathion, exploring its preconcentration capacity as well as its use as a matrix for incorporation of electroactive species, such as mercury and copper hexacyanoferrate for determination of zinc (II) ions and isoniazid, respectively. For determination of copper (II) ions, biochar modified electrode showed higher performance than the unmodified electrode, with LDR from  $1.5 \times 10^{-6}$  to  $3.0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> and a detection limit of  $4.0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. The electrode was successfully applied for determination of copper (II) ions in spirit drinks samples, with consistent results in comparison those obtained for the comparative method (ICP OES), at a confidence level of 95 %. For determination of methyl parathion, the electrode modified with biochar also showed better ability to preconcentration compared to the unmodified electrode and modified with activated carbon. The methodology for this determination presented a LDR from  $1.0 \times 10^{-6}$  to  $7.0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> and a detection limit of  $5.5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. The application of the method for methyl parathion determination in spiked water samples showed good performance at different levels of concentration, with recovery percentages from 102 to 110 %. Biochar showed also high preconcentration capacity of mercury ions, promoting the formation of mercury nanostructures, allowing the determination of zinc (II) ions in pharmaceutical samples, with LDR from  $5.0 \times 10^{-7}$  to  $3.0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> and detection limit of  $1.7 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Furthermore, the method presented good agreement compared to results obtained by ICP OES, at a confidence level of 95 %. Finally, the modified electrode showed capacity in anchoring copper hexacyanoferrate nanostructures. The electrode containing these nanostructures showed high efficiency in the determination of isoniazid, with LDR from  $1.0 \times 10^{-6}$  to  $1.0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> and detection limit of  $5.0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. The determination in spiked samples using the proposed electrode reached satisfactory recovery levels, that ranged from 97.9 to 99.4 %. Thus, because of the adsorptive properties and the interaction capacity of biochar, the use of carbonaceous electrodes as modifier proved viable, according to the proposed aims, as it could be applied for different strategies of electroanalytical determination.

Keywords: biochar, carbon paste electrode, copper (II), zinc (II), methyl parathion, isoniazid.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – VARIAÇÃO DA ESTRUTURA DO BIOCHAR COM O AUMENTO DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE.....	35
FIGURA 2 – POSSÍVEIS INTERAÇÕES DE ESPÉCIES COM A SUPERFÍCIE DO BIOCHAR.....	36
FIGURA 3 – ESTRUTURA MOLECULAR DO METIL PARATION (O,O-DIETIL-O-4-NITRO-FENILTIOFOSFATO).....	41
FIGURA 4 – ESTRUTURA MOLECULAR DA ISONIAZIDA.....	45
FIGURA 5 – ETAPAS DE SÍNTESE DE BIOCHAR, OBTIDO A PARTIR DE BIOMASSA DE FARELO DE MAMONA.....	54
FIGURA 6 – ILUSTRAÇÃO REPRESENTATIVA DO PROCESSO DE CONSTRUÇÃO DO EPCM.....	55
FIGURA 7 – IMAGEM ILUSTRATIVA DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) COM O EPCM.....	56
FIGURA 8 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM ANTES (A) E APÓS A ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM SOLUÇÃO CONTENDO $1,0 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> DE ÍONS COBRE (II) PARA: EPC (B), EPC-CA (C) E EPCM (D).....	64
FIGURA 9 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O COBRE (II) PELA REDISSOLUÇÃO ANÓDICA (—) E PELA REDUÇÃO DIRETA (—).....	65
FIGURA 10 – ESPECTROS DE FTIR OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS DE GRAFITE, CARVÃO ATIVADO (CA) E BIOCHAR. CONDIÇÕES DE MEDIDAS: 64 VARREDURAS (SCANS) NA REGIÃO DE 4.000 A 400 cm <sup>-1</sup> .....	67



FIGURA 11 – MAPEAMENTO QUÍMICO OBTIDO DE MEDIDAS DE EDS REFERENTES À IMAGEM DE MEV DA PASTA DE CARBONO MODIFICADA COM BIOCHAR NA PRESENÇA DE ÍONS COBRE (II) (A), PARA OS ELEMENTOS: CARBONO (B), OXIGÊNIO (C) E COBRE (D).....	70
FIGURA 12 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA MEDIDAS SUCESSIVAS, APÓS PRÉ-CONCENTRAÇÃO COM $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DE COBRE (II) (A). CORRENTES DE PICO ANÓDICO OBTIDAS EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE MEDIDAS DAS RESPECTIVAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (B) .....	71
FIGURA 13 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS ANTES E APÓS A PRÉ-CONCENTRAÇÃO DO EPCM COM ÍONS COBRE (II), E APÓS A ETAPA DE LIMPEZA: EM SOLUÇÃO DE $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (A); E PELA RENOVAÇÃO DA SUPERFÍCIE ELETRÓDICA (B) .....	72
FIGURA 14 – COMPARAÇÕES ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO ANÓDICO OBTIDAS COM O EPCM PARA 5 MEDIDAS DE UMA MESMA SUPERFÍCIE ELETRÓDICA (A) E DE DIFERENTES SUPERFÍCIES ELETRÓDICAS (B). .....	74
FIGURA 15 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS COM EPCM CONTENDO DIFERENTES COMPOSIÇÕES DE BIOCHAR NA PASTA DE CARBONO. NO DETALHE: CORRELAÇÃO ENTRE AS CORRENTES DE PICO OBTIDAS EM FUNÇÃO DA QUANTIDADE DE BIOCHAR.....	75
FIGURA 16 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS COM EPCM PARA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DE ÍONS COBRE (II) EM SOLUÇÕES COM VALORES DE pH AJUSTADOS DE 3,0 A 10. NO DETALHE: CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO EM FUNÇÃO DOS VALORES DE pH.....	77
FIGURA 17 – DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE COBRE EM SOLUÇÃO AMONÍACAL EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO DO pH .....	78

FIGURA 18 – CORRELAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO E O TEMPO DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM CONCENTRAÇÕES DE $1,0 \times 10^{-6}$ E $1,0 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> DE ÍONS COBRE (II).....	80
FIGURA 19 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE E O POTENCIAL DE REDUÇÃO PARA O EPCM, EM $1,0 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> DE ÍONS COBRE (II) .....	81
FIGURA 20 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE E A AMPLITUDES DE PULSO PARA O EPCM .....	82
FIGURA 21 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CALIBRAÇÃO (B) PARA O EPCM NA FAIXA DE $1,0 \times 10^{-6}$ A $1,0 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> DE ÍONS COBRE (II) .....	85
FIGURA 22 – COMPARAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO RELATIVA DAS MEDIDAS DE DETERMINAÇÃO DE COBRE (II) EM CONCENTRAÇÃO DE $5,0$ mg L <sup>-1</sup> , NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE ÍONS ZINCO (II), FERRO (II), CHUMBO (II) E ARSÊNIO (II).....	87
FIGURA 23 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL PARA MEDIDAS DE ADIÇÃO DE PADRÃO E CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO (INSERIDA) OBTIDA PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) EM AMOSTRA COMERCIAL DE CACHAÇA.....	88
FIGURA 24 – IMAGEM ILUSTRATIVA DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE MP COM O EPCM .....	93
FIGURA 25 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA O EPC MODIFICADO COM 25 % (M/M) DE BIOCHAR EM TAMPÃO ACETATO pH 5,0 NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE $1,0 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> DE MP. VELOCIDADE DE VARREDURA DE $50$ mV s <sup>-1</sup> .....	99

FIGURA 26 – REAÇÃO DE REDUÇÃO R2 DO GRUPO NITROFENIL COM GERAÇÃO DO GRUPO HIDROXILAMINA.....	100
FIGURA 27 – REAÇÃO DE OXIDAÇÃO O1 DA HIDROXILAMINA GERANDO O GRUPO NITRO, E REAÇÃO REVERSA DE REDUÇÃO R1 .....	101
FIGURA 28 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS EM ACETATO DE SÓDIO 0,10 mol L <sup>-1</sup> COM pH AJUSTADO EM 5,0 CONTENDO 1,0 x 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> DE MP PARA O EPC NÃO MODIFICADO, EPC MODIFICADO COM CARVÃO ATIVADO (EPC-CA) E EPC MODIFICADO COM BIOCHAR (EPCM). NO DETALHE: VARIAÇÃO DA CORRENTE DE PICO CATÓDICO PARA CADA ELETRODO .....	102
FIGURA 29 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM NA AUSÊNCIA (BRANCO) E NA PRESENÇA DE 1,0 x 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> DE MP, E APÓS A MEDIDA SEM TRATAMENTO DE LIMPEZA.....	104
FIGURA 30 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM EM MEDIDAS SUCESSIVAS COM A MESMA SUPERFÍCIE (A) E COM DIFERENTES SUPERFÍCIES (C). COMPARAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO CATÓDICO PARA DIFERENTES MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (N = 5) EMPREGANDO A MESMA SUPERFÍCIE (B) E COM SUPERFÍCIES DIFERENTES (D).....	106
FIGURA 31 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) ENTRE OS VALORES DE INTENSIDADE DE CORRENTE ( <i>I<sub>pc</sub></i> ) EM FUNÇÃO DOS VALORES DE PORCENTAGEM DE BIOCHAR NA PASTA DE CARBONO DE 0 A 50 % (M/M).....	108
FIGURA 32 – CURVAS DE CORRELAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO E DIFERENTES TEMPOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE MP, EM CONCENTRAÇÕES DE 1,0 x 10 <sup>-6</sup> , 5,0 x 10 <sup>-5</sup> E 1,0 x 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> .....	111
FIGURA 33 – CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE INTENSIDADE DE CORRENTE EM FUNÇÃO DE DIFERENTES MEIOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO	

E DE ELETRÓLITO SUPORTE. PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP .....	112
FIGURA 34 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) OBTIDOS COM O EPCM APÓS PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP, UTILIZANDO DIFERENTES VALORES DE AMPLITUDE DE PULSO .....	114
FIGURA 35 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS COM O EPCM APÓS PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP UTILIZANDO DIFERENTES TEMPOS DE DURAÇÃO DE PULSO (A). CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE E OS RESPECTIVOS TEMPOS DE PULSO E O POTENCIAL DE PICO (B) .....	115
FIGURA 36 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) OBTIDOS EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MP .....	116
FIGURA 37 – CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO DA AMOSTRA DE ÁGUA DE TORNEIRA ENRIQUECIDA COM $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP. EM DETALHE: CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO E A CONCENTRAÇÃO DE MP	120
FIGURA 38 – IMAGEM ILUSTRATIVA DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II) COM O EPCM-Hg .....	125
FIGURA 39 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS EM TAMPÃO ACETATO pH 5,0 PARA: (A) EPC NÃO MODIFICADO NA AUSÊNCIA DE ÍONS ZINCO (II); (B) EPC NÃO MODIFICADO NA PRESENÇA DE ÍONS ZINCO (II) (C) EPCM ANTES DA ETAPA DE PRÉ CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO NA AUSÊNCIA DE ÍONS ZINCO (II); (D) EPCM ANTES DA ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO NA PRESENÇA DE ÍONS ZINCO (II); (E) E (F) EPCM-Hg APÓS A ETAPA DE PRÉ CONCENTRAÇÃO NA PRESENÇA ÍONS DE ZINCO (II).....	133

FIGURA 40 – IMAGENS DE MEV REPRESENTATIVAS DA SUPERFÍCIE DO EPCM (A) NA AUSÊNCIA DA ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS MERCÚRIO (II) E (B) NA PRESENÇA DA ETAPA DE INCORPORAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE MERCÚRIO .....	135
FIGURA 41 – (A) IMAGENS REPRESENTATIVAS DE MEV DO EPCM-HG COM AUMENTO DE 30.000 VEZES, (B) ESPECTRO DE EDS REFERENTE À ANÁLISE ELEMENTAR DA SUPERFÍCIE DA REFERIDA IMAGEM, (C) ESTIMATIVA DA DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS NANOGOTAS DE MERCÚRIO .....	136
FIGURA 42 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM-Hg NA AUSÊNCIA DE ÍONS Zn (II) (BRANCO), CONTENDO $1,0 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> ÍONS ZINCO (II) E MEDIDA NA AUSÊNCIA DOS ÍONS ZINCO (II) APÓS A ETAPA DE MEDIDA .....	137
FIGURA 43 – CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO PARA A OXIDAÇÃO DO ZINCO EM FUNÇÃO DO TEMPO DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS MERCÚRIO (II), PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÍONS MERCÚRIO (II) .....	141
FIGURA 44 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE CORRENTE OBTIDOS E OS VALORES DE POTENCIAL DE REDUÇÃO (B) PARA O EPCM-Hg. MEDIDAS EM SOLUÇÃO CONTENDO $1,0 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> DE ÍONS ZINCO (II) .....	143
FIGURA 45 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE CORRENTE OBTIDOS E OS TEMPOS DE POTENCIAL DE REDUÇÃO (B) PARA O EPCM-Hg. MEDIDAS EM SOLUÇÃO CONTENDO $1,0 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> DE ÍONS ZINCO (II) .....	144
FIGURA 46 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL E CURVA DE CALIBRAÇÃO (INSERIDA) PARA O EPCM-Hg EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÍONS ZINCO (II) .....	146

FIGURA 47 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL E CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO (INSERIDA) OBTIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II) PARA A AMOSTRA DE COLÍRIO.....	148
FIGURA 48 – IMAGEM ILUSTRATIVA DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NA CONSTRUÇÃO DO EPCM-CuHCF E NAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE INZ .....	153
FIGURA 49 – PERFIL VOLTAMÉTRICO OBTIDO DURANTE A FORMAÇÃO DAS ESTRUTURAS DE CuHCF SOBRE A SUPERFÍCIE DO EPCM APÓS A PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS COBRE (II). ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM TAMPÃO AMÔNIO (pH 9,0) CONTENDO $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DURANTE 10 MINUTOS EM CONDIÇÃO DE POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO .....	158
FIGURA 50 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS PARA O EPCM-CuHCF EM SOLUÇÃO DE $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ DE $\text{KNO}_3$ COM O pH AJUSTADO EM 3,0 .....	159
FIGURA 51 – A) IMAGEM DE MEV DE ALTA RESOLUÇÃO DA SUPERFÍCIE DO EPCM-CuHCF OBTIDO COM APROXIMAÇÃO DE 20000 VEZES. B) ESPECTRO DE EDS DA SUPERFÍCIE OBSERVADA NA RESPECTIVA IMAGEM .....	160
FIGURA 52 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DE INZ PARA O EPCM-CuHCF. MEDIDAS FEITAS EM $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ DE $\text{KNO}_3$ COM pH AJUSTADO EM 3,0. VELOCIDADE DE VARREDURA DE $50 \text{ mV s}^{-1}$ .....	161
FIGURA 53 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA O EPC E EPCM-CuHCF NA PRESENÇA DE $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DE INZ. MEDIDAS REALIZADAS EM $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ DE $\text{KNO}_3$ COM O pH AJUSTADO EM 3,0 .....	162
FIGURA 54 – ILUSTRAÇÃO DO PROCESSO DE ELETROCATÁLISE DA INZ PELO EPCM-CuHCF SUGERIDO .....	163
FIGURA 55 – IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) PARA A SUPERFÍCIE DO EPCM-CuHCF OBTIDAS EM pH 1,5 (A), pH 3,0	

(B) E pH 6,0 (C). VOLTAMOGRAMAS DO EPCM-CuHCF OBTIDOS EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO DE pH (D) .....165

FIGURA 56 – (A) VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA O EPCM-CuHCF CONSTRUÍDOS COM DIFERENTES NÚMEROS DE CICLOS, EM 0,10 mol L<sup>-1</sup> DE KNO<sub>3</sub> NA AUSÊNCIA DE INZ. (B) CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO ANÓDICO PARA A OXIDAÇÃO DE 1,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> DE INZ E OS VALORES DE NÚMERO DE CICLOS.....167

FIGURA 57 – COMPARAÇÃO ENTRE OS VALORES DE SENSIBILIDADE OBTIDOS PELA CURVA DE CORRELAÇÃO OBTIDA PARA CADA POTENCIAL DE OXIDAÇÃO AVALIADO.....169

FIGURA 58 – (A) AMPEROGRAMA OBTIDO PARA ADIÇÕES DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INZ EM FUNÇÃO DO TEMPO, (B) CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE INZ.....171

FIGURA 59 – AMPEROGRAMA PARA A AVALIAÇÃO DE ESPÉCIE CONCOMITANTE (GLICOSE) OBTIDO PARA EPCM-CuHCF. ADIÇÕES DE 1,0 x 10<sup>-5</sup> E 1,75 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> DE INZ, E DE 1,0 x 10<sup>-6</sup>, 1,0 x 10<sup>-5</sup> E 1,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> DE GLICOSE .....172

FIGURA 60 – (A) AMPEROGRAMA (B) E CURVA DE CORRELAÇÃO, REALIZADA PARA A CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO REALIZADA PARA A QUANTIFICAÇÃO DA SOLUÇÃO DE 0,1 mol L<sup>-1</sup> DE KNO<sub>3</sub> ENRIQUECIDA COM 1,0 X 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> DE INZ .....174

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – ESPECIFICAÇÃO DOS REAGENTES UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS .....	53
TABELA 2 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS AVALIADAS E OTIMIZADAS PARA OS PARÂMETROS RELACIONADOS À DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) .....	83
TABELA 3 – PARÂMETROS DE MÉRITO OBTIDOS PELAS CURVAS ANALÍTICAS OBTIDAS COM DIFERENTES TEMPOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) .....	84
TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DE MÉTODOS ELETROQUÍMICOS UTILIZADOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) EM AMOSTRAS DE BEBIDAS ALCOÓLICAS .....	86
TABELA 5 – MÉDIAS DOS VALORES OBTIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) EM BEBIDAS ALCOÓLICAS UTILIZANDO O MÉTODO PROPOSTO (DPAdSV) E A TÉCNICA COMPARATIVA (ICP OES) .....	89
TABELA 6 – CONDIÇÕES ESTUDADAS E OTIMIZADAS PARA OS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS RELACIONADOS À DETERMINAÇÃO DE MP EM EPCM.....	116
TABELA 7 – COMPARAÇÃO ENTRE METODOLOGIAS PARA A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE MP .....	117
TABELA 8 – VARIAÇÕES DAS CORRENTES DE PICO OBTIDAS PARA O MP EM FUNÇÃO DA PRESENÇA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ESPÉCIES CONCOMITANTES: ÍONS COBRE (II), FERRO (II) E ZINCO (II); ÁCIDO ASCÓRBICO E GLICOSE .....	119



TABELA 9 – VALORES DAS CONCENTRAÇÕES ADICIONADAS NA AMOSTRA DE ÁGUA DE TORNEIRA E RECUPERADAS PELO MÉTODO DE ADIÇÃO DE PADRÃO COM O EPCM, PARA OS TRÊS NÍVEIS AVALIADOS .....	121
TABELA 10 – PARÂMETROS INVESTIGADOS E VALORES ESCOLHIDOS ENVOLVIDOS NAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II) .....	145
TABELA 11 – MÉDIA DOS VALORES OBTIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II) EM AMOSTRAS COMERCIAIS PELO MÉTODO PROPOSTO (DPASV) E PELA TÉCNICA COMPARATIVA (ICP OES).....	149
TABELA 12 – VARIAÇÕES DAS CORRENTES DE PICO OBTIDAS PARA INZ EM FUNÇÃO DA PRESENÇA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ESPÉCIES CONCOMITANTES: ÍONS CLORETO, SULFATO, SÓDIO E CÁLCIO; RIFAMPICINA, ÁCIDO ASCÓRBICO E GLICOSE .....	173
TABELA 13 – VALORES DAS CONCENTRAÇÕES ENRIQUECIDAS E RECUPERADAS PELO MÉTODO DE ADIÇÃO DE PADRÃO COM O EPCM-CuHCF, PARA OS TRÊS NÍVEIS DE CONCENTRAÇÕES AVALIADOS .....	175

## LISTA DE SIGLAS

AA – Ácido Ascórbico

AgHCF – Hexacianoferrato de Prata

AP – Azul da Prússia

B.E.T. – método de Brunauer, Emmett e Teller

CA – Carvão Ativado

CoHCF – Hexacianoferrato de Cobalto

CuHCF – Hexacianoferrato de Cobre

DPAdSV – (do inglês, *Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry*) Voltametria de Redissolução Adsorptiva por Pulso Diferencial

DPASV – (do inglês, *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry*) Voltametria de Pulso Diferencial por Redissolução Anódica

DPV – (do inglês, *Differential Pulse Voltammetry*) Voltametria de Pulso Diferencial

EC' – Eletroquímico Catalítico

ECS – Eletrodo de Calomelano Saturado

ECV – Eletrodo de Carbono Vítreo

EDS – (do inglês, *Energy Dispersive Spectroscopy*) Espectroscopia de Energia Dispersiva

EIC – Eletrodo Impresso de Carbono

US-EPA – (do inglês, *United States Environmental Protection Agency*) Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

EPC – Eletrodo de Pasta de Carbono

EPC-CA – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado com Carvão Ativado

EPCM – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado com Biochar

EPCM-CuHCF – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado com Biochar e Hexacianoferrato de Cobre

EPCM-Hg – Eletrodo de Pasta de Carbono Modificado com Biochar e Íons Mercúrio (II)

EQM – Eletrodos Quimicamente Modificados

FeHCF – Hexacianoferrato de Ferro

FTIR – (do inglês, *Fourier transform infrared spectroscopy*) Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier

GC – (do inglês, *Gas Chromatography*) Cromatografia Gasosa

Gli – Glicose

HMDE – (do inglês, *Hanging Mercury Drop Electrode*) Eletrodo de Gota Pendente de Mercúrio

HPLC – (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*) Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência

ICP-MS – (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado

ICP OES – (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

INZ – Isoniazida

ITO – (do inglês, *Indium Tin Oxide*) Óxido de Estanho Dopado com Índio

LDR – (do inglês, *Linear Operating Region*) Região Linear de Operação

LOD – (do inglês, *Limit of Detection*) Limite de Detecção

LOQ – (do inglês, *Limit of Quantification*) Limite de Quantificação

LSASV – (do inglês, *Linear Sweep Anodic Stripping Voltammetry*) Voltametria de Varredura Linear por Redissolução Anódica

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MEV-AR – Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução

MHCF – Hexacianoferrato Metálico

MIP – (do inglês, *Molecularly Imprinted Polymer*) Polímero Molecularmente Impresso

MP – Metil Paration

NiHCF – Hexacianoferrato de Níquel

NPAu – Nanopartículas de Ouro

NPZrO<sub>2</sub> – Nanopartículas de Óxido de Zircônia

OMS – Organização Mundial da Saúde

RIF – Rifampicina

RuHCF – Hexacianoferrato de Rutênio

SWASV – (do inglês, *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*) Voltametria de Onda Quadrada por Redissolução Anódica

ZnHCF – Hexacianoferrato de Zinco

## SUMÁRIO

	<b>APRESENTAÇÃO DA TESE .....</b>	<b>25</b>
<b>1</b>	<b>CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO .....</b>	<b>26</b>
1.1	ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS (EQM) .....	27
1.2	BIOCHAR .....	33
1.3	PRÉ-CONCENTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DIRETA DE ÍON METÁLICO (ÍON COBRE(II)).....	38
1.4	PRÉ-CONCENTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO (METIL PARATION).....	41
1.5	IMOBILIZAÇÃO DE ÍON MERCÚRIO (II) PARA CONSTRUÇÃO DE UM SENSOR A BASE DE MERCÚRIO .....	43
1.6	ANCORAMENTO/FORMAÇÃO DE MEDIADORES REDOX NO DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ISONIAZIDA.....	45
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO 2: OBJETIVOS.....</b>	<b>49</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	50
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	50
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO 3: DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) POR EPCM MODIFICADO COM BIOCHAR: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO .....</b>	<b>51</b>
3.1	MATERIAIS E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	53
3.1.1	Reagentes .....	53
3.1.2	Preparação do Biochar .....	54
3.1.3	Preparação da Pasta de Carbono e Construção dos EPC Modificados com Biochar.....	55
3.1.4	Procedimento Experimental para a Realização das Medidas Voltamétricas para Determinação de Íons Cobre (II) .....	55
3.1.4.1	Investigação da potencialidade do EPCM .....	57
3.1.4.2	Avaliação estrutural e química do biochar e da superfície do EPCM .....	58

3.1.4.3	Avaliação do efeito de memória e repetibilidade .....	59
3.1.4.4	Avaliação da composição da pasta de carbono para o EPCM .....	60
3.1.4.5	Avaliação das soluções de pré-concentração e de medida .....	60
3.1.4.6	Avaliação dos parâmetros instrumentais .....	61
3.1.4.7	Desenvolvimento da metodologia analítica para a determinação de íons cobre (II) .....	62
3.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	63
3.2.1	Potencialidade Analítica do EPCM na Pré-concentração de Íons Cobre (II) .....	63
3.2.2	Avaliação Estrutural e Química do Biochar e do EPCM .....	66
3.2.3	Efeito de Memória e Repetibilidade das Medidas .....	71
3.2.4	Avaliação da Composição de Biochar na Pasta de Carbono .....	74
3.2.5	Avaliação das Soluções de Pré-concentração e de Medida .....	76
3.2.6	Avaliação dos Parâmetros Instrumentais .....	81
3.2.7	Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de Íons Cobre (II) .....	84
3.3	CONCLUSÕES PARCIAIS DO CAPÍTULO 3 .....	90
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO 4: AVALIAÇÃO DO EPCM MODIFICADO COM BIOCHAR PARA A DETERMINAÇÃO DE METIL PARATION .....</b>	<b>91</b>
4.1	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	93
4.1.1	Caracterização Eletroquímica do MP .....	94
4.1.2	Avaliação da Potencialidade do Biochar em Pré-concentrar MP .....	95
4.1.3	Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade .....	95
4.1.4	Avaliação da Composição da Pasta de Carbono Modificada com Biochar .....	96
4.1.5	Investigação da Solução de Pré-concentração e de Medida .....	96
4.1.6	Avaliação dos Parâmetros Instrumentais .....	97
4.1.7	Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de MP .....	97
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	99

4.2.1	Caracterização Voltamétrica do MP .....	99
4.2.2	Potencialidade do Biochar na Pré-concentração do MP.....	101
4.2.3	Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade.....	103
4.2.4	Avaliação da Composição da Pasta de Carbono Modificada .....	107
4.2.5	Avaliação das Soluções de Pré-concentração e de Medida.....	109
4.2.6	Avaliação dos Parâmetros Instrumentais.....	113
4.2.7	Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de MP.....	116
4.3	CONCLUSÕES PARCIAIS .....	123
<b>5</b>	<b>CAPÍTULO 5: AVALIAÇÃO DO EPCM COM BIOCHAR NA FORMAÇÃO DE NANOGOTAS DE MERCÚRIO PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO(II) .....</b>	<b>123</b>
5.1	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	125
5.1.1	Investigação da Potencialidade do EPCM.....	126
5.1.2	Avaliação Estrutural e Química da Superfície do EPCM-Hg.....	127
5.1.3	Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade.....	127
5.1.4	Avaliação da Composição da Pasta de Carbono para o EPCM-Hg .....	128
5.1.5	Avaliação da Condição de Formação das Estruturas de Mercúrio no EPCM-Hg.....	129
5.1.6	Avaliação da Etapa de Medida dos Íons Zinco (II).....	129
5.1.7	Avaliação dos Parâmetros da Técnica Voltamétrica.....	130
5.1.8	Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de Íons Zinco (II).....	130
5.2	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	132
5.2.1	Potencialidade Analítica do EPCM-Hg para Pré-concentração de Íons Zinco (II).....	132
5.2.2	Análise Morfológica e Elementar da Superfície do EPCM-Hg .....	134
5.2.3	Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade.....	137
5.2.4	Avaliação da Composição de Biochar na Pasta de Carbono.....	139

5.2.5	Avaliação das Soluções de Pré-concentração de Íons Hg (II) e Medida	140
5.2.6	Avaliação dos Parâmetros Instrumentais.....	142
5.2.7	Determinação Voltamétrica de Íons Zinco (II).....	146
5.3	CONCLUSÕES PARCIAIS DO CAPÍTULO 5.....	150
<b>6</b>	<b>CAPÍTULO 6: AVALIAÇÃO DO EPCM COM HEXACIANOFERRATO DE COBRE PREPARADO SOBRE BIOCHAR PARA A DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ISONIAZIDA .....</b>	<b>151</b>
6.1	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	153
6.1.1	Preparação do EPCM com Hexacianoferrato de Cobre (CuHCF) .....	154
6.1.2	Avaliação Morfológica e Química da Superfície do EPCM-CuHCF .....	154
6.1.3	Otimização das Condições para a Construção do EPCM com CuHCF ..	155
6.1.4	Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação Amperométrica de INZ.....	156
6.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	157
6.2.1	Preparação do EPCM-CuHCF .....	157
6.2.2	Otimização das Condições para Construção do EPCM-CuHCF .....	164
6.2.3	Desenvolvimento da Metodologia Analítica para Determinação de INZ .	170
6.3	CONCLUSÕES PARCIAIS DO CAPÍTULO 6.....	175
<b>7</b>	<b>CAPÍTULO 7: CONCLUSÃO .....</b>	<b>176</b>
7.1	CONCLUSÃO GERAL DO TRABALHO DE TESE .....	177
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>179</b>

# **APRESENTAÇÃO DA TESE**



O uso de biochar, como modificador de eletrodos, foi investigado no desenvolvimento de sensores voltamétricos para a determinação de espécies de interesse. O biochar apresenta a habilidade de interagir com diversas espécies, pelos mais variados tipos de mecanismo (troca iônica, adsorção, complexação, entre outras), o que permite que ele seja explorado de diferentes formas. Existem diversos aspectos experimentais que foram utilizados na preparação do biochar e na construção dos eletrodos de pasta de carbono para todos os estudos realizados, essas etapas serão apresentadas como parte experimental geral.

A seguir, são reportadas, separadamente, as diferentes estratégias de avaliação do material modificador para a construção de sensores voltamétricos. Visando um melhor entendimento da proposta, os resultados da tese serão apresentados de forma capitulada, cada seção contém um método desenvolvido em função da abordagem proposta. Além dos principais resultados, também são apresentados os procedimentos experimentais relacionados à medidas específicas, utilizadas em cada avaliação, serão apresentados na respectiva seção, bem como uma breve revisão bibliográfica sobre o tema.

Abaixo são descritas, brevemente, cada uma das quatro seções, que serão apresentadas em forma de capítulos:

- **Capítulo 1:** Introdução teórica referente aos conteúdos abordados no desenvolvimento científico da presente Tese de doutorado;

- **Capítulo 2:** Descrição dos objetivos (geral e específico) pretendidos durante a execução da mesma;

- **Capítulo 3:** As características adsorptivas do biochar foram exploradas na pré-concentração e determinação direta de íons cobre (II) empregando um procedimento baseado na voltametria de redissolução adsorptiva. O método proposto foi aplicado na quantificação do analito em bebidas alcoólicas;

- **Capítulo 4:** Explorando uma estratégia semelhante ao capítulo anterior, é apresentado o desempenho do modificador na pré-concentração e determinação de uma espécie orgânica, o metil paration;

- **Capítulo 5:** O uso do biochar como uma matriz para ancorar espécies que podem melhorar o desempenho eletroquímico do eletrodo base foi investigado para a preparação de nanoestruturas de mercúrio. Este eletrodo favoreceu a utilização em uma região de potencial na faixa negativa permitindo

seu uso na determinação de íons zinco (II) em amostras farmacêuticas empregando a voltametria de redissolução anódica;

- **Capítulo 6:** A preparação de hexacianoferrato de cobre sobre a superfície do biochar e seu uso na determinação amperométrica de isoniazida. A presença do mediador preparado sobre o eletrodo melhora a sensibilidade/seletividade da resposta em relação a um eletrodo não modificado;

- **Capítulo 7:** Ao final serão apresentadas as considerações e conclusão que foram obtidas ao longo do desenvolvimento de todo o trabalho.

# **CAPÍTULO 1:**

## **INTRODUÇÃO**

## 1.1 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS (EQM)

Nos últimos anos, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos tem sido uma das áreas de grande avanço dentro da Química Analítica, por conseguinte, diversos trabalhos de revisão sobre esse tema são encontrados na literatura [1-5]. Dentre os eletrodos de trabalho mais empregados como sensores voltamétricos, pode ser destacada a utilização de diversos materiais “inertes”, tais como ouro, platina, carbono em suas diversas formas e os Eletrodos Quimicamente Modificados (EQM). Nos EQM, a modificação de eletrodos base, geralmente eletrodos inertes, tem como finalidade promover características desejáveis à interface eletrodo/solução, de acordo com a espécie modificadora incorporada a superfície eletródica e também com a finalidade pretendida [6]. Em virtude da infinidade de substâncias que podem ser incorporadas ao eletrodo base e de suas aplicações, como será mais bem relatado adiante, existe uma gama enorme de trabalhos que se utilizam de diferentes materiais como potenciais modificadores no desenvolvimento de sensores eletroquímicos [7-9]. Cabe ressaltar também, que a incorporação de espécies ao eletrodo base define os EQM [6], sendo este termo utilizado pela primeira vez por Murray e colaboradores, em 1975 [10].

A preparação de EQM pode ser realizada de diferentes formas, dependendo principalmente do tipo de eletrodo base e do modificador utilizado, explorando algum tipo de afinidade entre ambos. Dentre os tipos de modificações, destaca-se a modificação por adsorção, por formação de ligação covalente, recobrimento por filmes poliméricos e a utilização de materiais compósitos [11].

A modificação por adsorção consiste em um processo simples de fixação do agente modificador à superfície do eletrodo base por quimiossorção, por exemplo. Esta incorporação pode ser realizada pela deposição de uma solução ou dispersão, contendo o material modificador, e posterior evaporação do solvente immobilizando-se assim o material de interesse. A simples imersão do substrato na solução modificadora de interesse seguida pela secagem total do solvente (*dip coating* – revestimento por imersão) também pode proporcionar a modificação [12].

A modificação de superfícies eletródicas por formação de ligações covalentes é realizada pela interação do agente modificador à superfície do eletrodo base por ligação química. Esta modificação apresenta maior estabilidade comparado ao método por adsorção, uma vez que o modificador está mais fortemente ligado à superfície do eletrodo base [13]. Porém, esse procedimento demanda um tempo maior para a preparação da superfície e permite apenas a formação de uma monocamada, em decorrência do impedimento do acesso de novas espécies aos sítios de ligação pela camada de modificador já formada.

Os filmes poliméricos empregados como modificadores de eletrodos, em geral, devem apresentar condutividade elétrica ou permeabilidade ao eletrólito suporte ou ao analito. A principal vantagem da utilização desta forma de modificação deve-se ao fato da existência de uma variedade de polímeros que podem ser empregados na modificação. A utilização de um ou combinação entre dois ou mais polímeros pode gerar características particulares aos EQM, podendo haver assim, diferentes possibilidades de aplicações [14].

A modificação pela formação de material compósito tem como base a combinação ou mistura de diferentes componentes, em grande parte, por um material condutor, um aglutinante e o modificador. Na maioria, são empregados materiais carbonáceos como condutor (eletrodos de pasta de carbono), como por exemplo, grafite, negro de fumo, nanotubos de carbono, entre outros, tendo em vista que são materiais que apresentam elevada inércia química e são relativamente de baixo custo [15-19]. A homogeneização dos componentes nestes eletrodos permite a obtenção de um material que contém o modificador em toda estrutura e não apenas na superfície. Considerando que, a distribuição do modificador é homogênea em todo material, é possível a obtenção de uma nova superfície, com as mesmas características anteriores, pelo simples polimento da mesma [20].

Do ponto de vista da melhora do desempenho analítico de eletrodos, quanto à sensibilidade e/ou seletividade, a escolha do tipo de material modificador incorporado ao eletrodo base é essencial. Isto pode ser alcançado explorando algumas características desejáveis a sensores eletroquímicos, como eletrocatalise, pré-concentração e a exclusão de interferência [21,22].

A incorporação de materiais com propriedades eletrocatalíticas ou de mediadores redox ao eletrodo base tem como finalidade, dentre outras, a de diminuir a energia ou de aumentar a cinética do processo de transferência eletrônica entre a espécie a ser determinada e o eletrodo de trabalho. [23] Essa melhora leva ao aumento da sensibilidade do eletrodo, e em sua maioria, é proveniente da existência de uma reação redox entre o analito e o modificador. Neste caso, a reação ocorre de forma mais favorável, do ponto de vista energético e/ou cinético, quando comparada com a interação entre analito e o eletrodo base sem o modificador. Com relação aos modificadores com propriedades eletrocatalíticas, o favorecimento energético de uma determinada reação redox leva ao deslocamento do potencial elétrico da reação para valores menos energéticos, o que pode propiciar também maior seletividade do eletrodo a diferentes espécies concomitantes em uma mesma amostra. Em se tratando de mediadores redox, a melhora do desempenho do eletrodo de trabalho pode ser alcançada pela utilização de diferentes materiais, como por exemplo, complexos metálicos (ex: o azul da Prússia e análogos a esse) [24], polímeros condutores (ex: polipirrol) [25] ou até mesmo a incorporação de metais (ex: mercúrio) [26].

Outra forma de melhorar a sensibilidade de eletrodos base é a adição de complexos inorgânicos metálicos a superfície destes eletrodos, como materiais pertencentes às classes das ftalocianinas, porfirinas e dos hexacianoferratos. Estes materiais possuem a habilidade de mediar ou promover reações redox entre o eletrodo e o analito, pela existência de um centro metálico (ferro, cobalto, níquel, cobre, etc). O centro metálico presente em diversos complexos, geralmente apresenta estados de oxidação variáveis e reversíveis. Isso fornece a estes materiais a capacidade de reagir quimicamente com espécies de interesse analítico, como compostos orgânicos e inorgânicos, em alguns casos, promover a catálise de reações de oxi-redução.

Um exemplo foi mostrado no trabalho desenvolvido por Meenakshi e colaboradores [27], que incorporaram uma ftalocianina tetrassulfonada de cobre (II) sobre um eletrodo de carbono vítreo para posterior aplicação como sensor na determinação de um fármaco (metronidazol) em formulações farmacêuticas e em amostras de urina. Neste trabalho, a presença do centro metálico da ftalocianina

mediou a reação de redução do fármaco, o que levou ao aumento da sensibilidade na determinação, quando comparado ao eletrodo não modificado.

Um dos complexos metálicos mais explorados na literatura, como modificador de eletrodos é o azul da Prússia (AP), hexacianoferrato de ferro (II). Da mesma maneira que o exemplo anterior, o possui um centro metálico, neste caso o ferro, que é capaz de mediar e/ou catalisar reações redox a partir do par Fe(II)/Fe(III). Pradela-Filho e colaboradores [28] desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com azul da Prússia para a determinação amperométrica de nitrito. A presença do AP permitiu ao eletrodo catalisar a reação de redução do nitrito, melhorando a resposta do eletrodo base, principalmente com relação à sensibilidade analítica. Muitas vezes, a eficiência de mediadores redox gera uma melhora não apenas da sensibilidade, mas também na seletividade destes eletrodos frente à determinação de diferentes analitos em uma mesma amostra.

Beitollahi e colaboradores [29] utilizaram um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono modificado com benzoil ferroceno (BF) para a determinação N-cisteína na presença de ácido fólico. O BF é um complexo que possui um centro metálico de ferro (Fe(II)/Fe(III)). Este complexo foi capaz de catalisar a reação de oxidação da N-cisteína, deslocando o potencial de oxidação para valor menos positivo, sendo que o mesmo comportamento não foi observado para a reação de oxidação do ácido fólico. Isso que favoreceu a discriminação entre os sinais de ambas as espécies, antes sobrepostos quando empregando apenas o eletrodo base. Assim, a utilização de mediadores redox não só melhora a sensibilidade dos eletrodos, mas também favorecem a melhora da seletividade.

A obtenção de determinações de espécies concomitantes de forma seletiva também pode ser alcançada pela adição de materiais com a capacidade de exclusão seletiva de algumas espécies pelo impedimento estérico ocasionado por “barreiras” impostas com o uso de membranas ou polímeros dispostos sobre a superfície do eletrodo base. Neste caso, a presença do modificador não altera a característica de transferência eletrônica do eletrodo base, mas apenas seleciona qual, ou quais, espécies entrarão em contato com a superfície do eletrodo.

A melhora do desempenho de um eletrodo também pode ser relacionada com a habilidade em determinar espécies de interesses em quantidades cada vez

menores (menores limites de detecção). Assim, também é possível melhorar a eficiência do eletrodo pela incorporação de materiais com maior capacidade de pré-concentrar as espécies a serem analisadas. Os exemplos mais relatados na literatura são os que fazem uso da incorporação de resinas trocadoras de íons [30-32], materiais da classe das zeólitas [33-35] e materiais carbonáceos funcionalizados [36-40].

Um exemplo da aplicação de resinas trocadoras como materiais modificadores de eletrodos pode ser observado no trabalho desenvolvido por Nascimento e colaboradores [41], em que incorporaram a resina Amberlite IR-120 em um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono para sua aplicação como sensor na determinação de íons chumbo (II) em amostras de água. A Amberlite IR-120 apresenta elevada capacidade adsorptiva por possuir grande capacidade de troca iônica, o que lhe fornece alta capacidade em pré-concentrar íons metálicos. Essa característica permitiu ao eletrodo modificado pré-concentrar e quantificar íons Pb(II) em escala nanomolar, quantidade muito inferior a atingida quando feito uso do eletrodo não modificado, em que não é possível a determinação de íons Pb(II) em níveis inferiores a concentrações micromolares. Outros materiais amplamente empregados na melhora da capacidade de pré-concentração e, conseqüentemente na melhora de limites de detecção são os materiais pertencentes a classe das zeólitas. Estes possuem elevada porosidade e também sítios trocadores de íons, estas características promovem ao material elevada capacidade adsorptiva, principalmente de íons metálicos [42,43]. Esta aplicação é observada no trabalho desenvolvido por Senthilkumar e colaboradores [42] que empregaram uma zeólita do tipo NH<sup>4</sup>-Y microcristalinas para a modificação de eletrodos de pasta de nanotubos de carbono para a determinação de íons cobre (II). A incorporação do modificador permitiu a obtenção de um limite de detecção de 0,72 ppb e uma faixa linear de concentração que variou de  $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  até  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

O uso de materiais carbonáceos funcionalizados como modificadores de eletrodos na melhora da capacidade de pré-concentração de espécies de interesse também é bastante reportado. Dentre os materiais mais empregados, destaque para os nanotubos de carbono e grafeno. Normalmente esses materiais são funcionalizados por etapas adicionais, sendo esta fundamental para a



incorporação química de grupos funcionais na superfície destes materiais. Em sua maioria, por compostos oxigenados e nitrogenados como hidroxílicos, carboxílicos, fenólicos, amínicos, nítricos, etc [44-47]. A presença destes grupamentos conferem características superficiais diferentes dos materiais bases, permitindo a pré-concentração de espécies a serem analisadas ou também permitem a incorporação de outros materiais com características eletroquímicas desejáveis. Essa afinidade entre o material funcionalizado e as espécies adsorvidas pode ocorrer por diferentes tipos de interações, desde mais fortes, como por interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio, até interações mais fracas, como adsorção física e por ligação de van der Waals. [48-50].

Com relação aos materiais carbonáceos que apresentam elevada capacidade em pré-concentrar espécies, é evidente o grande volume do número de trabalhos científicos em que se utilizam nanotubos de carbono, grafeno e óxido de grafeno funcionalizados. Isso se deve, não só pelas características eletroquímicas interessantes destes materiais, como condutividade elétrica e elevada inércia química, mas também pela elevada resistência mecânica que, entre outras vantagens, permite que os mesmos sejam submetidos a tratamentos químicos agressivos do processo de funcionalização, sem que a estrutura principal seja comprometida.

Xing e colaboradores [51] empregam um eletrodo de carbono vítreo modificado com grafeno para a determinação de íons cobre (II), cádmio (II), chumbo (II) e mercúrio (II). Neste trabalho, o grafeno foi dopado com grupamentos nitrogenados, o que atribui ao material maior capacidade adsorptiva, permitindo assim a determinação dos metais avaliados.

Outro trabalho que mostrou a melhora na capacidade adsorptiva de materiais, pela presença ou incorporação de grupos funcionais superficiais foi mostrado por Yang e colaboradores [52]. Neste trabalho foram modificados eletrodos de carbono vítreo com nanotubos de carbono funcionalizados para o desenvolvimento de imunossensor eletroquímico para a determinação de um antígeno específico da próstata. Para tal determinação foi necessário incorporar o anticorpo correspondente ao antígeno, que só foi possível pela interação entre os anticorpos e os grupos funcionais presentes nos nanotubos (grupos carboxílicos).

A presença de grupos funcionais na superfície dos materiais adsorventes promove maior capacidade de pré-concentrar espécies de interesse e permite a determinação desses analitos. Além disso, outra abordagem que poder ser empregada com relação ao material modificador é de ancorar espécies que possam agir como receptores biológicos, catalisadores, mediadores de reações redox, entre outros. E com relação aos materiais carbonáceos funcionalizados, merece destaque o biochar.

## 1.2 BIOCHAR

Biochar é um material carbonáceo que tem origem na combinação dos termos em inglês de biomassa e carvão (*biomass + charcoal = biochar*) [53]. Este material é rico em carbono, originado da queima de biomassa, como madeira ou folhas, em condições de temperatura não muito elevadas (menor que 700 °C) e baixa quantidade ou ausência de oxigênio. Sua origem está ligada aos povos antigos ameríndios que povoaram a região amazônica, que por processos de queima/carbonização de biomassa, foi originado o biochar ou *Terras Pretas de Índios da Amazônia* [54,55].

Atualmente, o principal emprego do biochar é em solos visando o aumento da produtividade de diversas culturas. Em princípio, a decomposição da matéria orgânica, em baixas condições de oxigênio, promove a formação do biochar contendo diversos cátions metálicos, como magnésio, potássio e cálcio, por exemplo, fazendo com que ele possa atuar no sentido de repor gradualmente diversos nutrientes ao solo [53,56]. Cabe salientar que as características desse material visam simular aquelas verificadas para as *Terras Pretas de Índios da Amazônia*, que é constituída por uma estrutura interna inerte e por uma periferia altamente funcionalizada com capacidade de manter a fertilidade do solo, quelando íons nutrientes de plantas e adsorvendo água através de ligações de hidrogênio [57,58].

A potencial aplicação de biochar depende de várias características resultantes da preparação do material, tais como área superficial, porosidade, grau de funcionalização e da capacidade de troca iônica [53]. A escolha da matéria-prima utilizada para a obtenção do biochar também é bastante influente,

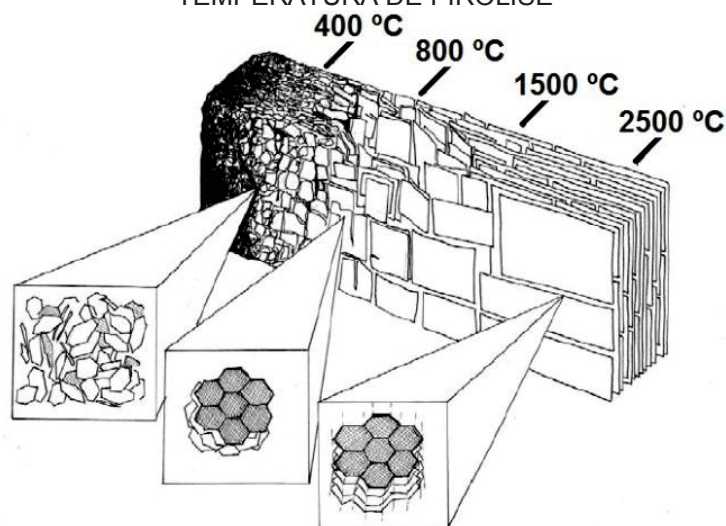
podendo ser empregadas biomassas vegetais, tais como serragem de *pinus* e de eucalipto, e farelo de mamona, sendo este último um importante subproduto na indústria de produção de biodiesel [53,59]. Além disso, a adição de outras espécies pode promover a maior funcionalização da superfície, formando um material ativado com características únicas. Em linhas gerais, as propriedades do biochar que tornam sua utilização vantajosa como fertilizante ou condicionador de solo também são relatadas para diversas outras situações, como por exemplo, para a remoção de contaminantes em solo e em água, de origem inorgânica, como íons metálicos ou compostos orgânicos, como os pesticidas [60].

A habilidade do biochar em pré-concentrar e/ou adsorver íons metálicos já é bem relatada na literatura e ocorre, principalmente, pela presença da elevada quantidade de grupamentos funcionais, formados principalmente por grupamentos ácidos em sua superfície. Tais grupamentos, quando desprotonados, conferem à superfície do biochar uma carga negativa, possibilitando a interação eletrostática deste com diversos compostos catiônicos, inorgânicos ou orgânicos [61]. A superfície altamente funcionalizada do biochar e suas características físicas estruturais são decorrentes das etapas de pirólise e da biomassa utilizada. Neste caso, há dependência não só da própria matéria orgânica utilizada como matéria prima, mas também das condições empregadas no processo de pirólise, tais como a razão de aquecimento, temperatura final, tempo de residência, fluxo de gás de síntese, entre outros [53].

A biomassa vegetal é normalmente composta por celulose, hemicelulose e lignina, sendo a diferença entre as distintas biomassas relacionadas com a quantidade de cada componente presente na matéria-prima. Cada componente é degradado em uma faixa de temperatura diferente, sendo que a degradação da hemicelulose ocorre entre 200 °C e 260 °C, da celulose entre 240 °C e 350 °C e da lignina se degrada lenta e continuamente entre 150 °C e 900 °C [62]. Assim, a degradação da biomassa para formação de biochar pode ser descrita em quatro estágios de temperatura. No primeiro estágio, em temperatura inferior a 250 °C, é observada uma pequena queda de massa resultante de uma ligeira despolimerização da celulose. Em temperaturas entre 250 °C e 350 °C ocorre a completa despolimerização da celulose, promovendo uma significativa perda de massa em comparação a biomassa inicial, com um produto formado

essencialmente por uma matriz de carbono amorfo. Em temperaturas superiores a 350 °C começam a se formar estruturas poliaromáticas e, conseqüentemente, a formação de “folhas” de grafeno. No entanto, em sua maioria, a estrutura do biochar ainda é formada por estruturas amorfas. O maior grau de grafitização é observado para estruturas obtidas em temperaturas bem superiores a 600 °C, mediante a maior carbonização, e também o decréscimo acentuado da quantidade de massa inicial da matriz [53]. As variações estruturais do biochar em função da temperatura podem ser observadas na FIGURA 1.

FIGURA 1 – VARIAÇÃO DA ESTRUTURA DO BIOCHAR COM O AUMENTO DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE

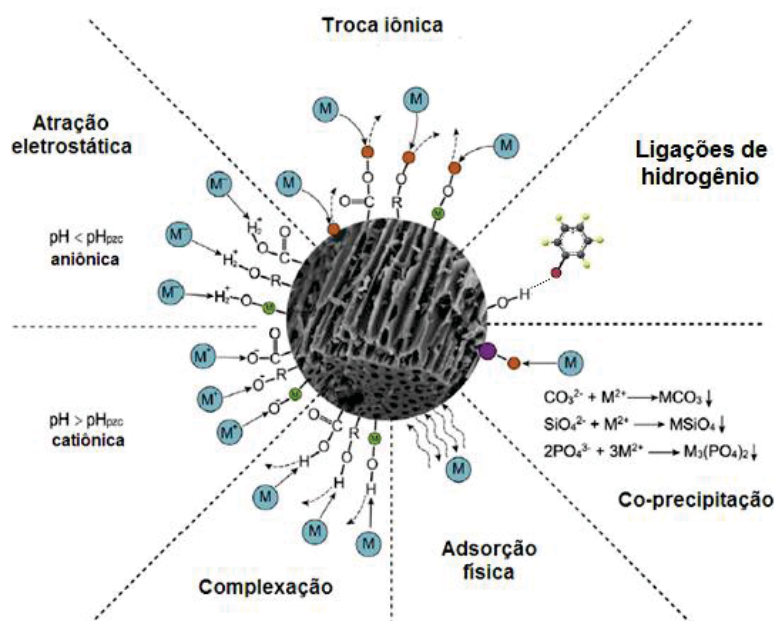


FONTE: Adaptado de Lehmann e colaboradores [53].

Em geral, os principais constituintes da biomassa (C, O, N, S e H) são perdidos durante as etapas de desidratação e pirólise. A perda de massa é mais acentuada para o oxigênio (O), nitrogênio (N), enxofre (S) e hidrogênio (H) em comparação ao carbono (C). Assim, o maior grau de carbonização é diretamente proporcional à temperatura de pirólise. Em contrapartida, o grau de funcionalização é inversamente proporcional à temperatura, ou seja, quanto maior a temperatura, menor será a quantidade de grupos funcionais periféricos na estrutura do biochar [59]. Diante disto, a escolha das condições de preparo do biochar vai depender do propósito da utilização, bem como da sua estrutura superficial. Isto é, é possível mudar as propriedades do biochar da forma mais desejável pela escolha da matriz (biomassa) e das condições de preparo, principalmente a temperatura de pirólise.

A maioria dos trabalhos publicados que utilizam o biochar como material adsorvente tem sua aplicação voltada para a remediação de solos e água. A potencialidade do biochar aplicado como agente remediador de solos e fontes hídricas é bem reportado tanto para a pré-concentração de íons metálicos, como também espécies orgânicas de interesse ambiental [56]. Sendo que, há uma diferença na “preferência” das espécies adsorvidas (substratos) pelos diferentes sítios de adsorção do biochar, muito em função da diferença estrutural dos substratos, como por exemplo, a polaridade e raio iônico. Assim, os compostos podem interagir com a superfície do biochar de diferentes maneiras, conforme pode ser visualizado no esquema da FIGURA 2.

