

GRAZIELA CRISTINA SEDENHO

**Desenvolvimento de detector eletroquímico para cromatografia líquida de alta eficiência baseado em um eletrodo modificado com nanopartículas metálicas para determinação de ácidos carboxílicos em vinhaça de cana-de-açúcar**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

Araraquara  
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

S447d Sedenho, Graziela Cristina  
Desenvolvimento de detector eletroquímico para cromatografia líquida de alta eficiência baseado em um eletrodo modificado com nanopartículas metálicas para determinação de ácidos carboxílicos em vinhaça de cana-de-açúcar / Graziela Cristina Sedenho – Araraquara : [s.n], 2016  
124 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química  
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Nanopartículas. 2. Ácidos carboxílicos. 3. Cromatografia líquida de alta eficiência. 4. Detectores eletroquímicos. 5. Vinhaça. I. Título.

## DADOS CURRICULARES

### Dados pessoais

Nome: Graziela Cristina Sedenho  
Nacionalidade: Brasileira  
Nascimento: 24/11/1990 – Araraquara/SP – Brasil  
Endereço Profissional: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”  
Instituto de Química de Araraquara.  
Departamento de Química Analítica  
Laboratório de Eletroanalítica – NDCOM  
Rua Prof. Francisco Degni, 55  
Bairro Quitandinha  
Araraquara  
14800-060, SP – Brasil  
Endereço eletrônico: [grasedenho@yahoo.com.br](mailto:grasedenho@yahoo.com.br)

### Formação acadêmica/titulação

**2013-2016:** Mestrado em Química pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara, Brasil.

Título: Desenvolvimento de detector eletroquímico para cromatografia líquida de alta eficiência baseado em um eletrodo modificado com nanopartículas metálicas para determinação de ácidos carboxílicos em vinhaça de cana-de-açúcar.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto.

**2009-2012:** Graduação em Bacharelado em Química Tecnológica pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara, Brasil.

Título: Desenvolvimento de um sensor potenciométrico para determinação de potássio em microemulsão de biodiesel.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto.

## **Atuação profissional**

### **1. Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, São Paulo, Brasil.**

2013 – 2016: Bolsista de mestrado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Carga horária: 40. Regime: Dedicção exclusiva.

2013: Voluntária de iniciação científica

2011- 2012: Bolsista de iniciação científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

2010 – 2011: Bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET) do Instituto de Química da UNESP/ Araraquara.

2009 – 2012: Trabalho voluntário na Empresa Júnior - Química Jr.

### **2. Department of Chemistry, Physical & Theoretical Chemistry Laboratory, Oxford University, Oxford, Reino Unido.**

2014 –2015: Estágio de pesquisa no exterior. Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Duração: seis meses. Regime: Dedicção exclusiva.

## **Produção bibliográfica**

### **1. Artigos científicos**

SEDENHO, G. C.; LEE, P. T.; TOH, H. S.; SALTER, C.; JOHNSTON, C.; STRADIOTTO, N. R.; COMPTON, R. G. Nanoelectrocatalytic oxidation of lactic acid using nickel nanoparticles. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 119, p. 6896-6905, 2015.

TEIXEIRA, M. E.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. Detection of several carbohydrates using boron-doped diamond electrodes modified with nickel hydroxide nanoparticles. **Analytical Sciences**, v. 31, p. 773-780, 2015.

SEDENHO, G. C.; PAIM, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Simple and direct potentiometric determination of potassium ions in biodiesel microemulsions at a glassy carbon electrode modified with nickel (II) hexacyanoferrate nanoparticles. **Analytical Methods**, v. 5, p. 4145-4151, 2013.

SEDENHO, G. C.; LEE, P. T.; TOH, H. S.; SALTER, C.; JOHNSTON, C.; STRADIOTTO, N. R.; COMPTON, R. G. The electro-oxidation of lactic acid at platinum microparticles and polycrystalline platinum electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, 2016 (aceito para publicação).

SÁ, A. C.; SEDENHO, G. C.; PAIM, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Determination of sugars in hydrolyzate of sugarcane bagasse by HPLC-PAD using glassy carbon electrode modified with carbon nanotubes containing nanoparticles of nickel oxy/hydroxide. **Fuel**, 2015 (submetido).

## **2. Resumos publicados em anais de congressos científicos internacionais**

SEDENHO, G. C. ; PAIM, L. L. ; STRADIOTTO, N. R. determination of potassium ions in biodiesel at a nickel (II) hexacyanoferrate modified electrode using microemulsions. In: 222<sup>nd</sup> MEETING OF THE ELECTROCHEMICAL SOCIETY - PRiME, 2012, Honolulu, USA.

## **3. Resumos publicados em anais de congressos nacionais**

TEIXEIRA, M. E.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. Desenvolvimento de eletrodo de BDD modificado com nanopartículas de níquel para detecção de carboidratos de material lignocelulósico. In: 17º ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 2013, Belo Horizonte, Brasil.

SEDENHO, G. C.; LEE, P. T.; TOH, H. S.; SALTER, C.; JOHNSTON, C.; STRADIOTTO, N. R.; COMPTON, R. G. Identificação de um autêntico efeito nanoeletrocatalítico de nanopartículas de níquel via reação de oxidação do ácido láctico. In: XX SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA, 2015, Uberlândia, Brasil.

GRAZIELA CRISTINA SEDENHO

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Química.

Araraquara, 07 de janeiro de 2016.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO (Orientador)  
Instituto de Química / UNESP / Araraquara.



Profª. Drª. HIDEKO YAMANAKA  
Instituto de Química / UNESP / Araraquara.



Prof. Dr. RODRIGO ALEJANDRO ABARZA MUÑOZ  
Universidade Federal de Uberlândia / UFU / Uberlândia.

Dedico este trabalho,

A Deus pela proteção, saúde e força.

A minha família, pelo amor, apoio, incentivo e paciência.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proteger, guiar meus passos, me dar saúde e por confortar a minha alma nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Sueli e Luís, pelo amor, dedicação, incentivo constante aos estudos, apoio, pelas palavras de conforto nos momentos difíceis e por acreditar em mim e nos meus sonhos. A minha irmã, Ana Flávia, pelo carinho, paciência e por estar sempre ao meu lado. Aos meus avós, Doraci, Nadir e Clarisse, pelo carinho e por sempre torcerem por mim.

Ao meu namorado, Diego, pelo amor, companheirismo, paciência e pelas risadas.

Ao Prof. Nelson R. Stradiotto, exemplo de ética e amor à pesquisa, obrigada pela orientação, ensinamentos, paciência, confiança, conselhos e pela liberdade de poder expressar meus pensamentos.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, José Luiz, Maísa, Milena, Jefferson, Acelino, Leonardo, Bruna, Thiago e Bianca, pela convivência agradável, por toda a ajuda, pela paciência, pelas risadas, pelos momentos de descontração e pela amizade.

As professoras do grupo de eletroanalítica, Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni, Dra. Hideko Yamanaka, Dra. Maria Del Pilar Taboada Sotomayo e Dra. Fabíola Manhas Verbi Pereira e a seus alunos pelos ensinamentos e discussões nas reuniões de grupo.

Aos meus amigos, Mariane, Camila, Samara, Vinícius Garcia e Vinícius Ferreira, pela amizade, pelos momentos de descontração e pelo apoio desde o período da graduação.

Ao Instituto de Química pela excelente estrutura, pela oportunidade concedida e pelo acolhimento desde minha graduação.

A Universidade de Oxford (Reino Unido) e ao Prof. Richard G. Compton pela oportunidade de realização do estágio de pesquisa, o qual contribuiu significativamente para meu amadurecimento e formação profissional e pessoal.

Ao LMA-IQ pela disponibilidade de utilização do aparelho de MEV.

À FAPESP, pelas bolsas de estudo no país (processo nº 2013/09833-5) e no exterior (processo nº 2014/10391-0) e aos projetos de auxílio à pesquisa (processos nº 2012/00258-5 e nº 2014/23846-5).

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”*

*(Marthin Luther King)*

*"Diz-se que o começo é mais que metade do todo."*

*(Aristóteles)*

## RESUMO

O etanol é um importante componente da matriz energética brasileira, sendo produzido a partir da cana-de-açúcar. Nesse processo de produção, é produzida vinhaça como subproduto, a qual para cada 1 L de etanol gera-se de 12 L a 18 L. A vinhaça é constituída principalmente de sais de potássio, cálcio e magnésio e compostos orgânicos. Dentre estes, os ácidos carboxílicos tornam-se importantes por estarem presentes em concentrações significativas na vinhaça de cana-de-açúcar e por apresentarem expressiva importância industrial. Sendo assim, nesse trabalho foi desenvolvido um detector eletroquímico baseado em eletrodos de diamante dopado com boro quimicamente modificados com nanopartículas de níquel (NiNPs-BDD) e de cobre (CuNPs-BDD) para determinação dos ácidos láctico, málico e tartárico em vinhaça de cana-de-açúcar utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de troca iônica. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e espectros de raios X por dispersão em energia, em conjunto com os experimentos eletroquímicos, mostraram que os eletrodos de BDD foram efetivamente modificados com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel e óxido de cobre com diâmetros médios de 89 nm e 91 nm, respectivamente. Os estudos voltamétricos mostraram que as oxidações dos ácidos láctico, málico e tartárico, em meio básico, se dão em potenciais em torno de 0,50 V (*vs.* Ag/AgCl) e 0,73 V (*vs.* Ag/AgCl), nos eletrodos NiNPs-BDD e CuNPs-BDD, respectivamente, e são mediadas pelas espécies  $\text{Ni}^{3+}$  e  $\text{Cu}^{3+}$ . O eletrodo de NiNPs-BDD foi utilizado em CLAE com detecção amperométrica pulsada. A coluna de troca aniônica CarboPac PA1 foi utilizada para separação dos ácidos carboxílicos em vinhaça. Empregou-se como fase móvel água deionizada e 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em 0,25 mol L<sup>-1</sup> de CH<sub>3</sub>COONa, sob fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. O potencial de detecção empregado foi 0,48 V *vs.* Pd. O eletrodo de NiNPs-BDD apresentou boa estabilidade nas condições cromatográficas, tornando viável a sua utilização como detector amperométrico em CLAE. O tempo de análise foi de 27 min e não foi necessário um procedimento complexo e dispendioso de preparo de amostra. As sensibilidades analíticas foram  $7,5 \times 10^3$  nA L mol<sup>-1</sup>,  $3,5 \times 10^4$  nA L mol<sup>-1</sup> e  $5,4 \times 10^5$  nA L mol<sup>-1</sup> para os ácidos láctico, málico e tartárico, respectivamente. Os limites de detecção foram  $1,2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>,  $6,1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e  $2,8 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. As concentrações dos ácidos carboxílicos em vinhaça de cana-de-açúcar foram determinadas pelo método de adição de padrão como sendo  $(1,2 \pm 0,3) \times 10^{-1}$  mol L<sup>-1</sup>,  $(2,7 \pm 0,6) \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> e  $(9,9 \pm 1,0) \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> para os ácidos láctico, málico e tartárico, respectivamente. Ensaio de recuperação mostraram que o método analítico desenvolvido possui boa exatidão e precisão, podendo ser considerado adequado para a detecção e quantificação dos ácidos láctico, málico e tartárico em vinhaça de cana-de-açúcar. O eletrodo de CuNPs-BDD foi empregado na célula amperométrica do cromatógrafo, no entanto não apresentou boa estabilidade nas condições cromatográficas, o que impossibilitou sua utilização na determinação dos compostos de interesse na vinhaça de cana-de-açúcar.

**Palavras-chave:** Nanopartículas metálicas. Ácidos carboxílicos. Cromatografia líquida de alta eficiência. Detector eletroquímico. Vinhaça de cana-de-açúcar.

## ABSTRACT

Ethanol is an important component of the Brazilian energy matrix, being produced from sugarcane. In this producing procedure, vinasse is produced as by-product, which for every 1 L of ethanol is generated from 12 L to 18 L. The vinasse is basically composed by salts of potassium, calcium and magnesium and organic compounds. Among these, carboxylic acids are important because they are present in significant concentrations in the sugar cane vinasse and show significant industrial importance. Thus, in this work it was developed an electrochemical detector based on boron-doped diamond electrodes chemically modified with nickel nanoparticles (NiNPs-BDD) and copper nanoparticles (CuNPs-BDD) for the determination of lactic acid, malic acid and tartaric acid in vinasse from sugarcane using high-performance liquid chromatography (HPLC) by ion exchange. Images of scanning electron microscopy and spectra of energy-dispersive X-ray in conjunction with electrochemical experiments showed the electrodes of BDD were effectively modified with nickel oxide-hydroxide nanoparticles and copper oxide nanoparticles with diameters of 89 nm and 91 nm, respectively. The voltammetric studies showed the oxidations of lactic acid, malic acid and tartaric acid, in basic medium, took place at potentials around 0.50 V (*vs.* Ag/AgCl) and 0.73 V (*vs.* Ag/AgCl) at NiNPs-BDD and CuNPs-BDD electrodes, respectively, and they are mediated by Ni<sup>3+</sup> and Cu<sup>3+</sup> species. NiNPs-BDD electrode was used in HPLC with pulsed amperometric detection. The anion exchange column CarboPac PA1 was used for separation of carboxylic acids in vinasse. It was employed as mobile phase deionized water and 0.10 mol L<sup>-1</sup> NaOH in 0.25 mol L<sup>-1</sup> CH<sub>3</sub>COONa under flow of 1.0 mL min<sup>-1</sup>. The detection potential was 0.48 V *vs.* Pd. The NiNPs-BDD electrode showed good stability under chromatographic conditions, becoming feasible its use as amperometric detector for HPLC. The analysis time was 27 min and no complex and expensive sample preparation procedure was required. The analytical sensitivities were  $7.5 \times 10^3$  nA mol<sup>-1</sup> L,  $3.5 \times 10^4$  L mol<sup>-1</sup> nA and  $5.4 \times 10^5$  L mol<sup>-1</sup> nA for lactic, malic and tartaric acids. The detection limits were  $1.2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>,  $6.1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> and  $2.8 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, respectively. The concentrations of the carboxylic acids in sugar cane vinasse were determined by the standard addition method to be  $(1.2 \pm 0.3) \times 10^{-1}$  mol L<sup>-1</sup>,  $(2.7 \pm 0.6) \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> and  $(9.9 \pm 1.0) \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> for lactic acid, malic acid and tartaric acid, respectively. Recovery tests showed the analytical method has good accuracy, being considered suitable for the detection and quantification of lactic acid, malic acid and tartaric acid in sugarcane vinasse. CuNPs-BDD electrode was used in the amperometric cell of the chromatograph, however it did not show good stability in the chromatographic conditions, and it could not be employed in the determination of compounds of interest in sugarcane vinasse.

**Keywords:** Metallic nanoparticles. Carboxylic acids. High-performance liquid chromatography. Electrochemical detector. Sugarcane vinasse.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Voltamograma cíclico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ , a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , no intervalo de potencial de  $-0,75 \text{ V}$  a  $2,35 \text{ V}$ , utilizando o eletrodo de BDD após as polarizações anódica e catódica. 35
- Figura 2** - Imagem de MEV a aceleração de  $10,0 \text{ kV}$  e magnificação de  $10.000\times$  (A) e espectro de EDX (B) do eletrodo de BDD. 36
- Figura 3** - Voltamogramas cíclicos em  $\text{NaOH}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  entre  $0$  e  $1,10 \text{ V}$ , a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , na ausência e presença de  $4,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $4,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico, utilizando o eletrodo de BDD não modificado. Visão aproximada dos voltamogramas entre  $0$  e  $0,90 \text{ V}$ . 37
- Figura 4** - Estrutura molecular dos ácidos láctico (A), málico (B) e tartárico (C). 37
- Figura 5** - Sensibilidade analítica média ( $n=2$ ) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da carga de níquel eletrodepositada na superfície do BDD. 40
- Figura 6** - Voltamograma cíclico em solução degaseificada de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{NiCl}_2$  em tampão acetato  $\text{pH } 5$ , no intervalo de potencial de  $0,80$  a  $-1,50 \text{ V}$  a  $5 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando eletrodo de BDD. 41
- Figura 7** - Sensibilidade analítica média ( $n=2$ ) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do potencial de eletrodeposição. 41
- Figura 8** - Sensibilidade analítica média ( $n=2$ ) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da concentração de íons  $\text{Ni}^{2+}$ . 42
- Figura 9** - Sensibilidade analítica média ( $n=2$ ) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do  $\text{pH}$  do eletrólito de suporte utilizado durante a eletrodeposição de níquel na superfície do BDD. 43
- Figura 10** - Voltamogramas do primeiro e quinquagésimo ciclos em solução de  $\text{NaOH}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , no intervalo de potencial de  $0$  a  $0,60 \text{ V}$  a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando os eletrodos de NiNPs-BDD e BDD. 44
- Figura 11** - (A) Voltamogramas cíclicos em  $\text{NaOH}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  entre  $0$  e  $0,60 \text{ V}$  em várias velocidades de varredura entre  $2$  e  $800 \text{ mV s}^{-1}$ , empregando NiNPs-BDD. (B)  $I_{\text{pa}}$  e  $I_{\text{pc}}$  em função da velocidade de varredura. (C)  $I_{\text{pa}}$  e  $I_{\text{pc}}$  em função da raiz quadrada da velocidade de varredura. 46

- Figura 12** - Imagens de MEV do NiNPs-BDD a aceleração de 10,0 kV e magnificações de 10.000x (A) e 50.000x (B). Distribuição do diâmetro das nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel (C). Espectro de EDX do NiNPs-BDD (D). 47
- Figura 13** - Voltamogramas cíclicos em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, a 50 mV s<sup>-1</sup>, na ausência e presença de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico (A), 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico (B) e 2,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico (C), utilizando NiNPs-BDD. 49
- Figura 14** - (A) Voltamogramas cíclicos na presença de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, entre 0 e 0,60 V, em velocidades de varredura entre 20 e 800 mV s<sup>-1</sup>, utilizando NiNPs-BDD. (B) I<sub>pa</sub> em função da velocidade de varredura. (C) I<sub>pa</sub> em função da raiz quadrada da velocidade de varredura. 51
- Figura 15** - (A) Voltamogramas cíclicos na presença de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, entre 0 e 0,60 V, em velocidades de varredura entre 20 e 800 mV s<sup>-1</sup>, utilizando NiNPs-BDD. (B) I<sub>pa</sub> em função da velocidade de varredura. (C) I<sub>pa</sub> em função da raiz quadrada da velocidade de varredura. 52
- Figura 16** - (A) Voltamogramas cíclicos na presença de 2,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, entre 0 e 0,60 V, em velocidades de varredura entre 20 e 800 mV s<sup>-1</sup>, utilizando NiNPs-BDD. (B) I<sub>pa</sub> em função da velocidade de varredura. 52
- Figura 17** - Variação das correntes geradas na oxidação de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico, 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em função do potencial de oxidação aplicado no eletrodo de NiNPs-BDD. 54
- Figura 18** - Amperogramas de adições sucessivas de ácido láctico (A), málico (C) e tartárico (E) em 1,0 mol L<sup>-1</sup> de NaOH utilizando eletrodo de NiNPs-BDD, a potencial de 0,50 V sob agitação mecânica da solução de 2000 rpm. Respectivos gráficos de corrente em função da concentração para cada ácido estudado (B, D e F). 55
- Figura 19** - Estabilidade amperométrica do NiNPs-BDD, a 0,50 V, sob agitação mecânica da solução de 2000 rpm com adição de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico e ácido málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em 400 s em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>. 57
- Figura 20** - Voltamograma cíclico obtido no cromatógrafo empregando como eletrólito uma mistura de 5% de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em CH<sub>3</sub>COONa 0,25 mol L<sup>-1</sup>

- e 95% de água, sob fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e NaOH 0,40 mol L<sup>-1</sup> a 0,3 mL min<sup>-1</sup> (bomba pós coluna), no intervalo de potencial de 0 a 0,55 V a 50 mV s<sup>-1</sup>, utilizando o eletrodo de NiNPs-BDD. 58
- Figura 21** - Diferentes sequências de pulsos amperométricos aplicados no NiNPs-BDD. 59
- Figura 22** - Área dos picos dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da sequência de pulso de potencial aplicada. 60
- Figura 23** - Cromatogramas obtidos para uma mistura de padrões contendo 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico, 7,5 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico e, pela injeção de cada um dos ácidos separadamente. Coluna: DIONEX<sup>®</sup> CarboPac PA1. Eluentes: A- NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em CH<sub>3</sub>COONa 0,25 mol L<sup>-1</sup>; B – água deionizada. Gradiente: 0-1 min: 5% A; 1-12 min: 5-17% A; 12-14 min: 17-100% A; 14-27 min: 100% A; fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura do forno da coluna: 20,0 °C. 62
- Figura 24** - Esquema para medida da altura dos picos e do vale entre eles. 63
- Figura 25** - Programação de gradiente utilizando como eluente A as soluções: 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em CH<sub>3</sub>COONa 0,28 mol L<sup>-1</sup> (condições I, II, III e IV), 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em CH<sub>3</sub>COONa 0,20 mol L<sup>-1</sup> (condição V) e 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em CH<sub>3</sub>COONa 0,25 mol L<sup>-1</sup> (condição VI) e eluente B água deionizada. Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>. 66
- Figura 26** - (A) Cromatogramas obtidos pela injeção da vinhaça diluída em cinco vezes e da vinhaça diluída e enriquecida com 5,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e 1,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico. (B) Cromatogramas obtidos pela injeção da vinhaça diluída em oitenta vezes e da vinhaça diluída e enriquecida com 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico. 68
- Figura 27** - Cromatogramas dos ácidos carboxílicos em diferentes concentrações (A) e relação entre as áreas dos picos e a concentração dos ácidos láctico (B), málico (C) e tartárico (D). 69
- Figura 28** - Áreas de pico dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do número de corridas cromatográficas. 70
- Figura 29** - Curvas de adição de padrão (n=3) para os ácidos láctico (A), málico (B) e tartárico (C), utilizando eletrodo de NiNP-BDD como detector amperométrico em CLAE. 71
- Figura 30** - Sensibilidade analítica (n=3) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da carga de níquel eletrodepositada na superfície do BDD. 75

- Figura 31** - Voltamogramas cíclicos em 0,10 mol L<sup>-1</sup> de KCl contendo 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de CuCl<sub>2</sub>, a 20 mV s<sup>-1</sup>, utilizando o eletrodo de BDD. 76
- Figura 32** - Sensibilidade analítica (n=3) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do potencial de eletrodeposição. 76
- Figura 33** - Sensibilidade analítica (n=3) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da concentração de íons Cu<sup>2+</sup>. 77
- Figura 34** - Sensibilidade analítica (n=3) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do meio eletrodeposição do cobre na superfície do BDD. 78
- Figura 35** - Voltamogramas do primeiro, décimo e trigésimo ciclos em solução de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>, no intervalo de potencial de -0,50 a 0,80 V a 100 mV s<sup>-1</sup>, utilizando eletrodo de CuNPs-BDD. 80
- Figura 36** - Imagens de MEV em magnificações de 5.000 x (A) e 150.000 x (B). Distribuição do diâmetro das nanopartículas de óxido de cobre (C). Espectro de EDX do CuNPs-BDD (D). 81
- Figura 37** - Voltamogramas cíclicos a 50 mV s<sup>-1</sup>, em NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> e na presença de 3,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico, 3,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, utilizando o eletrodo CuNPs-BDD. 82
- Figura 38** - Variação das correntes geradas na oxidação de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico, 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em 0,10 mol L<sup>-1</sup> NaOH em função do potencial de oxidação aplicado. 83
- Figura 39** - Amperogramas de adições sucessivas de ácido láctico (A), málico (C) e tartárico (E) em 1,0 mol L<sup>-1</sup> de NaOH utilizando eletrodo de CuNPs-BDD, a potencial de 0,73 V sob agitação mecânica da solução de 2000 rpm. Respetivos gráficos de corrente em função da concentração para cada ácido estudado (B, D e F). 84
- Figura 40** - Estudo da estabilidade amperométrica do CuNPs-BDD em 0,73 V, sob agitação mecânica da solução de 2000 rpm, com adição de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico e ácido málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em 240 s em NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. 86
- Figura 41** – Sequência de pulsos de potencial aplicada no CuNPs-BDD. 87

- Figura 42** - (A) Áreas de pico dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do número de corridas cromatográficas. (B) Cromatogramas obtidos pela injeção de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico,  $7,5 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico no eletrodo de CuNPs-BDD. 88
- Figura 43** - Voltamogramas cíclicos no intervalo de potencial de -0,05 a 0,70 V, a 50 mV s<sup>-1</sup>, empregando como eletrólito uma mistura de 5% de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> em CH<sub>3</sub>COONa 0,25 mol L<sup>-1</sup> e 95% de água, sob fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e NaOH 0,40 mol L<sup>-1</sup> a 0,3 mL min<sup>-1</sup> (bomba pós coluna), utilizando o eletrodo CuNPs-BDD recém preparado e após dez corridas cromatográficas. 88
- Figura 44** - Imagem de MEV em magnificação de 5.000 x (A) e distribuição do diâmetro das nanopartículas de óxido de cobre (B). 90
- Figura 45** - Áreas de pico dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do número de corridas cromatográficas. Eletrodo de CuNPs-BDD modificado com carga de eletrodeposição de 20 mC. 90

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Concentração dos ácidos orgânicos em vinhaça de cana-de-açúcar.	23
<b>Tabela 2</b> - Condições cromatográficas para separação e detecção dos ácidos carboxílicos de interesse.	33
<b>Tabela 3</b> - Figuras de mérito e tempo de resposta para os ácidos carboxílicos utilizando técnica de amperometria pulsada com eletrodo de NiNPs-BDD.	56
<b>Tabela 4</b> - Resolução estimada a partir da altura do vale entre dois picos adjacentes.	63
<b>Tabela 5</b> - Tempos de retenção dos ácidos láctico, málico e tartárico e resolução dos pares de pico em cada condição cromatográfica estudada.	66
<b>Tabela 6</b> - Figuras de mérito para a detecção dos ácidos carboxílicos utilizando técnica de CLAE-PAD com eletrodo de NiNPs-BDD.	69
<b>Tabela 7</b> - Resultados de recuperação dos ácidos láctico, málico e tartárico na técnica de CLAE utilizando NiNPs-BDD.	73
<b>Tabela 8</b> - Figuras de mérito e tempo de resposta dos ácidos carboxílicos utilizando técnica de amperometria com eletrodo de CuNPs-BDD.	85

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- BDD – diamante dopado com boro (traduzido do inglês “*Boron-doped diamond*”)
- CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência
- CuNPs-BDD – Eletrodo de diamante dopado com boro quimicamente modificado com nanopartículas de óxido cobre
- CV – Coeficiente de variação
- ECS – Eletrodo de calomelano saturado
- EDX - Espectroscopia de raios X por dispersão em energia
- EQM – Eletrodos quimicamente modificados
- LD – Limite de detecção
- MEV – Microscopia eletrônica de varredura
- NiNPs-BDD – Eletrodo de diamante dopado com boro quimicamente modificado com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel
- PAD – Detecção amperométrica pulsada (traduzido do inglês “*Pulsed Amperometric Detection*”)

## LISTA DE SÍMBOLOS

$A$  - área

$e^-$  - Elétron

$E$  – Potencial

$E^{\circ}$  – Potencial médio

$E_{pa}$  – Potencial de pico anódico

$E_{pc}$  – Potencial de pico catódico

$F$  – Constante de Faraday

$h_v$  – Altura do vale entre dois picos cromatográficos adjacentes

$I$  – Corrente

$I_{catal}$  – Corrente catalítica

$I_l$  – Corrente limite na presença de eletrólito de suporte

$I_{pa}$  – Corrente de pico anódica

$I_{pc}$  – Corrente de pico catódica

$N$  – Número de elétrons

$Q_{ox}$  – Carga associada à oxidação

$R$  – Constante molar dos gases

$r$  – Raio das nanopartículas

$R^2$  – Coeficiente de correlação linear

$R_s$  – Resolução cromatográfica

$T$  – Temperatura absoluta

$t_R$  – Tempo de retenção

$W_1$  – Largura da base de pico cromatográfico

$B$  – Coeficiente de transferência de elétrons para a reação de oxidação

$\Delta E_p$  – Diferença entre potencial de pico anódico e catódico

$\Delta I$  – Diferença entre corrente catalítica e corrente limite

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>22</b>
1.1. Vinhaça de cana-de-açúcar .....	22
1.2. Ácidos Orgânicos.....	23
1.3. Determinação de ácidos orgânicos por CLAE.....	24
1.4. Detectores amperométricos para CLAE .....	25
1.5. Utilização dos eletrodos quimicamente modificados com nanopartículas metálicas em eletroanálise .....	27
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>29</b>
<b>3 PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>30</b>
3.1. Reagentes e soluções .....	30
3.2. Instrumentação.....	30
3.3. Pré-tratamentos do eletrodo de BDD.....	31
3.4. Eletromodificação da superfície do eletrodo de BDD com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel.....	31
3.5. Modificação da superfície do eletrodo de BDD com nanopartículas de óxido de cobre.....	31
3.6. Comportamento eletroquímico dos ácidos carboxílicos.....	32
3.7. Armazenamento e preparo da amostra de vinhaça de cana-de-açúcar .....	32
3.8. Desenvolvimento do método cromatográfico.....	32
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
4.1. Eletrodo de BDD .....	34
4.1.1. <i>Pré-tratamentos do eletrodo de BDD.....</i>	<i>34</i>
4.1.2. <i>Caracterização do BDD .....</i>	<i>35</i>
4.1.3. <i>Comportamento eletroquímico dos ácidos lático, málico e tartárico em eletrodo de BDD.....</i>	<i>36</i>
4.2. Eletrodo de BDD modificado com óxido-hidróxido de níquel.....	38
4.2.1. <i>Modificação da superfície do eletrodo de BDD com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel .....</i>	<i>38</i>
4.2.1.1. <i>Influência da carga eletrodepositada .....</i>	<i>39</i>
4.2.1.2. <i>Influência do potencial de eletrodeposição .....</i>	<i>40</i>
4.2.1.3. <i>Influência da concentração de íons Ni<sup>2+</sup> na solução de eletrodeposição .....</i>	<i>42</i>

4.2.1.4.	Influência do meio de eletrodeposição das nanopartículas de níquel.....	42
4.2.1.5.	Formação das espécies óxido-hidróxido de níquel.....	43
4.2.2.	<i>Comportamento eletroquímico do NiNPs-BDD</i> .....	45
4.2.3.	<i>Caracterização do NiNPs-BDD</i> .....	46
4.2.4.	<i>Comportamento voltamétrico dos ácidos carboxílicos em NiNPs-BDD</i> .....	47
4.2.5.	<i>Resposta amperométrica dos ácidos carboxílicos em NiNPs-BDD</i> .....	53
4.2.5.1.	Estudo de potencial de oxidação .....	53
4.2.5.2.	Curvas analíticas.....	54
4.2.5.3.	Estabilidade amperométrica .....	56
4.2.6.	<i>Desenvolvimento do método cromatográfico para a separação e detecção dos ácidos carboxílicos</i> .....	57
4.2.6.1.	Comportamento do eletrodo NiNPs-BDD nas condições cromatográficas....	57
4.2.6.2.	Otimização da detecção cromatográfica.....	59
4.2.6.3.	Otimização da separação cromatográfica .....	61
4.2.6.4.	Curvas Analíticas.....	68
4.2.6.5.	<i>Estabilidade do eletrodo NiNPs-BDD nas condições cromatográficas</i> .....	69
4.2.6.6.	<i>Determinação dos ácidos carboxílicos em vinhaça de cana-de-açúcar</i> .....	70
4.2.6.7.	<i>Estudo de recuperação</i> .....	72
4.3.	Eletrodo de BDD modificado com óxido de cobre.....	73
4.3.1.	<i>Eletromodificação do eletrodo de BDD com óxido de cobre</i> .....	73
4.3.1.1.	Influência da carga eletrodepositada .....	74
4.3.1.2.	Influência do potencial de eletrodeposição .....	75
4.3.1.3.	Influência da concentração de íons Cu <sup>2+</sup> na solução de eletrodeposição .....	77
4.3.1.4.	Influência do meio de eletrodeposição das nanopartículas de cobre.....	78
4.3.1.5.	Formação das espécies óxido de cobre.....	78
4.3.2.	<i>Caracterização do CuNPs-BDD</i> .....	80
4.3.3.	<i>Comportamento voltamétrico dos ácidos carboxílicos em CuNPs-BDD</i> .....	81
4.3.4.	<i>Resposta amperométrica dos ácidos carboxílicos em CuNPs-BDD</i> .....	82
4.3.4.1.	Estudo do potencial de oxidação .....	82
4.3.4.2.	Curvas analíticas.....	83
4.3.4.3.	Estabilidade amperométrica .....	85
4.3.5.	<i>Emprego do eletrodo de CuNPs-BDD no detector amperométrico de CLAE</i> .....	86
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>91</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>93</b>
<b>APÊNDICE A - Estágio de pesquisa no exterior .....</b>	<b>104</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1. Vinhaça de cana-de-açúcar

O etanol é um importante componente da matriz energética brasileira, pois além de ser utilizado como combustível (etanol hidratado) é também empregado como um aditivo da gasolina, na sua forma anidra. (1) No Brasil, o etanol é produzido a partir da cana-de-açúcar, pelo processo de fermentação dos açúcares e posterior destilação, para separação do etanol. Nessa etapa de destilação, além do etanol, é produzida a vinhaça, a qual é também chamada de vinhoto, restilo, caldo ou garapão, dependendo da região geográfica. A vinhaça é um dos principais resíduos da fabricação do etanol, devido ao seu alto poder poluidor, cerca de cem vezes maior que o esgoto doméstico (2) e ao grande volume gerado, uma vez que para cada 1 L de etanol gera-se de 12 L a 18 L. (3) Na safra 2014/2015 foram produzidos aproximadamente 29 bilhões de litros de etanol no Brasil, o que gera um volume de cerca de 350 bilhões de litros de vinhaça, considerando a proporção de 1:12 (etanol:vinhaça).

O lançamento da vinhaça em rios remonta à história da formação da indústria sucroalcooleira, embora sempre se soubesse de sua ação poluente. Quando a vinhaça é jogada no rio, o balanço de oxigênio se torna negativo, tornando as águas dos rios putrescíveis. (2) A partir da safra de 1979/80 interditou-se o despejo de vinhaça em mananciais superficiais, incorrendo multa a usina que violasse a proibição (Portaria MINTER n° 323, de 29/11/1978).

Com a interdição do lançamento da vinhaça em águas superficiais, e visto o grande volume de vinhaça gerado a cada safra, várias pesquisas tem focado em encontrar destinação ou tratamentos adequadas para esse subproduto. Devido a composição da vinhaça ser basicamente compostos orgânicos e nitrogenados e sais de potássio, cálcio e magnésio, (4) ela tem sido empregada mais comumente na fertirrigação de solos, (5–7) mas há estudos sobre sua utilização na produção de ração animal, (2) geração de metano, (8) como fonte de nutriente para cultivo de bactérias (9) e para micro-organismos de biorremediação, (6) na produção de levedura, (2) ou na reciclagem da fermentação para substituir a água como diluidor. (2) Devido ao baixo investimento necessário, a vinhaça tem sido mais amplamente utilizada na fertirrigação de solos. No entanto, embora a vinhaça apresente valor fertilizante, o seu despejo no solo precisa ser dosado de forma cautelosa, uma vez que esse subproduto possui pode causar salinização do solo, lixiviação de metais presentes no solo, além de

possuir alto poder poluente para águas subterrâneas e superficiais e para os solos, (6) devido a sua alta demanda bioquímica de oxigênio e acidez. (10)

A vinhaça é composta por 93% de água e 7% de outros componentes, dos quais 25 % correspondem a minerais, principalmente sais de potássio, cálcio e magnésio e 75% correspondem à matéria orgânica. (2,6) A composição da matéria orgânica da vinhaça tem sido estudada por vários pesquisadores, os quais concluíram que ela é constituída principalmente de carboidratos, alcoóis, ácidos orgânicos e aminoácidos, sendo, na maioria das vezes, os componentes majoritários o ácido láctico, o glicerol, o etanol e o ácido acético. (4,8,11–14)

## 1.2. Ácidos Orgânicos

Apesar da composição da vinhaça poder variar com a variedade de cana-de-açúcar, época de colheita e processo de destilação empregado nas usinas (6), vários trabalhos na literatura têm mostrado que os ácidos carboxílicos têm sido encontrados na vinhaça em concentrações significativas, como pode ser visto na Tabela 1. Esse fato, somado à expressiva importância industrial dos ácidos orgânicos, tornam esses compostos importantes componentes da vinhaça de cana-de-açúcar.

Devido suas propriedades tamponante, neutralizante e antioxidante, os ácidos carboxílicos são largamente empregados principalmente nas indústrias alimentícia (15,16), cosmética (17,18) e farmacêutica (19). Além do mais, sua capacidade de polimerização permite que sejam utilizados como matérias-primas para a produção de biopolímeros. (19-21) Estes compostos também conferem importantes características organolépticas a alguns produtos alimentícios, estando assim relacionados à qualidade destes. (22,23) Dessa forma, diversos métodos têm sido desenvolvidos para a determinação de ácidos carboxílicos em diferentes matrizes, sendo os métodos cromatográficos os mais comumente usados para a separação desses compostos matriz analisada.

**Tabela 1** - Concentração dos ácidos orgânicos em vinhaça de cana-de-açúcar.

Ácido Orgânico	Concentração na vinhaça	Referência
Ácido acético	2,237 g L <sup>-1</sup>	(8)
	12,110 g L <sup>-1</sup>	(14)
	1,560 g L <sup>-1</sup>	(13)

	1,608 g kg <sup>-1</sup>	(24)
Ácido propiônico	4,304 g L <sup>-1</sup>	(8)
	0,402 g kg <sup>-1</sup>	(24)
Ácido lático	20,760 g L <sup>-1</sup>	(14)
	7,740 g L <sup>-1</sup>	(13)
	0,606 g kg <sup>-1</sup>	(24)
Ácido butírico	11,870 g L <sup>-1</sup>	(14)
Ácido isobutírico	1,650 g L <sup>-1</sup>	(14)
Ácido málico	0,243 g L <sup>-1</sup>	(14)
	0,852 g kg <sup>-1</sup>	(24)
Ácido tartárico	0,133 g kg <sup>-1</sup>	(24)
Ácido oxálico	0,016-0,061 g L <sup>-1</sup>	(12)
	0,100 g kg <sup>-1</sup>	(24)
Ácido malônico	0,004-0,068 g L <sup>-1</sup>	(12)
Ácido fumárico	0,007-0,063 g L <sup>-1</sup>	(12)
Ácido fórmico	0,583 g L <sup>-1</sup>	(13)
	0,275 g kg <sup>-1</sup>	(24)
Ácido succínico	0,269-1,009 g L <sup>-1</sup>	(12)

Fonte: elaborado pelo autor.

