



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ELABORAÇÃO DE PLATAFORMA ELETROQUÍMICA DE  
CARBONO VÍTREO E FERRITA DE COBALTO PARA  
QUANTIFICAÇÃO DE Zn(II)**

**JEAN SCHÖNARDIE PALMA**

Florianópolis  
Junho/2023

Jean Schönardie Palma

**ELABORAÇÃO DE PLATAFORMA ELETROQUÍMICA DE CARBONO VÍTREO  
MODIFICADO E FERRITA DE COBALTO PARA A QUANTIFICAÇÃO DE Zn(II)**

Relatório apresentado ao Departamento de Química  
da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito parcial da disciplina de  
Estágio II (QMC 5512)

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. CRISTIANE LUISA JOST**  
**Coorientador: Me. ANTONIO GOMES DOS SANTOS NETO**

Florianópolis  
Junho/2023



Documento assinado digitalmente  
**Danielle Marranquiel Henriques**  
Data: 05/07/2023 11:17:35-0300  
CPF: \*\*\*.803.900-\*\*  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danielle Marranquiel Henriques**  
Coordenadora do Curso



Documento assinado digitalmente  
**Cristiane Luisa Jost**  
Data: 05/07/2023 13:16:15-0300  
CPF: \*\*\*.093.820-\*\*  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Luisa Jost**  
Orientadora



Documento assinado digitalmente  
**ANTONIO GOMES DOS SANTOS NETO**  
Data: 05/07/2023 14:30:47-0300  
CPF: \*\*\*.974.983-\*\*  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

**Me. Antonio Gomes dos Santos Neto**  
Coorientador

### **Banca Examinadora**



Documento assinado digitalmente  
**Daniela Zambelli Mezalira**  
Data: 04/07/2023 21:36:49-0300  
CPF: \*\*\*.648.550-\*\*  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Zambelli Mezalira**  
UFSC



Documento assinado digitalmente  
**Eduardo Sidinei Chaves**  
Data: 05/07/2023 22:42:26-0300  
CPF: \*\*\*.185.439-\*\*  
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

---

**Prof. Dr. Eduardo Sidinei Chaves**  
UFSC



## AGRADECIMENTOS

Agradeço inmensuravelmente a meus pais, Jane e Eder, pelo apoio incansável desde que nasci e que tornaram minha educação possível. Minha mãe, em especial, se fez presente integralmente em minha jornada acadêmica ao ter se mudado comigo para Florianópolis e acompanhado integralmente esta saga, sendo minha base e meu pilar. Espero ter dado orgulho a vocês e a toda a família.

Aos meus amigos da UFSC, em particular os que conheci ainda no primeiro semestre e com os quais mantenho contato até o presente momento: Ana Clara Possar, Bianca Martuscelli dos Santos, Cristian da Paz Braga e Julia Rech, vocês foram componentes essenciais em tudo isso.

Agradeço à minha orientadora, professora Cristiane Luisa Jost, por ter possibilitado este projeto e a conclusão desta etapa em minha vida. Sou muito grato pela atenção que me deu mesmo com a vida corrida que possui.

Ao meu coorientador, Antonio Gomes dos Santos Neto, sem o qual este trabalho teria sido muito mais laborioso. Serei sempre grato por ter me acolhido tão afetuosamente desde o primeiro dia e por ter tido tanta paciência, dedicação e compreensão. À Camila Silva de Sousa por ter sido tão simpática e disposta a sanar minhas dúvidas com tanta boa vontade por puro altruísmo.

A todos do laboratório Ampere, por terem me recebido tão bem e tornado minha enturmação tão agradável.

Ao professor Alexandre Parize, por ter fornecido o agente modificador do eletrodo, um dos cernes desta pesquisa.

À FAPESC, CAPES, UFSC e CNPq por ajudarem com o financiamento do trabalho.

A todos, muito obrigado!

*Festina*

*Lente*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
2.1 Metais essenciais.....	16
2.1.1 Zinco.....	18
2.2 Métodos para quantificação de zinco.....	19
2.2.1 Métodos eletroanalíticos.....	23
2.2.1.1 Voltametria.....	26
2.3 Eletrodos de trabalho.....	28
2.3.1 Modificação de eletrodos de trabalho.....	29
2.3.2 Ferrita de cobalto como agente modificador.....	30
2.4 Eletrólito suporte.....	33
2.5 Pré-concentração.....	34
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
3.1 Objetivo geral.....	35
3.2 Objetivos específicos.....	35
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>36</b>
4.1 Reagentes e soluções.....	36
4.2 Instrumentação.....	37
4.2.1 Medidas eletroquímicas.....	37
4.2.2 Síntese da ferrita de cobalto.....	37
4.2.3 Preparo e modificação do eletrodo de trabalho.....	38
4.3 Segurança em laboratório e descarte e tratamento de resíduos.....	38
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
5.1 Caracterização do agente modificador $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ .....	39
5.2 Estudos da plataforma eletroquímica desenvolvida.....	40
5.2.1 Análise comparativa dos eletrodos.....	40
5.2.2 Comportamento eletroquímico do zinco.....	42
5.2.3 Estudo da influência do pH.....	44
5.2.4 Influência da natureza do eletrólito suporte.....	46
5.2.5 Influência da concentração do eletrólito suporte.....	48
5.2.6 Escolha da técnica.....	49
5.2.7 Otimização dos parâmetros operacionais.....	51
5.2.7.1 Frequência.....	51
5.2.7.2 Incremento de potencial.....	53
5.2.7.3 Amplitudde.....	54
5.2.7.4 Potencial de pré-concentração.....	55
5.2.7.5 Tempo de pré-concentração.....	57
5.2.8 Curva de calibração.....	58
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>61</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Célula voltamétrica de três eletrodos. (a) Representação esquemática mostrando os eletrodos na célula eletroquímica. (b) Diagrama de circuito mostrando a célula conectada a um sistema potenciostático. ....25**
- Figura 2: Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo para a DPV em instrumentos digitais. A corrente é amostrada em  $S_1$  e  $S_2$  e a diferença entre elas é que é registrada:  $I = IS_2 - IS_1$ . ....27**
- Figura 3: Sequência potencial vs. tempo (E vs. t) usada em voltametria de onda quadrada. (a) Rampa de escada; (b) Onda quadrada; (c) Sobreposição de (a) e (b). ....28**
- Figura 4: Geometria da Ferrita de Cobalto. (a) Estrutura cristalina da ferrita  $CoFe_2O_4$ . (b) Orbitais  $d$  para o  $Co^{2+}$  em ambiente octaédrico de alto spin segundo a Teoria do Campo Cristalino. ....32**
- Figura 5: Caracterização da  $CoFe_2O_4$  por microscopia eletrônica de transmissão, 100 kV. (a) Micrografias; (b) Histograma da distribuição de tamanho. ....39**
- Figura 6: Estudos referentes à escolha da concentração de Nafion<sup>®</sup>. (a) Voltamogramas cíclicos; (b) Gráfico de Nyquist. Experimentos realizados com GCE não modificado e com diferentes concentrações de Nafion<sup>®</sup> na preparação da dispersão do agente modificador e conduzidos em sonda redox  $Fe(CN)_6^{3-}/ Fe(CN)_6^{4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> em triplicata... ....41**
- Figura 7: Voltamogramas cíclicos referente aos perfis voltamétricos para  $[Zn^{2+}]$  2,6 mg L<sup>-1</sup>. (a) Eletrodo de trabalho: GCE; (b) Eletrodo de trabalho:  $CoFe_2O_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE. Experimentos conduzidos em solução tampão Britton-Robinson 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0). Velocidade de varredura: 50 mV s<sup>-1</sup>. ....43**
- Figura 8: (a) Voltamogramas de pulso diferencial aos perfis voltamétricos para  $[Zn^{2+}]$  2,6 mg L<sup>-1</sup>, na faixa de pH de 5,0 a 10,0; (b)  $I_{pa}$  vs. pH e (c) relação linear obtida pelo plot de  $E_{pa}$  vs. pH. Experimentos conduzidos em solução tampão Britton-Robinson 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Velocidade de varredura: 20 mV s<sup>-1</sup>. ....44**
- Figura 9: (a) Voltamogramas de pulso diferencial na presença de  $[Zn^{2+}]$  2,6 mg L<sup>-1</sup> em diferentes eletrólitos suporte; (b)  $I_{pa}$  vs. Tampões. Velocidade de varredura: 20 mV s<sup>-1</sup>. ....47**
- Figura 10: As habilidades de se ligar ao  $Zn^{2+}$  de ânions biológicos. As barras demonstram as porcentagem das espécies livres e complexadas, calculadas para 0,1 M do ânion e 1  $\mu$ M de  $Zn^{2+}$  total. As cores cinza claro e escuro se referem às espécies de  $Zn^{2+}$  livres e complexadas, respectivamente. ....48**
- Figura 11: (a) Voltamogramas de pulso diferencial na presença de  $[Zn^{2+}]$  2,6 mg L<sup>-1</sup> em diferentes concentrações de eletrólito suporte; (b) Plot de  $I_{SW}$  em função da concentração da solução tampão. ....48**

<b>Figura 12: (a) Comparação dos voltamogramas e (b) corrente de pico para <math>\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%</math> Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes técnicas: LSV; DPV; SWV. Experimentos conduzidos na presença de <math>[\text{Zn}^{2+}]</math> <math>2,26 \text{ mg L}^{-1}</math>, solução tampão Britton-Robinson <math>0,1 \text{ mol L}^{-1}</math>. .....</b>	<b>50</b>
<b>Figura 13: (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) correntes de picos registrados para <math>\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%</math> Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes frequências; (c) Plot de E vs. <math>\log(f^{1/2})</math>. Experimentos conduzidos na presença de <math>[\text{Zn}^{2+}]</math> <math>2,26 \text{ mg L}^{-1}</math>, solução tampão Britton-Robinson <math>0,1 \text{ mol L}^{-1}</math> (pH 7,0), <math>E_{\text{step}} = 5 \text{ mV}</math> e Amplitude = <math>50 \text{ mV}</math>. .....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 14: (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) correntes de picos registrados para <math>\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%</math> Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes valores de <math>E_{\text{step}}</math>. Experimentos conduzidos na presença de <math>[\text{Zn}^{2+}]</math> <math>2,26 \text{ mg L}^{-1}</math>, solução tampão Britton-Robinson <math>0,1 \text{ mol L}^{-1}</math> (pH 7,0), Frequência = <math>35 \text{ Hz}</math> e Amplitude = <math>50 \text{ mV}</math>. .....</b>	<b>53</b>
<b>Figura 15: (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) correntes de picos registrados para <math>\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%</math> Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes valores de amplitude. Experimentos conduzidos na presença de <math>[\text{Zn}^{2+}]</math> <math>2,26 \text{ mg L}^{-1}</math>, solução tampão Britton-Robinson <math>0,1 \text{ mol L}^{-1}</math> (pH 7,0), Frequência = <math>35 \text{ mV}</math> e <math>E_{\text{step}} = 4 \text{ mV}</math>. .....</b>	<b>55</b>
<b>Figura 16: Estudo do potencial de pré-concentração. (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) Correntes de picos registrados para <math>\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%</math> Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes valores potenciais. Experimentos conduzidos na presença de <math>[\text{Zn}^{2+}]</math> <math>2,26 \text{ mg L}^{-1}</math> e solução tampão Britton-Robinson <math>0,1 \text{ mol L}^{-1}</math> (pH 7,0). .....</b>	<b>56</b>
<b>Figura 17: Estudo do tempo de deposição. (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) Correntes de picos registrados para <math>\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%</math> Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes valores tempo. Experimentos conduzidos na presença de <math>[\text{Zn}^{2+}]</math> <math>2,26 \text{ mg L}^{-1}</math> e solução tampão Britton-Robinson <math>0,1 \text{ mol L}^{-1}</math> (pH 7,0). .....</b>	<b>57</b>
<b>Figura 18 (a) Voltamogramas de SWV para diferentes concentrações de zinco; (b) curva de calibração. Experimento realizado em tampão Britton-Robinson <math>0,1 \text{ mol L}^{-1}</math> (pH 7,0). .....</b>	<b>59</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1: Reagentes e soluções. ....</b>	<b>36</b>
---	-----------

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Metais essenciais e seus estados de oxidação, propriedades de ligação dos ligantes, mobilidade, função em sistemas biológicos, quantidades em que ocorrem naturalmente no corpo humano e permissões dietéticas diárias. ....17**
- Tabela 2: Panorâmica da performance analítica de técnicas selecionadas usadas para a determinação de elementos traço. ....21**
- Tabela 3: Valores de correntes e potenciais de pico para os eletrodos avaliados por voltametria cíclica em sonda redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>. ....42**
- Tabela 4: Otimização dos parâmetros operacionais da SWV para quantificação de zinco. ...58**
- Tabela 5: Parâmetros de mérito referentes à curva de calibração. ....60**

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

$a$  - Amplitude;

ADP - Adenosina Difosfato;

ASV - Voltametria de Redissolução Anódica (do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry*);

ATP - Adenosina Trifosfato;

CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Nafion<sup>®</sup>/GCE - Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com a suspensão de Ferrita de Cobalto;

CD - Pontos de Carbono (do inglês, *Carbon Dots*);

CDC - Código de Descrição de Circuitos (do inglês, *Circuit Description Code*);

CNT - Nanotubos de Carbono (do inglês, *Carbon Nanotubes*);

CPE-FAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - Extração no Ponto Nuvem (do inglês, *Cloud Point Extraction - Flame Atomic Absorption Spectrometry*);

CV - Voltametria Cíclica (do inglês *Cyclic Voltammetry*);

DC - Revestimento com Gota (do inglês, *Drop Coating*);

DLLME - Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (do inglês, *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*);

DPR - Desvio Padrão Relativo (do inglês *RSD, Relative Standard Deviation*);

DPV - Voltametria de Pulso Diferencial (do inglês *Differential Pulse Voltammetry*);

$E_p$  - Potencial de Pico;

$E_{pa}$  - Potencial de Pico Anódico;

$E_{pc}$  - Potencial de Pico Catódico;

$E_{Pré-Concentração}$  - Potencial de Pré-Concentração;

$E_{step}$  - Incremento de Potencial;

EIS - Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (do inglês, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*);

EECC - Energia de Estabilização do Campo Cristalino;

ETAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (do inglês, *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*);

$f$  - Frequência;

FAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*);

GF-ETAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica - Filtro de Grafite (do inglês, *Graphite Filter Furnace - Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*);

FSII - Fotossistema II;

GCE - Eletrodo de Carbono Vítreo (do inglês, *Glassy Carbon Electrode*);

I - Corrente Elétrica;

$I_{sw}$  - Corrente Elétrica da Onda Quadrada;

ICP-OES - Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*);

Inmetro - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia;

LbL - Camada por Camada (do inglês, *Layer-by-Layer*);

LoD - Limite de Detecção (do inglês, *Limit of Detection*);

LoQ - Limite de Quantificação (do inglês, *Limit of Quantification*);

LSV - Voltametria de Varredura Linear (do inglês *Linear Sweep Voltammetry*);

MIS-FAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - Sistema de Injeção Microamostra (do inglês, *Microsample Injection System - Flame Atomic Absorption Spectrometry*);

MT - Metalotioneína;

SF-ICP-MS - Espectrometria de Massa por Plasma Indutivamente Acoplado com Setor de Campo Eletromagnético (do inglês, *Sector Field Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*);

SOD - Superóxido Dismutase;

SPE-ICP-OES - Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado e Extração em Fase Sólida (do inglês, *Solid Phase Extraction Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*);

SWV - Voltametria de Onda Quadrada (do inglês, *Square Wave Voltammetry*);

$t$  - Tempo;

TS-FFAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (do inglês, *Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*);

TXRF - Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (do inglês, *Total Reflection X-Ray Fluorescence*);

$v$  - Velocidade de Varredura;

## RESUMO

Devido à sua participação em vários processos biológicos, o monitoramento dos níveis de zinco em baixas concentrações de maneira rápida e de baixo custo é visado. É pertinente que o método apresente potencial de aplicação a matrizes diversas, pois para além de se fazer medições em amostras biológicas é importante poder aplicá-lo a potenciais fontes externas de zinco, como amostras alimentícias e ambientais. Visando satisfazer tais demandas, é proposta a utilização de uma nova plataforma eletródica e sua utilização em métodos voltamétricos. Neste trabalho, caracterizou-se um eletrodo de carbono vítreo cuja superfície foi modificada com uma suspensão de ferrita de cobalto, Nafion<sup>®</sup> e ácido cítrico que foi chamado de CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/0,05% Nafion<sup>®</sup>/GCE. O material nanoestruturado, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, foi caracterizado por Microscopia Eletrônica de Transmissão e demonstrou boa regularidade morfológica. Para a avaliação de características do processo de quantificação de zinco eletroquimicamente, utilizou-se Voltametria Cíclica em [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-/4-</sup> e foi ratificado que a reação que ocorre na interface eletrodo-solução é quase-reversível. Já na presença do analito, o melhor sinal de corrente foi obtido em pH 7 e o eletrólito com a melhor resposta analítica foi o tampão Britton-Robinson em concentração de 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Diferentes técnicas voltamétricas foram comparadas e a que apresentou a maior sensibilidade na presença do analito foi a Voltametria de Onda Quadrada, que teve seus parâmetros otimizados e pela qual foi estipulado que o processo de oxirredução do zinco envolve um próton e dois elétrons. A curva de calibração obtida para o zinco apresentou duas faixas lineares, a primeira entre 9,08 µg L<sup>-1</sup> e 154,76 µg L<sup>-1</sup> enquanto a segunda entre 190,30 µg L<sup>-1</sup> e 371,21 µg L<sup>-1</sup>. Os limites de detecção e quantificação foram de 2,14 µg L<sup>-1</sup> e 6,50 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

**Palavras-chave:** *eletrodo de carbono vítreo; eletrodo modificado; eletroquímica; ferrita de cobalto; nanomateriais; voltametria; química analítica; zinco.*

## ABSTRACT

Due to its participation in various biological processes, monitoring zinc levels at low concentrations in a rapid and inexpensive manner is targeted. It is pertinent that the method presents potential for application to different matrices, because in addition to making measurements in biological samples, it is important to be able to apply it to potential external sources of zinc, such as food and environmental samples. In order to satisfy such demands, a new electrode platform and its use in voltammetric methods is proposed. In this work, a glassy carbon electrode whose surface was modified with a suspension of cobalt ferrite, Nafion<sup>®</sup> and citric acid was characterized and named CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/0,05% Nafion<sup>®</sup>/GCE. The nanostructured material, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, was characterized by Transmission Electron Microscopy and showed good morphological regularity. For the evaluation of the characteristics of the electrochemical zinc quantification process, such as its reversibility, Cyclic Voltammetry in [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-/4-</sup> was used and it was confirmed that the reaction that occurs at the electrode-solution interface is quasi-reversible. In the presence of the analyte, the best current signal was obtained at pH 7 and the electrolyte with the best analytical response was Britton-Robinson buffer at a concentration of 0.10 mol L<sup>-1</sup>. Different voltammetric techniques were compared and the one with the highest sensitivity in the presence of the analyte was Square Wave Voltammetry, which had its parameters optimized and by which it was stipulated that the redox process of zinc involves one proton and two electrons. The calibration curve obtained for zinc showed two linear ranges, the first between 9.08 µg L<sup>-1</sup> and 154.76 µg L<sup>-1</sup> while the second between 190.30 µg L<sup>-1</sup> and 371.21 µg L<sup>-1</sup>. The limits of detection and quantification were 2.14 µg L<sup>-1</sup> and 6.50 µg L<sup>-1</sup>, respectively.

**Keywords:** *glassy carbon electrode; modified electrode; electrochemistry; cobalt ferrite; nanomaterials; voltammetry; analytical chemistry; zinc.*

## 1. INTRODUÇÃO

Inúmeras doenças apresentam correlação direta com o nível de metais essenciais no organismo, como ferro, cobre e zinco. Altas quantidades de cobre ou baixas concentrações de ferro no sangue, por exemplo, podem acarretar doenças como a anemia, complicações no fígado e no baço. No que diz respeito ao zinco, este metal está ligado diretamente à defesa imunológica; seu excesso causa náusea, diarreia, dor de cabeça e desregula os níveis de cobre - outro metal essencial a nível de traço - no corpo, enquanto sua deficiência pode desenvolver alopecia, perda de peso, hipogonadismo e dermatite. O zinco tem especial importância para o sistema imunológico e seus níveis adequados variam de 0,7 a 1,3 mg L<sup>-1</sup> no sangue, tornando o seu monitoramento uma importante ferramenta no prognóstico de pacientes, e os métodos eletroanalíticos são uma forma conveniente de fazê-lo.

