

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Sensor eletroquímico baseado em carbon black para determinação de enrofloxacin em amostras ambientais e alimentícias

Aline Martins de Oliveira
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

ALINE MARTINS DE OLIVEIRA

Sensor eletroquímico baseado em carbon black para determinação de enrofloxacin em amostras ambientais e alimentícias

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Tiago Almeida Silva

Coorientador: Garbas A. dos S. Junior

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

O48s
2025

Oliveira, Aline Martins de, 1990-

Sensor eletroquímico baseado em carbon black para determinação de enrofloxacin em amostras ambientais e alimentícias / Aline Martins de Oliveira. – Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (109 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Tiago Almeida Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química, 2025.

Referências bibliográficas: f. 91-105.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.282>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Sensores eletroquímicos. 2. Eletroquímica. 3. Eletrodos. 4. Voltametria. 5. Águas residuais - Análise. 6. Alimentos - Análise. I. Silva, Tiago Almeida, 1990-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. III. Título.

CDD 22. ed. 541.37

ALINE MARTINS DE OLIVEIRA

Sensor eletroquímico baseado em carbon black para determinação de enrofloxacina em amostras ambientais e alimentícias

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Aline Martins de Oliveira
Autora

Tiago Almeida Silva
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 14/05/2025 às 21:33:37 e pelo orientador em 14/05/2025 às 22:43:52. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **DJE7.EEY1.2P2Y** e clique no botão 'Validar documento'.

A todas que vieram antes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Eva e Aldair, por sempre acreditarem em mim.

Ao meu companheiro de vida, Guilherme, por todo o apoio, paciência e abraços apertados.

Ao Prof. Dr. Tiago Almeida Silva pela confiança e por todas as orientações e ensinamentos transmitidos sempre com muita paciência e entusiasmo.

A todos os colegas do Laboratório de Pesquisas em Eletroanalítica e Nanomateriais (LAPEN) que me receberam com imenso carinho e tornaram o trabalho muito mais divertido.

Ao Prof. Dr. Garbas Anacleto dos Santos Júnior pela coorientação e por abrir as portas do laboratório do Grupo de Estudo em Dispositivos de Armazenamento de Energia (GEDAE) para os testes iniciais, estendendo o agradecimento aos seus orientandos pela ajuda.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agroquímica (PPAG) pelos ensinamentos transmitidos nas disciplinas cursadas.

A todos que colaboraram para a execução deste trabalho, entre os quais agradeço nominalmente aos amigos e colegas de LAPEN Rafael Silva e Alexsandra Silva; ao Dr. José Neto pelos ensinamentos e conselhos; a Prof^ª. Dr^ª. Katia de Oliveira pela amostra de enrofloxacin; a Prof^ª Dr^ª Renata Moreira e seus orientandos Tatianny e Kleryton e ao Prof. Dr. Luciano Moura pelas análises do material.

Aos membros titulares e suplentes da banca examinadora por aceitarem o convite.

À Universidade Federal de Viçosa e ao PPAG, por toda a estrutura concedida e pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

A todos os funcionários do Departamento de Química.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“O mundo era para mim um segredo que desejava desvendar”.
(Mary Shelley)

*“Não importa o que você olhe, se você olhar bem de perto, você estará envolvido em
todo o universo”.*
(Michael Faraday)

RESUMO

OLIVEIRA, Aline Martins de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Sensor eletroquímico baseado em carbon black para determinação de enrofloxacina em amostras ambientais e alimentícias.** Orientador: Tiago Almeida Silva. Coorientador: Garbas Anacleto dos Santos Junior.

A descoberta de substâncias de ação antibiótica trouxe um grande avanço para a humanidade e permitiu que a expectativa de vida fosse estendida tanto para humanos quanto para animais. O uso excessivo de medicamentos antimicrobianos, no entanto, acarretou o surgimento de novos problemas, como efeitos adversos, poluição de ecossistemas e resistência microbiana. A presença de resíduos de antibióticos em alimentos e em corpos d'água é uma preocupação a nível global e a busca por métodos que permitam a detecção e determinação desses contaminantes emergentes é essencial. Diante da necessidade de métodos simples, baratos e de fácil manipulação, os métodos eletroquímicos para sensoriamento por voltametria surgem como candidatos ideais. Neste trabalho foi desenvolvido um sensor eletroquímico modificado com *carbon black* para a detecção de enrofloxacina, um antibiótico de uso veterinário da classe das fluoroquinolonas, através da técnica de Voltametria de varredura linear (LSV). O material empregado foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia Raman, infravermelho com transformada de Fourier e fisissorção de nitrogênio. Características do comportamento eletroquímico do eletrodo modificado e da enrofloxacina foram obtidas por voltametria cíclica. A construção da curva analítica por LSV abrangeu uma faixa linear no seguimento entre 2,5 a 57,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e uma faixa linear entre 57,0 a 920,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 2,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método proposto foi testado em amostras de água de rio, leite e mel, das quais foram obtidos níveis de recuperação de 94-105% de enrofloxacina em amostras fortificadas. Com exceção da ciprofloxacina, nenhum composto concomitante interferiu significativamente entre os que foram testados. Os desvios verificados nas replicatas de medidas realizadas no mesmo dia e replicatas de fabricação em dias diferentes mostraram repetibilidade dentro dos limites aceitáveis para o método. Diante do exposto, o método proposto apresentou-se como uma opção inicial simples e efetiva para a determinação de enrofloxacina em amostras ambientais e alimentícias.

Palavras-chave: Alimentos; Águas naturais; Determinação eletroquímica; Eletrodo de carbono vítreo; Contaminantes emergentes

ABSTRACT

OLIVEIRA, Aline Martins de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Electrochemical sensor based on carbon black for enrofloxacin determination in environmental and food samples.** Adviser: Tiago Almeida Silva. Co-adviser: Garbas Anacleto dos Santos Junior.

The discovery of antibiotic-acting substances brought a great advance to humankind and allowed life expectancy to be extended for both humans and animals. The excessive use of antimicrobial drugs, however, has led to the emergence of new problems, such as adverse effects, ecosystem pollution and microbial resistance. The presence of antibiotic residues in food and water courses is a global concern and the search for methods that allow the detection and determination of these emerging contaminants is essential. In face with the need for simple, cheap and easy-to-handle methods, electrochemical methods for sensing by voltammetry emerge as ideal candidates. In this work, an electrochemical sensor modified with carbon black was developed for the detection of enrofloxacin, an antibiotic for veterinary use belonging to the fluoroquinolone class, using the Linear Sweep Voltammetry (LSV) technique. The material used was characterized by scanning electron microscopy, Raman spectroscopy, Fourier transform infrared and nitrogen physisorption. Electrochemical behavior of the modified electrode and enrofloxacin were obtained by cyclic voltammetry. The analytical curve construction by LSV covered a linear range between 2.5 to 57.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and a linear range between 57.0 to 920.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with a detection limit of 2.05 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The proposed method was tested on samples of river water, milk and honey, from which recovery levels of 94-105% of enrofloxacin were obtained in fortified samples. Except for ciprofloxacin, no concomitant compounds significantly interfered among those tested. The deviations verified in the replicates performed on the same day and on different days showed repeatability within the acceptable limits for the method. Given the above, the proposed method presented itself as a simple and effective initial option for determining enrofloxacin in environmental and food samples.

Keywords: Food; Natural waters; Electrochemical determination; Glassy carbon electrode; Emerging contaminants

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Elementos fundamentais de um sensor químico.	19
Figura 2 – Estação de trabalho típica para métodos de voltametria.	24
Figura 3 – Técnicas de voltametria em solução estacionária.	26
Figura 4 – (a) Sinal de excitação na varredura em rampa linear. (b) Voltamograma linear de uma reação hipotética.	27
Figura 5 – (a) Sinal de excitação na varredura cíclica. (b) Voltamograma cíclico da reação reversível hipotética.	29
Figura 6 – (a) Sinal de excitação na varredura por DPV. (b) Sinal de excitação na varredura por SWV.	31
Figura 7 – (a) Domínios gráfiticos do CB. (b) Unidade básica estrutural do CB.	35
Figura 8 – Representação esquemática da morfologia do CB em escala nanométrica.	35
Figura 9 – Alguns procedimentos para a fabricação de eletrodos modificados com CB.	39
Figura 10 – SAR das quinolonas. As cores dos grupos são correlacionadas às atividades.	40
Figura 11 – Estrutura química da ENR.	42
Figura 12 – Mecanismo de ação da ENR. A resposta de reparo do DNA ou a morte celular são ativadas conforme a concentração.	44
Figura 13 – Clusters formados pela coocorrência das palavras-chave nos artigos exportados da base de dados.	48
Figura 14 – Distribuição por cores baseada na incidência das palavras-chave em período anual.	48
Figura 15 – Esquema do método de preparo da dispersão que foi usada como modificadora do eletrodo.	54
Figura 16 – Esquema do método de modificação do eletrodo base GCE.	55
Figura 17 – Imagens de MEV obtidas para o filme de CB.	58
Figura 18 – Espectro Raman obtido para o CB.	59
Figura 19 – Espectro FT-IR obtido para o CB.	60
Figura 20 – Isotermas de adsorção–dessorção de N ₂ a STP.	62
Figura 21 – Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos GCE sem modificação (—) e CB/GCE (—) em KCl 0,1 mol L ⁻¹ contendo K ₃ Fe(CN) ₆ 9,90 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	63
Figura 22 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (10 mV s ⁻¹ – 200 mV s ⁻¹) usando (a) GCE sem modificação (—) e (b) CB/GCE (—) em KCl 0,1 mol	

L ⁻¹ contendo K ₃ Fe(CN) ₆ 9,90 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ . Gráficos de I _{pa} e I _{pc} vs. v ^{1/2} obtidos para (c) GCE sem modificação e (d) CB/GCE.....	65
Figura 23 – Gráfico de Ψ vs. 32,79 v ^{-1/2} para o sistema redox de K ₃ Fe(CN) ₆ 9,90 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ nos eletrodos GCE e CB/GCE.	67
Figura 24 – Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos (a) GCE sem modificação (—), (b) CB/GCE (—) e (c) comparação entre ambos, em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) contendo 4,76 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de ENR. v = 50 mV s ⁻¹	68
Figura 25 – Diagrama de distribuição de espécies (DDE) para a ENR em relação ao pH do meio.	69
Figura 26 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo CB/GCE em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ com valores de pH distintos contendo 4,76 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de ENR. (a) pH = 2,0; (b) pH = 4,0; (c) pH = 6,0; (d) pH = 7,0; (e) pH = 8,0; (f) pH = 10,0 e (g) comparação entre os voltamogramas obtidos na presença de ENR. v = 50 mV s ⁻¹	70
Figura 27 – Gráficos de (a) I _{pa} vs. pH e (b) E _{pa} vs. pH obtidos dos voltamogramas cíclicos registrados com CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ como pH variável contendo 4,76 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de ENR. v = 50 mV s ⁻¹	71
Figura 28 – Possível mecanismo da oxidação da ENR.	72
Figura 29 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos com o CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) contendo 4,76 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de ENR em diferentes velocidades de varredura (10 mV s ⁻¹ – 200 mV s ⁻¹). Gráficos de (b) I _{pa} vs. v ^{1/2} , (c) I _{pa} vs. v e (d) log I _{pa} vs. log v.	73
Figura 30 – Gráfico de I _p vs (E _p – E ^o) para a oxidação de 4,76 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de ENR no eletrodo CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 7,0).....	75
Figura 31 – Comparação dos voltamogramas obtidos com o eletrodo CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 7) contendo ENR 4,39 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ pelas técnicas (—) LSV (v = 100 mV s ⁻¹), (—) DPV (v = 25 mV s ⁻¹ ; amplitude de modulação = 100 mV; tempo de modulação = 0,02 s) e (—) SWV (frequência = 10 Hz; amplitude de modulação = 90 mV; incremento de potencial = 5 mV).	76
Figura 32 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) contendo diferentes concentrações de ENR: (1) 0,0 (branco), (2) 2,5 μmol L ⁻¹ , (3) 9,9 μmol L ⁻¹ , (4) 19,6 μmol L ⁻¹ , (5) 38,5 μmol L ⁻¹ , (6) 56,6 μmol L ⁻¹ , (7) 90,9 μmol L ⁻¹ , (8) 180,2 μmol L ⁻¹ , (9) 267,9 μmol L ⁻¹ , (10) 438,6 μmol L ⁻¹ , (11) 603,4 μmol L ⁻¹ , (12) 762,7 μmol L ⁻¹ e (13) 916,7 μmol L ⁻¹ . v = 100 mV s ⁻¹ . Inserção: curva analítica correspondente.	78

Figura 33 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o CB/GCE em amostra de leite diluída em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$), em 1:9 (v/v), contendo diferentes concentrações de ENR: (1) $0,0$ (branco), (2) $19,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (3) $38,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (4) $56,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (5) $90,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (6) $180,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (7) $438,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (8) $603,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (9) $762,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e (10) $916,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Inserção: curva analítica correspondente..... 82

Figura 34 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o eletrodo CB/GCE em amostra de mel completada com solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$), em 1:20 (m/v), contendo diferentes concentrações de ENR: (1) $0,0$ (branco), (2) $2,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (3) $9,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (4) $19,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (5) $38,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (6) $56,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (7) $90,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (8) $180,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (9) $267,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (10) $438,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (11) $603,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (12) $762,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e (13) $916,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Inserção: curva analítica correspondente..... 83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características de algumas técnicas eletroquímicas.	21
Tabela 2 – Tipos de <i>carbon black</i>	34
Tabela 3 – Algumas quinolonas de cada geração e seus espectros de atividade.....	41
Tabela 4 – Algumas nomenclaturas e propriedades físico-químicas da ENR.....	42
Tabela 5 – Limites residuais máximos (<i>Maximum Residual Limit</i> - MRL) segundo a União Europeia e valores de tolerância admitidos pela <i>Food and Drug Administration</i> (EUA) para a ENR.	46
Tabela 6 – Teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre obtidos por análise elementar do CB.....	58
Tabela 7 – Parâmetros eletroquímicos dos eletrodos GCE sem modificação e CB/GCE obtidos por CV para $K_3Fe(CN)_6$ $9,90 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹	64
Tabela 8 – Métodos voltamétricos de determinação da ENR reportados na literatura.	81
Tabela 9 – Resultados obtidos por LSV com o eletrodo CB/GCE para a determinação de ENR em diferentes amostras fortificadas.	85
Tabela 10 – Erros percentuais obtidos para ENR $4,76 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) na presença de substâncias concomitantes tipicamente encontradas em amostras de águas naturais, leite e mel.....	87
Tabela 11 – Resultados obtidos nos ensaios de repetibilidade intra-dia e inter-dias para o sensor CB/GCE.	88