### 1.3. Determinação de ácidos orgânicos por CLAE

A cromatografia é um método físico-químico de separação e está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. A cromatografia se tornou popular por permitir a separação, identificação e a determinação de componentes de misturas complexas, podendo assim ser utilizada como técnica analítica qualitativa e quantitativa. (25)

Dentre as várias técnicas cromatográficas, a CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) tem sido cada vez mais empregada por apresentar diversas vantagens conferidas

graças à alta pressão da fase móvel. Dentre essas vantagens destacam-se o tempo reduzido de análise, alta resolução, o que possibilita a separação de complexas misturas, análise qualitativa e quantitativa. (25) Os métodos cromatográficos se destacam na análise de ácidos orgânicos por possibilitarem a separação, identificação e a quantificação destes. Há relatos na literatura da utilização de detectores de espectrofotometria na região do ultravioleta, (26–30) de espectrometria de massas, (31) de fluorescência, (32) índice de refração (30, 33) e detectores eletroquímicos (34–40) para a determinação de ácidos orgânicos em diversas matrizes.

Dentre os detectores utilizados em CLAE, os detectores eletroquímicos têm sido amplamente empregados na determinação de compostos iônicos ou de compostos capazes de serem reduzidos ou oxidados com a aplicação de potencial elétrico, dentre esses compostos, destacam-se os ácidos orgânicos eletroativos. Isso se deve ao fato de não ser necessária a derivatização da amostra para análise desses compostos e das técnicas eletroquímicas proporcionarem boa sensibilidade, seletividade e amplo intervalo linear de resposta.

Diversos são os detectores eletroquímicos, dentre eles podemos citar os voltamétricos, condutimétricos, potenciométricos e os amperométricos. Kotani et al (38) determinaram os ácidos acético, cítrico, láctico, málico, succínico e tartárico em vinho e sucos por CLAE com detector voltamétrico baseado na redução de quinona utilizando eletrodo de carbono vítreo. Mongay et al (39) desenvolveram um método para separação e determinação dos ácidos acético, láctico, succínico, málico, cítrico e tartárico em vinhos por cromatografia de troca iônica com detecção potenciométrica. Tanaka et al (40) estudaram um detector condutimétrico para determinação dos ácidos oxálico, fórmico, propiônico e isobutírico em urina por cromatografia de troca iônica, para isso foi utilizado um eletrodo de cobre metálico.

#### **1.4. Detectores amperométricos para CLAE**

Embora haja trabalhos empregando outros detectores eletroquímicos, destaca-se a utilização dos detectores amperométricos. Estes se baseiam na capacidade de um composto de se reduzir ou oxidar quando um potencial elétrico é aplicado. (25) Os detectores amperométricos são vantajosos em relação aos demais detectores eletroquímicos por apresentarem boa relação sinal/ruído, configuração simples, elevada sensibilidade para muitas espécies eletroativas, o que permite o emprego de pequenas quantidades de amostra. Além disso, esse tipo de detector é mais seletivo, devido ao fato de que somente compostos

eletroativos no potencial aplicado são detectados, o que diminui o número de interferentes que possam eluir da coluna cromatográfica juntamente com o composto de interesse na análise. Isso contribui para a simplificação da etapa de preparação da amostra. (41) Por essas razões, os detectores amperométricos são, recentemente, bastante utilizados para diversos compostos, incluindo os ácidos orgânicos. (34–37, 42, 43)

Beluomini (34) determinou ácidos urônicos em bagaço de cana-de-açúcar por cromatografia líquida de troca iônica com detecção amperométrica pulsada (PAD) utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de cobre. Casella et al (35) analisaram ácidos orgânicos, carboidratos e aminoácidos em bebidas utilizando cromatografia líquida de troca iônica com detecção amperométrica utilizando eletrodo de ouro modificado com cobre. Casella e Gatta (36) determinaram os ácidos gálico, ascórbico, glucônico, lactobiônico, galacturônico e glucurônico em vinagre, mel e chá por cromatografia de troca iônica com detecção amperométrica utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com cobre. Em outro trabalho, Casella e Gatta (37) determinaram os ácidos cítrico, tartárico, málico, maleico, láctico e acético em bebidas por cromatografia líquida de exclusão iônica com PAD utilizando eletrodo de platina. Kutnink et al (42) desenvolveram um método para a determinação de ácido ascórbico, isoascórbico e ácido úrico em plasma humano por CLAE com detecção amperométrica, utilizando eletrodo de carbono vítreo. Nagy et al (43) detectaram ácidos orgânicos e açúcares empregando um eletrodo de cobre como detector amperométrico.

Os eletrodos utilizados na CLAE com detecção amperométrica podem ser divididos em três classes: os eletrodos de metálicos, os de carbono e os eletrodos quimicamente modificados (EQM). Dentre os eletrodos metálicos destacam-se os de cobre, os quais têm sido utilizados na determinação de aminoácidos e peptídeos; (44–46) os eletrodos de ouro, utilizados recentemente na determinação de aminotióis em sangue, (47) de ácido glucônico em vinho, (48) de carboidratos em alimentos (49) e de compostos sulfurados; (50) e os eletrodos de platina, os quais já foram empregados na determinação de ácidos orgânicos em alimentos e bebidas (37) e de compostos biológicos em urina. (51) Dentre os eletrodos de carbono, o eletrodo de carbono vítreo foi tradicionalmente empregado na determinação de compostos facilmente oxidáveis, tais como ácido ascórbico e ácido úrico (42), catecóis, fenóis, aminas aromáticas, (52), flavonóides, (53, 54) dopamina e ácido homovalínico, (55) lindocaína e benzocaína. (56) Trabalhos mais recentes têm empregado o eletrodo de diamante

dopado com boro (BDD - do inglês, *boron-doped-diamond*) na determinação de nitrofenóis, (57) açúcares, (58) aminofenóis, (59) fármacos (60) e parabeno. (61)

Recentemente, uma variada gama de EQMs começou a ser aplicada em sistemas em fluxo, como CLAE, para alcançar melhorias no desempenho do eletrodo. Sendo assim, EQM com metais, como cobre, (34–36, 62–65) níquel, (66–69) platina, (70, 71) prata, (72, 73) e com polímeros, (74, 75) nanotubos de carbono (67, 76–78) e grafeno (79, 80) têm sido empregados com sucesso na detecção amperométrica de vários compostos em CLAE e outras técnicas de injeção em fluxo.

### **1.5. Utilização dos eletrodos quimicamente modificados com nanopartículas metálicas em eletroanálise**

O termo eletrodo quimicamente modificado foi introduzido por Murray et al (81) em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, imobilizadas em suas superfícies, com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução.

Dentre os eletrodos utilizados em eletroanálise, os eletrodos quimicamente modificados (EQM) surgem com o intuito de melhorar o desempenho das análises, uma vez que diminuem o efeito de envenenamento do eletrodo de trabalho, apresentam maior seletividade e atividade catalítica quando comparados com os eletrodos não modificados, como carbono vítreo, BDD, ouro e com os eletrodos sólidos convencionais. (52, 82)

Os modificados com nanopartículas metálicas têm ganhado espaço em eletroanálise, tanto no emprego em detectores como em sensores. As nanopartículas apresentam elevada área superficial, melhor transporte de massa, maior atividade catalítica e controle sobre o microambiente local e maior relação sinal/ruído, (83) aumentando dessa forma a resposta eletroquímica do analito. As nanopartículas metálicas tipicamente mais utilizadas são as de ouro, platina, prata, níquel, cobre, paládio e irídio. (83) Em especial, o níquel e o cobre se tornaram o foco de diversos estudos por causa de seus baixos custos, baixas toxicidades e excelentes atividades catalíticas para a oxidação de uma grande variedade de compostos orgânicos, o que torna vantajosa suas aplicações em sensores e detectores. (34,35,66,84–91)

Alguns substratos são mais convenientes para a modificação superficial, como os substratos de metais condutores, como ouro, prata e platina, e eletrodos de carbono. Uma das etapas mais importantes na modificação dos eletrodos é o pré-tratamento da superfície do

substrato, pois o comportamento eletroquímico é extremamente dependente de pequenas variações das propriedades do substrato, tais como, cristalinidade, rugosidade e os grupos funcionais químicos superficiais.

Os eletrodos de BDD têm se mostrado uma ótima plataforma para a deposição das nanopartículas metálicas, por serem inativos nos tipos de reações catalíticas que esses metais participam e também por possuírem ampla janela de potencial, capacitância muito pequena e grande estabilidade eletroquímica, apresentando assim significativas vantagens frente às plataformas convencionais, como o carbono vítreo. (92) Sendo assim, há vários relatos na literatura sobre o uso dessa plataforma para a eletrodeposição de nano- e micropartículas metálicas, tais como: níquel, (86, 90, 93–95) cobre, (96, 97) ouro, (98–102) platina, (103–106) paládio, (107,108) irídio, (109) bismuto e antimônio. (110)

Dentre os diversos metais utilizados em eletroanálise para a oxidação de compostos orgânicos, níquel e cobre se mostram materiais promissores para a eletro-oxidação de ácidos carboxílicos eletroativos, uma vez que têm sido empregados com sucesso na oxidação de diversos compostos orgânicos, tais como álcoois, (35,94,111,112) carboidratos, (43,63,66,86,112–115) ácidos orgânicos (34–37,43,112,114,116,117) e aminoácidos. (35,114) Esse fato somado às vantagens conferidas à utilização do BDD como plataforma para a eletrodeposição de nanopartículas metálicas, como citado anteriormente, justificam o emprego dos eletrodos de BDD modificado com nanopartículas de óxido-hidróxido níquel (NiNPs-BDD) e óxido cobre (CuNPs-BDD) como detectores para a determinação de ácidos carboxílicos eletroativos (ácidos láctico, málico e tartárico) no presente trabalho. A utilização da técnica de CLAE para a determinação de cada um desses compostos separadamente é necessária devido à complexidade de amostra, uma vez que esta também possui em sua composição outros compostos eletroativos na mesma região de potencial dos ácidos orgânicos de interesse, como álcoois, carboidratos e aminoácidos. (4,8,11–14)

## 2 OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de um detector eletroquímico amperométrico baseado em eletrodo de NiNPs-BDD e CuNPs-BDD para determinação de ácidos carboxílicos eletroativos (ácidos láctico, málico e tartárico), em vinhaça de cana-de-açúcar utilizando cromatografia líquida de alta eficiência de troca iônica.

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- Modificação dos eletrodos de BDD com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel e de óxido de cobre.
- Estudo do comportamento eletroquímico dos ácidos carboxílicos em meio básico utilizando dos eletrodos modificados, por meio das técnicas de voltametria cíclica e amperometria.
- Utilização dos eletrodos de NiNPs-BDD e CuNPs-BDD como detectores amperométricos em cromatografia líquida de alta eficiência.
- Desenvolvimento do método analítico para definição das melhores condições cromatográficas e amperométricas de separação e detecção.
- Aplicação do método desenvolvido na análise de amostra de vinhaça de cana-de-açúcar para determinação dos ácidos láctico, málico e tartárico.
- Validação do método analítico desenvolvido utilizando ensaio de recuperação.

### **3 PARTE EXPERIMENTAL**

Nesta seção estão listados os reagentes e equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho e detalhados os procedimentos realizados para preparação e caracterização dos eletrodos, realização das medidas eletroquímicas e desenvolvimento do método cromatográfico.

#### **3.1. Reagentes e soluções**

Todos reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich, sendo reagentes de pureza analítica. Para a preparação das soluções foi utilizada água deionizada (MILLI-Q), com resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm.

#### **3.2. Instrumentação**

Para as medidas eletroquímicas foi utilizado um potenciostato da marca Autolab PGSTAT 30, controlado pelos programas computacionais GPES 4.9 ou NOVA 1.11 e uma célula eletroquímica convencional contendo três eletrodos. Como eletrodo de trabalho foi utilizada uma placa de BDD proveniente da empresa Element Six (Didcot, Reino Unido), com área de 1 cm<sup>2</sup>, resistividade de 0,02-0,18 ohm cm e dopagem de boro maior que 10<sup>20</sup> cm<sup>-3</sup>. A área do eletrodo de BDD foi restringida em 0,25 cm<sup>2</sup> para a realização dos experimentos eletroquímicos. Um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3 mol L<sup>-1</sup>) foi utilizado como eletrodo referência e um fio de platina em espiral como eletrodo auxiliar.

As imagens de microscopia foram realizadas com um microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de elétrons por efeito de campo da marca Jeol, modelo JSM 7500F do Laboratório de Microscopia Avançada (LMA-IQ). O tamanho das nanopartículas foi medido com o auxílio do programa computacional ImageJ (National Institutes of Health, EUA).

As medidas cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo 850-Professional IC, Metrohm, com um injetor automático 863-Compact Autosampler com um loop de 20 $\mu$ L, acoplado a um detector amperométrico. O programa interligado ao sistema foi o MagicNet, versão 2.4. Foi utilizada a coluna cromatográfica analítica de troca aniônica da DIONEX<sup>®</sup> CarboPac PA1 4  $\times$  250 mm, com coluna de guarda DIONEX<sup>®</sup> CarboPac PA1 4  $\times$  50 mm, estáveis na faixa de pH de 0 a 14. Ambas colunas são compostas por partículas de

poliestireno/divinilbenzeno de 10 µm de diâmetro, cobertas por microesferas MicroBead™ de 500 nm de diâmetro funcionalizadas com sal de amônio quaternário, responsável pela troca aniônica. No detector amperométrico utilizou-se uma célula comercial de configuração wall-jet, composta por um eletrodo auxiliar de platina, um eletrodo de referência de paládio e NiNPs-BDD ou CuNPs-BDD, como eletrodos de trabalho. A célula comercial foi adaptada para a utilização da placa de BDD como eletrodo. O modo de detecção dos compostos de interesse foi amperometria pulsada (PAD – do inglês, *pulsed amperometric detection*).

### **3.3. Pré-tratamentos do eletrodo de BDD**

Antes dos procedimentos eletroquímicos de modificação da superfície do BDD com as nanopartículas metálicas, o eletrodo foi submetido a um pré-tratamento anódico seguido de um pré-tratamento catódico em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,50 mol L<sup>-1</sup> por 200 s cada. O pré-tratamento anódico foi realizado em 3,00 V (*vs.* Ag/AgCl) e o catódico a -3,00 V (*vs.* Ag/AgCl).

### **3.4. Eletromodificação da superfície do eletrodo de BDD com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel**

O procedimento para a modificação da superfície do BDD com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel foi semelhante ao descrito por Stradiotto et al, (94) com algumas modificações. Para a deposição do níquel, o eletrodo de BDD foi colocado em uma solução de tampão acetato pH 5 contendo  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de NiCl<sub>2</sub> e manteve-se o potencial de -1,20 V (*vs.* Ag/AgCl) até que a carga de 90 mC fosse atingida. Em seguida, o eletrodo de BDD modificado com nanopartículas de níquel metálico foi removido da solução de eletrodeposição, lavado com água deionizada e submetido a 50 sucessivos ciclos de potencial de 0 a 0,60 V (*vs.* Ag/AgCl) a 50 mV s<sup>-1</sup> em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, para a formação do óxido-hidróxido de níquel.

### **3.5. Modificação da superfície do eletrodo de BDD com nanopartículas de óxido de cobre**

O procedimento para a modificação da superfície do BDD com nanopartículas de óxido de cobre foi semelhante ao descrito por Beluomini et al, (34) com algumas modificações. Para a

deposição de cobre metálico, o eletrodo de BDD foi colocado em uma solução de KCl 0,10 mol L<sup>-1</sup> contendo 5,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de CuCl<sub>2</sub> e manteve-se o potencial de -0,70 V (vs. Ag/AgCl) até que a carga de 5 mC fosse atingida. Em seguida, o eletrodo de BDD modificado com nanopartículas de cobre metálico foi removido da solução de eletrodeposição, lavado com água deionizada e submetido a 30 sucessivos ciclos de potencial de 0,10 a 0,80 V (vs. Ag/AgCl) a 100 mV s<sup>-1</sup> em solução de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>, para a formação de óxido de cobre.

### **3.6. Comportamento eletroquímico dos ácidos carboxílicos**

O comportamento eletroquímico dos ácidos carboxílicos foi avaliado por voltametria cíclica no eletrodo de BDD sem modificação em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> no intervalo de potencial de 0 a 1,10 V (vs. Ag/AgCl) a 50 mV s<sup>-1</sup>; no eletrodo NiNPs-BDD em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> no intervalo de potencial de 0 a 0,60 V (vs. Ag/AgCl); e no eletrodo de CuNPs-BDD em solução de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> no intervalo de potencial de 0,10 a 0,80V (vs. Ag/AgCl).

Experimentos de amperometria foram realizados em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> a potencial de 0,50 V (vs. Ag/AgCl), no eletrodo de NiNPs-BDD e em solução de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> a potencial de 0,73 V (vs. Ag/AgCl), no eletrodo de CuNPs-BDD. Os experimentos foram realizados sob agitação mecânica com velocidade de 2000 rpm.

### **3.7. Armazenamento e preparo da amostra de vinhaça de cana-de-açúcar**

A vinhaça de cana-de-açúcar utilizada foi produzida por uma usina de açúcar e álcool da região de Araraquara. Após a coleta, a vinhaça foi armazenada em frasco plástico e congelada. Antes das análises, a amostra foi descongelada a temperatura ambiente, centrifugada por 20 min a 400 rpm, o sobrenadante foi coletado e filtrado em filtros com poros de 5 µm, 0,47 µm e 0,22 µm de diâmetro. A vinhaça foi diluída oitenta vezes em água para análise do ácido lático e cinco vezes para análise dos ácidos málico e tartárico.

### **3.8. Desenvolvimento do método cromatográfico**

No desenvolvimento do método cromatográfico para determinação dos ácidos carboxílicos foi utilizado o eletrodo de NiNPs-BDD modificado nas condições otimizadas. Os parâmetros experimentais avaliados foram composição e o fluxo da fase móvel, temperatura do forno da coluna e pulso de potencial para a detecção dos compostos de interesse. Os parâmetros otimizados são apresentados na Tabela 2. No estudo de otimização da separação cromatográfica foi empregada a amostra de vinhaça de cana-de-açúcar.

**Tabela 2** - Condições cromatográficas para separação e detecção dos ácidos carboxílicos de interesse.

<b>Eluentes</b>	A: NaOH 0,10 mol L <sup>-1</sup> em CH <sub>3</sub> COONa 0,25 mol L <sup>-1</sup> ; B: Água deionizada.
<b>Programa de gradiente</b>	0-1 min: 5% A; 1-12 min: 5-17% A; 12-14 min: 17-100% A; 14-27 min: 100% A.
<b>Fluxo</b>	1,0 mL min <sup>-1</sup>
<b>Temperatura do forno da coluna</b>	20,0 °C
<b>Bomba após coluna</b>	0,3 mL min <sup>-1</sup> de NaOH 0,40 mol L <sup>-1</sup>
<b>Sequência de pulsos de potenciais</b>	NiNPs-BDD: 0,48 V (300 ms)/ 0,10 V (50 ms)/ 0,50 V (100 ms)/ 0,48 V (150 ms). CuNPs-BDD: 0,60 V (300 ms)/ 0,67 V (50 ms)/ 0 V (50 ms)/ 0,60 V (50 ms).

Fonte: elaborado pelo autor.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção está dividida em três principais subseções, as quais tratam sobre o eletrodo de BDD, sobre o eletrodo modificado com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel e sobre o eletrodo modificado com nanopartículas de óxido de cobre.

### 4.1. Eletrodo de BDD

Nessa subseção será apresentada a forma de tratamento da superfície do BDD em meio ácido, bem como a caracterização eletroquímica, química e morfológica desse eletrodo. O comportamento voltamétrico do BDD em hidróxido de sódio e na presença dos ácidos láctico, málico e tartárico são mostrados.

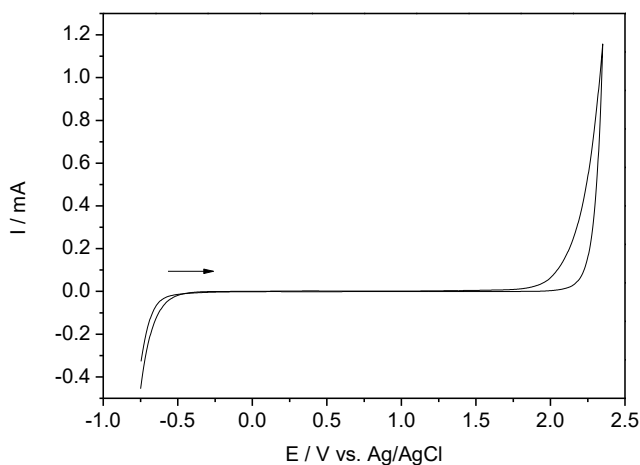
#### 4.1.1. *Pré-tratamentos do eletrodo de BDD*

Sabe-se que os pré-tratamentos catódicos e anódicos são maneiras simples e rápidas de ativar a superfície do eletrodo de BDD, além disso, devido à evolução de gases durante esses pré-tratamentos, partículas adsorvidas na superfície do eletrodo são removidas, promovendo assim a sua limpeza. Durante o pré-tratamento anódico em solução ácida a superfície do BDD é oxidada, ou seja, são formadas terminações de oxigênio na superfície do eletrodo, que apresentam baixa condutividade. (118) Durante a aplicação desse potencial positivo observa-se uma intensa evolução de oxigênio. Já, no pré-tratamento catódico observa-se intensa evolução de hidrogênio e a superfície do BDD é reduzida, formando-se terminações de hidrogênio. (118) A interação e adsorção de espécies na superfície do BDD após o tratamento catódico é facilitada devido a uma condutividade superior conferida pelas terminações de hidrogênio, (118,119) o que pode facilitar a adsorção das nanopartículas metálicas na superfície do BDD. (120)

Visto as vantagens dos pré-tratamentos, antes dos procedimentos eletroquímicos de modificação da superfície do BDD com as nanopartículas metálicas, o eletrodo foi submetido a um pré-tratamento anódico seguido de um pré-tratamento catódico em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  por 200 s cada. O pré-tratamento anódico foi realizado em  $3,00 \text{ V}$  (*vs.*  $\text{Ag/AgCl}$ ) e o catódico a  $-3,00 \text{ V}$  (*vs.*  $\text{Ag/AgCl}$ ). A Figura 1 mostra o comportamento voltamétrico do eletrodo de BDD em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , após os pré-tratamentos. Por meio desse

voltamograma é possível observar a ausência de processos faradaicos entre a evolução de hidrogênio, a qual se inicia em -0,50 V (*vs.* Ag/AgCl) e a evolução de oxigênio, que se dá a potenciais mais positivos que 1,90 V (*vs.* Ag/AgCl), evidenciando limpeza da superfície do BDD.

**Figura 1** - Voltamograma cíclico em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,50 mol L<sup>-1</sup>, a 50 mV s<sup>-1</sup>, no intervalo de potencial de -0,75 V a 2,35 V, utilizando o eletrodo de BDD após as polarizações anódica e catódica.

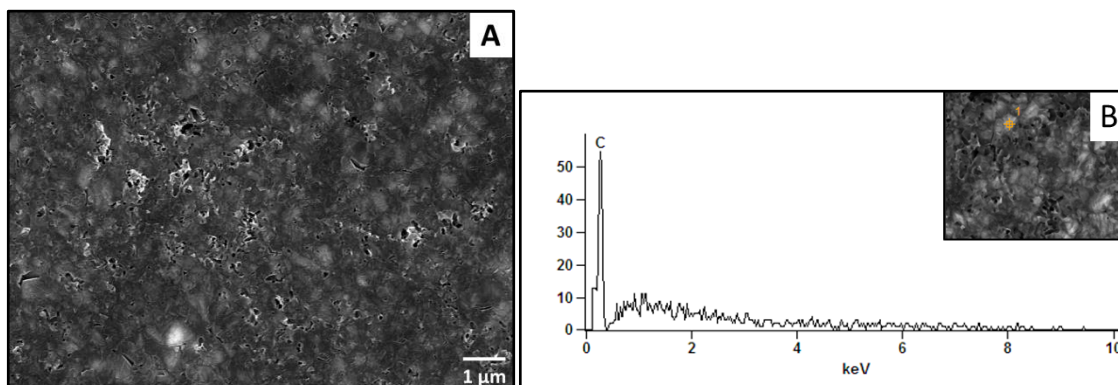


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.1.2. Caracterização do BDD

A morfologia do eletrodo de BDD foi avaliada por imagem de Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV) e sua composição por Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDX). Conforme observado na Figura 2-A, a superfície do BDD é irregular e apresenta platôs em sua extensão e de acordo com o espectro de raios X por dispersão em energia apenas carbono foi identificado, uma vez que o boro não é identificado por essa técnica (Figura 2-B).

**Figura 2** - Imagem de MEV a aceleração de 10,0 kV e magnificação de 10.000x (A) e espectro de EDX (B) do eletrodo de BDD.

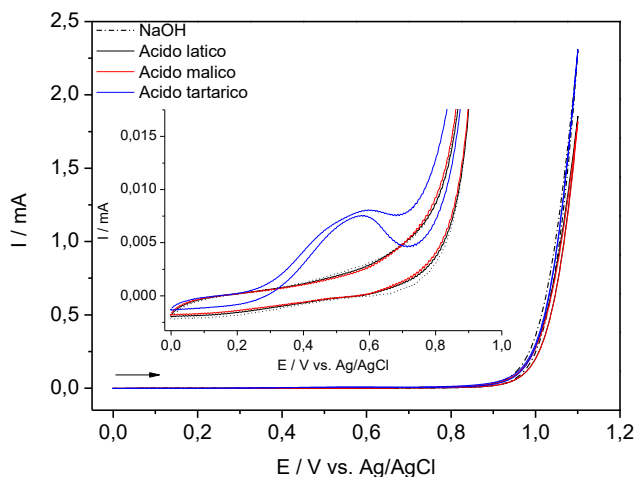


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.1.3. *Comportamento eletroquímico dos ácidos láctico, málico e tartárico em eletrodo de BDD*

Após os pré-tratamentos anódico e catódico do BDD, avaliou-se o comportamento eletroquímico dos ácidos láctico, málico e tartárico em BDD por voltametria cíclica em NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , na janela de potencial de 0 a 1,10 V (*vs.* Ag/AgCl). A Figura 3 mostra voltamogramas cíclicos do eletrodo de BDD somente em eletrólito de suporte, NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , e na presença de  $4,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $4,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico. Por comparação com o voltamograma obtido somente em eletrólito de suporte, é possível observar que não há picos referentes à oxidação ou redução dos ácidos láctico e málico, antes do potencial onde começa a oxidação da água ( $0,90 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ ), já que os voltamogramas entre 0 e 1,10 V em NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  e na presença destes são muito semelhantes. Já, na presença do ácido tartárico é possível observar uma corrente de pico anódica ( $I_{pa}$ ) de  $6,5 \mu\text{A}$  em potencial de  $0,59 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ . Na varredura reversa, tem-se uma corrente de re-oxidação também na região de  $0,59 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ , a qual pode ser atribuída a oxidação de espécies que continuam adsorvidas na superfície do eletrodo.

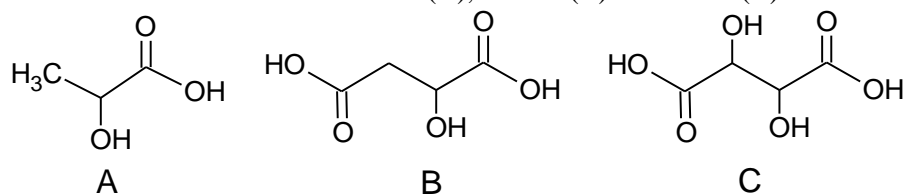
**Figura 3** - Voltamogramas cíclicos em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> entre 0 e 1,10 V, a 50 mV s<sup>-1</sup>, na ausência e presença de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico, 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e 2,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, utilizando o eletrodo de BDD não modificado. Visão aproximada dos voltamogramas entre 0 e 0,90 V.



Fonte: elaborado pelo autor.

Uma vez, que não é possível observar a oxidação dos ácidos láctico e málico em BDD nas condições estudadas, a oxidação do ácido tartárico pode ser atribuída às diferenças entre as estruturas moleculares desses compostos. Como pode ser visto na Figura 4, o ácido tartárico possui dois grupos hidroxilas oxidáveis, diferentemente dos outros dois ácidos que possuem somente um grupo oxidável.

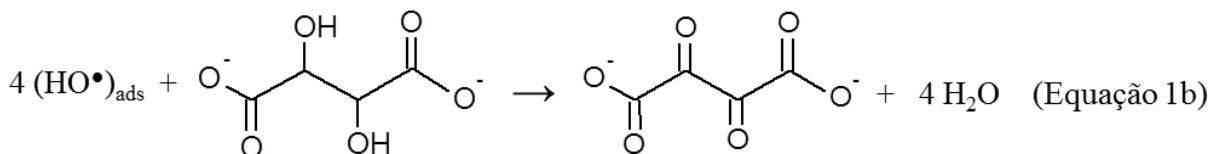
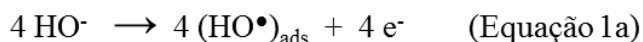
**Figura 4** - Estrutura molecular dos ácidos láctico (A), málico (B) e tartárico (C).



Fonte: elaborado pelo autor.

O mecanismo de oxidação do ácido tartárico, o qual se encontra desprotonado em NaOH 1,0 M, pode ser explicado pelas equações 1a e 1b (121,122). Primeiramente os ânions hidroxila presentes no meio fortemente básico são oxidados à radicais hidroxila na superfície do BDD (Equação 1a). (122) Esse radicais adsorvidos na superfície do eletrodo reagem com o ácido tartárico na sua forma aniônica, formando o produto oxidado e água (Equação 1b). Nesta etapa, cada grupo hidroxila do ácido tartárico é oxidado à carbonila, com perda de um

próton e transferência de dois elétrons, totalizando quatro elétrons na reação. O produto de oxidação formado é estabilizado pelos efeitos de conjugação da molécula. (121)



## 4.2. Eletrodo de BDD modificado com óxido-hidróxido de níquel

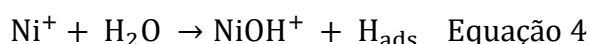
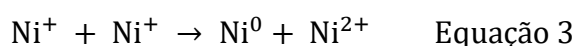
Nessa subseção, a preparação do eletrodo de NiNPs-BDD e sua caracterização eletroquímica, química e morfológica serão apresentadas. Serão discutidos também os comportamentos voltamétricos dos ácidos láctico, málico e tartárico no NiNPs-BDD, bem como a resposta amperométrica deles. Será apresentado o desenvolvimento do método cromatográfico para separação e detecção dos ácidos carboxílicos de interesse e, por fim, será realizada a determinação desses compostos na vinhaça de cana-de-açúcar e validação do método analítico.

### 4.2.1. Modificação da superfície do eletrodo de BDD com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel

Visto que o eletrodo de BDD não é capaz de oxidar os ácidos láctico e málico, nas condições experimentais utilizadas, e que o ácido tartárico apresentou uma resposta eletroquímica pequena nesse eletrodo (ver Figura 2), a modificação da superfície do BDD com metais se torna imprescindível para que se obtenha um eletrodo sensível a esses compostos presentes na vinhaça de cana-de-açúcar.

Dentre as técnicas de modificação de eletrodos, a eletrodeposição foi escolhida por ser rápida, fácil e apresentar boa repetibilidade, uma vez que os parâmetros de eletrodeposição, como potencial, tempo/carga, concentração do íon metálico em solução e meio de eletrodeposição, são fatores controláveis. (123) Existem na literatura vários trabalhos relatando com sucesso a modificação da superfície do BDD com nanopartículas de níquel por eletrodeposição. (86, 90, 93, 94, 124)

No mecanismo de eletrodeposição do níquel a potencial controlado, a primeira etapa é a redução do  $\text{Ni}^{2+}$  a  $\text{Ni}^+$ , como mostra a Equação 2, seguida de uma reação de desproporcionamento do  $\text{Ni}^+$  (Equação 3). Esta reação é comum em íons monovalentes de elementos de alta valência e contribui para a geração de depósitos bem dispersos. Simultaneamente à reação de desproporcionamento, ocorre uma reação entre as espécies  $\text{Ni}^{1+}$  e a água, gerando  $\text{NiOH}^+$  e hidrogênio adsorvido (Equação 4), o que explica a produção de gás hidrogênio que é observada durante a aplicação do potencial de deposição. (125)



A modificação do BDD com óxido-hidróxido de níquel foi feita baseado no procedimento descrito por Stradiotto et al. (94) Os parâmetros potencial de eletrodeposição, eletrólito, concentração dos íons  $\text{Ni}^{2+}$  em solução e carga eletrodepositada foram otimizados a fim de se obter a melhor resposta amperométrica para os ácidos láctico, málico e tartárico. Tais parâmetros experimentais influenciam no tamanho e morfologia das partículas de níquel eletrodepositadas, (125, 126) interferindo assim na atividade eletrocatalítica do metal sobre oxidação dos compostos de interesse.(127)

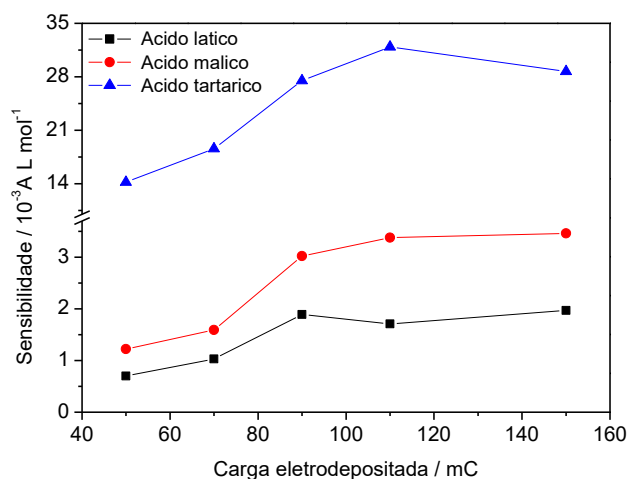
#### 4.2.1.1. Influência da carga eletrodepositada

Foi estudada a influência da carga de níquel eletrodepositada na superfície do BDD sobre a resposta amperométrica dos ácidos láctico, málico e tartárico por meio da sensibilidade analítica. As eletrodeposições foram realizadas em solução de cloreto de níquel com concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão acetato pH 4, até que carga de interesse fosse atingida. Posteriormente, o eletrodo foi removido para um solução  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH, onde realizou-se 50 ciclos sucessivos de potencial no intervalo de 0 a 0,60 V (vs. Ag/AgCl), a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Os experimentos foram realizados em duplicata e a sensibilidade analítica média obtida por amperometria, para cada ácido carboxílico em cada condição de eletromodificação, foi avaliada.

A Figura 5 mostra a sensibilidade analítica média para cada ácido em função da carga de níquel eletrodepositada sob essas condições. É possível observar que há um significativo

aumento da sensibilidade com o aumento da carga eletrodepositada até 90 mC e a partir desse valor a sensibilidade é praticamente constante para os três ácidos. Esse comportamento ocorre porque a partir de 90 mC o tamanho das partículas de níquel deve aumentar, então a atividade eletroquímica do NiNPs-BDD diminui, ocasionando uma menor sensibilidade. (127)

**Figura 5** - Sensibilidade analítica média (n=2) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da carga de níquel eletrodepositada na superfície do BDD.



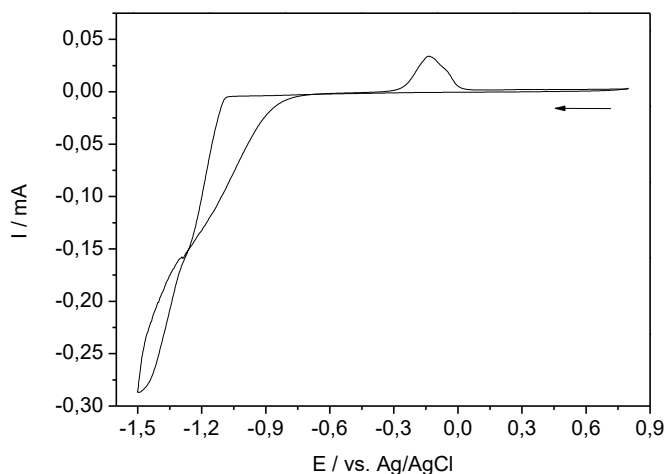
Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.1.2. Influência do potencial de eletrodeposição

Em seguida, foi avaliada a influência do potencial de redução do níquel. O potencial de eletrodeposição é um importante parâmetro porque pode afetar a morfologia das nanopartículas metálicas. Para a escolha dos potenciais a serem estudados, foi realizada uma voltametria cíclica entre 0,80 e -1,50 V (*vs.* Ag/AgCl) a  $5 \text{ mV s}^{-1}$  em solução de tampão acetato pH 5 contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Ni}^{2+}$ , a qual pode ser vista na Figura 6. Por meio desta, observa-se que a redução dos íons  $\text{Ni}^{2+}$  se inicia em -0,80 V (*vs.* Ag/AgCl), no entanto a eletrodeposição em potenciais menos negativos que -1,0 V se mostrou muito lenta, o que faz com que a carga de 90 mC somente seja atingida após um longo período de tempo, sendo esse um ponto desfavorável ao procedimento de preparo do eletrodo. Sendo assim, foram estudados os potenciais entre -1,10 V e -1,40 V (*vs.* Ag/AgCl). Os experimentos foram realizados em duplicata e a sensibilidade analítica média obtida por amperometria, para cada ácido carboxílico, foi avaliada.

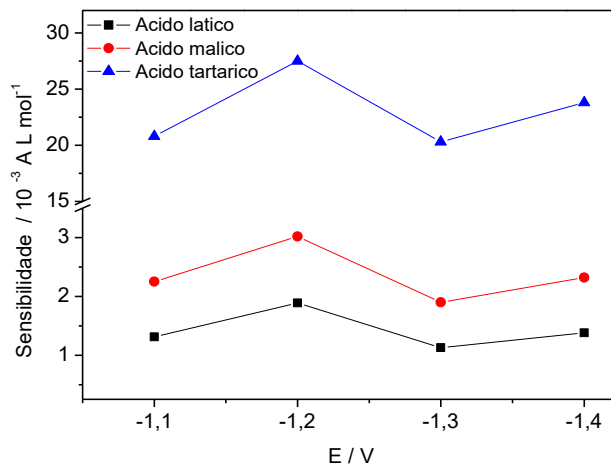
A Figura 7 mostra como a sensibilidade média para os três ácidos variou em função do potencial de eletrodeposição aplicado, sendo o potencial de -1,20 V (*vs.* Ag/AgCl) o que gerou nanopartículas com maior eletroatividade para os compostos em questão. Em potenciais mais anódicos pode ocorrer a formação de nanopartículas irregulares e em potenciais mais catódicos o tamanho das nanopartículas pode aumentar gerando um recobrimento mais espesso da superfície, o que prejudica a eletroatividade. (127)

**Figura 6** - Voltamograma cíclico em solução degaseificada de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de NiCl<sub>2</sub> em tampão acetato pH 5, no intervalo de potencial de 0,80 a -1,50 V a  $5 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando eletrodo de BDD.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 7** - Sensibilidade analítica média ( $n=2$ ) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do potencial de eletrodeposição.

