



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Rua Vinte, 1600. Bairro Tupã. CEP 38304-402, Ituiutaba / MG



ANA CLARA MAIA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA MINIATURIZADO PARA DETECÇÃO
ELETROQUÍMICA EM MICROVOLUMES**

ITUIUTABA

2019

ANA CLARA MAIA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA MINIATURIZADO PARA DETECÇÃO
ELETROQUÍMICA EM MICROVOLUMES**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada à
Comissão Avaliadora como parte das exigências do
Curso de Graduação em Química: Bacharelado do
Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal da
Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz dos Santos

ITUIUTABA

2019

ANA CLARA MAIA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA MINIATURIZADO PARA DETECÇÃO
ELETROQUÍMICA EM MICROVOLUMES**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada à Comissão Avaliadora como parte das exigências do Curso de Graduação em Química: Bacharelado do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal da Universidade Federal de Uberlândia.

DATA DA APROVAÇÃO

COMISSÃO AVALIADORA:

Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria

Prof. Dr. Gilberto Augusto de Oliveira Brito

Prof. Dr. André Luiz dos Santos (Orientador)

DEDICATÓRIA

*À minha família, berço de todo cuidado e amor para comigo,
e aos meus amigos/irmãos da X Turma de Química – Bacharel,
presentes valiosos de Deus em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me amar e me conduzir a caminhos e pessoas as quais são a prova viva do cuidado Dele em minha vida. Agradeço à Ele, por me conceder muito mais do que mereço, e não desistir de mim. Eu te amo, Jesus.

À Nossa Senhora, minha Mãezinha, por interceder sempre por mim, e me mostrar que é na simplicidade e doação que se verdadeiramente ama.

Aos meus pais, Kenia e Ivair, por todo amor, dedicação, incentivo, amizade, apoio e paciência. Obrigada por guiarem meus passos, e por me ensinarem tanto. Nunca se esqueçam que sou muitíssimo feliz em tê-los como pais, e que quero ser uma filha cada vez melhor para vocês! Vocês, mais do que ninguém, merecem o melhor. Eu os amo muito, com todo o meu coração.

À minha irmã, Laura, por ter sido e ser minha amiga, por me escutar, e me ajudar tantas vezes a ser melhor. Saiba que te admiro muito, e que você é exemplo para mim. Te amo, minha Laurinha.

À minha “vózinha” tão querida, Maria do Carmo Maia, a quem eu amo bastante. Obrigada, pois sempre que eu precisei/preciso, tenho o colinho da senhora. Obrigada também por me mostrar, tantas vezes, como é a vida, e por me ensinar tanto. Ainda vamos viver coisas bem legais juntas.

À minha vovó, Luzia, por sempre estar de braços abertos nos esperando, por todo carinho, amor, preocupação e cuidado. Que Deus faça a senhora feliz por completo. Te amo, vovó!

Ao meu companheiro, Maurício, que tantas vezes foi o abraço e sorriso de Deus em minha vida. Obrigada por todo o cuidado de sempre, por me ensinar a ser uma pessoa melhor, me escutar, e me motivar a buscar as Coisas do Alto. Eu te amo muito!

Aos meus orientadores, André e Regina, pela paciência, cuidado, pelas inúmeras oportunidades ofertadas, por terem sido e ainda serem instrumentos para o meu crescimento profissional e pessoal, e por todos os ensinamentos transmitidos. Que Deus possa retribuí-los. Saibam que os amo, de coração, e que vocês têm sempre minhas orações e gratidão. Obrigada, por tudo!

Aos meus queridos professores: André Santos, Anizio, Bogado, Dinelli, Flash, Gilberto, Hugo, Kikuti, Regina, Renata, Rosana e Panatieri, por me fazerem crescer de uma forma grandiosa. Levarei vocês no meu coração sempre. Minha gratidão e enorme admiração por cada um.

Aos meus amigos tão queridos do GPMEI: Amanda, Dayane, Diele, João Vitor, Lauro, Letícia, Maria Fernanda e Vinícius. Em especial à Diele, irmã que Deus, através da química, me deu. Sou grata pela sua amizade e por todo auxílio ofertado, seja no laboratório, ou na vida. Amo e admiro você, conte comigo para tudo! Ao Lauro, irmão e amigo que tanto admiro e amo! Obrigada por ser exemplo de profissional e ser humano para todos nós. E, por último, mas não menos importante, à minha “duplinha”, Letícia. Obrigada pelo companheirismo, amizade, e pela ajuda de sempre, tanto em questões acadêmicas, quanto pessoais. Saiba que estou e estarei aqui, para o que precisar. Amo você!

Aos meus amados amigos do CT-Infra III, os quais me auxiliaram e fizeram com que meus dias no laboratório ficassem ainda mais felizes.

À X turma de Química (Bacharel): Allanna, Diego, Ellen, Felipe, Jonathan, Letícia, Naiara e Renan, que tenho a imensa alegria em poder chamá-los de MEUS AMIGOS. Sou muito feliz em tê-los em minha vida. Obrigada por cada momento compartilhado. Deus me deu a melhor turma que eu poderia ter. Eu os amo muito, e os levarei sempre comigo.

À minha família GOU-São Gabriel. Não tenho palavras para expressar a minha alegria em poder buscar o Amor de Deus, dentro de uma Universidade, com vocês! Obrigada, a cada um, por tantas vezes terem me ofertado um abraço, um ombro amigo, uma palavra, e por alcançarem tantos jovens, oferecendo simplesmente o verdadeiro Amor. Que Deus os sustente nessa missão tão linda e importante. Estarei sempre aqui, para o que precisarem.

Aos meus amigos do Ministério Porta do Céu e Fogo do Espírito Santo, por serem também minha família, nesta caminhada. Deus sabe o quanto eu amo vocês.

À minha psicóloga, Karla Drummond: posso afirmar que sou uma pessoa diferente do que eu era antes. Obrigada por isso! Ainda tenho muito a mudar, mas te agradeço imensamente por sempre me mostrar o melhor caminho. Obrigada pelo cuidado e amizade.

Ao meu querido professor da química do ensino médio, João Neto, que me apresentou essa ciência tão linda, me fazendo decidir definitivamente por ela. Se hoje estou finalizando este curso, foi porque um dia você me mostrou a beleza e as inúmeras possibilidades dentro da química. Muito obrigada!

Ao ICENP/UFU pela infraestrutura concedida para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida.

À FAPEMIG (proc.: APQ-02905-15 e APQ-02078-15) pelos recursos financeiros disponibilizados ao GPMEI, sem os quais, esta pesquisa não seria possível.

Enfim, a todos os meus amigos e familiares que, de alguma forma, fizeram e fazem parte dessa história, deixo aqui o meu muito obrigada!

EPÍGRAFE

“Tudo o que fizer na vida só terá sentido se o fizer em função da Vida Eterna.”

Chiara Corbella Petrillo.

RESUMO

A utilização de sistemas miniaturizados tem ganhado destaque em análises eletroquímicas, pois respondem adequadamente às exigências de alta sensibilidade, baixo custo e menor consumo de amostras, minimizando a quantidade de resíduos químicos gerados, sendo, desta forma, altamente desejáveis no contexto da chamada Química Verde. Assim, neste trabalho, um sistema miniaturizado para detecção eletroquímica foi confeccionado. Este dispositivo consiste em uma célula eletroquímica de três eletrodos, fixados em uma ponteira convencional de micropipeta, a qual atua como suporte. Na primeira etapa deste trabalho, visando uma maior aplicabilidade, o dispositivo foi estudado como um detector amperométrico em um sistema de análises por injeção em fluxo (FIA) em linha única. A princípio, os principais parâmetros operacionais do sistema FIA, como potencial de detecção, vazão e alça de amostragem foram variados, possibilitando visualizar o efeito que a variação destes parâmetros causaria nos sinais gerados no detector. Uma solução de ferrocianeto de potássio foi empregada como sonda eletroquímica para estas análises, e uma solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ foi utilizada como solução transportadora e eletrólito suporte. Subsequentemente, na segunda etapa, foram realizados estudos voltamétricos, utilizando-se de uma célula eletroquímica convencional, o que permitiu analisar o funcionamento do dispositivo também em modo estático, a partir da verificação dos picos obtidos para o par redox [Fe(CN)₆]⁴⁻/[Fe(CN)₆]³⁻. Para este estudo, a técnica de voltametria cíclica foi empregada. Na terceira e última etapa, visando avaliar a versatilidade do dispositivo proposto, análises eletroquímicas para a determinação do fungicida carbendazim foram realizadas. Para estes estudos, utilizou-se de uma célula eletroquímica miniaturizada com capacidade de 500 µL de solução, obtida a partir de um microtubo do tipo eppendorff. Para isto, como técnica de detecção, foi empregada a voltametria de pulso diferencial, obtendo respostas analíticas referentes a determinação do carbendazim. Desta forma, o sistema descrito neste trabalho respondeu às variações dos diversos estudos propostos, tanto para análises em fluxo, quanto para os estudos voltamétricos. Com estes resultados, pode-se afirmar que o dispositivo miniaturizado desenvolvido se mostrou eficiente para ser empregado como detector amperométrico e voltamétrico, apresentando, assim, potencialidade para aplicações em eletroanalítica.

Palavras-chave: Miniaturização, eletroquímica, FIA, química verde, carbendazim.

ABSTRACT

The use of miniaturized systems has gained attention in electrochemical analysis, as they adequately respond to the requirements of high sensitivity, low-cost and sample consumption, minimizing the waste generation, which is highly desirable in the context involving Green Chemistry. Thus, a miniaturized system was made for electrochemical detection. This device consists of an electrochemical cell with three electrodes fixed in a conventional micropipette tip, which acts as a support. In the first step, aiming greater applicability, the device was tested as an amperometric detector for a single-line flow injection analysis (FIA) system. Initially, it was evaluated the main parameters of the FIA system, such as detection potential, flow rate and sampling loop. These studies allowed to visualize the effect of these parameters on the electrochemical signals. A potassium ferrocyanide solution was used as electrochemical probe for all analyzes and a 0.1 mol L⁻¹ KCl solution was used as a carrier solution and supporting electrolyte. Subsequently, voltammetric studies were performed using a conventional electrochemical cell, which allowed to evaluate the use of the device in static mode by observing the voltammetric peaks corresponding to the [Fe(CN)₆]⁴⁻/[Fe(CN)₆]³⁻ redox couple. For this study, cyclic voltammetry was used as characterization technique. After that, aiming to evaluate the versatility of the proposed device, electrochemical measurements were performed to detect carbendazim fungicide. For these studies, it was used a miniaturized electrochemical cell with a capacity of 500 µL of solution obtained from an eppendorff-like microtube. Differential pulse voltammetry was used as detection technique and the device produced great analytical signal for carbendazim. Based on these results, the proposed miniaturized device was efficient to be used as detector for static mode as well as flow analyses. Also, the device showed potentiality to be used in electroanalysis.

Keywords: Miniaturization, electrochemistry, FIA, green chemistry, carbendazim.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. A) Representação esquemática do sinal de excitação. B) Resposta obtida para a técnica de voltametria cíclica para um processo reversível.....	16
Figura 2. A) Representação esquemática do sinal de excitação. B) Resposta obtida para a técnica de voltametria de pulso diferencial.	17
Figura 3. A) Representação esquemática do sinal de excitação. B) Resposta obtida para a técnica de voltametria de onda quadrada.....	18
Figura 4. Representação esquemática do dispositivo desenvolvido para os estudos de detecção eletroquímica. WE – Eletrodo de Trabalho; RE – Eletrodo de Referência; AE – Eletrodo Auxiliar.....	27
Figura 5. Imagem por microscopia ótica da superfície inferior do sistema miniaturizado. WE – Eletrodo de Trabalho; RE – Cavidade para contato do eletrodo de Referência; AE – Eletrodo Auxiliar.....	27
Figura 6. Eletrodo de trabalho quimicamente modificado com nanotubos de carbono. WE – Eletrodo de Trabalho; RE – Eletrodo de Referência; AE – Eletrodo Auxiliar.....	29
Figura 7. Representação esquemática do sistema FIA em linha única montado no laboratório.	30
Figura 8. Detector eletroquímico miniaturizado acoplado ao sistema FIA.....	31
Figura 9. Representação esquemática do sistema FIA em linha única. (a) Posição de amostragem; (b) posição de inserção da amostra. Onde: IC – injetor comutador, A – amostra, L – alça de amostragem, W – descarte, C – solução carregadora, S – seringa para preencher	31
Figura 10. Representação esquemática do sistema empregado para detecção eletroquímica utilizando-se de estudos voltamétricos.	32
Figura 11. Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L ⁻¹ . Solução transportadora: KCl 0,1 mol L ⁻¹ ; Vazão: 3 mL min ⁻¹ . $E_{\text{detecção}} = 0,6$ V. Volume de amostra = 100 µL.	34
Figura 12. (A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L ⁻¹ empregando-se diferentes potenciais de detecção. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L ⁻¹ ; Vazão: 3 mL min ⁻¹ . Volume de amostra: 100µL. (B) Variação da corrente em função do potencial de detecção.....	35
Figura 13. (A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L ⁻¹ em diferentes vazões. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L ⁻¹ . Volume de amostra: 100	

μL . $E_{\text{deteção}} = + 0,6 \text{ V}$. Vazões: (A) 1; (B) 2; (C) 3; (D) 4; (E) 5; (F) 6; (G) 7 mL min^{-1} . (B) Variação da corrente em função da vazão da solução transportadora.	36
Figura 14. (A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L^{-1} em diferentes comprimentos de alça de amostragem. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L^{-1} . $E_{\text{deteção}} = + 0,6 \text{ V}$. Vazão: 3 mL min^{-1} . (B) Variação da corrente em função do comprimento de alça de amostragem.	37
Figura 15. Sinais transientes obtidos para injeções de soluções de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em diferentes concentrações. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L^{-1} . Vazão: 3,0 mL min^{-1} . Volume de amostra: 100 μL . $E_{\text{deteção}} = + 0,6 \text{ V}$. (a) 0,10; (b) 0,25; (c) 0,50; (d) 0,75 e (e) 1 mmol L^{-1}	39
Figura 16. Curvas analíticas referentes às injeções de soluções de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em ordem crescente e decrescente de diferentes concentrações. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L^{-1} . Vazão: 3,0 mL min^{-1} . Volume de amostra: 100 μL . $E_{\text{deteção}} = + 0,6 \text{ V}$	39
Figura 17. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1,0 mol L^{-1} a 50 mV s^{-1} na ausência e presença de 5 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. (-) Ausência de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$; (-) Presença de 5 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	41
Figura 18. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1,0 mol L^{-1} a 50 mV s^{-1} na presença de diferentes concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	42
Figura 19. Gráficos de I_p em função da variação das concentrações de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	42
Figura 20. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1,0 mol L^{-1} na presença de 10 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em diferentes velocidades de varredura.	43
Figura 21. Gráfico de I_p em função da variação das raízes quadradas das velocidades de varredura na presença de 10 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	44
Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , pH 2 na ausência e na presença de CBZ, empregando-se o sistema miniaturizado. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$	45
Figura 23. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} pH 2, na presença de etanol e na ausência e presença de CBZ, empregando-se o sistema miniaturizado modificado com MWCNTs. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$	46
Figura 24. Reação de oxidação do CBZ.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores dos volumes injetados a partir das alças de amostragem de diferentes comprimentos.	38
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Técnicas Eletroanalíticas.....	14
1.1.1 Técnicas Voltamétricas	15
1.1.2 Amperometria: possibilidades de aplicação	18
1.2. Análises por Injeção em Fluxo.....	19
1.3. Sistemas Eletroanalíticos Miniaturizados	19
1.4. Eletrodos Quimicamente Modificados: nanotubos de carbono.....	21
1.5. Agrotóxicos: Carbendazim.....	22
2. OBJETIVOS	24
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	25
3.1. Reagentes e Soluções	25
3.2. Preparo do Sistema Miniaturizado	26
3.3. Instrumentação	28
3.4. Modificação do eletrodo de trabalho.....	28
3.5. Sistema FIA.....	30
3.6. Estudos voltamétricos	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1. Estudos de Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....	34
4.2. Estudos Voltamétricos.....	40
4.3. Determinação de CBZ em microvolume de solução.....	45
5. CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS	49

1. INTRODUÇÃO

1.1. Técnicas Eletroanalíticas

A química eletroanalítica compreende um conjunto de métodos analíticos quantitativos embasados em propriedades elétricas específicas de um analito quando em solução (SKOOG, *et al.*, 2002). Este grupo de técnicas eletroanalíticas utiliza-se de alguns parâmetros para a realização de medidas, tais como: corrente, potencial e carga os quais podem ser relacionados com a quantidade de analito em solução.