FIGURA 2 – POSSÍVEIS INTERAÇÕES DE ESPÉCIES COM A SUPERFÍCIE DO BIOCHAR



FONTE: Adaptado de Tan e colaboradores [63].

O emprego do biochar como adsorvente de espécies potencialmente tóxicas [56,63,64] é baseada na capacidade de interação da superfície altamente funcionalizada do biochar. Uma destas aplicações foi descrita em um trabalho desenvolvido por Fristak e colaboradores [61] que empregaram diferentes biochars, obtidos a partir de duas diferentes biomassas, para a remoção de íons cádmio (II), zinco (II) e cobre (II). Neste trabalho foi observada a potencialidade das duas amostras de biochar em pré-concentrar estes íons. No entanto, uma amostra se apresentou com maior capacidade adsorvente do que a outra. Esta

diferença foi atribuída a maior quantidade de grupamentos hidroxilas e carboxílicos presentes em uma das amostras. Com isto, a capacidade do biochar em pré-concentrar íons metálicos está diretamente ligada à quantidade de grupamentos presentes na superfície deste material, promovida por interação eletrostática entre o biochar e estes íons.

Outra evidência da eficiência do biochar como agente adsorvente foi mostrada por Yu e colaboradores [65], que avaliaram a capacidade do biochar em reduzir a biodisponibilidade de dois inseticidas, clorpirifós e carbofuran. O biochar avaliado foi obtido pela pirólise de biomassa de eucalipto em duas diferentes temperaturas, 450 e 850 °C. Cada amostra de biochar foi adicionada ao solo de plantio de cebolinha em diferentes proporções (0; 0,1; 0,5 e 1,0 % (m/m)), e sobre este solo foram aplicados os inseticidas. Após 5 semanas de cultivo foi observado um decréscimo acentuado da quantidade de cada pesticida com o aumento da quantidade de biochar no solo. O melhor resultado, associado a melhor afinidade do biochar com os inseticidas, foi observado para o material obtido a 850 °C, onde as quantidades finais de clorpirifós e carbofuran foram de 10 e 25 %, respectivamente.

Pelos trabalhos encontrados na literatura, é possível verificar uma elevada capacidade do biochar em adsorver íons metálicos e pesticidas. Essas características são exploradas de diversas formas, porém, a utilização desse material no desenvolvimento de sensores eletroquímicos ainda é muito pouco relatada. Assim, um estudo no sentido de investigar a possibilidade de desenvolver sensores eletroquímicos empregando biochar como agente modificador, para pré-concentração e determinação de espécies de interesse, é de extrema importância e de grande potencial.

O primeiro trabalho, que se tem registro, onde o biochar é empregado como material eletródico foi descrito por Suguihiro e colaboradores [66]. Neste trabalho, diferentes amostras de biochar, obtidas pela pirólise de farelo de mamona em diferentes condições, foram empregadas na modificação dos eletrodos de pasta de carbono para a pré-concentração e determinação de íons Cd (II) e Pb (II), empregando um procedimento de voltametria adsortiva de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdSV). Com base nos estudos realizados foram obtidos resultados satisfatórios, apresentando limites de

detecção de  $6,9 \times 10^{-8}$  e  $9,8 \times 10^{-9}$  mol L<sup>-1</sup> para Cd (II) e Pb (II), respectivamente, com faixa linear de resposta  $2,5 \times 10^{-7}$  a  $5,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para íons Cd (II) e  $5,0 \times 10^{-8}$  a  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para íons Pb (II). Estudos de adição e recuperação dos íons avaliados em amostras de água de torneira apresentaram valores de recuperação entre 93,8 e 106,3 % para ambos os íons Cd (II) e Pb (II), respectivamente.

Em virtude da potencialidade que o biochar apresentou como modificador de eletrodo de pasta de carbono e de sua ampla aplicação na remoção e pré-concentração de diferentes espécies de interesse, é de extrema relevância a avaliação do biochar como modificador de eletrodos em diferentes estratégias de aplicações. Estas estratégias foram abordadas neste trabalho de tese de doutorado explorando as diferentes características superficiais do biochar, como: a habilidade em pré-concentrar íons metálicos para determinação direta destes íons e formação de mediares redox a partir destes íons, habilidade em pré-concentrar e determinar compostos orgânicos não iônicos e capacidade de incorporar complexos metálicos na construção de sensores eletroquímicos.

### 1.3 PRÉ-CONCENTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DIRETA DE ÍON METÁLICO (ÍON COBRE(II))

O cobre (Cu) é um elemento encontrado em todos os organismos vivos tanto na sua forma de íons cobre (II), quanto na forma de íons cobre (I) [67]. Pode possuir quatro estados de oxidação, Cu<sup>0</sup>, Cu<sup>1+</sup>, Cu<sup>2+</sup> e Cu<sup>3+</sup>, sendo que a forma mais estável o íon Cu<sup>2+</sup>. Seus principais ligantes inorgânicos são H<sub>2</sub>O, OH<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, entre outros, e ligantes orgânicos pode-se citar grupamentos fenólicos e carboxílicos.

Por se tratar de um micronutriente, o cobre (II) está envolvido em diversos processos biológicos e é essencial para as funções de diferentes organismos, principalmente em proteínas enzimáticas, envolvido em processos de respiração celular e também no combate à radicais livres [68]. Paralelo a isso, a deficiência de cobre (II) pode ocasionar a doença de Menkes, que provoca defeitos genéticos no cromossomo Y. Essa doença causa anormalidades neurológicas, devido à

deficiência de enzimas cuprodependentes necessárias para o desenvolvimento cerebral, além disso, essa doença pode ser fatal na infância [69].

Apesar da importância que esta espécie apresenta em organismos vivos, quando em excessos íons cobre (II) podem apresentar toxicidade significativa em seres humanos e organismos vivos, sendo seu efeito crônico mais notável o dano causado ao fígado [70]. Além disso, o seu excesso também é associado a algumas doenças, tal como a doença de Wilson, responsável por mutações genéticas do cromossomo 13. Esse defeito pode apresentar sintomas semelhantes à hepatite em estado inicial, e ocasionar problemas de encefalopatia e insuficiência renal, coagulação, e em casos extremos, na ausência de tratamento, pode levar à morte [70,71].

O cobre pode ser encontrado amplamente em diferentes alimentos, como por exemplo, cereais, castanhas, carne bovina, vegetais, entre outros. Também está presente ampla escala em recipientes de armazenamento alimentícios, principalmente enlatados, e pode ser encontrado em elevadas concentrações em bebidas destiladas, pela utilização de materiais a base de cobre no processo de destilação destas bebidas [72-74]. Recentemente, o uso de materiais a base de cobre no processo de destilação está diminuindo. No entanto, ainda são amplamente utilizados, principalmente, em destilarias de cachaça artesanais no Brasil.

A legislação que rege o controle de qualidade de bebidas alcoólicas no Brasil estipula que o máximo permitido de íons cobre (II) nestas bebidas é de 5 mg L<sup>-1</sup>. Concomitantemente ao fato da possibilidade de conter elevados níveis de íons cobre (II) em bebidas destiladas há o elevado consumo destas bebidas, principalmente no Brasil, que segundo a OMS estimou o consumo per capita de bebidas alcoólicas em 8,7 L por ano. Este valor é superior ao valor estimado para a média mundial que é de 6,2 L. Considerando apenas as pessoas que ingerem estas bebidas, o valor sobe para 15,1 L anuais per capita [75]. Assim, uma elevada concentração de íons cobre (II) em bebidas alcoólicas e o alto consumo gera um quadro preocupante a respeito da ingestão de íons cobre (II). O quadro se agrava ainda mais considerando que a ingestão contínua destes íons, apesar de pouco estudada, mostrou que, em alguns pacientes, pode levar a insuficiência hepática [70]. Assim, tendo em vista a sua importância biológica e principalmente



sua toxicidade quando em teores elevados no organismo, é de extrema importância a determinação e quantificação de íons cobre (II) em bebidas alcoólicas.

Íons cobre (II) são amplamente investigados e determinados por diferentes técnicas analíticas, tal como, por espectrofotometria por absorção atômica [31], espectroscopia ótica por plasma indutivamente acoplado (ICP OES) [76], espectroscopia de massa por plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), e técnicas voltamétricas, geralmente realizadas empregando técnicas de redissolução [77,78].

Um exemplo foi o trabalho desenvolvido por Janegitz e colaboradores [78] que realizaram a determinação de íons cobre (II) em urina humana, água de resíduos industriais e água potável empregando um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono funcionalizados e quitosana. A determinação foi realizada por voltametria de redissolução anódica por voltametria linear (LSASV). Obtendo-se limite de detecção de  $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  de íons cobre (II). Sendo que a eficiência deste dispositivo foi atribuída à presença dos nanotubos funcionalizados, pelo fato deste material apresentar boas propriedades condutoras e o elevado grau de funcionalização superficial que promoveu a melhor pré-concentração dos íons cobre (II).

Outro exemplo foi mostrado por Gholivand e colaboradores [77] que desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com um agente complexante (BHAB) para a determinação simultânea de íons cobre (II) e íons prata (I) em amostras de sementes de trigo e cevada. Como no exemplo anterior, é explorada a capacidade adsorptiva do agente modificador na pré-concentração destes íons e posterior determinação. Neste exemplo, foi utilizada voltametria de redissolução anódica por pulso diferencial, sendo obtido um limite de detecção de  $8,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  de íons cobre (II).

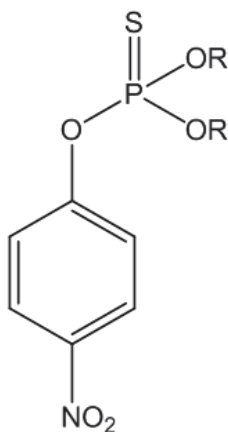
Com base nos exemplos acima citados e exemplos relatados na literatura, é notável a importância da etapa de pré-concentração (com ou sem a aplicação de potencial elétrico) e o uso de materiais com capacidade adsorptiva para a determinação destes íons em concentrações mais baixas. Diante disto, o uso do biochar como material modificador de eletrodos se torna uma alternativa promissora diante da potencialidade em adsorver e determinar íons cobre (II) em

bebidas alcoólicas. Outra evidência desta potencialidade é devido ao fato de o biochar ter apresentado elevada capacidade na adsorção espontânea de íons cobre (II) no trabalho desenvolvido por Fristak e colaboradores [61], que exploraram a capacidade do biochar em adsorver e separar íons cobre (II), cádmio (II) e zinco (II) em soluções aquosas.

#### 1.4 PRÉ-CONCENTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO (METIL PARATION)

O metil paration (MP) é um inseticida organofosforado amplamente empregado no combate a diferentes pragas e em diversas culturas, hortaliças, frutas, cereais, entre outros. É um composto branco cristalino e praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em éter e solúvel na maioria dos solventes orgânicos. É termicamente instável e se degrada facilmente em soluções com pH superior a 8,0 [79]. Sua fórmula molecular é observada na FIGURA 3.

FIGURA 3 – ESTRUTURA MOLECULAR DO METIL PARATION (O,O-DIETIL-O-4-NITRO-FENILTIOFOSFATO)



FONTE: Hertel e colaboradores [79]

O MP é classificado pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (US-EPA) como pertencente à classe toxicológica I, elevada toxicidade. A partir disso, sua utilização é proibida, desde 2005, pela US-EPA, pela União Européia, e outras agências ambientais [80]. Apesar de sua toxicidade, o MP pode ser degradado facilmente em curto período de tempo, principalmente em mamíferos e aves. A maior probabilidade de contaminação por MP em humanos se dá pelo

contato direto com o inseticida no processo de preparação, manuseio e aplicação, onde é facilmente absorvido pelo contato com a pele e pela inalação. Sua toxicidade em humanos se dá pela inibição da proteína malato desidrogenase na mitocôndria do fígado e do músculo esquelético, responsável pela respiração celular destes tecidos [79,81].

No entanto, o MP apresenta menor grau de degradação em outros vertebrados e invertebrados. Apresentando maior nível de toxicidade nestes organismos e no ambiente em qual se encontram [79]. Sendo assim, é de suma importância o controle de sua aplicação, remoção e também sua determinação e quantificação em águas, solos e produtos alimentícios [82,83].

Existe uma infinidade de trabalhos que realizam a determinação de MP em diferentes matrizes, principalmente de cunho ambiental. Sendo que a maioria destes trabalhos, independente da técnica empregada, utiliza-se de etapas prévias de extração (líquido-líquido e sólido-líquido) do pesticida que está presente na matriz, com o auxílio de solventes orgânicos. A determinação pode ser realizada por diferentes técnicas analíticas, principalmente por cromatografia em fase gasosa (GC) [84,85], cromatografia em fase líquida de alta eficiência (HPLC) [86] e técnicas voltamétricas, principalmente por pulso diferencial e onda quadrada [87-89].

Um exemplo da aplicação de sensores eletroquímicos na determinação de MP foi proposto por Caldas e colaboradores [88], que desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com sílica revestida com silsesquioxano iônico. Neste trabalho foi utilizada voltametria cíclica para a caracterização do MP e para a determinação foi empregada voltametria de pulso diferencial, onde as medidas foram realizadas em solução tampão Britton-Robinson pH 6,0 contendo o analito. Foi obtida sensibilidade de  $6,3 \mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$  e limite de detecção de  $0,013 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Outro exemplo foi discutido no trabalho desenvolvido por Tang e colaboradores [87]. Neste trabalho foi desenvolvido um eletrodo compósito a base de nanotubos de carbono e líquido iônico para a determinação de MP em amostras de solos e frutas. A caracterização voltamétrica foi realizada por voltametria cíclica e a determinação quantitativa por voltametria linear. A avaliação da potencialidade deste dispositivo foi feita pela eficiência na

recuperação de MP nas amostras enriquecidas com padrão de MP. O método proposto neste trabalho permitiu a obtenção de um limite de detecção de  $0,008 \mu\text{g mL}^{-1}$ , com um fator de recuperação de 91,2 a 101,7 %.

Com base das informações acima é clara a potencialidade apresentada pelos métodos eletroquímicos na determinação de MP. E pelo fato da existência de diversos trabalhos com tal aplicação, o MP apresenta-se bem caracterizado eletroquimicamente, o que o torna uma sonda eletroquímica para avaliação da potencialidade do EPCM em pré-concentrar e determinar MP. Onde tal avaliação é reforçada pelo fato do biochar apresentar elevada capacidade adsorativa (espontânea) de compostos orgânicos (pesticidas) como já discutido anteriormente.

O uso do biochar como modificador de eletrodos já foi investigado na determinação de íons inorgânicos [66,90], sendo que o seu uso no desenvolvimento de sensores para determinação de espécies orgânicas ainda é pouco reportado. Entretanto, diversos trabalhos reportam o emprego do biochar na remoção e/ou remediação de compostos orgânicos (pesticidas) em águas e solos [91-93]. Assim, é de extrema relevância a avaliação do biochar como modificador de eletrodos para a pré-concentração espontânea de MP e sua posterior determinação empregando técnicas de redissolução por voltametria de pulso diferencial.

## 1.5 IMOBILIZAÇÃO DE ÍON MERCÚRIO (II) PARA CONSTRUÇÃO DE UM SENSOR A BASE DE MERCÚRIO

Além da determinação direta de compostos inorgânicos e/ou orgânicos, outra alternativa seria utilizar materiais adsorventes como matriz para ancoramento de espécies com outras finalidades. Dentre estas, seria a utilização de materiais com elevada capacidade de pré-concentração como suporte de imobilização de mercúrio para posterior uso destes como eletrodos de trabalho.

A aplicação de eletrodos a base de mercúrio no desenvolvimento de sensores eletroquímicos ou metodologias eletroanalíticas deve-se as propriedades que o mercúrio apresenta, tal como a capacidade em formar amalgamas com diversos metais, o que permite a pré-concentração destes íons

no eletrodo de mercúrio, e também a melhora da transferência eletrônica em medidas eletroquímicas, uma vez que o mercúrio apresenta uma maior constante de escoamento de elétrons [94]. Estas propriedades eletroquímicas atribuídas ao mercúrio promovem as medidas empregando estes eletrodos baixa corrente residual e, principalmente, elevado sobrepotencial para a formação de hidrogênio, o que permite a determinação de espécies que apresentam potencial de redução muito negativo [95].

Em um trabalho recente Shahbazi e colaboradores [96] realizaram a determinação de íons zinco (II) e outros metais em amostras de leite e derivados. As análises foram realizadas por voltametria de redissolução anódica por pulso diferencial empregando como eletrodo de trabalho um eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE). Neste trabalho foi possível a quantificação de íons zinco na faixa de 369 a 571  $\mu\text{g kg}^{-1}$  nas amostras avaliadas.

Outro trabalho, que exemplifica a aplicação de eletrodos a base de mercúrio para a determinação de íons metálicos, foi proposto por Song e colaboradores [97], que desenvolveram um eletrodo impresso de carbono modificado com nanogotas de mercúrio para determinação simultânea de cádmio (II), chumbo (II) e zinco (II). Nesse trabalho, uma matriz de nanotubos de carbono de multiparedes/quitosana foi empregada como suporte de ancoramento às nanogotas de mercúrio. O sucesso do dispositivo proposto na determinação dos íons zinco foi investigada em função da capacidade de ancoramento das nanoestruturas de mercúrio no material modificador. Esta habilidade está atribuída ao elevado grau de funcionalização dos nanotubos de carbono que possuem a habilidade em adsorver os íons mercúrio (II).

Inúmeros materiais modificadores que apresentam a capacidade de adsorver íons metálicos, tal como o mercúrio, são empregados como suporte de ancoramento na construção de sensores. Dentro deste contexto, o biochar apresenta elevada potencialidade de atuar como tal matriz, podendo assim ser utilizado como substrato para a formação de nanogotas de mercúrio, e posteriormente ser utilizado na determinação e quantificação de íons zinco (II).

A importância da determinação de íons zinco (II) deve-se a sua relevância ambiental, pois consiste em um micronutriente fundamental em processos biológicos, como sua participação na estrutura de proteínas (mais de 200), na

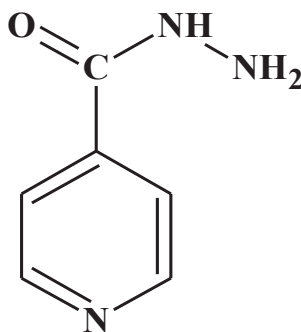
partição em diversas reações enzimáticas, na síntese de metalotioninas e em efeitos regulatórios [98-100]. Onde, pequenas quantidades de zinco são exigidas por organismos, aquáticos, por exemplo, para manter normalidade fisiológica e morfológica do crescimento, desenvolvimento e reprodução destes organismos, devem ser tomadas a partir alimentos e o do próprio ambiente [99]. A deficiência de zinco pode influenciar na regulação das funções biológicas, como por exemplo, do organismo humano, principalmente em crianças [100]. Em contrapartida, a elevada concentração de zinco pode ser prejudicial, podendo influenciar na atividade dos processos fisiológicos em que o zinco é envolvido [101].

A determinação de íons zinco (II) é realizada empregando diferentes técnicas de análise, sendo mais comumente empregadas por espectroscopia por absorção atômica [31,100,102], e técnicas voltamétricas empregando eletrodos a base de bismuto [103,104], e principalmente, mercúrio [96,105-107]

#### 1.6 ANCORAMENTO/FORMAÇÃO DE MEDIADORES REDOX NO DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ISONIAZIDA

A isoniazida (INZ) ou ácido 4-piridino carboxílico hidrazina consiste em um fármaco empregado no tratamento da tuberculose. Apresenta fórmula molecular  $C_6H_7N_3O$ , massa molar de  $137,139 \text{ g mol}^{-1}$  [108]. Sua forma de atuação no organismo ocorre pela ação bacteriostática ou bactericida para interferir no metabolismo de proteínas bacterianas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídios [109,110]. A estrutura molecular é observada na FIGURA 4.

FIGURA 4 – ESTRUTURA MOLECULAR DA ISONIAZIDA



FONTE: O autor.

Em alguns casos, o tratamento da tuberculose pode ser realizado com a ingestão de 300 mg por dia , durante 6 a 12 meses [111-113]. Cabe ressaltar que cerca de 75% da quantidade ingerida (dose oral) de INZ é excretada na urina em 24 horas, sendo que metade dessa quantidade se encontra na forma inalterada, ou seja, não metabolizada [113]. Desta maneira, uma quantidade considerável deste fármaco pode ser liberada em sistemas aquáticos, sem qualquer tipo de controle ou tratamento.

No entanto, a superdosagem de INZ pode apresentar elevada toxicidade ao ser humano. Isto foi observado em estudos que demonstraram que durante um longo tempo de administração do fármaco, pacientes desenvolveram lúpus eritematoso sistêmico e também houve relatos da ocorrência de acidentes de intoxicação e/ou até mesmo casos de morte, ocasionalmente devido à superdosagem [109,110]. Sendo assim, o desenvolvimento de métodos analíticos para a quantificação de INZ, tal como o controle de qualidade de medicamentos que são compostos pelo fármaco, é de extrema importância.

A determinação de INZ pode ser realizada por diferentes técnicas analíticas, como por exemplo, cromatografia [114,115], espectroscopia [116,117], técnicas voltamétricas [118-121], entre outros [122]. Dentre os diversos procedimentos empregados para a determinação do fármaco destaque para o uso de técnicas voltamétricas, que apresentam elevada aplicabilidade para a determinação de INZ, principalmente, pela variedade de modificadores de eletrodos utilizados, tais como mediadores redox, por exemplo, hexacianoferratos metálicos.

Um exemplo foi mostrado por Li e colaboradores [123], que desenvolveram um sensor voltamétrico para a determinação simultânea de hidrazina e isoniazida, empregando um sistema miniaturizado por injeção em fluxo. Neste trabalho o sensor foi obtido pela modificação de um eletrodo de pasta de carbono e nanotubos de carbono com hexacianoferrato de cobalto (CoHCF). A modificação foi feita por varreduras sucessivas de potencial em meio à solução contendo hexacianoferrato de potássio e íons cobalto (II). A utilização do sensor construído permitiu a determinação simultânea de hidrazina e isoniazida, pela separação dos picos das respectivas substâncias, o que não foi possível para o eletrodo não modificado. O que significa, que a capacidade de mediar reações

redox do CoHCF permitiu a determinação simultânea das duas espécies avaliadas.

Outro trabalho que mostrou a potencialidade destes para a determinação de INZ foi mostrado no trabalho desenvolvido por Oliveira e colaboradores [124]. Neste trabalho foi empregado um eletrodo impresso modificado hexacianoferrato de prata (AgHCF) para a determinação de INZ em sistema por injeção em fluxo. O análogo do azul da Prússia foi sintetizado sobre nanopartículas de prata, dispostas sobre o eletrodo impresso de carbono, pela aplicação de uma quantidade de corrente elétrica fixa em solução de hexacianoferrato de potássio. Sendo que, o sensor construído apresentou melhores limites de detecção e quantificação, melhor sensibilidade e também maior faixa linear de trabalho, comparado ao eletrodo impresso sem modificação. Desta forma, ficou novamente evidente a elevada potencialidade dos hexacianoferratos metálicos na determinação de INZ.

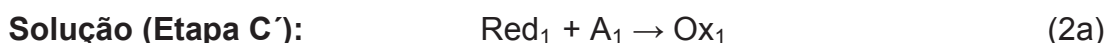
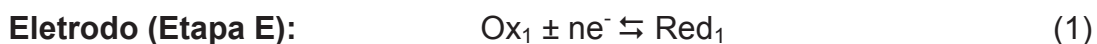
Os hexacianoferratos metálicos (MHCF) consistem em complexos metálicos, constituintes de uma classe de materiais inorgânicos polinucleares bem definidos que, do um ponto de vista funcional, se assemelham a polímeros condutores  $\pi$ -conjugados, zeólitas, e polímeros condutores redox [125-127].

Recentemente, hexacianoferratos metálicos têm sido aplicados em diversas tecnologias, incluindo armazenamento de carga, proteção contra corrosão, eletrocatalise, dispositivos eletrocromicos e desenvolvimento de sensores [125,128-130]. Assim, constituem uma importante subclasse de modificadores empregados na preparação de EQM, sendo o Azul da Prússia ou hexacianoferrato de ferro (FeHCF), talvez a espécie mais difundida [24,25,131-133].

No entanto, como já observado anteriormente, a aplicação dos MHCF não se restringe apenas ao azul da Prússia, há uma grande variedade de hexacianoferratos com outros metais no centro metálico ao invés do ferro, como por exemplo, níquel (NiHCF) [134], zinco (ZnHCF) [135], rutênio (RuHCF) [136], cobalto (CoHCF) [137], prata (AgHCF) [124], cobre (CuHCF) [138], entre outros [139,140]. Estes análogos apresentam estrutura muito similar ao azul da Prússia e também propriedades muito semelhantes, inclusive a capacidade de mediar reações redox [141].



A aplicação destes materiais como mediadores de reações redox é baseado em reações químicas acopladas, formando um mecanismo do tipo eletroquímico – químico catalítico (EC'). O processo EC' faz parte de um conjunto de reações que acontecem próximas à superfície eletródica. O mecanismo EC' pode ser representado pelas Equações 1, 2a e 2b. No eletrodo ocorre a etapa eletroquímica (E) e na solução adjacente a ele, a etapa química (C') [142,143]:



Onde  $\text{A}_1$  e  $\text{A}_2$  representam analitos que podem ser reduzidos ou oxidados, respectivamente. As reações químicas acopladas (Equações 1a e 2b) regeneram o reagente da reação de eletrodo (Equação 1) e estando o eletrodo polarizado adequadamente, o ciclo gerará um ganho de corrente anódica ou catódica [142,143].

Desta forma, a aplicação de um análogo, tal como o CuHCF, como um sensor voltamétrico para a determinação de INZ pode ser extremamente atraente. E diante da potencialidade do biochar em pré-concentrar íons cobre (II), o EPCM contendo íons cobre (II) pode ser empregado como matriz para a síntese eletroquímica do CuHCF, para posterior aplicação na determinação de INZ.

# **CAPÍTULO 2:**

## **OBJETIVOS**

## 2.1 OBJETIVO GERAL

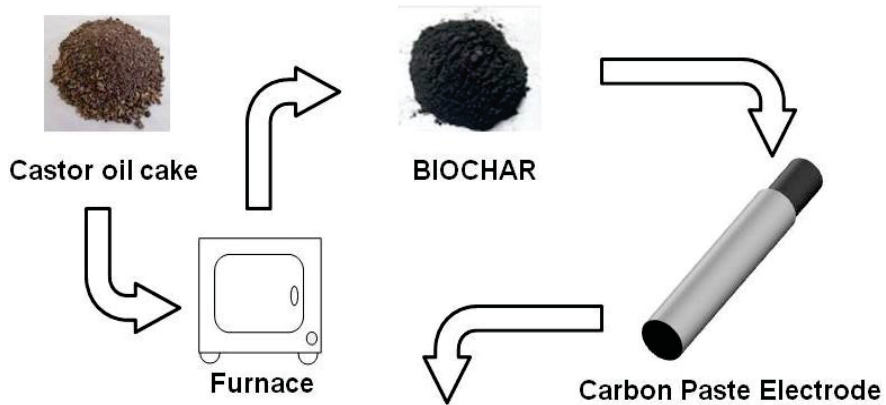
Construir e avaliar eletrodos de pasta de carbono, modificados com biochar, no desenvolvimento de sensores voltamétricos para a determinação de espécies de interesse.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

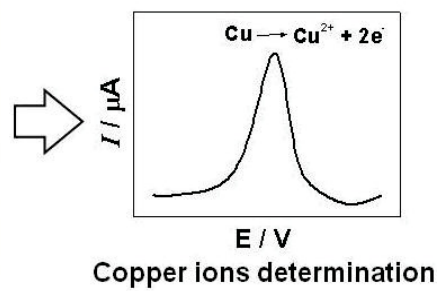
- i) Construir e caracterizar eletrodos de pasta de carbono modificados com biochar (EPCM);
- ii) Avaliar o comportamento voltamétrico de EPCM frente a determinação de íons cobre (II);
- iii) Desenvolver, aplicar e validar procedimentos voltamétricos desenvolvidos para a determinação e quantificação de íons cobre (II) em amostra de bebidas destiladas;
- iv) Avaliar a potencialidade do EPCM como amostrador passivo para compostos orgânicos (metil paration);
- v) Desenvolver uma metodologia analítica para a quantificação de metil paration em amostras de água de torneira;
- vi) Avaliar a capacidade do EPC modificados com biochar de pré concentrar íons mercúrio (II) e formar nanogotas de mercúrio (EPCM-Hg);
- vii) Caracterizar e avaliar o comportamento eletroquímico do EPCM-Hg para a determinação de íons zinco (II);
- viii) Desenvolver, aplicar e validar procedimentos voltamétricos desenvolvidos para a determinação de íons zinco (II), empregando o EPCM-Hg, em amostras comerciais de medicamentos;
- ix) Avaliar a capacidade do EPCM em ancorar mediadores redox (hexacianoferrato de cobre), a partir do EPCM modificado com íons cobre (II);
- x) Caracterizar e avaliar a potencialidade do EPCM modificado com hexacianoferrato de cobre para a determinação de isoniazida;
- xi) Desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de INZ, empregando como sensor o EPCM modificado com hexacianoferrato de cobre.

# **CAPÍTULO 3:**

**DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) POR EPCM  
MODIFICADO COM BIOCHAR: OBTENÇÃO,  
CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO**



Spirit drinks



## 3.1 MATERIAIS E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

## 3.1.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nos experimentos estão especificados na TABELA 1. As soluções foram sempre preparadas em água deionizada (milli Q).

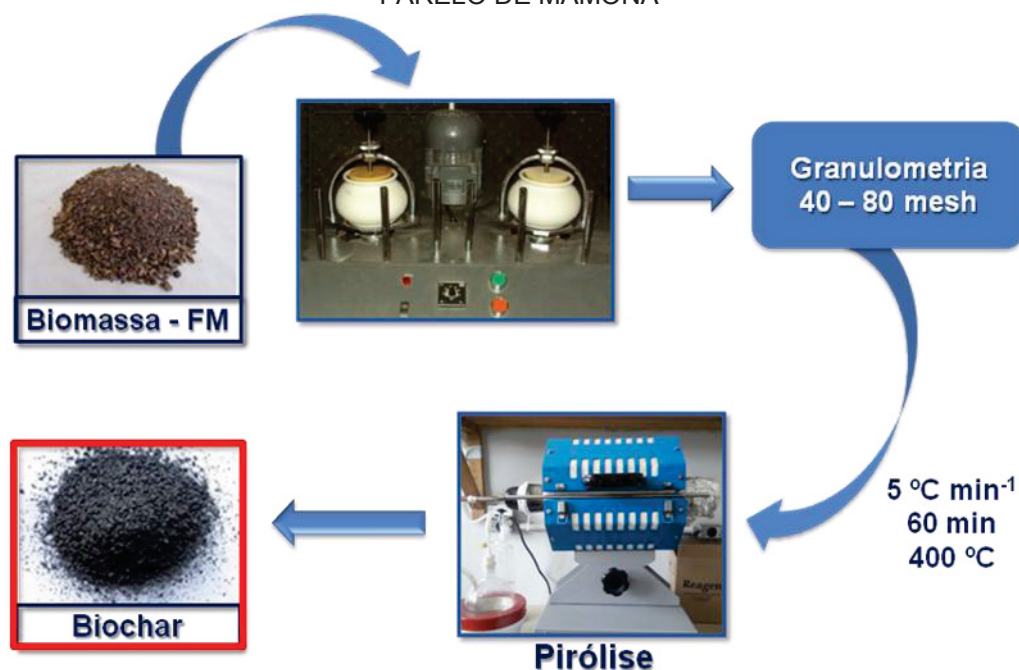
TABELA 1 – ESPECIFICAÇÃO DOS REAGENTES UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS

Reagente	Marca	Pureza / %
Grafite	Sigma Aldrich	99,8
Óleo mineral	Sigma Aldrich	99,3
Carvão ativado P.A.	Vetec	99,5
Acetato de sódio P.A.	Vetec	99,0 - 101
Ácido acético glacial P.A.	Neon	99,8
Acetato de amônio P.A.	Ecibra	99,0
Hidróxido de amônio P.A.	Vetec	99,0
Hidróxido de sódio P.A.	Merck	99,5
Ácido sulfúrico P.A.	Mallinckrodt	98,0
Acetato de mercúrio (II) P.A.	Synth	98,0
Padrão de nitrato de cobre (II)	Merck	-
Padrão de nitrato de zinco(II)	Merck	-
Éter dietílico P.A.	Synth	100
Ácido nítrico P.A.	Vetec	53,0
Ácido clorídrico P.A.	Carlo Erba	37,0
Brometo de potássio P.A.	Aldrich	99,9
Rifampicina	Aldrich	99,9
Isoniazida	Aldrich	99,9
Glicose	Aldrich	99,9
Ácido ascórbico	Aldrich	99,9
Ferricianeto de potássio	Vetec	99,0
Nitrato de potássio	Vetec	99,0

### 3.1.2 Preparação do Biochar

A metodologia para a obtenção do biochar foi realizada segundo Mangrich e colaboradores [144]. A amostra de biochar foi obtida pelo aquecimento de biomassa sob condições deficientes de oxigênio (pirólise) por um determinado tempo e temperatura controlada (400 °C). Foi empregado como matéria prima o farelo de mamona previamente moído em moinho de bolas, e separado em granulometria de 40 e 80 mesh. Nesta etapa o processo de pirólise foi realizado com o tempo de permanência de 60 min na temperatura final e razão de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup> em um forno EDG FT-40. O reator utilizado foi constituído por um tubo de vidro com dimensões de 31,5 cm de comprimento e 7,0 cm de diâmetro interno. As etapas da síntese do biochar a partir do farelo de mamona são exemplificadas na FIGURA 5.

FIGURA 5 – ETAPAS DE SÍNTESE DE BIOCHAR, OBTIDO A PARTIR DE BIOMASSA DE FARELO DE MAMONA



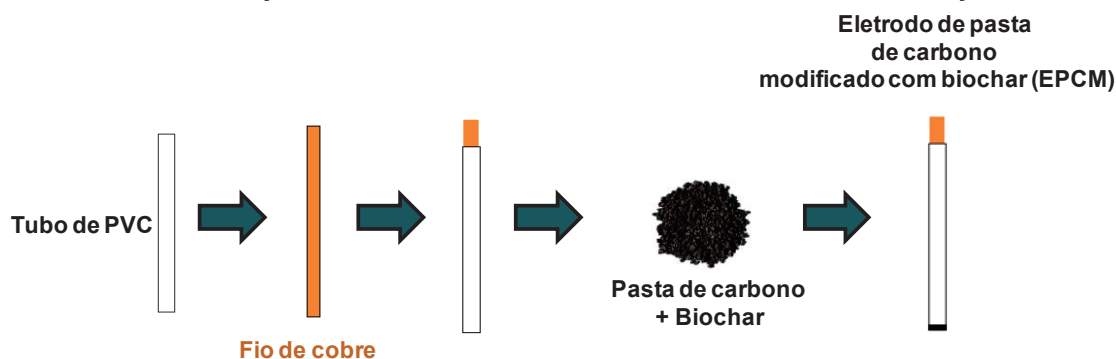
FONTE: Adaptado de Kalinke [145].

A parte experimental referente à preparação e caracterização do biochar foi efetuada no Laboratório de Processos e Projetos Ambientais (LabPPAm), coordenado pelo Professor Dr. Antonio S. Mangrich.

### 3.1.3 Preparação da Pasta de Carbono e Construção dos EPC Modificados com Biochar

Os eletrodos foram construídos segundo a metodologia utilizada em diversos trabalhos relatados na literatura [32,78]. Diferentes proporções (% m/m) de biochar foram utilizadas na preparação da pasta de carbono modificada, com a finalidade de estudar a influência da composição da pasta na resposta voltamétrica. Foram preparadas pastas de carbono modificadas empregando a seguinte composição: 25 % de óleo mineral (Aldrich), (75 % – X %) de pó de grafite (Aldrich) e X % do agente modificador, onde X é a porcentagem em massa do biochar. A pasta preparada, pela homogeneização dos seus componentes, foi embutida em um suporte, que consiste de um tubo de PVC ( $\Phi_{\text{int}} = 3,0$  mm), contendo no interior uma haste de cobre metálico, que serviu para compactação da pasta e como contato elétrico. A construção do EPCM é representada na FIGURA 6.

FIGURA 6 – ILUSTRAÇÃO REPRESENTATIVA DO PROCESSO DE CONSTRUÇÃO DO EPCM



FONTE: O autor.

### 3.1.4 Procedimento Experimental para a Realização das Medidas Voltamétricas para Determinação de Íons Cobre (II)

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato galvanostato ( $\mu$ Autolab Tipo III), gerenciado pelo programa GPES 4.9. Todos os estudos foram realizados empregando um conjunto de três eletrodos: eletrodo de trabalho (eletrodos de pasta de carbono modificado com biochar e não modificado), eletrodo de platina como contra-eletrodo e eletrodo de referência de



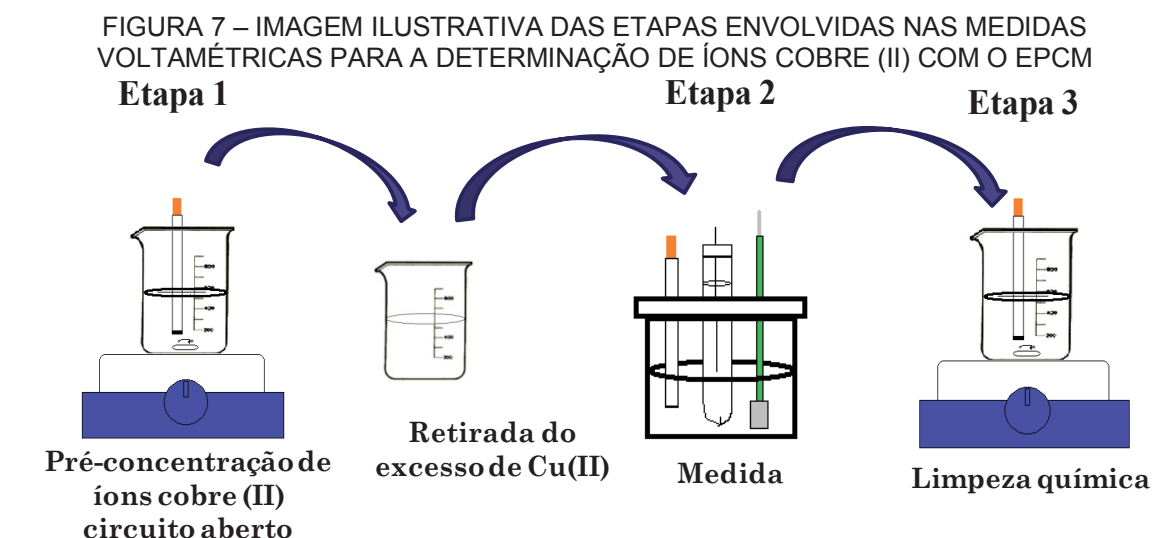
Ag/AgCl em solução aquosa de cloreto de potássio  $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ . O procedimento experimental para realização das medidas pode ser sumarizado em três etapas:

**Etapa 1:** Os EPCM foram colocados em uma solução contendo íons cobre (II), para a pré-concentração, em condições de potencial de circuito aberto. Imediatamente após a pré-concentração, o eletrodo foi gentilmente lavado para a remoção dos íons cobre (II) que não foram adsorvidos pelos grupos funcionais.

**Etapa 2:** O EPCM foi submetido a um potencial suficiente para promover a redução dos íons pré-concentrados na superfície do eletrodo. E posteriormente, o EPCM foi submetido à varredura anódica, em condições de voltametria de pulso diferencial.

**Etapa 3:** Após a Etapa 3, transferiu-se o eletrodo para uma solução de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ), para promover a remoção de íons que eventualmente não tenham sido retirados na etapa de redissolução.

As etapas citadas acima foram realizadas em soluções de acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  e acetato de amônio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , ajustados em diferentes valores de pH. Na FIGURA 7 tem-se a representação do esquema ilustrativo das etapas supracitadas.



FONTE: O autor.

A influência das condições de preparo, na estabilidade e reprodutibilidade dos EPCM construídos foi investigada, além disso, os parâmetros experimentais pertinentes para cada uma das etapas envolvidas no procedimento de pré-concentração e medida voltamétrica foram investigados e podem ser destacados como:

- Investigação da potencialidade do EPCM em pré-concentrar e determinar íons cobre (II);
- Avaliação estrutural e química do biochar e do EPCM;
- Avaliação do efeito de memória e da repetibilidade do sinal para medidas sucessivas;
- Otimização das condições de construção do EPCM e das medidas para a determinação de íons cobre (II);
- Desenvolvimento da metodologia analítica para determinação de íons cobre (II) em amostras de bebidas alcoólicas.

#### 3.1.4.1 Investigação da potencialidade do EPCM

Para justificar a utilização e avaliação do EPCM para a determinação de íons cobre (II) foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial para diferentes eletrodos na presença deste íon. Os eletrodos avaliados foram o eletrodo pasta de carbono não modificado (EPC), eletrodo de pasta de carbono modificado com 25 % (m/m) de carvão ativado (EPC-CA), e o eletrodo de pasta de carbono modificado com 25 % (m/m) de biochar (EPCM). As medidas foram realizadas conforme as etapas descritas no item 4.2, sendo que a etapa de pré-concentração foi realizada na presença  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de íons cobre (II) em solução de acetato de sódio com o pH ajustado em 7,0 durante 5 minutos.

As medidas voltamétricas foram realizadas em uma solução de acetato de sódio com pH ajustado em 5,0 com ácido acético PA na ausência de íons cobre (II), sendo aplicado um potencial fixo de -0,3 V, durante 60 segundos, varredura de potencial de -0,3 V à 0,3 V, amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms. A avaliação/confirmação da potencialidade do biochar realizou-se a comparação entre a intensidade de corrente para a oxidação do cobre

obtida para os três eletrodos avaliados, sendo a melhor resposta dada para o dispositivo que apresentou maior intensidade de corrente.

#### 3.1.4.2 Avaliação estrutural e química do biochar e da superfície do EPCM

A caracterização morfológica e estrutural do biochar foi realizada por B.E.T. (Brunauer, Emmett e Teller), análise elementar de CHNS-O e espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Para avaliar o tamanho, densidade das partículas e poros da amostra de biochar foi realizada a caracterização por B.E.T. Para esta análise a amostra é submetida ao processo de sorção e dessorção de nitrogênio gasoso, e com base nos valores obtidos pela isoterma de adsorção é possível estimar o tamanho médio das partículas da amostra, tal como o tamanho e volume de poros. As medidas foram realizadas utilizando um porosímetro Quantachrome, modelo Nova 1200, no Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC), localizado na UFPR. Para estimar a quantidade de oxigênio, carbono, nitrogênio, enxofre e hidrogênio, foi utilizado um analisador elementar CHNS-O Euro Vector, modelo EA3000, empregando o programa computacional *Callidus*. As análises foram realizadas na Central Analítica da UTFPR – Campus Pato Branco.

A fim de avaliar e determinar os grupamentos funcionais presentes no biochar e, conseqüentemente, a diferença estrutural entre outras amostras (grafite e carvão ativado (CA)) foram obtidos espectros na região do infravermelho para estas amostras. Para cada amostra, o material analisado foi homogeneizado (cerca de 1,0 % (m/m) com brometo de potássio (KBr), e posteriormente obtida uma pastilha para cada amostra. As medidas foram realizadas em um espectrômetro BOMEM, modelo MB100, com 64 varreduras (*scans*) na região de  $4.000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ . Realizadas no laboratório Multiusuários do Departamento de Química da UFPR.

A análise da composição química da superfície do EPCM na ausência e na presença de íons cobre (II) foi realizada no Centro de Microscopia da UFPR. As superfícies avaliadas foram obtidas pela simples remoção da pasta compactada e sua posterior aderência no suporte de medida com o auxílio de uma cola condutora de grafite. No entanto, a remoção da pasta não deve

comprometer a estrutura da mesma. Nestas medidas foi empregado um Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução FEI, modelo Quanta 450, com fonte de elétrons FEG (Field emission gun), que possui uma resolução de 1,0 nm acoplado com um Espectroscópio de Energia Dispersiva EDAX TEAMTM com resolução de 131 eV. Para a obtenção dos espectros foi necessário um tempo de acúmulo de 200 segundos e um total de 300 varreduras. As medidas foram realizadas com aceleração de voltagem de 20 kV. Neste estudo, cada elemento avaliado apresentará uma cor específica para a diferenciação das demais.

#### 3.1.4.3 Avaliação do efeito de memória e repetibilidade

Para o estudo do possível efeito de memória, após medidas sucessivas, foram obtidas medidas de voltametria de pulso diferencial ( $n = 20$ ) empregando o EPCM, obtido nas mesmas condições dos estudos anteriores. A etapa de pré-concentração foi realizada na presença  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de íons cobre (II) em solução de acetato de sódio com o pH ajustado em 7,0 com hidróxido de sódio durante 5 minutos. As medidas voltamétricas foram realizadas em uma solução de acetato de sódio com pH ajustado em 5,0 com ácido acético PA na ausência de íons cobre (II), sendo aplicado um potencial fixo de -0,3 V durante 60 segundos, varredura de potencial de -0,3 V à 0,3 V, amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms. Após a etapa de pré-concentração de íons cobre (II) foram realizadas as medidas sucessivas sem a renovação da superfície e também sem a realização de uma nova etapa de pré-concentração.

Após verificada o efeito de memória após medidas sucessivas foi adicionada uma etapa de limpeza química entre as medidas voltamétricas, a fim de promover a remoção total dos íons cobre (II) remanescentes. A limpeza consistiu na imersão do EPCM em uma solução de ácido sulfúrico durante um determinado tempo, na ausência de potencial elétrico aplicado. Sendo avaliada a eficiência de remoção dos íons cobre (II) em função do tempo de imersão do EPCM.

Para avaliar a repetibilidade do sinal voltamétrico para a oxidação do cobre entre diferentes medidas foram realizadas diferentes medidas de pulso

diferencial ( $n = 5$ ) nas mesmas condições, de pré-concentração e medida, com a mesma superfície e para diferentes superfícies do EPCM. A etapa de pré-concentração para cada medida consistiu na imersão do EPCM em solução de acetato de sódio com o pH ajustado em 7,0 com hidróxido de sódio durante 5 minutos contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de íons cobre (II). As medidas voltamétricas foram realizadas em uma solução de acetato de sódio com pH ajustado em 5,0 com ácido acético PA na ausência de íons cobre (II), sendo aplicado um potencial fixo de -0,3 V durante 60 segundos, varredura de potencial de -0,3 V à 0,3 V, amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms.

Para o estudo com uma mesma superfície, após cada medida o eletrodo foi submetido à etapa de limpeza química. Já para o estudo avaliando a repetibilidade entre diferentes superfícies foram construídos diferentes eletrodos com diferentes pastas de carbono modificadas com biochar. Para cada estudo os voltamogramas foram comparados e correlacionadas as intensidades de corrente de pico para a oxidação do cobre.

#### 3.1.4.4 Avaliação da composição da pasta de carbono para o EPCM

Para avaliar a melhor composição da pasta de carbono modificada com biochar foram construídos eletrodos com diferentes proporções dos componentes da pasta de carbono ( $n = 3$ ), na presença de íons cobre (II)  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Neste estudo, fixou-se a quantidade em massa de óleo mineral em 25 % e foi variada a proporção em massa de grafite e biochar, sendo estas de 75 – X % da proporção grafite/biochar. As porcentagens estudadas de biochar foram de 5, 15, 25 e 35 % (m/m), e os demais parâmetros foram mantidos constantes, conforme os estudos anteriores.

#### 3.1.4.5 Avaliação das soluções de pré-concentração e de medida

Estudou-se a influência de duas soluções em diferentes valores de pH no processo de pré-concentração de íons cobre (II), em condições de circuito aberto. Os meios estudados foram acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustados com ácido acético glacial em 3,0; 5,0 e 7,0, e acetato de amônio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com os

valores de pH ajustados em 8,0; 9,0 e 10,0 utilizando hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) PA. Todos os estudos foram realizados com concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  mol  $\text{L}^{-1}$  de íons cobre (II). Para o estudo de avaliação do melhor pH para a solução de leitura (etapa de redissolução) utilizou-se como eletrólito solução de acetato de sódio  $0,10$  mol  $\text{L}^{-1}$  com pH ajustado em 3,0; 5,0 e 7,0 (com ácido acético glacial) e acetato de amônio  $0,10$  mol  $\text{L}^{-1}$  com pH ajustado em 8,0 (com hidróxido de amônio). Para cada solução estudada foram obtidas triplicatas das medidas voltamétricas de pulso diferencial.

O estudo do tempo de pré-concentração de íons cobre (II) foi realizado pela imersão do EPCM em solução com o meio e pH previamente estabelecidos e sob agitação constante (sem a aplicação de potencial). Nesse estudo, foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial empregando tempos de 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 60 minutos em concentrações de  $1,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-5}$  mol  $\text{L}^{-1}$ .

#### 3.1.4.6 Avaliação dos parâmetros instrumentais

Para a avaliação do potencial de redução foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial, para íons cobre (II)  $1,0 \times 10^{-5}$  mol  $\text{L}^{-1}$ , variando os seguintes potenciais para a redução dos íons cobre (II) previamente pré-concentrados: 0,0; -0,1; -0,2; -0,3; -0,4 e -0,5 V. Após, foi avaliada a influência da variação do tempo de redução, foram estudados os tempos de 0; 10; 60; 120; 150; 180 e 240 s. Ambos os estudos foram realizados com a fixação dos demais parâmetros envolvidos. A influência da amplitude de pulso e o tempo de pulso foram estudados a fim de verificar qual melhor valor destes parâmetros implica em uma maior eficiência no processo de redissolução do cobre (II) previamente adsorvido. Primeiramente, estudou-se a influência da amplitude de pulso, os valores estudados foram de 10, 25, 50, 70, 90, 100 e 120 mV. Os estudos envolvendo a variação do tempo de pulso foram realizados com os seguintes tempos: 100, 150, 200, 250 e 300 ms.

### 3.1.4.7 Desenvolvimento da metodologia analítica para a determinação de íons cobre (II)

Após a otimização dos parâmetros experimentais e instrumentais, foi construída uma curva analítica empregando o EPCM em diferentes concentrações de íons cobre (II). A pré-concentração foi feita em potencial de circuito aberto pela adição de diferentes volumes de uma solução padrão contendo íons cobre (II) ( $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Os voltamogramas (triplicata) obtidos foram registrados e as intensidades das correntes de pico anódico foram correlacionadas com as respectivas concentrações de cobre (II).

Devido à presença de outros diferentes cátions metálicos na composição das bebidas alcoólicas foi realizada a etapa de pré-concentração na presença de íons cobre (II) concomitante a íons zinco (II), ferro (III), arsênio (II) e chumbo (II) (separadamente e em conjunto). As concentrações escolhidas para avaliar os potenciais interferentes foi baseada nos valores máximos estipulados pela Legislação Brasileira para Cachaça e Bebidas Alcoólicas, sendo ferro (III)  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ , zinco (II)  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ , arsênio (II)  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e chumbo (II)  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para avaliar se há interferência significativa no sinal do cobre (II) foram comparadas as intensidades dos processos para a oxidação do cobre na ausência e na presença dos respectivos compostos separadamente e combinados (multielementar). A concentração de íons cobre (II) empregada neste estudo foi também escolhida com base na quantidade máxima permitida pela legislação brasileira ( $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ ). Todas as soluções analisadas foram diluídas (1:10) para a realização das medidas, em virtude da necessidade em se trabalhar na faixa de concentração linear de íons cobre (II).

A quantificação de íons cobre (II) presentes em amostras de bebidas alcoólicas foram realizadas pelo método de adição de padrão. As amostras avaliadas foram Cachaça (Coluninha, Pirassununga e Guaiuvira), Vodka (Natasha), Gim (Seagers) e Tequila (Sauza). Antes da etapa de pré-concentração as amostras foram aquecidas para a redução do volume e, posteriormente, foram avolumadas em tampão amônio pH 9,0 (solução de pré-concentração). As amostras apresentam diferentes teores de íons cobre (II) e houve a necessidade

de uma adequação na proporção do volume final. As razões finais das amostras na etapa de pré-concentração foram (amostra original: solução de pré-concentração): Cachaça industrializada 1:1, Cachaças artesanais 1:10 e 1:25, Vodka 10:1, Gin 4:1 e Tequila 3:1.

A comparação dos resultados obtidos pelo método proposto foi realizada por espectroscopia empregando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) Thermo Scientific, modelo iCAP 6500, com visão axial, potência de radio frequência de 1300 W. A curva de calibração foi realizada com padrão interno de ítrio ( $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ) e 327,4 nm. Sendo que estas medidas foram realizadas no Laboratório do Grupo de Química Ambiental, da UFPR.