Eletrodos à base de mercúrio apresentam alto desempenho para a detecção voltamétrica de zinco. No entanto, existe uma crescente conscientização focada no uso de métodos ambientalmente amigáveis, minimizando a geração de resíduos tóxicos como o mercúrio. Paralelamente, a modificação superficial de eletrodos proporciona uma elevação de parâmetros como sensibilidade e seletividade de maneira rápida e fácil sem gerar grandes quantidades de resíduos. Nesse contexto, materiais eletromagnéticos nanoestruturados têm apresentado promissora resposta para o desenvolvimento de plataformas eletroquímicas de alto desempenho, devido à alta área superficial, propriedades elétricas e estabilidade. A ferrita de cobalto (CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), em especial, detém a capacidade de contribuir para a sensibilidade e seletividade em quantificação de zinco à conta de sua porosidade.

Com base nessas características, o presente trabalho visa investigar o emprego de uma suspensão de ferrita de cobalto, ácido cítrico e Nafion<sup>®</sup> à modificação pelo método *drop coating* de um eletrodo de carbono vítreo possuidor de uma ampla janela de potenciais e preço atrativo, como uma nova plataforma eletroquímica aplicada à quantificação voltamétrica de zinco, mostrando a potencialidade de aplicação do método a amostras reais, como clínicas, ambientais e alimentícias.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 METAIS ESSENCIAIS

Dos vinte elementos considerados essenciais para o funcionamento biológico humano, dez são metais e a outra metade é composta por não-metais. Adicionalmente aos quatro metais do grupo principal Sódio (Na), Potássio (K), Magnésio (Mg) e Cálcio (Ca) - que com o Cloro (Cl), Fósforo (P) e Enxofre (S) formam os macrominerais -, os metais essenciais englobam ainda seis metais de transição do bloco *d*, sendo eles o Manganês (Mn), Ferro (Fe), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Molibdênio (Mo) <sup>[1]</sup>, estes últimos sendo conhecidos como metais essenciais a nível de traço <sup>[2]</sup>.

A importância biológica desses metais tem relação com características como a mobilidade e a força com que interagem com os ligantes, sendo propriedades inversamente proporcionais (Tabela 1), i.e., os alcalinos e alcalino-terrosos, por fazerem ligações iônicas consideradas fracas com seus ligantes apresentam mobilidades altas em sistemas biológicos, enquanto os do bloco *d* são capazes de formarem complexos de coordenação em que estão fortemente ligados a seus ligantes, e por isso possuem baixa mobilidade nos sistemas citados <sup>[1]</sup>.

**Tabela 1:** Metais essenciais e seus estados de oxidação, propriedades de ligação dos ligantes, mobilidade, função em sistemas biológicos, quantidades em que ocorrem naturalmente no corpo humano e permissões dietéticas diárias.

Íon metálico	Propriedades de ligação dos ligantes	Mobilidade	Função biológica	Permissão nutricional diária para adultos/crianças (mg)
Na <sup>+</sup>	Fraca	Alta	Função regulatória: pressão osmótica, potencial de membrana, atividade enzimática	1100-3300/260
K <sup>+</sup>	Fraca	Alta	Ação neural, pressão osmótica	2000-5500/530
Mg <sup>2+</sup>	Intermediária	Semi-móvel	Metabolismo energético ATP → ADP, clorofila	300-400/60
Ca <sup>2+</sup>	Intermediária	Semi-móvel	Sinalização celular, regulação enzimática, contração muscular, sistema esquelético (ossos, dentes)	800-1200/420
Zn <sup>2+</sup>	Intermediária/Forte	Intermediária	Ácido de Lewis (anidrase carbônica, carboxipeptidase), papéis estruturais - dedos de zinco, enzimas reparadoras	15/5
Co <sup>2+,3+</sup>	Forte	Baixa	Coenzima da vitamina B <sub>12</sub>	0,2/0,001
Cu <sup>+,2+</sup>	Forte	Baixa	Transferência eletrônica (proteínas azuis de cobre), armazenamento de oxigênio, proteínas de transporte, ceruloplasmina	1,5-3,0/1,0
Fe <sup>2+,3+</sup>	Forte	Baixa	Armazenamento de oxigênio (hemoglobina, hemeritrina, proteínas de Fe-S transportadores de elétrons, citocromos)	10-20/7,0
Mn <sup>2+,3+,4+</sup>	Forte	Baixa	Enzimas (fosfatase, Mn-SOD mitocondrial, atividade fotorredox FS II)	2-5/1,3
Mo <sup>2+,3+,4+,5+,6+</sup>	Forte	Baixa	Enzimas (nitrogenase, redutases, hidroxilases)	0,075-0,250/0,06

FONTE: Virag, 2016 <sup>[3]</sup>.

Dentre as funções biológicas desses metais pode-se citar suas performances catalíticas, de regulação hormonal <sup>[1]</sup>, neurotransmissão, respostas antioxidantes e regulação da expressão genética <sup>[4]</sup>.

Embora essenciais, quando presentes em excesso podem ser tóxicos, assim como outras substâncias. Esse desequilíbrio pode ser causado por uma desregulação da homeostasia, responsável por mantê-los distribuídos na quantidade correta requerida pelas células, tecidos e órgãos, por alguma enfermidade ou por causas externas <sup>[5]</sup>, como pela ingestão de comida e água que contenham esses elementos ou por poluentes domésticos, industriais e médicos <sup>[6]</sup>. Isso pode provocar complicações tão diversas quanto doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, câncer, diabetes <sup>[1]</sup> e acúmulo de metais nos órgãos <sup>[5]</sup>. A importância do estudo do papel dos metais na saúde humana se faz ainda mais evidente pelo efeito que a alteração nos níveis de um pode causar sobre a homeostasia de outros que compartilhem os mesmos transportadores <sup>[4][5]</sup>.

### 2.1.1 Zinco

O zinco é um dos metais de maior presença no corpo humano e, também, um dos mais estudados <sup>[5]</sup>. Comparado a outros metais de transição, em sua forma iônica mais comum,  $Zn^{2+}$ , apresenta a particularidade de ter seus orbitais *d* completamente preenchidos, o que faz com que para além de ser diamagnético seus compostos não sofram reações de oxirredução e sejam incolores <sup>[1]</sup>.

É preciso salientar que metais essenciais estão biologicamente interligados a metais pesados, como pela alta afinidade destes aos resíduos de cisteína nas metalotioneínas (MTs), proteínas intracelulares quelantes ricas em cisteína que atuam em mecanismos homeostáticos com metais, detoxificação e capacidade de controle oxirredutivo <sup>[7][8][9]</sup>, controlando a distribuição, armazenamento e concentrações intracelulares e extracelulares do zinco <sup>[10]</sup>. Desta forma, o zinco a elas vinculado é mobilizado e seu armazenamento endógeno afetado, o que prejudica seu transporte da placenta ao feto, que necessita de metais essenciais para seu desenvolvimento. Também já foi sugerido que uma deficiência de zinco e outros minerais essenciais pode aumentar a susceptibilidade a chumbo, o que gera perturbações funcionais do sistema nervoso central após exposição a longo prazo mesmo a baixos níveis de tal elemento durante a infância <sup>[11]</sup>, e.g. prejuízos físicos e mentais e envelhecimento acelerado do cérebro em crianças e jovens adultos <sup>[12]</sup>. Um desbalanceamento do nível de zinco também afeta a homeostasia do cobre no metabolismo <sup>[1]</sup>, que por sua vez tem um papel crítico na química de oxirredução fisiológica e cujos excesso e deficiência

apresentam consequências patológicas; adicionalmente, há uma tendência das presenças de ambos no metabolismo a serem inversamente proporcionais <sup>[13]</sup>.

Problemas adicionais relacionados a desordens na quantidade de zinco presente no corpo humano incluem trauma e isquemia cerebral, a doença de Parkinson, demência vascular <sup>[4]</sup>, hipogonadismo <sup>[14]</sup> e alopecia <sup>[1]</sup>. Como esse desequilíbrio da quantidade de zinco pode fazê-lo assumir concentrações maiores ou menores que as adequadas, as enfermidades a isso relacionadas também contêm origens dependentes de sua concentração. Seu excesso pode causar mielopatia, déficit neurológico focal <sup>[15]</sup> e epilepsia, enquanto sua falta está relacionada a disfunções de memória e aprendizado, à doença de Alzheimer <sup>[16]</sup>, à esclerose lateral amiotrófica <sup>[12]</sup>, à dermatite <sup>[17]</sup>, a diversas outras desordens dermatológicas <sup>[18]</sup> e ao transtorno do déficit de atenção e hiperatividade <sup>[19]</sup>.

Em quantidades adequadas, o zinco contribui com sua habilidade estabilizante e sua atuação como cofator de proteínas e catalisador de enzimas <sup>[20]</sup>, com a sinalização de processos celulares, com a regulação da ação da insulina, cicatrização de feridas, saúde dental, resposta normal do paladar, manutenção do sistema imunológico e atividades antioxidantes e anti-inflamatórias <sup>[1]</sup>.

Devido à alta necessidade de zinco durante a infância e puberdade, às elevadas demandas nutricionais durante a gravidez e o período de amamentação e à menor eficiência da absorção de zinco em idades mais avançadas, crianças, adolescentes, gestantes, lactantes e idosos são considerados grupos de risco para a depleção de zinco <sup>[21]</sup>. Isso se torna ainda mais merecedor de atenção após a constatação de Tuerk *et al.* <sup>[20]</sup> de que a deficiência de tal micronutriente a nível mundial era estimada como sendo superior a 20% em 2009.

## 2.2 MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE ZINCO

A determinação de zinco e outros micronutrientes em amostras clínicas é valiosa para o monitoramento ambiental e de exposição ocupacional a esses elementos. A análise da urina, por exemplo, é justificada por se tratar do fluido biológico mais prontamente disponível e pela maioria dos elementos-traço serem por ela excretados <sup>[22]</sup>. Além da urina, a quantificação de zinco em amostras de saliva - que permite um monitoramento não-invasivo - e sangue <sup>[23]</sup> também são grandes aliadas na aferição do balanceamento do metabolismo e dieta humana e no diagnóstico de doenças. Destarte, a quantificação de zinco em fluidos biológicos - mas também em amostras de outras procedências - se mostra relevante para a química, biologia, ciências da saúde e outras áreas.

Múltiplos são os métodos analíticos utilizados para a determinação do zinco, dentre eles métodos baseados na formação de compostos de coordenação com propriedades ópticas favoráveis, espectrofotometria <sup>[24][25]</sup>, análise por injeção de fluxo com detecção por espectrometria de massa <sup>[22][26]</sup>, espectroscopia de raios x <sup>[27]</sup> e análise de ativação de nêutrons <sup>[28]</sup>. Tais técnicas apresentam pontos positivos, como alta sensibilidade, mas também limitações, como o alto custo de aquisição e manutenção do aparato requerido, tempo de análise e suscetibilidade ao efeito matriz, especialmente para amostras biológicas <sup>[22]</sup>.

As técnicas analíticas utilizadas para este fim precisam ser sensíveis considerando a aplicabilidade, apresentar resultados reprodutíveis, pronta resposta, requerer pouco ou nenhum preparo de amostra a fim de minimizar a contaminação, devem ser rápidas e de equipamento facilmente operável. Por isso, levando-se em consideração as possíveis interações entre a sílica dos utensílios de vidro e íons metálicos, tubos para amostragem de plástico devem ser favorecidos frente aos de vidro e as vidrarias utilizadas devem ser limpas com ácido e então rinçadas com água purificada <sup>[29]</sup>. Tendo em vista a rotina laboratorial e a necessidade de atender a demandas e serviços, é de interesse também que as técnicas sejam rápidas, como ao serem multielementares e capazes de determinar vários elementos simultaneamente <sup>[30]</sup>.

**Tabela 2:** Panorâmica da performance analítica de técnicas selecionadas usadas para a determinação de elementos traço.

<b>Amostra</b>	<b>Analito</b>	<b>Técnica</b>	<b>LoD [<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>]</b>	<b>DPR [%]</b>
Comida, águas naturais	$\text{Cr}^{3+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Fe}^{3+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Pd}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$	FAAS por coprecipitação	0,1-5,3	<5
Água de torneira, água subterrânea, efluente industrial	$\text{Cr}^{6+}$ , $\text{Pb}^{2+}$	DLLME, MIS-FAAS	0,037-0,054	<4
Fruta (maçã, uva, nectarina, vagem, melão cantaloupe)	$\text{Cu}^{2+}$	FAAS com CNTs funcionalizados	0,65	3
Ambiental (amostras de água)	$\text{Cr}^{6+}$	FAAS com pontos de carbono (CDs)	0,21	2,8
Água, biológica (cabelo, unha), fígado	$\text{Zn}^{2+}$	FAAS por injeção de fluxo	2,2	<1,2
Sucos de fruta, água do mar	Cu	TS-FFAAS com resina quelante	0,15	2,7-6
Vinho, cerveja, leite, kefir, iogurte, suco, limonada	Pb, As, Cd	GF-ETAAS	0,1-2,0	3-6
Sucos, cervejas alcoólicas	$\text{Sn}^{4+}$	CPE-FAAS	0,33	2,1-6,2
Óleo vegetal, amostras de gordura	Mn, As, Pb, Cu, Cd, Zn	FF-ETAAS	4-0,8	3-8
Vinagre	Cd	ETAAS	0	1,07-2,33

<b>Amostra</b>	<b>Analito</b>	<b>Técnica</b>	<b>LoD [<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>]</b>	<b>DPR [%]</b>
Água	Multielementar	SPE-ICP-OES	0,01-0,39	1,2-2,2
Fluidos corporais	Cr, Ni, Al, V	ICP-OES por fumaça de $\text{H}_2\text{SO}_4$	1-2	1
Fluidos corporais	Al, Be, Cd, Co, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb, V	SF-ICP-MS	0,001-0,05	1-5
Água fluvial	Pb, As, Cu, Hg	Voltametria de redissolução	0,07-0,4	2-12
Água da torneira	$\text{As}^{3+}$	Voltametria de redissolução com eletrodo de diamante dopado com boro	1,5	4,56
Água doce e água salgada	$\text{Ir}^{3+}$	Voltametria adsortiva de redissolução catalítica	0	6
Filtros atmosféricos	Multielementar	TXRF	0,0003-0,009	-

FONTE: Bulska, 2017 <sup>[31]</sup>.

Devido a seus baixos limites de detecção requeridos para a determinação das baixas concentrações nas quais o zinco está presente nos fluidos biológicos <sup>[32]</sup>, robustez, seletividade, portabilidade, baixo custo, facilidade de operação dos equipamentos e especificidade para cada estado de oxidação dos elementos <sup>[33]</sup>, os métodos eletroanalíticos despertam interesse <sup>[23]</sup> quanto à determinação de zinco em amostras clínicas.

### 2.2.1 Métodos eletroanalíticos

Para o entendimento adequado da eletroquímica, é preciso esclarecer as convenções de sinais. As células eletroquímicas são consideradas combinações de duas meias-células, uma para a reação de oxidação e a outra para a de redução. Para haver um fluxo de corrente na célula, é preciso de ambas. Por convenção, as reações que ocorrem nas células são representadas como reduções <sup>[33]</sup>.



Onde  $Ox$  = símbolo para a forma oxidada da meia-reação balanceada;

$Red$  = símbolo para a forma reduzida da meia-reação balanceada;

$n$  = nº de elétrons envolvidos na meia-reação.

Tais espécies químicas são transportadas em solução por um ou mais processos, e o entendimento do transporte de massa é fundamental tendo-se em vista que a corrente observada depende da taxa em que o material do seio da solução chega ao eletrodo <sup>[33]</sup>.

Chama-se migração o movimento de substâncias carregadas num gradiente elétrico, resultado da força exercida sobre as partículas carregadas por um campo elétrico. Pode ser exemplificado como a simples atração coulômbica entre uma partícula e uma superfície de eletrodo com cargas opostas ou, alternativamente, como a repulsão coulômbica se apresentarem cargas de mesmo sinal <sup>[33]</sup>.

Convecção é o transporte de massa de material eletroativo por movimentos físicos - fluxos fluidos ou hidrodinâmicos - da solução. Fluxos fluidos ocorrem geralmente por convecção natural (causada por gradientes de densidade) ou convecção forçada (causada por algum tipo de agitação) <sup>[33]</sup>.

Já o transporte natural de uma substância sob um gradiente de potencial químico devido ao gradiente de concentração é conhecido como difusão <sup>[33]</sup>. De tal modo, o transporte de massa unidimensional pode ser representado pela Equação de Nernst-Planck (2).

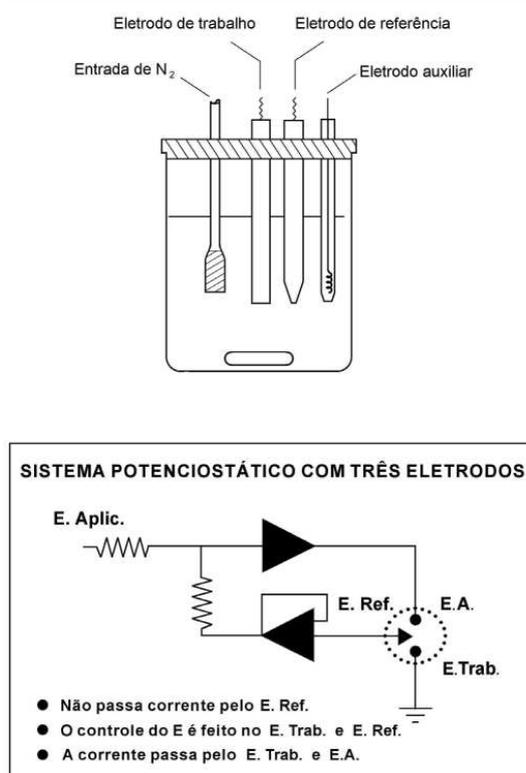
$$J_i(x) = -D_i \frac{\delta C_i(x)}{\delta x} - \frac{z_i F}{RT} D_i C_i \frac{\delta \Phi(x)}{\delta x} + C_i v(x) \quad (2)$$

Onde  $J_i(x)$  é o fluxo da espécie  $i$  ( $\text{mol s}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ) à distância  $x$  da superfície,  $D_i$  é o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ),  $\frac{\delta C_i(x)}{\delta x}$  é o gradiente de concentração à distância  $x$ ,  $\frac{\delta \Phi(x)}{\delta x}$  é o gradiente de potencial,  $z_i$  e  $C_i$  são a carga (adimensional) e concentração ( $\text{mol cm}^{-3}$ ) da espécie  $i$ , respectivamente, e  $v(x)$  é a velocidade ( $\text{cm s}^{-1}$ ) com a qual um elemento de volume em solução se move ao longo do eixo  $x$ . Os três termos ao lado direito representam as contribuições da difusão, migração e convecção, respectivamente, ao fluxo [34].

Os métodos eletroanalíticos se baseiam na medição da resposta elétrica de sistemas químicos, como pela aplicação de um potencial a um eletrodo de trabalho e à solução adjacente (interface eletrodo-solução). Os sistemas experimentais são divididos da seguinte maneira: há o *eletrólito*, que é o sistema químico capaz de conduzir corrente elétrica; o *sistema externo* ou *mensurador*, que aplica e mede sinais elétricos (correntes e voltagens); e os *eletrodos*, condutores que fazem o contato entre o sistema mensurador e o eletrólito [33].

Os eletrodos podem ser classificados como ânodos ou cátodos. No ânodo, há a oxidação do analito, em que elétrons são abstraídos dele e transferidos ao sistema mensurador. No cátodo, ocorre a redução, pela qual elétrons fluem do cátodo ao eletrólito. Além desses processos faradaicos, é relevante ter conhecimento sobre os não-faradaicos, como adsorção e dessorção, que afetam a estrutura da interface eletrodo-solução e conseqüentemente mudanças transitórias na corrente e/ou potencial e ocorrem sob condições onde reações de transferência de carga são termodinamicamente ou cineticamente desfavoráveis. Outrossim, os eletrodos também podem ser classificados como eletrodo de trabalho ou indicador, no qual uma reação estudada se passa; eletrodo de referência, que mantém um potencial constante independentemente de mudanças na corrente; e contra-eleto-rodo ou eletrodo auxiliar, que permite que a corrente flua pelo eletrólito mas cujas características não influenciam o comportamento mensurado, que depende do que acontece no eletrodo de trabalho [33].

**Figura 1:** Célula voltamétrica de três eletrodos. (a) Representação esquemática mostrando os eletrodos na célula eletroquímica. (b) Diagrama de circuito mostrando a célula conectada a um sistema potenciostático.



FONTE: Aleixo, 2018 [35].

Quando a corrente flui num sistema eletroquímico, ela é determinada pela resistência total de todo o circuito. Os métodos eletroanalíticos podem ser classificados em dois tipos: um em que a resistência dos eletrodos é tornada negligível e, portanto, mede-se a condutância dos eletrólitos (como é o caso da condutimetria e oscilometria); e outro em que é a resistência do eletrólito que é tornada negligível e estuda-se os fenômenos que ocorrem nos eletrodos (voltametria e polarografia) [33].

