CEFET/RJ
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO DE GRAFITE MODIFICADO COM AZUL DE METILENO PARA DETECÇÃO DE FOSFATO EM SOLUÇÕES AQUOSAS

Vernan da Silva Lima

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica do Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca CEFET/RJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre.

Orientadores: Dr. Leandro Marques Samyn e Dra. Ana Lucia Ferreira de Barros

Rio de Janeiro,

9 de Setembro de 2025

Desenvolvimento de Sensor Eletroquímico de Grafite Modificado com Azul de Metileno para Detecção de Fosfato em Soluções Aquosas

Dissertação de Mestrado em Engenharia Elétrica do Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, CEFET/RJ.

Vernan da Silva Lima

Aprovada por:

gov.br Documento assinado digitalmente
LEANDRO MARQUES SAMYN
Data: 28/08/2025 18:04:27-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dr. Leandro Marques Samyn (CEFET/RJ) (orientador)

Ana Lucia Ferreira de Barros Assinado de forma digital por Ana Lucia Ferreira de Barros
Dados: 2025.08.29 16:55:53 -03'00'

Dra. Ana Lucia Ferreira de Barros (CEFET/RJ) (coorientadora)

gov.br Documento assinado digitalmente
MAURICIO ALVES DE MELO JUNIOR
Data: 29/08/2025 15:06:48-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dr. Mauricio Alves de Melo Junior (UFF)

gov.br Documento assinado digitalmente
MARIA APARECIDA GONCALVES MARTINEZ
Data: 29/08/2025 16:22:07-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dr. Maria Aparecida Gonçalves Martinez (CEFET/RJ)

Rio de Janeiro,

28 de Agosto de 2025

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central do CEFET/RJ

L732 Lima, Vernan da Silva
Desenvolvimento de sensor eletroquímico de grafite modificado com azul de metileno para detecção de fosfato em soluções aquosas / Vernan da Silva Lima. — 2025.
56f. : il. color. , enc.

Dissertação (Mestrado) Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, 2025.
Bibliografia : f. 53-56
Orientador: Leandro Marques Samyn
Coorientadora: Ana Lucia Ferreira de Barros

1. Eletrodos. 2. Fosfatos. 3. Água - Contaminação. 4. Materiais – Análise. I. Samyn, Leandro Marques. (Orient.). II. Barros, Ana Lucia Ferreira de. (Coorient.). III. Título.

CDD 621.38152

Elaborada pela bibliotecária Tania Mello – CRB/7 nº 5507/04

DEDICATÓRIA

Em memória do meu avô Severino

AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu saúde e inúmeras oportunidades permitindo que pudesse estar onde estou.

Aos meus pais Anisio e Joelma, por todo o apoio e por todo o sacrifício, que muito contribuíram para a realização deste sonho. Aos meus irmãos, que pelas conversas me possibilitaram imaginar um dia estar, no lugar que eu estou.

Aos meus orientadores, agradeço à professora Ana Barros e aos professores Leandro Samyn e Rajendran Suresh Babu pela paciência e dedicação no desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus professores no mestrado, por todo suporte e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

RESUMO

Desenvolvimento de Sensor Eletroquímico de Grafite Modificado com Azul de Metileno para Detecção de Fosfato em Soluções Aquosas

Vernan da Silva Lima

Orientadores:
Dr. Leandro Marques Samyn e Dra. Ana Lucia Ferreira de Barros

Esta dissertação apresenta o desenvolvimento e a caracterização de um sensor eletroquímico baseado em eletrodo de grafite modificado com azul de metileno (MB) para detecção de íons fosfato em meio aquoso a fim de que atráves dos indicadores de concentração do fosfato ações possam ser adotadas, diminuindo o impacto na eutrofização de rios e lagos, assim como indices de doenças causadas pelo mosquito da Dengue, Zika ou Febre amarela. O azul de metileno foi escolhido devido às suas propriedades eletroativas, capacidade de formar filmes poliméricos estáveis por eletropolimerização e afinidade química com o ânion fosfato. A modificação da superfície do eletrodo foi realizada por voltametria cíclica em solução de MB 0,1 mM em solução tamponada de fosfato (pH 7,0). A formação do filme polimérico foi confirmada por espectroscopia FTIR e microscopia eletrônica de varredura (MEV), que evidenciaram bandas vibracionais características e uma morfologia porosa favorável à difusão de íons. Técnicas eletroquímicas como voltametria cíclica (CV), cronoamperometria (CA) e voltametria por pulso diferencial (DPV) foram empregadas para avaliar o desempenho do sensor. Os resultados demonstraram resposta linear entre corrente e concentração de fosfato. A resposta linear obtida por voltametria cíclica na faixa de 0 à 2500 µmol/L, com R^2 = 0,9661 e R^2 = 0,989 para faixas de 0 à 25 µmol/L. A técnica de DPV apresentou alta sensibilidade, com faixa linear entre 56 e 2200 µmol/L e coeficiente de correlação R^2 = 0,9971. A cronoamperometria demonstrou boa estabilidade e reprodutibilidade da corrente sob adições sucessivas de fosfato, e os testes por CV confirmaram o aumento da atividade redox após a modificação com MB apresentou boa linearidade das curvas de cronoamperometria (coeficiente de correlação R^2= 0,99), com faixas de concentração detectadas entre 199 e 2198 µmol/L;. O sensor também foi aplicado na análise de amostras reais de água coletadas em três localidades da Região Metropolitana do Rio de Janeiro: Nova Iguaçu, Duque de Caxias e Maracanã. As respostas obtidas evidenciaram a capacidade do sensor em detectar fosfato em ambientes complexos e não tratados, com taxas de erro aceitáveis e compatíveis com o uso em campo. Conclui-se que o eletrodo de grafite modificado com azul de metileno representa uma alternativa viável, de baixo custo e boa sensibilidade para o monitoramento de íons fosfato, com aplicações promissoras em análises ambientais e controle da qualidade da água.

Palavras-chave:
Eletrodos de grafite; fosfato; contaminação da água; azul de metileno; sensor eletroquímico.

Rio de Janeiro,

9 de Setembro de 2025

ABSTRACT

Development of an Electrochemical Sensor Based on Methylene Blue-Modified Graphite for Phosphate Detection in Aqueous Solutions

Vernan da Silva Lima

Advisors:
Dr. Leandro Marques Samyn e Dra. Ana Lucia Ferreira de Barros

This sensor can then use phosphate concentration indicators to identify potential actions to reduce the impact on eutrophication of rivers and lakes, as well as the incidence of diseases caused by the mosquito-borne dengue, Zika, and yellow fever. Methylene blue was chosen due to its electroactive properties, ability to form stable polymer films through electropolymerization, and chemical affinity for the phosphate anion. The electrode surface modification was performed by cyclic voltammetry in a 0.1 mM MB solution in a phosphate-buffered solution (pH 7.0). The formation of the polymer film was confirmed by FTIR spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM), which revealed characteristic vibrational bands and a porous morphology favorable for ion diffusion. Electrochemical techniques such as cyclic voltammetry (CV), chronoamperometry (CA), and differential pulse voltammetry (DPV) were used to evaluate the sensor's performance. The results demonstrated a linear response between current and phosphate concentration.The linear response obtained by cyclic voltammetry in the range of 0 to 2500 µmol/L, with $R^2 = 0.9661$ and $R^2 = 0.989$ for the ranges of 0 to 25 µmol/L. The DPV technique showed high sensitivity, with a linear range between 56 and 2200 µmol/L and a correlation coefficient of $R^2 = 0.9971$. Chronoamperometry demonstrated good current stability and reproducibility under successive phosphate additions, and CV tests confirmed the increase in redox activity after modification with MB. The chronoamperometry curves showed good linearity (correlation coefficient $R^2 = 0.99$), with concentration ranges detected between 199 and 2198 µmol/L. The sensor was also applied to analyze real water samples collected in three locations in the Rio de Janeiro Metropolitan Region: Nova Iguaçu, Duque de Caxias, and Maracanã. The responses demonstrated the sensor's ability to detect phosphate in complex, untreated environments, with acceptable error rates compatible with field use. The conclusion is that the methylene blue-modified graphite electrode represents a viable, low-cost, and highly sensitive alternative for monitoring phosphate ions, with promising applications in environmental analysis and water quality control.

Key-words:
Graphite electrodes; phosphate; water contamination; methylene blue; electrochemical sensor.

Rio de Janeiro,

9 de Setembro de 2025

Sumário

1 Introdução **1**

1.1 Introdução 1

1.2 O problema da contaminação da água no Brasil 3

1.3 Motivação e objetivo 9

1.4 Organização do Presente Trabalho 10

2 Materiais e Métodos **11**

2.1 Materiais 11

2.2 Preparação do eletrodo 12

2.3 Preparação da solução PBS para os ensaios realizados 13

2.4 Preparação da solução de azul de metileno para deposição 14

2.5 Fundamentos teóricos e procedimentos para a construção do sensor 15

2.5.1 Fundamentos das voltametrias e topologia dos eletrodos 16

2.5.2 Voltametria cíclica linear 17

2.5.3 Voltametria por varredura linear 18

2.5.4 Voltametria de pulso diferencial 18

2.5.5 Cronoamperometria 20

2.5.6 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 21

2.5.7 Princípio da microscopia eletrônica de varredura 22

2.6 Construção do sensor 23

2.7 Desempenho eletroquímico dos eletrodos revestidos na presença de fosfato 24

2.8 Aplicação do sensor na quantificação de fosfato em amostras reais de água 25

3 Resultados experimentais e discussões **27**

3.1 Caracterização eletroquímica inicial dos eletrodos modificados 28

3.2 Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo de grafite modificado por análise da taxa de varredura 29

3.3 Análise comparativa do comportamento eletroquímico de eletrodos de grafite com e sem modificação por azul de metileno via voltametria cíclica 30

3.4 Análise morfológica por MEV dos eletrodos de grafite com e sem modificação por azul de metileno 31
3.5 Análise morfológica do eletrodo de grafite com e sem modificação por azul de metileno 33
3.6 Análise espectroscópica por FTIR do eletrodo de grafite modificado com azul de metileno 35
3.7 Análise eletroquímica do eletrodo de grafite com deposição de azul de metileno por voltametria de pulso diferencial (DPV) 38
3.8 Análise eletroquímica do eletrodo de grafite frente à adição de fosfato por cronoamperometria 40
3.9 Análise eletroquímica do eletrodo de grafite gerada pela solução de fosfato 42
3.10 Determinação de fosfato em amostras de água 44
3.11 Resposta amperométrica do eletrodo modificado por MB para redução de fosfato 47
3.12 Resposta eletroquímica por voltametria de pulso diferencial (DPV) 48

4 Conclusões **51**

Referências 53

Lista de Figuras

1.1 A relação do uso, em metros cúbicos, dos recursos hídricos renováveis em atividades no mundo [Rahaman and Shehab, 2019]. 3

1.2 Entrada natural de fósforo nas diferentes camadas de um ecossistema terrestre e aquático. 6

1.3 Entrada artificial de nutrientes nas diferentes camadas de um ecossistema aquático. 7

1.4 Floração de algas no Reservatório Billings em São Paulo. 7

1.5 Floração de cianobactérias na Lagoa de Jacarepaguá - RJ. 8

1.6 Modelo e Estrutura molecular do (MB). 10

2.1 Eletrodo de grafite: (a) sem polimento e (b) após o polimento. 13

2.2 Equipamentos utilizados para produção da solução PBS: (a) Ultrasom (modelo UltraCleaner 1400) usado na dissolução dos reagentes; (b) Medidor de pH (modelo SIMPLA PH-140). 14

2.3 Adição gradativa de azul de metileno na solução 0,1 M PBS com pH 7,0: (a) 4,25 mg, (b) 8,50 mg, (c) 12,75 mg e (d) 17,00 mg. 15

2.4 (a) Topologia com três eletrodos: eletrodo de trabalho (WE), eletrodo de referência (RE) e contra-eletrodo (CE); (b) Potenciostato IVIUM® CompactStat.h. 17

2.5 Voltamograma cíclico para um sistema reversível, onde potencial em Volt e corrente em Ampere. 18

2.6 Diagrama da aplicação de pulsos na técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV). 19

2.7 Resposta típica de um voltamograma de pulso diferencial. 19

2.8 Equipamento de espectroscopia FTIR utilizado nas análises. 21

2.9 Espectros FTIR do azul de metileno bruto (linha azul) e após deposição sobre grafite (linha vermelha). 22

2.10 Microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo MEV - LAMAR: (a) câmara do equipamento JSM-7100F; (b) estação de operação do MEV com terminal de controle. 23

2.11 Topologia dos eletrodos para ensaio de deposição do azul de metileno por voltametria cíclica linear. 24

2.12 Incremento da solução 0,1 M de ácido fosfórico na solução PBS. 25
2.13 Incremento de amostras reais na solução PBS para detecção de fosfato. 26

3.1 Perfil voltamétrico do eletrodo na eletropolimerização do MB: (a) 30 ciclos completos; (b) comparação entre 1º e 30º ciclo. 28
3.2 Voltametrias cíclicas linear em solução PBS 0,1 M (pH=7) para diferentes taxas de varredura: (a) Variação de 5 $mV \cdot s^{-1}$ a 15 $mV \cdot s^{-1}$;(b)Variação de 20 $mV \cdot s^{-1}$ a 30 $mV \cdot s^{-1}$;(c)Variação de 40 $mV \cdot s^{-1}$ a 150 $mV \cdot s^{-1}$;(d)Variação de 5 $mV \cdot s^{-1}$ a 150 $mV \cdot s^{-1}$. 30
3.3 Curvas de voltametria cíclica de um eletrodo sem revestimento e de um eletrodo revestido com MB em solução PBS 0,1 M (pH 7,0), com 0 μL e 14730 μL de solução de ácido fosfórico. 31
3.4 Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo sem o revestimento de azul de metileno (MB): (a) 500×; (b) 1000×; (c) 5000×; (d) 20000×. 32
3.5 Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo com revestimento de azul de metileno (MB): (a) 500×; (b) 1000×; (c) 5000×, com destaque para a região de polimerização (retângulo azul); (d) 20000×. 33
3.6 Microscopia eletrônica de varredura comparativa entre o eletrodo de grafite sem e com modificação por MB (20000×). 34
3.7 Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo com revestimento de MB (50000×). 35
3.8 Mecanismo esquemático da polimerização eletroquímica do azul de metileno (MB). 36
3.9 Espectros de FTIR do eletrodo de grafite: (a) MB depositado; (b) MB em PBS 0,1 M, pH 7,0. 37
3.10 Comparação direta entre os espectros de FTIR do MB depositado e MB após imersão em PBS pH 7,3. 38
3.11 Ensaio de voltametria por pulso diferencial (DPV) em eletrodo com deposição de MB. 39
3.12 Curva analítica da resposta do eletrodo modificado com MB por DPV em função da concentração de fosfato. 40
3.13 Curvas de cronoamperometria do eletrodo modificado com azul de metileno frente à adição de fosfato. 41
3.14 Resposta cronoamperométrica simulada do eletrodo de grafite funcionalizado com MB frente a 10 adições de fosfato a cada 60 s. Observa-se estabilização da corrente após cada perturbação. 42
3.15 Ensaio de voltametria cíclica com acréscimo de fosfato:(a) Adição de fosfato na solução PBS de 0 µL a 14.730 µL; (b) Curva de sensibilidade do eletrodo depositado por MB. 43

3.16 Comparação dos resultados experimentais de Patella et al.[Patella et al., 2023a] obtidos pela adição de fosfato em solução (PBS) 0,05 M e pH 7,4 com a mesma concentração deste estudo. 44

3.17 Ensaio de voltametria cíclica linear no eletrodo para potencial de -0,4 V em solução 0,1 M de PBS (pH 7,0), com adições de 0 a 200 µmol/L de soluções aquosas em três amostras reais: (a) Nova Iguaçu, (b) Duque de Caxias e (c) Maracanã. 46

3.18 Curva da cronoamperometria com acréscimo de fosfato: (a) Adição gradativa de fosfato na solução PBS de 1 mL a 10 mL; (b) Curva obtida pela cronoamperometria da sensibilidade do eletrodo depositado por MB. 48

3.19 Resposta DPV do eletrodo modificado por MB para diferentes concentrações de fosfato de PBS 0,1 M (pH 7,0): (a) Concentrações de solução de fosfato variando de $5{,}6\times10^{-5}$ a $2{,}2\times10^{-3}$ mol/L; (b) Resultados obtidos na DPV pela adição de solução de fosfato. 49

Lista de Tabelas

1.1 Níveis críticos de fósforo segundo o [CONAMA, 2017]. 9

3.1 Comparação das atribuições vibracionais no espectro FTIR do eletrodo modificado com MB com dados da literatura. 36

3.2 Dados experimentais da curva analítica por DPV para diferentes concentrações de fosfato. 39

3.3 Variações de corrente esperadas para concentração de fosfato. 45

3.4 Análise da amostra real nº1 - Nova Iguaçu 45

3.5 Análise da amostra real nº2 - Duque de Caxias 45

3.6 Análise da amostra real nº3 - Maracanã 46

3.7 Dados da resposta amperométrica da Figura 3.18(b). 48

3.8 Resumo dos ensaios eletroquímicos: faixas de detecção de fosfato e correlação linear. 50

3.9 Comparação de sensores eletroquímicos para detecção de fosfato em amostras aquosas, indicando intervalo linear, limite de detecção (LOD) e observações sobre sensibilidade, robustez e aplicabilidade em amostras reais. 50

Lista de Abreviações

CONAMA	Conselho Nacional Do Meio Ambiente	8
CV	*Cyclic Voltammetry*	11
DPV	*Differential Pulse Voltammetry*	11
LSV	*Linear Scanrate Voltammetry*	11
MB	*Methylene Blue*	9, 11
OMS	Organização Mundial Da Saúde	3

Capítulo 1 Introdução

1.1 Introdução

O acesso à água potável é uma necessidade fundamental, mas ainda um desafio para milhões de pessoas em todo o mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 844 milhões de pessoas não tinham acesso a fontes seguras de água potável em 2015 [WHO, 2017]. No Brasil, embora 92% da população possua acesso ao abastecimento de água, persistem desigualdades significativas entre áreas urbanas e rurais, e entre diferentes faixas de renda [IBGE, 2022; Ipea, 2014].

A contaminação da água por metais tóxicos (como chumbo, mercúrio e cádmio) e por ânions como o fosfato representa uma ameaça ambiental grave. Estudos apontam que a exposição prolongada a metais tóxicos pode causar desde distúrbios neurológicos até câncer [Steinkellner et al., 1998; Campos et al., 2021]. Além disso, o excesso de nutrientes como o fosfato em corpos hídricos pode causar eutrofização, ou seja, à proliferação de algas e cianobactérias, causando a redução do oxigênio dissolvido e impactos na fauna aquática e na saúde pública [Mallin and Cahoon, 2020; Johnes et al., 2022].

O fosfato, frequentemente presente em fertilizantes, detergentes e efluentes industriais, contribui significativamente para a degradação dos ecossistemas aquáticos. Sua concentração elevada está associada a eventos de floração de algas, como os observados no Reservatório Billings (SP) e na Lagoa de Jacarepaguá (RJ) [Mercedes et al., 2020; Peske Ceron, 2011]. Além disso, a presença de geosmina (alga que tem sua proliferação potencializada pelo fosfato), um composto derivado dessas florações, tem sido correlacionada com a proliferação do mosquito *Aedes aegypti*, vetor de arboviroses como dengue e zika [Melo et al., 2020].

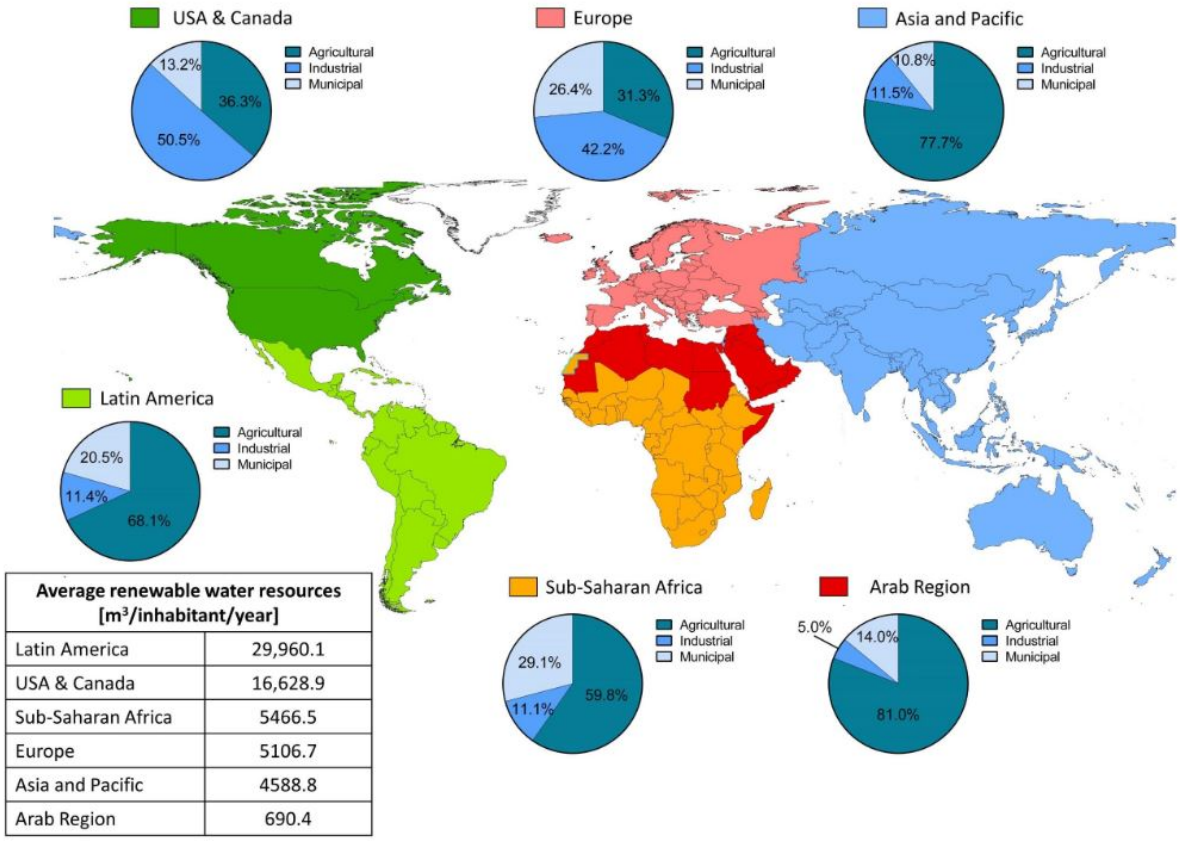
Neste contexto, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos para monitoramento ambiental tem ganhado destaque. A utilização do azul de metileno (MB) como material sensibilizante em eletrodos tem-se mostrado promissora na interação com o fosfato devido às suas propriedades eletrocatalíticas e à capacidade de interação com compostos inorgânicos e orgânicos [Makeswari and Saraswathi, 2020; Hayat et al., 2022]. O MB também apresenta boa solubilidade em água e estabilidade térmica, favorecendo sua aplicação em dispositivos sensoriais [Wei et al., 2019; Khan et al., 2022].