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BET	Brunauer-Emmett-Teller
BJH	Barrett-Joyner-Halenda
CB	<i>Carbon black</i>
CE	Contra-eletrodo (<i>Counter electrode</i>)
CIP	Ciprofloxacina
CTS	Quitosana (<i>Chitosan</i>)
CV	Voltametria cíclica (<i>Cyclic voltammetry</i>)
DPV	Voltametria de pulso diferencial (<i>Differential pulse voltammetry</i>)
ENR	Enrofloxacin
FT-IR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
GCE	Eletrodo de carbono vítreo (<i>Glassy carbon electrode</i>)
k^0	Constante de transferência heterogênea de elétrons
LOD	Limite de detecção (<i>Limit of detection</i>)
LOQ	Limite de quantificação (<i>Limit of quantification</i>)
LSV	Voltametria de varredura linear (<i>Linear sweep voltammetry</i>)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
WE	Eletrodo de trabalho (<i>Working electrode</i>)
RE	Eletrodo de referência (<i>Reference electrode</i>)
SPE	Eletrodo impresso (<i>Screen-printed electrode</i>)
STP	Condições normais de temperatura e pressão (<i>Standard Temperature and Pressure</i>)
SWV	Voltametria de onda quadrada (<i>Square-wave voltammetry</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Sensores eletroquímicos	18
3.1.1 Técnicas voltamétricas.....	23
3.1.2 Voltametria de varredura linear	26
3.1.3 Voltametria cíclica.....	28
3.1.4 Voltametrias de pulso: DPV e SWV	30
3.1.5 Eletrodos de trabalho modificados	31
3.2 <i>Carbon black</i>	33
3.2.1 Eletrodos modificados com CB	36
3.2.2 CB em sensores eletroquímicos.....	37
3.3 Fluoroquinolonas	39
3.3.1 Enrofloxacina.....	41
3.3.2 Determinação eletroquímica da ENR	47
4. METODOLOGIA.....	53
4.1 Reagentes e amostras	53
4.2 Preparo da dispersão de CB em quitosana reticulada	53
4.3 Modificação do eletrodo de trabalho	54
4.4 Preparação das amostras	55
4.5 Ensaios eletroquímicos	56
4.6 Caracterizações	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58

5.1 Caracterização do material.....	58
5.1.1 Análise morfológica por MEV	58
5.1.2 Análise elementar por CHNS	58
5.1.3 Análise estrutural por RAMAN e FT-IR	59
5.1.4 Análise de área superficial por fisissorção de nitrogênio	61
5.2 Caracterização eletroquímica do sensor	62
5.3 Resposta eletroquímica da enrofloxacina	67
5.3.1 Influência do pH na oxidação da enrofloxacina	69
5.3.2 Estudos de velocidade de varredura para a oxidação da ENR.....	72
5.4 Seleção da técnica voltamétrica.....	75
5.5 Determinação de ENR por LSV	78
5.6 Determinação de ENR em amostras de água de rio, leite e mel.....	81
5.7 Estudos de interferentes	86
5.8 Estudos de repetibilidade	87
6 CONCLUSÕES.....	89
7 REFERÊNCIAS	91
APÊNDICE A – Fluxo de trabalho sistematizado.....	106
APÊNDICE B – Voltamogramas DPV	107
APÊNDICE C – Voltamogramas SWV	108
APÊNDICE D – Correlações com o termo “sensores eletroquímicos”	109

1 INTRODUÇÃO

O uso inadequado e em excesso de antibióticos, como os da classe das fluoroquinolonas, é causa direta de um problema de saúde pública mundial: a habilidade das bactérias de desenvolverem resistência. Em 2016, a Organização Mundial da Saúde criou um plano de ação global sobre a resistência antimicrobiana que destaca cinco objetivos relativos à educação, fortalecimento de pesquisas, medidas preventivas para redução de infecções, otimização de medicamentos microbianos e aumento do investimento em novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções (World Health Organization, 2015).

A enrofloxacin (ENR) é uma fluoroquinolona de uso veterinário amplamente utilizada para o tratamento de infecções causadas por agentes bacterianos (Mitchell, 2006; Wu *et al.*, 2024). Apesar de sua evidente eficiência bactericida, o uso indiscriminado dessa substância pode produzir em animais e também em humanos efeitos toxicológicos. A contaminação de ecossistemas aquáticos e terrestres por ENR, via esgoto doméstico e água residual da agricultura, também pode ocorrer, causando prejuízos à vida existente nesses locais pela exposição prolongada a esse antibiótico (Bhatt; Chatterjee, 2022). Em uma pesquisa desenvolvida para a análise de contaminantes emergentes em diferentes córregos da bacia hidrográfica do Rio Doce em Minas Gerais, Brasil, Gomes *et al.* (2022) mostrou que as fluoroquinolonas e as sulfonamidas foram as classes mais representativas em concentração nas amostras coletadas. Tanto a ENR quanto a ciprofloxacina foram detectadas em níveis acima dos previstos para causarem resistência. Soma-se ao problema da resistência antimicrobiana o fato de que a presença de ENR em produtos de origem animal é associada ao aparecimento de diversos sintomas alérgicos, mudança da microbiota intestinal e anemia em indivíduos mais sensíveis (Badawy *et al.*, 2021). Com isso, os limites máximos aceitáveis de ENR e de seu metabólito, a ciprofloxacina, em produtos diretos e derivados de animais são rigorosamente controlados por órgãos de regulamentação e saúde.

Uma das formas de determinação da ENR, assim como de outras fluoroquinolonas, pode ser através do emprego de técnicas de voltametria. Os sensores voltamétricos podem apresentar vantagens como simplicidade operacional, baixo custo, potencialidade para automação e miniaturização, além de também oferecer a capacidade de exploração da melhoria de sensibilidade através da modificação da superfície eletródica (Fernandes *et al.*, 2022). Para a finalidade de modificação dos eletrodos de trabalho, materiais condutivos como nanopartículas metálicas e materiais baseados em carbono são frequentemente aplicados

como agentes de melhoramento do sinal analítico em inúmeros trabalhos (Bukkitgar; Shetti, 2017; Lu *et al.*, 2021; Meireles *et al.*, 2024; Silva, T. A. *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2013).

O *carbon black* (CB) é um nanomaterial carbonáceo de baixo custo aplicado com frequência como modificador de eletrodos para a determinação de substâncias através de métodos voltamétricos. A incorporação de CB em sensores eletroquímicos já demonstrou ser capaz de melhorar aspectos relativos à cinética da transferência de elétrons e aumento da sensibilidade analítica (Arteshi *et al.*, 2023; Silva, T. A. *et al.*, 2023; Wong *et al.*, 2020). Com o objetivo de melhorar na estabilidade das dispersões e função de agente facilitador na formação de filmes em eletrodos modificados, a quitosana, um biopolímero derivado da carapaça de crustáceos, pode ser apresentado como uma opção sustentável na elaboração de sensores eletroquímicos baseados em CB (Silva, T. A. *et al.*, 2023).

Em vista da necessidade de elaboração de métodos simples, econômicos e rápidos de detecção de substâncias nocivas à saúde humana e ao meio ambiente, o presente trabalho buscou a elaboração de um sensor eletroquímico baseado em CB estabilizado com quitosana reticulada para a detecção de ENR em baixas concentrações em amostras ambientais de águas naturais e amostras alimentícias. O desenvolvimento de um sensor eletroquímico efetivo específico para a ENR é uma necessidade importante por ser uma ferramenta capaz de oferecer detecção rápida e acurada em produtos de origem animal, com capacidade de emprego no monitoramento de qualidade no setor pecuário e no controle do uso abusivo de antibióticos, uma prática que pode afetar a eficácia dessa classe de medicamentos em animais e também em humanos (Yu; Yang; Yang, 2024).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um eletrodo modificado com CB para a detecção e quantificação de ENR em amostras ambientais e alimentícias.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a morfologia, composição e estrutura química do CB utilizado;
- Preparar uma dispersão estável de CB com uso de quitosana reticulada;
- Modificar um eletrodo de trabalho de carbono vítreo (*Glassy carbon electrode* – GCE) com a dispersão de CB e caracterizá-lo com emprego de sonda redox de ferricianeto de potássio;
- Estudar o comportamento eletroquímico do analito alvo (ENR) sobre o GCE modificado e não-modificado e avaliar a viabilidade eletroanalítica do sensor proposto;
- Otimizar a resposta analítica da ENR pela comparação de técnicas voltamétricas e variação do pH da solução de eletrólito suporte;
- Obter a curva analítica voltamétrica para o analito, com o registro dos parâmetros de desempenho, incluindo: faixa linear de resposta, sensibilidade analítica e limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ);
- Avaliar a exatidão do sensor por ensaios de recuperação de ENR em amostras de águas naturais e amostras alimentícias;
- Conduzir ensaios de repetibilidade e seletividade frente a possíveis interferentes do sensor proposto a fim de avaliar sua estabilidade.

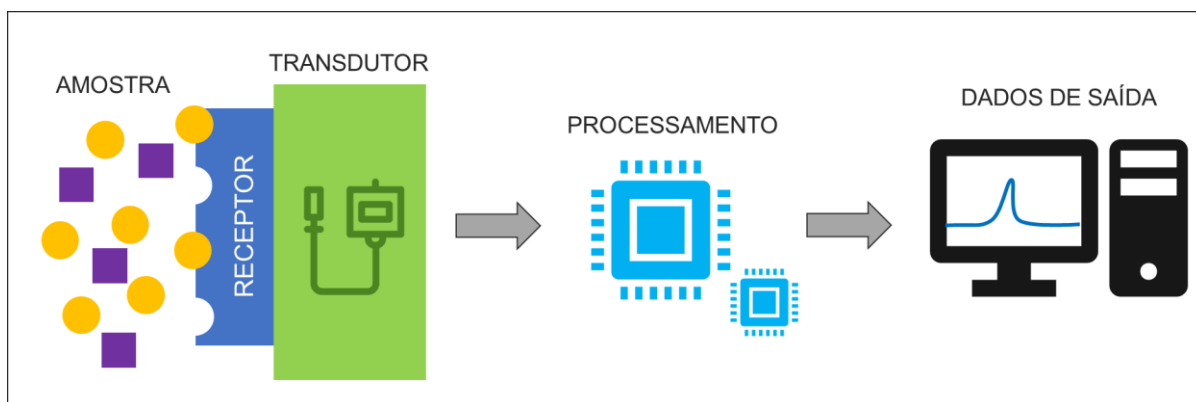
3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Sensores eletroquímicos

Um sensor pode ser definido como um sistema no qual o objetivo fundamental é medir uma mudança de propriedade ou alterações em um analito. Para que isso ocorra, é necessário que exista um elemento de reconhecimento capaz de interagir química ou fisicamente com o objeto a ser determinado – o analito de interesse. De forma generalizada, um sensor reage a uma mudança causada em um analito por um estímulo primário, que pode ser elétrico, mecânico, termal, magnético, químico ou radiante, tornando detectável, e muitas vezes quantificável, o analito relacionado diretamente àquela mudança de propriedade. Um sistema sensor é composto, basicamente, por três elementos fundamentais: um elemento de reconhecimento (receptor), um transdutor e uma unidade de processamento e saída mensurável do sinal. Para transformar as medidas primárias, o elemento transdutor faz uso de microprocessadores e conversores de sinal analógico/digital. Nesse sentido, a mudança percebida pelo receptor é convertida pelo transdutor em um parâmetro relativo para, assim, tornar possível a assimilação do instrumento e gerar dados de saída analisáveis (Paladiya; Kiani, 2018).

Nos sensores químicos, o elemento de reconhecimento é um receptor capaz de interagir com o analito através de reações químicas, que são traduzidas por um transdutor físico-químico. Os receptores possuem uma superfície ativada para reagir diretamente com a molécula de interesse ou complexar macromoléculas capazes de criar as interações específicas necessárias. Caso o elemento de reconhecimento do receptor seja uma enzima, anticorpo, proteína, organela, célula ou qualquer constituinte de origem biológica, o dispositivo pode ser reconhecido como um biossensor. Logo, a função de um sensor químico efetivo é fornecer informações acuradas sobre um analito de interesse imerso em uma amostra, que pode ser de maior ou menor complexidade, e transmitir em tempo real suas análises (Baranwal *et al.*, 2022). A Figura 1 exibe uma representação dos elementos fundamentais de um sensor químico, considerando a entrada do sinal (*input*) pela superfície de contato entre analito-receptor e a saída de sinal (*output*) na interface fornecida pelo *software* específico do sistema operacional do computador.

Figura 1 – Elementos fundamentais de um sensor químico.



Fonte: própria autora.

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC*) define que um sensor eletroquímico é “um sistema de medida no qual a resposta a uma reação eletroquímica é convertida, via um transdutor adequado, em um sinal elétrico mensurável” (Pingarrón et al., 2020, tradução nossa). Em um sensor eletroquímico, a interação entre o analito-alvo presente na amostra e a camada de reconhecimento do receptor deve produzir um sinal elétrico, que é a informação analítica (Baranwal *et al.*, 2022). Para isso, é necessário que o analito ou uma substância ligada direta ou indiretamente à presença do analito seja uma espécie que possa ser oxidada ou reduzida em um eletrodo – portanto, eletroativa – e que o potencial deste eletrodo possa ser ajustado para que apenas a espécie de interesse responda eletricamente (Fatibello-Filho *et al.*, 2022; Harris; Barcia; Afonso, 2012).

Os sensores eletroquímicos podem ser classificados em diferentes categorias, conforme o método de determinação. Entre essas categorias, alguns dos mais empregados são os sensores potenciométricos, impedimétricos (condutométricos), amperométricos e voltamétricos, em que a passagem de corrente, diferença de potencial e equilíbrio de cargas entre as espécies que interagem são indicadores diretos ou indiretos da concentração do analito. Sucede uma breve descrição sobre as categorias citadas.

A potenciometria baseia-se na medida da tensão entre dois eletrodos – um indicador, onde ocorre a reação de interesse, e um de referência, inerte e inalterável – imersos em solução de uma célula galvânica. Nos sensores potenciométricos, quando a corrente que flui pelo sistema tende a zero, a concentração do analito pode ser determinada pelo equilíbrio *nernstiano* estabelecido na superfície do eletrodo indicador. Portanto, a seletividade da superfície é fundamental para que o potencial do eletrodo indicador corresponda apenas à

concentração da espécie de interesse na solução. Entre os sensores potenciométricos mais empregados destaca-se a sonda para medida de pH, que combina em um único dispositivo o eletrodo indicador e o eletrodo de referência (externo). Nesse sensor, a superfície seletiva é formada por uma membrana de vidro hidratada, permeável somente ao íon de interesse, no caso, H_3O^+ (Fatibello-Filho *et al.*, 2022).

Sensores impedimétricos ou condutométricos são aqueles que detectam e quantificam eventos de reconhecimento do analito através da medida de mudanças na impedância superficial (Baranwal *et al.*, 2022). Com esses sensores é possível estimar a concentração de certos íons pela medida da resistência da solução que os contém, realizando previamente uma calibração do equipamento com uma estimativa da constante da célula. Somente pela análise do comportamento condutivo já conhecido de um analito e por comparação à valores de condutância de uma solução-padrão é possível obter conclusões sobre o processo em estudo (Fatibello-Filho *et al.*, 2022). Com a técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica é possível determinar a magnitude da resistência à transferência de carga, processos de corrosão e formação da dupla camada na superfície do eletrodo (Abedeem *et al.*, 2024), análises relevantes para a caracterização eletroquímica de um eletrodo.