As técnicas eletroanalíticas permitem a obtenção de uma quantidade relevante de informações que exprimem e descrevem eletroquimicamente sistemas específicos, além de fornecerem limites de detecção consideravelmente baixos (SKOOG, *et al.*, 2002). Dentre as informações fornecidas por meio de análises envolvendo estas técnicas, pode-se obter a velocidade de transferência de massa (BARROSO & BENEDETTI, 2016), estequiometria de reações (MOREIRA, *et al.*, 2014), constantes de equilíbrio, entre outros. Além das informações fornecidas, os métodos eletroanalíticos apresentam algumas vantagens quando comparadas às outras técnicas analíticas convencionalmente empregadas. Estas técnicas são exemplos de práticas “verdes” de análise, pois normalmente utilizam pequenos volumes de solução. Além disso, o custo da instrumentação necessária para realizar os experimentos é relativamente baixo, quando comparado à outras técnicas. (SKOOG, *et al.*, 2002).

Os métodos eletroanalíticos são baseados em fenômenos que ocorrem na interface entre as superfícies dos eletrodos e a fina camada de solução próxima a essas superfícies (SKOOG, *et al.*, 2002). Dentre estes métodos interfaciais, as técnicas voltamétricas e amperométricas são amplamente empregadas. As técnicas voltamétricas se subdividem em uma variedade de técnicas, as quais se diferenciam entre si pela forma em que o potencial é aplicado na interface eletrodo/solução. O potencial elétrico aplicado varia continuamente, resultando, assim, em corrente elétrica a qual é proporcional à concentração do analito (SKOOG, *et al.*, 2002). A amperometria baseia-se também na aplicação de potencial (HAGE & CARR, 2012), porém, ao contrário das técnicas voltamétricas, este potencial é constante (amperometria convencional), ou de pulsos de potencial ao eletrodo de trabalho em função do tempo (amperometria no modo pulsado), ocorrendo, assim, reações de oxidação ou redução da espécie química de interesse. Semelhantemente às técnicas voltamétricas, os valores de correntes obtidos podem ser diretamente relacionados com as concentrações do analito.

1.1.1 Técnicas Voltamétricas

As técnicas voltamétricas oferecem informações sobre o analito medindo uma corrente em função do potencial aplicado sob condições que possibilitam a polarização de um eletrodo de trabalho (SKOOG, *et al.*, 2015). Desta forma, a voltametria é amplamente utilizada em estudos fundamentais envolvendo a oxidação e redução de espécies em vários meios, além de processos de adsorção em variadas superfícies, mecanismos de transferências de elétrons, entre outros.

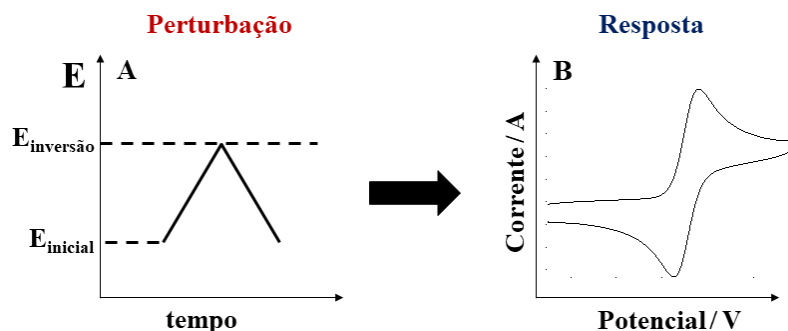
Os primeiros estudos voltamétricos iniciaram-se a partir da implementação da polarografia. Estes estudos foram realizados por Jaroslav Heyrovsky, no início dos anos de 1920 (KORYTA, 1990), utilizando-se, para isso, de um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho e, como eletrodo de referência, um eletrodo de calomelano saturado.

O eletrodo de mercúrio apresenta uma série de características atrativas, tais como: renovação contínua da superfície, amplo intervalo útil de potencial na região negativa e geometria altamente reprodutível. Apesar destas vantagens, o mercúrio é um metal extremamente tóxico, cuja utilização frequente pode causar a contaminação de solos, animais e da água, através de seus resíduos. Assim, a substituição do eletrodo gotejante de mercúrio por eletrodos sólidos com menor toxicidade vem ganhando destaque no ramo analítico.

A voltametria se subdivide em uma variedade de técnicas, sendo as principais delas a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada, diferenciando entre si nas formas com que o potencial é aplicado na interface eletrodo/solução.

A voltametria cíclica tem sido amplamente empregada na caracterização de materiais, fornecendo algumas informações qualitativas importantes, tais como: detecção intermediários de reações, verificação de possíveis influências do eletrólito suporte, pH, solventes, entre outros. Nesta técnica, o potencial é aplicado na forma de uma onda de voltagem triangular, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1. A) Representação esquemática do sinal de excitação. B) Resposta obtida para a técnica de voltametria cíclica para um processo reversível.



Fonte: Adaptado de SILVA, 2011.

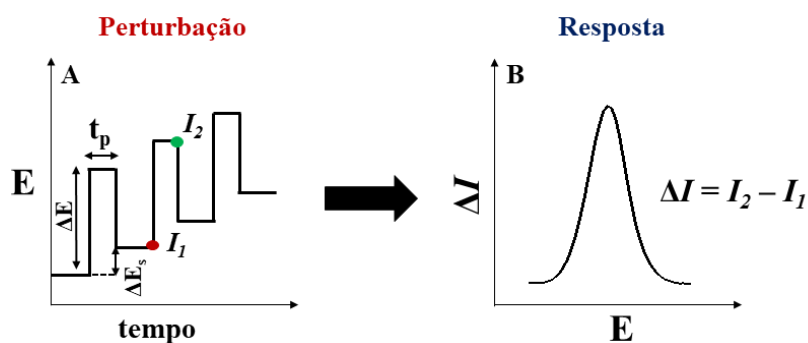
Desta forma, um potencial inicial é aplicado variando linearmente até outro potencial máximo, denominado potencial de inversão. Quando este extremo é atingido, o sentido da varredura é invertido, e o potencial retorna ao seu valor inicial. Em ambas as direções, a velocidade de varredura permanece constante. A Figura 1B esquematiza a resposta esperada para um processo redox reversível, caracterizado através de um pico de oxidação e outro de redução, obtidos nas varreduras direta e reversa, respectivamente. Um processo redox reversível é aquele que apresenta rápida cinética de transferência eletrônica. Esta se manifesta no voltamograma cíclico por uma separação entre os picos catódico e anódico (ΔE_p) igual a 60 mV e uma razão entre as correntes de pico catódico e anódico igual a 1 (PAIOLA, *et al*, 2017). Por outro lado, um processo redox com baixa cinética de transferência eletrônica é chamado de processo irreversível e, neste caso, o voltamograma cíclico apresenta apenas um pico de oxidação ou de redução (ALEIXO, 2003).

Do ponto de vista analítico, uma das desvantagens da voltametria cíclica é em relação à sensibilidade, visto que, esta técnica não diferencia de forma efetiva a corrente de fundo, oriunda de cargas e descargas originárias da dupla de camada elétrica, da corrente faradaica, tendo origem através do processo redox do analito, sendo esta governada pela Lei de Faraday (SKOOG, *et al.*, 2002; HARRIS, 2003). Visando contornar esta limitação, métodos de pulso foram desenvolvidos. Estes métodos voltamétricos têm como ideia medir a corrente faradaica e de fundo, fazendo, posteriormente, uma subtração entre elas. Desta forma, parte significativa de valores da corrente de fundo é eliminada, assegurando que a corrente faradaica tenha maior contribuição nas medidas.

As duas principais técnicas de pulso são a voltametria de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada. A técnica da voltametria de pulso diferencial permite a realização

de medidas de corrente e aplicação de potencial na forma de pulsos em pequenos intervalos de tempo. A Figura 2A é uma representação esquemática da perturbação de potencial aplicada na técnica de voltametria de pulso diferencial.

Figura 2. A) Representação esquemática do sinal de excitação. B) Resposta obtida para a técnica de voltametria de pulso diferencial.

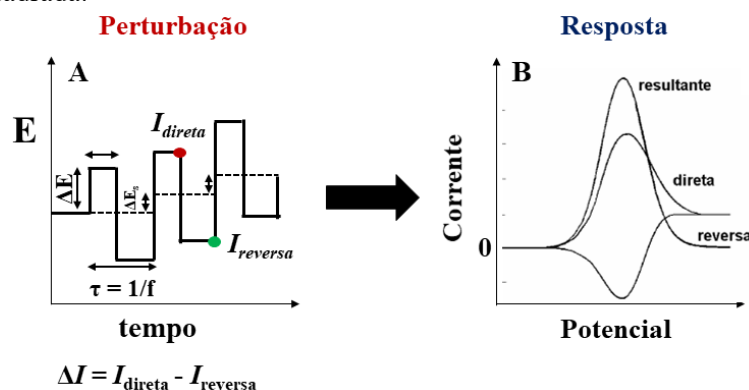


Fonte: Adaptado de SILVA, 2011.

Como apresentado na Figura 2A, pulsos de potencial de amplitude ΔE e com duração fixa (t_p) são aplicados sobrepostos a uma perturbação de potencial na forma de escada, com cada degrau tendo amplitude ΔE_s . A corrente é medida em dois pontos: imediatamente antes da aplicação do pulso de potencial (I_1) e ao final do pulso de potencial (I_2). O voltamograma resultante, é um gráfico da diferença $I_2 - I_1$ em função do potencial aplicado (Figura 2B). Assim sendo, a maior sensibilidade atribuída a esta técnica deriva do aumento da razão sinal/ruído, devido a minimização da corrente não-faradaica (SKOOG, *et al.*, 2015).

Já a voltametria de onda quadrada, semelhantemente à técnica voltamétrica de pulso diferencial, apresenta elevada sensibilidade, por subtrair a corrente não-faradaica da faradaica, além de oferecer vantagens pela possibilidade de ser realizada em elevadas velocidades de varredura (SOUZA, *et al.*, 2003). Em uma varredura em direção a potenciais mais negativos, o pulso no sentido direto produz uma corrente catódica, e o pulso no sentido inverso, uma corrente anódica. Desta forma, mede-se a corrente tanto no fim do pulso direto, quanto no fim do pulso no sentido inverso. Os limites de detecção obtidos utilizando-se da voltametria de onda quadrada são relatados entre 10^{-7} e 10^{-8} mol L⁻¹ (SKOOG, *et al.*, 2015). A Figura 3A é uma representação esquemática da forma como o potencial é aplicado nesta técnica e o voltamograma obtido é representado pela Figura 3B.

Figura 3. A) Representação esquemática do sinal de excitação. B) Resposta obtida para a técnica de voltametria de onda quadrada.



Fonte: Adaptado de SILVA, 2011.

Como apresentado na Figura 3A, a diferença entre as correntes direta e inversa é registrada para a formação da resposta voltamétrica (3B).

1.1.2 Amperometria: possibilidades de aplicação

Ao contrário das técnicas voltamétricas, nas quais o potencial é continuamente variado com o tempo, a amperometria é caracterizada pela aplicação de um potencial constante ou de pulsos de potencial. A primeira é denominada amperometria convencional e a segunda amperometria pulsada. Na amperometria, mede-se a corrente elétrica, a qual é proporcional à concentração do analito, entre os eletrodos que participam da eletrólise (HARRIS, 2003). Desta forma, a técnica é baseada nas reações de oxidação e redução que ocorrem na superfície do eletrodo.

Trabalhos envolvendo diversos tipos de análises utilizando-se da técnica de amperometria são encontrados na literatura (dos SANTOS, *et al.*, 2011). Andrade et al. (2009), por exemplo, apresentam resultados obtidos a partir do desenvolvimento e validação de um método que envolve a determinação de sulfametoxazol e trimetoprima em leites bovinos, utilizando-se de eletrodo de diamante dopado com boro como eletrodo de trabalho, e aplicando a técnica amperométrica acoplada à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Dentre os trabalhos disponíveis na literatura, uma das principais aplicações da técnica como forma de detecção é o estudo de análises por injeção em fluxo, procedimento que vem sendo explorado para a determinação de compostos. Uma das vantagens relacionada a este tipo de análise é a possibilidade de determinações simultâneas. Em virtude à esta vantagem, Miranda et al. (2012), apresentam um procedimento utilizando-se do FIA com detecção amperométrica de múltiplos pulsos para a determinação simultânea de ácido ascórbico e ácido acetilsalicílico

em formulações farmacêuticas, nas quais estes ácidos são encontrados combinados. Neste caso, a amperometria de múltiplos pulsos, também pôde ser aplicada para limpeza eletroquímica da superfície dos eletrodos, evitando, desta forma, a contaminação ou desativação dos mesmos.