Este trabalho propõe o desenvolvimento de um sensor eletroquímico baseado em eletrodos de grafite modificados com filme fino de azul de metileno, visando à detecção eficiente de fosfato em amostras reais de água. A metodologia emprega a técnica de polimerização eletroquímica por voltametria cíclica, com caracterizações complementares por FTIR, MEV e técnicas voltamétricas, buscando contribuir para soluções tecnológicas de monitoramento ambiental acessíveis e eficazes.

A contaminação da água é um dos maiores desafios enfrentados pela sociedade contemporânea, impactando milhões de pessoas em todo o mundo. De acordo com estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2015, cerca de 844 milhões de pessoas não tinham acesso à água potável, enquanto mais de 2,1 bilhões careciam de fontes seguras de abastecimento [WHO, 2017; Organization et al., 2017]. A distribuição desigual dos recursos hídricos agrava ainda mais essa situação: embora a América Latina e o Caribe concentrem mais de 35% das fontes de água doce do planeta, abrigam apenas 8,4% da população mundial [Rodríguez et al., 2022].

Esse panorama evidencia a crescente escassez de um recurso vital, cuja má gestão pode comprometer seriamente a qualidade de vida das gerações futuras. Além disso, a intensa utilização da água em setores como agricultura, indústria e abastecimento urbano acentua a pressão sobre os mananciais, especialmente em regiões de alta vulnerabilidade socioambiental [Rahaman and Shehab, 2019].Na Figura 1.1 observa-se uma relação do uso da água em atividades como agricultura, indústria e uso doméstico (Municipal) em diversas regiões do mundo. Pode-se constatar a discrepância entre a utilização da água em regiões como América Latina e região Árabe, além de sua importância na produção de alimentos e no consumo direto.

Neste contexto, torna-se imprescindível o desenvolvimento de tecnologias acessíveis e eficazes para o monitoramento da qualidade da água. Este trabalho insere-se nesse esforço, propondo uma abordagem inovadora para a detecção de fosfato — um dos principais agentes responsáveis pela eutrofização e degradação de ecossistemas aquáticos — por meio de sensores eletroquímicos baseados em eletrodos de grafite modificados com azul de metileno.



Average renewable water resources [m³/inhabitant/year]	
Latin America	29,960.1
USA & Canada	16,628.9
Sub-Saharan Africa	5466.5
Europe	5106.7
Asia and Pacific	4588.8
Arab Region	690.4

Figura 1.1: A relação do uso, em metros cúbicos, dos recursos hídricos renováveis em atividades no mundo [Rahaman and Shehab, 2019].

1.2 O problema da contaminação da água no Brasil

Apesar de sua vasta disponibilidade de recursos hídricos, o Brasil enfrenta sérios desafios relacionados à qualidade da água. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2022 o país contava com uma população de aproximadamente 203 milhões de habitantes [IBGE, 2022], dos quais 92% possuíam acesso ao abastecimento de água potável [WHO/UNICEF, 2014]. No entanto, essa cobertura esconde disparidades significativas: apenas 67,5% da população em situação de extrema pobreza dispunha de acesso à rede de água em 2012 [Ipea, 2014], e nas áreas rurais cerca de 33% da população permanece sem acesso a fontes seguras [Moraes and Jordão, 2002]. Por esse motivo, até o ano de 2030, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) propõem-se reduzir a poluição da água de modo a melhorar a sua qualidade, eliminando o despejo de esgoto e de produtos químicos, reduzindo o despejo de águas residuais e ampliando a reutilização e reciclagem de maneira consciente [ONU, 2024]. A partir dessa problemática, pode-se constatar a preocupação de organizações internacionais, na utilização e manutenção dos recursos naturais, de um modo especial os recursos hídricos.

Além da limitação de infraestrutura, a qualidade da água é comprometida pela poluição proveniente de diversas fontes. A descarga de efluentes industriais contendo metais tóxicos como chumbo,

mercúrio, arsênio, cádmio e cobre, aliada ao uso intensivo de fertilizantes na agricultura e à erosão do solo, tem causado a degradação de rios, lagos e aquíferos [Campos et al., 2021; Steinkellner et al., 1998]. Mesmo em baixas concentrações, a exposição prolongada a esses contaminantes pode provocar sérios danos à saúde humana, incluindo distúrbios neurológicos, renais e câncer.

Adicionalmente, o excesso de nutrientes nos ecossistemas aquáticos, como os fosfatos presentes em detergentes e fertilizantes, tem promovido a eutrofização, um processo que reduz os níveis de oxigênio dissolvido e compromete a biodiversidade aquática [Mallin and Cahoon, 2020]. Esse fenômeno está diretamente associado à proliferação de algas e cianobactérias, as quais, além de afetarem a potabilidade da água, podem liberar toxinas com efeitos hepatotóxicos e neurotóxicos [Johnes et al., 2022].

Os metais tóxicos além de causar um impacto significativo no desequilíbrio de ecossistemas, podem também provocar efeitos prejudiciais à saúde nos seres humanos. Esses metais são capazes de causar efeitos tóxicos agudos e câncer devido ao seu potencial de danos na estrutura do DNA [Steinkellner et al., 1998]. Alguns dos metais mais perigosos em termos de contaminação da água são :

1. Chumbo: A exposição ao chumbo pode causar danos ao sistema nervoso, afetar o desenvolvimento infantil, causar problemas de aprendizado e comportamentais, bem como danos renais e cardiovasculares.

2. Mercúrio: O mercúrio é particularmente preocupante devido à sua capacidade de se acumular em peixes e frutos do mar, que são fontes comuns de proteína na dieta humana. A exposição crônica ao mercúrio pode levar a danos neurológicos, afetando especialmente o desenvolvimento infantil.

3. Arsênio: A exposição ao arsênio na água potável pode aumentar o risco de câncer de pele, pulmão e bexiga. Também pode causar problemas cardiovasculares, doenças do fígado e danos ao sistema nervoso.

4. Cádmio: O cádmio pode causar doenças renais, distúrbios ósseos e respiratórios, além de aumentar o risco de câncer.

5. Cobre: Excesso de cobre na água pode causar problemas gastrointestinais agudos, como náuseas e diarreia. A exposição crônica pode levar a distúrbios hepáticos e renais.

Casos emblemáticos como as florações na Lagoa de Jacarepaguá (RJ) e no Reservatório Billings (SP) ilustram os impactos da contaminação por fosfato em ambientes urbanos [Mercedes et al., 2020; Peske Ceron, 2011]. Estudos recentes também indicam a correlação entre compostos gerados

por essas florações, como a geosmina, e o aumento da oviposição do mosquito *Aedes aegypti*, vetor de doenças como dengue, zika e chikungunya [Melo et al., 2020].

Esses dados evidenciam a urgência de medidas voltadas à proteção dos recursos hídricos, incluindo políticas públicas eficazes, saneamento básico universalizado e o desenvolvimento de tecnologias de monitoramento acessíveis e sensíveis para a detecção de contaminantes como o fosfato.

Um estudo realizado por Campos et al. [Campos et al., 2021] buscou avaliar a exposição dos metais tóxicos, dentre eles o cádmio, arsênio, cobre, mercúrio, manganês e níquel, realizando o biomonitoramento em adultos residentes próximos a áreas industriais e conclui-se que a presença de arsênio e mercúrio em amostras de urina indica atenção com a exposição desses metais.

Por esses motivos, a contaminação das fontes naturais de água é um problema particularmente sério em comunidades que dependem diretamente de fontes de água locais e que não têm acesso a sistemas de tratamento adequados. Entretanto, além da contaminação por metais, conforme exposto anteriormente, existem outros tipos de poluições que também causam prejuízos à sociedade; dentre elas, pode-se citar o despejo indevido de fosfato (PO_4^{-3}) que pode causar diversos impactos negativos na saúde humana. Esse ânion é um não-metal formado por fósforo e oxigênio e que está presente em fertilizantes, agrotóxicos e detergentes que, assim como os metais, podem prejudicar a vida aquática e ecossistemas inteiros se estiver presente em excesso nos rios e lagos.

O processo natural de fixação do fósforo (P) nos rios, lagos e nos solos inicia-se pela erosão das rochas, visto que o fósforo, diferente do nitrogênio (N) e do carbono (C), não está presente na atmosfera [Kipp and Stüeken, 2017]. Deste modo, para que ocorra a deposição do fósforo no solo ou na água, é necessário que haja erosão de rochas ou minerais onde esse composto químico esteja presente, seja por meio de ácidos naturais presentes nas chuvas ou por ação microbiana [Ruttenberg, 2003].

Realizada a dissolução dos fosfatos presentes nesses minerais, esses compostos podem ser encaminhados para os rios, lagos, oceanos e para o solo para manutenção da vida, sendo absorvidos por organismos. A fixação de fosfatos também pode ocorrer por meio da decomposição de organismos no solo, esse ciclo é fundamental para a existência e equilíbrio dos ecossistemas.Na Figura 1.2 é observa-se a um modelo esquemática da entrada natural de componentes a base de fósforo nas camadas de um ecossistema terreste e aquático.

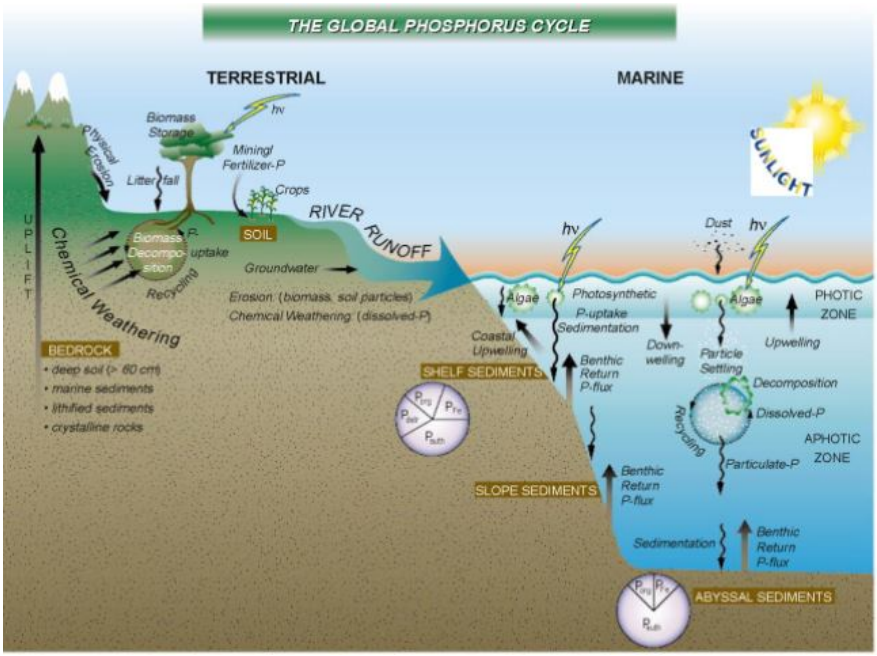


Figura 1.2: Entrada natural de fósforo nas diferentes camadas de um ecossistema terrestre e aquático [Ruttenberg, 2001].

Contudo, potencialmente poluente, o fosfato em excesso pode ser promovido pela erosão provocada pela ação humana ou pelo acúmulo de matéria orgânica de maneira indevida no ambiente, podendo provocar diversos impactos negativos de modo significativo em relação à qualidade das águas. Cabe destacar que a transferência de fosfato do sistema terrestre para o ambiente aquático ocorre principalmente por dois caminhos: escoamento da água através do solo e percolação da água no solo é nesse contexto que pode surgir a eutrofização.

A eutrofização é o aumento excessivo de nutrientes (especialmente fósforo) na água que pode ser causado por drenagem de fertilizantes agrícolas, águas pluviais contaminadas de cidades, detergentes, rejeitos de minas e drenagem de dejetos (humanos e animais). Quando estes resíduos estão em altas concentrações em rios e lagos, podem causar a eutrofização. Os nutrientes estimulam o crescimento de algas e de organismos fitoplanctônicos e fitobentônicos, [Mallin and Cahoon, 2020] que por sua vez interferem na qualidade da água potável. Estas entradas de nutrientes, geralmente irregulares, causam ondas de crescimento desses organismos e algas, diminuindo a incidência de luz nos rios e lagos, o que diminui o processo fotossintético, causando escassez dos níveis de oxigênio e, assim, promovendo a morte de animais como peixes e causando o desequilíbrio de ambientes aquáticos.

Na Figura 1.3 pode-se observar a relação entre os principais agentes do processo de eutrofização, por exemplo, e a entrada de componentes ricos em fosfatos, o que causa o aumento da produção orgânica que, por sua vez, resulta no aumento da biomassa nos rios e lagos, diminuindo a penetração de luz e taxas fotossintéticas que, por sua vez, reduzem os níveis de oxigênio.



Figura 1.3: Entrada artificial de nutrientes nas diferentes camadas de um ecossistema aquático. Adaptado [Mercedes et al., 2020].

Na Figura 1.4 pode-se observar a floração de algas no Reservatório Billings em São Paulo, causada pelo lançamento de esgotos. O enriquecimento de nutrientes das águas provocou o crescimento desenfreado de algas, o que prejudicou a qualidade da água e resultou no desequilíbrio de ecossistemas aquáticos.



Figura 1.4: Floração de algas em um Reservatório Billings em São Paulo [Ceron].

A mortalidade de peixes e mudança em ecossistemas associadas aos processos de eutrofização, outros estudos apontam a relação do crescimento da geosmina com o aumento das concentrações de fosfato que atribui odor e sabor ruim à água produzida por cianobactérias, embora a geosmina não apresente toxicidade na água ou impeça o consumo da água. Entretanto, algumas toxinas são liberadas por cianobactérias durante as florações causadas pelo aumento da biomassa, ou seja, enriquecimento de fósforo, o que pode contaminar fontes de água potável, representando riscos à saúde humana [Mallin and Cahoon, 2020]. Segundo Johnes et al. [Johnes et al., 2022] alguns tipos de cianobactérias, produzem certas toxinas, como neurotoxinas, atingindo o sistema nervoso e causando problemas neurológicos, e hepatotoxinas, afetando o fígado, o que representa um risco à saúde do humano, seja pelo consumo de água ou de alimentos contaminados.

Além do risco de contaminação, outro problema está relacionado aos altos níveis de fosfato na

água, mostrando que a geosmina, alga proliferada pelo fosfato na água, atrai e estimula a oviposição de ovos de mosquitos do Aedes Aegypti devido a sensibilidade dos mosquitos adultos a este tipo de composto orgânico [Melo et al., 2020]. Dessa maneira, ambientes com altas concentrações de geosmina se tornam propícios à transmissão de doenças tais como dengue, febre amarela, zika e chikungunya [Melo et al., 2020]. Na Figura 1.5 pode-se observar a floração de cianobactérias na Lagoa de Jacarepaguá - RJ em 2017, causada pelo enriquecimento de nutrientes das águas, o que provocou um desequilíbrio nesse ecossistema.



Figura 1.5: Floração de cianobactérias na Lagoa de Jacarepaguá - RJ [Mercedes et al., 2020].

Por estes motivos, é importante e se faz necessário a medição e o controle dos níveis de fosfato nos lagos, rios e efluentes, de modo que possa mitigar a estimulação e a proliferação de geosmina e cianobactérias.

No que diz respeito às concentrações de fosfato na água, a legislação brasileira não trata esse composto como contaminante de solo [Klein and Agne, 2012]. Deste modo há ainda uma falta de definição do tipo de fosfato que pode ser utilizado ou da metodologia padrão a ser empregada nos processos de fertilização e na agricultura. A resolução 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), no Brasil estabelece o nível crítico de fósforo total na água, como pode ser observado na Tabela 1.1, onde classe 1 é indicada para água destinada para consumo humano após um tratamento simples, proteção de comunidades aquáticas, irrigação de hortaliças e frutas consumidas cruas e fontes de águas de reservas indígenas. A classe 2 é destinada a atividade de pesca, consumo humano após um tratamento convencional, atividades aquáticas como natação, esqui e mergulho e irrigação de plantas frutíferas, campos e parques. Por fim na classe 3, à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras, à dessedentação de animais, à pesca amadora e ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado [CONAMA, 2017].

Tabela 1.1: Níveis críticos de fósforo segundo o [CONAMA, 2017].

Nível Crítico Fósforo (mgL^{-1})	Classes
0,020 - 0,025	1
0,030 - 0,050	2
0,050 - 0,075	3

Para enfrentar esses problemas, são necessárias medidas de monitoramento rigoroso da qualidade da água, além de regulamentações ambientais mais rígidas, tecnologias avançadas de tratamento de água e conscientização pública sobre os riscos associados à ingestão de compostos tóxicos. Uma prevenção e gestão eficaz contra a contaminação da água são essenciais para garantir que todos tenham acesso a água limpa e segura e para proteger a saúde das gerações atuais e futuras. Por esse motivo, o presente trabalho tem como meta contribuir para a detecção do fosfato em amostras reais e a possível mitigação destas concentrações.

1.3 Motivação e objetivo

Considerando os desafios associados à contaminação de corpos hídricos por fosfato, conforme discutido anteriormente, este trabalho tem como principal motivação o desenvolvimento de sensores eletroquímicos sensíveis, acessíveis e de fácil reprodutibilidade. A proposta consiste na fabricação de sensores baseados em eletrodos de grafite modificados com filmes finos de azul de metileno (*Methylene Blue* (MB)), voltados à detecção de fosfato em amostras reais de água.

A metodologia adotada emprega a deposição eletroquímica do MB por meio da técnica de voltametria cíclica linear, explorando as propriedades eletroativas do corante como elemento sensibilizante para a detecção de diferentes concentrações de fosfato em soluções aquosas. Apesar de apresentar toxicidade em níveis elevados [Khan et al., 2022], o azul de metileno foi selecionado por sua elevada solubilidade em água, estabilidade térmica, capacidade de interação com espécies aniônicas e viabilidade de aplicação em escala industrial. Esses atributos tornam sua utilização promissora em sensores portáteis, de resposta rápida e com custo reduzido de produção.

A Figura 1.6 apresenta o modelo molecular do MB, destacando suas características estruturais que favorecem a formação de filmes estáveis sobre superfícies condutoras [Makeswari and Saraswathi, 2020; Wei et al., 2019].

O objetivo principal deste estudo foi desenvolver sensores quimicamente modificados com MB capazes de detectar e quantificar concentrações de fosfato em amostras de água coletadas em diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro. A avaliação do sensor foi conduzida com foco na análise de sensibilidade, estabilidade e reprodutibilidade da resposta eletroquímica. Os resultados obtidos demonstraram comportamento linear entre as concentrações de fosfato adicionadas em solução tam-

pão PBS e a intensidade da corrente registrada, mesmo na presença de outros contaminantes.

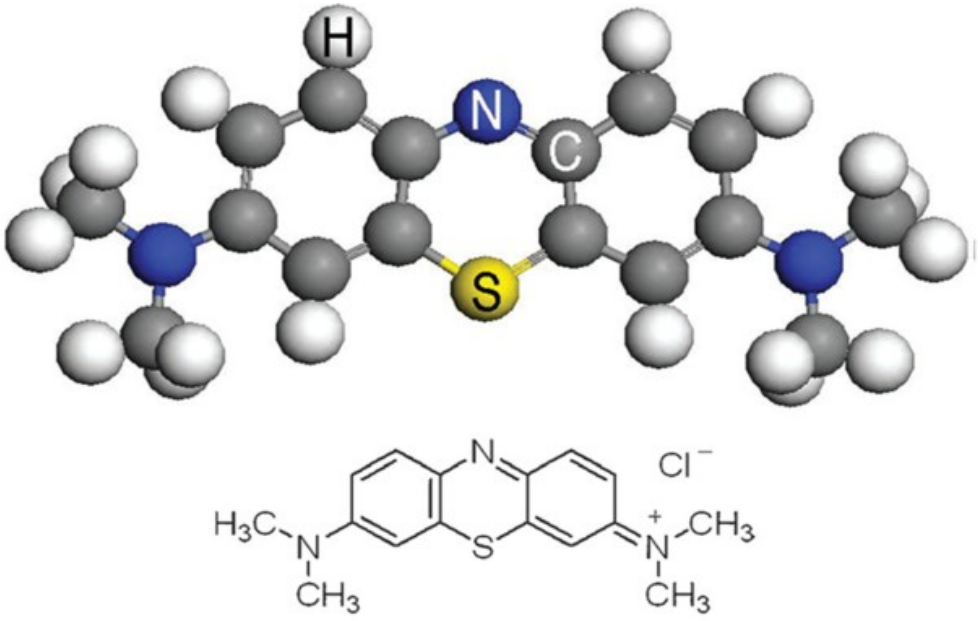


Figura 1.6: Modelo e Estrutura do (MB) [Khan et al., 2022].

1.4 Organização do Presente Trabalho

O presente trabalho está estruturado em quatro capítulos. O Capítulo 1 apresenta a introdução geral ao tema, incluindo o contexto, a justificativa e os objetivos da pesquisa. O Capítulo 2 descreve os materiais utilizados, os métodos de preparo das soluções, os procedimentos de modificação e caracterização dos eletrodos, além dos estudos de reprodutibilidade e viabilidade baseados em técnicas voltamétricas. No Capítulo 3, são apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos ao longo dos ensaios eletroquímicos e caracterizações físico-químicas. Por fim, o Capítulo 4 reúne as conclusões do trabalho, destacando a eficácia dos sensores desenvolvidos e suas perspectivas de aplicação.

Capítulo 2 Materiais e Métodos

Este capítulo apresenta os procedimentos experimentais adotados para o desenvolvimento e caracterização dos sensores eletroquímicos modificados com azul de metileno (MB), empregados na detecção de íons fosfato em solução aquosa.Na Seção 2.2, descreve-se o processo de preparação e modificação do eletrodo de grafite, incluindo o tratamento da superfície condutora para a posterior deposição do filme sensibilizante. A Seção 2.3 detalha o preparo da solução tampão PBS, do inglês (*phosphate-buffered saline*), utilizada tanto como meio de suporte eletroquímico quanto como eletrólito padrão nos ensaios de detecção de fosfato em diferentes concentrações.