Os sensores amperométricos aplicam uma diferença de potencial determinada e fixa entre um eletrodo de referência e um eletrodo de trabalho para iniciar uma reação de oxidação ou redução na superfície do eletrodo de trabalho. A corrente resultante gerada no processo pode ser usada, assim, como um indicador quantitativo da concentração do analito (Baranwal *et al.*, 2022). Cabe ressaltar a distinção entre sensores amperométricos e cronoamperométricos. Nos sensores amperométricos, aplica-se um potencial constante durante toda a medida, que ocorre sob condições hidrodinâmicas. Nos sensores cronoamperométricos as medidas são realizadas com a solução em repouso e o potencial fixado inicialmente pode ser alterado após o decorrer de certo tempo do experimento, conforme o método utilizado. Em ambas as técnicas, no entanto, a corrente é monitorada em função do tempo (Fatibello-Filho *et al.*, 2022). Uma das grandes vantagens do emprego dos métodos amperométricos é a de que, devido ao potencial ser fixado, a ocorrência de interferências de outras espécies é minimizada, consequentemente levando à melhora dos limites de detecção. No entanto, para matrizes muito complexas em que possa existir outras espécies eletroativas no potencial de estudo, o método não é indicado (Abedeem *et al.*, 2024).

De forma breve, os sensores baseados em técnicas de voltametria, assim como os sensores amperométricos, são aqueles nos quais a corrente é medida em função da diferença de potencial. A distinção entre ambos se dá pela dinâmica do incremento de potencial, que

nos sensores amperométricos é fixado e nos sensores voltamétricos é variável. As técnicas modernas de voltametria e amperometria estão entre as mais amplamente empregadas para o desenvolvimento de sensores devido às vantagens como menor tempo de execução, menores custos de análise e possibilidade de especificação química (Fatibello-Filho *et al.*, 2022). Posteriormente, os sensores voltamétricos serão explicados de forma mais extensa no texto.

A Tabela 1 reúne algumas das técnicas mais aplicadas em métodos eletroquímicos de determinação e cita algumas características consideradas para a adequação de uso de cada uma.

Tabela 1 – Características de algumas técnicas eletroquímicas.

Técnica	Características	Parâmetros-chave
CV ^a	<ul style="list-style-type: none"> - Comportamento electrocatalítico do electrocatalisador sobre o analito; - Comportamento cinético da interface electrodo-eletrólito; - Termodinâmica da reação redox; - Tempo de mensuração: alguns minutos. 	Parâmetros de entrada: faixa de potencial, velocidade de varredura. Parâmetro de saída: corrente
Técnicas de pulso	<ul style="list-style-type: none"> - Baixo sinal de corrente de fundo; - Baixo limite de detecção; - Maior resolução de picos (forma e tamanho). 	Parâmetros de entrada: faixa de potencial, velocidade de varredura. Parâmetro de saída: corrente.
DPV ^b	<ul style="list-style-type: none"> - Tempo de mensuração: alguns minutos; 	
SWV ^c	<ul style="list-style-type: none"> - Tempo de mensuração: alguns segundos; - Sensibilidade e seletividade maiores. 	
CA ^d	<ul style="list-style-type: none"> - Mostra mudanças da corrente em um potencial fixo; - Resposta da corrente no formato de escada; - Sem interferência de sinal de corrente de fundo; - Baixo limite de detecção; - Inadequada para a mistura de diferentes analitos; - Tempo de mensuração: Alguns minutos. 	Parâmetros de entrada: potencial constante, tempo. Parâmetro de saída: corrente.
EIS ^e	<ul style="list-style-type: none"> - Condutividade elétrica dos modificadores do electrodo; - Tempo de mensuração: alguns minutos. 	Parâmetro de entrada: faixa de frequência. Parâmetro de saída: espectro de impedância.

Fonte: Abedeen et al. (2024), adaptado, tradução nossa. ^aCyclic Voltammetry (voltametria cíclica); ^bDifferential Pulse Voltammetry (voltametria de pulso diferencial); ^cSquare-wave Voltammetry (voltametria de onda quadrada); ^dCronoamperometria; ^eElectrochemical Impedance Spectroscopy (espectroscopia de impedância eletroquímica).

Além das diferentes categorias de sensores baseadas na técnica eletroanalítica, a forma de apresentação do dispositivo também é diversificada, indo de instrumentos de bancada a dispositivos integrados (Rosca; Bounegru; Apetrei, 2023; Silva, L. R. G. *et al.*, 2023) e vestíveis (Shen *et al.*, 2024; Teymourian *et al.*, 2020).

Para que um sensor eletroquímico seja considerado útil nas análises eletroanalíticas, alguns critérios precisam ser considerados, segundo Pingarrón *et al.* (2020):

- (a) Em sensores amperométricos e voltamétricos a espécie a ser determinada deve ser eletroativa na faixa de potencial do sensor;
- (b) Os sensores potenciométricos devem ser constituídos de eletrodo de material inerte, livre de interferências;
- (c) A concentração das espécies eletroativas deve poder ser determinada com exatidão e precisão suficientes;
- (d) As medidas devem ser suficientemente confiáveis e replicáveis;
- (e) O tempo de resposta do sensor deve ser suficientemente rápido;
- (f) O desvio do sinal analítico ou a diminuição da resposta do sensor com o tempo devido à degradação do eletrodo ou a incrustações da superfície devem ser suficientemente baixos;
- (g) A calibração deve ser simples e fácil de ser executada, quando necessária;
- (h) O limite de detecção deve ser suficientemente baixo para o propósito de aplicação.

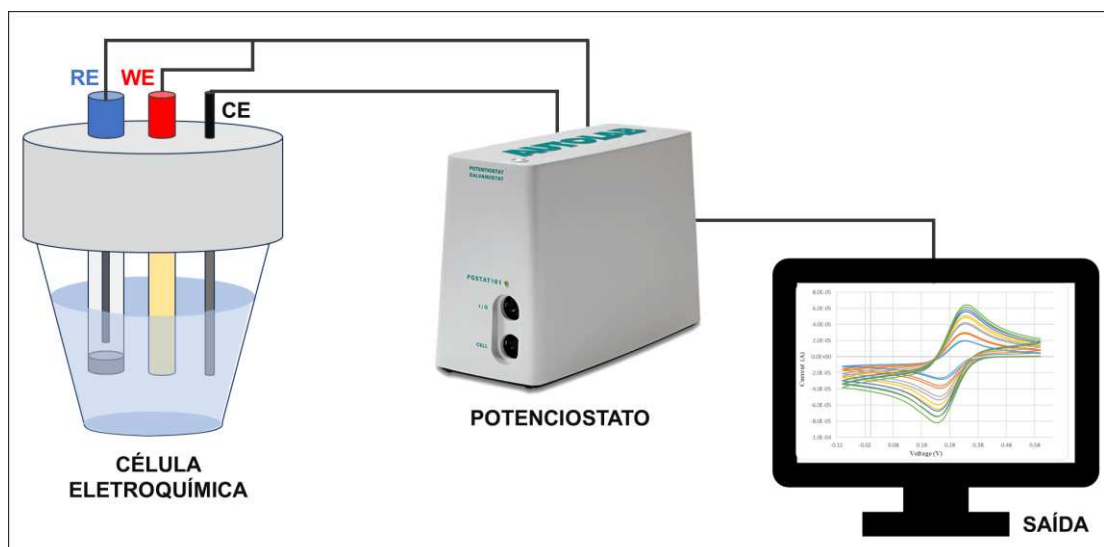
Apesar de a repetibilidade e a reprodutibilidade dos sensores eletroquímicos ainda serem um desafio, a vastidão de aplicações em potencial e as vantagens associadas, tais como como rapidez de leitura, equipamentos de baixo custo – em comparação às outras técnicas de determinação – e baixos limites de detecção e quantificação, tornam esses dispositivos opções analíticas atrativas. Além das vantagens práticas, os dispositivos podem exibir uma variedade de formatos, o que permite a miniaturização e o uso de novos materiais que podem ser testados como eletrodos, dando abertura a um campo amplo de possibilidades de pesquisa. Todos esses fatores, entre vários outros, fazem com que os sensores eletroquímicos sejam amplamente estudados e utilizados na eletroanalítica (Fatibello-Filho *et al.*, 2022; Hu; Zhang, 2020).

3.1.1 Técnicas voltamétricas

A voltametria abrange um conjunto de métodos de análise eletroquímica dinâmicos em que há o controle do potencial para que a corrente produzida por uma reação de oxidação ou redução possa ser medida. Uma célula eletroquímica típica para medidas voltamétricas é composta por três eletrodos imersos em uma solução formada pelo analito de interesse misturado a um eletrólito suporte – não reativo e de alta concentração – que diminua tanto os efeitos da migração das espécies quanto a resistência da solução à passagem de corrente elétrica. (Fatibello-Filho *et al.*, 2022; Skoog, 2012). O eletrólito suporte é formado, geralmente, por um sal adicionado em excesso na solução que contém o analito. Esse sal contém íons que são eletricamente inativos na faixa de potencial de estudo e cuja força iônica é maior do que a da espécie eletroativa. Sua função na célula, além de reduzir os efeitos da migração da espécie que ocorreria pela influência de um campo elétrico, é diminuir a resistência da solução, o que contribui para a condutividade elétrica do sistema (Fatibello-Filho *et al.*, 2022; Pingarrón *et al.*, 2020; Skoog, 2012).

O conjunto de eletrodos de uma célula eletroquímica característica é formado por um eletrodo de trabalho (*working electrode* - WE), um eletrodo de referência (*reference electrode* - RE) e um contra-eletrodo (*counter electrode* – CE, também chamado eletrodo auxiliar) conectados a um potenciostato. A Figura 2 exibe uma estação de trabalho com o arranjo de célula eletroquímica frequentemente usada para aplicação de métodos de voltametria em sensores.

Figura 2 – Estação de trabalho típica para métodos de voltametria.



Fonte: própria autora.

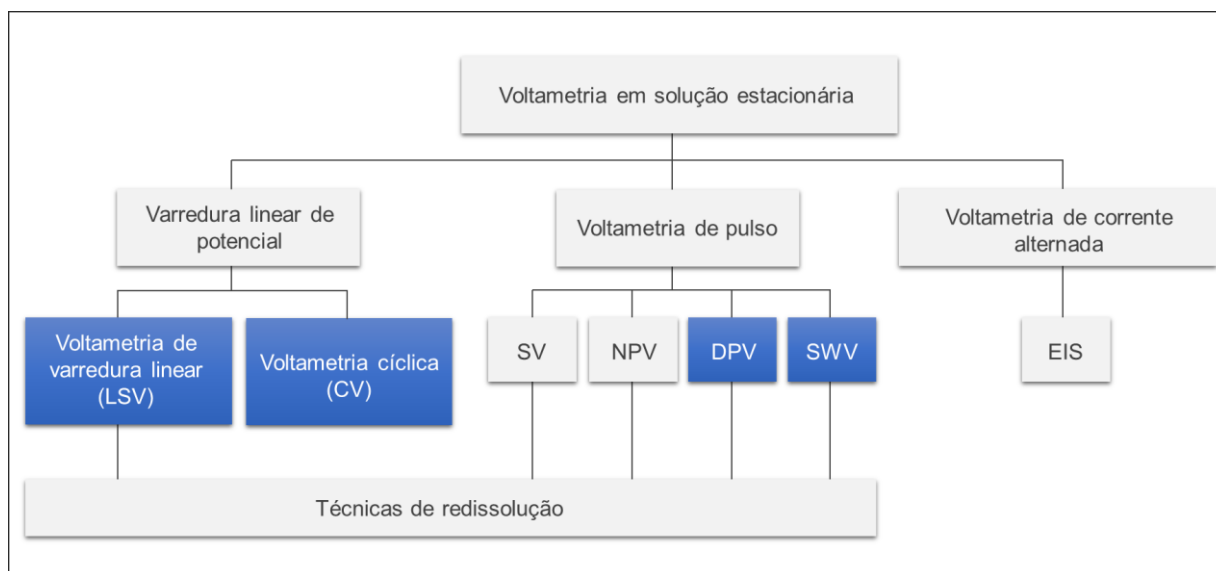
O potenciostato é um instrumento de medida que permite o controle da eletrólise através do ajuste da diferença de potencial entre WE e RE, enquanto mede a corrente que flui entre WE e CE (Pingarrón *et al.*, 2020). Para o controle de potencial em uma análise voltamétrica ideal, é primordial que exista um WE polarizável e um RE não polarizável. Diante disso, com frequência são adotados como RE eletrodos saturados de Ag | AgCl ou Hg | Hg₂Cl₂ (calomelano) – este último já obsoleto – que não variam seu potencial a menos que uma corrente considerável os atravesse. Para que seja garantido que não exista nenhuma corrente fluindo entre WE e RE, um outro eletrodo polarizável, CE, é adicionado à célula para sustentar a passagem de corrente. Assim, o RE não é afetado pelo potencial de queda ôhmica, sobretensão ou pela polarização de concentração, o que faz com que ele mantenha uma diferença de potencial constante. Esses fatores, no entanto, afetam WE e CE e por isso é fundamental que os dois estejam próximos no arranjo da célula. Logo, o potencial entre RE e WE é ajustado conforme as propriedades da espécie eletroativa que deve reagir, para que o sinal de corrente elétrica promovido pelas reações redox em WE e CE seja então registrado (Harris; Barcia; Afonso, 2012).

O transporte de um reagente para a superfície de um eletrodo imerso em uma célula eletroquímica pode ser realizado através de três mecanismos distintos: migração, convecção e difusão. A migração das espécies pode acontecer pela influência de um campo elétrico e pode ser minimizada, conforme citado anteriormente, pela saturação de um eletrólito forte adicionado à solução da célula; o transporte por convecção pode ser iniciado por vibração ou agitação e o deslocamento de matéria por difusão, em um meio estagnado, pode acontecer

devido à diferença de concentração entre a camada de difusão de Nernst e o seio da solução (Skoog, 2012).

Na voltametria, a corrente de interesse analítico é a corrente faradaica, consequente da oxidação ou redução do analito na superfície do eletrodo de trabalho. No entanto, há ainda uma outra corrente gerada, a corrente capacitiva, que surge pelo transporte de elétrons do potenciostato para o WE. Como o WE tende a ficar mais negativo, os cátions da solução se deslocam para o eletrodo de trabalho e os ânions são repelidos, formando uma dupla camada eletricamente carregada que gera um fluxo de corrente capacitiva. Portanto, é necessário que essa corrente, que não é proveniente das reações redox do analito de interesse, seja minimizada ao máximo para assegurar o desempenho do sensor (Fatibello-Filho *et al.*, 2022; Harris; Barcia; Afonso, 2012).

O tipo de pulso que gera um sinal de excitação elétrica sobre o WE é o que define a técnica voltamétrica (Skoog, 2012). Ao longo dos anos, desde os estudos iniciais de amperometria e polarografia com potencial controlado, em fins do século XIX e início do século XX, diversas técnicas voltamétricas foram desenvolvidas e modernizadas. À princípio, as técnicas de voltametria podem ser divididas em duas linhas gerais, de acordo com o estado de mobilidade da solução: hidrodinâmicas e estacionárias. Entre as técnicas em que a solução é submetida a movimento constante (hidrodinâmicas), podemos destacar a voltametria sob agitação da solução, a voltametria com sistemas em fluxo e a voltametria com eletrodo rotativo. As técnicas voltamétricas nas quais a solução é mantida em estado estacionário, no entanto, ainda são as mais aplicadas atualmente (Fatibello-Filho *et al.*, 2022). A Figura 3 exibe as principais técnicas de voltametria em solução estacionária, divididas conforme o tipo de pulso de incremento de potencial, e com destaque para as técnicas mais aplicadas, que serão pormenorizadas adiante.