Deste modo, além da possibilidade de determinação simultânea de analitos, estudos utilizando-se da técnica amperométrica acoplada ao FIA apresentam características vantajosas como: baixo custo operacional, possibilidade de alta frequência analítica, emprego de reagentes de baixa toxicidade, geração de pequena quantidade de resíduos por análise, entre outros.

1.2. Análises por Injeção em Fluxo

O sistema de análise por injeção em fluxo (FIA, do inglês *Flow Injection Analysis*), proposto na década de 1970 por Ruzicka & Hansen (1975), trouxe grandes avanços para a química analítica por apresentar características atrativas, como a possibilidade de automação de praticamente todo o procedimento analítico, o que torna a análise mais segura e minimiza a manipulação de amostra pelo analista, aumentando, assim, a repetitividade entre as medidas; elevada frequência de amostragem; versatilidade e consumo mínimo de reagentes e amostra, seguindo, desta forma, os princípios da química verde (GALUSZKA, *et al.*, 2013).

A Análise por Injeção em Fluxo é uma técnica baseada na injeção de uma amostra líquida, através de um sistema injetor, em uma solução transportadora, sendo esta bombeada constantemente pelo percurso analítico, por meio de um sistema propulsor, a uma vazão constante. A amostra injetada forma uma zona de amostra, a qual é transportada até o detector que medirá o parâmetro físico ou químico desejado. Durante este transporte, a amostra pode se dispersar, formando gradientes de concentração. Este fator pode estar ligado ao volume total de amostra injetada por meio do comprimento de alça, a qual é preenchida pela amostra, ou pela vazão total do sistema. Desta forma, a altura dos sinais transientes obtidos está diretamente relacionada à concentração inicial das espécies de interesse. Por fim, o conjunto amostra/solução carregadora, será conduzido ao descarte (MOREIRA, *et al.*, 2014).

Além das vantagens anteriormente citadas, as quais levam a utilização do FIA para determinação de analitos, análises por injeção em fluxo permitem a adaptação e acoplamento de sistemas miniaturizados como detectores eletroquímicos (SANTOS, *et al.*, 2009).

1.3. Sistemas Eletroanalíticos Miniaturizados

Os chamados sensores químicos são dispositivos que permitem a coleta de dados e obtenção de informações com manipulação mínima do sistema estudado (LOWINSONH &

BERTOTTI, 2006). Estes dispositivos apresentam características como portabilidade, facilidade de automação e de miniaturização.

A utilização de sistemas miniaturizados tem ganhado destaque no campo da eletroanálise, pois respondem adequadamente às exigências de alta sensibilidade, baixo consumo de amostra e de reagentes, entre outros. Além destes requisitos, é altamente desejável que novos métodos analíticos sejam ambientalmente seguros, ou seja, que minimizem a utilização de reagentes tóxicos, assim como a quantidade de resíduos químicos gerados. Sistemas miniaturizados apresentam, também, a característica de consumir menor quantidade de amostra (escala de microlitros), uma vez que estes sistemas permitem o acoplamento de microeletrodos, sendo estes dispositivos altamente desejáveis no contexto da chamada Química Verde (PAIOLA, *et al.*, 2017). Estas abordagens trazem inúmeros benefícios ao método analítico que se torna mais rápido e mais preciso, uma vez que estes sistemas minimizam a manipulação da amostra.

No atual panorama da eletroanalítica, a fabricação de sistemas analíticos compactos, os quais são empregados como detectores eletroquímicos, têm crescido significativamente, com um número cada vez maior de trabalhos encontrados na literatura. Uma justificativa para a utilização destes sistemas, além das vantagens abordadas anteriormente, é a disponibilidade cada vez maior de tecnologias que viabilizam a fabricação de eletrodos em escalas da ordem de micrômetros, a baixo custo. Trabalhos que envolvem a aplicação de sistemas miniaturizados apresentam a utilização destes em áreas biológicas, de interesses industriais, ambientais, entre outros. A aplicação destes dispositivos em amostras de caráter ambiental demonstra a importância desta área de pesquisa.

Dentre as possibilidades de miniaturização de sensores eletroquímicos, a fabricação de sensores a partir de materiais alternativos e versáteis, como os eletrodos a base de papel (PRADELA, *et al.*, 2017; NURAK, *et al.*, 2013), vem ganhando destaque nos últimos anos. Estes eletrodos apresentam um potencial significativo para aplicação em áreas relacionadas à saúde, por exemplo, pelo baixo custo de seu material, facilidade em sua utilização e manipulação, portabilidade, e por permitir análises rápidas. Os eletrodos à base de papel, podem ser facilmente modificados a partir de materiais condutores de fácil obtenção.

Outra forma de se obter sistemas que integrem sua confecção a partir de materiais de baixo custo com a minimização da necessidade de elevados volumes de amostras para análises, é o desenvolvimento de dispositivos miniaturizados a partir de ponteiros convencionais de micropipetas (GUO, *et al.*, 2015; ZHANG, *et al.*, 2013). Eletrodos de trabalho, auxiliares e de referência podem ser integrados às ponteiros, para posterior análise de interesse. Ao contrário

dos dispositivos à base de papel, os sistemas confeccionados a partir da ponteira não são descartáveis, podendo ser reutilizados para um maior número de análises. Estes dispositivos podem ser aplicados em análises de cunho biológico, ambiental, entre outros. Desta forma, a utilização de sistemas miniaturizados apresenta grande importância e significância em relação a questões econômicas, simplicidade e facilidade de operação.

Além do crescente desenvolvimento de sensores eletroquímicos a partir de materiais alternativos e em tamanhos miniaturizados, estes dispositivos podem ser modificados com diversos substratos condutores, para que os mesmos se tornem mais seletivos e/ou sensíveis. Dentre os modificadores utilizados, nanotubos de carbono são altamente empregados a fim de melhorar as respostas obtidas por meio dos eletrodos de trabalho empregados (GOODING, 2005).

1.4. Eletrodos Quimicamente Modificados: nanotubos de carbono

Os eletrodos quimicamente modificados representam eletrodos que são desenhados com o intuito de alterar propriedades eletroquímicas (SILVA, 2006), como melhorar as propriedades eletroanalíticas, mudar sua seletividade por meio de espécies eletroativas, entre outros. Esta terminologia foi utilizada pela primeira vez na década de 1970, por Murray (1977). Até então, utilizavam-se eletrodos de materiais ditos “inertes”, tais como carbono, ouro, platina e mercúrio (SOUZA, 1997). O desenvolvimento destes modificadores a partir de vários substratos condutores, representa uma área ativa da eletroquímica, a fim de que estes realizem uma larga faixa de funções (SKOOG, *et al.*, 2015). Estes modificadores podem ser aderidos ao eletrodo de trabalho de diversas formas, entre elas: adsorção, ligação covalente ou formação de um filme polimérico.

Dentre os substratos utilizados como modificadores eletroquímicos, a implementação dos nanotubos de carbono abriu uma nova fronteira na química e na física do carbono. A síntese de nanotubos ocorreu pela primeira vez em 1991 por Iijima (HERBST, *et al.*, 2004). A partir desta descoberta, as diversas aplicações reais ou em potenciais dos nanotubos vem abrindo um leque de pesquisas multidisciplinares, pois envolve estudos como rotas de síntese, controle de morfologia, purificação, isolamento, etc.

Os nanotubos são formados pela junção de arranjos hexagonais de carbono, formando, assim, pequenos cilindros. Estruturalmente, existem dois tipos de nanotubos altamente aplicados: os nanotubos de carbono de parede simples, sendo estes considerados como uma única folha de grafite enrolada sobre si mesma, formando um tubo de cilindro. Além destes,

existem também os nanotubos de carbono de paredes múltiplas, os quais compreendem um conjunto de nanotubos concêntricos (HERBST, *et al.*, 2004).

As propriedades dos nanotubos dependem principalmente de dois parâmetros, sendo estes o valor de seus diâmetros e de seu ângulo, denominado ângulo de helicidade. A partir destas propriedades, os nanotubos podem ser aplicados como materiais adsorventes de gases (LONG & YANG, 2001), em áreas biotecnológicas (SLOAN, *et al.*, 1997), modificadores eletroquímicos (AHAMMAD, *et al.*, 2009), entre outros.

Dentre as formas de aplicação dos nanotubos de carbono como modificadores eletroquímicos, são encontrados trabalhos na literatura os quais determinam diferentes agrotóxicos nas mais variadas amostras (RIBEIRO, *et al.*, 2011).

1.5. Agrotóxicos: Carbendazim

Em consequência da expansão populacional e as transformações na sociedade, o aumento da demanda por alimentos e matérias-primas impulsionou o desenvolvimento de tecnologias no ramo do agronegócio. Desta forma, recursos utilizados neste meio apresentam o intuito de garantir a variedade e aumento da produção de alimentos e matérias-primas, além da resistência às pragas e doenças, sendo estas causas de danos ao alimento, afetando, assim, a comercialização (MELO, *et al.*, 2010).

Os agrotóxicos são substâncias com ações tóxicas que controlam ou matam um organismo indesejável interferindo no metabolismo vital dos organismos (BAIRD & CANN, 2011). Apresenta também funções como o aumento do potencial produtivo dos solos, prevenção e combate de doenças, além da melhoria no processamento e armazenamento dos produtos. Dentre os agrotóxicos aplicados no controle de organismos alvos específicos, os inseticidas, herbicidas e fungicidas representam grande parte do 1 bilhão de quilogramas de agrotóxicos aplicados anualmente na América do Norte (BAIRD & CANN, 2011). Tendo em vista a elevada aplicação destes compostos químicos sintéticos, estudos e análises em áreas de aplicação de agrotóxicos vêm sendo desenvolvidos (KEIM & ALAVANJA, 2001; KOURKOUTA, *et al.*, 2018).

Embora a utilização de agrotóxicos apresente características atrativas à produção e comercialização dos mais diversos produtos nos ramos alimentícios e de matérias-primas, verificam-se indícios de contaminação por parte destes, atingindo, desta forma, águas naturais (LIMA, *et al.*, 2016), frutas e derivados (GARCÍA-REYES, *et al.*, 2008), além de outros gêneros alimentícios, causando impactos negativos ao meio ambiente, incluindo o homem (BIAN, *et al.*, 2017).

O interesse em novos estudos relacionados ao carbendazim (CBZ) emergiu em 2012, após o bloqueio temporário das importações de sucos de laranja brasileiro, por parte do governo americano, decorrente da presença deste agrotóxico (COSTA, *et al.*, 2017).

Por este motivo, visando o controle da poluição ambiental e preservação da saúde humana, fez-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis e rápidos para o monitoramento deste fungicida nas mais diversas amostras. Para a determinação de CBZ em uma ampla gama de matrizes, utilizam-se, usualmente, das técnicas espectrofotométricas UV/Vis, espectrofluorescência e cromatografia líquida (RIBEIRO, *et al.*, 2011). Técnicas eletroanalíticas não são comumente utilizadas em estudos envolvendo este fungicida. Entretanto, sensores eletroquímicos para análise de CBZ podem ser encontrados na literatura (ARRUDA, *et al.*, 2016; FRANÇA, *et al.*, 2012). Sensibilidade e rápida resposta são algumas das características que tornam os sensores eletroquímicos atrativos quando comparados às técnicas comumente utilizadas em análises de carbendazim. Além disso, os sensores eletroquímicos para este tipo de análises podem também ser adaptados a sistemas miniaturizados, apresentando como vantagens a minimização da quantidade de resíduos gerados provenientes deste tipo de análise e menor consumo de amostra e de reagentes químicos.

2. OBJETIVOS

Desenvolver um sistema eletroquímico miniaturizado e verificar o funcionamento deste em sistemas em fluxo e estático. Posteriormente, avaliar o desempenho do dispositivo miniaturizado em estudos iniciais para a determinação do fungicida CBZ empregando-se microvolumes de solução (eletrólito de suporte/analito).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Este trabalho foi dividido em quatro etapas. A primeira constituiu no desenvolvimento do sistema miniaturizado, seguido da avaliação de seu funcionamento como sensor eletroquímico. Após a confecção e verificação do funcionamento do sensor, na segunda etapa, o mesmo foi empregado em um sistema FIA em linha única, a fim de avaliar os principais parâmetros operacionais deste sistema, sendo estes: potencial de detecção, vazão e alça de amostragem, seguido da construção de uma curva analítica para o íon ferrocianeto de potássio. Na terceira etapa, foram registrados voltamogramas cíclicos empregando-se uma célula eletroquímica convencional para verificar o funcionamento do sistema confeccionado também nestas condições, em modo estático. Na quarta e última etapa, o sistema miniaturizado foi aplicado para determinação do fungicida CBZ em microvolumes de solução (eletrólito de suporte/analito).

3.1. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de pureza analítica (mínimo de 99 % de pureza) e todas as soluções de eletrólitos de suporte foram preparadas com água destilada e, posteriormente, purificada por um ultrapurificador da marca Megapurity capaz de produzir água padrão ASTM tipo 1, com resistividade próxima a 18,3 MΩ cm.

A solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ utilizada como solução transportadora nos estudos empregando o sistema FIA e como eletrólito suporte para os estudos voltamétricos, foi preparada a partir do sal de KCl (Vetec).

Para o preparo da solução de [Fe(CN)₆]⁴⁻, empregada como sonda eletroquímica nas etapas 2 e 3, foi utilizado o sal K₄[Fe(CN)₆] (Ecibra).

Dihidrogenofosfato de potássio (Vetec), ácido bórico (Vetec) e ácido acético (Vetec), todos em uma concentração de 0,04 mol L⁻¹, dissolvidos em água ultrapura, foram empregados para o preparo do tampão Britton-Robinson (BR) 0,04 mol L⁻¹, o qual foi utilizado como eletrólito suporte nos experimentos envolvendo a determinação do carbendazim. Soluções de H₂SO₄ concentrada e KOH saturado foram utilizadas para o ajuste de pH do eletrólito suporte. A escolha do tampão BR como eletrólito suporte em meio ácido foi baseada em trabalhos da literatura que descrevem a eficácia deste para a melhor detecção do CBZ (HERNANDEZ, *et al.*, 1994; LIMA, *et al.*, 2016).

Para a modificação do eletrodo de trabalho, foi preparada uma suspensão de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs, do inglês multi-wall carbon nanotubes) (D × L 6–9 nm × 5 μm, > 95%). Neste procedimento, utilizaram-se soluções de H₂SO₄, HNO₃ e água

deionizada para a funcionalização dos nanotubos. Finalmente, os nanotubos funcionalizados foram suspensos em uma solução de zeína preparada em etanol 70% (v/v). A zeína é uma proteína do milho que tem se demonstrado eficiente para promover a dispersão de nanotubos de carbono (ITKES, *et al.*, 2019).