Outra forma de classificá-los é entre os que não envolvem fluxo de corrente líquido (métodos potenciométricos) e os que o envolvem (todos os outros). Na potenciometria, mede-se o potencial termodinâmico de equilíbrio de um sistema sem causar eletrólise ou dreno de corrente a ele, pois isso afetaria seu equilíbrio. Nos outros métodos, uma corrente ou voltagem é aplicada e monitora-se o fluxo de corrente resultante através do sistema ou sua mudança de voltagem. Por não precisarem lidar com características de equilíbrio particulares do sistema e o forçarem a responder eletroquimicamente a um estímulo, ganha-se bastante controle analítico sobre ele [33].

### 2.2.1.1 Voltametria

Considerada uma ferramenta poderosa para o químico e mensurações de espécies eletroativas de significância biológica, a voltametria foi beneficiada pelo renascimento pelo qual a eletroquímica passou, particularmente graças aos avanços em instrumentação e circuitos eletrônicos. Pelos motivos citados, além de apresentarem pronta resposta e serem não-destrutivos em relação à amostra, métodos baseados em técnicas como a voltametria são considerados atrativos e amplamente empregados hodiernamente <sup>[36]</sup>.

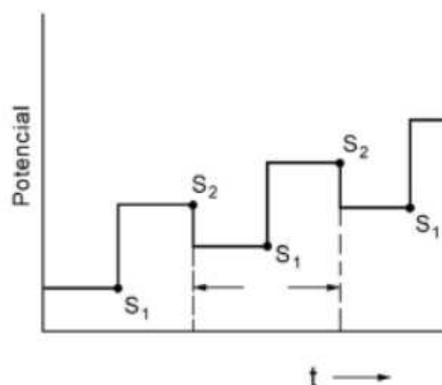
A voltametria representa uma técnica em que a corrente no eletrodo de trabalho (polarizado) é mensurada como uma função do potencial (ou voltagem) empregado àquele eletrodo (o oposto, i.e. aplicar uma corrente e registrar a mudança de potencial também pode ser útil <sup>[37]</sup>), assim sendo, a força de redução ou oxidação do eletrodo é controlada pelo potencial aplicado. Por exemplo, ao passo que o potencial do eletrodo se torna mais negativo, o eletrodo se torna um redutor mais forte, i.e., uma maior fonte de elétrons; já potenciais mais positivos favorecerão oxidações <sup>[38]</sup>.

Dentre as várias formas de voltametria, as que se baseiam na varredura de potencial, como a Voltametria Cíclica (CV, do inglês *cyclic voltammetry*) e a Voltametria de Varredura Linear (LSV, do inglês *linear sweep voltammetry*) são provavelmente as mais populares para o estudo de processos em eletrodos. A diferença entre elas é que esta apresenta uma única varredura enquanto aquela inverte o potencial para formar um ou múltiplos ciclos. A CV é largamente utilizada em estudos eletroquímicos iniciais, tanto é que costuma ser a primeira técnica para se adquirir informações qualitativas do mecanismo e reações eletroquímicas, determinação de potenciais formais, determinação de reações químicas que precedem ou seguem a transferência de elétrons e avaliação da cinética de transferência de elétrons. Ambas possuem boa resolução de curvas em forma de pico, curvas de corrente-potencial rapidamente registradas e sensibilidade suficientemente adequada <sup>[33][35][36][37][38]</sup>.

As técnicas voltamétricas de degraus (*steps*) abrangem a aplicação de combinações de degraus de potenciais ao eletrodo e apresentam um aumento de sensibilidade em relação às de varredura devido à curta duração dos pulsos, no final de cada um dos quais a corrente é medida, e à ampliação da razão entre correntes faradaica e capacitiva, ou não-faradaica, o que permite medir quase somente a corrente faradaica se os parâmetros corretos forem selecionados. Faz parte desse tipo a Voltametria de Pulso Diferencial (DPV, do inglês *differential pulse voltammetry*), que consiste de pulsos de amplitude pequena e constante sobrepostos numa onda em forma de escada, como exemplificado na Figura 2. A corrente é medida duas vezes, tanto antes da aplicação do pulso quanto no seu final e o valor final da corrente é a diferença entre esses dois valores, o que compensa

a corrente capacitiva. A altura e a corrente do pico são diretamente proporcionais à concentração da espécie eletroativa. Por sua alta sensibilidade é particularmente útil para análises a níveis de traço [37].

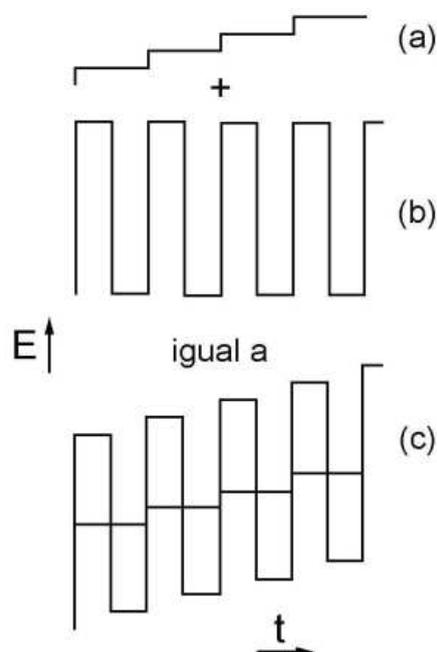
**Figura 2:** Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo para a DPV em instrumentos digitais. A corrente é amostrada em  $S_1$  e  $S_2$  e a diferença entre elas é que é registrada:  $I = IS_2 - IS_1$ .



FONTE: Aleixo, 2018 [35].

Também pertence a essa categoria a Voltametria de Onda Quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*), em que uma rampa de escada em forma de degraus (Figura 3a) é sobreposta a uma onda quadrada simétrica (Figura 3b) de tal forma que o pulso direto da onda quadrada coincida com o início do degrau da rampa, enquanto o pulso reverso da onda quadrada por sua vez coincide com a metade da etapa da rampa em degraus (Figura 3c). A corrente é medida no final do pulso direto e também no final do reverso; a diferença de corrente é registrada em função do potencial. Assim como a DPV, também compensa a corrente capacitiva e a altura e corrente do pico são proporcionais à concentração da espécie eletroativa, mas é mais rápida e tem sensibilidade semelhante e em alguns casos até mesmo maior [33][35][36][37][38].

**Figura 3:** Sequência potencial vs. tempo (E vs. t) usada em voltametria de onda quadrada. (a) Rampa de escada; (b) Onda quadrada; (c) Sobreposição de (a) e (b).



FONTE: Aleixo, 2018 <sup>[35]</sup>.

### 2.3 ELETRODOS DE TRABALHO

Sendo a voltametria uma técnica baseada no estudo dos fenômenos que ocorrem na interface entre o eletrodo de trabalho e a fina camada de solução adjacente a essa superfície, a configuração dos eletrodos utilizados, em especial do de trabalho, é de suma importância para a eletroanálise. Por exemplo, numa célula de três eletrodos, a corrente passa entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, para evitar que ocorram distúrbios no de referência, como é o caso da configuração de dois eletrodos. Congruente com sua proeminência, eletrodos de trabalho de composições sortidas têm sido desenvolvidos, indo dos de metais puros e ligas, passando pelos de materiais compósitos e pastas até os de materiais nanoestruturados <sup>[39]</sup>.

O eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*) se destaca por sua sensibilidade, seletividade, inércia química, propriedades elétricas adequadas, injeção de carga puramente capacitiva, cinética eletroquímica de superfície rápida <sup>[40]</sup>, corrente de fundo pequena, ampla janela de potencial, baixo custo, boa rigidez mecânica <sup>[41]</sup> e catenação <sup>[42]</sup>.

É bem aceito que a transferência de elétrons na superfície do eletrodo feito deste material carbonáceo depende da estrutura superficial, que por sua vez é relacionada aos protocolos de pré-tratamento de superfície <sup>[42]</sup>.

Conforme a aplicação pretendida, os eletrodos de trabalho podem passar por modificações químicas transitórias ou permanentes <sup>[39]</sup>. As modificações superficiais, especificamente, podem ser conduzidas com vistas a diferentes propostas, sejam elas alterar as propriedades de transporte para a superfície do eletrodo, como ao recobri-la por membrana polimérica que bloqueie interferentes com base na carga/tamanho e seja permeável à espécie de interesse; forçar reações (como de pré-concentração, que aumentará a razão corrente faradaica/corrente capacitiva) na superfície do eletrodo, valendo-se de propriedades de ligantes e reações enzimáticas; ou melhorar a transferência de elétrons, por exemplo, por eletrocatalise <sup>[43]</sup>. Ambos os últimos princípios contribuem para a obtenção de sensibilidades mais altas, enquanto todos os três resultam em aumento da seletividade <sup>[44]</sup>.

### 2.3.1 Modificação de eletrodos de trabalho

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos é uma área de crescimento contínuo na eletroquímica. Sensores eletroquímicos são utilizados extensivamente em nossas vidas diárias, em lugares como laboratórios químicos, indústrias e centros de saúde. O estudo de sensores eletroquímicos/bioquímicos durante a análise providencia informações úteis para o entendimento e resolução de problemas no que tange à poluição ambiental, ciclos biogeoquímicos e processos químicos ambientais fundamentais <sup>[42]</sup>.

Além do transporte de massa, da termodinâmica e da cinética da transferência de elétrons, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos requer conhecimento das propriedades superficiais do eletrodo e de seu material. Devido às limitações apresentadas pelos eletrodos convencionais, a melhor abordagem para aprimorar a seletividade, sensibilidade, estabilidade, resistência à corrosão <sup>[45]</sup> e outros parâmetros é a modificação superficial desses eletrodos, que os torna aptos a serem utilizados em estudos do comportamento eletroquímico de espécies modificadas superficialmente, eletrocatalise, síntese eletro-orgânica, estabilização de semicondutores, conversão de energia fotoeletroquímica, fotossensibilização, eletrocromismo e, claro, eletroanálise <sup>[42]</sup>.

Há vários métodos disponíveis para o pré-tratamento, dentre os quais quatro se destacam <sup>o</sup>.

No método por adsorção o modificador é fixado forte e irreversivelmente ao substrato. Esse método gera apenas uma monocamada do modificador imobilizado; no entanto, há possibilidade de formação de filmes. O solvente é facilmente removido após uma etapa de aquecimento em mufla em temperatura controlada <sup>[46]</sup>.

O via ligação covalente incorpora covalentemente o modificador ao substrato do eletrodo com base na manipulação dos grupos funcionais existentes na superfície do eletrodo. Este método

também gera apenas uma monocamada, requer mais tempo e é mais difícil de ser executado, mas é mais estável que os outros [46].

O recobrimento por filmes poliméricos se baseia na formação de camadas poliméricas sobre a superfície do eletrodo, sendo que a membrana polimérica deve apresentar interações com a superfície do substrato, ter baixa solubilidade em solução aquosa e ser condutora ou permeável ao eletrólito e ao analito. Logo, tal técnica permite várias monocamadas do material ativo na superfície modificada [46].

Por sua vez, a utilização de compósitos se vale da característica desses materiais de serem formados por duas ou mais fases que mantêm suas naturezas individuais, enquanto a mistura pode apresentar características físicas, químicas ou biológicas novas. Possibilita a modificação interna do material eletrodico [46].

Outra maneira de classificar a modificação do GCE é entre dois modos simples e de grande espectro de utilização, como o de revestimento com gota (DC, do inglês *drop coating*) e o de camada por camada (LbL, do inglês *layer-by-layer*). O *drop coating* corresponde à deposição de gotas de uma solução/suspensão com o agente modificador sobre a superfície do substrato e sua posterior evaporação [47]. Por outro lado, a modificação LbL visa a produção de filmes poliméricos pela imersão do substrato em soluções que contenham compostos com carga oposta, como materiais inorgânicos ou polímeros orgânicos, ocasionando a geração de um sistema auto-organizado [48]. Entre ambos os tipos de modificação, o do tipo *drop coating* consiste na opção mais rápida e fácil, visto que não é preciso imergir o GCE em uma solução, é gasto apenas um pequeno volume do modificador e não se faz necessário repetir o processo consecutivamente para a construção do sensor modificado. Por conseguinte, protocolos que garantam incomplexidade na modificação e melhoramento do transporte de cargas na superfície de eletrodos quimicamente modificados, aliados a compostos que proporcionem tais características, despertam intenso interesse na Eletroanalítica e estão em florescente estudo e aplicação para o desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas [49]. Um material que tem se destacado em virtude de suas particularidades é a ferrita de cobalto, utilizada, dentre outros fins, na modificação de GCEs por revestimento por *drop coating*.

### **2.3.2 Ferrita de cobalto como agente modificador**

A nanotecnologia é uma área vasta e multidisciplinar baseada em diferentes tipos de materiais como polímeros, cerâmicas e compósitos. Ela tem chamado considerável atenção porque o comportamento e propriedades físico-químicas em nanoescala são diferentes dos observados em escala macroscópica. Esses fenômenos, causados pela redução do tamanho à escala nano, incluem o

confinamento que resulta do tamanho dos carregadores de carga, dependência entre estrutura eletrônica e tamanho de partículas na interface (razão superfície/volume). Essa área superficial elevada das nanopartículas as confere um acréscimo de reatividade, o que é útil ao se conduzir reações químicas, em especial nas áreas de biossensores e catálise [50].

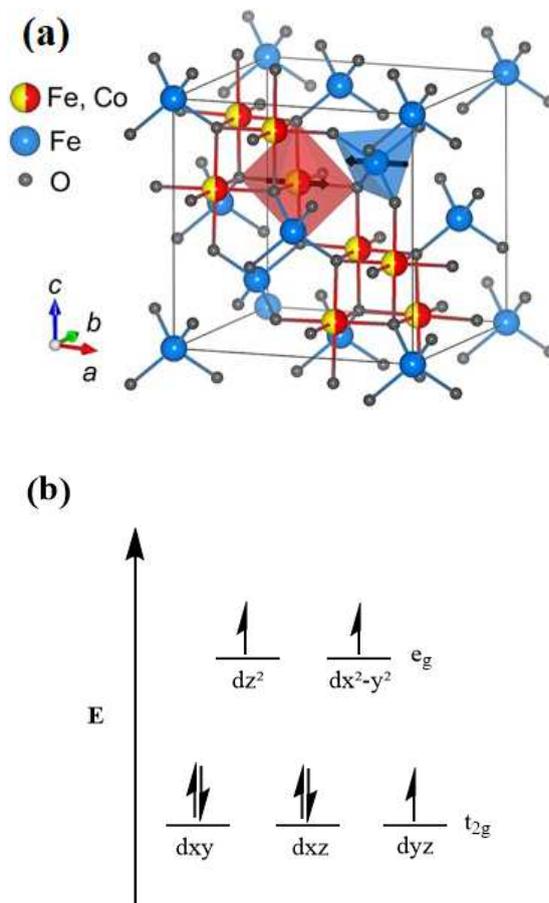
Lakić *et al.* [51] reportaram propriedades relevantes das ferritas - de fórmula geral  $MFe_2O_4$ , onde M é um metal de transição  $3d$  -, como dureza mecânica e estabilidade química elevadas. Tais atributos as propiciam muitas aplicações, pelas quais têm sido amplamente estudadas nos últimos anos; por serem nanomateriais, apresentam tamanho reduzido que além de as prover a já citada área superficial aumentada, também as propicia outras características atrativas para a modificação de eletrodos, fazendo com que estes tenham um aumento de condutividade elétrica, habilidade de adsorção e baixa resistência à transferência de massa. Foi evidenciado que a modificação de GCE por nanopartículas de ferrita sobretudo conferiu ao sensor resposta eletrocatalítica excelente, com a voltametria de onda quadrada em particular apresentando seletividade elevada e baixos limites de detecção [52]. Isso se deve à relação diretamente proporcional entre a área do eletrodo, aumentada pela modificação com ferritas, e a corrente elétrica numa célula voltamétrica, conforme a Equação (3) [38].

$$I = nFAD\left(\frac{\delta C}{\delta x}\right)_{x=0} \quad (3)$$

Onde  $n$  é o número de elétrons na reação de oxirredução,  $F$  é a constante de Faraday,  $A$  é a área do eletrodo,  $D$  é o coeficiente de difusão da espécie reagindo no eletrodo e  $\frac{\delta C}{\delta x}$  é o gradiente de concentração a uma posição  $x$ , sendo  $x = 0$  a superfície do eletrodo.

As características da ferrita de cobalto foram atribuídas à sua estrutura de espinela invertida (Figura 4a), cujo momento magnético dos spins anti-paralelos entre os íons  $Co^{2+}$  em metade dos sítios octaédricos e  $Fe^{3+}$  nos sítios tetraédricos e na outra metade dos octaédricos gera suas propriedades ferromagnéticas. Essa estrutura se deve à configuração  $3d^7$  do  $Co^{2+}$ , que ocupa preferencialmente sítios octaédricos no composto  $CoFe_2O_4$ . Como os átomos de oxigênio ao redor do cobalto são ligantes de campo fraco, os orbitais  $d$  degenerados do  $Co^{2+}$  se separam resultando na configuração eletrônica de alto spin  $t_{2g}^5 e_g^2$  (Figura 4b), que proporciona uma Energia de Estabilização do Campo Cristalino (EECC) de  $-0,8 \Delta_o$ . [53][54][55].

**Figura 4:** Geometria da Ferrita de Cobalto. (a) Estrutura cristalina da ferrita  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ . (b) Orbitais  $d$  para o  $\text{Co}^{2+}$  em ambiente octaédrico de alto spin segundo a Teoria do Campo Cristalino.



FONTE: (a) Gorbachev, 2021 <sup>[56]</sup>; Smit, 1959 <sup>[57]</sup>; (b) O autor.

A ferrita de cobalto é um óxido metálico que além de possuir área superficial elevada, ainda apresenta uma estrutura porosa que tem um papel importante na detecção de íons metálicos, os expondo a sítios superficiais mais ativos, o que também amplia o transporte de massa <sup>[58]</sup>. Outros pontos positivos são a estabilidade a longo termo, caminho de preparação fácil, segurança e baixo custo. Além de seu uso na Eletroanalítica, ela também apresenta aplicações promissoras na manufatura de hastes de antenas, armazenamento magnético de dados, aplicações em conversão de energia e entrega direcionada de medicamentos <sup>[59]</sup>.

Muito esforço foi direcionado ao estudo do recobrimento do substrato de eletrodos por filmes poliméricos, com especial atenção dada à natureza da transferência de massa e carga pela camada dos polímeros e tratamento teórico dos parâmetros que determinam a velocidade da reação eletroquímica <sup>[60]</sup>. Os polímeros podem ser materiais que já contenham os grupos redox ou tê-los adicionados posteriormente; alternativamente, monômeros podem ser polimerizados (por polimerização eletroquímica, polimerização por plasma ou por condensação de organossilanos) *in*

*situ* para o recobrimento do eletrodo. Ademais, eletrodos recobertos por polímeros também podem ser modificados espacialmente, valendo-se de posicionamentos espaciais particulares de uma ou mais fases poliméricas possuidoras de sítios redox e uma ou mais fases condutoras do eletrodo uma em relação à outra <sup>[61]</sup>.

Com a finalidade de repelir interferentes, como elucidado na seção 2.3, há a opção do emprego do Nafion<sup>®</sup>, um polímero de troca catiônica possuidor da habilidade de incorporar íons carregados positivamente e rejeitar as espécies carregadas negativamente devido à presença de sítios aniônicos (como o SO<sub>3</sub><sup>-</sup>) em sua estrutura <sup>[62]</sup>. Sem embargo, eletrodos por ele modificados também são capazes de extrair moléculas não carregadas de soluções aquosas, embora nesse caso as moléculas eletroativas sejam extraídas pela parte menos polar de sua estrutura <sup>[60]</sup>. Também é utilizado por proporcionar fixação mecânica do agente modificador à superfície do eletrodo <sup>[63]</sup>.

O ácido cítrico, como já constatado na literatura, é utilizado para estabilizar termodinamicamente suspensões de nanopartículas magnéticas por adsorção na superfície dessas partículas <sup>[64][65][66][67]</sup>.

Pela possibilidade de estabilização de filmes poliméricos constituídos por ferritas de cobalto, ácido cítrico e Nafion<sup>®</sup> sobre o substrato GCE, o preparo desta plataforma eletroquímica será foco deste trabalho.

## 2.4 ELETRÓLITO SUPORTE

A escolha do eletrólito suporte é crucial na química eletroanalítica, pois diferentes eletrólitos podem afetar as propriedades eletroquímicas da solução e influenciar os resultados das análises. Consistem de soluções de concentrações relativamente elevadas de sais inertes, como também garantir força iônica adequada e constante e controle de pH. Também influenciam a viscosidade, densidade e tensão superficial do meio reacional <sup>[39]</sup>.

