

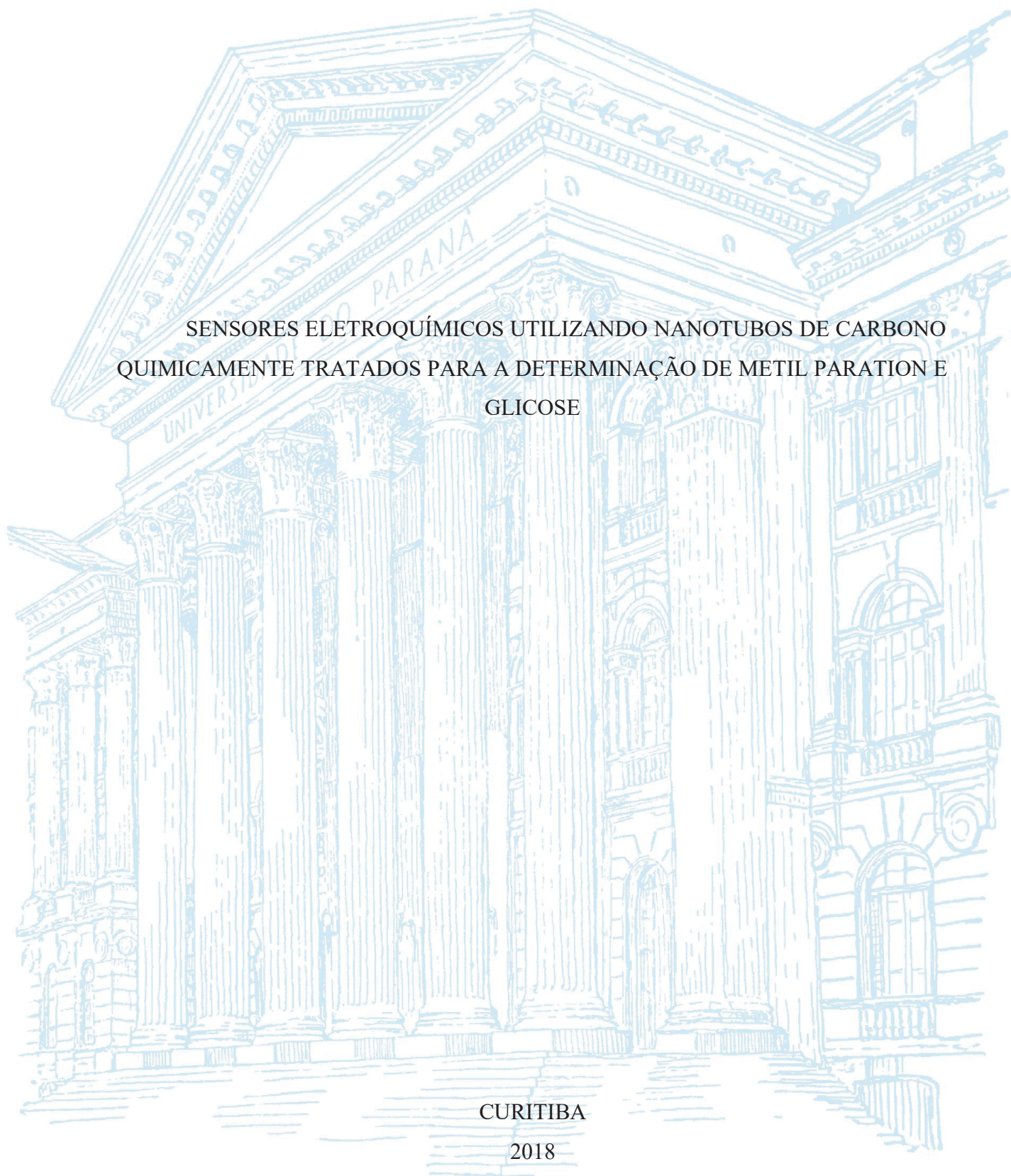
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MICHELLE COLMAN DE OLIVEIRA

SENSORES ELETROQUÍMICOS UTILIZANDO NANOTUBOS DE CARBONO
QUIMICAMENTE TRATADOS PARA A DETERMINAÇÃO DE METIL PARATION E
GLICOSE

CURITIBA

2018



MICHELLE COLMAN DE OLIVEIRA

SENSORES ELETROQUÍMICOS UTILIZANDO NANOTUBOS DE CARBONO
QUIMICAMENTE TRATADOS PARA A DETERMINAÇÃO DE METIL
PARATION E GLICOSE

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Química Analítica, no Curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Márcio F. Bergamini

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz H. Marcolino Júnior

CURITIBA

2018

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Oliveira, Michelle Colman de

Sensores eletroquímicos utilizando nanotubos de carbono quimicamente tratados para a determinação de metil paration e glicose. / Michelle Colman de Oliveira. – Curitiba, 2025.

1 recurso on-line : PDF.

Tese – (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Fernando Bergamini

Coorientador: Prof. Dr. Luiz H. Marcolino Júnior

1. Nanotubos de Carbono. 2. Sensores eletroquímicos. 3. Glicose. I. Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Bergamini, Márcio Fernando. IV. Marcolino Júnior, Luiz Humberto. V. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585

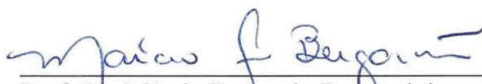
TERMO DE APROVAÇÃO

**SENSORES ELETROQUÍMICOS UTILIZANDO NANOTUBOS DE
CARBONO QUIMICAMENTE TRATADOS PARA A DETERMINAÇÃO
DE METIL PARATION E GLICOSE**

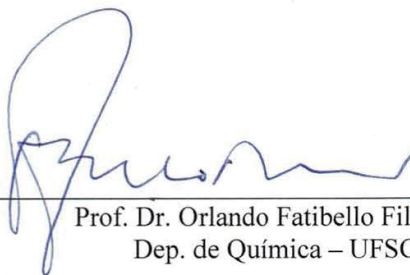
por

MICHELLE COLMAN DE OLIVEIRA

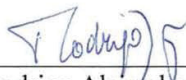
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



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



Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho
Dep. de Química – UFSCar



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



Prof. Dr. Eduardo Guilherme Cividini Neiva
Dep. de Química – FURB



Prof.ª Dr.ª Noemi Nagata
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 05 de abril de 2018.

*A minha amada mãe, Dolores Colman de Oliveira, e em memória
ao meu querido tio António Colman Sobrinho (tio Noca) dedico
esta tese.*

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço a Deus pelo dom da vida e do conhecimento.

Agradeço ao professor Márcio F. Bergamini pela orientação, pela paciência, pelos ensinamentos, pela amizade, pelo entusiasmo, pelo exemplo de como ser professor/pesquisador e por transmitir a paixão pela ciência. Agradeço também ao professor Luiz Humberto Marcolino Jr, pela co-orientação, pela amizade, pelos momentos de descontração, e apesar de eu não demonstrar tenho muito respeito pela sua pessoa. Obrigada profes de coração!

Agradeço a toda a minha família, em especial a minha mãe, Dolores, por todo apoio durante toda essa jornada acadêmica, por mesmo de longe, estar me cuidando em suas orações, por ser meu alicerce e meu porto seguro. Agradeço a minha irmã Tathy, que no meio dessa jornada me presenteou com o mais belo presente, o meu afilhado Pedro Antônio, que encheu meu coração de amor e alegria, e por compreender que mesmo distante não deixo de pensar e amar vocês. A toda minha família, meus amados primos e primas, tios e tias, que sempre torceram muito por mim. Obrigada meus amores.

Agradeço ao meu grande amigo, meu querido irmão científico, Paulo Roberto de Oliveira, que me tirou do limbo, me trouxe para a UFPR e não me deixou desistir do doutorado. Valeu mano, você mora no meu coração!

Agradeço a família que eu construí aqui em Curitiba: Ava, Pri, Salfer e Vibe, meus queridos sapatos, aprendi muito com vocês, obrigada pelo apoio, pela força, pelo amor e carinho. A ajuda de vocês foi crucial para a conclusão deste trabalho. Gratidão! Amo muito vocês.

Agradeço a Emily Y. Watanabe, minha pequena japinha, que me ajudou a desenvolver o presente trabalho. Nunca vou esquecer você me agradecendo por ser sua “mãezinha”, no ENVINCI de 2016. Obrigada pequena.

Agradeço a toda a família LabSense (os que ainda estão e os que já saíram), por tornarem os meus dias mais felizes, pela amizade, pelos momentos de descontração, pelas discussões científicas, pelos porres nos churras e nos bares da vida, e por terem feito parte de um momento muito importante da minha vida. Um grupo que vou lembrar

sempre com muito carinho e saudades. Obrigada pela acolhida quando cheguei ao grupo e pela convivência durante esses anos que passamos juntos. Obrigada galera, vocês são maravilhosos. Que o grupo continue repleto de pessoas boas e bacanas.

Agradeço aos professores Eduardo G. Cividini Neiva (Mascote), Gilberto Abate e Noemi Nagata pelas contribuições no exame de qualificação.

Agradeço aos professores Orlando Fatibello Filho e Rodrigo Munhoz, que desde o SIBEE de 2017, já haviam aceitado o meu convite para participarem da minha banca. Tenho certeza que as contribuições serão muito valiosas. Agradeço novamente ao professor Eduardo e professora Noemi que aceitaram prontamente participar da minha banca de defesa. Muito obrigada, a contribuição de todos os membros será muito importante.

Agradeço aos professores do DQ-UFPR, que contribuíram para a minha formação e agradeço em especial aos professores Patrício Peralta-Zamora e Márcio Perez de Araújo, pela amizade e descontração, a cada cigarrinho fumado.

Agradeço a todos os colegas do DQ, pelos momentos de desabafos e descontrações.

Agradeço as meninas do meu Futsal, me faz bem estar com vocês toda quinta feira, a minha alma sai mais leve a cada jogo. Obrigada meninas!

Agradeço a dona Luzia, que foi minha mãe aqui em Curitiba, e ao meu amigo Leandro da pensão, pelo apoio e boa convivência durante esses quatro anos.

Agradeço a minha psicóloga Lucia e ao meu psiquiatra Daniel, por me ajudarem a me manter centrada nesta fase final.

Agradeço a Capes pela bolsa concedida.

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para a elaboração deste trabalho.

“O período de maior ganho em conhecimento e experiência, é o período mais difícil da vida de alguém”.

Dalai Lama

RESUMO

No presente trabalho foi investigado o efeito de diferentes tratamentos químicos sobre a estrutura de nanotubos de carbono (CNT) empregando condições alcalinas (hidróxido de sódio) (CNT-TB) e ácidas/oxidante (ácido nítrico/ácido sulfúrico) (CNT-TA). Ambos os tratamentos foram realizados sob refluxo, com a finalidade de formação de grupos funcionais oxigenados. Avaliou-se o efeito destes tratamentos, quanto a aspectos estruturais, morfológicos e eletroquímicos. Os resultados obtidos por medidas de espectroscopia Raman mostraram que ambos os tratamentos promoveram a destruição parcial dos carbonos do tipo sp^2 pela oxidação química das paredes mais externas dos nanotubos. Resultados obtidos por FTIR revelaram uma maior quantidade de grupos funcionais oxigenados para os materiais submetidos aos tratamentos confirmando a efetividade dos tratamentos na formação de grupos funcionais superficiais nos CNT. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão mostraram que após reação com os agentes químicos fortes, a morfologia dos CNT sofre pequenas alterações. Os CNT ativados foram também utilizados na construção de sensores eletroquímicos para a determinação do pesticida metil paration (MP). Eletrodos de carbono vítreo modificados (CGE/CNT-TA e GCE/CNT-TB) apresentaram um efeito catalítico para a redução eletroquímica do MP. Sob condições otimizadas, foi obtida uma faixa de resposta linear para valores de concentração de $1,0 \times 10^{-7}$ a $3,4 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , com limites de detecção (LD) de $3,3 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} e $3,5 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} , para GCE/TA e GCE-TB respectivamente. Os sensores foram aplicados para a determinação de MP em amostras suco de manga enriquecidas com MP com valores de recuperação entre 80 e 111%. Os eletrodos modificados com CNT tratados também foram utilizados como suporte de incorporação de íons Ni^{2+} (para a formação da espécie $NiOOH$), para a construção de um sensor não enzimático para glicose. Nesta etapa, um eletrodo impresso de carbono foi modificado com nanotubos de carbono e íons níquel(II) (SPE/CNT-Ni) e usado como detector amperométrico no dispositivo microfluídico (μ TED). Os parâmetros de méritos analíticos adquiridos com as medidas amperométricas mostraram uma faixa linear de resposta de 0,1 a 1,0 mmol L^{-1} , com LD e LQ 0,28 μ mol L^{-1} e 0,96 μ mol L^{-1} respectivamente. O eletrodo acoplado ao sistema μ TED foi aplicado para a determinação em amostra de plasma sanguíneo enriquecida com glicose. Nos estudos de adição e recuperação, foi possível obter uma recuperação de 95, 20% do padrão de glicose adicionado. A oxidação química de CNT pode produzir nanomateriais com características de superfície distintas, que influenciam diretamente na resposta eletroquímica dos analitos avaliados, apresentando uma melhora significativa nas respostas de corrente e potencial, utilizando um método simples, rápido e fácil.

Palavras chaves: Nanotubos de Carbono; Sensores Eletroquímicos; metil paration; glicose.

ABSTRACT

The present work reports the effect of different chemical treatments on the structural integrity surface of carbon nanotubes (CNT) after alkaline (CNT-TB) and acid/oxidant treatment (CNT-TA). Chemical treatment was performed under reflux in order to create oxygenated functional groups. After that, structure, morphology and electrochemical behavior of CNT were investigated. The results obtained by measurements of Raman spectroscopy showed that both treatments promoted a partial destruction of the sp² carbons by chemical oxidation of external walls of nanotubes. Results obtained by FTIR revealed an elevated amount of oxygenated functional groups for materials submitted to treatments confirming an effective functional groups formation in CNT surface. TEM images showed that after reaction with strong chemical agents, the morphology of CNT is slightly altered. The activated CNTs were also used in the construction of electrochemical sensors for determination of methyl parathion (MP). Modified carbon glassy electrodes (CGE/CNT-TA and GCE/CNT-TB) showed a catalytic effect on electrochemical reduction of MP. Under optimized conditions, a linear dynamic range (LDR) of 1.0×10^{-7} to 3.4×10^{-5} mol L⁻¹ and limit of detection (LOD) of 3.3×10^{-8} and 3.5×10^{-8} mol L⁻¹, for GCE/CNT-TA and GCE/CNT-TB respectively. The sensors were applied for MP determination in mango juice samples spiked with MP with a recovery range of 80 to 111%. The treated CNT were also used as support for incorporation of Ni²⁺ ions (for formation of NiOOH species) in order to prepare a non-enzymatic glucose sensor. In this step a screen printed carbon electrode was modified with CNT and nickel(II) ions (SPE/CNT-Ni) and used as an amperometric detector in the microfluidic device (μ TED). Figures of merit parameters obtained with the amperometric measurements showed a linear response range of 0.1 to 1.0 mmol L⁻¹, LOD and LOQ of 0.28 μ mol L⁻¹ and 0.96 μ mol L⁻¹ respectively. The electrode coupled to the μ TED device was applied for determination in a sample of blood plasma enriched with glucose. In addition and recovery studies, it was possible to obtain a recovery of 95.2% of the added glucose standard. Chemical oxidation of CNT can produce nanomaterials with distinct surface characteristics, which directly influence the electrochemical response of evaluated analytes, presenting a significant improvement in current and potential responses, using a simple, fast and easy method.

Keywords: Carbon Nanotubes; Electrochemical Sensors; methyl parathion; glucose.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: ESTRUTURA IDEALIZADA PARA (A) SWCNT E (B) MWCNT.....	22
FIGURA 2: ROTA QUÍMICA USADA PARA ANEXAR GRUPOS COOH EM NANOTUBOS DE CARBONO.....	23
FIGURA 3: ESTRUTURA DO METIL PARATION (MP).....	26
FIGURA 4: SISTEMA μ TED E SEUS PRINCIPAIS COMPONENTES.....	33
FIGURA 5: ESQUEMA ILUSTRATIVO DO PROCEDIMENTO DE TRATAMENTO QUÍMICOS DOS CNT.....	39
FIGURA 6: ESQUEMA ILUSTRATIVO DOS PROCEDIMENTOS ELETROQUÍMICOS.....	42
FIGURA 7: ILUSTRAÇÃO DO PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO NOS ESTUDOS DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO.....	43
FIGURA 8: ETAPAS DO PROCEDIMENTO VOLTAMÉTRICO.....	44
FIGURA 9: ETAPAS DO PROCEDIMENTO VOLTAMÉTRICO COM O SPE.....	45
FIGURA 10: MONTAGEM DO SISTEMA μ TED.....	46
FIGURA 11: ESPECTROS DE FTIR DOS CNT: — CNT-TA, — CNT-TB E — CNT-P.....	49
FIGURA 12: ESPECTROS DE XPS NA REGIÃO DO CARBONO OBTIDOS PARA PARA (A) CNT-P, (B) CNT-TA E (C) CNT-TB.....	51
FIGURA 13: ESPECTROS RAMAN DOS DOS CNT: — CNT-TA, — CNT-TB E — CNT-P.....	53
FIGURA 14: IMAGENS DE MET DE CNT (A) SEM TRATAMENTO,APÓS O TRATAMENTO (B) ÁCIDO E (C) BÁSICO.....	55
FIGURA 15: Curvas de TG E DTG OBTIDOS PARA (A) CNT-TB (B) CNT-TA E (C) CNT-P.....	56
FIGURA 16: VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO NA PRESENÇA DE MP $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO pH = 5,0 COM 50 mV s^{-1} DE VELOCIDADE DE VARREDURA.....	58
FIGURA 19: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO ELETRODOS: GCE (—), GCE/CNT-P (—),GCE/CNT-TA (—) E GCE/CNT-TB (—) NA PRESENÇA DE MP $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO pH=5,0.....	59
FIGURA 18: VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL PARA DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO (—), MODIFICADO COM CNT-P (—), MODIFICADO COM CNT-TA (—) E MODIFICADO COM CNT-TB (—) NA PRESENÇA DE MP $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO pH=5.....	60
FIGURA 19: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO MP $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (A) SOBRE O ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM CNT-TA	

E (B) CORRELAÇÃO I_p E v	62
FIGURA 20: RELAÇÃO ENTRE A I_p COM O pH DO ELETRÓLITO SUPORTE COM $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP, PARA O ELETRODO MODIFICADO COM (A) CNT-TA E (B) CNT-TB. PARÂMETROS DA DPV: $A = 50 \text{ mV}$, $t = 50 \text{ ms}$ E $V = 1,5 \text{ mV s}^{-1}$, ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO (pH DE 3 A 6) E ACETATO/ ÁCIDO ACÉTICO pH=7,0.....	63
FIGURA 21: RELAÇÃO ENTRE A I_p COM O pH DO ELETRÓLITO SUPORTE COM $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP, PARA O ELETRODO MODIFICADO COM (A) CNT-TA E (B) CNT-TB. PARÂMETROS DA DPV: $A = 50 \text{ mV}$, $t = 50 \text{ ms}$ E $V = 1,5 \text{ mV s}^{-1}$, ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO (pH DE 3 A 6) E ACETATO/ ÁCIDO ACÉTICO pH=7,0.....	64
FIGURA 22: VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL NO INTERVALO DE $1,0 \times 10^{-7}$ A $3,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), $\tau = 50 \text{ ms}$; $a = 50 \text{ mV}$ E $\Delta E_S = 3 \text{ mV}$; (A) CNT-TA E (B) CNT-TB. INSERT: RESPECTIVAS CURVAS ANALÍTICA.....	66
FIGURA 23: ESTUDO DE REPETIBILIDADE DA RESPOSTA DO SENSOR (A) CNT-TA E (B) CNT-TB NA PRESENÇA DE $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP.....	69
FIGURA 24: ESTUDO DE REPRODUTIBILIDADE DA RESPOSTA DO SENSOR (A) CNT-TA E (B) CNT-TB NA PRESENÇA DE $1,0 \times 10^{-5} \text{ Mol L}^{-1}$ DE MP.....	69
FIGURA 25: VARIAÇÃO PERCENTUAL DAS CORRENTES DE PICO DE MP NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE CONCOMITANTES.....	70
FIGURA 26: AMOSTRAS DE SUCOS DE MANGA EMPREGADAS NOS ENSAIOS DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO.....	71
FIGURA 27: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO GCE MODIFICADO COM CNT-NI EM KOH $0,01 \text{ MOL L}^{-1}$, COM 25 mV s^{-1} DE VELOCIDADE DE VARREDURA. INSERT: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO GCE SEM MODIFICAÇÃO COM CNT.....	74
FIGURA 28: IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DOS CNT (A) NA AUSÊNCIA E (B) NA PRESENÇA DE NÍQUEL.....	76
FIGURA 29: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS REFERENTE A ETAPA 2 DO PROCEDIMENTO VOLTAMTRICO PARA OS ELETRODOS MODIFICADOS COM OS DIFERENTES CNT.....	77
FIGURA 30: ESTABILIDADE DO SINAL OBTIDO PARA O CNT-TA APÓS 200 CICLOS CONSECUTIVOS, EM KOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ A 25 mVs^{-1}	78
FIGURA 31: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS (A) APÓS AS TRES ETAPAS DO PROCEDIMENTO VOLTAMETRICO COM INCORPORAÇÃO E LIMPEZA.....	79

FIGURA 32: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS APÓS REPETIÇÃO DE CINCO VEZES DO PROCEDIMENTO VOLTAMETRICO COM INCORPORAÇÃO E LIMPEZA.....	80
FIGURA 33: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO ELETRODO CNT-TA-Ni EM MEIO DE KOH 0,1 mol L ⁻¹ NA AUSÊNCIA (—) E NA PRESENÇA (—) DE 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ DE GLICOSE.....	81
FIGURA 34: ESQUEMA ILUSTRATIVO DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NA OXIDAÇÃO DA GLICOSE.....	82
FIGURA 35: RELAÇÃO ENTRE O VOLUME DE SOLUÇÃO QUE FLUI ATRAVÉS DO μ TED E TEMPO. AS BARRAS DE ERRO REPRESENTAM O $\pm$ SD DE TRÊS DISPOSITIVOS AVALIADOS.....	83
FIGURA 36: ESTUDO DE POTENCIAL APLICADO NO SPE/CNT-Ni PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE 1,0 X 10 ⁻³ mol L ⁻¹	84
FIGURA 37: EFEITO DO VOLUME DE INJEÇÃO DA AMOSTRA, NA RESPOSTA DE OXIDAÇÃO DA GLICOSE.....	85
FIGURA 38: (A) SINAIS TRANSIENTES E (B) CORRENTE RELATIVA OBTIDOS PELO μ TED A PARTIR DE INJEÇÕES DE 1,5 μ L DE GLICOSE 1,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ . E= 0,45 V).....	86
FIGURA 39: (A) SINAIS TRANSIENTES OBTIDOS A PARTIR DE INJEÇÕES CONTENDO CONCENTRAÇÕES CONHECIDAS DE GLICOSE E (B) CURVA DE CALIBRAÇÃO CORRESPONDENTE. CADA PONTO É O VALOR MÉDIO DAS 6 INJEÇÕES PARA CADA CONCENTRAÇÃO. SOLUÇÃO TRANSPORTADORA: KOH 0,10 mol L ⁻¹ . POTENCIAL APLICADO DE 0,45 V.....	87
FIGURA 40: ESTUDOS DE ESPÉCIES CONCOMITANTES (A) SINAIS TRANSIENTES OBTIDOS E (B) CORRENTE RELATIVA OBTIDA.....	89
FIGURA 41: (A) SINAIS TRANSIENTES OBTIDOS A PARTIR DE INJEÇÕES CONTENDO CONCENTRAÇÕES CONHECIDAS DE GLICOSE.....	90
FIGURA 42: CURVA DE ANALÍTICA CORRESPONDENTE. CADA PONTO É O VALOR MÉDIO DAS 6 INJEÇÕES PARA CADA CONCENTRAÇÃO. SOLUÇÃO TRANSPORTADORA: KOH 0,10 MOL L ⁻¹ , POTENCIAL APLICADO DE 0,45 V.....	91

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: REAGENTES UTILIZADOS PARA O DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL.....	38
TABELA 2: ATRIBUIÇÕES DOS ESTIRAMENTOS E DEFORMAÇÕES, ENCONTRADOS ATRAVÉS DE MEDIDAS DE FTIR.....	49
TABELA 3: ATRIBUIÇÕES DAS LIGAÇÕES OBTIDAS PELA DECONVOLUÇÃO DOS ESPECTROS DE XPS.....	52
TABELA 4: ATRIBUIÇÕES DOS ESTIRAMENTOS E DEFORMAÇÕES, ENCONTRADOS ATRAVÉS DE MEDIDAS DE RAMAN.....	54
TABELA 5: VALORES DE POTENCIAL E CORRENTE OBTIDOS PARA OS DIFERENTES ELETRODOS.....	61
TABELA 6: RESUMO DOS ESTUDOS DA METODOLOGIA E DA TÉCNICA DE DPV PARA OS ELETRODOS MODIFICADOS COM CNT.....	65
TABELA 7: FIGURAS DE MÉRITO OBTIDAS PARA O MÉTODO PROPOSTO PARA DETERMINAÇÃO DE MP.....	67
TABELA 8: CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS MÉTODOS ELETROQUÍMICOS PARA A DETERMINAÇÃO COM MP COM CNT.....	68
TABELA 9: ESTUDOS DE RECUPERAÇÃO DE MP EM AMOSTRAS DE SUCO DE MANGA.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Ácido ascórbico

ABS: Acronitrilo butadieno estireno

AC: Ácido cítrico

Add: adicionada

C/p-NiTSPc: Ftalocianina tetrasulfanada de Ni

CFME: Microeletrodo de fibra de carbono

CME: Centro de Microscopia Eletrônica

CNT: Nanotubos de Carbono

CNT-P: Nanotubos de carbono *Pristine* (sem tratamento)

CNT-TA: Nanotubos de carbono com tratamento ácido

CNT-TB: Nanotubos de carbono com tratamento básico

DPV: Voltametria de pulso diferencial

E:Potencial

ECS: Eletrodo de calomelano

EI: Eletrodo Impresso

Ep: Potencial de pico

EPC: Eletrodo de pasta de carbono

EQMs: Eletrodos quimicamente modificados

FTIR: Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier

GCE: Eletrodo de carbono vítreo

Glu: Glicose

GOx: Glicose oxidase

I: corrente

Ip: Corrente de pico

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

LD: Limite de detecção

LMR: o limite máximo de resíduos

LQ: Limite de quantificação

MET: Microscopia eletrônica de transmissão

MP: Metil paration

MR: Mediador redox

MWCNT: Multi wall carbon nanotubes

PAAM: poliacrilamida

PTB: Azul de toluidina

RSD: desvios-padrão relativos

S_b: estimativa desvio padrão

SPEs: eletrodos impressos por tela.

SWCNT: Single wall carbon nanotubes

USEPA: Agência de Proteção Ambiental dos EUA

XPS: Espectroscopia de fotoelétrons de raios X

μPADs: Dispositivos microfluídicos baseados em papel

μTED: Micro Thread Electroanalytical Device

SUMÁRIO

1	Introdução	18
1.1	Sensores Eletroquímicos.....	19
1.1.1	Modificação de Eletrodos.....	20
1.2	Nanotubos de Carbono.....	22
1.3	Analitos investigados	26
1.3.1	Metil Paration.....	26
1.3.2	Glicose	29
1.4	Sistemas Microfluídicos	32
2	OBJETIVOS.....	36
2.1	OBJETIVO GERAL	36
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	36
3	METODOLOGIA	38
3.1	Reagentes.....	38
3.2	Etapa 1: Tratamentos químicos dos Nanotubos de Carbono.....	39
3.2.1	Caracterização dos CNT.....	39
3.3	Etapa 2: Construção e avaliação sensores eletroquímicos empregando nanotubos de carbono quimicamente tratados para a determinação de metil paration.	41
3.3.1	Construção dos Eletrodos.....	41
3.3.2	Determinação de metil paration em amostras de suco de manga	42
3.4	Etapa 3: Construção de um sensor não-enzimático para determinação amperométrica de glicose empregando um eletrodo impresso (EI) modificado com CNT e íons Ni^{2+} em um sistema microfluídico.....	43
3.4.1	Caracterização Voltamétrica	43
3.4.2	Construção, montagem e avaliação vazão do microdispositivo (μ TED)s.....	45
3.4.3	Avaliação do potencial aplicado	46
3.4.4	Determinação de glicose em plasma sanguíneo.....	47
4	Resultados e discussões	48
4.1	Etapa 1: Funcionalização e caracterização dos CNT.....	48
4.2	Caracterizações espectroscópicas dos CNTs.....	48
4.2.2	Caracterizações morfológicas dos CNTs.....	54
4.2.3	Análise Termogravimétrica	55
4.3	Etapa 2: Construção e avaliação de um sensor eletroquímico empregando nanotubos de carbono quimicamente tratados para a determinação de metil paration.	57

4.3.1 Caracterização Eletroquímica do metil paration.	57
4.3.2 Influência das condições experimentais na resposta voltamétrica do sensor	61
4.3.3 Otimização dos parâmetros da Voltametria de Pulso Diferencial	64
4.3.4 Avaliação da potencialidade analítica do sensor proposto	65
4.3.5 Aplicação do Método	70
4.4 Etapa 3: Desenvolvimento de um sensor não-enzimático para determinação amperométrica de glicose empregando um eletrodo impresso (EI) modificado com CNT e íons Ni^{2+} em um sistema microfluídico.....	73
4.4.1 Comportamento Voltamétrico dos eletrodos modificados com CNT e íons Ni^{2+} ..	74
4.4.2 Avaliação da capacidade dos CNTs para incorporação de íons Ni^{2+}	76
4.4.3 Desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos utilizando □TED com eletrodos de carbono impressos modificados com CNT-TA- Ni^{2+}	82
4.4.4 Desempenho analítico do dispositivo.	87
5 Conclusão.....	92
6 Referências Bibliográficas	93

1 INTRODUÇÃO

Química Analítica é um dos ramos da Química que permite a combinação de diferentes áreas para o desenvolvimento metodologias de baixo custo que são aplicáveis para os mais diversos fins, como a interpretação de um mecanismo de uma reação eletroquímica, a identificação e quantificação de espécies de interesse, e na detecção de algumas doenças, entre outros. Para cada finalidade, a utilização de técnicas eletroanalíticas, associadas à química de nanomateriais, nos permitem construir dispositivos com alta sensibilidade e elevada seletividade. Dentro deste contexto, nanomateriais carbonáceos, são amplamente empregados na construção de tais dispositivos com grande sucesso.