A Seção 2.4 apresenta os procedimentos empregados para a formulação da solução de azul de metileno, além da justificativa para a escolha desse corante orgânico como material sensibilizante, com base em suas propriedades físico-químicas favoráveis à formação de filmes eletroativos sobre o grafite. Na Seção 2.5, são discutidos os fundamentos teóricos e operacionais das técnicas eletroquímicas aplicadas na construção e caracterização dos sensores, incluindo a Voltametria Cíclica (*Cyclic Voltammetry* (CV)), a Voltametria por Varredura Linear (*Linear Scanrate Voltammetry* (LSV)) e a Voltametria de Pulso Diferencial (*Differential Pulse Voltammetry* (DPV)). Na Seções 2.6, 2.7 e 2.8 serão tratados respectivamente a construção do sensor, o desempenho do eletrodo revestido com MB a fim de investigar a resposta eletroquímica e aplicação do sensor na quantificação de fosfato em amostras reais de água.

Todos os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Física Experimental e Aplicada (LaFEA) do CEFET/RJ, localizado no Bloco D, sala 119. As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), por sua vez, foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Alta Resolução (LAMAR), pertencente ao Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense (UFF).

2.1 Materiais

Os materiais e equipamentos utilizados neste trabalho estão listados a seguir, com suas respectivas finalidades experimentais:

- **Cuba ultrassônica**: modelo UltraCleaner 1400 (Unique®), utilizada para promover a completa dissolução dos solutos na preparação das soluções tampão de fosfato e da solução de azul

de metileno, por meio de agitação ultrassônica.

- **Balança de precisão**: marca Shimadzu®, utilizada para a pesagem exata dos reagentes sólidos, garantindo a correta molaridade das soluções.

- **Potenciostato**: modelo CompactStat (Ivium Technologies®), utilizado para a realização dos ensaios eletroquímicos, conectado a um computador no Laboratório de Física Experimental e Aplicada (LaFEA – CEFET/RJ) para controle experimental e aquisição dos dados.

- **Sistema eletroquímico de três eletrodos**: composto por:

  - Eletrodo de grafite (Sigma-Aldrich®) – eletrodo de trabalho;
  - Fio de platina – contra-eletrodo;
  - Eletrodo de referência de prata (Ag/AgCl).

  Utilizado em célula convencional à temperatura ambiente.

- **pHmetro**: modelo pH 140 Simple (Simpla®), utilizado para a medição e ajuste preciso do pH das soluções eletrolíticas.

- **Microscópio eletrônico de varredura (MEV)**: modelo JSM-7100F (JEOL®), com emissão de campo, empregado na análise morfológica da superfície dos eletrodos.

- **Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**: modelo Cary 630 FTIR (Agilent Technologies®), utilizado para análise espectroscópica do filme de azul de metileno depositado nos eletrodos de grafite.

2.2 Preparação do eletrodo

Para a fabricação dos sensores, foi utilizado um bastão de grafite de alta pureza (Sigma-Aldrich®), o qual serviu como substrato condutor para a deposição do filme de azul de metileno. Um segmento com aproximadamente 2 cm de comprimento foi recortado do bastão e preparado para o processo de modificação eletroquímica.

O tratamento inicial consistiu no polimento de uma das extremidades do bastão de grafite, utilizando-se lixas de granulação fina e extrafina. Este procedimento teve como objetivo uniformizar e suavizar a superfície, promovendo melhor adesão do filme polimérico à superfície do eletrodo. A importância do polimento foi evidenciada nos ensaios preliminares de voltametria cíclica, nos quais se observou que superfícies mais bem polidas favorecem a formação eficiente e estável do filme de azul de metileno.

Após o polimento, a extremidade tratada do eletrodo foi lavada com água destilada para remoção de partículas residuais e impurezas. A Figura 2.1 ilustra o aspecto visual do eletrodo antes e depois do polimento, destacando a diferença na uniformidade superficial: enquanto a superfície inicial apresenta aspecto rugoso e opaco (Figura 2.1a), a superfície polida exibe brilho característico e homogeneidade, adequados para a deposição eletroquímica do material ativo (Figura 2.1b).

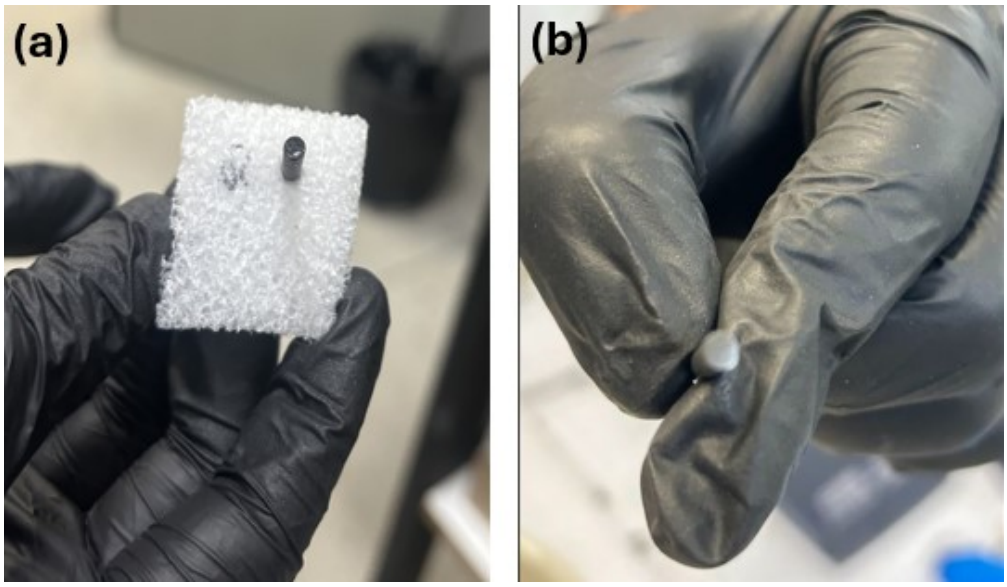


Figura 2.1: Eletrodo de grafite: (a) sem polimento e (b) após o polimento.

2.3 Preparação da solução PBS para os ensaios realizados

A solução tampão fosfato-salino (PBS, do inglês *phosphate-buffered saline*) foi utilizada como eletrólito nos ensaios eletroquímicos, com a finalidade de manter o pH do meio constante em 7,0 durante as medidas de detecção de fosfato. O ajuste fino do pH foi realizado por meio da adição de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH).

Conceitualmente, uma solução tampão consiste em uma mistura de um ácido fraco com sua base conjugada, ou de uma base fraca com seu ácido conjugado, conforme a teoria ácido-base de Brönsted-Lowry [Moreira et al., 2021]. Alternativamente, sob a ótica da definição de Lewis, a solução tampão pode ser descrita como a combinação de um receptor de par de elétrons (ácido) com um doador de par de elétrons (base) em outras palavras é uma solução que resiste a alterações significativas de pH quando pequenas quantidades de um ácido ou base são adicionadas [Moreira et al., 2021]. Quando o sistema tampão é perturbado pela adição de ácido ou base forte, o equilíbrio desloca-se de acordo com o princípio de Le Châtelier, minimizando a variação do pH.

Todos os reagentes utilizados na preparação da PBS foram adquiridos da empresa *Sigma-Aldrich*®, com grau analítico de alta pureza. A solução PBS 0,1 mol/L foi preparada utilizando-se KH_2PO_4 (fosfato monobásico de potássio) e K_2HPO_4 (fosfato dibásico de potássio), ambos em

concentração de 0,1 mol/L, conforme metodologia descrita por Hayat et al. [Hayat et al., 2022]. Para a preparação de 500 mL da solução, foram pesados 8,25 g de KH_2PO_4 e dissolvidos em água destilada. Em seguida, adicionaram-se 0,4435 g de K_2HPO_4, misturando-se os reagentes até a homogeneização completa da solução. Para assegurar a dissolução total dos sais, a solução foi submetida a agitação por banho ultrassônico, conforme ilustrado na Figura 2.2(a).

O ajuste do pH para o valor desejado foi feito por meio da adição gradual de uma solução de NaOH, preparada a partir da dissolução de 2 g de hidróxido de sódio em 50 mL de água destilada. A medição do pH foi realizada com um pHmetro modelo SIMPLA PH-140, como mostrado na Figura 2.2(b).



Figura 2.2: Equipamentos utilizados para produção da solução PBS: (a) Ultrasom (modelo Ultra-Cleaner 1400) usado na dissolução dos reagentes; (b) Medidor de pH (modelo SIMPLA PH-140).

2.4 Preparação da solução de azul de metileno para deposição

O azul de metileno (MB) é um composto aromático orgânico amplamente utilizado na indústria têxtil e em aplicações laboratoriais. Apesar de seu potencial tóxico quando descartado sem tratamento adequado em corpos d'água o que representa risco à fauna aquática e à saúde humana, o MB possui características físico-químicas e eletroquímicas que justificam sua aplicação em sensores voltados à detecção de espécies iônicas em solução.

Além de sua elevada solubilidade em água e estabilidade térmica, o MB é amplamente utilizado na medicina e em análises laboratoriais, como nas contagens de hemácias, hemoglobinas e mioglobinas [Pakapongpan et al., 2011]. Sua estrutura molecular permite interações eletroativas estáveis com compostos orgânicos e inorgânicos, tornando-o adequado à formação de filmes sobre superfícies condutoras [Makeswari and Saraswathi, 2020; Wei et al., 2019].

Na escolha de materiais aplicáveis a sensores eletroquímicos, o MB se destaca por sua sensibilidade (capacidade de detectar o analito de interesse), seletividade (mesmo na presença de interferentes), resposta rápida, boa condutividade e aderência ao substrato. Adicionalmente, apresenta facilidade de deposição, simplicidade de manipulação e boa reprodutibilidade, atributos desejáveis para produção em escala e uso prático. Estudos anteriores demonstram que os grupos amino presentes em sua estrutura molecular favorecem a pré-concentração de espécies carregadas positivamente, ampliando a resposta eletroquímica do sensor [Hayat et al., 2022].

Neste trabalho, foi preparada uma solução aquosa de MB com concentração de 0,1 mmol/L, utilizando-se 0,0017 g de azul de metileno ($C_{16}H_{18}ClON_3S \cdot 3H_2O$) dissolvidos em 50 mL de solução tampão PBS (0,1 mol/L, pH 7,0). A preparação da solução de MB foi realizada de forma gradual, com adições do corante com 50mL de solução de PBS, conforme ilustrado na Figura 2.3(a–d), até a obtenção de coloração azul homogênea. Em seguida, a solução foi submetida a agitação por banho ultrassônico durante aproximadamente 10 min para assegurar a completa dissolução do composto e a uniformidade da solução.

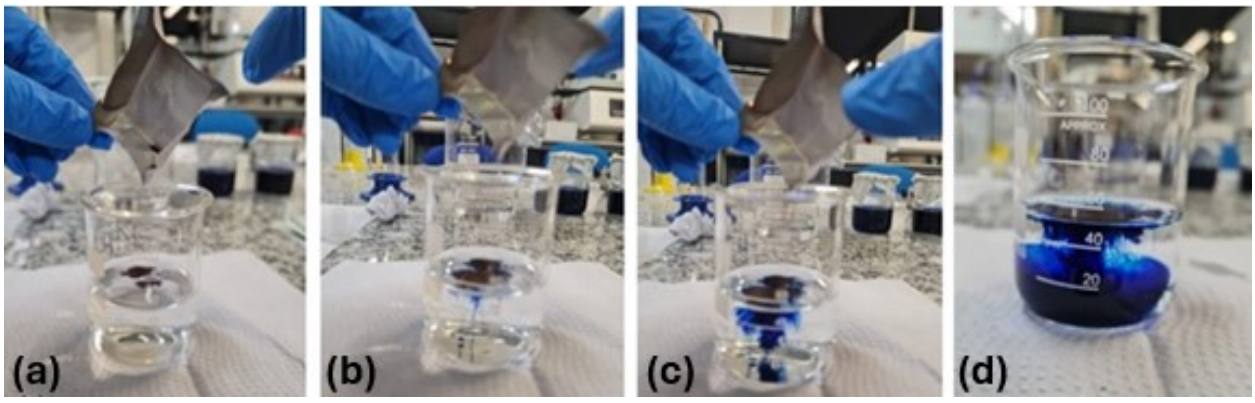


Figura 2.3: Adição gradativa de azul de metileno na solução 0,1 M PBS com pH 7,0: (a) 4,25 mg, (b) 8,50 mg, (c) 12,75 mg e (d) 17,00 mg.

2.5 Fundamentos teóricos e procedimentos para a construção do sensor

A construção de sensores eletroquímicos exige uma compreensão teórica sólida dos fundamentos que regem as técnicas voltamétricas empregadas em sua confecção e caracterização. Por esse motivo, esta seção apresenta uma breve revisão conceitual das principais abordagens experimentais adotadas.

Na Seção 2.5.1, são discutidos os princípios gerais das técnicas voltamétricas, bem como a topologia do sistema eletroquímico utilizado. A Seção 2.5.2 aborda especificamente a voltametria cíclica, empregada tanto na deposição do azul de metileno quanto na caracterização dos eletrodos. Em seguida, a Seção 2.5.3 trata da voltametria por varredura linear, utilizada para análise da influência da taxa de varredura. A Seção 2.5.4 apresenta a técnica de voltametria de pulso diferencial, enquanto a Seção 2.5.5 descreve os ensaios de cronoamperometria aplicados à avaliação do desem-

penho dos sensores. Por fim, as Seções 2.5.6 e 2.5.7 abordam, respectivamente, os fundamentos da espectroscopia FTIR e da microscopia eletrônica de varredura (MEV), empregadas para confirmar a deposição do filme de azul de metileno sobre a superfície dos eletrodos.

2.5.1 Fundamentos das voltametrias e topologia dos eletrodos

Os métodos eletroanalíticos baseiam-se na mensuração de propriedades elétricas — como corrente, potencial e reações redox — geradas a partir da interação eletroativa entre analitos e materiais condutores. A aplicação de perturbações controladas ao sistema (como a variação de potencial) permite a geração de sinais eletroanalíticos, que podem ser correlacionados a características químicas e estruturais das espécies em análise.

Tais técnicas têm ampla aplicação em monitoramento ambiental, controle de qualidade industrial, diagnóstico clínico e caracterização de compostos, destacando-se pela elevada sensibilidade, seletividade e baixos limites de detecção. Essas vantagens são decorrentes tanto da natureza específica das reações redox quanto da possibilidade de minimizar o ruído de fundo por técnicas de pré-concentração e aquisição de sinal.

Dentre essas técnicas, a voltametria se destaca como uma abordagem dinâmica, em que a corrente é medida em função do potencial aplicado entre os eletrodos de uma célula eletroquímica. A corrente gerada reflete os processos que ocorrem na interface entre o eletrodo de trabalho e a solução, possibilitando a obtenção de informações cinéticas e termodinâmicas do sistema [Simões and Xavier, 2017].

As configurações de células eletroquímicas podem variar entre dois, três ou quatro eletrodos. A configuração mais amplamente utilizada é a de três eletrodos, por possibilitar maior controle do potencial aplicado e reduzir os efeitos de resistência da solução. Nesse arranjo, utilizam-se:

- um eletrodo de trabalho (working electrode — WE), onde ocorre a reação de interesse;
- um eletrodo de referência (reference electrode — RE), com potencial estável e conhecido;
- um contra-eletrodo (counter electrode — CE), responsável por completar o circuito elétrico.

A Figura 2.4(a) ilustra a topologia típica de três eletrodos empregada neste trabalho, enquanto a Figura 2.4(b) apresenta o potenciostato IVIUM® CompactStat.h utilizado nos processos de deposição e caracterização eletroquímica.

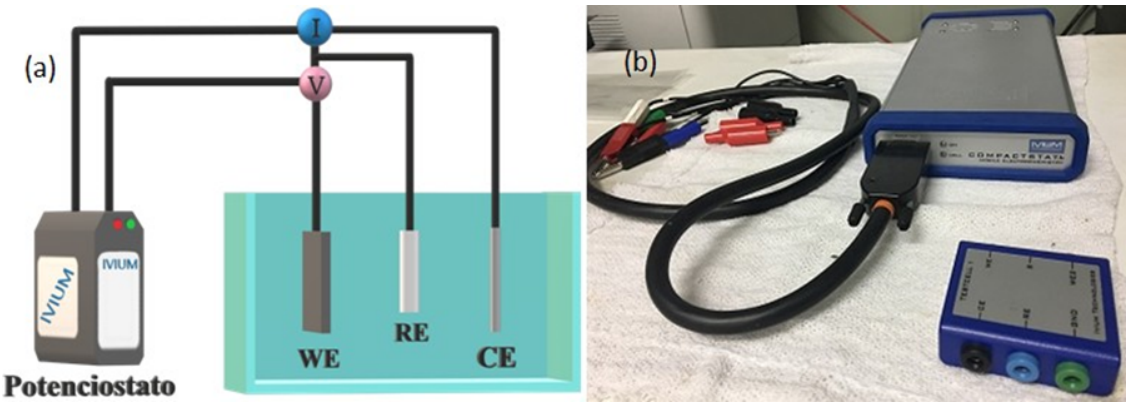


Figura 2.4: (a) Topologia com três eletrodos: eletrodo de trabalho (WE), eletrodo de referência (RE) e contra-eletrodo (CE); (b) Potenciostato IVIUM® CompactStat.h utilizado nos processos de deposição e na caracterização eletroquímica.

Historicamente, os eletrodos de trabalho evoluíram desde o uso de mercúrio, passando por metais puros e ligas metálicas, até os atuais materiais nanoestruturados. A modificação química da superfície desses eletrodos — por adsorção, eletrodeposição ou imobilização covalente — tem permitido a construção de sensores com maior sensibilidade, seletividade e estabilidade. Dentro desse contexto, os sensores quimicamente modificados têm se destacado, especialmente em análises ambientais e biomédicas.

2.5.2 Voltametria cíclica linear

A voltametria cíclica é uma das técnicas eletroquímicas mais amplamente utilizadas na investigação qualitativa de processos redox. Sua principal vantagem está na capacidade de fornecer, de forma rápida e eficiente, informações termodinâmicas e cinéticas sobre sistemas eletroativos, incluindo transferências de elétrons heterogêneas e reações químicas acopladas a processos de adsorção superficial [Pacheco et al., 2013].

No presente trabalho, a técnica foi empregada para a deposição eletroquímica do azul de metileno (MB) sobre a superfície polida dos eletrodos de grafite. Esse processo envolve a adsorção do composto orgânico na interface sólido-líquido, formando um filme fino por meio de sucessivos ciclos de oxidação e redução.

A Figura 2.5 apresenta um voltamograma cíclico típico de um sistema reversível. Nessa representação, E_{pc} e E_{pa} correspondem, respectivamente, aos potenciais de pico catódico e anódico, enquanto I_{pc} e I_{pa} representam as intensidades de corrente associadas a esses picos, indicadores diretos das reações redox envolvidas.

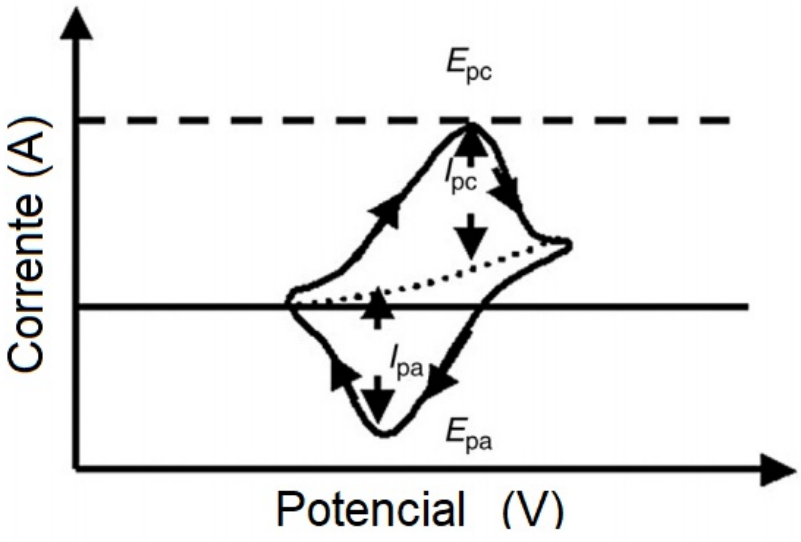


Figura 2.5: Voltamograma cíclico para um sistema reversível, com corrente (em Ampère) plotada em função do potencial (em Volts) [Brett and Brett, 1993].

2.5.3 Voltametria por varredura linear

A voltametria por varredura linear (*Linear Sweep Voltammetry* — LSV) é uma técnica eletroanalítica na qual o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia linearmente com o tempo em uma única direção, até um valor final denominado E_f. As velocidades de varredura (*scan rate*) podem atingir até 1000 mVs^{-1}, e o sentido da varredura pode ser positivo ou negativo, dependendo da natureza da reação eletroquímica a ser investigada.

Essa técnica é frequentemente utilizada para obter informações iniciais sobre o comportamento redox de um analito. Contudo, apresenta sensibilidade limitada, pois a corrente total medida é composta por duas componentes: a corrente faradaica, que está associada às reações de oxidação ou redução do analito; e a corrente capacitiva, relacionada ao carregamento da dupla camada elétrica na interface eletrodo/solução. Esta última é indesejável e é considerada um ruído que interfere na resposta analítica do sistema [Barek et al., 2001].

Por esse motivo, embora a voltametria por varredura linear seja útil na caracterização preliminar de processos eletroquímicos, sua aplicação em análises quantitativas exige cautela, especialmente em concentrações muito baixas do analito.

2.5.4 Voltametria de pulso diferencial

A voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*) é uma técnica eletroanalítica de alta sensibilidade, amplamente utilizada na detecção de analitos em baixas concentrações. Sua aplicação baseia-se na sobreposição de pulsos de potencial de amplitude fixa sobre uma rampa de potencial linearmente crescente, com base em um valor inicial predeterminado.

Para cada pulso, a corrente é medida duas vezes: imediatamente antes da aplicação do pulso (E_1) e ao final deste (E_2). A diferença entre essas duas medições é então registrada e representada graficamente em função do potencial aplicado. A Figura 2.6 ilustra a sequência de aplicação dos pulsos e o comportamento temporal característico do DPV.