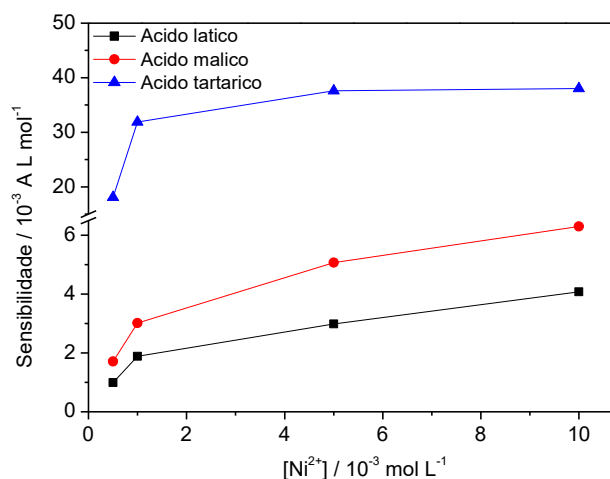


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.1.3. Influência da concentração de íons $\text{Ni}^{2+}$ na solução de eletrodeposição

As nanopartículas de níquel foram eletrodepositadas em soluções de diferentes concentrações de  $\text{NiCl}_2$  em tampão acetato pH 4, sob o potencial de -1,20 V (vs. Ag/AgCl) até que a carga de 90 mC fosse atingida. Os experimentos foram realizados em duplicata e a sensibilidade analítica média obtida por amperometria, para cada ácido carboxílico, foi avaliada. O gráfico da Figura 8 apresenta os valores de sensibilidade analítica média dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da concentração de íons  $\text{Ni}^{2+}$ . É possível observar que há um aumento da sensibilidade com o aumento da concentração, no entanto após  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  a sensibilidade não apresenta ganho significativo, sendo essa a concentração escolhida para a realização dos próximos experimentos. Esse comportamento pode estar relacionado com o fato de que altas concentrações de níquel em solução produzem partículas maiores na superfície do BDD, o que faz com que a propriedade electrocatalítica do nanomaterial seja diminuída.

**Figura 8** - Sensibilidade analítica média (n=2) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da concentração de íons  $\text{Ni}^{2+}$ .



Fonte: elaborado pelo autor.

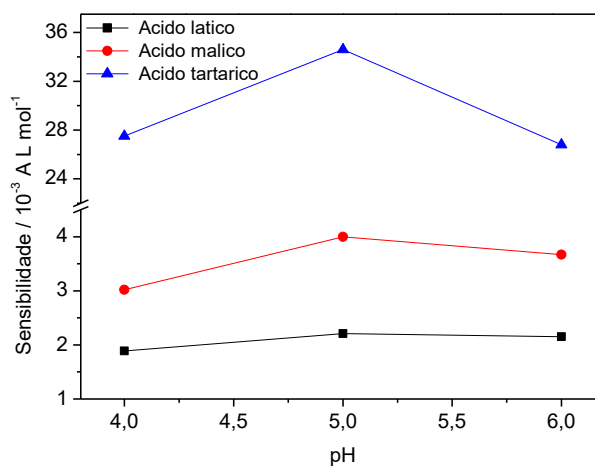
#### 4.2.1.4. Influência do meio de eletrodeposição das nanopartículas de níquel

O pH da solução de eletrodeposição pode afetar o transporte de massa do  $\text{Ni}^{2+}$  e também influenciar a taxa de transferência eletrônica na superfície do BDD, afetando assim a forma

das nanopartículas de níquel e conseqüentemente sua atividade eletroquímica, por isso a otimização desse parâmetro se torna importante. (127)

A eletrodeposição das nanopartículas de níquel foi estudada em três diferentes meios: tampão acetato pH 4 e pH 5 e tampão fosfato pH 6, sob o potencial de redução de -1,20 V (vs. Ag/AgCl) até que a carga de 90 mC fosse atingida. Os experimentos foram realizados em duplicata e a sensibilidade analítica média obtida por amperometria, para cada ácido carboxílico, foi avaliada. Como mostrado na Figura 9, a maior sensibilidade analítica para os três ácidos é atingida quando se utiliza tampão acetato pH 5. No entanto o meio de eletrodeposição não apresentou influência tão significativa nos analitos de interesse como os demais parâmetros estudados anteriormente, o que pode ser visto pelas pequenas variações de sensibilidade com a mudança do pH de eletrodeposição.

**Figura 9** - Sensibilidade analítica média (n=2) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do pH do eletrólito de suporte utilizado durante a eletrodeposição de níquel na superfície do BDD.

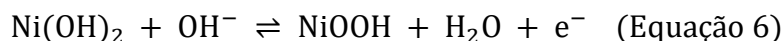
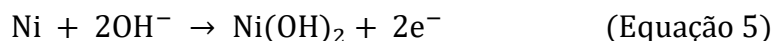


Fonte: elaborado pelo autor.

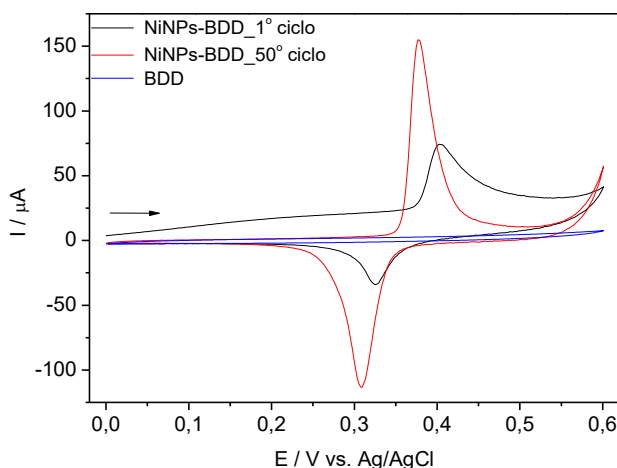
#### 4.2.1.5. Formação das espécies óxido-hidróxido de níquel

Após a etapa de eletrodeposição das nanopartículas metálicas, o eletrodo foi transferido para uma solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, onde foi submetido a 50 ciclos de potencial entre 0 e 0,60 V (vs. Ag/AgCl) a 50 mV s<sup>-1</sup>. Em solução alcalina, níquel metálico é oxidado a Ni(OH)<sub>2</sub> (Equação 5) a potenciais mais negativos que -0,68 V (vs. eletrodo de calomelano saturado - ECS). (128–130) Ni(OH)<sub>2</sub> pode estar presente em duas formas cristalográficas, na forma hidratada  $\alpha$ -Ni(OH)<sub>2</sub>, e na forma anidra  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub>. (128, 130) Em meio fortemente básico e

após sucessivos ciclos de potencial a formação de espécies anidra é favorecida, sendo esta a forma mais estável e cataliticamente ativa. (128, 130) Voltamogramas típicos do primeiro e do quinquagésimo ciclo do eletrodo de BDD modificado com níquel em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, a 50 mV s<sup>-1</sup>, são representados na Figura 10, onde podem ser comparados com o eletrodo de BDD sem modificação. O par redox bem definido com E<sup>o</sup> = 343 mV e ΔE<sub>p</sub> = 66 mV, a 50 mV s<sup>-1</sup>, é referente ao processo redox Ni<sup>2+</sup>/Ni<sup>3+</sup>, de acordo com a Equação 6, (112, 128) uma vez que a oxidação do níquel metálico à Ni<sup>2+</sup> se dá a potenciais catódicos. (128–130) O maior potencial de oxidação observado no primeiro ciclo de potencial ocorre devido a maior energia requerida para começar a nucleação das espécies NiOOH. (131) Com os sucessivos ciclos de potencial, observa-se um aumento nos valores de I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub>, devido a entrada de espécies OH<sup>-</sup> na estrutura das nanopartículas de Ni(OH)<sub>2</sub>, as quais levam a formação das espécies NiOOH. (132)



**Figura 10** - Voltamogramas do primeiro e quinquagésimo ciclos em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, no intervalo de potencial de 0 a 0,60 V a 50 mV s<sup>-1</sup>, utilizando os eletrodos de NiNPs-BDD e BDD.



Fonte: elaborado pelo autor.

A quantidade de óxido-hidróxido níquel na superfície do eletrodo pode ser calculada a partir da carga envolvida na oxidação ou na redução do processo redox ( $Q_{\text{ox}}/Q_{\text{red}} \approx 1$ ), pela Equação 7:

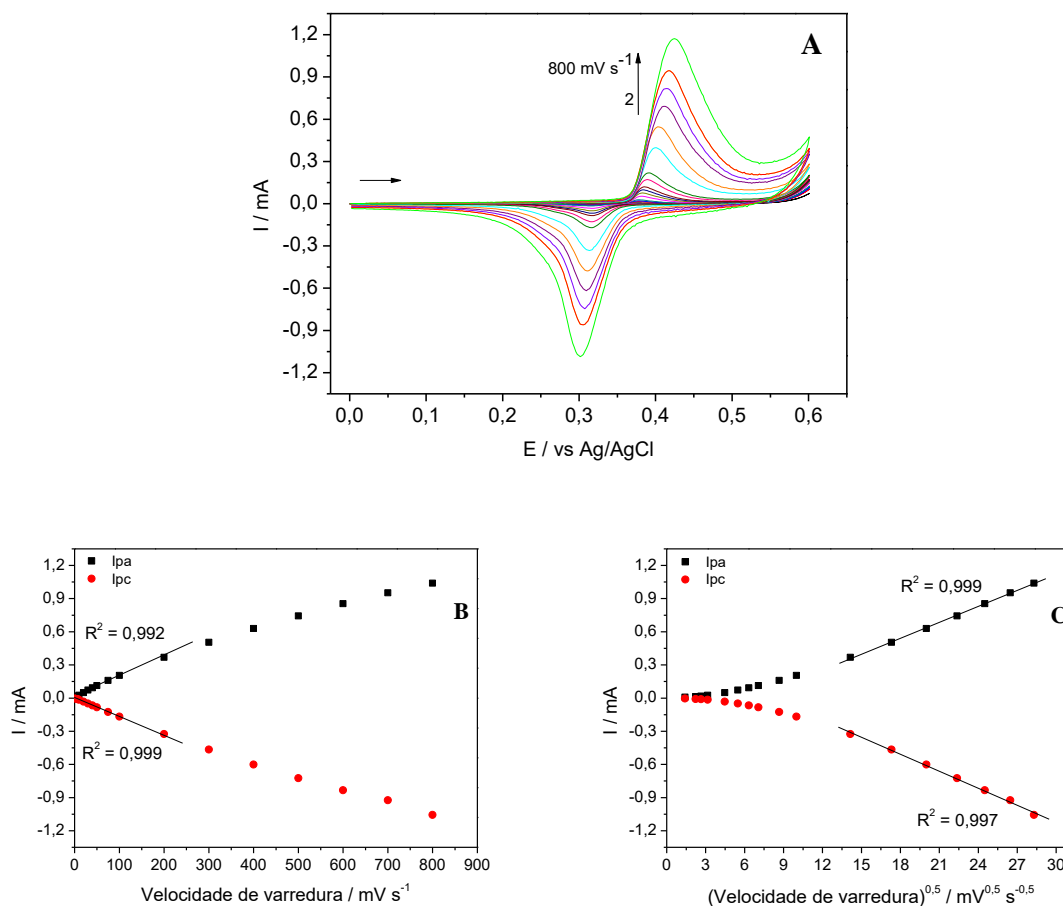
$$\Gamma = \frac{Q_{ox}}{nFA} \quad (\text{Equação 7})$$

onde,  $Q_{ox}$  é a carga associada à oxidação,  $n$  é o número de elétrons envolvidos no processo redox ( $n=1$ , neste caso),  $F$  é a constante de Faraday ( $96485 \text{ C mol}^{-1}$ ) e  $A$  é a área geométrica do eletrodo. Para o eletrodo modificado nas condições descritas acima, a quantidade de hidróxido de níquel na superfície do BDD, calculada pela Equação 7, foi de  $(5,8 \pm 0,7) \times 10^{-9} \text{ mol cm}^{-2}$ .

#### 4.2.2. *Comportamento eletroquímico do NiNPs-BDD*

Com o objetivo estudar o comportamento eletroquímico do eletrodo de NiNPs-BDD em solução de NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  foi realizado um estudo de velocidade de varredura de potencial. A Figura 11-A mostra os voltamogramas cíclicos do NiNPs-BDD em diferentes velocidades de varreduras de 2 a  $800 \text{ mV s}^{-1}$  entre 0 e  $0,60 \text{ V}$  (*vs.* Ag/AgCl). Como pode ser visto na Figura 11-A, com o aumento da velocidade de varredura ocorre o aumento de  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  e o deslocamento do pico anódico para potenciais mais positivos, assim como o deslocamento do pico catódico para potenciais mais negativos, esse aumento de  $\Delta E_p$  indica limitação devido à cinética de transferência de carga. A Figura 11-B mostra que as correntes de pico anódica e catódica são proporcionais à velocidade de varredura no intervalo de 2 a  $200 \text{ mV s}^{-1}$ , essa linearidade é esperada para processos redox confinados na superfície eletródica. (133) Já, em velocidades de varreduras maiores que  $200 \text{ mV s}^{-1}$  ocorre um desvio da linearidade e as correntes de pico tornam-se proporcionais à raiz quadrada da velocidade de varredura, como mostrado na Figura 11-C, indicando um processo controlado por difusão em altas velocidades.

**Figura 11** - (A) Voltamogramas cíclicos em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> entre 0 e 0,60 V em várias velocidades de varredura entre 2 e 800 mV s<sup>-1</sup>, empregando NiNPs-BDD. (B) I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> em função da velocidade de varredura. (C) I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.



Fonte: elaborado pelo autor.

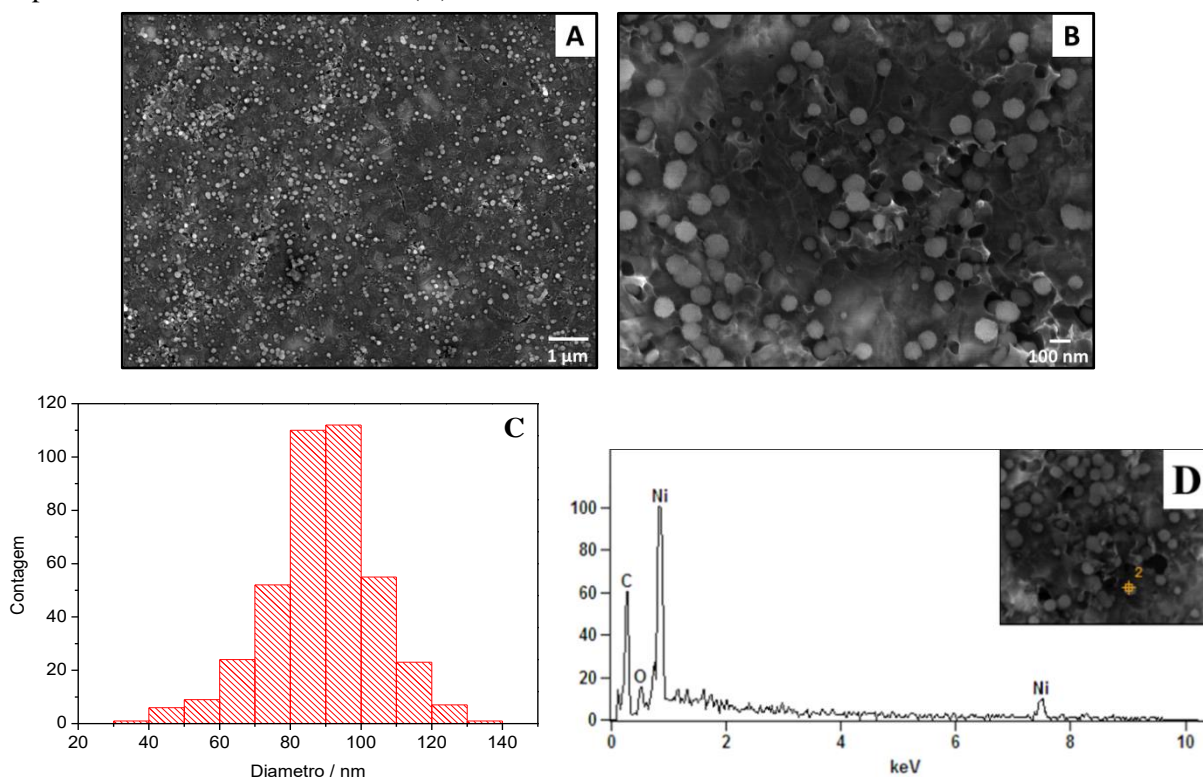
#### 4.2.3. Caracterização do NiNPs-BDD

A morfologia do NiNPs-BDD e o tamanho das nanopartículas foram avaliadas por imagens de MEV e sua composição por EDX. As imagens das Figuras 12-A e 12-B são referentes à superfície do eletrodo de BDD modificada com óxido-hidróxido de níquel, com diferentes magnificações. Por meio dessas imagens, pode-se observar nanopartículas esféricas, dispersas homogeneamente por toda a superfície do BDD. O diâmetro de 400 nanopartículas foi medido e a distribuição do diâmetro dessas mostrou (Figura 12-C) que a maioria das nanopartículas apresenta diâmetro entre 80 e 100 nm, com média de (89 ± 15) nm.

A caracterização química por EDX do NiNPs-BDD é mostrada na Figura 12-D, juntamente com a região na qual foi realizada a medida. Pelo espectro é possível constatar a presença de

níquel e oxigênio, provenientes da modificação com óxido-hidróxido de níquel, e a presença de carbono, devido ao substrato de diamante dopado com boro.

**Figura 12** - Imagens de MEV do NiNPs-BDD a aceleração de 10,0 kV e magnificações de 10.000x (A) e 50.000x (B). Distribuição do diâmetro das nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel (C). Espectro de EDX do NiNPs-BDD (D).



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.4. Comportamento voltamétrico dos ácidos carboxílicos em NiNPs-BDD

Foi avaliado o comportamento eletroquímico, por meio de voltametria cíclica, dos ácidos láctico, málico e tartárico em NiNPs-BDD em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Nesse meio, os ácidos carboxílicos estudados encontram-se nas suas respectivas formas ionizadas. A Figura 13 mostra voltamogramas cíclicos a 50 mV s<sup>-1</sup> em eletrólito de suporte, para fins de comparação, e na presença de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico (Figura 13-A), 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico (Figura 13-B) e 2,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico (Figura 13-C). Por meio desses voltamogramas, é possível observar que a oxidação dos ácidos láctico, málico e tartárico acontece na mesma região de potencial do par redox Ni<sup>2+</sup>/Ni<sup>3+</sup>. Ao comparar os comportamentos voltamétricos utilizando o eletrodo de NiNPs-BDD e o eletrodo de BDD não modificado (Figura 3) é possível observar um deslocamento do potencial de oxidação do

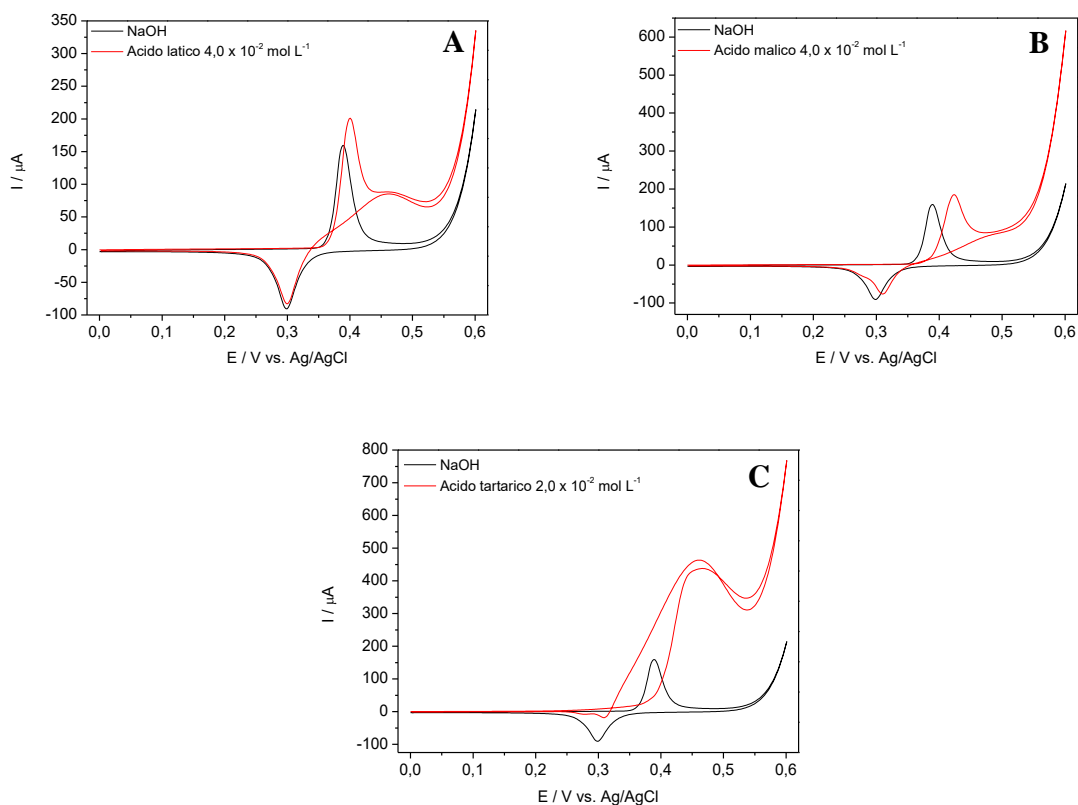
ácido tartárico de aproximadamente 200 mV para potenciais menos anódicos quando utiliza-se o eletrodo modificado. Além disso, as oxidações dos ácidos láctico e málico, as quais não foram observadas a potenciais menos anódicos que a oxidação da água no eletrodo não modificado, aconteceram em 350 mV e 367 mV, respectivamente, no eletrodo de NiNPs-BDD. Essas observações indicam um comportamento de eletrocatalise das nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel frente à oxidação dos ácidos láctico, málico e tartárico.

Analisando o comportamento voltamétrico do eletrodo de NiNPs-BDD na ausência e presença dos ácidos carboxílicos (Figura 13), observa-se que na presença desses compostos ocorre um deslocamento anódico do potencial de pico referente à oxidação do  $\text{Ni}^{2+}$  a  $\text{Ni}^{3+}$  e um aumento de  $I_{pa}$ . Observa-se também, uma diminuição de  $I_{pc}$ , a qual é atribuída ao consumo parcial das espécies  $\text{NiOOH}$  nas reações químicas com o lactato, malato e tartrato, formando espécies  $\text{Ni(OH)}_2$ , o que evidencia um processo irreversível. O aumento dos valores de  $I_{pa}$  e diminuição dos valores de  $I_{pc}$  na presença dos ácidos láctico, málico e tartárico mostram um ciclo eletrocatalítico. Além disso, é possível inferir que o mecanismo de oxidação desses compostos é constituído de uma etapa eletroquímica, sendo esta a eletro-oxidação das espécies  $\text{Ni}^{2+}$  a  $\text{Ni}^{3+}$  (Equação 8a), e uma etapa química de reação das espécies  $\text{Ni}^{3+}$  com os ácidos carboxílicos estudados (Equação 8b). (93,112)

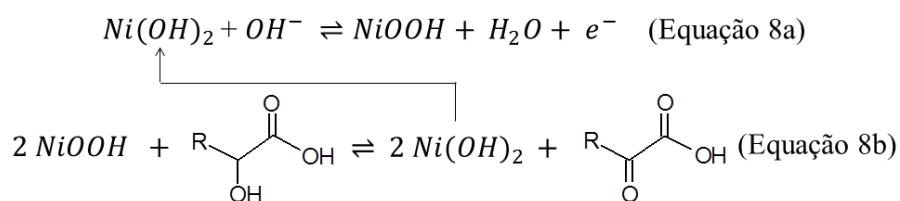
Comparando o comportamento voltamétrico dos três ácidos carboxílicos, observa-se que esses efeitos são mais pronunciados para o ácido tartárico e isso se deve ao fato do ácido tartárico possuir dois grupos hidroxila (ver Figura 4) que oxidam, ocorrendo dessa forma, a transferência de quatro elétrons no total, e não de dois elétrons como acontece para os ácidos láctico e málico.

Com base nessas observações voltamétricas, fica claro o papel do  $\text{Ni}^{3+}$  como mediador da reação de eletro-oxidação desses compostos. Esse efeito eletrocatalítico surge dos elétrons desemparelhados das espécies  $\text{Ni}^{3+}$  (distribuição eletrônica:  $[\text{Ar}] 3d^7$ ), os quais estão disponíveis para a formação de ligações com espécies adsorvidas ou intermediários redox. (86)

**Figura 13** - Voltamogramas cíclicos em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, a 50 mV s<sup>-1</sup>, na ausência e presença de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico (A), 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico (B) e 2,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico (C), utilizando NiNPs-BDD.



Fonte: elaborado pelo autor.

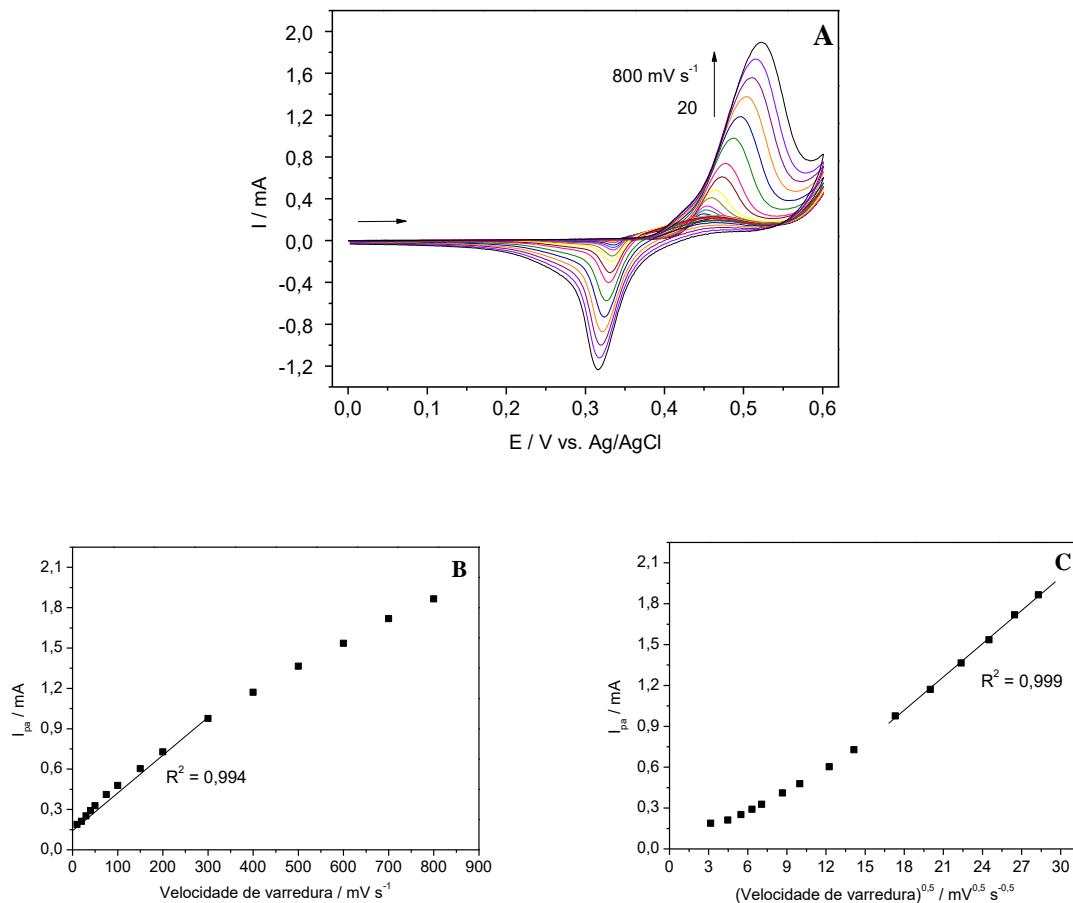


A fim de se estudar o comportamento eletroquímico do eletrodo de NiNPs-BDD na presença dos ácidos láctico, málico e tartárico realizou-se um estudo de velocidade de varredura. Como, nessa parte do trabalho, o objetivo é estudar a oxidação dos ácidos carboxílicos, somente o comportamento das  $I_{pa}$  foi analisado. As Figuras 14-A e 15-A mostram os voltamogramas cíclicos do NiNPs-BDD na presença de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico e de 4,0 × 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico, respectivamente, ambos em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> em velocidades de varreduras entre 20 e 800 mV s<sup>-1</sup> no intervalo de 0 a 0,60 V (vs. Ag/AgCl). Pode ser observado que com o aumento da velocidade de varredura ocorre o aumento das correntes de pico. Há também, um deslocamento do pico anódico para potenciais

mais positivos e do pico catódico para potenciais mais negativos para ambos os ácidos, indicando uma limitação devido à cinética de transferência de carga. As Figuras 14-B e 15-B mostram que os valores de  $I_{pa}$  são proporcionais à velocidade de varredura até  $300 \text{ mV s}^{-1}$  na presença tanto do ácido lático quanto do ácido málico. Já, em velocidades de varreduras maiores que  $300 \text{ mV s}^{-1}$  ocorre um desvio da linearidade e as correntes de pico tornam-se proporcionais à raiz quadrada da velocidade de varredura, como mostrado nas Figuras 14-C e 15-C, indicando um processo controlado por difusão. A Figura 16-A mostra os voltamogramas cíclicos do NiNPs-BDD na presença  $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico em  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH em diferentes velocidades de varreduras entre 20 e  $800 \text{ mV s}^{-1}$ . Também é possível observar que o aumento da velocidade de varredura ocasiona um aumento de  $I_{pa}$  e de  $\Delta E_p$ . Já, a Figura 16-B mostra que, na presença de ácido tartárico, diferentemente dos outros ácidos, as  $I_{pa}$  foram proporcionais à velocidade de varredura até  $800 \text{ mV s}^{-1}$  indicando um processo eletrodico controlado por adsorção. Essa diferença de comportamento pode estar relacionada com a presença de dois grupos hidroxila na estrutura molecular do ácido tartárico.

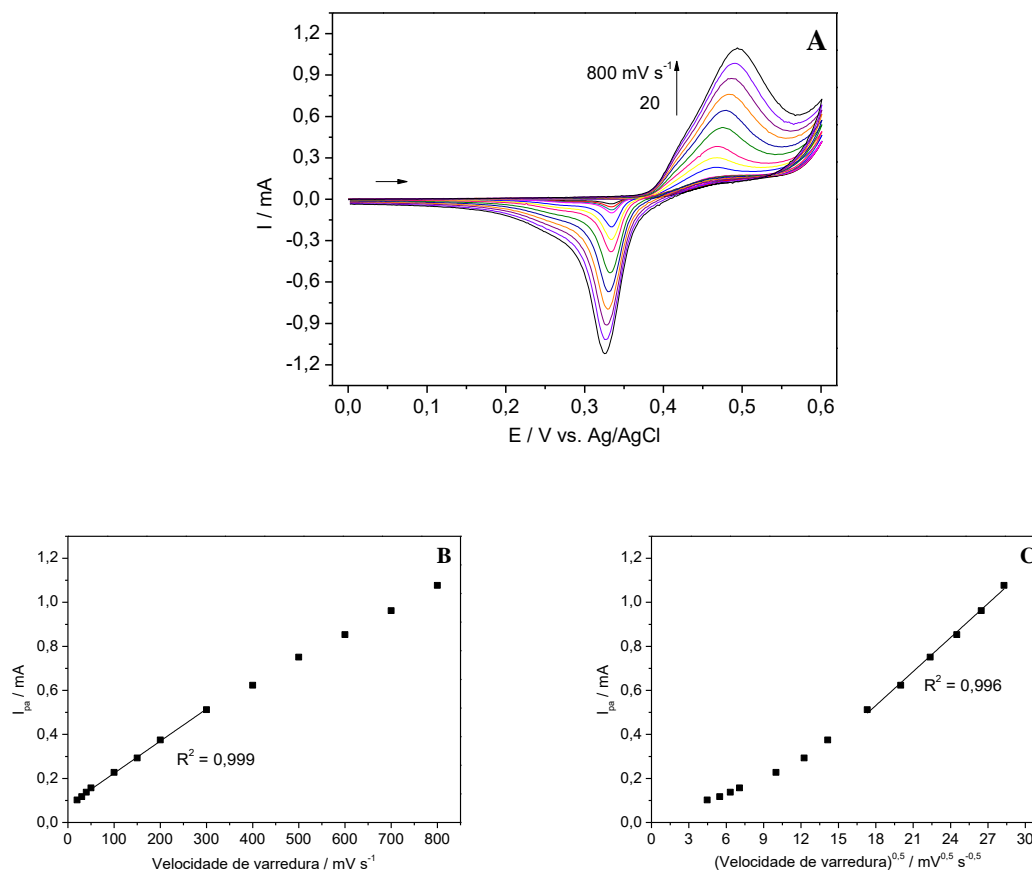
Além dessas observações, é possível notar que na presença dos três ácidos carboxílicos os gráficos  $I_{pa}$  vs. velocidade de varredura não tem intercepto igual a zero, isso sugere uma limitação química na oxidação desses compostos a baixas velocidades de varredura. (93) Outro fato a ser observado é que a baixas velocidades de varredura a diminuição de  $I_{pc}$  é menos pronunciada, o que indica que a reação química de oxidação dos ácidos carboxílicos em questão com as espécies NiOOH é lenta e é a etapa determinante do mecanismo de oxidação descrito nas Equações 8-a e 8-b.

**Figura 14** - (A) Voltamogramas cíclicos na presença de  $4,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico em NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , entre 0 e 0,60 V, em velocidades de varredura entre 20 e  $800 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando NiNPs-BDD. (B)  $I_{pa}$  em função da velocidade de varredura. (C)  $I_{pa}$  em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.



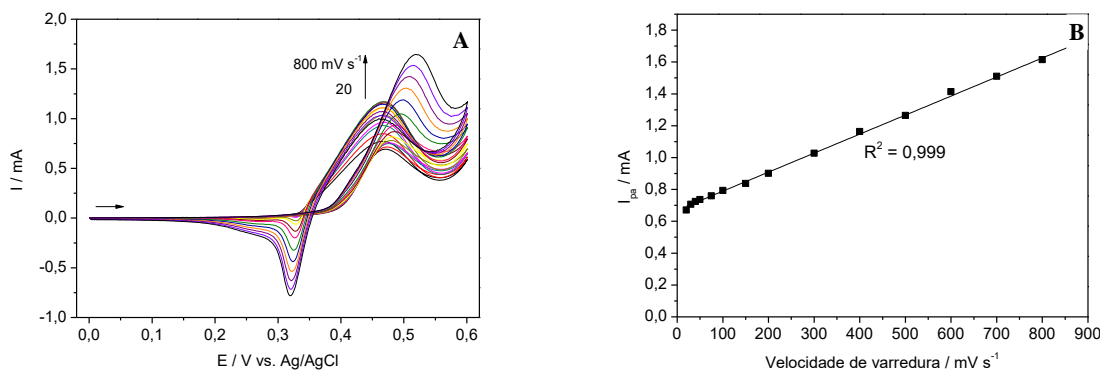
Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 15** - (A) Voltamogramas cíclicos na presença de  $4,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico em NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , entre 0 e 0,60 V, em velocidades de varredura entre 20 e  $800 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando NiNPs-BDD. (B)  $I_{pa}$  em função da velocidade de varredura. (C)  $I_{pa}$  em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 16** - (A) Voltamogramas cíclicos na presença de  $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico em NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , entre 0 e 0,60 V, em velocidades de varredura entre 20 e  $800 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando NiNPs-BDD. (B)  $I_{pa}$  em função da velocidade de varredura.



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.5. Resposta amperométrica dos ácidos carboxílicos em NiNPs-BDD

Visto que o objetivo desse trabalho é o emprego do eletrodo de NiNPs-BDD como detector amperométrico em CLAE para a determinação dos ácidos láctico, málico e tartárico em vinhaça de cana-de-açúcar, optou-se por utilizar a técnica de amperometria pulsada para estudo da resposta do eletrodo NiNPs-BDD frente aos ácidos láctico, málico e tartárico meio de  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH. O modo pulsado foi escolhido por ser possível realizar a regeneração da superfície do eletrodo após a oxidação dos ácidos. Uma sequência simplificada de pulsos de potencial daquela descrita na literatura foi empregada, (84) sendo utilizados pulsos sucessivos e alternados de  $0,50 \text{ V}$  (*vs.* Ag/AgCl) por  $0,1 \text{ s}$  para a oxidação dos analitos e pulsos de  $0,31 \text{ V}$  (*vs.* Ag/AgCl) durante  $0,1 \text{ s}$  para a regeneração da superfície do eletrodo, sob agitação mecânica da solução a  $2000 \text{ rpm}$ . O potencial de regeneração da superfície do eletrodo foi de  $0,31 \text{ V}$  porque, conforme pode ser visto na Figura 10, esse é o potencial de pico catódico referente ao processo redox  $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ , dessa forma após a oxidação dos ácidos o pulso de  $0,31 \text{ V}$  promove a redução das espécies  $\text{Ni}^{3+}$  para as espécies  $\text{Ni}^{2+}$ .

##### 4.2.5.1. Estudo de potencial de oxidação

A fim de se encontrar o potencial de oxidação dos ácidos que gera a maior corrente, realizou-se um estudo de potencial no intervalo de  $0,32 \text{ V}$  a  $0,50 \text{ V}$  (*vs.* Ag/AgCl). Conforme pode ser visto pelos voltamogramas presentes na Figura 13, é nessa faixa de potencial onde ocorrem as oxidações dos ácidos láctico, málico e tartárico. A Figura 17 mostra o aumento de corrente gerado ( $\Delta I$ ) pela adição de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico, em  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH em função do potencial de oxidação aplicado.  $\Delta I$  foi calculado de acordo com a Equação 9:

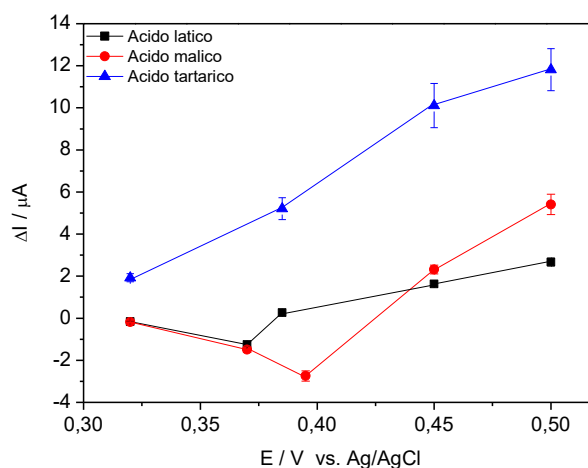
$$\Delta I = I_{\text{catal}} - I_1 \quad (\text{Equação 9})$$

onde,  $I_{\text{catal}}$  é a corrente catalítica na presença de cada um dos ácidos e  $I_1$  é corrente limite na presença somente de eletrólito de suporte.

É possível verificar pela Figura 17 que a maior diferença de corrente é gerada ao se aplicar o potencial de  $0,50 \text{ V}$  (*vs.* Ag/AgCl), ou seja,  $100 \text{ mV}$ ,  $75 \text{ mV}$  e  $35 \text{ mV}$  acima do potencial de pico anódico na presença dos ácidos láctico, málico e tartárico,

respectivamente. Sendo assim, o potencial de 0,50 V (*vs.* Ag/AgCl) foi utilizado nos estudos amperométricos posteriores, a fim de se obter uma maior sensibilidade para esses compostos.

**Figura 17** - Variação das correntes geradas na oxidação de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico,  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em função do potencial de oxidação aplicado no eletrodo de NiNPs-BDD.