Dos diversos nanomateriais carbonáceos os nanotubos de carbonos (CNT), descobertos há quase três décadas, são largamente explorados devido a sua versatilidade em atuar de diferentes formas. Entre as vantagens associadas à estrutura nanométrica está o enorme ganho de propriedades mecânicas, elétricas, térmicas, óticas, estruturais e da reatividade química quando os CNT estão combinados com outros materiais. Os CNT são capazes de melhorar as propriedades de outras substâncias, bem como criar propriedades diferentes, tais como a alta estabilidade química e condutividade. Muitos dispositivos eletroquímicos têm sido construídos, com as mais variadas configurações, para a determinação de fármacos, pesticidas, hormônios, metais, entre outros, nas mais diversificadas matrizes.

A busca pela miniaturização de sistemas de análises bem como a construção de dispositivos com matérias-primas de fácil acesso tem impulsionado o desenvolvimento de dispositivos analíticos microfluídicos de baixo custo. Aliada a isso, a utilização de sensores eletroquímicos descartáveis, como os eletrodos impressos por tela (SPEs), tem sido amplamente explorada, pois podem ser dispostos como um arranjo de eletrodos, e tem compatibilidade com microsistemas, uma vez que em um único eletrodo, está disposta a configuração completa de uma célula eletroquímica com os três eletrodos.

A presente tese de doutorado explora a construção de sensores eletroquímicos baseados em Nanotubos de Carbono para a determinação de metil paration e determinação não enzimática de glicose, em um sistema microfluídico.

1.1 Sensores Eletroquímicos

Um sensor funciona como um dispositivo capaz de fornecer informações sobre a espécie de interesse, através da medida de alguma propriedade física ou química causada pela presença dessa espécie. Sensores eletroquímicos, de acordo com a IUPAC, são um tipo específico de sensor químico que transformam a interação entre o analito e um sítio de reconhecimento presente na superfície de um eletrodo em um sinal eletroquímico analiticamente útil [1, 2]. Eles são regidos pelos princípios gerais da eletroanalítica, podendo divididos em três classes: sensores amperométricos/voltamétricos, que medem a corrente elétrica; sensores potenciométricos, que medem um potencial elétrico e sensores condutométricos, que se baseiam na medida de condutividade ou resistividade [3, 4].

Atualmente, os mais empregados são os amperométricos, que utilizam aplicação de um potencial controlado para causar oxidação ou redução de espécies eletroativas o que gera uma corrente mensurável. De maneira geral, estes dispositivos possuem características peculiares que os distinguem de métodos instrumentais de largo porte, como a portabilidade, facilidade de automação, possibilidade de miniaturização e baixo custo [1, 2]. Os sensores amperométricos funcionam por aplicação de uma diferença de potencial entre um eletrodo de trabalho e um eletrodo de referência, o que proporciona a oxidação ou redução da espécie eletroativa sobre o eletrodo de trabalho e possibilita a medida da corrente resultante, a qual é proporcional à concentração do analito. Desta forma, torna-se possível quantificar a espécie de interesse [3, 4].

Estes sensores ainda podem ser utilizados como eletrodos não modificados tendo a sua seletividade discriminada pela aplicação de um potencial adequado para promover a oxidação ou redução apenas do analito. Além disso, podem ser construídos empregando uma camada de uma espécie química sobre a superfície do eletrodo, que interage seletivamente com o analito e isola a resposta de sua vizinhança imediata, promovendo uma conversão de um sinal de corrente detectável, em função da aplicação de um potencial. A aplicação do potencial pode ser constante durante a medida, no caso do sensor amperométrico; ou ser realizada empregando-se uma varredura de potencial, no caso do sensor voltamétrico. A voltametria pode ser definida como um conjunto de técnicas que fornecem informações sobre espécies presentes em solução ou na superfície do eletrodo em termos de corrente em função do potencial aplicado. Essa

técnica é dividida em diversas modalidades de acordo com a forma que o potencial é aplicado em função do tempo [1-4].

Em muitos casos, é possível realizar uma etapa de pré-concentração do analito sobre a superfície do eletrodo, antes da variação do potencial, e assim aumentar significativamente a resposta do sistema para a espécie de interesse, o que reflete em melhora no limite de detecção do método. Resultados muito mais promissores são relatados quando a etapa de pré-concentração é realizada empregando eletrodos quimicamente modificados.

1.1.1 Modificação de Eletrodos

O termo eletrodo é utilizado indistintamente para denominar o material que compõe o condutor eletrônico. Quando se aplica uma diferença de potencial em um eletrodo através de uma fonte externa, duas situações podem ocorrer: a carga acumula-se na interface eletrodo/solução ou escoar através da interface e ser transferida a uma espécie na superfície do eletrodo [5]. Os eletrodos convencionais mais utilizados são os eletrodos metálicos (Ag, Au, Pt), eletrodos de carbono vítreo e mais recente, o uso de eletrodos impressos a base de tinta de carbono. Entretanto, tais eletrodos tem sua utilização limitada devido ao bloqueio gradual da superfície, por adsorção dos produtos gerados e ainda pela dificuldade de discriminar processos semelhantes. Para contornar essas limitações o emprego de eletrodos quimicamente modificados tem se destacado dentro da Química Analítica. O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi introduzido por Moses e colaboradores [6] em 1975, referindo-se a eletrodos que continham espécies quimicamente ativas, imobilizadas em suas superfícies, visando pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. Tal modificação na superfície do eletrodo é uma forma de impor e controlar sua reatividade e/ou seletividade, o que possibilita o desenvolvimento de eletrodos para vários propósitos e aplicações.

Os Eletrodos Quimicamente Modificados (EQMs) são constituídos por duas partes: o eletrodo base, o qual irá sofrer a modificação e o modificador, este último, se trata de uma espécie química que será incorporada ao eletrodo base. O material eletródico base deve apresentar características eletroquímicas favoráveis, tal como, ser

de fácil modificação. As formas de modificação mais usuais são: ligação covalente, formação de um material compósito, formação de filmes poliméricos e adsorção [7].

A modificação por ligação covalente consiste em ligar covalentemente o modificador por meio de reações de efetivas entre o eletrodo base e a espécie a ser incorporada. Esta metodologia tem como vantagem, a formar de fortes ligações entre o eletrodo e o modificador, evitando que ocorra a lixiviação do mesmo, contudo o tempo que demanda para que modificação aconteça é relativamente demorado.

O recobrimento com membranas poliméricas consiste na deposição de um filme polimérico sobre a superfície eletródica. O filme polimérico pode ser formado pela adição de uma solução na qual o polímero está presente, como consequente evaporação do solvente, e ainda baseado na eletropolimerização do monômero. Este método possibilita a formação de várias camadas sobre o eletrodo, o que pode acarretar na intensificação do sinal eletroquímico.

A formação de materiais compósitos consiste na mistura do modificador, uma fase condutora e uma fase aglutinante, com um contato metálico. Essa metodologia permite a modificação interna do material e não apenas uma monocamada superficial, diferente do que ocorre com os eletrodos sólidos convencionais. O eletrodo compósito mais difundido na literatura é o de pasta de carbono (EPC).

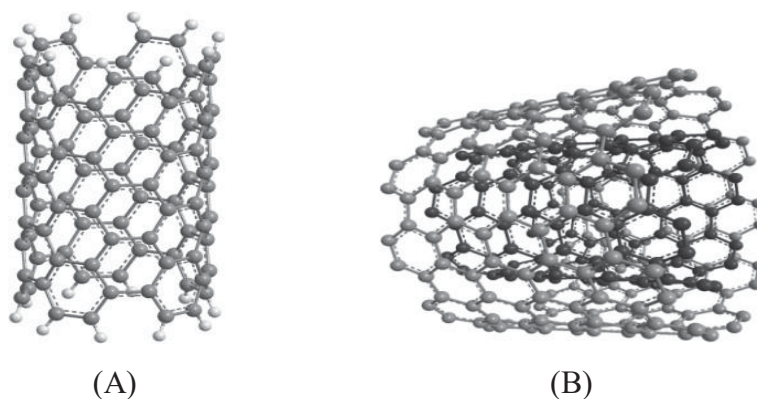
Adsorção, ou mais apropriadamente quimisorção, foi o processo pioneiro e é a maneira mais simples de fixar um modificador ao substrato do eletrodo base. Consiste na dissolução do agente modificador em um solvente apropriado, e na exposição, em geral por imersão, do eletrodo a esta solução. Pode também envolver a disposição desta solução, por exemplo, com o auxílio de uma micropipeta, sobre a superfície a ser modificada, com posterior evaporação do solvente. Embora os primeiros estudos envolvendo adsorção, desenvolvidos por Lane e Hubbard [8] tenham utilizado eletrodos de platina, a maioria dos trabalhos subsequentes com adsorção, foram realizados com eletrodos de grafite e carbono vítreo. Eletrodos de carbono apresentam uma particular capacidade de quimisorver reagentes que possuam sistemas de elétrons π estendidos, como por exemplo, compostos orgânicos aromáticos [9].

1.2 Nanotubos de Carbono

A utilização de materiais carbonáceos nanoestruturados é um tópico constantemente explorado na química analítica. Dentre estes materiais, os nanotubos de carbono (CNTs) têm atraído muita atenção, pois, apresentam propriedades estruturais, mecânicas e elétricas muito interessantes que possibilitam muitas aplicações, especialmente no desenvolvimento de (bio)sensores [10, 11]. A descoberta dos CNTs ocorreu em 1991 [12], por Sumio Iijima, que observou a formação de fulerenos alongados com diâmetro mínimo de aproximadamente 0,7 nm e vários micrômetros de comprimento, que mais tarde vieram a ser chamados de nanotubos de carbono.

Os CNTs são formados por folhas de grafeno enroladas na forma de cilindros, com hibridização dos átomos de carbono sp^2 , dispostas em fortes ligações covalentes [13]. Existem duas estruturas mais importantes, nanotubos de carbono de parede única (SWCNT, do inglês: *single wall carbon nanotubes*) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT, do inglês: *multi wall carbon nanotubes*). Os SWCNT são formados a partir de uma única folha de grafeno enrolada, já os MWCNT são formados por várias folhas concêntricas, sendo ambos ilustrados na FIGURA 1 (A) e (B), respectivamente.

FIGURA 1: ESTRUTURA IDEALIZADA PARA (A) SWCNT E (B) MWCNT



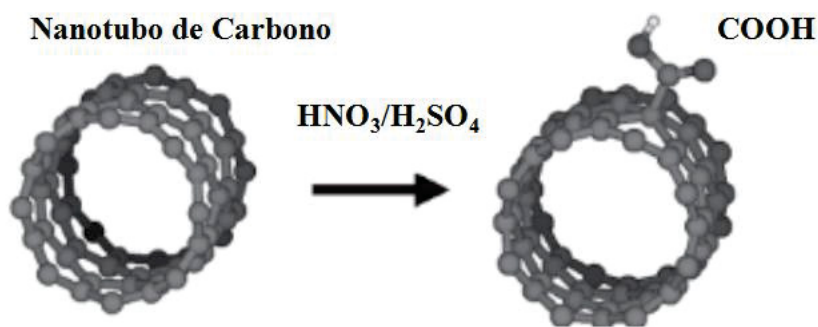
FONTE: O autor (2018).

A construção de um tubo de carbono com átomos hibridizados na forma sp^2 é possível a partir do enrolamento de uma camada de grafeno. Dentre as formas de síntese de CNT existentes, destacam-se os métodos de descarga por arco, ablação por laser e deposição química de vapor. Os dois primeiros métodos consistem na condensação de

átomos de carbono, gerados através da sublimação de eletrodos de grafite com alta pureza, exigindo temperaturas elevadas. O terceiro método consiste na decomposição de gases precursores como o metano (CH_4), sobre a superfície do catalisador metálico [14]. Todos estes métodos produzem carbono amorfo e impurezas oriundas dos catalisadores, sendo necessário um processo de purificação.

Apesar das muitas propriedades desejáveis, a hidrofobicidade e a inércia química dos CNTs, frequentemente dificultam sua utilização comercial. Para contornar estas limitações, a superfície dos CNTs pode ser adaptada, por meio de tratamentos químicos para criar grupos funcionais na superfície dos CNTs, resultando em CNTs funcionalizados [15]. Atualmente, existem trabalhos sobre a funcionalização com átomos ou moléculas, através de substituições nas paredes do tubo, deformações estruturais ou inserção de grupos químicos, como o carboxílico, por exemplo. A funcionalização pode ser não-covalente (sistemas que interagem fracamente com os nanotubos) e covalente (sistemas que interagem fortemente com os nanotubos de carbono e geram modificações drásticas nas suas propriedades) [14, 16, 17]. A FIGURA 2 ilustra a inserção de grupos carboxílicos em CNTs.

FIGURA 2: ROTA QUÍMICA USADA PARA ANEXAR GRUPOS COOH EM NANOTUBOS DE CARBONO.



FONTE: O autor (2018).

O princípio da funcionalização covalente ocorre pela oxidação das paredes mais externas dos CNTs com a inserção de grupos funcionais por algum reagente, tal como ácido nítrico, ácido sulfúrico, peróxido de hidrogênio ou permanganato de potássio. A compreensão da distribuição de grupos funcionais produzidos pelo processo de oxidação é muito importante para as aplicações, bem como, a variedade de grupos

funcionais formados, sendo os grupos mais comuns carboxílicos (-COOH), carbonilas (-CO), e grupos hidroxila (-OH) [18-20].

Moraes e colaboradores [21] avaliaram cinco diferentes tratamentos químicos (HNO_3 , H_2SO_4 , H_2O_2 , $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ e $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$) em MWCNT preenchidos com ferro ou óxido de ferro com o intuito de avaliar o efeito destes tratamentos na homogeneidade, superfície, estrutura e dispersabilidade em água dos nanotubos. Os resultados mostraram que os tratamentos são efetivos na remoção de espécies carbonáceas diferentes de nanotubos, presentes na amostra. Além de aumentar a homogeneidade das amostras, os tratamentos também criam grupos carboxílicos e hidroxílicos superficiais, que afetam diretamente a dispersabilidade destas espécies em água. Dispersões estáveis de $2,24 \times 10^{-1} \text{ g L}^{-1}$ de nanotubos em água foram obtidas após o tratamento com mistura de ácido sulfúrico e ácido nítrico.

O tratamento químico em meios alcalinos consiste em reações sólido-sólido ou sólido-líquido, com oxidação do carbono, gerando defeitos e modificando a superfície pela adição de múltiplos grupos hidroxila. Estes grupos funcionais gerados nas paredes externas dos CNTs podem ser utilizados para ligar moléculas pequenas ou moléculas bioquimicamente ativas, ou para enrolar cadeias de polímeros na parede lateral dos CNTs [20].

David e colaboradores [22] desenvolveram biossensores utilizando grafeno (G), e nanotubos de carbono (CNT) funcionalizados em meios ácidos (HNO_3) ou básicos (KOH). Os biossensores foram construídos com quatro arquiteturas diferentes em substratos de Au, a partir da técnica layer by layer (LbL): as quatro formas de CN funcionalizado, juntamente com glicose oxidase (GOx), como enzima modelo para formar os biossensores $\text{Au}/\{\text{chit} + (\text{CN} + \text{GOx})/\text{PSS}^-\}_n$ para a determinação de glicose. Os melhores resultados, em termos de sensibilidade foram obtidos com os biossensores de glicose construídos com os CN funcionalizados na seguinte ordem $\text{HNO}_3\text{-CNT}$, $\text{KOH-G} > \text{KOH-CNT} > \text{HNO}_3\text{-G}$. De acordo com os resultados obtidos os autores concluíram funcionalização com ácido funciona melhor do que o tratamento básico para os nanotubos de carbono. O tratamento básico não confere tanta hidrofília ao material, devido à formação de aglomerados. Entretanto para o grafeno, o tratamento básico se apresentou os melhores resultados indicando este é o mais adequado.

Goulart e colaboradores [23] investigaram a influência de diferentes tratamentos químicos em MWCNT na determinação de bisfenol A. Os tratamentos realizados foram com HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e também com uma mistura de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (3:1). Imagens obtidas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo revelaram que o tratamento com ácido nítrico promove uma diminuição de 30% no diâmetro dos CNT em comparação aos CNT não tratados. Além disso, observou-se neste tratamento que as extremidades do CNT foram completamente desbloqueadas.

Resultado similar foi obtido para os CNTs tratados com a mistura sulfonítrica, entretanto, este último tratamento promoveu as maiores alterações nos CNTs. Para a determinação de bisfenol A, os resultados mais significativos foram obtidos com funcionalização com sulfonítrica, apresentando uma sensibilidade três vezes maior que para os CNTs tratados somente com HNO_3 , e um limite de detecção de $84,0 \text{ nmol L}^{-1}$. Tal melhora pode estar relacionada com o aumento da eficácia na modificação da morfologia dos CNTs pela incorporação de grupos funcionais e a maior perturbação dos planos de borda, em comparação à funcionalização em solução de HNO_3 . Os autores ainda enfatizam que é necessário especificar claramente o tipo de tratamento que foi realizado para funcionalizar os CNTs quando se usa este material como um sensor eletroquímico.

Trabalhos apresentados na literatura mostram que CNTs possuem elevado potencial no desenvolvimento de sensores eletroquímicos para determinação de poluentes emergentes, como os pesticidas organofosforados [24-28]. Dong e colaboradores [29] sintetizaram um novo nanocomposito misto de nanotubo de carbono de paredes múltiplas com $\text{CeO}_2\text{-Au}$ (MWCNTs- $\text{CeO}_2\text{-Au}$). O sensor proposto se mostrou eficiente na determinação voltamétrica de Metil Paration (MP). O nanocomposito MWCNTs- $\text{CeO}_2\text{-Au}$ combinou as propriedades individuais dos MWCNTs (alta condutividade e afinidade de adsorção excepcional) com as nanopartículas (área superficial elevada e pronunciada atividade catalítica). Além de tais propriedades, a utilização da técnica de redissolução adsortiva acarretou na obtenção de um limite de detecção de $3,02 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ para MP, com alta sensibilidade. O sensor foi empregado com sucesso para a determinação de MP em amostras de água e solo.

Os CNTs destacam-se também na determinação de moléculas de interesse biológico como a glicose (Glu), e podem ser utilizados tanto desenvolvimento de

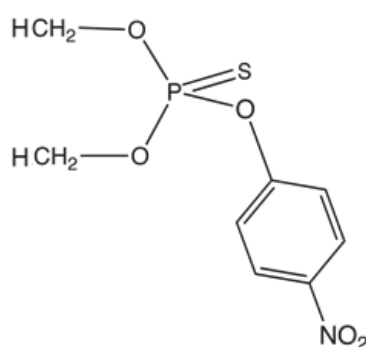
biossensores, como também em sensores não enzimáticos. A glicose é o analito alvo mais comumente utilizado, uma vez que sua determinação é de interesse contínuo devido ao seu significativo índice em diagnósticos clínicos. Neste sentido, Sheng [30] e colaboradores desenvolveram um sensor não enzimático para determinação de glicose, baseado em níquel combinado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT-Ni). O sensor foi aplicado na determinação da glicose em amostras de plasma humano. De acordo com os resultados, o sensor produzido apresentou recuperações na faixa de 98,5-103,6%, indicando que os filmes nano-híbridos de MWCNT-Ni, possuem grande potencial para análise de amostras reais.

1.3 Analitos investigados

1.3.1 Metil Paration

O metil paration (FIGURA 3) é comercialmente conhecido no Brasil como Folidol 600® (Bayer) e Folisuper 600 BR® (Agripec), é um inseticida e acaricida da classe dos organofosforados e é classificado pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) como pesticida de uso restrito, sendo pertencente à classe toxicológica I [31], dos compostos extremamente tóxicos, podendo ser utilizado somente por manipulador autorizado. O MP é utilizado para o controle de uma variedade de insetos em várias culturas, tais como algodão, milho, soja, cana-de-açúcar e frutas (laranja, limão e manga).

FIGURA 3: ESTRUTURA DO METIL PARATION (MP)



FONTE: O autor (2018).

O uso indiscriminado desse produto é resultado do desconhecimento dos riscos associados à sua utilização, bem como do recorrente desrespeito às normas básicas de segurança, sendo estes dois fatores os principais geradores do agravamento dos quadros

de contaminação humana e ambiental por essa substância. Durante e após a sua aplicação na agricultura, o MP pode ser transportado pelo vento ou pela água para o meio ambiente bioativo [32]. A sua toxicidade depende da inibição da atividade das enzimas que controlam as funções do sistema nervoso, principalmente a acetilcolinesterase, resultando na acumulação de acetilcolina nas terminações nervosas, interrompendo a transmissão neural normal, o que leva a paralisia dos músculos e das principais vias respiratórias [33]. Sendo assim, o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e simples para a determinação de pesticidas como o MP se faz necessário.

Diversas técnicas analíticas, incluindo a eletroforese capilar [34], cromatografia gasosa ou líquida [35, 36] e eletroquímicas [25, 33], têm sido aplicadas para o desenvolvimento de métodos eficazes para análise de amostras contendo resíduos de MP. As técnicas cromatográficas são as mais empregadas, uma vez que operam com elevada sensibilidade, precisão e seletividade. Em contrapartida, etapas de pré-tratamento da amostra, empregando solventes orgânicos tóxicos, estão quase sempre presentes na rotina analítica, implicando em maior tempo de processamento e análise da amostra, além de insumos com custo elevados, inerentes da técnica cromatográfica empregada [37].

As técnicas eletroquímicas apresentam vantagens que tornam sua utilização bastante atrativa para tal finalidade, como alta sensibilidade, boa seletividade, instrumentação de baixo custo e tempo de análises mais rápidas.

Um método eletroquímico foi desenvolvido por Zeng e colaboradores [38] por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV), para determinar MP. Os autores utilizaram em eletrodo de carbono vítreo modificado com um nanocompósito composto por nanotubos de carbono de paredes múltiplas e o polímero poliacrilamida (MWCNTs-PAAM/GCE). Os resultados experimentais demonstraram que o MWCNTs-PAAM /GCE exibiu elevada adsorção e forte afinidade para com o MP, em comparação com alguns íons metálicos e compostos nitroaromáticos, que existem em amostras ambientais. Uma curva de calibração linear para MP foi obtida no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $2,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. O método desenvolvido demonstrou ser uma ferramenta de detecção adequada para a determinação rápida, sensível e seletiva de MP em amostras de água ambiental.

Nanopartículas de ouro (Au-NPs) foram utilizadas para decorar MWCNT, por Ma e colaboradores [28], visando desenvolver um sensor eletroquímico para determinação MP. Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial foram empregadas para avaliar e adequar o eletrodo para a determinação de MP. Sob as melhores condições, a resposta do eletrodo para MP foi linear no intervalo de concentração de MP de $2,0 \times 10^{-6}$ a $6,1 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $1,9 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, com sensibilidade 4,5 vezes melhor do que o eletrodo contendo somente os MWCNTs. Outro método que apresenta uma abordagem simples, rápida, eficaz e sensível para a determinação de MP.

Chen e colaboradores [39] relataram a fabricação de um biossensor para detecção sensível e específica de metil paration a partir de nanocompósitos preparados com nanopartículas de ouro sobre partículas de sílica, misturadas com nanotubos de carbono de múltiplas paredes e imobilização covalente subsequente de hidratase de metil paration para. Um efeito sinérgico significativo dos nanocompósitos no desempenho do biossensor foi observado na determinação de metil paration. As respostas obtidas por medidas de voltametria de onda quadrada, apresentaram picos bem definidos, linearmente proporcionais às concentrações de metil paration na faixa de $0,001 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ com um limite de detecção de $0,3 \text{ ng mL}^{-1}$. A aplicação deste biossensor na análise de amostras de alho também foi avaliada. O protocolo proposto pode ser usado como uma plataforma para a construção simples e rápida de biossensores com bom desempenho para a determinação de espécies eletroativas específicas de enzimas.

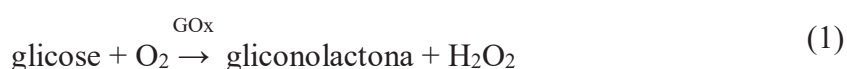
Du e colaboradores [40] utilizaram nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) como um novo sorvente para a extração em fase sólida (SPE) de pesticidas organofosforados (OP). A determinação de metil paration como modelo incluiu duas etapas principais: (A) adsorção de MP e (B) detecção de remoção eletroquímica do MP adsorvido. A SPE de MP foi monitorada por análise voltamétrica de onda quadrada (SWV), que resultou em um método eletroquímico rápido, sensível e seletivo para a determinação de pesticidas OP. Devido à forte afinidade do MWCNT pelo grupo fosfórico, os compostos OP nitroaromáticos podem se ligar fortemente à superfície do MWCNT. A microporosidade e heterogeneidade dos MWCNTs permitem extrair uma grande quantidade de MP em menos de 5 min. A resposta de remoção foi altamente linear em relação a concentração de MP estudada ($0,05$ - $2,0 \mu\text{g mL}^{-1}$), com um limite de

detecção de $0,005 \mu\text{g mL}^{-1}$. A determinação de MP em amostras de alho mostrou uma precisão aceitável. A capacidade de extração rápida do MWCNT, o torna um sorvente promissor para várias extrações em fase sólida.

1.3.2 Glicose

A glicose, um monossacarídeo, é um dos carboidratos mais importantes quando se trata de moléculas de interesse biológico, pois é uma das principais fontes de energia, está presente no organismo humano e alterações de seus níveis de concentração podem acarretar doenças, como a diabetes. Assim, o monitoramento é indispensável para o controle no corpo humano [41] e nesse sentido, a comunidade científica vem desenvolvendo ferramentas para monitorar os níveis de glicose no sangue, especialmente para diagnóstico eficientes visando a gestão do diabetes [42].

Os dispositivos mais bem-sucedidos para o monitoramento da glicose são os biossensores baseados em enzimas [43]. Clark e Lyons desenvolveram os primeiros biossensores para glicose em 1962 [44]. Sob a catálise da glicose oxidase (GOx), a glicose é oxidada para gliconolactona, liberando peróxido de hidrogênio pelo consumo de oxigênio. Dois elétrons e prótons são transferidos durante esta conversão, sendo o processo de reação expresso por:



Nos biossensores de glicose de primeira geração, o oxigênio é o receptor de elétrons durante a oxidação da glicose. A concentração de glicose é medida baseada no monitoramento do consumo de oxigênio ou produção de H_2O_2 . Entretanto, a utilização de oxigênio como receptor de elétrons está sujeito a limitações, pois a presença de oxigênio dissolvido na amostra pode apresentar variações na concentração real. Em biossensores de glicose de segunda geração, o oxigênio é substituído por receptores artificiais de elétrons, que são utilizados como mediadores redox, e podem estar de duas maneiras no sistema: livres em solução ou imobilizados em conjunto com a enzima. Os biossensores de glicose de terceira geração são baseados na transferência de elétrons entre a superfície do eletrodo e a enzima (GOx) imobilizada, catalisando a reação [42].

Contudo, as três gerações de biossensores apresentavam limitações a serem contornadas, como procedimentos de imobilização enzimática complexos, baixa estabilidade e dependência da resposta às condições operacionais incluindo o pH, força iônica e a temperatura [45]. A fim de contornar essas limitações, sensores eletroquímicos não enzimáticos foram desenvolvidos. Em geral, esses dispositivos utilizam um mediador redox (MR), que atua diretamente na oxidação da glicose [46].

Óxidos de metais de transição são frequentemente utilizados como catalisadores para a determinação de glicose. Kang e colaboradores [47] demonstraram o uso de nanofios de óxido de cobalto (Co_3O_4) como modificador de eletrodo de carbono vítreo para a determinação de glicose em meio básico, devido à alta atividade catalítica do (Co_3O_4). A determinação foi realizada por amperometria, aplicando-se um potencial de 0,60 V (vs Ag/AgCl) atingindo-se um limite de detecção de $5 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Salazar e colaboradores [48] desenvolveram um novo eletrodo nanoestruturado de Cu. Os filmes finos nanocolumnares e porosos foram preparadas por deposição física de vapor (PVD) em uma configuração angular oblíqua e caracterizadas por diferentes técnicas. Voltametria cíclica e a amperometria foram utilizadas para estudar a capacidade de detecção dos filmes de cobre depositados na ITO para determinar quantitativamente a glicose e otimizar as condições experimentais de detecção. A espectroscopia de fotoelétrons de raio X e Raman, usado para determinar o estado de oxidação de Cu, revelou que uma camada externa de oxi/hidróxido formada em torno das nanocolumnas é a fase ativa responsável pela detecção eletrocatalítica da glicose. Em condições otimizadas, o eletrodo $\text{CuO/Cu}^{\text{nanoporoso}}/\text{ITO}$ apresentou uma sensibilidade de $1,41 \text{ A mol L cm}^{-2}$ com um limite de detecção de $0,36 \mu\text{mol de dm}^{-3}$ e uma reprodutibilidade de 3,42%. A seletividade do sensor proposto foi verificado utilizando espécies interferências, incluindo compostos fisiológicos, diferentes açúcares e etanol, mostrando assim excelentes propriedades anti-interferência. O eletrodo $\text{CuO/Cu}^{\text{nanoporoso}}/\text{ITO}$ também foi usado com sucesso para determinar a glicose em amostras de sangue mostrando um desempenho comparável ao de um glicosímetro comercial. Uma faixa linear de trabalho de $1,0 \text{ a } 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi obtida para esses sensores que, evidenciaram a possibilidade de aplicação para diferentes fins analíticos, incluindo líquidos agroindustriais.