Para o preparo da solução padrão de CBZ 1000 ppm, utilizou-se de um padrão sólido fornecido por Ningxia Winca, com teor de 98,39% solubilizado em etanol P.A., a qual foi armazenada em refrigerador para garantir sua estabilidade.

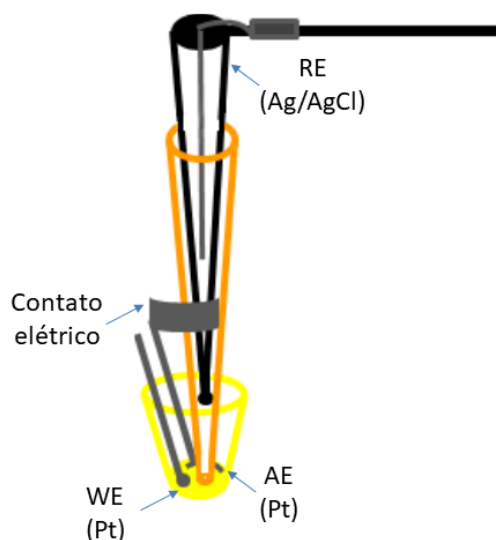
3.2. Preparo do Sistema Miniaturizado

O dispositivo desenvolvido consiste em uma célula eletroquímica de três eletrodos. Para a confecção do sistema miniaturizado empregado neste trabalho, um fio de platina (WE – Working Electrode) e uma placa de platina (AE – Auxiliary Electrode) foram integrados e fixados em uma ponteira universal de micropipeta para transferência de 0 a 200 μ L (amarela), em polipropileno (PP), sendo esta utilizada como suporte para fixação dos eletrodos, procedimento realizado utilizando-se de uma cola epóxi (Araudite Profissional). Após a injeção da cola, o sistema permaneceu secando por cerca de um dia. Parte dos fios foram fixados externamente para que fosse possível realizar o contato elétrico com estes eletrodos. Utilizou-se neste sistema um eletrodo de referência externo também confeccionado no laboratório. Para isso, um fio de prata e solução de $\text{KCl}_{\text{sat}}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ foram inseridos em uma ponteira a qual foi fechada com o auxílio de uma tampa de plástico. Semelhante aos eletrodos auxiliar e de trabalho, parte do fio de prata foi fixado externamente na tampa para que fosse possível realizar o contato elétrico com o eletrodo de referência.

A fim de realizar os estudos eletroquímicos, o interior de ponteira (suporte externo), onde foram fixados os eletrodos auxiliar e de trabalho, foi preenchido com o eletrólito suporte. Posteriormente, inseriu-se o eletrodo de referência de forma que este se encaixasse totalmente no interior do suporte externo contendo o eletrólito suporte. Um pequeno orifício foi mantido na superfície inferior do suporte externo para que o eletrodo de referência mantivesse contato iônico com o meio externo.

Uma representação esquemática do dispositivo desenvolvido neste trabalho é apresentada na Figura 4.

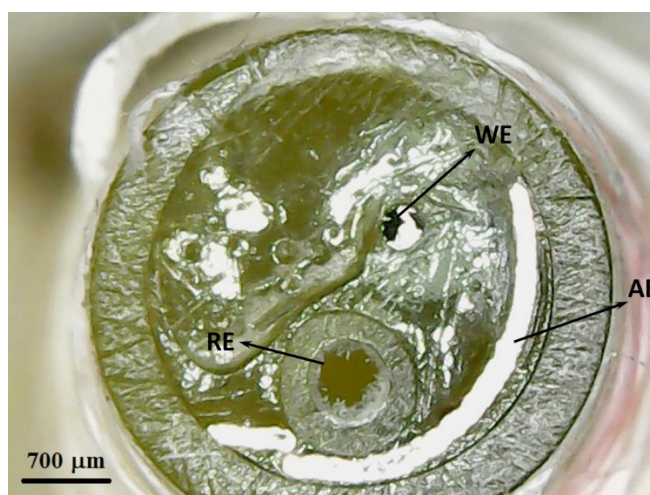
Figura 4. Representação esquemática do dispositivo desenvolvido para os estudos de detecção eletroquímica. WE – Eletrodo de Trabalho; RE – Eletrodo de Referência; AE – Eletrodo Auxiliar.



Fonte: Própria.

A Figura 5 apresenta uma imagem por microscopia ótica da superfície inferior do sistema miniaturizado descrito. Para isso, empregou-se um microscópio digital Technology - USB 1000 X, modelo 1600, com uma resolução de 2.0 megapixel.

Figura 5. Imagem por microscopia ótica da superfície inferior do sistema miniaturizado. WE – Eletrodo de Trabalho; RE – Cavidade para contato do eletrodo de Referência; AE – Eletrodo Auxiliar.



Fonte: Própria.

Ao finalizar a confecção do sistema, o mesmo estava apto a ser utilizado nos estudos eletroquímicos. Antes de se iniciar cada análise, o dispositivo era polido em uma superfície com atrito e, posteriormente, injetava-se o eletrólito suporte para encaixe do eletrodo de

referência. Por fim, após a montagem do dispositivo, realizaram-se os estudos de análise por injeção em fluxo, voltamétricos e determinação do fungicida CBZ.

3.3. Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas empregando-se um potenciostato/galvonostato Autolab, modelo μ Autolab tipo III interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software NOVA versão 2.1.4. Para os estudos envolvendo FIA, a técnica adotada foi a amperometria. Para os estudos utilizando-se de uma célula eletroquímica convencional, a técnica adotada foi a voltametria cíclica. Já para os estudos envolvendo a determinação do fungicida, adotou-se a técnica de voltametria de pulso diferencial.

Antes e após o término dos estudos, o sensor era polido com movimentações em forma de ∞ (infinito) utilizando, para isso, um tecido fixado sobre uma superfície lisa de cerâmica. Após cada polimento, o eletrodo foi lavado com água ultrapura.

Para os estudos envolvendo a determinação de CBZ, realizou-se o polimento do eletrodo de trabalho e, posteriormente, a sua modificação com nanotubos de carbono utilizando-se de uma micropipeta com capacidade mínima de injeção de 0,5 μ L.

Para agitação do sistema, quando necessário, foi utilizado um agitador eletromagnético da Velp[®] Científica e barras magnéticas. O controle da velocidade de rotação foi efetuado mantendo-se o controlador do equipamento sempre na mesma posição. Embora não seja possível determinar a velocidade de rotação, em rpm, esta foi sempre a mesma em todos os experimentos. A propulsão dos fluidos no sistema FIA foi efetuada por uma bomba peristáltica da marca MARTE Científica (São Paulo, Brasil), modelo MPV 500, acoplada a um cabeçote com seis roletes e capacidade para dois canais.

3.4. Modificação do eletrodo de trabalho

Depois de verificar a necessidade de modificação do eletrodo de trabalho para se obter perfis com picos bem definidos no estudo de determinação de CBZ, seguindo os procedimentos descritos na literatura (VUKOVIC, *et al.*, 2009), foram utilizados nanotubos de carbono para esta modificação.

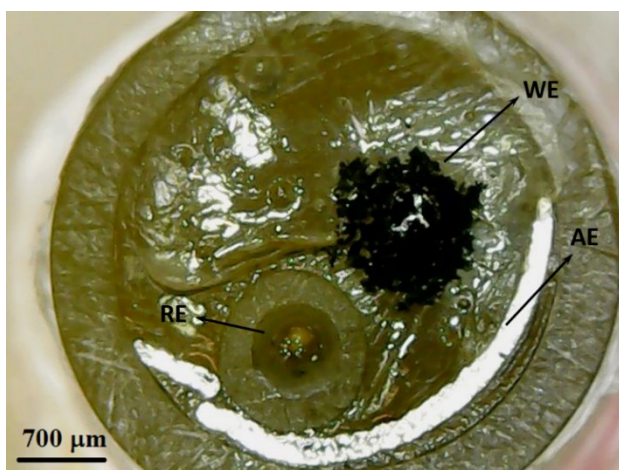
Inicialmente, 1,0 g dos nanotubos foi tratado com uma mistura de H_2SO_4 e HNO_3 3:1 (v/v), respectivamente. Posteriormente, esta mistura foi sonicada por aproximadamente 3 horas a 40° C. Este procedimento visa funcionalizar os nanotubos de carbono com grupos carboxílicos. A introdução destes grupos torna os nanotubos mais hidrofílicos, facilitando a

dispersão destes. Além disso, estes grupos são capazes de intensificar as interações com diferentes analitos e aumentar a velocidade das transferências eletrônicas (ALKIRE, *et al.*, 2015). Após atingir a temperatura ambiente, as partículas funcionalizadas foram adicionadas lentamente a 3,0 L de água deionizada fria e, em seguida, filtrada a vácuo através de um papel de filtro contendo poros de 0,05 μm . Lavou-se o material filtrado com água deionizada até que o meio se tornasse neutro. Para que posteriormente o eletrodo de trabalho fosse modificado, os MWCNTs foram suspensos em uma solução de zeína, a qual foi preparada a partir da adição de 0,03 g de zeína em uma solução de etanol a 70% (v/v). Esta mistura foi aquecida em banho termostaticado a 85° C por 15 minutos. Em seguida, transferiu-se a solução para um banho de gelo a fim de que a temperatura de 25° C fosse atingida. Desta forma, 20 mL desta solução foram transferidos gota a gota a 60 mL de água ultrapura sob agitação constante. A temperatura final da solução foi de 45° C. Após estes procedimentos, a suspensão de nanotubos de carbono estava pronta para utilização como modificador (CARDOSO, *et al.*, 2015; dos SANTOS, *et al.*, 2018). A modificação do eletrodo foi realizada adicionando-se duas camadas de 0,5 μL da suspensão de nanotubos de carbono. Este método foi adotado para garantir que toda superfície do eletrodo fosse coberta.

Após a modificação, o sistema permaneceu secando por aproximadamente 30 minutos em temperatura ambiente. Diariamente o eletrodo de trabalho era modificado e, ao término do dia, os nanotubos eram retirados da superfície do eletrodo por meio do polimento convencional anteriormente descrito.

A Figura 6 apresenta uma imagem por microscopia ótica da superfície inferior do sistema miniaturizado após a modificação do eletrodo de trabalho.

Figura 6. Eletrodo de trabalho quimicamente modificado com nanotubos de carbono. WE – Eletrodo de Trabalho; RE – Eletrodo de Referência; AE – Eletrodo Auxiliar.

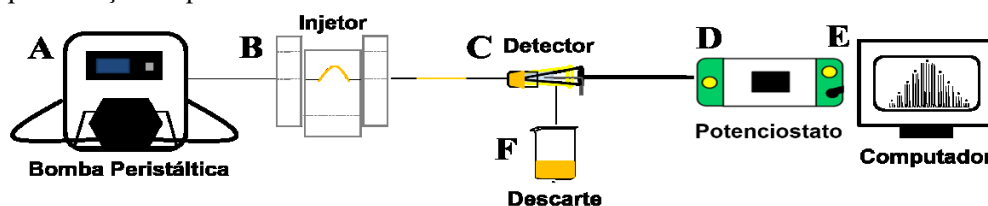


Fonte: Própria.

3.5. Sistema FIA

Para os estudos por injeção em fluxo, empregou-se um sistema em linha única composto por um sistema propulsor, um injetor e um detector eletroquímico, sendo este o dispositivo miniaturizado previamente confeccionado. Para o percurso analítico e alças de amostragem, foram utilizados tubos de teflon[®] com diâmetro interno de 0,8 mm. A Figura 7 esquematiza o sistema FIA utilizado para a verificação do funcionamento do dispositivo miniaturizado.

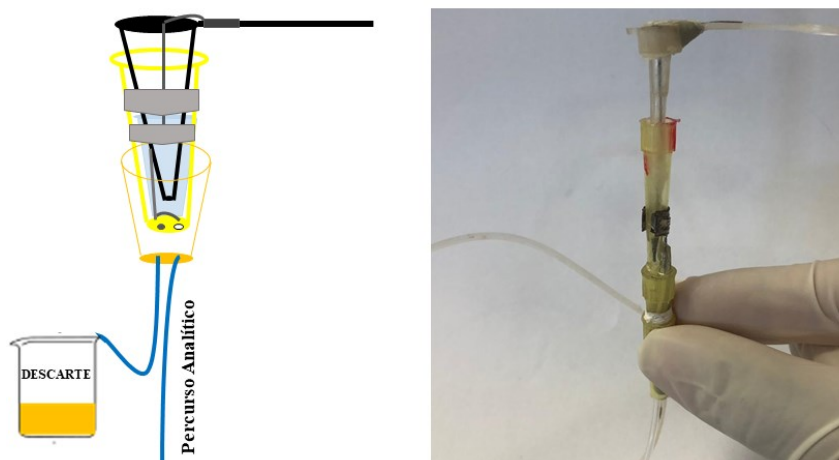
Figura 7. Representação esquemática do sistema FIA em linha única montado no laboratório.



Fonte: Adaptado de PRADELA, 2016.

No esquema apresentado na Figura 7, a alça de amostragem é preenchida pela sonda eletroquímica, representada pela coloração amarela, por meio de uma seringa, a qual aspira a amostra até o completo preenchimento da mesma. Quando a barra central do injetor (B) é deslocada para a posição de inserção da sonda eletroquímica, a alíquota desta é inserida no sistema e transportada pela solução carregadora em direção ao detector (C) para que, em seguida, as medidas eletroquímicas fossem obtidas, utilizando-se de um potenciostato/galvanostato, modelo μ Autolab III acoplado a um computador e gerenciado pelo software NOVA 2.1.4. (D, E). Para a realização dos estudos, adotou-se a técnica de amperometria. O sistema miniaturizado empregado como detector foi acoplado ao tubo de teflon[®] ao final do percurso analítico e posicionado de modo que os eletrodos encontrassem diretamente a zona da amostra. Foi fixado aos tubos um suporte confeccionado a partir da ponteira universal de micropipeta. Desta forma, o encaixe do detector poderia ser realizado. A Figura 8 apresenta o modo como o detector foi acoplado ao sistema FIA.