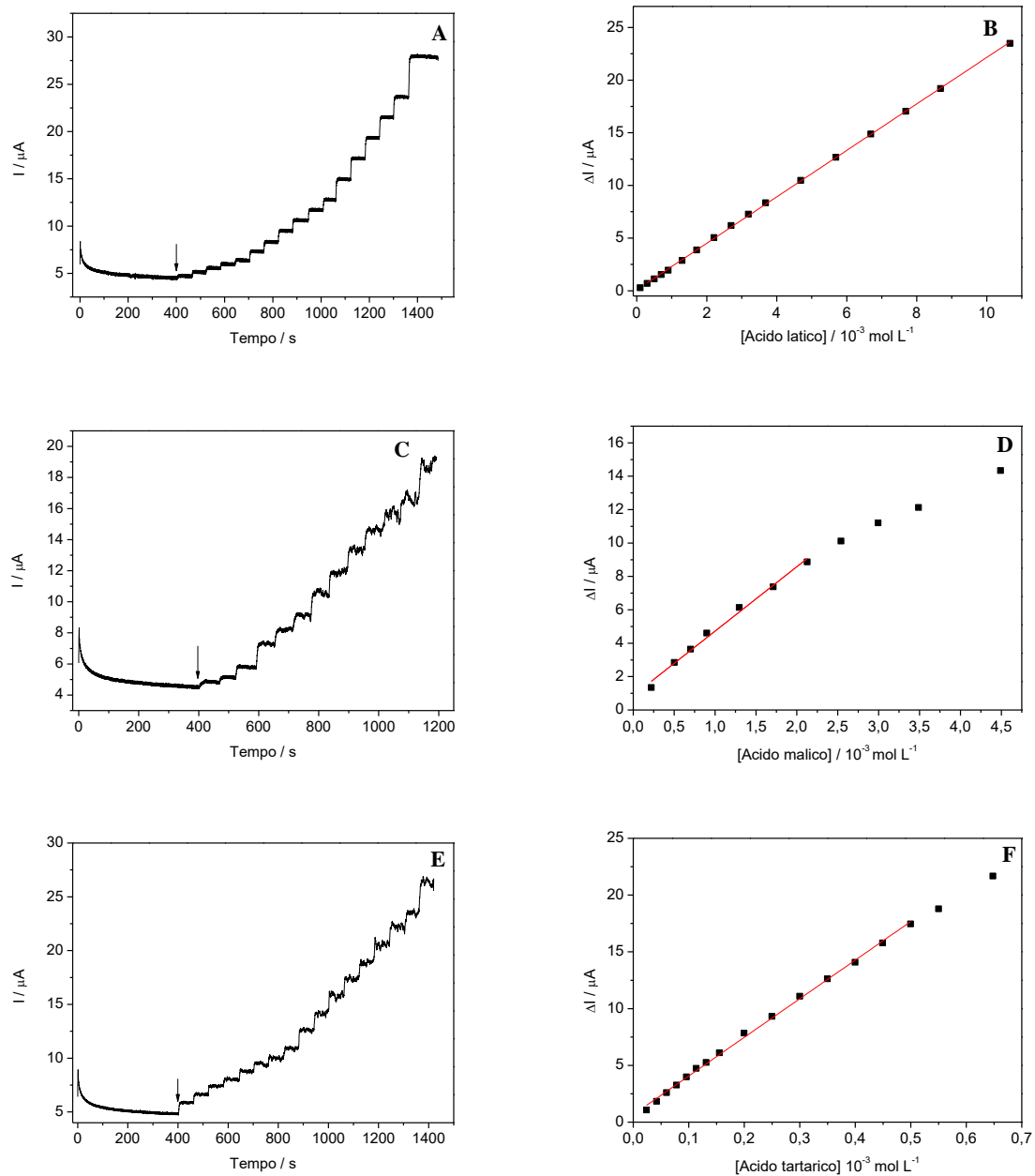


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.5.2. Curvas analíticas

Com o eletrodo de NiNPs-BDD modificado nas condições otimizadas foram feitas sucessivas adições de ácido láctico, málico e tartárico a cada 60 s, em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> sob agitação mecânica da solução com velocidade de 2000 rpm, utilizando a técnica de amperometria pulsada com sucessivos potenciais de 0,50 V e 0,31 V (*vs.* Ag/AgCl) de 0,1 s de duração cada um. A Figura 18 mostra os amperogramas e a relação entre corrente e concentração para os ácidos láctico, málico e tartárico. A Tabela 3 sumariza o intervalo linear de resposta para cada ácido carboxílico, bem como o LD, sensibilidade amperométrica, coeficiente de correlação e tempo de resposta.

**Figura 18** - Amperogramas de adições sucessivas de ácido láctico (A), málico (C) e tartárico (E) em  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH utilizando eletrodo de NiNPs-BDD, a potencial de  $0,50 \text{ V}$  sob agitação mecânica da solução de  $2000 \text{ rpm}$ . Respetivos gráficos de corrente em função da concentração para cada ácido estudado (B, D e F).



Fonte: elaborado pelo autor.

**Tabela 3** - Figuras de mérito e tempo de resposta para os ácidos carboxílicos utilizando técnica de amperometria pulsada com eletrodo de NiNPs-BDD.

Ácido	Intervalo linear de resposta (mol L <sup>-1</sup> )	LD* (mol L <sup>-1</sup> )	Sensibilidade (μA L mmol <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	Tempo de resposta (s)
Lático	3,0 × 10 <sup>-4</sup> – 1,1 × 10 <sup>-2</sup>	2,3 × 10 <sup>-4</sup>	2,2 × 10 <sup>-3</sup>	0,999	2,4 ± 0,4
Málico	2,2 × 10 <sup>-4</sup> – 2,2 × 10 <sup>-3</sup>	2,0 × 10 <sup>-4</sup>	3,9 × 10 <sup>-3</sup>	0,990	2,5 ± 0,2
Tartárico	2,4 × 10 <sup>-5</sup> – 5,0 × 10 <sup>-4</sup>	2,0 × 10 <sup>-5</sup>	3,4 × 10 <sup>-2</sup>	0,997	2,3 ± 0,1

Fonte: elaborado pelo autor.

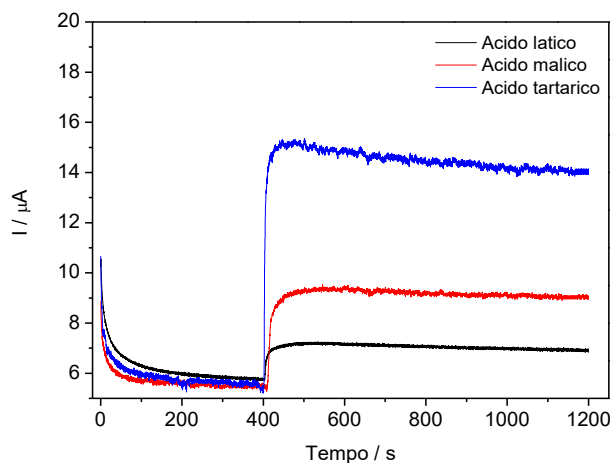
\* Definido como 3 × desvio da curva/sensibilidade. (134)

#### 4.2.5.3. Estabilidade amperométrica

A estabilidade do eletrodo modificado é de fundamental importância para o seu posterior emprego em medidas cromatográficas, sendo assim experimentos de estabilidade amperométrica foram realizados sob agitação mecânica da solução, a fim de simular o mais próximo possível as condições de fluxo no cromatógrafo.

A Figura 19 mostra adições de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido lático e málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> após 400 s de estabilização em eletrólito, sob a agitação mecânica da solução de 2000 rpm. Por meio dessa figura, nota-se que o eletrodo NiNPs-BDD é estável nesse eletrólito de suporte, já que as correntes estabilizaram rapidamente, além disso, observa-se que ao retornar o eletrodo para a solução contendo somente eletrólito de suporte, as correntes não sofrem significativas mudanças. Após a adição de cada um dos analitos, é possível observar que as correntes aumentam rapidamente e permanecem estável durante o tempo de análise, uma vez que na presença de ácido lático houve uma pequena queda de corrente de 4% em 1200 s, e na presença dos ácidos málico e tartárico as quedas foram de 3% e 8%, respectivamente.

**Figura 19** - Estabilidade amperométrica do NiNPs-BDD, a 0,50 V, sob agitação mecânica da solução de 2000 rpm com adição de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico e ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico em 400 s em NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ .



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.6. Desenvolvimento do método cromatográfico para a separação e detecção dos ácidos carboxílicos

Como pode ser visto pelas pelos voltamogramas apresentados na Figura 13 e pelos amperogramas da Figura 18, os ácidos láctico, málico e tartárico apresentam comportamento eletroquímico semelhantes, com oxidações na mesma região de potencial em NiNPs-BDD. Dessa forma, a determinação de cada um dos ácidos utilizando NiNPs-BDD só se torna possível após sua separação cromatográfica.

Nos subtópicos seguintes serão descritos os estudos realizados a fim de se obter a melhor detecção dos compostos de interesse, bem como a otimização dos parâmetros cromatográficos com o intuito de separar os ácidos carboxílicos em questão dos demais componentes da vinhaça de cana-de-açúcar.

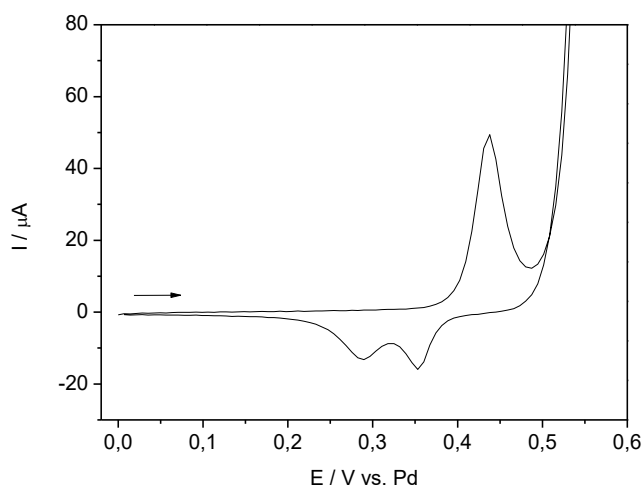
##### 4.2.6.1. Comportamento do eletrodo NiNPs-BDD nas condições cromatográficas

Ao utilizar no detector amperométrico do cromatógrafo o eletrodo de NiNPs-BDD modificado nas condições experimentais descritas na seção 2.1, o sinal de corrente produzido foi maior que a escala de corrente lida pelo equipamento, dessa forma não foi possível a realização das medidas. Sendo assim, uma forma de solucionar esse problema foi diminuir a

carga de eletrodeposição de níquel para 50 mC, a fim de gerar uma resposta de corrente menor, a qual possa ser lida pelo detector amperométrico do cromatógrafo. As nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel formadas pela eletrodeposição de 50 mC apresentaram morfologia similar àquelas da Figura 12, com maioria das nanopartículas variando entre 60 nm e 90 nm e diâmetro médio de  $(78 \pm 21)$  nm. A quantidade de óxido-hidróxido de níquel foi calculada pela Equação 7 sendo  $(1,2 \pm 0,2) \times 10^{-9}$  mol  $\text{cm}^{-2}$ , ou seja, aproximadamente cinco vezes menor que a quantidade eletrodepositada utilizando a carga de 90 mC.

A fim de verificar o comportamento eletroquímico do eletrodo de NiNPs-BDD nas condições cromatográficas, realizou-se uma voltametria cíclica no cromatógrafo no intervalo de potencial de 0 a 0,55 V (vs. Pd), a qual é visualizada na Figura 20. Foi empregado como eletrólito a fase móvel composta pela mistura de 5% de NaOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$  em  $\text{CH}_3\text{COONa}$  0,25 mol  $\text{L}^{-1}$  e 95% de água sob fluxo de 1,0 mL  $\text{min}^{-1}$  somado ao fluxo de 0,3 mL  $\text{min}^{-1}$  de uma solução de NaOH 0,40 mol  $\text{L}^{-1}$  (bomba pós coluna). Por meio desse voltamograma (Figura 20) e baseado no comportamento voltamétrico dos ácidos carboxílicos (ver Figura 13), é possível inferir que a oxidação dos ácido láctico, málico e tartárico deve se dar na região de potencial entre 0,45 e 0,50 V (vs. Pd). O pico catódico em 0,29 V (vs. Pd) pode ser atribuído à redução de espécies  $\gamma\text{-NiOOH}$ , a qual é evidenciada após repetidos ciclos de potencial e em meio menos básicos. (128)

**Figura 20** - Voltamograma cíclico obtido no cromatógrafo empregando como eletrólito uma mistura de 5% de NaOH 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$  em  $\text{CH}_3\text{COONa}$  0,25 mol  $\text{L}^{-1}$  e 95% de água, sob fluxo de 1,0 mL  $\text{min}^{-1}$  e NaOH 0,40 mol  $\text{L}^{-1}$  a 0,3 mL  $\text{min}^{-1}$  (bomba pós coluna), no intervalo de potencial de 0 a 0,55 V a 50  $\text{mV s}^{-1}$ , utilizando o eletrodo de NiNPs-BDD.

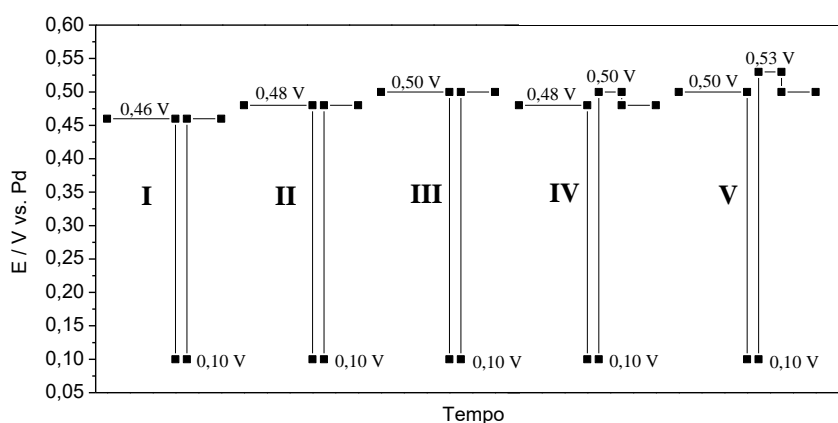


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.6.2. Otimização da detecção cromatográfica

Para a detecção amperométrica pulsada no cromatógrafo foram estudados cinco seqüências de pulsos potenciais de dois formatos diferentes, a fim de obter a melhor resposta para os ácidos lático, málico e tartárico. As seqüências I, II e III foram constituídas de três pulsos de potencial (ver Figura 21): no primeiro é aplicado um potencial para a oxidação dos ácidos carboxílicos e é nessa etapa onde ocorre a coleta de dados, foram avaliados os potenciais de 0,46 V (seqüência I), 0,48 V (seqüência II) e 0,50 V (seqüência III), *vs.* eletrodo de Pd; no segundo pulso é aplicado o potencial de 0,10 V (*vs.* Pd) por 50 ms com a finalidade de reduzir a superfície oxidada e remover possíveis produtos de oxidação adsorvidos na superfície do eletrodo; no terceiro pulso, aplica-se o mesmo potencial do primeiro pulso por 150 ms para estabilização da superfície do eletrodo. As seqüências de pulso de potenciais IV e V foram constituídos de quatro pulsos (ver Figura 21): no primeiro é aplicado um potencial para a oxidação dos ácidos carboxílicos, foram avaliados os potenciais de 0,48 V (seqüência IV) e 0,50 V (seqüência V), *vs.* eletrodo de Pd; no segundo pulso é aplicado o potencial de 0,10 V (*vs.* Pd) por 50 ms com a finalidade de reduzir a superfície oxidada e remover possíveis produtos de oxidação adsorvidos na superfície do eletrodo; no terceiro aplica-se um pulso mais positivo que o do primeiro estágio por 100 ms para ocorrer a formação de espécies NiOOH, nesse caso estudou-se os potenciais de 0,50 V (seqüência IV) e 0,53 V (seqüência V); e por último, no quarto pulso, aplica-se o mesmo potencial do primeiro estágio por 150 ms para estabilização da superfície do eletrodo.

**Figura 21** – Diferentes seqüências pulsos de potencial aplicadas no NiNPs-BDD.

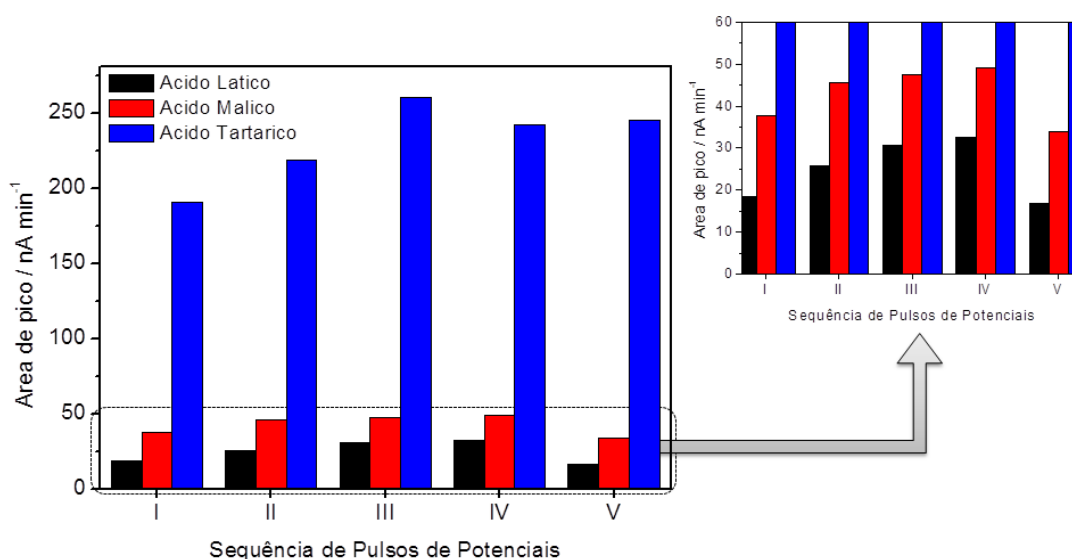


Fonte: elaborado pelo autor.

Na Figura 22, pode-se ver a área de pico dos ácidos láctico málico e tartárico em função da sequência de pulsos de potenciais aplicada. Ao comparar as sequências I, II e III verifica-se que há um aumento das áreas de pico com o aumento do potencial de oxidação aplicado. Quando compara-se as sequências IV e V, as quais são constituídas de quatro pulsos, tem-se que a resposta do ácido tartárico é a mesma para ambos as sequências. No entanto percebe-se que as áreas de pico dos ácidos láctico e málico são maiores quando utiliza-se a sequência de pulso IV (0,48 V por 300 ms; 0,10 V por 50 ms; 0,50 V por 100 ms; 0,48 V por 150 ms) do que a sequência V. Isso pode ser explicado pelo fato do pulso V empregar na etapa de formação das espécies NiOOH o potencial de 0,53 V, o qual esta localizado na região de descarga da água, como pode ser visualizado na Figura 20.

Ao comparar as sequências de pulsos III e IV, constituídas de três e quatro pulsos, respectivamente, que produziram melhores repostas, observa-se que houve um pequeno decréscimo da resposta do ácido tartárico ao utilizar a sequência IV, no entanto, tem-se um ligeiro aumento da resposta dos ácidos láctico e málico ao empregar essa condição quando comparado com a sequência III de três pulsos. Sendo assim, optou-se por trabalhar com o sequência de pulsos de potenciais IV, já que foi essa que gerou a melhor resposta para os ácidos láctico e málico, os quais apresentam menor resposta.

**Figura 22** - Área dos picos dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da sequência de pulso de potencial aplicada.



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.6.3. Otimização da separação cromatográfica

Para o sucesso do desenvolvimento de um método cromatográfico, o estudo dos parâmetros experimentais, tais como, coluna, fase móvel, temperatura e fluxo, é de extrema importância. (25)

Visto que os ácidos carboxílicos são compostos ionizáveis, uma vez que ao perderem o hidrogênio ácido dos grupos carboxílicos transformam-se em ânions (ver estruturas na Figura 4), optou-se por trabalhar com uma coluna de troca aniônica, a coluna DIONEX<sup>®</sup> CarboPac PA1. Na cromatografia de troca aniônica, a separação dos componentes da amostra baseia-se na interação eletrostática destes com os grupos catiônicos da fase estacionária. Para a escolha dessa coluna cromatográfica, também considerou-se a possibilidade de trabalhar com eluentes fortemente básicos, como NaOH, os quais são requeridos para garantir a eletroatividade das nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel.

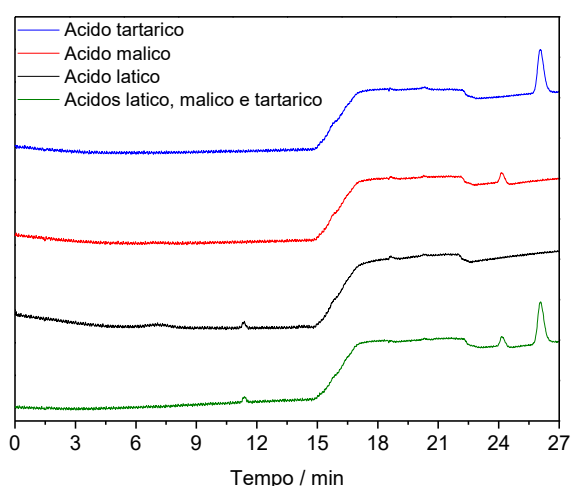
Em geral, a sequência de eluição dos compostos utilizando colunas de troca iônica é relativo ao valor do pKa e ao número de grupos ionizáveis presentes nas estruturas desses compostos. Os ácidos láctico, málico e tartárico apresentam valores de pKa entre 3,40 e 5,20, conseqüentemente em meio alcalino os grupos carboxílicos estão desprotonados, assim como os demais grupos hidroxila (ver estruturas na Figura 4), possibilitando a eluição seletiva como ânions na cromatografia de troca aniônica de alto desempenho.

Devido à alta afinidade dos ácidos carboxílicos pela fase estacionária da coluna de troca aniônica, a separação cromatográfica desses compostos em tempo de análise conveniente requer eluentes que interajam mais fortemente com a coluna que o NaOH empregado na separação de carboidratos, como é o caso do acetato de sódio. (34, 36) Para a separação dos ácidos láctico, málico e tartárico na amostra de vinhaça de cana-de-açúcar foi necessário trabalhar com o modo gradiente de eluição, uma vez que a afinidade de cada um dos ácidos carboxílicos pela fase estacionária é bastante diferente, visto que os ácidos málico e tartárico são di-carboxílicos e o ácido láctico é mono-carboxílico.

A Figura 23 mostra o cromatograma obtido pela injeção de uma solução de mistura de padrões contendo  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico,  $7,5 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, bem como os cromatogramas obtidos pela injeção de cada um dos ácidos separadamente. Comparando os cromatogramas é possível observar que o ácido láctico é o primeiro a eluir ( $t_R = 11,31$  min), seguido dos ácidos málico ( $t_R = 24,10$  min) e tartárico ( $t_R = 26,06$  min). O menor tempo de retenção do ácido láctico em relação aos demais

ácidos pode ser explicado pelo fato do ácido láctico ser mono-carboxílico, já os ácidos málico e tartárico eluem em um tempo maior por serem di-carboxílicos, ou seja, possuem um grupo carboxílico a mais para interagir com a fase estacionária. O ácido tartárico elui em um tempo de retenção maior que o ácido málico por possuir um grupo hidroxila a mais em relação a esse (ver Figura 4).

**Figura 23** - Cromatogramas obtidos para uma mistura de padrões contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico e, pela injeção de cada um dos ácidos separadamente. Coluna: DIONEX® CarboPac PA1. Eluentes: A- NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em  $\text{CH}_3\text{COONa } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$ ; B – água deionizada. Gradiente: 0-1 min: 5% A; 1-12 min: 5-17% A; 12-14 min: 17-100% A; 14-27 min: 100% A; fluxo:  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura do forno da coluna:  $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .



Fonte: elaborado pelo autor.

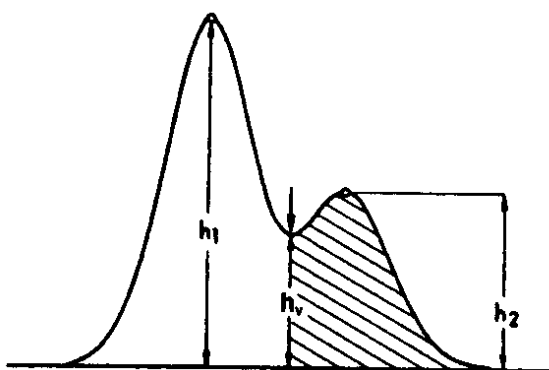
No desenvolvimento de um método cromatográfico, um dos principais objetivos é alcançar uma separação aceitável dos componentes de interesse da amostra no menor tempo de análise possível. O parâmetro cromatográfico que avalia a separação de dois picos adjacentes é a resolução ( $R_s$ ), a qual pode ser calculada pela Equação 10: (25,135)

$$R_s = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2} \quad (\text{Equação 10})$$

onde,  $t_{R_1}$  e  $t_{R_2}$  são os tempos de retenção do primeiro e segundo picos adjacentes e  $W_1$  e  $W_2$  são as larguras das bases desses picos. Quando  $R_s = 1,0$ , os dois picos estão razoavelmente separados e, a separação até a linha base corresponde a  $R_s > 1,5$ . (25) No entanto, uma limitação dessa equação é que ela pode ser empregada somente quando os picos estão

separados até a linha base do cromatograma. (135) Nos casos nos quais a Equação 10 não pode ser usada, a resolução cromatográfica pode ser estimada por intermédio de cálculos baseados na altura do vale entre dois picos adjacentes, o qual fornece valores mais precisos para  $0,8 < R_s < 1,5$ .(135) A Figura 24 ilustra como a altura do vale entre dois picos adjacentes ( $h_v$ ) pode ser medida e a Tabela 4 mostra a resolução estimada a partir de diferentes valores de  $h_v$  e relação entre a altura dos dois picos ( $h_1/h_2$ ).

**Figura 24** - Esquema para medida da altura dos picos e do vale entre eles.



Fonte: Snyder; Kirkland; Glajch (135).

**Tabela 4** - Resolução estimada a partir da altura do vale entre dois picos adjacentes.

$h_v^*$ (%)	$R_s$ para relação entre a altura dos picos adjacentes				
	1/1	2/1	4/1	8/1	16/1
3	1,46	1,50	-	-	-
5	1,35	1,42	1,48	1,52	-
8	1,26	1,33	1,40	1,45	-
10	1,22	1,29	1,35	1,41	1,47
15	1,14	1,21	1,27	1,33	1,39
20	1,07	1,15	1,21	1,27	1,33
30	0,97	1,06	1,12	1,19	1,24
40	0,90	0,98	1,06	1,12	1,18
50	0,83	0,92	1,00	1,07	1,12
60	0,78	0,87	0,95	1,02	1,08
70	0,73	0,82	0,90	0,97	1,03
80	0,68	0,78	0,86	0,93	0,99

Fonte: Snyder; Kirkland; Glajch (135).

\* A porcentagem de  $h_v$  é calculada em relação a altura do menor pico.

Visto a complexidade composicional da vinhaça de cana-de-açúcar, (8,12–14,24) a otimização da separação dos ácidos láctico, málico e tartárico foi realizada empregando-se a amostra e comparando-se com uma mistura de padrões dos três ácidos, a fim de identificar dentre os componentes da amostra, os picos correspondentes a cada um dos compostos de interesse.

A fim de obter a melhor separação dos ácidos carboxílicos de interesse na vinhaça de cana-de-açúcar no menor tempo de análise, foram estudados seis condições de separação. Nelas, foram avaliados diferentes programas de gradiente e diferentes composições de fase móvel (ver Figura 25) com fluxo de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$  e temperatura do forno da coluna de  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . As fases móveis empregadas foram constituídas de misturas de dois eluentes:

- eluentes A:  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH em  $\text{CH}_3\text{COONa } 0,28 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH em  $\text{CH}_3\text{COONa } 0,20 \text{ mol L}^{-1}$  e  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH em  $\text{CH}_3\text{COONa } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$

- eluente B: água deionizada.

Inicialmente quatro programas de gradiente (condições I, II, III e IV), utilizando como eluente A a solução de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH em  $\text{CH}_3\text{COONa } 0,28 \text{ mol L}^{-1}$  foram avaliados. Na condição I foi utilizado um gradiente, no qual a primeira etapa é isocrática com 5% de eluente A; em seguida a proporção desse eluente é aumentada para 100% e mantida nessa proporção por 9 min. Já, as condições II, III e IV possuem uma programação de gradiente diferente, na qual a primeira etapa é isocrática com 0% de A (condições II e III) ou 5% (condição IV) por um minuto; em seguida é realizado um gradiente lento aumentando a proporção de B para 30% na condição II (2,0% por minuto), para 25% na condição III (1,6% por minuto) e para 17% na condição IV (1% por minuto). Na sequência, a proporção de A é aumentada para 100% rapidamente e mantida nesse valor por alguns minutos. Os tempos de retenção de cada ácido carboxílico e resolução dos pares de picos nos cromatogramas obtidos pela injeção da amostra foram avaliados nas quatro condições estudadas e são mostrados na Tabela 4. É possível observar que os menores tempos de retenção foram atingidos na condição IV, sendo  $t_{R\text{láctico}} = 10,60 \text{ min}$ ,  $t_{R\text{málico}} = 21,12 \text{ min}$  e  $t_{R\text{tartárico}} = 22,80 \text{ min}$ . Pelos valores de resolução, observa-se que os ácidos málico e tartárico foram separados até a linha base nas quatro condições estudadas, uma vez que  $R_s > 1,5$ . No entanto, observa-se que a separação entre o ácido láctico e os compostos *a* (composto que elui anteriormente ao ácido láctico na amostra) e *b* (composto que elui posteriormente ao ácido láctico na amostra) não foi satisfatória na condição I, uma vez que as resoluções foram menores que 1. Nas condições II, III e IV, nas quais o ácido láctico elui na etapa do gradiente onde há um aumento lento da

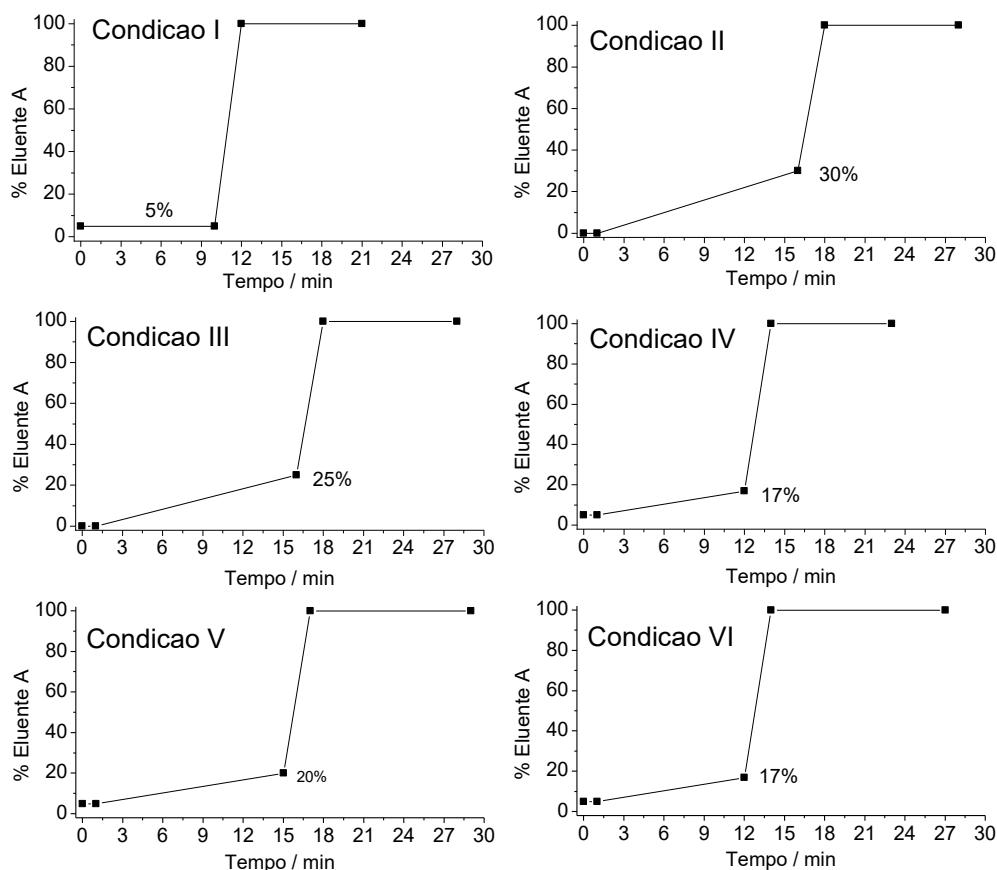
proporção do eluente A, observou-se uma melhora na separação, sendo que a condição IV foi a que gerou resoluções mais próximas de um ou maiores que um. Isso pode ser explicado pelo fato do gradiente na região de eluição do ácido láctico ser mais lento na condição IV do que nas demais condições, possibilitando uma maior interação dos compostos com a fase estacionária e conseqüentemente uma melhor separação.

Apesar de ter alcançado uma separação efetiva dos ácidos málico e tartárico nas quatro condições estudadas inicialmente, a separação do ácido láctico se mostrou mais complexa, sendo assim foram estudadas outras duas condições (V e VI) com o intuito de melhorar a separação desse composto.

A fim de avaliar a influência da concentração de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  no eluente A na separação do ácido láctico, foram estudadas outras duas composições desse eluente:  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{NaOH}$  em  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,20 \text{ mol L}^{-1}$  (condição V) e  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{NaOH}$  em  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  (condição VI). A programação de gradiente empregada nessas condições foi semelhante à utilizada na condição IV (ver Figura 25), uma vez que essa produziu uma melhor separação do ácido láctico, dentre as condições estudadas inicialmente. Comparando a condição V com a IV, é possível observar na Tabela 5 o aumento dos tempos de retenção, o que era esperado já que a concentração de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  diminuiu para  $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ . Observa-se também, que a separação entre o componente *a* da amostra e o ácido láctico foi menos efetiva utilizando  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,20 \text{ mol L}^{-1}$  (condição V) do que  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,28 \text{ mol L}^{-1}$  (condição IV), o que pode ser notado pela diminuição da resolução de 1,00 para 0,71. No entanto, na condição IV foi possível obter uma separação até a linha base entre o ácido láctico e o componente *b*, já que  $R_s > 1,5$ .

Um vez que a diminuição da concentração de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  de  $0,28 \text{ mol L}^{-1}$  para  $0,20 \text{ mol L}^{-1}$  causou uma melhora na separação entre os picos do componente *b* e do ácido láctico, mas piorou a separação entre este e o componente *a* da amostra, optou-se por trabalhar com uma concentração intermediária de  $\text{CH}_3\text{COONa}$ . Para isso, utilizou-se o eluente A composto por  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{NaOH}$  em  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  (condição VI). Nessa condição, a separação entre o ácido láctico e o componente *a* foi satisfatória, uma vez que a resolução foi de 1,07, e pôde-se separar até a linha base os picos do ácido láctico e do componente *b*, sendo a resolução de 1,58 (ver Tabela 5).

**Figura 25** - Programação de gradiente utilizando como eluente A as soluções: 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em CH<sub>3</sub>COONa 0,28 mol L<sup>-1</sup> (condições I, II, III e IV); 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em CH<sub>3</sub>COONa 0,20 mol L<sup>-1</sup> (condição V); e 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em CH<sub>3</sub>COONa 0,25 mol L<sup>-1</sup> (condição VI). Eluente B: água deionizada. Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Tabela 5** - Tempos de retenção dos ácidos láctico, málico e tartárico e resolução dos pares de pico em cada condição cromatográfica estudada.

Condição	t <sub>R</sub> / min			R <sub>s</sub> dos pares de picos		
	Lático	Málico	Tartárico	R <sub>s</sub> a, láctico	R <sub>s</sub> láctico, b	R <sub>s</sub> málico, tartárico
I	12,82	19,19	20,51	0,78 <sup>***</sup>	0,80 <sup>***</sup>	3,77
II	11,81	24,76	26,44	1,07 <sup>***</sup>	0,93 <sup>***</sup>	4,15
III	12,66	24,96	26,65	1,94 <sup>***</sup>	0,90 <sup>***</sup>	3,80
IV	10,60	21,12	22,80	1,00 <sup>***</sup>	1,31 <sup>***</sup>	4,42
V	12,56	26,40	28,49	0,71 <sup>***</sup>	1,62	5,24
VI	11,31	24,10	26,06	1,07 <sup>***</sup>	1,58	4,37

Fonte: elaborado pelo autor.

\* Resolução entre o pico do ácido láctico e o pico do componente que elui anteriormente a ele na amostra (a).

\*\* Resolução entre o pico do ácido láctico e o pico do componente que elui posteriormente a ele na amostra (b).

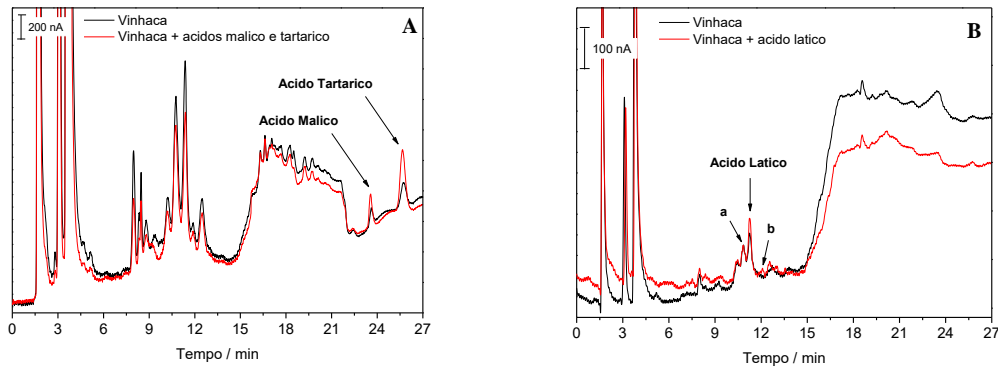
\*\*\* Resolução estimada por intermédio de cálculos baseados na altura do vale entre os picos adjacentes.

Com o gradiente e composição da fase móvel da condição VI avaliou-se também o fluxo de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$  e a temperatura do forno da coluna de  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ , a fim de avaliar se esses parâmetros experimentais gerariam alguma melhora na separação do ácido láctico. No entanto, observou-se que a diminuição do fluxo da fase móvel acarretou o aumento dos tempos de retenção conforme o esperado, mas não ocasionou aumento das resoluções. A mudança de temperatura do forno da coluna não interferiu significativamente nos tempos de retenção e valores de resolução. Sendo assim, a condição VI constituída das fases móveis  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH em  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  (eluente A) e água deionizada (eluente B) sob fluxo de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ , programa de gradiente: 0-1 min: 5% A; 1-12 min: 5-17% A; 12-14 min: 17-100% A; 14-27 min: 100% A; e temperatura do forno da coluna de  $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$ , foi utilizada nos estudos seguintes. Vale salientar que um fluxo  $0,3 \text{ mL min}^{-1}$  de NaOH  $0,40 \text{ mol L}^{-1}$  na bomba pós coluna foi utilizado durante todo o tempo de análise a fim de manter a força iônica constante na célula amperométrica e garantir o meio adequadamente básico para a eletroatividade das nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel.