Utilizando matrizes de nanotubos TiO_2 (TiO_2NTs), modificadas por nanopartículas de Ni-Cu, Li e colaboradores [49] desenvolveram sensores para detecção de glicose não enzimática em eletrólito alcalino. O eletrodo contendo as duas

nanopartículas apresentaram melhor atividade eletrocatalítica em comparação com os eletrodos Ni/TiO₂NTs e Cu/TiO₂NTs. Uma sensível determinação amperométrica da glicose foi alcançado, sob 0,6V vs. Ag/AgCl com alta sensibilidade (1590,9 A mM⁻¹ cm⁻²), baixo limite de detecção de 5 µM) e ampla faixa linear de 10,0 µM a 3,2 mM. Além disso, as espécies oxidáveis, como ácido ascórbico e ácido úrico, não apresentaram interferência significativa na determinação da glicose. Os resultados da experiência revelaram uma reprodutibilidade muito boa e alta estabilidade para o eletrodo Ni-Cu/TiO₂NTs.

Li e colaboradores [50], utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e óxido de níquel (NiO) para a determinação amperométrica de glicose aplicando-se um potencial de 0,4 V (vs. ECS). O intervalo linear de resposta obtido foi de $5,0 \times 10^{-6}$ a $2,8 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, apresentando um limite de detecção de 1,0 µmol L⁻¹. O eletrodo foi aplicado para a determinação de glicose em urina, com taxas de recuperação variando entre 97,5 e 103%.

Chen e colaboradores [51] relatado a determinação amperométrica de glicose utilizando MnO₂ e nanotubos de carbono de parede múltiplas e MnO₂ foi revestido homogeneamente em MWCNT verticalmente alinhados por eletrodeposição. O eletrodo MnO₂/MWCNT apresentou alta atividade eletrocatalítica para a oxidação da glicose em solução alcalina, mostrando uma mudança negativa de 0,30 V no potencial de pico com oxidação a partir de aproximadamente -0,20 V (vs Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) em comparação com o eletrodo contendo somente MWCNT. Aplicando potencial de +0,30 V, o eletrodo MnO₂/MWCNT exibiu um resposta linear ($R = 0,995$) na concentração de glicose de 10 µM até 28 mM com uma sensibilidade de 33,19 µA mM⁻¹ apresentando alta resistência à intoxicação por íons de cloreto. Além disso, a interferência da oxidação de espécies concomitantes comuns, como ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico, é efetivamente evitada.

Lin e colaboradores [52] desenvolveram sensores não enzimáticos para a determinação eletroquímica de glicose baseados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas decorados com nanopartículas de níquel e cobre (Ni-Cu-MWCNT). O eletrodo apresentou uma sensibilidade de 2,633 µA mM⁻¹ e um limite de detecção de 0,025 µM. O sensor foi aplicado para determinar glicose em amostras de soro de sangue humano de pacientes diabéticos e pessoas saudáveis. A exatidão dos resultados foi

avaliada com experimentos de adição e recuperação em amostras de soro e indicaram que o sensor exibiu uma recuperação satisfatória ($\geq 95\%$).

A partir da necessidade de monitoramento dos níveis de glicose pelos portadores da doença, dispositivos miniaturizados, com menor tempo de resposta e de baixo custo podem substituir análises laboratoriais, que em geral consomem muito tempo. Nesse contexto, a versatilidade das técnicas eletroquímicas, principalmente das amperométricas, pode suprir essas necessidades [53]. A amperometria é uma modalidade eletroquímica para análises quantitativas que correlaciona concentração de uma substância de interesse, presente em uma solução, com a corrente elétrica obtida de reações redox promovidas pela aplicação de um potencial controlado. A amperometria é compatível não só com sistemas convencionais de análises, mas também com sistemas miniaturizados, sendo possível acoplar esta técnica a sistemas microfluídicos [54] sem perda de sensibilidade.

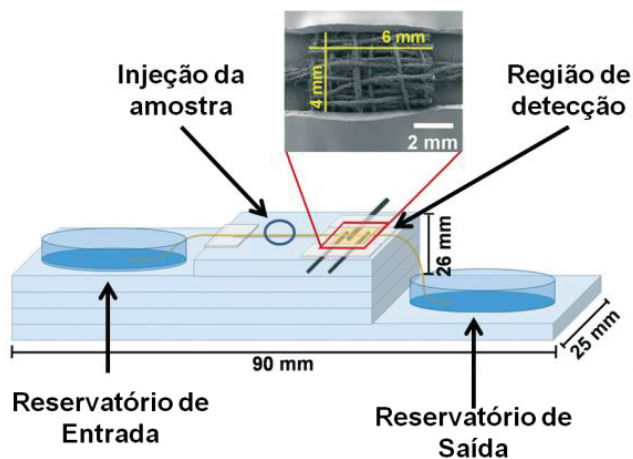
1.4 Sistemas Microfluídicos

Whitesides [55] define a microfluídica como a ciência e a tecnologia dos sistemas que processam ou manipulam quantidades pequenas (10^{-9} a 10^{-18} litros) de fluidos, usando canais com dimensões de dezenas a centenas de micrometros. Essa tecnologia oferece uma série de vantagens tais como a capacidade de usar quantidades muito pequenas de amostras e reagentes, e para realizar separações e detecções com alta resolução e sensibilidade, baixo custo e em tempos curtos de análise [56]. Os primeiros dispositivos microfluídicos foram fabricados utilizando materiais como silício e vidro. Entretanto os dispositivos baseados nestes materiais apresentaram limitações, como processos complexos de formação dos microcanais, incompatibilidade com alguns solventes e a necessidade de utilização de microbombas [57]. Surgiram então os dispositivos microfluídicos baseados em papel (μ PADs) [58, 59]. Estes dispositivos são construídos a partir de um desenho de uma configuração desejada, feito com um material hidrofóbico, como ceras, polímeros, tintas quimicamente modificadas, entre outras. O papel, além de ser um material de grande e fácil disponibilidade, apresenta em sua estrutura microcanais altamente hidrofílicos, o que faz com que o transporte de fluidos dentro das barreiras hidrofóbicas, seja feito por ação capilar e dispensa o uso de bombas. Contudo, há algumas limitações relacionadas ao uso dos μ PADs, como a baixa eficiência no arraste da amostra, baixa resistência mecânica, a necessidade da

construção de barreiras hidrofóbicas e ainda o vazamento das amostras com baixa tensão superficial pelos canais [59].

Uma alternativa ao papel para a fabricação de microcanais que vêm ganhando destaque são os fios têxteis, os quais se assemelham ao papel por serem materiais porosos e fibrosos. Assim como o papel, os fios têxteis são materiais de baixo custo e altamente disponíveis e também utiliza a capilaridade no transporte do fluido. O efeito de capilaridade ocorre devido aos espaços presentes entre as fibras que compõe o fio, as quais atuam como uma bomba passiva e eliminam a necessidade da utilização de qualquer força externa para o transporte dos líquidos [60]. Agustini e colaboradores desenvolveram um dispositivo microfluídico de baixo custo baseado em fios têxteis, o qual foi chamado de μ TED (do inglês *micro Thread Electroanalytical Device*). O sistema proposto foi construído utilizando placas de vidro como material para base do dispositivo e fios de algodão, provenientes de gaze utilizada para fins médicos, como microcanais por onde ocorre o transporte das soluções. A região de detecção é composta por eletrodos de grafite escolar, sendo a configuração do dispositivo proposto exemplificado pela FIGURA 4 [61].

FIGURA 4: SISTEMA μ TED E SEUS PRINCIPAIS COMPONENTES



FONTE: O autor (2018).

A solução é inserida no microcanal do dispositivo por capilaridade a partir do reservatório de entrada e transportada ao longo do dispositivo devido à ação capilar e diferença de altura entre os reservatórios. A injeção de um pequeno volume de amostra é realizada (2,0 μ L) antes da região de detecção, a alíquota da amostra é transportada juntamente com o eletrólito suporte, para a região de detecção. Nesta região ocorrem as

reações redox, fornecendo o sinal amperométrico transiente. Em seguida, o eletrólito suporte e o analito são levados para o reservatório de saída. O sistema foi proposto inicialmente para determinação de acetaminofeno e diclofenaco em amostras farmacêuticas, os LDs obtidos para o acetaminofeno e diclofenaco foram de $1,4$ e $4,7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente e a frequência analítica foi de 45 injeções por hora, com um custo de aproximadamente R\$1,40 por dispositivo.

Utilizando um sistema semelhante, Ochiai e colaboradores [62] demonstram a versatilidade do dispositivo eletroanalítico (μ TED) utilizando eletrodos impressos de carbono (do inglês: Screen-Printed Electrodes SPE) modificados com nanotubos de carbono como detector eletroquímico para a determinação amperométrica do hormônio estriol em amostras farmacêuticas. Os parâmetros envolvidos na detecção amperométrica e no sistema de microfluxo foram estudados e otimizados, e utilizando-se as melhores condições experimentais (vazão de $0,50 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$, $2,0 \text{ } \mu\text{L}$ de volume de injeção e potencial de detecção de $0,75 \text{ V}$) uma resposta linear foi obtida no intervalo de concentração de $1,0$ a $1000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, com LD e LQ de $0,53 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $1,77 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente e frequência analítica de 32 injeções por hora. A metodologia proposta foi aplicada em amostras comerciais e os resultados foram comparados com os fornecidos pelo método espectrofotométrico (metodologia oficial), estando em concordância com um nível de confiança de 95%.

Agustini e colaboradores [63] utilizaram ainda, o dispositivo μ TED para desenvolver um biossensor de glicose a partir de azul de toluidina (PTB) e glicose-oxidase (GOx), utilizando grafite como contra eletrodo, pseudo referência e eletrodo de trabalho, este último contendo o filme de PTB-GOx, para a determinação de glicose. Em condições otimizadas, o dispositivo apresentou excelente reprodutividade com desvio de 3,13%, além de alta estabilidade, seletividade, sensibilidade, rapidez na renovação da superfície do eletrodo e baixo limite de detecção ($22,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$). O método proposto foi empregado eficientemente na determinação de glicose em lágrimas de voluntários não-diabéticos, obtendo uma estreita correlação com seus níveis de glicose no sangue, simplificando e reduzindo os custos das análises, tornando o monitoramento de glicose lágrima mais acessível para a população.

Em uma configuração mais elaborada, Carneiro e colaboradores [64], descreveram a utilização do μ TED, cuja estrutura foi impressa por uma impressora 3D usando o polímero ABS (acronitrilo butadieno estireno) como substrato. Foram

utilizados fios de algodão como canais de solução e eletrodos de carbono impressos por tela (SPCE) como detector eletroquímico para a determinação amperométrica de antioxidantes em amostras de vinho. Sob condições otimizadas, o método proposto apresentou limites de detecção para o ácido gálico e cafeico correspondem a $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $8,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente, com uma frequência de injeção de 62 injeções por hora. Os resultados obtidos foram comparados o método de Folin-Ciocalteu (método comparativo) apresentando boa concordância em um nível de confiança de 95%.

Diante deste contexto, o presente trabalho aborda a aplicação de dois diferentes tratamentos em Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla, material que depois de caracterizado, foi utilizado pra construção de um sensor eletroquímico para a determinação de metil paration em amostras de suco. A fim de investigar a versatilidade dos CNTs, em outra proposta, os mesmos foram empregados na construção de um dispositivo microfluídico para a determinação não enzimática de glicose em amostras de plasma sanguíneo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral desta tese de doutorado é construir, caracterizar e aplicar sensores eletroquímicos baseados em nanotubos de carbono quimicamente tratados para determinação de metil paration e glicose.

2.2 Objetivos específicos:

- Funcionalizar os CNT empregando diferentes tratamentos químicos (ácido e básico);
- Caracterizar os CNT quimicamente tratados por espectroscopia Raman; espectroscopia na região do Infravermelho; microscopia eletrônica de transmissão (MET) e por titulações potenciométricas para a quantificação dos grupos ácidos.
- Construir e avaliar sensores eletroquímicos empregando nanotubos de carbono quimicamente tratados para a determinação de metil paration (MP).
- Avaliar a influência de parâmetros químicos e inerentes a técnica de Voltametria de Pulso diferencial para determinação do MP.
- Aplicar os procedimentos voltamétricos para a determinação de MP em amostras de suco de manga.
- Avaliar a capacidade dos CNTs na incorporação de íons Ni^{2+} , utilizando o eletrodo de carbono vítreo;

- Desenvolver um sensor não-enzimático para determinação amperométrica de glicose empregando um eletrodo impresso (EI) modificado com CNT e íons Ni^{2+} em um sistema microfluídico.
- Aplicar os procedimentos voltamétricos para a determinação de Glicose em plasma sanguíneo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nos procedimentos experimentais estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1: REAGENTES UTILIZADOS PARA O DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

Reagente	Procedência
Acetato de níquel	Carlo erba®
Acetato de Sódio	Vetec®
Acetato de Sódio	Vetec®
Acetonitrila	Vetec®
Ácido acético	Vetec®
Ácido acético	Vetec®
Ácido Nítrico	Vetec®
Ácido Sulfúrico	Vetec®
Bicarbonato de Sódio	Vetec®
Carbonato de Sódio	Vetec®
Glicose	Sigma-aldrich®
Hidróxido de potássio	Vetec®
Hidróxido de Sódio	Vetec®
Isopropanol	Vetec®
Isopropanol	Vetec®
Metanol	Vetec®
Metil Paration	Sigma-aldrich®
Tolueno	Vetec®

FONTE: O autor (2018).

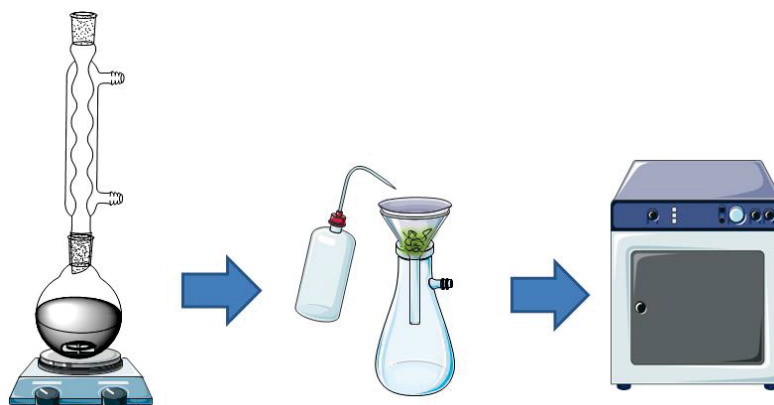
Nanotubos de carbono comerciais de paredes multiplas com diâmetro externo menor que 15 nm foram adquiridos da Drop Sense®. As soluções padrão foram preparadas com água ultrapurificada pelo sistema Milli-Q, com resistividade maior que 18,2 MΩ cm⁻¹. Soluções de eletrólito foram preparadas com água destilada. Os reagentes foram pesados em uma balança analítica Mettler Toledo, AL204, com

precisão de $\pm 0,1$ mg. As medidas de pH foram realizadas em um pHmetro Metrohm, 780, com eletrodo combinado de vidro Ag/AgCl KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$.

3.2 Etapa 1: Tratamentos químicos dos Nanotubos de Carbono

Para a realização do tratamento ácido, 100 mg de nanotubos de carbono foram submetidos a refluxo em meio ácido, composto por uma mistura de 80 mL de H_2SO_4 $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ e 80 mL de HNO_3 $3,0 \text{ mol L}^{-1}$, por 6 horas. Após, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e a dispersão de CNTs foi separada da solução por filtração a vácuo utilizando um papel filtro Quantitativo Unifil, realizando sucessivas lavagens com água deionizada até atingir o pH 7, conforme ilustra a FIGURA 5. Após a filtração, os CNTs foram mantidos em estufa em 50°C por 24 horas para secagem efetiva, obtendo-se o CNT-TA. Para o tratamento alcalino repetiu-se o procedimento, entretanto o refluxo ocorreu em meio de 160 mL de NaOH $4,0 \text{ mol L}^{-1}$, para obtenção do CNT-TB.

FIGURA 5: ESQUEMA ILUSTRATIVO DO PROCEDIMENTO DE TRATAMENTO QUÍMICOS DOS CNT



FONTE: O autor (2018).

3.2.1 Caracterização dos CNT

3.2.1.1 Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Para verificar a presença dos grupos funcionais oxigenados oriundos da funcionalização, realizaram-se medidas através da técnica Espectroscopia na Região do

Infravermelho por Transformada de Fourier. As pastilhas foram preparadas com 1 mg dos CNTs, homogeneizados em almofariz com 200 mg de KBr (grau espectroscópico FTIR), previamente seco em estufa a 105 °C por 12 horas. Mistura foi inserida no pastilhador e prensada a uma pressão de aproximadamente 7 toneladas, formando uma pastilha limpa e translúcida. As medidas foram realizadas em um espectrofotômetro BOMEN, disponibilizado no Departamento de Química. Foram feitos 256 *scans* de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

3.2.1.2 Espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS-X Ray photoelectron spectroscopy)

As medidas de espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS - X Ray photoelectron spectroscopy) foram realizadas com as amostras sólidas dos CNTs inseridos no porta-amostra e obtidas em um espectrofotômetro XPS $\text{K}\alpha$ da Thermo Fisher Scientific, utilizando uma fonte de raios X de Al monocromatizado (1486,6 eV) com spot size de 200 μm . Espectros de baixa e alta resolução foram obtidos utilizando uma energia de varredura de 200 eV e 40 eV, respectivamente.

3.2.1.3 Espectroscopia Raman

As análises de espectroscopia Raman foram realizadas com as amostras sólidas dos CNTs no espectrofotômetro Witec® e modelo Alpha 300, disponível no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR. Foi utilizado laser verde de comprimento de onda de 532 nm. Os espectros foram normalizados em relação à banda G dos CNTs funcionalizados, com número de onda de 1575 cm^{-1} .

3.2.1.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram realizadas no microscópio JEOL, modelo JEM 1200, no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR, e tratadas com o software GatanC®. As amostras foram preparadas adicionando-se com auxílio de uma micropipeta, uma gota da dispersão dos CNTs (0,5 mg mL^{-1} em isopropanol com 1% de nafion e sonicado por 15 minutos em banho de ultrassom), sobre grades de cobre recobertas com filme fino de carbono e deixadas em repouso por duas horas a temperatura ambiente.

3.2.1.5 *Análise termogravimétrica*

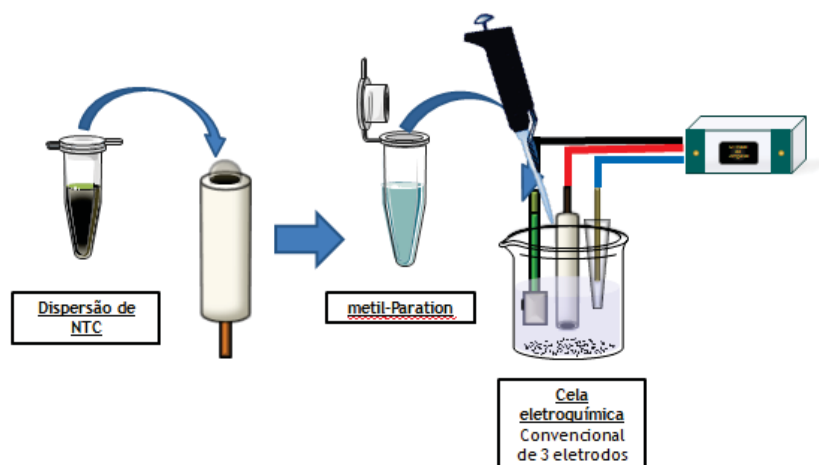
As medidas de análise térmica (TG) foram realizadas com as amostras na forma de pó, em um equipamento TGA/SDT Q 600, em atmosfera de ar sintético, com uma rampa de aquecimento de 5 °C min.

3.3 **Etapa 2: Construção e avaliação sensores eletroquímicos empregando nanotubos de carbono quimicamente tratados para a determinação de metil paration.**

3.3.1 **Construção dos Eletrodos**

Anterior à modificação, a superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE) foi polida com suspensões de alumina (0,3 e 0,05 μm), lavada com água e o eletrodo foi submetido a 60 ciclos voltamétricos, entre -1,3 e 1,5 V com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} em meio de H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} , para remover impurezas. Para a construção do sensor, primeiramente foram preparadas dispersões de concentração igual a 0,5 mg mL^{-1} , para cada um dos CNTs estudados neste trabalho (CNT-TA e CNT-TB), em meio de álcool isopropílico e Nafion 1%, que posteriormente foram mantidos em banho ultrassônico durante 10 minutos para homogeneização. Em seguida, uma alíquota de 6,0 μL da suspensão desejada foi gotejada na superfície do GCE, aguardou-se até evaporação total do solvente, à temperatura ambiente, obtendo-se o sensor eletroquímico. As medidas eletroquímicas foram realizadas no potenciostato $\mu\text{Autolab}^{\text{®}}$ Type III, e a coleta de dados foi obtida com auxílio do software NOVA 1.10. Foram utilizados eletrodos de Ag/AgCl/KCl saturada como eletrodo de referência, eletrodo de platina como eletrodo auxiliar e eletrodos de carbono vítreo modificados com o CNT como eletrodo de trabalho. Os dados coletados foram tratados utilizando o *software* Origin PRO8 $^{\text{®}}$. A solução estoque de metil paration foi preparada em acetonitrila/água 60:40 (v/v) e mantida sob refrigeração a 4°C, conforme ilustra a FIGURA 6.

FIGURA 6: ESQUEMA ILUSTRATIVO DOS PROCEDIMENTOS ELETROQUÍMICOS.



FONTE: O autor (2018).

3.3.2 Determinação de metil paration em amostras de suco de manga

Após a avaliação e escolha dos parâmetros que influenciam a resposta dos eletrodos para detecção do metil paration foi possível avaliar o desempenho analítico do dispositivo desenvolvido construindo uma curva analítica e obtendo as figuras de mérito. Tal dispositivo foi empregado na determinação de MP em amostras de sucos de manga comerciais fortificadas com o analito.

3.3.2.1 Estudo da influência de espécies concomitantes presentes nas amostras de sucos

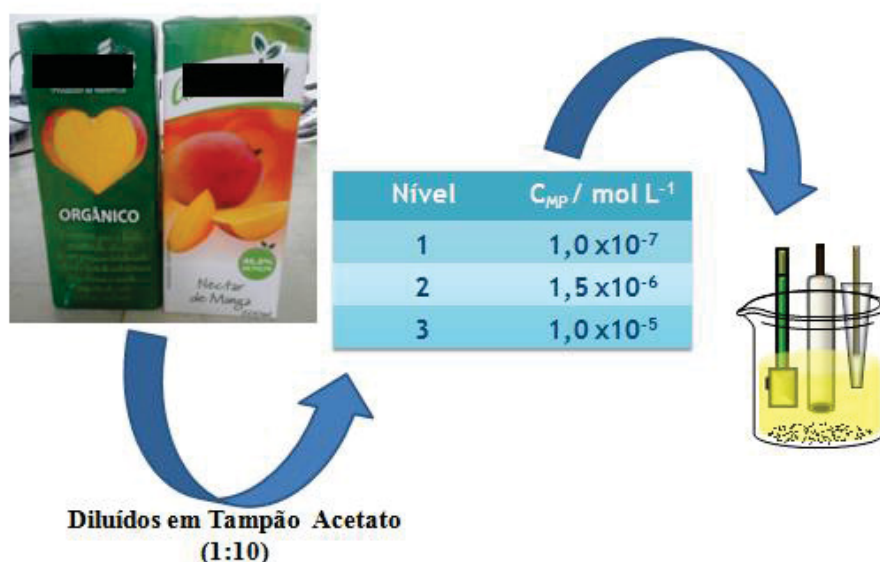
Foram realizadas medidas empregando os eletrodos modificados com os CNT-TA e CNT-TB para a determinação de MP na presença de possíveis interferentes (ácido ascórbico, ácido cítrico, glicose, magnésio e sódio) presentes na composição dos sucos de manga. Para verificar a influência dessas espécies na resposta do sensor, a concentração de MP foi mantida constante, em $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e foram adicionados a ele os possíveis interferentes em uma quantidade dez vezes maior ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).

3.3.2.2 Estudo de Adição e Recuperação

Para verificar a exatidão dos resultados fornecidos pelo método desenvolvido foram realizadas medidas de adição e recuperação em duas amostras comerciais de suco de manga (Amostra A e Amostra B). Todas as amostras foram diluídas (1:10) em

tampão acetato pH 5,0 e foram fortificadas a partir de uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de MP. As adições foram feitas de maneira a alcançar 3 níveis de concentração de pesticida ($1,0 \times 10^{-7}$, $1,5 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) também foram analisadas amostras sem a fortificação de acordo com a FIGURA 7:

FIGURA 7: ILUSTRAÇÃO DO PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO NOS ESTUDOS DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO



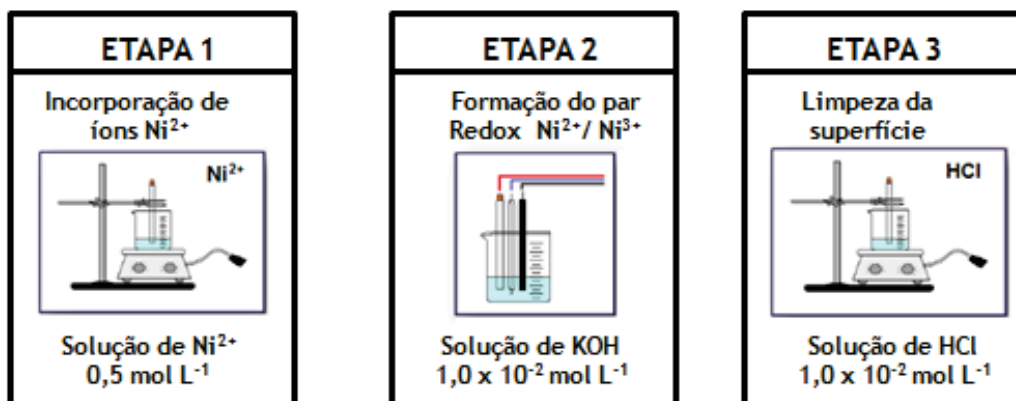
FONTE: O autor (2018).

3.4 Etapa 3: Construção de um sensor não-enzimático para determinação amperométrica de glicose empregando um eletrodo impresso (EI) modificado com CNT e íons Ni^{2+} em um sistema microfluídico.

3.4.1 Caracterização Voltamétrica:

Os estudos iniciais foram realizados utilizando o eletrodo de carbono vítreo, modificado de acordo com o item 3.3.1. O procedimento voltamétrico foi realizado em 3 etapas, conforme o esquema ilustrado na FIGURA 8. Na primeira etapa, o eletrodo já modificado com os CNTs foi mergulhado em uma solução de íons Ni^{2+} , $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, durante poucos segundos em circuito aberto, e em seguida foi gentilmente lavado. Na segunda etapa, o eletrodo foi inserido na célula eletroquímica, e submetido a uma varredura de potencial no intervalo de 0,0 a 0,7 V, em solução de KOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, para a formação das espécies reativas de Ni^{2+} .

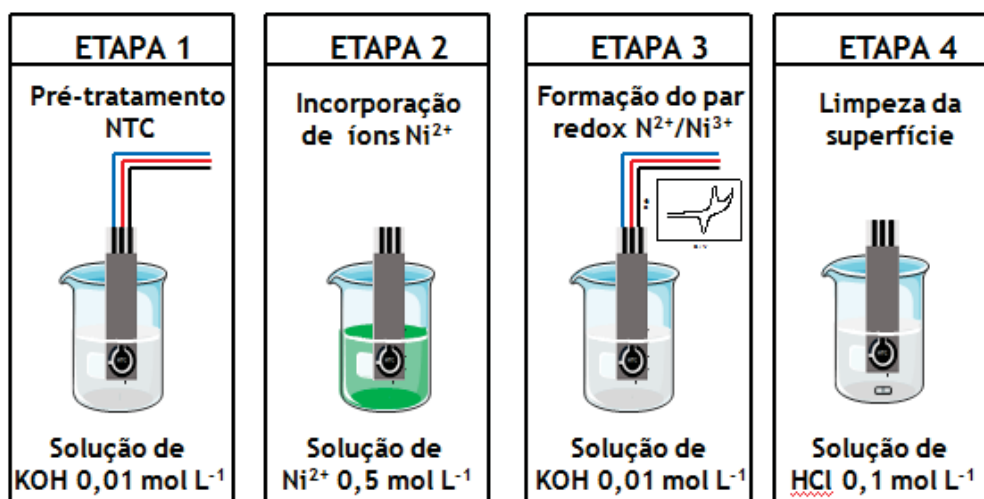
FIGURA 8: ETAPAS DO PROCEDIMENTO VOLTAMÉTRICO



FONTE: O autor (2018).