Por ser utilizado numa concentração muito maior que a do analito, impede a formação de um campo elétrico devido ao gradiente de cargas que faça espécies carregadas do analito migrarem à superfície do eletrodo por atração. Em vez disso, serão as partículas do analito que o farão para balancear as cargas <sup>[39]</sup>.

A presença de alta concentração de íons do eletrólito suporte também diminui a resistência da solução e colabora para a diminuição do efeito matriz. Em aditamento, uma condutividade aprimorada no seio da solução também reduz a energia dissipada na célula, o que pode levar a

simplificações de aparato <sup>[34]</sup>. Dessa forma, é importante controlar a concentração e pH do eletrólito em experimentos eletroanalíticos a fim de garantir a reprodutibilidade e a precisão dos resultados.

## 2.5 PRÉ-CONCENTRAÇÃO

Durante a etapa de pré-concentração, utilizada na voltametria por redissolução (do inglês, *stripping voltammetry*, ocorre uma etapa de reação entre o analito e o eletrodo de trabalho antes da varredura e aquisição de sinal. Assim, o analito é pré-concentrado à superfície do eletrodo de trabalho sob agitação, como com uma barra magnética, o que causa um aumento da magnitude da corrente medida e diminuição dos limites de detecção e quantificação. Durante esta etapa, é aplicado um potencial durante um tempo determinado e então, tendo a agitação encerrado para minimizar o transporte de massa convectivo, é feita a varredura, na qual o analito é redissolvido à solução <sup>[39]</sup>.

Para metais, costuma-se empregar a Voltametria de Redissolução Anódica (ASV, do inglês *Anodic Stripping Voltammetry*). Nela, o eletrodo é ajustado a um potencial negativo para reduzir os íons ao estado fundamental (por exemplo  $Zn^{2+}$  a  $Zn^0$ ). Esta etapa é seguida pela varredura de potencial para valores mais positivos (anódicos) que faz o metal ser redissolvido retornando à solução, decorrente de sua reoxidação (como de  $Zn^0$  a  $Zn^{2+}$ ) <sup>[39][58][68]</sup>.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um sensor eletroquímico à base de materiais carbonáceos a partir da modificação por ferritas de cobalto, com propriedades arquitetadas, visando aumentar a sensibilidade e atividade eletrocatalítica do GCE em um novo método de quantificação de zinco.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a estrutura da ferrita de cobalto sintetizada para fazer a conexão entre sua configuração estrutural e os efeitos da modificação;
- Preparar uma plataforma eletroquímica modificada superficialmente e avaliar seu comportamento face ao do eletrodo sem modificação;
- Estudar o comportamento eletroquímico do analito zinco tanto pelo GCE sem modificação quanto pelo modificado;
- Estudar a influência da natureza do eletrólito suporte e pH sobre o comportamento eletroquímico do analito;
- Avaliar diferentes técnicas voltamétricas e otimizar os parâmetros operacionais da que apresentar a melhor resposta em função do compromisso entre intensidade de corrente e qualidade do sinal analítico;
- Avaliar parâmetros de mérito como faixa linear de trabalho, sensibilidade e limites de detecção e quantificação do método proposto;

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes necessários para a condução das atividades propostas estão listados no Quadro 1. Quando necessário, foi feito o uso de água ultrapura obtida a partir de sistema Milli-Q (Millipore, Redford, MA, USA) com resistividade de 18,2 MΩ.cm a 25 °C. Os eletrólitos suporte utilizados foram a solução tampão Britton-Robinson (preparada a partir da mistura dos ácidos acético, bórico e fosfórico), solução tampão acetato (preparada pela mistura de ácido acético e hidróxido de sódio), solução tampão McIlvaine (preparada misturando-se ácido cítrico e hidrogenofosfato dissódico) e solução PBS. Após a escolha do pH, foi escolhido o tampão que apresentou sinal de melhor resposta eletroquímica e posteriormente a concentração mais adequada.

**Quadro 1:** Reagentes e soluções.

Reagentes	Fórmula	Procedência
Ácido acético	$C_2H_4O_2$	Vetec
Ácido bórico	$H_3BO_3$	Synth
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	Synth
Ácido fosfórico	$H_3PO_4$	Quimex
Acetato de sódio	$Na(C_2H_3O_2)$	Fmaia
Fosfato monossódico	$NaH_2PO_4$	Merck
Fosfato dissódico	$Na_2HPO_4$	Merck
Hidróxido de sódio	$NaOH$	Merck
Alumina (0,05, 0,30 e 1,00 $\mu m$ )	$Al_2O_3$	Arotec
Cloreto de potássio	$KCl$	Sigma-Aldrich
Etanol	$C_2H_6O$	Vetec
Nafion <sup>®</sup> 117 <sup>a</sup>	$C_7HF_{13}O_5S.C_2F_4$	Sigma-Aldrich
Ferrita de cobalto <sup>b</sup>	$CoFe_2O_4$	Colaboração científica
Ferrocianeto de potássio	$K_4[Fe(CN)_6]$	Sigma-Aldrich
Ferricianeto de potássio	$K_3[Fe(CN)_6]$	Sigma-Aldrich
Solução padrão de zinco	$Zn^{2+}$ (em $HNO_3$ )	Specsol

<sup>a</sup> dissolvido em álcoois alifáticos de baixa massa molecular e água

<sup>b</sup> material sintetizado pelo grupo do prof. Dr. Alexandre Luiz Parize, como descrito na seção 4.2.2.

## 4.2 INSTRUMENTAÇÃO

### 4.2.1 Medidas eletroquímicas

A coleta de dados por voltametria foi executada com uma célula eletroquímica com 5 mL de eletrólito e um galvanostato/potenciostato PalmSens<sup>®</sup> (Palm Instruments BV, Países Baixos), conectado a um laptop com o software PSTrace 4.9. As técnicas voltamétricas utilizadas foram a Voltametria Cíclica (CV), Voltametria de Onda Quadrada (SWV), Voltametria de Varredura Linear (LSV) e Voltametria de Pulso Diferencial (DPV). O tratamento de dados se deu pelo software Origin Pro versão 8.5.

Foram utilizados 3 eletrodos para as análises voltamétricas: um eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de Ag/AgCl em KCl 3 mol L<sup>-1</sup> e um eletrodo auxiliar de platina. Como eletrodo de trabalho, foram feitas medidas comparativas em GCE de área de 0,03 cm<sup>2</sup> e GCE modificado por ferrita de cobalto. A agitação das soluções na célula eletroquímica foi feita por um agitador magnético da marca Hanna Instrument (modelo HI 190M).

Para limpeza da superfície, o GCE foi polido com suspensões aquosas de alumina de granulações 1,00, 0,30 e 0,05 µm. Foi então lavado com água purificada e sonicado em banho ultrassônico (Unique<sup>®</sup>) imerso em água purificada por 2 minutos a fim de remover as partículas de alumina ainda presentes em sua superfície e não aparentes visualmente.

As aferições da espectroscopia de impedância eletroquímica foram feitas em K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> utilizando-se o galvanostato/potenciostato citado. A averiguação dos dados foi realizada pelo critério de estabilidade de Strecker-Nyquist e um circuito de Randles de CDC (do inglês *Circuit Description Code*) do tipo R(C[RW]).

As verificações de pH foram feitas com o uso de um conjunto medidor de eletrodo de vidro combinado Ohaus (Modelo ST3100-F), após calibração.

### 4.2.2 Síntese da ferrita de cobalto

A síntese da ferrita de cobalto foi realizada conforme a metodologia reportada por Tourinho *et al.*<sup>[69]</sup> com alterações pontuais. A um béquer com 30 mL de HCl concentrado e 300 mL de água ultrapura, foram adicionados 300 mmol de CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O e 150 mmol de FeCl<sub>3</sub> anidro. O béquer ficou sob agitação por 30 min sob aquecimento próximo de 100 °C. Em outro béquer, foram aquecidos 1500 mL de NaOH 2 mol L<sup>-1</sup> até 100 °C e, em seguida, foi adicionada a solução de cloretos quente ao béquer com solução básica também quente, sob vigorosa agitação. A mistura foi mantida sob aquecimento de 90 °C e agitação por 2 h. Após o resfriamento, o sobrenadante foi

removido com ímã de neodímio e o sólido lavado com água ultrapura até pH 7,0. Um volume de 200 mL de ácido cítrico  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  foi adicionado ao sólido e a mistura permaneceu sob agitação por 20 min. O sobrenadante foi novamente removido após decantação com o ímã e em seguida adicionados 200 mL de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  sob agitação e aquecimento. Após o início da ebulição da água, a mistura permaneceu sob agitação por 30 minutos sob aquecimento. O sobrenadante foi então removido e lavagens sucessivas foram realizadas com acetona para remover o nitrato, e após cada volume de acetona adicionado, a mistura foi sonicada em banho ultrassônico; após essa etapa, o sobrenadante foi mais uma vez removido e o sistema permaneceu em agitação ao longo da noite até a completa evaporação da acetona. Foi adicionada água ultrapura para a formação do ferrofluido e a amostra foi seca; sua obtenção se deu após 24 h em estufa de circulação a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### 4.2.3 Preparo e modificação do eletrodo de trabalho

Para preparo da dispersão do modificador, foram adicionados 5,0 mg de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  em 1,0 mL de uma solução ácido cítrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Fez-se então quatro misturas de 1 mL de Nafion<sup>®</sup> 0,05%, 0,10%, 0,15% e 0,20% (v/v) e 1 mL da solução anterior preparada para estudo de concentração. Para a etapa de modificação da superfície do GCE, a dispersão foi levada ao banho de ultrassom por 2 min e então uma alíquota de 4  $\mu\text{L}$  dela foi adicionada à superfície do GCE pelo método de *drop coating*. Uma etapa de secagem e evaporação do solvente foi necessária e conduzida em estufa a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  por 15 minutos.

O eletrodo foi polido e teve sua superfície modificada entre cada teste. Como os estudos foram feitos em triplicata, o eletrodo foi polido e recoberto três vezes em cada estudo.

### 4.3 SEGURANÇA EM LABORATÓRIO E DESCARTE E TRATAMENTO DE RESÍDUOS

O manejo dos reagentes sempre se deu concomitante ao uso de luvas, jaleco e máscara; produtos tóxicos e/ou voláteis foram ainda manuseados na capela de exaustão.

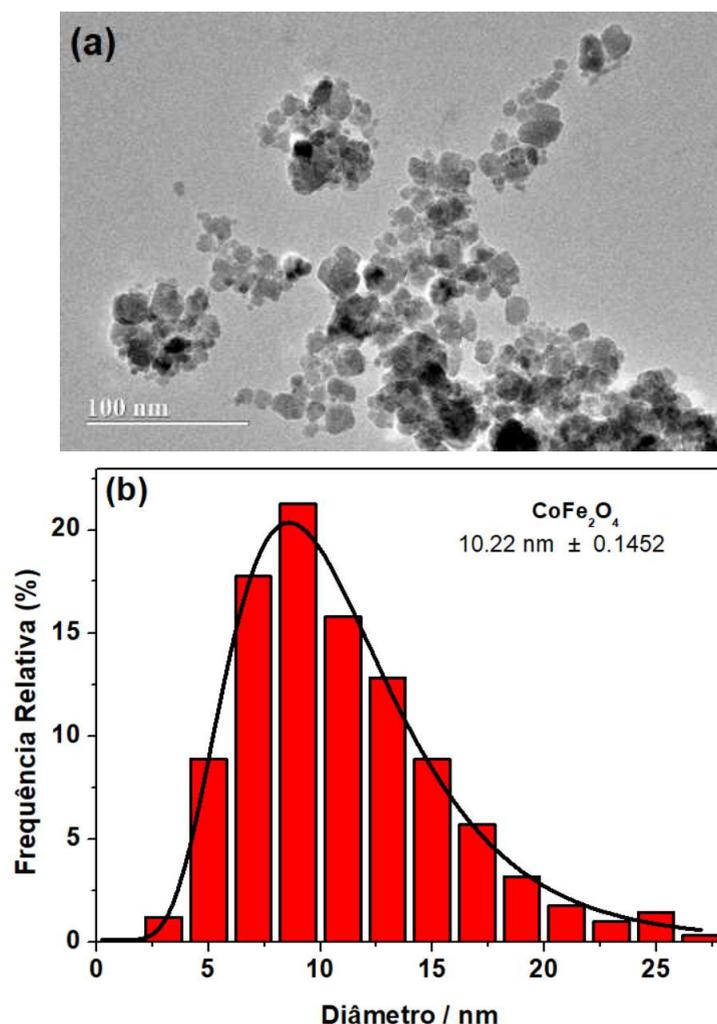
Os resíduos solúveis em água, atóxicos e biodegradáveis foram descartados em lixo apropriado ou em pia sob água corrente após diluição. Os que não atenderam a esses requerimentos foram armazenados numa bombona de rejeitos e entregues a uma empresa de coleta e tratamento contratada pela UFSC.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO AGENTE MODIFICADOR $\text{CoFe}_2\text{O}_4$

Para se conhecer as propriedades exatas da ferrita de cobalto sintetizada para a modificação do GCE - levando-se em consideração que suas propriedades sofrem alterações de acordo com o método de síntese utilizado [70][71] -, fez-se a caracterização deste material visando uma maior certeza da relação entre os resultados obtidos sobre a performance do eletrodo modificado e os atributos do modificador utilizado. Assim sendo, a caracterização do agente modificador utilizado na modificação de eletrodos é de extrema importância, pois afeta diretamente a sensibilidade, seletividade e estabilidade do eletrodo modificado.

**Figura 5:** Caracterização da  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  por microscopia eletrônica de transmissão, 100 kV. (a) Micrografias; (b) Histograma da distribuição de tamanho.



FONTE: Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) - UFSC.

A Figura 5a revela que as amostras preparadas apresentaram uniformidade morfológica satisfatória, e o histograma da Figura 5b aponta que a distribuição de diâmetro foi aproximadamente

homogênea, com uma Gaussiana quase simétrica cuja média está em 10,22 nm. Isto é um indicativo de que sua dispersão foi homogênea, o que pode promover reprodutibilidade ao método empregado de recobrimento de superfícies por gotejamento.

## 5.2 ESTUDOS DA PLATAFORMA ELETROQUÍMICA DESENVOLVIDA

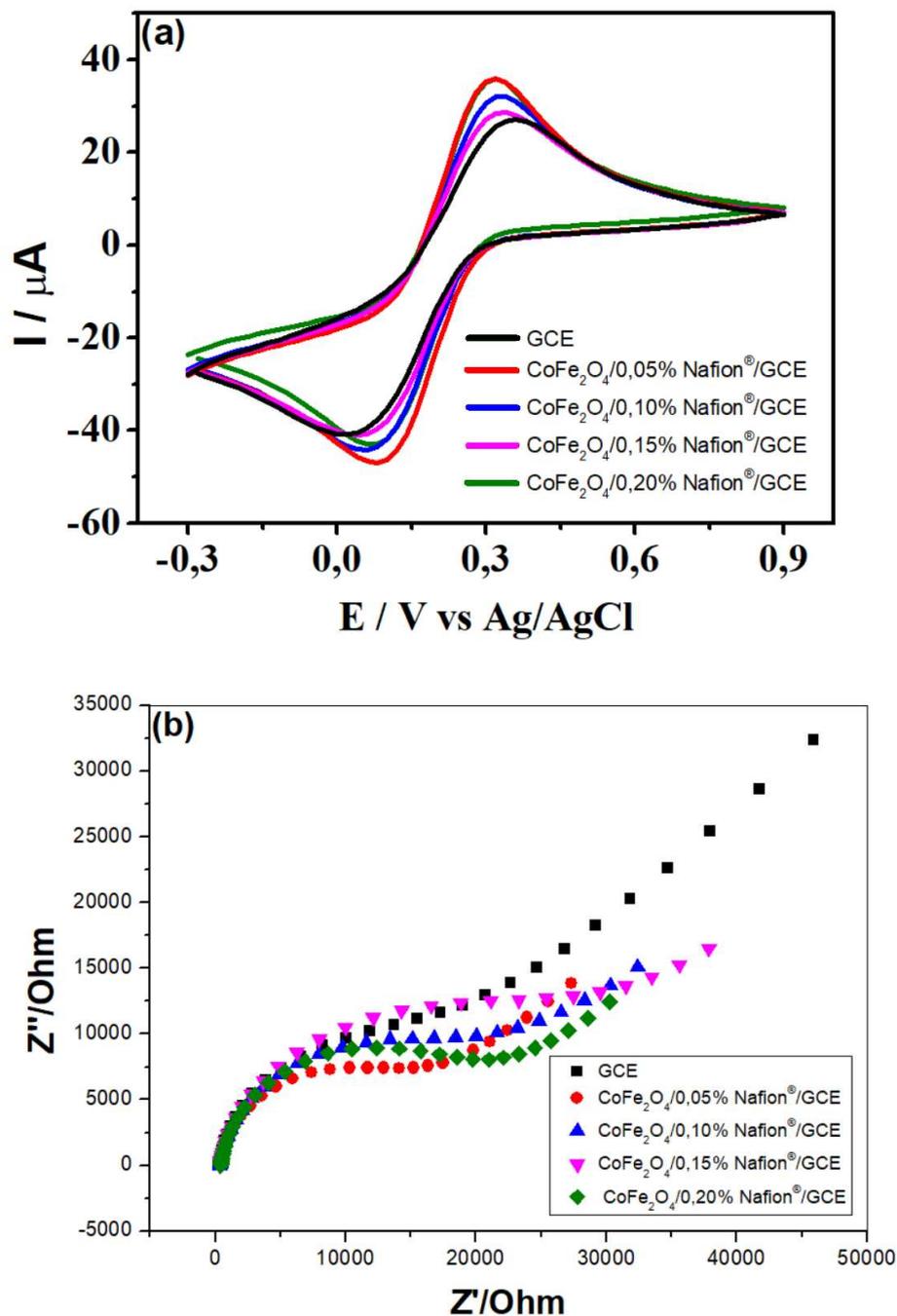
### 5.2.1 Análise comparativa dos eletrodos

Comparou-se por CV o desempenho do GCE sem modificação, bem como modificado pela ferrita de cobalto em concentrações de Nafion<sup>®</sup> de 0,05%, 0,10%, 0,15% e 0,20% por medidas eletroquímicas em ferri/ferrocianeto, Figura 6a. A comparação de eletrodos por voltametria cíclica é importante porque diferentes eletrodos podem ter diferentes propriedades eletroquímicas, tais como potencial de redução/oxidação, área superficial eletroativa e reatividade. Essas propriedades podem afetar significativamente os resultados obtidos em experimentos de voltametria cíclica. Ao comparar eletrodos diferentes, é possível determinar qual é o melhor para uma determinada aplicação.

Para a visualização do comportamento de resistência elétrica dos diferentes eletrodos analisados, Figura 6b, utilizou-se a EIS (do inglês *Electrochemical Impedance Spectroscopy*), que é uma técnica eletroquímica que mede a impedância elétrica de um sistema eletroquímico em diferentes frequências. A partir dessas medidas, é possível obter informações sobre a resistência, capacitância e indutância do sistema, bem como sobre a cinética eletroquímica e a adsorção de espécies na superfície do eletrodo. Ela tem sido usada intensivamente para a investigação de propriedades interfaciais de sensores eletroquímicos.

Em gráficos de Nyquist (ou Diagramas de Argand), úteis para a avaliação de sistemas elétricos, plota-se a impedância imaginária ( $Z''$ ), usualmente negativa em sistemas eletroquímicos, contra a impedância real ( $Z'$ )<sup>[72]</sup>, que tem uma relação inversa com a frequência aplicada<sup>[73]</sup>. Neles, há duas regiões<sup>[74]</sup>: um semicírculo em altas frequências (na chamada área de difusão limitada), cujo diâmetro representa a resistência às transferências de carga ( $R_{ct}$ ), e portanto está relacionado aos processos cinéticos de transferência de elétrons da sonda redox na interface do eletrodo; e uma linha reta em baixas frequências, na região de Warburg, correspondente ao processo de difusão controlada, ou seja, a transferência de massa da espécie redox para e da região interfacial torna-se substancial. Devido à sua simples e excepcional visibilidade, pode-se até mesmo estimar a natureza e estabilidade do sistema sem quaisquer cálculos<sup>[73]</sup>.

**Figura 6:** Estudos referentes à escolha da concentração de Nafion<sup>®</sup>. (a) Voltamogramas cíclicos; (b) Gráfico de Nyquist. Experimentos realizados com GCE não modificado e com diferentes concentrações de Nafion<sup>®</sup> na preparação da dispersão do agente modificador e conduzidos em sonda redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> em triplicata.



FONTE: O autor.

A figura 6a mostra que, como esperado, há uma ampliação dos picos de oxidação e redução (assumem valores de corrente mais positivo e negativo, respectivamente) ao utilizar-se a arquitetura modificada, causado pela alta razão superfície/volume e elevada condutividade elétrica da ferrita de cobalto, bem como pela capacidade de troca catiônica do Nafion<sup>®</sup> decorrente de seus sítios  $\text{SO}_3^-$ .