Nas condições otimizadas de separação, foram obtidos cromatogramas da amostra de vinhaça de cana-de-açúcar e da vinhaça enriquecida com padrões dos ácidos láctico, málico e tartárico. A Figura 26-A mostra os cromatogramas obtidos pela injeção da amostra de vinhaça de cana-de-açúcar diluída em cinco vezes e da amostra diluída e enriquecida com  $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico ( $t_{R_{\text{málico}}} = 23,60 \text{ min}$ ) e  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico ( $t_{R_{\text{tartárico}}} = 25,70$ ). É possível observar que os tempos de retenção desses ácidos apresentaram uma ligeira diminuição em relação àqueles obtidos na injeção de soluções padrões (ver Figura 23), no entanto, essa mudança pode ser atribuída ao efeito da matriz. Ao comparar os cromatogramas obtidos pela injeção da amostra diluída e pela injeção da amostra diluída e enriquecida com os padrões dos dois ácidos, é possível verificar um aumento das áreas de pico, o que confirma que tais picos na amostra são referentes aos ácidos málico e tartárico.

A Figura 26-B mostra os cromatogramas obtidos pela injeção da amostra de vinhaça de cana-de-açúcar diluída em oitenta vezes e da amostra diluída e enriquecida com  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico. Foi necessário diluir a amostra oitenta vezes por causa da alta concentração de ácido láctico na vinhaça, a qual estaria fora do intervalo linear de resposta. Ao comparar os cromatogramas obtidos pela injeção da amostra diluída e pela injeção da amostra diluída e enriquecida com o padrão de ácido láctico, é possível verificar um aumento da área de pico, o que confirma que o pico com  $t_R = 11,31 \text{ min}$  na amostra é referente ao ácido láctico.

**Figura 26** - (A) Cromatogramas obtidos pela injeção da vinhaça diluída em cinco vezes e da vinhaça diluída e enriquecida com  $5,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico. (B) Cromatogramas obtidos pela injeção da vinhaça diluída em oitenta vezes e da vinhaça diluída e enriquecida com  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico.

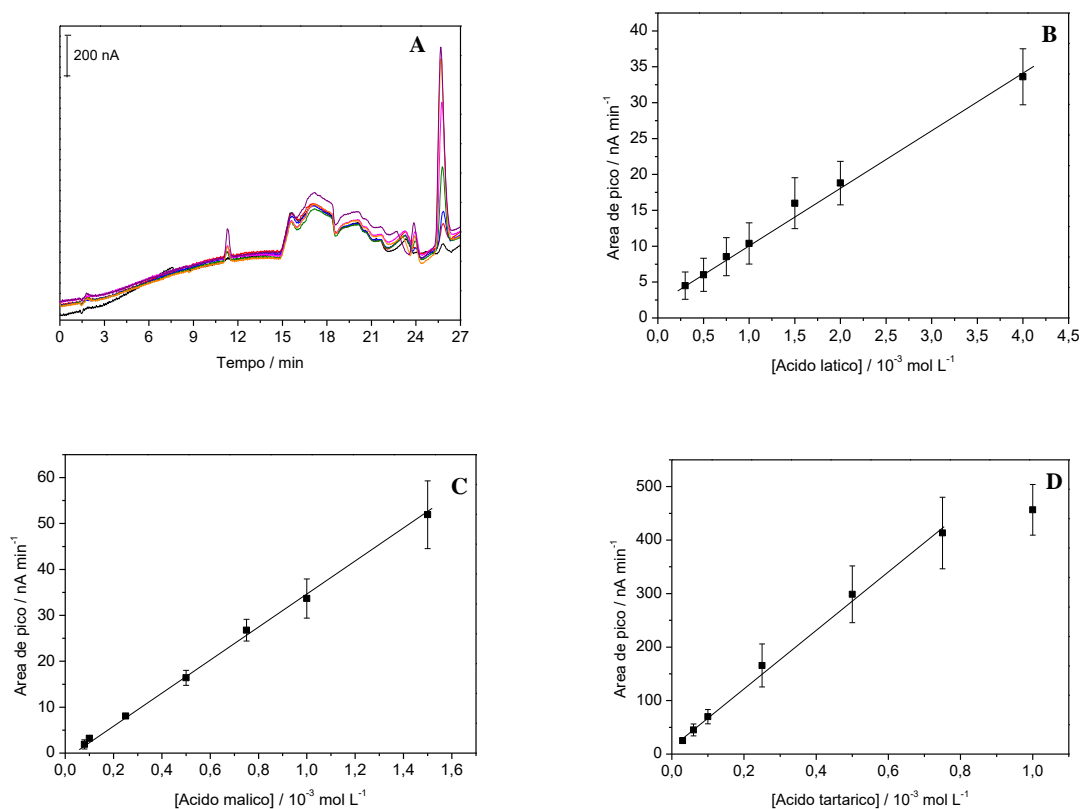


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.6.4. Curvas Analíticas

Após a otimização das condições cromatográficas, curvas analíticas dos três ácidos de interesse foram construídas para avaliar os parâmetros analíticos da técnica. Para isso foram preparadas misturas de soluções padrões dos três ácidos nas concentrações de  $3,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> a  $4,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico,  $8,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> a  $1,5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e  $4,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico. A Figura 27-A mostra os cromatogramas obtido nas diferentes concentrações. Por meio dessa figura pode-se observar o aumento das áreas de pico com o aumento da concentração dos padrões. Os ruídos observados após 15 min são atribuídos à composição da fase móvel nessa etapa do gradiente (100% 0,10 mol L<sup>-1</sup> de NaOH em CH<sub>3</sub>COONa 0,25 mol L<sup>-1</sup>). As Figuras 27-B, 27-C e 27-D apresentam as curvas analíticas para os ácidos láctico, málico e tartárico, respectivamente. Na Tabela 6 encontram-se a região linear de resposta de cada ácido, o LD, a sensibilidade analítica e o coeficiente de correlação.

**Figura 27** - Cromatogramas dos ácidos carboxílicos em diferentes concentrações (A) e relação entre as áreas dos picos e a concentração dos ácidos láctico (B), málico (C) e tartárico (D).



Fonte: elaborado pelo autor.

**Tabela 6** - Figuras de mérito para a detecção dos ácidos carboxílicos utilizando técnica de CLAE-PAD com eletrodo de NiNPs-BDD.

Ácido	Intervalo linear de resposta (mol L <sup>-1</sup> )	LD* (mol L <sup>-1</sup> )	Sensibilidade (nA L mol <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
Láctico	$3,0 \times 10^{-4} - 4,0 \times 10^{-3}$	$1,2 \times 10^{-4}$	$7,5 \times 10^3$	0,995
Málico	$8,0 \times 10^{-5} - 1,5 \times 10^{-3}$	$6,1 \times 10^{-5}$	$3,5 \times 10^4$	0,997
Tartárico	$4,0 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-3}$	$2,8 \times 10^{-5}$	$5,4 \times 10^5$	0,996

Fonte: elaborado pelo autor.

\* Definido como  $3 \times$  desvio da curva/sensibilidade. (134)

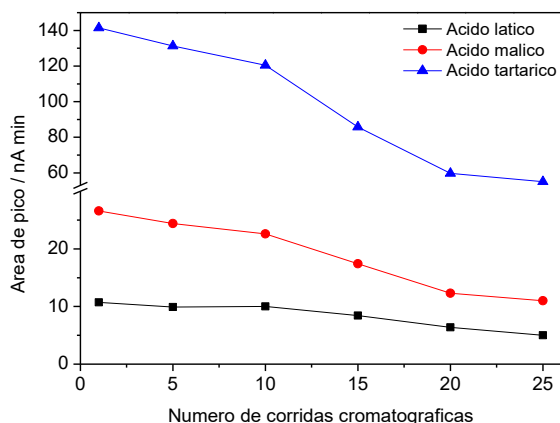
#### 4.2.6.5. Estabilidade do eletrodo NiNPs-BDD nas condições cromatográficas

Em fluxo, o impacto da fase móvel na superfície do eletrodo dentro da célula amperométrica do cromatógrafo pode causar lixiviação da modificação, ocasionando assim a

perda da resposta analítica com o tempo de análise. Dessa forma, é de extrema importância a avaliação da estabilidade do eletrodo.

Foi avaliada a estabilidade do eletrodo de NiNPs-BDD nas condições cromatográficas, sob fluxo de  $1,3 \text{ mL min}^{-1}$ , uma vez que esse é o fluxo resultante da soma fluxos provenientes da coluna cromatográfica ( $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ) e da bomba pós coluna ( $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ ). Foram realizadas 25 corridas cromatográficas em sequência, a partir da injeção de uma solução de mistura de padrões contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico. As áreas de pico de cada um dos ácidos foram avaliadas em função do número de corridas cromatográficas e podem ser visualizadas na Figura 28. É possível notar que a resposta do eletrodo é estável até a décima corrida cromatográfica (5,8 h de análise), uma vez que houve uma queda das áreas de pico inferior a 15%. A partir da décima corrida, as respostas apresentam um decaimento mais pronunciado, sendo que em 25 corridas observou-se uma diminuição das áreas de pico superiores a 50%. Sendo assim, é possível concluir que o eletrodo de NiNPs-BDD pode ser utilizado por dez corridas cromatográficas sem perda significativa da resposta.

**Figura 28** - Áreas de pico dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do número de corridas cromatográficas.



Fonte: elaborado pelo autor.

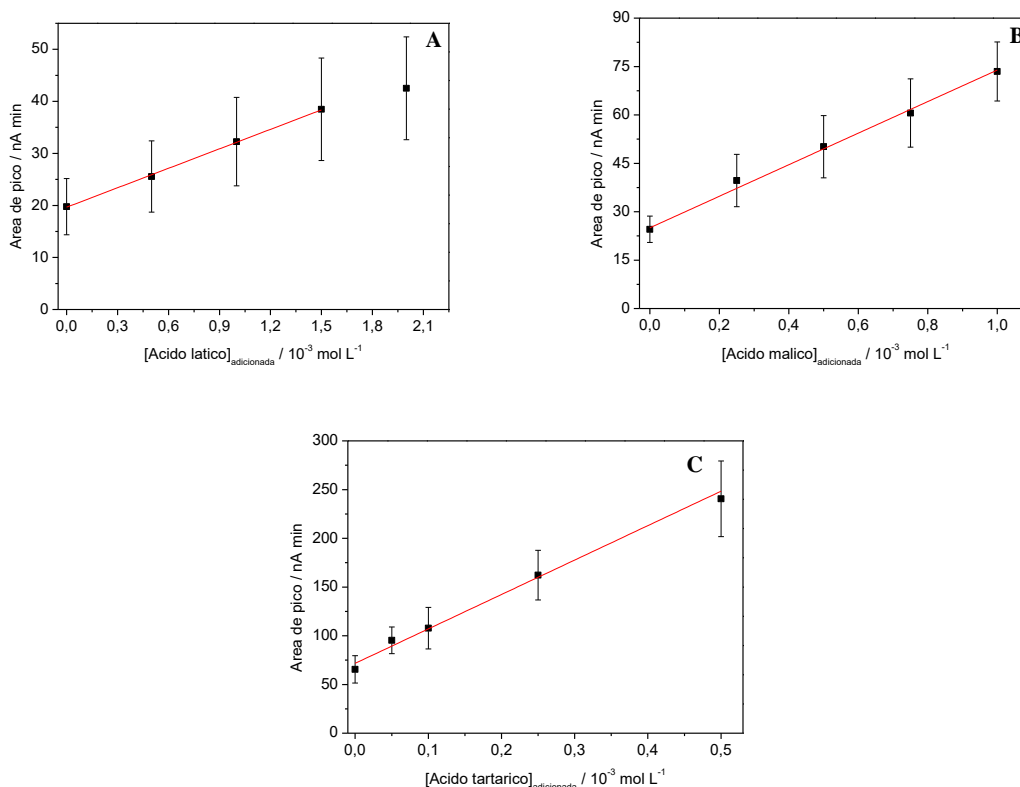
#### 4.2.6.6. Determinação dos ácidos carboxílicos em vinhaça de cana-de-açúcar

O método utilizado para determinar a concentração dos ácidos carboxílicos na amostra de vinhaça de cana-de-açúcar foi o método de adição de padrão, uma vez que esse elimina ou minimiza as interferências introduzidas por matrizes complexas, como a vinhaça de cana-de-

açúcar. Experimentalmente, o método de adição de padrão consiste na adição de quantidades conhecidas do analito na amostra. Em seguida, constrói-se uma curva relacionando as quantidades da substância adicionada à amostra e o sinal analítico, que no caso da técnica de cromatografia é a área de pico. A extrapolação da reta define, no eixo das abscissas a concentração da substância analisada.

Devido às altas concentrações dos ácidos carboxílicos na amostra, foi necessário diluir a amostra oitenta vezes para a realização da adição de padrão do ácido láctico e, cinco vezes para as adições de padrões dos ácidos málico e tartárico. As Figuras 29-A, 29-B e 29-C mostram as curvas de adição de padrão (n=3) dos ácidos láctico, málico e tartárico, respectivamente. Com a extrapolação da reta até o eixo das abscissas e levando em consideração as diluições, foram encontradas as concentrações de  $(1,2 \pm 0,3) \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $(2,7 \pm 0,6) \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $(9,9 \pm 1,0) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico, as quais são equivalentes a  $(10,8 \pm 2,7) \text{ g L}^{-1}$  de ácido láctico,  $(0,36 \pm 0,08) \text{ g L}^{-1}$  de ácido málico e  $(0,15 \pm 0,01) \text{ g L}^{-1}$  de ácido tartárico. Os valores de concentração dos três ácidos na amostra de vinhaça de cana-de-açúcar utilizada são próximos daqueles relatados na literatura (Tabela 1).

**Figura 29** - Curvas de adição de padrão (n=3) para os ácidos láctico (A), málico (B) e tartárico (C), utilizando o eletrodo de NiNP-BDD como detector amperométrico em CLAE.



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.2.6.7. Estudo de recuperação

O ensaio de recuperação constitui um dos métodos mais utilizados para validação de processos analíticos e está relacionado à exatidão do método. (136) O ensaio de recuperação consiste na adição de uma quantidade conhecida de analito à amostra para testar se a resposta da amostra corresponde ao esperado a partir da curva de calibração. Para o cálculo da recuperação, a concentração encontrada é dividida pelo valor efetivamente adicionado e multiplicado por cem, obtendo-se assim a percentagem de recuperação. Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até  $\pm 20\%$ . O coeficiente de variação (CV) é o desvio padrão expresso como uma porcentagem da média e é considerado pequeno quando foi inferior ou igual a 25%. (136) O teste t de Student pode ser realizado em complemento para verificar se existe diferença entre a concentração recuperada e a concentração adicionada à amostra. Para isso, calcula-se o valor de t com base na média das concentrações recuperadas e nos valores de desvio padrão e, compara-se esse valor com  $t_{\text{crítico}}$ , o qual é tabelado. Se  $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$ , então considera-se que a concentração recuperada é estatisticamente igual à concentração adicionada à amostra. (137)

Para a validação do método por recuperação, a amostra de vinhaça de cana-de-açúcar foi enriquecida com três diferentes concentrações dos ácidos láctico, málico e tartárico. As concentrações recuperadas, bem como as porcentagens de recuperação, os valores de CV e  $t_{\text{calculado}}$  são apresentados na Tabela 7. Os resultados obtidos se encontram dentro da faixa aceitável de recuperação, uma vez que as recuperações para os três ácidos carboxílicos variaram entre 97,4% e 107,6%. Os valores de  $t_{\text{calculado}}$  foram menores que o valor de  $t_{\text{crítico}}$ , o qual é igual a 4,3 (95%; n=3), ou seja as concentrações recuperadas dos três ácidos foram estatisticamente iguais às concentrações adicionadas à amostra, com o nível de confiança de 95%. Sendo assim, o ensaio de recuperação mostrou que o método analítico desenvolvido pode ser considerado adequado para a detecção dos ácidos láctico, málico e tartárico em vinhaça de cana-de-açúcar.

**Tabela 7** - Resultados de recuperação dos ácidos láctico, málico e tartárico na técnica de CLAE utilizando NiNPs-BDD.

Ácido	Concentração	Concentração	Recuperação (%)	CV (%)	$t_{\text{calculado}}$
	Adicionada (mol L <sup>-1</sup> )	Média Recuperada (mol L <sup>-1</sup> )			
<b>Láctico</b>	$5,00 \times 10^{-4}$	$5,12 \times 10^{-4}$	$102,3 \pm 1,9$	1,8	1,3
	$1,00 \times 10^{-3}$	$1,02 \times 10^{-3}$	$102,2 \pm 4,6$	4,5	1,0
	$1,50 \times 10^{-3}$	$1,52 \times 10^{-3}$	$101,0 \pm 4,6$	4,6	0,5
<b>Málico</b>	$5,00 \times 10^{-4}$	$5,15 \times 10^{-4}$	$103,1 \pm 6,8$	6,6	1,0
	$7,50 \times 10^{-4}$	$7,31 \times 10^{-4}$	$97,5 \pm 2,3$	2,4	2,3
	$1,00 \times 10^{-3}$	$1,01 \times 10^{-3}$	$100,1 \pm 3,3$	3,3	0,1
<b>Tartárico</b>	$1,00 \times 10^{-4}$	$1,08 \times 10^{-4}$	$107,6 \pm 4,0$	3,7	4,1
	$2,50 \times 10^{-4}$	$2,64 \times 10^{-4}$	$105,5 \pm 2,9$	2,7	4,1
	$5,00 \times 10^{-4}$	$4,87 \times 10^{-3}$	$97,4 \pm 1,0$	1,0	4,2

Fonte: elaborado pelo autor.

### 4.3. Eletrodo de BDD modificado com óxido de cobre

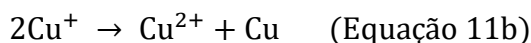
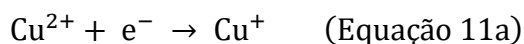
Nessa subseção, a preparação do eletrodo de CuNPs-BDD e sua caracterização morfológica, química e eletroquímica serão apresentadas. Serão discutidos também os comportamentos voltamétricos dos ácidos láctico, málico e tartárico no CuNPs-BDD, bem como a resposta amperométrica deles. Por fim, serão apresentados os resultados obtidos pelo emprego do CuNPs-BDD no detector amperométrico para CLAE.

#### 4.3.1. Eletromodificação do eletrodo de BDD com óxido de cobre

Dentre as técnicas de modificação de eletrodos, a eletrodeposição foi escolhida por ser rápida, fácil e apresentar boa reprodutibilidade, uma vez que os parâmetros de eletrodeposição, como potencial, tempo/carga, concentração do íon metálico em solução e meio de eletrodeposição, são fatores são controláveis. (123) Existem na literatura vários trabalhos relatando com sucesso a modificação da superfície do BDD com nanopartículas de cobre por eletrodeposição. (96,97,138,139)

No mecanismo de eletrodeposição do cobre metálico, a primeira etapa é a redução dos íons  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^+$ , como descrito na Equação 11a. Em seguida as espécies  $\text{Cu}^+$  podem sofrer um

desproporcionamento gerando cobre metálico e  $\text{Cu}^{2+}$  (Equação 11b). Simultaneamente, as espécies  $\text{Cu}^{2+}$  podem sofrer a redução direta a cobre metálico, como mostra a Equação 11c. (97)



O procedimento para a modificação da superfície do BDD com nanopartículas de óxido de cobre foi semelhante ao descrito por Beluomini et al, (34) com algumas modificações. Os parâmetros potencial de eletrodeposição, eletrólito, concentração dos íons  $\text{Cu}^{2+}$  em solução e carga eletrodepositada foram otimizados a fim de se obter a melhor resposta amperométrica para os ácidos láctico, málico e tartárico. Tais parâmetros estão relacionados com o processo de nucleação das nanopartículas de cobre e por isso influenciam no seu tamanho e forma, (97) interferindo assim na atividade eletrocatalítica do metal sobre oxidação dos compostos de interesse.

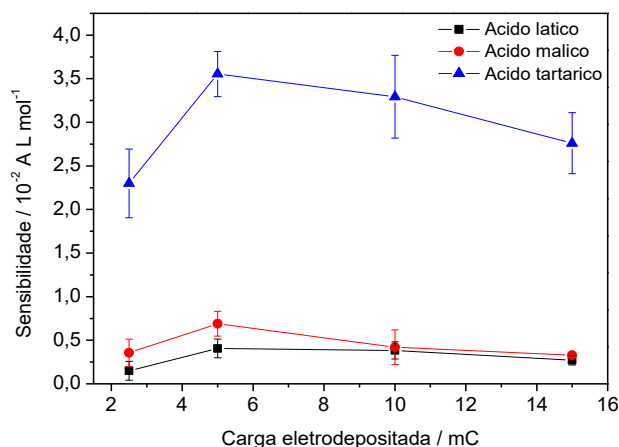
#### 4.3.1.1. Influência da carga eletrodepositada

Estudou-se a influência da carga de cobre eletrodepositada na superfície do BDD sobre a resposta amperométrica dos ácidos láctico, málico e tartárico por meio da sensibilidade analítica. As eletrodeposições foram realizadas em solução de cloreto de cobre de concentração de  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  até que carga de interesse fosse atingida. Posteriormente, o eletrodo foi removido para um solução  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH, onde realizou-se 30 ciclos sucessivos de potencial no intervalo de  $-0,5$  a  $0,80 \text{ V}$  (vs. Ag/AgCl) a  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Os experimentos foram realizados em triplicata e a sensibilidade analítica média obtida pela técnica de amperometria, para cada ácido carboxílico em cada condição de eletromodificação, foi avaliada.

A Figura 30 mostra a sensibilidade média em função da carga de cobre eletrodepositada. É possível observar que a sensibilidade para os três ácidos tem um aumento de quase duas vezes quando a carga de eletrodeposição aumenta de  $2,5 \text{ mC}$  para  $5 \text{ mC}$ , já quando a carga é aumentada para  $10 \text{ mC}$  e  $15 \text{ mC}$ , a sensibilidade dos três ácidos carboxílicos sofre uma diminuição. Esse comportamento é esperado porque quando aumenta-se a carga de

eletrodeposição, partículas maiores de cobre são produzidas, podendo afetar o efeito de aumento de área superficial das nanopartículas e as propriedades de adsorção dos compostos na superfície do cobre. Sendo assim, a carga de eletrodeposição de 5 mC foi utilizada nos estudos posteriores.

**Figura 30** - Sensibilidade analítica (n=3) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da carga de níquel eletrodepositada na superfície do BDD.

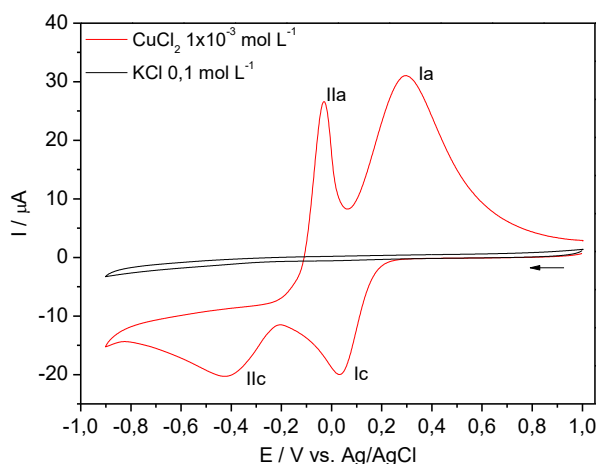


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.3.1.2. Influência do potencial de eletrodeposição

Em seguida, foi avaliada a influência do potencial de redução para a eletrodeposição do cobre na superfície do BDD. Esse é um importante parâmetro porque pode afetar a forma das nanopartículas metálicas. Para a escolha dos potenciais a serem estudados, foi primeiramente realizada uma voltametria cíclica entre 1,00 V e -0,90 V (*vs.* Ag/AgCl) a 20 mV s<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> contendo 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> CuCl<sub>2</sub>, a qual pode ser vista na Figura 31, e comparada com o voltamograma somente em eletrólito de suporte. Em solução de CuCl<sub>2</sub> é possível observar a presença de dois pares redox. O pico Ic pode ser atribuído à redução dos íons Cu<sup>2+</sup> em Cu<sup>1+</sup> na superfície do eletrodo e, posterior oxidação das espécies Cu<sup>1+</sup> em Cu<sup>2+</sup> (Ia). Já o pico IIc se refere a redução do Cu<sup>1+</sup> a cobre metálico e o pico IIa é atribuído à oxidação do cobre metálico à Cu<sup>1+</sup>. (140) Sendo assim, é possível inferir que para que haja a eletrodeposição de cobre metálico na superfície do BDD deve ser aplicado um potencial mais negativo que -0,40 V (*vs.* Ag/AgCl).

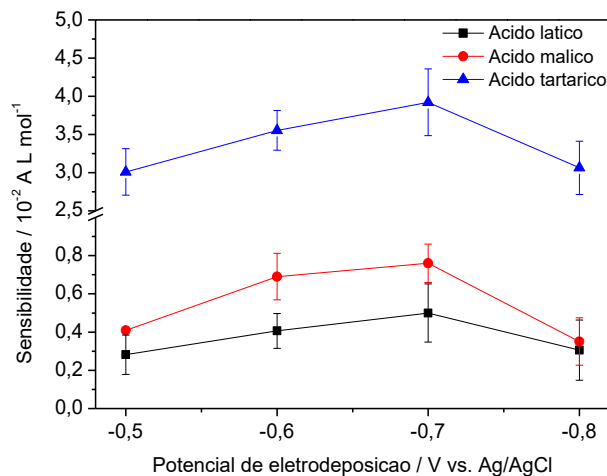
**Figura 31** - Voltamogramas cíclicos em  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de KCl contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{CuCl}_2$ , a  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , utilizando o eletrodo de BDD.



Fonte: elaborado pelo autor.

A Figura 32 mostra como a sensibilidade dos três compostos de interesse variou em função do potencial de eletrodeposição aplicado, sendo o potencial de  $-0,70 \text{ V}$  (vs. Ag/AgCl) o que gerou nanopartículas com maior eletroatividade para os compostos em questão. Em potenciais mais anódicos pode ocorrer a formação de nanopartículas irregulares e em potenciais mais catódicos o tamanho das nanopartículas pode aumentar gerando um recobrimento mais espesso da superfície, o que diminui a eletroatividade.

**Figura 32** - Sensibilidade analítica ( $n=3$ ) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do potencial de eletrodeposição.

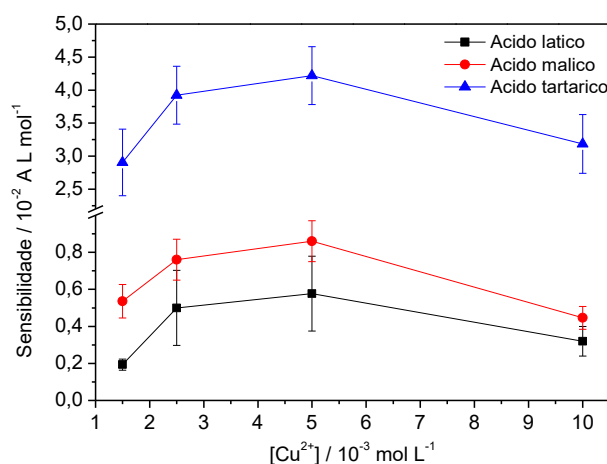


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.3.1.3. Influência da concentração de íons $\text{Cu}^{2+}$ na solução de eletrodeposição

As nanopartículas de cobre foram eletrodepositadas em soluções de diferentes concentrações de  $\text{CuCl}_2$  em  $\text{KCl}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , sob o potencial de  $-0,70 \text{ V}$  (vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ) até que a carga de  $5 \text{ mC}$  fosse atingida. Os experimentos foram realizados em triplicata e a sensibilidade analítica média obtida pela técnica de amperometria, para cada ácido carboxílico em cada condição de eletromodificação, foi avaliada. O gráfico da Figura 33 apresenta a sensibilidade analítica média dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da concentração de íons  $\text{Cu}^{2+}$ . É possível observar que há um aumento da sensibilidade com o aumento da concentração até  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , já quando a concentração é aumentada para  $10,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  a sensibilidade dos ácidos láctico e málico teve uma queda de quase 50% e a sensibilidade do ácido tartárico um queda de 25%. Esse comportamento pode estar relacionado com o fato de que altas concentrações de íons cobre em solução produzirem partículas maiores na superfície do BDD, o que faz com que a propriedade do nanomaterial seja diminuída. Sendo assim, a concentração de  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  foi escolhida para a realização dos experimentos posteriores.

**Figura 33** - Sensibilidade analítica ( $n=3$ ) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função da concentração de íons  $\text{Cu}^{2+}$ .

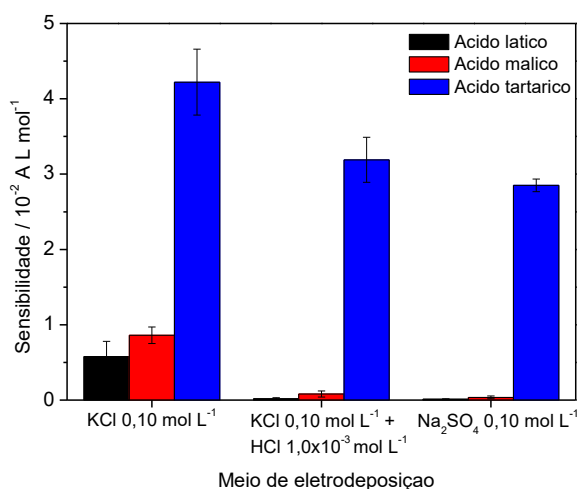


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.3.1.4. Influência do meio de eletrodeposição das nanopartículas de cobre

O meio de eletrodeposição das nanopartículas de cobre é um importante parâmetro experimental a ser considerado, uma vez que pode afetar o processo de nucleação das nanopartículas, bem como o seu mecanismo de eletrodeposição. (97) Sendo assim, baseado na literatura, (34,96,97,138) a eletrodeposição das nanopartículas de cobre foi estudada em três diferentes meios: KCl 0,10 mol L<sup>-1</sup>, HCl 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> em KCl 0,10 mol L<sup>-1</sup> e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram realizados em triplicata e a sensibilidade analítica média obtida pela técnica de amperometria, para cada ácido carboxílico em cada condição de eletromodificação, foi avaliada. Como mostrado na Figura 34, a eletrodeposição em meio de KCl 0,10 mol L<sup>-1</sup> produziu nanopartículas pronunciadamente mais sensíveis aos três ácidos carboxílicos do que os outros dois meios, sendo assim esse eletrólito continuou a ser utilizado para a modificação da superfície do BDD com cobre.

**Figura 34** - Sensibilidade analítica (n=3) dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do meio eletrodeposição do cobre na superfície do BDD.

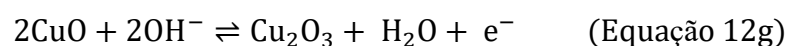
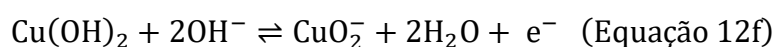
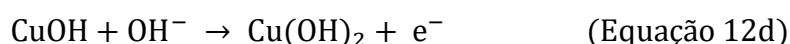
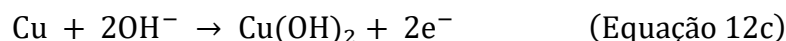


Fonte: elaborado pelo autor.

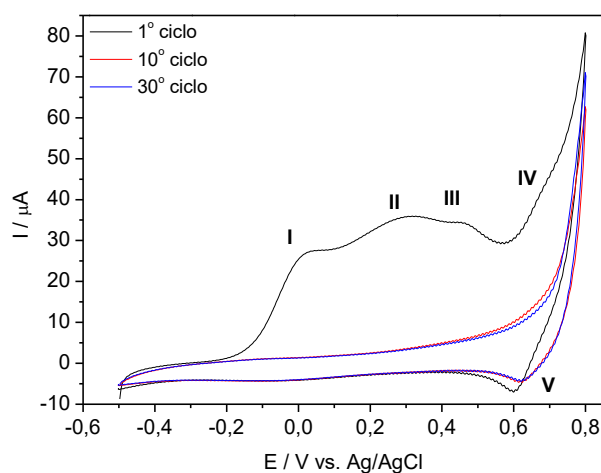
#### 4.3.1.5. Formação das espécies óxido de cobre

Após a etapa de eletrodeposição das nanopartículas metálicas na superfície do BDD, o eletrodo foi lavado e transferido para uma solução de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>, onde foi submetido a 30 ciclos de potencial entre -0,50 e 0,80 V (vs. Ag/AgCl) a 100 mV s<sup>-1</sup>, para formação de espécies de óxido de cobre. Voltamogramas típicos do primeiro, décimo e trigésimo ciclos do

eletrodo de BDD modificado com cobre em NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>, a 100 mV s<sup>-1</sup>, são representados na Figura 35. Nessa figura é possível observar vários processos de oxidação durante o primeiro ciclo de potencial, sendo que a onda anódica I, em 0,03 V (vs. Ag/AgCl), pode ser atribuída à oxidação do cobre metálico a Cu<sup>1+</sup>, de acordo com as equações 12a e 12b. (141) As ondas anódicas II e III, correspondem à oxidação direta do cobre metálico à Cu<sup>2+</sup> (Equação 12c) e à oxidação do Cu<sup>1+</sup> a Cu<sup>2+</sup> (Equação 12d), respectivamente. (141) As espécies Cu<sup>2+</sup>, presente na forma de hidróxido de cobre (II) estão em equilíbrio com a forma de óxido de cobre (II), conforme a Equação 12e. (141) Embora CuO<sub>2</sub> seja oxidado a CuO, a maior quantidade de CuO é produzido a partir da oxidação direta do cobre metálico. (141) A onda anódica IV em potenciais maiores que 0,60 V pode ser atribuída à oxidação do Cu<sup>2+</sup> a Cu<sup>3+</sup>, conforme as Equações 12f e 12g, e a onda catódica IV é referente à correspondente redução. (85,113, 141,142) Com o decorrer das varreduras, observa-se a diminuição das correntes, as quais são estabilizados em torno do trigésimo ciclo. A diminuição das correntes anódicas indica a formação de óxido de cobre na superfície do eletrodo. (140)



**Figura 35** - Voltamogramas do primeiro, décimo e trigésimo ciclos em solução de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>, no intervalo de potencial de -0,50 a 0,80 V a 100 mV s<sup>-1</sup>, utilizando eletrodo de CuNPs-BDD.



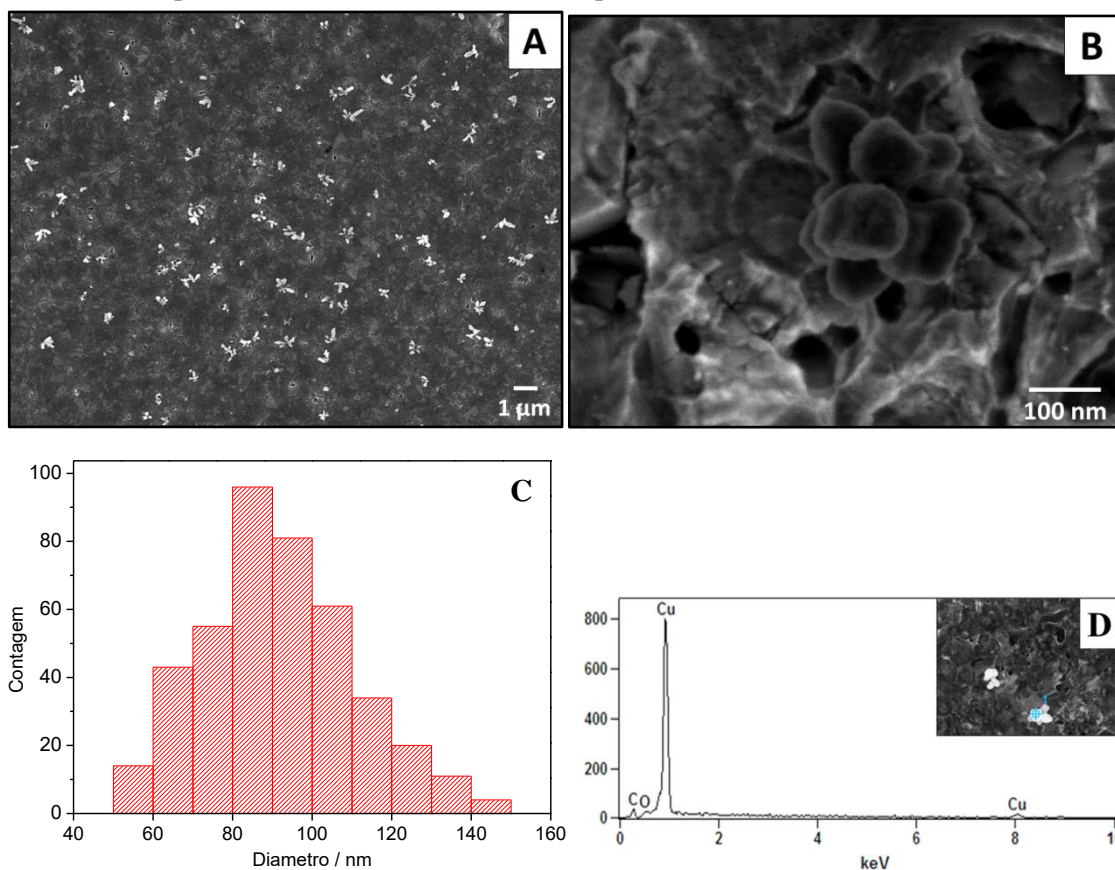
Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.3.2. Caracterização do CuNPs-BDD

A morfologia do CuNPs-BDD foi avaliada por imagens de MEV e sua composição por EDX. As imagens mostradas nas Figuras 36-A e 36-B são referentes à superfície do eletrodo de BDD modificada com óxido de cobre, com diferentes magnificações. Por meio dessas imagens, pode-se observar aglomerados de nanopartículas esféricas ao longo da superfície do BDD. Foram medidas mais de 400 nanopartículas e a distribuição do diâmetro (ver Figura 36-C) mostrou que a maioria das nanopartículas apresenta diâmetro entre 80 e 100 nm, com média de  $(91 \pm 19)$  nm.

A caracterização por EDX do CuNPs-BDD é mostrada na Figura 36-D, juntamente com a região na qual foi realizada a medida. Pelo espectro é possível constatar a presença de cobre e oxigênio, provenientes da modificação, e a presença de carbono, devido ao substrato de diamante dopado com boro.

**Figura 36** - Imagens de MEV em magnificações de 5.000 x (A) e 150.000 x (B). Distribuição do diâmetro das nanopartículas de óxido de cobre (C). Espectro de EDX do CuNPs-BDD (D).