Figura 3 – Técnicas de voltametria em solução estacionária.

Fonte: Fatibello-Filho et al., (2022), adaptado. SV: *Stripping Voltammetry* (voltametria de redissolução); NPV: *Normal Pulse Voltammetry* (voltametria de pulso normal).

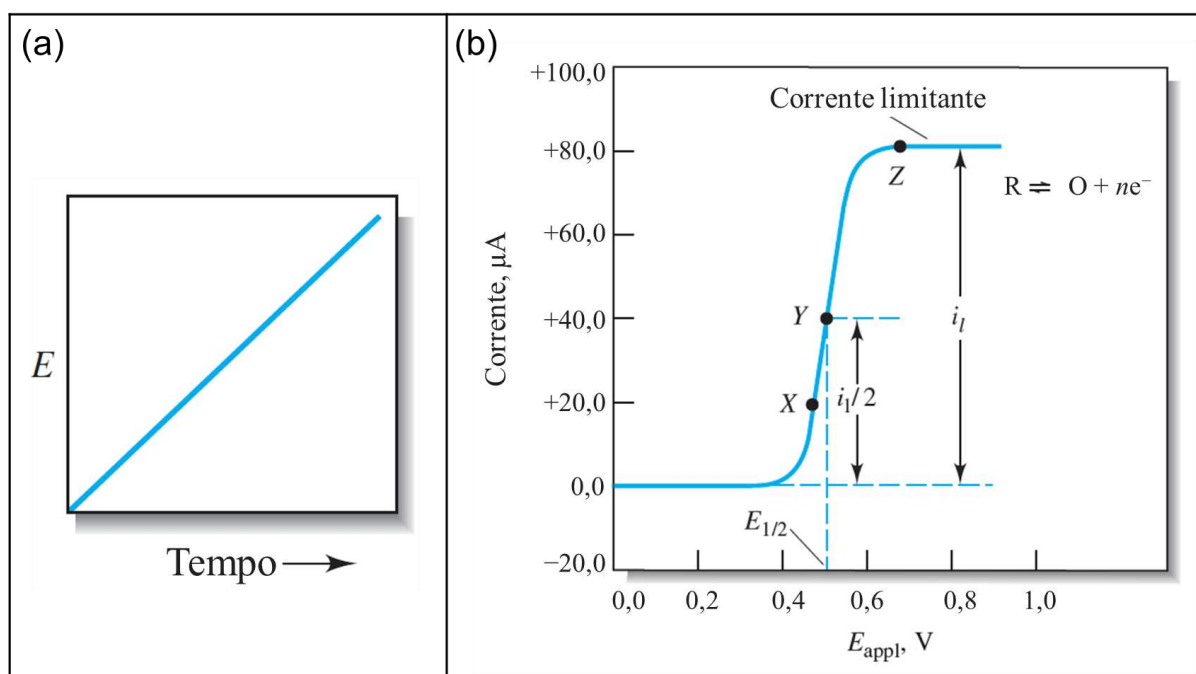
Observa-se que algumas características e parâmetros das técnicas eletroanalíticas de voltametria destacadas na Figura 3 já foram apresentadas anteriormente na Tabela 1. Os dados obtidos nas análises por voltametria em solução estacionária são passíveis de interpretação por gráficos denominados voltamogramas, que fornecem a relação da corrente de difusão (I , em ampéres – A) em função do potencial aplicado (E , em volts – V). A partir das características observadas nos voltamogramas é possível interpretar o comportamento redox da molécula de interesse baseado em dados relativos aos picos aparentes, como distâncias entre picos, altura, intensidade e potenciais de oxidação e redução. Serão estes os indícios fundamentais para a projeção de aplicabilidade de um sensor voltamétrico.

3.1.2 Voltametria de varredura linear

Na técnica de LSV a diferença de potencial entre o WE e o RE varia linearmente sobre uma linha de tempo, com os potenciais de início e de fim da análise delimitados em um sentido de varredura. Essa variação, dE/dt , é um parâmetro de entrada denominado velocidade de varredura de potencial (v) e deve ser estabelecido previamente à leitura. A Figura 4 (a) exhibe o sinal de excitação voltamétrico clássico para varredura linear, no qual o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia como uma linha reta com o tempo. Nos instrumentos digitais mais modernos, no entanto, a rampa linear clássica é substituída pelo incremento de

potencial com pequenos saltos, formando degraus de potencial, e por isso é classificada como *staircase*. A programação do incremento de potencial por *staircase* oferece algumas vantagens em relação à rampa linear, como diminuição acentuada da contribuição da corrente capacitiva e maior magnitude de corrente de pico em relação à técnica clássica (Fatibello-Filho *et al.*, 2022).

Figura 4 – (a) Sinal de excitação na varredura em rampa linear. (b) Voltamograma linear de uma reação hipotética.



Fonte: Skoog (2012), adaptado.

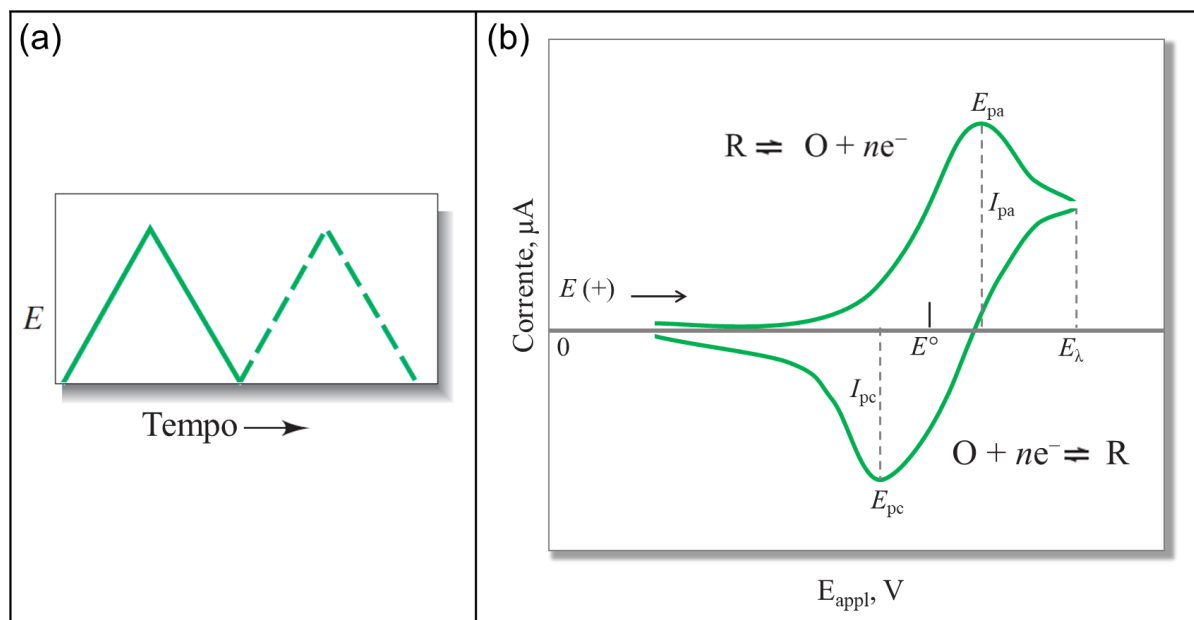
A Figura 4 (b) exibe um voltamograma de varredura linear típico para a oxidação de uma espécie hipotética, R, ao produto O. O fluxo de elétrons a interface entre eletrodo/solução, por convenção da IUPAC, produz uma corrente com sinal positivo para a oxidação no sentido solução \rightarrow eletrodo e sinal negativo para a corrente no sentido eletrodo \rightarrow solução (Fatibello-Filho *et al.*, 2022). A corrente limitante (i_l) é proporcional à concentração do analito que oxida, com potencial de meia-onda ($E_{1/2}$) correspondente à meia altura do pico da corrente limitante, $i_{1/2}$. O $E_{1/2}$ apresenta um valor aproximado, após correção do RE, ao potencial padrão da semi-reação e, portanto, pode ser usado para identificar os componentes eletroativos de uma solução (Skoog, 2012). A corrente limitante, i_l , é simplificada para I , em ampéres, nos voltamogramas experimentais. Quando se considera uma determinada faixa de potencial varrida em sentido positivo (oxidação), como no exemplo da

Figura 4 (b), nota-se, primeiramente, a ausência de corrente faradaica nos potenciais menores. Ao alcançar valores próximos ao potencial padrão de oxidação da espécie, ocorre uma queda na concentração da espécie reduzida (R) e o favorecimento da espécie oxidada (O) no equilíbrio da superfície do eletrodo de trabalho. Logo, uma corrente anódica começa a fluir e a aumentar conforme se aproxima de E° . À medida que o potencial aplicado se distancia de E° e a velocidade do transporte de massa até o eletrodo chega ao máximo, conseqüentemente, a concentração se aproxima de zero na superfície do eletrodo e ocorre a queda da corrente por depleção. O mesmo ocorreria no sentido inverso da reação, caso o sistema fosse reversível, com a leitura da corrente catódica pela varredura de potencial no sentido negativo (Bard; Faulkner, 2001). A cinética do processo de transferência de elétrons que ocorre no eletrodo é o que determina a sua classificação como reversível, irreversível ou *quasi-reversível*. Os processos reversíveis (ou *nernstianos*) são aqueles nos quais a cinética das reações é muito rápida. Os processos totalmente irreversíveis apresentam cinética muito lenta e somente uma das semirreações do processo redox ocorre. Já os sistemas *quasi-reversíveis* são aqueles nos quais a transferência de elétrons nos dois sentidos da reação redox não é extremamente facilitada, porém também não é demasiadamente lenta a ponto de não ser detectada (Bard; Faulkner, 2001).

3.1.3 Voltametria cíclica

Apesar de a voltametria cíclica ser uma técnica similar à LSV em relação à variação linear do potencial em uma janela especificada, na LSV a leitura do sinal analítico é realizada em apenas uma direção de leitura, anódica ou catódica, enquanto na CV há um ponto de retorno que permite a leitura nos dois sentidos da varredura de potenciais. Por essa característica, a CV é utilizada em profusão no diagnóstico dos processos redox e na caracterização dos eletrodos de trabalho. Informações relativas à reversibilidade do processo redox, cinética da transferência de elétrons e predominância de influência no transporte de massa são possíveis de serem calculadas a partir das relações entre os picos de corrente que podem aparecer nos dois sentidos de varredura da CV (Fatibello-Filho *et al.*, 2022). A Figura 5 (a) apresenta o sinal de excitação para uma voltametria cíclica em dois ciclos (ciclo 1-linha contínua e ciclo 2-linha tracejada). A Figura 5 (b) exhibe um voltamograma para a reação hipotética reversível de A ao produto reduzido P, no qual E_λ representa o potencial de troca de sentido da varredura, em direção mais negativa ou mais positiva.

Figura 5 – (a) Sinal de excitação na varredura cíclica. (b) Voltamograma cíclico da reação reversível hipotética.



Fonte: Bard; Faulkner (2001) e Skoog (2012), adaptado.

A Figura 5 (b) exibe também algumas variáveis importantes que são consideradas na análise do comportamento eletroquímico de um analito. No sentido da reação de oxidação, o ponto máximo do pico da corrente positiva, que ocorre no potencial de pico anódico (E_{pa}) é identificado como I_{pa} . No quadrante inferior, onde é representada a reação de redução, I_{pc} refere-se à corrente de pico catódica e E_{pc} ao potencial no qual esse pico é alcançado.

Em uma reação reversível, na qual é observada uma simetria de equivalências entre as correntes de pico ($I_{pa}/I_{pc} = 1$) de um mesmo analito, espera-se que a diferença entre os potenciais de pico, ΔE_p , seja concordante com a razão entre a constante da equação de Nernst à 25 °C (0,0592 V) e a quantidade de elétrons envolvidos na reação (Eq. 1). Valores de ΔE_p que excedem a relação determinada na Eq. 1 serão observados pela irreversibilidade da reação devido à transferência lenta de elétrons. No entanto, ainda que o comportamento do eletrodo obedeça à essa relação em determinada velocidade de varredura, um estudo das variáveis em diferentes v se faz necessário para determinar a cinética do processo devido à tendência de aumento da diferença entre os picos em velocidades maiores (Skoog, 2012)

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = \frac{0,0592}{n} \quad (\text{Eq. 1})$$

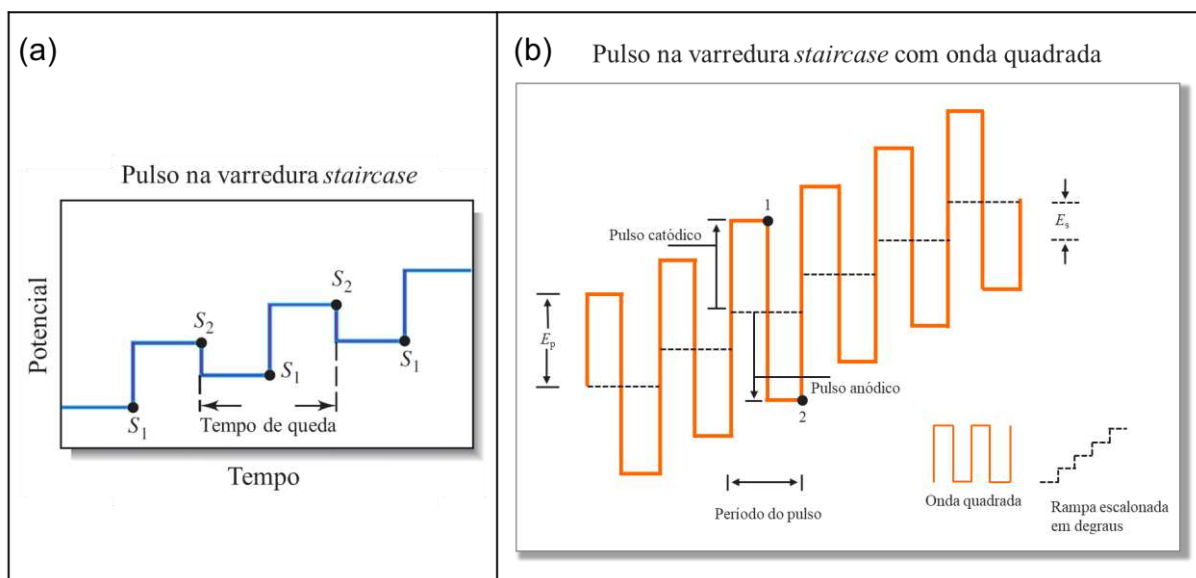
A corrente do pico, em uma reação reversível, é proporcional à concentração da espécie eletroativa e a raiz quadrada da velocidade de varredura, $v^{1/2}$, relação evidente nos termos expressos na equação de Randles-Ševčík (Eq. 2) aplicada nos resultados deste trabalho. Logo, enquanto a reação permanecer reversível, quanto maior for a velocidade de varredura maior será a corrente de pico. Contudo, caso não seja verificada a linearidade entre corrente de pico e $v^{1/2}$, mas seja percebida uma correlação forte entre corrente de pico e v , isso pode significar não ser a difusão de íons ao eletrodo o fator limitante da corrente, mas sim a adsorção da espécie eletroativa na superfície do eletrodo (Harris; Barcia; Afonso, 2012)

3.1.4 Voltametrias de pulso: DPV e SWV

Com o objetivo de suprimir os desvios dos picos por conta da corrente capacitiva durante a análise, foram criadas técnicas de voltametria baseadas na compensação do carregamento da camada capacitiva, que ocorre a cada pulso de incremento de potencial (Bard; Faulkner, 2001). O método de pulso de potencial foi primeiramente explorado nos estudos de polarografia de Barker e Gardner com eletrodo gotejante de mercúrio (*Dropping Mercury Electrode* – DME), nos quais tinha o objetivo de diminuir a contribuição da corrente capacitiva através da sincronização dos pulsos de potencial com o tamanho da gota de mercúrio, como forma de simular o salto de potencial observado nos métodos de cronoamperometria. Então, a partir de cada pulso de potencial diminuem tanto a corrente faradaica quanto a corrente capacitiva, sendo esta última, notadamente, extinguida de forma exponencial e mais rapidamente (Fatibello-Filho *et al.*, 2022). Logo, os métodos de pulso baseiam-se na ideia de medir a corrente em um dado momento em que há uma diferença ampla entre a corrente faradaica e a corrente capacitiva interferente (Skoog, 2012).