Adicionalmente, fica claro pela figura 6b que os semicírculos obtidos não apresentaram comportamento bem definido, visto que os valores de  $Z''$  não decaíram significativamente antes de continuarem à área de difusão controlada; mesmo assim, percebe-se que o GCE comum foi responsável pelo maior  $R_{ct}$  (370  $\Omega$ ) e que o  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE apresentou o menor  $R_{ct}$  (250  $\Omega$ ) - uma resistência às transferências de carga 32,43% menor - devido à elevada área superficial específica e condutividade elétrica da ferrita de cobalto, bem como às suas propriedades eletrocatalíticas excelentes, responsáveis por acelerarem a reação redox do  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  [74].

Os valores de correntes e potenciais de pico podem ser analisados na Tabela 3.

**Tabela 3:** Valores de correntes e potenciais de pico para os eletrodos avaliados por voltametria cíclica em sonda redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

Eletrodo	Anódico		Catódico		Ambos	
	$E_{pa}/V$	$I_{pa}/\mu A$	$E_{pc}/V$	$I_{pc}/\mu A$	$E_{pa} - E_{pc}/V$	$ I_{pa}/I_{pc} $
GCE	0,330	28,5	0,055	-40,9	0,275	0,70
$\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%$ Nafion <sup>®</sup> /GCE	0,318	35,9	0,081	-47,2	0,237	0,76

FONTE: O autor.

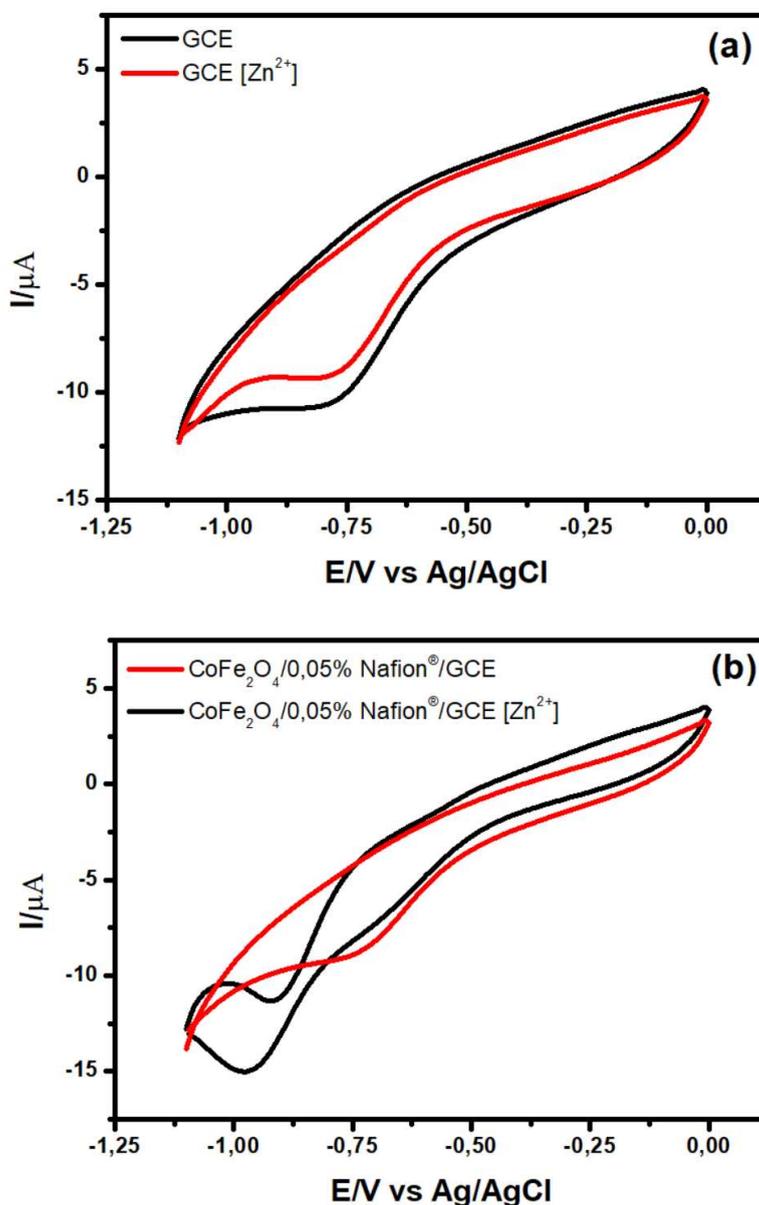
A presença de dois picos de oxidação e redução bem definidos pode, à primeira vista, parecer indicar um processo reversível. Sem embargo, a separação pico a pico, isto é, a diferença entre os potenciais de pico é largamente superior a 0,059 V, de modo que há um forte indício de que o processo estudado não seja exatamente reversível, ou seja, não seja Nernstiano [75]. Valores de  $|I_{pa}/I_{pc}|$  divergindo de 1 levam à mesma conclusão [76][77]. Assim, o processo é classificado como quase-reversível.

### 5.2.2 Comportamento eletroquímico do zinco

O zinco é um metal eletroativo que pode sofrer reações de oxidação e redução em solução eletrolítica. Na presença de um eletrólito adequado, o zinco pode se dissolver para formar íons  $\text{Zn}^{2+}$  e elétrons.

Aferições eletroquímicas de voltametria cíclica foram efetuadas para a inspeção do comportamento do zinco defronte de arquiteturas eletródicas distintas, como demonstrado na Figura 9, cujas voltametrias foram feitas em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L<sup>-1</sup> de pH 7,0, velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup> e com 2,6 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Zn}^{2+}$ .

**Figura 7:** Voltamogramas cíclicos referente aos perfis voltamétricos para  $[Zn^{2+}]$   $2,6 \text{ mg L}^{-1}$ . (a) Eletrodo de trabalho: GCE; (b) Eletrodo de trabalho:  $CoFe_2O_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE. Experimentos conduzidos em solução tampão Britton-Robinson  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0). Velocidade de varredura:  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .



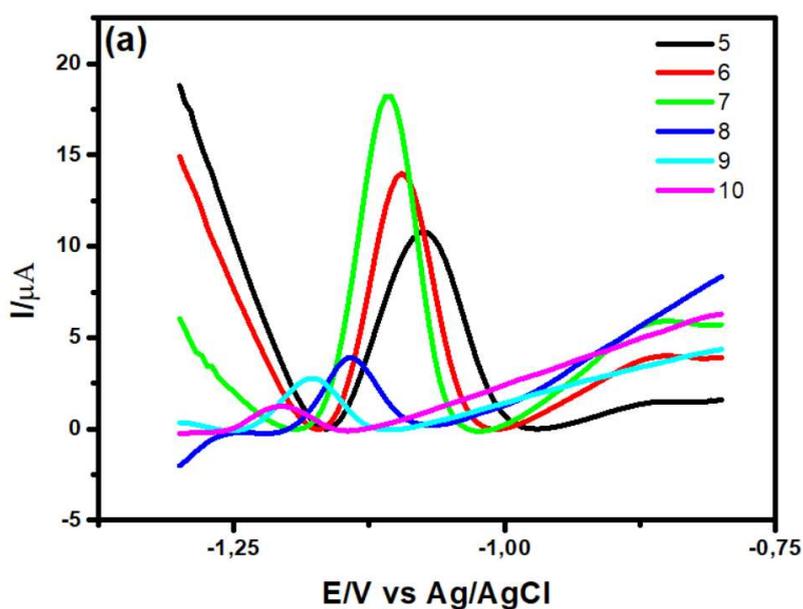
FONTE: O autor.

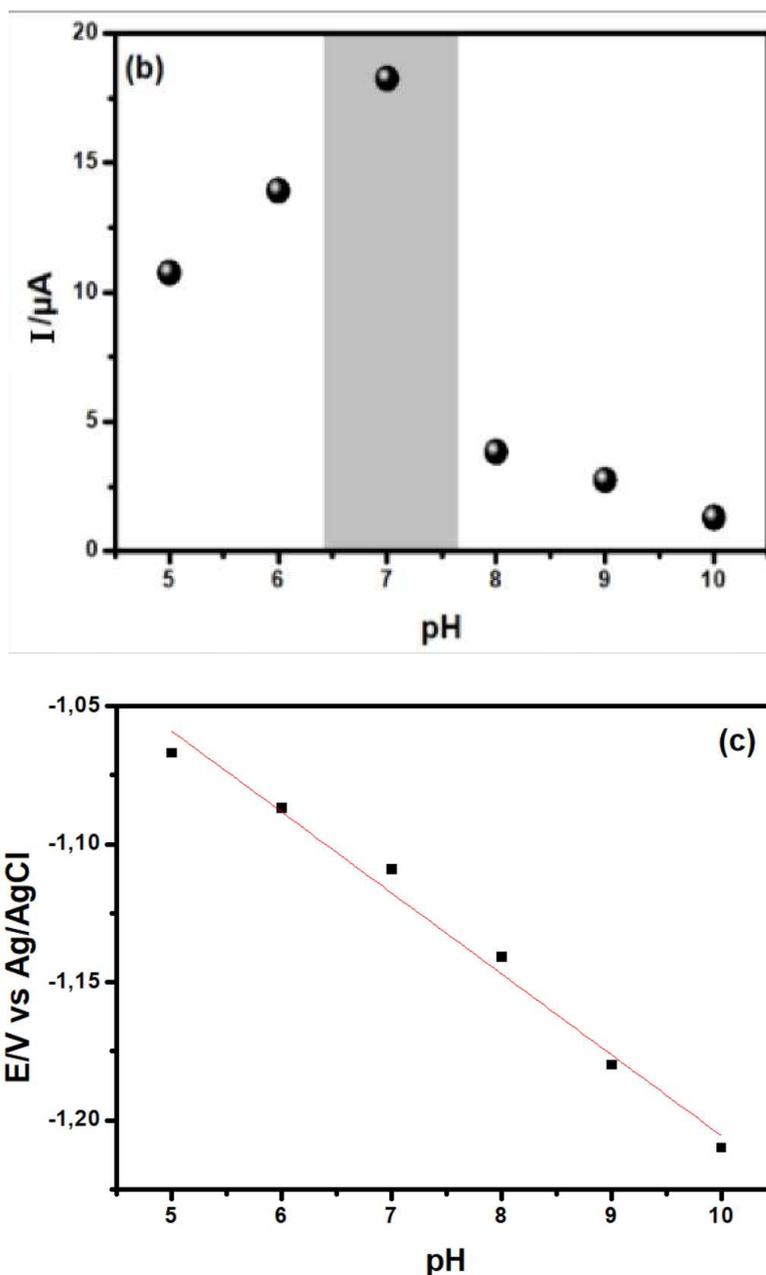
A Figura 7a demonstra que ao adicionar-se zinco, o sinal do analito não é tão pronunciado quanto o que surge ao utilizar-se o  $CoFe_2O_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE, cujo perfil apresentado é passível de ser observado na Figura 7b. Isto dá sustentação à escolha da arquitetura eletródica modificada, que apresentou tal amplificação do pico anódico devido à menor resistência à transferência de elétrons que a modificação  $CoFe_2O_4$ /Nafion<sup>®</sup> proporciona à superfície do eletrodo.

### 5.2.3 Estudo da influência do pH

Fez-se um estudo de como a variação do pH do eletrólito suporte afeta a resposta analítica, exposto na Figura 8. Desse modo, o tampão Britton-Robinson 0,1 mol L<sup>-1</sup>, por poder ser empregado numa ampla faixa de valores de pH, foi utilizado como eletrólito suporte num intervalo de pH de 5 a 10 e com concentração de 2,6 mg L<sup>-1</sup> de zinco. Utilizou-se a DPV por ser uma técnica eletroquímica altamente sensível e seletiva que permite a quantificação de analitos em solução com alta precisão e por ser capaz de realizar medidas numa ampla faixa de potenciais, o que possibilita o estudo de processos eletroquímicos em diferentes regimes de potencial.

**Figura 8:** (a) Voltamogramas de pulso diferencial aos perfis voltamétricos para [Zn<sup>2+</sup>] 2,6 mg L<sup>-1</sup>, na faixa de pH de 5,0 a 10,0; (b)  $I_{pa}$  vs. pH e (c) relação linear obtida pelo plot de  $E_{pa}$  vs. pH. Experimentos conduzidos em solução tampão Britton-Robinson 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Velocidade de varredura: 20 mV s<sup>-1</sup>.





FONTE: O autor.

Torna-se claro pela Figura 8a que o pico mais pronunciado foi o obtido pelo tampão BR em pH 7, já que é o que apresenta maior pico, ou seja, maior distância entre seu topo e a base. Isto é confirmado pela figura 8b, em que o pH 7 apresentou pico de corrente mais elevado. Após o pH 7 há uma queda brusca de corrente, o que pode ser explicado pela complexação dos íons  $\text{Zn}^{2+}$  e formação de  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  e  $[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$  acima do pH biológico<sup>[78][79][80]</sup>.

A Figura 8c exibe que a dependência do potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) em relação ao pH mostrou-se próxima à linearidade, com  $R^2 = 0,98286$  e equação da reta  $E$  (V) =  $-0,91248 - 0,02931$  [pH]. Suplementarmente, é mostrado na Figura 8a que os picos se movem a potenciais mais

negativos em valores mais elevados de pH, o que implica o envolvimento de prótons na troca eletrônica da oxidação do zinco. Como a magnitude da inclinação da Figura 8c foi de 0,02931, isso significa que há o dobro do número elétrons em relação ao número de prótons envolvidos na reação de acordo com a Equação 4, onde  $h$  e  $n$  são o número de prótons e elétrons envolvidos no processo eletródico, respectivamente [81].

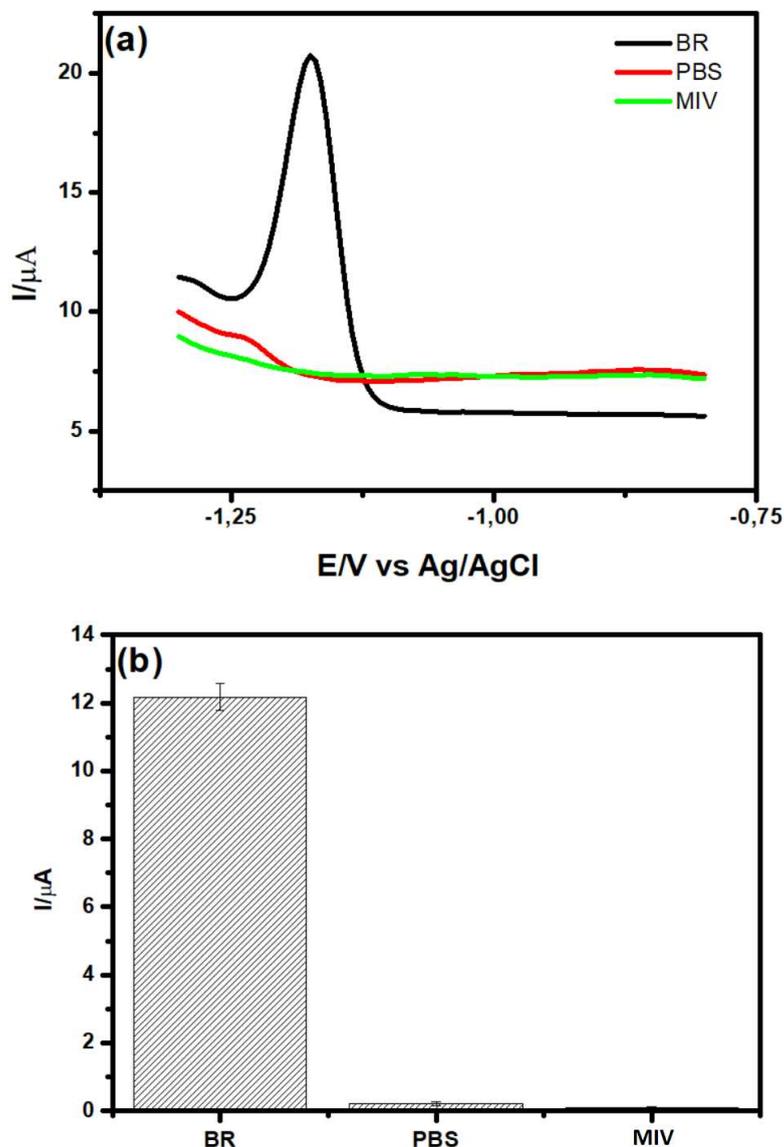
$$\frac{\delta E_p}{\delta pH} = 0,059 \frac{h}{n} \quad (4)$$

#### 5.2.4 Influência da natureza do eletrólito suporte

Como a transferência de elétrons ocorre durante um experimento de voltametria, a neutralidade elétrica é mantida por meio da migração de íons em solução. À medida que os elétrons são transferidos do eletrodo para o analito, os íons se movem na solução para compensar a carga e fechar o circuito elétrico. Um sal, chamado eletrólito de suporte, é dissolvido no solvente para ajudar a diminuir a resistência da solução. A mistura do solvente e do eletrólito de suporte é comumente chamada de “solução eletrolítica” [75].

Em concordância com o estudo de pH, é exibida pela Figura 9 a atuação de diferentes eletrólitos foi examinada em pH 7, que apresentou a melhor intensidade do sinal de corrente. Novamente, utilizou-se a DPV por permitir a determinação da melhor opção de eletrólito suporte para um sistema particular em termos de sensibilidade, seletividade, interferências e limites de detecção. Sua resolução a torna apta a separar e identificar picos eletroquímicos distintos para diferentes espécies em solução, o que permite a determinação precisa da quantidade de espécies redox em solução e a análise de sistemas complexos; sua linearidade, adicionalmente, faz com que a corrente gerada seja diretamente proporcional à concentração do analito em solução, o que permite a quantificação precisa dos analitos em solução.

**Figura 9:** (a) Voltamogramas de pulso diferencial na presença de  $[Zn^{2+}]$   $2,6 \text{ mg L}^{-1}$  em diferentes eletrólitos suporte; (b)  $I_{pa}$  vs. Tampões. Velocidade de varredura:  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

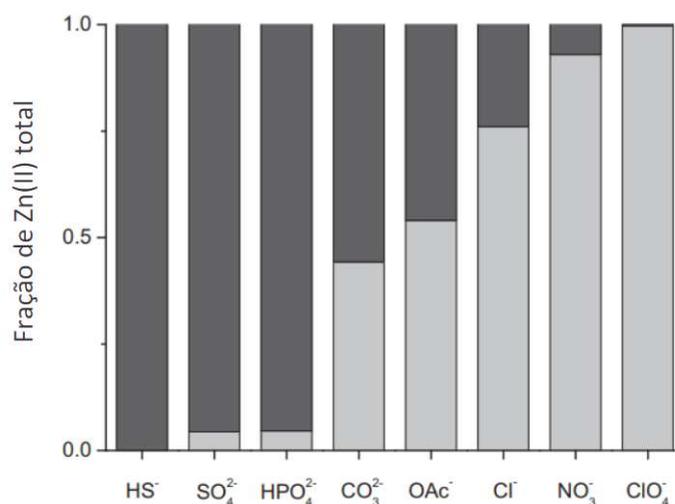


FONTE: O autor.

Tanto pela figura 9a quanto pela 9b, é nítido que a única solução eletrolítica que cumpriu sua função de permitir a passagem de corrente elétrica foi o tampão Britton-Robinson; os tampões Fosfato-Salino e o McIlvaine levaram a valores insatisfatórios de corrente, o que pode ter ocorrido pelo grupo  $\text{HPO}_4^{2-}$  - um dos ânions inorgânicos biológicos de maior capacidade de se ligar ao  $\text{Zn}^{2+}$  (Figura 10) - presente em grande quantidade neles ter complexado com o zinco, formando  $\text{ZnHPO}_4$

[80]

**Figura 10:** As habilidades de se ligar ao  $Zn^{2+}$  de ânions biológicos. As barras demonstram as porcentagem das espécies livres e complexadas, calculadas para 0,1 M do ânion e 1  $\mu M$  de  $Zn^{2+}$  total. As cores cinza claro e escuro se referem às espécies de  $Zn^{2+}$  livres e complexadas, respectivamente.