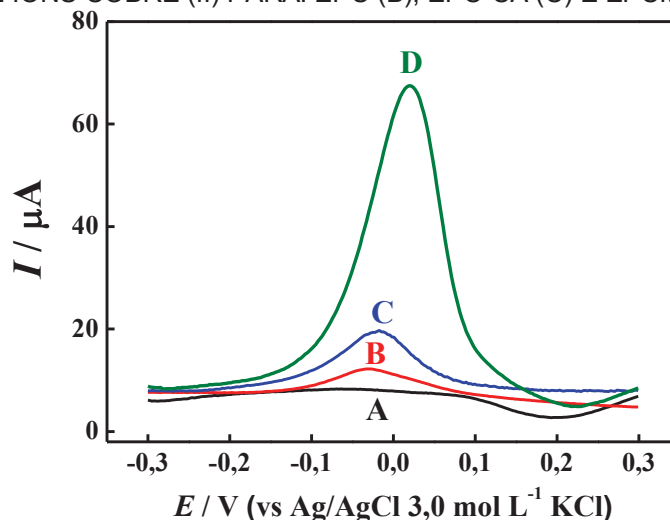
## 3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.2.1 Potencialidade Analítica do EPCM na Pré-concentração de Íons Cobre (II)

Inicialmente foi realizado um estudo para avaliar a potencialidade do modificador em pré concentrar íons cobre (II) visando evidenciar o desempenho do dispositivo proposto em relação a outros eletrodos. Foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial (FIGURA 8) para diferentes eletrodos após a pré-concentração na presença de íons cobre (II) ( $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), sendo estes: eletrodo de pasta de carbono não modificado (EPC), eletrodo de pasta de carbono modificado com carvão ativado (EPC-CA) e eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (EPCM). Neste estudo utilizou-se como solução de pré-concentração acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustado em 7,0 e como eletrólito solução de tampão acetato  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustado em 5,0. A pré-concentração de íons cobre (II) foi feita sob condição de circuito aberto durante 5 minutos, e as medidas voltamétricas foram realizadas nas seguintes condições: tempo de redução de 60 segundos em potencial de -0,3 V, varredura de potencial de -0,3 V à 0,3 V, amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms.



FIGURA 8 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM ANTES (A) E APÓS A ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM SOLUÇÃO CONTENDO  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DE ÍONS COBRE (II) PARA: EPC (B), EPC-CA (C) E EPCM (D)

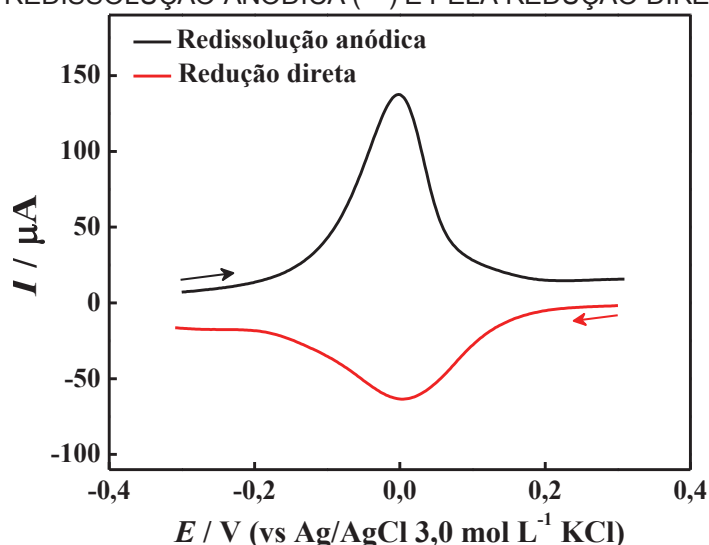


Com base nos voltamogramas apresentados na FIGURA 8 é possível verificar a ausência de processos faradáicos entre os potenciais de -0,1 V e 0,1 V para o EPCM sem a etapa de pré-concentração (A). O voltamograma obtido para o mesmo eletrodo submetido à etapa de pré-concentração de íons cobre (II), linha D, é caracterizado pela presença de um processo redox intenso e bem definido em potencial de 0,03 V. Esses resultados sugerem que o modificador não é eletroativo na região de potencial investigada, antes da pré-concentração, sendo que após essa etapa é possível verificar um sinal significativo para a reação de oxidação do cobre ( $\text{Cu} \rightarrow \text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^-$ ) [77]. Este processo faradáico é observado para os três eletrodos avaliados. No entanto, a intensidade do sinal de corrente obtido para o EPCM ( $62 \mu\text{A}$ ) é maior quando comparado aos sinais obtidos para o EPC não modificado ( $5,5 \mu\text{A}$ ) e o EPC-CA ( $12 \mu\text{A}$ ). A diferença entre os valores de corrente apresentada pelos diferentes dispositivos sugere a presença de mecanismos de interação mais eficazes para o EPCM com biochar do que aqueles apresentados pelo EPC e EPC-CA. Esse melhor desempenho em pré-concentrar íons cobre (II) pode ser explicado pela superfície do biochar apresentar uma grande quantidade de grupos funcionais, que são capazes de interagir (eletrostaticamente e/ou por complexação) com os íons metálicos, tal como os íons cobre (II) [146]. Esses grupos funcionais são constituídos basicamente de compostos orgânicos, como grupamentos amínicos e ácidos

carboxílicos, que em certas condições atribuem uma carga negativa à superfície do biochar [53].

Depois de verificada a potencialidade do biochar em pré-concentrar íons cobre (II) comparado a outros eletrodos avaliados, foram realizados estudos visando verificar qual estratégia poderia ser mais eficaz na etapa de medida e obtenção do sinal analítico. A primeira estratégia consistiu na determinação de íons cobre (II) por voltametria de redissolução anódica empregando uma etapa de redução antes da etapa de varredura, o mesmo procedimento empregado no estudo anterior. Já a segunda estratégia consistiu na determinação de íons cobre (II) pela varredura direta, no sentido negativo de potencial, na ausência de uma etapa prévia de aplicação de potencial, visando à obtenção do pico de redução dos íons cobre (II) a cobre metálico ( $\text{Cu}^0$ ). Para os dois tipos de determinação foram utilizados os mesmos procedimentos de pré-concentração de cobre (II): potencial de circuito aberto durante 5 minutos em uma solução de acetato de sódio com pH ajustado em 7,0 contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de íons cobre (II). Para a etapa de medida, utilizou-se também a mesma técnica voltamétrica: voltametria de pulso diferencial, com amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms. Os voltamogramas obtidos para as duas estratégias avaliadas podem ser observadas na FIGURA 9.

FIGURA 9 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O COBRE (II) PELA REDISSOLUÇÃO ANÓDICA (—) E PELA REDUÇÃO DIRETA (—)



Os voltamogramas observados na FIGURA 9 mostram que ambas as estratégias de determinação empregadas apresentaram o pico referente ao sinal de cobre: para a oxidação pelo método de redissolução anódica (—); e para a redução dos íons cobre (II) pela determinação direta (—). Entretanto, o sinal obtido para a medida empregando redissolução anódica apresentou uma melhor definição do pico, e também uma maior intensidade de corrente,  $I_{pa} = 1,27 \times 10^{-4} \mu\text{A}$ , em comparação ao pico de redução obtido pela determinação direta, que apresentou corrente  $I_{pc} = 5,60 \times 10^{-5} \mu\text{A}$ . A melhor resposta obtida pelo método de redissolução pode ser associada, principalmente, a etapa de aplicação de potencial anterior à etapa de medida. O potencial de -0,3 V, aplicado sobre o eletrodo de trabalho durante 60 segundos promove a redução dos íons cobre (II) presentes na superfície do eletrodo para posterior medida na etapa de redissolução anódica. Este potencial é capaz de promover a redução dos íons cobre (II) adsorvidos nos diferentes sítios de adsorção do biochar, assim, todas as espécies ficam mais suscetíveis a redissolução na etapa de oxidação.

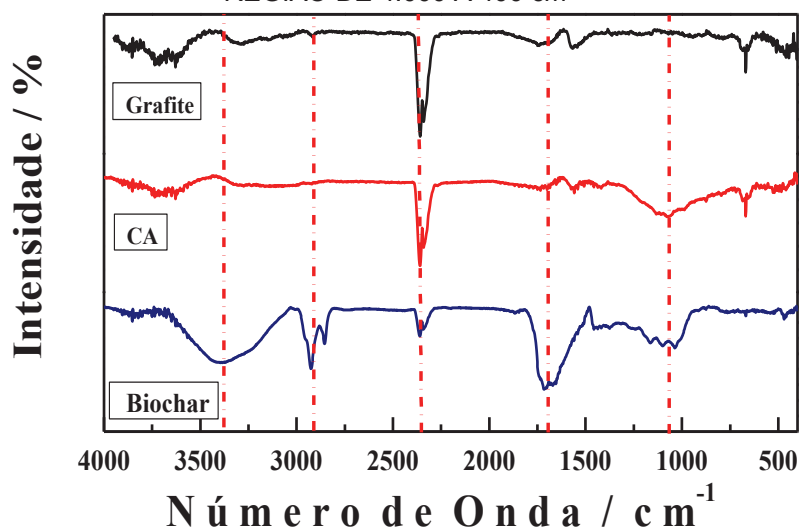
Diferentemente do processo de determinação catódica, pela simples varredura direta no sentido de potencial negativo, que pode não promover a redução da maioria dos íons cobre (II) pré-concentrados na superfície eletródica. Uma vez que, alguns íons podem estar mais fortemente ligados ao biochar do que outros, e assim, a varredura não é suficiente para promover a redução, diminuindo assim o sinal redox observado. Com isso, para os demais estudos realizados adotou-se a primeira estratégia de determinação, pela técnica de voltametria de redissolução anódica com uma etapa de redução anterior a redissolução.

### 3.2.2 Avaliação Estrutural e Química do Biochar e do EPCM

Evidenciada a melhora da resposta voltamétrica observada para o EPCM com biochar na determinação de íons cobre (II), foram realizados estudos de caracterização do EPCM, sobretudo do agente modificador, visando obter maiores informações a respeito deste material e de suas características físico-químicas. Inicialmente, a presença de grupamentos funcionais presentes no modificador pode ser avaliada por espectros na região do infravermelho (FTIR)

obtidos para a amostra de biochar. Como efeito comparativo foram também obtidos espectros de FTIR para as amostras de grafite e carvão ativado (CA). A FIGURA 10 apresenta os espectros obtidos para cada amostra analisada, com destaque para as principais bandas observadas na amostra de biochar correlacionadas (linha tracejada em vermelho) com as amostras de grafite e CA.

FIGURA 10 – ESPECTROS DE FTIR OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS DE GRAFITE, CARVÃO ATIVADO (CA) E BIOCHAR. CONDIÇÕES DE MEDIDAS: 64 VARREDURAS (SCANS) NA REGIÃO DE 4.000 A 400  $\text{cm}^{-1}$



Analisando o espectro obtido para amostra de biochar pode-se observar a presença de algumas bandas principais destacadas pelas linhas tracejadas vermelhas. A primeira banda em  $3.400 \text{ cm}^{-1}$  é resultado de vibrações de estiramento de grupamentos hidroxílicos. A banda em aproximadamente  $2.940 \text{ cm}^{-1}$  é proveniente de vibrações de grupos  $-\text{CH}_2$  e  $-\text{CH}_3$  de cadeias alifáticas longas. A região de  $2.400$  a  $2.200 \text{ cm}^{-1}$  é relacionada à absorção de  $\text{CO}_2$ . A banda em torno  $1.700 \text{ cm}^{-1}$  pode ser em função de vibrações de grupamentos carbonil ( $\text{C}=\text{O}$ ) de ésteres, mas também pode existir uma contribuição de vibrações de grupamentos amina. Por fim, são destacadas bandas em  $1.170 \text{ cm}^{-1}$  e  $1.030 \text{ cm}^{-1}$  correspondentes aos estiramentos de grupos  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  de ésteres alifáticos e grupos  $-\text{OH}$  de alcoóis, respectivamente [147].

O elevado grau de funcionalização da superfície do biochar, caracterizado pelo seu espectro de FTIR, não é observado para as amostras de CA e grafite. Assim, o melhor desempenho do eletrodo modificado com biochar em pré-concentrar íons cobre (II) pode estar relacionado a adsorção desses íons devido a

sua forte interação com grupamentos superficiais do biochar carregados negativamente, principalmente, grupamentos hidroxílicos e carboxílicos [61,148]. A elevada funcionalização da superfície do biochar, principalmente de grupos que contém oxigênio, pode ser evidenciada também pelos resultados obtidos a partir de medidas de análise elementar por CHNS-O. Tais resultados permitiram estimar as quantidades percentuais de: carbono = 48,3 % (m/m); hidrogênio = 5,2 % (m/m); nitrogênio = 11,5 % (m/m); enxofre = 13,6 % (m/m) e oxigênio = 21,4 % (m/m).

Medidas de área superficial obtidas pelo método de B.E.T. foram empregadas para avaliar a capacidade de adsorção física superficial das amostras, sendo que os resultados apresentaram uma área superficial de  $1,10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  para o biochar, enquanto que para o grafite e o carvão ativado foram verificados valores de área superficial superiores, de 7,10 e  $606 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente. Esses resultados suportam a proposta de que a eficiência em pré-concentrar e/ou adsorver íons cobre (II) está mais relacionada com a quantidade de grupamentos superficiais presentes no biochar, do que com a sua área superficial, sendo esta inferior aos demais materiais avaliados [143].

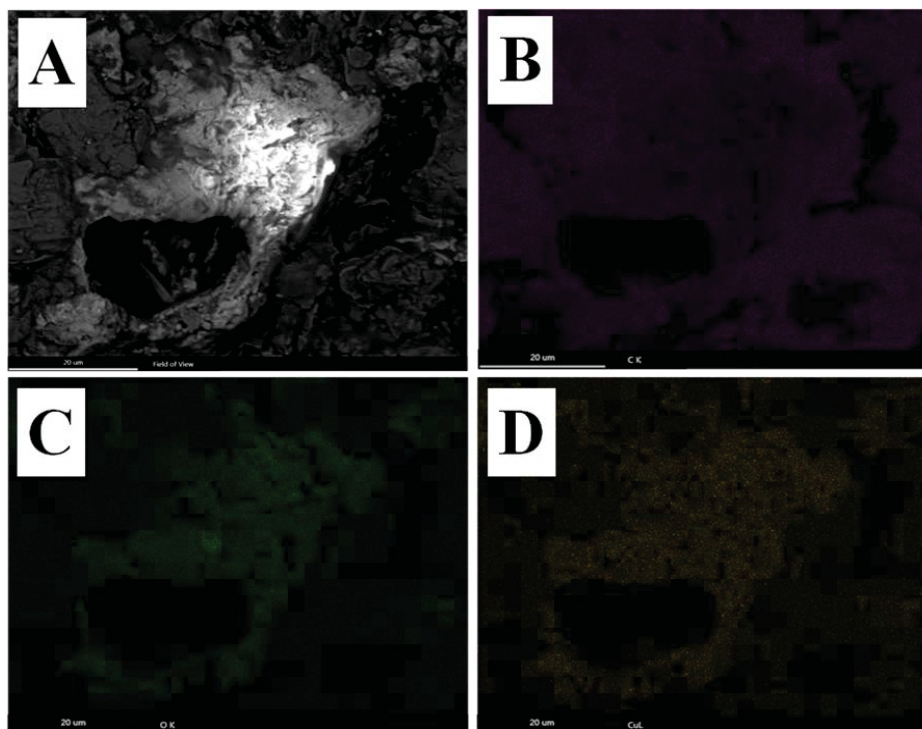
Posteriormente, para tentar elucidar o tipo de interação existente entre o biochar e os íons cobre (II) foi necessário investigar a estrutura superficial do biochar, para isso, foram obtidos espectros de EDS da superfície do EPCM na ausência de íons cobre (II). Este estudo consiste, basicamente, na irradiação de um laser sobre a área analisada e, conseqüentemente, a excitação dos elétrons internos dos elementos químicos contidos na amostra, podendo assim, identificar e diferenciar tais elementos existentes. A diferenciação dos elementos presentes na superfície do biochar foi feita pela atribuição de diferentes cores para cada elemento, obtendo-se assim um “mapa químico” da superfície. Esse mapeamento contribui para a identificação pontual da concentração de cada espécie distribuída sobre o biochar e as possíveis espécies adsorvidas superficialmente, como os íons cobre (II), e também como estas espécies estão adsorvidas. Foram monitorados dez elementos que possivelmente compõe a estrutura da pasta de carbono com biochar (sódio, cálcio, magnésio, potássio, fósforo, silício, alumínio, enxofre, oxigênio e carbono) da superfície mostrada na imagem de microscopia eletrônica de varredura.

Os espectros de EDS superficiais da pasta de carbono modificada (não mostrada) sugeriram a presença de todas as espécies avaliadas, com exceção do potássio, na região que compreende o biochar na pasta de carbono. Isto mostra a riqueza elementar do biochar, principalmente, quanto à presença de carbono, cálcio, silício, alumínio e oxigênio, que apresentaram as maiores quantidades. No entanto, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura relata que a adsorção de espécies inorgânicas no biochar, como os íons cobre (II), é relacionada à ligação com grupamentos oxigenados e sulfonados. Quanto a isto, com os resultados obtidos pelo mapeamento químico, destaca-se a existência de uma quantidade muito maior de oxigênio na superfície do biochar comparada a quantidade de enxofre. Isso sugere que a elevada capacidade do biochar em pré-concentrar íons cobre (II) está ligada a presença de grupamentos oxigenados, tais como grupamentos hidroxílicos, carboxílicos e lactônicos.

A fim de evidenciar e comprovar as interações dos íons cobre (II) com o biochar pelos grupamentos oxigenados foi realizado o mesmo estudo de mapeamento químico da superfície da pasta de carbono modificada com biochar na presença dos íons cobre (II), pré-concentrados espontaneamente. Para isso, o EPCM foi submetido à etapa de pré-concentração na presença de  $1,0 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de íons cobre (II) durante 10 minutos (potencial de circuito aberto) em uma solução de acetato de amônio com pH ajustado em 9,0 com hidróxido de amônio.

Da mesma maneira que no estudo anterior, foi selecionada uma área representativa da superfície da pasta de carbono modificada com biochar, neste caso, com a presença de íons cobre (II). Foi obtida uma imagem de MEV desta área (FIGURA 11-A) e, posteriormente, foram obtidos os espectros de EDS para carbono (FIGURA 11-B), oxigênio (FIGURA 11-C) e cobre (FIGURA 11-D).

FIGURA 11 – MAPEAMENTO QUÍMICO OBTIDO DE MEDIDAS DE EDS REFERENTES À IMAGEM DE MEV DA PASTA DE CARBONO MODIFICADA COM BIOCHAR NA PRESENÇA DE ÍONS COBRE (II) (A), PARA OS ELEMENTOS: CARBONO (B), OXIGÊNIO (C) E COBRE (D).



A área analisada foi escolhida em função de sua morfologia, que apresentou uma estrutura irregular característica do biochar, e também placas mais regulares, aparentemente de camadas de grafite. Sendo que na estrutura associada ao biochar, há a presença de uma região mais clara, o que característico para elementos mais densos, como por exemplo, íons cobre (II).

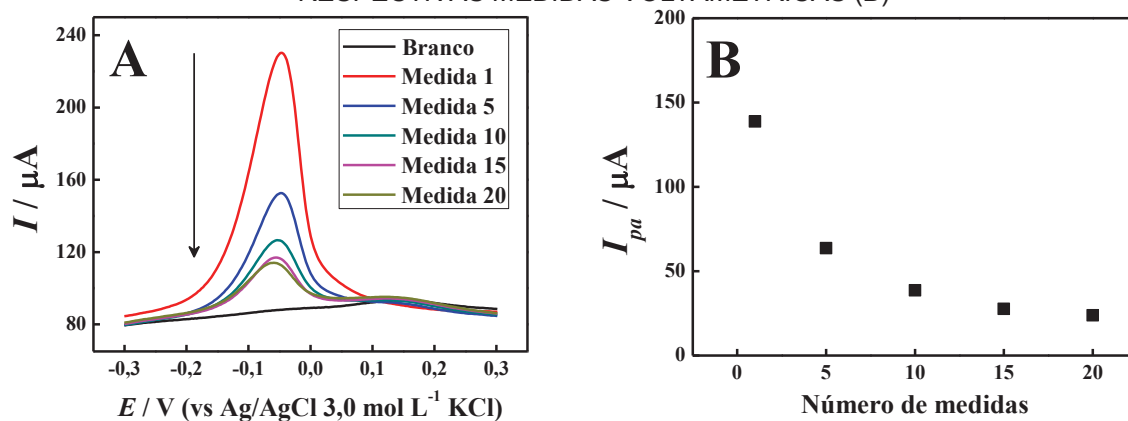
A presença do cobre pode ser confirmada pelo espectro de EDS (pontos em laranja) observado na FIGURA 11-D, cujo espectro foi obtido para a linha de energia atribuída ao Cu (Cu L). Os pontos em laranja são concordantes com a região mais clara observada na imagem de MEV da FIGURA 11-A, e também com os pontos em verde, observados na FIGURA 11-C, atribuídos à presença de oxigênio (O k). Esta sobreposição, entre os pontos verdes e laranjas, comprova a suposição inicial de que a imobilização dos íons cobre (II) acontece pela adsorção destes nos grupamentos oxigenados do biochar. Além disso, também é observada a presença majoritária de carbono (FIGURA 11-B), como esperado, tanto pela presença do grafite, quanto pela composição do próprio biochar.

Assim, o estudo do mapeamento químico da superfície da pasta de carbono modificada com biochar e cobre (II) ajudou a compreender a forma de interação superficial destes íons. Este resultado é também concordante com resultados encontrados na literatura, que propõe a adsorção de íons cobre (II) ao biochar pela presença de grupamentos funcionais oxigenados, nitrogenados e sulfonados [53]. A amostra de biochar de farelo de mamona, utilizada nesse trabalho, não apresenta quantidades significativas de nitrogênio e enxofre, contudo, o oxigênio é um elemento abundante na superfície desta amostra, sendo também o grande responsável pela interação com os íons cobre (II).

### 3.2.3 Efeito de Memória e Repetibilidade das Medidas

Foi verificado que após medidas sucessivas com o EPCM, sem qualquer etapa após a medida voltamétrica, como a renovação da superfície, ainda é possível verificar um pico de oxidação referente ao cobre. A etapa de pré-concentração foi realizada na presença de cobre (II) em concentração de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , posteriormente, foram realizadas 20 varreduras de pulso diferencial sucessivas e a intensidade de corrente de pico anódico ( $I_{pa}$ ) foi correlacionada com o número de medidas. Os gráficos para esse estudo podem ser observados na FIGURA 12-A e 12-B, respectivamente.

FIGURA 12 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA MEDIDAS SUCESSIVAS, APÓS PRÉ-CONCENTRAÇÃO COM  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DE COBRE (II) (A). CORRENTES DE PICO ANÓDICO OBTIDAS EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE MEDIDAS DAS RESPECTIVAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (B)

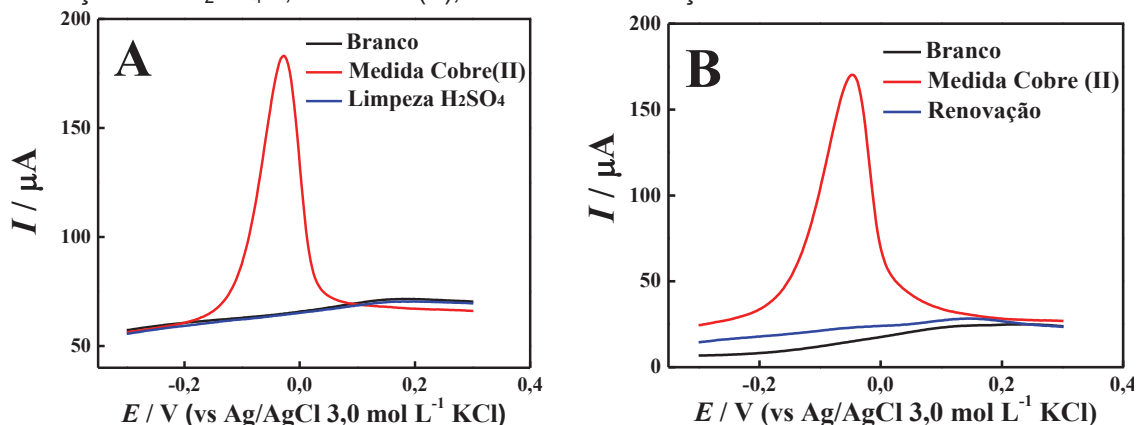




Com base nos voltamogramas e a curva de correlação na FIGURA 12, foi possível observar que apesar do decréscimo da intensidade de corrente, o pico de oxidação do cobre ainda persistiu mesmo após as 20 medidas consecutivas. O que indica que a simples varredura de potencial não é suficiente para a remoção completa dos íons cobre (II) previamente adsorvidos no biochar conferindo o chamado “efeito de memória” ao eletrodo. Com isso, há a necessidade de remoção dos íons cobre (II) remanescentes para não haver a sobreposição ou incremento de sinal em medidas posteriores. Para tal, duas estratégias foram avaliadas, a primeira consistiu na remoção química dos íons adsorvidos pelo simples contato da superfície eletródica com uma solução ácida explorando a competição entre os íons cobre (II) e os íons  $H^+$ . A segunda estratégia adotada foi a remoção física dos íons cobre (II) pelo polimento da superfície eletródica.

A avaliação da limpeza química da superfície do EPCM foi feita pela comparação entre os perfis voltamétricos na ausência de íons cobre (II) (branco), após a pré-concentração de íons cobre (II) e a medida do EPCM após a etapa de limpeza. A etapa de limpeza foi feita pela imersão do EPCM após a medida em solução de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ )  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em condição de potencial de circuito aberto durante 30 segundos, sob agitação constante. Para a avaliação da segunda estratégia de limpeza da superfície eletródica também foram comparados os perfis voltamétricos de três diferentes medidas. Os gráficos resultantes da etapa química e física estão representados na FIGURA 13.

FIGURA 13 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS ANTES E APÓS A PRÉ-CONCENTRAÇÃO DO EPCM COM ÍONS COBRE (II), E APÓS A ETAPA DE LIMPEZA: EM SOLUÇÃO DE  $H_2SO_4$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  (A); E PELA RENOVAÇÃO DA SUPERFÍCIE ELETRÓDICA (B)

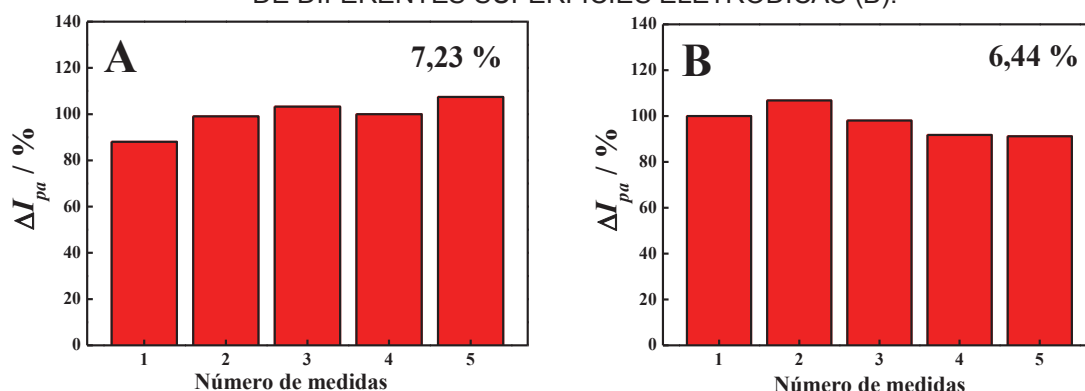


O voltamograma referente à medida na ausência da etapa de pré-concentração (branco) não apresentou nenhum processo faradáico, como esperado, uma vez que os componentes do eletrodo não são eletroativos nestas condições. O voltamograma obtido para a medida do EPCM após a pré-concentração de íons cobre (II) apresentou um pico de oxidação próximo ao potencial de 0,0 V (oxidação do cobre), como já observado nos estudos anteriores. O perfil voltamétrico para o EPCM depois do tratamento químico também não apresentou o pico de oxidação para o cobre, o que indica que não há mais íons remanescentes após a limpeza. Além disso, o perfil desta última medida é muito similar ao perfil obtido para a medida do branco, o que é um indício de que a superfície do EPCM não sofreu nenhuma alteração, se mantendo a mesma após a etapa de limpeza. Outro dado importante é o baixo tempo da etapa de limpeza (30 segundos), o que não afeta a frequência analítica das medidas.

Como no estudo anterior, o voltamograma obtido para o EPCM após a etapa de limpeza por remoção física da superfície também não apresentou nenhum processo faradáico como na medida para o branco. A ausência do pico mostra a eficácia do processo de limpeza do eletrodo, uma vez que, houve a remoção completa dos íons cobre (II).

Visando avaliar a estabilidade dos sinais faradáicos para a oxidação do cobre foram realizadas sucessivas medidas (5 medidas) de DPV utilizando uma mesma superfície eletródica (repetibilidade) e diferentes eletrodos (reprodutibilidade), em solução de pré-concentração de tampão acetato pH 5,0 contendo  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de íons cobre (II). Para tal, foram adotadas as seguintes condições de medida: potencial de deposição de -0,3 V, tempo de deposição de 60 s, amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms. As intensidades de corrente do processo anódico obtidas para cada voltamograma foram comparadas entre si e a variação percentual dos valores de intensidade de corrente permitiram calcular o desvio padrão entre as medidas de cada estudo, conforme apresentado na FIGURA 14.

FIGURA 14 – COMPARAÇÕES ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO ANÓDICO OBTIDAS COM O EPCM PARA 5 MEDIDAS DE UMA MESMA SUPERFÍCIE ELETRÓDICA (A) E DE DIFERENTES SUPERFÍCIES ELETRÓDICAS (B).

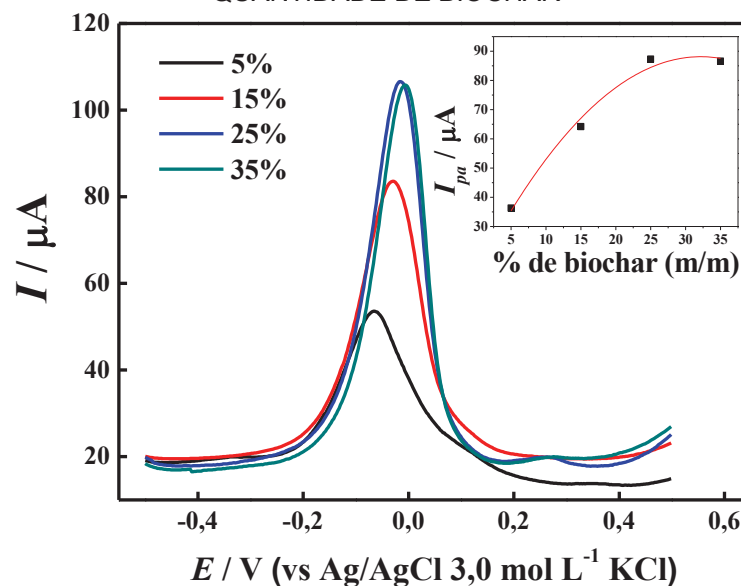


Com base nos resultados apresentados na FIGURA 14 foram obtidos valores de desvio relativo para o estudo de repetibilidade de 7,23 e 6,44 % para a reprodutibilidade da superfície. Esses resultados sugerem que o processo de confecção dos eletrodos é reprodutível, e também que a mesma superfície pode ser utilizada para diferentes medidas sem alteração da intensidade de corrente para uma mesma concentração de íons cobre (II), pela simples limpeza química da superfície. Isso significa que todas as medidas, independente da superfície eletródica, são reprodutivas e confiáveis para a realização dos estudos de otimização e aplicação do método eletroanalítico. Assim, para os estudos posteriores essa estratégia foi adotada, principalmente, pela praticidade no procedimento de limpeza e maior economia de material eletródico empregando a estratégia de limpeza química com  $H_2SO_4$ .

#### 3.2.4 Avaliação da Composição de Biochar na Pasta de Carbono

Para avaliar a influência da quantidade de biochar na resposta voltamétrica do EPCM para a determinação de íons cobre (II), foram construídos eletrodos variando a porcentagem em massa de grafite e de biochar, sendo estes de 5, 15, 25, e 35 % (m/m). A quantidade de óleo mineral foi fixada em 25 % (m/m). Os eletrodos confeccionados foram submetidos à pré-concentração em circuito aberto de íons cobre (II)  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Os resultados obtidos para este estudo são apresentados na FIGURA 15.

FIGURA 15 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS COM EPCM CONTENDO DIFERENTES COMPOSIÇÕES DE BIOCHAR NA PASTA DE CARBONO. NO DETALHE: CORRELAÇÃO ENTRE AS CORRENTES DE PICO OBTIDAS EM FUNÇÃO DA QUANTIDADE DE BIOCHAR



Com base nos voltamogramas obtidos na FIGURA 15 é possível observar que ocorre o aumento da intensidade de corrente de pico do processo anódico em função do aumento da quantidade de modificador na pasta de carbono. Partindo da premissa de que o maior grau de pré-concentração dos íons cobre (II) é dado em função dos grupos funcionais presentes na superfície do biochar, é esperado que quanto maior a quantidade de biochar na pasta de carbono, maior a quantidade de íons cobre (II) adsorvidos, conseqüentemente, maior a intensidade de corrente de pico observada. Porém, não é observado aumento da intensidade de corrente para quantidades superiores (35 %) ao valor obtido para o eletrodo com 25 % de biochar, o qual obteve a melhor resposta em função da corrente. A “estabilização” da intensidade de corrente de pico para o eletrodo com 35 % de biochar comparado ao eletrodo com 25 %, possivelmente se deve ao equilíbrio entre a quantidade de íons cobre (II) e a quantidade de sítios de adsorção do biochar ser atingido para quantidades superiores a 25 % m/m de biochar. Assim, a proporção de pasta de carbono modificada estabelecida para os próximos estudos foi de: 25 % de óleo mineral, 50 % de grafite e 25 % de biochar.

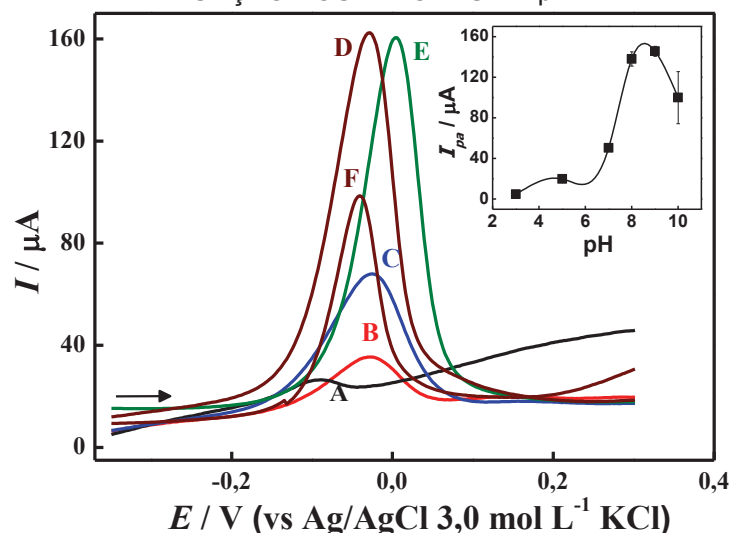
### 3.2.5 Avaliação das Soluções de Pré-concentração e de Medida

Após a escolha da melhor composição de pasta de carbono foi avaliado o melhor valor de pH da solução de pré-concentração. Neste estudo o EPCM foi submetido à pré-concentração em soluções com pH ajustado entre 3,0 e 10,0 contendo  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de íons cobre (II). Para as medidas entre os valores de pH 3,0 e 7,0 foi empregada solução de acetato de sódio  $0,10$  mol L<sup>-1</sup> com os respectivos valores de pH ajustados com ácido acético. Para valores de pH superiores a 7,0 há a presença de uma maior quantidade de íons OH<sup>-</sup> o que pode contribuir de forma negativa para o processo de pré-concentração [61], uma vez que a quantidade de íons OH<sup>-</sup> é suficiente para a formação do precipitado de hidróxido de cobre (II) (Cu(OH)<sub>2</sub>) (K<sub>ps</sub> =  $4,8 \times 10^{-20}$ ) [149], diminuindo a quantidade de íons cobre (II) disponíveis para a adsorção.

Nesse sentido, a alternativa consistiu na utilização de um tampão amônio composto por hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) e acetato de amônio (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) em valores de pH de 8,0; 9,0 e 10,0. O uso de tampão amoniacal além de desprotonar os grupos funcionais na superfície do biochar pela elevada quantidade de íons OH<sup>-</sup>, faz com que ocorra a complexação dos íons cobre (II) pela amônia (NH<sub>3</sub>), formando o complexo tetraamincobre ([Cu(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sup>2+</sup>), que possui constante de formação absoluta (K<sub>f</sub>) de  $2,63 \times 10^{57}$  [149]. Esse complexo é catiônico e solúvel em água permitindo, assim, que o cobre (II) fique disponível para ser adsorvido e/ou pré-concentrado na superfície do biochar.

A etapa de pré-concentração foi realizada durante 5 minutos e as medidas voltamétricas foram realizadas por pulso diferencial empregando tempo de redução de 60 segundos, varredura de potencial de -0,3 V a 0,3 V, amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms. Os voltamogramas obtidos para todos os valores de pH estudados e as respectivas intensidades de corrente, obtidas em triplicata, podem ser observados na FIGURA 16.

FIGURA 16 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS COM EPCM PARA  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DE ÍONS COBRE (II) EM SOLUÇÕES COM VALORES DE pH AJUSTADOS DE 3,0 A 10. NO DETALHE: CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO EM FUNÇÃO DOS VALORES DE pH

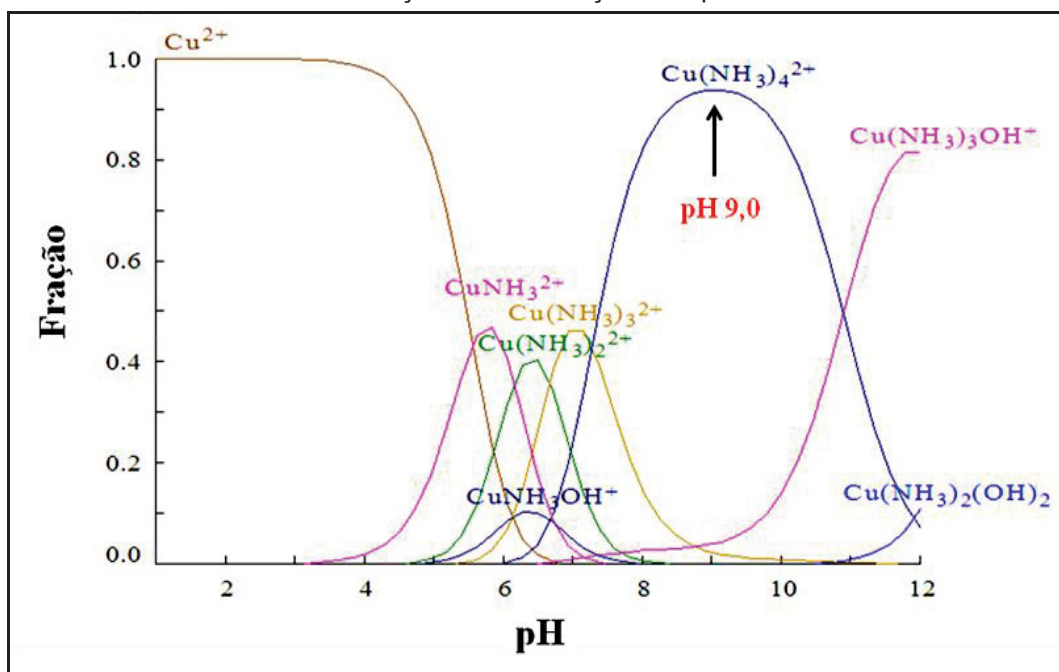


Os resultados observados na FIGURA 16 mostram uma tendência no aumento da corrente de pico com o aumento do valor de pH da solução de pré-concentração. Essa tendência confirma a dependência da quantidade de íons cobre (II) pré-concentrados com a concentração de íons  $\text{OH}^-$  em solução. O aumento do valor de pH influencia na desprotonação dos grupos funcionais presentes no biochar aumentando o número de sítios carregados negativamente e, conseqüentemente, uma maior quantidade de íons cobre (II) podem ser adsorvidos. Assim, quanto maior o valor pH maior será a capacidade de pré-concentração do eletrodo, atingindo uma eficiência máxima de pré-concentração em  $\text{pH} = 9,0$ . Em valores de pH acima de 10, a menor eficiência pode estar atribuída a uma quantidade muito elevada de íons  $\text{OH}^-$ , mesmo na presença de  $\text{NH}_3$ , suficiente para a hidrólise do complexo de cobre (II) com amônia.

O gráfico de distribuição de espécies para íons cobre (II) nas condições avaliadas, como observado na FIGURA 17, exemplifica melhor a diferença na capacidade do biochar em adsorver íons cobre (II) com a variação do pH da solução. Para soluções mais ácidas (até o  $\text{pH} 4,0$ ) há predominantemente íons  $\text{Cu}^{2+}$ , e a partir deste valor há o decréscimo destas espécies e o surgimento de uma mistura complexos de amônia e íons cobre (II),  $\text{Cu}(\text{NH}_3)^{2+}$ ,  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_3^{2+}$ ,  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{2+}$ ,  $\text{CuNH}_3\text{OH}^+$  e  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ , até o  $\text{pH} 9,0$ . Para valores de pH superiores

a 9,0 é observado o decréscimo do complexo  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$  e o início das espécies provenientes da hidrólise do complexo,  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_3\text{OH}^+$  e  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2(\text{OH})_2$ .

FIGURA 17 – DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE COBRE EM SOLUÇÃO AMONICAL EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO DO pH



A eficiência da capacidade adsorptiva do EPCM na pré-concentração de íons cobre (II) pode estar relacionada com dois fatores principais, um maior grau de desprotonação da superfície do biochar e a forma que os íons cobre (II) se encontram em solução, sendo melhor atraídas quando apresentam maior densidade de carga positiva. Considerando tais afirmações seria esperada a melhor eficiência para valores de pH maiores, onde há a maior desprotonação dos grupos funcionais presentes no biochar. No entanto, para pH acima de 9,0 há o efeito de hidrólise do complexo de cobre (II), formando espécies com menor ou sem carga (ex:  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_3\text{OH}^+$  e  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2(\text{OH})_2$ ). Isto diminui a capacidade de adsorção do cobre e, conseqüentemente, a diminuição do sinal voltamétrico. Assim, a melhor condição para a pré-concentração de íons cobre (II) é obtida para a solução de acetato de amônio com o pH ajustado em 9,0.

Depois de escolhidas as condições de pré-concentração (tampão amoniacal, pH 9,0), foi avaliada a influência do pH da solução de leitura (medida voltamétrica) na resposta voltamétrica. Foram avaliados como eletrólitos para etapa de redissolução: acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustado com ácido

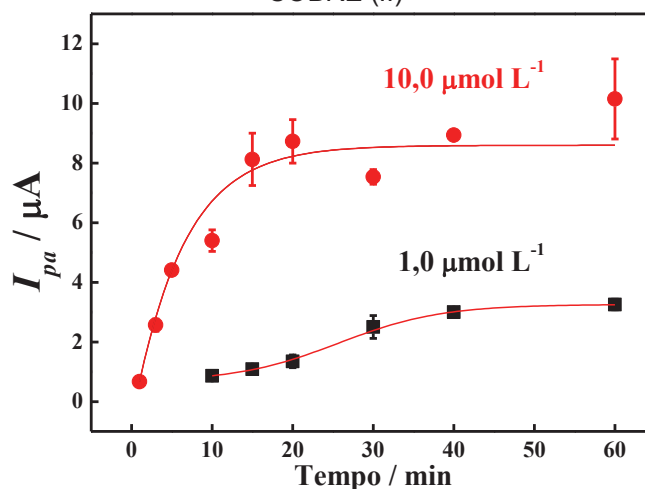
acético glacial em valores de 3,0; 5,0 e 7,0, e tampão amoniacal pH 8,0. Foi observada uma tendência no aumento da intensidade de corrente com a diminuição dos valores de pH da solução de medida. Esta tendência sugere que o aumento de corrente está diretamente relacionado com a quantidade de íons  $H^+$  em solução. Provavelmente, esses íons protonam a superfície do eletrodo, durante o processo de redissolução, que competem com os íons cobre (II) facilitando a redissolução do analito oxidado.

O aumento da corrente de pico anódico ocorreu entre o pH 8,0 até o máximo com pH 5,0 e uma diminuição para valores de pH menores. Um decréscimo da intensidade de corrente de pico foi observada em pH igual a 3,0, provavelmente, pelo fato do eletrodo contendo íons pré-concentrados ficar imerso nessa solução por alguns instantes antes da aplicação do potencial de redução. Esse tempo, de 5 a 10 segundos, pode ser determinante para a remoção parcial de íons cobre (II) em um meio com acidez mais elevada (competição de íons  $H^+$  com íons cobre (II)) o que promove a diminuição do sinal faradáico. Sendo assim, o eletrólito escolhido foi tampão acetato  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustado em 5,0.

Em seguida, foi realizado o estudo para avaliar o efeito do tempo de pré-concentração de íons cobre (II), em concentrações de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , em condição de circuito aberto. O emprego de concentrações inferiores à utilizada nos estudos anteriores deve-se ao fato da necessidade de otimizar um tempo que possua a capacidade de determinar íons cobre (II) em baixos limites de detecção. Foram variados os tempos de pré-concentração de 1: 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 60 minutos. As curvas de correlação entre as intensidades de corrente de pico com o tempo de pré-concentração para as duas concentrações pode ser observada na FIGURA 18.



FIGURA 18 – CORRELAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO E O TEMPO DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM CONCENTRAÇÕES DE  $1,0 \times 10^{-6}$  E  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> DE ÍONS COBRE (II)

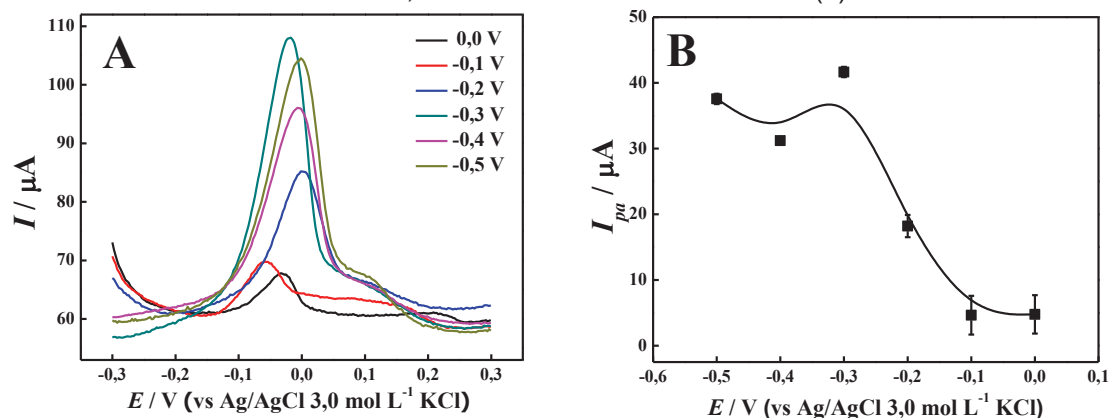


Foi observada uma tendência no aumento da intensidade corrente de pico anódico em função do aumento do tempo de pré-concentração, em ambas as concentrações. O aumento do sinal está diretamente relacionado com o tempo de contato da superfície eletródica com os íons cobre (II) em solução, ou seja, quanto maior o tempo de pré-concentração, maior será a quantidade de cobre (II) adsorvido na superfície do eletrodo. Contudo, o aumento da intensidade de corrente é observado até 15 minutos para a solução contendo  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e 30 minutos para a solução contendo  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> de íons cobre (II). Para os tempos maiores que estes não há aumento da intensidade de corrente, que pode ser entendido como um estágio estacionário entre adsorção e dessorção de íons cobre (II), atingindo uma condição de equilíbrio na superfície do eletrodo, e assim o uso de tempos maiores é desnecessário. O tempo de equilíbrio não é o mesmo para as concentrações estudadas e essa diferença está relacionada com a quantidade de íons disponíveis em solução para a pré-concentração, ou seja, quanto menor a quantidade de íons cobre (II) em solução maior o tempo necessário para se atingir o equilíbrio. Embora a faixa de resposta linear possa ser modulada em função do tempo de pré-concentração, de acordo com os resultados apresentados, optou-se por realizar as demais otimizações empregando um tempo de 15 minutos para a etapa de pré-concentração com  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de íons cobre (II).

### 3.2.6 Avaliação dos Parâmetros Instrumentais

As medidas voltamétricas realizadas por redissolução anódica, neste trabalho, são realizadas em duas etapas. A primeira consiste na redução dos íons cobre (II) previamente pré-concentrados na superfície do EPCM mediante a aplicação de um potencial durante um determinado período de tempo. Para avaliar a influência do potencial de redução aplicado foram realizadas medidas empregando diferentes potenciais na etapa de redução de íons cobre (II): -0,5; -0,4; -0,3; -0,2; -0,1 e 0,0 V. Os demais parâmetros foram fixados: tempo de pré-concentração de 15 min; solução de acetato de amônio pH 9,0 contendo  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de íons cobre (II); tempo de redução de 60 s; amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms. Foram obtidos voltamogramas ( $n = 3$ ) para os diferentes potenciais, e as intensidades de correntes de pico foram correlacionadas, como observado na FIGURA 19.

FIGURA 19 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE E O POTENCIAL DE REDUÇÃO PARA O EPCM, EM  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE ÍONS COBRE (II)



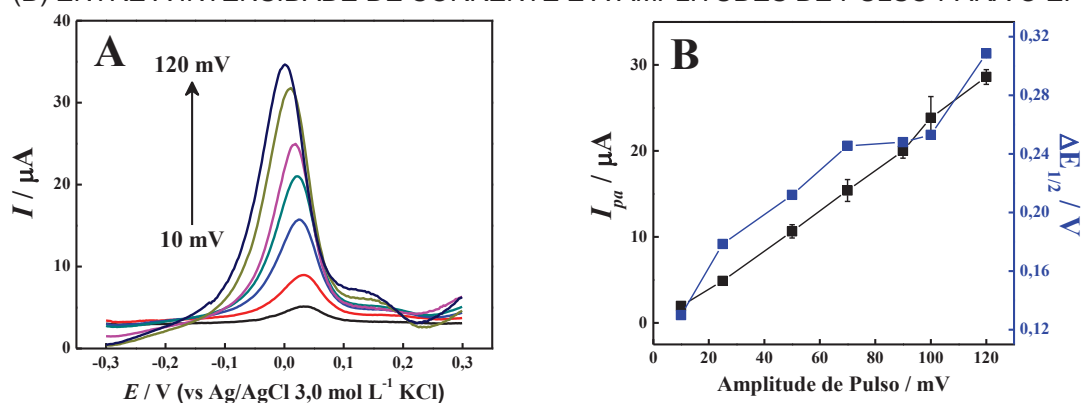
Analisando os gráficos da FIGURA 19 é possível observar uma tendência no aumento da intensidade de corrente de pico anódico à medida que o potencial de redução fica mais negativo, entre 0,0 V e -0,3 V. O aumento da corrente é obtido pela maior quantidade de cobre oxidado, quando empregado potenciais mais negativos, que é proporcionado pela maior polarização negativa do eletrodo, tendendo a reduzir com maior eficiência os íons cobre (II) na superfície eletródica. A melhor resposta foi obtida para o potencial aplicado de -0,3 V. Para valores mais negativos que -0,3 V não foram observados ganhos de sinal, o que pode ter

ocorrido pela total redução dos íons cobre (II) a partir deste potencial, ou também pode ser resultado da redução de outras espécies presentes no meio eletrolítico, como de íons  $H^+$ , influenciando na eficiência da redução dos íons de interesse. Assim, para todos os outros estudos foi empregado o potencial de redução de -0,3 V.

Com isso, foi avaliado o tempo de aplicação deste potencial. Neste estudo foram variados os valores de tempo de redução de 0 a 240 s. Foi verificado o máximo de redução com 180 s, provavelmente, pelo fato de não haver mais espécies disponíveis a serem reduzidas na superfície eletródica, mesmo para tempos maiores. Portanto, a maior eficiência na etapa de redução eletroquímica dos íons cobre (II) foi obtida aplicando -0,3 V durante 180 segundos.

Em seguida, foi estudada a etapa de redissolução, avaliando a influência dos parâmetros da técnica de voltametria de pulso diferencial: amplitude e tempo de pulso. Tais parâmetros foram avaliados a partir de medidas de pulso diferencial variando os seguintes valores de amplitude de pulso: 10, 25, 50, 75, 90, 100 e 120 mV. Para esse estudo empregou tempo de pulso de 200 ms. Os voltamogramas obtidos são apresentados na FIGURA 20-A e a curva de correlação de intensidade de corrente de pico em função da amplitude na FIGURA 20-B.

FIGURA 20 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE E A AMPLITUDES DE PULSO PARA O EPCM



A análise da FIGURA 20 comprovou a influência da amplitude de pulso nas medidas voltamétricas. Foi observada uma tendência do aumento linear da intensidade de corrente de pico à medida que há o aumento do valor de

amplitude. Esta tendência pode ser justificada pelo fato de que, quanto maior a amplitude de pulso, maior taxa de perturbação e assim as espécies são oxidadas em uma taxa maior [142]. Consequente, o aumento no valor de amplitude também provoca o alargamento dos picos, como pode ser observado nos pontos azuis da FIGURA 20-B, o que pode implicar na diminuição da seletividade, que pode influenciar em análises simultâneas em decorrência da sobreposição dos picos. Assim, a escolha do valor de amplitude de pulso mais adequado foi uma combinação entre a maior intensidade de corrente e menor largura de pico, sendo escolhida a amplitude de pulso com valor de 100 mV.

O efeito do tempo de duração do pulso de potencial na resposta voltamétrica foi investigado em um intervalo entre 100 e 300 ms. Observou-se um aumento da intensidade de corrente de pico anódico para valores de tempo de pulso menores. Tal comportamento é concordante com as premissas das técnicas pulsadas, dado que durante o tempo de pulso há um decréscimo da corrente faradáica e da corrente capacitiva (mais acentuada) [142,150]. Considerando a intensidade da corrente e o perfil voltamétrico (largura de pico a meia altura), a melhor condição foi obtida com tempo de pulso de 100 ms.