Após os estudos iniciais neste trabalho foram utilizados eletrodos impressos de carbono (SPE – screen printed electrodes) produzidos no laboratório do Professor Dr. Craig Banks na Universidade Metropolitana de Manchester, Reino Unido. A impressão foi realizada utilizando as máscaras apropriadas e uma impressora microdek 1670RS, sendo que as etapas consistiram na deposição de tintas de carbono grafite (para impressão de ET e EA), Ag/AgCl (ER) e tinta dielétrica (Gwent, Liverpool, Reino Unido) sobre um substrato de poliéster. O ET $0,07 \text{ cm}^2$ de área [66], foi modificado com $4 \mu\text{L}$ de uma dispersão CNT-TA ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) pela técnica de “drop casting” (evaporação do solvente). Após a modificação com os CNT-TA o SPE foi imerso em uma solução contendo íons Ni^{2+} poucos segundos para pré-concentração. Realizou-se uma voltametria cíclica em KOH $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, no intervalo de potencial de $0,0$ a $0,7 \text{ V}$. A FIGURA 9 apresenta a sequencia de operações realizadas.

FIGURA 9: ETAPAS DO PROCEDIMENTO VOLTAMÉTRICO COM O SPE.



FONTE: O autor (2018).

O eletrodo impresso modificado com CNT e íons Ni²⁺ incorporados (SPE/CTN-Ni) foi então acomodado no sistema microfluídico (μ TED).

3.4.2 Construção, montagem e avaliação vazão do microdispositivo (μ TED)s

Para a construção do dispositivo microfluídico (μ TED) foi utilizada uma base construída com o polímero ABS (Acrilonitrilo-butadieno-estireno) impresso em uma impressora GTMax3D printer - Graber i3 model (Americana – SP, BraSil), com tamanho de camada de 0,15 mm e densidade de preenchimento 3. O sistema foi montado utilizando fita adesiva dupla face, fios de algodão hidrofílico e eletrodo impresso de carbono modificado com CNT-Ni. A FIGURA 10 mostra o dispositivo montado em diferentes ângulos

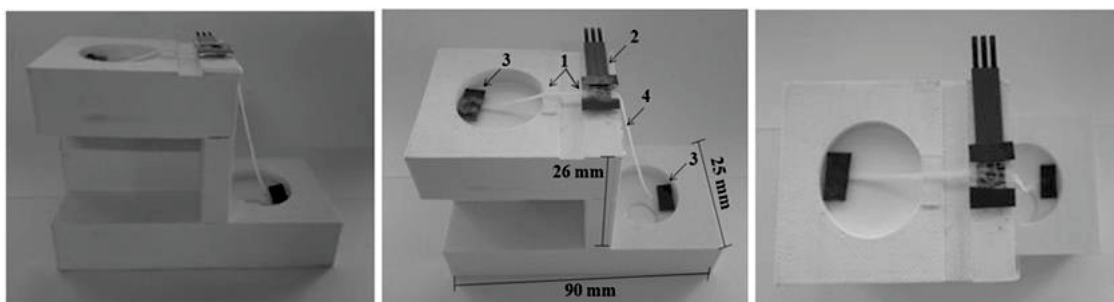
1 - Um pedaço de fita adesiva dupla face foi posicionado próximo ao reservatório de entrada, no qual o fio de algodão é fixado em uma altura semelhante ao eletrodo impresso e outro pedaço foi posicionado próximo ao reservatório de saída, para acomodação do eletrodo impresso;

2 - O eletrodo impresso já modificado é inserido sobre a fita adesiva que foi fixada próxima ao reservatório de saída;

3 - Delimitação da zona de detecção, realizada inserindo dois pedaços da fita adesiva, nas extremidades do eletrodo impresso.

4 - Fixação dos canais microfluídicos (fios de algodão hidrofílico) por todo o dispositivo iniciando no reservatório de entrada e finalizando no reservatório de saída.

FIGURA 10: MONTAGEM DO SISTEMA μ TED



FONTE: O autor (2018).

De modo a avaliar a vazão da solução transportadora com o tempo pelo μ TED, o reservatório de saída foi colocado sobre uma balança analítica Mettler Toledo AL204 (Columbus, OH, EUA) e o dispositivo mantido a uma distância aproximada de 26 mm, com o auxílio de uma garra e um suporte universal. A quantidade de solução que fluiu pelo dispositivo foi monitorada pela diferença de massa do reservatório de saída a cada 30 segundos, sendo a pesagem iniciada quando a primeira gota de solução foi carregada pelos microcanais. A temperatura ambiente foi mantida em 20°C durante o período em que os experimentos foram realizados. A cada 60 segundos, a massa do reservatório de saída foi registrada, com o auxílio de uma câmera, visando melhorar a precisão das medidas. Os valores obtidos foram convertidos em volume utilizando a densidade de solução 0,9971 g cm⁻¹. O fluxo foi obtido pela razão entre o volume de solução e tempo.

O eletrodo impresso modificado com CNT e íons Ni²⁺ incorporado (SPE/NTC-Ni) foi então acomodado no sistema microfluídico (μ TED) e, na sequência, foram dispostos os fios de algodão do reservatório de entrada até o reservatório de saída do μ TED. O eletrólito suporte (KOH 0,01 mol L⁻¹) foi adicionado no reservatório de entrada, o qual fluía pelo dispositivo durante todo o tempo de análise. A solução de glicose (preparada em KOH 0,01 mol L⁻¹) foi injetada diretamente no canal microfluídico (fio de algodão) em alíquotas de 2,0 μ L a uma distância constante da zona de detecção.

3.4.3 Avaliação do potencial aplicado

Após obtidos dados sobre a estabilidade do fluxo do eletrólito suporte, estudou-se diferentes potenciais a serem aplicados no eletrodo de trabalho para a

realização da cronoamperometria. Assim, variou-se o potencial de 0,35 V a 0,55 V, e avaliou-se os valores de corrente para o sinal de glicose em triplicata.

3.4.4 Determinação de glicose em plasma sanguíneo

3.4.4.1 *Estudo da influência de espécies concomitantes presentes nas amostras plasma.*

Amostras naturais de fluidos biológicos são matrizes que, possuem ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico juntamente com a glicose. Estas espécies podem produzir a corrente de oxidação comparável à da glicose causando interferência nas medidas. Os níveis de glicose no sangue são de 4-5 mmol L⁻¹, enquanto esses concomitantes estão presentes em concentrações aproximadamente 50 vezes menores. A fim de avaliar o efeito destas espécies preparou-se uma solução de glicose 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, e soluções mistas de glicose, nesta concentração, com 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ das espécies interferentes separadamente.

3.4.4.2 *Estudo de Adição e Recuperação*

Para verificar a exatidão dos resultados fornecidos pelo método desenvolvido foram realizadas medidas de adição e recuperação em uma amostra de plasma sanguíneo humano masculino do tipo AB, origem dos EUA, esterilizado, adquirido da Sigma Aldrich. A amostra foi preparada diluindo 50 µL do plasma em 150 µL de KOH 0,01 mol L⁻¹ e outra amostra (diluída na mesma proporção) foi fortificada com uma solução de glicose 2,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹. Uma curva analítica foi construída com soluções padrão de glicose de 2,5 x 10⁻⁵ a 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, com adição da amostra e amostra fortificada.

4 Resultados e discussões

4.1 Etapa 1: Funcionalização e caracterização dos CNT.

Depois de realizado os tratamentos, foram obtidos os seguintes materiais: nanotubos de carbono que receberam o tratamento ácido (CNT-TA), os nanotubos de carbono que receberam o tratamento básico (CNT-TB), esses materiais foram submetidos a algumas técnicas de caracterizações e comparados com os nanotubos que não receberam tratamento, os chamados nanotubos *Pristine* (CNT-P), com a finalidade de analisar as mudanças estruturais e morfológicas nos CNT, para verificar se a funcionalização depois dos tratamentos realmente ocorreu.

4.2 Caracterizações espectroscópicas dos CNTs

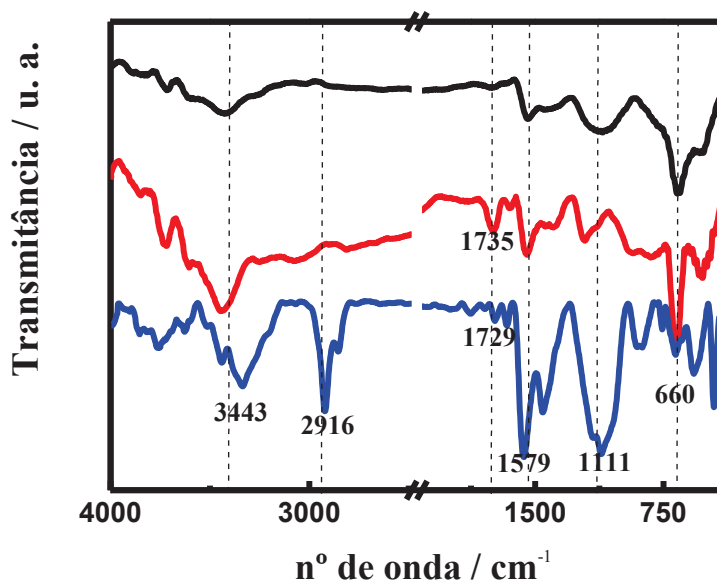
4.2.1.1 Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho foi empregada para avaliar a interação da radiação eletromagnética com a matéria, uma vez que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibrações específicas, as quais correspondem a níveis de energia que dependem da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do acoplamento vibracional [67]. Com o presente estudo, é possível observar se há mudança nas ligações químicas oriundas da funcionalização. A FIGURA 11 ilustra os espectros de infravermelho dos CNTs antes (CNT-P) e após o tratamento ácido (CNT-TA e CNT-TB).

Pode-se observar que os estiramentos em 660, 1196 e 1579 cm^{-1} estão presentes em ambos os espectros. Isso se deve aos estiramentos característicos nesses comprimentos de onda ($\nu\text{C-H}$, $\nu\text{C-C}$ e $\nu\text{C=C}$ (arom) respectivamente), os quais fazem parte da estrutura dos CNTs [68] tratados e também dos não tratados. Entretanto, o estiramento entre 1729-1735 cm^{-1} que são comprimentos de onda característicos de grupos funcionais oxigenados [21, 68, 69] está presente somente para os nanotubos submetidos aos tratamentos químicos. A banda em 3443 cm^{-1} referente $\nu\text{O-H}$ [68], aumenta significativamente quando os tratamentos são realizados. Com o ataque a partir de oxidantes fortes em elevada concentração, as paredes externas dos CNTs são

rompidas e grupos funcionais são introduzidos (C=O, O-H), conforme observado nos espectros, podendo-se confirmar a funcionalização.

FIGURA 11: ESPECTROS DE FTIR DOS CNT: — CNT-TA, — CNT-TB E — CNT-P



FONTE: O autor (2018).

As atribuições referentes às ligações verificadas no espectro da FIGURA 12 estão descritas Tabela 2 abaixo:

TABELA 2: ATRIBUIÇÕES DOS ESTIRAMENTOS E DEFORMAÇÕES, ENCONTRADOS ATRAVÉS DE MEDIDAS DE FTIR

Atribuição (cm ⁻¹)	Número de onda (cm ⁻¹)
νC-H (900-650)	660
νC-C (1220-800)	1196
νC=C(arom) (1600-1400)	1579
νC=O (1800-1600)	1735
νO-H (3600-3200)	3443

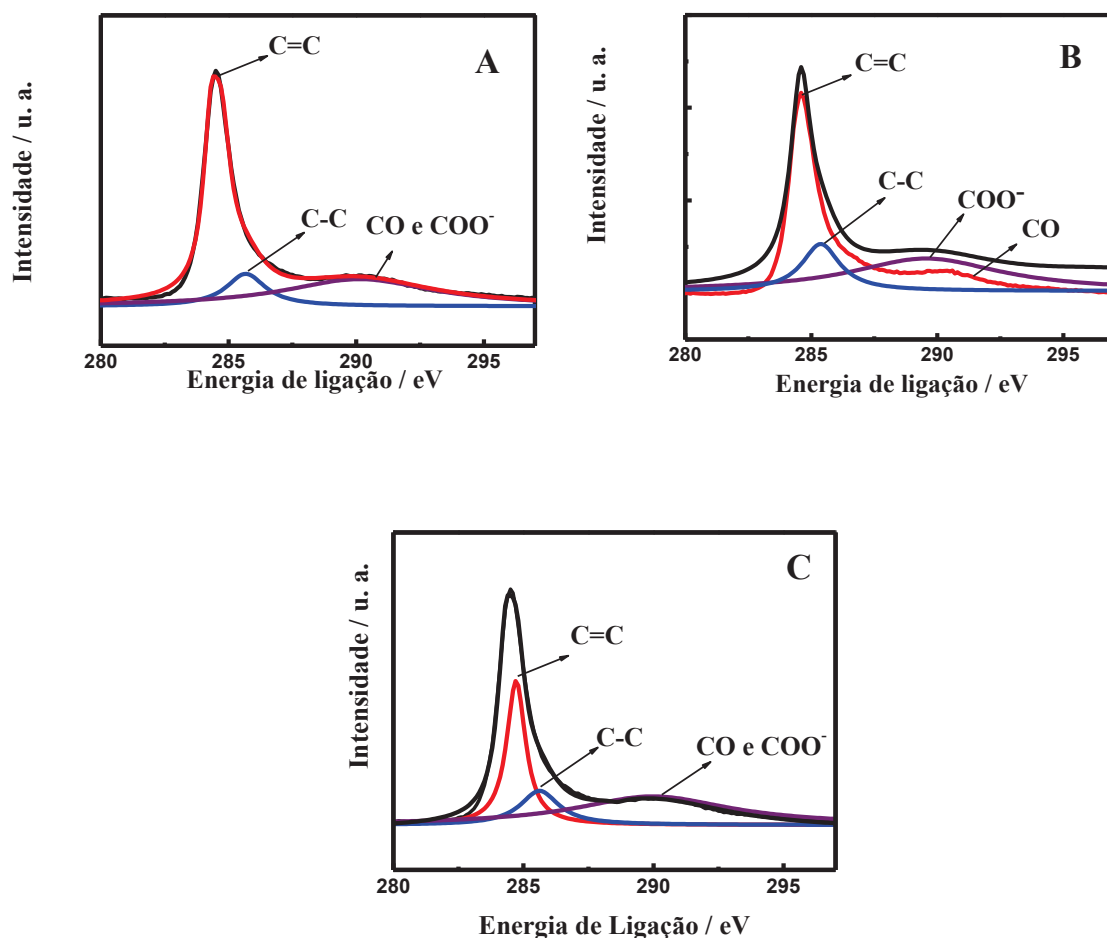
FONTE: O autor (2018).

É possível observar uma discrepância entre os espectros dos nanotubos quimicamente tratados. Os CNT que receberam o tratamento alcalino apresentam bandas em 2916 e 2848 cm^{-1} (C-H) e uma banda larga entre 1050 e 1300 cm^{-1} (C-O de éteres, álcoois, anidridos, lactonas ou ácidos carboxílicos)[70]. Tal fato sugere que o tratamento ácido ancora majoritariamente grupos carboxílicos enquanto que o tratamento alcalino ancora vários grupos funcionais oxigenados diferentes.

4.2.1.2 Espectroscopia fotoeletrônica de raios X

Espectroscopia fotoeletrônica de raios X (XPS) é uma das técnicas mais utilizadas e bem estabelecidas para a caracterização da superfície de vários materiais, incluindo metais, cerâmicas, polímeros e materiais de carbono. Numa análise XPS, as energias de ligação (eV) de fotoelétrons emitidos como resultado da irradiação de raios X para os elétrons do núcleo das amostras. Esta técnica é útil para a elucidação quantitativa das composições atômicas CNT funcionalizados e das composições químicas dos átomos desejados [71]. Por exemplo, os estados de ligação (incluindo ligações simples/duplas) de átomos de carbono com heteroátomos podem ser estimados pelos espectros de C1s, que geralmente estão localizados em torno de um valor de 284,5 eV [72]. Embora a análise quantitativa dos grupos funcionais seja possível com medições de XPS, a interpretação dos espectros pode ser ambígua quando a temperatura de deconvolução ou os níveis de energia de ligação dos grupos funcionais são semelhantes [73]. A FIGURA 12 apresenta os espectros na região do C1s obtidos para os diferentes nanomateriais.

FIGURA 12: ESPECTROS DE XPS NA REGIÃO DO CARBONO OBTIDOS PARA PARA (A) CNT-P, (B) CNT-TA E (C) CNT-TB.



FONTE: O autor (2018).

Como os MWCNTs consistem em camadas concêntricas laminadas, os principais os grupos encontrados são C=C e C-H, como mostrado. Entretanto a região do carbono é composta pelos picos em 284,8 eV, característica de C=C (sp^2) da estrutura do grafeno, em 285,4 atribuído a defeitos na estrutura dos nanotubos C-C (sp^3). Os picos e 287, 288 eV, são características de CO e COO⁻, respectivamente. Nota-se a partir dos espectros obtidos, que para os nanomateriais picos de CO e COO⁻ se sobrepõe o que pode estar associado, a interpretação dos espectros ambígua ou os níveis de energia de ligação dos grupos funcionais são semelhantes, como citado anteriormente [73]. A região do oxigênio apresenta picos em 530,70 eV, característico de oxigênio fisicamente adsorvido ou carbonatos, 531 eV é a região na qual encontram-se grupos como OH, C=O, O-C=O. Em todas as amostras tratadas, a quantidade de C=O (grupos

carboxílicos e carbonilos) é maior em relação amostra de CNT-P. Sabe-se que os ácidos sulfúrico e nítrico podem reagir com os carbonos da superfície CNT após uma oxidação sequencial. Este processo começa primeiro com as ligações C=C e C-H gerando diferentes grupos oxidados, passando de álcool para carboxílicos. Os resultados de análise e quantificação XPS são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3: ATRIBUIÇÕES DAS LIGAÇÕES OBTIDAS PELA DECONVOLUÇÃO DOS ESPECTROS DE XPS.

Pico	1	2	3
BE eV	284,71	285	289
Atribuição	C=C	C—C	C=O COO ⁻
CNT-P	63,25%	20,08%	16,67%
CNT-TA	42,71%	27,74%	29,55%
CNT-TB	46,45%	29,19%	24,36%

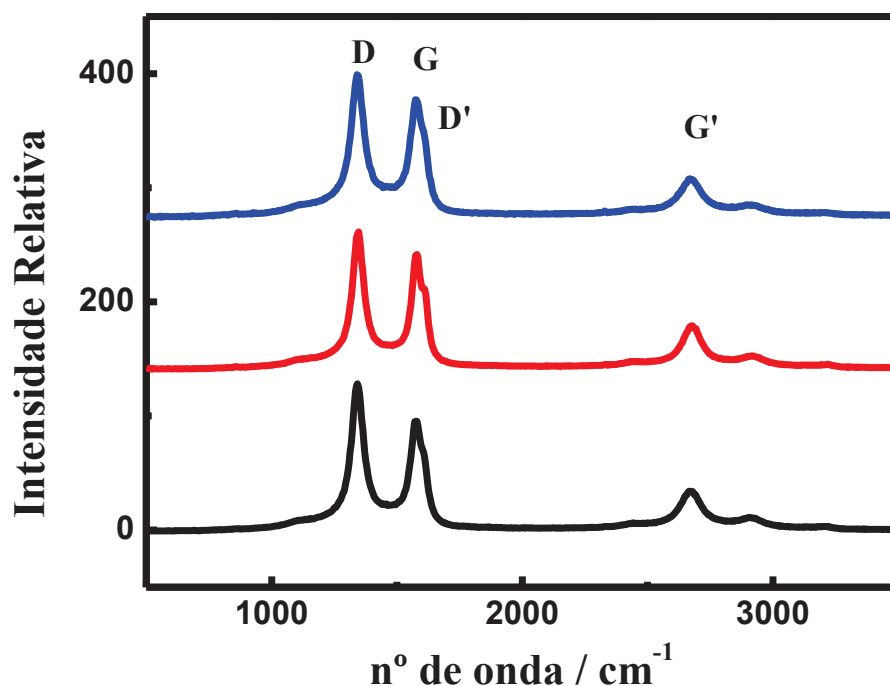
FONTE: O autor (2018).

A TABELA 3 lista as possíveis atribuições de banda e as porcentagens atômicas das espécies oxidadas nas amostras estudadas. É possível ver que em todos os casos encontramos as mesmas espécies. No entanto, as intensidades variam em cada amostra, embora sem correlação. Durante o processo de fabricação, algumas espécies oxidadas podem ser formadas, como observados para o CNT-P que apresentou cerca de 17 % de grupos funcionais. Entretanto comparando-se os tratamentos químicos, houve um aumento significativamente na quantidade de grupos carboxílicos e carbonilos.

4.2.1.3 Espectroscopia Raman

A Espectroscopia Raman foi utilizada para observar a presença de bandas características dos nanotubos de carbono e atribuir algumas variações estruturais ocorridas em função dos tratamentos químicos [74]. Todas as amostras apresentaram as principais bandas características de materiais carbonáceos, as bandas D e G. A FIGURA 13 mostra os espectros Raman dos CNTs com e sem tratamento.

FIGURA 13: ESPECTROS RAMAN DOS DOS CNT: — CNT-TA, — CNT-TB E — CNT-P



FONTE: O autor (2018).

A banda situada na região de 1340 cm^{-1} é referente à banda D, relacionada com a presença de vacâncias e/ou defeitos. Os defeitos ocasionam a perda de simetria, ativando esses modos vibracionais. A banda na região de 1570 cm^{-1} é referente à banda G que corresponde à vibração fundamental (de primeira ordem) chamada de alongamentos tangenciais [74, 75]. Essa vibração corresponde aos modos de estiramento $\nu\text{C-C}$ destas estruturas. É possível observar um ombro na banda G na região de 1620 cm^{-1} . Este pico, é atribuído a banda D' que, assim como a banda D, está associada a desordem na estrutura dos CNT, devido à presença de defeitos na rede hexagonal do grafeno. Observou-se ainda a banda G' em aproximadamente 2650 cm^{-1} característica de materiais grafiticos e relacionada à organização estrutural no plano bidimensional. A razão entre as intensidades das bandas D e G está relacionada com a quantidade de defeitos. Quanto maior está relação, maior será a quantidade de defeitos dos CNT. A TABELA 4 apresenta as atribuições dos estiramentos e deformações, encontrados através de medidas de Raman.

TABELA 4: ATRIBUIÇÕES DOS ESTIRAMENTOS E DEFORMAÇÕES, ENCONTRADOS ATRAVÉS DE MEDIDAS DE RAMAN

	Banda D (cm^{-1})	Banda G (cm^{-1})	I_D/I_G
CNT-P	1338	1579	0,81
CNT-TA	1342	1575	1,21
CNT-TB	1344	1575	1,15

FONTE: O autor (2018).

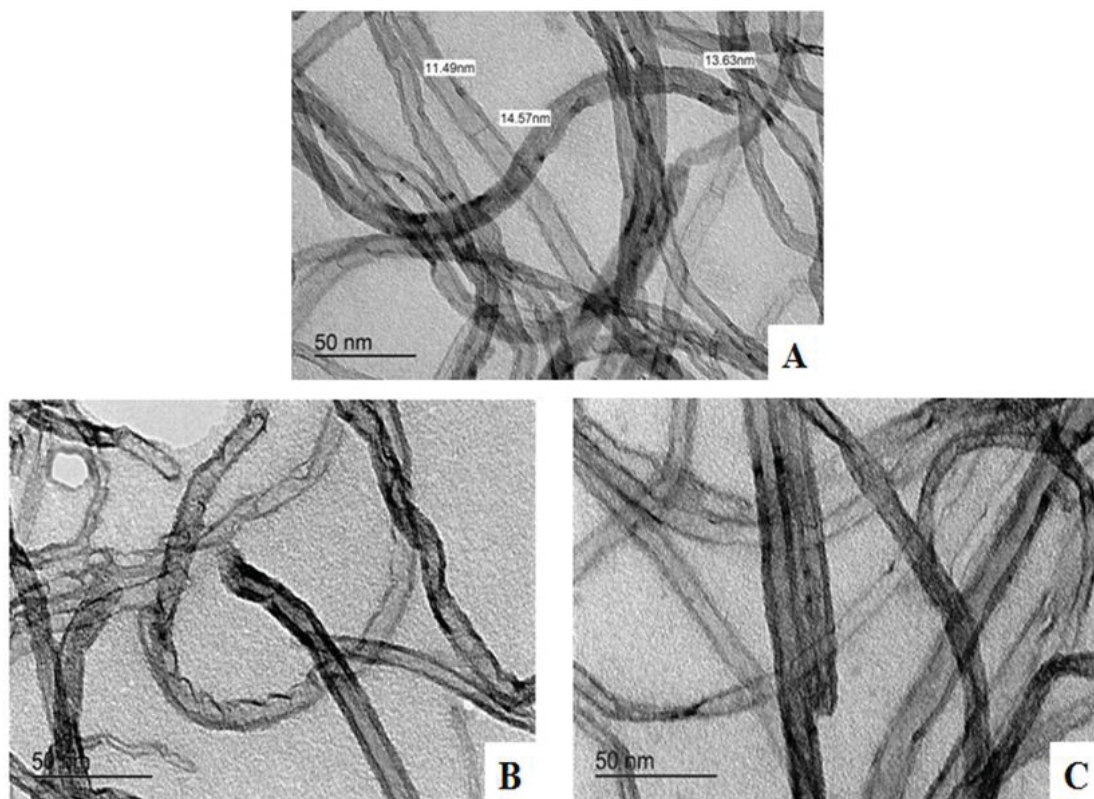
De acordo com os dados apresentados na TABELA 4 percebe-se que após o tratamento químico, ocorreu um aumento no valor da razão I_D/I_G . Isto é, decorrente da perda de simetria dos hexágonos dos grafenos, causada pelos ataques oxidativos, promovem o aumento na quantidade de defeitos estruturais nas paredes mais externas dos CNTs. Resultados semelhantes foram encontrados por Datsyuk e colaboradores [69], que estudaram o efeito da oxidação de nanotubos de carbono com diferentes oxidantes (HNO_3 , $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{NH}_4\text{OH}/\text{H}_2\text{O}_2$) e verificaram a destruição da integridade gráfica dos nanotubos ocasionando um maior número de defeitos para as amostras avaliadas quando comparadas com as amostras de nanotubos *Pristine*.

4.2.2 Caracterizações morfológicas dos CNTs

4.2.2.1 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Imagens representativas foram obtidas por MET e são apresentadas na FIGURA 14 é possível verificar que os CNTs tratados e *Pristine* são homogêneos e não apresentam material amorfo em sua superfície. É possível observar ainda que são CNTs de parede múltipla, uma vez que consistem de tubos de parede única empilhados. Estes são nanoestruturas com diâmetro exterior de menos de 15 nm e que não são moléculas individuais, mas sim, fios de folhas em camadas de grafite.

FIGURA 14: IMAGENS DE MET DE CNT (A) SEM TRATAMENTO, APÓS O TRATAMENTO (B) ÁCIDO E (C) BÁSICO



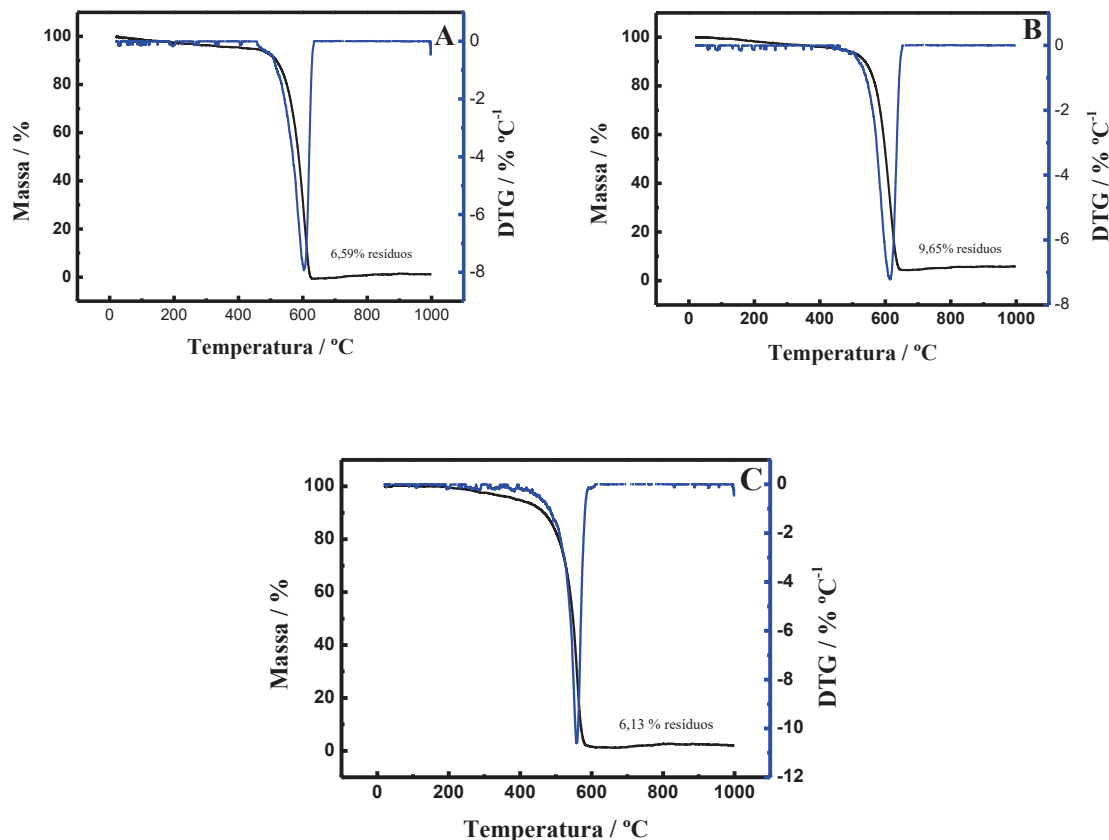
FONTE: O autor (2018).