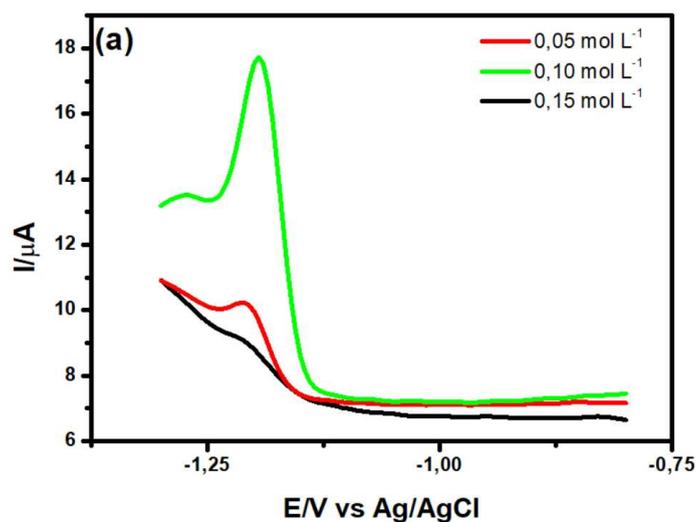


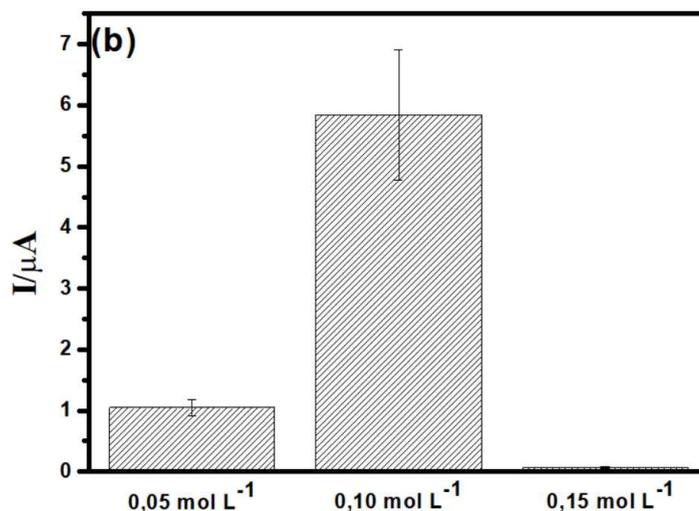
FONTE: Krężel e Maret, 2016 [80].

### 5.2.5 Influência da concentração do eletrólito suporte

Comparou-se o desempenho do tampão Britton-Robinson nas concentrações de 0,05 mol L<sup>-1</sup>, 0,10 mol L<sup>-1</sup> e 0,15 mol L<sup>-1</sup>. A DPV foi utilizada pelos mesmos motivos dos dois últimos testes.

**Figura 11:** (a) Voltamogramas de pulso diferencial na presença de  $[Zn^{2+}]$  2,6 mg L<sup>-1</sup> em diferentes concentrações de eletrólito suporte; (b) Plot de I em função da concentração da solução tampão.





FONTE: O autor

Por ambos os gráficos anteriores, torna-se evidente que a concentração ótima do tampão Britton-Robinson dentre as estudadas foi a de 0,10 mol L<sup>-1</sup>, que apresentou o pico melhor definido em 10a e uma corrente de pico anódico substancialmente maior que as outras concentrações em 10b. A importância do estudo da concentração do eletrólito pode ser melhor assimilada pela Equação de Stokes-Einstein (5), em que a difusão depende da viscosidade do eletrólito, que por sua vez é relacionada à sua concentração <sup>[68][82]</sup>.

$$D = \frac{kT}{6\pi r\eta} \quad (5)$$

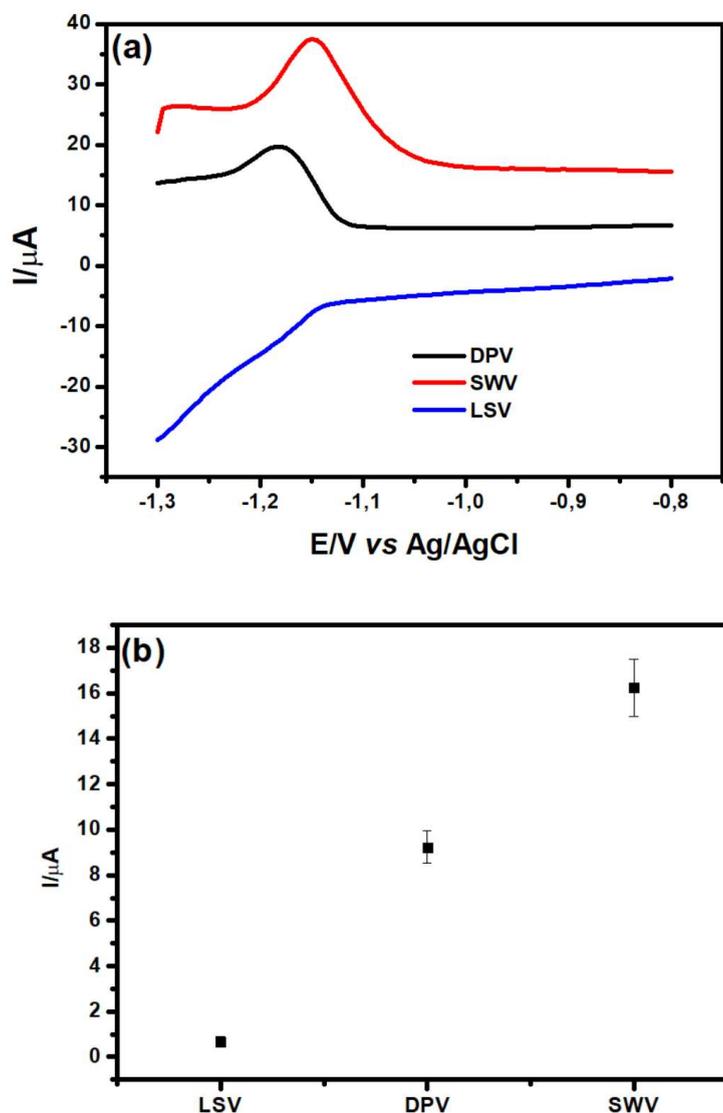
Em que  $D$  é o coeficiente de difusão,  $k$  a constante de Boltzmann,  $T$  a temperatura,  $r$  o raio das partículas esféricas e  $\eta$  é a viscosidade.

Em geral, o aumento da concentração do eletrólito suporte leva a um aumento da corrente elétrica e, portanto, a uma maior sensibilidade analítica, e grandes concentrações de eletrólito suporte também são necessárias para limitar a migração do analito, já que a alta concentração de eletrólito em relação à concentração do analito garante que seja estatisticamente mais provável que o eletrólito migre para a superfície do eletrodo para que haja um equilíbrio de carga <sup>[75]</sup>. No entanto, há um limite para o aumento da concentração do eletrólito suporte, uma vez que uma concentração muito alta pode causar problemas de solubilidade e polarização do eletrodo.

### 5.2.6 Escolha da técnica

As técnicas voltamétricas LSV, DPV e SWV foram comparadas com o intuito de se obter a melhor sensibilidade para a determinação do zinco, com seus desempenhos evidenciados na Figura 12.

**Figura 12:** (a) Comparação dos voltamogramas e (b) corrente de pico para  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\% \text{Nafion}^{\text{®}}/\text{GCE}$  em diferentes técnicas: LSV; DPV; SWV. Experimentos conduzidos na presença de  $[\text{Zn}^{2+}] 2,26 \text{ mg L}^{-1}$ , solução tampão Britton-Robinson  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .



FONTE: O autor.

Pela Figura 12a já é possível notar que a LSV teve o pior desempenho e a Figura 12b o reforça. Isso ocorreu por ela não ser uma técnica de pulso, o que significa que não minimiza a contribuição da corrente não-faradaica como as outras duas técnicas.

O voltamograma da SWV teve um sinal de corrente mais sensível que as outras técnicas voltamétricas e foi a escolhida para dar-se continuidade aos estudos. Isso é condizente com a literatura, onde ela já foi descrita como tendo uma sensibilidade equiparável ou superior à da DPV

[35].

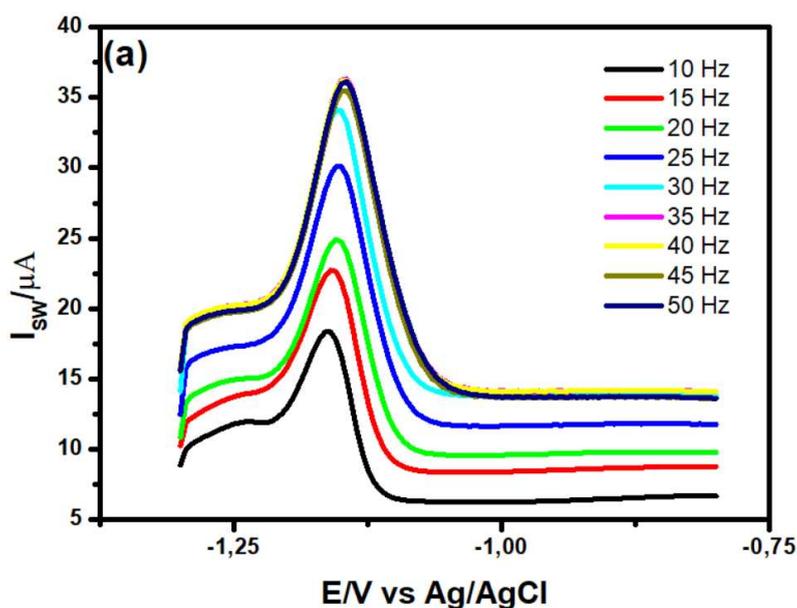
### 5.2.7 Otimização dos parâmetros operacionais

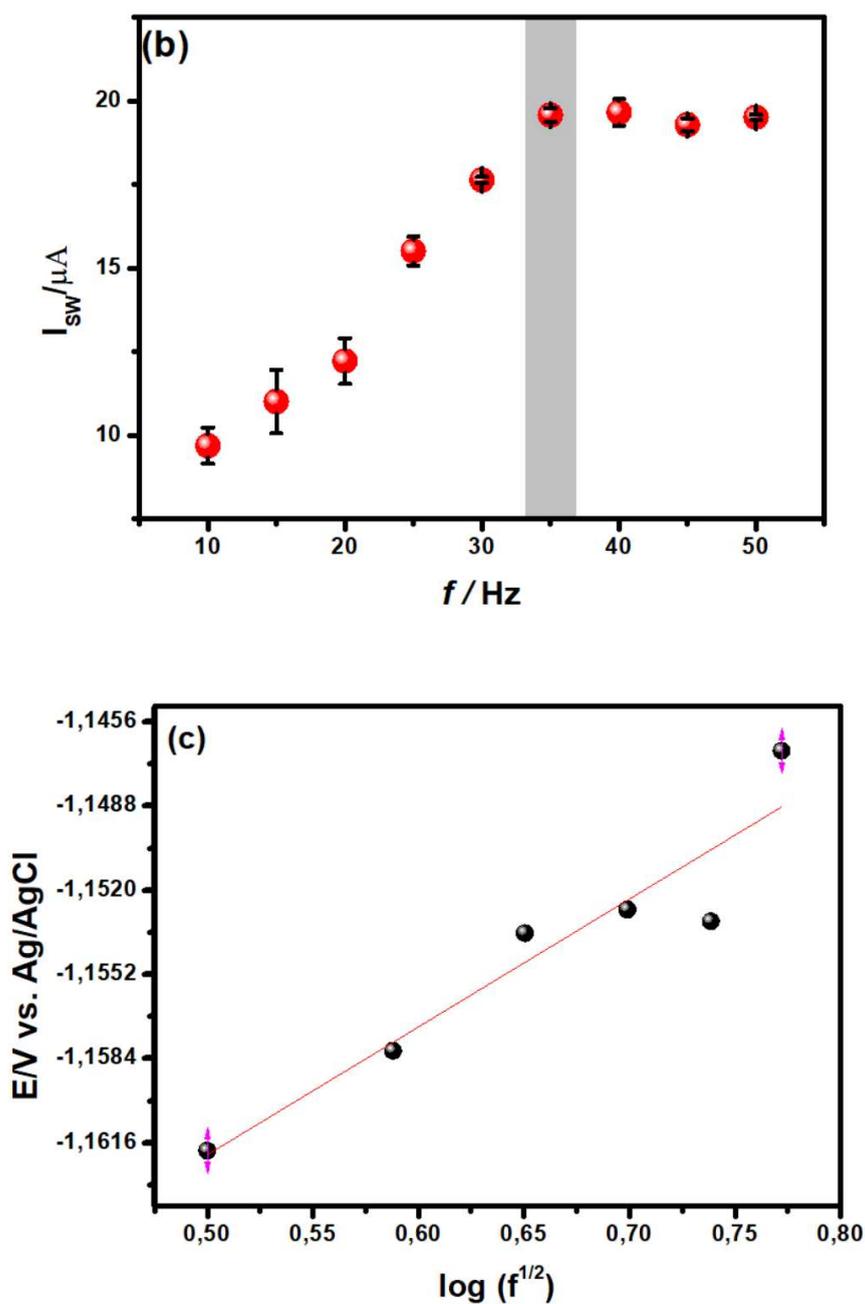
Sequencialmente à escolha da técnica, analisou-se a influência da variação dos parâmetros da SWV, almejando-se alcançar um compromisso entre a máxima intensidade e resolução do sinal. Os parâmetros estudados foram a frequência, incremento de potencial, amplitude, potencial de pré-concentração e tempo.

#### 5.2.7.1 Frequência

Na SWV, a frequência ( $f$ ) é a taxa na qual a tensão aplicada varia entre dois valores durante uma análise eletroquímica. A Figura 13 apresenta sua otimização.

**Figura 13:** (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) correntes de picos registrados para  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes frequências; (c) Plot de  $E$  vs.  $\log(f^{1/2})$ . Experimentos conduzidos na presença de  $[\text{Zn}^{2+}]$   $2,26 \text{ mg L}^{-1}$ , solução tampão Britton-Robinson  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0),  $E_{\text{step}} = 5 \text{ mV}$  e Amplitude =  $50 \text{ mV}$ .





FONTE: O autor.

A faixa testada foi de 10 Hz a 50 Hz e a frequência escolhida foi de 35 Hz, já que em valores maiores a corrente registrada formou um platô (Figura 13b) enquanto seus respectivos picos se alargaram, o que prejudica a seletividade do método (Figura 13a).

Por sua vez, Figura 13c dispõe de uma equação da reta com o perfil  $E$  (V) =  $-1,18636 + 0,04861 \log(f^{1/2})$  e  $R^2 = 0,87464$ . É possível descobrir o número de elétrons envolvidos ao igualar-se o valor do coeficiente angular à inclinação de Tafel<sup>[83]</sup>, Equação 6.

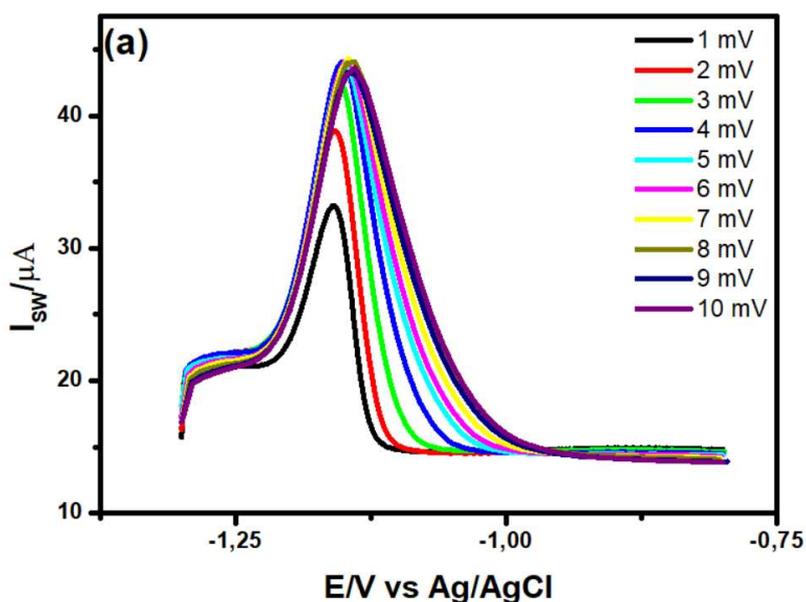
$$\frac{\delta E_p}{\delta \log f^{\frac{1}{2}}} = \frac{2,3RT}{\alpha nF} \quad (6)$$

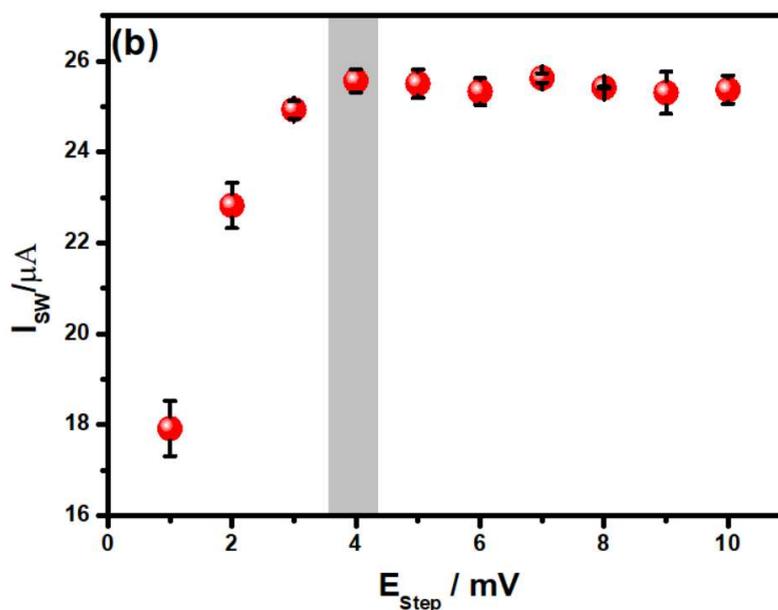
Sendo  $R$  a constante universal dos gases ( $8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ),  $T$  a temperatura ( $298,15 \text{ K}$ ),  $\alpha$  o coeficiente de transferência de carga ( $0.5$ ),  $n$  o número de elétrons envolvidos no processo de oxirredução e  $F$  a constante de Faraday ( $96.485 \text{ C mol}^{-1}$ ). Como o número de elétrons envolvidos calculado foi de  $2,43$ , que pode ser arredondado para  $2$ , e pela Equação 4 foi determinado que há o dobro de elétrons que de prótons, conclui-se que no processo de oxirredução  $\text{Zn}/\text{Zn}^{2+}$  há  $1$  próton para cada  $2$  elétrons envolvidos.

### 5.2.7.2 Incremento de potencial

A Figura 14 é relativa ao estudo do incremento de potencial ( $E_{step}$ ), que é definido como a diferença entre os potenciais iniciais e finais de cada varredura. O  $E_{step}$  determina a faixa de variação de potencial que ocorre em cada varredura. Um  $E_{step}$  maior resulta em uma variação de potencial menor, o que pode aumentar a resolução de pico, mas diminuir a sensibilidade. Um  $E_{step}$  menor, por outro lado, aumenta a faixa de variação de potencial, o que pode aumentar a sensibilidade, mas diminuir a resolução de pico.

**Figura 14:** (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) correntes de picos registrados para  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes valores de  $E_{step}$ . Experimentos conduzidos na presença de  $[\text{Zn}^{2+}] 2,26 \text{ mg L}^{-1}$ , solução tampão Britton-Robinson  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0), Frequência =  $35 \text{ Hz}$  e Amplitude =  $50 \text{ mV}$ .





FONTE: O autor.