Com isso, todos os parâmetros que envolvem as condições experimentais foram avaliados. A TABELA 2 apresenta um resumo dos parâmetros avaliados e valores escolhidos.

TABELA 2 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS AVALIADAS E OTIMIZADAS PARA OS PARÂMETROS RELACIONADOS À DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II)

<b>Estudo</b>	<b>Avaliado</b>	<b>Otimizado</b>
<b>% de biochar (m/m)</b>	0 – 35	25
<b>pH solução pré-concentração</b>	3,0 – 10,0	9,0
<b>pH solução de leitura</b>	3,0 – 8,0	5,0
<b>Tempo de pré-concentração (min)</b>	1 – 60	15
<b>Potencial de redução (V)</b>	-0,5 – 0,0	-0,3
<b>Tempo de redução (s)</b>	0 – 240	180
<b>Amplitude de pulso (mV)</b>	10 – 120	100
<b>Tempo de pulso (ms)</b>	100 – 300	100

### 3.2.7 Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de Íons Cobre (II)

Adotando as condições experimentais escolhidas foram construídas curvas analíticas (em triplicata) para três tempos de pré-concentração (5, 10 e 15 minutos), utilizando diferentes faixas de concentrações para cada tempo. Para a curva analítica realizada com 5 minutos de pré-concentração foram obtidos voltamogramas para concentrações de íons cobre (II) de  $1,0 \times 10^{-5}$  a  $5,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>; para a curva com 10 minutos foram de  $1,0 \times 10^{-6}$  a  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>; e para a curva com 15 minutos foi empregada uma faixa de concentração de  $1,0 \times 10^{-7}$  a  $5,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Os voltamogramas obtidos para cada curva realizada permitiram a correlação entre as intensidades de corrente de pico com suas respectivas concentrações. Com base nos gráficos de correlação foi possível obter informações quanto à faixa linear de concentração (LDR) e sensibilidade (inclinação da reta) de cada curva obtida. A comparação entre essas informações estão exemplificadas na TABELA 3.

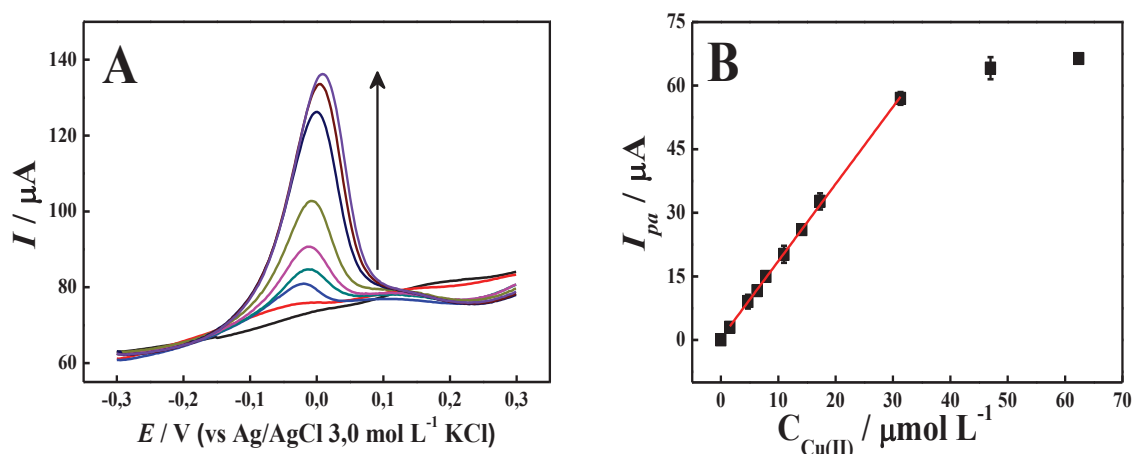
TABELA 3 – PARÂMETROS DE MÉRITO OBTIDOS PELAS CURVAS ANALÍTICAS OBTIDAS COM DIFERENTES TEMPOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS COBRE (II)

Tempo de pré-concentração (min)	Linearidade (R <sup>2</sup> )	LDR (mol L <sup>-1</sup> )	Sensibilidade (µA L µmol <sup>-1</sup> )
5	0,992	$1,0 \times 10^{-5} - 5,0 \times 10^{-5}$	1,08
10	0,999	$1,5 \times 10^{-6} - 3,0 \times 10^{-5}$	1,82
15	0,999	$1,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-6}$	2,60

Os resultados mostraram que é possível a realização de curvas analíticas para diferentes tempos de pré-concentração, em vista de que para os três tempos avaliados foram obtidas elevadas linearidades. No entanto, as faixas de concentrações da região linear (LDR) diferem entre si, mostrando ser dependente do tempo de contato do EPCM com a solução contendo os íons. Para tempos menores de pré-concentração, o LDR está deslocado para concentrações mais elevadas, já para tempos maiores, o inverso é observado. Assim, é possível modular a faixa de concentração de trabalho desejada variando este tempo.

Apesar da versatilidade observada para a metodologia, quanto à faixa de concentração de trabalho, para a aplicação deste método na determinação de íons cobre (II) em amostras de bebidas destiladas foi utilizado o tempo de 10 minutos de pré-concentração na construção da curva analítica. O motivo desta escolha é em virtude deste apresentar menor desvio entre as medidas, além de boa sensibilidade e LDR compatível com o limite máximo de íons cobre (II) permitidos em bebidas alcoólicas, que é de  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  [151]. Os voltamogramas obtidos para esta curva e a respectiva correlação entre as intensidades de corrente e concentração de íons cobre (II) são mostrados na FIGURA 21.

FIGURA 21 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CALIBRAÇÃO (B) PARA O EPCM NA FAIXA DE  $1,0 \times 10^{-6}$  A  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DE ÍONS COBRE (II)



A curva de calibração da FIGURA 21-B apresentou um intervalo de resposta linear na faixa de concentração entre  $1,5 \times 10^{-6}$  e  $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , com limites de determinação e quantificação de  $4,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  ( $25,4 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $1,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  ( $82,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ), respectivamente [152]. O desempenho do procedimento proposto e de outros resultados observados na literatura para a determinação eletroquímica de íons cobre (II) em amostra de bebidas destiladas são apresentados na TABELA 4.

TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DE MÉTODOS ELETROQUÍMICOS UTILIZADOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) EM AMOSTRAS DE BEBIDAS ALCOÓLICAS

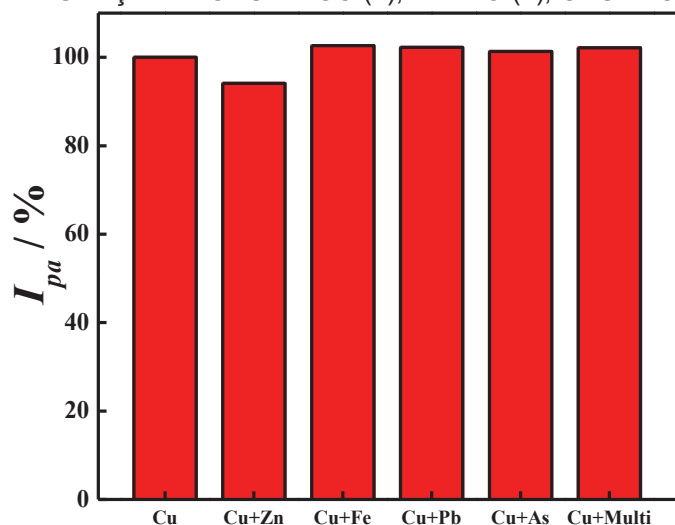
Amostra	Eletrodo	Técnica	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Ref.
Cachaça, Tequila, Vodka e Gin	EPCM-Biochar	DPAdSV	25,4	*
Uísque	Eletrodo gotejante de mercúrio	SWASV	5,00	[72]
Cachaça	EPC-2-aminotiazol-sílica-gel	DPASV	110	[73]
Grappa	Microeletrodo de Platina	LSASV	9,50	[153]
Cachaça	EPC-AA e nanotubos de carbono	SWASV	23,9	[154]

\*Presente trabalho.

Em decorrência da presença de outros íons na composição das bebidas avaliadas [151], foi realizado um estudo para avaliar se a presença destes íons poderia interferir na resposta voltamétrica dos íons cobre (II). Este estudo consistiu na determinação simultânea de íons cobre (II) na presença de cada íon (possível interferente) conforme os valores de concentrações máximos permitidos pela Legislação Brasileira para Cachaça e Bebidas Alcoólicas [151]: íons ferro (III) de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ , zinco (II) de  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ , arsênio (II) de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e chumbo (II) de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para avaliar possíveis interferências significativas no sinal do cobre (II) foram realizadas medidas de pulso diferencial em uma concentração de íons cobre (II) na ausência e na presença dos íons nas concentrações supracitadas.

Foram também comparadas as intensidades das correntes de pico dos voltamogramas com os respectivos possíveis interferentes separadamente e também combinados por análise multielementar. A concentração de íons cobre (II) empregada neste estudo foi baseada na quantidade máxima permitida pela mesma legislação brasileira, sendo este valor de  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  ( $7,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) [151]. A correlação entre a intensidade de corrente relativa e as medidas dos íons cobre (II) na ausência e na presença dos possíveis interferentes é apresentada na FIGURA 22.

FIGURA 22 – COMPARAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO RELATIVA DAS MEDIDAS DE DETERMINAÇÃO DE COBRE (II) EM CONCENTRAÇÃO DE  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ , NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE ÍONS ZINCO (II), FERRO (II), CHUMBO (II) E ARSÊNIO (II)

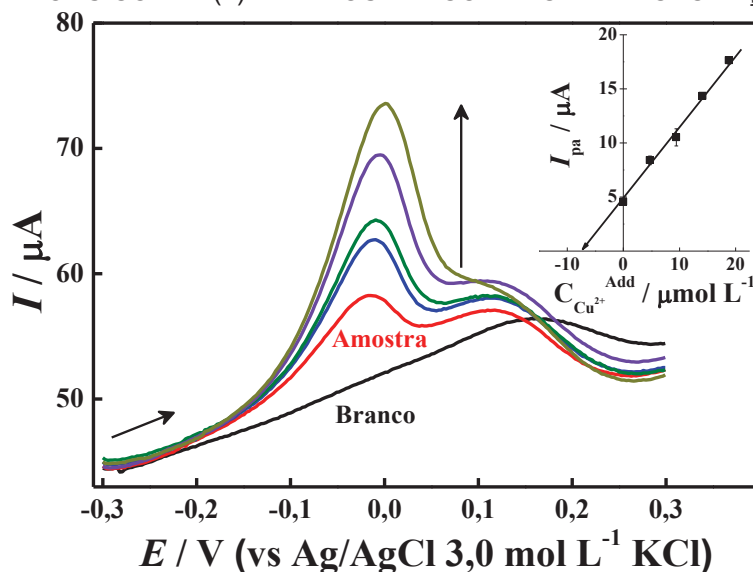


Segundo os valores de corrente obtidos para cada voltamograma foram calculados os desvios percentuais entre as medidas na ausência e na presença de cada potencial interferente. Sendo que não foram observadas interferências significativas entre as medidas realizadas na presença destas espécies para as concentrações avaliadas. Com isso, os valores de desvio padrão calculados foram: zinco (II)  $94,1 \% \pm 1,3$ ; ferro (III)  $102,6 \% \pm 0,2$ ; chumbo (II)  $102,2 \% \pm 0,9$ ; arsênio (II)  $101,3 \% \pm 0,6$  e multielementar  $102,2 \% \pm 1,0$ . Esses resultados sugerem que a determinação de íons cobre (II) em amostras de bebidas destiladas pode ser realizada pelo método proposto sem a interferência significativa de outras espécies comumente encontradas nestas bebidas.

A partir disso, a determinação de íons cobre (II) em amostras de bebidas destiladas comerciais foi realizada pelo método de adição de padrão, posteriormente ao pré-tratamento adequado de cada amostra. Na FIGURA 23 são mostrados os voltamogramas obtidos para a amostra de cachaça artesanal (Guaiuvira<sup>®</sup>) e a respectiva curva de correlação (inserida).



FIGURA 23 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL PARA MEDIDAS DE ADIÇÃO DE PADRÃO E CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO (INSERIDA) OBTIDA PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) EM AMOSTRA COMERCIAL DE CACHAÇA



A FIGURA 23 apresenta uma correlação linear entre o aumento da intensidade do processo faradáico de oxidação do cobre e o aumento progressivo da concentração de íons cobre (II) pela adição de padrão sobre a solução contendo a amostra. Analisando a curva de correlação, inserida na FIGURA 23, é possível obter a concentração de íons cobre (II) na amostra analisada pela equação da reta obtida. Assim, para esta e as demais amostras de bebidas destiladas analisadas foram obtidas as concentrações de íons cobre (II) pelo método proposto, e que posteriormente foram comparadas aos valores obtidos pela técnica comparativa (ICP OES).

A TABELA 5 mostra a comparação realizada entre os valores de concentração de íons cobre (II) em cada amostra pela metodologia proposta nesse trabalho e as concentrações obtidas pelo método comparativo.

TABELA 5 – MÉDIAS DOS VALORES OBTIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE (II) EM BEBIDAS ALCOÓLICAS UTILIZANDO O MÉTODO PROPOSTO (DPAdSV) E A TÉCNICA COMPARATIVA (ICP OES)

Amostra	Marca	Valor encontrado / mol L <sup>-1</sup> (µg L <sup>-1</sup> )		E %
		DPAdSV	ICP OES	
Vodka	Natasha	2,00 x 10 <sup>-7</sup> (12,70)	1,98 x 10 <sup>-7</sup> (12,57)	+1,0
Tequila	Sauza	3,07 x 10 <sup>-7</sup> (19,49)	2,86 x 10 <sup>-7</sup> (18,16)	+7,3
Gin	Seagers	2,98 x 10 <sup>-7</sup> (18,92)	3,03 x 10 <sup>-7</sup> (19,24)	-1,6
Cachaça	Pirassununga	8,20 x 10 <sup>-6</sup> (520,7)	8,94 x 10 <sup>-6</sup> (567,7)	-8,3
Cachaça	Guaiuvira	5,06x 10 <sup>-5</sup> (3,21x10 <sup>3</sup> )	5,01x 10 <sup>-5</sup> (3,18x10 <sup>3</sup> )	+1,0
Cachaça	Coluninha	6,75 x 10 <sup>-6</sup> (428,6)	6,92 x 10 <sup>-6</sup> (439,4)	-2,4

Os resultados mostrados na TABELA 5 mostram concordância entre os teores de íons cobre (II) determinados pelo método proposto e pelo método comparativo, em um nível de confiança de 95 % (teste t). Em relação às concentrações determinadas em ambos os métodos, é possível verificar que há maior quantidade de íons cobre (II) em cachaças quando comparadas as demais bebidas, o que pode ser atribuído aos métodos de destilação de cada tipo de bebida e dos tipos de materiais empregados para esse processo. No entanto, apesar de apresentarem concentrações elevadas de íons cobre (II) em suas composições, as amostras de cachaça apresentam teores abaixo do limite máximo permitido pela Legislação Brasileira para Cachaça e Bebidas Alcoólicas de 5,0 mg L<sup>-1</sup> (7,6 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>), tal como todas as outras bebidas analisadas.

### 3.3 CONCLUSÕES PARCIAIS DO CAPÍTULO 3

O biochar avaliado (400 °C) se mostrou eficiente na pré-concentração espontânea de íons cobre (II) empregado como modificador do eletrodo de pasta de carbono. Sendo a interação entre o biochar e os íons cobre (II) decorrente principalmente de uma interação eletrostática destes íons com grupamentos funcionais presentes no biochar.

O EPCM apresentou grande potencialidade na determinação destes íons, com resultados melhores comparados ao EPC e ao EPC-CA. Esta melhora está associada a maior quantidade de grupos funcionais na superfície do biochar (majoritariamente oxigenados), comparados aos demais materiais avaliados. Este resultado é suportado pelo fato de que o biochar apresenta menor área superficial entre todos os materiais avaliados.

O método desenvolvido para o EPCM apresentou eficácia na determinação de íons cobre (II) em diferentes amostras de bebidas destiladas, sem qualquer tratamento prévio das mesmas. Os valores encontrados foram comparados a determinação feita por ICP OES, apresentando boa concordância para um intervalo de confiança de 95 %.

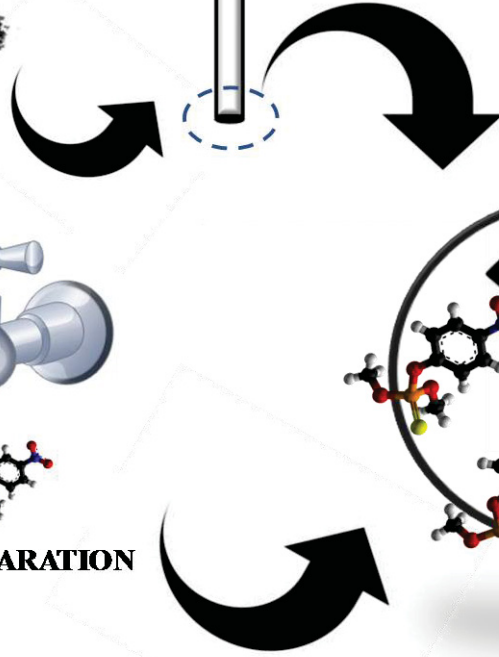
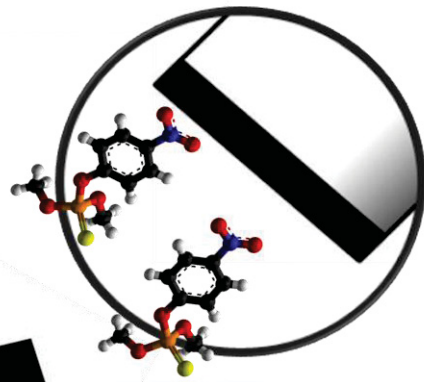
# **CAPÍTULO 4:**

**AVALIAÇÃO DO EPCM MODIFICADO COM BIOCHAR  
PARA A DETERMINAÇÃO DE METIL PARATION**

**BIOCHAR**



**METIL PARATION**



#### 4.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

As medidas voltamétricas foram efetuadas em um potenciostato-galvanostato ( $\mu$ Autolab<sup>®</sup> Tipo III), gerenciado pelo programa NOVA 1.10.4<sup>®</sup> para coleta de dados. O procedimento experimental para realização das medidas pode ser sumarizado em três etapas:

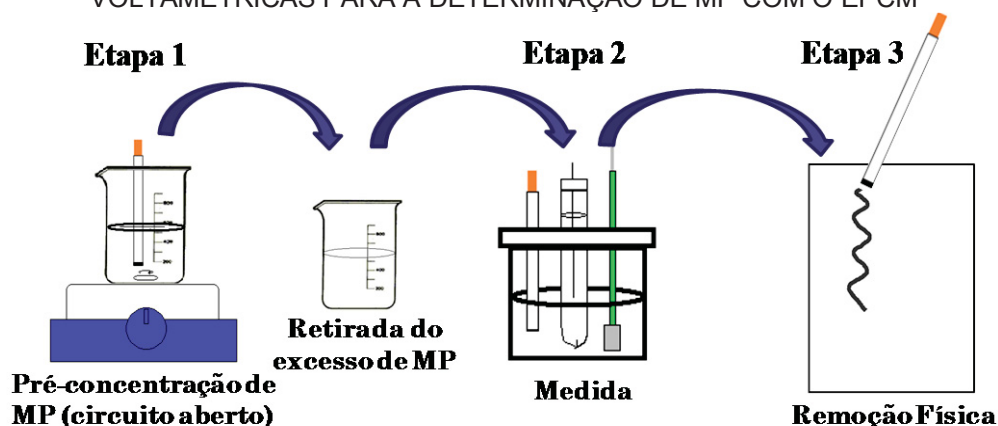
**Etapa 1:** O EPCM é inicialmente colocado em uma solução contendo o MP, para sua pré-concentração, em condições de potencial de circuito aberto. Em seguida, é gentilmente lavado e transferido para a célula voltamétrica;

**Etapa 2:** O EPCM com MP incorporado na etapa anterior é submetido à varredura de potencial no sentido negativo para promover a redução do MP por voltametria de pulso diferencial;

**Etapa 3:** Após a etapa de medida o eletrodo é submetido ao polimento de sua superfície em uma folha de papel, a fim de promover a remoção total do MP que possa ainda estar presente.

A FIGURA 24 exemplifica as etapas do procedimento experimental citadas anteriormente.

FIGURA 24 – IMAGEM ILUSTRATIVA DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE MP COM O EPCM



FONTE: O autor.

Os testes foram realizados em acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , como solução de pré-concentração e eletrólito suporte, com o pH ajustado com ácido acético PA e hidróxido de sódio. Com exceção da caracterização eletroquímica do MP, que foi realizada por voltametria cíclica, as demais medidas foram realizadas empregando voltametria de pulso diferencial.

A investigação dos parâmetros experimentais pertinentes para cada uma das etapas envolvidas no procedimento de pré-concentração e determinação do MP podem ser destacados:

- Caracterização eletroquímica do MP;
- Avaliação da potencialidade do biochar em pré-concentrar MP;
- Avaliação do efeito de memória entre medidas sucessivas;
- Avaliação da repetibilidade do sinal para medidas sucessivas na determinação de MP;
- Otimização das condições de construção do EPCM e das medidas para a determinação de MP;
- Desenvolvimento da metodologia analítica para determinação de MP.

Para todas as medidas envolvendo a determinação de MP foi utilizada solução estoque de  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de MP preparada com 60 % de acetonitrila e 40 % de água deionizada (Milli-Q).

#### 4.1.1 Caracterização Eletroquímica do MP

Para as medidas eletroquímicas foi utilizado um conjunto de três eletrodos: eletrodo de trabalho (EPCM), contra eletrodo (eletrodo de platina) e eletrodo de referência (Ag/AgCl  $3,0 \text{ mol L}^{-1}$  de KCl). As medidas de voltametria cíclica foram realizadas em um intervalo de potencial de  $-1,2 \text{ V}$  a  $0,6 \text{ V}$  com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . A caracterização eletroquímica se deu por varreduras de potencial com o EPCM, nas condições acima descritas, na ausência e na presença de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de MP. Para estas medidas empregou-se como eletrólito suporte solução de acetato de sódio pH 5,0.

#### 4.1.2 Avaliação da Potencialidade do Biochar em Pré-concentrar MP

A investigação do EPCM em pré-concentrar espontaneamente MP foi realizada pela comparação entre os voltamogramas obtidos ( $n = 3$ ) para o EPC não modificado, para o EPC modificado com 25 % (m/m) de carvão ativado (EPC-CA) e para o EPCM com 25 % (m/m) de biochar. Para cada eletrodo avaliado foram feitas medidas na ausência da etapa de pré-concentração de MP (branco) e empregando tal etapa, em uma solução de acetato de sódio com o pH ajustado em 5,0 contendo  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de MP durante 5 minutos.

Para as varreduras de pulso diferencial foi empregada faixa de potencial de 0,4 a -1,2 V, amplitude de potencial de 50 mV, tempo de pulso de 200 ms e incremento de potencial de 5 mV, e como eletrólito suporte utilizou-se uma solução de acetato de sódio com pH ajustado em 5,0 com ácido acético PA.

#### 4.1.3 Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade

O estudo consistiu na comparação dos perfis voltamétricos obtidos para o EPCM em três condições: na ausência da etapa de pré-concentração, empregando a etapa de pré-concentração de MP e por fim, novamente sem realizar a etapa de pré-concentração empregando o mesmo eletrodo utilizado na etapa anterior sem algum tratamento prévio. Para avaliar a repetibilidade entre medidas sucessivas foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial ( $n = 5$ ) para o EPCM empregando a etapa de pré-concentração de MP. Neste estudo foi verificada a repetibilidade do sinal voltamétrico entre medidas com a mesma superfície (sem tratamento ou renovação) e com diferentes superfícies (diferentes pastas de carbono modificadas com biochar). Onde, para tal investigação foi feita a correlação da intensidade de corrente de pico de redução do MP em função de cada medida.



#### 4.1.4 Avaliação da Composição da Pasta de Carbono Modificada com Biochar

Para o estudo da melhor composição da pasta de carbono modificada foram avaliadas diferentes proporções em massa dessa amostra. A amostra de biochar selecionada foi pirolisada a 400 °C. Sendo a quantidade em massa de óleo mineral fixada em 25 % e variadas as proporções em massa de grafite e biochar, sendo 75 – X% da proporção grafite / biochar. As porcentagens estudadas de biochar foram de 5, 10, 15, 25 e 35 %, onde a melhor composição foi determinada para a qual apresentou a maior intensidade de corrente do processo catódico referente à redução do MP.

#### 4.1.5 Investigação da Solução de Pré-concentração e de Medida

Foi avaliado a influência do pH da solução de pré-concentração do MP na capacidade adsortiva do biochar em condições de circuito aberto. Os meios estudados foram acetato de sódio 0,10 mol L<sup>-1</sup> com o pH ajustado em pH 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0. Todos os estudos foram realizados em 25 mL de cada solução empregando uma concentração de 1,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de MP, sob agitação constante durante 5 minutos. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas, sendo que os voltamogramas obtidos para cada meio foram comparados entre si, e as intensidades de correntes correlacionadas com os respectivos valores de pH.

Após a avaliação da melhor condição do pH da solução, foi investigada a influência do tempo de pré-concentração de MP na resposta voltamétrica. Este estudo foi realizado através da imersão do EPCM em circuito aberto (ausência de aplicação de potencial) em 25 mL de uma solução com pH já otimizado, com agitação constante durante 5 minutos. Nesse estudo foram empregados tempos de 0,5; 1; 3; 5; 10; 15 e 20 minutos em três concentrações de MP: 1,0 x 10<sup>-6</sup>; 1,0 x 10<sup>-5</sup> e 5,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>. As medidas realizadas em triplicatas para cada tempo e os valores de intensidades de correntes comparadas para cada concentração estudada.

Para avaliar qual o melhor meio para a realização das medidas voltamétricas foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial empregando o

EPCM contendo MP. Os meios estudados foram tampão acetato, tampão fosfato, cloreto de sódio (NaCl) e sulfato de sódio (NaSO<sub>4</sub>), todos com a concentração de 0,10 mol L<sup>-1</sup> e pH ajustado em 5,0. Para etapa de pré-concentração foi utilizada uma concentração fixa de MP (1,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>) em acetato de sódio com o pH ajustado em 5,0 durante 5 minutos. Os parâmetros da técnica de pulso diferencial foram também fixados, sendo estes: varredura de potencial de 0,4 V a -1,2 V, amplitude e tempo de pulso de 50 mV e 200 ms.

Para o estudo de avaliação do melhor pH da solução de leitura (redissolução do MP) utilizou-se como eletrólito solução acetato de sódio 0,10 mol L<sup>-1</sup>, com pH ajustado para 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0, em um volume fixo de 10 mL. Para cada eletrólito estudado foram obtidas triplicatas das medidas voltamétricas, e os perfis bem como as intensidades de corrente foram comparados entre si, visando à determinação do eletrólito que apresenta melhor eficiência na redissolução do MP previamente adsorvido. Nesta avaliação também foram empregadas às condições de medidas otimizadas anteriormente.

#### 4.1.6 Avaliação dos Parâmetros Instrumentais

Primeiramente, estudou-se a influência do valor da amplitude de pulso na resposta voltamétrica. Neste estudo foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial variando apenas os valores da amplitude de pulso aplicado: 25, 50, 70, 90, 100 e 120 mV. Em seguida, estudou-se o melhor tempo de pulso. Foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial variando as intensidades de tempo de aplicação do pulso de potencial. Os valores avaliados foram de 100, 150, 200, 250 e 300 ms. Como em todos os estudos realizados neste trabalho, os demais parâmetros foram mantidos constantes, neste caso com os mesmos já otimizados.

#### 4.1.7 Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de MP

Para a validação analítica da proposta deste capítulo foi desenvolvida a metodologia para a determinação de MP empregando voltametria de pulso diferencial. Esta validação foi feita pela realização da curva analítica, análise da

presença de espécies concomitantes e pela determinação e quantificação de MP em amostras de água de torneira enriquecidas com MP. A curva analítica foi realizada por pulso diferencial empregando o EPCM nas condições previamente otimizadas. Foram obtidos voltamogramas ( $n = 3$ ) para diferentes concentrações de MP:  $1,0 \times 10^{-7}$ ;  $5,0 \times 10^{-7}$ ;  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $3,0 \times 10^{-6}$ ;  $5,0 \times 10^{-6}$ ;  $7,0 \times 10^{-6}$ ;  $1,0 \times 10^{-5}$ ;  $3,0 \times 10^{-5}$ ;  $5,0 \times 10^{-5}$ ;  $7,0 \times 10^{-5}$ ;  $1,0 \times 10^{-4}$  e  $2,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> (solução estoque de  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>).

O estudo de espécies concomitantes foi feito com base na diferença entre o sinal voltamétrico para o pico de redução do MP ( $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) quando na presença e na ausência destas espécies. Foram avaliados os íons cobre (II), ferro (III) e zinco (II) em três concentrações diferentes: dez vezes menor do que a concentração de MP utilizada ( $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>); na mesma concentração ( $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) e de dez vezes maior que a concentração de MP ( $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>). Também foram avaliadas duas espécies orgânicas, nas mesmas concentrações empregadas para os íons metálicos: ácido ascórbico (AA) e glicose (Gli). Todas as espécies potencialmente interferentes, nas concentrações supracitadas, foram adicionadas na mesma solução de pré-concentração de MP, em condições de circuito aberto. Sendo que, todas as espécies interferentes foram estudadas isoladamente das demais.

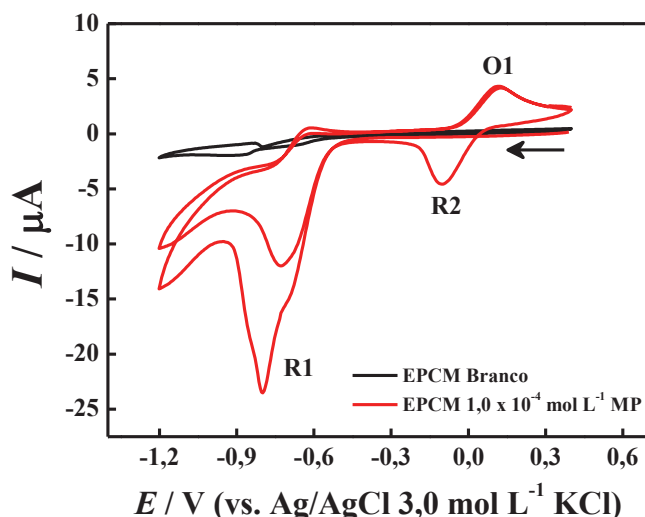
Para avaliação da precisão do método analítico e assim, a validação da estratégia de determinação de MP em amostras reais, foram adicionadas três diferentes quantidades do padrão de MP em amostra de torneira a fim de obter-se três níveis de concentração:  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $5,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Foram obtidos voltamogramas ( $n = 3$ ) de cada amostra avaliada e em seguida, foram realizadas adições sucessivas do padrão de MP. Com base nos voltamogramas obtidos foram construídas as curvas por adição de padrão de cada amostra, e por meio da correlação entre as intensidades de corrente de pico e as concentrações de MP foi possível estimar a quantidade de MP determinada. A precisão de cada determinação foi avaliada pela comparação percentual entre a concentração adicionada na amostra de água de torneira e a concentração obtida pelos cálculos da curva de correlação.

## 4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.2.1 Caracterização Voltamétrica do MP

Para a quantificação e/ou determinação voltamétrica de uma espécie de interesse espera-se que exista um processo redox que possa ser quantificado e correlacionado com a quantidade da espécie avaliada. Assim, primeiramente, avaliou-se a eletroatividade do MP pela análise do perfil voltamétrico da medida empregando voltametria cíclica. Cabe ressaltar que tanto o grafite quanto o biochar são materiais inertes e não são eletroativos nas condições avaliadas. Neste estudo foram realizadas medidas de voltametria cíclica no intervalo de potencial de -1,2 V a 0,6 V, na ausência e na presença de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de MP empregando tampão acetato pH 5,0 como eletrólito suporte (previamente desaerado com  $\text{N}_2$ ) e velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Os voltamogramas obtidos são apresentados na FIGURA 25.

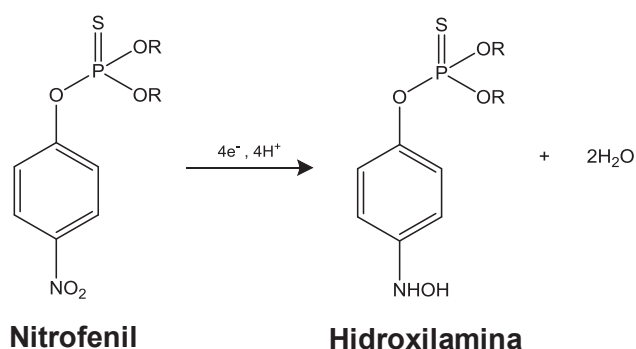
FIGURA 25 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA O EPCM MODIFICADO COM 25 % (M/M) DE BIOCHAR EM TAMPÃO ACETATO pH 5,0 NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DE MP. VELOCIDADE DE VARREDURA DE  $50 \text{ mV s}^{-1}$



Como observado na FIGURA 25, o perfil voltamétrico para o biochar na ausência de MP não apresenta nenhum processo faradáico na faixa de potencial e nas condições avaliadas, comprovando assim que os materiais usados são inertes. Para o voltamograma obtido na presença de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de MP

observa-se a presença de três processos faradâicos: O1, R1 e R2, em -0,053 V, -0,10 V e -0,61 V, respectivamente. O processo R2 é referente à reação irreversível da redução do grupo nitrofenil presente no MP, gerando um grupo hidroxilamina, sendo que 4 elétrons estão envolvidos nessa reação, conforme observado na FIGURA 26 [155].

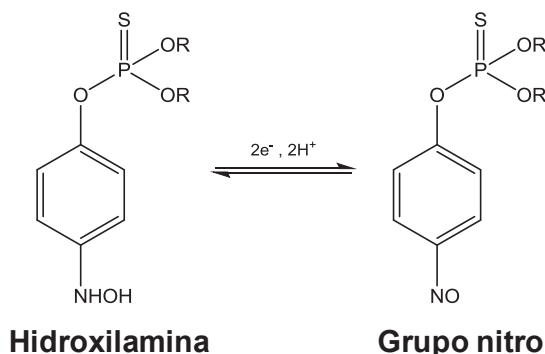
FIGURA 26 – REAÇÃO DE REDUÇÃO R2 DO GRUPO NITROFENIL COM GERAÇÃO DO GRUPO HIDROXILAMINA



FONTE: O autor.

O processo O1 é proveniente da oxidação do grupamento hidroxilamina a um grupamento nitro, que é então reduzido novamente a hidroxilamina em um processo reversível, como observado no processo R1. Sendo que neste processo de oxirredução estão envolvidos 2 elétrons, de acordo com a reação representada pela FIGURA 27 [155].

FIGURA 27 – REAÇÃO DE OXIDAÇÃO O1 DA HIDROXILAMINA GERANDO O GRUPO NITRO, E REAÇÃO REVERSA DE REDUÇÃO R1



FONTE: O autor.

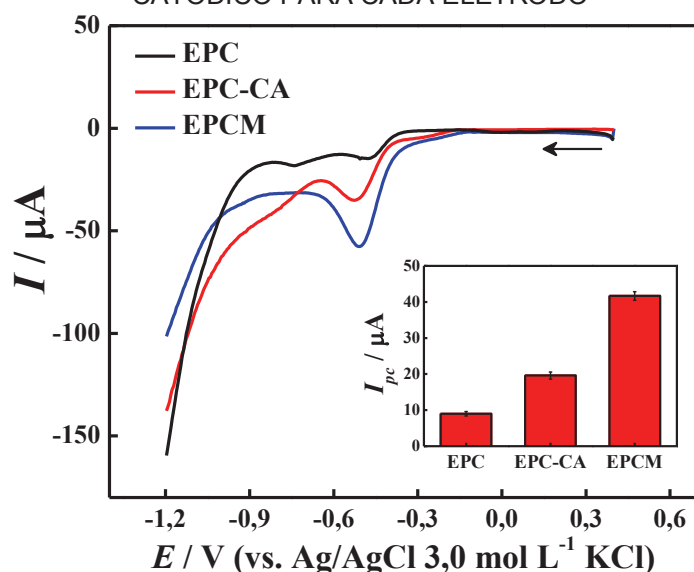
A caracterização eletroquímica do MP comprovou a eletroatividade do pesticida nas condições e faixa de potencial avaliada, havendo assim a possibilidade de quantificação do mesmo. Entretanto, para avaliar sua potencialidade como material adsorvente e, conseqüentemente, como sensor voltamétrico para a determinação de MP foi utilizada a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV), por se tratar de uma técnica mais sensível quando comparada a voltametria cíclica.

#### 4.2.2 Potencialidade do Biochar na Pré-concentração do MP

A fim de viabilizar a proposta do biochar como modificador foi realizado um estudo comparando a capacidade de pré-concentração do MP para três diferentes eletrodos: eletrodo de pasta de carbono não modificado (EPC), eletrodo de pasta de carbono modificado com carvão ativado (EPC-CA) e eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar (EPCM). Para realizar a comparação, os três eletrodos foram submetidos ao mesmo processo de pré-concentração, em tampão acetato pH 5,0 contendo  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de MP, na ausência da aplicação de potencial e sob agitação constante durante 5 minutos.

Após a pré-concentração, os eletrodos foram lavados em uma solução de tampão acetato pH 5,0 para a retirada do MP que não foi adsorvido pela estrutura da superfície do biochar, e depois submetidos a uma varredura de potencial no sentido catódico, a fim de promover a redução do MP presente na superfície eletródica (medida eletroquímica). Para a etapa de medida utilizou-se um conjunto de três eletrodos: eletrodo de trabalho (EPCM), contra eletrodo (eletrodo de platina) e eletrodo de referência (Ag/AgCl 3,0 mol L<sup>-1</sup> de KCl); empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial. As condições de medida adotadas foram: faixa de potencial de 0,4 a -1,0 V, amplitude de potencial de 50 mV, tempo de pulso de 200 ms e incremento de potencial de 5 mV. Os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para cada um dos eletrodos avaliados foram comparados entre si, tal como as intensidades de processo faradáico referente à redução do MP em aproximadamente -0,6 V, como observado na FIGURA 28.

FIGURA 28 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS EM ACETATO DE SÓDIO  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  COM pH AJUSTADO EM 5,0 CONTENDO  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DE MP PARA O EPC NÃO MODIFICADO, EPC MODIFICADO COM CARVÃO ATIVADO (EPC-CA) E EPC MODIFICADO COM BIOCHAR (EPCM). NO DETALHE: VARIAÇÃO DA CORRENTE DE PICO CATÓDICO PARA CADA ELETRODO



Os voltamogramas obtidos para os três diferentes eletrodos apresentam o mesmo perfil quando na presença de MP, com picos em aproximadamente 0,0 V referente ao processo R1, e em -0,6 V referente ao processo R2. Apesar dos três eletrodos avaliados apresentarem a capacidade de adsorver o MP, a maior intensidade de corrente foi observada para o EPCM modificado com o biochar (41  $\mu\text{A}$ ) comparado ao EPC (9,0  $\mu\text{A}$ ) e ao EPC-CA (19  $\mu\text{A}$ ). Para o EPC é observado o sinal referente à redução do MP, o que comprova assim a capacidade deste material em pré-concentrar, mesmo que pouco, o MP de forma espontânea. Provavelmente, esta capacidade do grafite em adsorver MP possa estar associada às interações  $\pi$ - $\pi$  existentes entre a superfície do grafite e o anel aromático presente na molécula de MP. Para o EPC-CA o sinal observado pode ser fruto de duas hipóteses, a primeira está relacionada a presença de poros na superfície do carvão e que podem agir como sítios de adsorção física do MP. No entanto, o sinal obtido para este eletrodo é inferior ao sinal obtido para o EPC, o que sugere que a pré-concentração do MP pode ser beneficiada pela presença do grafite (50 % m/m) na composição da pasta, ocorrendo pelo mecanismo citado no exemplo anterior (interações  $\pi$ - $\pi$ ), lembrando que o carvão ativado é um material amorfo e com pouca contribuição desta natureza.

Já para o EPCM, o sinal se mostra com maior intensidade, como citado anteriormente, o que pode estar atribuído ao maior grau de funcionalidade da superfície do biochar [54], comparado ao grafite e ao carvão ativado. Conseqüentemente, a presença do grafite também contribuiu na capacidade do EPCM em adsorver MP, uma vez que o EPCM apresenta 50 % m/m de grafite e 25 % m/m de biochar. A adsorção do MP na superfície do biochar deve ocorrer por interações entre o grupo nitrofenil presente no MP e os grupamentos carboxílicos e hidroxílicos do biochar (ligações de hidrogênio) [156,157]. Sendo assim, o eletrodo modificado com biochar apresenta dois mecanismos de adsorção que somados geram uma contribuição no sinal de corrente.

Assim, o EPCM apresentou melhor desempenho comparado aos outros eletrodos avaliados, uma vez que apresentou maior definição do pico catódico de interesse e também maior intensidade do mesmo, justificando seu emprego no desenvolvimento de um sensor voltamétrico para a determinação de MP. Tendo em vista a potencialidade da utilização do EPCM como um sensor voltamétrico para a determinação de MP, torna-se viável explorar e avaliar as melhores condições para seu emprego. Para isso, foi realizada a otimização dos parâmetros que envolvem tanto a construção do dispositivo, quanto as condições de pré-concentração e medida.

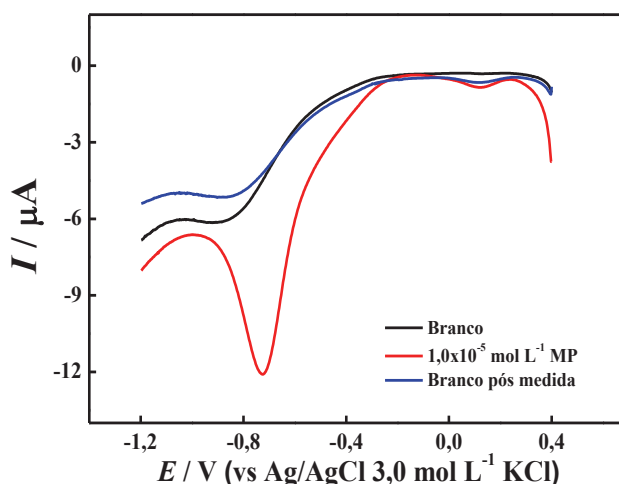
#### 4.2.3 Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade

A melhora na eficiência do EPCM proposto é propiciada pela interação entre a molécula de MP e a superfície do biochar, no entanto, esta interação pode inviabilizar medidas posteriores, caso o MP permaneça na superfície do eletrodo após a medida e, assim, interfira no sinal de medidas sucessivas, por exemplo, aumentando ou diminuindo a intensidade de corrente. O possível “envenenamento” na superfície eletródica implicaria na necessidade da remoção da espécie de interesse após cada medida, podendo esta ser realizada pelo método químico (deslocamento do MP pela adição de uma espécie inerte, geralmente  $H^+$ ) ou também pelo método físico (renovação da superfície da pasta de carbono modificada).



Primeiramente, foi realizado um estudo a fim de verificar se há algum efeito de memória para a superfície eletrodica após pré-concentração do MP utilizando medidas sucessivas. Para este estudo foram realizados voltamogramas de pulso diferencial, nas mesmas condições empregadas anteriormente, para o EPCM na ausência e na presença de MP pré-concentrado ( $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  durante 5 minutos em condição de potencial de circuito aberto), e para o EPCM após a medida na presença de MP sem nenhum tratamento de limpeza prévio. Os voltamogramas supracitados são apresentados na FIGURA 29.

FIGURA 29 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM NA AUSÊNCIA (BRANCO) E NA PRESENÇA DE  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE MP, E APÓS A MEDIDA SEM TRATAMENTO DE LIMPEZA



O voltamograma realizado para o EPCM sem a etapa de pré-concentração não apresentou o pico característico do processo de redução irreversível do grupo nitrofenil à hidroxilamina ( $E_{pc} = -0,7 \text{ V}$ ). Sendo observado apenas o processo referente à redução do oxigênio dissolvido em solução ou na superfície do biochar ( $E_{pc} = -0,9 \text{ V}$ ). Sendo que após a etapa de pré-concentração de MP (linha vermelha) é observado o pico característico da redução do mesmo, como o esperado.

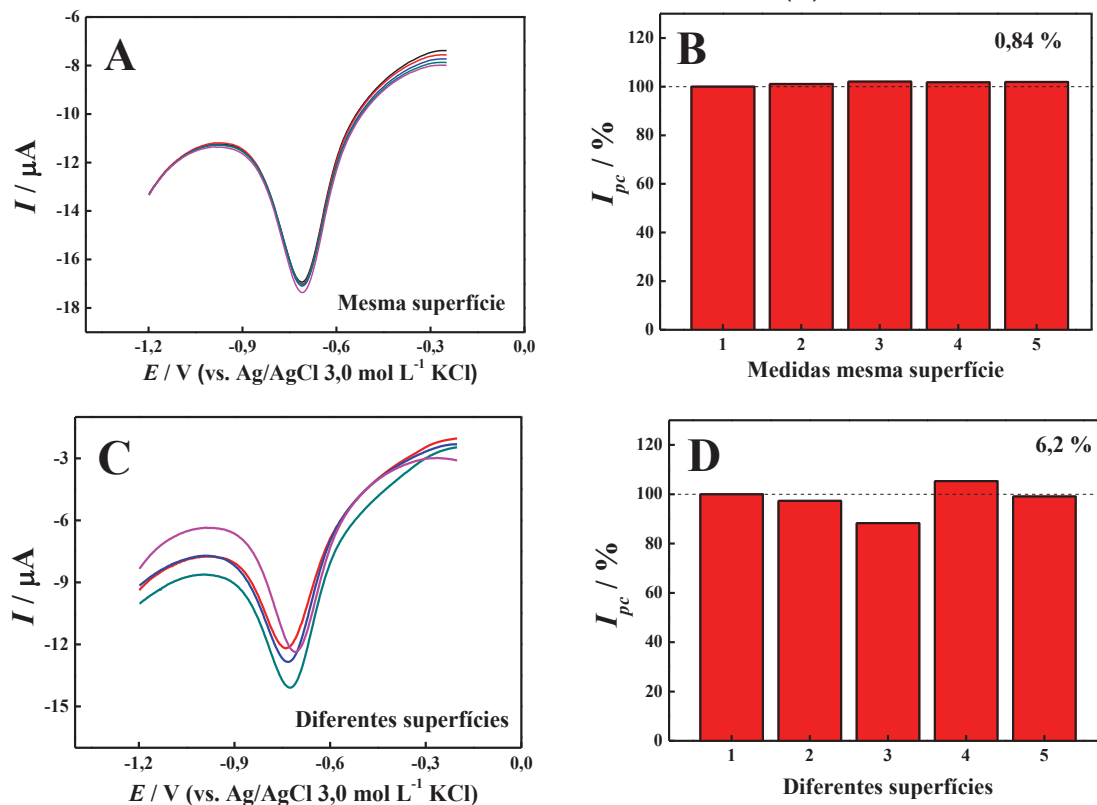
O mesmo eletrodo foi submetido a uma nova varredura de potencial sem qualquer tratamento ou alteração das soluções e condições, e o perfil voltamétrico não apresentou mais o pico de redução do MP como observado na medida anterior, se assemelhando ao perfil observado na ausência de MP (branco). Além disso, para medidas sucessivas também não foi observado o pico referente à

redução do MP (não mostrado). Esta constatação poderia sugerir que o MP não está mais presente na superfície do EPCM após a varredura de potencial, mas, por se tratar de um processo irreversível os resultados apenas indicam que o comportamento voltamétrico do eletrodo é similar a eletrodo não submetido à etapa de pré-concentração.

O fato de não haver efeito de memória após medidas sucessivas permite que um mesmo eletrodo (mesma superfície) seja empregado para próximas medidas sem adição de uma etapa de condicionamento ou limpeza do eletrodo. Isto permite ainda que haja um ganho na frequência analítica das medidas e também de economia de reagentes. Outro fato importante é que a manutenção da mesma superfície eletródica pode implicar na melhora da repetibilidade do sinal entre diferentes medidas empregando a mesma superfície e a mesma concentração de MP. Para tal, foi realizado um estudo para avaliar a repetibilidade do sinal entre medidas sucessivas, empregando a mesma superfície e também diferentes superfícies.

A avaliação da repetibilidade entre medidas sucessivas empregando uma mesma superfície e superfícies diferentes foi realizada pela obtenção de voltamogramas de pulso diferencial empregando o EPCM submetido à etapa de pré-concentração com quantidade fixa de MP ( $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ). Os voltamogramas obtidos para ambos os estudos foram comparados, como observado nas FIGURAS 30-A e 30-C, tal como as intensidades de corrente de pico catódico foram correlacionadas em valores percentuais de corrente, observados nas FIGURAS 30-B e 30-D.

FIGURA 30 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM EM MEDIDAS SUCESSIVAS COM A MESMA SUPERFÍCIE (A) E COM DIFERENTES SUPERFÍCIES (C). COMPARAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO CATÓDICO PARA DIFERENTES MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS (N = 5) EMPREGANDO A MESMA SUPERFÍCIE (B) E COM SUPERFÍCIES DIFERENTES (D)



Os voltamogramas obtidos para a mesma superfície do EPCM apresentaram o pico referente à redução do MP, e tanto o perfil quanto a intensidade de corrente de pico se mostraram repetitivos. Tal afirmação fica mais evidente no gráfico que correlaciona a intensidade de corrente em valores percentuais para 5 medidas consecutivas, como observado na FIGURA 30-B. Sendo que o desvio padrão encontrado entre os valores de cada medida se mostrou muito pequeno (0,84 %). O baixo valor do desvio entre as medidas favorece, juntamente com o fato de não haver efeito de memória, a utilização de um eletrodo com a mesma superfície em medidas sucessivas sem o condicionamento ou qualquer etapa de limpeza do mesmo.

Para o estudo realizado para medidas sucessivas com diferentes eletrodos (FIGURAS 30-C e 30-D) os perfis voltamétricos se apresentaram bem similares com pequenas variações da corrente capacitiva, promovida pelo acúmulo de carga na superfície eletródica. No entanto, para todos os

voltamogramas foi observado o processo referente à redução do MP com pequeno desvio entre as intensidades de corrente. Os cálculos realizados a partir do gráfico da FIGURA 30-D forneceram valores quanto às porcentagens de corrente para as cinco medidas, tal como o desvio padrão percentual entre as medidas. O desvio também se apresentou baixo (6,2 %), no entanto, quase sete vezes maior que o valor encontrado para medidas sucessivas empregando a mesma superfície. O maior desvio entre as medidas com eletrodos diferentes pode ser explicado pela variação da composição das pastas de carbono modificadas, gerados por possíveis erros durante o processo de confecção ou variações na precisão da balança. Entretanto, devido ao desvio baixo, as imprecisões durante o processo de confecção e as medidas podem ser consideradas desprezíveis, e assim, a confecção do eletrodo e a homogeneidade da pasta de carbono são reprodutíveis e confiáveis.

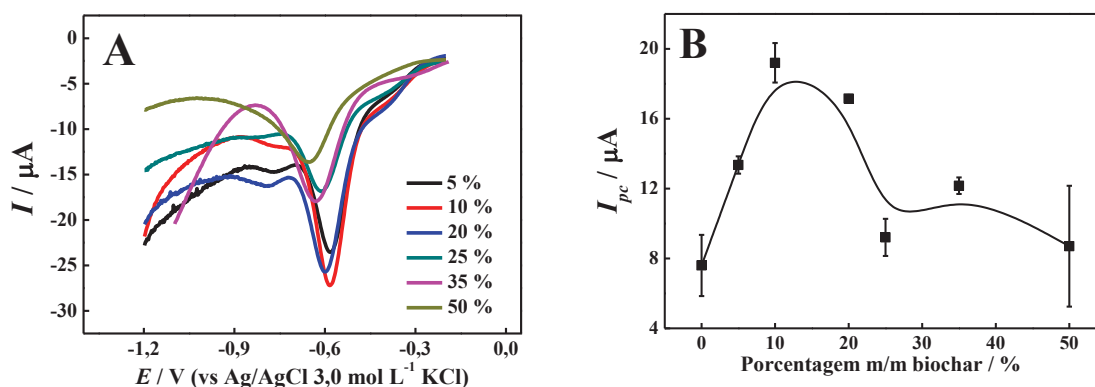
Com isso, ambas as estratégias são reprodutíveis e podem ser empregadas no desenvolvimento de um método analítico para a determinação de MP. Contudo, o emprego de uma mesma superfície é mais eficiente, uma vez que o desvio entre as medidas é muito menor comparado ao estudo com superfícies diferentes. Assim, para estudos posteriores foi empregada a mesma superfície, sendo esta trocada apenas entre os estudos para evitar qualquer problema que possa ser gerado pelo tempo excessivo de utilização da pasta.

#### 4.2.4 Avaliação da Composição da Pasta de Carbono Modificada

Como já observado, há a possibilidade de duas formas de interação do MP com o EPCM. Além disso, a quantidade de biochar na pasta de carbono pode influenciar consideravelmente na resposta voltamétrica, pois o aumento da quantidade de biochar gera um maior número de sítios para a pré-concentração de MP. Entretanto, o biochar não é um material condutor e o aumento da sua proporção na pasta de carbono leva a diminuição da condutividade da pasta de carbono, uma vez que a porcentagem do óleo mineral (aglutinante) é mantida. Com isso, o estudo para avaliar a melhor composição da pasta de carbono é de extrema relevância para a obtenção da melhor resposta voltamétrica.