A partir das imagens foi possível estimar o diâmetro médio das paredes dos CNTs, em torno de 12 nm para funcionalizados e sem funcionalização. Entretanto verificou-se diferença significativa entre as morfologias antes e após os tratamentos químicos. Os CNTs sem tratamento apresentaram-se mais homogêneos e com tubos mais alongados. Quando o tratamento é realizado, observam-se tubos menores e mais deformados, indicando que o tratamento promove a formação de defeitos nas paredes dos tubos que são mais pronunciados para os CNT-TA, indicando que tal tratamento é mais agressivo. Para ambos os nanotubos foi possível observar uma dispersão homogênea, sem aglomerados de carbono amorfo ou impurezas.

4.2.3 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica foi utilizada para acompanhar a perda de massa com o aumento da temperatura. A Figura 15 mostra as curvas de TGA e a DTG, coletadas em atmosfera de ar sintético, dos CNT *Pristine* e tratados.

FIGURA 15: Curvas de TG E DTG OBTIDOS PARA (A) CNT-TB (B) CNT-TA E (C) CNT-P



FONTE: O autor (2018).

De acordo com os termogramas apresentados podemos observar que ocorreu uma significativa perda de massa em $T > 400^{\circ}\text{C}$, relativa à oxidação dos CNT a CO_2 . Para a amostra não tratada, os CNT se decompõem em 554°C decorrente da destruição das paredes dos nanotubos, os CNTs submetidos ao tratamento ácido em aproximadamente 614°C e os nanotubos submetidos ao tratamento básico em 603°C . As diferentes temperaturas de queima observadas para as CNTs certamente estão associadas à presença ou não de impurezas nas amostras. Para o tratamento ácido ocorre um aumento de temperatura no evento decorrente à carbonização. Isso pode estar atrelado ao fato da exposição a ácidos fortes remover impurezas naturais presentes no material precursor. O tratamento com base, não é tão eficiente na remoção das impurezas, apresentando temperatura de carbonização de aproximadamente 10°C menor que o observado para o tratamento ácido. Como esperado, a amostra que não foi

submetida a nenhum tratamento químico, apresentou menor temperatura de carbonização devido a quantidade maior de impurezas.

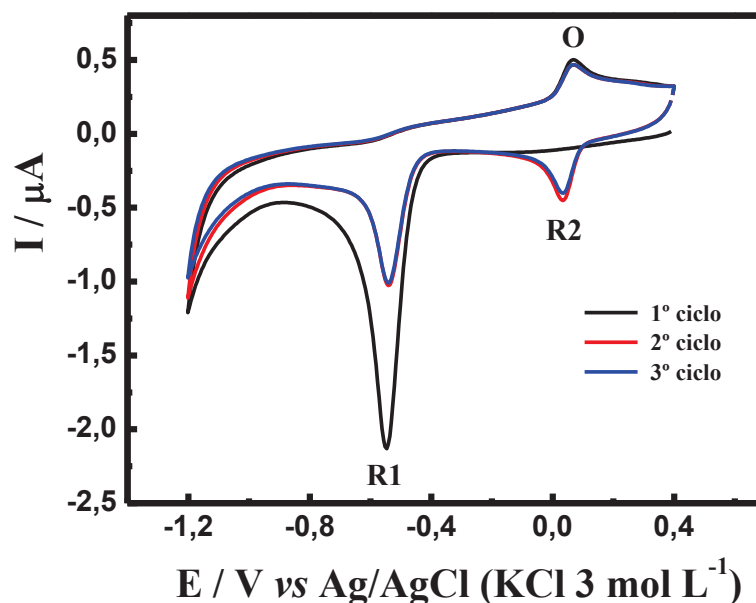
As caracterizações realizadas nos CNTs antes e após os tratamentos mostraram que houve alterações estruturais e morfológicas nos nanotubos após os tratamentos químicos. Os resultados de FTIR apresentaram a inserção de grupos funcionais oxigenados. Este resultado está em concordância com os dos espectros de XPS e Raman, nos quais foi possível observar que ocorre um aumento na quantidade de defeitos na estrutura dos nanotubos de carbono. Os defeitos puderam ser visualizados pelas imagens de MET, que apresentaram deformações e quebras dos tubos. Ainda Pelas curvas de TG foi possível observar que o tratamento ácido é o que melhor removeu impurezas que restaram na síntese do CNT-P.

4.3 Etapa 2: Construção e avaliação de um sensor eletroquímico empregando nanotubos de carbono quimicamente tratados para a determinação de metil paration.

4.3.1 Caracterização Eletroquímica do metil paration.

Para esta etapa do trabalho, utilizou-se um eletrodo de carbono vítreo como eletrodo base. A fim de investigar o comportamento eletroquímico e identificar os processos redox do analito a ser estudado, realizou-se medidas de voltametria cíclica, na presença de metil paration. A FIGURA 16 apresenta o voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo na presença de MP $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, na ausência de O_2 no intervalo de potencial de 0,4 a -1,2 V.

FIGURA 16: VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO NA PRESENÇA DE MP $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO pH = 5,0 COM 50 mV s^{-1} DE VELOCIDADE DE VARREDURA.



FONTE: O autor (2018).

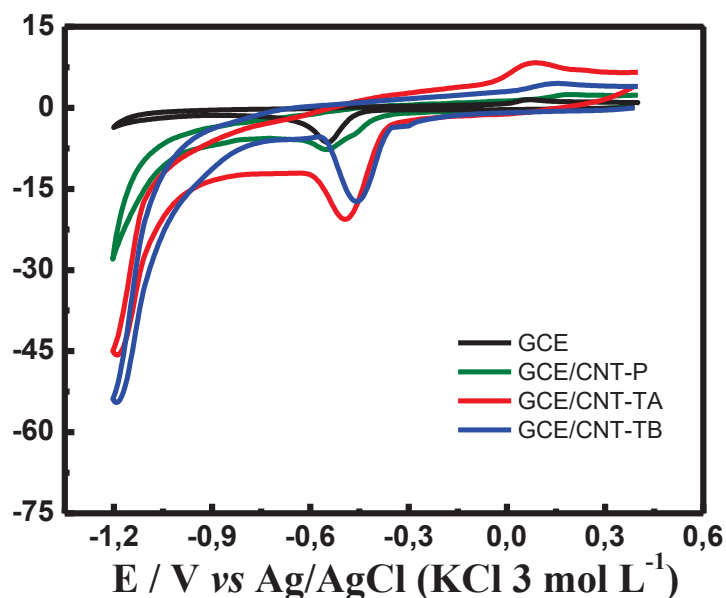
Como já descrito na literatura, o MP é uma molécula que apresenta processos redox bem definidos como pode ser observado na FIGURA 15. A reação se inicia em aproximadamente -0,4 V, neste potencial o grupo nitrofenil sofre um processo de redução irreversível (R1) formando a hidroxilamina, a reação envolve quatro elétrons em conforme equação (1), $E_p = -0,54 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl/KCl saturado). O produto formado por essa reação é oxidado ao correspondente grupo nitroso em $E_p = 0,06 \text{ V}$ (indicado como O). Em seguida, o grupo nitroso é reversivelmente reduzido ao correspondente hidroxilamina $E_p = 0,037 \text{ V}$ (R2), conforme reação (2) [25, 27, 83].



Os picos de corrente referentes aos processos reversíveis aumentam, ligeiramente sob ciclos contínuos, enquanto que o pico referente ao processo irreversível (R1) diminui significativamente. Este comportamento já foi observado por Zeng e colaboradores [38], no qual os autores afirmam que tal diminuição da intensidade de pico ocorre devido à menor disponibilidade das espécies envolvidas na reação a reação (1) na superfície do

eletrodo. Caracterizado o perfil voltamétrico do MP, realizou-se a modificação do eletrodo de carbono vítreo com os CNTs tratados quimicamente e o CNT *Pristine* (CNT-P). A FIGURA 17 apresenta o perfil voltamétrico obtido com os eletrodos construídos.

FIGURA 17: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO ELETRODOS: GCE (—), GCE/CNT-P (—), GCE/CNT-TA (—) E GCE/CNT-TB (—) NA PRESENÇA DE MP $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO pH=5,0



FONTE: O autor (2018).

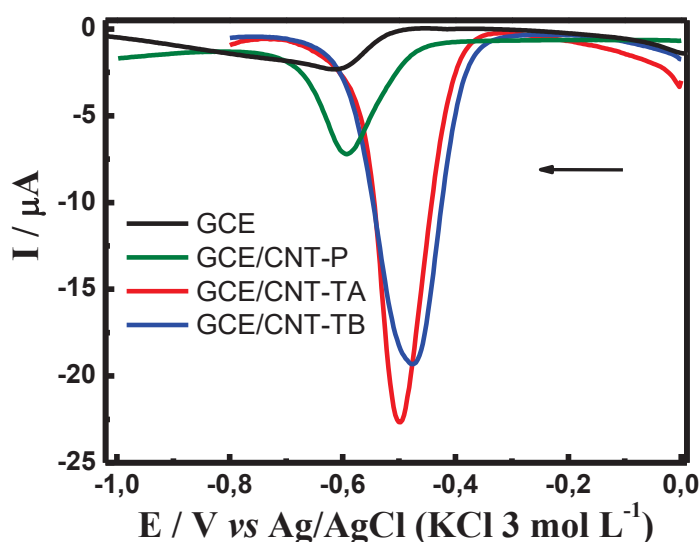
A modificação da superfície do eletrodo tem como principal objetivo a atribuição de novas características ao eletrodo de base, e dessa forma obter respostas de maior intensidade em relação ao dispositivo não modificado. Nos voltamogramas cíclicos, apresentados na FIGURA 17, foi possível observar os mesmos processos redox referentes ao MP, já mencionados, para todos os eletrodos avaliados (primeiro ciclo voltamétrico). Contudo, para os eletrodos modificados observou-se uma maior magnitude de corrente no processo irreversível. Para fins analíticos, o pico irreversível é mais conveniente de ser monitorado, uma vez que sua formação não depende de outros processos.

Entretanto a utilização da voltametria cíclica tem uma limitação em relação à sensibilidade, devido a corrente capacitiva, que é uma das principais componentes da corrente de fundo. A voltametria de pulso diferencial é uma técnica na qual apresenta modos alternados de aplicação de pulsos de potencial. A medida inicia-se em um

potencial onde não há processo faradaico. O primeiro par de pulsos consiste em um pulso de potencial para um valor E_1 , seguido por um pequeno pulso diferencial ΔE , para o valor E_2 . O potencial é, então, restabelecido ao valor do potencial inicial e os pulsos seguintes são semelhantes aos iniciais, porém, em sentido inverso, $-\Delta E$.

Nesta técnica há uma elevada sensibilidade a pequenos valores de corrente e grande diferenciação das correntes faradaica e capacitiva. Desta forma escolheu-se a voltamtria de pulso diferencial para os procedimentos analíticos. A FIGURA 18, apresenta o perfil voltamétrico obtido com os eletrodos construídos, para o processo de redução do grupo nitro para a hidroxilamina.

FIGURA 18: VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL PARA OS ELETRODOS: GCE (—), GCE/CNT-P (—), GCE/CNT-TA (—) E GCE/CNT-TB (—) NA PRESENÇA DE MP $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO pH=5,0



FONTE: O autor (2018).

De acordo com os apresentados os voltamogramas de pulso diferencial para todos os eletrodos na FIGURA 18, é possível observar que os eletrodos modificados com os CNT submetidos a tratamentos químicos apresentaram um ganho significativo corrente de pico (~ 7 vezes em relação ao eletrodo de carbono vítreo e ~ 3 vezes em relação ao CNT *Pristine*), além do potencial de redução do grupo nitro para hidroxilamina ser deslocado para valores menos negativos. A TABELA 5 apresenta os valores de potencial e correntes obtidos por meio das medidas de pulso diferencial.

TABELA 5: VALORES DE POTENCIAL E CORRENTE OBTIDOS PARA OS DIFERENTES ELETRODOS

Eletrodo	E (V)	I (μA)
GCE	-0,59	3,66
CNT-P	-0,57	6,03
NT-TA	-0,50	22,20

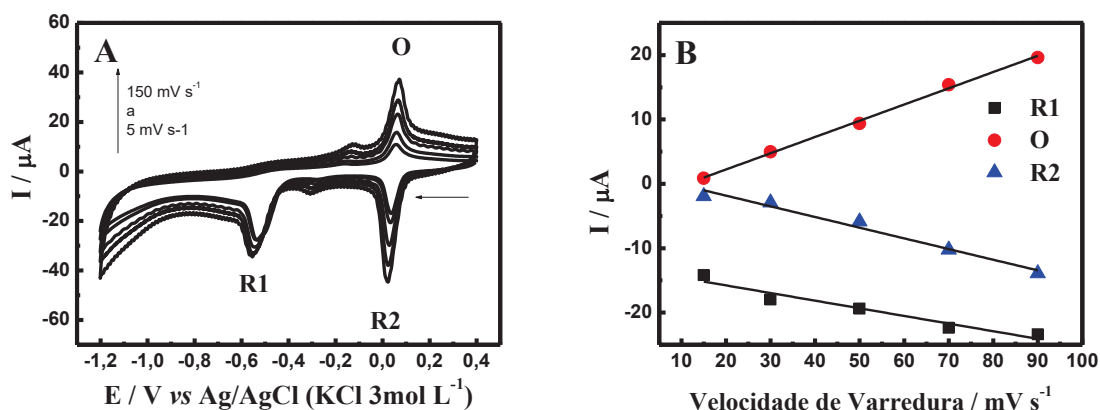
FONTE: O autor (2018).

Esse desempenho pode ser atribuído aos CNT que melhoram as propriedades de transferência eletrônica entre a superfície eletródica e o MP, além de um aumento na área superficial eletroativa, promovendo um aumento no valor da corrente de pico. Quando os CNTs são submetidos a tratamentos químicos, essas propriedades são mais pronunciadas e um forte efeito eletrocatalítico, traduzido por um deslocamento do potencial de pico para valores menos negativos (~ 100 mV). O ancoramento de grupos funcionais dispostos nas paredes dos tubos torna-os mais polares, e com maior facilidade para interagir com os grupos nitro presentes na estrutura do MP o que pode justificar o efeito da modificação da superfície do eletrodo sobre a resposta voltamétrica.

4.3.2 Influência das condições experimentais na resposta voltamétrica do sensor

O estudo do efeito da velocidade de varredura na resposta voltamétrica do sistema foi realizado a fim de compreender a natureza dos processos eletroquímicos do MP. Este comportamento foi investigado utilizando-se uma concentração constante de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ do analito, variando-se a velocidade de varredura de 5 a 150 mV s⁻¹. Os voltamogramas obtidos para o estudo estão representados na FIGURA 19:

FIGURA 19: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO MP $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (A) SOBRE O ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM CNT-TA E (B) CORRELAÇÃO I_p E v .

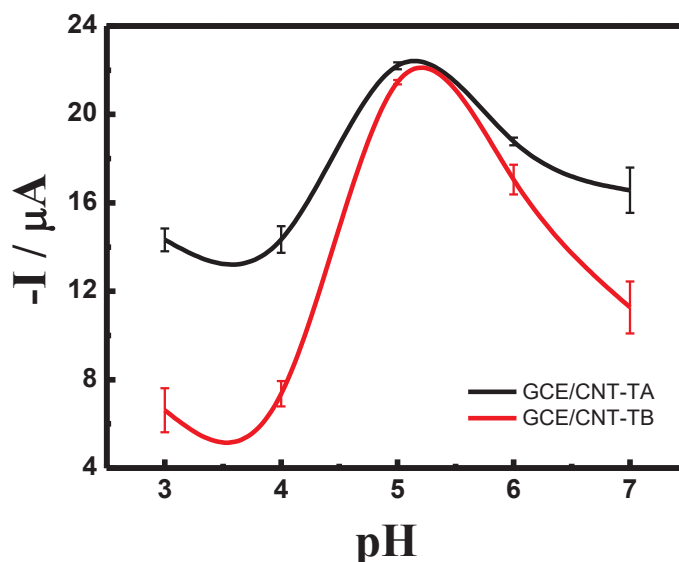


FONTE: O autor (2018).

A partir da FIGURA 19 (A), foi possível observar que houve um aumento das correntes de pico para os três processos com o aumento da velocidade de varredura. Ainda, conforme a FIGURA 19 (B), as correntes de pico do par redox reversível aumentaram linearmente em relação à velocidade de varredura. As equações de regressão linear obtidas para o processo reversível foram: $I_{\text{Oxi}} (\mu\text{A}) = -2,81v + 0,252$ (v em mV s^{-1}) ($R^2 = 0,9964$) e $I_2 (\mu\text{A}) = 1,485 v - 0,165$ ($R^2 = 0,9845$), indicando que a reação é controlada por um processo de adsorção. Já para o processo irreversível, a linearidade da I_p se deu em função da raiz quadrada da velocidade de varredura, com equação de regressão linear $I_{\text{R1}} (\mu\text{A}) = -1,014 v^{1/2} - 25,19$ ($R^2 = 0,98316$), indicando que o processo é controlado por difusão. Tal comportamento foi relatado no trabalho desenvolvido por Fan e colaboradores [84] que utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com CNT de parede única, e um líquido iônico como ligante, para a redução do MP. Os resultados deste estudo obtidos para os eletrodos modificados com CNT-P e CNT-TB foram similares, concordando entre si, por isso não foram colocados neste documento.

Visando potencializar a resposta do sistema, foi investigada a influência da variação do pH do eletrólito suporte (tampão acetato), em uma faixa de pH de 3,0 a 7,0. A FIGURA 20 ilustra a relação entre o pH e a corrente de pico do MP.

FIGURA 20: RELAÇÃO ENTRE A I_p COM O pH DO ELETRÓLITO SUPORTE COM $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP, PARA O ELETRODO MODIFICADO COM (A) CNT-TA E (B) CNT-TB. PARÂMETROS DA DPV: A= 50 mV , t= 50 ms E V= 1,5 mV s⁻¹, ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO (pH DE 3 A 6) E ACETATO/ ÁCIDO ACÉTICO pH=7,0



FONTE: O autor (2018).

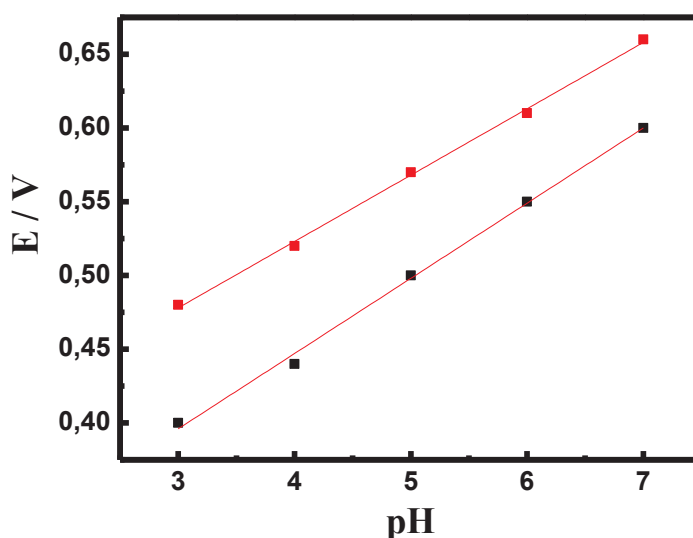
Para ambos os eletrodos foi possível observar uma mesma tendência, com o aumento da corrente até o pH 5,0 e a partir desse valor ocorre um decréscimo de corrente. Isto indica que a reação de redução do grupo nitro do MP para hidroxilamina é favorecida em pH = 5,0, conforme descrito em (1):



Observa-se ainda que o CNT-TB em valores de pH mais baixos (3 e 4) apresenta valores de corrente inferiores que para o CNT-TA. Tal evidencia está relacionada com os grupos funcionais oxigenados contidos na superfície de ambos os CNT. Enquanto que os CNT-TA apresentam majoritariamente grupos funcionais carboxílicos, o CNT-TB apresenta grupamentos com mais fracos. Vale ressaltar que o meio levemente ácido não favorece a reação de formação de hidrogênio, não interferindo na reação do MP [85]. De acordo com Kumar e colaboradores [86] os potenciais de oxidação e redução do MP são dependentes do pH do eletrólito suporte. De acordo com os autores, a redução do grupo nitro é favorecida pela presença de H^+ no meio. Entretanto os meios menos ácidos resultam na degradação do composto organofosforado e do H^+ que está

envolvido na redução irreversível do MP [87]. Observa-se ainda a ocorrência de um deslocamento no potencial de pico para valores mais positivos com o aumento do valor de pH. A FIGURA 21 apresenta a relação entre E_p vs pH para os eletrodos modificados com CNT-TA e CNT-TB.

FIGURA 21: RELAÇÃO ENTRE A I_p COM O pH DO ELETRÓLITO SUPORTE COM $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DE MP, PARA O ELETRODO MODIFICADO COM (A) CNT-TA E (B) CNT-TB. PARÂMETROS DA DPV: $A = 50 \text{ mV}$, $t = 50 \text{ ms}$ E $V = 1,5 \text{ mV s}^{-1}$, ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO (pH DE 3 A 6) E ACETATO/ ÁCIDO ACÉTICO pH=7,0



FONTE: O autor (2018).

O Essa dependência linear apresentou valor de inclinação de $60,0 \text{ mV pH}^{-1}$, valor muito próximo do teórico ($58,5 \text{ mV pH}^{-1}$), o que indica que a reação é regida pela transferência da mesma quantidade de prótons e elétrons.

4.3.3 Otimização dos parâmetros da Voltametria de Pulso Diferencial

Velocidade de varredura, tempo de pré-concentração e a modalidade escolhida são fatores que influenciam diretamente no tempo de uma determinação voltamétrica. Sendo assim, foi realizado um estudo para avaliar a influência de uma etapa de pré-concentração do analito na superfície eletródica anterior à varredura de potencial, e as respostas de corrente obtidas para o MP mostraram-se independentes em relação a este

parâmetro, indicando que não existe a pré-concentração do MP sobre o eletrodo assim, não há necessidade de efetuar esta etapa pois, não gerará incremento de sinal.

A modalidade voltamétrica escolhida foi voltametria de pulso diferencial, sendo necessária a avaliação dos seguintes parâmetros: velocidade de varredura (v), tempo de pulso (τ) e a amplitude de pulso (a). Para escolha do valor mais adequado do parâmetro avaliado foi considerada a maior intensidade da corrente de pico (I_p) e o alargamento do pico ($W_{1/2}$).

A Tabela 6 apresenta um resumo sobre a escolha dos parâmetros experimentais adotados na metodologia proposta empregando DPV para os eletrodos modificados com CNT-TA e CNT-TB.

TABELA 6: RESUMO DOS ESTUDOS DA METODOLOGIA E DA TÉCNICA DE DPV PARA OS ELETRODOS MODIFICADOS COM CNT.

Parâmetro	Estudado	Otimizado	
		CNT-TA	CNT-TB
pH	3 a 7	5	5
Tempo de pulso (τ)	5 a 100 ms	50 ms	50 ms
Velocidade de Varredura (v)	2 a 20 mV s ⁻¹	3 mV s ⁻¹	3 mV s ⁻¹
Amplitude (a)	5 a 100 mV	50 mV	50 mV

FONTE: O autor (2018).

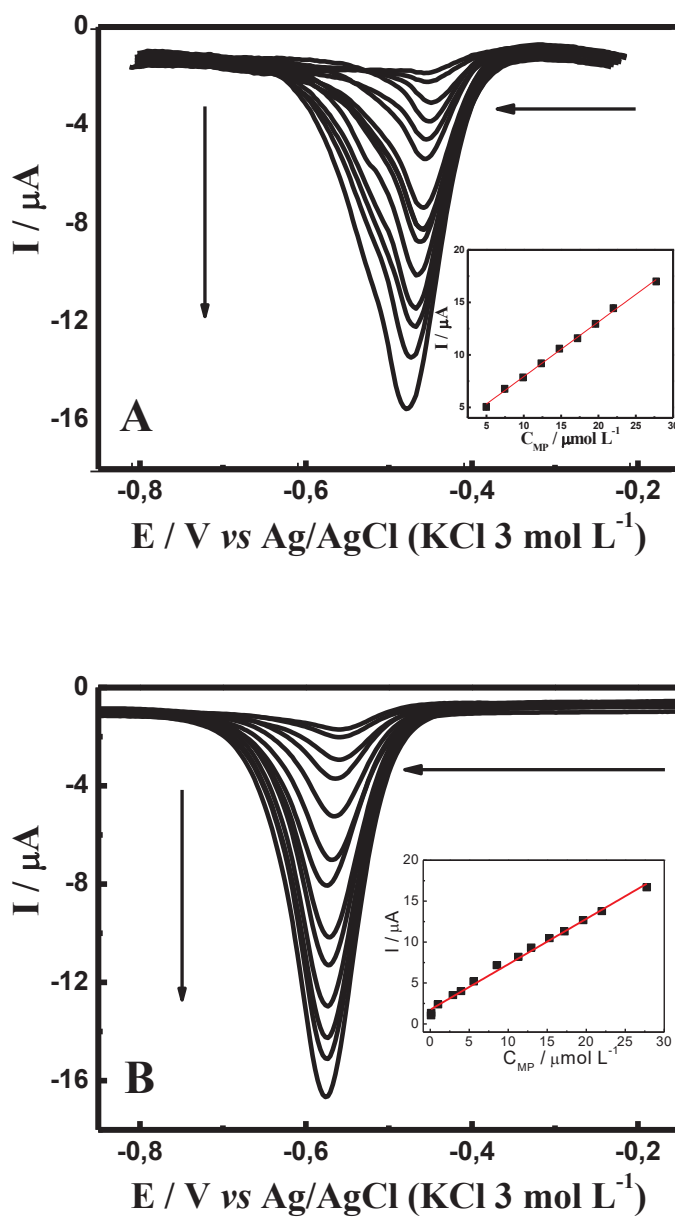
Estes valores serão utilizados posteriormente para a construção da curva analítica, para ambos os eletrodos, a fim de se obter os limites de detecção e quantificação e o intervalo de reposta dinâmica.

4.3.4 Avaliação da potencialidade analítica do sensor proposto

Empregando as condições experimentais escolhidas (Tabela 6), a curva analítica para o MP foi obtida realizando-se sucessivas e crescentes adições da solução padrão de MP à solução do eletrólito suporte. Na FIGURA 22 são apresentados os voltamogramas de pulso diferencial para as diferentes concentrações de MP. O pico escolhido para o monitoramento foi de redução do grupo nitro e formação da hidroxilamina, em $\sim -0,52$

V, uma vez que este é um processo independente. Observou-se que a corrente resultante é proporcional à concentração de MP e apresentou linearidade no intervalo de concentração estudado, com coeficiente de correlação da curva de 0,998.

FIGURA 22: VOLTAMOGRAMAS DE PULSO DIFERENCIAL NO INTERVALO DE $1,0 \times 10^{-7}$ A $3,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ EM ELETRÓLITO SUPORTE TAMPÃO ACETATO $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,0), $\tau = 50 \text{ ms}$; $a = 50 \text{ mV}$ E $\Delta E_S = 3 \text{ mV}$; (A) CNT-TA E (B) CNT-TB. INSERT: RESPECTIVAS CURVAS ANALÍTICA



FONTE: O autor (2018).

De acordo com os dados obtidos pelas curvas de $-I_{pc}$ vs C_{MP} foi possível obter uma faixa linear de $1,0 \times 10^{-7}$ a $3,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para os eletrodos modificados com os CNT submetidos a tratamentos químicos com as seguintes equações da reta:

$$\text{CNT-TA } i / \mu\text{A} = 2,72 + 0,52 C_{MP} / \mu\text{mol L}^{-1} \quad (4)$$

$$\text{CNT-TB } i / \mu\text{A} = 1,73 + 0,55 C_{MP} / \mu\text{mol L}^{-1} \quad (5)$$

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados de acordo com as seguintes equações, Onde S_b é a estimativa desvio padrão do branco e α é o coeficiente angular da reta [88]:

$$LD = 3S_b/\alpha \quad (6)$$

$$LQ = 10 S_b/\alpha \quad (7)$$

Os mesmos estudos foram realizados para o eletrodo modificado com o CNT sem tratamento. As figuras de mérito estão resumidas na Tabela 8.

TABELA 7: FIGURAS DE MÉRITO OBTIDAS PARA O MÉTODO PROPOSTO PARA DETERMINAÇÃO DE MP

Eletrodo	Faixa linear $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$	LD $\mu\text{mol L}^{-1}$	LQ $\mu\text{mol L}^{-1}$
CNT-P	0,10-9,9	0,14	0,82	2,5
CNT-TA	0,10-34	0,55	0,035	0,09
CNT-TB	0,10-34	0,52	0,033	0,12

FONTE: O autor (2018).

Na Tabela 7 foi possível observar que o valor da sensibilidade do eletrodo modificado com os CNTs quimicamente tratados foi quatro vezes maior em relação ao do CNT *Pristine*. Como consequência, os valores de limites de detecção e quantificação para o sensor proposto com o CNT tratado são menores quando comparados com os limites obtidos para o CNT-P, demonstrando a potencialidade para a sua aplicação na determinação de MP.