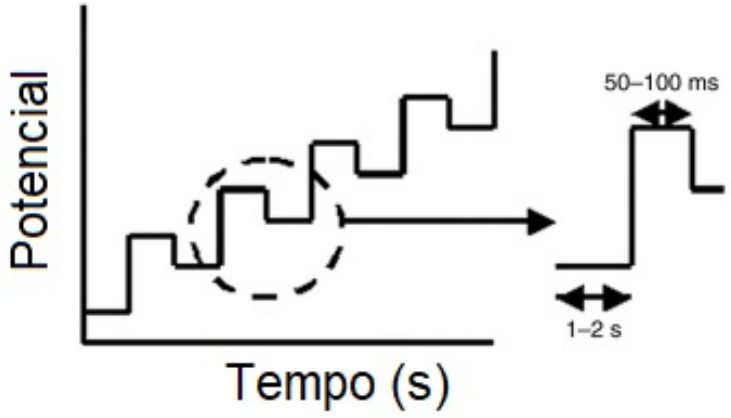


Figura 2.6: Diagrama da aplicação de pulsos na técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) [Brett and Brett, 1993].

O voltamograma resultante é caracterizado por picos de corrente com forma aproximadamente gaussiana. A altura do pico é diretamente proporcional à concentração da espécie eletroativa, o que torna o DPV uma técnica altamente eficaz para análises quantitativas. A Figura 2.7 apresenta um exemplo típico da resposta em DPV.

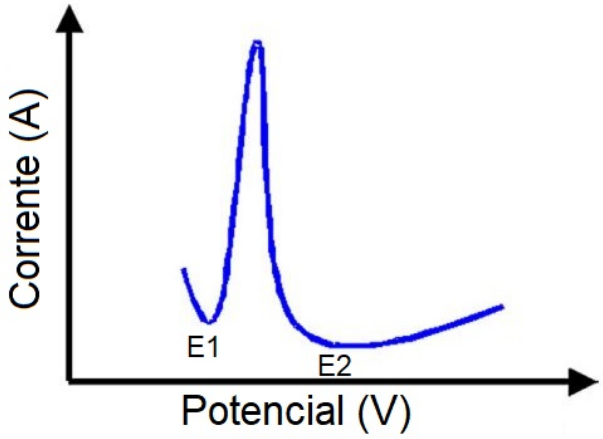


Figura 2.7: Resposta típica de um voltamograma de pulso diferencial [Simões and Xavier, 2017].

A posição do pico de corrente (E_p) pode ser interpretada como o potencial de meia-onda ($E_{1/2}$) de um processo reversível. Em sistemas irreversíveis, o valor de E_p tende a se deslocar em relação a $E_{1/2}$, resultando em picos mais largos e de menor intensidade.

Uma das principais vantagens do DPV em relação a outras técnicas está na sua capacidade de minimizar a corrente capacitiva. Isso é possível porque a corrente não faradaica decresce exponenci-

almente após o início do pulso, enquanto a corrente faradaica apresenta um comportamento linear. Ao realizar a segunda medição de corrente em um tempo apropriado, a contribuição da corrente capacitiva torna-se desprezível. Essa característica permite a obtenção de limites de detecção na faixa de 10^{-8} a 10^{-1} mol·L^{-1}.

O DPV é especialmente eficaz na análise de eletrodos sólidos modificados com materiais orgânicos, como corantes ou polímeros condutores, sendo amplamente utilizado em sensores eletroquímicos de alta seletividade e sensibilidade.

2.5.5 Cronoamperometria

A cronoamperometria é uma técnica eletroquímica de controle potenciostático na qual um potencial constante é aplicado ao eletrodo de trabalho, enquanto a corrente resultante é registrada em função do tempo. Essa corrente reflete os processos redox que ocorrem na interface eletrodo/solução e fornece informações relevantes sobre mecanismos de transporte de massa, especialmente difusão.

A resposta obtida em um experimento de cronoamperometria segue, idealmente, a Equação de Cottrell: Pacheco et al. [2013]

$$I(t) = \frac{nFAD^{1/2}C}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \tag{2.1}$$

em que:

- $I(t)$ é a corrente medida no tempo t (A);
- n é o número de elétrons transferidos na reação;
- F é a constante de Faraday (96.485 C·mol^{-1});
- A é a área do eletrodo (cm^2);
- D é o coeficiente de difusão do analito (cm^2·s^{-1});
- C é a concentração da espécie eletroativa (mol·cm^{-3});
- t é o tempo (s).

O experimento de cronoamperometria envolve a aplicação de um degrau de potencial ao eletrodo de trabalho, resultando em uma corrente que decresce com o tempo de acordo com o regime difusional previsto pela equação de Cottrell.

No presente trabalho, a cronoamperometria foi empregada para avaliar a estabilidade e a resposta dinâmica dos eletrodos de grafite modificados com azul de metileno frente à adição de diferentes concentrações de fosfato. Os experimentos permitiram observar a linearidade da corrente em relação à concentração, bem como a estabilidade da resposta sob diferentes condições operacionais.

Adicionalmente, os ensaios foram realizados em potenciais previamente definidos por voltametria cíclica e de pulso diferencial, de modo a maximizar a seletividade e reduzir interferências capacitivas. A principal vantagem da técnica, neste contexto, é sua capacidade de distinguir a corrente faradaica (relacionada à reação do analito) da corrente capacitiva (ruído), contribuindo assim para a obtenção de baixos limites de detecção — frequentemente na faixa de 10^{-8} a 10^{-1} mol·L^{-1}.

A aplicação do método, associada à simplicidade experimental e à capacidade de quantificação direta da resposta do sensor, justifica sua utilização como ferramenta complementar na caracterização do desempenho eletroquímico dos dispositivos desenvolvidos.

2.5.6 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi empregada com o objetivo de confirmar a deposição do azul de metileno (MB) na superfície dos eletrodos de grafite. A técnica permite identificar grupos funcionais presentes nos compostos com base na absorção seletiva da radiação infravermelha por ligações químicas específicas.

Os espectros experimentais foram obtidos com auxílio do espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (modelo Cary 630 FTIR, Agilent Technologies®), mostrado na Figura 2.8(a).

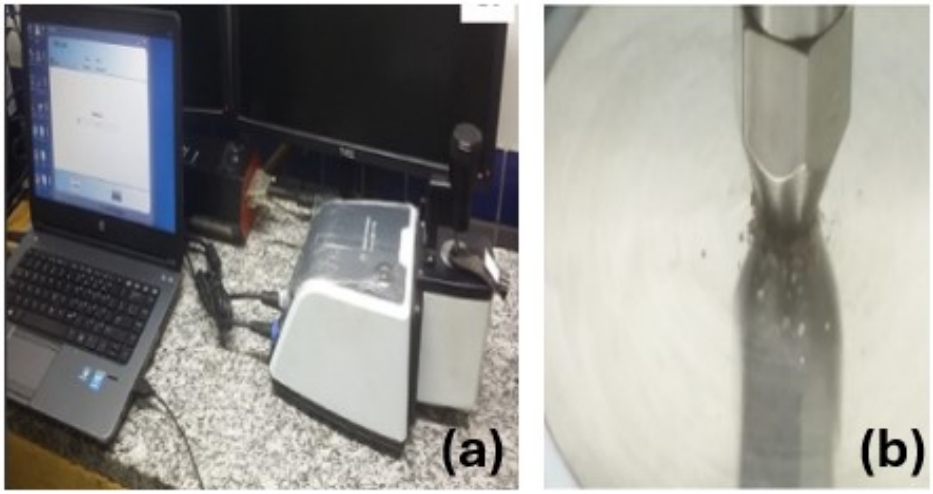


Figura 2.8: Espectrômetro FTIR (Cary 630 FTIR, Agilent Technologies®) utilizado nas análises. (a) espectrômetro Cary 630 FTIR, ligado ao computador para análise do MB; (b) ponteiro do espectrômetro para análise do MB.

No presente trabalho, os espectros obtidos foram comparados com dados da literatura, observando-se bandas características do azul de metileno na região de 1600 cm^{-1} (anel aromático), 1400 cm^{-1} (grupos amino) e 2900 cm^{-1} (ligações C–H), confirmando a presença do composto sobre o substrato condutor. A Figura 2.9 mostra um espectro FTIR ilustrativo comparando MB bruto e MB depositado [Hayat et al., 2022].

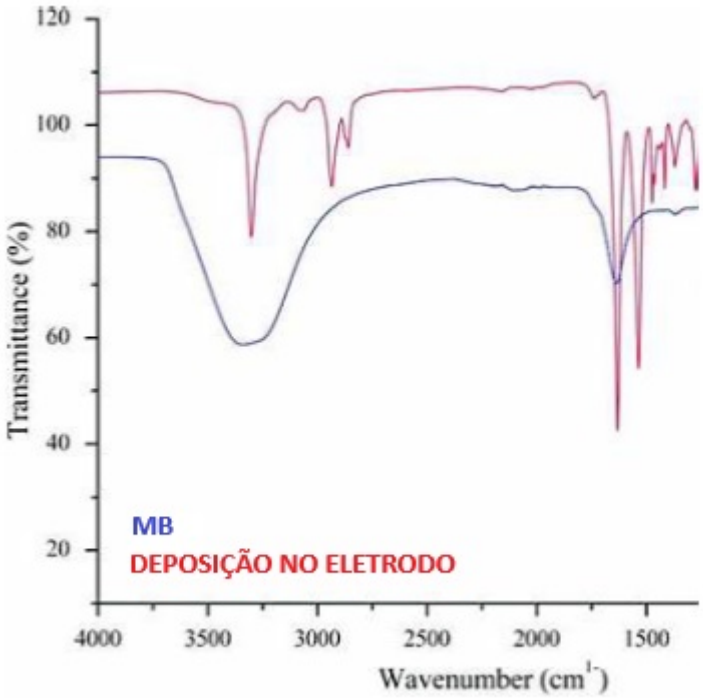


Figura 2.9: Espectros FTIR do azul de metileno bruto (azul) e após deposição sobre grafite (vermelho), com alterações em bandas associadas a grupos funcionais relevantes. Adaptado de [Hayat et al., 2022].

2.5.7 Princípio da microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica utilizada para investigar a morfologia superficial de materiais com alta resolução. Seu funcionamento baseia-se na emissão de um feixe de elétrons que varre a superfície da amostra ponto a ponto. A interação desse feixe com o material gera sinais que são detectados e convertidos em imagens em escala nanométrica.

O sistema utiliza geralmente um filamento de tungstênio como fonte de elétrons, com tensões de aceleração entre 1 e 50 kV. Esses elétrons são focalizados por lentes eletromagnéticas e direcionados sobre a amostra, formando imagens que evidenciam detalhes como textura, rugosidade e formação de filmes superficiais. A forma e intensidade do sinal dependem da composição da amostra e das condições operacionais, como o número atômico e a tensão aplicada [Dedavid et al., 2007].

No presente trabalho, a MEV foi utilizada para confirmar a deposição do azul de metileno na superfície dos eletrodos de grafite. As análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Alta Resolução (LAMAR/UFF), utilizando o microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo modelo JSM-7100F (JEOL®), mostrado na Figura 2.10.



Figura 2.10: Microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (JSM-7100F – JEOL®) utilizado nas análises morfológicas: (a) inserção da amostra na câmara de análise; (b) terminal de operação e controle do equipamento no LAMAR/UFF.

2.6 Construção do sensor

A construção adequada do sensor eletroquímico representa uma etapa fundamental para o sucesso deste trabalho, pois é a partir dessa estrutura que se torna possível detectar de forma sensível e seletiva íons fosfato em amostras reais. Para garantir reprodutibilidade, desempenho confiável e resposta eletroquímica estável, foram adotados procedimentos rigorosos tanto na preparação das soluções quanto no processo de modificação dos eletrodos.

Após a preparação das soluções de azul de metileno (MB) e do tampão PBS, foi realizada a modificação eletroquímica dos eletrodos de grafite por meio da técnica de voltametria cíclica linear, promovendo a deposição controlada de um filme fino de MB sobre a superfície condutora. Esta deposição é decisiva, pois é ela que fornece os sítios ativos responsáveis pelas interações com o analito de interesse.

No total, foram produzidos 16 sensores eletroquímicos ao longo do estudo, aplicados em diversas frentes experimentais, incluindo:

- caracterização eletroquímica por voltametria cíclica e de pulso diferencial;
- testes de detecção de fosfato em soluções padrão;
- análises de amostras reais de água;
- ensaios complementares por espectroscopia FTIR e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A Figura 2.11 apresenta a configuração experimental da célula eletroquímica utilizada durante a etapa de deposição. A correta disposição dos eletrodos — de trabalho, referência (Ag/AgCl) e

contra-eletrodo (Pt) — imersos na solução contendo MB foi criteriosamente respeitada, garantindo uniformidade e eficiência na modificação dos sensores. A topologia do sistema influencia diretamente na qualidade do filme formado e, consequentemente, na performance analítica do sensor.

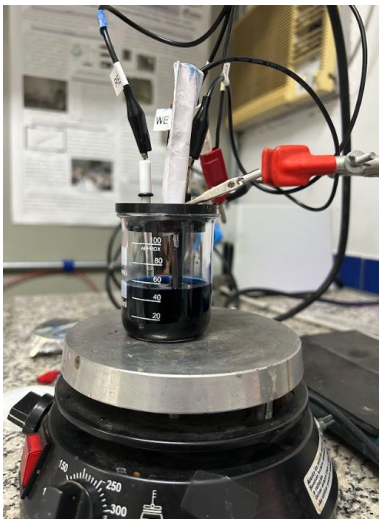


Figura 2.11: Configuração da célula eletroquímica utilizada na deposição do azul de metileno por voltametria cíclica linear.

A deposição foi realizada em solução PBS 0,1 mol·L^{-1} com pH 7,0, utilizando uma janela de potencial de –600 mV a +600 mV, taxa de varredura de 50 mV·s^{-1}, 30 ciclos de varredura e incremento de potencial de 10 mV, conforme metodologia adaptada da literatura [Hayat et al., 2022]. Esse processo permitiu a formação de filmes homogêneos, com boa aderência e responsividade eletroquímica. Os ensaios foram conduzidos utilizando o software IviumSoft®, em conjunto com o potenciostato Ivium CompactStat.

A fim de avaliar a qualidade e estabilidade dos sensores construídos, foi realizada uma série de voltametrias cíclicas adicionais, variando-se a taxa de varredura de 5 a 150 mV·s^{-1}. Esse estudo permitiu investigar a cinética de transferência de carga na superfície modificada, fornecendo subsídios importantes sobre a reversibilidade, velocidade de reação e eficiência do processo eletroquímico no sistema sensor.

Portanto, a etapa de construção do sensor — desde a modificação superficial até os testes de estabilidade — foi conduzida com critérios técnicos bem definidos, permitindo o desenvolvimento de um dispositivo robusto, sensível e reprodutível para a detecção de fosfato em diferentes matrizes aquosas.

2.7 Desempenho eletroquímico dos eletrodos revestidos na presença de fosfato

Após o processo de modificação dos eletrodos com azul de metileno (MB), os sensores eletroquímicos foram avaliados quanto à sua capacidade de detecção de íons fosfato em meio aquoso. A

técnica de voltametria cíclica foi empregada não apenas para o revestimento dos eletrodos de grafite, mas também como método analítico para investigar a resposta eletroquímica do sensor frente à presença do analito em diferentes concentrações.



Figura 2.12: Adição sucessiva da solução 0,1 mol·L^{-1} de ácido fosfórico à célula contendo solução PBS (pH 7,0), com o eletrodo de trabalho previamente revestido com azul de metileno.

O eletrodo de grafite modificado com MB foi utilizado como eletrodo de trabalho em uma célula eletroquímica contendo solução tampão PBS (pH 7,0). Para realizar a análise quantitativa, foram feitas adições sucessivas de uma solução aquosa 0,1 mol·L^{-1} de ácido fosfórico, preparada a partir da adição de 35 μL do ácido concentrado em água destilada. A Figura 2.12 ilustra o processo de incremento da solução de analito na célula, etapa fundamental para a construção da curva de calibração.

A voltametria cíclica foi realizada após cada adição de fosfato, com uma taxa de varredura constante de 20 mV·s^{-1}. Essa abordagem permitiu monitorar a variação da corrente de pico em função da concentração do analito, possibilitando a obtenção de uma resposta eletroquímica proporcional à quantidade de fosfato presente no meio.

A escolha do eletrodo previamente revestido com MB mostrou-se crucial, pois o filme formado atua como elemento sensibilizante, promovendo interações eletroquímicas seletivas com os íons fosfato. Essas interações são refletidas nas alterações dos parâmetros voltamétricos, confirmando a eficiência do sensor construído.

2.8 Aplicação do sensor na quantificação de fosfato em amostras reais de água

A validação do sensor eletroquímico baseado em azul de metileno (MB) foi realizada por meio da determinação de fosfato em amostras reais de água coletadas em diferentes regiões do estado

do Rio de Janeiro. Os experimentos foram conduzidos em configuração de três eletrodos, com o eletrodo de grafite modificado atuando como eletrodo de trabalho, imerso em solução tampão PBS 0,1 mol·L^{-1} com pH 7,0.

O software IviumSoft® foi utilizado para configurar os parâmetros da voltametria cíclica, adotando uma janela de potencial entre –0,6 V e +0,6 V, taxa de varredura de 20 mV·s^{-1} e incremento de potencial de 10 mV. Três amostras de água foram analisadas, oriundas dos municípios de Nova Iguaçu, Duque de Caxias e Maracanã.

Inicialmente, foi realizada uma voltametria de referência utilizando apenas a solução PBS, sem adição das amostras, a fim de estabelecer um ponto de comparação com os dados obtidos na curva de calibração previamente construída com padrões de fosfato.

Em seguida, as amostras reais foram adicionadas sucessivamente à célula contendo 50 mL de PBS 0,1 mol·L^{-1}, nas seguintes concentrações: 50, 100, 150 e 200 μmol·L^{-1}. A Figura 2.13 mostra o processo de adição das amostras à solução tampão para análise com o sensor modificado.

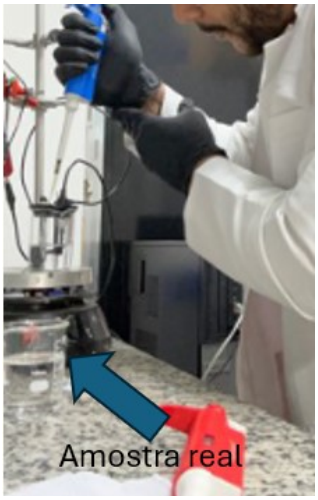


Figura 2.13: Adição de amostras reais à solução PBS (pH 7,0) para detecção de fosfato utilizando o sensor eletroquímico modificado com azul de metileno.

As correntes de pico obtidas nas voltametrias cíclicas foram extraídas para cada concentração adicionada e comparadas com os valores previstos pela reta de calibração. Essa comparação permitiu determinar a recuperação do analito e o erro associado a cada adição, validando a resposta analítica do sensor nas diferentes amostras de água.

Os resultados obtidos demonstraram que o sensor apresenta boa sensibilidade e seletividade na presença de matrizes reais, confirmando seu potencial para aplicação no monitoramento ambiental de fosfato em águas naturais e urbanas.

Capítulo 3 Resultados experimentais e discussões

Este capítulo apresenta e discute os principais resultados experimentais obtidos ao longo do desenvolvimento do sensor eletroquímico modificado com azul de metileno (MB) para a detecção de fosfato. Os ensaios aqui descritos envolvem desde a caracterização do processo de deposição e do comportamento eletroquímico dos eletrodos até a aplicação prática do sensor em amostras reais de água.

Na Seção 3.1 são apresentados os resultados da deposição do MB nos eletrodos de grafite, utilizando voltametria cíclica linear, e discutidas as condições ideais de formação do filme fino. A Seção 3.2 aborda os testes com diferentes taxas de varredura (*scan rate*), utilizados para avaliar a cinética dos processos redox e a reversibilidade das reações na superfície do eletrodo modificado.

Na Seção 3.3, compara-se a resposta eletroquímica entre eletrodos com e sem modificação por MB, frente a concentrações de fosfato de 0 e 2,27 $\times$ 10^{-3} mol·L^{-1}, evidenciando o ganho de sensibilidade proporcionado pelo revestimento.

As análises morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), são apresentadas na Seção 3.4. Nessa etapa, são comparadas imagens dos eletrodos com e sem modificação, confirmando a formação do filme e o aumento da rugosidade superficial. Complementarmente, a Seção 3.5 discute a influência da deposição na topografia do material.

Na Seção 3.6, são apresentados os espectros obtidos por FTIR, destacando as bandas de vibração características do MB e confirmando a presença do corante na superfície do eletrodo.

A Seção 3.7 apresentaremos os ensaios de voltametria de pulso diferencial (DPV) aplicados à detecção de fosfato, enfatizando os potenciais de pico e a linearidade da resposta eletroquímica em função da concentração do analito.

Na Seção 3.8, serão discutidos os resultados obtidos por cronoamperometria, técnica utilizada para avaliar a estabilidade do sensor frente a variações na concentração de fosfato ao longo do tempo.

A Seção 3.9 apresentaremos a curva analítica construída a partir das medições realizadas, correlacionando a corrente de pico com a concentração de fosfato na solução e confirmando o comportamento linear do sensor.

A aplicação do sensor em amostras reais de água é abordada na Seção 3.10, que apresenta os resultados das análises realizadas com amostras coletadas nos municípios de Nova Iguaçu, Duque

de Caxias e Maracanã, comparando os valores obtidos com os previstos pela curva de calibração.

Por fim, as Seções 3.11 e 3.12 apresentam, respectivamente, a resposta amperométrica do sensor à redução de fosfato e os resultados finais dos ensaios de DPV com adição incremental do analito, destacando a sensibilidade e a reprodutibilidade do dispositivo desenvolvido.

3.1 Caracterização eletroquímica inicial dos eletrodos modificados

A modificação dos eletrodos de grafite com azul de metileno (MB) foi realizada por meio da técnica de voltametria cíclica linear, promovendo a deposição eletroquímica controlada do corante sobre a superfície condutora. Imediatamente após a imersão na solução, observou-se uma coloração azulada na região polida do eletrodo, indicando o início da formação do filme importantes para detecção do fosfato nas soluções. A confirmação da deposição foi obtida por meio da análise das curvas voltamétricas, comparações com eletrodos não modificados, além de caracterizações complementares por FTIR e MEV, discutidas nas seções subsequentes.

A Figura 3.1 apresenta os voltamogramas obtidos durante o processo de deposição. O ensaio foi conduzido com 30 ciclos de varredura, taxa de 50 $mV \cdot s^{-1}$, e janela de potencial entre –0,6 V e +1,0 V. Na Figura 3.1(a), observa-se a evolução das curvas ao longo dos ciclos, evidenciando o crescimento progressivo das correntes redox associadas à eletropolimerização do MB.