A voltametria de pulso diferencial (*Differential Pulse Voltammetry* – DPV) e a voltametria de onda quadrada (*Square-wave Voltammetry* – SWV) são ambas técnicas de voltametria nas quais há uma sobreposição do potencial aplicado ao eletrodo de trabalho por pulsos de potencial. Na DPV, os pulsos de potencial são sobrepostos a uma rampa de incremento de potencial crescente, em instrumentos analógicos, ou sobrepostos a uma *staircase*, nos instrumentos digitais mais modernos. Na SWV, por outro lado, são aplicados sobre a rampa de potencial, simultaneamente, um pulso de potencial direto e um pulso de potencial reverso, na forma de uma onda quadrada com amplitude simétrica (Bard; Faulkner, 2001; Skoog, 2012). A Figura 6 exhibe os sinais de excitação para a DPV (Figura 6 (a)) e para a SWV (Figura 6 (b)).

Figura 6 – (a) Sinal de excitação na varredura por DPV. (b) Sinal de excitação na varredura por SWV.



Fonte: Harris; Barcia; Afonso (2012) e Skoog (2012), adaptado.

O sinal de excitação da varredura por DPV e por SWV nos instrumentos digitais é a soma entre os pulsos e a rampa de incremento de potencial em *staircase*. A Figura 6 (a) mostra os pontos S_1 e S_2 , início e fim do pulso, respectivamente, com 16,7 ms de diferença na DPV. A diferença de corrente por pulso, entre esses dois pontos, é então registrada em função da tensão (Skoog, 2012). Na Figura 6 (b) é possível notar que, na varredura por SWV, há o sinal de excitação no sentido anódico (ponto 1) e no sentido catódico (ponto 2) e como as duas correntes têm sinais opostos, sua diferença é maior do que as correntes em separado (Harris; Barcia; Afonso, 2012).

Apesar de as voltametrias de pulso se mostrarem muitas vezes efetivas e apresentarem excelentes limites de detecção, podem ser ineficazes ou mesmo causarem ainda mais ruídos no sinal analítico, caso o experimento demande resolução e velocidade de varredura com valores que tornem a leitura muito rápida (Bard; Faulkner, 2001).

3.1.5 Eletrodos de trabalho modificados

O eletrodo de trabalho é aquele no qual ocorre a reação de interesse; ele contém a interface que será a via de comunicação com a solução que contém o analito, sendo ativo hora como ânodo ora como cátodo para o sistema redox em estudo. As reações eletroquímicas que

ocorrem na interface eletrodo/eletrólito são de natureza heterogênea e sua cinética é controlada pelas propriedades físico-químicas do material e pela concentração do analito disponível da superfície do WE. Para que essas reações ocorram, é imprescindível que o material do eletrodo seja um bom condutor elétrico ou que seja, ao menos, capaz de transportar cargas elétricas por uma superfície semicondutora ou filme polimérico (Fatibello-Filho *et al.*, 2022)

Existem diversos tipos de eletrodos de trabalho, com variações de forma e material, que podem ser utilizados na aplicação de técnicas voltamétricas. Desde os primeiros DME utilizados nos estudos de polarografia do início do século XX até os eletrodos de trabalho sólidos empregados atualmente, vários materiais condutores foram objeto de pesquisa. Os materiais condutores podem ser metais nobres, como Au e Pt, ou carbonáceos, como grafite, fibras de carbono, nanotubos de carbono, grafite pirolítico, diamante ou carbono vítreo. Um dos modelos de WE mais comuns para aplicação em métodos eletroanalíticos por voltametria são os eletrodos de disco planar, aqueles em que há a incorporação de uma peça de material condutor exposta superficialmente como um disco, que é protegida por material inerte, por exemplo, Teflon e Kel-F (Fatibello-Filho *et al.*, 2022; Skoog, 2012). Um eletrodo com disco planar de carbono vítreo foi o WE empregado nos estudos descritos neste trabalho.

Diante da necessidade de adequação de um eletrodo de trabalho para uma função em particular que exija propriedades diferentes ou melhoradas, podem ser feitas modificações químicas na superfície do material condutor, tornando-o um substrato para a incorporação de outros materiais. Adsorção irreversível, ligações covalentes ou revestimento com filme de polímeros são alguns dos métodos de modificação mais comuns. É indispensável, no entanto, que o substrato seja pré-tratado por polimento ou tratamento eletroquímico antes de cada modificação, a fim de manter a estabilidade do material e a renovação da área superficial (Bard; Faulkner, 2001). Um pré-tratamento mecânico e/ou eletroquímico da superfície do WE entre as análises é necessário para que sejam evitados efeitos e interferências devido à adsorção do analito ou de outros produtos da reação, que podem levar à diminuição da repetibilidade do sinal analítico (Fatibello-Filho *et al.*, 2022)

Os eletrodos modificados são aplicáveis em vários processos, como nas reações de degradação de poluentes orgânicos em processos oxidativos avançados (Zhang; Qiu; Deng, 2024), como eletrocatalisadores nas reações de oxidação do metanol em células a combustível (Zhuang *et al.*, 2022), entre outras. Todavia, entre as diversas aplicações dos eletrodos modificados, o desenvolvimento de sensores capazes de apresentar seletividade para

determinadas espécies ou grupos funcionais destaca-se como uma das mais importantes para fins eletroanalíticos (Skoog, 2012).

3.2 Carbon black

A partir da metade da década de oitenta, com a descoberta do fulereno C_{60} , os nanomateriais alótropos do carbono emergiram como uma fonte de inúmeras possibilidades de estudo e aplicações. As propriedades únicas do átomo de carbono permitem que os materiais carbonáceos sejam formados por átomos de carbono com hibridização sp , sp^2 e/ou sp^3 que favorecem a exploração de diversos arranjos estruturais (Cherian *et al.*, 2022). A possibilidade de gerar novos materiais com estruturas e propriedades químicas e físicas diferentes faz com que o carbono, em seus múltiplos arranjos, combinações e custos de produção, seja explorado na escala nanométrica na forma de nanotubos grafeno reduzido (Cincotto *et al.*, 2017), CB (Wong *et al.*, 2020), carbono grafítico hierarquicamente poroso (Fu *et al.*, 2020), *carbon dots* (Khan *et al.*, 2023), entre outros.

O CB, também conhecido como negro de fumo ou negro de carbono, é um nanomaterial baseado em carbono produzido a partir da pirólise (decomposição térmica em atmosfera inerte) ou pela combustão incompleta de fontes de carbono, como o coque do refino de petróleo (petcoke). Duas das principais vantagens do CB em relação a outros nanomateriais carbonáceos é seu baixo custo – aproximadamente U\$ 3,00/Kg (2024) – e capacidade de produção em escala industrial. Há atualmente diversos tipos de CB, que se distinguem e são classificados com base em seus métodos de produção e precursores. CB de gás, CB de lâmpada, CB de choque, CB de canal, CB de fornalha, CB térmico e CB acetileno são exemplos de tipos de CB definidos pelo processo químico de formação, com produção majoritária dos três últimos tipos de CB. Mudanças nos métodos de produção, sejam de fase líquida ou gasosa, são capazes de alterar as características do produto final, como área superficial e tamanho da partícula, que definirão sua melhor proposta de aplicação (Khodabakhshi; Fulvio; Andreoli, 2020; Vicentini; Silva; Fatibello-Filho, 2024). A Tabela 2 reúne os processos químicos, os diferentes tipos, diâmetro das partículas e precursores usados como matéria-prima na produção de CB.

Na indústria, o CB é aplicado na manufatura de plásticos e borrachas como agente de reforço estrutural e de preenchimento, como corante em toners e tintas e em eletrodos de baterias. Seu uso mais abundante, no entanto, é na indústria de pneus, que impulsionou quase 75% do mercado de CB em 2023 (Fortune Business Insights, 2022), este com a previsão de

demanda anual de mais de 15 milhões de toneladas nos próximos anos, segundo estimativa de Jones; Krexner; Bismarck (2022). Assinalado como um dos 50 químicos mais manufaturados industrialmente, a projeção, segundo a Fortune Business Insights (2022), é de que o faturamento anual do mercado de CB chegue a U\$ 18,09 bilhões até 2029 (Aprianti *et al.*, 2023).

Tabela 2 – Tipos de *carbon black*

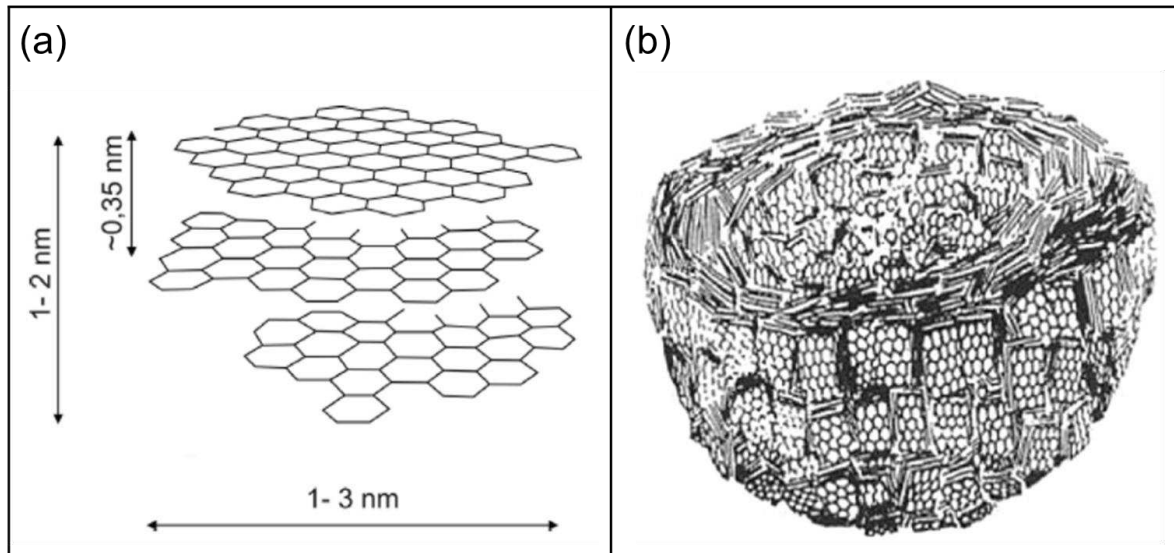
Processo químico	Tipo de CB	D* (nm)	Matéria-prima
Processo incompleto	CB de lâmpada	50-100	Hidrocarbonetos de alcatrão de carvão
	CB de canal	10-30	Gás natural
	CB de fornalha	10-80	Gás natural Hidrocarbonetos aromáticos líquidos
Decomposição térmica	CB térmico	150-500	Gás natural
	CB acetileno	35-70	Acetileno

Fonte: Speight; Vitha, (2015), adaptado, tradução nossa.

*Diâmetro da partícula.

Com 95-99% m/m de carbono em sua composição, o CB é um dos materiais mais escuros conhecidos. Apresenta-se na forma de um pó amorfo intensamente preto e fino, coloidal, insolúvel em água e solventes, com densidade de 1,8-2,1 g/cm³. Apesar de ser visualmente similar à fuligem, o CB difere-se por apresentar uma proporção muito maior de área superficial por volume de material e por conter menor concentração de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares. Estruturalmente, o CB possui um arranjo menos ordenado em comparação à outras formas de carbono – como diamante e grafite, por exemplo – no qual os carbonos, unidos por ligações covalentes, se organizam em planos aleatoriamente sobrepostos, formando partículas esféricas que, agregadas, apresentam-se em escala maior como aglomerados (Speight; Vitha, 2015). Na Figura 7 são representados os aspectos estruturais da partícula de CB.

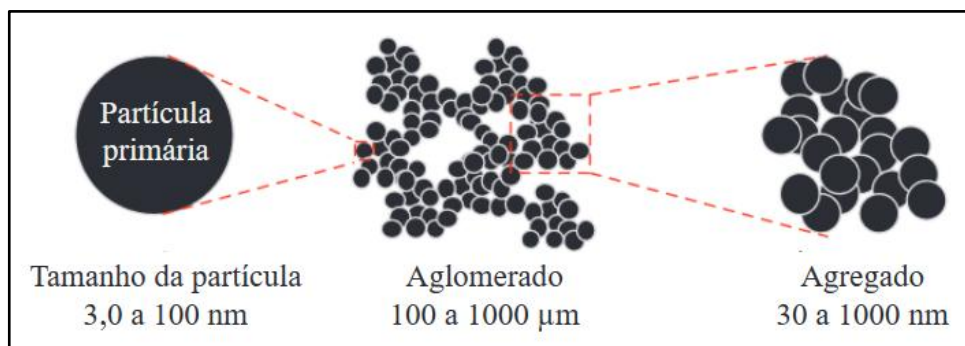
Figura 7 – (a) Domínios gráfiticos do CB. (b) Unidade básica estrutural do CB.



Fonte: Pawlyta; Rouzaud; Duber (2015), adaptado.

A Figura 7 (a) exibe o empilhamento dos planos das camadas poliaromáticas de caráter gráfitico típicos da estrutura do CB. A Figura 7 (b) representa uma unidade básica (partícula) de CB, formada pelo conjunto de vários desses planos. Uma representação gráfica da partícula primária, aglomerados e agregados das partículas de CB pode ser verificada na Figura 8, que também exibe seus respectivos tamanhos. Para visualizar o aspecto estrutural dos arranjos cristalinos do CB, técnicas como Espectroscopia Raman e Difração de Raios-X (*X-ray Diffraction* - XRD) são utilizadas; já os padrões de aglomeração e morfologia das partículas podem ser analisados a partir da aplicação de técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (*Scanning Electron Microscopy* - SEM), Microscopia Eletrônica de Transmissão (*Transmission Electron Microscopy* - TEM) e, mais recentemente, Microscopia de Força Atômica (*Atomic Force Microscopy* - AFM) (Vicentini; Silva; Fatibello-Filho, 2024).