De acordo com os resultados de desempenho analítico obtidos para 3 eletrodos diferentes verificou-se que a funcionalização química é fundamental para melhorar os limites de detecção e quantificação do MP. Embora sejam diferentes tratamentos químicos adotados, os quais levam a CNT com funcionalizações distintas e organização superficial diferenciada, tais características pouco alteram os valores de LD e de sensibilidade para detecção MP. Uma comparação com trabalhos encontrados na literatura pode ser observada na Tabela 8.

TABELA 8: CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS MÉTODOS ELETROQUÍMICOS PARA A DETERMINAÇÃO COM MP COM CNT

Eletrodo	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A}[\mu\text{M}]^{-1}$)	Ref
MWCNT-PAAM	0,005-10	0,05	0,24	[38]
Surfactant/clay/GCE	0,4 – 8,5	0,07	0,576	[83]
Au/nafion/GCE	0,5 – 120	0,1	0,257	[27]
Au/MWCNTs	1,9 – 61	0,19	0,503	[28]
C/p-NiTSPc/CFME	0,038 – 38	0,15	0,021	[89]
MWCNTs/chitosan/GCE	0,19 – 7,6	0,019	-	[40]
CNT-TA	0,1 – 34	0,035	0,55	-
CNT-TB	0,10 – 30	0,033	0,52	-

PAAM= poliacrilamida. C/p-NiTSPc=ftalocianina tetrasulfanada de Ni. CFME= Microeletrodo de fibra de carbono.

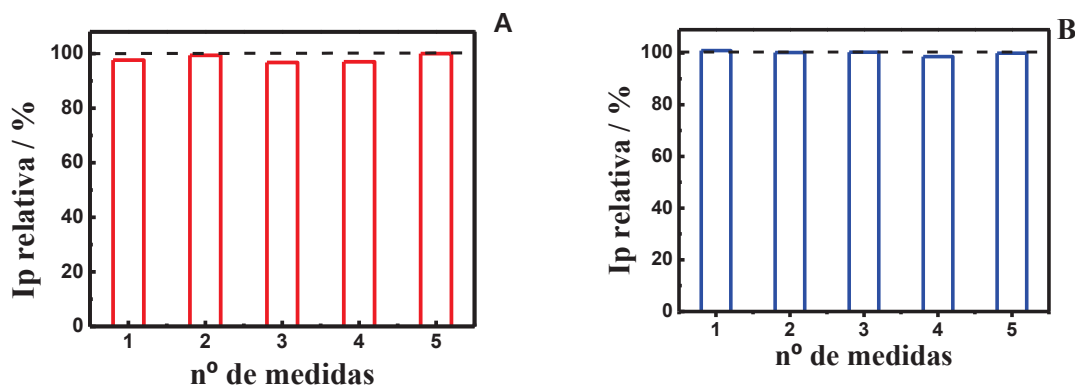
FONTE: O autor (2018).

A poliacrilamida (MWCNT-PAAM) e nanopartículas de ouro (Au/MWCNTs), que decoram ou modificam a superfície das paredes dos CNTs utilizados nos trabalhos citados na Tabela 8, auxiliam na determinação do MP. Sendo assim, o CNT empregado no presente trabalho, contendo apenas grupos funcionais na sua estrutura, apresentou um desempenho significativo na determinação do MP, indicando que o sensor proposto é equiparável aos citados pela literatura. Adicionalmente, distingue-se dos demais pela simplicidade experimental no processo de modificação química dos CNTs, uma vez que não necessita da incorporação de outras espécies, como por exemplo, nanopartículas de ouro, e pode ser aplicável obtendo-se expressivos valores de sensibilidade e baixos valores de limite de detecção.

4.3.4.1 Estudo de Repetibilidade e Reprodutibilidade

Visando aplicação do dispositivo estudado para fins eletroanalíticos, realizou-se o estudo de estabilidade da corrente de pico. A partir do valor de I_{pc} resultante da redução do grupo nitro para hidroxilamina, após ciclos consecutivos ($n = 5$) com a mesma superfície, na presença de $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MP, tanto para o eletrodo CNT-TA como para o CNT-TB, foi possível avaliar a repetibilidade da resposta eletroquímica como mostra a FIGURA 23. Os desvios-padrão relativos (RSD) foram calculados, de 1,9 e 2,5% para os eletrodos modificados com CNT-TA e CNT-TB, respectivamente. Esses valores não apresentam variação significativa e estão dentro do valor aceitável de 10,0% [88], sugerindo uma possível aplicação do dispositivo para fins analíticos.

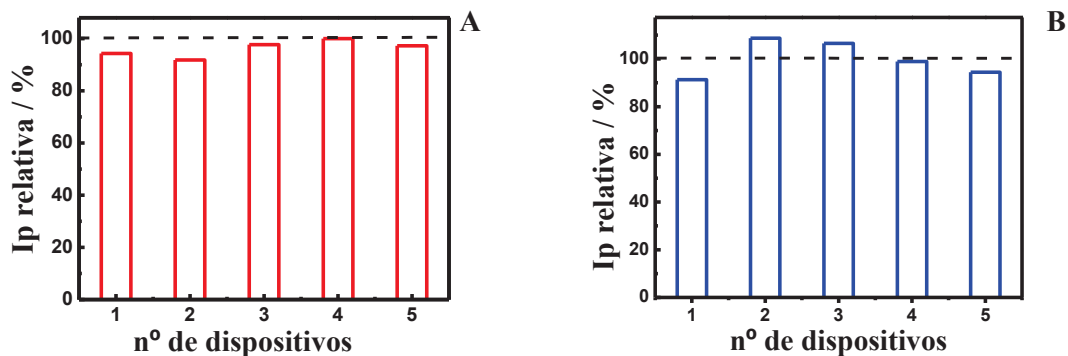
FIGURA 23: ESTUDO DE REPETIBILIDADE DA RESPOSTA DO SENSOR (A) CNT-TA E (B) CNT-TB NA PRESENÇA DE $1,0 \times 10^{-5} \text{ MOL L}^{-1}$ DE MP



FONTE: O autor (2018).

Para a avaliação da reprodutibilidade, foram comparadas as correntes de pico, referentes à redução do grupo nitro, obtidas para cinco diferentes eletrodos (cinco diferentes modificações), tanto para o CNT-TB quanto para o CNT-TA, a FIGURA 24 apresenta as respostas de correntes relativas obtidos por meio deste estudo:

FIGURA 24: ESTUDO DE REPRODUTIBILIDADE DA RESPOSTA DO SENSOR (A) CNT-TA E (B) CNT-TB NA PRESENÇA DE $1,0 \times 10^{-5} \text{ MOL L}^{-1}$ DE MP.



FONTE: O autor (2018).

De acordo com resultados apresentados na FIGURA 24, pode observar que os valores de desvio padrão alcançados para os CNT-TA e CNT-TB foram de 3,8% e 7,5%, respectivamente. Os resultados obtidos sugerem que o sensor apresentou adequadas características de estabilidade, precisão e robustez.

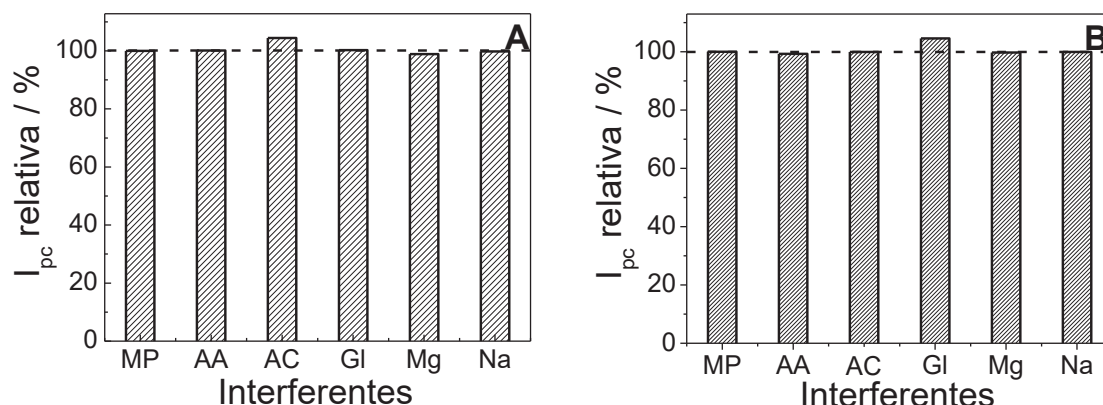
4.3.5 Aplicação do Método

Após a otimização dos parâmetros da metodologia analítica desenvolvida, o dispositivo construído foi empregado na determinação de MP em amostras de suco de manga fortificadas com o analito, em ensaios de adição e recuperação, a fim de verificar a exatidão do método proposto.

4.3.5.1 Estudo da influência de espécies concomitantes presentes nas amostras de sucos de manga

Foram realizadas medidas empregando os eletrodos modificados com os CNT-TA e CNT-TB para a determinação de MP na presença de possíveis interferentes – ácido ascórbico (AA), ácido cítrico (AC), glicose (Glu), magnésio (Mg) e sódio (Na) – presentes na composição dos sucos de manga, para verificar a influência dessas espécies na resposta do sensor frente ao MP. A concentração de MP foi mantida constante, em $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e foram adicionados a ele os possíveis interferentes em uma quantidade dez vezes maior ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). A FIGURA 25 apresenta os resultados obtidos.

FIGURA 25: VARIAÇÃO PERCENTUAL DAS CORRENTES DE PICO DE MP NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE CONCOMITANTES



FONTE: O autor (2018).

Os resultados indicaram que não houve influência significativa ($RSD < 5\%$) na resposta voltamétrica para os dois sistemas, principalmente porque os processos envolvidos na redução dessas espécies ocorrem em potencial diferente do analito. Análises prévias contendo apenas os interferentes mostraram que nenhum processo faradáico foi observado no intervalo de potencial do processo de redução do MP.

4.3.5.2 Estudos de Adição e Recuperação

De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) o metil paration é um pesticida comumente utilizado em cultivos de mangueiras, sendo permitido o limite máximo de resíduos (LMR) de 0,2 ppm ($6,86 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) [90]. Por esta razão, a metodologia proposta foi aplicada a fim de avaliar possíveis efeitos de matriz na determinação eletroanalítica de resíduos de MP em amostras de sucos de manga, representadas pela FIGURA 26.

FIGURA 26: AMOSTRAS DE SUCOS DE MANGA EMPREGADAS NOS ENSAIOS DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO



FONTE: O autor (2018).

Os resultados, apresentados em função de corrente, obtidos nos estudos de adição e recuperação foram substituídos na equação da reta obtida pelas curvas analíticas, descritas em (3) e (4), e as concentrações encontradas foram comparadas com aquelas adicionadas inicialmente. A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos:

TABELA 9: ESTUDOS DE RECUPERAÇÃO DE MP EM AMOSTRAS DE SUCO DE MANGA

Suco	Add (mol L ⁻¹)	<u>CNT-TA/GCE</u>		<u>CNT-TB/GCE</u>	
		Recuperado (mol L ⁻¹)	% rec	Recuperado (mol L ⁻¹)	% rec
Amostra A	1,0 x 10 ⁻⁷	1,05 x 10 ⁻⁷	105 ± 2,03	9,09 x 10 ⁻⁸	90,9 ± 2,88
	1,5 x 10 ⁻⁶	1,61 x 10 ⁻⁶	107 ± 1,51	1,29 x 10 ⁻⁶	86,0 ± 1,92
	1,0 x 10 ⁻⁵	9,94 x 10 ⁻⁶	99,2 ± 1,13	9,98 x 10 ⁻⁶	99,8 ± 1,98
Amostra B	1,0 x 10 ⁻⁷	1,09 x 10 ⁻⁷	109 ± 2,00	1,11 x 10 ⁻⁷	111 ± 2,05
	1,5 x 10 ⁻⁶	1,58 x 10 ⁻⁶	105 ± 1,04	1,55 x 10 ⁻⁶	103 ± 1,99
	1,0 x 10 ⁻⁵	1,08 x 10 ⁻⁵	108 ± 1,50	1,14 x 10 ⁻⁵	114 ± 2,14

FONTE: O autor (2018).

Os valores de concentração recuperados foram obtidos a partir da substituição dos valores de corrente de acordo com as equações da reta obtidos no item em 2.4.5:

$$\text{CNT-TA } i / \mu\text{A} = 2,72 + 0,52 C_{\text{MP}} / \mu\text{mol L}^{-1} \quad (4)$$

$$\text{CNT-TB } i / \mu\text{A} = 1,73 + 0,55 C_{\text{MP}} / \mu\text{mol L}^{-1} \quad (6)$$

As taxas de recuperação foram calculadas a partir da seguinte equação:

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{C_{\text{Recuperada}}}{C_{\text{Adicionada}}} \times 100 \quad (7)$$

A partir dos resultados de recuperação podemos observar-se que para o sensor construído com CNT-TA foi obtida uma faixa de recuperação entre 99 a 109 %, enquanto que para o CNT-TB a faixa obtida foi entre 86 a 114 %. As medidas eletroquímicas realizadas em amostras de suco sem fortificação não apresentaram qualquer resquício de MP em sua composição.

Nesta etapa, foi possível demonstrar que a oxidação química de nanotubos de carbono pode produzir nanomateriais com características de superfície distintas, que influenciam diretamente na resposta eletroquímica do pesticida metil paration. Ocorreu uma melhora significativa nas respostas de corrente e potencial, ao utilizar os eletrodos modificados com os CNT quimicamente tratados. Além disso, as características dos métodos propostos proporcionaram desempenho analítico semelhante e possibilitaram a detecção de MP em amostras reais utilizando uma estratégia simples, rápida e de baixo custo.

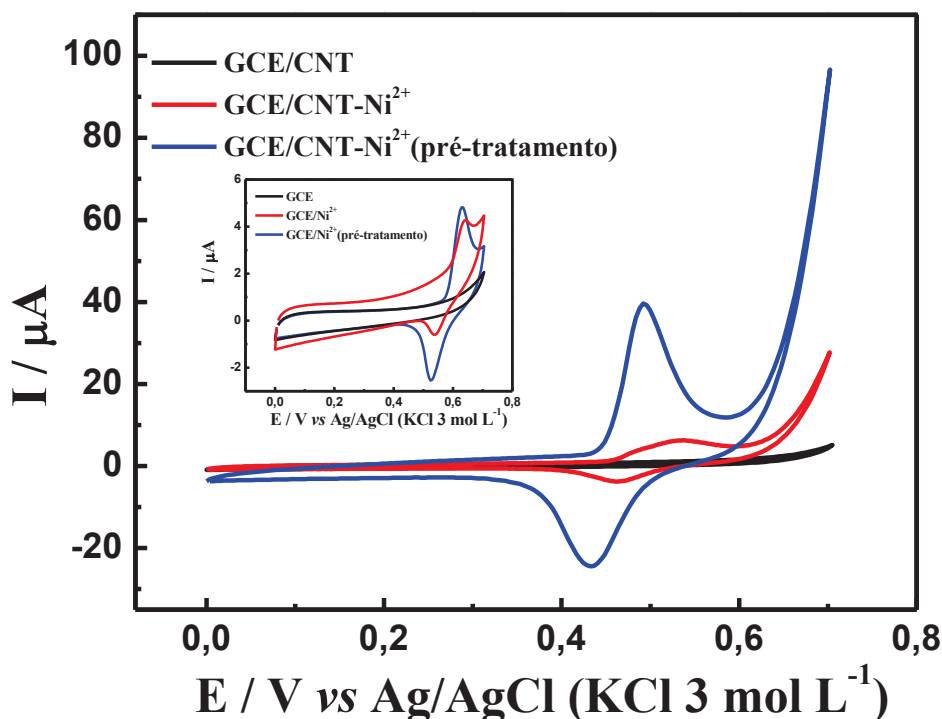
4.4 Etapa 3: Desenvolvimento de um sensor não-enzimático para determinação amperométrica de glicose empregando um eletrodo impresso de carbono (SPE) modificado com CNT e íons Ni^{2+} em um sistema microfluídico.

Nesta etapa, propomos a utilização dos CNT como uma plataforma para ancorar íons Ni^{2+} visando desenvolver um sensor não enzimático em um sistema microfluídico. Este sistema microfluídico é composto por uma base impressa em uma impressora 3D, fios de algodão, que serão utilizados como microcanais e um eletrodo impresso de carbono (SPE) modificado com CNT-Ni. A montagem do sistema é relativamente simples, entretanto demanda determinado tempo. Devido a isto, os estudos investigativos de como se comportam os íons Ni^{2+} suportado em CNT foram realizados em um eletrodo de carbono vítreo.

4.4.1 Comportamento Voltamétrico dos eletrodos modificados com CNT e íons Ni^{2+}

Como mencionado na sessão 3.4.1, para estudos iniciais foram utilizados eletrodos de carbono vítreo modificados com CNT, exatamente como na Etapa 2. Porém, nesta Etapa, os eletrodos modificados com CNT foram imersos em uma solução contendo íons Ni^{2+} em circuito aberto, para incorporação dos mesmos á superfície do eletrodo e posteriormente lavado e inserido na célula eletroquímica para realização das medidas. Contudo, um destes eletrodos, antes de ser inserido na solução contendo íons Ni^{2+} , foi sujeito a um pré-tratamento eletroquímico. Para isso, o eletrodo foi inserido na célula eletroquímica e realizou-se 5 ciclos voltamétricos em eletrólito de KOH 0,01 mol L^{-1} , na faixa de potencial de 0,0 a 0,7 V. Depois do pré-tratamento, o eletrodo foi submetido a incorporação de íons Ni^{2+} . Na FIGURA 27 apresenta o perfil voltamétrico obtido para os eletrodos de carbono vítreo (GCE) modificado com CNT após a etapa de incorporação de íons Ni^{2+} .

FIGURA 27: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO GCE MODIFICADO COM CNT-NI EM KOH 0,01 MOL L^{-1} , COM 25 mV s^{-1} DE VELOCIDADE DE VARREDURA. INSERT: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DO GCE SEM MODIFICAÇÃO COM CNT



FONTE: O autor (2018).

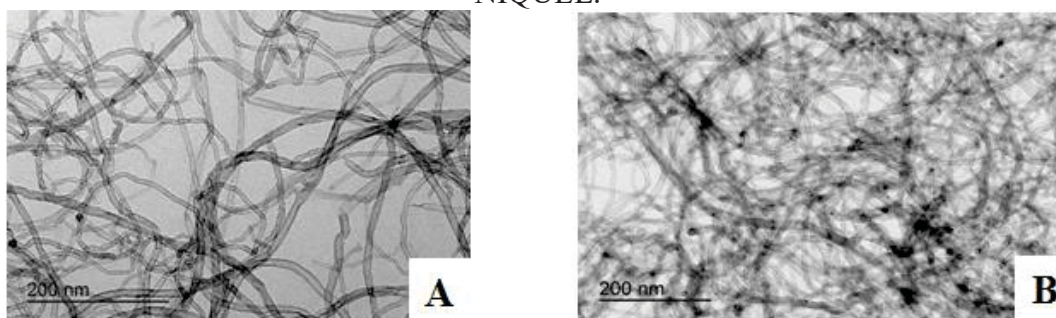
De acordo com os voltamogramas obtidos, é possível observar que não há corrente faradaica para os eletrodos GCE e GCE-CNT, comportamento já esperado, uma vez que ambos não foram submetidos à etapa de incorporação de íons níquel. Após a etapa de incorporação de íons Ni^{2+} , o perfil voltamétrico obtido para esses eletrodos foi comparado a aquele verificado para eletrodos que não receberam nenhum pré-tratamento. Os voltamogramas em vermelho são referentes a esses eletrodos modificados ou não CNT, e incorporação de Ni^{2+} (Etapas 1 e 2 da FIGURA 7). Os voltamogramas em azul são referentes aos eletrodos que, anterior à incorporação, foram submetido a um pré-tratamento. A partir dos voltamogramas da FIGURA 27, foi possível observar a presença dos processos faradâicos característicos do par redox $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ para ambos os eletrodos. Porém, quando os eletrodos são submetidos ao pré-tratamento voltamétrico, o perfil de resposta obtido é mais definido com valores de corrente consideravelmente superiores, aquele obtido para o eletrodo modificado sem o pré-tratamento. Tal comportamento pode estar relacionado ao fato de que com a ciclagem em meio alcalino, ocorre a desprotonação dos grupos ácidos o que melhora a incorporação de espécies de Ni^{2+} . Para ambos os eletrodos foi possível obter os processos referentes ao par redox $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$, entretanto, com a modificação com nanotubos de carbono os E_p são deslocados para valores menos positivos, com um aumento na corrente de até 30 vezes. A ciclagem depois da pré-concentração em meio alcalino, gera uma camada de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ na superfície do eletrodo sendo a reação de transferência de carga envolvida na formação desta espécie eletrocatalítica associada ao par $\text{Ni}(\text{OH})_2 / \text{NiOOH}$.

O mecanismo experimental é mais complexo, uma vez que ambas as formas, $\text{Ni}(\text{OH})_2$ e NiOOH , podem assumir duas estruturas distintas, denominadas como fases α e β [91]. A fase α , que possui uma menor organização e maior distância interlamelar ($\sim 7,0 \text{ \AA}$), apresenta picos mais intensos e deslocados para menores valores de potencial que a fase β , que possui estruturação das lamelas elevada e uma distância interlamelar menor ($\sim 4,5 \text{ \AA}$). Além de assumirem diferentes formas, outra questão é que o eletrólito participa da reação [92]. De acordo com Kim e colaboradores [93] na fase $\alpha\text{-Ni}(\text{OH})_2$ ocorre processo de intercalação/desintercalação envolvendo cátions e moléculas hidratação. Na fase $\beta\text{-Ni}(\text{OH})_2$, por outro lado, ocorre o processo de intercalação/desintercalação de íons H^+ , OH^- . Entretanto, durante a transformação da

fase α -Ni(OH)₂ para β -Ni(OH)₂, forma-se uma fase intermediária que se comporta como uma única fase eletroquimicamente [93]. O uso do níquel em sensores eletroquímicos é baseado no par redox Ni(OH)₂ /NiOOH em meio alcalino, em que o NiOOH é a espécie eletrocatalíticas [94-97]. A eletrocatalise é realizada por um mecanismo complexo envolvendo diferentes estruturas estáveis de hidróxido de Ni e oxihidróxido (α -Ni(OH)₂/ β -Ni(OH)₂ e γ -NiOOH/ β -NiOOH) [92, 98, 99].

Medidas de microscopia eletrônica de transmissão foram realizadas, a fim de confirmar a presença de níquel na superfície dos CNTs. A FIGURA 28 apresenta as imagens obtidas após o processo realizado na Etapa 2 do procedimento voltamétrico.

FIGURA 28: IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DOS CNT (A) NA AUSÊNCIA E (B) NA PRESENÇA DE NÍQUEL.



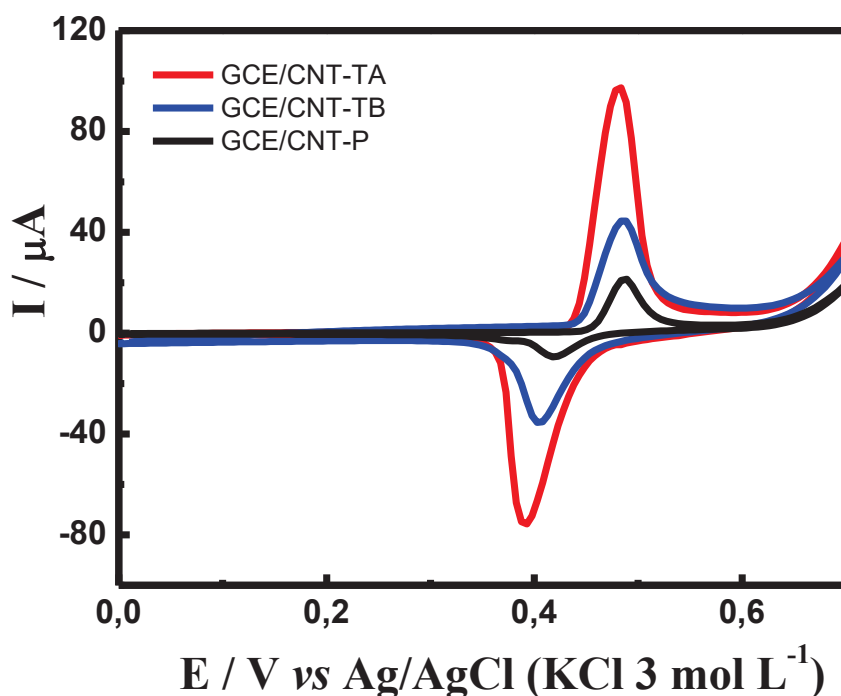
FONTE: O autor (2018).

Na FIGURA 28 A foi possível observar a distribuição dos nanotubos de carbono e em algumas regiões foram encontrados pontos mais escuros. Isto ocorre devido ao tratamento ácido, que gera defeitos nas extremidades dos tubos, que resulta na inserção de grupos funcionais. O diâmetro médio das paredes destes nanotubos mede em torno de 12 nm, com distribuição homogênea. Quando estes nanotubos são submetidos a incorporação de níquel (FIGURA 28 B), observou-se que o níquel recobre quase toda a superfície das paredes dos CNT com pequenas partículas.

4.4.2 Avaliação da capacidade dos CNTs para incorporação de íons Ni²⁺

A fim de avaliar e comparar o desempenho dos CNTs quimicamente tratados e *Pristine* (não tratados) para a incorporação dos íons níquel (II) um estudo comparativo foi realizado, submetendo os eletrodos modificados às etapas de pré-concentração e leitura descrita no procedimento experimental anteriormente citado. A FIGURA 29 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos:

FIGURA 29: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS REFERENTE A ETAPA 2 DO PROCEDIMENTO VOLTAMTRICO PARA OS ELETRODOS MODIFICADOS COM OS DIFERENTES CNT

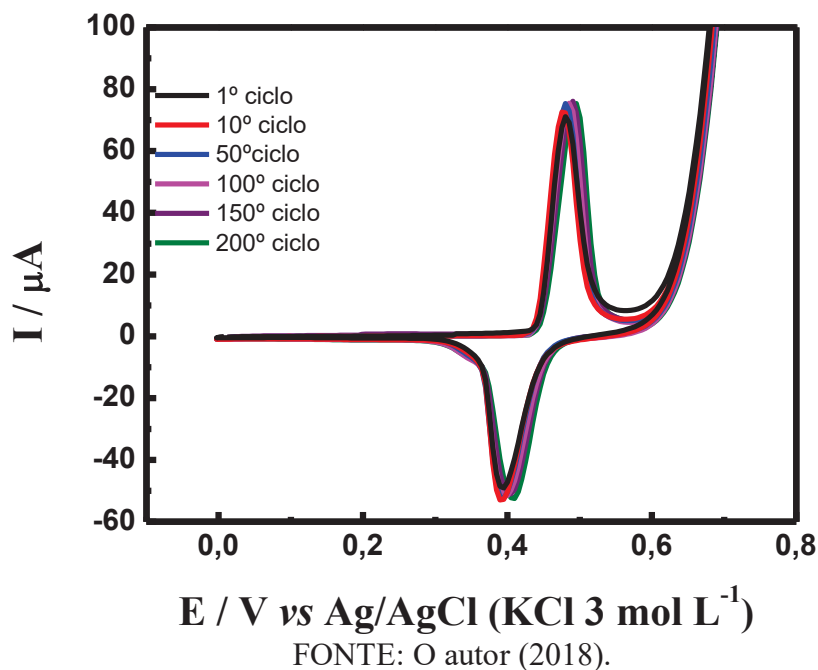


FONTE: O autor (2018).

De acordo com a FIGURA 29 o melhor desempenho de incorporação dos íons níquel (II) foi o do eletrodo modificado com os CNT-TA. Possivelmente o desempenho do CNT-TB apresenta-se inferior ao CNT-TA pelos efeitos causados durante o tratamento químico. Como visto na Etapa 1 desta tese, por meio das imagens de MET, o tratamento básico apresentou-se menos agressivo. O meio fortemente alcalino favoreceu a inibição dos grupos funcionais inseridos no CNT-TB, diminuindo a capacidade de incorporação de níquel. Por esta razão utilizou-se o CNT-TA para as medidas posteriores.

A fim de avaliar a estabilidade do sinal obtido referente a reação redox $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$, eletrodo CNT-TA-Ni foi submetido a 200 ciclos voltamétricos e a resposta pode ser observada na FIGURA 30:

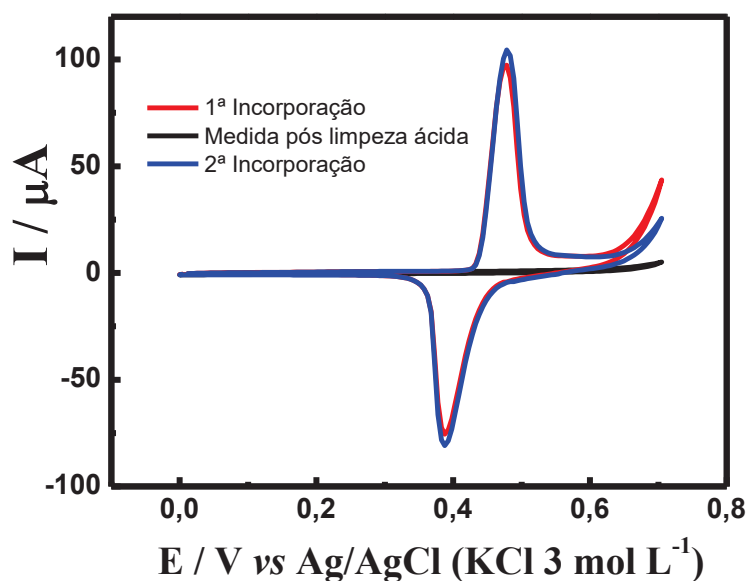
FIGURA 30: ESTABILIDADE DO SINAL OBTIDO PARA O CNT-TA APÓS 200 CICLOS CONSECUTIVOS, EM KOH 0,01 mol L⁻¹ A 25 mV s⁻¹.