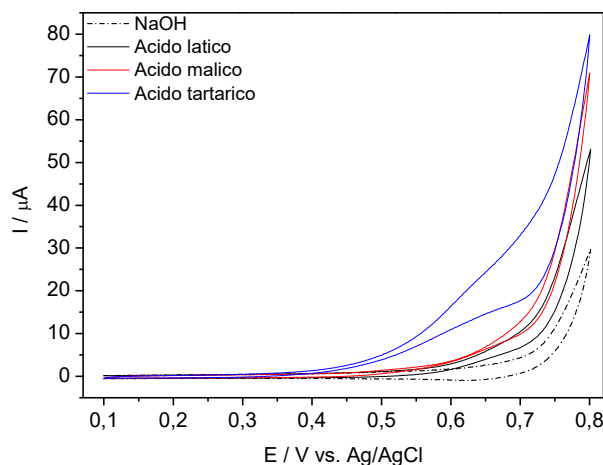
Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.3.3. Comportamento voltamétrico dos ácidos carboxílicos em CuNPs-BDD

Avaliou-se o comportamento eletroquímico, por meio de voltametria cíclica, dos ácidos lático, málico e tartárico em CuNPs-BDD em NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. A Figura 37 mostra voltamogramas cíclicos do eletrodo de CuNPs-BDD entre 0,10 V e 0,80 V (*vs.* Ag/AgCl) a 50 mV s<sup>-1</sup> em eletrólito de suporte e após a adição de 3,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido lático, 3,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> ácido málico e 3,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico. Por meio dessa figura, é possível observar um aumento da corrente anódica em potenciais maiores que 0,60 V (*vs.* Ag/AgCl) na presença dos ácidos lático e málico e em potenciais maiores que 0,45 V (*vs.* Ag/AgCl) na presença do ácido tartárico, indicando assim a oxidação desses compostos. A oxidação dos ácidos carboxílicos se dá na mesma região de potencial da formação das espécies Cu<sup>3+</sup> (ver Figura 35), o que indica que a oxidação dos ácidos lático, málico e tartárico é mediada por essas espécies de cobre. (35,36,113) A maior resposta para o ácido tartárico comparado aos ácidos lático e málico se deve ao fato do ácido tartárico possuir dois grupos hidroxila (ver

Figura 4) que oxidam, gerando assim um aumento maior de corrente, já os ácidos láctico e málico possuem somente um grupo hidroxila cada um capaz de ser oxidado.

**Figura 37** - Voltamogramas cíclicos a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , em NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  e na presença de  $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico, utilizando o eletrodo CuNPs-BDD.



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.3.4. Resposta amperométrica dos ácidos carboxílicos em CuNPs-BDD

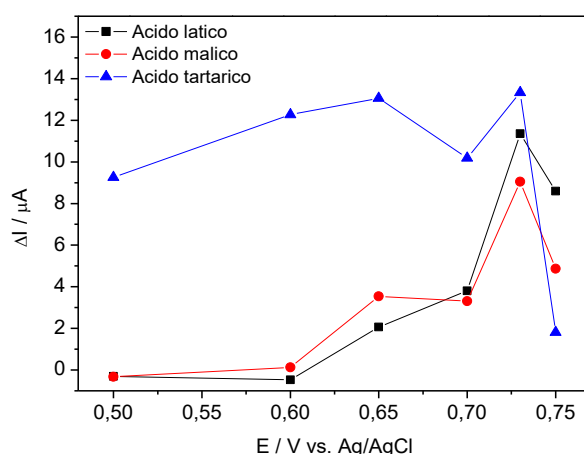
Visto que o objetivo desse trabalho é o emprego do eletrodo de CuNPs-BDD como detector amperométrico em CLAE para a determinação dos ácidos láctico, málico e tartárico em vinhaça de cana-de-açúcar, optou-se por utilizar a técnica de amperometria para estudo da resposta do eletrodo CuNPs-BDD frente aos ácidos láctico, málico e tartárico meio de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH.

##### 4.3.4.1. Estudo do potencial de oxidação

Com o objetivo de determinar o potencial de oxidação dos ácidos carboxílicos que gera a maior corrente, realizou-se um estudo de potencial no intervalo de  $0,50 \text{ V}$  a  $0,75 \text{ V}$ . Conforme pode ser visto pelos voltamogramas apresentados na Figura 27, é nessa faixa de potencial onde ocorre a oxidação dos ácidos láctico, málico e tartárico. A Figura 28 mostra o aumento de corrente gerada pela adição de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico, em  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH em função do potencial

de oxidação aplicado.  $\Delta I$  foi calculado de acordo com a Equação 9. É possível verificar pela Figura 38, que com o aumento do potencial há um aumento da corrente e, a maior corrente é gerada ao se aplicar o potencial de 0,73 V (vs. Ag/AgCl). Sendo assim, o potencial de 0,73 V (vs. Ag/AgCl) foi utilizado nos estudos amperométricos posteriores, a fim de se obter uma maior sensibilidade amperométrica.

**Figura 38** - Variação das correntes geradas na oxidação de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico,  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em 0,10 mol L<sup>-1</sup> NaOH em função do potencial de oxidação aplicado.

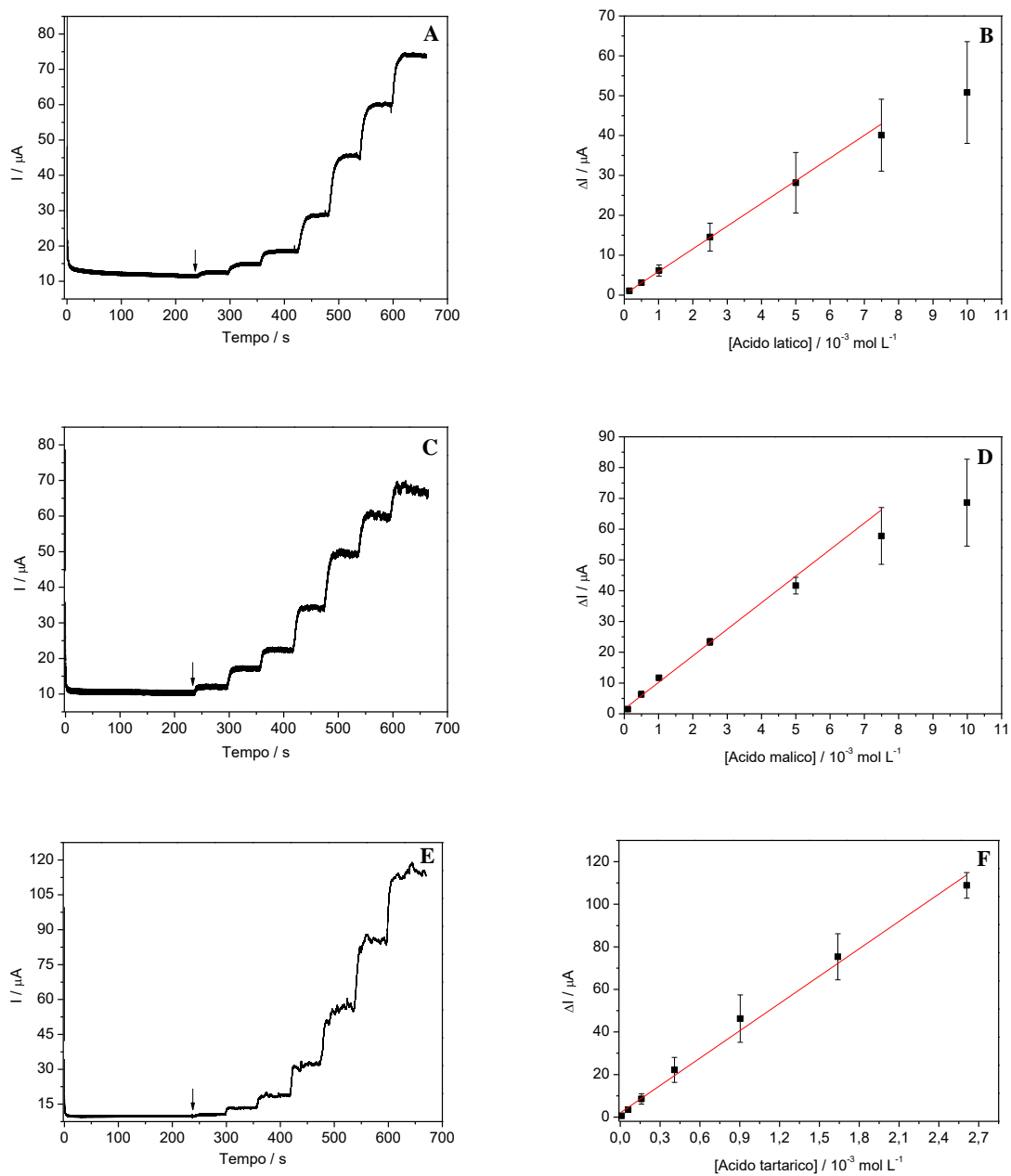


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.3.4.2. Curvas analíticas

Com o eletrodo de CuNPs-BDD modificado nas condições otimizadas foram feitas sucessivas adições de ácido láctico, málico e tartárico a cada 60 s, em NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> sob agitação mecânica da solução de 2000 rpm, a potencial de 0,73 V (vs. Ag/AgCl). A Figura 39 mostra os amperogramas e a relação entre corrente e concentração para os ácidos láctico, málico e tartárico. A Tabela 8 sumariza o intervalo linear de resposta para cada ácido carboxílico, bem como o LD, sensibilidade amperométrica, coeficiente de correlação linear e tempo de resposta.

**Figura 39** - Amperogramas de adições sucessivas de ácido láctico (A), málico (C) e tartárico (E) em  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH utilizando eletrodo de CuNPs-BDD, a potencial de  $0,73 \text{ V}$  sob agitação mecânica da solução de  $2000 \text{ rpm}$ . Respetivos gráficos de corrente em função da concentração para cada ácido estudado (B, D e F).



Fonte: elaborado pelo autor.

**Tabela 8** - Figuras de mérito e tempo de resposta dos ácidos carboxílicos utilizando técnica de amperometria com eletrodo de CuNPs-BDD.

Ácido	Intervalo linear de resposta (mol L <sup>-1</sup> )	LD* (mol L <sup>-1</sup> )	Sensibilidade (μA L mmol <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	Tempo de resposta (s)
Lático	1,5 × 10 <sup>-4</sup> – 7,5 × 10 <sup>-3</sup>	1,0 × 10 <sup>-4</sup>	5,7 × 10 <sup>-3</sup>	0,998	2,5 ± 0,5
Málico	1,0 × 10 <sup>-4</sup> – 7,5 × 10 <sup>-3</sup>	1,1 × 10 <sup>-4</sup>	8,6 × 10 <sup>-3</sup>	0,981	2,9 ± 0,7
Tartárico	1,0 × 10 <sup>-5</sup> – 2,6 × 10 <sup>-4</sup>	9,8 × 10 <sup>-6</sup>	4,2 × 10 <sup>-2</sup>	0,997	2,4 ± 1,0

Fonte: elaborado pelo autor.

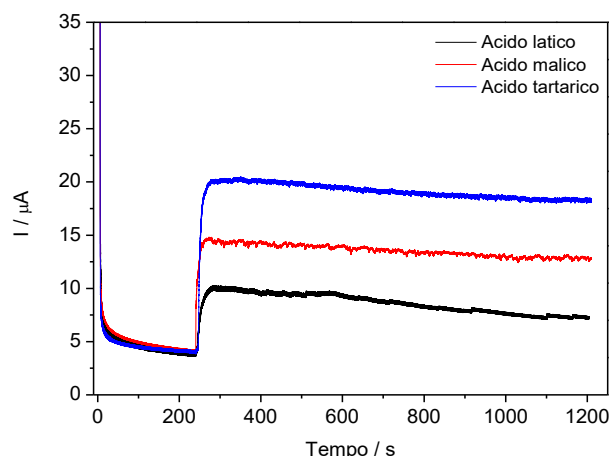
\* Definido como 3 × desvio/sensibilidade. (134)

#### 4.3.4.3. Estabilidade amperométrica

A estabilidade do eletrodo modificado é de fundamental importância para o seu posterior emprego em medidas cromatográficas, sendo assim experimentos de estabilidade amperométrica foram realizados sob agitação mecânica da solução, a fim de simular o mais próximo possível as condições de fluxo no cromatógrafo.

A Figura 40 mostra adições de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido lático e málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico em NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup> após 240 s de estabilização em eletrólito, sob a agitação mecânica de 2000 rpm. Por meio dessa figura, nota-se que o eletrodo CuNPs-BDD é estável nesse eletrólito de suporte, já que as correntes estabilizaram rapidamente, além disso, observa-se que ao retornar o eletrodo para a solução contendo somente eletrólito de suporte, as correntes não sofrem significativas mudanças. Após a adição de cada um dos analitos, é possível observar que as correntes aumentam rapidamente e permanecem estável durante o tempo de análise, uma vez que na presença de ácido lático houve uma queda de corrente de 25% em 1200 s, e na presença dos ácidos málico e tartárico as quedas foram de 12% e 9%, respectivamente.

**Figura 40** - Estudo da estabilidade amperométrica do CuNPs-BDD em 0,73 V, sob agitação mecânica da solução de 2000 rpm, com adição de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico e ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico em 240 s em NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ .



Fonte: elaborado pelo autor.

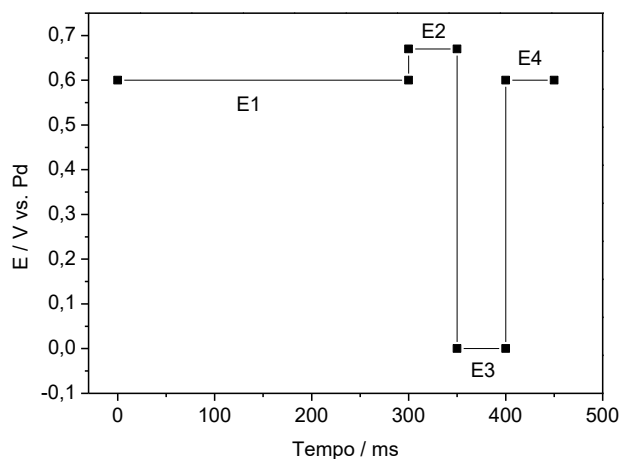
#### 4.3.5. Emprego do eletrodo de CuNPs-BDD no detector amperométrico de CLAE

As condições cromatográficas de separação empregadas foram as mesmas daquelas otimizadas na seção 4.2.6.3, referente ao eletrodo de NiNPs-BDD. Sendo assim foram utilizadas duas fases móveis, sendo  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH em  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  (eluente A) e água deionizada (eluente B). O programa de gradiente foi: 0-1 min: 5% A; 1-12 min: 5-17% A; 12-14 min: 17-100% A; 14-27 min: 100% A. A temperatura do forno da coluna foi de  $20,0 \text{ }^\circ\text{C}$  e o fluxo de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Na bomba pós coluna foi utilizado o fluxo  $0,3 \text{ mL min}^{-1}$  de NaOH  $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ , durante todo o tempo de análise, a fim de manter a força iônica constante na célula amperométrica e garantir o meio adequadamente básico para a eletroatividade das nanopartículas de óxido de cobre. Por meio dos voltamogramas apresentados na Figura 37, é possível inferir que a oxidação dos ácidos láctico, málico e tartárico deve se dar na região de potencial entre  $0,50 \text{ V}$  e  $0,75 \text{ V}$  (*vs.* Pd).

Para a detecção amperométrica pulsada no cromatógrafo foi utilizada uma sequência de pulsos de potenciais constituído por quatropulsos, como representado na Figura 41. Na etapa E1 é onde ocorre a oxidação dos ácidos carboxílicos, então foi aplicado o potencial de  $0,60 \text{ V}$  (*vs.* Pd) por 300 ms. O potencial E2 deve ser suficientemente positivo para oxidar todas as espécies adsorvidas na superfície do eletrodo, dessa forma, aplicou-se o potencial de  $0,67 \text{ V}$  (*vs.* Pd) por 50 ms. No terceiro pulso, o potencial E3 deve ser suficiente catódico para reduzir

a superfície oxidada do eletrodo e, aumentar a seletividade e estabilidade so sinal eletroquímico. Sendo assim, aplicou-se o potencial de 0 V (*vs.* Pd) por 50 ms nesse estágio. Por fim, no quarto pulso aplica-se o mesmo potencial (E4) do primeiro pulso por 50 ms para estabilização da superfície do eletrodo. (34)

**Figura 41** – Sequência de pulsos de potencial aplicada no CuNPs-BDD.



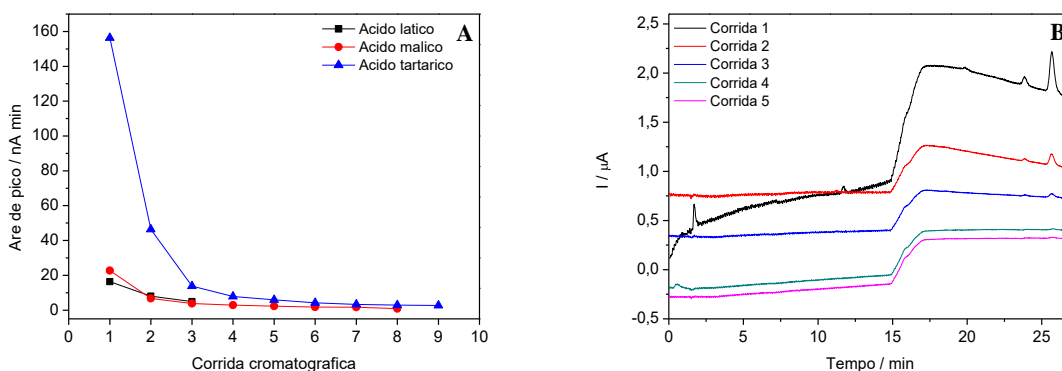
Fonte: elaborado pelo autor.

Sob fluxo na célula amperométrica do cromatógrafo, o impacto da fase móvel na superfície do eletrodo pode causar lixiviação da modificação, ocasionando assim a perda da resposta analítica com o tempo de análise. Dessa forma, é de extrema importância a avaliação da estabilidade do eletrodo antes de sua aplicação na determinação dos ácidos carboxílicos na vinhaça de cana-de-açúcar.

Foi avaliada a estabilidade do eletrodo de CuNPs-BDD sob fluxo de 1,3 mL min<sup>-1</sup>, uma vez que esse é o fluxo resultante da soma fluxos provenientes da coluna cromatográfica (1,0 mL min<sup>-1</sup>) e da bomba pós coluna (0,3 mL min<sup>-1</sup>). Foram realizadas dez corridas cromatográficas em sequência, a partir da injeção de uma solução de mistura de padrões contendo 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido lático, 7,5 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido málico e 3,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido tartárico. As áreas de pico de cada ácido foram avaliadas em função do número de corridas cromatográficas e podem ser visualizadas na Figura 42-A. É possível notar que a resposta do eletrodo cai bruscamente entre uma corrida e outra, sendo que na terceira corrida as respostas dos ácidos lático, málico e tartárico apresentaram uma queda de 70%, 83% e 91%, respectivamente. A partir da quarta e nona corridas não observou-se mais resposta dos ácidos lático e málico e na décima corrida nenhum dos três ácidos apresentaram

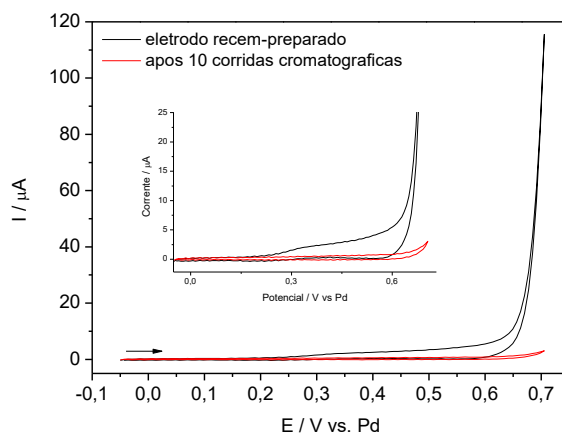
resposta. Além da queda da resposta analítica dos ácidos carboxílicos, observou-se também a queda da corrente da linha base dos cromatogramas entre uma corrida e outra, como pode ser visto na Figura 42-B. Os voltamogramas do eletrodo recém-preparado e do eletrodo após as dez corridas cromatográficas obtidos no cromatógrafo empregando como eletrólito a fase móvel são mostrados na Figura 43. Por meio desses, é possível observar uma queda da resposta eletroquímica do eletrodo após seu emprego como detector no cromatógrafo, o que indica a retirada da modificação da superfície do eletrodo.

**Figura 42** - (A) Áreas de pico dos ácidos láctico, málico e tartárico em função do número de corridas cromatográficas. (B) Cromatogramas obtidos pela injeção de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico no eletrodo de CuNPs-BDD.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 43** - Voltamogramas cíclicos no intervalo de potencial de -0,05 a 0,70 V a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  empregando como eletrólito uma mistura de 5% de NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em  $\text{CH}_3\text{COONa}$   $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  e 95% de água sob fluxo de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$  e NaOH  $0,40 \text{ mol L}^{-1}$  a  $0,3 \text{ mL}$  (bomba pós coluna), utilizando o eletrodo CuNPs-BDD recém-preparado e após dez corridas cromatográficas.



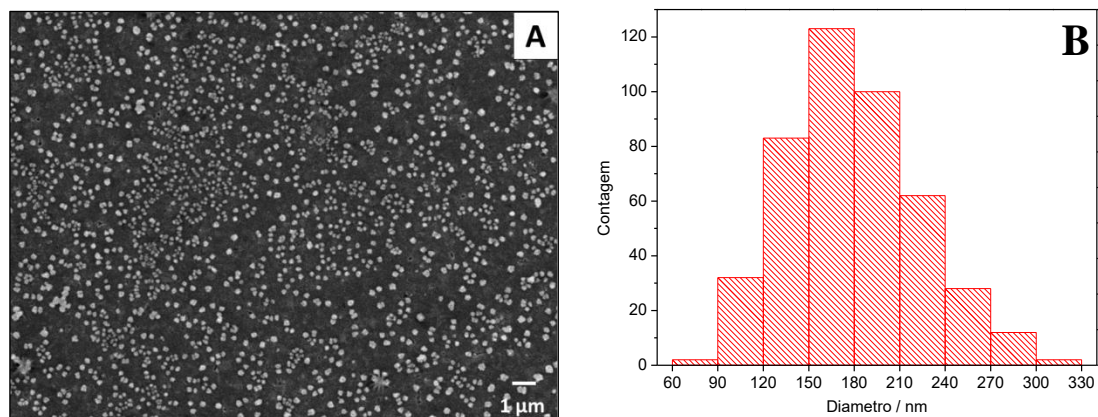
Fonte: elaborado pelo autor.

Com o intuito de verificar se uma modificação com partículas de óxido de cobre mais dispersas e um maior recobrimento da superfície do BDD fossem sofrer menor lixiviação sob fluxo, alguns parâmetros experimentais de eletrodeposição foram mudados. Empregou-se uma solução mais diluída de íons cobre, de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{CuCl}_2$  ao invés de  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  como anteriormente e, uma carga de eletrodeposição maior, 20 mC ao contrário de 5 mC. Após a eletrodeposição, o eletrodo foi submetido a 100 sucessivos ciclos de potencial de 0,10 a 0,80 V (*vs.* Ag/AgCl) a  $100 \text{ mV s}^{-1}$  em solução de NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , para a formação de óxido de cobre. A superfície CuNPs-BDD modificado nessas condições foi caracterizada por MEV, a qual é mostrada na Figura 44-A. Por meio dessas imagens, pode-se observar partículas esféricas, dispersas homogeneamente por toda a superfície do BDD. Foi medido o diâmetro de mais de 400 nanopartículas e a distribuição do diâmetro dessas (ver Figura 44-B) mostrou que a maioria das partículas apresenta diâmetro entre 150 e 210 nm, com média de  $(179 \pm 43) \text{ nm}$ .

Estudo de estabilidade similar foi realizado com o CuNPs-BDD modificado nessas condições. Foram realizadas dez corridas cromatográficas em sequência, a partir da injeção de uma solução de mistura de padrões contendo  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido láctico,  $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido málico e  $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido tartárico. As áreas de pico de cada ácido foram avaliadas em função do número de corridas cromatográficas e podem ser visualizadas na Figura 45. É possível notar que a resposta do eletrodo também caiu bruscamente entre uma corrida e outra, sendo que na terceira corrida a resposta dos ácidos láctico, málico e tartárico apresentaram uma queda de 69%, 65% e 76%, respectivamente. Após a terceira e oitava corridas não observou-se mais resposta para os ácidos láctico e málico. Sendo assim, não foi possível aplicar o eletrodo de CuNPs-BDD na determinação dos ácidos carboxílicos em vinhaça de cana-de-açúcar.

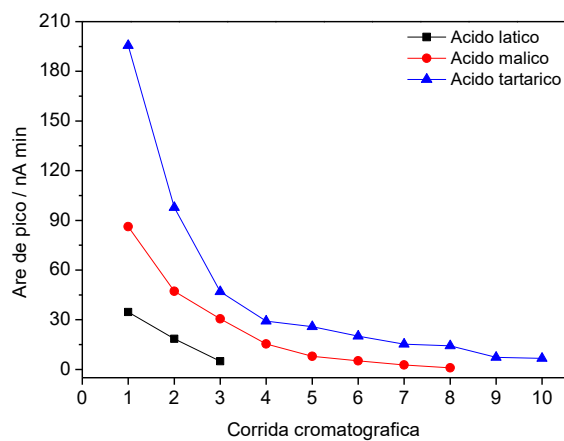
Uma explicação para instabilidade do eletrodo de CuNPs-BDD sob condições cromatográficas que é o potencial necessário para a oxidação dos ácidos láctico, málico e tartárico está próximo do potencial de oxidação da água, o que pode gerar microbolhas de oxigênio na superfície do eletrodo, esse fato somado ao fluxo que incide na superfície podem ocasionar a retirada das nanopartículas de óxido de cobre do eletrodo.

**Figura 44** - Imagem de MEV em magnificação de 5.000 x (A) e distribuição do diâmetro das nanopartículas de óxido de cobre (B).



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 45** - Áreas de pico dos ácidos lático, málico e tartárico em função do número de corridas cromatográficas. Eletrodo de CuNPs-BDD modificado com carga de eletrodeposição de 20 mC.



Fonte: elaborado pelo autor.

## 5 CONCLUSÕES

Por meio dos voltamogramas cíclicos do BDD em hidróxido de sódio na presença dos ácidos láctico e málico, foi possível observar que esses compostos não são oxidados ou reduzidos na superfície do BDD e, o ácido tartárico apresentou oxidação em potencial de 0,59 V (*vs.* Ag/AgCl), com uma pequena corrente de pico anódica de 6,5  $\mu\text{A}$ . Visto que o eletrodo de BDD não é capaz de oxidar os ácidos láctico e málico, nas condições experimentais empregadas, e que o ácido tartárico apresentou uma resposta eletroquímica pequena nesse eletrodo, a modificação da superfície do BDD se torna imprescindível para que se obtenha um eletrodo sensível a esses compostos, tornando possível suas determinações em vinhaça de cana-de-açúcar.

Imagens de microscopia eletrônica de varredura e espectros de raios X por dispersão em energia, em conjunto com os experimentos eletroquímicos, mostraram que o eletrodo de BDD foi efetivamente modificado com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel (diâmetro médio de 89 nm) e com nanopartículas de óxido de cobre (diâmetro médio de 91 nm). Os estudos voltamétricos mostraram que a oxidação dos ácidos láctico, málico e tartárico, em meio básico, são mediadas pelas espécies  $\text{Ni}^{3+}$  e espécies  $\text{Cu}^{3+}$ , nos eletrodos NiNPs-BDD e CuNPs-BDD, respectivamente.

Foi possível realizar a separação cromatográfica dos ácidos láctico, málico e tartárico em vinhaça de cana-de-açúcar em uma coluna de troca aniônica sem necessidade da realização de um procedimento complexo e dispendioso de preparo de amostra. A separação dos compostos de interesse na vinhaça foi rápida, uma vez que o tempo de análise foi de 27 minutos.

O eletrodo de NiNPs-BDD apresentou boa estabilidade nas condições cromatográficas, tornando viável a sua utilização na determinação dos compostos de interesse na vinhaça de cana-de-açúcar. As sensibilidades analíticas utilizando o eletrodo de NiNPs-BDD no detector amperométrico para CLAE foram de  $7,5 \times 10^3 \text{ nA L mol}^{-1}$  para o ácido láctico,  $3,5 \times 10^4 \text{ nA L mol}^{-1}$  para o ácido málico e  $5,4 \times 10^5 \text{ nA L mol}^{-1}$  para o ácido tartárico. Os LDs foram de  $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $6,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $2,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente.

As concentrações dos ácidos láctico, málico e tartárico encontradas na vinhaça de cana-de-açúcar foram de  $(1,2 \pm 0,3) \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $(2,7 \pm 0,6) \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e  $(9,9 \pm 1,0) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente. As altas concentrações desses compostos mostram que a vinhaça de cana-de-açúcar tem chances de ser utilizada como fonte de obtenção desses ácidos carboxílicos de grande interesse industrial, caso haja viabilidade financeira.

O ensaio de recuperação mostrou que o método analítico desenvolvido possui boa exatidão e precisão, podendo ser considerado adequado para a detecção e quantificação dos ácidos láctico, málico e tartárico em vinhaça de cana-de-açúcar.

O eletrodo de CuNPs-BDD foi empregado na célula amperométrica do cromatógrafo, no entanto não apresentou boa estabilidade nas condições cromatográficas, o que impossibilitou sua utilização na determinação dos compostos de interesse na vinhaça de cana-de-açúcar.

## REFERÊNCIAS

- 1 AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **O etanol combustível**. 2011. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=57994&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&1432560664504>>. Acesso em: 30 nov. 2015.
- 2 LAIME, E. M. O. et al. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **Rev. Tróp.: Cienc. Agrar. Biol.**, v. 5, n. 3, p. 16-29, 2011.
- 3 ALCARDE, A. R. Outros produtos. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_108\\_22122006154841.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_108_22122006154841.html)>. Acesso em: 30 nov. 2015.
- 4 PARNAUDEAU, V. et al. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. **Bioresour. Technol.**, v. 99, n. 6, p. 1553-1562, 2008.
- 5 RAMOS, P. R.; LUCHIARI, A. Impactos ecológicos. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONT1.html>>. Acesso em: 1 dez. 2015.
- 6 CHRISTOFOLETTI, C. A. et al. Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. **Waste Manage.**, v. 33, n. 12, p. 2752-2761, 2013.
- 7 ZOLIN, C. A. et al. Estudo exploratório do uso da vinhaça ao longo do tempo. I. Características do solo. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 15, n. 1, p. 22-28, 2011.
- 8 ESPAÑA-GAMBOA, E. I. et al. Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. **Biotechnol. Biofuels**, v. 5, 2012. doi:10.1186/1754-6834-5-82.
- 9 SYDNEY, E. B. et al. Economic process to produce biohydrogen and volatile fatty acids by a mixed culture using vinasse from sugarcane ethanol industry as nutrient source. **Bioresour. Technol.**, v. 159, p. 380-386, 2014.
- 10 SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambiental.**, v. 11, n. 1, p. 108-114, 2007.
- 11 RATANAPARIYANUCH, K. et al. Rapid NMR method for the quantification of organic compounds in thin stillage. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, n. 19, p. 10454-10460, 2011.
- 12 BENKE, M. B.; MERMUT, A. R.; CHATSON, B. Carbon-13 CP/MAS NMR and DR-FTIR spectroscopic studies of sugarcane distillery waste. **Can. J. Soil Sci.**, v. 78, n. 1, p. 227-236, 1998.

- 13 DOWD, M. K. et al. Low molecular weight organic composition of ethanol stillage from sugarcane molasses, citrus waste, and sweet whey. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, n. 2, p. 283-288, 1994.
- 14 RYZNAR-LUTY, A. et al. Aerobic biodegradation of vinasse by a mixed culture of bacteria of the genus *Bacillus*: optimization of temperature, pH and oxygenation state. **Pol. J. Environ. Stud.**, v. 17, n. 1, p. 101-112, 2008.
- 15 IAMMARINO, M.; TARANTO, A. D. Development and validation of an ion chromatography method for the simultaneous determination of seven food additives in cheeses. **J. Anal. Sci.: Methods Instrum.**, v. 3, p. 30-37, 2013.
- 16 KODAMA, S. et al. Direct chiral resolution of lactic acid in food products by capillary electrophoresis. **J. Chromatogr. A**, v. 875, n. 1/2, p. 371-377, 2000.
- 17 LIU, P. -Y. et al. Determination of hydroxy acids in cosmetics by chemometric experimental design and cyclodextrin-modified capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 33, n. 19/20, p. 3079-3086, 2012.
- 18 SMITH, W. P. Comparative effectiveness of alpha-hydroxy acids on skin properties. **Int. J. Cosmet. Sci.**, v. 18, n. 2, p. 75-83, 1996.
- 19 DATTA, R.; HENRY, M. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies - a review. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, v. 81, n. 7, p. 1119-1129, 2006.
- 20 WANG, J. et al. Preparation and pH controlled release of polyelectrolyte complex of poly(L-malic acid-co-D,L-lactic acid) and chitosan. **Colloids Surf. B**, v. 115, p. 275-279, 2014.
- 21 GAO, C.; MA, C.; XU, P. Biotechnological routes based on lactic acid production from biomass. **Biotechnol. Adv.**, v. 29, n. 6, p. 930-939, 2011.
- 22 CHIN, S.-T.; EYRES, G. T.; MARRIOTT, P. J. Application of integrated comprehensive/multidimensional gas chromatography with mass spectrometry and olfactometry for aroma analysis in wine and coffee. **Food Chem.**, v. 185, p. 355-361, 2015.
- 23 OHIRA, S.-I. et al. On-line electro-dialytic matrix isolation for chromatographic determination of organic acids in wine. **J. Chromatogr. A**, v. 1372, p. 18-24, 2014.
- 24 DOELSCH, E. et al. Spectroscopic characterization of organic matter of a soil and vinasse mixture during aerobic or anaerobic incubation. **Waste Manage.**, v. 29, n. 6, p. 1929-1935, 2009.
- 25 SNYDER, L. R.; KIRLKAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. Hoboken: Wiley, 2010.
- 26 COCCHI, M. et al. Determination of carboxylic acids in vinegars and in aceto balsamico tradizionale di modena by HPLC and GC methods. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 19, p. 5255-5261, 2002.

- 27 DESTANDAU, E. et al. Development and validation of a reversed-phase liquid chromatography method for the quantitative determination of carboxylic acids in industrial reaction mixtures. **J. Chromatogr. A**, v. 1088, n. 1/2, p. 49-56, 2005.
- 28 MOLNÁR-PERL, I. Simultaneous quantitation of acids and sugars by chromatography: gas or high-performance liquid chromatography? **J. Chromatogr. A**, v. 845, n. 1/2, p. 181-195, 1999.
- 29 SCHERER, R. et al. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. **Food Chem.**, v. 135, n. 1, p. 150-154, 2012.
- 30 EYÉGHÉ-BICKONG, H. A. et al. Optimisation of an HPLC method for the simultaneous quantification of the major sugars and organic acids in grapevine berries. **J. Chromatogr. B**, v. 885-886, p. 43-49, 2012.
- 31 FLORES, P.; HELLÍN, P.; FENOLL, J. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. **Food Chem.**, v. 132, n. 2, p. 1049-1054, 2012.
- 32 XIE, Z. et al. Application of a fluorescent derivatization reagent 9-chloromethyl anthracene on determination of carboxylic acids by HPLC. **J. Chromatogr. Sci.**, v. 50, n. 6, p. 464-468, 2012.
- 33 PECINA, R. et al. High-performance liquid chromatographic elution behaviour of alcohols, aldehydes, ketones, organic acids and carbohydrates on a strong cation-exchange stationary phase. **J. Chromatogr. A**, v. 287, p. 245-258, 1984.
- 34 BELUOMINI, M. A.; SILVA, J. L.; STRADIOTTO, N. R. Determination of uronic acids in sugarcane bagasse by anion-exchange chromatography using an electrode modified with copper nanoparticles. **Anal. Methods**, v. 7, n. 6, p. 2347-2353, 2015.
- 35 CASELLA, I. G.; GATTA, M.; DESIMONI, E. Applications of a copper-modified gold electrode for amperometric detection of polar aliphatic compounds by anion-exchange chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 814, n. 1/2, p. 63-70, 1998.
- 36 CASELLA, I. G.; GATTA, M. Determination of electroactive organic acids by anion-exchange chromatography using a copper modified electrode. **J. Chromatogr. A**, v. 912, n. 2, p. 223-233, 2001.
- 37 CASELLA, I. G.; GATTA, M. Determination of aliphatic organic acids by high-performance liquid chromatography with pulsed electrochemical detection. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 1, p. 23-28, 2002.
- 38 KOTANI, A. et al. Determination of organic acids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection during wine brewing. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n. 6, p. 1440-1444, 2004.
- 39 MONGAY, C.; PASTOR, A.; OLMOS, C. Determination of carboxylic acids and inorganic anions in wines by ion-exchange chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 736, n. 1/2, p. 351-357, 1996.

- 40 TANAKA, K. et al. Ion-exclusion chromatography with conductimetric detection of aliphatic carboxylic acids on a weakly acidic cation-exchange resin by elution with benzoic acid- $\beta$ -cyclodextrin. **J. Chromatogr. A**, v. 997, n. 1/2, p. 127-132, 2003.
- 41 SANTOS, W. T. P. et al. Construção e caracterização de um detector eletroquímico para análises em fluxo. **Quim. Nova**, v. 32, n. 9, p. 2412-2416, 2009.
- 42 KUTNINK, M. A. et al. Simultaneous determination of ascorbic acid, isoascorbic acid (erythorbic acid) and uric acid in human plasma by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. **J. Liq. Chromatogr.**, v. 8, n. 1, p. 31-46, 1985.
- 43 NAGY, L.; NAGY, G.; HAJÓS, P. Copper electrode based amperometric detector cell for sugar and organic acid measurements. **Sens. Actuators, B**, v. 76, n. 1/3, p. 494-499, 2001.
- 44 LUO, P.; ZHANG, F.; BALDWIN, R. P. Constant-potential amperometric detection of underivatized amino acids and peptides at a copper electrode. **Anal. Chem.**, v. 63, n. 17, p. 1702-1707, 1991.
- 45 STULIK, K.; PACAKOVA, V.; JOKUSZIES, G. Analysis of dipeptides by reversed-phase high-performance liquid chromatography without derivatization using amperometric detection on a copper electrode. **J. Chromatogr.**, v. 436, n. 2, p. 334-337, 1988.
- 46 KOK, W. T.; BRINKMAN, U. A. T.; FREI, R. W. Amperometric detection of amino acids in high-performance liquid chromatography with a copper electrode. **J. Chromatogr. A**, v. 256, n. 1, p. 17-26, 1983.
- 47 CAVANILLAS, S. et al. Commercial screen-printed gold electrodes for the detection and quantification of aminothiols in human plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. **Electroanalysis**, v. 26, n. 3, p. 581-587, 2014.
- 48 LARCHER, R. et al. Determination of gluconic acid in wine using high pressure liquid chromatography with pulsed amperometric detection. **Vitis**, v. 48, p. 201-204, 2009.
- 49 CORRADINI, C.; CAVAZZA, A.; BIGNARDI, C. High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed electrochemical detection as a powerful tool to evaluate carbohydrates of food interest: principles and applications. **Int. J. Carbohydr. Chem.**, v. 2012, 2012. doi:10.1155/2012/487564.
- 50 CATALDI, T. R. I.; NARDIELLO, D. A pulsed potential waveform displaying enhanced detection capabilities towards sulfur-containing compounds at a gold working electrode. **J. Chromatogr. A**, v. 1066, n. 1/2, p. 133-142, 2005.
- 51 SAMCOVA, E. et al. Determination of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in obese patients by HPLC with electrochemical detection. **Anal. Chim. Acta**, v. 516, n. 1/2, p. 107-110, 2004.
- 52 BALDWIN, R. P. Chemically modified electrodes in liquid chromatography detection: a review. **Talanta**, v. 38, n. 1, p. 1-16, 1991.