Figura 8 – Representação esquemática da morfologia do CB em escala nanométrica.



Fonte: Silva et al., (2017), adaptado.

Devido às suas características físicas e químicas, o CB tem gerado interesse na área de eletroquímica por, além de apresentar grande área superficial e ter excelente condutividade elétrica, evidenciar-se como quimicamente estável, o que simplifica a formação de dispersões (Yi *et al.*, 2020). Destacam-se as aplicações do CB nas áreas de eletrocatalise (Chang *et al.*, 2019; Zhuang *et al.*, 2022), na elaboração de eletrodos para supercapacitores (Chen; Huang; Chien, 2021) e na modificação de eletrodos para sensores eletroquímicos (Fernandes *et al.*, 2022; Silva, T. A. *et al.*, 2023; Yi *et al.*, 2020). O tipo de CB mais utilizado para aplicações eletroanalíticas, seja como suporte para nanopartículas metálicas ou na construção de compósitos, é o Vulcan XC-72 ou Vulcan XC-72R, fornecido para Cabot Corporation. Esse material, incorporado na modificação de eletrodos, exibiu elevada cinética de transferência de elétrons e aumento da sensibilidade analítica (Silva, T. A. *et al.*, 2023).

Todavia, o principal problema da manufatura de grande parte do CB produzido mundialmente é que, por ser obtido a partir de fontes de combustível fóssil, sua produção em larga escala - principalmente pelo método de fornalha - emite grandes quantidades de monóxido de carbono (CO), gás hidrogênio (H₂) e dióxido de carbono (CO₂), enviados diretamente para a atmosfera. A inviabilidade de separação e consequente direcionamento desses gases ainda é um desafio que requer a criação de novas tecnologias de produção de CB (Speight; Vitha, 2015). Pesquisas recentes têm explorado a produção de CB a partir de fontes mais sustentáveis como pneus descartados (Chen; Huang; Chien, 2021; Jiang *et al.*, 2023), fontes vegetais que produzem menos gases poluentes como o bio-óleo produzido pela pirólise de biomassa de palma (Aprianti *et al.*, 2023) e processos industriais que favoreçam a diminuição de gases poluentes e o aumento da produção de H₂ (Shtertser *et al.*, 2022).

3.2.1 Eletrodos modificados com CB

Além das aplicações diretas em processos de transferência de elétrons, os eletrodos modificados são utilizados com frequência nas caracterizações eletroquímicas de novos compósitos, visando aplicação em potencial para diversas áreas. Nesse sentido, o CB se sobressai como agente único ou de adição combinada, incorporado ao eletrodo de trabalho como modificador. Ajeel; Aroua; Daud, (2015) prepararam três eletrodos de disco modificados com pasta de CB e pó de diamante, em diferentes proporções, para verificar sua efetividade na degradação anódica de p-benzoquinona. Os resultados mostraram que o eletrodo modificado com 20% de CB apresentou melhor eficiência de remoção (95,25%) após

120 minutos. Huang et al., (2020) conseguiram melhorar a performance de um catalisador de platina com a adição de CB e óxido de grafeno reduzido para a aplicação na oxidação electrocatalítica de SO₂. As análises electroquímicas do catalisador foram realizadas com um electrodo de carbono vítreo modificado com o suporte híbrido sintetizado. Kelly et al., (2013) desenvolveram um display flexível que utiliza polianilina como um electrocromico de fase sólida, exibindo cores diferentes em processos de oxidação e de redução. O dispositivo foi desenvolvido com um composto de polianilina intercalado por dois electodos, sendo um deles constituído de CB depositado por *screen printing* sobre um substrato de poliéster revestido de poliuretano e o outro electrodo uma folha de polietileno tereftalato (PET) revestida de óxido de índio. Observou-se uma mudança de cor do verde para o azul com aplicação de um potencial de aproximadamente 3,0 V por um minuto, com reversão da cor por até 10 ciclos redox.

3.2.2 CB em sensores electroquímicos

Nos sensores e (bio)sensores voltamétricos e amperométricos a concentração do analito electroativo pode ser determinada pela corrente eléctrica correspondente às reacções de oxidação e/ou redução que acontecem no electrodo modificado. A simplicidade desses métodos, junto ao avanço das técnicas de instrumentação e o desenvolvimento de microelectrónicos, tornaram os sensores electroquímicos candidatos promissores para a detecção de espécies químicas (Cherian *et al.*, 2022). Outro avanço importante para o aprimoramento dos sensores baseados em electodos modificados foi a incorporação de nanomateriais à superfície reativa, que promovem efeitos como a elevação da área superficial electroativa e o aumento da actividade electrocatalítica, resultando na melhora da sensibilidade analítica e no alcance de baixos limites de detecção (Vicentini; Silva; Fatibello-Filho, 2024). Diante dessas vantagens, nos últimos anos os sensores electroquímicos têm sido intensivamente explorados, principalmente para análises biológicas e diagnósticos clínicos (Hu; Zhang, 2020).

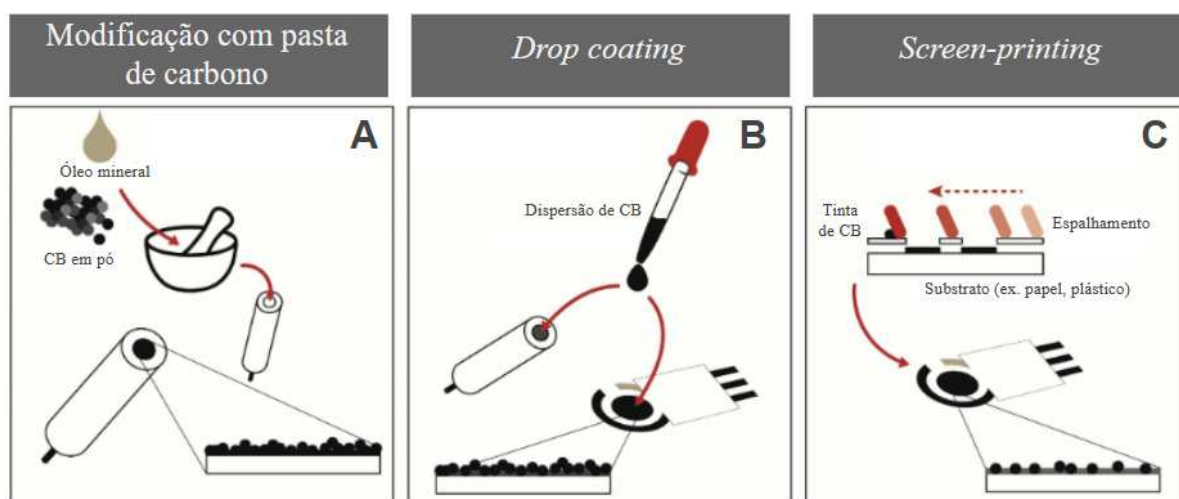
Os nanomateriais de carbono muitas vezes apresentam propriedades interessantes para a construção de sensores electroquímicos, como boa estabilidade química, alta condutividade eléctrica, alta condutividade térmica, dinâmica rápida de transferência de elétrons e grande proporção de superfície em relação ao volume de material (Hu; Zhang, 2020). O CB é um nanomaterial de carbono que, além de possuir tais características, é vendido por um preço extremamente acessível, tornando-o uma alternativa considerável para o desenvolvimento de sensores e biossensores mais baratos (Silva *et al.*, 2017).

O CB pode ser empregado na modificação de inúmeros tipos de sensores eletroquímicos, desde os que utilizam pasta de carbono e eletrodos de disco, até em dispositivos com abordagens mais recentes de fabricação, como os eletrodos impressos (Arduini *et al.*, 2020). Os sensores baseados em eletrodos de pasta de carbono (*carbon paste electrode* - CPE) são versáteis e oferecem possibilidade de aplicação em várias configurações. A Figura 9 (a) apresenta um procedimento padrão de preparação. Em geral, um uso clássico do CB em CPE é como substituinte parcial do pó de grafite durante a preparação da pasta de carbono (Ferreira *et al.*, 2022). Arteshi *et al.*, (2023) confeccionaram um sensor voltamétrico para a detecção de ocratoxina A, uma micotoxina produzida no trigo por diferentes espécies de fungo, que causa envenenamento em humanos e animais. Foram preparados CPEs com proporções variadas de CB e grafite, aglutinados com óleo mineral. As determinações foram feitas por voltametria de pulso diferencial e alcançaram valores de LOD e LOQ em nível sub-micromolar. O GCE é um dos mais usados em eletroquímica, tanto para sensores quanto para caracterizações (Arduini *et al.*, 2020). De modo geral, é um dos eletrodos mais eficientes quando se trata da fabricação de sensores baseados no revestimento de filme de CB (Ferreira *et al.*, 2022). Deroco; Vicentini; Fatibello-Filho, (2015) desenvolveram um sensor eletroquímico para determinação simultânea de paracetamol e codeína baseado em um GCE revestido com filme de nanopartículas de óxido de níquel e CB pelo processo de *drop coating* (Figura 9 (b)). As determinações foram feitas com voltametria de onda quadrada e alcançaram faixas lineares de 0,83 a 38,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para codeína e 3,0 a 47,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para paracetamol em amostras de urina e soro sanguíneo.

Novas abordagens de modificação de eletrodos para sensores também têm aplicado o CB como substrato. Os eletrodos impressos (*screen-printed electrodes* - SPE) são dispositivos de tamanho reduzido que necessitam de pouco volume de amostra para as medidas. Nesses sensores a modificação com CB pode ser feita tanto pelo método de *drop coating* – gotejamento na superfície representativa do eletrodo de trabalho (Figura 9 (b)) – quanto por adição de CB na tinta de grafite da impressão, como apresentado na Figura 9 (c) (Arduini *et al.*, 2020). Sobre as aplicações de nanomateriais de carbono neste tipo de sensor, Silva, R. M. *et al.*, (2023) forneceram uma revisão do cenário atual sobre o assunto, considerando abordagens e materiais variados, entre eles o CB. A impressão em 3D é também uma tecnologia emergente na área de desenvolvimento de sensores eletroquímicos, não só possibilitando a impressão de diversos formatos de eletrodos, mas também de outras peças auxiliares da célula (Arduini *et al.*, 2020). Gullo *et al.*, (2024) investigaram o CB como nanomodificador em eletrodos de poliuretano impressos em 3D, com deposição de CB por

drop coating. Foram realizados estudos com sonda redox de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ e aplicação na determinação de ácido úrico e ácido ascórbico por voltametria cíclica. Apesar dos testes não alcançarem resultados ótimos por limitações em relação à sensibilidade, proporção de ruído, limites de detecção e precisão, devido principalmente às variações de formulação do material termoplástico usado nos filamentos, a plataforma pode servir de estudo inicial para melhoramentos nos procedimentos de tratamento do eletrodo e na elaboração de materiais plásticos mais estáveis para impressão.

Figura 9 – Alguns procedimentos para a fabricação de eletrodos modificados com CB.



(A) Confeção e introdução de pasta de carbono. (B) Processo de gotejamento (*drop coating*) sobre superfície de carbono vítreo. (C) Impressão 2D de sensor por *screen printing*. Fonte: Arduini et al., (2020), adaptado.

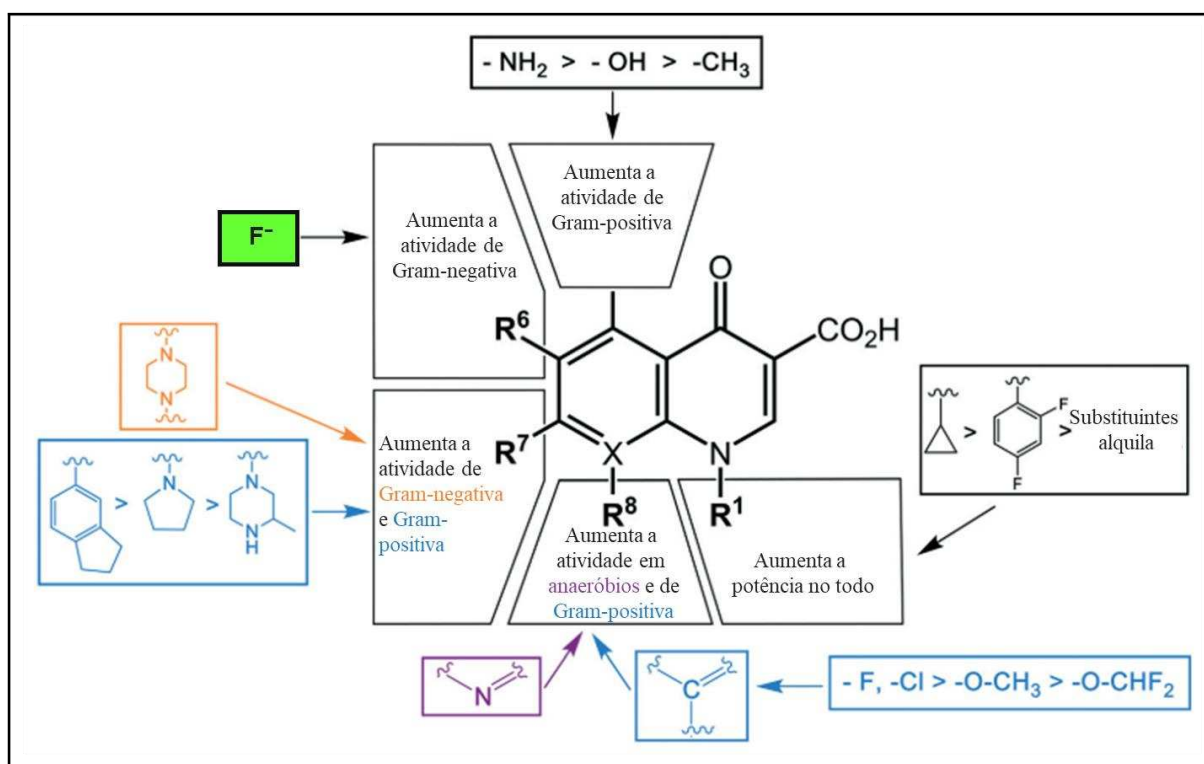
Diante do exposto, admite-se que o CB apresenta aplicações múltiplas no desenvolvimento de sensores que objetivam melhora do sinal analítico, substituição de nanomateriais mais onerosos e efeito sinérgico, em combinação com outros nanomateriais carbonáceos ou nanopartículas de metais para a melhora da condutividade elétrica em sensores eletroquímicos (da Silva Araujo *et al.*, 2025; Li *et al.*, 2025; Ragumoorthy *et al.*, 2025).