O eletrodo modificado com CNT-TA-Ni, mesmo submetido a 200 ciclos sucessivos, apresentou um sinal estável, após vários ciclos, não houve diferenças significativas tanto nos valores de corrente como valores de potencial como pode ser visualizados na FIGURA 30.

Na sequência, foi avaliado o desempenho do CNT como plataforma para incorporar íons níquel, em termos da reutilização da mesma superfície para diferentes etapas de incorporação. Para este estudo, foi empregada a etapa de “limpeza” da superfície imergindo o eletrodo em uma solução ácida (HCl 0,1 mol L⁻¹) por 5 min. As medidas voltamétricas representativas desses estudos estão apresentadas na FIGURA 31:

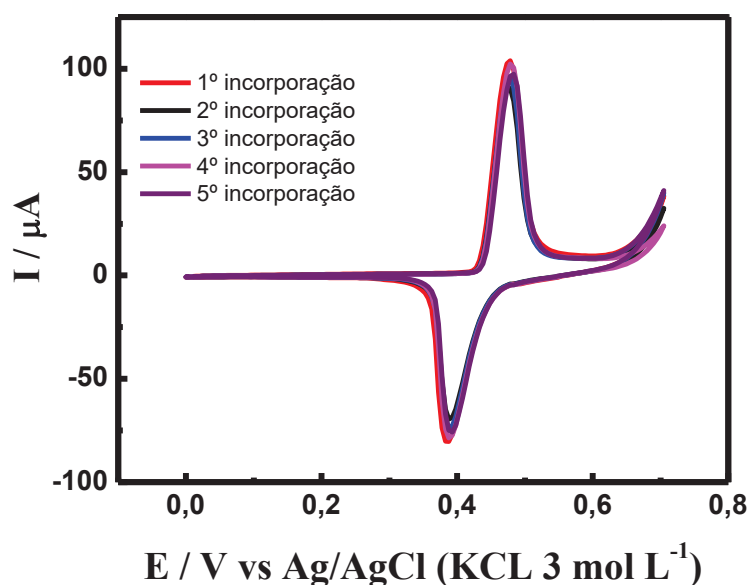
FIGURA 31: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS (A) APÓS AS TRES ETAPAS DO PROCEDIMENTO VOLTAMETRICO COM PRÉ-CONCENTRAÇÃO E LIMPEZA



FONTE: O autor (2018).

A FIGURA 31 apresenta diferentes voltamogramas cíclicos obtidos para diferentes etapas: em vermelho refere-se ao eletrodo modificado com CNT-TA-Ni na etapa 2 do procedimento voltamétrico, ou seja, para a estabilização do sinal do níquel; em preto consta o eletrodo modificado com CNT-TA-Ni após a etapa de limpeza, não sendo observado sinal referente as espécies de níquel; e, em azul tem-se o eletrodo modificado com CNT-TA que foi novamente submetido às Etapa 1 e 2 do procedimento voltamétrico. Foi possível observar que o sinal referente às espécies de níquel se restabeleceu, em magnitude semelhante àquela obtida para a primeira incorporação. Realizou-se este procedimento consecutivamente por 5 vezes, como mostra a FIGURA 32.

FIGURA 32: VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS APÓS REPETIÇÃO DE CINCO VEZES DO PROCEDIMENTO VOLTAMETRICO COM INCORPORAÇÃO E LIMPEZA

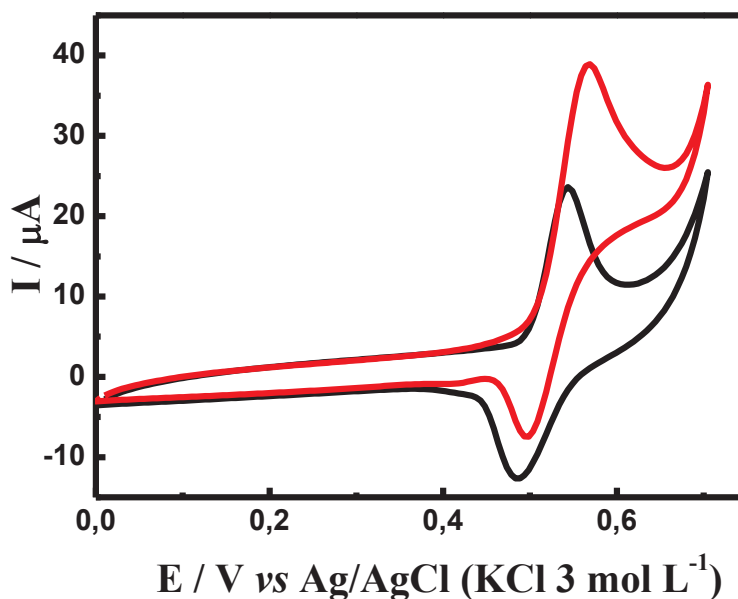


FONTE: O autor (2018).

A partir dos voltamogramas (FIGURA 32), foi possível observar que, mesmo após 5 ciclos variados entre limpeza e pré-concentração consecutivos, não houve mudanças relevantes nos valores de corrente e potencial, indicando que a superfície dos nanotubos ancorados no eletrodo base é restabelecida após a limpeza ácida e a capacidade de pré-concentração dos íons se mantém estável. Diferentes eletrodos foram construídos e avaliados de maneira semelhante, os resultados referentes a esses estudos demonstraram uma variação de 5,42 % nos valores das correntes de pico sugerindo uma boa reprodutibilidade na construção do sensor.

Os resultados demonstram que é possível ancorar íons níquel sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo, modificado com CNT previamente tratados, e obter um comportamento voltamétrico estável com relação ao processo $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ o que permite que esse par redox possa ser explorado para outros fins. A partir dos resultados supracitados, foi realizada a investigação da resposta do eletrodo modificado com CNT-TA-Ni na presença de glicose, $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, apresentados na FIGURA 33:

FIGURA 33: VOLTAMOGRAFAS CÍCLICAS DO ELETRODO CNT-TA-Ni EM MEIO DE KOH 0,1 mol L⁻¹ NA AUSÊNCIA (—) E NA PRESENÇA (—) DE 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ DE GLICOSE.



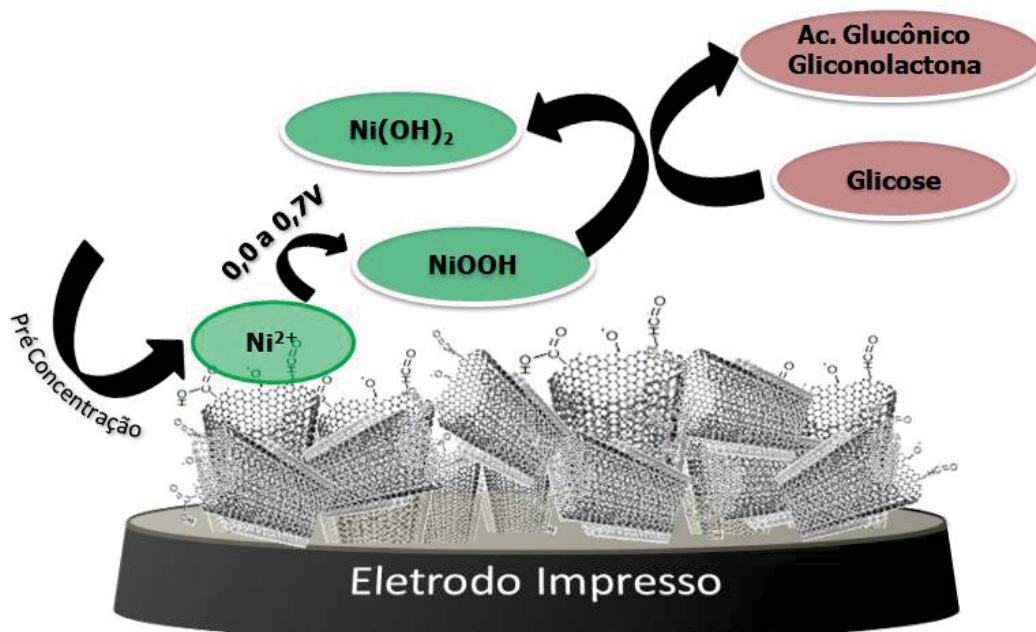
FONTE: O autor (2018).

No voltamograma em preto apresentado na FIGURA 33, na ausência da glicose, observou-se o processo de formação do NiOOH em 0,54 V, espécie altamente reativa, que se converte em do Ni(OH)₂ em 0,48 V (Equação 8). Quando a glicose foi adicionada, voltamograma em vermelho, observou-se que houve um aumento da corrente de pico da oxidação do NiOOH e uma diminuição da corrente de redução do Ni(OH)₂. O mecanismo da reação entre o NiOOH e a glicose é descrito abaixo:



A proposta de funcionamento é baseada na oxidação da glicose promovida quimicamente pelo NiOOH, isso leva a formação de Ni²⁺ e com o potencial sendo favorável, o Ni²⁺ é re-oxidado ao estado Ni³⁺ gerando um aumento na corrente de oxidação. A diminuição na corrente de redução é ocasionada devido a parte das espécies de NiOOH serem consumidas na catálise da glicose. A FIGURA 34 ilustra o que ocorre na superfície do eletrodo:

FIGURA 34: ESQUEMA ILUSTRATIVO DAS ETAPAS ENVOLVIDAS NA OXIDAÇÃO DA GLICOSE.



FONTE: O autor (2018).

Resultados semelhantes foram obtidos por Shamsipur e colaboradores [100] os quais utilizaram eletrodos de carbono vítreo modificado com nanocompósito de níquel/nanotubos de carbono. Os autores realizaram uma comparação com um eletrodo modificado apenas com níquel e observaram que a eletrocatalise da glicose foi obtida com melhor desempenho na presença do nanocompósito. Isto demonstra que os CNTs utilizados como suporte de catalisador para oxidação de glicose em meio alcalino aumenta significativamente a reatividade do eletrodo. Este aumento e o alto desempenho de atividade eletrocatalítica podem ser atribuídos à estrutura única e a grande razão de área em relação ao volume dos CNTs, bem como à interação específica entre óxido de níquel e CNTs.

4.4.3 Desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos utilizando μ TED com eletrodos de carbono impressos modificados com CNT-TA- Ni^{2+} .

Para a determinação amperométrica de glicose utilizando um sistema miniaturizado utilizou-se como detector o eletrodo de carbono impresso modificado com CNT-Ni (SPE/CNT-Ni), que é uma plataforma mais adequada ao sistema microfluídico. O perfil voltamétrico obtido para o SPE/CNT-Ni foi semelhante ao

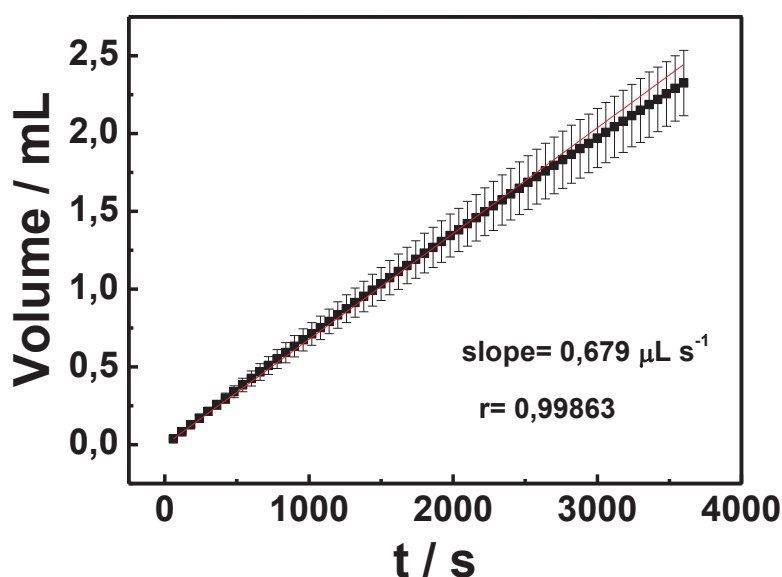
eletrodo de carbono vítreo modificado com CNT-Ni, entretanto ocorreu um pequeno deslocamento de potencial devido ao eletrodo de referência Ag/AgCl do SPE ser mantido em sistema aberto (chamado de pseudo eletrodo de referência). Entretanto tal fato, não inibe a potencialidade do SPE na determinação de glicose.

Vários parâmetros referentes ao sistema μ TED foram utilizados com base no trabalho de Agustini e Colaboradores [101]. Entretanto alguns parâmetros experimentais foram averiguados, sendo eles: vazão do eletrólito suporte, potencial de determinação e volume de injeção.

4.4.3.1 Avaliação da vazão do eletrólito suporte

De modo a avaliar a vazão de solução no dispositivo microfluídico, foi realizado o monitoramento da variação de massa do reservatório de saída, sendo essa variação referente à quantidade de solução que fluiu pelo dispositivo, e teve início quando a primeira gota de solução foi carregada pelos microcanais. A cada 30 segundos, a massa do reservatório de saída foi registrada, com o auxílio de uma câmera, visando melhorar a precisão das medidas, e os valores obtidos foram convertidos em volume utilizando a densidade de solução $0,9971 \text{ g cm}^{-3}$. O fluxo foi obtido pela razão entre o volume de solução e o tempo, apresentado na FIGURA 35:

FIGURA 35: RELAÇÃO ENTRE O VOLUME DE SOLUÇÃO QUE FLUI ATRAVÉS DO μ TED E TEMPO. AS BARRAS DE ERRO REPRESENTAM O $\pm$ SD DE TRÊS DISPOSITIVOS AVALIADOS:



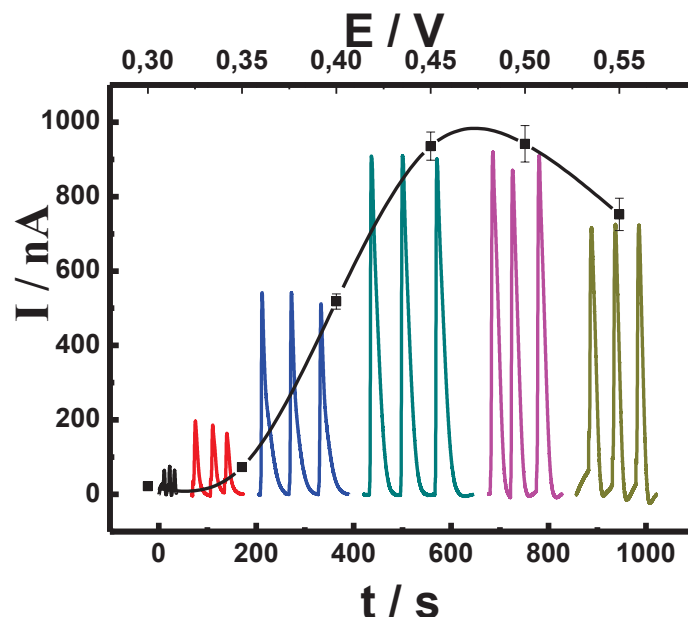
FONTE: O autor (2018).

Foi possível perceber, através do gráfico acima, que o volume da solução no reservatório de saída aumenta linearmente com o aumento do tempo ($R = 0,9986$), indicando um fluxo contínuo e livre de oscilações significativas durante, pelo menos, 60 minutos. Uma vazão de $0,697 \mu\text{L s}^{-1}$ foi obtida a partir da inclinação da curva de volume vs. tempo, valor este adequado para a realização de ensaios analíticos sequenciais e em fluxo. O valor encontrado é comparável com outros dispositivos relatados na literatura (entre $0,36$ e $1,12 \mu\text{L s}^{-1}$) que também utilizaram o transporte de soluções através do μTED [61, 62, 101]. A utilização de fios de algodão facilita a passagem do eletrólito e aumentam efeito de capilaridade devido a área superficial. Além disso, existe fluxo devido aos espaços presentes entre as fibras que compõe o fio, as quais atuam como uma bomba passiva e eliminam a necessidade da utilização de qualquer força externa para o transporte dos líquidos como já relatado por Lisowski e colaboradores [58].

4.4.3.2 Determinação do potencial aplicado para a determinação de glicose.

A influência do potencial aplicado foi investigada entre os potenciais $0,30 \text{ V}$ e $0,55 \text{ V}$. Os valores de corrente de pico para cada potencial aplicado foram traçados, bem como os sinais transientes obtidos, apresentados na FIGURA 36:

FIGURA 36: ESTUDO DE POTENCIAL APLICADO NO SPE/CNT-Ni PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.



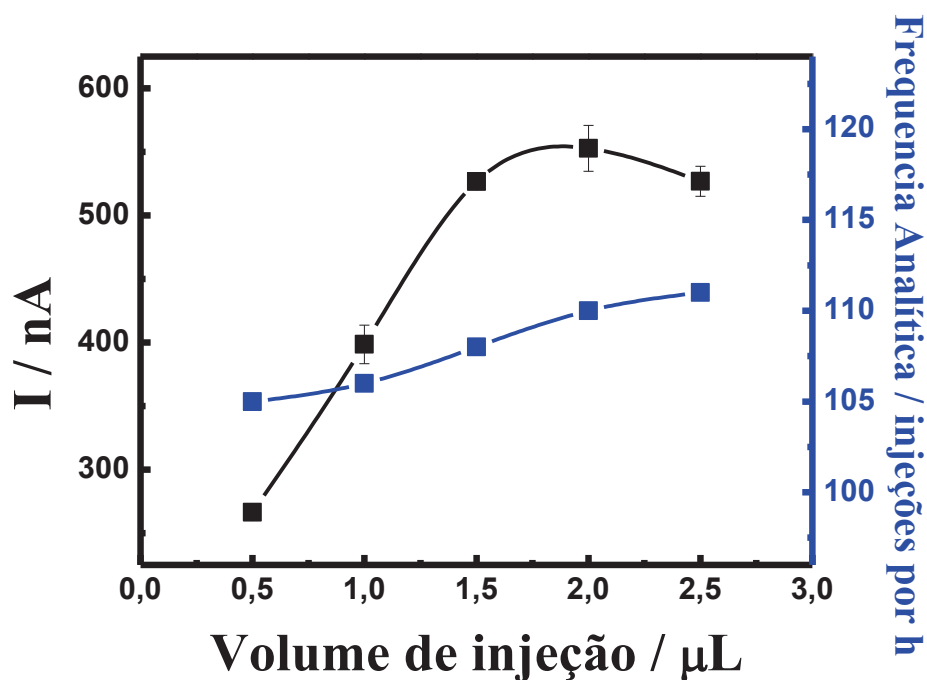
FONTE: O autor (2018).

De acordo com FIGURA 36 foi possível observar que há um aumento na intensidade da corrente de pico até $E_p = 0,45 \text{ V}$, que se mantém em $E_p = 0,50 \text{ V}$ e após, a corrente decresce. O valor do $E_p = 0,45 \text{ V}$ é aproximadamente 100 mV posterior à oxidação do NiOOH , suficiente para gerar a espécie reativa de níquel e aumentar o desempenho da eletrocatalise da glicose, sendo o escolhido para as análises posteriores.

4.4.3.3 Avaliação do volume de amostragem na determinação de glicose.

O volume de injeção do analito também foi avaliado, de 0,5 a 2,5 μL , para injeções de concentração de $1,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de glicose, valores maiores acarretam em um vazamento da solução dos microcanais do dispositivo. Como parâmetros avaliados para a escolha do melhor volume de injeção, além da magnitude do sinal transiente foi considerada a frequência analítica (número de injeções por hora). A FIGURA 37 apresenta os valores de corrente obtidos para cada volume de injeção bem como a frequência analítica.

FIGURA 37: EFEITO DO VOLUME DE INJEÇÃO DA AMOSTRA, NA RESPOSTA DE OXIDAÇÃO DA GLICOSE.



FONTE: O autor (2018).

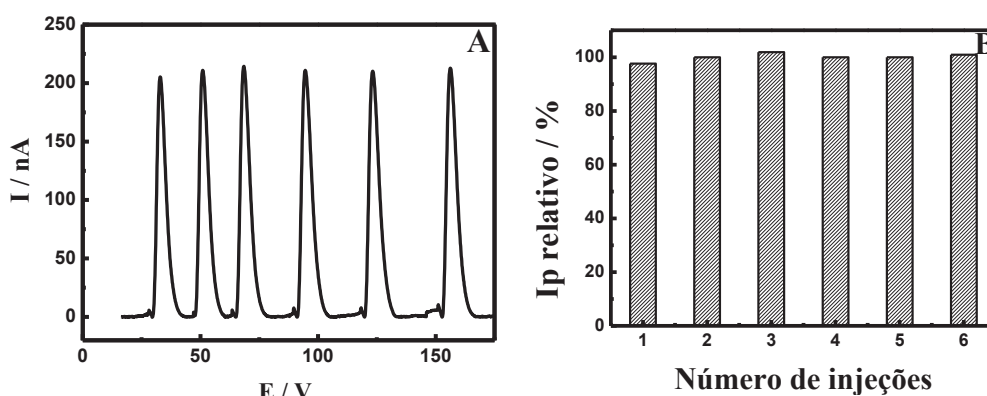
Pode-se observar, na FIGURA 37, que ocorreu um aumento linear da corrente quando o volume aumentou de 0,5 até 1,5 μL . Isto se deve a menor dispersão da área central da amostra quando maiores volumes são injetados. Após atingir um pico de corrente máximo no volume de injeção de 1,5 μL , não há variação significativa na corrente para volumes superiores. Tal comportamento está associado ao fato de que o canal microfluídico estar possivelmente saturado, incapaz de suportar injeções maiores que 2,5 μL . A estimativa da frequência analítica também foi apresentada na FIGURA 24 e não houve variações significativas, obtendo-se valores entre 105 e 111 injeções por hora. Por este motivo, levando em consideração a corrente de pico e a frequência analítica, escolheu-se o volume de injeção da amostra de 1,5 μL para análises posteriores.

4.4.3.4 Estudos de repetibilidade

Para garantir que os resultados obtidos sejam confiáveis e possam ser utilizados para a determinação das espécies de interesse, é fundamental que um dispositivo microfluídico apresente repetibilidade entre as medidas. No μTED , parâmetros tais como oscilação do fluxo do eletrólito, variações na injeção do analito, retenção do

analito na zona de detecção e passivação da superfície dos eletrodos, podem interferir na repetibilidade das respostas. Desta forma, a repetibilidade do μ TED foi avaliada com sucessivas injeções de 1,5 μ L de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de glicose, como pode ser observado na FIGURA 38.

FIGURA 38: (A) SINAIS TRANSIENTES E (B) CORRENTE RELATIVA OBTIDOS PELO μ TED A PARTIR DE INJEÇÕES DE 1,5 μ L DE GLICOSE $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. E= 0,45 V)



FONTE: O autor (2018).

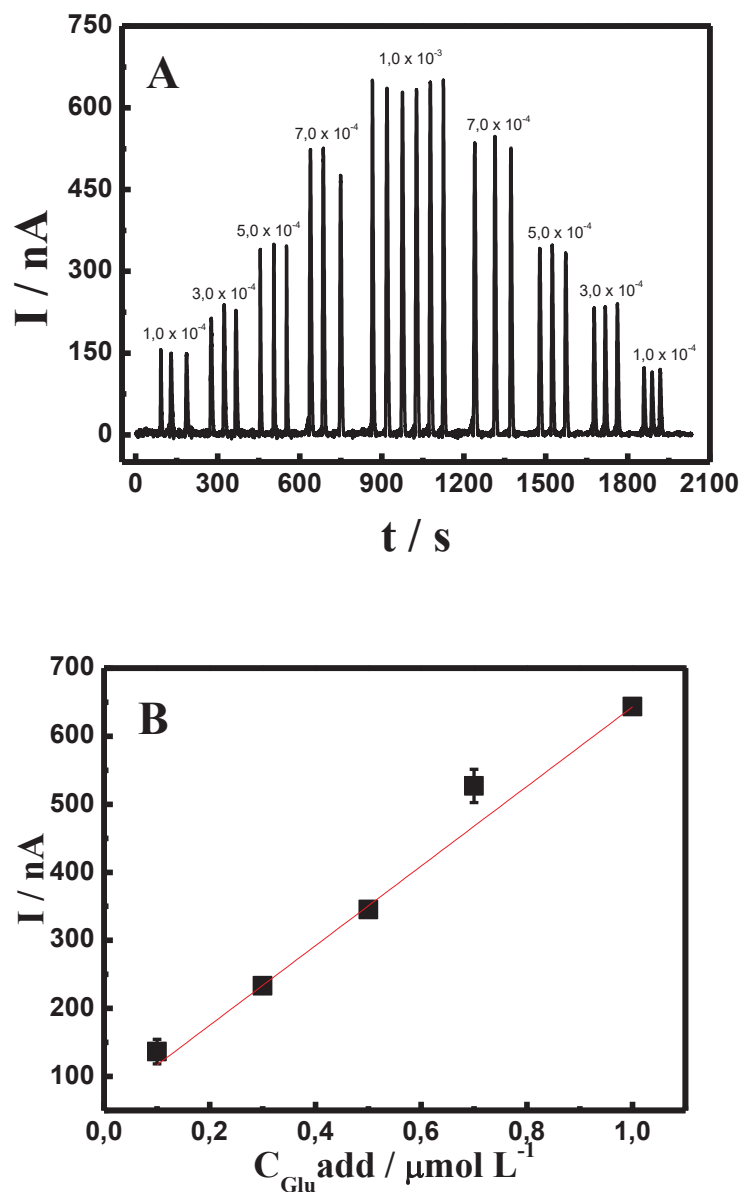
A partir dos resultados de repetibilidade, foi calculado um desvio de 1,5% indicando que o funcionamento do μ TED é adequado, apresentando fluxo constante do eletrólito, além de injeções reproduzíveis, estabilidade dos eletrodos e inexistência de efeitos de envenenamento do eletrodo, com valores de RSD menores ou similares a outros trabalhos em que foi utilizado microdispositivos com detecção eletroquímica [102, 103].

4.4.4 Desempenho analítico do dispositivo.

Depois de investigada a estabilidade da vazão e o efeito do potencial aplicado sobre a resposta do μ TED, foi realizado estudo do desempenho analítico do dispositivo proposto para a determinação de glicose. A FIGURA 39 apresenta a resposta amperométrica no μ TED obtida para injeções sucessiva de 1,5 μ L de alíquotas de soluções de glicose, variando uma faixa de concentração de 0,1 a 1,0 mmol L⁻¹:

FIGURA 39: (A) SINAIS TRANSIENTES OBTIDOS A PARTIR DE INJEÇÕES CONTENDO CONCENTRAÇÕES CONHECIDAS DE GLICOSE E (B) CURVA DE

CALIBRAÇÃO CORRESPONDENTE. CADA PONTO É O VALOR MÉDIO DAS 6 INJEÇÕES PARA CADA CONCENTRAÇÃO. SOLUÇÃO TRANSPORTADORA: KOH 0,10 MOL L⁻¹, POTENCIAL APLICADO DE 0,45 V



FONTE: O autor (2018).

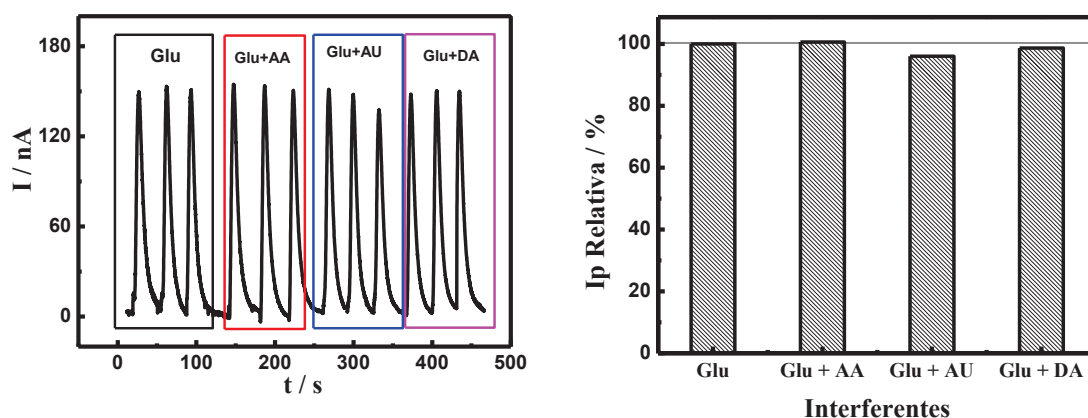
A partir dos sinais transientes obtidos na FIGURA 39 A foi possível observar a resposta amperométrica obtida para a glicose, na qual a concentração variou de 0,1 a 1,0 mmol L⁻¹. Com o objetivo de verificar a tendência de incrustação do μTED, a concentração foi variada do valor mínimo ao máximo e, na sequência, realizou-se estudo no sentido inverso. Além do aumento da corrente de pico com o aumento da concentração de glicose, esta, permaneceu semelhante mesmo após a injeção de concentrações elevadas de glicose, mostrando que não há efeito de memória no

dispositivo proposto. De acordo com a curva de calibração correspondente Figura 39 B, o sistema de determinação utilizando o μ TED apresentou uma sensibilidade de 590 nA L mmol no intervalo de concentração de 0,1 a 1,0 mmol L⁻¹, com limites de determinação e quantificação de 0,29 μ mol L⁻¹ e 0,96 μ mol L⁻¹ respectivamente.