- 53 WANG, F. et al. Interaction with deoxyribonucleic acid and determination of orientin in *Lophatherum gracile Brongn* by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. **Electrochim. Acta**, v. 178, p. 829-837, 2015.
- 54 NOVAK, I. et al. Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Anal. Chim. Acta**, v. 630, n. 2, p. 107-115, 2008.
- 55 ZHOU, Y. et al. Simultaneous analysis of dopamine and homovanillic acid by high-performance liquid chromatography with wall-jet/thin-layer electrochemical detection. **Analyst**, v. 138, p. 7246-7253, 2013.
- 56 JADACH, M.; BLAZEWCZ, A.; FIJALEK, Z. Determination of local anesthetics in illegal products using HPLC method with amperometric detection. **Acta Pol. Pharm.**, v. 69, n. 3, p. 397-403, 2012.
- 57 KARAOVÁ, J.; BAREK, J.; SCHWARZOVA-PECKOVA, K. Oxidative and reductive detection modes for determination of nitrophenols by high-performance liquid chromatography with amperometric detection at a boron doped diamond electrode. **Anal. Lett.**, v. 49, n. 1, p. 66-79, 2016.
- 58 HAYASHI, T. et al. Electrochemical detection of sugar-related compounds using boron-doped diamond electrodes. **Anal. Sci.**, v. 28, n. 2, p. 127-133, 2012.
- 59 MAIXNEROVÁ, L.; BAREK, J.; PECKOVA, K. Thin-layer and wall-jet arrangement of amperometric detector with boron-doped diamond electrode: comparison of amperometric determination of aminobiphenyls in HPLC-ED. **Electroanalysis**, v. 24, n. 3, p. 649-658, 2012.
- 60 BARTOŠOVÁ, Z.; JIROVSKÝ, D.; HORNA, A. High-performance liquid chromatographic method with amperometric detection employing boron-doped diamond electrode for the determination of sildenafil, vardenafil and their main metabolites in plasma. **J. Chromatogr. A**, v. 1218, n. 44, p. 7996-8001, 2011.
- 61 MARTINS, I. et al. Determination of parabens in shampoo using high performance liquid chromatography with amperometric detection on a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 1-7, 2011.
- 62 XI, L. et al. Ion-exchange chromatography combined with direct current amperometric detection at CuNPs/reduced graphene oxide–chitosan composite film modified electrode for determination of monosaccharide composition of polysaccharides from *Phellinus igniarius*. **Talanta**, v. 119, p. 440-446, 2014.
- 63 RIMAN, D. et al. Facile preparation of nanostructured copper-coated carbon microelectrodes for amperometric sensing of carbohydrates. **RSC Adv.**, v. 5, n. 39, p. 31245-31249, 2015.
- 64 GAMBOA, J. C. M. A renewable copper electrode as an amperometric flow detector for nitrate determination in mineral water and soft drink samples. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 581-585, 2009.

- 65 XI, L. L.; ZHANG, P. M.; ZHU, Y. Copper modified platinum electrode for amperometric detection of spectinomycin sulfate by anion-exchange chromatography. **Chin. Chem. Lett.**, v. 20, n. 10, p. 1245-1247, 2009.
- 66 VIDOTTI, M. et al. Nickel hydroxide electrodes as amperometric detectors for carbohydrates in flow injection analysis and liquid chromatography. **J. Electroanal. Chem.**, v. 636, n. 1/2, p. 18-23, 2009.
- 67 YOU, T. et al. An amperometric detector formed of highly dispersed Ni nanoparticles embedded in a graphite-like carbon film electrode for sugar determination. **Anal. Chem.**, v. 75, n. 19, p. 5191-5196, 2003.
- 68 CHUNG, H. et al. Nickel oxide-modified composite electrode for electrochemical detection of polyhydroxyl compounds in liquid chromatographic analysis. **Anal. Chim. Acta**, v. 471, n. 2, p. 195-202, 2002.
- 69 UCHIKADO, R. et al. Metal-modified diamond electrode as an electrochemical detector for glucose. **Chem. Lett.**, v. 2, n. 2, p. 144-145, 2001.
- 70 CATALDI, T. R. I. et al. Comparison of silver, gold and modified platinum electrodes for the electrochemical detection of iodide in urine samples following ion chromatography. **J. Chromatogr. B**, v. 827, n. 2, p. 224-231, 2005.
- 71 CATALDI, T. R. I.; RUBINO, A.; CIRIELLO, R. Sensitive quantification of iodide by ion-exchange chromatography with electrochemical detection at a modified platinum electrode. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 382, n. 1, p. 134-141, 2005.
- 72 MALONGO, T. K. et al. Highly sensitive determination of iodide by ion chromatography with amperometric detection at a silver-based carbon paste electrode. **Talanta**, v. 76, n. 3, p. 540-547, 2008.
- 73 DeMOTT, J. M.; JAHNGEN, E. G. E. Determination of amino acids at a silver oxide/silver phosphate electrode and the analysis of structure-response relationships. **Electroanalysis**, v. 17, n. 7, p. 599-606, 2005.
- 74 STAES, E.; NAGELS, L. J. Determination of electroinactive organic acids with LC and amperometric detection, using a PPy coated electrode. **Talanta**, v. 52, n. 2, p. 277-284, 2000.
- 75 XU, J. et al. Determination of electroinactive organic acids in red wine by ion-exclusion chromatography using a poly-o-phenylenediamine film modified electrode. **Chromatographia**, v. 57, n. 11, p. 751-756, 2003.
- 76 SALIMI, A.; HALLAJ, R. Catalytic oxidation of thiols at preheated glassy carbon electrode modified with abrasive immobilization of multiwall carbon nanotubes: applications to amperometric detection of thiocytosine, L-cysteine and glutathione. **Talanta**, v. 66, n. 4, p. 967-975, 2005.
- 77 VEGA, D. et al. Electrochemical detection of phenolic estrogenic compounds at carbon nanotube-modified electrodes. **Talanta**, v. 71, n. 3, p. 1031-1038, 2007.

- 78 LI, C. et al. A novel amperometric sensor and chromatographic detector for determination of parathion. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 381, n. 5, p. 1049-1055, 2005.
- 79 DAGO, A. et al. Carbon nanotubes and graphene modified screen-printed carbon electrodes as sensitive sensors for the determination of phytochelatin in plants using liquid chromatography with amperometric detection. **J. Chromatogr. A**, v. 1409, p. 210-217, 2015.
- 80 KAJORNKAVINKUL, S. et al. Graphene/polyvinylpyrrolidone/polyaniline nanocomposite-modified electrode for simultaneous determination of parabens by high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 148, p. 655-660, 2016.
- 81 MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, v. 47, n. 12, p. 1882-1886, 1975.
- 82 KUTNER, W. et al. Analytical aspects of chemically modified electrodes: classification, critical evaluation and recommendations. **Pure Appl. Chem.**, v. 70, n. 6, p. 1301-1318, 1998.
- 83 CAMPBELL, F. W.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 396, n. 1, p. 241-259, 2010.
- 84 SILVA, J. L.; BELUOMINI, M. A.; STRADIOTTO, N. R. Determination of furanic aldehydes in sugarcane bagasse by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection using a modified electrode with nickel nanoparticles. **J. Sep. Sci.**, v. 38, p. 3176-3182, 2015.
- 85 SANTOS, F. C. U. et al. Electrochemical determination of total reducing sugars from bioethanol production using glassy carbon electrode modified with graphene oxide containing copper nanoparticles. **Fuel**, v. 163, p. 112-121, 2015.
- 86 HUTTON, L. A. et al. Electrodeposition of nickel hydroxide nanoparticles on boron-doped diamond electrodes for oxidative electrocatalysis. **J. Phys. Chem. C**, v. 115, n. 5, p. 1649-1658, 2011.
- 87 SALIMI, A. et al. Sensitive amperometric detection of omeprazole and pantoperazole at electrodeposited nickel oxide nanoparticles modified glassy carbon electrode. **J. Solid State Electrochem.**, v. 16, n. 4, p. 1369-1375, 2012.
- 88 ASGARI, M. et al. Methanol electrooxidation on the nickel oxide nanoparticles/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode prepared using pulsed electrodeposition. **J. Electrochem. Soc.**, v. 158, n. 12, p. K225-K229, 2011.
- 89 TOGHILL, K. E. et al. The non-enzymatic determination of glucose using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron-doped diamond electrode or nickel foil electrode. **Sens. Actuators, B**, v. 147, n. 2, p. 642-652, 2010.
- 90 HARFIELD, J. C. et al. Nickel nanoparticle modified BDD electrode shows an electrocatalytic response to adenine and DNA in aqueous alkaline media. **Electroanalysis**, v. 23, n. 4, p. 931-938, 2011.

- 91 SÁ, A. C.; PAIM, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Sugars electrooxidation at glassy carbon electrode decorate with multi-walled carbon nanotubes with nickel oxy- hydroxide. **Int. J. Electrochem. Sci.** v. 9, p. 7746-7762, 2014.
- 92 IVANDINI, T. A. et al. Electroanalytical application of modified diamond electrodes. **Diamond Relat. Mater.**, v. 13, n. 11/12, p. 2003-2008, 2004.
- 93 SEDENHO, G. C. et al. Nanoelectrocatalytic oxidation of lactic acid using nickel nanoparticles. **J. Phys. Chem. C**, v. 119, p. 6896-6905, 2015.
- 94 STRADIOTTO, N. R. et al. The fabrication and characterization of a nickel nanoparticle modified boron doped diamond electrode for electrocatalysis of primary alcohol oxidation. **Electroanalysis**, v. 21, n. 24, p. 2627-2633, 2009.
- 95 SARAVANAN, K. R. et al. Electrodeposition of nickel on boron-doped diamond from an air-stable methyl sulphate anion based ionic liquid. **Electrochim. Acta**, v. 98, p. 88-93, 2013.
- 96 WELCH, C. M. et al. Oxidation of electrodeposited copper on boron doped diamond in acidic solution: manipulating the size of copper nanoparticles using voltammetry. **Electroanalysis**, v. 18, n. 10, p. 965-970, 2006.
- 97 MATSUSHIMA, J. T. et al. Electrodeposition of Cu nanoparticles on BDD electrodes: reactions and nucleation mechanism. **J. Electrochem. Soc.**, v. 159, n. 4, p. D246-D252, 2012.
- 98 IVANDINI, T. A. et al. Development of a biochemical oxygen demand sensor using gold-modified boron doped diamond electrodes. **Anal. Chem.**, v. 84, n. 22, p. 9825-9832, 2012.
- 99 IVANDINI, T. A.; EINAGA, Y. Electrochemical detection of selenium (IV) and (VI) at gold-modified diamond electrodes. **Electrocatalysis**, v. 4, n. 4, p. 367-374, 2013.
- 100 WAHYUNI, W. T. et al. Electrochemical behavior of zanamivir at gold-modified boron-doped diamond electrodes for an application in neuraminidase sensing. **Electrochemistry**, v. 83, n. 5, p. 357-362, 2015.
- 101 JANEGITZ, B. C. et al. Direct electrochemistry of tyrosinase and biosensing for phenol based on gold nanoparticles electrodeposited on a boron-doped diamond electrode. **Diamond Relat. Mater.**, v. 25, p. 128-133, 2012.
- 102 YAMADA, D. et al. Anodic stripping voltammetry of inorganic species of As<sup>3+</sup> and As<sup>5+</sup> at gold-modified boron doped diamond electrodes. **J. Electroanal. Chem.**, v. 615, n. 2, p. 145-153, 2008.
- 103 HUTTON, L. et al. Amperometric oxygen sensor based on a platinum nanoparticle-modified polycrystalline boron doped diamond disk electrode. **Anal. Chem.**, v. 81, n. 3, p. 1023-1032, 2009.

- 104 FIGUEREDO-FILHO, L. C. S.; SARTORI, E. R.; FATIBELLO-FILHO, O. Electroanalytical determination of the linuron herbicide using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode: comparison with a boron-doped diamond electrode modified with platinum nanoparticles. **Anal. Methods**, v. 7, n. 2, p. 643-649, 2015.
- 105 HU, J.; LU, X.; FOORD, J. S. Electrochemical deposition of Pt nanoparticles on diamond substrates. **Phys. Status Solidi A**, v. 206, n. 9, p. 2057-2062, 2009.
- 106 SONG, M.-J. et al. Fabrication of Pt nanoparticles-decorated CVD diamond electrode for biosensor applications. **Anal. Sci.**, v. 27, p. 985-989, 2011.
- 107 BATCHELOR-McAULEY, C. et al. Nano-electrochemical detection of hydrogen or protons using palladium nanoparticles: distinguishing surface and bulk hydrogen. **ChemPhysChem**, v. 7, n. 5, p. 1081-1085, 2006.
- 108 SZUNERITS, S.; BOUKHERROUB, R. Investigation of the electrocatalytic activity of boron-doped diamond electrodes modified with palladium or gold nanoparticles for oxygen reduction reaction in basic medium. **C. R. Chimie**, v. 11, n. 9, p. 1004-1009, 2008.
- 109 SALIMI, A.; ALIZADEH, V.; HALLAJ, R. Amperometric detection of ultra trace amounts of Hg(I) at the surface boron doped diamond electrode modified with iridium oxide. **Talanta**, v. 68, n. 5, p. 1610-1616, 2006.
- 110 TOGHILL, K. E. et al. Electroanalytical determination of cadmium(II) and lead(II) using an antimony nanoparticle modified boron-doped diamond electrode. **Electroanalysis**, v. 21, n. 10, p. 1113-1118, 2009.
- 111 TOGHILL, K. E. et al. The determination of methanol using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron doped diamond electrode. **Electroanalysis**, v. 22, n. 5, p. 491-500, 2010.
- 112 FLEISCHMANN, M.; KORINEK, K.; PLETCHER, D. The oxidation of organic compounds at a nickel anode in alkaline solution. **J. Electroanal. Chem.**, v. 31, p. 39-49, 1971.
- 113 LUO, P.; PRABHU, S. V; BALDWIN, R. P. Constant potential amperometric detection of carbohydrates at a copper-based chemically modified electrode. **Anal. Chem.**, v. 62, n. 7, p. 752-755, 1990.
- 114 LUO, P.; ZHANG, F.; BALDWIN, R. P. Comparison of metallic electrodes for constant-potential amperometric detection of carbohydrates, amino acids and related compounds in flow systems. **Anal. Chim. Acta**, v. 244, n. 2, p. 169-178, 1991.
- 115 WANG, B. et al. Preparation of nickel nanoparticle/graphene composites for non-enzymatic electrochemical glucose biosensor applications. **Mater. Res. Bull.**, v. 49, n. 1, p. 521-524, 2014.
- 116 MAJDI, S.; JABBARI, A.; HELI, H. A study of the electrocatalytic oxidation of aspirin on a nickel hydroxide-modified nickel electrode. **J. Solid State Electrochem.**, v. 11, n. 5, p. 601-607, 2007.

- 117 PRABHU, S. V; BALDWIN, R. P. Electrocatalysis and detection of amino sugars, alditols, and acidic sugars at a copper-containing chemically modified electrode. **Anal. Chem.**, v. 61, n. 20, p. 2258-2263, 1989.
- 118 OLIVEIRA, S. C. B.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Voltammetric and electrochemical impedance spectroscopy characterization of a cathodic and anodic pre-treated boron doped diamond electrode. **Electrochim. Acta**, v. 55, n. 15, p. 4599-4605, 2010.
- 119 GIRARD, H. et al. Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes. **Diamond Relat. Mater.**, v. 16, p. 316-325, 2007.
- 120 SALAZAR-BANDA, G. R. et al. On the changing electrochemical behaviour of boron-doped diamond surfaces with time after cathodic pre-treatments. **Electrochim. Acta**, v. 51, p. 4612-4619, 2006.
- 121 SONG, Y.; SONG, Y.; XU, J. Electrochemical determination of tartaric acid at nano gold/nano carbon modified glassy carbon electrode. **Russ. J. Phys. Chem. A**, v. 86, n. 9, p. 1458-1464, 2012.
- 122 ÖZCANA, A. et al. Protham mineralization in aqueous medium by anodic oxidation using boron-doped diamond anode: influence of experimental parameters on degradation kinetics and mineralization efficiency. **Water Res.**, v. 42, n. 12, p. 2889-2898, 2008.
- 123 TOGHILL, K. E.; COMPTON, R. G. Metal nanoparticle modified boron doped diamond electrodes for use in electroanalysis. **Electroanalysis**, v. 22, n. 17/18, p. 1947-1956, 2010.
- 124 TEIXEIRA, M. E.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. Detection of several carbohydrates using boron-doped diamond electrodes modified with nickel hydroxide nanoparticles. **Anal. Sci.**, v. 31, p. 773-779, 2015.
- 125 GÓMEZ, E. et al. Electrodeposition of nickel on vitreous carbon: influence of potential on deposit morphology. **J. Appl. Electrochem.**, v. 22, n. 9, p. 872-876, 1992.
- 126 JORGE ARVÍA, A.; POSADAS, D. Nickel. In: BARD, A. J. **Encyclopedia of electrochemistry of the elements**. New York: Marcel Dekker, 1975. v. 3, chap. 3, p. 211-421.
- 127 CHENG, Q. et al. Electrochemical tuning the activity of nickel nanoparticle and application in sensitive detection of chemical oxygen demand. **J. Phys. Chem. C**, v. 115, n. 46, p. 22845-22850, 2011.
- 128 GUZMÁN, R. S. S.; VILCHE, J. R.; ARVÍA, A. J. Rate processes related to the hydrated nickel hydroxide electrode in alkaline solutions. **J. Electrochem. Soc.**, v. 125, n. 10, p. 1578-1587, 1978.
- 129 HAHN, F. et al. In situ UV visible reflectance spectroscopic investigation of the nickel electrode-alkaline solution interface. **Electrochim. Acta**, v. 31, n. 3, p. 335-342, 1986.

- 130 WEININGER, J. L.; BREITER, M. W. Effect of crystal structure on the anodic oxidation of nickel. **J. Electrochem. Soc.**, v. 110, n. 6, p. 484-490, 1963.
- 131 DANAEE, I. et al. Kinetic studies of glucose electrocatalytic oxidation on GC/Ni electrode. **Int. J. Chem. Kinet.**, v. 44, n. 11, p. 712-721, 2012.
- 132 CISZEWSKI, A.; STEPNIAK, I. Nanoparticles of Ni(OH)<sub>2</sub> embedded in chitosan membrane as electrocatalyst for non-enzymatic oxidation of glucose. **Electrochim. Acta**, v. 111, p. 185-191, 2013.
- 133 SALIMI, A.; ABDI, K.; KHAYATIYAN, G. R. Preparation and electrocatalytic oxidation properties of a nickel pentacyanonitrosylferrate modified carbon composite electrode by two-step sol-gel technique: improvement of the catalytic activity. **Electrochim. Acta**, v. 49, n. 3, p. 413-422, 2004.
- 134 BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electroanalysis**. Oxford: Oxford University Press, 1998.
- 135 SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC method development**. New York: John Wiley & Sons, 1997.
- 136 BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Rev. Ecotoxicol. Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.
- 137 MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. New York: Prentice Hall, 2000.
- 138 WELCH, C. M. et al. The detection of nitrate using in-situ copper nanoparticle deposition at a boron doped diamond electrode. **Anal. Sci.**, v. 21, n. 12, p. 1421-1430, 2005.
- 139 MAVROKEFALOS, C. K. et al. Electrochemical aspects of Pt–Cu and Cu modified boron-doped diamond. **Phys. Status Solidi A**, v. 212, n. 11, p. 2559-2567, 2015.
- 140 LE, W. Z.; LIU, Y. Q. Preparation of nano-copper oxide modified glassy carbon electrode by a novel film plating/potential cycling method and its characterization. **Sens. Actuators, B**, v. 141, n. 1, p. 147-153, 2009.
- 141 HALEEM, S. M. A.; ATEYA, B. G. Cyclic voltammetry of copper in sodium hydroxide solutions. **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, v. 117, n. 2, p. 309-319, 1981.
- 142 MARIOLI, J. M.; KUWANA, T. Electrochemical characterization of carbohydrate oxidation at copper electrodes. **Electrochim. Acta**, v. 37, n. 7, p. 1187-1197, 1992.

## APÊNDICE A - Estágio de pesquisa no exterior

Nesse apêndice serão apresentados os resultados obtidos durante o estágio de pesquisa de seis meses na Universidade de Oxford (Reino Unido), sob supervisão do Prof. Dr. Richard G. Compton. Durante esse período foi desenvolvido um projeto com o intuito de complementar e aprofundar os estudos com o eletrodo modificado com nanopartículas de níquel. Sendo assim, explorou-se mais a fundo a propriedade nanoelectrocatalítica do níquel utilizando a reação de eletro-oxidação do ácido láctico. O trabalho apresentado nesse apêndice foi publicado no ano de 2015 na revista científica *The Journal of Physical Chemistry C*, com o título de “*Nanoelectrocatalytic Oxidation of Lactic Acid Using Nickel Nanoparticles*”. (1)

### 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

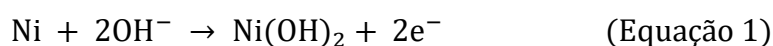
É bem estabelecido que pequenas partículas podem ter propriedades diferentes daquelas dos materiais sólidos convencionais. (2-4) Qualquer material que contém partículas com tamanho inferior a 100 nm é classificado como "material nanoestruturado". (5) Estes materiais podem apresentar propriedades físicas, ópticas, eletrônicas, magnéticas e eletroquímicas diferentes dos seus correspondentes materiais convencionais. (3, 4, 6-13) Com respeito às propriedades eletroquímicas, pode haver uma mudança na autêntica atividade catalítica ou electrocatalítica dos nanomateriais em comparação com o correspondente material convencional. (8, 9, 11, 14-17) A melhoria das propriedades catalíticas pode depender do tamanho da partícula (8, 9, 14-16, 18) e forma da partícula/ estrutura da superfície. (8, 16, 17, 19, 20) É claro que partículas de menor tamanho apresentam uma maior relação área superficial/volume, e isto pode dar origem a uma "aparente catálise", (14, 18, 21-23) apesar de tais efeitos não serem geralmente classificados como verdadeira mudança em nanoescala da propriedade catalítica. Em um caso de “autêntica” catálise espera-se uma mudança de mecanismo de reação ou de constante de velocidade. Outro tipo de efeito electrocatalítico aparente é quando o regime de transporte de massa é alterado devido à modificação do eletrodo. (18) Por exemplo, uma camada fina de difusão de uma espécie eletroativa pode ocorrer como resultado da modificação do eletrodo com uma camada porosa, (21-23) ocasionando assim uma diminuição do sobrepotencial necessário para um processo eletroquímico ocorrer. (21, 22) Em um outro extremo, quando tem-se nanopartículas isoladas como modificante de um eletrodo, a melhoria do transporte de massa devido à difusão

divergente/convergente pode afetar o produto final de uma reação eletrodica. (10, 24-26) Por exemplo, o oxigênio pode ser reduzido a peróxido de hidrogênio em vez de água em eletrodos modificados com nanopartículas, uma vez que o peróxido de hidrogênio difunde-se para longe da superfície do eletrodo antes que o mecanismo de reação que leva à formação de água seja completado. (10, 25, 26) Portanto, aparentes efeitos nanoeletrocatalíticos são ocasionados por efeitos de área superficial ou de transporte de massa. (14, 21-23)

Autênticos efeitos nanoeletrocatalíticos podem estar associados com a adsorção, uma vez que a diminuição do tamanho das nanopartículas pode influenciar os tipos ou número relativo de planos cristalinos presentes na superfície, alterando assim a adsorção de moléculas na superfície. (14, 17, 19, 20) Outro exemplo de autêntico efeito nanoeletrocatalítico é o confinamento quântico, no qual a cinética da reação em nanopartículas é alterada quando comparada com o macro material. (4, 8, 9, 11, 14, 15) Isto pode acontecer porque a banda de condução presente no macro material metálico está ausente em nanopartículas metálicas; ao contrário, há um band-gap. (4) Assim, o confinamento quântico pode afetar a cinética de transferência de elétrons.

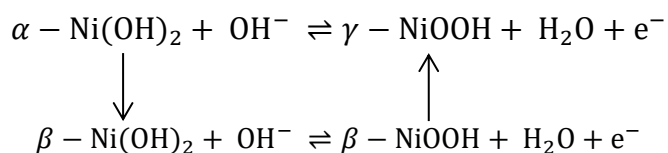
Desde os anos de 1970, eletrodos de níquel tem sido empregados na oxidação eletrocatalítica de pequenos compostos orgânicos, tais como carboidratos, álcoois, aminas e aminoácidos. (27–31) O níquel se tornou o foco de diversos estudos por causa de seu baixo custo, baixa toxicidade e excelente atividade catalítica para a oxidação de uma grande variedade de compostos orgânicos, o que torna vantajosa sua aplicação em sensores e detectores. (32, 33)

Em condições alcalinas, o níquel é eletroquimicamente convertido em hidróxido de níquel em potenciais mais negativos que -0,68 V (vs. ECS), de acordo com a Equação 1: (29, 34–36)



o qual está presente em duas formas cristalográficas, a forma hidratada  $\alpha\text{-Ni}(\text{OH})_2$ , e na forma anidra  $\beta\text{-Ni}(\text{OH})_2$ . (34, 35) Sendo que suas eletro-oxidações levam a formação de espécies  $\gamma\text{-NiOOH}$  e  $\beta\text{-NiOOH}$ , respectivamente (ver esquema 1). (35, 36) Em solução fortemente alcalina, após sucessivos ciclos de potencial a forma  $\beta$ , mais eletroativa, é irreversivelmente formada.

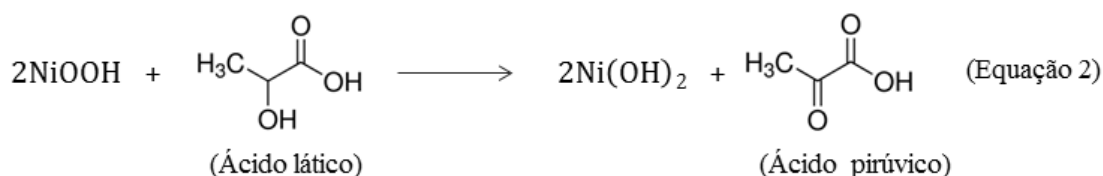
**Esquema 1.** Reação redox do Ni<sup>2+</sup> a Ni<sup>3+</sup> das duas formas cristalográficas de Ni(OH)<sub>2</sub>.



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

O par redox Ni<sup>2+</sup>/Ni<sup>3+</sup> media a oxidação química de compostos orgânicos, como carboidratos, álcoois, aminas, aminiácidos, ácidos orgânicos e fenóis. (7, 27–31, 37–51) Alcoóis primários são oxidados a ácidos carboxílicos, álcoois secundários a cetonas e aminas a nitrilas. (28, 29)

Apesar de, nos últimos anos, existir um extenso emprego em eletroanálise de nanopartículas de níquel, (6, 37, 39-45, 47, 52, 54) a maior parte dos benefícios reivindicados provavelmente refletem nanocatálise "aparente". (55-58) Assim, o objetivo do presente trabalho foi identificar um verdadeiro efeito de nanoeletrocatalise em nanopartículas de níquel oxidadas, quando comparado com o macro eletrodo de níquel oxidado. Para isso, utilizou-se o ácido láctico, o qual é oxidado em eletrodo de níquel em meio alcalino (27) formando ácido pirúvico, com a transferência de dois elétrons (ver Equação 2), sendo que esta reação ocorre via adsorção do ácido láctico em baixas velocidades de varreduras. Sendo assim é esperado que essa reação possa refletir a morfologia da superfície do eletrodo e, portanto, ser utilizada para investigar as propriedades de nanocatálise das nanopartículas de níquel.



## **2 PARTE EXPERIMENTAL**

Nesta seção estão listados os reagentes e equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho e detalhados os procedimentos realizados para preparação e caracterização dos eletrodos e realização das medidas eletroquímicas.

### **2.1. Reagentes e soluções**

Todos reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich, sendo reagentes de pureza analítica. Para a preparação das soluções foi utilizada água deionizada (MILLI-Q), com resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm.

### **2.2. Instrumentação**

Para as medidas eletroquímicas foi utilizado um potenciostato da marca Autolab PGSTAT 12, controlado pelo programa computacional GPES 4.9. Todos os experimentos foram realizados em uma célula convencional de três eletrodos. Como eletrodo de trabalho foi utilizada uma placa de BDD proveniente da empresa Element Six (Didcot, Reino Unido), com área de 1 cm<sup>2</sup>, resistividade de 0,02-0,18 ohm cm e dopagem de boro maior que 10<sup>20</sup> cm<sup>-3</sup>. A área do eletrodo de BDD foi restringida em 0,20 cm<sup>2</sup> para a realização dos experimentos eletroquímicos. Um ECS foi utilizado como eletrodo referência e um fio de platina em espiral como eletrodo auxiliar.

As imagens de microscopia foram realizadas com um microscópio eletrônico de varredura Carl Zeiss Merlin, modelo 60-62, a aceleração de 5 kV. O tamanho das nanopartículas foi medido com o auxílio do programa computacional ImageJ (National Institutes of Health, USA).

### **2.3. Eletromodificação da superfície do eletrodo de BDD com nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel (NiNPs-BDD)**

As nanopartículas de níquel foram eletrodepositadas na superfície do eletrodo de BDD em um solução de tampão acetato pH 5 contendo 1,0  $\times$  10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de NiCl<sub>2</sub> e manteve-se o potencial de -1,24 V (vs. ECS) até que a carga de 0,70 mC fosse atingida. Em seguida, o eletrodo de BDD modificado com nanopartículas de níquel metálico foi removido da solução

de eletrodeposição, lavado com água deionizada e submetido a 300 sucessivos ciclos de potencial entre 0 e 0,60 V (vs. ECS) a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  em solução de NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , para a formação de espécies  $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ .

#### 2.4. Eletrodo de fio de níquel

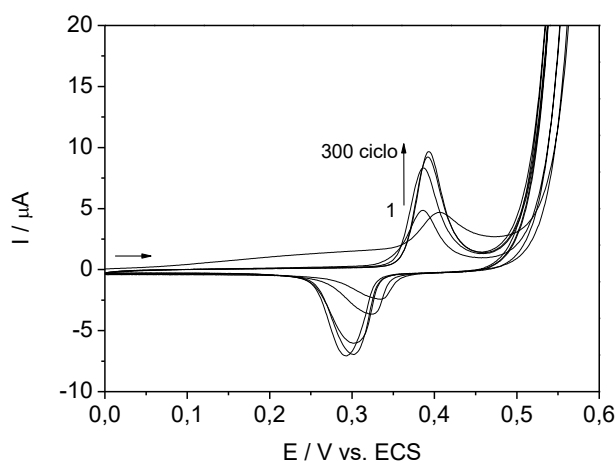
A superfície do fio de níquel ( $A = 1,3 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$ ) foi renovada por polimento em alumina com tamanhos de partículas de 1,0, 0,3 e 0,05 mm, em sequência. Depois, o eletrodo foi lavado com água deionizada e submetido a 300 sucessivos ciclos de potencial entre 0 e 0,60 V (vs. ECS) a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  em solução de NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , para a formação de uma camada de  $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Comportamento eletroquímico e caracterização do eletrodo de NiNPs-BDD

O procedimento para a modificação da superfície do BDD nanopartículas de níquel foi semelhante à descrita na literatura, (7,38-40, 42) exceto pelo fato da eletrodeposição de níquel ter sido controlada pela carga, conforme descrito na seção experimental. Sabe-se que, quando colocado em soluções alcalinas, o níquel metálico é convertido a  $\text{Ni(OH)}_2$  (ver Equação 1) em potenciais mais catódicos que  $-0,68 \text{ V}$  (vs ECS). (34-36)  $\text{Ni(OH)}_2$  pode estar presente em duas formas cristalográficas,  $\alpha$ - e  $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ , sendo a forma  $\beta$  a mais estável e cataliticamente ativa, e a sua oxidação conduz a formação de  $\beta\text{-NiOOH}$ . (35,36) Para alcançar a forma  $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ , o eletrodo de NiNPs-BDD foi submetido a 300 ciclos de potencial entre 0 e 0,60 V em solução de NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  (ver Figura 1). O par redox observado em  $E^\circ = 345 \text{ mV}$  (vs. ECS) é referente ao processo redox  $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ , de acordo com o esquema 1. Esse processo ocorre inicialmente em potenciais mais positivos por causa da maior energia necessária para começar a nucleação de espécies  $\text{NiOOH}$ . (59) Com o decorrer das varreduras, observa-se um deslocamento dos picos para valores mais positivos de potenciais, o que evidencia a formação de  $\beta\text{-Ni(OH)}_2$  a partir de  $\alpha\text{-Ni(OH)}_2$ . (35) Um aumento dos valores de  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  ao longo das varreduras também é observado e pode ser atribuído à entrada de espécies  $\text{OH}^-$  na estrutura das nanopartículas de  $\text{Ni(OH)}_2$ , as quais levam a formação das espécies  $\text{NiOOH}$ . (60)

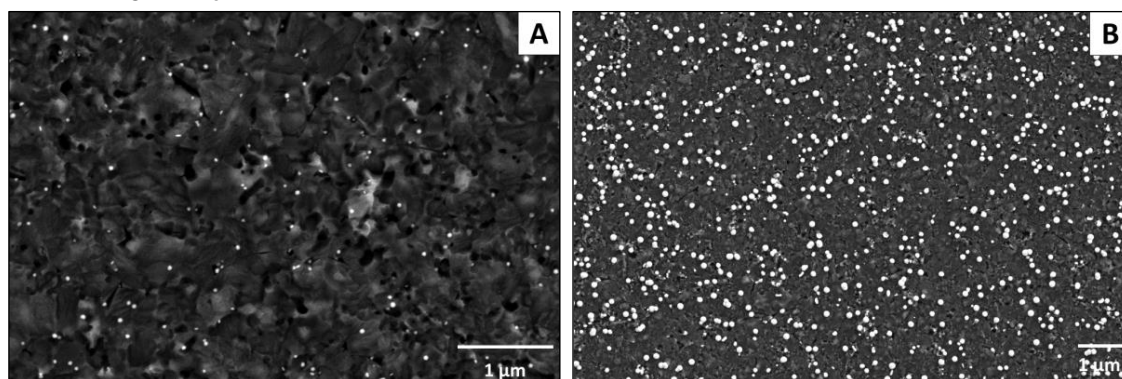
**Figura 1** - Voltamogramas cíclicos do NiNPs-BDD (0,70 mC) em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, no intervalo de potencial de 0 a 0,60 V a 50 mV s<sup>-1</sup>.



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

A morfologia do NiNPs-BDD foi avaliada por imagens de MEV. A imagem da Figura 2-A é referente à superfície do eletrodo de NiNPs-BDD modificada com uma carga de eletrodeposição de 0,70 mC. Por meio dessa imagem, pode-se observar nanopartículas esféricas com diâmetro de  $(32 \pm 7)$  nm, dispersas homogeneamente por toda a superfície do BDD. A Figura 2-B mostra a superfície do eletrodo de NiNPs-BDD modificada com uma carga de eletrodeposição de 70 mC. Pode-se observar nanopartículas esféricas com diâmetro de  $(94 \pm 13)$  nm, dispersas homogeneamente por toda a superfície do BDD.

**Figura 2** - Imagens de MEV a aceleração de 5,0 kV do NiNPs-BDD modificado com carga de eletrodeposição de 0,70 mC, magnificação de 20.000x (A) e modificado com carga de eletrodeposição de 70 mC, magnificação de 5.000x (B).



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

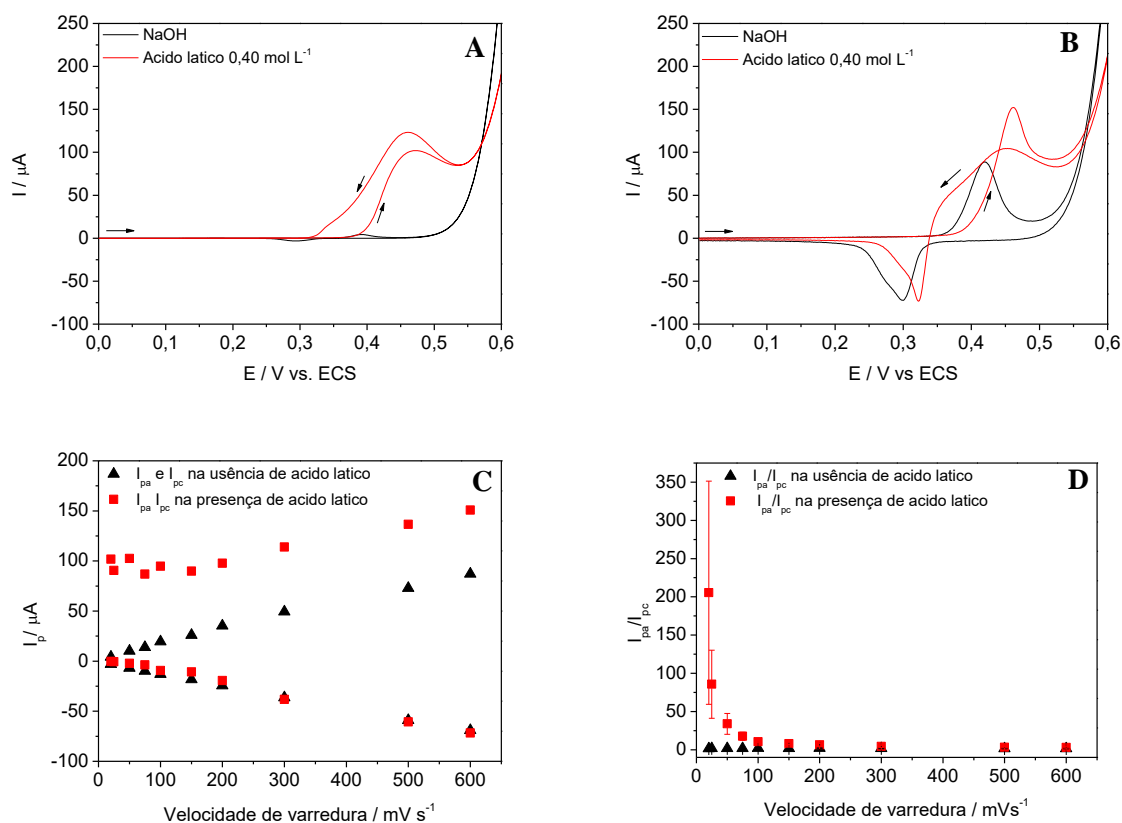
## 3.2. Oxidação eletrocatalítica do ácido láctico no NiNPs-BDD

### 3.2.1. Comportamento voltamétrico do NiNPs-BDD (0,70 mC) na presença de ácido láctico

As Figuras 3-A e 3-B b ilustram voltamogramas cíclicos do NiNPs-BDD em solução 1,0 mol L<sup>-1</sup> de NaOH na ausência e na presença de 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico em baixas e altas velocidades de varredura. Com adição de ácido láctico, um aumento acentuado de I<sub>pa</sub> e um deslocamento do potencial de pico anódico são observados, o que evidencia um efeito eletrocatalítico. A redução de I<sub>pc</sub> pode ser atribuída ao consumo das espécies catalíticas NiOOH durante a reação química de oxidação do ácido láctico (ver Equação 2), o que indica que a oxidação do ácido láctico é irreversível. Em menores velocidades de varredura, observa-se um decréscimo de I<sub>pc</sub> mais acentuado, o que sugere que a reação química de oxidação de ácido láctico com NiOOH é lenta e é a etapa determinante do mecanismo de reação. (28, 29)

Figura 3-C mostra I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> em diferentes velocidades de varredura, na ausência e presença de 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico. Observa-se que I<sub>pa</sub> aumenta substancialmente na presença de ácido láctico enquanto os valores I<sub>pc</sub> permanecem relativamente semelhantes na ausência e na presença deste composto. Isto indica um efeito eletrocatalítico típico de das nanopartículas de para a oxidação do ácido láctico. A influência da velocidade de varredura pode ser melhor visualizada quando a relação I<sub>pa</sub>/I<sub>pc</sub> é plotada em relação à velocidade de varredura, como mostrado na Figura 3-D. Esta figura compara a relação I<sub>pa</sub>/I<sub>pc</sub> em NaOH 1,0 M na ausência e na presença de ácido láctico. Observa-se que, na ausência de ácido láctico I<sub>pa</sub>/I<sub>pc</sub> é cerca de 1 e é independente da velocidade de varredura. No entanto, quando o ácido láctico é adicionado, I<sub>pa</sub>/I<sub>pc</sub> é muito maior e torna-se substancialmente menor com o aumento da velocidade de varredura. Isto é devido ao consumo maior de NiOOH espécies na reação de oxidação do ácido láctico a velocidades de varreduras mais lentas, ocasionado pelo maior tempo para a reação ocorrer, tal como discutido anteriormente. Além disso, a diferença entre I<sub>pa</sub>/I<sub>pc</sub> na presença e na ausência de ácido láctico sugere fortemente um efeito eletrocatalítico das nanopartículas de níquel na oxidação do ácido láctico.