O intervalo estudado foi de 1 mV a 10 mV e o valor ótimo de 4 mV, a partir do qual os voltamogramas tornaram-se menos definidos, Figura 14a, enquanto a corrente atingiu a saturação, Figura 14b. Complementarmente, a velocidade de varredura aparente da SWV pode ser determinada pela Equação (7)<sup>[82]</sup>,

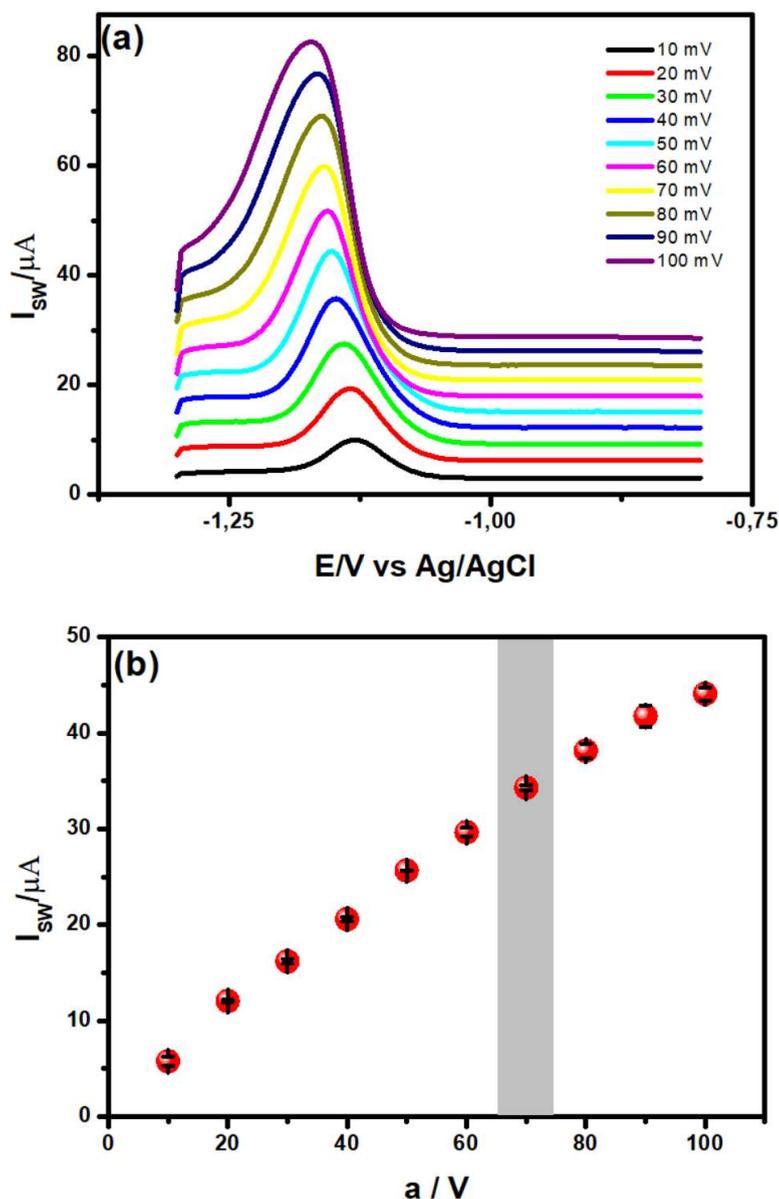
$$v = f\Delta E \quad (7)$$

Onde  $v$  é a velocidade de varredura,  $f$  a frequência e  $\Delta E$  o incremento de potencial. Haja vista que a frequência e incremento de potencial ótimos foram respectivamente de 35 Hz e 4 mV, a velocidade de varredura da técnica é por conseguinte de 140 mV s<sup>-1</sup>.

### 5.2.7.3 Amplitude

Seguiu-se com a otimização da amplitude do pulso  $a$ , Figura 15, que na SWV é a diferença entre os potenciais positivos e negativos de cada varredura da onda quadrada. A Amplitude determina a intensidade do sinal elétrico que é aplicado ao eletrodo. Uma amplitude maior resulta em um sinal elétrico mais intenso, o que pode aumentar a sensibilidade, mas diminuir a resolução de pico. Uma amplitude menor, por outro lado, resulta em um sinal elétrico menos intenso, o que pode diminuir a sensibilidade, mas aumentar a resolução de pico.

**Figura 15:** (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) correntes de picos registradas para  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes valores de amplitude. Experimentos conduzidos na presença de  $[\text{Zn}^{2+}]$  2,26  $\text{mg L}^{-1}$ , solução tampão Britton-Robinson 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  (pH 7,0), Frequência = 35 mV e  $E_{\text{step}} = 4$  mV.



FONTE: O autor.

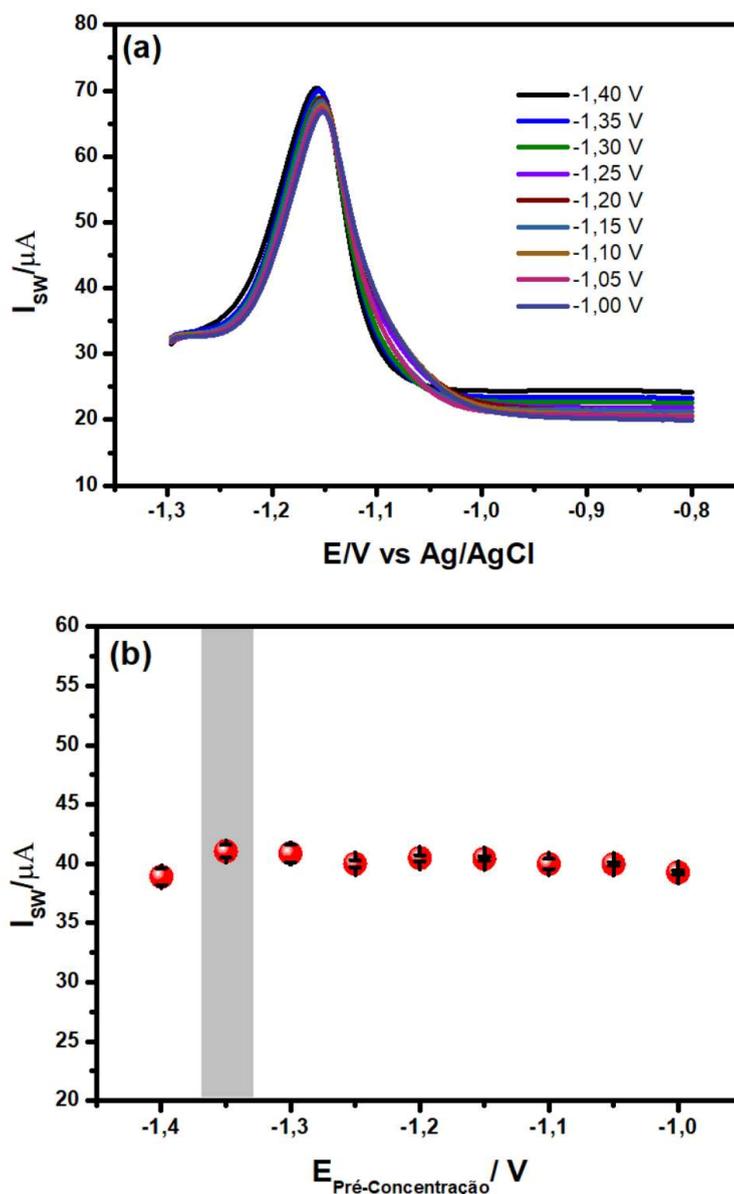
Os valores analisados foram de 10 mV a 100 mV e a melhor resposta gerada foi em 70 mV, após esse ponto os sinais apresentaram definição reduzida, como exposto pela Figura 15a, ao passo que o ganho de corrente se deu a uma taxa menor e com valores possuindo desvios maiores, Figura 15b.

#### 5.2.7.4 Potencial de pré-concentração

Em seguida, foi analisado o potencial de pré-concentração  $E_{\text{Pré-Concentração}}$ , Figura 16, que refere-se à aplicação de um potencial adequado ao eletrodo por um período de tempo suficiente para

que a espécie eletroativa de interesse presente na solução seja acumulada na superfície do eletrodo, aumentando assim a sua concentração local.

**Figura 16:** Estudo do potencial de pré-concentração. (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) Correntes de picos registrados para  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\%$  Nafion<sup>®</sup>/GCE em diferentes valores potenciais. Experimentos conduzidos na presença de  $[\text{Zn}^{2+}]$   $2,26 \text{ mg L}^{-1}$  e solução tampão Britton-Robinson  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0).



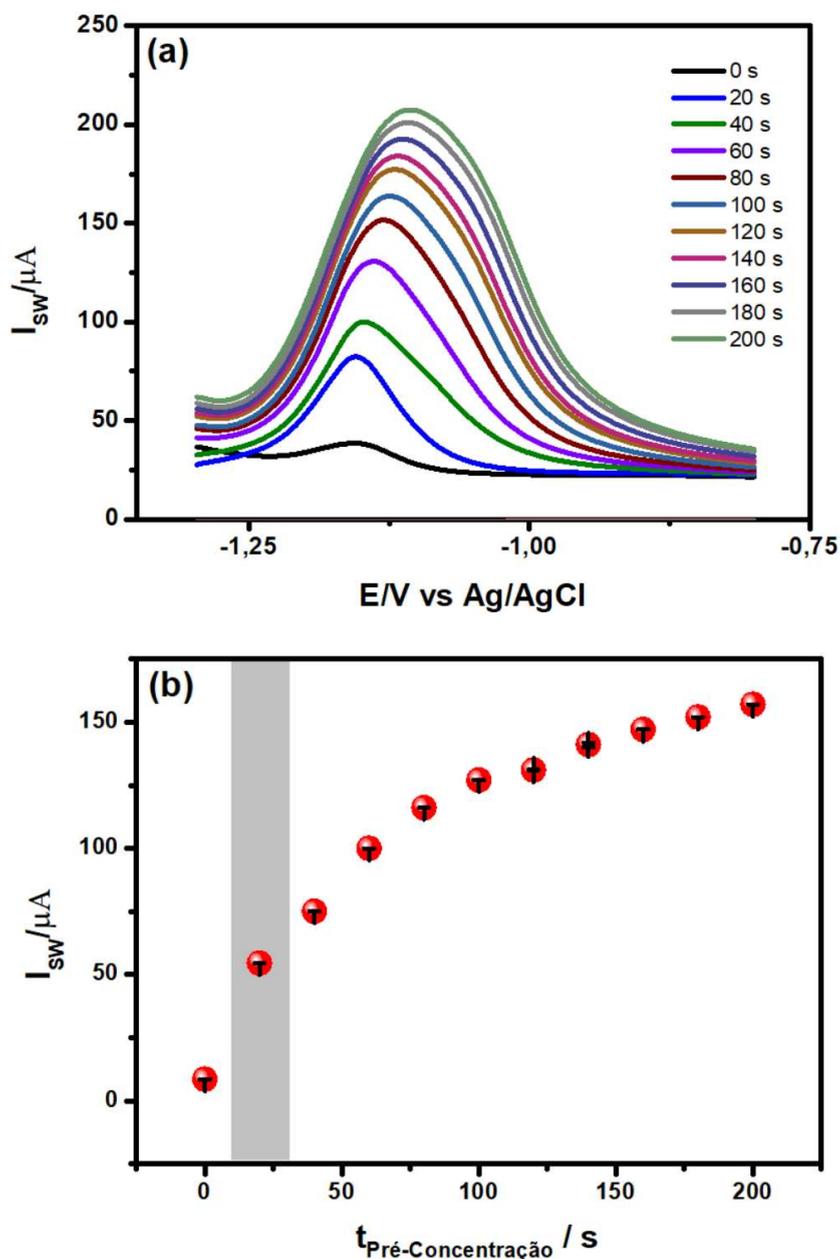
FONTE: O autor.

A otimização do potencial de pré-concentração foi feita com uma variação do potencial de -1,4 V a -1,0 V em intervalos de 0,05 V, como apresentado pela Figura 16a. Na Figura 16b é observado que o potencial de -1,35 V causou um aumento da corrente do pico anódico em relação ao anterior, o que não foi observado nos pontos seguintes, em que não houve aumento devido à saturação do analito na superfície do eletrodo.

### 5.2.7.5 Tempo de pré-concentração

O próximo passo foi a avaliação do tempo de pré-concentração  $t_{\text{Pré-Concentração}}$ , Figura 17, que refere-se ao tempo que o analito terá para reagir com o eletrodo antes da análise voltamétrica. Um tempo de pré-concentração muito curto pode limitar a capacidade da técnica em detectar espécies eletroativas de interesse devido à insuficiente interação com o eletrodo. Por outro lado, um tempo de pré-concentração muito longo pode levar a uma interferência da reação secundária não desejada, o que reduz a seletividade da técnica.

**Figura 17:** Estudo do tempo de deposição. (a) Voltamogramas de Onda Quadrada; (b) Correntes de picos registrados para  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/0,05\% \text{ Nafion}^{\text{®}}/\text{GCE}$  em diferentes valores tempo. Experimentos conduzidos na presença de  $[\text{Zn}^{2+}] 2,26 \text{ mg L}^{-1}$  e solução tampão Britton-Robinson  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0).



FONTE: O autor.

A Figura 17a exibe que os voltamogramas que resultaram do estudo sofreram uma grande perda de definição após 20 s, e que após esse tempo o ganho de corrente foi consideravelmente menor. Por sua parte, a Figura 17b corrobora que deste ponto em diante houve uma queda na taxa de crescimento da  $I_{SW}$  ocasionada pelo acúmulo do analito na superfície eletródica e por possíveis interferências de reações secundárias que passaram a ocorrer nesta interface em razão das durações elevadas dos pulsos.

Um resumo dos experimentos realizados e dos resultados obtidos pode ser visualizado na Tabela 4.

**Tabela 4:** Otimização dos parâmetros operacionais da SWV para quantificação de zinco.

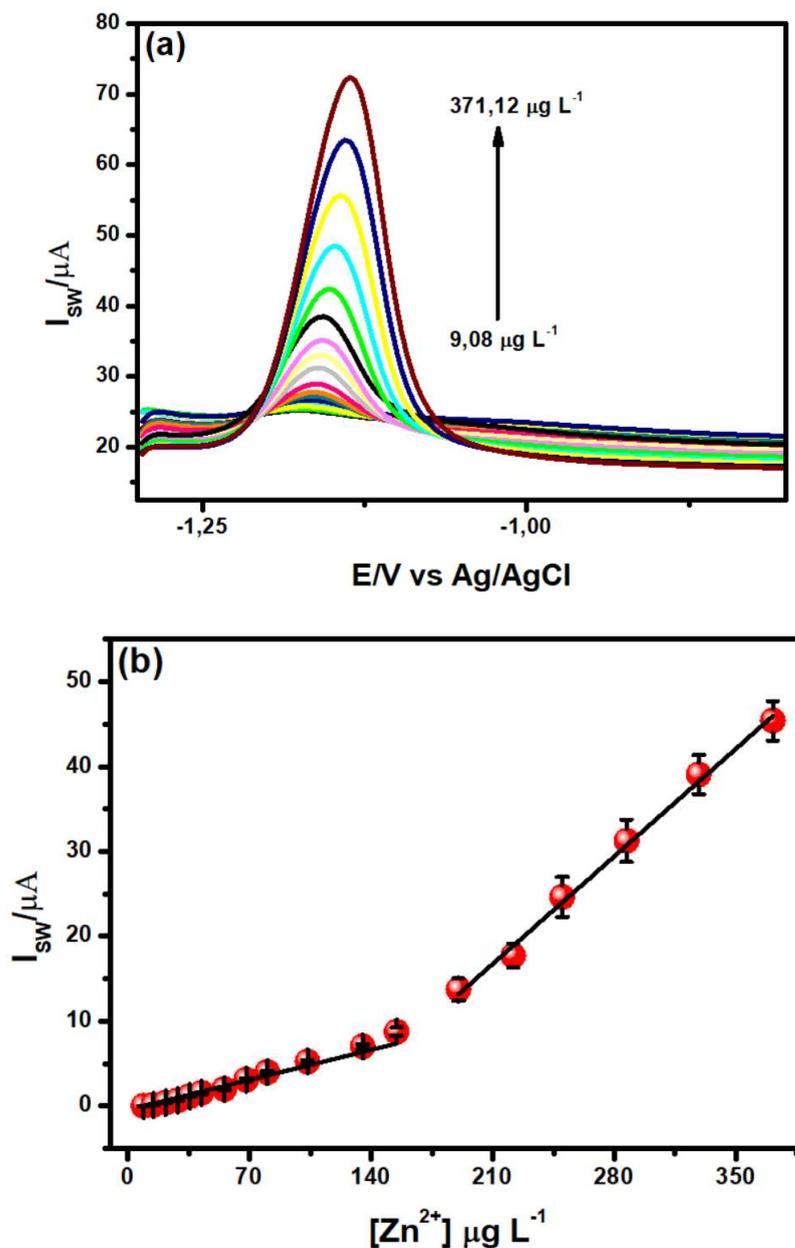
<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>
Faixa Estudada (V vs. Ag/AgCl)	-1,3 a -0,8
Frequência $f$ (Hz)	35
Incremento de Potencial $E_{step}$ (mV)	4
Velocidade de Varredura da SWV $\nu$ (mV s <sup>-1</sup> )	140
Amplitude $a$ (mV)	70
Potencial de pré-concentração $E_{Pré-Concentração}$ (V)	-1,35
Tempo de pré-concentração $t_{Pré-Concentração}$ (s)	20

FONTE: O autor.

### 5.2.8 Curva de calibração

Empregando os parâmetros otimizados da SWV fez-se uma curva de calibração pela adição de alíquotas conhecidas de solução de zinco ao tampão Britton-Robinson em triplicata, Figura 18. Apesar de outros tipos de curvas de calibração existirem, a por adição de padrão foi escolhida por ser bastante precisa e exata, e isso ocorre porque o padrão adicionado é semelhante às espécies presentes na amostra, o que reduz os erros sistemáticos que podem ocorrer em outras técnicas de calibração. Graças à capacidade de minimizar o efeito de matriz, a técnica citada torna-se atrativa para uso em amostras reais que possuam matrizes muito complexas.

**Figura 18:** (a) Voltamogramas de SWV para diferentes concentrações de zinco; (b) curva de calibração. Experimento realizado em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0).



FONTE: O autor.

A figura 18a permite visualizar os voltamogramas para diferentes concentrações de  $Zn^{2+}$ . Há picos bem definidos em potencial -1,14 V cuja intensidade de corrente aumenta conforme a concentração do analito.

Na figura 18b observam-se duas faixas de linearidade, a primeira (entre 9,08  $\mu g L^{-1}$  e 154,76  $\mu g L^{-1}$ ) de menor coeficiente angular e a segunda (entre 190,30  $\mu g L^{-1}$  e 371,21  $\mu g L^{-1}$ ) de uma maior inclinação e, conseqüentemente, sensibilidade mais elevada. No entanto, ambas podem ser utilizadas dependendo da amostra e da região referente à sua concentração. A curva de calibração

correspondente foi de  $I_{sw}(\mu A) = -0,44546 + 0,05048[Zn^{2+}]$  (desvio padrão do coeficiente linear de 0,03279) para a primeira faixa e de  $I_{sw}(\mu A) = -21,28815 + 0,18109 [Zn^{2+}]$  (desvio padrão do coeficiente linear de  $3,59292E^{-15}$ ) para a segunda.

Os limites de detecção (LoD) e quantificação (LoQ) foram calculados de acordo com o Inmetro <sup>[84]</sup>.

$$LoD = 3,3 \frac{s}{b} \quad (8)$$

$$LoQ = 10 \frac{s}{b} \quad (9)$$

Em que  $s$  é o desvio padrão do coeficiente linear e  $b$  o coeficiente angular da reta.

Na Tabela 5 foram resumidos os parâmetros de mero da curva de calibração. Os coeficientes angular e linear, bem como seus respectivos desvios padrões, foram especificados para ambas as faixas lineares. Já os limites de detecção e quantificação foram calculados apenas para a faixa da região de menores concentrações.

**Tabela 5:** Parâmetros de mérito referentes à curva de calibração.

<b>Parâmetro Analítico</b>	<b>Valor</b>
Potencial do pico (V)	-1,14
Faixa linear de trabalho ( $\mu g L^{-1}$ )	9,08 - 371,21
Coeficiente de determinação $R^2$	0,97
Coeficiente de correlação R	0,98
Coeficiente angular ( $\mu A L \mu g^{-1}$ )	0,05048 0,18109
Desvio padrão do coeficiente angular ( $\mu A L \mu g^{-1}$ )	0,00267 $1,25811 \cdot 10^{-17}$
Coeficiente linear ( $\mu A$ )	-0,44546 -21,28815
Desvio padrão do coeficiente linear ( $\mu A$ )	0,03279 $3,59292 \cdot 10^{-15}$
Limite de detecção ( $\mu g L^{-1}$ )	2,14
Limite de quantificação ( $\mu g L^{-1}$ )	6,50

FONTE: O autor.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

A pesquisa desenvolvida teve como base o desenvolvimento de uma arquitetura eletródica para a determinação de zinco em amostras variadas de maneira simples, rápida, de baixo custo e com pouca geração de resíduos. A modificação do substrato de carbono vítreo pela técnica de recobrimento *drop coating* forneceu ao eletrodo sinais de excelente intensidade e definição, além de um comportamento quase-reversível na sonda redox de ferri/ferrocianeto. O eletrodo apresentou ainda seus melhores resultados em tampão Britton-Robinson 0,10 mol L<sup>-1</sup> e pH 7, sobretudo ao utilizar-se a Voltametria de Onda Quadrada, cujos parâmetros foram otimizados. Pela equação de Tafel, foi aferido que o processo estudado compreende dois elétrons e um próton. A curva de calibração obtida possuía duas regiões lineares, uma entre 9,08 µg L<sup>-1</sup> e 154,76 µg L<sup>-1</sup> e a outra de 190,30 µg L<sup>-1</sup> até 371,21 µg L<sup>-1</sup>. Os limites de detecção e quantificação para a faixa estudada foram de 2,14 µg L<sup>-1</sup> e 6,50 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente, mais que suficientes para se fazer o monitoramento dos níveis de zinco por fluidos biológicos.

Para uma avaliação ainda mais criteriosa do método, é de interesse que sejam feitos testes de recuperação, exatidão e reprodutibilidade, além de estudos adicionais acerca da natureza do processo que ocorre na interface eletrodo/solução.