Para tal avaliação foram realizadas medidas de voltametria de pulso diferencial para diferentes eletrodos de composições diferentes, submetidos a mesma etapa de pré-concentração de MP. Neste estudo a porcentagem de óleo mineral foi fixada em 25 % (m/m), variando a quantidade de biochar de 0 a 50 % (m/m). Para a etapa de pré-concentração foi utilizada uma solução de tampão acetato pH 5,0 contendo  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de MP com tempo de 5 minutos em condição de potencial de circuito aberto. Para a medida foi utilizada uma solução tampão acetato pH 5,0, com amplitude de potencial de 50 mV, tempo de pulso de 200 ms e incremento de potencial de 5 mV. Os resultados obtidos para este estudo são apresentados na FIGURA 31.

FIGURA 31 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) ENTRE OS VALORES DE INTENSIDADE DE CORRENTE ( $I_{pc}$ ) EM FUNÇÃO DOS VALORES DE PORCENTAGEM DE BIOCHAR NA PASTA DE CARBONO DE 0 A 50 % (M/M)



Em função dos resultados presentes na FIGURA 31 é observado um aumento significativo da intensidade de corrente entre os valores percentuais em massa dos eletrodos com 0 % e 10 % de biochar. Isso pode ser ocasionado pelo aumento da quantidade de biochar na pasta, o que leva ao aumento do número de grupos funcionais disponíveis para a pré-concentração de MP, atingindo o máximo da eficiência em 10 % (m/m) de biochar. O aumento da quantidade de biochar gera o aumento de grupos funcionais disponíveis para a interação com o MP na pasta, sendo que estes são em sua maioria grupos carboxílicos, lactônicos e fenólicos [53,54]. Tais grupos são ácidos fracos, e quando desprotonados podem interagir com espécies que apresentam densidade eletrônica positiva. Sendo que a intensidade de interação e a “preferência” por determinado grupo funcional pode depender do grau de polaridade da espécie em solução. O MP apresenta um grau de polaridade considerável [155] que pode favorecer sua

adsorção pelos grupos ácidos do biochar, além das ligações de hidrogênio entre os grupamentos do biochar e o grupamento nitro do MP [158].

Para valores superiores em massa, de biochar na pasta de carbono é observado um decréscimo da intensidade de corrente de pico catódico até sua estabilização a partir de 25 % (m/m). O aumento da quantidade de biochar na pasta leva ao maior grau de funcionalizações na superfície do eletrodo, que poderia propiciar a estes eletrodos maior capacidade de pré-concentração de MP.

Entretanto, para valores superiores a 10 % há um decréscimo das intensidades de corrente, diminuindo assim a eficiência da pré-concentração de MP para quantidades superiores de biochar na pasta de carbono. Este decréscimo e, posteriormente, a estabilização, podem ser relacionados com a diminuição de grafite na composição da pasta de carbono, o que diminui a condutividade da pasta de carbono. No entanto, é também possível que para quantidades superiores a 10 % de biochar na pasta já exista uma estabilização entre a capacidade adsortiva do biochar e a quantidade de MP em solução. Assim, a melhor resposta para a determinação de MP foi obtida pela composição (% m/m) de 25 % de óleo mineral, 65 % de grafite e 10 % de biochar. Sendo esta, a composição utilizada em estudos posteriores.

#### 4.2.5 Avaliação das Soluções de Pré-concentração e de Medida

O pH da solução de pré-concentração pode influenciar diretamente na disponibilidade do MP em solução para a sua pré-concentração pelo EPCM. Assim, foi avaliada a melhor condição de pH para a solução de pré-concentração. Neste estudo foram realizadas medidas de pulso diferencial empregando para a pré-concentração de MP ( $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) solução tampão acetato variando o pH de 3,0 a 6,0, durante 300 segundos. As medidas voltamétricas foram realizadas em tampão acetato pH 5,0 com amplitude de pulso de potencial de 50 mV, tempo de pulso de 200 ms e incremento de potencial de 5 mV.

Com base no estudo para os diferentes valores de pH da solução de pré-concentração de MP foi observado que as melhores respostas foram obtidas para as soluções de pré-concentração entre o pH 3,0 e 5,0, com o máximo de intensidade de corrente observado para pH = 5,0. Para valores de pH inferior a

5,0 o elevado teor de íons  $H^+$  em solução favorece a protonação dos sítios ácidos do biochar, diminuindo sua capacidade de interação com as moléculas de MP, e assim levando a menores intensidades de corrente de pico catódica, conforme observado acima.

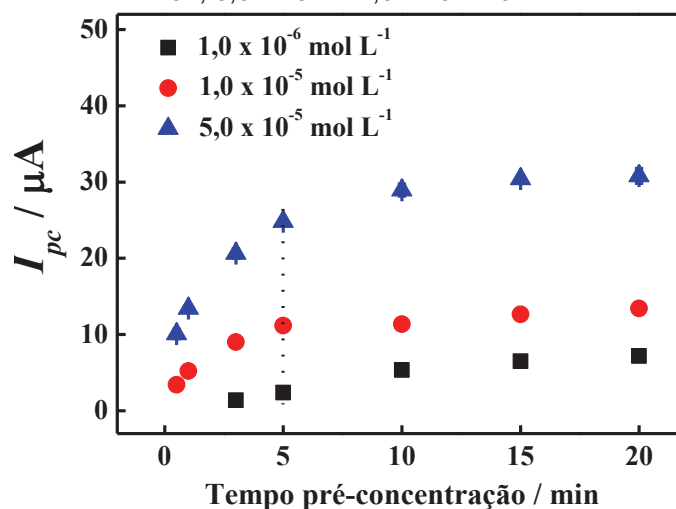
Já para os resultados obtidos em pH 6,0 é observado um decréscimo drástico da intensidade de corrente de pico, provavelmente, devido ao fato de que neste valor de pH o MP se apresente majoritariamente na sua forma hidrolisada [159], o que pode diminuir assim sua disponibilidade para a interação com a superfície do biochar. O mesmo foi observado por Mao e colaboradores [159], onde obtiveram a melhor condição de pré-concentração em tampão fosfato com o pH de 5,3, muito próximo ao valor de pH ótimo observado no presente estudo (pH 5,0). Desta maneira, a condição de pré-concentração escolhida para a realização de medidas futuras foi em solução de tampão acetato pH 5,0.

A capacidade do EPCM em pré-concentrar MP espontaneamente foi comprovada, sendo esta superior ao que foi observado para os eletrodos de pasta de carbono não modificada (EPC) e modificada com carvão ativado (EPC-CA), nas mesmas condições utilizadas. A incorporação do MP ocorre pelo simples contato do analito com a superfície eletródica, sob agitação constante. Assim, o maior tempo de exposição do EPCM em solução poderá levar a maior quantidade de MP pré-concentrado na superfície, e assim, maior intensidade de corrente de pico e sensibilidade.

A fim de se obter maior sensibilidade e um menor tempo de análise, foi realizado o estudo para avaliar o melhor tempo de contato do EPCM com a solução contendo MP. Neste estudo foram empregadas três soluções com concentrações diferentes de MP ( $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $1,0 \times 10^{-5}$  e  $5,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$ ), modulando o tempo de imersão de 0,5 a 20 minutos em tampão acetato pH 5,0.

Após a etapa de pré-concentração, o EPCM contendo MP foi submetido à etapa de medida por pulso diferencial nas seguintes condições: tampão acetato pH 5,0, amplitude de potencial de 50 mV, tempo de pulso de 200 ms e incremento de potencial de 5 mV. A correlação entre as intensidades de corrente de pico em função do tempo de pré-concentração obtidos com estes estudos, para as três concentrações de MP avaliadas, é mostrada na FIGURA 32.

FIGURA 32 – CURVAS DE CORRELAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO E DIFERENTES TEMPOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE MP, EM CONCENTRAÇÕES DE  $1,0 \times 10^{-6}$ ,  $5,0 \times 10^{-5}$  E  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>



Com base nos gráficos observados na da FIGURA 32 pode-se observar que para todas as concentrações estudadas há um comportamento semelhante. À medida que o tempo de pré-concentração aumenta a intensidade de corrente de pico também aumenta até o tempo de estabilização. Esta tendência ocorre pelo fato de que quanto maior o tempo de exposição do EPCM na solução contendo MP, mais espécies são pré-concentradas, e assim, mais espécies serão reduzidas. A estabilização da intensidade de corrente de pico após um determinado tempo de pré-concentração pode ser explicado pelo equilíbrio entre a capacidade adsorptiva do material com a quantidade de MP em solução. Onde após o tempo de estabilização não é observado aumento significativo de corrente. Analisando pontualmente os tempos de pré-concentração é possível notar que o tempo de estabilização é de 5 a 10 minutos para as concentrações avaliadas.

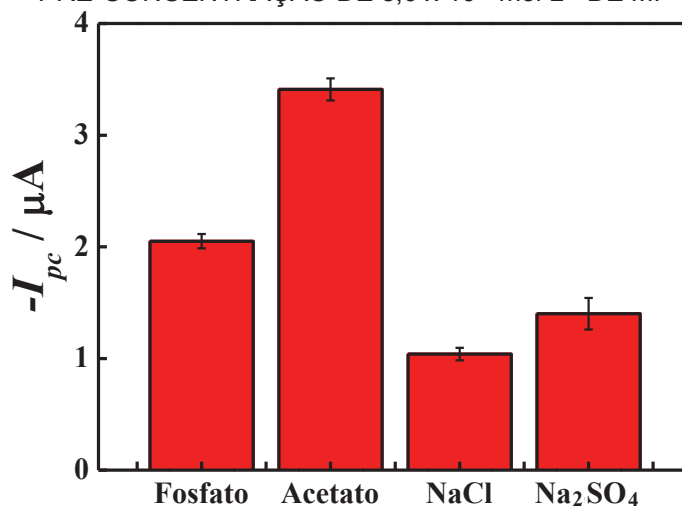
Sendo assim, diante das informações obtidas por este estudo, é possível afirmar que a intensidade do processo faradáico para a redução de MP é dependente tanto da concentração de MP em solução, quanto do tempo que o eletrodo é exposto sem a aplicação de um potencial elétrico. Isso sugere que o emprego de um maior tempo de pré-concentração do EPCM para que se obtenha uma maior intensidade de pico. No entanto, para as concentrações de  $1,0 \times 10^{-5}$  e  $5,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> as intensidades de corrente se mostram praticamente estáveis a partir de 5 minutos, e 10 minutos para a menor concentração de  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>.



Assim, para a otimização dos parâmetros de técnica e os estudos posteriores foi escolhido como melhor tempo de pré-concentração 5 minutos.

Em seguida, foi avaliada a solução empregada na etapa das medidas voltamétricas, e pode influenciar na resposta eletroquímica na determinação de uma espécie de interesse. Assim, para avaliar a solução de medida (eletrólito suporte) foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial empregando o EPCM submetido à etapa de pré-concentração de MP em concentração de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Foram investigados quatro diferentes meios: tampão fosfato, tampão acetato, cloreto de sódio (NaCl) e sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Todos os eletrólitos foram avaliados em concentração de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  e pH com valor ajustado em 5,0. As medidas foram realizadas em triplicata e nas mesmas condições utilizadas para os estudos anteriores, utilizando o eletrodo com a composição de pasta de carbono modificada com biochar já otimizada (10 % m/m de biochar). A FIGURA 33 mostra o gráfico com as intensidades de corrente obtidas para os diferentes meios avaliados.

FIGURA 33 – CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE INTENSIDADE DE CORRENTE EM FUNÇÃO DE DIFERENTES MEIOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO E DE ELETRÓLITO SUPORTE. PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE MP



A maior intensidade de corrente foi observada para os voltamogramas obtidos empregando o tampão acetato como eletrólito suporte. Todas as medidas entre o mesmo meio apresentaram concordância entre os valores de corrente de pico, não apresentando variações significativas entre as medidas. Onde, a capacidade do MP em ser adsorvido não é significativamente influenciada pela

presença dos íons avaliados neste estudo [158]. Sendo assim, o tampão acetato foi empregado como eletrólito suporte para a realização em estudos posteriores.

A influência do pH da solução de medida (eletrólito suporte) foi também avaliada por voltametria de pulso diferencial com o EPCM contendo MP pré-concentrado espontaneamente em solução de acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,0, concentração de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de MP e tempo de pré-concentração de 5 minutos. A solução de leitura foi acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  ajustada em valores de pH entre 3,0 e 6,0. A partir dos resultados deste estudo (não apresentado) foi verificada uma maior intensidade de corrente para voltamogramas obtidos em tampão acetato com o pH igual a 4,0. Assim, como foi observada a maior intensidade de sinal e o melhor perfil voltamétrico, essa solução foi escolhida para os estudos posteriores relacionados com os aspectos instrumentais.

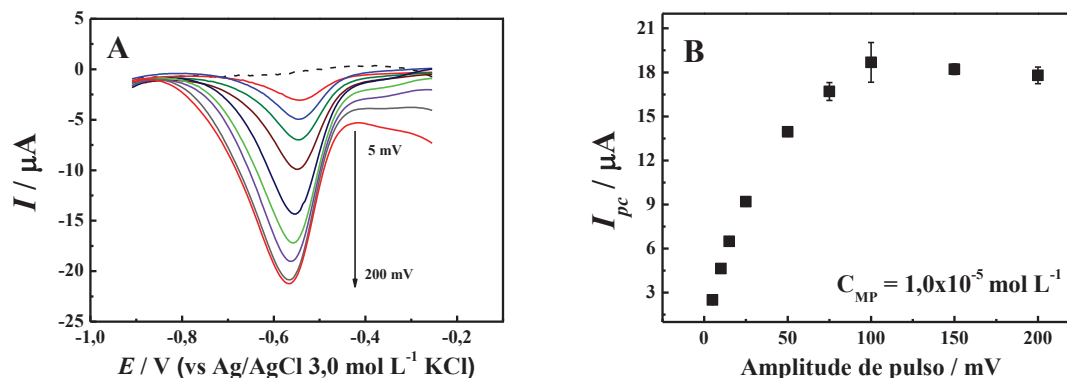
#### 4.2.6 Avaliação dos Parâmetros Instrumentais

A amplitude de pulso se caracteriza pela intensidade da perturbação (potencial elétrico) aplicada a cada pulso. Em tese, o aumento dessa perturbação promove uma maior energia na superfície eletródica, gerando assim uma maior intensidade do processo faradáico. Em contrapartida, o aumento da amplitude de pulso provoca também o aumento da largura dos picos, uma vez que a perturbação não potencializa apenas a corrente de pico, mas também a contribuição da corrente capacitiva. Sendo assim, a escolha da melhor amplitude de pulso é dada pela avaliação da intensidade de corrente de pico e da largura de potencial de pico [142,143].

O estudo de otimização da melhor condição de amplitude de pulso aplicada foi realizada empregando as condições de pré-concentração e medida otimizadas anteriormente, variando o potencial de 0,4 V a -1,2 V. A amplitude de pulso foi variada de 5 a 200 mV. Os outros parâmetros foram fixados com valores pré-determinados, baseados em estudos anteriores, empregando voltametria de pulso diferencial: tempo de pulso de 200 ms e incremento de potencial de 5 mV. Para a etapa de pré-concentração, foi empregada uma concentração de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de MP durante 5 minutos. Os voltamogramas obtidos para este estudo e a

correlação entre as intensidades de corrente de pico e os valores de amplitude de pulso são mostrados nas FIGURAS 34-A e 34-B, respectivamente.

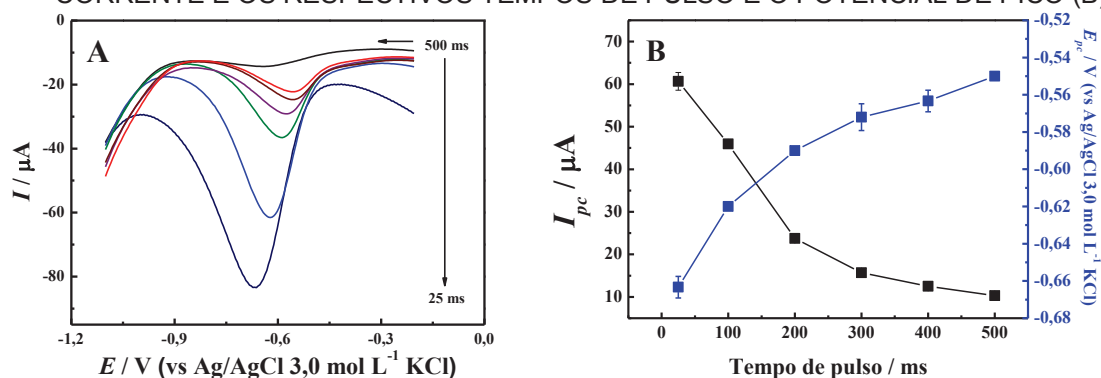
FIGURA 34 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) OBTIDOS COM O EPCM APÓS PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE MP, UTILIZANDO DIFERENTES VALORES DE AMPLITUDE DE PULSO



Analisando os voltamogramas e a curva obtidos na FIGURA 34, é possível observar uma relação direta entre o aumento da amplitude de pulso e o aumento da intensidade de corrente de pico catódico. O aumento da intensidade de corrente é praticamente linear até o valor de amplitude de 100 mV, onde após este valor o aumento das intensidades de corrente se torna praticamente nulo. Assim, o melhor resultado foi observado para as medidas empregando amplitude de pulso de 100 mV, sendo este empregado para medidas e análises subsequentes.

O tempo de pulso é um importante parâmetro que foi avaliado em função de sua influência na sensibilidade e detectabilidade das medidas de DPV. Este parâmetro está diretamente relacionado com a maior ou menor contribuição da corrente faradaica (corrente de interesse) [142,143]. Além disso, o tempo de cada medida é dependente deste parâmetro, influenciando diretamente na frequência analítica. Para a realização deste estudo foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial variando o valor do tempo de pulso de 25 a 500 ms e fixando os demais parâmetros já otimizados, tal como a amplitude de pulso em 100 mV. Os voltamogramas e a correlação entre as intensidades de corrente de pico catódico e o tempo de pulso são observados nas FIGURAS 35 A e 35 B, respectivamente.

FIGURA 35 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS COM O EPCM APÓS PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE MP UTILIZANDO DIFERENTES TEMPOS DE DURAÇÃO DE PULSO (A). CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE E OS RESPECTIVOS TEMPOS DE PULSO E O POTENCIAL DE PICO (B)



Em ambos os gráficos pode-se observar o aumento da intensidade de corrente de pico à medida que se tem a diminuição do tempo de pulso. Isso é concordante, uma vez que é de conhecimento que durante o tempo de pulso há um decréscimo da corrente faradaica e da corrente capacitiva (mais acentuada), este decréscimo é proporcional à duração deste tempo. Assim, quanto maior o tempo de pulso menor será a intensidade de corrente, contudo, quanto maior o tempo de pulso maior será a contribuição da corrente faradaica. Isso promove uma melhor definição do pico (mais estreito), quando comparado às medidas realizadas empregando menores tempos de pulso.

A medida que apresentou a maior intensidade de corrente apresentou concomitante o menor tempo de pulso (25 ms). Entretanto, foi escolhido como melhor condição o tempo de pulso de 100 ms pelo fato de apresentar intensidade de corrente de pico satisfatória em comparação ao demais tempos avaliados, além de um potencial de pico menos negativo e uma maior definição de pico do que o observado para a medida realizada com 25 ms.

Assim, a TABELA 6 resume as condições de compromisso estudadas e adotadas durante a otimização dos parâmetros experimentais, para a determinação de MP.

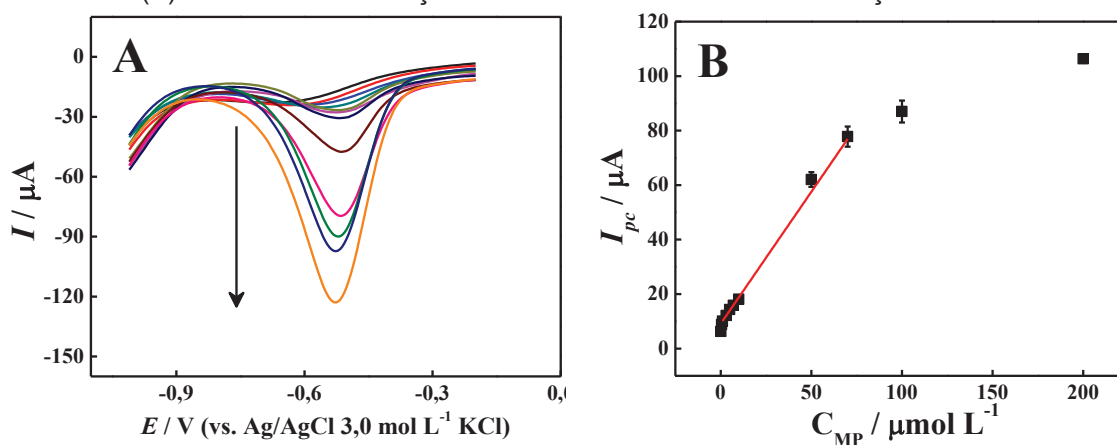
TABELA 6 – CONDIÇÕES ESTUDADAS E OTIMIZADAS PARA OS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS RELACIONADOS À DETERMINAÇÃO DE MP EM EPCM

Parâmetro	Avaliado	Otimizado
% m/m de biochar	0 – 50 %	10 %
pH da solução de pré-concentração	3,0 – 6,0	5,0
Tempo de pré-concentração	0,5 – 20 min	5 min
Eletrólito suporte	Fosfato, Acetato, NaCl, NaSO <sub>4</sub>	Acetato
pH do eletrólito suporte	3,0 – 6,0	4,0
Amplitude de pulso	5 – 200 mV	100 mV
Tempo de pulso	25 – 500 ms	100 ms

#### 4.2.7 Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de MP

Para a construção de uma metodologia para a determinação de MP, e sua validação, primeiramente foi necessária a construção da curva analítica para o MP empregando o EPCM. A curva analítica foi realizada por pulso diferencial empregando o EPCM nas condições previamente otimizadas. Para isto foram obtidos voltamogramas ( $n = 3$ ) na presença de MP em concentrações de  $1,0 \times 10^{-7}$  a  $2,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Os voltamogramas obtidos foram comparados, como observado na FIGURA 36-A, e a correlação entre as intensidades de corrente de pico e as concentrações de MP pode ser observada na FIGURA 36-B.

FIGURA 36 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO (B) OBTIDOS EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MP



Os voltamogramas obtidos na curva analítica mostraram um aumento linear da intensidade de corrente de pico no intervalo de concentração de  $1,0 \times 10^{-6}$  a  $7,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de MP (LDR), com  $R^2 = 0,998$ . Para valores inferiores de concentração foi observado o pico de redução, no entanto, não representativo considerando a linearidade da curva. Para valores superiores a  $7,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> a intensidade de corrente de pico também não foi representativa, apresentando uma estabilização do sinal. Provavelmente, há o equilíbrio entre a quantidade de MP em solução com a quantidade de sítios de adsorção na superfície do eletrodo.

Com base na equação da reta pela curva de correlação, observada na FIGURA 36-B, foi possível calcular a sensibilidade de  $0,97 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ , limites de detecção e de quantificação de  $5,5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> e  $1,8 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os parâmetros de mérito obtidos pela curva analítica foram considerados concordantes com trabalhos encontrados na literatura empregando sensores eletroquímicos na determinação voltamétrica de MP. A TABELA 7 mostra uma comparação desses parâmetros entre os resultados apresentados pelo presente trabalho e trabalhos publicados na literatura.

TABELA 7 – COMPARAÇÃO ENTRE METODOLOGIAS PARA A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE MP

Amostra	Eletrodo	Técnica	LOD (nmol L <sup>-1</sup> )	Ref.
Tampão fosfato	EIC - <i>Escherichia coli</i>	VC	500	[160]
Água de rio	MIP-NPAu-MP	VC	500	[157]
Água potável	EPC-NPZrO <sub>2</sub>	SWV	21	[161]
Vegetais	ECV-Nafion-NPAu	VC	100	[162]
Água potável	EPCM-Biochar	DPASV	700	*

Com base nas informações apresentadas na TABELA 7 é possível observar que o método proposto apresenta limite de detecção levemente superior aos métodos voltamétricos de análise de MP em diferentes amostras. Porém, a eficiência da metodologia proposta pode ser comparável às demais metodologias, pelo fato do valor de LOD não ser muito superior e pelo fato de que os demais métodos realizam a determinação de MP na própria solução de medida, e em alguns casos empregando etapas de pré-concentração com aplicação de potencial. Diferentemente a estes outros casos, no presente trabalho, a etapa de pré-concentração é realizada de maneira espontânea, sem a aplicação de potencial elétrico. Este fato pode minimizar a interferência analítica de espécies concomitantes, e também pode possibilitar o desenvolvimento de um amostrador passivo de MP.

A curva analítica realizada para a determinação de MP forneceu resultados que creditam o método proposto para a determinação de MP em amostras reais, como por exemplo, água potável e sucos de fruta comerciais. Essas amostras geralmente contêm outras espécies em suas composições que podem influenciar na resposta voltamétrica de MP. Dentre destas espécies, podem-se citar íons metálicos, como cobre (II), ferro (III) e zinco (II), e também espécies orgânicas, como ácido ascórbico e glicose. Assim, há a necessidade de avaliar se há ou não variações no sinal voltamétrico entre as medidas de determinação de MP na ausência e na presença destas espécies.

Esta avaliação consistiu na comparação do sinal voltamétrico obtido para o MP com o sinal obtido após a etapa de pré-concentração em uma solução contendo tanto o MP, quanto as espécies que podem apresentar potencial interferente. A concentração de MP empregada em todas as medidas foi fixada em  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , e para todas as espécies avaliadas foram utilizadas três concentrações diferentes:  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

Com base nos voltamogramas obtidos ( $n = 3$ ) em todas as medidas foi possível obter as intensidades de corrente de pico catódico referentes à redução do MP, correlacionando-as assim em valores percentuais, tal como o desvio padrão entre as réplicas. As correlações feitas para cada espécie são

apresentadas na TABELA 8, para íons cobre (II), ferro (II), zinco (II), ácido ascórbico e glicose.

TABELA 8 – VARIACÕES DAS CORRENTES DE PICO OBTIDAS PARA O MP EM FUNÇÃO DA PRESENÇA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ESPÉCIES CONCOMITANTES: ÍONS COBRE (II), FERRO (II) E ZINCO (II); ÁCIDO ASCÓRBICO E GLICOSE

Espécie Concomitante	Variação da Intensidade de Corrente (%)		
	$1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$
Cobre (II)	-4,3	-7,2	-5,5
Ferro (III)	+1,3	-25,8	-46,9
Zinco (II)	-3,3	-6,0	+8,6
Ácido Ascórbico	+9,1	+24,9	+30,0
Glicose	+5,7	+3,6	+6,9

Com base na TABELA 8 foi possível observar que não houve interferência significativa no sinal para a redução do MP quando na presença de íons cobre (II), íons zinco (II) e glicose, mesmo em concentração 10 vezes maior que a concentração de MP. No entanto, para as medidas realizadas na presença de íons ferro (III) e ácido ascórbico foram observadas interferências significativas, quando estas espécies se encontraram na mesma concentração e em concentração 10 vezes maior que a concentração de MP. Sendo que a presença de grandes quantidades de íons ferro (III) na solução de pré-concentração levou a diminuição do sinal de redução do MP, -25,8 % para a mesma concentração e -46,9 % para  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Já para as medidas na presença de AA, a presença desta espécie gerou uma interferência positiva no sinal, de +24,9 % para  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e de +30,0 % para  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de AA.

A diminuição drástica na porcentagem da intensidade de corrente do MP pode ser explicada pela competição pelos mesmos sítios adsorptivos do biochar entre as duas espécies presentes em solução, quando nestas concentrações. Assim, medidas de quantificação de MP em amostras que possam conter essas proporções de íons ferro (III) podem ser inviabilizadas pela influência das mesmas na resposta voltamétrica do MP empregando o EPCM. Nesse caso seria necessário um tratamento prévio das amostras antes das medidas de quantificação de MP.

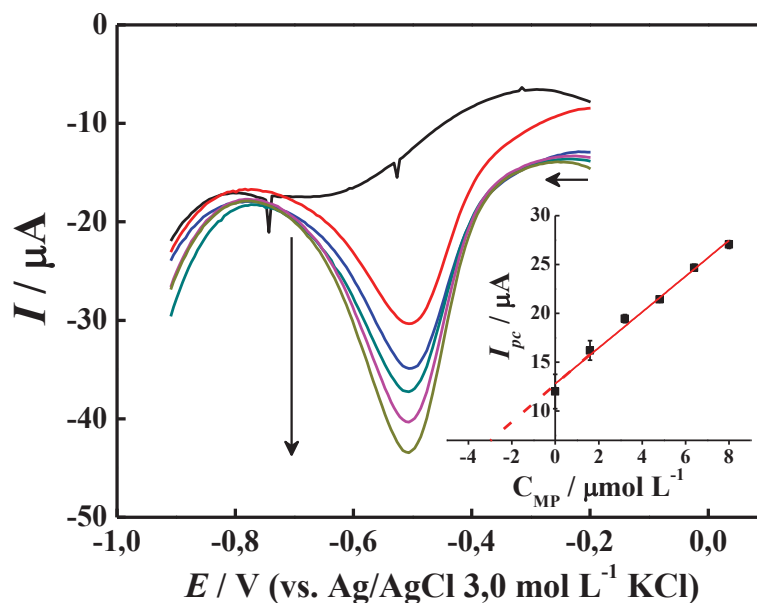


O aumento da intensidade de corrente quando na presença de AA seria pouco provável, considerando que é uma espécie redutora, e assim promoveria a redução do MP. Com a redução do MP era esperado que a sua presença diminuísse o sinal promovido pela redução eletroquímica, ou também poderia levar a diminuição da capacidade do biochar em pré-concentrar o MP. No entanto, é observado o aumento do sinal de corrente, o que inviabiliza a determinação de MP em amostras reais que contenham AA, nas concentrações avaliadas.

Com o efeito de validar o método proposto, após a realização da curva analítica e do estudo para avaliar o efeito de possíveis interferentes, foi realizada a determinação e quantificação de MP em amostras de água de torneira enriquecidas. A quantificação foi feita por curva de adição de padrão sobre amostras de água de torneira, sem nenhum tratamento prévio, enriquecidas com três concentrações diferentes de MP:  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $5,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

Os voltamogramas para a realização das curvas foram obtidos por pulso diferencial, empregando as mesmas condições de medida da curva analítica (n = 3). Com base nos voltamogramas foram obtidas as intensidades de corrente para cada medida e assim correlacionadas em função da concentração adicionada de MP. Os voltamogramas referentes à curva de adição de padrão realizada para a adição de  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> e a correlação entre a intensidade de corrente as respectivas concentrações de MP (em detalhe) são observados na FIGURA 37.

FIGURA 37 – CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO DA AMOSTRA DE ÁGUA DE TORNEIRA ENRIQUECIDA COM  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> DE MP. EM DETALHE: CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO E A CONCENTRAÇÃO DE MP



Com base na curva de adição de padrão realizada para a concentração de  $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de MP adicionada na solução de água de torneira é possível observar aumento linear da intensidade de corrente de pico com o aumento da concentração de MP adicionado sobre a solução já enriquecida. A curva de correlação nos fornece uma equação que permite calcular a concentração de MP na amostra. Com base nestes cálculos foi possível estimar a concentração de  $5,31 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de MP na amostra de água de torneira. Com isso, o método proposto empregando o EPCM recuperou  $106,2 \pm 1,2 \%$  da concentração avaliada. Demonstrando a eficácia e exatidão do método proposto nesta concentração de MP avaliada. Para as demais concentrações também foi observada boa precisão e exatidão na capacidade de recuperar MP em amostra de água de torneira sem nenhum tratamento prévio. Os resultados, quanto à porcentagem de recuperação de MP, são observados na TABELA 9.

TABELA 9 – VALORES DAS CONCENTRAÇÕES ADICIONADAS NA AMOSTRA DE ÁGUA DE TORNEIRA E RECUPERADAS PELO MÉTODO DE ADIÇÃO DE PADRÃO COM O EPCM, PARA OS TRÊS NÍVEIS AVALIADOS

Amostras	Valor adicionado ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Valor recuperado ( $\text{mol L}^{-1}$ )	% de recuperação
1	$1,0 \times 10^{-6}$	$1,02 \times 10^{-6}$	$102,0 \pm 2,1$
2	$5,0 \times 10^{-6}$	$5,31 \times 10^{-6}$	$106,0 \pm 1,2$
3	$1,0 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-5}$	$110,0 \pm 3,3$

Com base nos valores de porcentagem de recuperação tem-se que o método proposto empregando o EPCM se mostrou eficiente na recuperação de MP adicionado em amostra de água de torneira. Os valores de recuperação se encontram entre 102 e 110 % para os três níveis de concentração avaliados. O que demonstra, além da precisão, mas também a exatidão do método proposto.

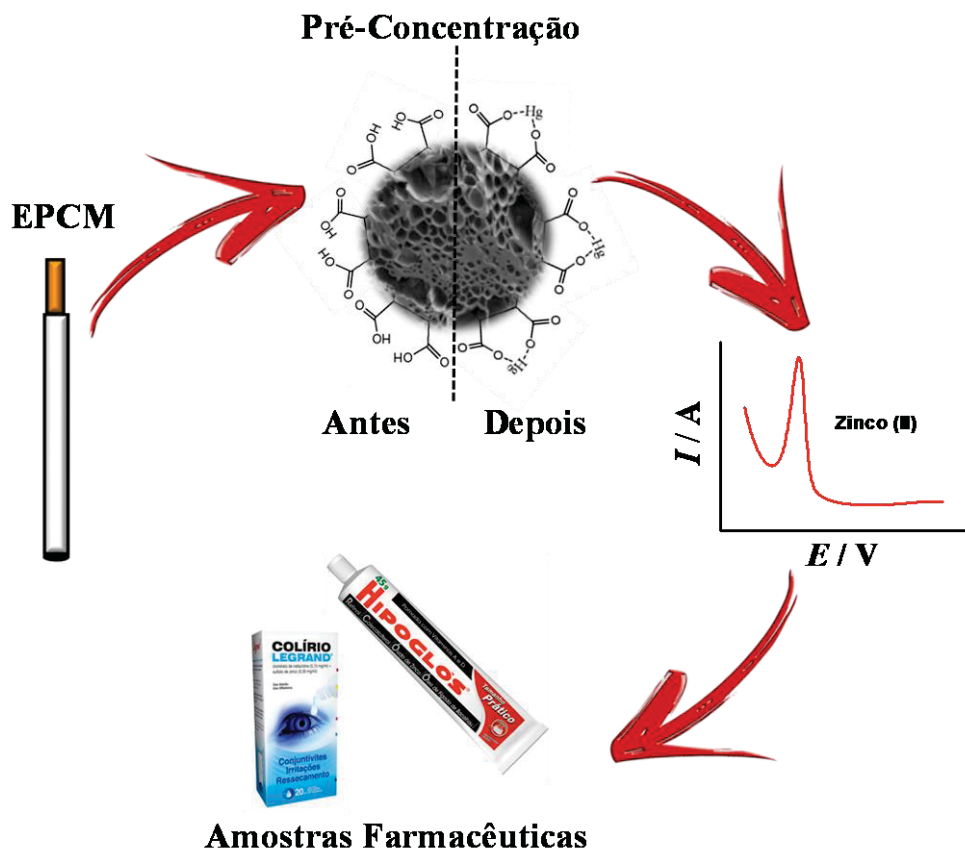
### 4.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

O biochar incorporado ao eletrodo de pasta de carbono (EPCM) apresentou melhor eficiência na pré-concentração espontânea de MP, comparado ao eletrodo de pasta de carbono não modificado e ao eletrodo de pasta de carbono modificado com carvão ativado. Devido ao biochar apresentar menor área superficial que os demais materiais, é provável que a melhora da capacidade adsortiva seja em função da característica superficial do biochar, tanto pela interação entre os grupos funcionais do biochar e o MP por ligações de hidrogênio, como também por interações  $\pi$ - $\pi$  entre o anel aromático do MP e os grupamentos hidrofóbicos do biochar.

O eletrodo proposto apresentou boa sensibilidade e limites de detecção e quantificação comparáveis a outros trabalhos da literatura, na determinação de MP. E a potencialidade do dispositivo foi confirmada pela boa exatidão que o método desenvolvido apresentou na determinação de MP em amostras de água de torneira. Viabilizando assim, a proposta de desenvolvimento de uma amostrador passivo para a quantificação de MP em água.

# **CAPÍTULO 5:**

**AVALIAÇÃO DO EPCM COM BIOCHAR NA FORMAÇÃO  
DE NANOGOTAS DE MERCÚRIO PARA A  
DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II)**



## 5.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O procedimento experimental para realização das medidas foi realizado em quatro etapas, conforme apresentado na FIGURA 38, e sumarizado abaixo.

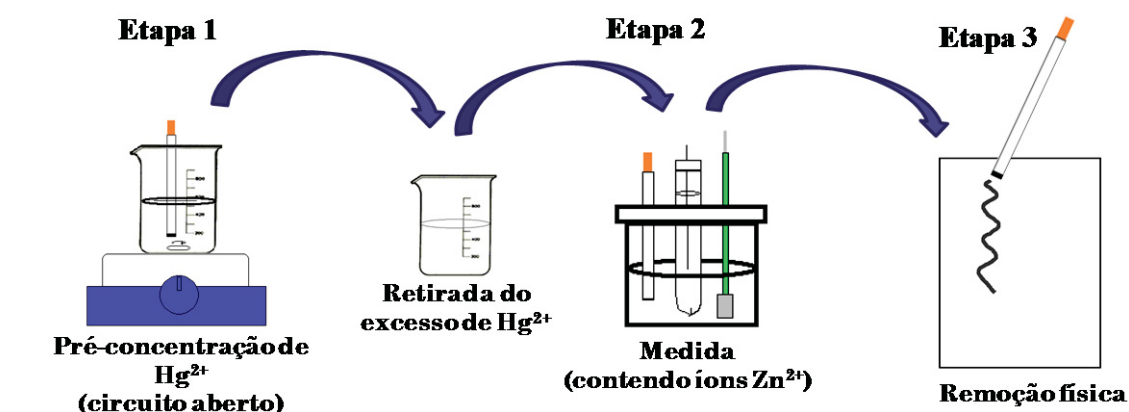
**Etapa 1:** Os EPCM foram colocados em uma solução contendo íons mercúrio (II), para a pré-concentração, em condições de potencial de circuito aberto.

**Etapa 2:** Após a etapa 1, o eletrodo foi lavado com solução de pré concentração (sem a presença de mercúrio (II)) e então transferido para a solução de medida, contendo íons zinco (II) (Etapa 3).

**Etapa 3:** Nesta etapa o EPCM contendo íons mercúrio (II) foi submetido a aplicação de um potencial negativo suficiente para promover a redução dos íons mercúrio (II) e dos íons zinco (II) em solução. Posteriormente, submeteu-se o EPCM-Hg à varredura anódica, em condições de voltametria de pulso diferencial.

**Etapa 4:** Após a Etapa 3 foi realizada uma etapa de remoção física (polimento) da superfície eletrodica.

FIGURA 38 – IMAGEM ILUSTRATIVA DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II) COM O EPCM-Hg



FONTE: O autor.

Inicialmente, as condições de medidas foram fixadas com base em trabalhos publicados anteriormente na literatura para a determinação voltamétrica de íons zinco (II) por voltametria de pulso diferencial. Foi utilizado um eletrodo de pasta de carbono (25 % em massa de óleo mineral e 50 % em massa de grafite) modificado com biochar (25 % em massa). Sendo, que para etapa de obtenção das estruturas de mercúrio foi feita a pré-concentração do EPCM em uma solução de acetato de sódio com o pH ajustado em 5,0 contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto de mercúrio, durante 5 minutos. Para a etapa de medidas foi empregada uma etapa de redução, aplicando -1,3 V durante 90 segundos em solução de acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com o pH ajustado em 5,0 contendo  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de íons zinco (II), a varredura de potencial de -1,3 a 0,5 V, com amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms.

A influência das condições de preparo, na estabilidade e reprodutibilidade das medidas voltamétricas dos EPCM-Hg construídos foi investigada, além da otimização dos parâmetros experimentais pertinentes para cada uma das etapas envolvidas no procedimento de pré-concentração e medida dos íons zinco (II), dos quais podem ser destacados:

- Investigação da potencialidade do EPCM em pré-concentrar (ancorar) estruturas de mercúrio e posterior determinação de íons zinco (II);
- Avaliação estrutural e química da superfície do EPCM-Hg por MEV;
- Avaliação do efeito de memória e da repetibilidade do sinal para medidas sucessivas;
- Otimização das condições de construção do EPCM-Hg e das medidas para a determinação de íons zinco (II);
- Desenvolvimento da metodologia analítica:

#### 5.1.1 Investigação da Potencialidade do EPCM

A avaliação da potencialidade do dispositivo contendo as estruturas de Hg em pré concentrar e determinar íons zinco (II) foi realizada comparando os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o EPC, EPC modificado com biochar (EPCM) e o EPCM submetido à etapa de incorporação de íons mercúrio (II) (EPCM-Hg) na presença de íons zinco (II) com concentração  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$



<sup>1</sup>. As etapas de medidas realizadas para este estudo foram feitas com base nas etapas descritas no item 5.3.2 (exceto a etapa de incorporação do mercúrio, que foi realizada apenas para o EPCM-Hg). Primeiramente, a etapa de redução e pré-concentração de íons zinco (II) na solução de medida. Nesta etapa foi aplicado um potencial de -1,3 V durante 90 s e posterior varredura de potencial realizada de -1,3 V até 0,5 V, com amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms. A avaliação da potencialidade do EPCM-Hg em determinar íons zinco (II) foi realizada pela comparação entre a intensidade de corrente para a oxidação do zinco, e a melhor resposta dada para o dispositivo que apresentou maior intensidade de corrente.

### 5.1.2 Avaliação Estrutural e Química da Superfície do EPCM-Hg

Para investigar se há diferença entre a morfologia do EPCM na ausência e na presença de mercúrio após a etapa de pré-concentração, e consequentemente avaliar qual o tipo de estrutura formada, foram obtidas imagens de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-AR) da superfície do EPCM e do EPCM-Hg. Sendo que, para a realização das medidas a pasta de carbono de cada eletrodo foi removida completamente e fixada sobre o suporte de análises com uma tinta condutora a base de grafite. Para a obtenção das imagens foi utilizado em Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução FEI, modelo Quanta 450, com fonte de elétrons FEG (Field Emission Gun), que possui resolução de 1,0 nm. E para a análise da composição química semi-quantitativa das superfícies avaliadas foram obtidos espectros de energia dispersiva por um espectroscópio de energia dispersiva EDAX TEAM™ com resolução de 131 eV e aceleração de voltagem de 20 kV.

### 5.1.3 Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade

A possibilidade de utilização da mesma superfície eletródica do EPCM-Hg em medidas sucessivas para a determinação de íons zinco (II) depende diretamente da ausência do efeito de memória, para o sinal do zinco, entre medidas sucessivas. Para isto foram realizadas medidas de pulso diferencial para

o EPCM-Hg em três condições: a primeira na ausência de íons zinco (II) em solução (branco), a segunda condição consistiu na medida voltamétrica na presença de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de íon zinco (II) e a terceira condição sendo a medida novamente na ausência de íons zinco (II), empregando o mesmo eletrodo usado na medida anterior sem nenhum pré-tratamento ou renovação da superfície.

Antes de realizar a otimização das condições de obtenção do dispositivo proposto e das técnicas voltamétricas avaliadas foi também realizado um estudo com a finalidade de investigar a estabilidade do sinal entre diferentes medidas de uma mesma superfície (repetibilidade) e a estabilidade do sinal entre diferentes medidas com superfícies diferentes (reprodutibilidade). O EPCM foi submetido à etapa de incorporação de mercúrio (II) (EPCM-Hg), na presença de íons mercúrio (II) com concentração  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  durante 5 minutos. As medidas foram realizadas por voltametria de pulso diferencial empregando o EPCM-Hg realizando uma etapa de redução e pré-concentração de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de íons zinco (II) com um potencial de  $-1,3 \text{ V}$  durante 90 s. Posteriormente, foi realizada uma varredura de potencial de  $-1,3 \text{ V}$  a  $0,5 \text{ V}$  com amplitude de pulso de  $100 \text{ mV}$  e tempo de pulso de  $200 \text{ ms}$ . Os valores de corrente para o processo anódico proveniente da oxidação do zinco foram correlacionados e estimados os desvios entre as medidas.

#### 5.1.4 Avaliação da Composição da Pasta de Carbono para o EPCM-Hg

A avaliação da melhor composição da pasta de carbono modificada com biochar foi feita pela realização de medidas voltamétricas para os diferentes eletrodos construídos (com composições de pasta diferentes) na presença de uma concentração fixa de íons zinco (II). As pastas de carbono foram construídas mantendo-se constante a quantidade em massa de óleo mineral (25 %) e variando a quantidade em massa de grafite ( $75 - X \%$ ) e de biochar ( $X \%$ ). Sendo que as quantidades em massa de biochar avaliadas foram de: 0, 5, 10, 20, 25 e 30 %. As condições de preparo e obtenção do EPCM-Hg foram mantidas constantes, bem como as condições de medidas dos íons zinco (II).

### 5.1.5 Avaliação da Condição de Formação das Estruturas de Mercúrio no EPCM-Hg

Estudou-se a influência do pH da solução de pré concentração de íons mercúrio (II) para diferentes valores em condições de circuito aberto. As soluções empregadas foram acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustado em 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0, com ácido acético glacial. Todos os estudos foram realizados empregando uma concentração de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de íons mercúrio (II) sob agitação constante durante 5 minutos.

Posteriormente foi avaliada a influência das diferentes concentrações de íons mercúrio (II), na solução de pré-concentração em condições de circuito aberto, frente à resposta voltamétrica para a determinação de íons zinco (II). As concentrações de mercúrio (II) estudadas foram de  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $1,0 \times 10^{-5}$ ;  $1,0 \times 10^{-4}$ ;  $1,0 \times 10^{-3}$  e  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Todos os estudos foram realizados empregando solução de acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com o pH ajustado no melhor valor já definido.

Por fim, foi avaliada a influência do tempo de pré-concentração de íons mercúrio (II) na formação das estruturas de mercúrio e, conseqüentemente, na resposta voltamétrica da oxidação do zinco. Neste estudo foram obtidos voltamogramas na presença de uma concentração fixa de íons zinco (II) ( $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) variando o tempo de pré-concentração do EPCM na solução contendo íons mercúrio (II), nas condições já otimizadas anteriormente. Os tempos avaliados foram de 30, 60, 90, 120, 180, 240 e 600 segundos

### 5.1.6 Avaliação da Etapa de Medida dos Íons Zinco (II)

Para o estudo de avaliação do pH da solução de medida (etapa de redução e redissolução) utilizou-se como eletrólito soluções de acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com valores de pH ajustados em 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 com ácido acético glacial e hidróxido de sódio. Para cada eletrólito avaliado foram obtidas triplicatas das medidas voltamétricas.

Para avaliar o potencial aplicado para a redução dos íons zinco (II) foram realizadas diferentes medidas variando o valor do potencial de redução de -0,8; -

0,9; -1,0; -1,3 e -1,4 V, na superfície do eletrodo com íons mercúrio (II) já pré-concentrados e os íons zinco (II) em solução. Após, foi investigada a influência do tempo de aplicação do potencial de redução. Os tempos estudados foram de 0, 10, 60, 120, 150, 180 e 240 s. Para cada potencial e tempo de redução estudado foram obtidas três medidas voltamétricas, na presença de  $1,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  de íons zinco (II).

#### 5.1.7 Avaliação dos Parâmetros da Técnica Voltamétrica

Dentre os parâmetros inerentes à voltametria de pulso diferencial foram avaliados a influência da amplitude de pulso e do tempo de pulso, sendo estes os parâmetros que mais influenciam na resposta voltamétrica. Para a avaliação da melhor condição da amplitude do pulso aplicado foram obtidos voltamogramas do EPCM-Hg na presença de íons zinco (II) ( $1,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$ ) variando os valores de amplitude de 10, 25, 50, 70, 90, 100 e 120 mV. Para a avaliação do tempo de pulso, a mesma rotina de análise foi aplicada variando apenas os valores de tempo de pulso, de 100, 150, 200, 250 e 300 ms.

#### 5.1.8 Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação de Íons Zinco (II)

Após a verificação das melhores condições parâmetros experimentais e da técnica, foi realizada a curva analítica empregando o EPCM-Hg na presença de diferentes concentrações de íons zinco (II). A pré-concentração dos íons zinco (II) foi realizada pela adição de padrão de nitrato de zinco (II) (MERCK) de 1000 ppm, empregando as condições e parâmetros já otimizados. Os voltamogramas obtidos foram registrados e as intensidades dos processos faradaicos, referente à oxidação do zinco, foram correlacionados com as respectivas concentrações em solução. Todas as medidas da curva analítica foram realizadas em triplicatas.

Em seguida, realizou-se a avaliação de potenciais interferentes no sinal de resposta de íons zinco (II). O estudo foi realizado pela obtenção de voltamogramas de pulso diferencial empregando o EPCM-Hg para a determinação de íons zinco (II) ( $1,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$ ) quando na ausência e na

presença de outros íons. As espécies avaliadas foram íons cobre (II), cádmio (II), ferro (III), mercúrio (II), níquel (II) e chumbo (II) em três concentrações diferentes: 10 vezes menor que a concentração de íons zinco (II) ( $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ), com concentração igual ( $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e dez vezes maior que a concentração de íons zinco (II) ( $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ). A avaliação da interferência foi realizada pela comparação percentual entre a variação da intensidade de corrente de pico para a oxidação do zinco nos dois casos avaliados (na ausência e na presença das espécies potenciais interferentes), para as três concentrações avaliadas.

A determinação de íons zinco (II) em amostras comerciais foi realizada pelo método de adição de padrão. As amostras analisadas foram colírio (Legrand®) e pomada (Hipoglo's®). Na amostra de colírio os íons zinco (II) está na forma de sulfato de zinco heptahidratado ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), e não necessitou de qualquer tratamento prévio, apenas uma etapa de diluição com o eletrólito suporte. Já para a amostra de pomada, o zinco (II) está na forma de óxido de zinco (II) ( $\text{ZnO}$ ). Houve assim, a necessidade desta amostra ser digerida segundo o procedimento proposto por Benamor e colaboradores [163]. Para realizar a digestão foi pesado 21,0 mg da amostra e transferida para um funil de separação com 10 mL de éter dietílico e 10 mL de ácido nítrico ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ). A mistura foi agitada por durante 10 minutos originando-se em duas fases, e a fase aquosa, contendo os íons zinco (II), foi separada e assim, realizada uma diluição em tampão acetato pH 5,0.

A comparação dos resultados obtidos pelo método proposto foi também realizada por espectroscopia empregando ICP OES. O equipamento utilizado para este estudo é da marca ThermoScientific, modelo iCAP 6500, com visão axial, potência de radiofrequência de 1300 W e a curva de calibração realizada com de padrão interno de ítrio ( $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ) e 213,8 nm. Sendo que a quantificação de íons zinco (II) por esta técnica foi realizada no Laboratório do Grupo de Química Ambiental, da UFPR.

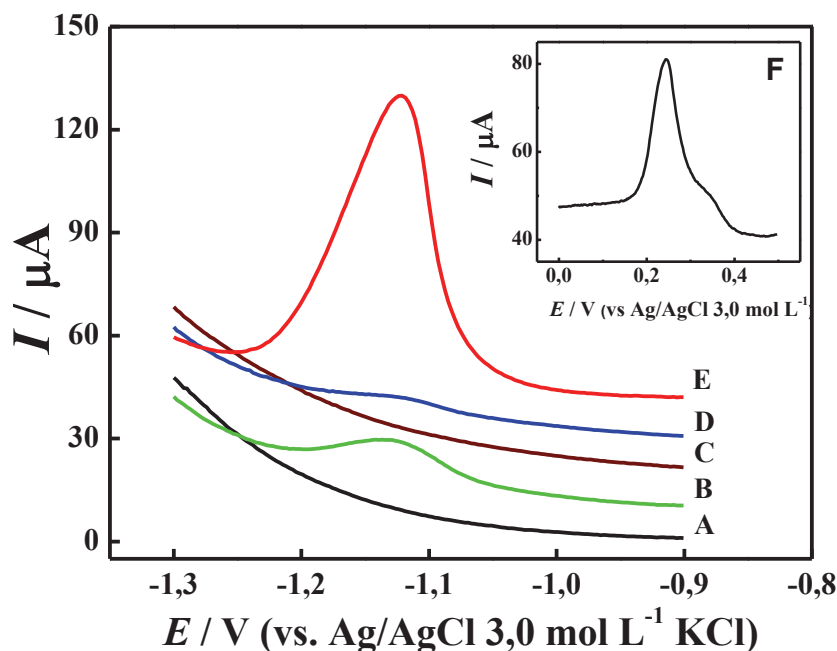
## 5.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.2.1 Potencialidade Analítica do EPCM-Hg para Pré-concentração de Íons Zinco (II)

Para avaliar a proposta do EPCM como matriz de suporte das nanoestruturas de mercúrio e para a determinação de íons zinco (II) foi realizado um estudo comparativo do desempenho do eletrodo proposto com outros eletrodos. Neste estudo, voltamogramas foram obtidos para o eletrodo de pasta de carbono não modificado (EPC), EPC modificado com biochar (EPCM) e o EPCM submetido à etapa de incorporação de íons mercúrio (II) (EPCM-Hg) na presença de íons zinco (II)  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Cabe ressaltar, que o processo de pré-concentração das nanoestruturas de mercúrio foi feita pela imersão do EPCM em uma solução de acetato de sódio com pH ajustado em 6,0 na presença de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de íons mercúrio(II) durante 5 minutos em condição de circuito aberto. Para a obtenção dos voltamogramas realizou-se, primeiramente, uma etapa de redução e pré-concentração dos íons zinco (II) aplicando um potencial de -1,3 V durante 90 s e posterior varredura de potencial realizada de -1,3 V até 0,5 V, com amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms.