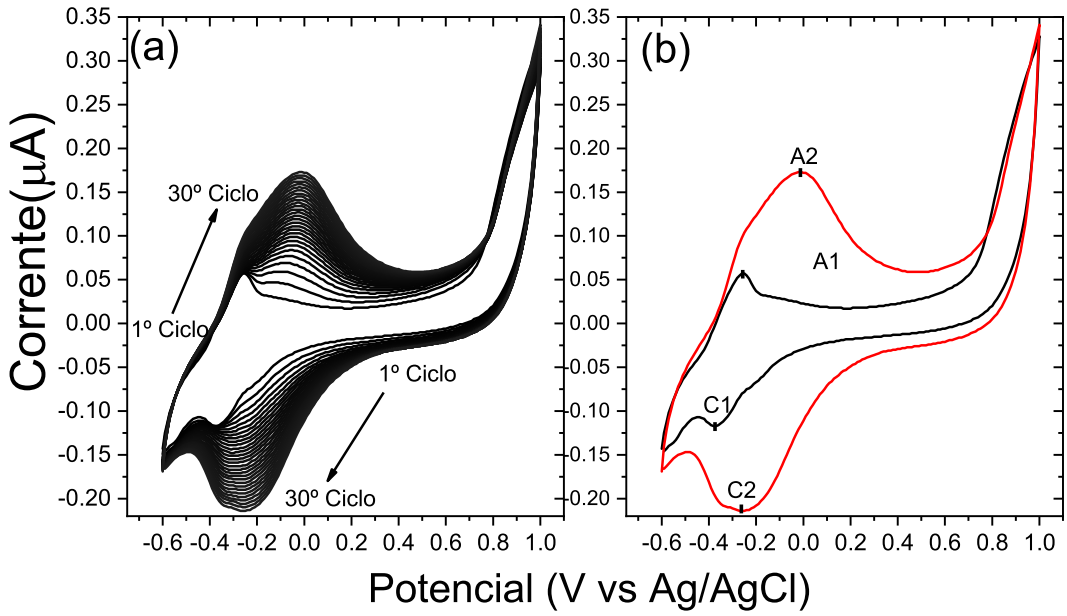


Figura 3.1: Perfil voltamétrico do eletrodo durante a eletropolimerização do azul de metileno: (a) voltamogramas dos 30 ciclos consecutivos; (b) destaque dos picos anódicos e catódicos do 1º e 30º ciclo.

A Figura 3.1(b) destaca a sobreposição do primeiro e do último ciclo, permitindo a identificação dos picos catódicos (C1 e C2) e anódicos (A1 e A2). O aumento da intensidade de corrente nesses

picos é indicativo da formação e estabilidade do filme fino do corante, o que pode ser observado na otimização em cerca de 30 ciclos de CV, corroborando o sucesso do processo de modificação.

3.2 Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo de grafite modificado por análise da taxa de varredura

Após a deposição do azul de metileno (MB) sobre o eletrodo de grafite, foi realizada a caracterização eletroquímica por meio do ensaio de variação da taxa de varredura, utilizando solução tampão PBS 0,1 M em pH 7,0. Esse ensaio, conduzido por voltametria cíclica linear com auxílio do software IVIUM®, permitiu avaliar o comportamento do eletrodo modificado frente ao aumento das taxas de varredura (*scan rates*), variando de 5 a 150 $mV \cdot s^{-1}$.

A Figura 3.2 mostra os voltamogramas obtidos nas diferentes faixas de varredura. Observa-se que o aumento da taxa de varredura resultou em um incremento proporcional da intensidade da corrente, evidenciando a eficiência da transferência de carga na interface eletrodo/solução e a boa aderência do filme de MB à superfície do grafite sendo observado pela resposta na velocidade de reações de oxidação e redução. Esse comportamento é característico de sistemas com resposta eletroquímica rápida e sugere que o processo redox é controlado por difusão superficial, como descrito por Bard e Faulkner (2001)[Bard and Faulkner, 2001].

Na Figura 3.2(a), para as menores taxas de varredura (5 a 15 $mV \cdot s^{-1}$), os picos catódicos variam de -0,06 a -0,02 μA, enquanto os picos anódicos situam-se entre 0,02 e 0,05 μA. À medida que a taxa de varredura aumenta, como mostrado na Figura 3.2(b) (20 a 30 $mV \cdot s^{-1}$), os picos catódicos se deslocam para a faixa de -0,06 a -0,12 μA, e os picos anódicos atingem entre 0,05 e 0,10 μA. Para taxas mais elevadas, de 40 a 150 $mV \cdot s^{-1}$, exibidas na Figura 3.2(c), os valores de corrente aumentam significativamente, alcançando de -0,15 a -0,55 μA nos picos catódicos e de 0,15 a 0,55 μA nos picos anódicos.

A sobreposição de todas as curvas de varredura está apresentada na Figura 3.2(d), permitindo visualizar de forma integrada o aumento da corrente com a elevação da taxa de varredura. Esse resultado corrobora a formação eficiente do filme de MB e sua estabilidade eletroquímica em solução neutra, além de demonstrar o potencial do eletrodo modificado para aplicações em sensores eletroquímicos, conforme também discutido por Wang (2006)[Wang, 2006].

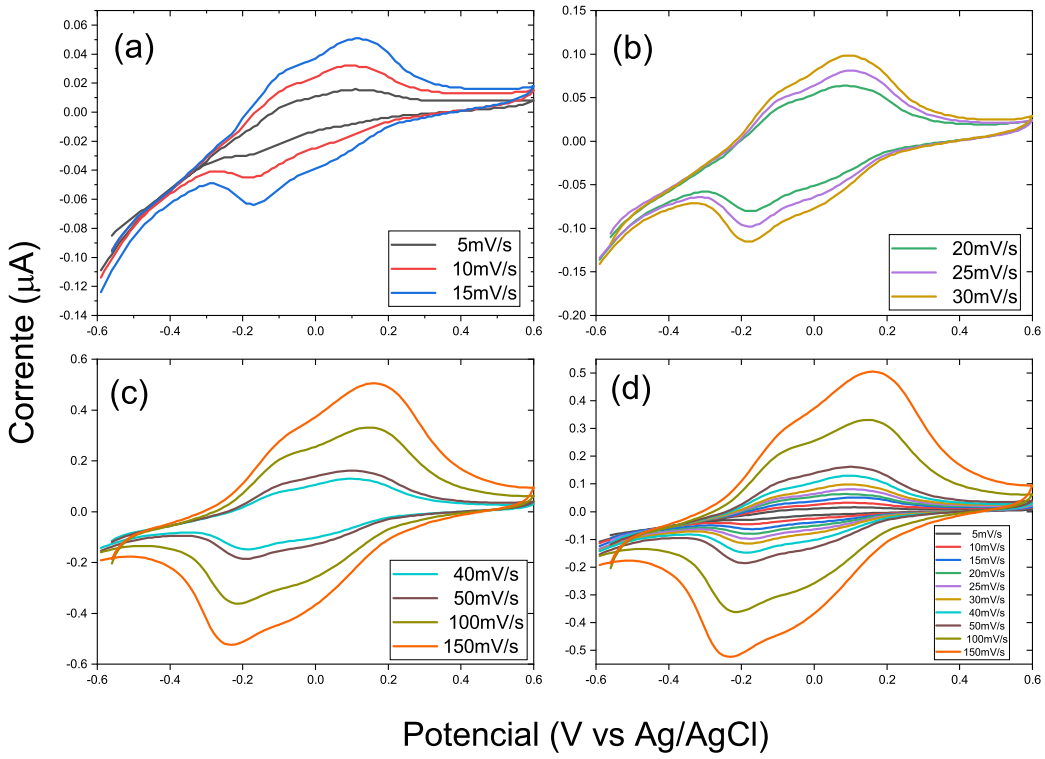


Figura 3.2: Voltametrias cíclicas lineares em solução PBS 0,1 M (pH=7) para diferentes taxas de varredura: (a) Variação de 5 $mV \cdot s^{-1}$ a 15 $mV \cdot s^{-1}$;(b)Variação de 20 $mV \cdot s^{-1}$ a 30 $mV \cdot s^{-1}$; (c)Variação de 40 $mV \cdot s^{-1}$ a 150 $mV \cdot s^{-1}$; (d)Variação de 5 $mV \cdot s^{-1}$ a 150 $mV \cdot s^{-1}$.

3.3 Análise comparativa do comportamento eletroquímico de eletrodos de grafite com e sem modificação por azul de metileno via voltametria cíclica

Após a caracterização eletroquímica do eletrodo modificado com azul de metileno (MB) por variação da taxa de varredura, realizou-se uma análise comparativa entre o eletrodo de grafite sem modificação superficial (denominado bare) e o eletrodo funcionalizado com MB. O objetivo foi avaliar o efeito do filme de MB no perfil eletroquímico do sistema e sua resposta frente à adição de diferentes concentrações de fosfato.

Os experimentos foram realizados em solução tampão PBS 0,1 M (pH 7,0), utilizando um sistema de três eletrodos (trabalhador, referência e contra-eletrodo). As condições operacionais foram definidas com uma janela de potencial de -0,6 V a 0,6 V, taxa de varredura de 20 $mV \cdot s^{-1}$ e passo de 10 mV, conforme configurado no software IVIUM®. Para cada condição, foram realizadas três voltametrias cíclicas lineares, considerando volumes distintos da solução de ácido fosfórico (fonte de íons fosfato) diluídos em PBS.

A Figura 3.3 apresenta os voltamogramas obtidos. A curva cinza corresponde ao eletrodo de

grafite não modificado, enquanto as curvas vermelha e azul representam, respectivamente, o eletrodo funcionalizado com MB em solução PBS sem adição de fosfato (0 μL) e com adição de 14730 μL da solução aquosa de ácido fosfórico, resultando em uma concentração de 2,27 $\times$ 10^{-3} mol·L^{-1}.

Nos eletrodos modificados, observa-se um par redox característico do azul de metileno em torno de -0,2 V, atribuído ao processo reversível de oxidação/redução do corante (MB = MB^+ + e^-), conforme discutido na literatura Wang [2006]. A presença de fosfato provocou um aumento significativo da corrente do pico anódico, especialmente entre -0,4 V e -0,2 V, o que pode ser atribuído à interação eletrostática e possível adsorção dos ânions fosfato na superfície do filme de MB.

Essa interação promove alterações na densidade eletrônica e na transferência de carga no filme, potencializando a resposta eletroquímica do sistema. O comportamento observado confirma a eficácia do azul de metileno como material sensível na detecção de íons fosfato, demonstrando a viabilidade de aplicação do eletrodo funcionalizado como sensor eletroquímico seletivo.

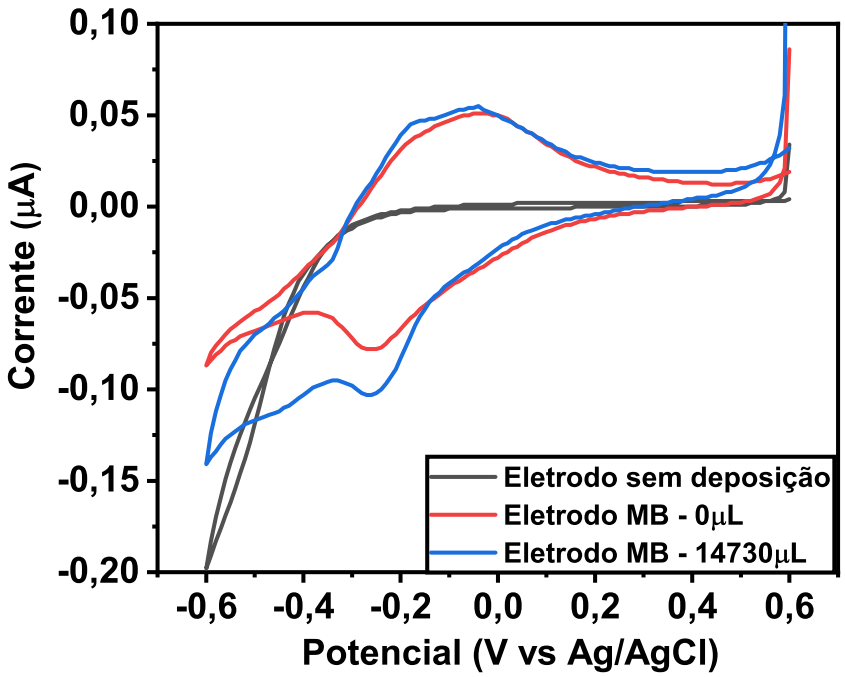


Figura 3.3: Curvas de voltametria cíclica de um eletrodo sem revestimento, um eletrodo revestido com MB em solução 0,1 M de PBS (pH 7,0), com 0 μL e 14730 μL de solução de ácido fosfórico, correspondente a uma concentração de 2,27 $\times$ 10^{-3} mol·L^{-1}.

3.4 Análise morfológica por MEV dos eletrodos de grafite com e sem modificação por azul de metileno

A caracterização morfológica da superfície dos eletrodos foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O objetivo principal foi confirmar a formação do filme fino de azul de metileno

(MB) na superfície dos eletrodos de grafite e comparar visualmente as diferenças estruturais entre as amostras com e sem o revestimento.

Foram analisadas ao todo 10 amostras: 8 eletrodos modificados com MB e 2 eletrodos sem modificação (denominados do inglês bare). As imagens foram obtidas em diferentes ampliações, alcançando até 50000×, com escalas variando de 10 nm a 1 μm, ajustado durante o experimento permitindo a identificação de características morfológicas com alta resolução.

A Figura 3.4 apresenta os resultados para o eletrodo de grafite sem a deposição de MB. Observa-se a morfologia típica do grafite e ausência de qualquer camada superficial contínua, como esperado para um eletrodo não funcionalizado. Nessas imagens, não foram identificadas estruturas que pudessem ser associadas à presença de agentes ativos para detecção de fosfato, seja em solução tampão PBS ou em amostras reais, corroborando a ausência do filme polimérico.

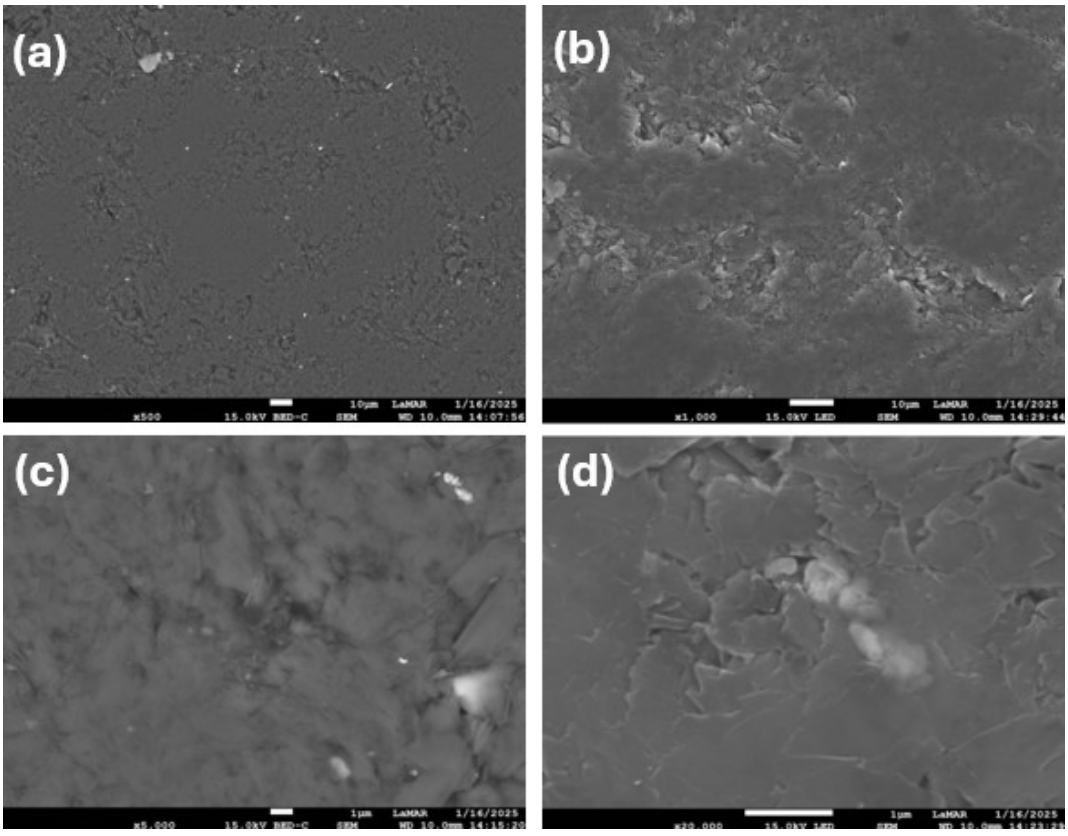


Figura 3.4: Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo de grafite sem o revestimento de azul de metileno (MB): (a) ampliação de 500×; (b) 1000×; (c) 5000×; (d) 20000×.

A Figura 3.5 apresenta as imagens obtidas para o eletrodo revestido com MB. As micrografias revelam a presença de uma camada superficial distinta, compatível com a formação do filme polimérico do corante. Em especial, na imagem da Figura 3.5(c), destaca-se, no retângulo em azul, uma região com padrão de recobrimento característico da polimerização do MB sobre a superfície do eletrodo. Esse padrão é compatível com a morfologia descrita na literatura para filmes obtidos por eletropolimerização de corantes fenózinicos[Wang, 2006; Sadkowski and Lasia, 1995].

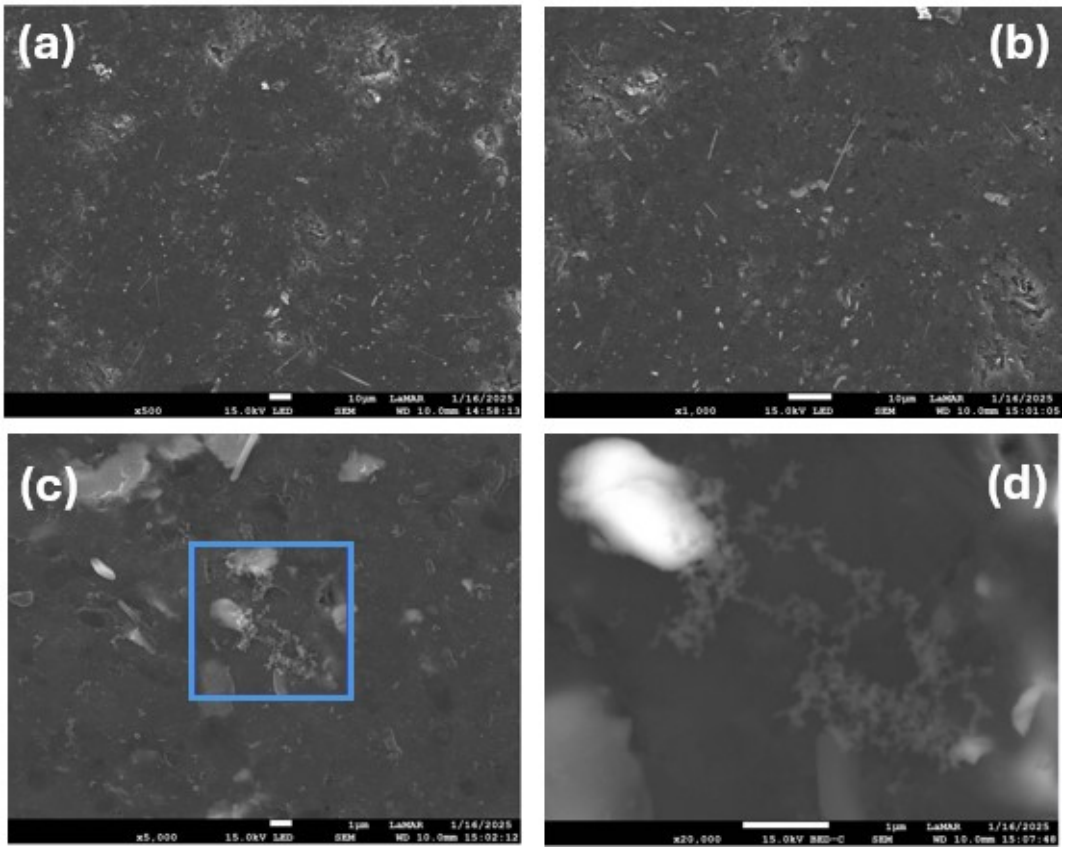


Figura 3.5: Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo de grafite com revestimento de azul de metileno (MB): (a) ampliação de 500×; (b) 1000×; (c) 5000× com destaque (retângulo azul) para a região de polimerização do MB; (d) 20000×.

Os resultados obtidos por MEV confirmam visualmente a formação do filme de MB sobre os eletrodos modificados, corroborando os dados obtidos por voltametria. A presença e continuidade do recobrimento são fundamentais para a eficiência da resposta eletroquímica e a sensibilidade do sensor.

3.5 Análise morfológica do eletrodo de grafite com e sem modificação por azul de metileno

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi empregada para investigar as características morfológicas da superfície dos eletrodos de grafite antes e após a modificação com azul de metileno (MB). A Figura 3.6 apresenta as micrografias obtidas para o eletrodo de grafite sem modificação (a) e para o eletrodo funcionalizado com MB (b), ambas com aumento de 20000×.

A imagem do eletrodo não modificado revela uma superfície relativamente lisa e homogênea, com baixa rugosidade e ausência de estruturas de recobrimento, o que é típico de eletrodos de grafite convencionais. Essa morfologia indica uma quantidade limitada de sítios ativos disponíveis para interação eletroquímica, o que pode restringir a eficiência do processo de detecção.

Em contraste, a imagem correspondente ao eletrodo recoberto com MB apresenta uma modi-

ficação morfológica significativa, caracterizada pela presença de uma película polimérica contínua, porosa e com aparência rugosa. Essa estrutura é indicativa de uma polimerização eletroquímica bem-sucedida do azul de metileno, promovendo o aumento da área superficial e facilitando a difusão de espécies redox. A morfologia porosa da camada funcional contribui diretamente para a melhoria da cinética de transferência de carga, fator essencial para o desempenho eletroquímico em sensores [Wang, 2006; Sadkowski and Lasia, 1995].

Essas observações confirmam que a modificação com MB resultou em uma estrutura superficial favorável para a aplicação como sensor eletroquímico, com potencial aprimorado para a detecção sensível de fosfato em solução.