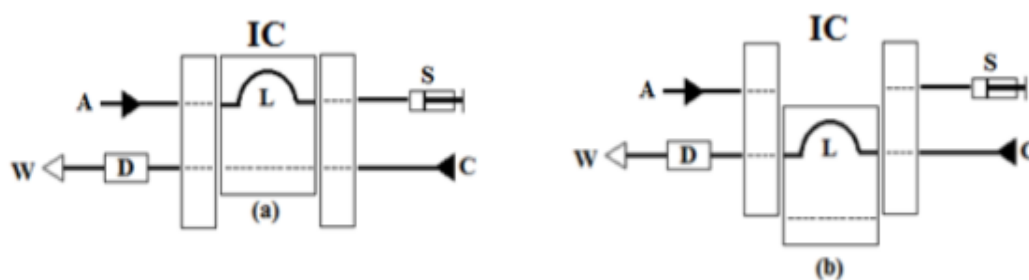
Figura 8. Detector eletroquímico miniaturizado acoplado ao sistema FIA



Fonte: Própria.

A injeção da sonda eletroquímica no sistema foi realizada por meio de um injetor comutador manual confeccionado em acrílico. Posteriormente, a solução carregadora, juntamente com a sonda eletroquímica, foi direcionada ao descarte (F). A Figura 9 apresenta um diagrama de fluxo referente ao processo de injeção da amostra anteriormente descrito.

Figura 9. Representação esquemática do sistema FIA em linha única. (a) Posição de amostragem; (b) posição de inserção da amostra. Onde: IC – injetor comutador, A – amostra, L – alça de amostragem, W – descarte, C – solução carregadora, S – seringa para preencher



Fonte: MOREIRA, 2014.

A propulsão dos fluidos foi realizada com auxílio de uma bomba peristáltica (A), equipamento mais utilizado como propulsor em sistema FIA por apresentar características atrativas, como sua capacidade de gerar vazões constantes, utilizar várias tubulações simultaneamente, controlar a vazão a um amplo intervalo por sistemas computadorizados, entre outros. Ainda que este equipamento apresente estas vantagens, o fluxo produzido pelas bombas peristálticas é pulsado, podendo, assim, gerar ruídos nos detectores, em especial os

eletroquímicos. Deste modo, com o intuito de evitar estas limitações, amortecedores de pulso são empregados junto às bombas peristálticas.

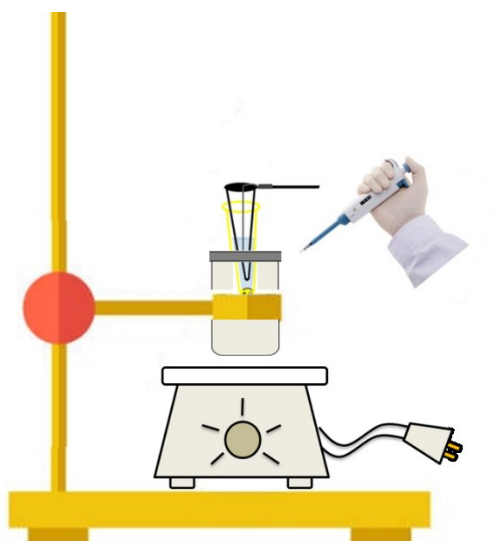
A propulsão ocorreu a uma vazão constante, sendo esta controlada de acordo com os estudos a serem realizados. Para isso, as vazões do sistema foram determinadas coletando-se a solução carregadora em uma proveta, após a passagem da mesma por toda a tubulação, incluindo a alça de amostragem. Desta forma, a vazão foi determinada de acordo com o volume da solução carregadora obtido durante o período de um minuto, medido com o auxílio de um cronômetro.

Após a montagem do sistema acoplado ao detector miniaturizado, foram estudados os principais parâmetros operacionais de um sistema FIA, e os relacionados à técnica amperométrica foram avaliados.

3.6. Estudos voltamétricos

Após a verificação do funcionamento do sensor eletroquímico em análises em fluxo, foi utilizada uma célula eletroquímica convencional contendo 10 mL de KCl 0,1 mol L⁻¹, sendo este o eletrólito de suporte para a realização das medidas. Como sonda eletroquímica, o íon [Fe(CN)₆]⁴⁻ foi utilizado e, desta forma, voltamogramas cíclicos foram registrados. A Figura 10 apresenta com mais detalhes uma representação esquemática do procedimento adotado para estes estudos.

Figura 10. Representação esquemática do sistema empregado para detecção eletroquímica utilizando-se de estudos voltamétricos.



Fonte: Própria.

Estudos da variação das velocidades de varredura no intervalo de 20 a 200 mV s^{-1} também foram realizados. Nesta etapa construiu-se uma curva analítica para o $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ no intervalo de 1 a 10 mmol L^{-1} . Antes da realização das medidas, o eletrodo foi polido com o auxílio de uma superfície com atrito, e lavado utilizando-se de água ultrapura.

Para os estudos eletroquímicos na presença de CBZ, uma célula eletroquímica miniaturizada com capacidade para 500 μL foi confeccionada a partir de um microtubo do tipo eppendorff, visando o emprego de uma quantidade mínima de volume de eletrólito suporte e amostra, para que, conseqüentemente, menos resíduos fossem gerados.

Condições experimentais foram adotadas a partir dos estudos com este fungicida já disponíveis na literatura. Desta forma, adotou-se como eletrólito suporte, tampão B.R. 0,04 mol L^{-1} , inicialmente em meio ácido (pH 2). Após os estudos iniciais, verificou-se que os resultados obtidos utilizando-se do eletrodo de Pt, não apresentaram boas respostas eletroquímicas. Por isso, para dar continuidade às análises com o fungicida, como já citado, modificou-se o eletrodo de trabalho com partículas de nanotubos de carbono funcionalizados com grupos carboxílicos.

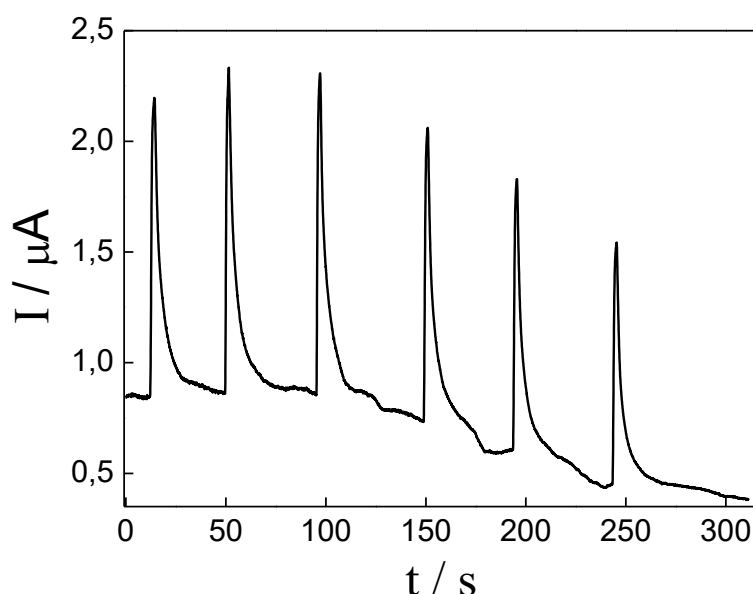
Após a modificação do eletrodo de trabalho, o sistema miniaturizado foi empregado para a realização dos diversos estudos relacionados à determinação do fungicida utilizando-se de microvolumes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudos de Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

O dispositivo miniaturizado foi primeiramente utilizado como detector amperométrico em um sistema FIA de linha única. O objetivo desta etapa foi avaliar a estabilidade de resposta, nível da linha base e intensidade dos sinais amperométricos obtidos. A Figura 11 apresenta os sinais transientes obtidos para cinco injeções consecutivas da sonda eletroquímica.

Figura 11. Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Solução transportadora: $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; Vazão: 3 mL min^{-1} . $E_{\text{deteção}} = 0,6 \text{ V}$. Volume de amostra = $100 \mu\text{L}$.

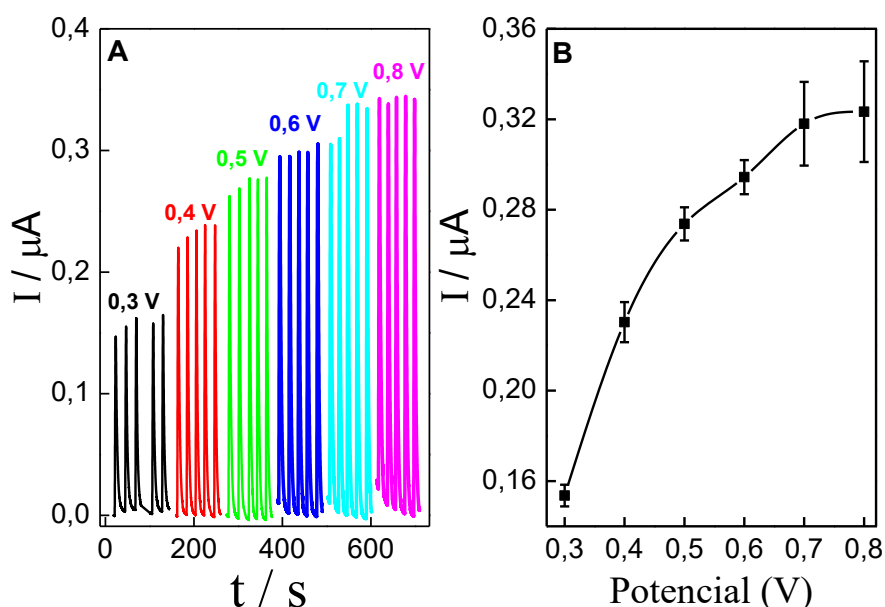


Conforme apresentado na Figura 11, o dispositivo miniaturizado forneceu uma resposta amperométrica para o íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, no entanto verificou-se uma instabilidade da linha-base. Com o intuito de contornar o problema, poliu-se o eletrodo de trabalho em um pano metalográfico sem alumina, como uma alternativa para verificação de melhora dos resultados. Desta forma, os estudos seguintes apresentaram maior estabilidade na linha de base. Este fato pode ser justificado a partir de evidências apresentadas na literatura (VILELA, 2019) que mostram que a alumina é um material capaz de modificar superfícies de determinados eletrodos, justificando uma maior estabilidade da linha de base em sua ausência. Desta forma, seguiu-se com os estudos visando avaliar como diferentes parâmetros operacionais do sistema FIA afetam a resposta amperométrica fornecida pelo sistema miniaturizado.

O primeiro parâmetro avaliado foi o efeito do potencial de detecção sobre a resposta amperométrica do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, injetando-se $100 \mu\text{L}$ de uma solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ deste íon.

Para isso, foram avaliados os potenciais de oxidação de 0,3 a 0,8 V. Os sinais transientes obtidos nesta etapa estão apresentados na Figura 12.

Figura 12. (A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L⁻¹ empregando-se diferentes potenciais de detecção. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L⁻¹; Vazão: 3 mL min⁻¹. Volume de amostra: 100 μL. (B) Variação da corrente em função do potencial de detecção.



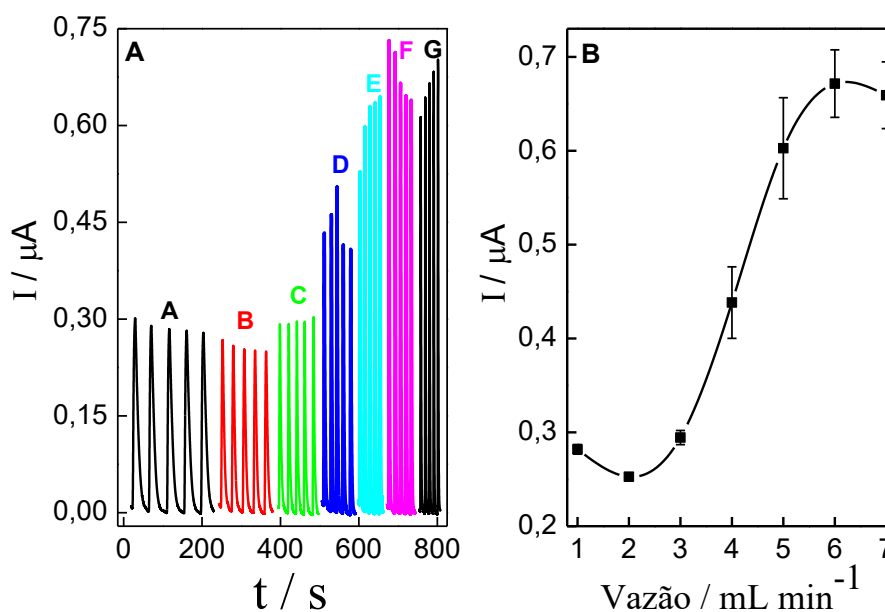
A Figura 12 mostra que o polimento sem a suspensão de alumina foi eficiente para tornar a linha de base mais estável. A presença de resquícios de alumina na superfície eletródica pode torná-la inicialmente mais ativa, com a passagem contínua da solução transportadora pelo eletrodo de trabalho, estas partículas podem ser lixiviadas, tornando a superfície menos ativa, levando às variações na linha de base observadas na Figura 11. O polimento sem a alumina não é tão eficiente para tornar a superfície eletródica ativa, o que é evidenciado pelas correntes mais baixas observadas na Figura 12 em comparação à Figura 11. Apesar da menor intensidade de sinal, este foi mais estável e repetitivo, sendo mais apropriado para as aplicações analíticas. Assim, todos os estudos posteriores foram realizados empregando-se o polimento apenas no pano metalográfico sem a suspensão de alumina.

Foi verificado que, a oxidação do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, produz sinais transientes em todos os valores de potenciais estudados. Desta forma, observou-se que, com o aumento do potencial aplicado, há também o aumento do sinal amperométrico obtido, o que é decorrente do aumento da velocidade de oxidação do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em potenciais mais positivos, fazendo com que haja o aumento na intensidade das correntes (BARD, *et al.*, 1980). Observou-se, no entanto, que para potenciais mais positivos que 0,6 V, houve uma menor repetitividade para injeções

consecutivas, o que pode ser explicado pela probabilidade de formação de óxidos na superfície do eletrodo de trabalho. Desta forma, tendo em vista melhores respostas amperométricas, maior corrente de pico em conjunto com uma repetitividade satisfatória, fixou-se o valor de 0,6 V como potencial de detecção para as etapas seguintes deste trabalho. É importante enfatizar que o comportamento observado nas Figuras 12A e 12B é típico para a detecção amperométrica em sistemas FIA, indicando que o sistema miniaturizado se comporta satisfatoriamente.

Após o estudo do efeito do potencial de detecção foi avaliado o efeito da vazão da solução transportadora sobre a intensidade de sinal, estudando, para isso, os seguintes valores: 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 mL min⁻¹. A Figura 13 apresenta os sinais transientes obtidos nas diferentes vazões estudadas.