A FIGURA 39 mostra os voltamogramas obtidos para o EPC na ausência (FIGURA 39-A) e na presença de íons zinco (II) (FIGURA 39-B), EPCM na ausência de íons zinco (II) (FIGURA 39-C), EPCM na presença de íons zinco (II) sem a etapa de pré-concentração de mercúrio (II) (FIGURA 39-D). A FIGURA 39-E mostra o desempenho após a etapa de incorporação de íons mercúrio (II) e o prolongamento do voltamograma com o processo faradaico referente à oxidação do mercúrio (FIGURA 39-F).

FIGURA 39 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS EM TAMPÃO ACETATO pH 5,0 PARA: (A) EPC NÃO MODIFICADO NA AUSÊNCIA DE ÍONS ZINCO (II); (B) EPC NÃO MODIFICADO NA PRESENÇA DE ÍONS ZINCO (II) (C) EPCM ANTES DA ETAPA DE PRÉ CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO NA AUSÊNCIA DE ÍONS ZINCO (II); (D) EPCM ANTES DA ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO NA PRESENÇA DE ÍONS ZINCO (II); (E) E (F) EPCM-Hg APÓS A ETAPA DE PRÉ CONCENTRAÇÃO NA PRESENÇA ÍONS DE ZINCO (II)



Para os voltamogramas obtidos com os eletrodos na ausência de íons zinco (II) em solução (A e C) não foram observados processos faradaicos nessa região de potencial, sugerindo que os componentes das pastas de carbono e o mercúrio não são eletroativos nestas condições. Os voltamogramas referentes aos eletrodos na presença de íons zinco (II) (B para o EPC, D para o EPCM e E para o EPCM-Hg) apresentam um processo faradaico em potencial de aproximadamente -1,1 V, proveniente da oxidação do zinco ( $\text{Zn}^0 \rightarrow \text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^-$ ) [164]. A presença do sinal faradaico sugere que a pré-concentração dos íons zinco (II) acontece em todos os eletrodos, em virtude, principalmente, pela etapa de redução realizada antes da varredura. Sendo que, a maior intensidade deste sinal foi observada para EPCM submetido à etapa de pré-concentração de íons mercúrio (II) ( $82,2 \times 10^{-6} \text{ A}$ ), comparado ao EPCM ( $2,0 \times 10^{-6} \text{ A}$ ) e ao EPC ( $8,7 \times 10^{-6} \text{ A}$ ). A presença de gotas de mercúrio no EPCM promove um aumento no incremento da intensidade corrente do processo da oxidação do zinco comparada aos demais eletrodos. Esse comportamento pode ser atribuído à presença de uma maior quantidade de íons zinco (II) na superfície no mercúrio formado no

eletrodo e pela melhora do processo de redissolução, ambas promovidas pela presença do mercúrio. A afinidade do mercúrio por outros metais pode ser uma provável explicação para essa maior concentração de íons zinco (II), tendo em vista a capacidade do mercúrio em formar amálgamas [165-167]. A melhora da resposta voltamétrica observada neste caso assemelha-se a resposta de eletrodos de filmes de mercúrio, dado que nestes sistemas o analito é confinado em uma quantidade ínfima de mercúrio, melhorando a transferência eletrônica das reações destas espécies, promovendo uma maior relação entre sinal e concentração de íons zinco (II) [168]. A presença de mercúrio no eletrodo modificado pode ser evidenciada pelo processo anódico (pico) em +0,25 V (oxidação do mercúrio  $\text{Hg}^0 \rightarrow \text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^-$ ) [106] como observado em detalhe na FIGURA 2-F. É importante salientar, que o EPC não modificado não apresenta capacidade significativa em pré concentrar íons mercúrio (II) em condições de circuito aberto.

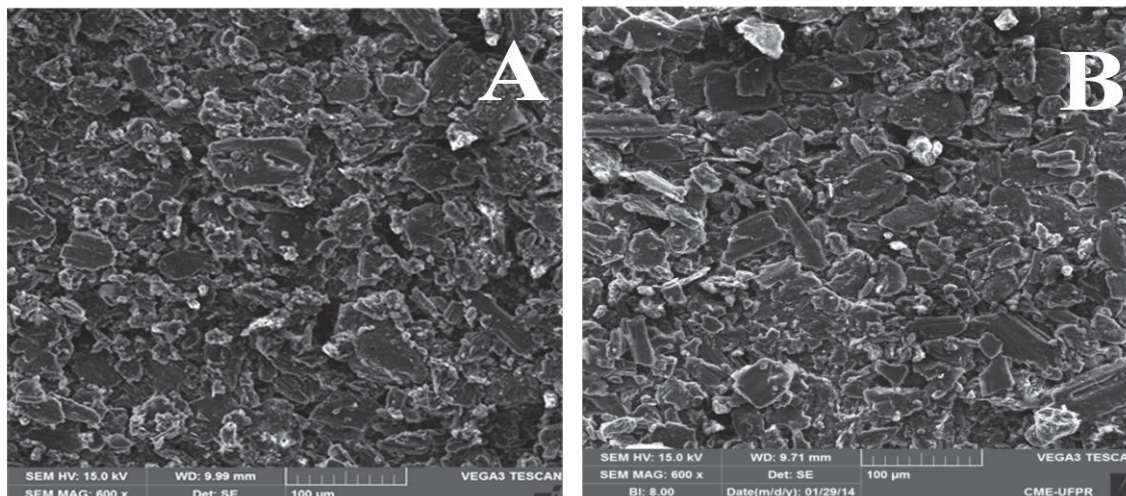
Com isso, os resultados observados para o presente estudo comprovam tanto a capacidade do biochar em pré-concentrar espontaneamente íons mercúrio, quanto a melhor resposta deste eletrodo para a determinação voltamétrica de íons zinco (II). Depois de verificar a eficiência do dispositivo proposto, outros estudos foram realizados visando investigar a superfície do biochar no EPCM. Para isto, foram obtidas imagens de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução e espectroscopia dispersiva de raio-X da superfície do EPCM modificado com íons mercúrio (II).

### 5.2.2 Análise Morfológica e Elementar da Superfície do EPCM-Hg

A investigação morfológica da superfície do eletrodo foi realizada por MEV de alta resolução antes e após a etapa de incorporação de íons mercúrio (II). As pastas de carbono empregadas neste estudo foram obtidas com a mesma composição e mesmo processo de confecção, diferenciando-as uma da outra pela etapa de pré-concentração, que foi realizada da mesma forma do estudo anterior. As imagens que representam as morfologias do EPCM com e sem mercúrio são observadas na FIGURA 40-A e 40-B, respectivamente.



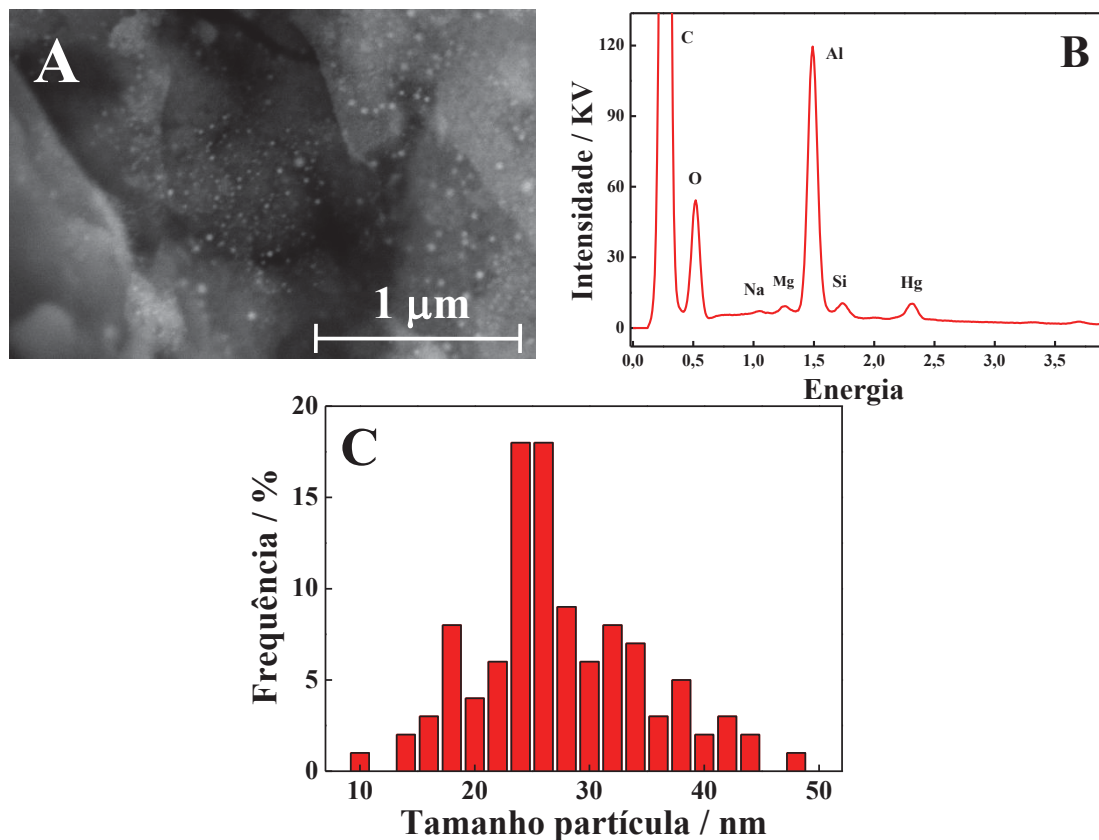
FIGURA 40 – IMAGENS DE MEV REPRESENTATIVAS DA SUPERFÍCIE DO EPCM (A) NA AUSÊNCIA DA ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS MERCÚRIO (II) E (B) NA PRESENÇA DA ETAPA DE INCORPORAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE MERCÚRIO



Na escala apresentada, as imagens obtidas por MEV com magnitude de ampliação de 600 vezes, para o EPCM e o EPCM-Hg apresentam semelhança na morfologia entre as duas superfícies. As imagens apresentaram rugosidades e irregularidades, como o esperado para eletrodos de pasta de carbono. Pelos espectros de EDS destas amostras foi possível identificar a presença de compostos como alumínio, sílica, magnésio, sódio e oxigênio, além de carbono presente majoritariamente, nas duas superfícies. Estes elementos normalmente são encontrados na composição do biochar, comprovando assim, que a área selecionada para as medidas contém biochar, além de grafite e óleo mineral, se mostrando representativa.

Entretanto, para o EPCM com e sem mercúrio não foi possível observar qualquer indício de estruturas de mercúrio nas imagens com as magnitudes de aumento empregadas (600 vezes). Assim, para a pasta de carbono deste eletrodo (EPCM-Hg) foram realizadas medidas de MEV com aumento de 30.000 vezes, a fim de se observar as estruturas de mercúrio. A imagem de MEV em alta resolução proveniente deste estudo é apresentada na FIGURA 41-A, tal como o espectro de EDS representativo desta imagem na FIGURA 41-B, e a distribuição de tamanho das nanogotas de mercúrio na FIGURA 41-A.

FIGURA 41 – (A) IMAGENS REPRESENTATIVAS DE MEV DO EPCM-HG COM AUMENTO DE 30.000 VEZES, (B) ESPECTRO DE EDS REFERENTE À ANÁLISE ELEMENTAR DA SUPERFÍCIE DA REFERIDA IMAGEM, (C) ESTIMATIVA DA DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS NANOGOTAS DE MERCÚRIO



A imagem de alta resolução para o EPCM-Hg mostrou a presença de pequenas gotículas dispersas sobre a superfície da estrutura referente ao biochar. Com o emprego do software (GatanC Digital Micrograph 3.4) foi possível estimar a dispersão de tamanho destas estruturas, que variam de 20 a 40 nm, aproximadamente (FIGURA 41-C). A análise da composição química da superfície, observada no espectro de EDS na FIGURA 41-B, confirmou tanto a presença dos elementos que compõem o biochar, sendo alumínio, silício, magnésio, sódio, oxigênio e carbono, quanto à presença de mercúrio, comprovando assim, que as nanoestruturas observadas são realmente de Hg, sendo chamadas assim por diante de nanogotas de mercúrio.

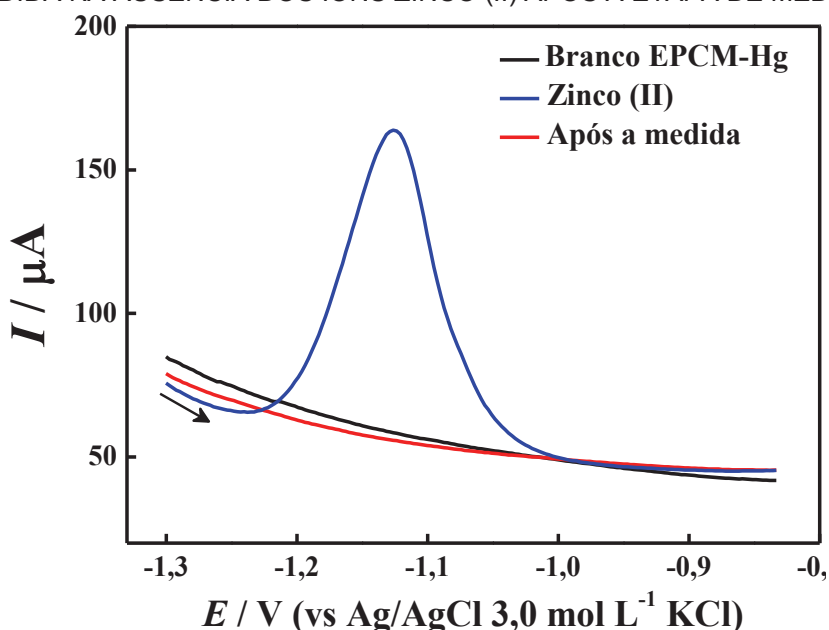
A elevada quantidade de oxigênio presente na superfície do biochar e resultados relatados na literatura sugerem que a pré-concentração dos íons mercúrio (II) sobre o EPCM pode ser proveniente da interação entre estes íons

com grupamentos oxigenados presentes no biochar, como por exemplo, hidroxílicos, carboxílicos e lactônicos.

### 5.2.3 Avaliação do Efeito de Memória e Repetibilidade

Depois de evidenciada a capacidade do EPCM em pré-concentrar espontaneamente íons mercúrio e a potencialidade na aplicação como sensor voltamétrico para a determinação de íons zinco (II) foi avaliado se há ou não efeito de memória entre medidas sucessivas. Neste estudo foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial para o EPCM-Hg em diferentes condições: a primeira, na ausência de íons zinco (II) em solução (branco), posteriormente foi realizada a medida na presença de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de zinco (II), e por fim o mesmo eletrodo foi submetido novamente à varredura de potencial na solução de medida sem íons zinco (II). A obtenção dos voltamogramas consistiu na aplicação de um potencial de  $-1,3 \text{ V}$  durante  $90 \text{ s}$  e posterior varredura de potencial realizada de  $-1,3 \text{ V}$  até  $0,5 \text{ V}$  com amplitude de pulso de  $100 \text{ mV}$  e tempo de pulso de  $200 \text{ ms}$ . Os voltamogramas deste estudo são observados na FIGURA 42.

FIGURA 42 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL OBTIDOS PARA O EPCM-Hg NA AUSÊNCIA DE ÍONS Zn (II) (BRANCO), CONTENDO  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  ÍONS ZINCO (II) E MEDIDA NA AUSÊNCIA DOS ÍONS ZINCO (II) APÓS A ETAPA DE MEDIDA



O voltamograma obtido para o EPCM-Hg na ausência de íons zinco (II) em solução (Branco) não apresentou nenhum processo faradaico (picos), como já observado anteriormente. Para a medida realizada na presença de íons zinco (II)

é observada a presença de um pico em aproximadamente  $-1,1$  V, referente à oxidação do zinco. Quando o mesmo eletrodo, empregado na medida anterior, foi submetido a uma nova solução sem a presença de íons zinco (II), o mesmo perfil voltamétrico do estudo do branco foi observado. Não apresentando o processo faradaico proveniente da oxidação do zinco. Assim, a varredura de potencial do EPCM-Hg no sentido positivo de potencial promove a oxidação e redissolução completa dos íons zinco (II) previamente reduzidos na etapa anterior. Isto permite que a mesma superfície possa ser empregada em outras medidas sem qualquer tratamento ou renovação da superfície.

A possibilidade de que também seja promovida a redissolução do mercúrio adsorvido na etapa de medida, como observado para os íons zinco (II), que pode influenciar na eficiência do EPCM-Hg em pré-concentrar e determinar zinco. Sendo assim, existe a necessidade de avaliar a repetibilidade do sinal voltamétrico para a determinação de íons zinco (II) entre medidas sucessivas, para uma mesma superfície e para diferentes superfícies. Para a avaliação da repetibilidade entre medidas sucessivas na presença de íons zinco (II), para uma mesma superfície e diferentes superfícies do EPCM-Hg, foram realizadas medidas ( $n = 5$ ) de pulso diferencial na presença de  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de íons zinco (II). Com base nos voltamogramas foi possível obter as intensidades de intensidade de corrente de pico da oxidação do zinco para cada medida realizada. Assim, foi possível realizar a correlação entre as intensidades de corrente de pico de cada medida e avaliar a repetibilidade entre elas.

A variação percentual do sinal entre medidas sucessivas de uma mesma superfície foi de 3,6 % e de 8,5 % entre medidas sucessivas com superfícies diferentes do EPCM-Hg. Com isto, é possível afirmar que tanto medidas com uma mesma superfície, quanto medidas realizadas com superfícies diferentes do EPCM-Hg são repetitivas para a determinação de íons zinco (II), conseqüentemente confiáveis. Podendo ser utilizadas para o desenvolvimento de um método analítico para a determinação de íons zinco (II). No entanto, o estudo empregando uma mesma superfície apresentou menor desvio entre as medidas, quando comparadas as medidas com superfícies diferentes. Sendo utilizada esta estratégia de medida para os estudos posteriores.

#### 5.2.4 Avaliação da Composição de Biochar na Pasta de Carbono

Visando potencializar a resposta do eletrodo para a determinação de íons zinco (II) foi investigado o efeito da quantidade do modificador na pasta de carbono. Neste estudo foram construídos eletrodos com composições que variaram de 0 – 40% (m/m) de biochar na pasta de carbono, sendo fixada a quantidade de óleo mineral em 25 % (m/m). Os voltamogramas de pulso diferencial (não apresentados) foram obtidos na presença de íons zinco (II),  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , sendo que para cada eletrodo avaliado foi empregada as seguintes condições: potencial de redução de -1,3 V durante 90 s, varredura de potencial de -1,3 V a 0,5 V, amplitude de pulso de 100 mV e tempo de pulso de 200 ms.

Foi observado um aumento da intensidade de corrente de pico em decorrência do aumento da quantidade de biochar no intervalo de 0 – 20 %. Este aumento pode estar associado à maior quantidade de sítios presentes no biochar, o que leva a um maior número de nanogotas de Hg dispersas na superfície eletródica. Um aumento da intensidade de corrente para a oxidação do zinco foi verificado para maiores teores de modificador, porém, para valores superiores a 20 % de biochar o sinal decai, o que pode ser atribuído a menor quantidade de grafite na composição da pasta, diminuindo a condutividade da pasta, lembrando que o biochar é um material amorfo e não apresenta condutividade elétrica.

Outra possibilidade para esta diminuição poderia ser o fato de que com o aumento de biochar na pasta de carbono mais sítios de adsorção estariam disponíveis para pré-concentrar íons mercúrio (II). Contudo, a quantidade destes íons em solução e o tempo de pré-concentração se mantiveram constantes, que pode ter refletido na quantidade e no tamanho das nanogotas de mercúrio. Podendo-se considerar assim, que as nanogotas de mercúrio possuem uma distribuição de tamanho “ótima” nas condições de pré-concentração utilizadas com a quantidade de 20 % (m/m) de biochar na pasta de carbono, e essa composição foi utilizada nos estudos posteriores.

### 5.2.5 Avaliação das Soluções de Pré-concentração de Íons Hg (II) e Medida

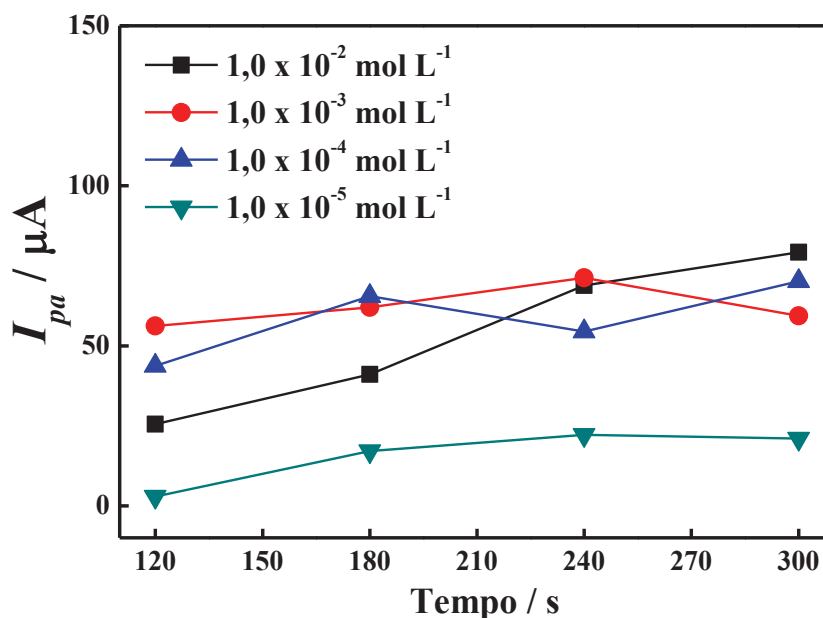
A variação no pH da solução de pré-concentração de íons mercúrio (II), em circuito aberto, pode influenciar diretamente na capacidade de formar as nanogotas de mercúrio, e assim, no sinal voltamétrico para a determinação de íons zinco (II). Para a avaliação desta influência foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial (não apresentados) para o EPCM contendo as nanoestruturas obtidas em condições diferentes de pH: de 3,0 a 7,0. O tempo de pré-concentração foi fixado em 5 minutos e a concentração de mercúrio (II) em  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Os voltamogramas foram obtidos na presença de íons zinco (II)  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , empregando o eletrodo de composição otimizada. Foi verificado um aumento da intensidade de corrente de pico em decorrência do aumento do pH da solução de pré-concentração até o pH 6,0. Este aumento pode ser explicado pela maior capacidade do biochar em pré-concentrar íons metálicos, tal como íons mercúrio (II), em valores de pH mais elevados. Nesta condição, os grupos funcionais presentes no biochar se encontram mais desprotonados, promovendo uma característica mais negativa à superfície, atraindo espécies de carga positiva. Essa capacidade de interação com os íons mercúrio (II) favoreceu a formação das nanogotas de mercúrio, o que refletiu na maior eficiência de adsorção e determinação de íons zinco(II).

No entanto, para valores de pH superiores a 6,0 há um decréscimo da intensidade de corrente de pico, ao contrário do esperado. Esta evidencia pode ser atribuída a possível hidrólise dos íons mercúrio (II) em solução ( $K_{ps} = 3,6 \times 10^{-26}$ ) [149]. Para estes valores de pH, tem-se um decréscimo da fração de íons  $\text{Hg}^{2+}$ , e concomitantemente um aumento da quantidade de mercúrio (II) na forma de hidróxido de mercúrio (II) ( $\text{Hg}(\text{OH})_2$ ), que se estabiliza na forma de óxido de mercúrio (II) ( $\text{HgO}$ ) mais água, passando por uma forma intermediária ( $\text{HgClOH}$ ) em pH de aproximadamente 7,5. Assim, para valores de pH acima de 6,0 o mercúrio se encontra na forma de óxido de mercúrio (II) que é praticamente insolúvel em água [149], se tornando indisponível para sua incorporação no EPCM. Com base nos resultados apresentados a melhor resposta frente aos íons

zincó (II) foi observada para a solução de acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustado em 6,0 que foi usada para as medidas posteriores.

Nesse sentido, a concentração de íons mercúrio (II) também foi avaliada para verificar se há relação entre a quantidade destes íons em solução com a intensidade do sinal de oxidação do zinco. Como no estudo anterior, foram obtidos voltamogramas de pulso diferencial, modulando a etapa de formação das nanogotas, variando a concentração de íons mercúrio (II). As concentrações estudadas foram de  $1,0 \times 10^{-5}$ ;  $1,0 \times 10^{-4}$ ;  $1,0 \times 10^{-3}$  e  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , em acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com pH ajustado em 6,0. Foi também variado o tempo de pré-concentração em função de cada concentração avaliada de 30 a 600 segundos. A influência destes dois parâmetros na resposta voltamétrica foi demonstrada pela correlação entre a intensidade de corrente de pico para os íons zinco (II) em função do tempo de pré-concentração de mercúrio (II) para as concentrações avaliadas, como pode ser observada na FIGURA 43.

FIGURA 43 – CORRELAÇÃO ENTRE AS INTENSIDADES DE CORRENTE DE PICO PARA A OXIDAÇÃO DO ZINCÓ EM FUNÇÃO DO TEMPO DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS MERCÚRIO (II), PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÍONS MERCÚRIO (II)



Pode-se observar que a intensidade de corrente para o processo de oxidação do zinco aumenta com o aumento do tempo de pré-concentração do EPCM na solução contendo íons mercúrio (II). O aumento do sinal pode ser explicado pela maior quantidade de íons mercúrio (II) disponível em solução, e

assim a uma maior quantidade de mercúrio adsorvido. A maior quantidade de mercúrio leva a maior pré-concentração de íons zinco (II). Entretanto, o aumento da intensidade de corrente, em todos os casos, é muito pequeno com o aumento do tempo. Assim, a condição que apresentou os melhores resultados foi obtida com tempo de pré-concentração de 180 segundos em uma solução contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de íons mercúrio (II).

Para avaliar a influência do pH da solução de medida na resposta voltamétrica do zinco foram obtidos voltamogramas para a concentração de zinco (II) de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , em soluções de acetato de sódio  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  variando o valor de pH no intervalo de 3,0 a 8,0. Foi observado o aumento da intensidade de corrente de oxidação do zinco com o aumento do valor do pH da solução de medida. Este aumento pode estar associado ao decréscimo da concentração de íons  $\text{H}^+$ , à medida que o pH aumenta, e que gera menor competição dos íons  $\text{H}^+$  com os íons mercúrio (II) e zinco (II) em solução. A competição pelos íons  $\text{H}^+$  promove a retirada dos íons de interesse da superfície do eletrodo, o que diminui a eficiência do eletrodo na determinação dos íons zinco (II). Ou seja, quanto maior o pH, menor será a interferência negativa no sinal. A maior intensidade de corrente foi obtida em solução de acetato de sódio com o pH ajustado em 5,0. Para valores superiores a 5,0 há o decréscimo da intensidade de pico, que pode estar associada ao mesmo inconveniente observado para a solução de pré-concentração, quando neste pH é possível que ocorra a hidrólise do mercúrio, alterando as estruturas de mercúrio formadas na superfície do biochar. Assim, para estudos posteriores empregou-se solução de medida de acetato de sódio com pH 5,0.

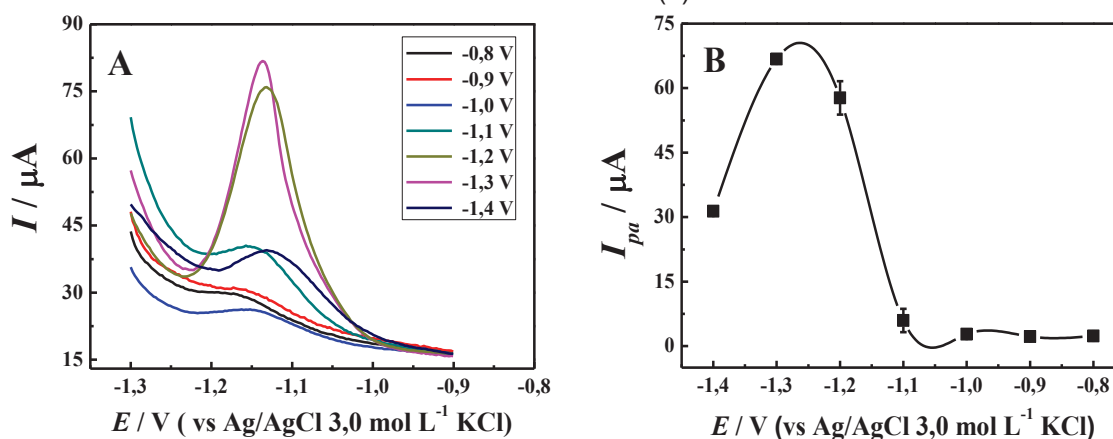
#### 5.2.6 Avaliação dos Parâmetros Instrumentais

Para a otimização das condições instrumentais referentes as medidas voltamétricas, foram avaliados os parâmetros: potencial e tempo de redução dos íons zinco (II), amplitude e tempo de pulso. Para definir o potencial de redução que apresenta a melhor eficiência na redução de íons zinco (II) foram realizadas medidas do EPCM-Hg na presença de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de íons zinco (II), variando o potencial de redução aplicado de -1,4 V a -0,8 V. O tempo de redução



foi mantido constante em 90 segundos para cada medida, tal como os demais parâmetros otimizados nos estudos anteriores. Os voltamogramas de pulso diferencial e a correlação entre as intensidades de corrente e o potencial de redução obtidos podem ser observados na FIGURA 44.

FIGURA 44 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE CORRENTE OBTIDOS E OS VALORES DE POTENCIAL DE REDUÇÃO (B) PARA O EPCM-Hg. MEDIDAS EM SOLUÇÃO CONTENDO  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE ÍONS ZINCO (II)

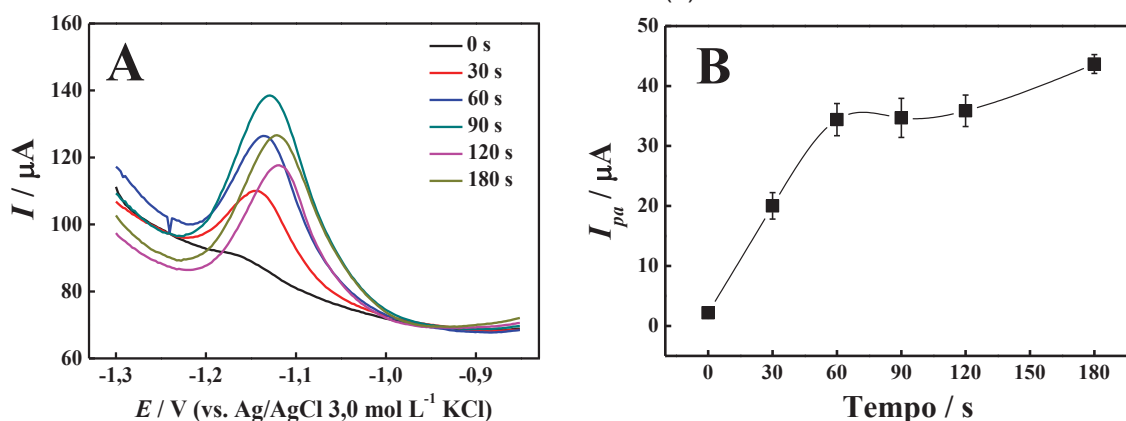


Analisando as FIGURAS 44-A e 44-B, é possível observar que as intensidades de corrente são diminutas quando empregado os potenciais de redução entre -0,8 V e -1,0 V. Os valores de corrente de pico pouco significativos podem estar relacionados ao fato de que estes potenciais de redução não são suficientes para promover a redução dos íons zinco (II) e posteriormente a redissolução. Este efeito só começa a ser observado para potenciais mais negativos do que -1,1 V, aumentando o sinal de oxidação do zinco a partir deste potencial. O máximo de eficiência é observado para a medida realizada com a aplicação de -1,3 V. Para potenciais mais negativos que -1,0 V há o aumento da intensidade de corrente até o máximo em -1,3 V. Para o potencial de redução de -1,4 V a intensidade de corrente diminui consideravelmente, provavelmente pelo fato de o potencial ser muito negativo e outras espécies, como o próprio solvente ( $\text{H}_2\text{O}$ ), estarem sendo reduzidas concomitantemente aos íons zinco (II), influenciando e diminuindo a capacidade de reduzir a espécie de interesse.

O efeito do tempo de aplicação do potencial redução foi investigado obtendo voltamogramas de pulso diferencial em uma solução contendo uma concentração fixa de íons zinco (II),  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , para diferentes tempos de

redução (de 0 (ausência) até 180 segundos) nas mesmas condições empregadas no estudo anterior. Os voltamogramas deste estudo, tal como a correlação entre os valores de intensidade de corrente de pico em função do tempo de redução são observados nas FIGURAS 45-A e 45-B, respectivamente.

FIGURA 45 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL (A) E CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE CORRENTE OBTIDOS E OS TEMPOS DE POTENCIAL DE REDUÇÃO (B) PARA O EPCM-Hg. MEDIDAS EM SOLUÇÃO CONTENDO  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE ÍONS ZINCO (II)



Os resultados apresentados na FIGURA 45 mostram um aumento da intensidade de corrente com o aumento do tempo de aplicação do potencial de redução, de 0 até 60 segundos. Isto sugere que quanto maior o tempo de aplicação do potencial de redução de -1,3 V, maior será a quantidade de íons zinco (II) reduzidos a zinco metálico ( $\text{Zn}^0$ ) e posteriormente re-oxidadas. As medidas obtidas com tempo maiores que 60 segundos apresentam intensidades de corrente praticamente constantes, não havendo aumento significativo da intensidade quando comparadas com as medidas obtidas com 60 segundos. Provavelmente por não haver mais sítios disponíveis para a redução de mais espécies, ou por atingir o equilíbrio entre a concentração de íons zinco (II) reduzidos e a quantidade de sítios de pré-concentração do biochar disponíveis. Sendo assim, o tempo de 60 segundos foi empregado em estudos posteriores por apresentar a melhor eficiência na resposta voltamétrica.

Os parâmetros inerentes da técnica de pulso diferencial, tal como amplitude do pulso de potencial e tempo de pulso, são de extrema importância para a avaliação das melhores condições de análise. Sendo que a modulação destes parâmetros pode influenciar diretamente na sensibilidade e seletividade

das medidas. Primeiramente foi avaliada a influência do valor de amplitude de pulso aplicado na resposta voltamétrica para a determinação de íons zinco (II). Neste estudo foram obtidos voltamogramas variando os valores de amplitude de pulso de 10 a 120 mV. Foi observado que a intensidade de corrente de pico aumenta consideravelmente até o valor de 100 mV. O aumento da amplitude de pulso aplicado leva também ao inconveniente da perda da seletividade, causada pelo alargamento e/ou deslocamento do pico de oxidação. A melhor concordância foi observada para o valor de 100 mV de amplitude de pulso, por apresentar elevada intensidade de corrente com deslocamento do pico de oxidação insignificante.

A avaliação da influência do tempo de pulso mostrou que a variação deste parâmetro não influencia de forma significativa na intensidade de corrente de pico como no estudo para a amplitude de pulso. No entanto, foi observada maior intensidade de corrente para o tempo de pulso de 100 ms, além de apresentar melhor repetibilidade dos valores de correntes entre as réplicas.

Assim, com estes estudos todos os parâmetros que envolvem as condições experimentais foram avaliados e estão resumidos na TABELA 10, com os valores avaliados e otimizados.

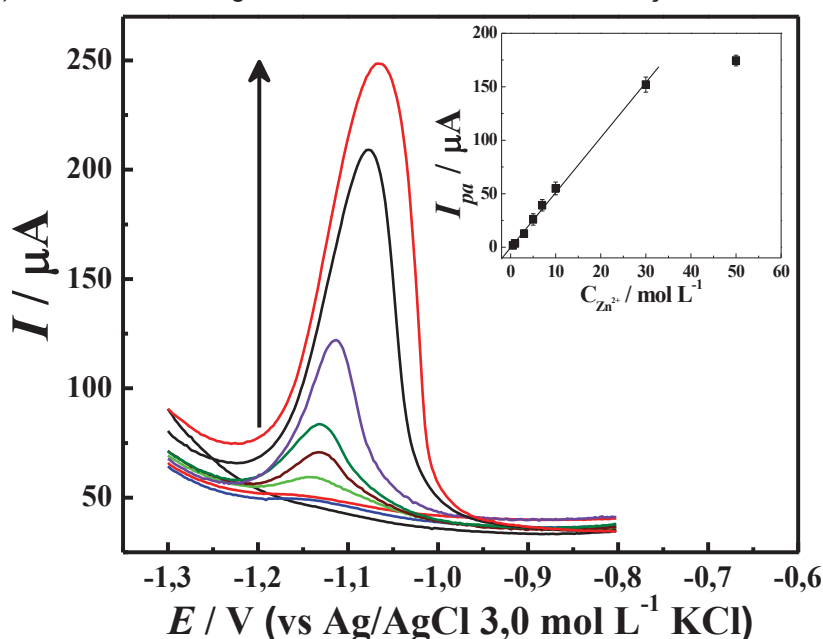
TABELA 10 – PARÂMETROS INVESTIGADOS E VALORES ESCOLHIDOS ENVOLVIDOS NAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II)

<b>Parâmetro</b>	<b>Avaliado</b>	<b>Otimizado</b>
<b>% de biochar (m/m)</b>	0 – 40	20
<b>pH solução pré-concentração</b>	3,0 – 7,0	6,0
<b>Concentração Hg(II) (mol L<sup>-1</sup>)</b>	1,0x10 <sup>-6</sup> – 1,0x10 <sup>-2</sup>	1,0x10 <sup>-4</sup>
<b>Tempo de pré-concentração (s)</b>	30 - 600	180
<b>pH solução de leitura</b>	3,0 – 7,0	5,0
<b>Potencial de redução (V)</b>	-0,8 – -1,4	-1,3
<b>Tempo de redução (s)</b>	0 – 180	60
<b>Amplitude de pulso (mV)</b>	10 – 120	100
<b>Tempo de pulso (ms)</b>	100 – 300	100

## 5.2.7 Determinação Voltamétrica de Íons Zinco (II)

Após definidas as melhores condições para formação das nanoestruturas de mercúrio e a para a realização das medidas voltamétricas na determinação voltamétrica de íons zinco (II) foi construída a curva analítica. Foram obtidos voltamogramas ( $n = 3$ ) para o EPCM-Hg na presença de diferentes concentrações de íons zinco (II), que variaram de  $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  a  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Os voltamogramas obtidos e a curva de correlação entre as diferentes concentrações de íons zinco (II) e as intensidades de corrente obtidas para cada voltamograma são mostrados na FIGURA 46.

FIGURA 46 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL E CURVA DE CALIBRAÇÃO (INSERIDA) PARA O EPCM-Hg EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÍONS ZINCO (II)



Analisando os gráficos mostrados na FIGURA 46 é possível observar o aumento da intensidade de corrente para a oxidação do zinco ( $E_{pa} = -1,1 \text{ V}$ ) com o aumento da concentração de íons zinco (II) em solução. Foi observada boa linearidade ( $R^2 = 0,996$ ) em um intervalo de resposta linear (LDR) para concentrações de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de íons zinco (II). Uma sensibilidade de  $5,18 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ , limite de detecção (LOD) [152] de  $1,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  e de quantificação (LOQ) [152] de  $5,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  foram obtidos. Os

parâmetros de mérito obtidos pela curva analítica com o EPCM-Hg demonstraram a eficiência do dispositivo na determinação de íons zinco (II), quando comparado a outros eletrodos e métodos para a determinação de íons zinco (II) [169-172].

A partir disso, foi avaliada a interferência voltamétrica de espécies concomitantes na solução de medida. Para avaliar este efeito, foram realizadas medidas voltamétricas empregando o EPCM-Hg na solução de medida na presença de íons zinco (II), com concentração fixa de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , e as espécies potencialmente interferentes em três níveis de concentração: 10 vezes menor, igual e 10 vezes maior do que a concentração de íons zinco (II). As espécies potencialmente interferentes empregadas foram íons cobre (II), cádmio (II), ferro (III), mercúrio (II), níquel (II) e chumbo (II). Para avaliar se há interferência foi realizada a comparação entre a intensidade de corrente de pico para a oxidação do zinco na ausência e na presença da espécie possivelmente interferente.

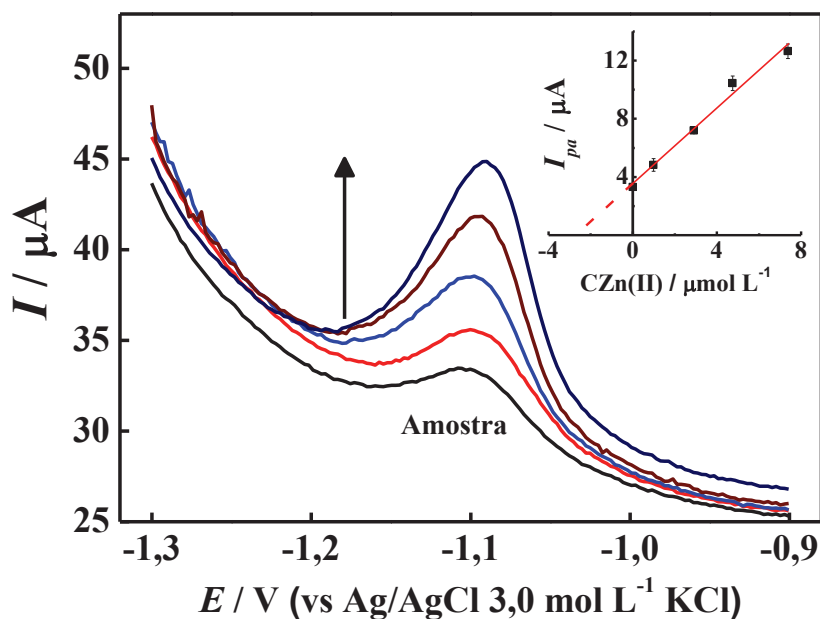
Com base nas intensidades de corrente de pico obtidas foi possível realizar a comparação percentual entre os valores de corrente obtidos para a oxidação do zinco na ausência e na presença de cada espécie. Com tais comparações foi observado que a presença de íons concomitantes com a concentração 10 vezes menor que a concentração de íons zinco (II) apresentou uma interferência pouco significativa no sinal voltamétrico registrado para a oxidação do zinco, apresentando variação menor que 7,0 %. Já para todos os íons avaliados na mesma concentração e concentrações superiores de íons zinco (II) houve interferência significativa no sinal do zinco (superior a 25 %). A interferência pode ser explicada pela capacidade do biochar em pré-concentrar outras espécies em sua superfície, além do zinco (II) e mercúrio (II).

Ademais, todas as espécies avaliadas foram, juntamente com os íons zinco (II), submetidas à etapa de redução (-1,3 V durante 60 segundos) que provavelmente promoveu a pré-concentração destas outras espécies na superfície do EPCM-Hg, competindo assim com os íons zinco (II), e conseqüentemente diminuindo o sinal. Entretanto, para os estudos realizados empregando as espécies com a concentração 10 vezes menor do que a concentração dos íons zinco (II), a interferência não foi significativa. Assim, medidas empregando o método proposto podem ser realizadas na presença de

outras espécies, quando estas estiverem em concentração inferior a 10 vezes menos que a concentração de íons zinco (II). Caso contrário, uma etapa de pré-tratamento para a eliminação destas espécies pode ser requerida, no caso de uma amostra a ser analisada conter, além do zinco (II), as espécies interferentes analisadas.

Os resultados obtidos até o presente momento demonstraram a potencialidade do dispositivo proposto para a determinação de íons zinco (II). Assim, com a finalidade de comprovar e exemplificar esta aplicabilidade, o EPCM-Hg foi empregado para a determinação de íons zinco (II) em amostras comerciais que contém esta espécie em sua formulação. Para tais estudos, as amostras foram previamente tratadas, conforme descrito no procedimento experimental, e analisadas por voltametria de pulso diferencial empregando o método de adição de padrão. As amostras analisadas foram de colírio (Legrand<sup>®</sup>) e pomada para queimaduras (Hipoglo's<sup>®</sup>). Para ambas as amostras foram obtidos voltamogramas e a curva de adição de padrão, como as demonstradas na FIGURA 47, referentes à amostra de colírio.

FIGURA 47 – VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL E CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO (INSERIDA) OBTIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II) PARA A AMOSTRA DE COLÍRIO



Os valores de concentrações obtidos para as amostras pelas medidas voltamétricas (método proposto) foram comparadas com os valores obtidos com a técnica comparativa (ICP OES). Os resultados foram sumarizados na TABELA 11, e apresentaram boa concordância em um nível de confiança de 95 %.

TABELA 11 – MÉDIA DOS VALORES OBTIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ÍONS ZINCO (II) EM AMOSTRAS COMERCIAIS PELO MÉTODO PROPOSTO (DPASV) E PELA TÉCNICA COMPARATIVA (ICP OES)

Amostra	Valor encontrado / $\mu\text{g mL}^{-1}$		E %
	DPASV	ICP OES	
Pomada	43,8	42,6	+2,74
Colírio	120,91	117,61	+2,73

As concentrações determinadas por ambos os métodos estão condizentes com os valores de concentração de íons zinco (II) rotulado na amostra de colírio ( $121,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) com valores de erro inferiores a -3,28 %. Já para a amostra de pomada, o valor rotulado ( $49,3 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) apresentou-se superior comparado aos valores determinados pelo método proposto (-11,1 %) e pelo método comparativo (-13,6 %). Esta diferença pode estar associada ao método de extração empregado para a amostra de pomada. Contudo, diante da complexidade da matriz da amostra de pomada (óleos mineral e animal, vitaminas A e D, talco, entre outros excipientes) o método de extração também pode ser considerado eficiente. Diante dos resultados, a boa concordância entre os valores de concentração de íons zinco (II) obtidos pelo método proposto e o método comparativo é possível afirmar que o EPCM-Hg pode ser aplicado em determinações de íons zinco (II) em amostras comerciais.

### 5.3 CONCLUSÕES PARCIAIS DO CAPÍTULO 5

O EPCM se mostrou eficaz para preparar nanoestruturas de mercúrio pela interação espontânea da superfície do biochar com íons mercúrio (II). Possivelmente, a interação entre os íons mercúrio (II) e a superfície do biochar se deu por interações eletrostáticas, como observado para os íons cobre (II). A presença de nanogotas de mercúrio sobre a superfície eletródica permitiu uma melhora no perfil voltamétrico em uma região de potencial relativamente bem negativo ( $< -1,3$  V vs. Ag/AgCl), em função do elevado sobrepotencial de formação de hidrogênio. E também, melhorou a resposta voltamétrica dos íons zinco (II) devida à formação de amalgamas nas nanogotas.

O EPCM-Hg se mostrou eficiente na pré-concentração e determinação de íons zinco (II) sem efeito significativo de interferência mesmo para concomitantes em concentrações até 10 vezes maior que a do analito. O que mostra que não só apenas o dispositivo se mostrou sensível, mas também apresentou seletividade em determinadas condições. O método analítico proposto foi aplicado e os valores encontrados se mostraram estatisticamente concordantes demonstrando que o procedimento é eficiente na determinação de íons zinco (II) em amostras farmacêuticas de colírio e pomada para queimaduras.



# **CAPÍTULO 6:**

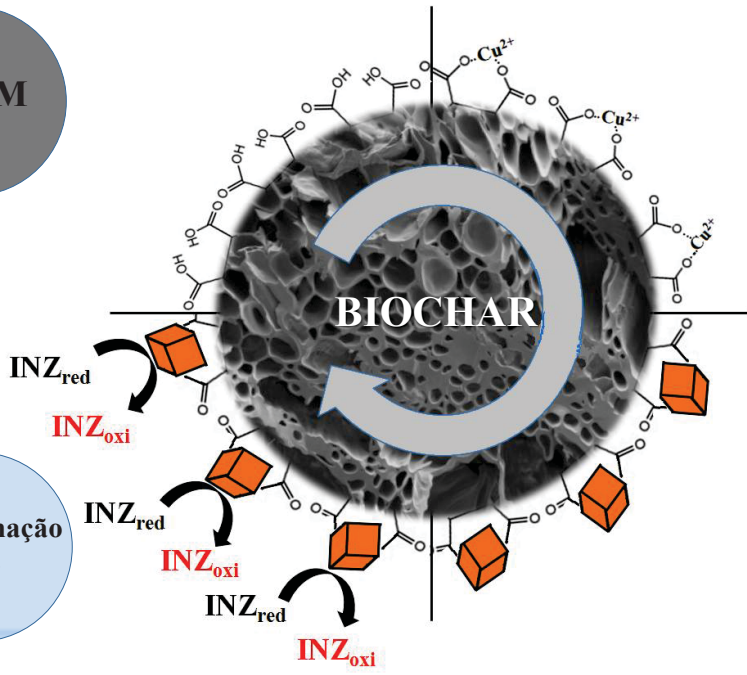
**AVALIAÇÃO DO EPCM COM HEXACIANOFERRATO DE  
COBRE PREPARADO SOBRE BIOCHAR PARA A  
DETERMINAÇÃO AMPEROMÉTRICA DE ISONIAZIDA**

EPCM

Pré-concentração  
íons  $\text{Cu}^{2+}$

Determinação  
INZ

Síntese  
 $\text{CuHCF}$



## 6.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato galvanostato ( $\mu$ Autolab Tipo III), gerenciado pelo programa NOVA 1.10. Todos os estudos foram realizados empregando um conjunto de três eletrodos: eletrodo de trabalho (EPCM-CuHCF), eletrodo de platina como contra-eleto-rodo e eletrodo de referência de Ag/AgCl em solução aquosa de cloreto de potássio  $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ . O procedimento experimental para realização das medidas pode ser representado pelo esquema da FIGURA 48, conforme sumarizado em quatro etapas:

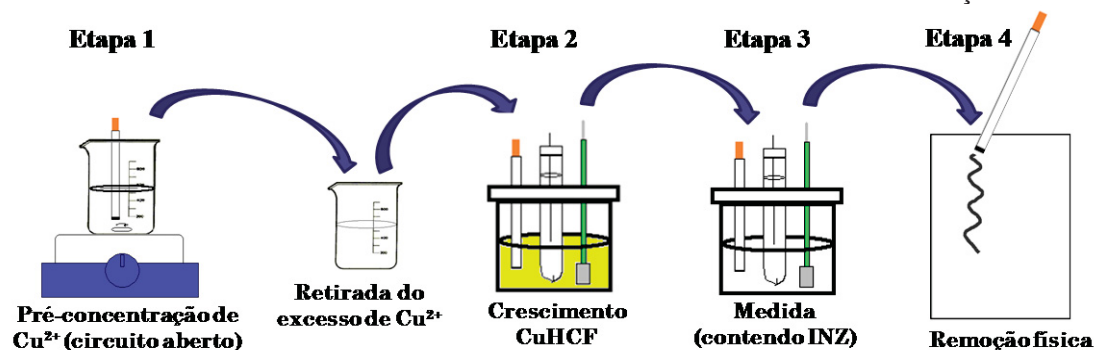
**Etapa 1:** Os EPCM foram colocados em uma solução contendo íons cobre (II), para a pré-concentração, em condições de potencial de circuito aberto.

**Etapa 2:** Após a etapa 1, o eletrodo foi submetido a varreduras sucessivas de potencial (potenciodinâmico) em solução de  $\text{KNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  para a formação das estruturas de CuHCF sobre o EPCM.

**Etapa 3:** Após a construção do EPCM-CuHCF, o mesmo foi empregado na determinação de INZ empregando voltametria cíclica e amperometria, em solução de  $\text{KNO}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com o pH ajustado em 3,0 com ácido nítrico.

**Etapa 4:** Após a etapa de medida o eletrodo é submetido ao polimento de sua superfície em uma folha de papel, a fim de promover a remoção total do CuHCF e INZ que possa ainda estar presente.

FIGURA 48 – IMAGEM ILUSTRATIVA DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NA CONSTRUÇÃO DO EPCM-CUHCF E NAS MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE INZ



FONTE: O autor.

### 6.1.1 Preparação do EPCM com Hexacianoferrato de Cobre (CuHCF)

Para a construção do EPCM modificado com CuHCF foi utilizado um eletrodo de pasta de carbono modificado com biochar nas seguintes porcentagens em massa: 25 % de biochar, 50 % de grafite e 25 % de óleo mineral. Para a síntese das estruturas de CuHCF foi necessária a incorporação de íons cobre (II) na superfície do biochar, conforme condições otimizadas no procedimento desenvolvido no item 5.1: pré-concentração durante 10 minutos (OCP) em tampão amônio pH 9,0 com  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de íons cobre (II).

Após a pré-concentração de íons cobre (II) foi realizada a síntese eletroquímica do CuHCF. Este processo consistiu na varredura de potencial (voltametria cíclica) entre -0,2 V à 1,2 V em solução de hexacianoferrato de potássio  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em nitrato de potássio  $0,10$  mol L<sup>-1</sup> com pH 3,0, durante 50 ciclos empregando velocidade de varredura de  $50$  mV s<sup>-1</sup>. A avaliação do perfil voltamétrico (antes e depois do processo de crescimento da estrutura de CuHCF) foi feita em nitrato de potássio  $0,10$  mol L<sup>-1</sup> em pH 3,0; com faixa de potencial de -0,2 V à 1,2 V durante 50 ciclos à uma velocidade de varredura de  $50$  mV s<sup>-1</sup>.