3.3 Fluoroquinolonas

De uso abrangente, as fluoroquinolonas são um grupo de substâncias amplamente administradas como tratamento para o combate de diversas bactérias patogênicas desde os

anos 1980, em hospitais, e na medicina veterinária desde a década de 1990. A adição de um átomo de flúor a uma quinolona a torna altamente eletronegativa e capaz de construir ligações F—C mais fortes e polarizadas, o que expande seu espectro de ação bactericida. Essa característica, no entanto, torna as fluoroquinolonas menos biodegradáveis e, logo, recalcitrantes. A classificação atual dos antibióticos baseados em quinolonas é geracional, considerando o avanço na abrangência de ação e na adição de substituintes (Bhatt; Chatterjee, 2022). A Figura 10 exhibe a estrutura de uma quinolona com as relações estrutura-atividade (*Structure-Activity Relationships, SAR*) atribuídas aos respectivos grupos substituintes, com destaque para o átomo de flúor adicionado à posição R⁶ que caracteriza as fluoroquinolonas. Um átomo de carbono na posição X é o que diferencia as quinolonas das naftiridinas (Pham; Ziora; Blaskovich, 2019).

Figura 10 – SAR das quinolonas. As cores dos grupos são correlacionadas às atividades.



Fonte: Pham; Ziora; Blaskovich, (2019), adaptado.

A primeira geração das quinolonas foi inaugurada pelo ácido nalidíxico (1-etil-7-metil-4-oxo-1,8-naftiridina-3-ácido carboxílico), sintetizado em 1960. Essa molécula mostrou-se ativa contra bactérias Gram-negativas, com exceção das *Pseudomonas*, mas logo descobriu-se a diminuição de sua efetividade pelo rápido aumento da resistência. Foi a partir das quinolonas de segunda geração que a adição de um átomo de flúor na posição R⁶ exibiu

enorme aumento da atividade, o que estabeleceu as fluoroquinolonas. À frente, verificou-se que a adição de um anel piperazina na posição R⁷ e um grupo ciclopropil na posição R¹ também aumentavam a atividade da molécula. As quinolonas da terceira geração mantiveram em sua base grupos-chave da estrutura das fluoroquinolonas da segunda geração, no entanto novos substituintes, como o átomo de cloro, foram usados. Mais recentemente, as quinolonas da quarta geração mantiveram as características das fluoroquinolonas da terceira geração e adicionaram atividade contra organismos anaeróbios (Bhatt; Chatterjee, 2022; Pham; Ziora; Blaskovich, 2019). Algumas quinolonas de cada geração foram reunidas na Tabela 3 com seus respectivos espectros de atividade.

Tabela 3 – Algumas quinolonas de cada geração e seus espectros de atividade.

Classificação	Nomes	Espectro de atividade
1ª geração	Ácido nalidíxico	Bactérias Gram-negativas, exceto <i>Pseudomonas</i> .
2ª geração	Ciprofloxacina	Organismos Gram-negativos, incluindo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
	Norfloxacina	Bactérias Gram-positivas, incluindo <i>Staphylococcus aureus</i> , exceto <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i> .
	Ofloxacina	Todas as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, exceto <i>Streptococcus pneumoniae</i> .
3ª geração	Levofloxacina	Todas as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, além de micróbios atípicos como <i>S. pneumoniae</i> .
	Clinafloxacina	Todas as bactérias Gram-negativas, Gram-positivas e bactérias anaeróbias.
	Enrofloxacina	Bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo cepas de <i>Staphylococcus</i> resistentes a metilina.
4ª geração	Gatifloxacina	
	Moxifloxacina	Conserva as atividades das fluoroquinolonas de segunda e terceira
	Trovafloxacina	geração com atividade contra bactérias anaeróbias

Fonte: Bhatt; Chatterjee, (2022), adaptado.

3.3.1 Enrofloxacina

A ENR é um composto antibiótico de uso exclusivamente veterinário pertencente à subfamília das fluoroquinolonas. A ENR é uma fluoroquinolona sintética da terceira geração (Bhatt; Chatterjee, 2022; Pham; Ziora; Blaskovich, 2019; Wu *et al.*, 2024) e foi a primeira de seu grupo a ser patentada em 1984 (Trouchon; Lefebvre, 2016). A Tabela 4 reúne alguns

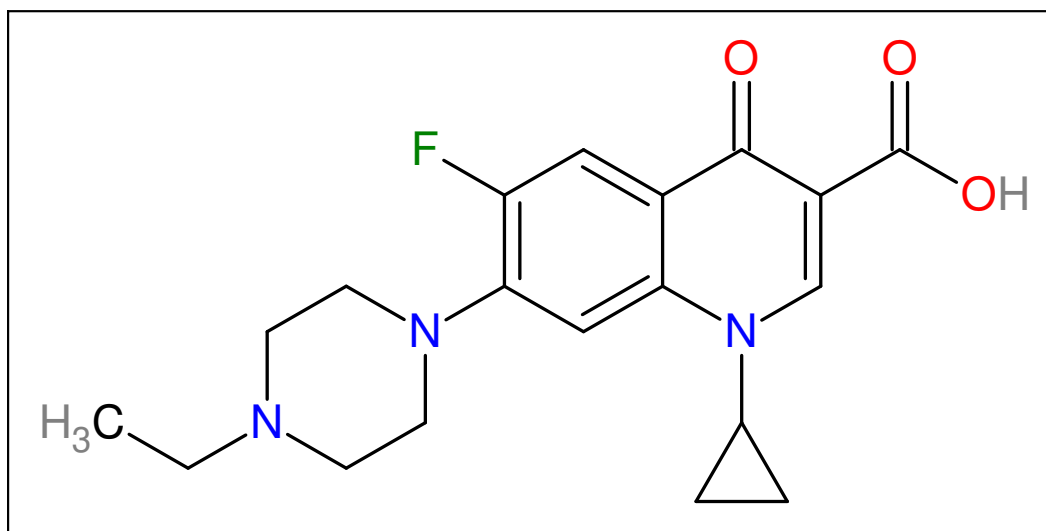
dados de identificação e propriedades físico-químicas da ENR e a Figura 11 exibe sua estrutura química.

Tabela 4 – Algumas nomenclaturas e propriedades físico-químicas da ENR.

Substância	Enrofloxacin
Nome comercial	Baytril®
Nome IUPAC	1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid
Fórmula molecular	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$
Peso molecular	359,4 g/mol
Forma e cor	Cristais amarelo-pálido
Ponto de fusão	219–221 °C
Solubilidade	53,9 µg/mL (média em pH 7,4) Levemente solúvel em água

Fonte: National Library of Medicine, (2024), adaptado.

Figura 11 – Estrutura química da ENR.



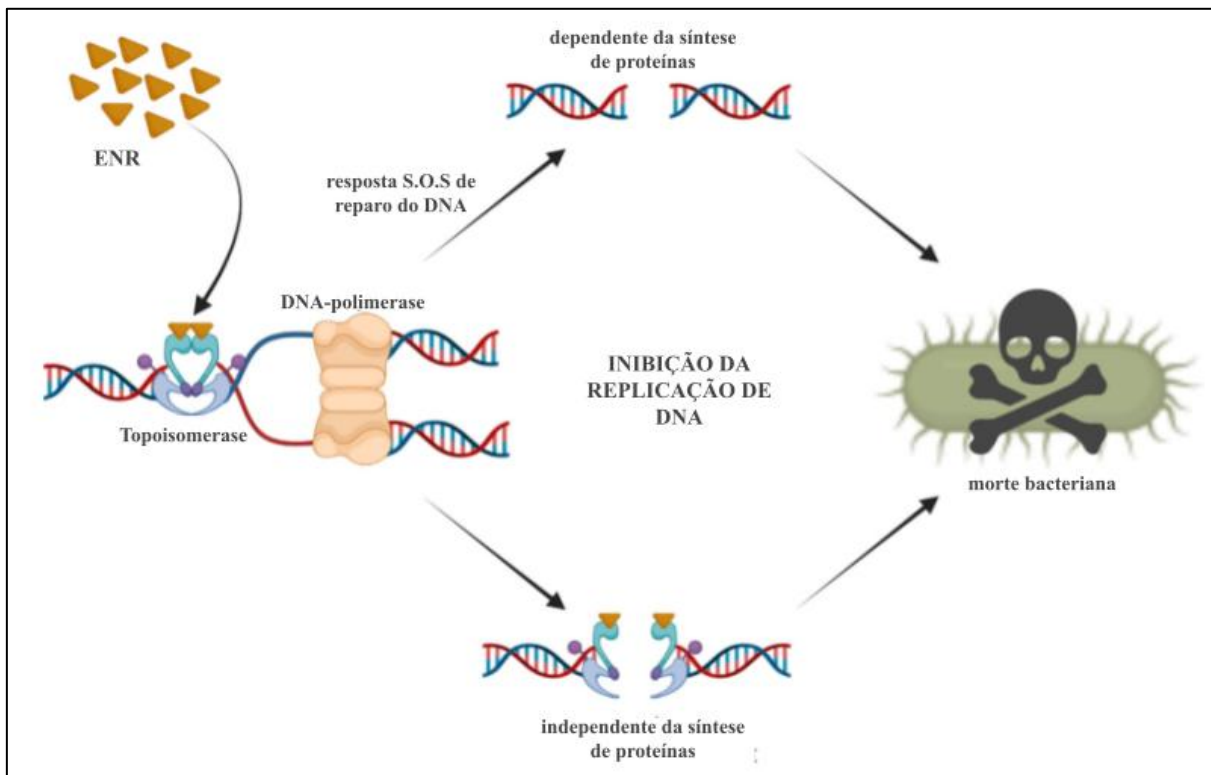
Fonte: própria autora.

A ENR foi sintetizada pela primeira vez em 1983, a partir do ácido nalidíxico, e comercializada como medicamento de uso veterinário pelo laboratório Bayer a partir de 1991, sob o nome de Baytril®, para administração oral em aves. Altamente lipofílica, o ácido carboxílico e a amina terciária adicionada em sua estrutura contribuem para um maior caráter

anfótero da molécula (Grabowski *et al.*, 2022; Troughon; Lefebvre, 2016). A solubilidade baixa da ENR em água, no entanto, é um fator limitante de sua farmacocinética, considerando que é um dos requisitos mais importantes na absorção gastrointestinal (Wu *et al.*, 2024) e que os efeitos bactericidas da ENR são dependentes da concentração (Badawy *et al.*, 2021; Grabowski *et al.*, 2022). Conforme o pH, a ENR varia sua proporção na distribuição de espécies, como pode ser verificado na Figura 25 presente na discussão dos resultados. Em valores de pH mais baixos ambos os grupos 7-piperazinil e 3-carboxil estão protonados, o que não ocorre em valores de pH mais altos. As espécies neutras têm sua maior fração em pH próximo a 7, com alta predominância do *zwitterion* (Lizondo *et al.*, 1997). Os valores de pKa relativos ao grupo carboxil e à amina terciária são, respectivamente, $pK_{a1} = 5,88-6,06$ e $pK_{a2} = 7,70-7,74$ (Troughon; Lefebvre, 2016).

O metabólito ativo da ENR é a ciprofloxacina (CIP), uma molécula da família das fluoquilonas da segunda geração cujo fármaco derivado é indicado como antibiótico para uso em humanos. A CIP biotransformada a partir da ENR é produzida amplamente na maioria das espécies de animais, com exceção das aves, e apresenta dois valores de pKa: $pK_{a1} = 5,15$ e $pK_{a2} = 8,35$ (Troughon; Lefebvre, 2016). A ENR apresenta atividade bactericida contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos (Badawy *et al.*, 2021; Mitchell, 2006; Troughon; Lefebvre, 2016), porém é ineficaz em bactérias anaeróbicas (Troughon; Lefebvre, 2016). A ação antibiótica da ENR acontece pelo ataque a topoisomerase II (girase) e a topoisomerase IV, enzimas que controlam a topologia do DNA e que facilitam a replicação gênica. A ENR obstrui o processo de formação de complexos de clivagem das fitas de DNA ao modificar a conformação dessas enzimas, o que previne a reunião das fitas de DNA e, conseqüentemente, leva à bacteriostase (diminuição da proliferação das bactérias) ou mesmo à morte das células, quando em doses fatais (Bhatt; Chatterjee, 2022; Grabowski *et al.*, 2022). A Figura 12 apresenta o mecanismo de ação da ENR.

Figura 12 – Mecanismo de ação da ENR. A resposta de reparo do DNA ou a morte celular são ativadas conforme a concentração.



Fonte: Grabowski et al., (2022), adaptado.

O metabolismo da ENR pode variar entre diferentes espécies de animais (Grabowski *et al.*, 2022; Mitchell, 2006). A farmacocinética da ENR é influenciada por vários fatores, como a forma de administração do medicamento, a condição corporal e o estado de alimentação do indivíduo tratado, além da biodisponibilidade poder ser afetada pela presença de cátions metálicos (Badawy *et al.*, 2021; Grabowski *et al.*, 2022).

O uso da ENR em animais de criação é amplo devido à eficiência no combate a um grande espectro de doenças causadas por bactérias. As doses são administradas como pó incluído nas rações ou na forma injetável (Wu *et al.*, 2024). As indicações clínicas mais comuns são para infecções do trato respiratório e alimentar em animais de corte como gado bovino e porcos, mas também pode ser usado para o tratamento dessas mesmas infecções, em adição às infecções de pele, ouvido e machucados, em cães e gatos (Badawy *et al.*, 2021; Grabowski *et al.*, 2022). A distribuição das fluoroquinolonas no corpo é abrangente, onde são transportadas para os órgãos do aparelho urinário e sexual, ossos, tecidos conjuntivos, rins e fígado, sendo os dois últimos responsáveis pela excreção (Mitchell, 2006). No caso da ENR, a maior parte da eliminação ocorre pela via renal (Trouchon; Lefebvre, 2016). Apesar da evidente efetividade da ENR como agente bactericida, altas doses e uso frequente do

medicamento podem levar ao aparecimento de alguns efeitos adversos, como mudanças nos sistemas nervoso e imune, aparelho reprodutivo e gastrointestinal, além de alterações no esqueleto do animal (Grabowski *et al.*, 2022).

O uso da ENR é controverso. Como são apenas parcialmente metabolizadas, cerca de 70% da quantidade ingerida/injetada de fluoroquinolonas é eliminada pela via fecal e urinária, o que leva a substância a atingir ecossistemas aquáticos e terrestres, vertida junto ao esgoto doméstico ou à água residual da agricultura (Bhatt; Chatterjee, 2022). O período de meia-vida da ENR pode variar entre 1155 e 3466 dias, a depender das condições ambientais (Grabowski *et al.*, 2022). Nos solos e sedimentos a degradação das fluoroquinolonas depende de diversos fatores, como fotoestabilidade, natureza persistente e capacidades de ligação e adsorção nas partículas. Porém, apesar da degradação poder ser feita por processos biológicos e fotocatalíticos, as fluoroquinolonas têm um extenso período de meia-vida, além de outras características que as tornam menos disponíveis para a decomposição por microorganismos e mais persistentes no solo (Bhatt; Chatterjee, 2022). A remoção das fluoroquinolonas de corpos d'água, ENR inclusa, é complexa e nem sempre efetiva e a exposição de animais aquáticos a esses compostos produz efeitos verificados no crescimento e desenvolvimento dos indivíduos, além de riscos de saúde para humanos e criação de gado (Grabowski *et al.*, 2022). Um método sustentável para a remoção de fluoroquinolonas (enrofloxacina, ciprofloxacina e norfloxacina) foi proposto por Dos Santos Silva *et al.* (2024), por meio do emprego de biochar de bagaço de malte como adsorvente. Os resultados mostraram que tanto o biochar produzido por pirólise quanto o biochar produzido por carbonização hidrotermal foram capazes de performar uma remoção efetiva, principalmente da ciprofloxacina.