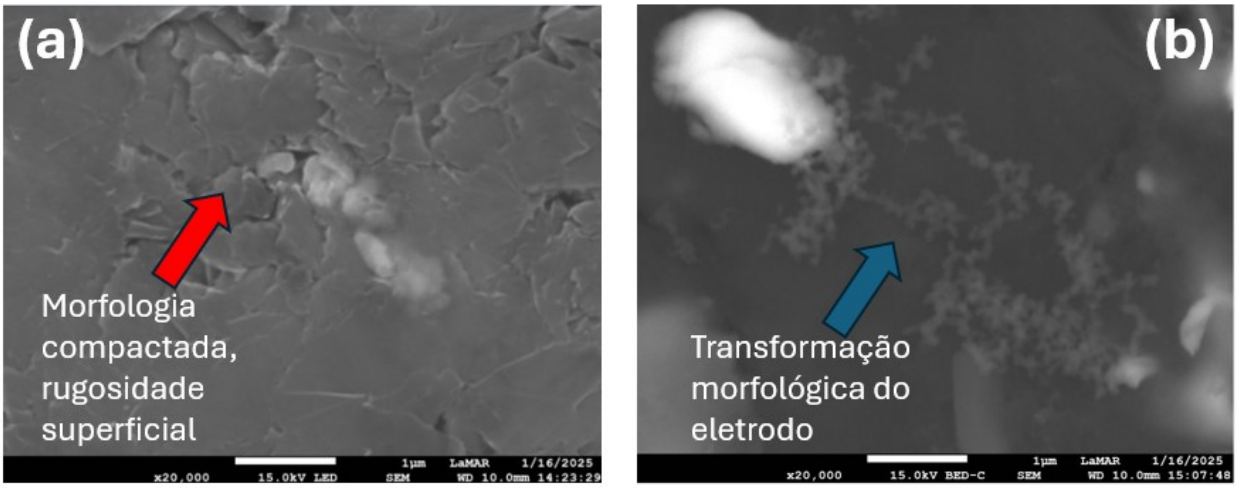


Figura 3.6: Microscopia eletrônica de varredura comparativa entre (a) eletrodo de grafite sem modificação e (b) eletrodo modificado com azul de metileno (MB), ambos com ampliação de 20000×.

Complementarmente, a Figura 3.7 mostra uma imagem MEV do eletrodo modificado com MB em ampliação de 50000×. Nessa imagem, observa-se de forma ainda mais evidente a presença de estruturas microgranulares associadas ao filme polimérico do MB, bem distribuídas sobre a superfície do grafite. Essa conformação microestrutural reforça o papel do revestimento como elemento funcional ativo na detecção eletroquímica, aumentando a densidade de sítios reativos e facilitando a interação com íons-alvo.

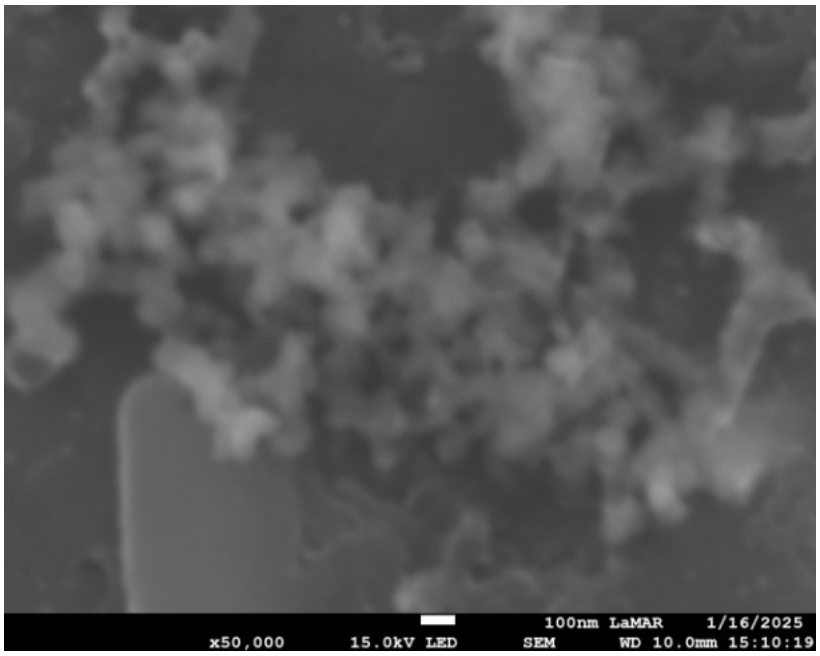


Figura 3.7: Microscopia eletrônica de varredura do eletrodo modificado com azul de metileno (MB), com ampliação de 50000×.

3.6 Análise espectroscópica por FTIR do eletrodo de grafite modificado com azul de metileno

A espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi empregada para investigar a modificação química da superfície do eletrodo de grafite após a eletropolimerização do azul de metileno (MB). Esta técnica é sensível às mudanças nas vibrações moleculares das ligações químicas envolvidas na formação do filme polimérico, como as ligações C–N, N–H, e C=C aromáticas, além dos modos de deformação de grupos metila e dos padrões vibracionais de anéis aromáticos.

As Figuras 3.9 e 3.10 apresentam os espectros FTIR obtidos para as diferentes condições experimentais. Na Figura 3.9, observa-se em (a) o espectro do MB depositado diretamente sobre o eletrodo de grafite e, em (b), o espectro do eletrodo modificado após imersão em solução tampão PBS (pH 7,3), permitindo verificar a estabilidade e a integridade do filme em meio neutro. Na Figura 3.10, são sobrepostos os espectros de ambas as amostras para comparação direta.

Entre os destaques observados nas regiões espectrais:

- Um pico característico de estiramento N–H em torno de 3430 cm^{-1}, presente principalmente no MB depositado;
- Bandas de estiramento C=C aromático e C=N entre 1600 e 1635 cm^{-1}, preservadas nas duas condições;

- Dobramentos C–H alifáticos (2920–2850 cm^{-1}), mais evidentes no filme fresco;
- Redução de bandas associadas a ligações C–N e flexões fora do plano de C–H aromático na amostra submetida à solução PBS, indicando leve reconfiguração da estrutura química na presença de eletrólito.

Essas observações corroboram com os estudos de Yang et al. Yang and Mu [2002], Schlereth & Karyakin Schlereth and Karyakin [1995] e Kumar et al. Kumar et al. [2010], reforçando que a polimerização do MB envolve a ruptura de ligações C–N terciárias e a formação de novas ligações entre átomos aromáticos, formando uma rede conjugada estável.

A Tabela 3.1 apresenta a síntese dos principais modos vibracionais observados neste estudo e nos trabalhos de referência. A legenda foi padronizada com os seguintes códigos: Presente = X; Forte = XX; Moderada = Xx; Fraca = xx; Reduzida = xxx; Ausente = –.

Tabela 3.1: Comparação das atribuições vibracionais no espectro FTIR do eletrodo modificado com MB com dados da literatura.

Atribuição Vibracional	**Faixa (cm^{-1})**	[1]	[2]	[3]
Estiramento N–H (terminal)	3430	X	X	X
Estiramento C–H em CH_3/CH_2 (alifáticos)	2920–2850	X	xx	–
Estiramento C=C aromático / C=N	1600–1635	X	X	XX
Dobramentos de C–H aromático / C–N	1500–1450	Xx	Xx	Xx
Dobramentos de C–H em grupos metila	1380–1300	xxx	xxx	xx
C–N / C–H em anéis aromáticos	1250–1150	X	X	X
Flexão fora do plano de C–H aromático	840–800	xx	xxx	–
Fonte adicional				[4]
Estiramento N–H (terminal)	3430	–	–	–
Estiramento C–H em CH_3/CH_2 (alifáticos)	2920–2850	–	–	X
Estiramento C=C aromático / C=N	1600–1635	–	–	XX
Dobramentos de C–H aromático / C–N	1500–1450	–	–	Xx
Dobramentos de C–H em grupos metila	1380–1300	–	–	X
C–N / C–H em anéis aromáticos	1250–1150	–	–	X
Flexão fora do plano de C–H aromático	840–800	–	–	–

[1] Este trabalho; [2] Yang and Mu [2002]; [3] Schlereth and Karyakin [1995]; [4] Kumar et al. [2010].

A Figura 3.8 apresenta o mecanismo esquemático da polimerização do azul de metileno (MB). A reação é iniciada por oxidação eletroquímica, com formação de radicais catiônicos e subsequente acoplamento intermolecular via nitrogênio ou carbono aromático, formando um filme conjugado.

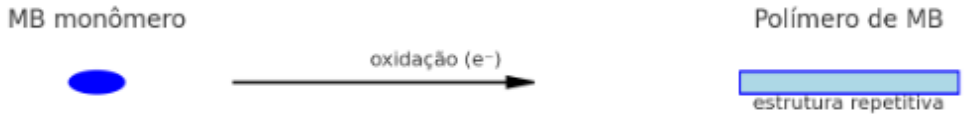


Figura 3.8: Mecanismo esquemático da polimerização eletroquímica do azul de metileno (MB).

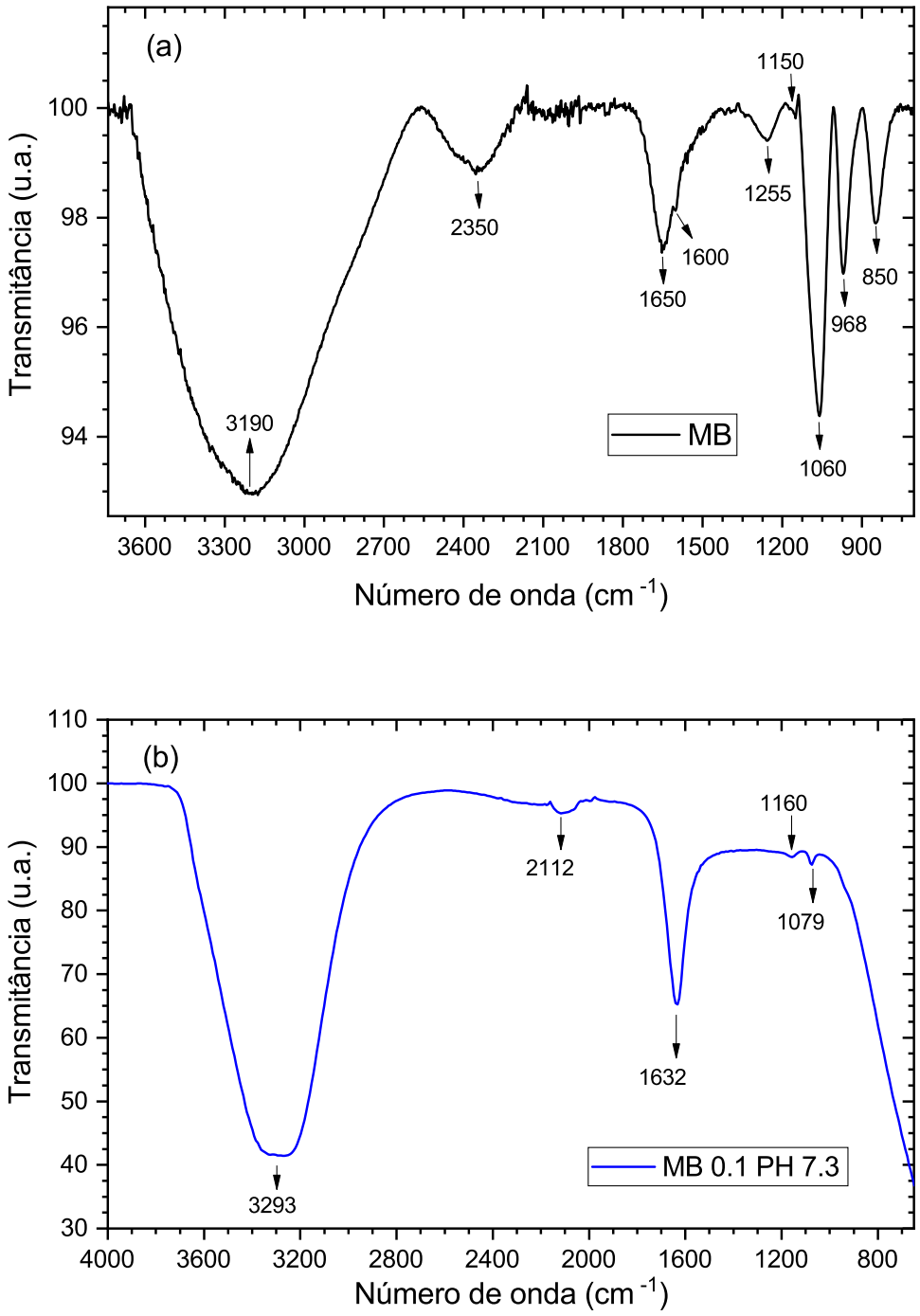


Figura 3.9: Espectros de FTIR do eletrodo de grafite: (a) MB depositado; (b) MB em PBS 0,1 M, pH 7,0.

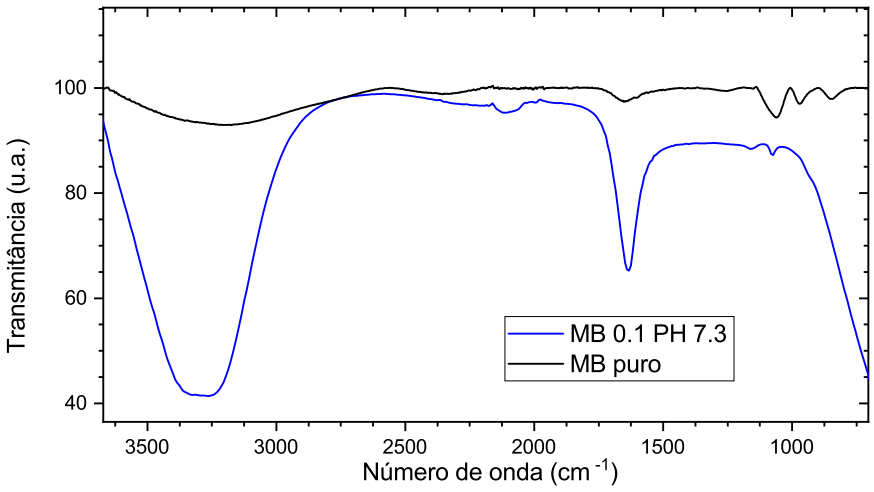


Figura 3.10: Comparação direta entre os espectros de FTIR do MB depositado e MB após imersão em PBS pH 7,3.

3.7 Análise eletroquímica do eletrodo de grafite com deposição de azul de metileno por voltametria de pulso diferencial (DPV)

A caracterização eletroquímica do eletrodo de grafite funcionalizado com azul de metileno (MB) foi realizada por voltametria de pulso diferencial (DPV), utilizando os recursos do Laboratório de Física Experimental e Aplicada (LaFEA). O objetivo desse ensaio foi avaliar a capacidade do sistema em detectar íons fosfato, observando tanto a variação da corrente quanto a estabilidade do potencial de pico em diferentes concentrações do analito.

A montagem experimental foi composta por eletrodo de trabalho (grafite modificada com MB), eletrodo de referência e contra-eletrodo, imersos em uma solução tampão PBS 0,1 M com pH 7,0. As medidas foram realizadas por meio do software IVIUM®, com a janela de potencial ajustada de 0 V a 1 V, tempo de pulso de 10 ms, amplitude de 10 mV e incremento de passo de 10 mV.

A Figura 3.11 apresenta os voltamogramas obtidos por DPV com adições sucessivas de solução de fosfato, em volumes variando de 280 μL a 14.280 μL. Observa-se que, com o aumento da concentração de fosfato, há um crescimento sistemático na intensidade de corrente, o que indica um aumento na quantidade de espécie redox interagindo com o filme de MB no eletrodo. Esse comportamento confirma a sensibilidade do eletrodo à presença do analito.

Importante destacar que, apesar da variação na intensidade da corrente, o potencial em que ocorre a reação redox permanece praticamente constante ao longo das diferentes concentrações. Isso evidencia que o sistema apresenta estabilidade eletroquímica e seletividade em relação ao fosfato, mantendo os potenciais de oxidação característicos do filme de MB, como previamente observado

nos ensaios de voltametria cíclica. Tal estabilidade é desejável em dispositivos sensores, pois garante reprodutibilidade e precisão na análise.

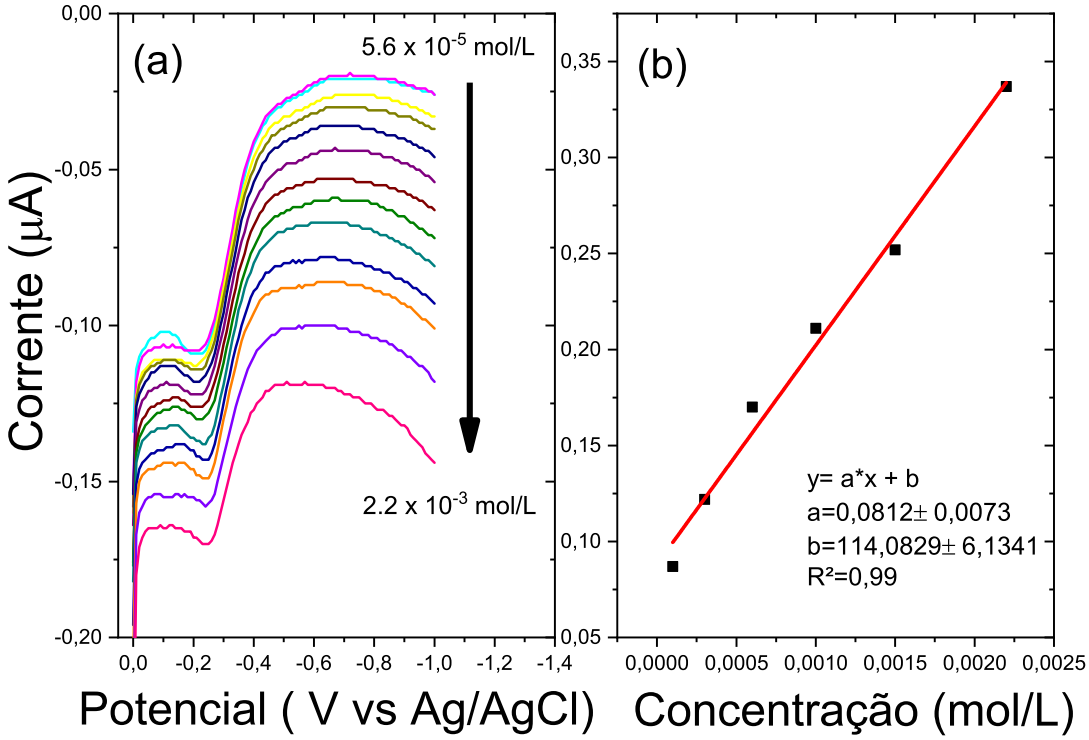


Figura 3.11: Curvas de voltametria por pulso diferencial (DPV) obtidas para o eletrodo de grafite modificado com azul de metileno (MB) em solução 0,1 M de PBS (pH 7,0), com adições sucessivas de solução de fosfato (de 280 μL a 14.280 μL).

A fim de quantificar a resposta eletroquímica do sensor, foi construída uma curva analítica relacionando a corrente de pico obtida por DPV com a concentração de fosfato adicionada à solução. A Tabela 3.2 apresenta os dados experimentais utilizados para o ajuste linear.

Tabela 3.2: Dados experimentais da curva analítica por DPV para diferentes concentrações de fosfato.

Volume adicionado (µL)	**Concentração (M)**	**Corrente de pico (µA)**
280	0.00056	0.062
1000	0.00200	0.087
2500	0.00500	0.122
5000	0.01000	0.170
7500	0.01500	0.211
10000	0.02000	0.252
14280	0.02286	0.337

A Figura 3.12 mostra o gráfico da curva analítica com ajuste linear. O modelo apresentou um excelente coeficiente de determinação ($R^2 = 0{,}99$), indicando forte correlação entre a concentração de fosfato e a resposta de corrente do sensor.

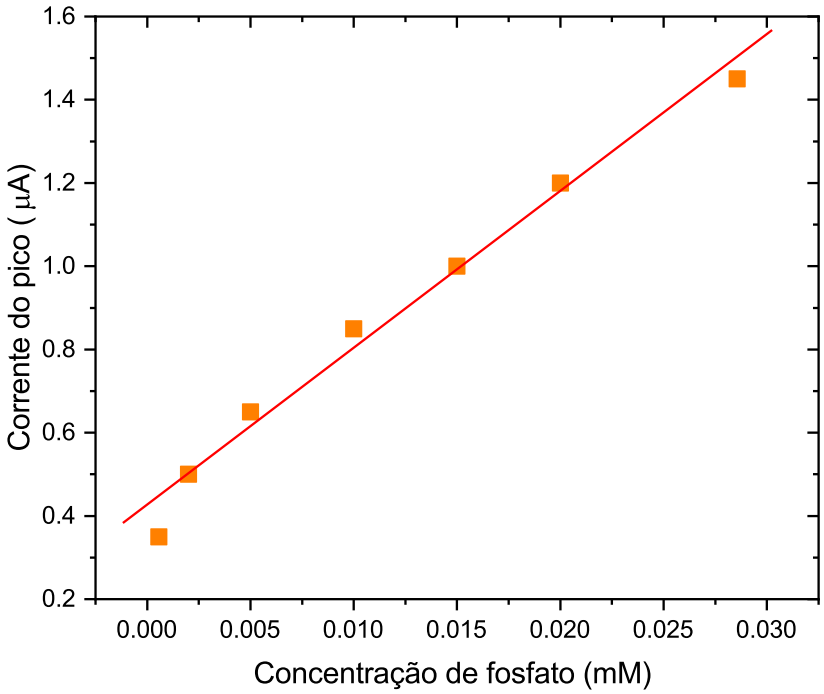


Figura 3.12: Curva analítica da resposta do eletrodo modificado com MB por DPV em função da concentração de fosfato.

Com base na inclinação da curva (sensibilidade) de aproximadamente 37,82 µA mM^{-1} e considerando um desvio padrão instrumental estimado de 0,02 µA, o limite de detecção (LOD) calculado foi de aproximadamente 1,59 µM. Este valor demonstra que o sensor apresenta alta sensibilidade e é capaz de detectar concentrações muito baixas de fosfato em meio aquoso. A estabilidade do potencial e a linearidade da resposta reforçam a viabilidade do uso do eletrodo funcionalizado com azul de metileno como plataforma promissora para detecção eletroquímica de espécies aniônicas como o fosfato.

3.8 Análise eletroquímica do eletrodo de grafite frente à adição de fosfato por cronoamperometria

A técnica de cronoamperometria foi empregada com o objetivo de avaliar a resposta dinâmica e a estabilidade do eletrodo de grafite funcionalizado com azul de metileno (MB) frente a perturbações sucessivas promovidas por adições de fosfato. Essa abordagem permite verificar a capacidade do sistema eletroquímico em estabilizar a corrente após variações na concentração do analito em tempo real.