### 6.1.2 Avaliação Morfológica e Química da Superfície do EPCM-CuHCF

A caracterização morfológica da superfície do eletrodo modificado com CuHCF foi feita por MEV de alta resolução. Sendo que a avaliação da composição química da mesma foi feita por EDS. Foram obtidas imagens e espectros de EDS para três superfícies diferentes, avaliados eletroquimicamente no estudo de otimização do pH de síntese. Ou seja, foram obtidas as medidas das superfícies do EPCM-CuHCF obtidas em pH 1,5; 3,0 e 6,0.

Para a obtenção das imagens foi utilizado um Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução FEI, modelo Quanta 450, com fonte de elétrons FEG (do inglês, *Field Emission Gun*), que possui uma resolução de 1,0 nm. E para as medidas de EDS foi utilizado um Espectroscópio de Energia Dispersiva EDAX TEAMTM com resolução de 131 eV acoplado ao microscópio. As medidas foram

realizadas com aceleração de voltagem de 20 kV. As superfícies analisadas foram removidas do suporte de eletrodo e coladas no substrato de medida.

### 6.1.3 Otimização das Condições para a Construção do EPCM com CuHCF

Primeiramente foi avaliada a influência das condições de síntese do EPCM-CuHCF, sendo avaliados três parâmetros que podem influenciar diretamente neste processo. O primeiro parâmetro avaliado foi o pH da solução de síntese e de medida. As soluções avaliadas consistiram em  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{KNO}_3$  e  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  com o pH ajustado em 1,5; 3,0 e 6,0 com ácido nítrico PA. Para cada valor de pH avaliado foram realizadas três medidas ( $n = 3$ ) na ausência e na presença de INZ em solução de  $\text{KNO}_3$   $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  com o pH ajustado no mesmo valor utilizado para a solução de síntese. Os demais parâmetros foram mantidos constantes.

Outro parâmetro avaliado foi o número de ciclos empregado no processo de formação do CuHCF. Para este estudo foram obtidos diferentes eletrodos modificados com CuHCF ( $n = 3$ ) variando o número de ciclos: 10, 25, 50 e 75 ciclos. Como nos estudos anteriores, para cada eletrodo confeccionado foi realizada a medida na ausência e na presença de uma concentração fixa de INZ. A velocidade de varredura e os demais parâmetros de medida e de pré-concentração foram mantidos constantes.

A influência da velocidade de varredura na obtenção do CuHCF também foi investigada. Para tal, foram obtidos voltamogramas cíclicos dos diferentes eletrodos confeccionados variando as velocidades: 10, 25, 50, 75 e  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Para cada eletrodo obtido ( $n = 3$ ), em cada velocidade, foi obtido o perfil voltamétrico e posteriormente realizada a determinação de INZ. A partir dos voltamogramas obtidos foram calculadas as intensidades de corrente referentes à oxidação da INZ e correlacionadas com as respectivas velocidades de varredura.

Posteriormente, foi investigada a influência do tempo de pré-concentração íons cobre (II) na superfície do EPCM. Para a realização deste estudo foram obtidas medidas ( $n = 3$ ) com o EPCM-CuHCF na determinação de INZ construídos a partir de diferentes tempos de pré-concentração dos íons cobre (II): 1, 5, 10, 15 e 20 minutos. As demais condições foram mantidas constantes e a

determinação da melhor condição foi feita pela correlação entre as intensidades de corrente de pico e cada tempo avaliado. Com isso, a etapa de incorporação dos íons cobre (II) foi avaliada, restando a investigação da melhor condição de síntese do CuHCF pelo método proposto.

A influência da concentração de íons cobre (II) na solução de pré-concentração também foi avaliada, utilizando três soluções diferentes contendo  $1,0 \times 10^{-5}$ ;  $1,0 \times 10^{-4}$  e  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de íons cobre (II) em tampão amônio com o pH ajustado em 9,0. O tempo de pré-concentração em circuito aberto foi fixado em 10 minutos. Para cada concentração avaliada foram obtidos os perfis voltamétricos (n = 3) na ausência e na presença de  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de INZ.

#### 6.1.4 Desenvolvimento da Metodologia Analítica para a Determinação Amperométrica de INZ

A metodologia analítica para a determinação de INZ empregando o EPCM-CuHCF foi realizada em três etapas: otimização do potencial para determinação amperométrica, construção da curva analítica, avaliação de possíveis interferentes e quantificação de INZ em amostras enriquecida. Para avaliar qual melhor potencial aplicado para a obtenção dos cronoamperogramas nos estudos posteriores foram feitas adições sucessivas de INZ em solução empregando diferentes valores de potencial. Para cada potencial foi feita uma curva analítica. Os valores de potencial avaliados foram 0,5; 0,6; 0,7 e 0,8 V. A curva analítica foi feita pela adição de diferentes concentrações de INZ na célula eletroquímica aplicando um valor de potencial fixo (otimizado anteriormente) durante um determinado tempo. As concentrações avaliadas foram de  $5,0 \times 10^{-7}$  até  $5,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de INZ. Com base na curva analítica realizada foi possível realizar a correlação entre os valores de intensidade de corrente anódica com as respectivas concentrações de INZ adicionadas.

Após a obtenção da curva analítica foi avaliado o efeito de possíveis interferentes sobre a resposta amperométrica na presença de INZ em solução. Para este estudo foi também empregada a amperometria, neste caso, as medidas foram realizadas em  $0,10$  mol L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub>.

A avaliação do efeito interferente de outras espécies foi feita pela aplicação do potencial fixo (otimizado), durante um determinado tempo na presença de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de INZ, após a estabilização do sinal foram adicionadas as espécies interferentes. As espécies estudadas foram: glicose (GLI), ácido ascórbico (AA), rifampicina (RIF), íons sódio, cálcio cloreto e sulfato. Sendo feitas adições em três níveis de concentração diferentes de cada espécie concomitante:  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $1,0 \times 10^{-5}$  e  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . O grau de interferência de cada espécie foi avaliado pela variação do sinal de oxidação da INZ.

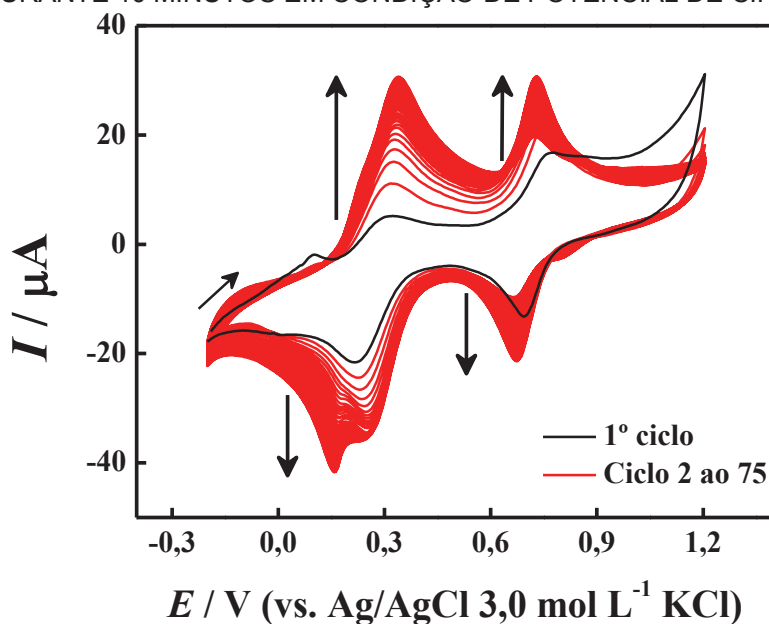
A análise da exatidão do método foi feita por adição e recuperação de uma quantidade de INZ. O enriquecimento da solução foi feita em três concentrações diferentes:  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $5,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Para a realização da curva de adição de padrão, a amostra foi adicionada na solução de medida e assim obtido o sinal analítico e conseqüentemente foi feita a adição de alíquotas do padrão de INZ ( $n = 5$ ).

## 6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.2.1 Preparação do EPCM-CuHCF

A síntese eletroquímica do CuHCF sobre o EPCM modificado com íons cobre (II) foi realizada empregando um procedimento potenciodinâmico com uma varredura de potencial na faixa de potencial de  $-0,2 \text{ V}$  a  $1,2 \text{ V}$  em solução contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de hexacianoferrato de potássio e  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de nitrato de potássio (pH ajustado em 1,5). Foram realizados 75 ciclos com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . O gráfico da síntese das estruturas de CuHCF é observado na Figura 49.

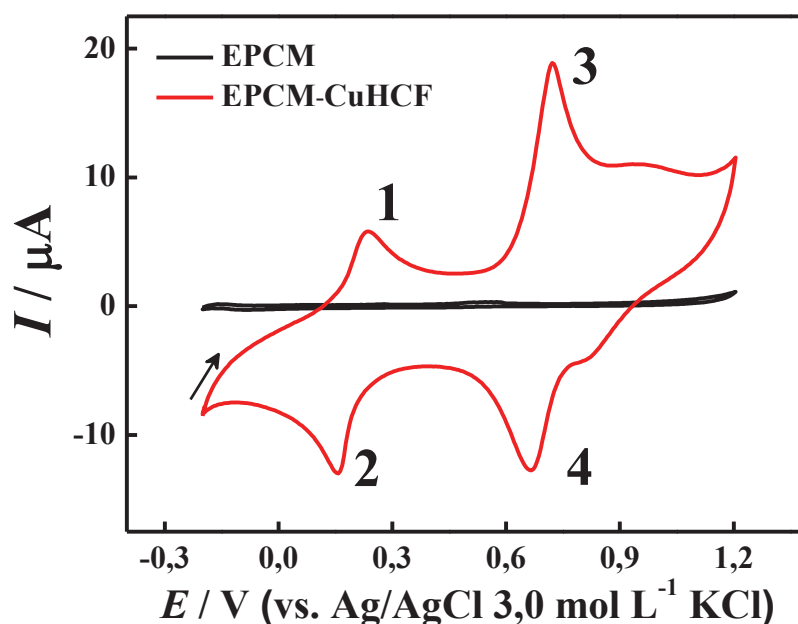
FIGURA 49 – PERFIL VOLTAMÉTRICO OBTIDO DURANTE A FORMAÇÃO DAS ESTRUTURAS DE CuHCF SOBRE A SUPERFÍCIE DO EPCM APÓS A PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE ÍONS COBRE (II). ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM TAMPÃO AMÔNIO (pH 9,0) CONTENDO  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DURANTE 10 MINUTOS EM CONDIÇÃO DE POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO



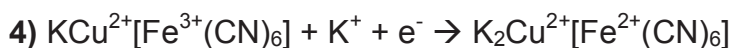
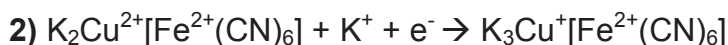
O perfil voltamétrico da FIGURA 49 representa a síntese de CuHCF mostrou que há o surgimento de 4 processos faradaicos, já no primeiro ciclo (observado em preto). As intensidades de corrente de pico aumentam à medida que aumenta o número de ciclos. A estabilização das intensidades de corrente de pico estabilizando a partir do ciclo 10. Após a etapa de crescimento o eletrodo foi lavado para a retirada do excesso de íons ferricianeto e submetido a varreduras de potencial em  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de nitrato de potássio. Esta medida tem por finalidade a avaliação da formação de CuHCF na superfície do eletrodo, e a estabilidade do perfil voltamétrico. Foram realizados 15 ciclos de potencial na mesma faixa empregada anteriormente (de  $-0,2 \text{ V}$  a  $1,2 \text{ V}$ ) com uma velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Os voltamogramas obtidos para este estudo são observados na FIGURA 50.



FIGURA 50 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS PARA O EPCM-CuHCF EM SOLUÇÃO DE 0,10 mol L<sup>-1</sup> DE KNO<sub>3</sub> COM O pH AJUSTADO EM 3,0



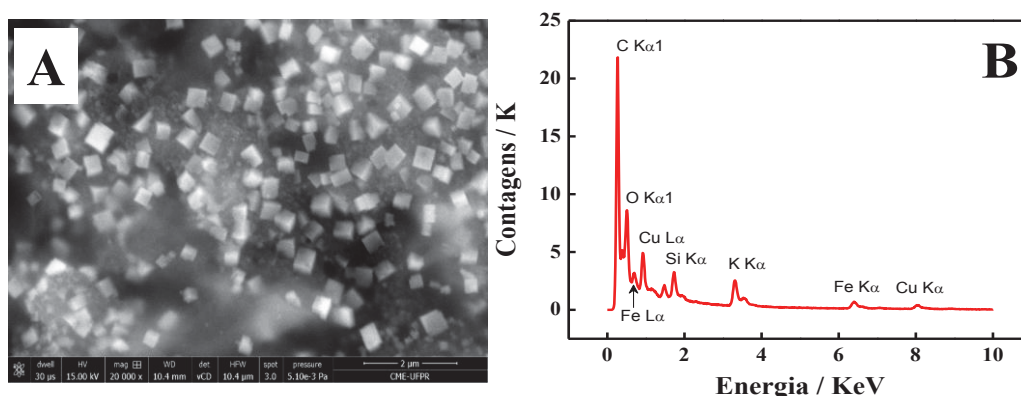
Os voltamogramas realizados na ausência de ferricianeto de potássio (apenas em 0,10 mol L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub>), observados na FIGURA 50, mostraram a presença de 4 processos faradaicos, como observado na etapa de crescimento. Estes processos referem-se aos processos de oxirredução do CuHCF, sugeridos com base em trabalhos encontrados na literatura [173,174]:



Todos os sinais se mantiverem constantes a partir de 10 ciclos demonstrando que a síntese eletroquímica é capaz de formar as estruturas de CuHCF que elas se mostram estáveis após varreduras sucessivas em meio ao eletrólito suporte. Assim, a presente proposta se mostrou eficaz na formação do CuHCF empregando o biochar como matriz de ancoramento.

Após verificada a formação do CuHCF sobre o EPCM foi verificada a morfologia da superfície. Para isto foram obtidas imagens representativas de MEV de alta resolução da superfície do eletrodo modificado com CuHCF. Paralelo a estas imagens foram também obtidos espectros de EDS da mesma superfície para a avaliação da composição química destas estruturas, conforme mostrado na FIGURA 51.

FIGURA 51 – A) IMAGEM DE MEV DE ALTA RESOLUÇÃO DA SUPERFÍCIE DO EPCM-CuHCF OBTIDO COM APROXIMAÇÃO DE 20000 VEZES. B) ESPECTRO DE EDS DA SUPERFÍCIE OBSERVADA NA RESPECTIVA IMAGEM



Com base na imagem apresentada na Figura 51-A é possível verificar a presença de diversos cubos sobre a superfície do EPCM submetido à etapa de síntese eletroquímica do CuHCF. A superfície do EPCM não submetido à esta etapa se apresenta rugosa, porém, não foram observadas estas pequenas estruturas cúbicas. Isto sugere que estas estruturas são do CuHCF formado eletroquimicamente [175,176].

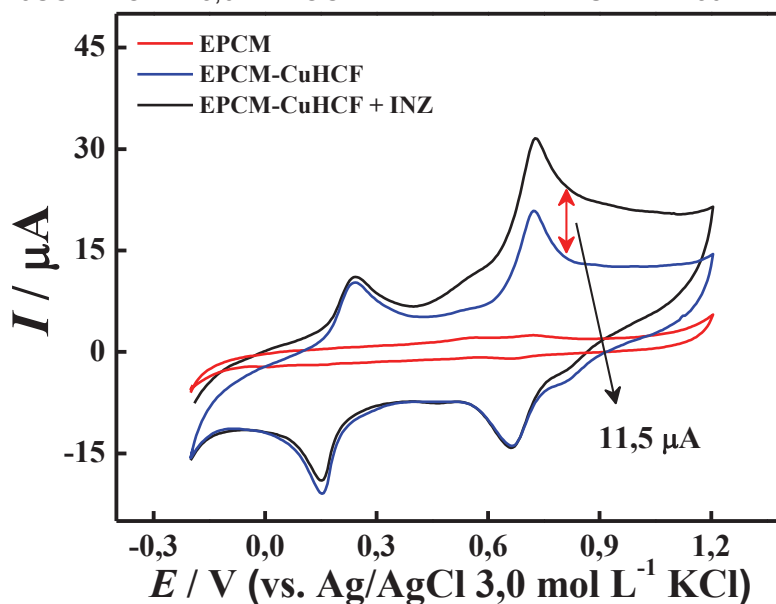
Na Figura 51-B é apresentado o espectro de EDS da superfície estudada. Neste espectro são observados picos atribuídos à liberação de energia, após a excitação por raio-X, em camadas eletrônicas de diferentes elementos. Esta energia é quantizada e assim é possível realizar uma determinação qualitativa das espécies presentes na superfície excitada. Assim, a suposição de que as estruturas formadas são de CuHCF é comprovada pela presença de picos atribuídos ao ferro e principalmente ao cobre, que não são observados nos espectros obtidos para o EPCM não modificado com CuHCF. Com isso, foi determinada que o CuHCF apresenta morfologia semelhante estrutura cúbicas, que vai de encontro com o que é discutido na literatura que atribuem uma

estrutura cúbica de face centrada para o CuHCF [176]. É possível também observar na Figura 52-A uma distribuição heterogênea de tamanho destas estruturas. A estimativa do tamanho das estruturas de CuHCF mostrou uma distribuição bastante homogênea do tamanho destas partículas com tamanho médio de  $305,6 \pm 42,5$  nm.

Depois de verificada a potencialidade do biochar em ancorar nanoestruturas de CuHCF após a pré-concentração espontânea de íons cobre (II) foi avaliada a potencialidade do eletrodo desenvolvido em mediar reações redox. Para isto, foi escolhida a isoniazida, visto que já existem relatos sobre o uso do análogo de prata (AgHCF) [124] com atividade similar ao CuHCF.

A avaliação desta potencialidade foi feita pela comparação entre os perfis voltamétricos na ausência e na presença de INZ ( $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) empregando o EPCM-CuHCF, e na ausência de INZ para o EPCM. A obtenção do EPCM-CuHCF foi feita da mesma forma que o estudo anterior, e para as medidas na presença de INZ foram feitas por voltametria cíclica em solução de  $0,10$  mol L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub> com o pH ajustado em 1,5. Os voltamogramas obtidos para este estudo são mostrados na Figura 52.

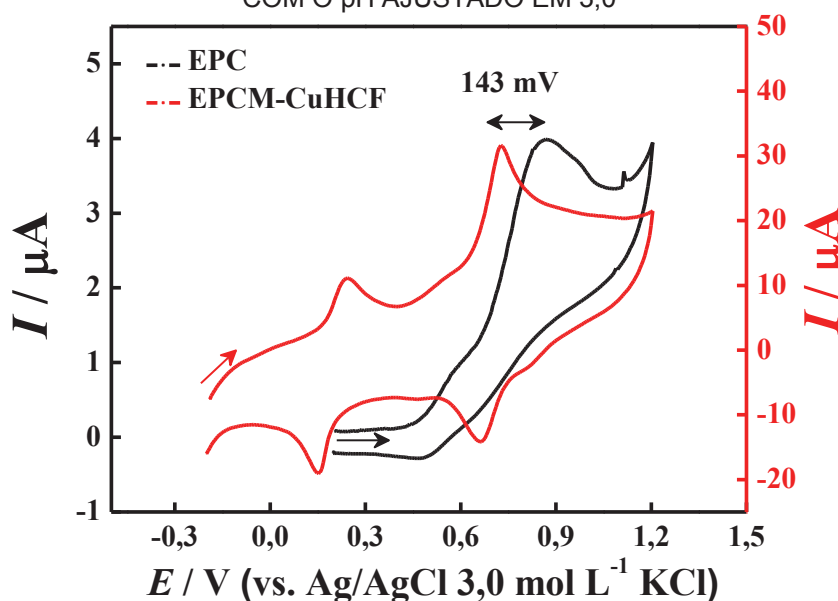
FIGURA 52 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> DE INZ PARA O EPCM-CuHCF. MEDIDAS FEITAS EM  $0,10$  mol L<sup>-1</sup> DE KNO<sub>3</sub> COM pH AJUSTADO EM 3,0. VELOCIDADE DE VARREDURA DE  $50$  mV s<sup>-1</sup>



Analisando os voltamogramas apresentados na FIGURA 52 é observado na presença de INZ um pico de oxidação em 0,86 V, referente à oxidação direta da INZ [109] sobre o EPC. Para o EPCM, na ausência de INZ, foram observados os processos faradaicos já discutidos. Para a medida do EPCM na presença de INZ em solução é observado um aumento da intensidade de corrente de pico anódico no potencial de 0,72 V. Este pico é atribuído ao processo de oxidação do  $K_2Cu^{2+}[Fe^{2+}(CN)_6]$  em  $KCu^{2+}[Fe^{3+}(CN)_6]$ .

Em contrapartida, foi observada diminuição da intensidade de corrente de pico para o processo de redução no ciclo reverso. Assim, não foi observado o surgimento de um pico de oxidação em 0,86 V, apenas o aumento da intensidade da corrente de pico anódico do processo em 0,72 V referente ao CuHCF. A FIGURA 53 representa a comparação entre os perfis voltamétricos na presença de INZ para os eletrodos avaliados.

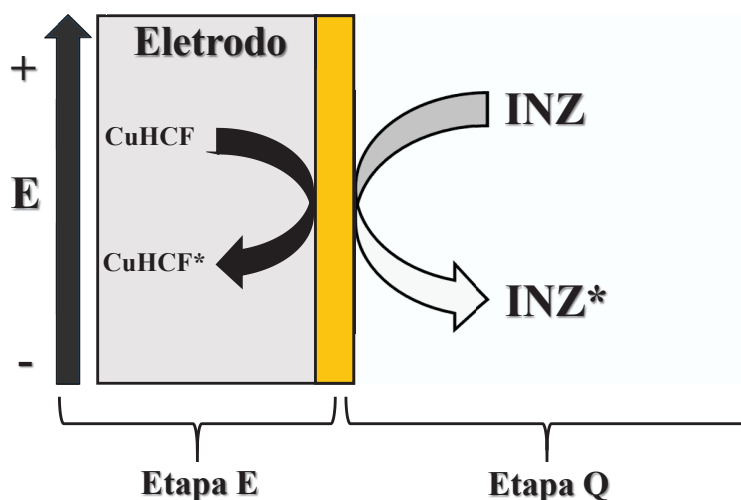
FIGURA 53 – VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA O EPC E EPCM-CuHCF NA PRESENÇA DE  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  DE INZ. MEDIDAS REALIZADAS EM  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  DE  $KNO_3$  COM O pH AJUSTADO EM 3,0



Essa observação evidencia que é possível monitorar indiretamente a oxidação da INZ em um potencial menor e com um aumento da intensidade de corrente de pico para o EPCM-CuHCF na presença de INZ, quando comparado ao sinal apenas da INZ sobre um EPC. O aumento verificado é de praticamente 3 vezes maior do que a intensidade de corrente de pico observada para um eletrodo não modificado. O aumento de intensidade de corrente de pico de oxidação do

CuHCF sugere que o complexo atua na reação de oxidação da INZ em um mecanismo que pode ser representado na Figura 54.

FIGURA 54 – ILUSTRAÇÃO DO PROCESSO DE ELETROCATÁLISE DA INZ PELO EPCM-CuHCF SUGERIDO



O CuHCF na superfície é oxidado a  $\text{KCu}^{2+}[\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6]$  durante a varredura de potencial, ou seja, na etapa eletroquímica (Etapa E). Esta espécie formada reage quimicamente, etapa química (Etapa Q), com a forma reduzida de INZ, oxidando-a ( $\text{INZ}^*$ ), o que regenera o complexo a sua forma reduzida. Como o potencial aplicado é favorável, ocorre a sua reoxidação e gera assim, um aumento na corrente de pico.

A reação química, citada anteriormente na etapa Q, é novamente promovida gerando um ciclo que proporciona um ganho de corrente. A somatória das correntes geradas pela etapa química e a reoxidação do CuHCF após a redução química leva a uma maior sensibilidade para o EPCM-CuHCF. Assim, a proposta de utilizar o EPCM modificado com CuHCF na determinação de INZ é validada, uma vez que, há a melhora do processo de oxidação da espécie quando comparado ao EPC e ao EPCM.

Antes de realizar a otimização as condições de síntese eletroquímica do CuHCF sobre o EPCM, foi realizada a avaliação da repetibilidade no processo de confecção do eletrodo, tal como a estabilidade do sinal voltamétrico do mesmo. Foram construídos diferentes EPCM-CuHCF, e cada eletrodo foi submetido a varreduras de potencial na ausência e na presença de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de INZ. As intensidades de corrente obtidas para a oxidação da INZ entre os diferentes

eletrodos indicaram uma boa concordância com desvio padrão de 7,6 %. Com isto, pode-se afirmar que o método de síntese do CuHCF empregando o EPCM é reprodutível e pode ser aplicado no desenvolvimento de um método analítico para a determinação de INZ.

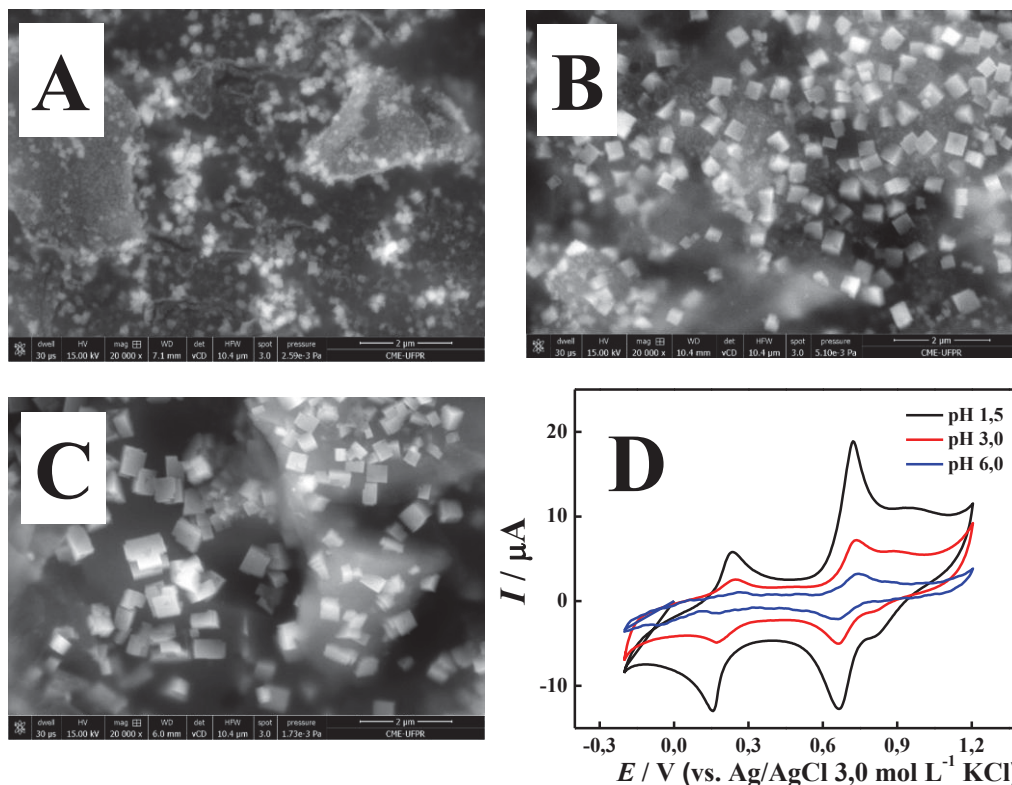
### 6.2.2 Otimização das Condições para Construção do EPCM-CuHCF

A otimização das condições de preparação do eletrodo modificado foi feita de um duas etapas: a primeira etapa consistiu na síntese eletroquímica do CuHCF e a segunda em avaliar qual o melhor meio para pré-concentração dos íons cobre (II). Assim, iniciou-se pela avaliação da influência do pH da solução de síntese na formação do CuHCF e, respectivamente, na resposta eletroquímica do dispositivo para a oxidação da INZ.

Foram construídos eletrodos modificados com CuHCF variando o valor de pH da solução de síntese e da solução de medida para a determinação de INZ. Os valores de pH avaliados foram de 1,5; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0. A melhor resposta obtida para a síntese realizada em meio a solução com pH igual a 3,0 pode ser explicado pelo tipo de estruturas (CuHCF) formadas nestas condições, ou mais precisamente pelo tamanho e distribuição delas. Assim, foi verificado que a variação da concentração de íons  $H^+$  em solução pode influenciar na resposta voltamétrica do EPCM-CuHCF.

A comparação entre o perfil voltamétrico do EPCM-CuHCF e as imagens da morfologia superficial formadas em cada condição estão apresentadas na FIGURA 55.

FIGURA 55 – IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) PARA A SUPERFÍCIE DO EPCM-CuHCF OBTIDAS EM pH 1,5 (A), pH 3,0 (B) E pH 6,0 (C). VOLTAMOGRAMAS DO EPCM-CuHCF OBTIDOS EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO DE pH (D)



Com base nas imagens obtidas foi possível observar que não há distinção do tipo de estrutura do CuHCF formada em função do valor de pH. É possível afirmar que o pH não exerce grande influência no tipo de estrutura formada. No entanto, é clara a variação do tamanho destas estruturas em função da mudança dos valores de pH, mostrando que a resposta voltamétrica está diretamente relacionada ao tamanho e a distribuição das estruturas sobre a superfície do EPCM. A imagem da FIGURA 55-A referente ao eletrodo obtido em pH 1,5 evidencia a presença de estruturas relativamente pequenas ( $112,7 \pm 46,2$  nm), quando comparadas as estruturas observadas no pH 3,0 e 6,0. Além do tamanho menor, é observada na imagem uma maior distribuição do tamanho das estruturas de CuHCF. O tamanho reduzido contrasta com a quantidade de estruturas formadas neste valor de pH, uma vez que aparentemente estas estruturas estão dispostas por toda superfície analisada. Sendo assim, a síntese realizada em pH 1,5 levou a uma maior área superficial ativa do eletrodo, isto é confirmado pela maior intensidade dos picos referentes aos processos de oxirredução do CuHCF.

Para a imagem da FIGURA 56-B obtida para o EPCM-CuHCF sintetizado em pH 3,0 foram observadas partículas com tamanho maior de CuHCF que as partículas obtidas em pH de 1,5, sendo que a distribuição de tamanhos para esta síntese também parece ser mais homogênea ( $305,6 \pm 42$  nm). A quantidade de partículas é inferior e, conseqüentemente, a área superficial é menor. As estruturas formadas neste pH apresentam melhor desempenho no processo de oxidação da INZ, mesmo possuindo menor área eletroativa aparente, como observado na FIGURA 55-D.

Para a síntese realizada em pH 6,0 (FIGURA 56-C) foram obtidas partículas ainda maiores ( $348,6 \pm 23$  nm) do que as observadas para a síntese em pH 3,0. Como no caso anterior, o aumento do tamanho das partículas influenciou na quantidade de estruturas formadas. Contudo, ao contrário da síntese em pH 3,0, o aumento do tamanho das partículas não melhorou a capacidade do eletrodo em oxidar INZ. Assim, apesar da área superficial influenciar na eletroatividade dos eletrodos, neste caso, há uma distribuição de tamanho “ótima” de partículas para o emprego do EPCM-CuHCF na determinação de INZ para a síntese realizada em pH 3,0.

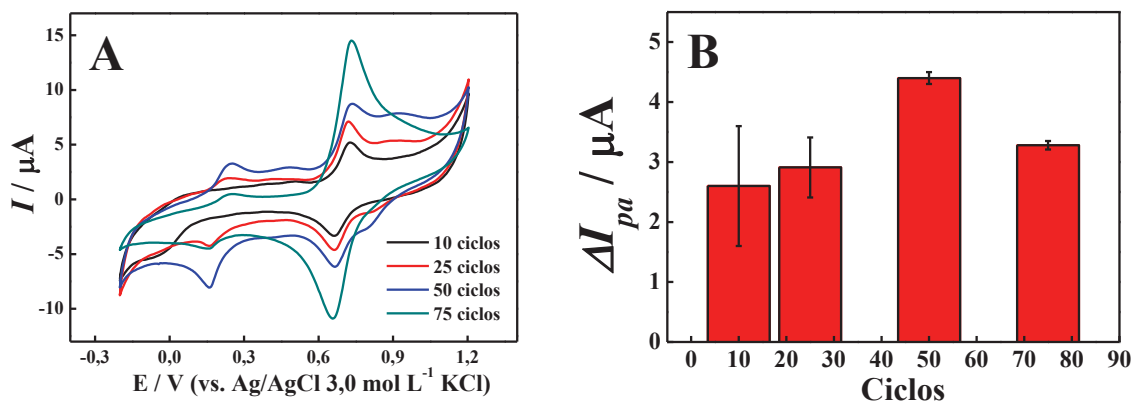
A variação do tamanho das partículas está diretamente relacionada com a diferença de solubilidade do CuHCF em função do pH. Para valores de pH mais baixos há a formação do complexo mais insolúvel em água, conseqüentemente, o aumento do pH promove uma maior dissolução deste complexo [177,178]. A dissolução do CuHCF gera mais íons cobre (II) em solução, antes incorporados na estrutura do CuHCF. A maior quantidade de íons cobre (II) em solução (síntese) propicia a formação de estruturas maiores do complexo, ou seja, em soluções mais concentradas há preferência pela etapa de crescimento ao invés de nucleação.

Para valores de pH mais baixos há menor dissolução do CuHCF, com a diminuição da quantidade de íons cobre (II) em solução. Em soluções menos concentradas o processo de nucleação é favorecido, formando uma maior quantidade de estruturas com tamanho reduzido de CuHCF, como observado para a imagem referente a formação em pH 1,5. Com isso, o melhor valor de pH para a formação do CuHCF foi obtido em 3,0. Que apresentou a melhor eletroatividade para a oxidação de INZ.



Após a definição do melhor pH para a formação do CuHCF sobre a superfície do EPCM foi estudada a influência do número de ciclos do processo de síntese. Neste estudo foram obtidos voltamogramas para diferentes EPCM modificados com CuHCF construídos com diferentes números de ciclos, variando de 10 a 75 ciclos em velocidade de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Para cada eletrodo obtido nas condições avaliadas foram gerados voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de INZ. Os perfis voltamétricos obtidos e as intensidades de corrente estão apresentados na FIGURA 56.

FIGURA 56 – (A) VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA O EPCM-CuHCF CONSTRUÍDOS COM DIFERENTES NÚMEROS DE CICLOS, EM  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  DE  $\text{KNO}_3$  NA AUSÊNCIA DE INZ. (B) CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES DE INTENSIDADE DE CORRENTE DE PICO ANÓDICO PARA A OXIDAÇÃO DE  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE INZ E OS VALORES DE NÚMERO DE CICLOS



Com base nos voltamogramas obtidos na FIGURA 56-A é possível observar os processos faradaicos referentes ao CuHCF para todos os eletrodos construídos, mostrando que o composto é formado mesmo com menores números de ciclos. Com o aumento do número de ciclos é observado também o aumento da intensidade de corrente dos processos, o que sugere que a quantidade de hexacianoferrato de cobre formado na superfície do EPCM é dependente do número de ciclos. Para menores valores de ciclos (10 e 25 ciclos) a estabilização dos processos só é obtida a partir de 30 ciclos na solução de medida ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{KNO}_3$ ). Em eletrodos construídos com 10 e 25 ciclos há uma menor precisão nas medidas de determinação de INZ, como observado na FIGURA 56-B, o que dificulta a utilização destes eletrodos. Em eletrodos obtidos com 50 e 75 ciclos, a estabilização do sinal eletroquímico foi atingida com apenas 5 e 3 ciclos, respectivamente. Além disso, também foram obtidas melhores

precisões entre as medidas de determinação de INZ para cada eletrodo. Com isto, o eletrodo que apresentou a melhor resposta para a determinação de INZ foi o EPCM-CuHCF obtido com 50 ciclos.

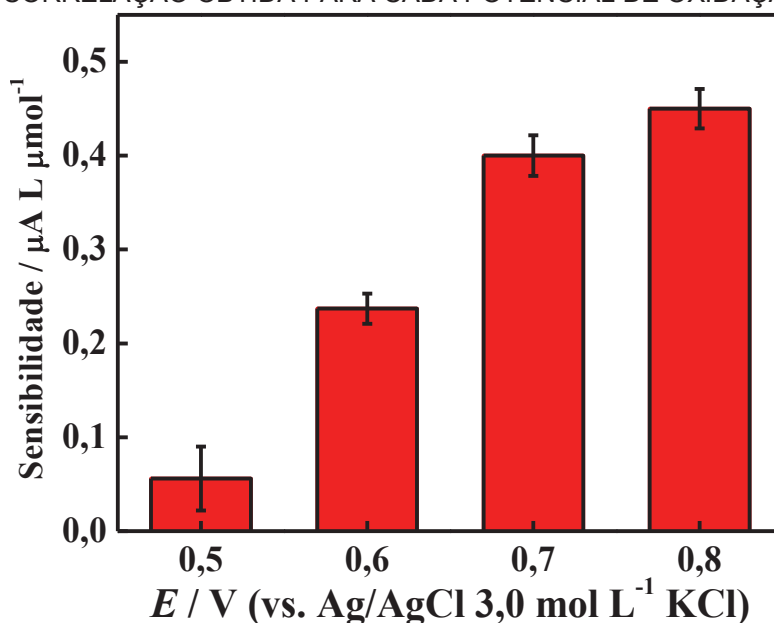
A velocidade de varredura também é um parâmetro importante para tal investigação. Desta forma foi realizado um estudo para avaliar a influência da velocidade de varredura na etapa de síntese do CuHCF sobre o EPCM. Para este estudo foram obtidos eletrodos com velocidade de varredura de 10 a 100  $\text{mV s}^{-1}$ . Para cada eletrodo foram obtidos voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de INZ. Com base nos voltamogramas foi possível realizar uma correlação entre os valores de corrente de pico para a oxidação de INZ e os valores de velocidade de varredura. Esta correlação (não apresentada) mostrou que quanto menor a velocidade de varredura, maior são as intensidades de pico para os processos de oxirredução do CuHCF. Sugerindo que para velocidades menores de varredura há maior formação do CuHCF. No entanto, a melhor resposta eletroquímica para a oxidação de INZ foi obtida para o eletrodo modificado com 50 ciclos em velocidade de varredura de 50  $\text{mV s}^{-1}$ . Provavelmente, esta resposta pode estar associada com o tamanho e dispersão do tamanho destas estruturas, em que nestas condições de preparo se mostraram mais eficientes na oxidação de INZ.

Após a definição da melhor condição da solução de síntese foi feita a avaliação da melhor condição de pré-concentração dos íons cobre (II), que consistiu na investigação da influência do tempo de pré-concentração e da concentração de íons cobre (II) em tampão amônio pH 9,0. O estudo para avaliar a influência do tempo de pré-concentração na obtenção das estruturas de CuHCF e, conseqüentemente, na determinação de INZ, foi feito pela comparação da eficiência de diferentes eletrodos modificados com CuHCF na determinação de INZ. Foram construídos diferentes EPCM-CuHCF modulando o tempo de pré-concentração de íons cobre (II) e mantendo as demais condições constantes, como citado nos estudos anteriores. O melhor resultado foi observado para o eletrodo obtido com 10 minutos de pré-concentração, esta melhora pode estar associada ao tipo de estruturas formadas nestas condições que favorecem o processo de oxidação da INZ. Com isto, tal condição foi empregada para estudos posteriores.

O melhor tempo de pré-concentração foi utilizado para avaliar a influência da quantidade de íons cobre (II), na solução de pré-concentração. Neste estudo foram construídos eletrodos variando a concentração de íons cobre (II) em solução, mantendo o tempo de pré-concentração (10 minutos) e os demais parâmetros já escolhidos. As concentrações avaliadas foram de  $1,0 \times 10^{-5}$  a  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de íons cobre (II). O eletrodo que apresentou melhor resposta para a determinação de INZ foi o eletrodo submetido a etapa de pré-concentração contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de cobre (II). Depois de investigados os parâmetros que influenciam a formação do CuHCF foi desenvolvido um procedimento para a determinação amperométrica de INZ.

A escolha dos potenciais avaliados foi feita com base no perfil voltamétrico do EPCM-CuHCF na presença de INZ, mais precisamente no pico de oxidação monitorado em todos os estudos realizados até o presente momento. Para tal, foram construídas curvas analíticas para cada potencial avaliado, de 0,5 a 0,8 V. As curvas analíticas foram feitas pela adição de INZ na faixa de concentração de  $5,0 \times 10^{-6}$  até  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Para cada curva foi realizada a correlação entre os valores de intensidade de corrente e as concentrações de INZ adicionadas e com base nestas curvas foi possível estimar a sensibilidade obtida para cada potencial aplicado, conforme é observado na FIGURA 57.

FIGURA 57 – COMPARAÇÃO ENTRE OS VALORES DE SENSIBILIDADE OBTIDOS PELA CURVA DE CORRELAÇÃO OBTIDA PARA CADA POTENCIAL DE OXIDAÇÃO AVALIADO



Para todos os potenciais aplicados houve variação da corrente em função das adições de INZ. No entanto, para o potencial de 0,5 V a correlação não se mostrou repetitiva, o que gerou um desvio elevado, como observado na FIGURA 57. O baixo valor de sensibilidade obtido com a aplicação deste potencial pode ser explicado pelo fato de que a aplicação de 0,5 V não é suficiente para promover a oxidação do CuHCF que reage quimicamente com a INZ. Assim, tal potencial não é suficiente para a determinação de INZ.

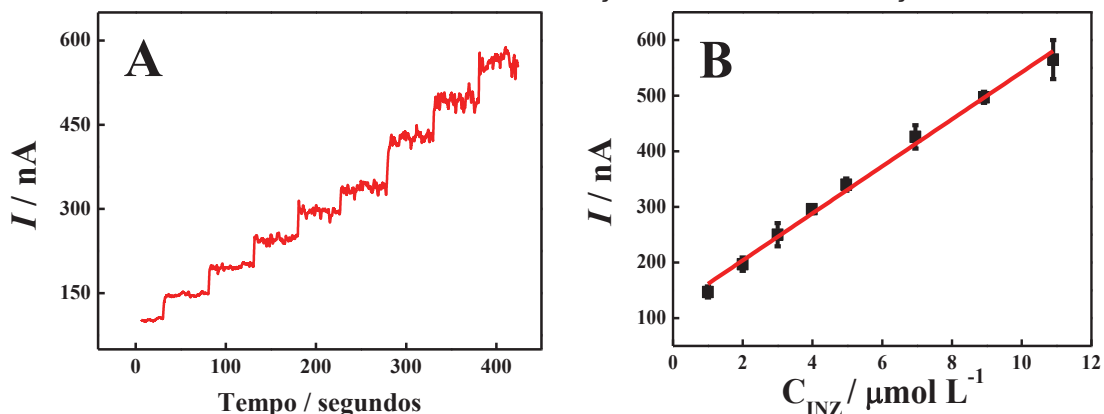
A comparação entre as sensibilidades revelou que à medida que o potencial se tornava mais positivo, maior é o valor de sensibilidade. Esta informação é condizente, pelo fato de que para potenciais mais positivos, maior é a capacidade oxidante o eletrodo, o que favorece a interação entre a espécie CuHCF na forma oxidada com a INZ. No entanto, o valor de sensibilidade obtido para o estudo realizado com potencial igual a 0,8 V ( $0,45 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ ) se mostra apenas um pouco maior quando comparado ao potencial de 0,7 V ( $0,41 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ ). Já para o potencial de 0,6 V o valor de sensibilidade ( $0,24 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ ) é consideravelmente menor comparado aos potenciais de 0,7 V e 0,8 V. Esse comportamento da sensibilidade pode ser explicado pelo fato de o potencial de 0,6 V não ser suficiente para promover uma efetiva oxidação do CuHCF. Como o aumento da sensibilidade entre 0,7 V e 0,8 V não é tão significativo, o potencial escolhido para a realização de estudos posteriores foi de 0,7 V. A definição do melhor potencial de oxidação concluiu os estudos de otimização do preparo do eletrodo e das condições de medida.

### 6.2.3 Desenvolvimento da Metodologia Analítica para Determinação de INZ

Após a escolha das melhores condições para a construção do EPCM-CuHCF e do potencial para a determinação amperométrica de INZ foi construída uma curva analítica. A obtenção da curva analítica foi realizada pela adição de diferentes concentrações de INZ em solução de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{KNO}_3$  aplicando-se um potencial fixo de 0,7 V sobre o EPCM-CuHCF. As concentrações de INZ adicionadas variaram de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de INZ. A variação da intensidade de corrente do amperograma permitiu a correlação entre os valores de intensidade de corrente e a concentração de INZ. O amperograma e a curva

de correlação referente à curva analítica são observados na FIGURA 58-A e 58-B, respectivamente.

FIGURA 58 – (A) AMPEROGRAMA OBTIDO PARA ADIÇÕES DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INZ EM FUNÇÃO DO TEMPO, (B) CURVA DE CORRELAÇÃO ENTRE A INTENSIDADE DE CORRENTE EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE INZ

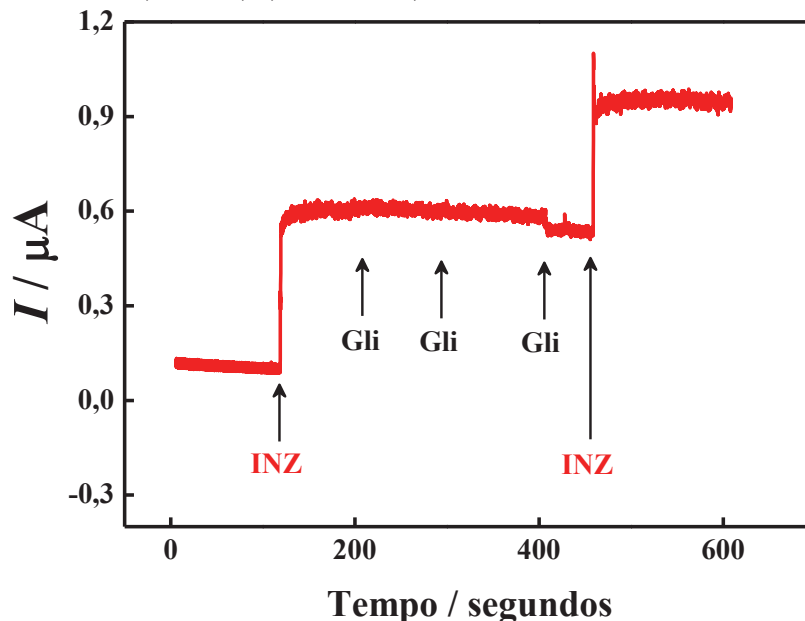


Os gráficos observados na FIGURA 58 demonstram que há uma faixa de resposta linear para as concentrações entre  $1,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de INZ ( $R^2 = 0,992$ ). Com base nas curvas realizadas foi possível estimar limites de detecção e quantificação que foram de  $6,36 \times 10^{-8}$  e  $2,12 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Os resultados obtidos para o método proposto são concordantes ou superiores com resultados encontrados na literatura para a determinação eletroquímica de INZ [121,123,179]. Além disto, cabe ressaltar que o eletrodo modificado apresentou sensibilidade superior ao eletrodo não modificado, cerca de quatro vezes maior. Desta forma, a presença das nanoestruturas de CuHCF sobre a superfície do EPCM promove a melhora do dispositivo, pela capacidade de do modificador em mediar a reação de oxidação da INZ, como já citado anteriormente.

Posteriormente foi investigado o efeito de espécies concomitantes a INZ na resposta amperométrica. Para isto, foram feitas adições de três concentrações diferentes de cada espécie avaliada sobre uma solução contendo  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de INZ. Após realizadas as adições da espécie concomitante é novamente adicionada a mesma quantidade de INZ presente no início. As espécies avaliadas foram glicose, ácido ascórbico, dopamina, rifampicina, sódio, cálcio, cloreto e sulfato. A escolha destas espécies está associada à presença das mesmas em urina e no caso da rifampicina, pelo fato de que na maioria dos tratamentos de

tuberculose a INZ ser administrada juntamente com a rifampicina, sendo estas excretadas de forma concomitante. Para melhor exemplificar o estudo de interferentes, o amperograma obtido para a avaliação da interferência para a glicose é mostrado na FIGURA 59.

FIGURA 59 – AMPEROGRAMA PARA A AVALIAÇÃO DE ESPÉCIE CONCOMITANTE (GLICOSE) OBTIDO PARA EPCM-CuHCF. ADIÇÕES DE  $1,0 \times 10^{-5}$  E  $1,75 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> DE INZ, E DE  $1,0 \times 10^{-6}$ ,  $1,0 \times 10^{-5}$  E  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> DE GLICOSE



O amperograma observado na FIGURA 59 mostrou que houve o aumento da intensidade de corrente com a adição de INZ, como já esperado. Após as adições de  $5,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de glicose sobre a solução contendo INZ não foi observado diferença na intensidade de corrente, ou seja, não houve aumento ou diminuição da corrente anódica. Com isto, fica evidente que a adição destas de glicose nestas concentrações em solução concomitantemente à presença de INZ não há interferência significativa. Para a concentração 10 vezes maior de glicose há uma diminuição da intensidade de corrente, no entanto, acredita-se que este decréscimo de corrente é devido a maior diluição da INZ em decorrência do aumento do volume da solução ocasionado pela adição de alíquotas de eletrólito contendo glicose. Após a adição de uma nova alíquota de INZ o sinal para a oxidação aumenta proporcionalmente na solução contendo  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de RIF. O que sugere que a presença de glicose não interfere no sinal de oxidação da INZ e também não promove nenhum efeito de memória.

Assim, o mesmo estudo descrito acima foi realizado para outras espécies. Onde, os valores de variação de intensidade de corrente entre a adição de INZ e as adições das espécies concomitantes são mostrados na TABELA 12.

TABELA 12 – VARIAÇÕES DAS CORRENTES DE PICO OBTIDAS PARA INZ EM FUNÇÃO DA PRESENÇA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ESPÉCIES CONCOMITANTES: ÍONS CLORETO, SULFATO, SÓDIO E CÁLCIO; RIFAMPICINA, ÁCIDO ASCÓRBICO E GLICOSE

Espécie Concomitante	Variação da Intensidade de Corrente (%)		
	$1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$
Cloreto	*	*	-1,20 %
Sulfato	*	*	-1,42 %
Sódio	*	*	-1,02 %
Cálcio	*	*	-1,23 %
Rifampicina	*	+ 3,8 %	+122,2 %
Ácido Ascórbico	*	+20,8 %	+281,0 %
Glicose	*	*	-8,35 %

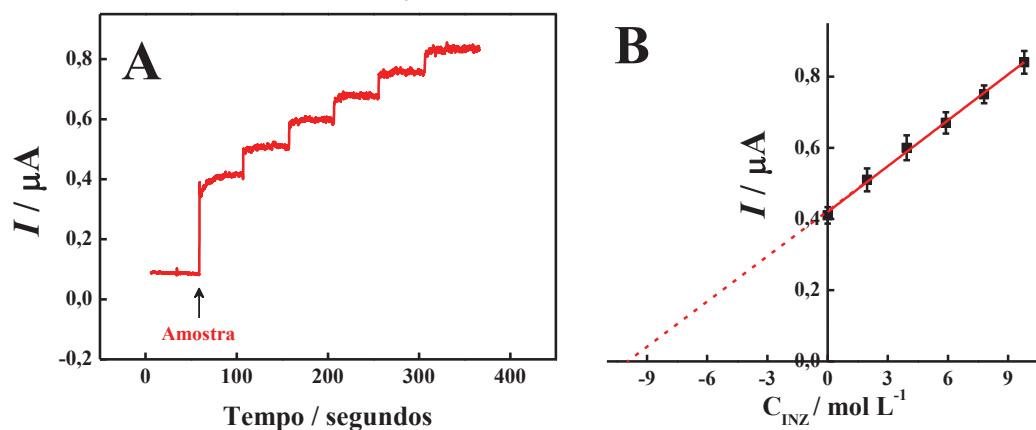
Com base nos valores apresentados na TABELA 12 foi possível estimar que com as adições de glicose, nas três concentrações, não foi observada interferência significativa do sinal. Paralelo a isto, com a adição de uma nova alíquota de INZ o sinal de oxidação aumentou proporcionalmente, como observado na primeira adição. Assim, pode afirmar que a presença de glicose, mesmo em quantidade 10 vezes maior que a quantidade de INZ, não interfere no sinal analítico da oxidação de INZ. Viabilizando assim, medidas analíticas nestas condições.

Já para o estudo realizado na presença de ácido ascórbico, foi observada interferência significativa nas três concentrações avaliadas. Isto acontece pela capacidade dos complexos metálicos de azul da Prússia e seus análogos, como é o caso do  $\text{CuHCF}$ , em potencializar a reação de oxidação de ácido ascórbico. Outro inconveniente, é que após a adição da segunda alíquota de INZ, não é observado o aumento da corrente de oxidação da INZ. Assim, o ácido ascórbico, não só interfere na intensidade de sinal da INZ, mas também inviabiliza a determinação de INZ em uma solução contendo tal espécie concomitante.

Para os estudos realizados para as demais espécies concomitantes (sódio, cálcio, cloreto e sulfato) não há interferência significativa do sinal da INZ, mesmo em quantidades maiores. Tal como, a presença destas espécies não influencia no sinal analítico após a segunda adição de INZ. Mostrando que a quantificação de INZ pode ser realizada sem interferência na presença destes íons.

A validação do método analítico para a determinação de INZ foi realizada a avaliação da exatidão deste. Para tal, foram feitas curvas de adição de padrão sobre uma solução de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{KNO}_3$  enriquecida com padrão de INZ. A curva foi realizada por amperometria, nas mesmas condições empregadas na curva analítica e no estudo de interferentes. O enriquecimento foi feito em três diferentes concentrações de INZ:  $1,0 \times 10^{-6}$ ;  $5,0 \times 10^{-6}$  e  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Para melhor exemplificação, o amperograma e a curva de correlação para a curva de adição de padrão para a solução contendo  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  são apresentadas na FIGURA 60.