Figura 13. (A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 1,0 mmol L⁻¹ em diferentes vazões. Solução transportadora: KCl 0,1 mol L⁻¹. Volume de amostra: 100 µL. $E_{\text{detecção}} = +0,6$ V. Vazões: (A) 1; (B) 2; (C) 3; (D) 4; (E) 5; (F) 6; (G) 7 mL min⁻¹. (B) Variação da corrente em função da vazão da solução transportadora.

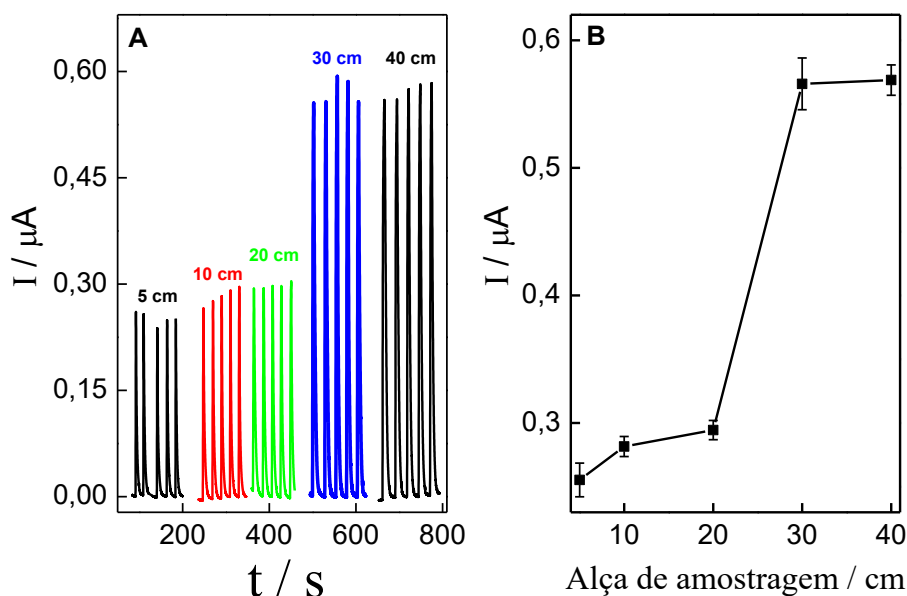


Os sinais transientes mostrados na Figura 13 demonstram que, com o aumento da vazão, a dispersão da zona da amostra diminui, pois, a velocidade que a mesma chega ao sistema de detecção aumenta, ou seja, há um menor tempo de permanência da sonda eletroquímica no percurso analítico, fazendo com que os picos fiquem mais estreitos e mais intensos (MOREIRA, *et al.*, 2014). Observa-se que, a intensidade de corrente fica aproximadamente constante para vazões maiores iguais a 5 mL min⁻¹, sugerindo que a dispersão da zona da amostra atingiu seu

mínimo para estas vazões. Verifica-se uma diminuição da repetitividade para vazões maiores iguais a $4,0 \text{ mL min}^{-1}$. Estas altas vazões podem causar vazamentos, introdução de bolhas e/ou turbulência no fluxo da solução transportadora, sendo que todos estes fenômenos levam a um decréscimo da repetitividade. Novamente, o uso do sistema miniaturizado como detector amperométrico permitiu que o comportamento típico de dispersão da zona da amostra fosse observado. Em menores vazões a zona da amostra permanece mais tempo no percurso analítico e sofre maior dispersão na solução transportadora, gerando picos mais largos e menos intensos. O aumento da vazão torna os picos mais estreitos e intensos devido à menor dispersão da zona da amostra. Assim, o uso do sistema miniaturizado como detector amperométrico não introduz nenhum comportamento anômalo, sugerindo que este é adequado para a detecção amperométrica em sistemas FIA. Os estudos subsequentes foram realizados mantendo-se a vazão em 3 mL min^{-1} .

Outro parâmetro avaliado foi o volume injetado de amostra, para isso, foram estudados os seguintes comprimentos de alça de amostragem: 5; 10; 20; 30 e 40 cm. Os sinais transientes obtidos perante esta variação são apresentados na Figura 14.

Figura 14. (A) Sinais transientes obtidos para injeções de uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em diferentes comprimentos de alça de amostragem. Solução transportadora: $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $E_{\text{deteção}} = +0,6 \text{ V}$. Vazão: 3 mL min^{-1} . (B) Variação da corrente em função do comprimento de alça de amostragem.



A Figura 14 apresenta um aumento dos sinais transientes a partir do aumento do comprimento da alça de amostragem. Esse comportamento é observado pois, com o aumento do comprimento da alça, há o aumento do volume da sonda eletroquímica que é injetada no sistema, diminuindo, consequentemente, a dispersão da zona de amostra. Esta dispersão é

determinada basicamente pelo fator de difusão, sendo este mais efetivo nas fronteiras entre a zona de amostra e o transportador. Desta forma, com o aumento do volume de amostra, há o aumento da porção central da zona de amostra, região na qual a difusão é menos efetiva. Desta forma, a dispersão também é diminuída (MOREIRA, *et al.*, 2014; RUZICKA & HANSEN, 1988). Os volumes de amostra foram calculados a partir dos comprimentos de alça. Para isso, a Equação 1 foi empregada, e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1.

$$V_{injetado} = \pi r^2 L \quad 1$$

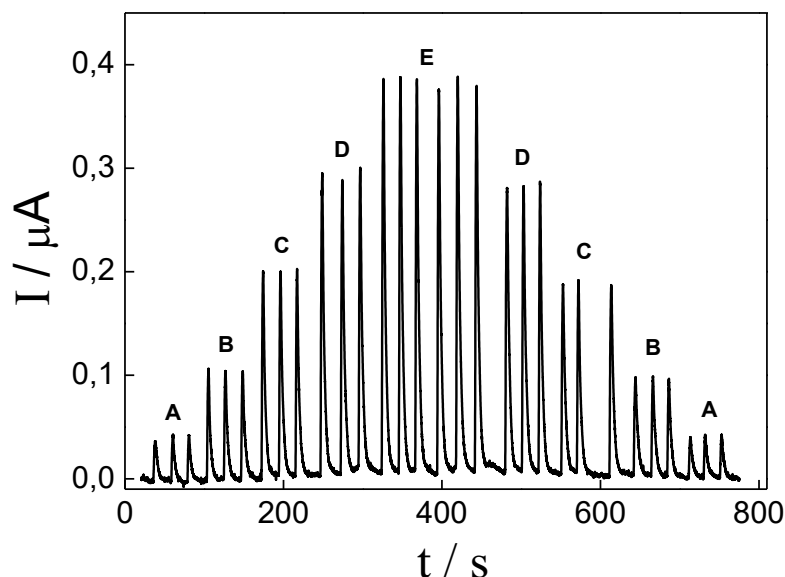
onde r é o raio interno da tubulação do sistema FIA (0,04 cm) e L é o comprimento da alça de amostragem em cm.

Tabela 1. Valores dos volumes injetados a partir das alças de amostragem de diferentes comprimentos.

L / cm	V _{injetado} / μ L
5	25
10	50
20	100
30	150
40	200

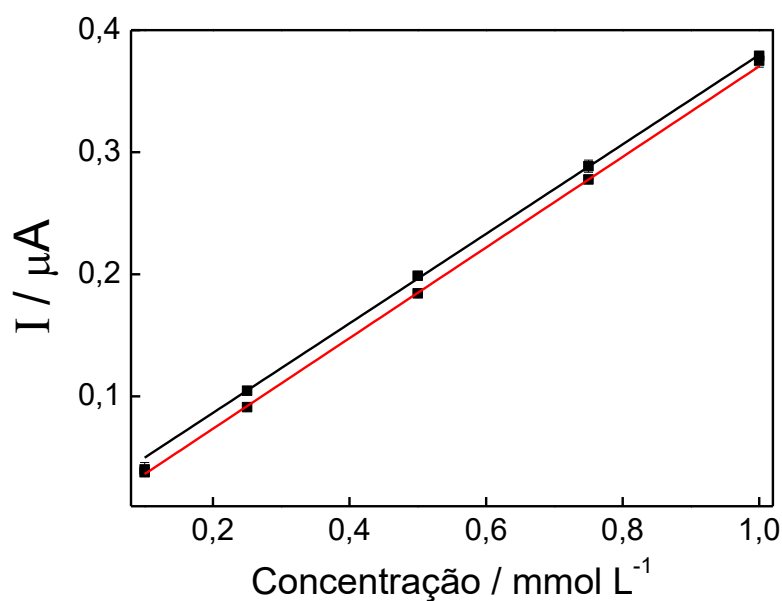
Visando verificar se o dispositivo miniaturizado apresentaria algum efeito de memória, ou se existe alguma perda de sinal em experimentos de longa duração, a influência da concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ foi estudada no intervalo de 0,10 a 1 mmol L⁻¹ a partir da construção de uma curva analítica nas ordens crescente e decrescente de concentração. Os sinais transientes obtidos por meio deste estudo são apresentados na Figura 15.

Figura 15. Sinais transientes obtidos para injeções de soluções de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em diferentes concentrações. Solução transportadora: $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Vazão: $3,0 \text{ mL min}^{-1}$. Volume de amostra: $100 \mu\text{L}$. $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V}$. (a) 0,10; (b) 0,25; (c) 0,50; (d) 0,75 e (e) 1 mmol L^{-1} .



A partir da Figura 15, foram construídas curvas analíticas, as quais estão apresentadas na Figura 16.

Figura 16. Curvas analíticas referentes às injeções de soluções de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em ordem crescente e decrescente de diferentes concentrações. Solução transportadora: $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Vazão: $3,0 \text{ mL min}^{-1}$. Volume de amostra: $100 \mu\text{L}$. $E_{\text{detecção}} = +0,6 \text{ V}$.



Observa-se, por meio dos resultados obtidos, que ambas as retas apresentam um coeficiente de relação linear satisfatórios, sendo estes: 0,99981 e 0,99974, para as ordens

crescente e decrescente, respectivamente. As Equações 2 e 3 referem-se às equações de regressão linear obtidas por meio das curvas apresentadas na Figura 16, quando em ordem crescente e decrescente de concentração, respectivamente.

$$I (\mu A): 0,01310 + 0,3666C (mmol L^{-1}) \quad 2$$

$$I (\mu A): -0,00077 + 0,3712C (mmol L^{-1}) \quad 3$$

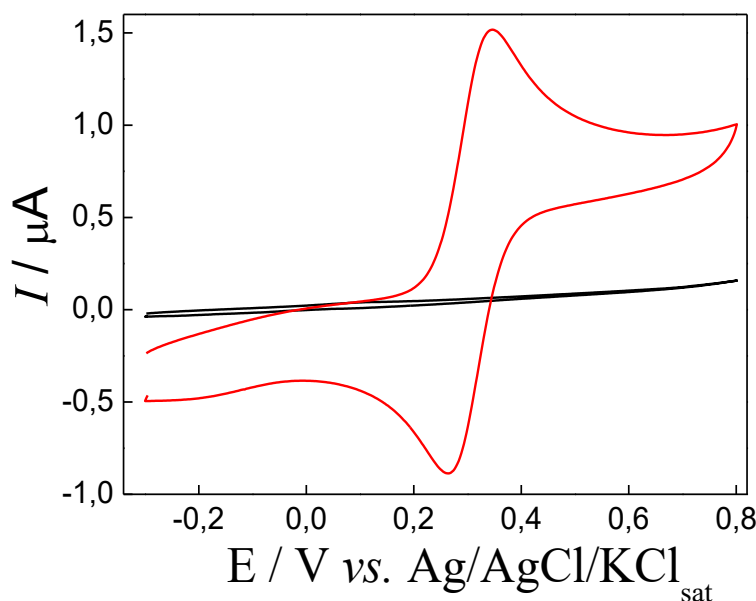
A partir dos valores de coeficientes angulares obtidos (0,3666 – crescente; 0,3712 – decrescente), observa-se que a resposta obtida para ambas as curvas é praticamente a mesma, o que indica que o eletrodo de trabalho não apresenta efeito de memória ou desativação na escala de tempo deste experimento. Além disso, a resposta linear alcançada entre o sinal e a concentração de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ aponta que o sistema miniaturizado acoplado ao sistema FIA comporta-se de um modo ideal.

Desta forma, após a verificação do funcionamento satisfatório do sistema miniaturizado como detector amperométrico em um sistema FIA, seguiu-se com os estudos voltamétricos utilizando-se de uma célula eletroquímica convencional.

4.2. Estudos Voltamétricos

A primeira etapa dos estudos voltamétricos envolveu a verificação do perfil voltamétrico do par redox $[Fe(CN)_6]^{4-}/[Fe(CN)_6]^{3-}$ empregando-se o sistema miniaturizado. Os voltamogramas cíclicos registrados neste estudo são apresentados na Figura 17. Estes experimentos foram realizados na ausência e presença de 5 mmol L^{-1} do ânion $[Fe(CN)_6]^{4-}$.

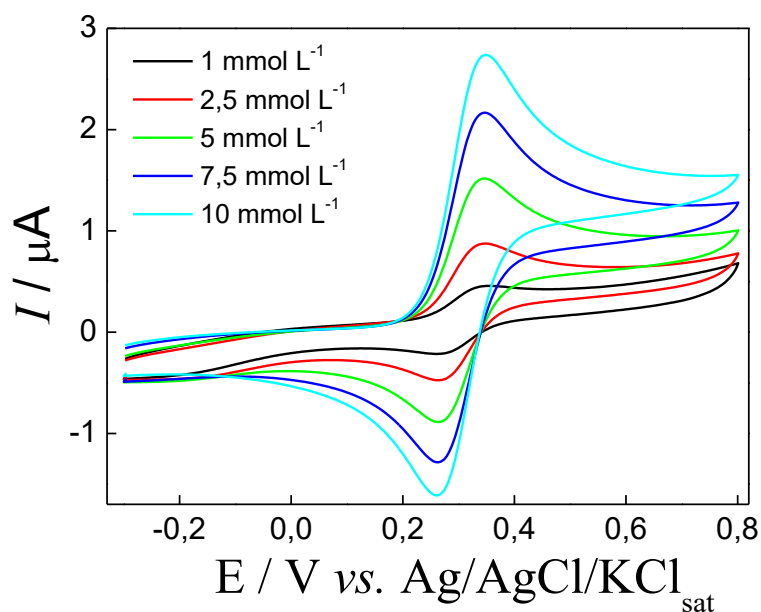
Figura 17. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1,0 mol L⁻¹ a 50 mV s⁻¹ na ausência e presença de 5 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]⁴⁻. (-) Ausência de [Fe(CN)₆]⁴⁻; (-) Presença de 5 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]⁴⁻.