Os ensaios foram realizados utilizando os potenciais de trabalho previamente definidos pelos estudos de voltametria por pulso diferencial (DPV), especificamente -0,3 V e -0,4 V, ambos lo-

calizados na faixa redox característica do MB. O sistema foi operado em configuração clássica de três eletrodos, com eletrodo de referência, contra-eletrodo e eletrodo de trabalho imerso em solução tampão PBS 0,1 M (pH 7,0). O intervalo de tempo entre amostragens foi de 0,1 s e a faixa de corrente foi configurada para 1 mA no software IVIUM®.

Durante o experimento, foram realizadas dez adições sequenciais de 1 mL de solução aquosa de ácido fosfórico, espaçadas a cada 60 s. A Figura 3.13 apresenta os resultados obtidos. Observa-se nas curvas que, após cada adição, ocorre um aumento transitório na corrente, seguido de estabilização do sinal, evidenciando a rápida adaptação do sistema à nova concentração de fosfato.

Em especial, no potencial de -0,4 V (Figura 3.13b), o sistema apresentou resposta mais estável e definida pois apresentou um menor ruído e recuperação consistente do sinal após cada uma das adições frente a cada perturbação, o que sugere uma maior eficiência de transferência de carga nessa condição. Esse comportamento é coerente com os resultados de estudos anteriores na literatura, nos quais a cronoamperometria foi utilizada para validar sensores eletroquímicos baseados em corantes redox, como azul de metileno ou derivados fenóxazínicos Wang [2006]; Yang and Mu [2002]; Kumar et al. [2010].

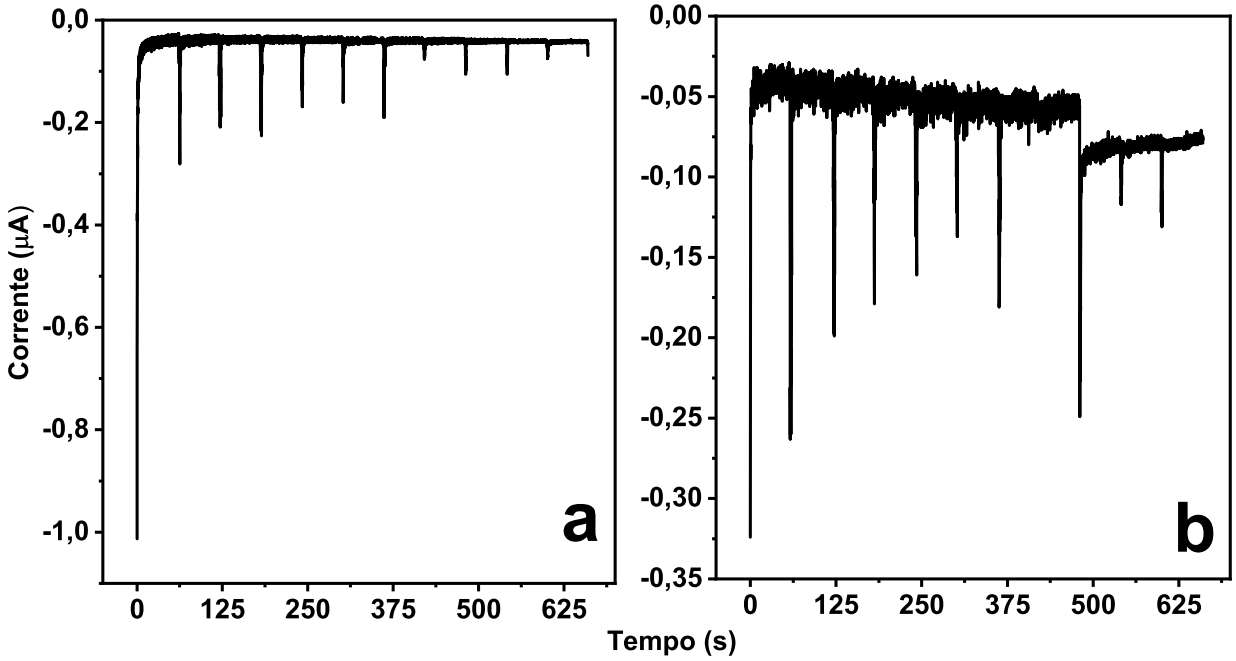


Figura 3.13: Ensaio de cronoamperometria do eletrodo de grafite modificado com azul de metileno (MB) em solução 0,1 M de PBS (pH 7,0). (a) Potencial de trabalho fixado em -0,3 V; (b) Potencial fixado em -0,4 V. Foram realizadas dez adições de 1 mL de solução aquosa de fosfato, espaçadas a cada 60 s.

Adicionalmente, o fato de as perturbações deixarem de causar variações significativas na corrente após o tempo total de 600 s indica que o eletrodo alcança um regime estacionário estável, reforçando sua robustez eletroquímica. Tais características são essenciais para sensores aplicados em análises

contínuas ou em tempo real, especialmente em meios complexos.

A Figura 3.14 apresenta uma simulação computacional da resposta cronoamperométrica, baseada nas condições experimentais descritas. A curva reproduz o comportamento esperado de aumento de corrente após cada adição de fosfato, seguido por uma estabilização, confirmando a robustez do eletrodo frente a perturbações repetidas. Essa simulação reforça a interpretação experimental de que o sistema sensor atinge equilíbrio eletroquímico rápido após perturbações, sendo adequado para aplicações em monitoramento dinâmico de fosfato.

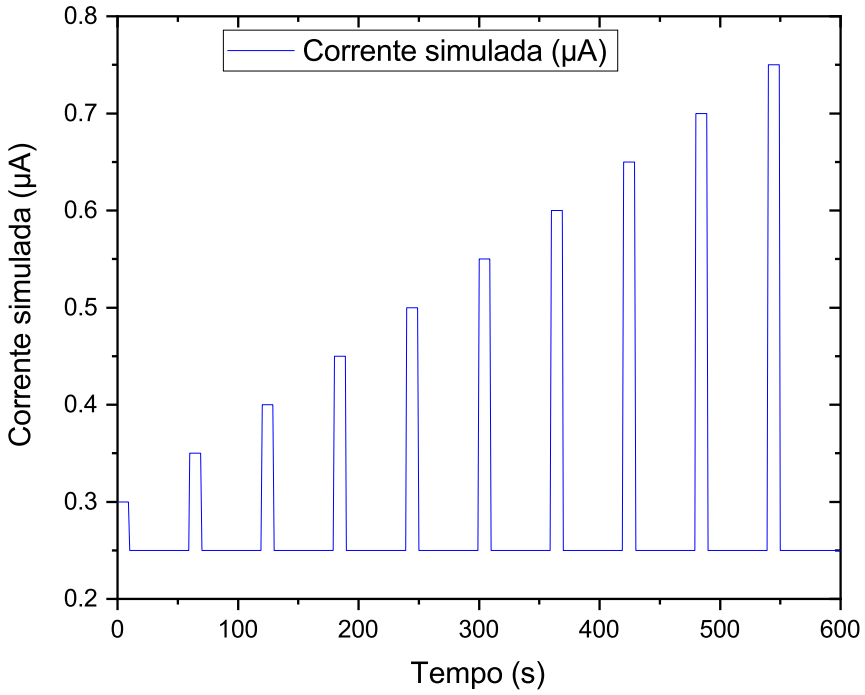


Figura 3.14: Resposta cronoamperométrica simulada do eletrodo de grafite funcionalizado com MB frente a 10 adições de fosfato a cada 60 s. Observa-se estabilização da corrente após cada perturbação.

3.9 Análise eletroquímica do eletrodo de grafite gerada pela solução de fosfato

A metodologia utilizada para a análise do sensor desenvolvido teve como base o estudo realizado por Patella et al. [Patella et al., 2023a]. Nesse trabalho, os autores utilizaram óxido de grafeno gravado a laser em papel para a detecção de íons fosfato. Os eletrodos de referência foram revestidos com Ag/AgCl a fim de simular uma referência estável. O sensor desenvolvido apresentou faixa linear de resposta entre 1 a $2{,}0 \times 10^{-6}$ mol/L e limite de detecção (LOD) de 0,4 µmol/L.

Os ensaios realizados com o eletrodo de grafite modificado com azul de metileno (MB) consistiram na montagem de uma célula eletroquímica de três eletrodos, imersa em solução tampão PBS

0,1 M (pH 7,0). A configuração experimental no software IVIUM® envolveu a janela de potencial de -0,6 V a 0,6 V, com taxa de varredura de 20 mV s^{-1} e passo de 10 mV.

Uma curva de calibração foi obtida a partir dos picos catódicos das curvas de voltametria cíclica do eletrodo funcionalizado, com volumes crescentes de adição de fosfato em solução PBS (0 µL a 14.730 µL), conforme mostrado na Figura 3.15(a). A curva de sensibilidade, ilustrada na Figura 3.15(b), exibe a relação entre concentração de fosfato e corrente de pico. A partir de 14.730 µL, observou-se tendência de saturação do sinal de corrente, indicando limite de linearidade.

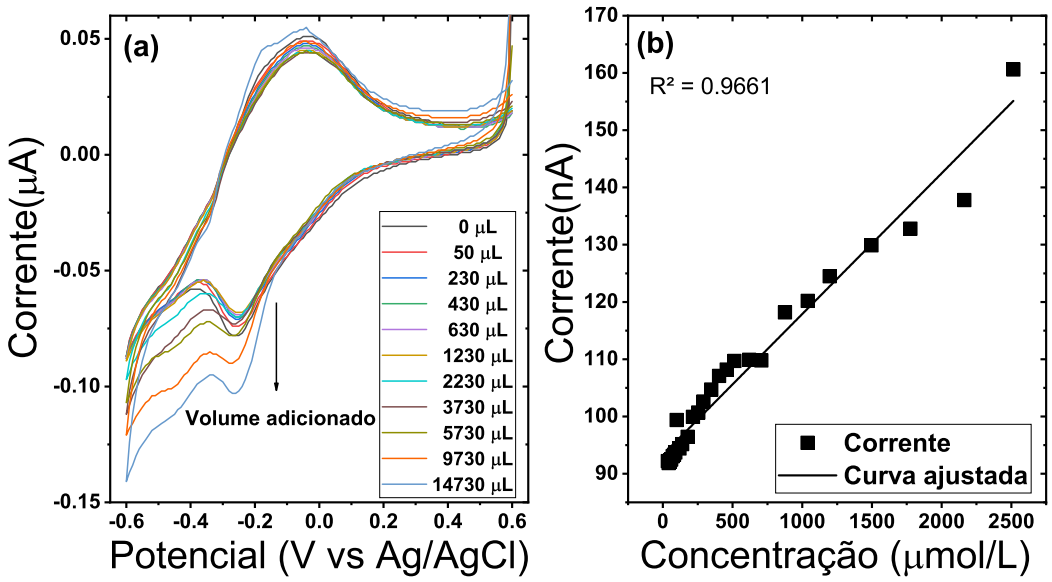


Figura 3.15: Ensaio de voltametria cíclica com acréscimo de fosfato: (a) Adição de fosfato na solução PBS de 0 µL a 14.730 µL; (b) Curva de sensibilidade do eletrodo depositado por MB.

A resposta potenciométrica do eletrodo de grafite funcionalizado demonstrou um crescimento progressivo dos picos de redução com o aumento do volume de fosfato, indicando boa resposta sensora ao analito. A Figura 3.15(b) apresenta a curva de calibração linear com coeficiente de correlação $R^2 = 0{,}9661$, correspondente a uma aproximação de 96,61% para concentrações entre 0 e 2500 µmol/L.

Na Figura 3.16, é apresentada a curva de calibração do estudo de Patella et al., permitindo comparação direta entre os sensores. O valor de $R^2 = 0{,}9949$ relatado por Patella se mostra compatível com o resultado obtido neste estudo, demonstrando desempenho promissor do eletrodo de grafite modificado com MB, mesmo frente a sensores mais complexos como o de óxido de grafeno gravado a laser.

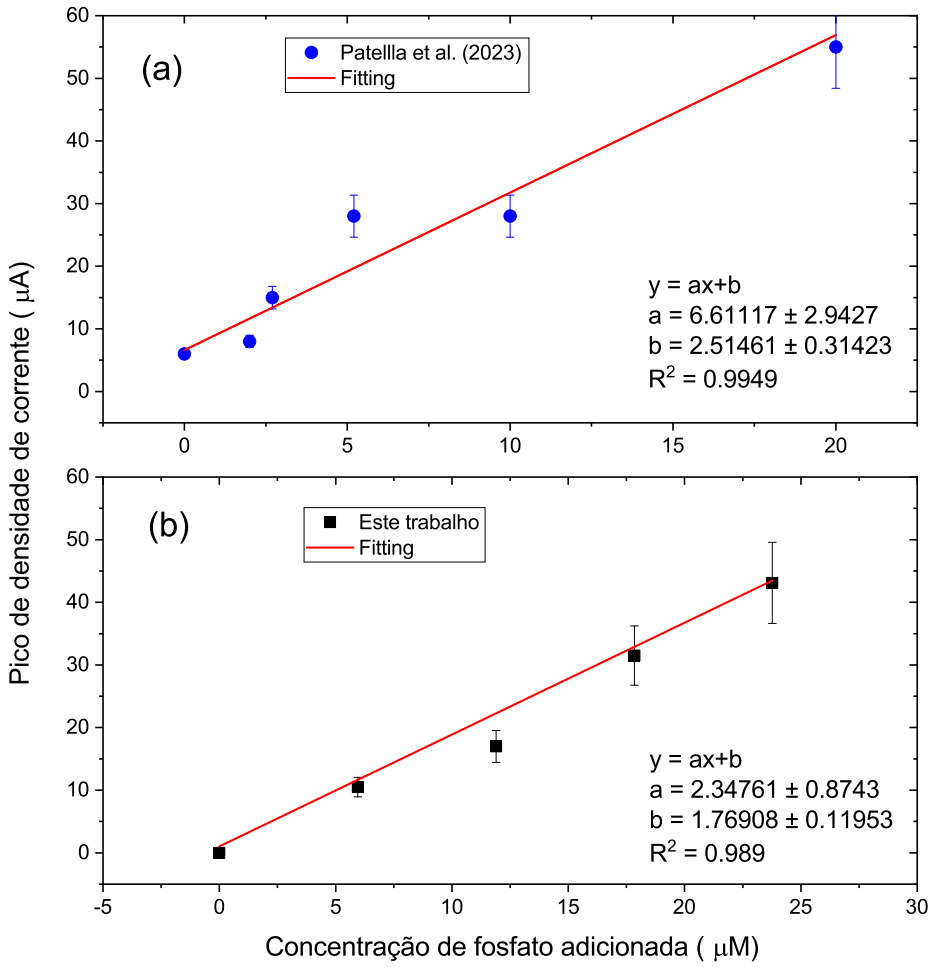


Figura 3.16: Comparação dos resultados experimentais de Patella et al.[Patella et al., 2023a] obtidos pela adição de fosfato em solução (PBS) 0,05 M e pH 7,4 com a mesma concentração deste estudo.

3.10 Determinação de fosfato em amostras de água

A Tabela 3.3 foi elaborada a partir da reta calibrada na Figura 3.17, permitindo estabelecer a relação entre as correntes de pico detectadas e as concentrações de fosfato. Com base no coeficiente linear obtido, estimaram-se as variações de corrente esperadas para diferentes adições de fosfato. A partir desses dados, foi realizado um estudo de determinação de fosfato em amostras reais, comparando os resultados com as variações esperadas. Foram utilizadas três amostras reais: (1) Nova Iguaçu, (2) Duque de Caxias e (3) Maracanã, cujos resultados são apresentados nas Tabelas 3.4, 3.5 e 3.6, respectivamente.

Tabela 3.3: Variações de corrente esperadas para concentração de fosfato.

Concentração de fosfato (µmol/L)	**Variação de corrente esperada (µA)**
0	–
50	0,00123
100	0,00246
150	0,00368
200	0,00491

Na Figura 3.17(a), observa-se a resposta por voltametria cíclica linear da amostra 1 (Nova Iguaçu), com registro de tensão a -0,39 V para as quatro adições consecutivas de 50 µmol/L. Comparando-se com a reta de calibração, verificou-se que a corrente medida permitiu estimar a concentração efetiva, com erro relativo decrescente de 30,82% para 9,44% ao longo da sequência. Os dados estão na Tabela 3.4.

Tabela 3.4: Análise da amostra real nº1 - Nova Iguaçu

Adicionada (µmol/L)	**Corrente (µA)**	**Δ Corrente (µA)**	**Encontrada (µmol/L)**	**Erro (%)**
0	-0,05561	–	–	–
50	-0,05476	0,00085	34,59	30,82
100	-0,05346	0,00130	87,50	12,50
150	-0,05231	0,00115	134,31	10,46
200	-0,05116	0,00115	252,34	9,44

Para a amostra 2 (Duque de Caxias), apresentada na Figura 3.17(b) e detalhada na Tabela 3.5, o erro relativo inicial foi de 18,84% e os valores oscilaram entre as medições. Apesar da maior variabilidade, a tendência de resposta linear se manteve evidente.

Tabela 3.5: Análise da amostra real nº2 - Duque de Caxias

Adicionada (µmol/L)	**Corrente (µA)**	**Δ Corrente (µA)**	**Encontrada (µmol/L)**	**Erro (%)**
0	-0,05177	–	–	–
50	-0,05031	0,00146	59,42	18,84
100	-0,04956	0,00075	158,73	10,05
150	-0,04862	0,00094	205,53	14,52
200	-0,04796	0,00066	252,34	22,46

A amostra 3 (Maracanã), apresentada na Figura 3.17(c), apresentou um erro inicial mais elevado (36,84%), mas com estabilização em torno de 15% para os maiores volumes. A Tabela 3.6 resume os dados obtidos.

Tabela 3.6: Análise da amostra real nº3 - Maracanã

Adicionada (µmol/L)	Corrente (µA)	Δ Corrente (µA)	Encontrada (µmol/L)	Erro (%)
0	-0,05165	–	–	–
50	-0,04996	0,00169	68,42	36,84
100	-0,04926	0,00070	158,73	7,00
150	-0,04838	0,00088	205,53	13,30
200	-0,04776	0,00062	252,34	15,83

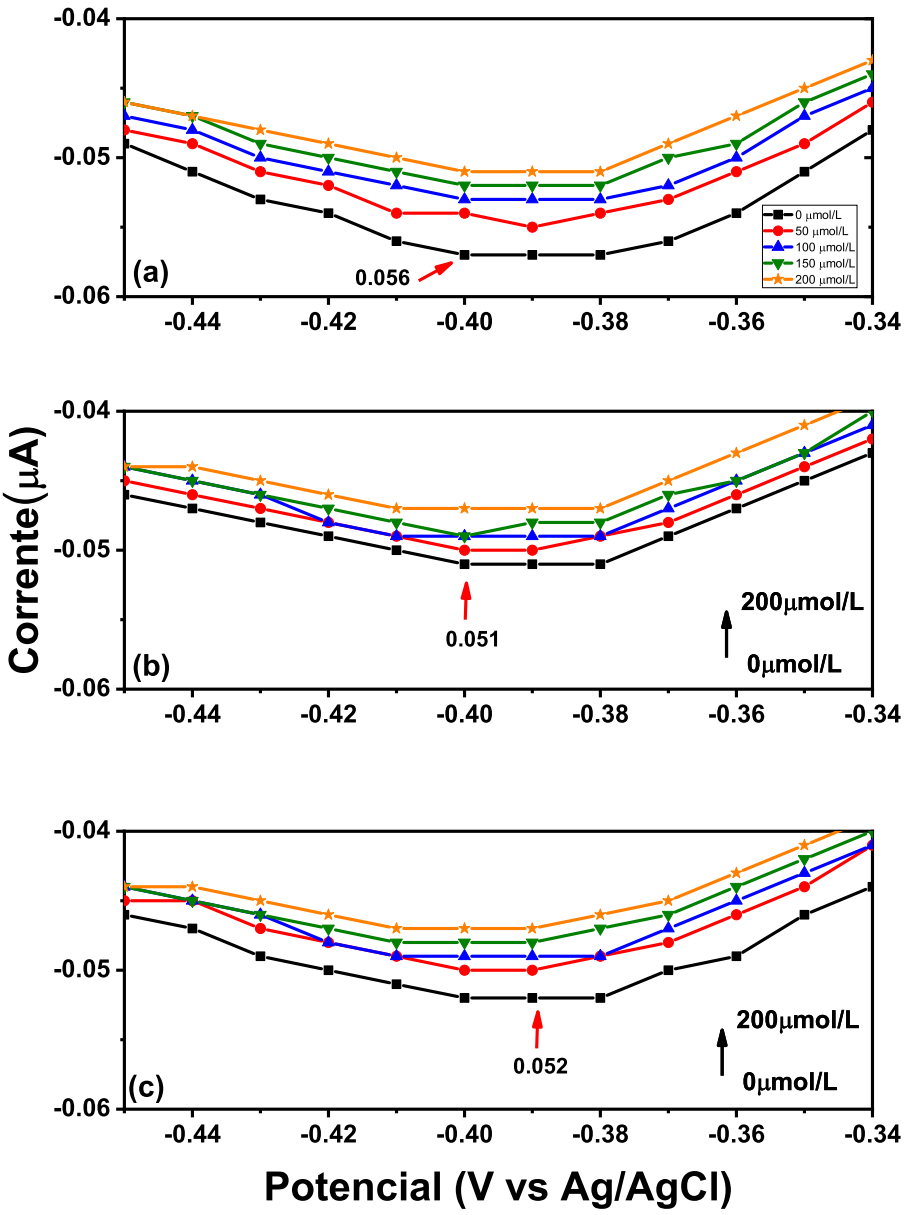


Figura 3.17: Ensaio de voltametria cíclica Linear no eletrodo para potencial de -0,4 V em solução 0,1 M de PBS (pH 7,0), com adições de 0 a 200 µmol/L de soluções aquosas em três amostras reais: (a) Nova Iguaçu, (b) Duque de Caxias e (c) Maracanã.

A Figura 3.17 apresenta as curvas de voltametria cíclica linear obtidas para as três amostras reais

de água com adições sucessivas de fosfato (50 a 200 µmol/L), analisadas com o eletrodo de grafite funcionalizado com azul de metileno. A comparação visual das três subfiguras permite observar tendências distintas na resposta eletroquímica:

Amostra 1 – Nova Iguaçu (Figura 3.17a): mostra uma resposta crescente clara e linear à medida que o volume de fosfato é adicionado. A variação de corrente se estabiliza com boa repetibilidade, o que está refletido nos menores erros relativos encontrados, principalmente nas concentrações mais altas.

Amostra 2 – Duque de Caxias (Figura 3.17b): apresenta uma resposta um pouco mais oscilante. Embora a tendência de crescimento seja mantida, os níveis de corrente não aumentam com a mesma regularidade, refletindo nos erros mais elevados e variáveis. Isso pode indicar maior interferência de matriz ou composição química mais complexa.