Visto que o método já comprovou uma boa eficácia (principalmente nos quesitos exatidão e precisão) e viabilidade da plataforma proposta, espera-se que futuramente ela seja aplicada à determinação de zinco em amostras reais por mérito de sua relativa simplicidade, baixo custo, sensibilidade e capacidade de aplicação *in loco*.

## 7. REFERÊNCIAS

- [1] JOMOVA, K.; KUCA, K.; RHODES, C. J.; VALKO, M. **Essential Metals in Health and Disease**. *Chem Biol Interact* 2022, 367, 110173.
- [2] ZORODDU, M. A.; AASETH, J.; CRISPONI, G.; MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V. M. **The Essential Metals for Humans: A Brief Overview**. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2019, 195, 120–129.
- [3] VIRAG, F.; ERDODI, P. G. **Bioinorganic Chemistry for Medical Students Scriptum**, University of Debrecen, Hungary (2016), pp. 1-104.
- [4] CHEN, P.; MIAH, M. R.; ASCHNER, M. **Metals and Neurodegeneration**. *F1000Res* 2016, 5, 366.
- [5] CARVER, P. L. 1. **Metals in Medicine: The Therapeutic Use of Metal Ions in the Clinic**. In *Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic*; De Gruyter, 2019; pp 1–16.
- [6] NGU, Y. J.; SKALNY, A. V.; TINKOV, A. A.; TSAI, C.-S.; CHANG, C.-C.; CHUANG, Y.-K.; NIKOLENKO, V. N.; ZOTKIN, D. A.; CHIU, C.-F.; CHANG, J.-S. **Association Between Essential and Non-Essential Metals, Body Composition, and Metabolic Syndrome in Adults**. *Biol Trace Elem Res* 2022, 200 (12), 4903–4915.
- [7] HAMER, D. H. **Metallothionein**. *Annu. Rev. Biochem.* 1986, 55 (1), 913–951.
- [8] KUMAR, G.; KUSHWAHA, H. R.; PANJABI-SABHARWAL, V.; KUMARI, S.; JOSHI, R.; KARAN, R.; MITTAL, S.; PAREEK, S. L. S.; PAREEK, A. **Clustered Metallothionein Genes Are Co-Regulated in Rice and Ectopic Expression of OsMT1e-Pconfers Multiple Abiotic Stress Tolerance in Tobacco via ROS Scavenging**. *BMC Plant Biol* 2012, 12 (1), 107.
- [9] COYLE, P.; PHILCOX, J. C.; CAREY, L. C.; ROFE, A. M. **Metallothionein: The Multipurpose Protein**. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* 2002, 59 (4), 627–647.
- [10] HOJYO, S.; FUKADA, T. **Zinc Transporters and Signaling in Physiology and Pathogenesis**. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2016, 611, 43–50.
- [11] WANG, R.; ZHANG, L.; CHEN, Y.; ZHANG, S.; ZHUANG, T.; WANG, L.; XU, M.; ZHANG, N.; LIU, S. **Elevated Non-Essential Metals and the Disordered Metabolism of Essential Metals Are Associated to Abnormal Pregnancy with Spontaneous Abortion**. *Environ Int* 2020, 144, 106061.
- [12] FOLARIN, O. R.; OLOPADE, F. E.; OLOPADE, J. O. **Essential Metals in the Brain and the Application of Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry for Their Detection**. *Niger J Physiol Sci* 2021, 36 (2), 123–147.
- [13] SMITH, L. D.; GARG, U. **Disorders of Trace Metals**. In *Biomarkers in Inborn Errors of Metabolism*; Elsevier, 2017; pp 399–426.
- [14] HENKIN, R. I. **Trace Metals in Endocrinology**. *Medical Clinics of North America* 1976, 60 (4), 779–797.
- [15] BARTZATT, R. **Neurological Impact of Zinc Excess and Deficiency In Vivo**. *EJNFS* 2017, 7 (3), 155–160.

- [16] BREWER, G. J. **Copper Excess, Zinc Deficiency, and Cognition Loss in Alzheimer's Disease.** *BioFactors* 2012, 38 (2), 107–113.
- [17] SANDSTRÖM, B. **Diagnosis of Zinc Deficiency and Excess in Individuals and Populations.** *Food Nutr Bull* 2001, 22 (2), 133–137.
- [18] BAGHERANI, N.; R SMOLLER, B. **An Overview of Zinc and Its Importance in Dermatology-Part II: The Association of Zinc with Some Dermatologic Disorders.** *Glob Dermatol* 2016, 3 (5), 337–350.
- [19] GRANERO, R.; PARDO-GARRIDO, A.; CARPIO-TORO, I. L.; RAMÍREZ-CORONEL, A. A.; MARTÍNEZ-SUÁREZ, P. C.; RREIVAN-ORTIZ, G. G. **The Role of Iron and Zinc in the Treatment of ADHD among Children and Adolescents: A Systematic Review of Randomized Clinical Trials.** *Nutrients* 2021, 13 (11), 4059.
- [20] TUERK, M. J.; FAZEL, N. **Zinc Deficiency.** *Current Opinion in Gastroenterology* 2009, 25 (2), 136–143.
- [21] ROOHANI, N.; HURRELL, R.; KILISHADI, R.; SCHULIN, R. **Zinc and Its Importance for Human Health: An Integrative Review.** *J Res Med Sci* 2013, 18 (2), 144–157.
- [22] DUTRA, R.; MALTEZ, H.; CARASEK, E. **Development of an On-Line Preconcentration System for Zinc Determination in Biological Samples.** *Talanta* 2006, 69 (2), 488–493.
- [23] KRUSMA, J.; BANKS, C. E.; NEI, L.; COMPTON, R. G. **Electroanalytical Detection of Zinc in Whole Blood.** *Analytica Chimica Acta* 2004, 510 (1), 85–90.
- [24] GAUBEUR, I.; ÁVILA-TERRA, L. H. S.; MASINI, J. C.; SUÁREZ-IHA, M. E. V. **Spectrophotometric Flow Injection Methods for Zinc Determination in Pharmaceutical and Biological Samples.** *ANAL. SCI.* 2007, 23 (10), 1227–1231.
- [25] SHARMA, H.; SHARMA, A.; SHARMA, B.; KARNA, S. **Green Analytical Approach for the Determination of Zinc in Pharmaceutical Product Using Natural Reagent.** *International Journal of Analytical Chemistry* 2022.
- [26] WANG, J. **Flow Injection On-Line Dilution for Multi-Element Determination in Human Urine with Detection by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.** *Talanta* 2001, 55 (1), 117–126.
- [27] ZEITZ, L.; LEE, R. **Zinc Analysis in Biological Specimens by X-Ray Fluorescence.** *Analytical Biochemistry* 1966, 14 (2), 191–204.
- [28] AGGARWAL, S. K.; KINTER, M.; FITZGERALD, R. L.; HEROLD, D. A.; HARRISON, W. W. **Mass Spectrometry of Trace Elements in Biological Samples.** *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1994, 31 (1), 35–87.
- [29] TAYLOR, A. **Measurement of Zinc in Clinical Samples.** *Ann Clin Biochem* 1997, 34 (2), 142–150.
- [30] KNISELEY, R. N.; FASSEL, V. A.; BUTLER, C. C. **Application of Inductively-Coupled Plasma Excitation Sources to the Determination of Trace Metals in Microliter Volumes of Biological Fluids.** *Clinical Chemistry* 1973, 19 (8), 807–812.

- [31] BULSKA, E.; RUSZCZYŃSKA, A. **Analytical Techniques for Trace Element Determination.** *Physical Sciences Reviews* 2017, 2 (5).
- [32] IVANENKO, N. B.; GANEEV, A. A.; SOLOVYEV, N. D.; MOSKVIN, L. N. **Determination of Trace Elements in Biological Fluids.** *J Anal Chem* 2011, 66 (9), 784–799.
- [33] BAUER, H. H.; CHRISTIAN, G. D.; O'REILLY, J. E. **Instrumental Analysis.** *Allyn and Bacon* 1978.
- [34] BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications.** *John Wiley & Sons, Inc.* 2nd Ed., 2001.
- [35] ALEIXO, L. M. **Voltametria: conceitos e técnicas.** *Revista Chemkeys* 2018.
- [36] RILEY, T.; WATSON, A. **Polarography and Other Voltammetric Methods.** *Wiley India Pvt. Limited*, 2008.
- [37] OZKAN, S. A.; KAUFFMANN, J.-M.; ZUMAN, P. **Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences: Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications.** *Monographs in Electrochemistry; Springer Berlin Heidelberg*: Berlin, Heidelberg, 2015.
- [38] WANG, J. **Analytical Electrochemistry.** *Wiley-VCH*, 2nd Ed., 2000.
- [39] PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K. de; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. **Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos.** *Revista Virtual de Química* 2013, 5 (4), 516–537.
- [40] CASTAGNOLA, E.; THONGPANG, S.; HIRABAYASHI, M.; NAVA, G.; NIMBALKAR, S.; NGUYEN, T.; LARA, S.; OYAWALE, A.; BUNNELL, J.; MORITZ, C.; KASSEGNE, S. **Glassy Carbon Microelectrode Arrays Enable Voltage-Peak Separated Simultaneous Detection of Dopamine and Serotonin Using Fast Scan Cyclic Voltammetry.** *Analyst* 2021, 146 (12), 3955–3970.
- [41] SUN, D.; ZHU, L.; ZHU, G. **Glassy Carbon Ceramic Composite Electrodes.** *Analytica Chimica Acta* 2006, 564 (2), 243–247.
- [42] KUMAR, S.; ADARAKATTI, P. S. **Modified Electrodes for Sensing.** *RSC ISBN: 978-1-78801-583-7*, 2018.
- [43] QUINTINO, M. do S. M. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (bia) para aplicações analíticas.** Doutorado em Química Analítica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- [44] SOUZA, M. de F. B. **Eletrodos Quimicamente Modificados Aplicados à Eletroanálise: Uma Breve Abordagem.** *Química Nova* 1997, 20 (2), 191–195.
- [45] MATHIYARASU, J.; PATHAK, S. S.; TEGNARAMAN, V. **Review on Corrosion prevention of Copper Using Ultrathin Organic Monolayers.** *Corrosion Reviews* 2006, 24 (5–6).
- [46] PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. de S.; KUBOTA, L. T. **Tendências Em Modificação de Eletrodos Amperométricos Para Aplicações Eletroanalíticas.** *Quím. Nova* 2002, 25 (6a).
- [47] GAO, X.; GUI, R.; XU, K. Q.; GUO, H.; JIN, H.; WANG, Z. **A Bimetallic Nanoparticle/Graphene Oxide/Thionine Composite-Modified Glassy Carbon Electrode Used**

as a Facile Ratiometric Electrochemical Sensor for Sensitive Uric Acid Determination. *New J. Chem.* 2018, 42 (18), 14796–14804.

[48] KWON, S. R.; ELINSKI, M. B.; BATTEAS, J. D.; LUTKENHAUS, J. L. **Robust and Flexible Aramid Nanofiber/Graphene Layer-by-Layer Electrodes.** *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2017, 9 (20), 17125–17135.

[49] FORCINITTI, C. R. V. **Plataforma eletroquímica com nanotubos de carbono e nanopartículas de ouro para determinação de melatonina.** Mestrado em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

[50] QUEIROZ, D.; DADAMOS, T.; MACHADO, S.; MARTINES, M. **Electrochemical Determination of Norepinephrine by Means of Modified Glassy Carbon Electrodes with Carbon Nanotubes and Magnetic Nanoparticles of Cobalt Ferrite.** *Sensors* 2018, 18 (4), 1223.

[51] LAKIĆ, M.; VUKADINOVIĆ, A.; KALCHR, K.; NIKOLIĆ, A. S.; STANKOVIĆ, D. M. **Effect of Cobalt Doping Level of Ferrites in Enhancing Sensitivity of Analytical Performances of Carbon Paste Electrode for Simultaneous Determination of Catechol and Hydroquinone.** *Talanta* 2016, 161, 668–674.

[52] MORAWSKI, F. de M.; CAON, N. B.; SOUSA, K. A. P.; FAITA, F. L.; PARIZE, A. L.; JOST, C. L. **Hybrid Chitosan-Coated Manganese Ferrite Nanoparticles for Electrochemical Sensing of Bifenox Herbicide.** *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2021, 9 (5), 106298.

[53] NAIK, S. R.; SALKER, A. V.; YUSUF, S. M.; MEENA, S. S. **Influence of Co<sup>2+</sup> Distribution and Spin–Orbit Coupling on the Resultant Magnetic Properties of Spinel Cobalt Ferrite Nanocrystals.** *Journal of Alloys and Compounds* 2013, 566, 54–61.

[54] BURDETT, J. K.; PRICE, G. D.; PRICE, S. L. **Role of the Crystal-Field Theory in Determining the Structures of Spinels.** *Journal of the American Chemical Society* 1982, 104, 1, 92–95.

[55] O'NEILL, H.; NAVROTSKY, A. **Simple Spinels; Crystallographic Parameters, Cation Radii, Lattice Energies, and Cation Distribution.** *American Mineralogist* 1983, Vol. 68, 181-194.

[56] GORBACHEV, E. A.; KOZLYAKOVA, E. S.; TRUSOV, L. A.; SLEPTSOVA, A. E.; ZYKIN, M. A.; KAZIN, P. E. **Design of Modern Magnetic Materials with Giant Coercivity.** *Russ. Chem. Rev.* 2021, 90 (10), 1287.

[57] SMIT, J; WIJN, H. P. J. **Ferrites: Physical Properties of Ferrimagnetic Oxides in Relation to their Technical Applications.** *Philips' Technical Library* 1959, Eindhoven, 150.

[58] MOHAMED, M. A.; EL-BADAWY, F. M.; EL-DESOKY, H. S.; GHONEIM, M. M. **Magnetic Cobalt Ferrite Nanoparticles CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Platform as an Efficient Sensor for Trace Determination of Cu(II) in Water Samples and Different Food Products.** *New J. Chem.* 2017, 41 (19), 11138–11147.

[59] THU, P. T. K.; TRINH, N. D.; HOAN, N. T. V.; DU, D. X.; MAU, T. X.; TRUNG, V. H.; PHONG, N. H.; TOAN, T. T. T.; KHIEU, D. Q. **Synthesis of Cobalt Ferrite and Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Acetaminophen and Caffeine by Voltammetric Method Using Cobalt Ferrite Modified Electrode.** *J Mater Sci: Mater Electron* 2019, 30 (18), 17245–17261.

- [60] RUBINSTEIN, I.; BARD, A. J. **Polymer Films on Electrodes. 5. Electrochemistry and Chemiluminescence at Nafion-Coated Electrodes.** *J. Am. Chem. Soc.* 1981, *103* (17), 5007–5013.
- [61] MURRAY, R. W. **Polymer Modification of Electrodes.** *Annu. Rev. Mater. Sci.* 1984, *14* (1), 145–169.
- [62] CHEN, P.-Y.; VITTAL, R.; NIEN, P.-C.; HO, K.-C. **Enhancing Dopamine Detection Using a Glassy Carbon Electrode Modified with MWCNTs, Quercetin, and Nafion®.** *Biosensors and Bioelectronics* 2009, *24* (12), 3504–3509.
- [63] GOMES, C. S. **Desenvolvimento de eletrodos de ouro modificados com camadas auto-arranjadas de tióis para formação *in situ* de nanopartículas de ouro.** Mestrado em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
- [64] KALLAY, N.; MATIJEVIC, E. **Adsorption at Solid/Solution Interfaces. 1. Interpretation of Surface Complexation of Oxalic and Citric Acids with Hematite.** *Langmuir* 1985, *1* (2), 195–201.
- [65] HAJDÚ, A.; TOMBÁ CZ, E.; ILLÉS, E.; BICA, D.; VÉKÁS, L. **Magnetite Nanoparticles Stabilized Under Physiological Conditions for Biomedical Application.** In *Colloids for Nano- and Biotechnology*; Hórvölgyi, Z. D., Kiss, É., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2008; pp 29–37.
- [66] LACA VA, Z. G. M.; AZEVEDO, R. B.; MARTINS, E. V.; LACA VA, L. M.; FREITAS, M. L. L.; GARCIA, V. A. P.; RÉBULA, C. A.; LEMOS, A. P. C.; SOUSA, M. H.; TOURINHO, F. A.; DA SILVA, M. F.; MORAIS, P. C. **Biological Effects of Magnetic Fluids: Toxicity Studies.** *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 1999, *201* (1–3), 431–434.
- [67] MORAIS, P. C.; SANTOS, R. L.; PIMENTA, A. C. M.; AZEVEDO, R. B.; LIMA, E. C. D. **Preparation and Characterization of Ultra-Stable Biocompatible Magnetic Fluids Using Citrate-Coated Cobalt Ferrite Nanoparticles.** *Thin Solid Films* 2006, *515* (1), 266–270.
- [68] BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry: Principles, Methods and Applications.** *Oxford University Press*, 1993.
- [69] TOURINHO, F. A.; FRANCK, R.; MASSART, R. **Aqueous Ferrofluids Based on Manganese and Cobalt Ferrites.** *J Mater Sci* 1990, *25* (7), 3249–3254.
- [70] GUPTA, A. K.; NAREGALKAR, R. R.; VAIDYA, V. D.; GUPTA, M. **Recent Advances on Surface Engineering of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles and Their Biomedical Applications.** *Nanomedicine* 2007, *2* (1), 23–39.
- [71] GYERGYEK, S.; MAKOVEC, D.; KODRE, A.; ARČON, I.; JAGODIČ, M.; DROFENIK, M. **Influence of Synthesis Method on Structural and Magnetic Properties of Cobalt Ferrite Nanoparticles.** *J Nanopart Res* 2010, *12* (4), 1263–1273.
- [72] LASIA, A. **Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications.** *Springer Science+Business Media New York* 2014, Ed 1, p. 49.
- [73] LASCHUK, N. O.; EASTON, E. B.; ZENKINA, O. V. **Reducing the Resistance for the Use of Electrochemical Impedance Spectroscopy Analysis in Materials Chemistry.** *RSC Adv* *11* (45), 27925–27936.

- [74] WAN, X.; YANG, S.; CAI, Z.; HE, Q.; YE, Y.; XIA, Y.; LI, G.; LIU, J. **Facile Synthesis of MnO<sub>2</sub> Nanoflowers/N-Doped Reduced Graphene Oxide Composite and Its Application for Simultaneous Determination of Dopamine and Uric Acid.** *Nanomaterials* 2019, 9 (6), 847.
- [75] ELGRISHI, N.; ROUNTREE, K. J.; MCCARTHY, B. D.; ROUNTREE, E. S.; EISENHART, T. T.; DEMPSEY, J. L. **A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry.** *J. Chem. Educ.* 2018, 95 (2), 197–206.
- [76] OH, S. H.; CHANG, B. Y. **A New Accurate Equation for Estimating the Baseline for the Reversal Peak of a Cyclic Voltammogram.** *J. Electrochem. Sci. Technol* 2016, 7 (4), 293–297.
- [77] G, N.; KANAKAM, C. C.; R, S. **CYCLIC VOLTAMMETRIC STUDIES FOR DIFFERENT SUBSTITUTED BENZILS.** *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2016, 82–84.
- [78] SUN, Z. X.; SKÖLD, R. O. **A Multi-Parameter Titration Method for the Determination of Formation PH for Metal Hydroxides.** *Minerals Engineering* 2001, 14 (11), 1429–1443.
- [79] KABDAŞLI, I.; ARSLAN-ALATON, I.; ÖLMEZ-HANCI, T.; TÜNAY, O. **Electrocoagulation Applications for Industrial Wastewaters: A Critical Review.** *Environmental Technology Reviews* 2012, 1 (1), 2–45.
- [80] KREŻEL, A.; MARET, W. **The Biological Inorganic Chemistry of Zinc Ions.** *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2016, 611, 3–19.
- [81] ABBASPOUR, A.; MIRZAJANI, R. **Electrochemical Monitoring of Piroxicam in Different Pharmaceutical Forms with Multi-Walled Carbon Nanotubes Paste Electrode.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007, 44 (1), 41–48.
- [82] SCHOLZ, F. **Electroanalytical Methods.** *Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York* 2005, 114.
- [83] SOUSA, K. A. P.; MORAWSKI, F. de M.; DE CAMPOS, C. E. M.; PARREIRA, R. L. T.; PIOTROWSKI, M. J.; NAGURNIAK, G. R.; JOST, C. L. **Electrochemical, Theoretical, and Analytical Investigation of the Phenylurea Herbicide Fluometuron at a Glassy Carbon Electrode.** *Electrochimica Acta* 2022, 408, 139945.
- [84] COORDENAÇÃO GERAL DE ACREDITAÇÃO DO INMETRO. **Orientações Sobre Validação de Métodos Analíticos.** *DOQ-CGCRE-008* 2008, Revisão 08.