**Figura 3** - Voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico a 20 (A) e 600 mV s<sup>-1</sup> (B). I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> em função da velocidade de varredura na ausência e presença de 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico (C). Relação I<sub>pa</sub>/I<sub>pc</sub> na ausência e na presença de 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico em várias velocidades de varredura (D). Todos os estudos foram realizados em solução de hidróxido de sódio 1,0 mol L<sup>-1</sup>, utilizando NiNPs-BDD (0,70 mC).



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

O coeficiente de transferência de elétrons,  $\beta$ , para a reação de oxidação do ácido láctico foi calculada pelo gráfico de Tafel ( $\log |I|$  vs. potencial), a 600 mV s<sup>-1</sup> na presença de 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico. Para um processo anódico a equação de Tafel é dada pela Equação 3: (61)

$$\frac{\partial \log |I|}{\partial E} = \frac{\beta F}{2.3 RT} \quad (\text{Equação 3})$$

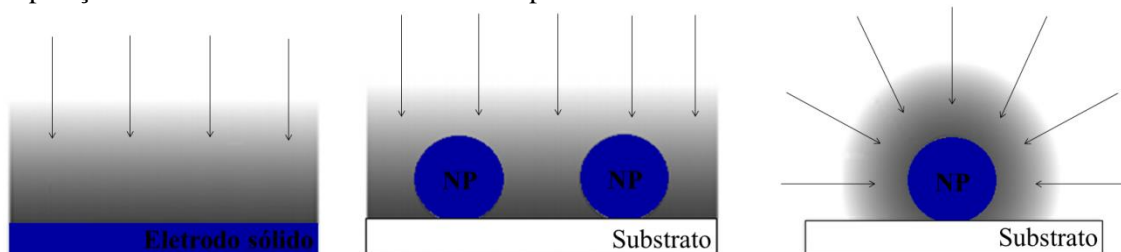
onde  $F$  é uma constante de Faraday;  $R$  é constante molar dos gases; e  $T$  é a temperatura absoluta. (61) A partir do coeficiente angular da curva  $\log |I|$  vs. potencial, obteve-se  $\beta$  igual a 0,71. O valor de  $\beta$  foi utilizado em conjunto com a equação de Randles-Ševčík para estimar a corrente difusional se todo o ácido láctico fosse oxidado na superfície do eletrodo. O cálculo

mostrou que os valores das correntes vistos nos experimentos de voltametria cíclica são bem inferiores aos esperados para um processo controlado por difusão, podendo-se concluir que a reação electrocatalítica é controlada pela taxa de oxidação do ácido láctico e não pela difusão do ácido láctico. Claro que, a utilização da equação de Randles-Ševčík para essa estimacão presume que o transporte por difusão ocorre de forma linear.

### 3.2.2. Estudo sobre o regime de difusão

A fim de inferir sobre o regime de difusão nas nanopartículas de níquel, analisou-se as imagens de MEV e, pode-se inferir que a separacão entre nanopartículas adjacentes de níquel foi estimada em 0,23  $\mu\text{m}$ . Este valor é suficientemente pequeno para que haja uma sobreposicão completa das camadas de difusão entre nanopartículas adjacentes. Sendo assim, é possível inferir que a difusão nesse conjunto de nanopartículas ocorre de maneira linear, como em eletrodos sólidos e não radial, como em nanopartículas isoladas (ver Figura 4). (62, 63)

**Figura 4** - Regime de difusão em eletrodo sólido, em arranjo de nanopartículas com forte sobreposicão das camadas de difusão e em nanopartícula isolada.



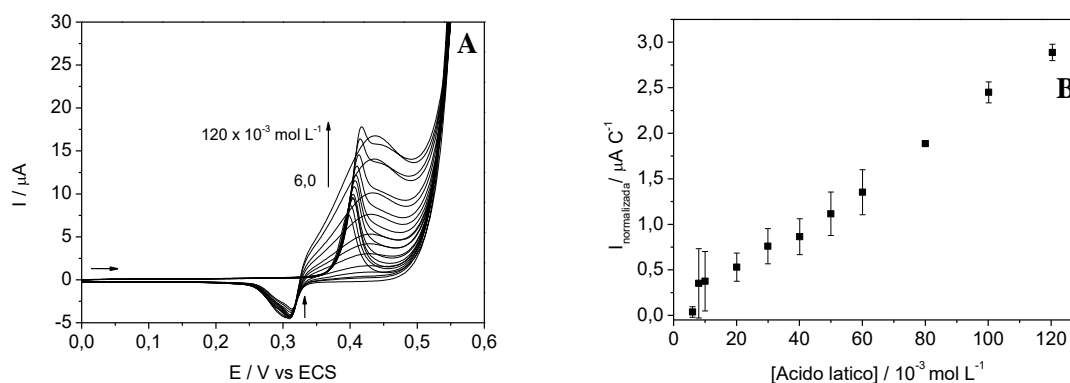
Fonte: adaptado de Toh et al. (63).

### 3.2.3. Estudo de concentraçao do ácido láctico

A Figura 5-A mostra a resposta voltamétrica do NiNPs-BDD (0,70 mC) em soluçao de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> a 50 mV s<sup>-1</sup> após sucessivas adicões de ácido láctico. O intervalo de concentraçao de 6,0 a 120  $\times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico foi investigado. O aumento de  $I_{pa}$  e das correntes após oxidaçao do níquel (corrente limite) são evidentes, bem como a diminuicão de  $I_{pc}$  à medida que a concentraçao de ácido láctico aumenta, evidenciando assim a oxidaçao electrocatalítica deste composto. A corrente limite obtida em cada concentraçao de ácido láctico

foi normalizada e é representada graficamente em função da concentração de ácido láctico na Figura 5-B. A normalização foi realizada dividindo-se a corrente limite pela carga envolvida no processo de oxidação do níquel em solução de NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  na ausência de ácido láctico. A normalização torna-se necessária para poder realizar uma comparação com outros eletrodos, como será feito nas próximas seções. Figura 5-B mostra que a corrente limite aumenta linearmente com a concentração de ácido láctico na faixa de concentração de  $6,0$  a  $120 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  com o  $R^2$  de  $0,998$ . A sensibilidade analítica foi determinada como sendo  $(24,70 \pm 0,36) \mu\text{A L C}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  ( $n = 3$ ) e o LD foi de  $(0,72 \pm 0,09) \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . (64)

**Figura 5** - Voltamogramas cíclicos do NiNPs-BDD ( $0,70 \text{ mC}$ ) a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , após sucessivas adições de ácido láctico em NaOH  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  (A). Corrente limite normalizada em função da concentração de ácido láctico,  $n=3$  (B).



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

### 3.3. Eletrodo sólido de níquel

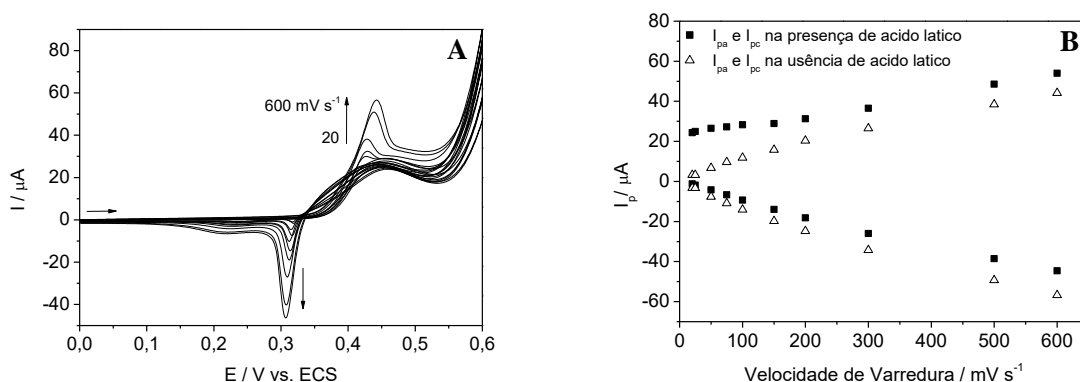
#### 3.3.1. Comportamento voltamétrico do eletrodo sólido de níquel

De modo a investigar o comportamento eletroquímico das nanopartículas de níquel em relação ao eletrodo sólido de níquel, um eletrodo de fio de níquel foi utilizado e seu comportamento voltamétrico comparado ao eletrodo de NiNPs-BDD. Comportamento voltamétrico semelhante ao NiNPs-BDD modificado com carga de eletrodeposição de  $0,70 \text{ mC}$  foi observado para o fio de níquel durante a estabilização em NaOH em  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  com 300 ciclos de potencial a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Deste modo, pode-se inferir que as mesmas espécies NiOOH foram formadas sobre o eletrodo sólido de níquel e na superfície das nanopartículas de níquel, podendo assim, os dois eletrodos serem comparados.

### 3.3.2. Oxidação do ácido láctico no eletrodo sólido de níquel

Para investigar o comportamento eletroquímico do fio de níquel na presença de ácido láctico, um estudo de velocidade de varredura foi realizado em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> contendo 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico. A velocidade de varredura foi variada entre 20 e 600 mV s<sup>-1</sup> e os voltamogramas podem ser vistos na Figura 6-A, na qual observa-se que I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> aumentam com a velocidade de varredura. Figura 6-B mostra que I<sub>pa</sub> é substancialmente maior na presença de ácido láctico quando comparada a I<sub>pa</sub> somente em eletrólito de suporte. É possível observar também que I<sub>pc</sub> tem uma ligeira diminuição na presença deste composto, indicando a oxidação eletrocatalítica do ácido láctico no eletrodo de fio de níquel.

**Figura 6** - Voltamogramas cíclicos em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> contendo 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico a velocidades de varredura entre 20 e 600 mV s<sup>-1</sup> (A). I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> em função da velocidade de varredura na ausência e presença de 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico (B).



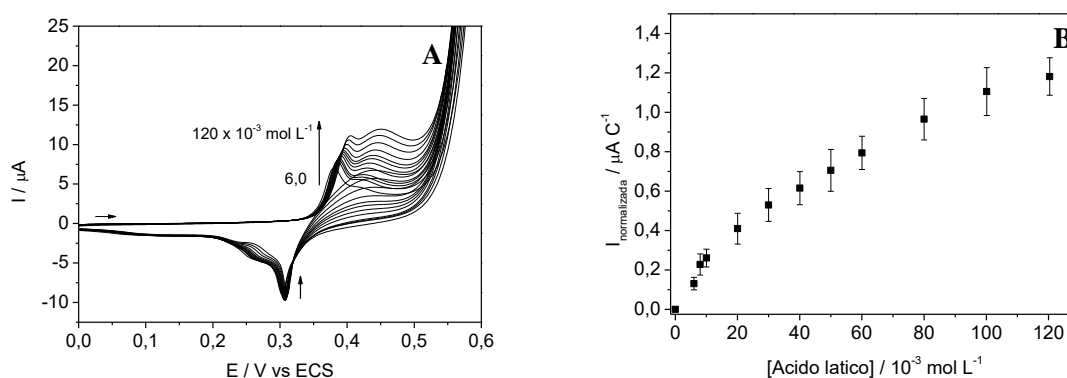
Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

### 3.3.3. Estudo de concentração do ácido láctico

Com a finalidade de investigar o efeito da concentração de ácido láctico em eletrodo de fio de níquel, foram feitas sucessivas adições do ácido láctico em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup>, e a resposta eletroquímica entre 6,0 a 120 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> pode ser visto na Figura 7-A. Comportamento voltamétrico semelhante ao NiNPs-BDD foi observado para o fio de níquel, com um aumento de I<sub>pa</sub> e da corrente limite, bem como a diminuição I<sub>pc</sub> e o aparecimento de uma onda de reoxidação na varredura reversa, a qual corresponde à oxidação do produto formado. (28, 29, 39, 42, 45, 65)

A relação entre a corrente limite e a concentração de ácido láctico é mostrada na Figura 7-B. A normalização foi realizada dividindo-se a corrente limite pela carga envolvida no processo de oxidação do níquel em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> na ausência de ácido láctico. Uma relação linear entre a concentração de ácido láctico e a corrente foi observada na faixa de concentração de 8,0 a 80 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> com R<sup>2</sup> de 0,986. A sensibilidade foi determinada como sendo (10,63 ± 0,46) μA L C<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup> (n = 3) e o LD foi de (3,80 ± 0,42) × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>. (64)

**Figura 7** - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de fio de níquel a 50 mV s<sup>-1</sup>, após sucessivas adições de ácido láctico em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> (A). Corrente limite normalizada em função da concentração de ácido láctico, n=3 (B).



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

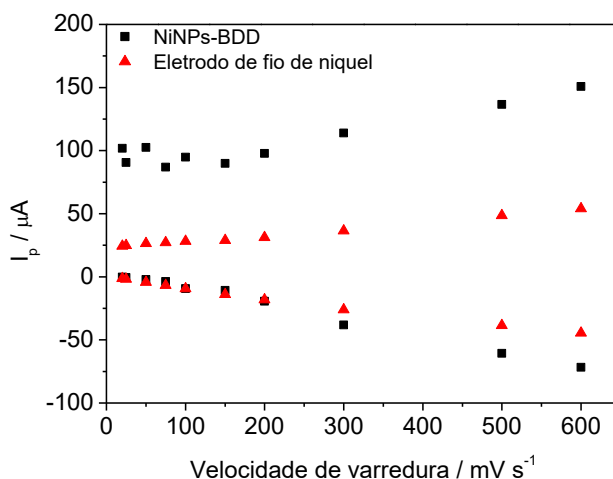
### 3.4. Comparação entre NiNPs-BDD e eletrodo sólido de níquel

Os estudos velocidade de varredura indicam o eletrodo de NiNPs-BDD com nanopartículas de 32 nm e o eletrodo de fio de níquel apresentam comportamento eletroquímico semelhante, uma vez que ambos apresentaram o mesmo comportamento voltamétrico em NaOH e na presença de ácido láctico.

Para melhor comparação, I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> dos eletrodos NiNPs-BDD e fio de níquel na presença de ácido láctico em diferentes velocidades de varredura foram plotados juntamente na Figura 8. Esta figura indica uma diferença no comportamento eletroquímico dos dois eletrodos, uma vez que os valores de I<sub>pa</sub> NiNPs-BDD são substancialmente maiores que para o fio de níquel no intervalo de velocidade de varredura entre 20 e 600 mV s<sup>-1</sup>, enquanto os valores de I<sub>pc</sub> para ambos os eletrodos são comparáveis. Este resultado indica que mais ácido láctico é oxidado no NiNPs-BDD do que no fio de níquel. Além disso, é possível observar que I<sub>pa</sub> não tem o

intercepto do eixo das ordenadas igual a zero, o que sugere uma limitação química na reação de oxidação do ácido láctico a baixas velocidades de varredura. (61, 66)

**Figura 8** -  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  dos eletrodos NiNPs-BDD e fio de níquel em várias velocidades de varredura em NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> contendo 0,40 mol L<sup>-1</sup> de ácido láctico.



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

Em relação à resposta eletroquímica frente à oxidação do ácido láctico, os eletrodos de NiNPs-BDD e de fio níquel mostraram uma diferença evidente (ver Figuras 5 e 7). Dentro da faixa linear de resposta linear do ácido láctico, foi observada uma diminuição de mais de duas vezes da sensibilidade analítica e um aumento de mais de cinco vezes do LD para o fio de níquel em relação ao eletrodo modificado com as nanopartículas de níquel. Esses resultados indicam uma maior atividade eletrocatalítica frente à oxidação do ácido láctico do eletrodo de NiNPs-BDD quando comparado ao eletrodo sólido de níquel. Uma análise superficial destes resultados pode levar à interpretação de que este aumento da resposta pode ser apenas devido à maior área de superfície e do melhoramento do transporte de massa quando as nanopartículas são utilizados. No entanto, a resposta voltamétrica na presença de ácido láctico foi normalizada pela quantidade de Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH em cada um dos eletrodos ao se dividir os valores de corrente pela carga anódica associada ao par redox Ni<sup>2+</sup>/Ni<sup>3+</sup> na ausência de ácido láctico. Portanto, é possível confirmar um possível caso de autêntica nanoeletrocatalálise das nanopartículas de níquel com diâmetro médio de 32 nm.

### 3.5. Comparação entre nanopartículas de níquel de diversos tamanhos

A resposta de uma série de eletrodos NiNP-BDD foi comparada com o eletrodo de fio de níquel. Os eletrodos de BDD foram modificados com diferentes cargas de eletrodeposição de níquel de 0,7, 3,5, 7,0, e 70 mC, a fim de produzir partículas com diferentes diâmetros, tais como em torno de 30 nm para 0,70 mC e 90 nm para 70 mC. Todos os eletrodos apresentaram comportamento voltamétrico similar na presença de ácido láctico. Para cada eletrodo de NiNPs-BDD modificado com diferentes cargas de eletrodeposição e para o eletrodo de fio de níquel foi realizado um estudo de velocidade de varredura na presença de ácido láctico e a relação  $I_{pa}/I_{pc}$  foi analisada em função da velocidade de varredura. Para uma comparação direta, os valores de  $I_{pa}/I_{pc}$  de todos os eletrodos foram normalizados pela a carga anódica em solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> (como descrito anteriormente) e/ou pela a área superficial de cada eletrodo, a qual é calculada pela Equação 4, assumindo nanopartículas hemisféricas.

$$\text{Área superficial} = (n^{\circ} \text{ nanopartículas de níquel}) 2 \pi r^2 \quad (\text{Equação 4})$$

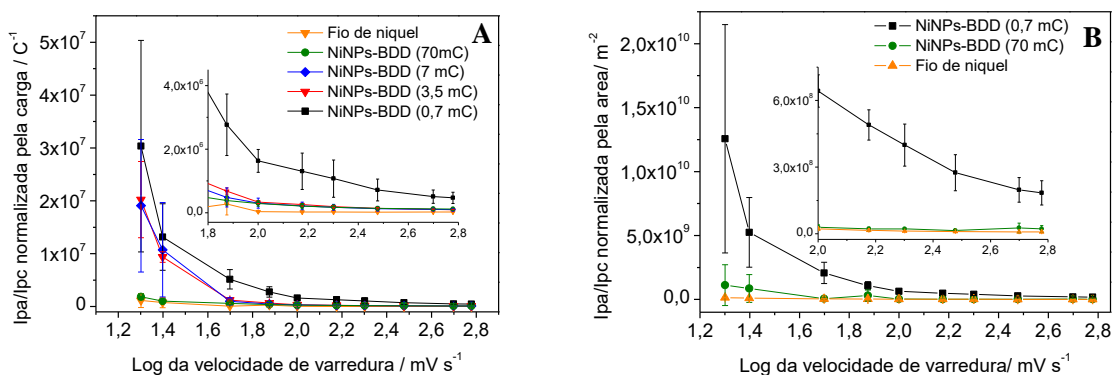
onde, o número de nanopartículas de níquel é estimado por imagens de MEV e  $r$  é o raio das nanopartículas.

As Figuras 9-A e 9-B mostram, respectivamente, razão  $I_{pa}/I_{pc}$  normalizada pela quantidade de hidróxido de níquel e a área superficial de cada eletrodo em função do logaritmo da velocidade de varredura. A normalização foi feita para assegurar que a atividade catalítica dos eletrodos é independente da quantidade de Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH e da área superficial. Em ambas figuras, é possível observar que as nanopartículas de níquel maiores (cerca de 90 nm), produzidas pela carga de eletrodeposição de 70 mC, exibiram atividade catalítica semelhante ao eletrodo sólido de níquel, sugerindo que uma "autêntica" eletrocatalise não é observada em nanopartículas maiores. Por outro lado, quando a carga de eletrodeposição é diminuída para valores menores do que 7,0 mC, a razão  $I_{pa}/I_{pc}$  é significativamente maior em comparação ao eletrodo de fio de níquel, especialmente a velocidades de varreduras mais lentas. O aumento da razão  $I_{pa}/I_{pc}$  é consideravelmente mais elevado no eletrodo de NiNPs-BDD modificado com nanopartículas de (32 ± 7) nm (0,70 mC), o que sugere um aumento significativo da atividade eletrocatalítica frente a oxidação do ácido láctico em nanopartículas menores. O desvio padrão elevado para o eletrodo NiNPs-BDD modificado com a carga de eletrodeposição 0,70 mC, é atribuído a etapa de eletrodeposição das nanopartículas, uma vez

que a homogeneidade de nanopartículas pequenas pode ser difícil de controlar influenciando assim a atividade eletrocatalítica. Observa-se também que em velocidades de varreduras mais rápidas o aumento da atividade eletrocatalítica é menos pronunciado, e isto pode ser devido à limitação cinética da oxidação do ácido láctico.

No entanto, a atividade eletrocatalítica de oxidação do ácido láctico é maior em nanopartículas de níquel com diâmetro em torno de 30 nm, tanto quando a normalização é realizada pela área superficial quanto pela quantidade de níquel, em todas as velocidades de varredura estudadas. Isso sugere que a maior atividade das nanopartículas menores não é um efeito de área superficial e sim um autêntico caso de nanoefeito.

**Figura 9** - Razão  $I_{pa}/I_{pc}$  na presença de ácido láctico normalizada pela carga anódica para os eletrodos de NiNPs-BDD modificados com cargas de eletrodeposição de níquel de 0,70 mC, 3,5 mC, 7,0 mC e 70,0 mC e eletrodo de fio de níquel (A). Razão  $I_{pa}/I_{pc}$  na presença de ácido láctico normalizada área superficial para os eletrodos de NiNPs-BDD modificados com cargas de eletrodeposição de níquel de 0,70 mC e 70,0 mC e eletrodo de fio de níquel (B).



Fonte: adaptado de Sedenho et al. (1).

#### 4 CONCLUSÕES

Oxidação do ácido láctico foi investigada em eletrodos de NiNPs-BDD com nanopartículas de diferentes tamanhos e em eletrodo de fio de níquel. Por meio de experimentos de voltametria cíclica na presença de ácido láctico, verificou-se que a razão  $I_{pa}/I_{pc}$  foi maior para os eletrodos modificados com nanopartículas de níquel menores, o que indica uma atividade eletrocatalítica mais elevada das nanopartículas com diâmetro em torno de 30 nm do que das nanopartículas com diâmetro em torno de 90 nm ou do eletrodo sólido de níquel. Os valores da razão  $I_{pa}/I_{pc}$  foram normalizados pela quantidade de níquel presente em cada eletrodo ou pela área superficial Assim os resultados mostram que o ganho na atividade eletrocatalítica

não é um efeito de aumento de área superficial, sugerindo assim um autêntico caso de nanoeletrocatalise. Neste caso, o efeito nanoeletrocatalítico pode ter ocorrido como resultado da aceleração da velocidade de reação na superfície do eletrodo, devido alterações na morfologia da superfície, o que influencia no processo de adsorção das moléculas de ácido láctico.

## REFERÊNCIAS

- 1 SEDENHO, G. C. et al. Nanoelectrocatalytic oxidation of lactic acid using nickel nanoparticles. **J. Phys. Chem. C**, v. 119, p. 6896-6905, 2015.
- 2 PLIETH, W. J. Electrochemical properties of small clusters of metal atoms and their role in the surface enhanced raman scattering. **J. Phys. Chem.**, v. 86, n. 16, p. 3166-3170, 1982.
- 3 OLAH, G. A. **Handbook of nanostructured materials and nanotechnology**. Los Angeles: Academic Press, 1994. v. 1.
- 4 RAO, C. N. R. et al. Metal nanoparticles and their assemblies. **Chem. Soc. Rev.**, v. 29, p. 27-35, 2000.
- 5 VERT, M. et al. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC recommendations 2012). **Pure Appl. Chem.**, v. 84, n. 2, p. 377-410, 2012.
- 6 GOVINDHAN, M.; CHEN, A. Simultaneous synthesis of gold nanoparticle/graphene nanocomposite for enhanced oxygen reduction reaction. **J. Power Sources**, v. 274, p. 928-936, 2015.
- 7 TOGHILL, K. E. et al. The determination of methanol using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron doped diamond electrode. **Electroanalysis**, v. 22, n. 5, p. 491-500, 2010.
- 8 PARK, S.; XIE, Y.; WEAVER, M. J. Electrocatalytic pathways on carbon-supported platinum nanoparticles: comparison of particle-size-dependent rates of methanol, formic acid, and formaldehyde electrooxidation. **Langmuir**, v. 18, n. 15, p. 5792-5798, 2002.
- 9 ELDEAB, M.; OHSAKA, T. An extraordinary electrocatalytic reduction of oxygen on gold nanoparticles-electrodeposited gold electrodes. **Electrochem. Commun.**, v. 4, n. 4, p. 288-292, 2002.
- 10 BATCHELOR-McAULEY, C. et al. Why are silver nanoparticles more toxic than bulk silver? Towards understanding the dissolution and toxicity of silver nanoparticles. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 9, p. 1132-1138, 2014.
- 11 CAMPBELL, F. W. et al. The hydrogen evolution reaction at a silver nanoparticle array and a silver macroelectrode compared: changed electrode kinetics between the macro- and nanoscales. **J. Phys. Chem. C**, v. 113, n. 13, p. 14852-14857, 2009.

- 12 LEE, S.-A. et al. Nanoparticle synthesis and electrocatalytic activity of Pt alloys for direct methanol fuel cells. **J. Electrochem. Soc.**, v. 149, n. 10, p. A1299-A1304, 2002.
- 13 EVANOFF, D. D.; CHUMANOV, G. Size-controlled synthesis of nanoparticles. 2. Measurement of extinction, scattering, and absorption cross sections. **J. Phys. Chem. B**, v. 108, n. 37, p. 13957-13962, 2004.
- 14 WANG, Y. et al. A joint experimental and computational search for authentic nano-electrocatalytic effects: electrooxidation of nitrite and L-ascorbate on gold nanoparticle-modified glassy carbon electrodes. **Small**, v. 9, n. 13, 2013. doi:10.1002/sml.201201670.
- 15 WANG, Y. et al. Strong negative nanocatalysis: oxygen reduction and hydrogen evolution at very small (2 nm) gold nanoparticles. **Nanoscale**, v. 6, p. 11024-11030, 2014.
- 16 SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, C. M. Studying electrocatalytic activity using scanning. **Electrochem. Soc. Interface**, v. 23, n. 2, p. 43-45, 2014.
- 17 UZIO, D.; BERHAULT, G. Factors governing the catalytic reactivity of metallic nanoparticles. **Catal. Rev.**, v. 52, n. 1, p. 106-131, 2010.
- 18 WANG, Y. et al. A kinetic study of oxygen reduction reaction and characterization on electrodeposited gold nanoparticles of diameter between 17 nm and 40 nm in 0.5 M sulfuric acid. **Nanoscale**, v. 5, p. 9699-9708, 2013.
- 19 JUDAI, K. et al. Low-temperature cluster catalysis. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 126, n. 9, p. 2732-2737, 2004.
- 20 CHOU, P.; VANNICE, M. A. Calorimetric heat of adsorption measurements on palladium II. Influence of crystallite size and support on CO adsorption. **J. Catal.**, v. 104, n. 1, p. 17-30, 1987.
- 21 STREETER, I. et al. Cyclic voltammetry on electrode surfaces covered with porous layers: an analysis of electron transfer kinetics at single-walled carbon nanotube modified electrodes. **Sens. Actuators, B.**, v. 133, n. 2, p. 462-466, 2008.
- 22 HENSTRIDGE, M. C. et al. Voltammetric selectivity conferred by the modification of electrodes using conductive porous layers or films: the oxidation of dopamine on glassy carbon electrodes modified with multiwalled carbon nanotubes. **Sens. Actuators, B.**, v. 145, n. 1, p. 417-427, 2010.
- 23 SIMS, M. J. et al. Effects of thin-layer diffusion in the electrochemical detection of nicotine on basal plane pyrolytic graphite (BPPG) electrodes modified with layers of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT-BPPG). **Sens. Actuators, B.**, v. 144, n. 1, p. 153-158, 2010.
- 24 WARD, K. R. et al. Nanoparticle modified electrodes can show an apparent increase in electrode kinetics due solely to altered surface geometry: the effective electrochemical rate constant for non-flat and non-uniform electrode surfaces. **J. Electroanal. Chem.**, v. 695, p. 1-9, 2013.

- 25 GARA, M. et al. Oxygen reduction at sparse arrays of platinum nanoparticles in aqueous acid: hydrogen peroxide as a liberated two electron intermediate. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 15, n. 44, p. 19487-19495, 2013.
- 26 NEUMANN, C. C. M. et al. Performance of silver nanoparticles in the catalysis of the oxygen reduction reaction in neutral media: efficiency limitation due to hydrogen peroxide escape. **Nano Res.**, v. 6, n. 7, p. 511-524, 2013.
- 27 LUO, P.; ZHANG, F.; BALDWIN, R. P. Comparison of metallic electrodes for constant-potential amperometric detection of carbohydrates, amino acids and related compounds in flow systems. **Anal. Chim. Acta**, v. 244, p. 169-178, 1991.
- 28 FLEISCHMANN, M.; KORINEK, K.; PLETCHER, D. The kinetics and mechanism of the oxidation of amines and alcohols at oxide-covered nickel, silver, copper, and cobalt electrodes. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2**, p. 1396-1403, 1972.
- 29 FLEISCHMANN, M.; KORINEK, K.; PLETCHER, D. The oxidation of organic compounds at a nickel anode in alkaline solution. **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, v. 31, n. 1, p. 39-49, 1971.
- 30 AMJAD, M.; PLETCHER, D.; SMITH, C. The oxidation of alcohols at a nickel anode in alkaline t-butanol/water mixtures. **J. Electrochem. Soc.**, v. 124, n. 2, p. 203-206, 1977.
- 31 FLEISCHMANN, M.; KORINEK, K.; PLETCHER, D. The oxidation of hydrazine at a nickel anode in alkaline solution. **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, v. 34, n. 2, p. 499-503, 1972.
- 32 MIAO, Y. et al. Electrocatalysis and electroanalysis of nickel, its oxides, hydroxides and oxyhydroxides toward small molecules. **Biosens. Bioelectron.**, v. 53, p. 428-439, 2014.
- 33 CAMPBELL, F. W.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 396, n. 1, p. 241-259, 2010.
- 34 WEINIGER, J. L.; BREITER, M. W. Effect of crystal structure on the anodic oxidation of nickel. **J. Electrochem. Soc.**, v. 110, n. 6, p. 484-490, 1963.
- 35 GUZMÁN, R. S. S.; VILCHE, J. R.; ARVIA, A. J. Rate processes related to the hydrated nickel hydroxide electrode in alkaline solutions. **J. Electrochem. Soc.**, v. 125, n. 10, p. 1578-1587, 1978.
- 36 HAHN, F. et al. In situ uv visible reflectance spectroscopic investigation of the nickel electrode-alkaline solution interface. **Electrochim. Acta**, v. 31, n. 3, p. 335-342, 1986.
- 37 ZOLGHARNEIN, J.; SHARIATMANESH, T.; BABAEI, A. Multivariate optimization of a new 4-chlorophenol sensor fabricated by modification of glassy carbon electrode using Ni(OH)<sub>2</sub> nanoparticles-carbon nanotubes (NNH-MWCNTs). **Sens. Actuators, B**, v. 186, p. 536-544, 2013.

- 38 HARFIELD, J. C. et al. Nickel nanoparticle modified bdd electrode shows an electrocatalytic response to adenine and dna in aqueous alkaline media. **Electroanalysis**, v. 23, n. 4, p. 931-938, 2011.
- 39 STRADIOTTO, N. R. et al. The fabrication and characterization of a nickel nanoparticle modified boron doped diamond electrode for electrocatalysis of primary alcohol oxidation. **Electroanalysis**, v. 21, n. 24, p. 2627-2633, 2009.
- 40 TOGHILL, K. E. et al. The non-enzymatic determination of glucose using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron-doped diamond electrode or nickel foil electrode. **Sens. Actuators, B**, v. 147, n. 2, p. 642-652, 2010.
- 41 SÁ, A. C.; PAIM, L. L.; STRADIOTTO, N. R. Sugars electrooxidation at glassy carbon electrode decorate with multi-walled carbon nanotubes with nickel oxy-hydroxide. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 9, p. 7746-7762, 2014.
- 42 RAOOF, J. B.; OJANI, R.; HOSSEINI, S. R. An electrochemical investigation of methanol oxidation on nickel hydroxide nanoparticles. **S. Afr. J. Chem.**, v. 66, p. 47-53, 2013.
- 43 DUNG, N. Q. et al. NiO-decorated single-walled carbon nanotubes for high-performance nonenzymatic glucose sensing. **Sens. Actuators, B**, v. 183, p. 381-387, 2013.
- 44 HOSSEINI, M. G.; MOMENI, M. M.; FARAJI, M. Highly active nickel nanoparticles supported on tio2 nanotube electrodes for methanol electrooxidation. **Electroanalysis**, v. 22, n. 22, p. 2620-2625, 2010.
- 45 ASGARI, M. et al . Methanol electrooxidation on the nickel oxide nanoparticles/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode prepared using pulsed electrodeposition. **J. Electrochem. Soc.**, v. 158, n. 12, p. K225-K229, 2011.
- 46 CARPANI, I.; TONELLI, D. Electrooxidation of aliphatic and aromatic amines at a Ni,Al based hydrotalcite modified electrode. **Electroanalysis**, v. 18, n. 24, p. 2421-2425, 2006.
- 47 WANG, B. et al. Preparation of nickel nanoparticle/graphene composites for non-enzymatic electrochemical glucose biosensor applications. **Mater. Res. Bull.**, v. 49, p. 521-524, 2014.
- 48 SUBRAMANIAN, P. et al. Preparation of reduced graphene oxide–Ni(OH)<sub>2</sub> composites by electrophoretic deposition: application for non-enzymatic glucose sensing. **J. Mater. Chem. A**, v. 2, p. 5525-5533, 2014.
- 49 CHOI, T. et al. Synthesis of carbon nanotube-nickel nanocomposites using atomic layer deposition for high-performance non-enzymatic glucose sensing. **Biosens. Bioelectron.**, v. 63, p. 325-330, 2015.
- 50 LIU, Y. et al. Enzyme-free ethanol sensor based on electrospun nickel nanoparticle-loaded carbon fiber paste electrode. **Anal. Chim. Acta**, v. 663, n. 2, p. 153-157, 2010.

- 51 CHEN, Y. S.; HUANG, J. H. Arrayed CNT-Ni nanocomposites grown directly on Si substrate for amperometric detection of ethanol. **Biosens. Bioelectron.**, v. 26, n. 1, p. 207-212, 2010.
- 52 HUTTON, L. A. et al. Electrodeposition of nickel hydroxide nanoparticles on boron-doped diamond electrodes for oxidative electrocatalysis. **J. Phys. Chem. C**, v. 115, n. 5, p. 1649-1658, 2011.
- 53 LI, S.-J. et al. A facile one-step electrochemical synthesis of graphene/NiO nanocomposites as efficient electrocatalyst for glucose and methanol. **Sens. Actuators, B**, v. 190, p. 809-817, 2014.
- 54 CHEE, S. Y.; FLEGEL, M.; PUMERA, M. Regulatory peptides desmopressin and glutathione voltammetric determination on nickel oxide modified electrodes. **Electrochem. Commun.**, v. 13, n. 9, p. 963-965, 2011.
- 55 GHONIM, A. M.; EI-ANADOULI, B. E.; SALEH, M. M. Electrocatalytic glucose oxidation on electrochemically oxidized glassy carbon modified with nickel oxide nanoparticles. **Electrochim. Acta**, v. 114, p. 713-719, 2013.
- 56 ADEKUNLE, A. S.; PILLAY, J.; OZOEMENA, K. I. Electrocatalysis of 2-diethylaminoethanethiol at nickel nanoparticle-electrodecorated single-walled carbon nanotube platform: an adsorption-controlled electrode process. **Electroanalysis**, v. 20, n. 23, p. 2587-2591, 2008.
- 57 ADEKUNLE, A. S.; OZOEMENA, K. I. Electron transport and electrocatalytic properties of MWCNT/nickel nanocomposites: hydrazine and diethylaminoethanethiol as analytical probes. **J. Electroanal. Chem.**, v. 645, n. 1, p. 41-49, 2010.
- 58 GONG, M. et al. Nanoscale nickel oxide/nickel heterostructures for active hydrogen evolution electrocatalysis. **Nat. Commun.**, 2014. doi:10.1038/ncomms5695.
- 59 DANAEI, I. et al. Kinetic studies of glucose electrocatalytic oxidation on GC/Ni electrode. **Int. J. Chem. Kinet.**, v. 44, n. 11, p. 712-721, 2012.
- 60 CISZEWSKI, A.; STEPNIAK, I. Nanoparticles of Ni(OH)<sub>2</sub> embedded in chitosan membrane as electrocatalyst for non-enzymatic oxidation of glucose. **Electrochim. Acta**, v. 111, p. 185-191, 2013.
- 61 COMPTON, R. G.; BANKS, C. E. **Understanding voltammetry**. Singapore: World Scientific, 2011.
- 62 HENSTRIDGE, M. C.; COMPTON, R. G. Mass transport to micro- and nanoelectrodes and their arrays: a review. **Chem. Record**, v. 12, n. 1, p. 63-71, 2012.
- 63 TOH, H. S. et al. The anodic stripping voltammetry of nanoparticles: electrochemical evidence for the surface agglomeration of silver nanoparticles. **Nanoscale**, v. 5, p. 4884-4893, 2013.

64 BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electroanalysis**. Oxford: Oxford University Press, 1998.

65 GONZÁLEZ-PEREA, M. et al. Electrosynthesis of  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub> and electrochemical response of  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub>/CB-PVC composite electrode. **ECS Trans.**, v. 36, p. 299-310, 2011.

66 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. New York: Wiley, 2001.