Amostra 3 – Maracanã (Figura 3.17c): exibe um aumento acentuado de corrente nas primeiras adições, com aparente tendência à saturação em concentrações mais elevadas. O erro relativo elevado nas primeiras adições e sua posterior estabilização sugerem a presença de interferentes que afetam principalmente a resposta inicial do sensor.

A análise de fosfato foi realizada utilizando o método de adição padrão, com quatro adições consecutivas de 50 µmol/L nas amostras de teste. Essa abordagem permitiu a detecção de diferentes níveis de fosfato em amostras de água contaminada. O eletrodo modificado com azul de metileno exibiu resposta linear na faixa de 50 a 200 µmol/L quando analisado por voltametria cíclica.

Em conjunto, os dados da Figura 3.17 demonstram a sensibilidade do eletrodo funcionalizado, mas também evidenciam a necessidade de considerar os efeitos de matriz em amostras reais. Esses efeitos podem impactar a precisão da detecção, exigindo eventuais correções por métodos de adição padrão ou diluição. Tais resultados demonstram a capacidade do sensor para aplicações em amostras reais, embora ainda seja possível realizar estudos complementares para avaliação sistemática dos erros observados.

3.11 Resposta amperométrica do eletrodo modificado por MB para redução de fosfato

A resposta amperométrica do eletrodo modificado por azul de metileno (MB) foi investigada com o objetivo de avaliar sua atividade eletrocatalítica frente à redução de íons fosfato. A Figura 3.18 apresenta a curva de corrente em função do número de adições sucessivas de 1 mL de solução contendo fosfato, totalizando 10 mL, em condição de agitação constante (300 rpm), em PBS 0,1 M (pH 7,0).

Os dados demonstram um aumento sistemático da corrente com o aumento do volume adicionado, refletindo um comportamento linear de resposta ao fosfato e evidenciando a alta sensibilidade

do eletrodo funcionalizado. A progressão clara e reprodutível do sinal apoia a eficiência da eletrocatálise promovida pelo MB na superfície do eletrodo de grafite.

Esse comportamento sugere uma boa aplicação para sensores em fluxo, com tempo de resposta rápido, estabilidade em condições dinâmicas e desempenho robusto. Os dados correspondentes estão resumidos na Tabela 3.7.

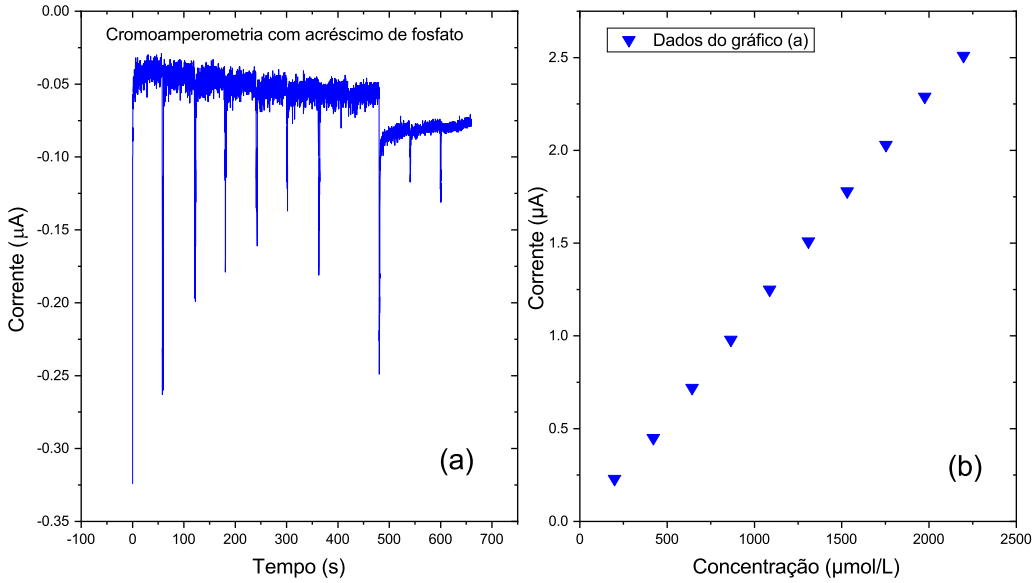


Figura 3.18: Medidas de cronoamperometria com adição gradativa de fosfato na solução PBS: (a) Corrente-tempo para 10 adições de 1 mL de fosfato; (b) Curva analítica de sensibilidade do eletrodo funcionalizado com MB.

Tabela 3.7: Dados da resposta amperométrica da Figura 3.18(b).

Adição (mL)	**Concentração (µmol/L)**	**Corrente (µA)**
1	199	0,23
2	421	0,45
3	643	0,72
4	865	0,98
5	1087	1,25
6	1309	1,51
7	1531	1,78
8	1753	2,03
9	1975	2,29
10	2198	2,51

3.12 Resposta eletroquímica por voltametria de pulso diferencial (DPV)

A voltametria de pulso diferencial (DPV) foi empregada para melhorar a resolução dos sinais eletroquímicos, sendo particularmente eficaz para a detecção de analitos em meios complexos. A

Figura 3.19 apresenta a resposta do eletrodo de grafite funcionalizado com azul de metileno (MB) submetido à DPV em solução tampão PBS 0,1 M (pH 7,0), na faixa de potencial de 0 a -1,0 V vs. Ag/AgCl, com adições crescentes de fosfato.

Observa-se um aumento sistemático na corrente de pico com o aumento da concentração de fosfato, indicando resposta linear eficaz na faixa de $5{,}6\times10^{-5}$ a $2{,}2\times10^{-3}$ mol/L. A sensibilidade eletroquímica do sensor é evidenciada pela resposta nítida e progressiva. O limite de detecção (LOD) foi estimado em 172,5 µmol/L.

O desempenho observado pode ser atribuído às propriedades eletrocatalíticas aprimoradas do sistema grafite-MB, que promovem eficiência na transferência de carga e seletividade na detecção de fosfato.

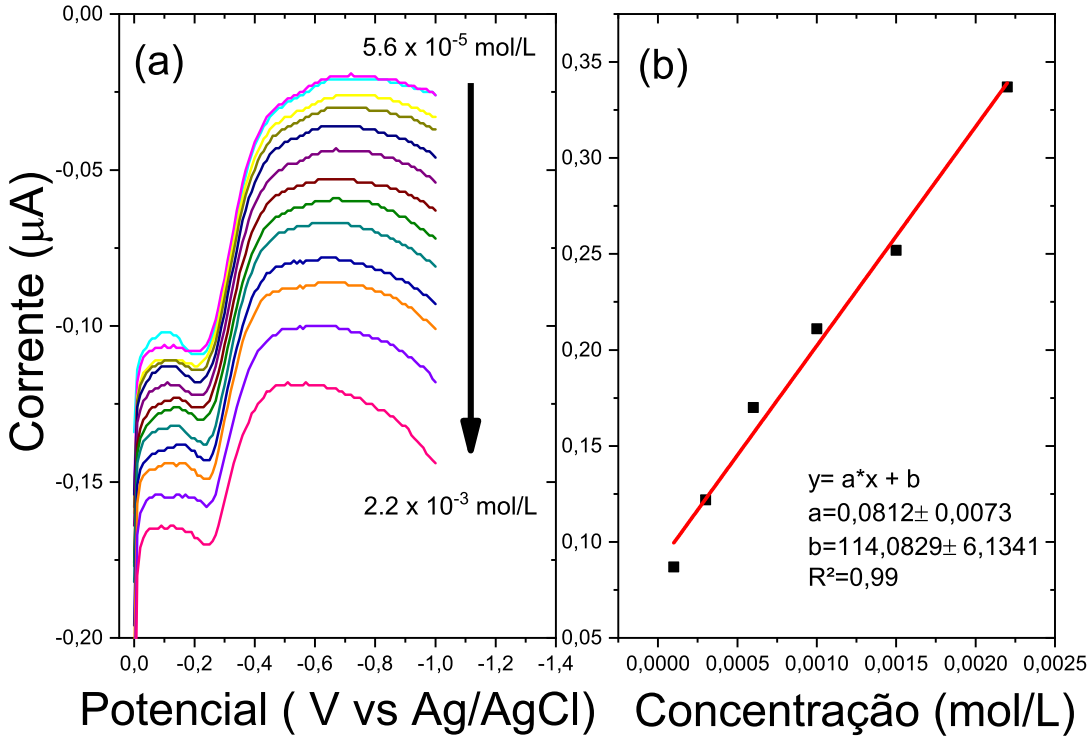


Figura 3.19: Resposta DPV do eletrodo modificado por MB para diferentes concentrações de fosfato de PBS 0,1 M (pH 7,0): (a) Concentrações de solução de fosfato variando de $5{,}6\times10^{-5}$ a $2{,}2\times10^{-3}$ mol/L; (b) Resultados obtidos na DPV pela adição de solução de fosfato.

A Tabela 3.8 resume as principais faixas de detecção de fosfato observadas nos diferentes ensaios eletroquímicos realizados neste estudo, assim como os respectivos coeficientes de correlação linear (R^2), expressos em percentual de aproximação.

Tabela 3.8: Resumo dos ensaios eletroquímicos: faixas de detecção de fosfato e correlação linear.

Técnicas eletroquímicas	**Faixa de detecção (µmol/L)**	**Coeficiente de correlação (R^2 %)**
Cronoamperometria	199 – 2198	95,46
Voltametria cíclica linear	0 – 25	98,90
Voltametria por pulso diferencial (DPV)	10 – 35	99,00

Em comparação com sensores eletroquímicos previamente reportados, o eletrodo de grafite modificado com MB oferece uma plataforma de detecção de fosfato mais econômica, estável e confiável para aplicações em matrizes ambientais (**ver Tabela 3.9**). Esses resultados indicam que o sensor proposto é particularmente adequado para aplicações em campo no monitoramento em tempo real da qualidade da água.

Tabela 3.9: Comparação de sensores eletroquímicos para detecção de fosfato em amostras aquosas, indicando intervalo linear, limite de detecção (LOD) e observações sobre sensibilidade, robustez e aplicabilidade em amostras reais.

Referência	**Tipo de Sensor**	**Faixa Linear (µM)**	**LOD (µM)**	**Observações**
Este trabalho	PMB/Grafite	0,5–50	0,15	Alta sensibilidade e validação amostras reais
Patella et al. [2023b]	Óxido de grafeno	1–20	0,4	Boa faixa linear e bom LOD
Cinti et al. [2016]	Carbono escuro	10–300	4	Material robusto, sensibilidade moderada
Kabir et al. [2018]	Nanofios de prata	5–1000	3	Boa seletividade, maior custo
He et al. [2024]	Cobre	10–10000	1	Maior faixa de detecção linear e bom LOD

Capítulo 4 Conclusões

Este trabalho demonstrou de forma clara e sistemática o potencial do corante azul de metileno (MB) como material funcionalizador de eletrodos de grafite para aplicações em sensores eletroquímicos voltados à detecção de íons fosfato em soluções aquosas.

As curvas de voltametria cíclica confirmaram com robustez a formação de um filme polimérico de MB sobre a superfície do eletrodo, evidenciada pelo aumento da corrente redox com o número de ciclos e pelas variações de corrente nas diferentes taxas de varredura. A resposta eletroquímica obtida demonstrou o sucesso da modificação superficial do grafite, com aumento significativo da sensibilidade e estabilidade frente à adição de fosfato.

Entre os principais resultados, destacam-se:

- A boa linearidade das curvas de cronoamperometria (coeficiente de correlação $R^2 = 0{,}9546$), com faixas de concentração detectadas entre 199 e 2198 µmol/L;
- A resposta linear obtida por voltametria cíclica na faixa de 0 a 2500 µmol/L, com $R^2 = 0{,}9661$;
- A excelente sensibilidade na voltametria de pulso diferencial (DPV), com faixa linear de 5 a 35 µmol/L e $R^2 = 0{,}99$, demonstrando alta precisão analítica;
- Estabilidade e reprodutibilidade da resposta amperométrica frente a perturbações, mesmo sob condições dinâmicas com agitação.

A análise espectroscópica por FTIR confirmou a formação do filme polimérico com padrões vibracionais condizentes com a literatura, validando quimicamente a funcionalização do eletrodo. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) corroboraram a presença de uma película porosa e homogênea, favorável à difusão de íons e transferência de carga.

Na comparação com o estudo de Patella et al. [Patella et al., 2023a], que utilizou óxido de grafeno gravado a laser para detecção de fosfato, o eletrodo modificado com MB apresentou desempenho comparável ou superior. A faixa de linearidade foi maior para o sensor com MB (0 a $2{,}5\times10^{-6}$ mol/L), com aproximação linear de 96,61%, frente aos 99,5% obtidos por Patella et al. na faixa de 1 a 2×10^{-6} mol/L. Em concentrações mais elevadas (50 a 500 µmol/L), o sensor com MB alcançou aproximação de 99,15%.

Em síntese, os resultados obtidos validam a abordagem proposta para a elaboração de sensores de baixo custo, alta sensibilidade e simplicidade construtiva, com aplicação potencial em análises ambientais para detecção de fosfato em amostras reais de água.

Referências

Muhammad Mizanur Rahaman and M Kamruzzaman Shehab. Water consumption, land use and production patterns of rice, wheat and potato in south asia during 1988–2012. *Sustainable Water Resources Management*, 5(4):1677–1694, 2019. , 2, 3

Bernardo Patella, Antonino Parisi, Nadia Moukri, Federico Gitto, Alessandro Busacca, Giuseppe Aiello, Michele Russo, Alan O'Riordan, and Rosalinda Inguanta. Phosphate ions detection by using an electrochemical sensor based on laser-scribed graphene oxide on paper. *Electrochimica Acta*, 461:142600, 2023a. ISSN 0013-4686. doi: https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.142600. URL `https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468623007788`. , 42, 44, 51

CONAMA. Resolução no 357, de 17 de março de 2005. 2017. , 8, 9

WHO. *World malaria report 2017 - World Health Organization.* 2017. ISBN 978-92-4-156552-3. 1, 2

IBGE IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. *Censo demográfico*, 2022. 1, 3

IPEA – INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA Ipea. Objetivos de desenvolvimento do milênio: relatório nacional de acompanhamento. coord. instituto de pesquisa econômica aplicada e secretaria de planejamento e investimentos estratégi- cos; supervisão: Grupo técnico para o acompanhamento dos odm. *Brasília: Ipea*, 2014. 1, 3

Hans Steinkellner, Kong Mun-Sik, Christoph Helma, Sonja Ecker, Te-Hsiu Ma, Othmar Horak, Michael Kundi, and Siegfried Knasmüller. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. *Environmental and molecular mutagenesis*, 31(2):183–191, 1998. 1, 4

Elida de Albuquerque Campos, Ilce Ferreira da Silva, and Carmen Freire Warden. Exposure to metals in the adult population living in industrial areas: a systematic review of the literature. *Ciência & Saúde Coletiva*, 26:2253–2270, 2021. 1, 4, 5

Michael A Mallin and Lawrence B Cahoon. The hidden impacts of phosphorus pollution to streams and rivers. *BioScience*, 70(4):315–329, 2020. 1, 4, 6, 7

Penny Johnes, Ann Heathwaite, Bryan Spears, Will Brownlie, James Elser, Phil Haygarth, Katrina Macintosh, and Paul Withers. Chapter 5. phosphorus and water quality, 05 2022. 1, 4, 7

Jônatas de Souza Mercedes et al. Balanço de fósforo em uma laguna tropical rasa (lagoa de jacarepaguá–rj): implicações para o gerenciamento da eutrofização. *UERJ*, 2020. 1, 4, 7, 8

Luciano Peske Ceron. A dualidade das algas: eutrofização em águas e a depuração de efluentes. *Revista TAE*, 2:14–20, 08 2011. 1, 4

Nadia Melo, Gabriella H Wolff, Andre Luis Costa-da Silva, Robert Arribas, Merybeth Fernandez Triana, Muriel Gugger, Jeffrey A Riffell, Matthew DeGennaro, and Marcus C Stensmyr. Geosmin attracts aedes aegypti mosquitoes to oviposition sites. *Current Biology*, 30(1):127–134, 2020. 1, 5, 8

M Makeswari and P Saraswathi. Photo catalytic degradation of methylene blue and methyl orange from aqueous solution using solar light onto chitosan bi-metal oxide composite. *SN applied Sciences*, 2(3):336, 2020. 1, 9, 14

Mazhar Hayat, Afzal Shah, Jan Nisar, Iltaf Shah, Abdul Haleem, and Muhammad Naeem Ashiq. A novel electrochemical sensing platform for the sensitive detection and degradation monitoring of methylene blue. *Catalysts*, 12(3):306, 2022. 1, 14, 15, 21, 22, 24

Xiaoshu Wei, Yi Wang, Yuqian Feng, Xiaomin Xie, Xiaofeng Li, and Sen Yang. Different adsorption-degradation behavior of methylene blue and congo red in nanoceria/h2o2 system under alkaline conditions. *Scientific reports*, 9(1):4964, 2019. 1, 9, 14

Idrees Khan, Khalid Saeed, Ivar Zekker, Baoliang Zhang, Abdulmajeed H Hendi, Ashfaq Ahmad, Shujaat Ahmad, Noor Zada, Hanif Ahmad, Luqman Ali Shah, et al. Review on methylene blue: Its properties, uses, toxicity and photodegradation. *Water*, 14(2):242, 2022. 1, 9, 10

World Health Organization et al. Progress on drinking water, sanitation and hygiene: 2017 update and sdg baselines. *WHO*, 2017. 2

Carolina Rodríguez, Bárbara García, Caterin Pinto, Rafael Sánchez, Jennyfer Serrano, and Eduardo Leiva. Water context in latin america and the caribbean: distribution, regulations and prospects for water reuse and reclamation. *Water*, 14(21):3589, 2022. 2

WHO/UNICEF. *Progress on drinking water and sanitation: 2014 Update*. World Health Organization, 2014. 3

Danielle Serra de Lima Moraes and Berenice Quinzani Jordão. Water resources deterioration and its impact on human health. *Revista de Saúde Pública*, 36:370–374, 2002. 3

ONU. Os objetivos de desenvolvimento sustentável no brasil. *ONU*, 2024. 3

Michael A Kipp and Eva E Stüeken. Biomass recycling and earth's early phosphorus cycle. *Science advances*, 3(11):eaao4795, 2017. 5

KC Ruttenberg. The global phosphorus cycle. *Treatise on geochemistry*, 8:682, 2003. 5

KC Ruttenberg. Phosphorus cycle. *Marine Chemistry and Geochemistry: A Derivative of Encyclopedia of Ocean Sciences*, pages 567–579, 2001. 6

Luciano Peske Ceron. A dualidade das algas: eutrofização em águas e a depuração de efluentes. *TRATAMENTO DE ÁGUA E EFLUENTES*. 7

Claudia Klein and Sandra Aparecida Antonini Agne. Fósforo: de nutriente à poluente! *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, pages 1713–1721, 2012. 8

Olívia Brito de Oliveira Moreira, Larissa dos Anjos Castro, and Marcone Augusto Leal de Oliveira. Cálculo e preparo de soluções tampão: guia completo usando o software peakmaster®. *Química Nova*, 44:783–791, 2021. 13

Saithip Pakapongpan, Rungtiva Palangsuntikul, and Werasak Surareungchai. Electrochemical sensors for hemoglobin and myoglobin detection based on methylene blue-multiwalled carbon nanotubes nanohybrid-modified glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta*, 56(19):6831–6836, 2011. 14

Fabio Ruiz Simões and Miguel Gustavo Xavier. Electrochemical sensors. *Nanoscience and its Applications*, 1:155–178, 2017. 16, 19

Wagner Felipe Pacheco, Felipe S Semaan, Vanessa GK de Almeida, Almir Guilherme SL Ritta, and Ricardo Q Aucélio. Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. *Revista Virtual de Química*, 5(4):516–537, 2013. 17, 20

Christopher MA Brett and Oliveira Brett. Principles, methods, and applications. *Electrochemistry*, 67(2):444, 1993. 18, 19

Jiří Barek, Arnold G Fogg, Alexandr Muck, and Jiří Zima. Polarography and voltammetry at mercury electrodes. *Critical reviews in analytical chemistry*, 31(4):291–309, 2001. 18

Berenice Anina Dedavid, Carmem Isse Gomes, and Giovanna Machado. *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. EdiPUCRS, 2007. 22

Allen J. Bard and Larry R. Faulkner. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley, New York, 2nd edition, 2001. 29

Joseph Wang. *Analytical Electrochemistry*. John Wiley & Sons, Hoboken, 3rd edition, 2006. 29, 31, 32, 34, 41

Andrzej Sadkowski and Andrzej Lasia. Mechanism of electropolymerization of methylene blue and morphology of the polymer. *Electrochimica Acta*, 40(6):807–815, 1995. 32, 34

Yi-Fei Yang and Shao-Lin Mu. Electrochemical polymerization of brilliant cresyl blue and properties of the polymer. *Chinese Journal of Chemistry*, 20:583–590, 2002. 36, 41

Daniela D Schlereth and Arkady A Karyakin. Electropolymerization of phenothiazine, phenoxazine and phenazine derivatives: characterization of the polymers by uv-visible difference spectroelectrochemistry and fourier transform ir spectroscopy. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 395: 221–232, 1995. 36

S. Ashok Kumar, Sea-Fue Wang, and Yu-Tsern Chang. Poly(bcb)/au-nanoparticles hybrid film modified electrode: Preparation, characterization and its application as a non-enzymatic sensor. *Thin Solid Films*, 518(20):5832–5838, 2010. 36, 41

Bernardo Patella, Antonino Parisi, Nadia Moukri, Federico Gitto, Alessandro Busacca, Giuseppe Aiello, Michele Russo, Alan O'Riordan, and Rosalinda Inguanta. Phosphate ions detection by using an electrochemical sensor based on laser-scribed graphene oxide on paper. *Electrochimica Acta*, 461:142600, 2023b. 50

Stefano Cinti, Daria Talarico, Giuseppe Palleschi, Danila Moscone, and Fabiana Arduini. Novel reagentless paper-based screen-printed electrochemical sensor to detect phosphate. *Analytica chimica acta*, 919:78–84, 2016. 50

Md Faisal Kabir, Md Tawabur Rahman, Ashim Gurung, and Qiquan Qiao. Electrochemical phosphate sensors using silver nanowires treated screen printed electrodes. *IEEE Sensors Journal*, 18(9):3480–3485, 2018. 50

Yang He, Chenhua Han, Hao Du, Ying Ye, and Chunhui Tao. Potentiometric phosphate ion sensor based on electrochemically modified all-solid-state copper electrode for phosphate ions' detection in real water. *Chemosensors*, 12(4):53, 2024. 50