4.4.4.1 Efeito de concomitantes (possíveis interferentes)

É comum que ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina e lactato estejam presentes em amostras naturais de fluidos biológicos, e tais espécies podem sofrer processos redox, o que pode causar interferência na resposta eletroquímica da glicose. Os níveis de glicose no sangue são de 4-5 mmol L⁻¹, enquanto esses concomitantes estão presentes em concentrações aproximadamente 50 vezes menores. Para verificar se há interferência, adicionou-se 10 mmol L⁻¹ de glicose, e preparou-se soluções mistas com glicose e ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico, 1 mmol L⁻¹ em KOH 0,01 mol L⁻¹, foram então realizadas adições de glicose seguido das adições das soluções mistas. Os resultados obtidos podem ser observados na FIGURA 40.

FIGURA 40: ESTUDOS DE ESPÉCIES CONCOMITANTES (A) SINAIS TRANSIENTES OBTIDOS E (B) CORRENTE RELATIVA OBTIDA.



FONTE: O autor (2018).

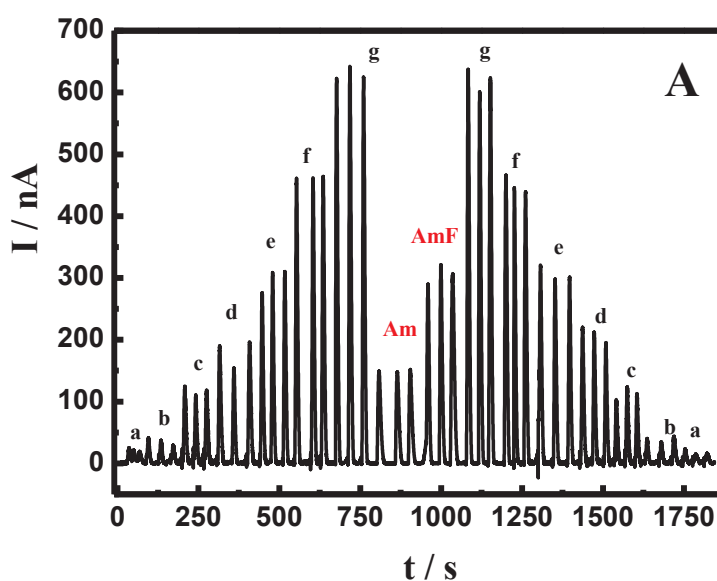
Conforme observou-se na FIGURA 40, não houve variação significativa na corrente medida após a adição destes componentes concomitantes ao analito. Os sinais

transientes obtidos mostraram que essas espécies não apresentam interferência e nem afetam a sensibilidade.

4.4.4.2 Determinação de glicose em plasma sanguíneo

De acordo com estudos de concomitantes, podemos perceber que as análises em plasma sanguíneo, não sofreram qualquer interferência de outra espécie. O plasma utilizado nas análises, primeiramente foram testados em um glicosímetro em triplicada, fornecendo um valor de 140 mg dL^{-1} , o que equivale a $7,77 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O plasma então foi diluído 3 vezes, e ainda utilizamos uma amostra fortificada com glicose na concentração de $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Uma curva analítica foi construída de $2,5 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com a adição da amostra e amostra fortificada como pode ser visto na FIGURA 41:

FIGURA 41: (A) SINAIS TRANSIENTES OBTIDOS A PARTIR DE INJEÇÕES CONTENDO CONCENTRAÇÕES CONHECIDAS DE GLICOSE E

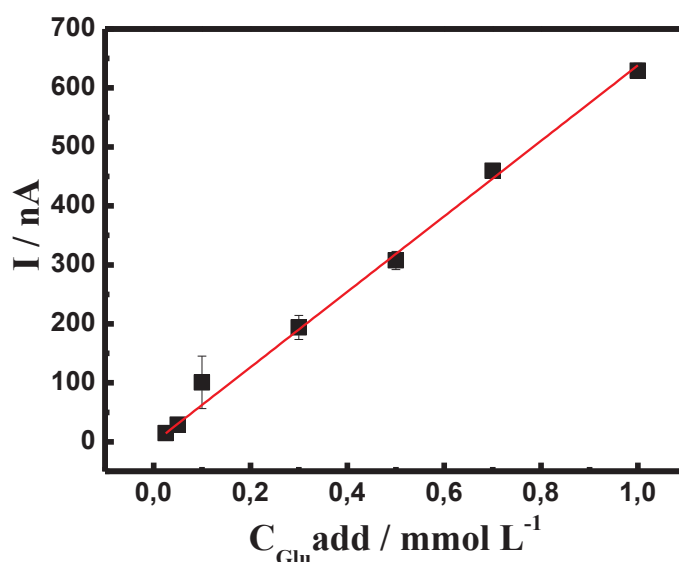


FONTE: O autor (2018).

A FIGURA 41 apresenta os sinais transientes referentes as concentrações: a) $2,5 \times 10^{-5}$, b) $5,0 \times 10^{-5}$, c) $1,0 \times 10^{-4}$, d) $3,0 \times 10^{-4}$, e) $5,0 \times 10^{-4}$, f) $7,0 \times 10^{-4}$ e g) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. A amostra (Am) foi injetada logo após a injeção da concentração máxima de glicose, seguida da injeção da amostra fortificada (AmF), e injeções de glicose no

sentido decrescente. Os valores de corrente foram avaliados e a FIGURA 42 apresenta a respectiva curva analítica da glicose:

FIGURA 42: CURVA DE CALIBRAÇÃO CORRESPONDENTE. CADA PONTO É O VALOR MÉDIO DAS 6 INJEÇÕES PARA CADA CONCENTRAÇÃO. SOLUÇÃO TRANSPORTADORA: KOH 0,10 MOL L⁻¹, POTENCIAL APLICADO DE 0,45 V.



FONTE: O autor (2018).

A FIGURA 43 nos permite obter parâmetros de mérito analítico como a equação da reta:

$$I / \text{nA} = 1,55 + 6,399 C_{\text{Glu}} \quad (10)$$

Através da equação 10, foi possível obter os valores de glicose contidos no plasma sanguíneo de $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Para a amostra fortificada, utilizando os cálculos apresentados no item da Etapa 2, foi possível obter uma recuperação de 95, 20% do padrão de glicose adicionado. Assim, observou-se que não há diferenças significativas entre os valores adicionados e recuperados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, exploramos a versatilidade de nanotubos de carbono, após diferentes tratamentos químicos, na construção de sensores. Por técnicas de caracterização espectroscópicas, foi possível observar mudanças na estrutura química dos CNT com a inserção de grupos funcionais que puderam ser quantificados. Resultados obtidos por micrografias mostraram que fisicamente os CNT sobrem mudanças.

Para avaliar o desempenho eletroquímico destes nanotubos, sensores foram construídos e utilizados na determinação do pesticida metil paration. Os estudos mostram que os sensores possuem características de robustez precisão e estabilidade desejáveis. Os sensores foram aplicados na determinação de MP em amostras de suco de manga. Um estudo prévio apontou a inexistência de efeito de matriz, o que promoveu um estudo de adição e recuperação com boas taxas de recuperação.

Os nanotubos ainda foram utilizados como plataforma de incorporação de íons níquel (II) para o desenvolvimento de um sensor não enzimático para determinação de glicose. Os eletrodos modificados com CNTs apresentaram boa reprodutibilidade para incorporação de íons Ni^{2+} . O sinal obtido com a formação das espécies de $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ se manteve estável, mesmo após 200 ciclos voltamétricos. A combinação de nanotubos de carbono e espécies de níquel mostraram excelente desempenho para a detecção não enzimática de glicose. A estratégia adotada utilizando SPE/CNT- Ni^{2+} como detector amperométrico em um dispositivo microfluídico permitiu minimizar a quantidade de reagentes e soluções. O sistema μTED é uma ferramenta promissora para a determinação de não enzimática de glicose com baixo limite de detecção, boa sensibilidade e alta estabilidade baseado em um sistema miniaturizado com eficiência, simplicidade e baixo custo.

6 REFERÊNCIAS

- [1] D. Lowinsohn, M. Bertotti, Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos, *Química Nova*, 29 (2006) 1318-1325.
- [2] P. Gründler, *Chemical sensors: an introduction for scientists and engineers*, Springer Science & Business Media, 2007.
- [3] J. Wang, *Analytical electrochemistry*, John Wiley & Sons, 2006.
- [4] A.J. Bard, L.R. Faulkner, J. Leddy, C.G. Zoski, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, Wiley New York, 1980.
- [5] E.A. Ticianelli, E.R. Gonzalez, *Eletroquímica: Princípios e Aplicações Vol. 17*, Edusp, 1998.
- [6] P. Moses, L. Wier, R. Murray, Chemically modified tin oxide electrode, *Analytical Chemistry*, 47 (1975) 1882-1886.
- [7] A.C. Pereira, A.d.S. Santos, L.T. Kubota, Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas, *Química Nova*, (2002).
- [8] R.F. Lane, A.T. Hubbard, Electrochemistry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents, *The Journal of Physical Chemistry*, 77 (1973) 1401-1410.
- [9] M.d.F.B. Souza, Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem, *Química Nova*, 20 (1997) 191-195.
- [10] B. Pérez-López, A. Merkoçi, Nanomaterials based biosensors for food analysis applications, *Trends in Food Science & Technology*, 22 (2011) 625-639.
- [11] M. Valcárcel, B. M. Simonet, S. Cárdenas, B. Suárez, *Present and Future Applications of Carbon Nanotubes to Analytical Science*, 2005.

- [12] S. Iijima, Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature*, 354 (1991) 56.
- [13] S. Iijima, T. Ichihashi, Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter, *Nature*, 363 (1993) 603.
- [14] M.H. Herbst, M.I.F. Macêdo, A.M. Rocco, Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar, *Química Nova*, 27 (2004) 986-992.
- [15] N.G. Sahoo, S. Rana, J.W. Cho, L. Li, S.H. Chan, Polymer nanocomposites based on functionalized carbon nanotubes, *Progress in Polymer Science*, 35 (2010) 837-867.
- [16] A.G. de Souza Filho, S.B. Fagan, Funcionalização de nanotubos de carbono, *Química Nova*, 30 (2007) 1695.
- [17] T.W. Ebbesen, H.J. Lezec, H. Hiura, J.W. Bennett, H.F. Ghaemi, T. Thio, Electrical conductivity of individual carbon nanotubes, *Nature*, 382 (1996) 54-56.
- [18] S. Niyogi, M.A. Hamon, H. Hu, B. Zhao, P. Bhowmik, R. Sen, M.E. Itkis, R.C. Haddon, Chemistry of Single-Walled Carbon Nanotubes, *Accounts of Chemical Research*, 35 (2002) 1105-1113.
- [19] J. Chen, M.A. Hamon, H. Hu, Y. Chen, A.M. Rao, P.C. Eklund, R.C. Haddon, Solution Properties of Single-Walled Carbon Nanotubes, *Science*, 282 (1998) 95-98.
- [20] L. Chen, H. Xie, Y. Li, W. Yu, Surface Chemical Modification of Multiwalled Carbon Nanotubes by a Wet-Mechanochemical Reaction, *Journal of Nanomaterials*, 2008 (2008) 5.
- [21] R.A. Moraes, C.F. Matos, E.G. Castro, W.H. Schreiner, M.M. Oliveira, A.J.G. Zarbin, The effect of different chemical treatments on the structure and stability of aqueous dispersion of iron- and iron oxide-filled multi-walled carbon nanotubes, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22 (2011) 2191-2201.

- [22] M. David, M. Barsan, M. Florescu, C. Brett, Acidic and Basic Functionalized Carbon Nanomaterials as Electrical Bridges in Enzyme Loaded Chitosan/Poly(styrene sulfonate) Self-Assembled Layer-by-Layer Glucose Biosensors, 2015.
- [23] L.A. Goulart, F.C. de Moraes, L.H. Mascaro, Influence of the different carbon nanotubes on the development of electrochemical sensors for bisphenol A, *Materials Science and Engineering: C*, 58 (2016) 768-773.
- [24] J.M. Sieben, A. Ansón-Casaos, F. Montilla, M.T. Martínez, E. Morallón, Electrochemical behaviour of different redox probes on single wall carbon nanotube buckypaper-modified electrodes, *Electrochimica Acta*, 135 (2014) 404-411.
- [25] Y. Yao, L. Zhang, J. Xu, X. Wang, X. Duan, Y. Wen, Rapid and sensitive stripping voltammetric analysis of methyl parathion in vegetable samples at carboxylic acid-functionalized SWCNTs- β -cyclodextrin modified electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 713 (2014) 1-8.
- [26] B. Huang, W.-D. Zhang, C.-H. Chen, Y.-X. Yu, Electrochemical determination of methyl parathion at a Pd/MWCNTs-modified electrode, *Microchimica Acta*, 171 (2010) 57-62.
- [27] T.-F. Kang, F. Wang, L.-P. Lu, Y. Zhang, T.-S. Liu, Methyl parathion sensors based on gold nanoparticles and Nafion film modified glassy carbon electrodes, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145 (2010) 104-109.
- [28] J.-C. Ma, W.-D. Zhang, Gold nanoparticle-coated multiwall carbon nanotube-modified electrode for electrochemical determination of methyl parathion, *Microchimica Acta*, 175 (2011) 309-314.
- [29] J. Dong, X. Wang, F. Qiao, P. Liu, S. Ai, Highly sensitive electrochemical stripping analysis of methyl parathion at MWCNTs-CeO₂-Au nanocomposite modified electrode, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 186 (2013) 774-780.

- [30] A. Sun, J. Zheng, Q. Sheng, A highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on nickel and multi-walled carbon nanotubes nanohybrid films fabricated by one-step co-electrodeposition in ionic liquids, *Electrochimica Acta*, 65 (2012) 64-69.
- [31] A.K. Shriwas, P.R. Gogate, Ultrasonic degradation of methyl Parathion in aqueous solutions: intensification using additives and scale up aspects, *Separation and purification technology*, 79 (2011) 1-7.
- [32] M. Tankiewicz, J. Fenik, M. Biziuk, Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29 (2010) 1050-1063.
- [33] Y. Zeng, D. Yu, Y. Yu, T. Zhou, G. Shi, Differential pulse voltammetric determination of methyl parathion based on multiwalled carbon nanotubes–poly(acrylamide) nanocomposite film modified electrode, *Journal of Hazardous Materials*, 217–218 (2012) 315-322.
- [34] J. Wang, M.P. Chatrathi, A. Mulchandani, W. Chen, Capillary Electrophoresis Microchips for Separation and Detection of Organophosphate Nerve Agents, *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 1804-1808.
- [35] F. López, E. Pitarch, S. Egea, J. Beltran, F. Hernández, Gas chromatographic determination of organochlorine and organophosphorus pesticides in human fluids using solid phase microextraction, *Analytica Chimica Acta*, 433 (2001) 217-226.
- [36] Z. Yang, Y. Liu, D. Liu, Z. Zhou, Determination of organophosphorus pesticides in soil by dispersive liquid–liquid microextraction and gas chromatography, *Journal of chromatographic science*, 50 (2012) 15-20.
- [37] M. Sbaji, H. Essis-Tome, U. Gombert, T. Breton, M. Pontié, Electrochemical stripping analysis of methyl-parathion (MPT) using carbon fiber microelectrodes (CFME) modified with combinations of poly-NiTSPc and Nafion® films, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 124 (2007) 368-375.

- [38] Y. Zeng, D. Yu, Y. Yu, T. Zhou, G. Shi, Differential pulse voltammetric determination of methyl parathion based on multiwalled carbon nanotubes–poly (acrylamide) nanocomposite film modified electrode, *Journal of Hazardous Materials*, 217 (2012) 315-322.
- [39] S. Chen, J. Huang, D. Du, J. Li, H. Tu, D. Liu, A. Zhang, Methyl parathion hydrolase based nanocomposite biosensors for highly sensitive and selective determination of methyl parathion, *Biosensors and Bioelectronics*, 26 (2011) 4320-4325.
- [40] D. Du, M. Wang, J. Zhang, J. Cai, H. Tu, A. Zhang, Application of multiwalled carbon nanotubes for solid-phase extraction of organophosphate pesticide, *Electrochemistry Communications*, 10 (2008) 85-89.
- [41] J.C. Pickup, F. Hussain, N.D. Evans, O.J. Rolinski, D.J. Birch, Fluorescence-based glucose sensors, *Biosensors and Bioelectronics*, 20 (2005) 2555-2565.
- [42] J. Lai, Y. Yi, P. Zhu, J. Shen, K. Wu, L. Zhang, J. Liu, Polyaniline-based glucose biosensor: A review, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 782 (2016) 138-153.
- [43] V. Scognamiglio, Nanotechnology in glucose monitoring: advances and challenges in the last 10 years, *Biosensors and Bioelectronics*, 47 (2013) 12-25.
- [44] L.C. Clark, C. Lyons, Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery, *Annals of the New York Academy of sciences*, 102 (1962) 29-45.
- [45] N. Hui, S. Wang, H. Xie, S. Xu, S. Niu, X. Luo, Nickel nanoparticles modified conducting polymer composite of reduced graphene oxide doped poly(3,4-ethylenedioxythiophene) for enhanced nonenzymatic glucose sensing, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221 (2015) 606-613.
- [46] F.P. Van der Zee, F.J. Cervantes, Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: A review, *Biotechnology Advances*, 27 (2009) 256-277.

- [47] L. Kang, D. He, L. Bie, P. Jiang, Nanoporous cobalt oxide nanowires for non-enzymatic electrochemical glucose detection, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 220 (2015) 888-894.
- [48] P. Salazar, V. Rico, R. Rodríguez-Amaro, J.P. Espinós, A.R. González-Elipe, New Copper wide range nanosensor electrode prepared by physical vapor deposition at oblique angles for the non-enzymatic determination of glucose, *Electrochimica Acta*, 169 (2015) 195-201.
- [49] X. Li, J. Yao, F. Liu, H. He, M. Zhou, N. Mao, P. Xiao, Y. Zhang, Nickel/Copper nanoparticles modified TiO₂ nanotubes for non-enzymatic glucose biosensors, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 181 (2013) 501-508.
- [50] S.-J. Li, N. Xia, X.-L. Lv, M.-M. Zhao, B.-Q. Yuan, H. Pang, A facile one-step electrochemical synthesis of graphene/NiO nanocomposites as efficient electrocatalyst for glucose and methanol, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 190 (2014) 809-817.
- [51] J. Chen, W.-D. Zhang, J.-S. Ye, Nonenzymatic electrochemical glucose sensor based on MnO₂/MWNTs nanocomposite, *Electrochemistry Communications*, 10 (2008) 1268-1271.
- [52] K.-C. Lin, Y.-C. Lin, S.-M. Chen, A highly sensitive nonenzymatic glucose sensor based on multi-walled carbon nanotubes decorated with nickel and copper nanoparticles, *Electrochimica Acta*, 96 (2013) 164-172.
- [53] S. Xianzheng, H. Jiwen, W. Xiuzhang, Amperometric determination of glucose with a ferrocene-mediated glucose oxidase electrode, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 12 (1993) 33-36.
- [54] Y.-J. Yoon, K.H.H. Li, Y.Z. Low, J. Yoon, S.H. Ng, Microfluidics biosensor chip with integrated screen-printed electrodes for amperometric detection of nerve agent, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 198 (2014) 233-238.
- [55] G.M. Whitesides, The origins and the future of microfluidics, *Nature*, 442 (2006) 368-373.

- [56] D.R. Reyes, D. Iossifidis, P.-A. Auroux, A. Manz, Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology, *Analytical Chemistry*, 74 (2002) 2623-2636.
- [57] C. Iliescu, H. Taylor, M. Avram, J. Miao, S. Franssila, A practical guide for the fabrication of microfluidic devices using glass and silicon, *Biomicrofluidics*, 6 (2012) 016505-016505-016516.
- [58] P. Lisowski, P.K. Zarzycki, Microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) and micro total analysis systems (μ TAS): development, applications and future trends, *Chromatographia*, 76 (2013) 1201-1214.
- [59] D.R. Ballerini, X. Li, W. Shen, Patterned paper and alternative materials as substrates for low-cost microfluidic diagnostics, *Microfluidics and nanofluidics*, 13 (2012) 769-787.
- [60] X. Li, J. Tian, W. Shen, Thread as a versatile material for low-cost microfluidic diagnostics, *ACS applied materials & interfaces*, 2 (2009) 1-6.
- [61] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Low cost microfluidic device based on cotton threads for electroanalytical application, *Lab on a Chip*, 16 (2016) 345-352.
- [62] L.M. Ochiai, D. Agustini, L.C.S. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, Electroanalytical thread-device for estriol determination using screen-printed carbon electrodes modified with carbon nanotubes, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 241 (2017) 978-984.
- [63] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Tear glucose detection combining microfluidic thread based device, amperometric biosensor and microflow injection analysis, *Biosensors and Bioelectronics*, 98 (2017) 161-167.
- [64] E.A. Carneiro, D. Agustini, L. Figueiredo-Filho, C.E. Banks, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, 3D-printed Microfluidic Device Based on Cotton Threads for Amperometric Estimation of Antioxidants in Wine Samples, *Electroanalysis*, 30 (2018) 101-108.

- [65] S.L. Goertzen, K.D. Thériault, A.M. Oickle, A.C. Tarasuk, H.A. Andreas, Standardization of the Boehm titration. Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination, *Carbon*, 48 (2010) 1252-1261.
- [66] S. Rana, S.K. Mittal, N. Singh, J. Singh, C.E. Banks, Schiff base modified screen printed electrode for selective determination of aluminium(III) at trace level, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 239 (2017) 17-27.
- [67] D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, I. Caracelli, *Princípios de análise instrumental*, Bookman Porto Alegre, Brazil:, 2002.
- [68] R.M. Silverstein, F.X. Webster, D.J. Kiemle, D.L. Bryce, *Spectrometric identification of organic compounds*, John Wiley & sons, 2014.
- [69] V. Datsyuk, M. Kalyva, K. Papagelis, J. Parthenios, D. Tasis, A. Siokou, I. Kallitsis, C. Galiotis, Chemical oxidation of multiwalled carbon nanotubes, *Carbon*, 46 (2008) 833-840.
- [70] P. Cañete-Rosales, V. Ortega, A. Álvarez-Lueje, S. Bollo, M. González, A. Ansón, M.T. Martínez, Influence of size and oxidative treatments of multi-walled carbon nanotubes on their electrocatalytic properties, *Electrochimica Acta*, 62 (2012) 163-171.
- [71] H. Estrade-Szwarckopf, XPS photoemission in carbonaceous materials: A “defect” peak beside the graphitic asymmetric peak, *Carbon*, 42 (2004) 1713-1721.
- [72] Y.S. Kim, C.R. Park, One-pot titration methodology for the characterization of surface acidic groups on functionalized carbon nanotubes, *Carbon*, 96 (2016) 729-741.
- [73] K.A. Wepasnick, B.A. Smith, J.L. Bitter, D.H. Fairbrother, Chemical and structural characterization of carbon nanotube surfaces, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 396 (2010) 1003-1014.
- [74] M. Müller, K. Papagelis, J. Maultzsch, A.A. Stefopoulos, E.K. Pefkianakis, A.K. Andreopoulou, J.K. Kallitsis, C. Thomsen, Raman spectroscopy of single wall carbon

nanotubes functionalized with terpyridine–ruthenium complexes, *physica status solidi* (b), 246 (2009) 2721-2723.

[75] A.N. Sidorov, S. Pabba, K.P. Hewaparakrama, R.W. Cohn, G. Sumanasekera, Side-by-side comparison of Raman spectra of anchored and suspended carbon nanomaterials, *Nanotechnology*, 19 (2008) 195708.

[76] A.M. Oickle, S.L. Goertzen, K.R. Hopper, Y.O. Abdalla, H.A. Andreas, Standardization of the Boehm titration: Part II. Method of agitation, effect of filtering and dilute titrant, *Carbon*, 48 (2010) 3313-3322.

[77] A. Contescu, C. Contescu, K. Putyera, J.A. Schwarz, Surface acidity of carbons characterized by their continuous pK distribution and Boehm titration, *carbon*, 35 (1997) 83-94.

[78] T.J. Bandoz, J. Jagiello, C. Contescu, J.A. Schwarz, Characterization of the surfaces of activated carbons in terms of their acidity constant distributions, *carbon*, 31 (1993) 1193-1202.

[79] H.F. Gorgulho, J.P. Mesquita, F. Gonçalves, M.F.R. Pereira, J.L. Figueiredo, Characterization of the surface chemistry of carbon materials by potentiometric titrations and temperature-programmed desorption, *carbon*, 46 (2008) 1544-1555.

[80] M. Seredych, A.V. Tamashauskyy, T.J. Bandoz, Graphite oxides obtained from porous graphite: the role of surface chemistry and texture in ammonia retention at ambient conditions, *Advanced Functional Materials*, 20 (2010) 1670-1679.

[81] B. Konkena, S. Vasudevan, Understanding aqueous dispersibility of graphene oxide and reduced graphene oxide through p K a measurements, *The journal of physical chemistry letters*, 3 (2012) 867-872.

[82] M. Seredych, T.J. Bandoz, Combined role of water and surface chemistry in reactive adsorption of ammonia on graphite oxides, *Langmuir*, 26 (2009) 5491-5498.

- [83] H.L. Tcheumi, I.K. Tonle, E. Ngameni, A. Walcarius, Electrochemical analysis of methylparathion pesticide by a gemini surfactant-intercalated clay-modified electrode, *Talanta*, 81 (2010) 972-979.
- [84] S. Fan, F. Xiao, L. Liu, F. Zhao, B. Zeng, Sensitive voltammetric response of methylparathion on single-walled carbon nanotube paste coated electrodes using ionic liquid as binder, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 132 (2008) 34-39.
- [85] P. Tuzhi, Y. Zhongping, L. Rongshan, Voltammetric measurement of haloperidol following adsorptive accumulation at glassy-carbon electrodes, *Talanta*, 38 (1991) 741-745.
- [86] J.-M. Zen, J.-J. Jou, A. Senthil Kumar, A sensitive voltammetric method for the determination of parathion insecticide, *Analytica Chimica Acta*, 396 (1999) 39-44.
- [87] J. Gong, X. Miao, T. Zhou, L. Zhang, An enzymeless organophosphate pesticide sensor using Au nanoparticle-decorated graphene hybrid nanosheet as solid-phase extraction, *Talanta*, 85 (2011) 1344-1349.
- [88] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, Pearson Education, 2005.
- [89] I. Tapsoba, S. Bourhis, T. Feng, M. Pontié, Sensitive and Selective Electrochemical Analysis of Methyl-parathion (MPT) and 4-Nitrophenol (PNP) by a New Type p-NiTSPc/p-PPD Coated Carbon Fiber Microelectrode (CFME), *Electroanalysis*, 21 (2009) 1167-1176.
- [90] http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2316.pdf, in.
- [91] H. Bode, K. Dehmelt, J. Witte, Zur kenntnis der nickelhydroxidelektrode—I.Über das nickel (II)-hydroxidhydrat, *Electrochimica Acta*, 11 (1966) 1079-IN1071.
- [92] S. Cordoba-Torresi, C. Gabrielli, A. Hugot-Le Goff, R. Torresi, Electrochromic behavior of nickel oxide electrodes I. Identification of the colored state using quartz crystal microbalance, *Journal of The Electrochemical Society*, 138 (1991) 1548-1553.

- [93] M.S. Kim, T.S. Hwang, K.B. Kim, A Study of the Electrochemical Redox Behavior of Electrochemically Precipitated Nickel Hydroxides Using Electrochemical Quartz Crystal Microbalance, *Journal of The Electrochemical Society*, 144 (1997) 1537-1543.
- [94] W.-L. Cheng, J.-W. Sue, W.-C. Chen, J.-L. Chang, J.-M. Zen, Activated nickel platform for electrochemical sensing of phosphate, *Analytical Chemistry*, 82 (2009) 1157-1161.
- [95] K.E. Toghill, L. Xiao, N.R. Stradiotto, R.G. Compton, The determination of methanol using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron doped diamond electrode, *Electroanalysis*, 22 (2010) 491-500.
- [96] A. Salimi, M. Roushani, Non-enzymatic glucose detection free of ascorbic acid interference using nickel powder and nafion sol-gel dispersed renewable carbon ceramic electrode, *Electrochemistry Communications*, 7 (2005) 879-887.
- [97] E.G. Neiva, M.M. Oliveira, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino Jr, A.J. Zarbin, One material, multiple functions: graphene/Ni (OH)₂ thin films applied in batteries, electrochromism and sensors, *Scientific reports*, 6 (2016) 33806.
- [98] W. Dennstedt, W. Löser, Zur kenntnis der nickelhydroxid-elektrode—III. Thermogravimetrische untersuchungen an Nickel (II)-hydroxiden, *Electrochimica Acta*, 16 (1971) 429-435.
- [99] M. Wehrens-Dijksma, P. Notten, Electrochemical quartz microbalance characterization of Ni (OH)₂-based thin film electrodes, *Electrochimica Acta*, 51 (2006) 3609-3621.
- [100] M. Shamsipur, M. Najafi, M.-R.M. Hosseini, Highly improved electrooxidation of glucose at a nickel(II) oxide/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode, *Bioelectrochemistry*, 77 (2010) 120-124.

- [101] D. Agustini, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, Characterization and optimization of low cost microfluidic thread based electroanalytical device for micro flow injection analysis, *Analytica Chimica Acta*, 951 (2017) 108-115.
- [102] Y. Sameenoi, K. Koehler, J. Shapiro, K. Boonsong, Y. Sun, J. Collett, J. Volckens, C.S. Henry, Microfluidic Electrochemical Sensor for On-line Monitoring of Aerosol Oxidative Activity, *Journal of the American Chemical Society*, 134 (2012) 10562-10568.
- [103] A. Wisitsoraat, P. Sritongkham, C. Karuwan, D. Phokharatkul, T. Maturos, A. Tuantranont, Fast cholesterol detection using flow injection microfluidic device with functionalized carbon nanotubes based electrochemical sensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 26 (2010) 1514-1520.