Conforme ilustrado na Figura 17, nenhum processo redox é observado no voltamograma registrado na ausência de [Fe(CN)₆]⁴⁻. Porém, um par de picos de caráter reversível correspondente ao par redox [Fe(CN)₆]⁴⁻/[Fe(CN)₆]³⁻ é observado em aproximadamente 0,3V. A separação entre os potenciais de pico catódico e anódico (ΔE_p) foi de aproximadamente 90 mV, o que se aproxima satisfatoriamente do esperado para um sistema reversível envolvendo a transferência de 1 elétron (60 mV) (BARD, 2001). O valor de ΔE_p superior ao esperado pode ser atribuído a configuração da célula eletroquímica, na qual o eletrodo de referência encontra-se ligeiramente afastado do eletrodo de trabalho, aumentando a resistência não compensada entre estes eletrodos. É importante mencionar que, para dispositivos miniaturizados com eletrodos impressos de carbono, ou eletrodos de papel, são relatados valores de ΔE_p superiores a 200 mV (PRADELA-FILHO, *et al.*, 2017). O valor de ΔE_p encontrado para o sistema miniaturizado proposto no presente trabalho (90 mV) indica que o sistema miniaturizado desenvolvido não apresenta problemas de elevada resistência elétrica, sendo adequado para análises voltamétricas.

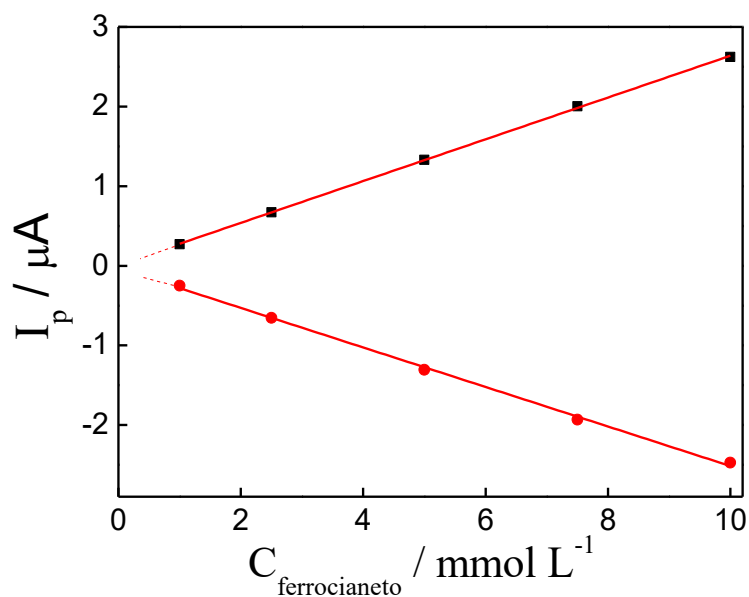
Desta forma, visando avaliar a dependência da corrente de pico com a concentração de [Fe(CN)₆]⁴⁻, medidas voltamétricas foram realizadas. Na Figura 18 são apresentados os voltamogramas cíclicos registrados a partir da variação das concentrações.

Figura 18. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1,0 mol L⁻¹ a 50 mV s⁻¹ na presença de diferentes concentrações de [Fe(CN)₆]⁴⁻.



Como observado, os voltamogramas cíclicos obtidos apresentam perfis voltamétricos com picos bem definidos de caráter reversível correspondentes ao par redox [Fe(CN)₆]⁴⁻/[Fe(CN)₆]³⁻, em aproximadamente 0,3 V. Construiu-se, a partir dos voltamogramas apresentados, curvas das intensidades máximas de correntes anódicas e catódicas em função da variação de concentração de [Fe(CN)₆]⁴⁻. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 19.

Figura 19. Gráficos de I_p em função da variação das concentrações de [Fe(CN)₆]⁴⁻.



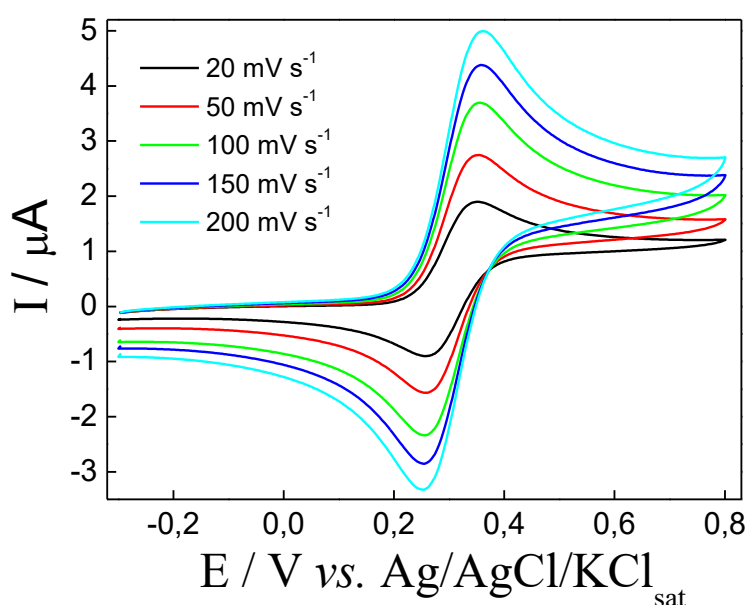
As curvas obtidas a partir do estudo de variação de concentração demonstraram uma relação linear satisfatória entre os valores de corrente de pico (I_p) anódica e catódica e a concentração de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, de acordo com o esperado segundo a equação de Randles-Sevcik, apresentada na Equação 4. As equações lineares obtidas para estes estudos foram: $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,01426 + 0,26239C (\text{mmol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99969$ e $I_{pc} (\mu\text{A}) = -0,03269 - 0,24819C (\text{mmol L}^{-1})$, $R^2 = 0,99789$. Além disso, observa-se que ambas as retas, quando extrapoladas, se iniciam muito próximo à origem dos eixos, indicando a ausência de possíveis modificações da superfície do eletrodo.

$$I_p = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad 4$$

sendo I_p corrente de pico em A, n número de elétrons, A área do eletrodo em cm^2 , D coeficiente de difusão em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, C concentração em mol cm^{-3} e v velocidade de varredura de potencial em V s^{-1} .

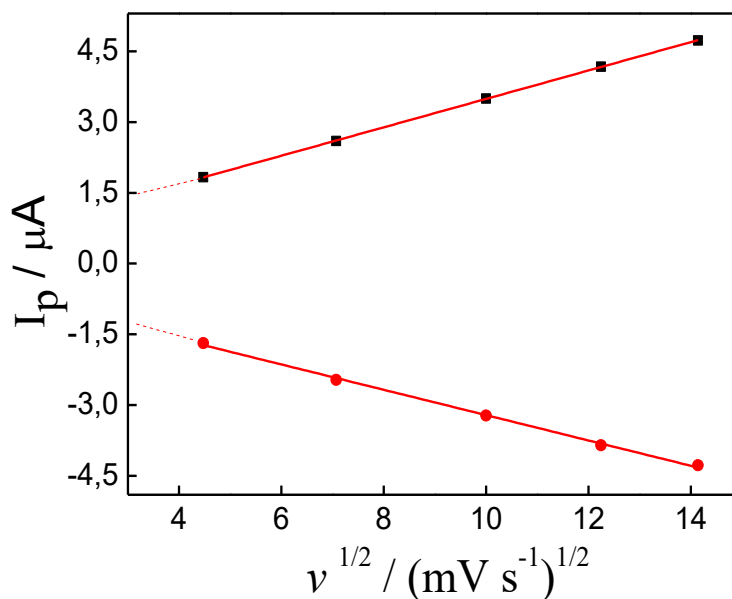
Após a realização dos estudos da variação de concentração, foram avaliados os perfis voltamétricos a partir da variação das velocidades de varredura. Os valores estudados foram: 20, 50, 100, 150 e 200 mV s^{-1} . Os voltamogramas cíclicos obtidos nestas velocidades de varredura são apresentados na Figura 20.

Figura 20. Voltamogramas cíclicos registrados em KCl 1,0 mol L^{-1} na presença de 10 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ em diferentes velocidades de varredura.



A partir das correntes de pico obtidas, construíram-se curvas referentes às correntes anódicas e catódicas em função das raízes quadradas das velocidades de varredura. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 21.

Figura 21. Gráfico de I_p em função da variação das raízes quadradas das velocidades de varredura na presença de 10 mmol L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$.



Pode-se observar na Figura 21, que os voltamogramas cíclicos obtidos são típicos de processos controlados por difusão (BARD, *et al.*, 2001; PAIOLA, *et al.*, 2017). Assim sendo, de acordo com a Equação 4, ao construir um gráfico de I_p em função da $v^{1/2}$, tanto para a varredura catódica, quanto para varredura anódica, espera-se obter uma relação linear. Desta forma, os resultados obtidos e apresentados na Figura 21 concordam com o esperado por meio da equação. As equações das retas anódicas e catódicas obtidas foram, respectivamente: $I_{pc} (\mu\text{A}) = -0,52782 - 0,26841 v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $R^2 = 0,99789$ e $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,48027 + 0,30095 v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2}$, $R^2 = 0,99994$. Estes resultados demonstram que foram obtidas linearidades satisfatórias, ou seja, em ambos os casos $R^2 > 0,99$.

Observa-se também que, ao analisar os valores numéricos dos coeficientes angulares das retas, os mesmos se aproximam significativamente, diferenciando em 10 % entre si. Isto é um comportamento esperado pois, o coeficiente de difusão dos pares redox do ânion em questão são praticamente os mesmos, visto que suas estruturas oxidadas e reduzidas, são similares (PAIOLA, *et al.*, 2017). Tendo em vista que os outros parâmetros da Equação 4 são os mesmos, tanto para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, quanto para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, espera-se que cada um dos valores de correntes anódicas e catódicas (em módulo) obtidos a partir da variação das velocidades, sejam praticamente iguais, levando, desta forma, a uma razão próxima de 1 para os coeficientes

angulares dos gráficos de I_{pa} vs $v^{1/2}$ e I_{pc} vs $v^{1/2}$. Experimentalmente, a razão obtida foi de 1,12, indicando que o arranjo empregado no sistema eletroquímico miniaturizado não prejudica significativamente o perfil voltamétrico do par $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ em nenhuma das velocidades de varredura estudadas.

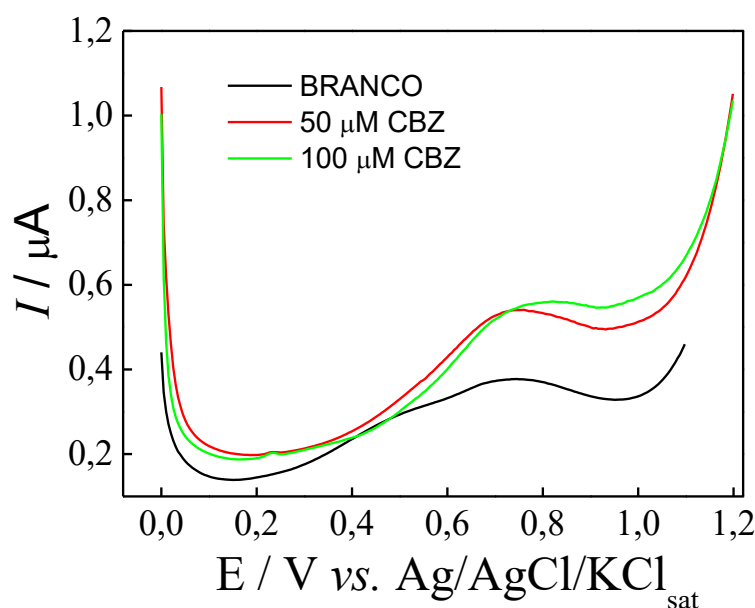
Os resultados voltamétricos obtidos indicam que o emprego do sistema miniaturizado como sensor eletroquímico é adequado para estudos de processos redox reversíveis. Desta forma, após construir uma célula eletroquímica miniaturizada, utilizou-se do sensor eletroquímico para a determinação de carbendazim.

4.3. Determinação de CBZ em microvolume de solução

Empregou-se o sistema miniaturizado confeccionado neste trabalho a fim de avaliar o comportamento eletroquímico do CBZ a partir de seu processo de oxidação. Desta forma, partindo de condições experimentais apresentadas na literatura (LUO, *et al.*, 2013; HERNANDEZ, *et al.*, 1996), foi utilizada a técnica de voltametria de pulso diferencial para avaliar a presença do analito em solução.

Inicialmente, realizaram-se medidas voltamétricas na ausência do fungicida e, posteriormente, em solução contendo 50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do mesmo. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 22.

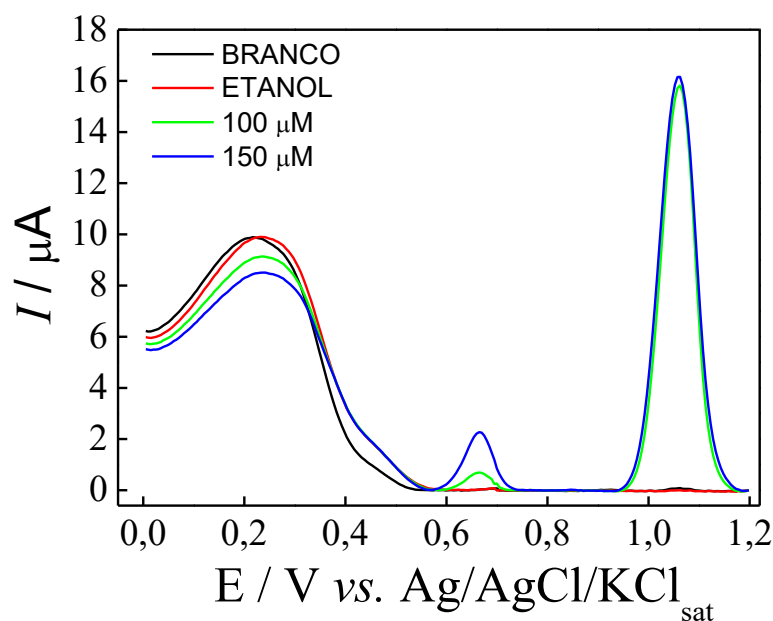
Figura 22. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. 0,04 mol L⁻¹, pH 2 na ausência e na presença de CBZ, empregando-se o sistema miniaturizado. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.



Conforme mostra a Figura 22, os perfis voltamétricos registrados na ausência e presença do analito são semelhantes. Observa-se um ligeiro aumento de corrente na presença de CBZ, porém não há uma definição no pico voltamétrico obtido. Assim, constata-se que a superfície de Pt não é adequada para a detecção do CBZ.