FIGURA 60 – (A) AMPEROGRAMA (B) E CURVA DE CORRELAÇÃO, REALIZADA PARA A CURVA DE ADIÇÃO DE PADRÃO REALIZADA PARA A QUANTIFICAÇÃO DA SOLUÇÃO DE  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  DE  $\text{KNO}_3$  ENRIQUECIDA COM  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  DE INZ



Para a avaliação da exatidão foi feita uma comparação percentual entre os valores de concentrações enriquecidos e os valores recuperados (valores obtidos por cálculos matemáticos, a partir da equação da reta). Os valores de concentração adicionados e recuperados, tal como, os valores percentuais de recuperação, são observados na TABELA 13.



TABELA 13 – VALORES DAS CONCENTRAÇÕES ENRIQUECIDAS E RECUPERADAS PELO MÉTODO DE ADIÇÃO DE PADRÃO COM O EPCM-CuHCF, PARA OS TRÊS NÍVEIS DE CONCENTRAÇÕES AVALIADOS

Amostras	Valor adicionado (mol L <sup>-1</sup> )	Valor recuperado (mol L <sup>-1</sup> )	% de recuperação
1	1,0 x 10 <sup>-6</sup>	9,80 x 10 <sup>-6</sup>	97,9 ± 1,0 %
2	5,0 x 10 <sup>-6</sup>	4,97 x 10 <sup>-6</sup>	99,4 ± 3,2 %
3	1,0 x 10 <sup>-5</sup>	9,92 x 10 <sup>-6</sup>	99,2 ± 2,47 %

Pelos valores observados na TABELA 13 é possível afirmar que o método proposto, empregando o EPCM-CuHCF, apresentou boa exatidão na quantificação de INZ em amostras enriquecidas. O valor de recuperação variou entre 97,9 e 99,4 %. Assim, a potencialidade de aplicação do EPCM-CuHCF na determinação de INZ é demonstrada e credencia o procedimento para o controle de qualidade de amostras farmacêuticas.

### 6.3 CONCLUSÕES PARCIAIS DO CAPÍTULO 6

A proposta desenvolvida nesta etapa do trabalho, demonstrou a eficiência do EPCM modificado com biochar como matriz para ancorar nanoestruturas de CuHCF. As características eletroquímicas e morfológicas do CuHCF, formadas sobre o EPCM, foram dependentes dos parâmetros de síntese e melhoraram as propriedades do eletrodo não modificado para a determinação de INZ

Em virtude desta potencialidade, o desenvolvimento da metodologia proposta se mostrou eficaz na quantificação de INZ em amostras simuladas em três diferentes concentrações.

# **CAPÍTULO 7:**

**CONCLUSÃO**

## 7.1 CONCLUSÃO GERAL DO TRABALHO DE TESE

O eletrodo de pasta de carbono (EPCM) modificado com biochar, obtido pela pirólise do farelo de mamona a 400 °C, se mostrou mais eficiente na pré-concentração espontânea de íons cobre (II), quando comparado ao eletrodo não modificado e ao eletrodo modificado com carvão ativado. A melhora na resposta foi relacionada com a elevada quantidade de grupamentos funcionais presentes na superfície do biochar, o que não foi observado para os outros materiais avaliados. A interação entre o biochar e íons cobre (II) aconteceu pela atração eletrostática destes íons com grupamentos oxigenados, como hidroxílicos e carboxílicos. A potencialidade do EPCM em pré-concentrar íons cobre (II) permitiu o desenvolvimento de uma metodologia analítica para a determinação destes íons em amostras de bebidas alcoólicas, que se mostrou superior ou comparável a metodologias encontradas na literatura, e também comparadas ao método por ICP OES, em um nível de confiança de 95 %.

A habilidade do EPCM modificado com biochar também apresentou maior capacidade na pré-concentração de metil paration em comparação ao eletrodo não modificado e ao eletrodo modificado com carvão ativado. Nesse caso, houve um aumento menor que o verificado para íons cobre com relação ao carvão ativado, o que sugere que para esse analito, o efeito não é apenas função da quantidade de grupamentos funcionais em sua superfície. Assim, é provável que a interação entre o biochar e o metil paration aconteça também por ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals. O desempenho do material permitiu que fosse desenvolvida uma metodologia analítica para a determinação de metil paration em água de torneira com resultados satisfatórios comparados a outros métodos encontrados na literatura.

A habilidade do biochar em interagir e pré-concentração cátions foi explorada com sucesso na adsorção espontânea de íons mercúrio (II). A presença dos íons mercúrio na superfície do biochar permitiu a formação de nanogotas de mercúrio e possibilitou o uso do eletrodo em uma região de potencial relativamente negativo ( $< -1,3$  V vs. Ag/AgCl). Essa característica fez com que o EPCM fosse empregado para a determinação voltamétrica de íons zinco (II). O método analítico proposto foi aplicado para determinações em

amostras farmacêuticas, e os valores encontrados se mostraram estatisticamente concordantes, quando comparados aos resultados obtidos método por ICP OES, demonstrando que o procedimento é eficiente e pode ser empregado na determinação de íons zinco (II) em amostras de colírio e pomada para queimaduras.

O fato do EPCM pré-concentrar íons cobre (II) foi explorado para a formação de hexacianoferrato de cobre. As nanoestruturas de CuHCF sobre a superfície do EPCM melhoraram as propriedades do eletrodo não modificado, principalmente do ponto de vista da melhora na sensibilidade para a determinação amperométrica de isoniazida (INZ). O modificador CuHCF apresentou um efeito eletrocatalítico para a reação de oxidação do analito. Em vista da potencialidade do eletrodo proposto, a metodologia se mostrou eficiente na determinação de INZ em amostras simuladas, empregando o EPCM-CuHCF.

As características do biochar, como a elevada quantidade de grupos funcionais, permitiram que esse material fosse explorado por diferentes estratégias na construção de sensores eletroquímicos. A avaliação da potencialidade dos eletrodos modificados com biochar demonstrou enorme versatilidade do modificador. Com isto, a utilização do biochar como modificador de eletrodos é extremamente relevante do ponto de vista analítico. Podendo ser ainda melhor explorada em outras vertentes e tendências, tais como no desenvolvimento de biossensores, eletrodos impressos, eletrodos 3-D, entre outros.

## REFERÊNCIAS

- [1] MC CAFFREY, C.; TWOMEY, K.; OGURTSOV, V. I. Development of a wireless swallowable capsule with potentiostatic electrochemical sensor for gastrointestinal track investigation. *Sens. Actuator B-Chem.*, 218, p.8-15, 2015.
- [2] YOLA, M. L.; EREN, T.; ILKIMEN, H.; ATAR, N.; YENIKAYA, C. A sensitive voltammetric sensor for determination of Cd(II) in human plasma. *Journal of Molecular Liquids*, 197, p.58-64, 2014.
- [3] REGIART, M.; PEREIRA, S. V.; SPOTORNO, V. G.; BERTOLINO, F. A.; RABA, J. Nanostructured voltammetric sensor for ultra-trace anabolic drug determination in food safety field. *Sens. Actuator B-Chem.*, 188, p.1241-1249, 2013.
- [4] RAWAL, R.; PUNDIR, C. S. Development of an amperometric sulfite biosensor based on SOx/PBNPs/PPY modified ITO electrode. *Int. J. Biol. Macromol.*, 51, 4, p.449-455, 2012.
- [5] THIRUPPATHIRAJA, C.; KAMATCHIAMMAL, S.; ADAIKKAPPAN, P.; SANTHOSH, D. J.; ALAGAR, M. Specific detection of Mycobacterium sp genomic DNA using dual labeled gold nanoparticle based electrochemical biosensor. *Anal. Biochem.*, 417, 1, p.73-79, 2011.
- [6] SOUZA, M. D. B. Chemically modified electrodes applied to electroanalysis: A brief presentation. *Quim. Nova*, 20, 2, p.191-195, 1997.
- [7] XU, H.; ZENG, L. P.; HUANG, D. K.; MAN, Y. Z.; JIN, L. T. A Nafion-coated bismuth film electrode for the determination of heavy metals in vegetable using differential pulse anodic stripping voltammetry: An alternative to mercury-based electrodes. *Food Chem.*, 109, 4, p.834-839, 2008.
- [8] YI, W. J.; LI, Y.; RAN, G.; LUO, H. Q.; LI, N. B. Determination of cadmium(II) by square wave anodic stripping voltammetry using bismuth-antimony film electrode. *Sens. Actuator B-Chem.*, 166, p.544-548, 2012.

- [9] TYSZCZUK-ROTKO, K.; METELKA, R.; VYTRAS, K. Screen-printed carbon electrodes modified with lead film deposited using different plating methods as sensors in anodic stripping voltammetry. *Electrochim. Acta*, 92, p.335-340, 2013.
- [10] MURRAY, R. W.; MOSES, P. R.; WIER, L. CHEMICALLY MODIFIED TIN OXIDE ELECTRODE. *Anal. Chem.*, 47, 12, p.1882-1886, 1975.
- [11] PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. D.; KUBOTA, L. T. Trends in amperometric electrodes modification for electroanalytical applications. *Quim. Nova*, 25, 6A, p.1012-1021, 2002.
- [12] MECHIAKH, R.; BEN SEDRINE, N.; BEN NACEUR, J.; CHTOUROU, R. Elaboration and characterization of nanocrystalline TiO<sub>2</sub> thin films prepared by sol-gel dip-coating. *Surface & Coatings Technology*, 206, 2-3, p.243-249, 2011.
- [13] YOON, S.-H.; MOFRAD, M. R. K. Cell adhesion and detachment on gold surfaces modified with a thiol-functionalized RGD peptide. *Biomaterials*, 32, 30, p.7286-7296, 2011.
- [14] TAVAKOLI, B.; ROSHANDEL, R. The effect of fuel cell operational conditions on the water content distribution in the polymer electrolyte membrane. *Renewable energy*, 36, 12, p.3319-3331, 2011.
- [15] ARVAND, M.; ANSARI, R.; HEYDARI, L. Electrocatalytic oxidation and differential pulse voltammetric determination of sulfamethoxazole using carbon nanotube paste electrode. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, 31, 8, p.1819-1825, 2011.
- [16] CHEN, P. Y.; VITTAL, R.; NIEN, P. C.; HO, K. C. Enhancing dopamine detection using a glassy carbon electrode modified with MWCNTs, quercetin, and Nafion (R). *Biosens. Bioelectron.*, 24, 12, p.3504-3509, 2009.
- [17] KANG, G.; CHOI, J.; PARK, T. Pt-Free Counter Electrodes with Carbon Black and 3D Network Epoxy Polymer Composites. *Sci Rep*, 6, 2016.
- [18] ŠVANCARA, I. K., K.; WALCARIUS, A.; VYTRAS, K., ed. *Electroanalysis with carbon paste electrode*. 2012, CRC Press: Boca Raton, FL. 666.

[19] VYTRAS, K.; SVANCARA, I.; METELKA, R. Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74, 10, p.1021-1033, 2009.

[20] BONIFACIO, V. G.; MARCOLINO, L. H.; TEIXEIRA, M. F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Voltammetric determination of isoprenaline in pharmaceutical preparations using a copper(II) hexacyanoferrate(III) modified carbon paste electrode. *Microchemical Journal*, 78, 1, p.55-59, 2004.

[21] IMISIDES, M. D.; WALLACE, G. G.; WILKE, E. A. Designing chemically modified electrodes for electroanalysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 7, 4, p.143-147, 1988.

[22] BALDWIN, R. P.; THOMSEN, K. N. CHEMICALLY MODIFIED ELECTRODES IN LIQUID-CHROMATOGRAPHY DETECTION - A REVIEW. *Talanta*, 38, 1, p.1-16, 1991.

[23] TICIANELLI, E. A.; CAMARA, G. A.; SANTOS, L. G. R. A. Eletrocatalise das reações de oxidação de hidrogênio e de redução de oxigênio. *Quim. Nova*, 28, p.664-669, 2005.

[24] KARYAKIN, A. A. Prussian Blue and its analogues: Electrochemistry and analytical applications. *Electroanalysis*, 13, 10, p.813-819, 2001.

[25] WANG, L.; TRICARD, S.; YUE, P. W.; ZHAO, J. H.; FANG, J.; SHEN, W. G. Polypyrrole and graphene quantum dots @ Prussian Blue hybrid film on graphite felt electrodes: Application for amperometric determination of L-cysteine. *Biosens. Bioelectron.*, 77, p.1112-1118, 2016.

[26] BERNALTE, E.; SÁNCHEZ, C. M.; GIL, E. P. Determination of mercury in ambient water samples by anodic stripping voltammetry on screen-printed gold electrodes. *Anal. Chim. Acta*, 689, 1, p.60-64, 2011.

[27] MEENAKSHI, S.; PANDIAN, K.; JAYAKUMARI, L. S.; INBASEKARAN, S. Enhanced amperometric detection of metronidazole in drug formulations and urine samples based on chitosan protected tetrasulfonated copper phthalocyanine thin-film modified glassy carbon electrode. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, 59, p.136-144, 2016.

[28] PRADELA, L. A.; OLIVEIRA, B. C.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. A Prussian blue-carbon paste electrode for selective cathodic amperometric determination of nitrite using a flow-injection analysis system with carrier recycling. *Electrochim. Acta*, 180, p.939-946, 2015.

[29] BEITOLLAHI, H.; TAHER, M. A.; MIRRAHIMI, F.; HOSSEINZADEH, R. Electrochemical sensor for selective determination of N-acetylcysteine in the presence of folic acid using a modified carbon nanotube paste electrode. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, 33, 3, p.1078-1084, 2013.

[30] BERGAMINI, M.; VITAL, S.; SANTOS, A.; STRADIOTTO, N. Lead ions determination in ethanol fuel by differential pulse anodic stripping voltammetry using a carbon paste electrode modified with ion-exchange resin Amberlite IR120. *Eclética Química*, 31, 2, p.45-52, 2006.

[31] DASBASI, T.; SACMACI, S.; ULGEN, A.; KARTAL, S. Determination of some metal ions in various meat and baby food samples by atomic spectrometry. *Food Chem.*, 197, p.107-113, 2016.

[32] OLIVEIRA, P. R.; STRADIOTTO, N. R.; TANAKA, A. A.; BERGAMINI, M. F. Anodic Stripping Voltammetric Determination of Lead (II) and Cadmium (II) by Using a Carbon Nanotubes Paste Electrode Modified with Ion Exchange Synthetic Resin. *Curr. Anal. Chem.*, 8, 4, p.520-527, 2012.

[33] MOYO, M.; OKONKWO, J. O.; AGYEI, N. M. Maize tassel-modified carbon paste electrode for voltammetric determination of Cu(II). *Environ. Monit. Assess.*, 186, 8, p.4807-4817, 2014.

[34] AHMADPOUR-MOBARAKEH, L.; NEZAMZADEH-EJHIEH, A. A zeolite modified carbon paste electrode as useful sensor for voltammetric determination of acetaminophen. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, 49, p.493-499, 2015.

[35] RAOOF, J. B.; AZIZI, N.; OJANI, R.; GHODRATI, S.; ABRISHAMKAR, M.; CHEKIN, F. Synthesis of ZSM-5 zeolite: Electrochemical behavior of carbon paste electrode modified with Ni (II)-zeolite and its application for electrocatalytic oxidation of methanol. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 20, p.13295-13300, 2011.

[36] LIU, Y.; YANG, S.; NIU, W. Simple, rapid and green one-step strategy to synthesis of graphene/carbon nanotubes/chitosan hybrid as solid-phase extraction



for square-wave voltammetric detection of methyl parathion. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 108, p.266-270, 2013.

[37] ZHU, L.; XU, L.; HUANG, B.; JIA, N.; TAN, L.; YAO, S. Simultaneous determination of Cd (II) and Pb (II) using square wave anodic stripping voltammetry at a gold nanoparticle-graphene-cysteine composite modified bismuth film electrode. *Electrochim. Acta*, 115, p.471-477, 2014.

[38] CHERAGHI, S.; TAHER, M. A.; FAZELIRAD, H. Voltammetric determination of silver with a new multi-walled carbon nanotube modified paste electrode. *Russ. J. Electrochem.*, 51, 3, p.271-277, 2015.

[39] GANJALI, M. R.; MOTAKEF-KAZAMI, N.; FARIDBOD, F.; KHOEE, S.; NOROUZI, P. Determination of Pb<sup>2+</sup> ions by a modified carbon paste electrode based on multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and nanosilica. *J. Hazard. Mater.*, 173, 1, p.415-419, 2010.

[40] LEYVA-RAMOS, R.; BERBER-MENDOZA, M. S.; SALAZAR-RABAGO, J.; GUERRERO-CORONADO, R. M.; MENDOZA-BARRON, J. Adsorption of lead(II) from aqueous solution onto several types of activated carbon fibers. *Adsorpt.-J. Int. Adsorpt. Soc.*, 17, 3, p.515-526, 2011.

[41] DO NASCIMENTO, M. E.; MARTELLI, P. B.; FURTADO, C. A.; SANTOS, A. P.; DE OLIVEIRA, L. F. C.; GORGULHO, H. D. Determination of lead(II) in aqueous solution using carbon nanotubes paste electrodes modified with Amberlite IR-120. *Microchim. Acta*, 173, 3-4, p.485-493, 2011.

[42] SENTHILKUMAR, S.; SARASWATHI, R. A novel zeolite-multiwalled carbon nanotube composite for the electroanalysis of copper(II) ion. *J. Appl. Electrochem.*, 41, 8, p.909-917, 2011.

[43] ZOU, W. H.; BAI, H. J.; ZHAO, L.; LI, K.; HAN, R. P. Characterization and properties of zeolite as adsorbent for removal of uranium(VI) from solution in fixed bed column. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 288, 3, p.779-788, 2011.

[44] ORTH, E. S.; FERREIRA, J. G. L.; FONSACA, J. E. S.; BLASKIEVICZ, S. F.; DOMINGUES, S. H.; DASGUPTA, A.; TERRONES, M.; ZARBIN, A. J. G. pK(a) determination of graphene-like materials: Validating chemical functionalization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 467, p.239-244, 2016.

[45] CAI, W. H.; LAI, J. W.; LAI, T.; XIE, H. T.; YE, J. S. Controlled functionalization of flexible graphene fibers for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sens. Actuator B-Chem.*, 224, p.225-232, 2016.

[46] BAYTAK, A. K.; TEKER, T.; DUZMEN, S.; ASLANOGLU, M. A novel voltammetric sensor based on carbon nanotubes and nanoparticles of antimony tin oxide for the determination of ractopamine. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, 59, p.368-374, 2016.

[47] RASSAEI, L.; SILLANPAA, M.; EDLER, K. J.; MARKEN, F. Electrochemically Active Mercury Nanodroplets Trapped in a Carbon Nanoparticle - Chitosan Matrix. *Electroanalysis*, 21, 3-5, p.261-266, 2009.

[48] DONG, X. L.; MA, L. N. Q.; LI, Y. C. Characteristics and mechanisms of hexavalent chromium removal by biochar from sugar beet tailing. *J. Hazard. Mater.*, 190, 1-3, p.909-915, 2011.

[49] EL-HENDAWY, A.-N. A. Influence of HNO<sub>3</sub> oxidation on the structure and adsorptive properties of corncob-based activated carbon. *Carbon*, 41, 4, p.713-722, 2003.

[50] BRENNAN, J. K.; BANDOSZ, T. J.; THOMSON, K. T.; GUBBINS, K. E. Water in porous carbons. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 187-188, p.539-568, 2001.

[51] XING, H. K.; XU, J. K.; ZHU, X. F.; DUAN, X. M.; LU, L. M.; WANG, W. M.; ZHANG, Y. S.; YANG, T. T. Highly sensitive simultaneous determination of cadmium (II), lead (II), copper (II), and mercury (II) ions on N-doped graphene modified electrode. *J. Electroanal. Chem.*, 760, p.52-58, 2016.

[52] YANG, J.; WEN, W.; ZHANG, X. H.; WANG, S. F. Electrochemical immunosensor for the prostate specific antigen detection based on carbon nanotube and gold nanoparticle amplification strategy. *Microchim. Acta*, 182, 9-10, p.1855-1861, 2015.

[53] LEHMANN, J. J., S. *Biochar for environmental management: Science and Technology* Earthscan, London, 2009.

[54] LEHMANN, J.; RILLIG, M. C.; THIES, J.; MASIELLO, C. A.; HOCKADAY, W. C.; CROWLEY, D. Biochar effects on soil biota - A review. *Soil Biol. Biochem.*, 43, 9, p.1812-1836, 2011.

[55] SHACKLEY, S.; CARTER, S.; KNOWLES, T.; MIDDELINK, E.; HAEFELE, S.; HASZELDINE, S. Sustainable gasification–biochar systems? A case-study of rice-husk gasification in Cambodia, Part II: Field trial results, carbon abatement, economic assessment and conclusions. *Energy Policy*, 41, p.618-623, 2012.

[56] AHMAD, M.; RAJAPAKSHA, A. U.; LIM, J. E.; ZHANG, M.; BOLAN, N.; MOHAN, D.; VITHANAGE, M.; LEE, S. S.; OK, Y. S. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. *Chemosphere*, 99, p.19-33, 2014.

[57] SHAWKY, H. A. Improvement of Water Quality Using Alginate/Montmorillonite Composite Beads. *J. Appl. Polym. Sci.*, 119, 4, p.2371-2378, 2011.

[58] HU, J.; LO, I. M. C.; CHEN, G. Removal of Cr(VI) by magnetite nanoparticle. *Water Sci. Technol.*, 50, 12, p.139-146, 2004.

[59] AL-WABEL, M. I.; AL-OMRAN, A.; EL-NAGGAR, A. H.; NADEEM, M.; USMAN, A. R. A. Pyrolysis temperature induced changes in characteristics and chemical composition of biochar produced from conocarpus wastes. *Bioresour. Technol.*, 131, p.374-379, 2013.

[60] NOVOTNY, E. H.; HAYES, M. H. B.; MADARI, B. E.; BONAGAMBA, T. J.; DEAZEVEDO, E. R.; DE SOUZA, A. A.; SONG, G.; NOGUEIRA, C. M.; MANGRICH, A. S. Lessons from the Terra Preta de Indios of the Amazon Region for the Utilisation of Charcoal for Soil Amendment. *J. Braz. Chem. Soc.*, 20, 6, p.1003-1010, 2009.

[61] FRISTAK, V.; PIPISKA, M.; LESNY, J.; SOJA, G.; FRIESL-HANL, W.; PACKOVA, A. Utilization of biochar sorbents for Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cu<sup>2+</sup> ions separation from aqueous solutions: comparative study. *Environ. Monit. Assess.*, 187, 1 2015.

[62] YANG, H.; YAN, R.; CHEN, H.; LEE, D. H.; ZHENG, C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86, 12, p.1781-1788, 2007.

[63] TAN, X. F.; LIU, Y. G.; ZENG, G. M.; WANG, X.; HU, X. J.; GU, Y. L.; YANG, Z. Z. Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions. *Chemosphere*, 125, p.70-85, 2015.

[64] QIAN, K.; KUMAR, A.; ZHANG, H.; BELLMER, D.; HUHNKE, R. Recent advances in utilization of biochar. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, p.1055-1064, 2015.

[65] YU, X.-Y.; YING, G.-G.; KOOKANA, R. S. Reduced plant uptake of pesticides with biochar additions to soil. *Chemosphere*, 76, 5, p.665-671, 2009.

[66] SUGUIHIRO, T. M.; OLIVEIRA, P. R.; DE REZENDE, E. I. P.; MANGRICH, A. S.; MARCOLINO, L. H.; BERGAMINI, M. F. An electroanalytical approach for evaluation of biochar adsorption characteristics and its application for Lead and Cadmium determination. *Bioresour. Technol.*, 143, p.40-45, 2013.

[67] TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomed. Pharmacother.*, 57, 9, p.386-398, 2003.

[68] DE ROMANA, D. L.; OLIVARES, M.; UAUY, R.; ARAYA, M. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 25, 1, p.3-13, 2011.

[69] HODGKINSON, V. L.; ZHU, S.; WANG, Y. F.; LADOMERSKY, E.; NICKELSON, K.; WEISMAN, G. A.; LEE, J. W.; GITLIN, J. D.; PETRIS, M. J. Autonomous requirements of the Menkes disease protein in the nervous system. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.*, 309, 10, p.C660-C668, 2015.

[70] WACHSMANN, J.; PENG, F. Y. Molecular imaging and therapy targeting copper metabolism in hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.*, 22, 1, p.221-231, 2016.

[71] PHAM, H. P.; SCHWARTZ, J.; COOLING, L.; HOFMANN, J. C.; KIM, H. C.; MORGAN, S.; PAGANO, M. B.; SCHNEIDERMAN, J.; WINTERS, J. L.; YAMADA, C.; WONG, E. C. C.; WU, Y. Y. Report of the ASFA Apheresis Registry Study on Wilson's Disease. *J. Clin. Apheresis*, 31, 1, p.11-15, 2016.

[72] BARBEIRA, P. J. S.; STRADIOTTO, N. R. Anodic stripping voltammetric determination of Zn, Pb and Cu traces in whisky samples. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 361, 5, p.507-509, 1998.

[73] COSTA, D. A.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. Direct Quantification of Cu<sup>2+</sup> in Cachaca Using a Solid Paraffin-Based Carbon Paste Electrode Chemically Modified with 2-Aminothiazole-Silica-Gel. *International Journal of Electrochemical Science*, 6, 12, p.6410-6423, 2011.

[74] DO NASCIMENTO ROCHA, S. A.; DANTAS, A. F.; JAEGER, H. V.; SPINOLA COSTA, A. C.; LEO, E. D. S.; GONCALVES, M. R. Spectrofotometric determination of copper in sugar cane spirit using biquinoline in the presence of ethanol and Triton X-100. *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.*, 71, 4, p.1414-1418, 2008.

[75] WHO, W. H. O., ed. *Global status report on alcohol and health*. 2014: Geneva-Switzerland.

[76] SANDRONI, V.; SMITH, C. M. M.; DONOVAN, A. Microwave digestion of sediment, soils and urban particulate matter for trace metal analysis. *Talanta*, 60, 4, p.715-723, 2003.

[77] GHOLIVAND, M. B.; PARVIN, M. H. Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetric Simultaneous Determination of Copper(II) and Silver(I) with Bis(2-hydroxyacetophenone) Butane-2,3-dihydrazone Modified Carbon Paste Electrodes. *Electroanalysis*, 22, 19, p.2291-2296, 2010.

[78] JANEGITZ, B. C.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; CAMPANA-FILHO, S. P.; FARIA, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Anodic stripping voltammetric determination of copper(II) using a functionalized carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan. *Sens. Actuator B-Chem.*, 142, 1, p.260-266, 2009.

[79] HERTEL, R. F. ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 145, METHYL PARATHION. WHO, 1993.

[80] SAN. *List of Prohibited Pesticides*. Sustainable Agriculture Network: 2011.

[81] WHO. *Methyl Parathion in Drinking-water*. World Health Organization: 2004.

[82] AMAYA-CHAVEZ, A.; MARTINEZ-TABCHE, L.; LOPEZ-LOPEZ, E.; GALAR-MARTINEZ, M. Methyl parathion toxicity to and removal efficiency by *Typha latifolia* in water and artificial sediments. *Chemosphere*, 63, 7, p.1124-1129, 2006.

[83] LI, C.; WANG, Z.; ZHAN, G. Electrochemical investigation of methyl parathion at gold-sodium dodecylbenzene sulfonate nanoparticles modified glassy carbon electrode. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 82, 1, p.40-45, 2011.

[84] COSTA, A. I. G.; QUEIROZ, M.; NEVES, A. A.; DE SOUSA, F. A.; ZAMBOLIM, L. Determination of pesticides in lettuce using solid-liquid extraction with low temperature partitioning. *Food Chem.*, 181, p.64-71, 2015.

[85] DA SILVA, D. F.; SILVA, F. E. P.; SILVA, F. G. S.; NUNES, G. S.; BADEA, M. Direct determination of methyl parathion insecticide in rice samples by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Pest Manag. Sci.*, 71, 11, p.1497-1502, 2015.

[86] PENG, G. L.; HE, Q.; MMEREKI, D.; ZHOU, G. M.; PAN, W. L.; GU, L.; FAN, L. L.; TANG, X. H.; CHEN, J. H.; MAO, Y. F. Vortex-assisted liquid-liquid microextraction using a low-toxicity solvent for the determination of five organophosphorus pesticides in water samples by high-performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.*, 38, 20, p.3487-3493, 2015.

[87] TANG, W. Z.; ZHOU, J. Z.; YANG, Q. Q.; ZHENGAB, Q. Q.; WU, J. Determination of methyl parathion by solid-phase extraction on an ionic liquid-carbon nanotube composite electrode. *Anal. Methods*, 6, 15, p.5886-5890, 2014.

[88] CALDAS, E. M.; DE MENEZES, E. W.; PIZZOLATO, T. M.; DIAS, S. L. P.; COSTA, T. M. H.; ARENAS, L. T.; BENVENUTTI, E. V. Ionic silsesquioxane film immobilized on silica applied in the development of carbon paste electrode for determination of methyl parathion. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 72, 2, p.282-289, 2014.

[89] TAN, X. H.; LI, B. H.; LIEW, K.; LI, C. Y. Electrochemical fabrication of molecularly imprinted porous silicate film electrode for fast and selective response of methyl parathion. *Biosens. Bioelectron.*, 26, 2, p.868-871, 2010.

[90] OLIVEIRA, P. R.; LAMY-MENDES, A. C.; REZENDE, E. I. P.; MANGRICH, A. S.; MARCOLINO, L. H.; BERGAMINI, M. F. Electrochemical determination of copper ions in spirit drinks using carbon paste electrode modified with biochar. *Food Chem.*, 171, p.426-431, 2015.

[91] CAO, X. D.; MA, L. N.; LIANG, Y.; GAO, B.; HARRIS, W. Simultaneous Immobilization of Lead and Atrazine in Contaminated Soils Using Dairy-Manure Biochar. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 11, p.4884-4889, 2011.

[92] LOU, L. P.; WU, B. B.; WANG, L. N.; LUO, L.; XU, X. H.; HOU, J. A.; XUN, B.; HU, B. L.; CHEN, Y. X. Sorption and ecotoxicity of pentachlorophenol polluted sediment amended with rice-straw derived biochar. *Bioresour. Technol.*, 102, 5, p.4036-4041, 2011.

[93] KALINKE, C.; MANGRICH, A. S.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. Carbon Paste Electrode Modified with Biochar for Sensitive Electrochemical Determination of Paraquat. *Electroanalysis*, 28, p.764-769, 2015.

[94] NICHOLSON, R. S. Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics. *Anal. Chem.*, 37, 11, p.1351-1355, 1965.

[95] BLUTSTEIN, H.; BOND, A. M. Trace zinc determination in acid media by differential pulse anodic stripping voltammetry at a hanging drop mercury electrode. *Anal. Chem.*, 48, 4, p.759-761, 1976.

[96] SHAHBAZI, Y.; AHMADI, F.; FAKHARI, F. Voltammetric determination of Pb, Cd, Zn, Cu and Se in milk and dairy products collected from Iran: An emphasis on permissible limits and risk assessment of exposure to heavy metals. *Food Chem.*, 192, p.1060-1067, 2016.

[97] SONG, W.; ZHANG, L.; SHI, L.; LI, D.-W.; LI, Y.; LONG, Y.-T. Simultaneous determination of cadmium(II), lead(II) and copper(II) by using a screen-printed electrode modified with mercury nano-droplets. *Microchim. Acta*, 169, 3-4, p.321-326, 2010.

[98] CHEN, X. H.; AGARWAL, A.; GIEDROC, D. P. Structural and functional heterogeneity among the zinc fingers of human MRE-binding transcription factor-1. *Biochemistry*, 37, 32, p.11152-11161, 1998.

[99] LIU, J. H.; CAO, L.; HUANG, W.; ZHANG, C. T.; DOU, S. Z. Zinc and copper bioaccumulation in fish from Laizhou Bay, the Bohai Sea. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 32, 3, p.491-502, 2014.

[100] DONNICI, C. L.; SOUZA, C. C.; BEINNER, M. A.; DA SILVA, J. B. B. Fast Determination of Iron and Zinc in Hair and Human Serum Samples After Alkaline Solubilization by GF AAS. *J. Braz. Chem. Soc.*, 27, 1, p.119-126, 2016.

[101] LIU, F.; RAINBOW, P. S.; WANG, W.-X. Inter-site differences of zinc susceptibility of the oyster *Crassostrea hongkongensis*. *Aquatic Toxicology*, 132, p.26-33, 2013.

[102] MACHADO, I.; BERGMANN, G.; PISTON, M. A simple and fast ultrasound-assisted extraction procedure for Fe and Zn determination in milk-based infant formulas using flame atomic absorption spectrometry (FAAS). *Food Chem.*, 194, p.373-376, 2016.

[103] KROLICKA, A.; BOBROWSKI, A. Employing a magnetic field to amplify zinc signal obtained at bismuth film screen-printed electrodes generated using dual bismuth precursor. *Electrochim. Acta*, 187, p.224-233, 2016.

[104] LI, N. B.; ZHU, W. W.; LUO, J. H.; LUO, H. Q. A stannum-bismuth composite film electrode for simultaneous determination of zinc(II) and cadmium(II) using differential pulse anodic stripping voltammetry. *Analyst*, 137, 3, p.614-617, 2012.

[105] MIKKELSEN, O.; SCHRODER, K. H. Voltammetry using a dental amalgam electrode for heavy metal monitoring of wines and spirits. *Anal. Chim. Acta*, 458, 1, p.249-256, 2002.

[106] PRABAKAR, S. J. R.; SAKTHIVEL, C.; NARAYANAN, S. S. Hg(II) immobilized MWCNT graphite electrode for the anodic stripping voltammetric determination of lead and cadmium. *Talanta*, 85, 1, p.290-297, 2011.

[107] CHITTLEBOROUGH, G.; STEEL, B. J. THE DETERMINATION OF ZINC, CADMIUM, LEAD AND COPPER IN HUMAN-HAIR BY DIFFERENTIAL PULSE ANODIC-STRIPPING VOLTAMMETRY AT A HANGING MERCURY DROP ELECTRODE AFTER NITRATE FUSION. *Anal. Chim. Acta*, 119, 2, p.235-241, 1980.

[108] COMMISSION, B. P. *British Pharmacopeia*. v.1-2. The Stationery Office: London, 2009.



[109] YAN, X.; BO, X. J.; GUO, L. P. Electrochemical behaviors and determination of isoniazid at ordered mesoporous carbon modified electrode. *Sens. Actuator B-Chem.*, 155, 2, p.837-842, 2011.

[110] JENA, B. K.; RAJ, C. R. Au nanoparticle decorated silicate network for the amperometric sensing of isoniazid. *Talanta*, 80, 5, p.1653-1656, 2010.

[111] CAON, T.; MADURO CAMPOS, C. E.; OLIVEIRA SIMOES, C. M.; SEGATTO SILVA, M. A. Novel perspectives in the tuberculosis treatment: Administration of isoniazid through the skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 494, 1, p.463-470, 2015.

[112] SHARMA, S. K.; SHARMA, A.; KADHIRAVAN, T.; THARYAN, P. Rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine) compared to isoniazid for preventing tuberculosis in HIV-negative people at risk of active TB. *Cochrane Database Syst Rev.*, 7 2013.

[113] OLIPHANT, C. M. Tuberculosis. *The Journal for Nurse Practitioners*, 11, 1, p.87-94, 2015.

[114] IQBAL, M.; EZZELDIN, E.; BHAT, M. A.; RAISH, M.; AL-RASHOOD, K. A. Preclinical pharmacokinetics, tissue distribution and excretion studies of a novel anti-candidal agent-thiosemicarbazide derivative of isoniazid (TSC-INH) by validated UPLC-MS/MS assay. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 117, p.109-117, 2016.

[115] PRASANTHI, B.; RATNA, J. V.; PHANI, R. S. C. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in human plasma. *J. Anal. Chem.*, 70, 8, p.1015-1022, 2015.

[116] STETS, S.; DA SILVA, B. D.; TAVARES, T. M.; CORDEIRO, G. A.; NAGATA, N.; PESSOA, C. A.; PERALTA-ZAMORA, P. ALTERNATIVE CALIBRATION SYSTEMS FOR THE SIMULTANEOUS SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF COMPOUNDS WITH OVERLAPPING ABSORPTION SPECTRA. *Quim. Nova*, 38, 9, p.1226-1231, 2015.

[117] MEDINSKAIA, K.; GARMONOV, S.; KOZAK, J.; WIECZOREK, M.; ANDRUCH, V.; KOSCIELNIAK, P.; BULATOV, A. Stepwise injection determination of isoniazid in human urine samples coupled with generalized calibration method. *Microchemical Journal*, 123, p.111-117, 2015.

- [118] ASADPOUR-ZEYNALI, K.; SHABANGOLI, Y.; NEJATI, K. Electrochemical synthesis of Fe/Al-layered double hydroxide on a glassy carbon electrode: application for electrocatalytic reduction of isoniazid. *J. Iran Chem. Soc.*, 13, 1, p.29-36, 2016.
- [119] ABSALAN, G.; AKHOND, M.; SOLEIMANI, M.; ERSHADIFAR, H. Efficient electrocatalytic oxidation and determination of isoniazid on carbon ionic liquid electrode modified with electrodeposited palladium nanoparticles. *J. Electroanal. Chem.*, 761, p.1-7, 2016.
- [120] CHEEMALAPATI, S.; CHEN, S. M.; ALI, M. A.; AL-HEMAID, F. M. A. Enhanced electrocatalytic oxidation of isoniazid at electrochemically modified rhodium electrode for biological and pharmaceutical analysis. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 121, p.444-450, 2014.
- [121] RASTOGI, P. K.; GANESAN, V.; AZAD, U. P. Electrochemical determination of nanomolar levels of isoniazid in pharmaceutical formulation using silver nanoparticles decorated copolymer. *Electrochim. Acta*, 188, p.818-824, 2016.
- [122] SWAMY, N.; BASAVIAH, K.; VINAY, K. B. Titrimetric assay of isoniazid with perchloric acid in non-aqueous medium. *J. Anal. Chem.*, 70, 6, p.696-699, 2015.
- [123] LI, X. C.; CHEN, Z. G.; ZHONG, Y. W.; YANG, F.; PAN, J. B.; LIANG, Y. J. Cobalt hexacyanoferrate modified multi-walled carbon nanotubes/graphite composite electrode as electrochemical sensor on microfluidic chip. *Anal. Chim. Acta*, 710, p.118-124, 2012.
- [124] DE OLIVEIRA, P. R.; OLIVEIRA, M. M.; ZARBIN, A. J. G.; MARCOLINO, L. H.; BERGAMINI, M. F. Flow injection amperometric determination of isoniazid using a screen-printed carbon electrode modified with silver hexacyanoferrates nanoparticles. *Sens. Actuator B-Chem.*, 171, p.795-802, 2012.
- [125] ZAMPONI, S.; BERRETTONI, M.; KULESZA, P. J.; MIECZNIKOWSKI, K.; MALIK, M. A.; MAKOWSKI, O.; MARASSI, R. Influence of experimental conditions on electrochemical behavior of Prussian blue type nickel hexacyanoferrate film. *Electrochim. Acta*, 48, 28, p.4261-4269, 2003.

[126] DE TACCONI, N. R.; RAJESHWAR, K.; LEZNA, R. O. Metal hexacyanoferrates: Electrosynthesis, in situ characterization, and applications. *Chemistry of Materials*, 15, 16, p.3046-3062, 2003.

[127] NOROOZIFAR, M.; KHORASANI-MOTLAGH, M.; TAHERI, A. Preparation of silver hexacyanoferrate nanoparticles and its application for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Talanta*, 80, 5, p.1657-1664, 2010.

[128] LU, H. C.; KAO, S. Y.; CHANG, T. H.; RUNG, C. W.; HO, K. C. An electrochromic device based on Prussian blue, self-immobilized vinyl benzyl viologen, and ferrocene. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 147, p.75-84, 2016.

[129] TROCOLI, R.; BIDHENDI, G. K.; LA MANTIA, F. Lithium recovery by means of electrochemical ion pumping: a comparison between salt capturing and selective exchange. *J. Phys.-Condes. Matter*, 28, 11 2016.

[130] UEHARA, A.; CHANG, S. Y.; BOOTH, S. G.; SCHROEDER, S. L. M.; MOSSELMANS, J. F. W.; DRYFE, R. A. W. Redox and Ligand Exchange during the Reaction of Tetrachloroaurate with Hexacyanoferrate(II) at a Liquid-Liquid Interface: Voltammetry and X-ray Absorption Fine-Structure Studies. *Electrochim. Acta*, 190, p.997-1006, 2016.

[131] JIANG, D. F.; CHU, Z. Y.; PENG, J. M.; JIN, W. Q. Screen-printed biosensor chips with Prussian blue nanocubes for the detection of physiological analytes. *Sens. Actuator B-Chem.*, 228, p.679-687, 2016.

[132] MANIVANNAN, S.; KANG, I.; KIM, K. In Situ Growth of Prussian Blue Nanostructures at Reduced Graphene Oxide as a Modified Platinum Electrode for Synergistic Methanol Oxidation. *Langmuir*, 32, 7, p.1890-1898, 2016.

[133] NOSSOL, E.; NOSSOL, A. B. S.; ABDELHAMID, M. E.; MARTIN, L. L.; ZARBIN, A. J. G.; BOND, A. M. Mechanistic Insights Gained by Monitoring Carbon Nanotube/Prussian Blue Nanocomposite Formation With in Situ Electrochemically Based Techniques. *J. Phys. Chem. C*, 118, 24, p.13157-13167, 2014.

[134] BARATHI, P.; KUMAR, A. S. Development of selective electrochemical detector for hydrazine in water samples using nickel hexacyanoferrate modified disposable gold electrode. *J. Indian Chem. Soc.*, 92, 4, p.451-454, 2015.

[135] FENGA, P. G.; STRADIOTTO, N. R. Study of zinc hexacyanoferrate-modified platinum electrodes using electrochemical quartz crystal microbalance. *J. Solid State Electrochem.*, 15, 6, p.1279-1286, 2011.

[136] LIN, K. C.; HONG, C. P.; CHEN, S. M. Electrocatalytic Oxidation of Alcohols, Sulfides and Hydrogen Peroxide Based on Hybrid Composite of Ruthenium Hexacyanoferrate and Multi-Walled Carbon Nanotubes. *International Journal of Electrochemical Science*, 7, 11, p.11426-11443, 2012.

[137] DENG, K. Q.; LI, C. X.; QIU, X. Y.; ZHOU, J. H.; HOU, Z. H. Synthesis of Cobalt hexacyanoferrate decorated graphene oxide/carbon nanotubes-COOH hybrid and their application for sensitive detection of hydrazine. *Electrochim. Acta*, 174, p.1096-1103, 2015.

[138] YANG, Y. F.; YAN, Y.; CHEN, X. F.; ZHAI, W. Y.; XU, Y. H.; LIU, Y. Q. Investigation of a Polyaniline-Coated Copper Hexacyanoferrate Modified Glassy Carbon Electrode as a Sulfite Sensor. *Electrocatalysis*, 5, 4, p.344-353, 2014.

[139] PENG, H. J.; ZHOU, M. Q.; PENG, J. D. A Highly Sensitive Resonance Rayleigh Scattering Method for the Determination of Vitamin C Based on the Formation of Zirconium Hexacyanoferrate (II) Nanoparticles. *Food Anal. Meth.*, 9, 4, p.942-949, 2016.

[140] VENUGOPAL, N. K. A.; JOSEPH, J. Electrochemically formed 3D hierarchical thin films of cobalt-manganese (Co-Mn) hexacyanoferrate hybrids for electrochemical applications. *J. Power Sources*, 305, p.249-258, 2016.

[141] DE MATTOS, I. L.; GORTON, L. Metal-hexacyanoferrate films: A tool in analytical chemistry. *Quim. Nova*, 24, 2, p.200-205, 2001.

[142] BARD, A. J. CHEMICAL MODIFICATION OF ELECTRODES. *J. Chem. Educ.*, 60, 4, p.302-304, 1983.

[143] BRETT, M. A. B., A. M. O. *Electrochemistry: Principles, methods and applications*. Oxford University Press: New York, 1993.

[144] MANGRICH, A. S.; MAIA, C. M.; NOVOTNY, E. H. Biocarvão: as terras pretas de índios e o sequestro de carbono. *Revista Ciência Hoje*, 47, p.48, 2011.

[145] KALINKE, C. AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE ELETROANALÍTICA DE BIOCHAR, OBTIDO EM DIFERENTES TEMPERATURAS, EM ELETRODOS MODIFICADOS PARA DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná: Curitiba, 2015.

[146] UCHIMIYA, M.; KLASSON, K. T.; WARTELLE, L. H.; LIMA, I. M. Influence of soil properties on heavy metal sequestration by biochar amendment: 2. Copper desorption isotherms. *Chemosphere*, 82, 10, p.1438-1447, 2011.

[147] CHEN, X.; CHEN, G.; CHEN, L.; CHEN, Y.; LEHMANN, J.; MCBRIDE, M. B.; HAY, A. G. Adsorption of copper and zinc by biochars produced from pyrolysis of hardwood and corn straw in aqueous solution. *Bioresour. Technol.*, 102, 19, p.8877-8884, 2011.

[148] BORCHARD, N.; PROST, K.; KAUTZ, T.; MOELLER, A.; SIEMENS, J. Sorption of copper (II) and sulphate to different biochars before and after composting with farmyard manure. *Eur. J. Soil Sci.*, 63, 3, p.399-409, 2012.

[149] SKOOG, D. A. W., D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R.; , ed. *Fundamentos de Química Analítica*. Tradução da 8ª edição Norte-america ed. 2006, Cengage Learning: São Paulo - SP.

[150] BRETT, C.; BRETT, A. *Electroanalysis-Oxford Chemistry Primers*. 1998, Oxford University Press, Oxford.

[151] MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E. A. Instrução Normativa N°13 de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. . 2005.

[152] MILLER, J. N.; MILLER, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 5 ed. Pearson 2005.

[153] BALDO, M. A.; DANIELE, S. Voltammetric monitoring and speciation of copper ions in Italian "Grappa" with platinum microelectrodes. *Electroanalysis*, 18, 7, p.633-639, 2006.

[154] TAVARES, E. D. L.; OKUMURA, L. L.; CARDOSO, M. D.; DE OLIVEIRA, M. F.; MAGRIOTIS, Z. M.; SACZK, A. A. An Alternative Method for the Simultaneous

Determination of Copper and Lead for Quality Control of Sugar Cane Spirit using a Nanotube-Based Sensor. *J. Braz. Chem. Soc.*, 23, 9, p.1614-1622, 2012.

[155] SANGHAVI, B. J.; HIRSCH, G.; KARNA, S. P.; SRIVASTAVA, A. K. Potentiometric stripping analysis of methyl and ethyl parathion employing carbon nanoparticles and halloysite nanoclay modified carbon paste electrode. *Anal. Chim. Acta*, 735, p.37-45, 2012.

[156] LI, H.; WANG, Z.; WU, B.; LIU, X.; XUE, Z.; LU, X. Rapid and sensitive detection of methyl-parathion pesticide with an electropolymerized, molecularly imprinted polymer capacitive sensor. *Electrochim. Acta*, 62, p.319-326, 2012.

[157] XUE, X. D.; WEI, Q.; WU, D.; LI, H.; ZHANG, Y.; FENG, R.; DU, B. Determination of methyl parathion by a molecularly imprinted sensor based on nitrogen doped graphene sheets. *Electrochim. Acta*, 116, p.366-371, 2014.

[158] WU, B.; HOU, L.; DU, M.; ZHANG, T.; WANG, Z.; XUE, Z.; LU, X. A molecularly imprinted electrochemical enzymeless sensor based on functionalized gold nanoparticle decorated carbon nanotubes for methyl-parathion detection. *Rsc Advances*, 4, 96, p.53701-53710, 2014.

[159] MAO, Y.; FA, H.; CHENG, Y.; DU, Y.; YIN, W.; HOU, C.; HUO, D.; ZHANG, D. AN ELECTRODE MODIFIED WITH AuNPs/GRAPHENE NANOCOMPOSITES FILM FOR THE DETERMINATION OF METHYL PARATHION RESIDUES. *Nano*, 9, 8 2014.

[160] KUMAR, J.; D'SOUZA, S. F. Microbial biosensor for detection of methyl parathion using screen printed carbon electrode and cyclic voltammetry. *Biosens. Bioelectron.*, 26, 11, p.4289-4293, 2011.

[161] RAHBAR, N.; PARHAM, H. Determination of methyl parathion using ZRO(2)-nanoparticles modified carbon paste electrode by square wave voltammetry. *Toxicol. Lett.*, 196, p.S316-S316, 2010.

[162] KANG, T. F.; WANG, F.; LU, L. P.; ZHANG, Y.; LIU, T. S. Methyl parathion sensors based on gold nanoparticles and Nafion film modified glassy carbon electrodes. *Sens. Actuator B-Chem.*, 145, 1, p.104-109, 2010.

[163] BENAMOR, M.; BELHAMEL, K.; DRAA, M. T. Use of xylenol orange and cetylpyridinium chloride in rapid spectrophotometric determination of zinc in

pharmaceutical products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23, 6, p.1033-1038, 2000.

[164] RIBEIRO, L. F.; MASINI, J. C. Automated Determination of Cu(II), Pb(II), Cd(II) and Zn(II) in Environmental Samples by Square Wave Voltammetry Exploiting Sequential Injection Analysis and Screen Printed Electrodes. *Electroanalysis*, 26, 12, p.2754-2763, 2014.

[165] NOVAKOVA, K.; NAVRATIL, T.; DYTRTOVA, J. J.; CHYLKOVA, J. The use of copper solid amalgam electrodes for determination of the pesticide thiram. *J. Solid State Electrochem.*, 17, 6, p.1517-1528, 2013.

[166] KREJCOVA, Z.; BAREK, J.; VYSKOCIL, V. Voltammetric Determination of Nitrofurantoin at a Mercury Meniscus Modified Silver Solid Amalgam Electrode. *Electroanalysis*, 27, 1, p.185-192, 2015.

[167] MIKKELSEN, O.; SCHRODER, K. H. Amalgam electrodes for electroanalysis. *Electroanalysis*, 15, 8, p.679-687, 2003.

[168] VYSKOCIL, V.; BAREK, J. Mercury Electrodes-Possibilities and Limitations in Environmental Electroanalysis. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 39, 3, p.173-188, 2009.

[169] TORMIN, T. F.; NARCISO, L. C. D.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Batch-injection stripping voltammetry of zinc at a gold electrode: application for fuel bioethanol analysis. *Electrochim. Acta*, 164, p.90-96, 2015.

[170] KUCUKKOLBASI, S.; TEMUR, O.; KARA, H.; KHASKHELI, A. R. Monitoring of Zn(II), Cd(II), Pb(II) and Cu(II) During Refining of Some Vegetable Oils Using Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry. *Food Anal. Meth.*, 7, 4, p.872-878, 2014.

[171] CHA, K. W.; PARK, C. I.; PARK, S. H. Simultaneous determination of trace uranium(VI) and zinc(II) by adsorptive cathodic stripping voltammetry with aluminon ligand. *Talanta*, 52, 6, p.983-989, 2000.

[172] HONORIO, G. G.; AZEVEDO, G. C.; COSTA MATOS, M. A.; LEAL DE OLIVEIRA, M. A.; MATOS, R. C. Use of boron-doped diamond electrode pre-treated cathodically for the determination of trace metals in honey by differential pulse voltammetry. *Food Control*, 36, 1, p.42-48, 2014.

[173] KAHLERT, H.; RETTER, U.; LOHSE, H.; SIEGLER, K.; SCHOLZ, F. On the determination of the diffusion coefficients of electrons and of potassium ions in copper(II) hexacyanoferrate(II) composite electrodes. *Journal of Physical Chemistry B*, 102, 44, p.8757-8765, 1998.

[174] PIPI, A. R. F.; DO CARMO, D. R. Voltammetric studies of titanium (IV) phosphate modified with copper hexacyanoferrate and electroanalytical determination of N-acetylcysteine. *J. Appl. Electrochem.*, 41, 7, p.787-793, 2011.

[175] WU, M. S.; LYU, L. J.; SYU, J. H. Copper and nickel hexacyanoferrate nanostructures with graphene-coated stainless steel sheets for electrochemical supercapacitors. *J. Power Sources*, 297, p.75-82, 2015.

[176] WESSELLS, C. D.; HUGGINS, R. A.; CUI, Y. Copper hexacyanoferrate battery electrodes with long cycle life and high power. *Nat. Commun.*, 2, 2011.

[177] AYRAULT, S.; LOOSNESKOVIC, C.; FEDOROFF, M.; GARNIER, E. COPPER HEXACYANOFERRATES - PREPARATION, COMPOSITION AND STRUCTURE. *Talanta*, 41, 9, p.1435-1452, 1994.

[178] VALENTINI, M. T. G.; STELLA, R.; COLA, M. CHARACTERIZATION OF COPPER HEXACYANOFERRATE(II) AND (III) WITH REFERENCE TO THEIR USE AS CESIUM ADSORBERS. *J. Radioanal. Nucl. Chem.-Artic.*, 102, 1, p.99-110, 1986.

[179] YU, H.; JIAN, X.; JIN, J.; WANG, F.; WANG, Y.; QI, G. C. Preparation of hybrid cobalt-iron hexacyanoferrate nanoparticles modified multi-walled carbon nanotubes composite electrode and its application. *J. Electroanal. Chem.*, 700, p.47-53, 2013.