Com a finalidade de se obter melhores resultados voltamétricos para a determinação de CBZ, modificou-se o eletrodo de trabalho com nanotubos de carbono. Os voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o eletrodo modificado na presença e na ausência de CBZ estão apresentados na Figura 23.

Figura 23. Voltamogramas de pulso diferencial registrados em tampão B.R. $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 2, na presença de etanol e na ausência e presença de CBZ, empregando-se o sistema miniaturizado modificado com MWCNTs. Condições voltamétricas: $\Delta E_p = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $t_p = 25 \text{ ms}$, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

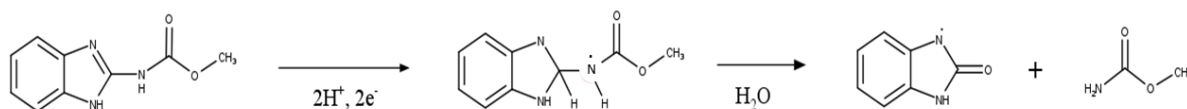


A Figura 23 mostra três picos voltamétricos: o primeiro em aproximadamente 0,2 V surge devido ao tratamento da linha de base, não obtendo significado físico. O segundo pico, em aproximadamente + 0,6 V, não pôde ser inteiramente explicado, porém, acredita-se que seja referente a um produto da oxidação do CBZ, uma vez que este pico só é observado após a varredura de potencial até + 1,2 V. O pico em aproximadamente +1,1 V é concordante com o observado na literatura para a oxidação do CBZ em pH = 2,0 (LIMA, *et al.*, 2016).

De acordo com a literatura, a oxidação do CBZ ocorre a partir da oxidação da dupla ligação do grupamento carbamato, envolvendo dois prótons e dois elétrons, o que leva a formação de uma amida (metil-carbamato: $\text{NH}_2\text{COOCH}_3$) e do radical heterocíclico (3H,3'H-

[1,1]bibenzoidimidazol), conforme apresentado na Figura 24 (MAXIMIANO, E. M.; et al., 2016).

Figura 24. Reação de oxidação do CBZ.



Fonte: Adaptado de MAXIMIANO, 2016.

A Figura 23 mostra que a modificação do eletrodo de trabalho do sistema miniaturizado com nanotubos de carbono foi eficiente e produziu picos voltamétricos bem definidos associados à oxidação do CBZ. Tendo em vista que o analito fora solubilizado em etanol, estudou-se também a possível influência deste solvente nos resultados obtidos. Observa-se que processos faradaicos não foram obtidos na ausência de CBZ, ou após a adição de etanol na solução, o que indica que nessa janela de potencial não há interferência do tampão e da solução de etanol, corroborando que sinais apresentados em aproximadamente 1,1 V são referentes ao CBZ. Assim, constata-se que a modificação do eletrodo de trabalho com nanotubos de carbono apresenta elevada potencialidade para a quantificação de CBZ, empregando-se microvolumes de solução de eletrólito de suporte/analito.

5. CONCLUSÕES

O sistema miniaturizado descrito neste trabalho apresenta uma combinação entre facilidade de manuseio, baixo consumo de amostra e reagentes, e simplicidade. O sistema proposto comportou-se satisfatoriamente como um detector amperométrico em um sistema FIA, permitindo que o efeito dos principais parâmetros operacionais deste sistema fosse avaliado. Este dispositivo mostrou-se igualmente eficiente como sensor voltamétrico para a determinação do fungicida CBZ, após a modificação do eletrodo de trabalho com nanotubos de carbono. Neste último, o potencial de detecção (E_{det}) de +1,1 V corroborou com o potencial encontrado na literatura quando em meio ácido ($\text{pH} = 2$). Conclui-se, portanto, que o dispositivo miniaturizado desenvolvido apresenta potencialidade para aplicações em eletroanálise, empregando-se microvolumes de solução. O dispositivo proposto permitiu a realização de estudos voltamétricos em um volume total de 500 μL , o que é significativamente menor do que o volume de solução normalmente empregado em estudos voltamétricos (10 mL).

REFERÊNCIAS

- AHAMMAD, A. J. S.; LEE, J. J.; RAHMAN, M. A.; Electrochemical sensors based on carbono nanotubes. **Sensors**, v. 9, p. 2289-2319, 2009.
- ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e Técnicas. **Chemkeys**, 2003.
- ALKIRE, R. C.; BARTLETT, P. N.; LIPKOWSKI, J. **Advances in Electrochemical Science and Engineering: Electrochemistry of Carbon Electrodes**, v. 16. Wiley-VCH: Germany, 2015.
- ANDRADE, L. S.; MORAES, M. C.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; CASS, Q. B. A multidimensional high performance liquid chromatography method coupled with amperometric detection using a boron-doped diamond electrode for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk. **Analytica Chimica Acta**, v. 654, p. 127-132, 2009.
- ARRUDA, G. J.; LIMA, F.; CARDOSO, C. A. L. Ultrasensitive determination of Carbendazim in water and orange juice using a carbon paste electrode. **Journal of Environmental Science and Health**, 0, 1-6, 2016.
- BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**, 4ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2011. p. 438.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Electrochemical methods fundamentals and applications, 2ª ed., John Wiley & Sons: New York, 2001, cap. 6.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods**; Wiley; New York; 316, p. 119, 1980.
- BARROSO, S., BENEDETTI, A. V. Compreensão matemática da difusão no contexto eletroquímico. **Química Nova**, 39, 356-370, 2016.
- BIAN, L.; LI, C.; ZONG, H.; Electrochemical Determination of Carbendazim in Water Base on Carbon Dots Modified Glassy Carbon Electrode. **Internation Journal of Electrochemical Science**, 12, 3675-3685, 2017.
- CARDOSO, R. M.; MONTES, R. H. O.; LIMA, A. P.; DONELLAS, R. M.; NOSSOL, E.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Multi-walled carbon nanotubes: size-dependent electrochemistry of phenolic compounds. **Electrochimica Acta**, v. 176, p. 36-43, 2015.
- COSTA, I. M.; CODOGNOTO, L.; VALLE, E. M. A. Voltammetric and spectroscopic studies of the interaction between copper (II) ions with the pesticide carbendazim and its effect in the soil. **Journal Solid State Electrochem**, 22, 1563-1570, 2018.
- FRANÇA, R. F.; OLIVEIRA, H. P. M.; PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L. Electroanalytical determination of Carbendazim and Fenamiphos in natural waters using a diamond electrode. **Diamond & Related Materials**, 22-28, 54-59, 2012.
- GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIESNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices. **Trends in Analytical chemistry**, v. 50, p. 78-84, 2013.

GARCÍA- REYES, J. F.; GILBERT-LÓPEZ, B.; MOLINA-DÍAZ, M. Determination of pesticide residues in fruit-based soft drinks. **Analytical Chemistry**, 80, 8966-8974, 2008.

GOODING, J. J. Nanostructuring electrodes with carbono nanotubes: A review on electrochemistry and applications for sensing. **Electrochimica Acta**, v. 50, p. 3049-3060, 2005.

HAGE, D. S.; CARR, J. D. **Química Analítica e Análise Quantitativa**. 1ª Ed., São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2012. Cap. 16.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 6ª Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003. p. 378-382.

HERBST, M. H.; MACÊDO, M. I. F.; ROCCO, A. M. Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar. **Química Nova**, v. 27, p. 986-992, 2004.

HERNANDEZ, P.; BALLESTEROS, Y.; GALAN, F.; HERNANDEZ, L. Determination of carbendazim with a grafite electrode modified with silicone OV-17. **Electroanalysis**, v. 8, p. 941-946, 1996.

HUEBRA, M. J. G.; NIETO, P. H.; O; BALLESTEROS, Y.; HERNÁNDEZ, L. Determination of carbendazim in soil samples by anodic stripping voltammetry using a carbon fiber ultramicroelectrode. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 367, p. 474–478, 2000.

ITKES, M. P. M.; OLIVEIRA, G. G.; SILVA, T. A.; FATIBELLO-FILHO, O.; JANEGITZ, B. C. Voltammetric sensing of fenitrothion in natural water and orange juice samples using a single- walled carbon nanohorns and zein modified sensor. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 840, p. 21-26, 2019.

KEIM, S. A.; ALAVANJA, M. C. R. Pesticide use by persons who reported a high pesticide exposure event in the agricultural health study. **Environmental Research Section A**, 85, 256-259, 2001.

KORYTA, J. The origin of polarography. **J. Electroanal Chem.**, v. 296, p. 293-297, 1990.

KOURKOUTA, L.; MONIONS, A.; ILIADIS, C.; DALAGKOSI, P.; OUSOUNAKIS, P. PAPATHANASIOU I. The impacto f pesticides on health. **Advances in Science, Technology & Innovation**, p. 1957-1959, 2018.

LIMA, T.; SILVA, H. T. D.; LABUTO, G.; SIMÕES, F. R.; CODOGNOTO, L. An experimental design for simultaneous determination of carbendazim and fenamiphos by electrochemical method. **Electroanalysis**, v. 28, p. 817-822, 2016.

LONG, R. Q.; YANG, R. T. Carbon nanotubes as a superior sorbent of nitrogen oxides. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 40, p. 4288-4291, 2001.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, p.1318-1325, 2006.

LUO, S.; WU, Y.; GOU, H. A voltammetric sensor based on GO-MWNTs hybrid nanomaterial-modified electrode for determination of carbendazim in soil and water samples. **Ionics**, v. 19, p.673-680, 2013

MAXIMIANO, E. M.; CARDOSO, C. A. L.; ARRUDA, G. J. Detecção eletroquímica em sucos de frutas cítricas utilizando eletrodo de pasta de carbono. **Orbital**, v. 8, p. 232- 239, 2016.

MELO, R. F. de; BRITO, L. T. de LE.; GIONGO, V.; ANGELOTTI, F.; MIGUEL, A. A. Pesticidas e seus impactos no ambiente. **Embrapa Semiárido**, cap. 4, 101-136, 2010.

MIRANDA, J. A. T.; CUNHA, R. R.; GIMENES, D. T.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Determinação simultânea de ácido ascórbico e ácido acetilsalicílico usando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica pulsada. **Química Nova**, v. 35, p.1459-1463, 2012.

MOREIRA, B. C. S.; TAKEUCHI, R. M.; RICHTER, E. M.; SANTOS, A. L. Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo utilizando materiais alternativos de baixo custo para fins didáticos. **Química Nova**, v. 37, p. 1566-1572, 2014.

MURRAY, R. W. Chemically modified electrodes: VI Binding and reversible electrochemistry of tetra-(aminophenyl)porphyrin on glassy carbon. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 78, p. 395, 1977.

NURAK, T.; PRAPHAIRAKSIT, N.; CHAILAPAKUL, O. Fabrication of paper-based devices by lacquer spraying method for the determination of nickel (II) ion in waste water. **Talanta**, v. 114, p. 291-293, 2013.

PAIOLA, I.F; FARIA, A. C. A.; ARAÚJO, D. A. G.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. Miniaturização de uma célula eletroquímica em um experimento didático de voltametria cíclica: economizando reagentes e minimizando a geração de resíduos. **Revista Virtual de Química**, v. 9, p. 953-973, 2017.

PRADELA, L. A. F. **Avaliação das condições de precipitação do azul da Prússia sobre pó de grafite visando o desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono para a quantificação de nitrito**. Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2016.

PRADELA, L. A. F. **Determinação voltamétrica de nitrito empregando hexacianoferrato (III) de potássio como mediador eletroquímico**. Monografia de conclusão de curso (Graduação em Química), Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2014.

PRADELA, L. A. F.; ARAÚJO, D. A. G.; TAKEUCHI, R. M.; SANTOS, A. L. Nail polish and carbono powder: An attractive mixture to prepare paper-based electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 258, p. 786-792, 2017.

RIBEIRO, W. F.; SELVA, T. M. G.; LOPES, I. C.; COELHO, E. C. S.; LEMOS, S. G.; ABREU, F. C. NASCIMENTO, V. B.; ARAÚJO, M. C. U. Electroanalytical determination of carbendazim by square wave adsorptive stripping voltammetry with a multiwalled carbon nanotubes modified electrode. **Analytical Methods**, v. 3, p. 1202-1206, 2011.

RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow Injection Analysis - Part I: A new concept of fast continuous flow analysis. *Analytica Chimica Acta*, v. 78, p. 145-157, 1975.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H.; Flow Injection Analysis. **Wiley**: New York, 2^a ed., 1988.

SANTOS, T. P.; OLIVEIRA, G. C. M.; SANTOS, F. A.; RAYMUNDO-PEREIRA, P. A.; OLIVEIRA, O. N. J.; JANEGITZ, B. C. Use of zein microspheres to anchor carbon black and hemoglobin in electrochemical biosensors to detect hydrogen peroxide in cosmetic products , food and biological fluids. **Talanta**, v. 194, p. 737-744, 2019.

SANTOS, W. T. P.; AZEVEDO, E. F.; RICHTER, E. M.; ALBUQUERQUE, Y. D. T. Construção e caracterização de um detector eletroquímico para análise em fluxo. **Química Nova**, v. 32, p. 2412-2416, 2009.

SANTOS, W. T. P.; GIMENES, D. T.; RICHTER, E. M.; ANGNES, L. Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos: potencialidades e aplicações. **Química Nova**, v. 34, p. 1753-1761, 2011.

SILVA, D.H. **Determinação simultânea e rápida de Pb²⁺ e Cu²⁺ em amostras de água utilizando um eletrodo de pasta de carbono a base de parafina sólida quimicamente modificado com sílica funcionalizada com 2-aminotiazol**. 2011. 40f. Monografia de conclusão de curso (Graduação em Química), Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2011.

SILVA, R. C. **Preparação e aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificados com ditiocarbamatos para análise de fármacos**. Dissertação de mestrado em ciências (Química Analítica), Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

SKOOG, A. G.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 9^a Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015. Cap. 23.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5^a Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. Cap. 22 e 25.

SLOAN, J.; COOK, J.; GREEN, M. L. H.; HUTCHISON, J. L.; TENNE, R. Crystallisation inside fullerene related structures. **J. Mater. Chem.**, v. 7, p. 1089-1095, 1997.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, p. 81-89, 2003.

SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, v.20, p. 191-195, 1997.

VILELA, T. G. C. **Avaliação de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e alumina para determinação de 4-cloroanilina**. Monografia de conclusão de curso (Graduação em

Química Industrial), Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

VUKOVIC, G.; MARINKOVIC, A.; OBRADOVIC, M.; RADMILOVIC, V.; COLIC, M.; ALEKSIC, R.; USKOKOVIC, P. S. Synthesis, characterization and cytotoxicity of surface amino-functionalized water-dispersible multi-walled carbon nanotubes. **Applied Surface Science**, v. 255, p. 8067-8075, 2009.