Em humanos, a presença de ENR em partes comestíveis de animais está associada ao aparecimento de alergias, anemia aplástica e desbalanço da microbiota intestinal em indivíduos sensíveis (Badawy *et al.*, 2021). Por tais evidências, a ENR e a CIP são substâncias com níveis máximos controlados pelos órgãos de regulamentação. A Tabela 5 reúne os limites máximos aceitáveis de ENR e CIP segundo a União Europeia e os valores de tolerância estimados pela agência estadunidense *Food and Drug Administration*.

Tabela 5 – Limites residuais máximos (*Maximum Residual Limit* - MRL) segundo a União Europeia e valores de tolerância admitidos pela *Food and Drug Administration* (EUA) para a ENR.

Comissão Europeia (EC 2009, 2010)				
Resíduo marcador	Espécie animal	MRL	Partes-alvo	Observações
Soma da ENR + CIP	Bovinos, caprinos, ovinos	100 µg/kg	Músculo	Para peixes, considere-se o MRL estimado para músculo.
		100 µg/kg	Gordura	
		300 µg/kg	Fígado	
		200 µg/kg	Rins	
	Suínos, coelhos	100 µg/kg	Músculo	
		100 µg/kg	Gordura	
		200 µg/kg	Fígado	
		300 µg/kg	Rins	
	Aves	100 µg/kg	Músculo	Não utilizar em animais que produzem ovos para consumo humano.
		100 µg/kg	Pele e gordura	
		200 µg/kg	Fígado	
		300 µg/kg	Rins	
	Outras espécies usadas como alimento	100 µg/kg	Músculo	
		100 µg/kg	Gordura	
		200 µg/kg	Fígado	
		200 µg/kg	Rins	
Abelhas		ND*	Mel	

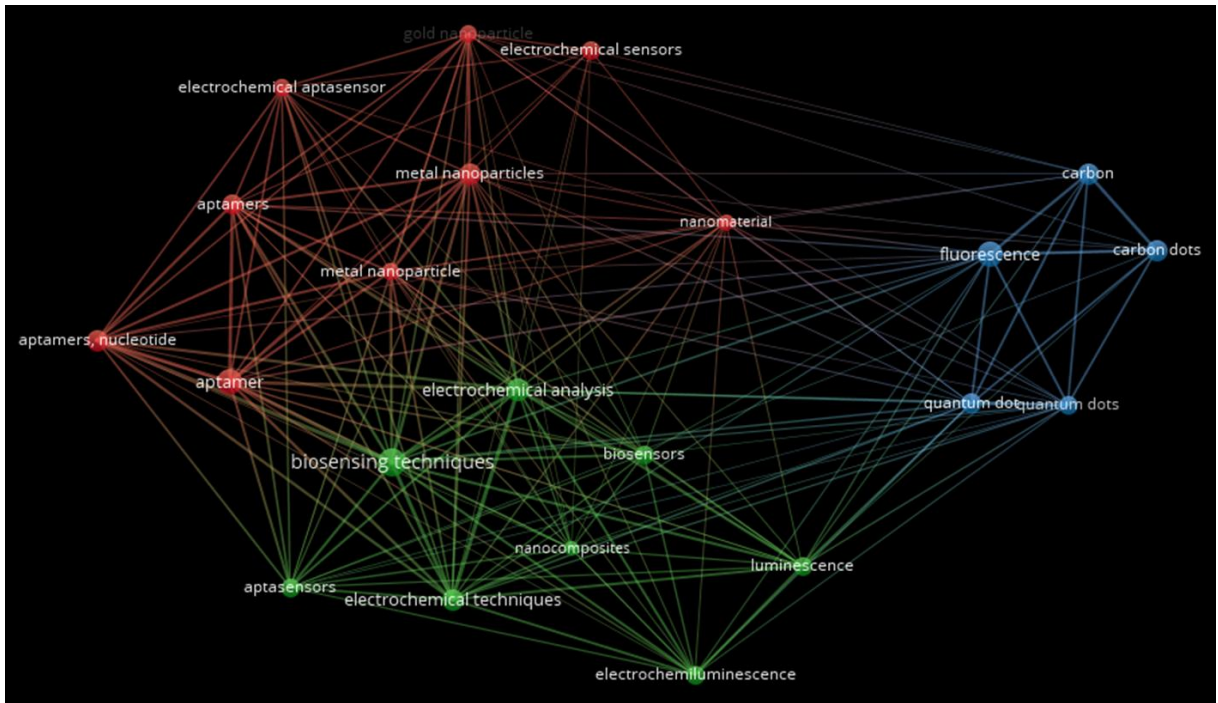
<i>Food and Drug Administration</i> (FDA 2021)				
Resíduo marcador	Espécie animal	Tolerância	Partes-alvo	Observações
Desetileno-ciprofloxacina	Gado	0,1 ppm (100 µg/kg)	Fígado	Abate permitido após 28 dias do último tratamento.
Enrofloxacina	Suínos	0,5 ppm (500 µg/kg)	Fígado	Abate permitido após 5 dias da injeção de dose única.
	Abelhas	ND	Mel	

Fonte: The European Commission, (2010); Food and Drug Administration; Department of Health and Human Services, (2024a), adaptado, tradução nossa. *Não definido.

3.3.2 Determinação eletroquímica da ENR

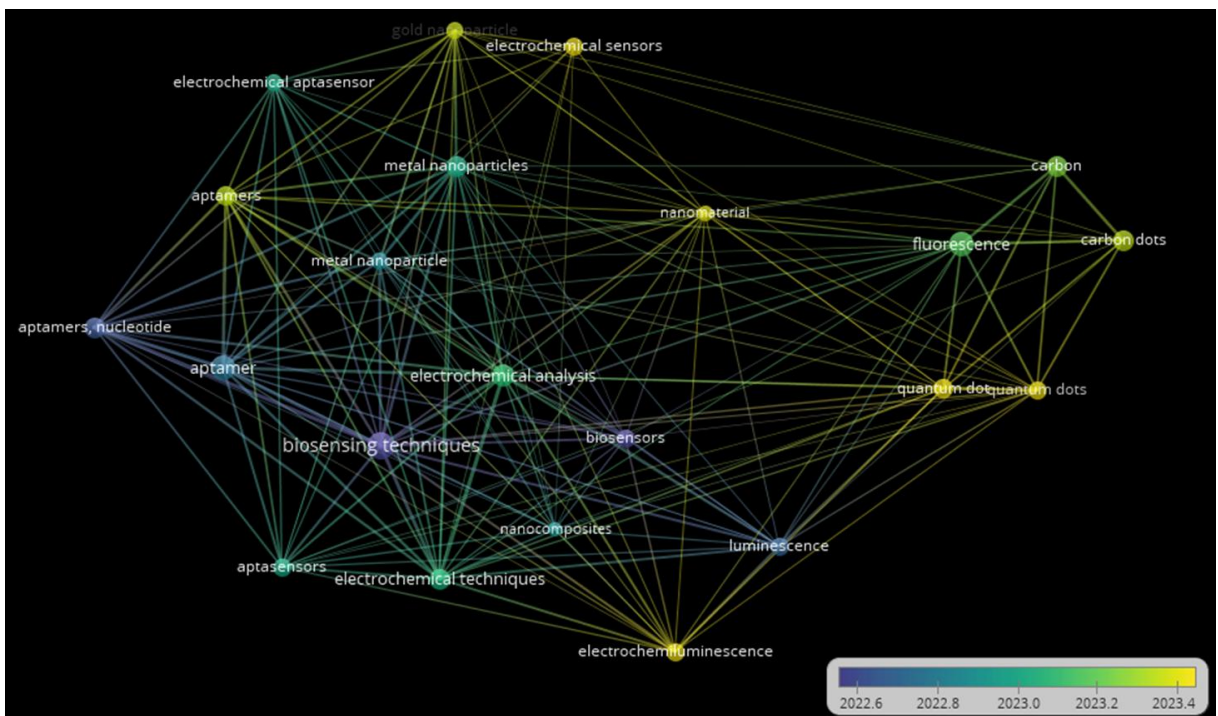
Diante da necessidade de monitoramento através da detecção e quantificação da ENR e de outras fluoroquinolonas em matrizes diversificadas, alguns métodos analíticos são propostos para essa tarefa. Podem ser empregados métodos de voltametria, de aptametria, de quimioluminescência, de espectrofluorometria e de espectrofotometria, além de alguns métodos baseados em cromatografia líquida de alta performance (HPLC) combinados com espectrometria de massas (Bhatt; Chatterjee, 2022; Trouchon; Lefebvre, 2016). Para estimar a tendência das pesquisas realizadas sobre a determinação de ENR, uma análise bibliométrica foi realizada com a ferramenta VOSviewer a partir dos metadados coletados da base de dados *Scopus*. A busca na *Scopus* abrangeu os termos “enrofloxacin determination” ou “enrofloxacin quantification” ou “enrofloxacin detection”, em todos os anos, com exclusão de *reviews* e capítulos de livros. Entre as palavras-chave que apareceram com maior frequência nos metadados – a partir de 10 vezes – foram selecionadas aquelas relativas às técnicas de análise e alguns tipos de materiais. A Figura 13 explicita a formação de três conjuntos principais (*clusters*) de dados em rede, com ligações nos entornos dos termos com maior densidade, sendo tais “aptâmeros” e “nanopartículas metálicas” (vermelho), “técnicas de biossensores” e “análise eletroquímica” (verde) e “fluorescência” e “pontos quânticos” (azul). Esses *clusters* podem indicar a tendência das produções bibliográficas sobre determinação de ENR serem centralizadas nessas três esferas de correlações. A Figura 14 exhibe o mesmo gráfico, porém com classificação por cores em relação aos períodos com maior densidade de publicações com as palavras-chave correlacionadas. Fica evidente pela distribuição de cores por período que as publicações mais recentes (amarelo) têm enfoque nas correlações entre “eletroquimioluminescência” e “pontos quânticos”, além de “sensores eletroquímicos” e “aptâmeros”, todas correlacionadas ao termo “nanomaterial”.

Figura 13 – Clusters formados pela coocorrência das palavras-chave nos artigos exportados da base de dados.



Fonte: própria autora.

Figura 14 – Distribuição por cores baseada na incidência das palavras-chave em período anual.



Fonte: própria autora.

Por sua estabilidade química e propensão a se ligar às proteínas, a determinação de ENR em amostras derivadas de animais é um desafio. Apesar de técnicas padrão como as utilizadas nos métodos cromatográficos em conjunto com espectrometria de massas serem uma opção que alcança excelentes limites de detecção com confiabilidade, há algumas desvantagens agregadas ao emprego desses métodos, como equipamento dispendioso e processo laborioso, além do tempo maior de preparação das amostras e da aparelhagem (Yu; Yang; Yang, 2024). Logo, além das desvantagens dos métodos cromatográficos, surge o fato da análise dessas matrizes ser favorecida por monitoramento em tempo real, *in-loco* e com triagem de amostras em grande escala, o que leva a busca de novos métodos que alcancem essas necessidades. Nesse sentido, por possibilitar o atendimento a essas necessidades, os métodos eletroquímicos para determinação da ENR vêm sendo explorados.

Khaloo et al. (2015) prepararam um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono multicamadas (*Multi-walled Carbon Nanotubes*, MWCNT) e nanopartículas de óxido de ferro (II, III) para determinação de ENR em amostras de leite, ovos, frango e mel purificados por extração com solventes. Os resultados mostraram que o eletrodo modificado que continha ambos os compostos exibiu picos de oxidação mais intensos, além de resposta mais rápida e maior sensibilidade nas análises em comparação com o CPE sem modificação. As determinações, por DPV, alcançaram o limite de detecção de 0,09 μM e as recuperações de ENR nas amostras fortificadas foi de 96–104%.

Antilén et al. (2017) produziram um estudo notável sobre as propriedades eletroquímicas da ENR para determinar o antimicrobiano na presença de matéria orgânica natural de solos do Chile. Os estudos foram feitos com emprego de GCE e da técnica de CV, tanto nas caracterizações quanto na quantificação do analito. Através da análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (*Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*, LC–MS) dos produtos da reação, do estudo da cinética da transferência de elétrons e do coeficiente de Tafel, os pesquisadores propuseram o mecanismo da oxidação da ENR à CIP. Foi obtida uma resposta linear dentro da faixa de $30 - 300 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1}$ com LOD de $28 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1}$. O mesmo grupo de pesquisadores (Canales; Peralta; Antilen, 2019) produziu um estudo para verificar a interferência de CIP e ácidos húmicos na determinação de ENR em matrizes de solos aquosos. As análises voltamétricas com GCE, realizadas pela comparação dos resultados obtidos com as técnicas de CV e SWV, mostraram que as duas técnicas apresentaram figuras de mérito satisfatórias, com LOD de 31×10^{-3} e

$1,64 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente. Contudo, apesar da CV apresentar maior sensibilidade, os resultados com SWV exibiram melhores parâmetros analíticos nas condições do estudo. A interferência da CIP nas determinações foi considerável na proporção de 1:1 para ENR e justificada pelos pesquisadores por um sinergismo químico. A interferência dos ácidos húmicos no sinal analítico foi inferior a 5%, o que mostrou que a matéria orgânica não foi um interferente no método.

A determinação de ENR por sensores eletroquímicos ou híbridos é descrita em alguns trabalhos na literatura. O emprego de GCE modificado com compósitos que buscam a melhora de suas propriedades condutivas e sensibilidade é frequente. Karuppusamy et al. (2022) testaram a determinação de ENR por voltametria e amperometria utilizando um GCE modificado com um nanocompósito de óxido de grafeno reduzido e incorporado com tungstato metálico de conformação do tipo flor 3D. Foi alcançada uma faixa linear de determinação entre 0,001–115 μM . Doan et al. (2024b) modificou um GCE com nanotubos de carbono reduzidos e conseguiu determinar ENR nas faixas entre 0,005–0,05 μM e 0,05–1,5 μM . Yu; Yang; Yang (2024) modificaram a superfície do GCE com um filme de material baseado em cobalto e conseguiram duas faixas lineares entre 0,5–65 μM . A modificação com redes metalorgânicas (*Metal-organic Frameworks*, MOFs) no eletrodo de trabalho empregado em métodos voltamétricos é explorada nos trabalhos de Lu et al. (2021) com nanopartículas de ouro e Nguyen et al. (2024) com nanoestruturas de ferro e cobre, com o primeiro tendo apresentado duas faixas lineares entre 0,05–10 μM e 10–120 μM . Yuting; Jing; Donghui (2019) também usaram nanopartículas metálicas, porém de sulfeto de cádmio, para modificar um fio de prata com membrana e chegar a a determinar a ENR nas faixas entre $1,0 \times 10^{-2}$ a $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Mais recentemente, Do et al. (2024) fabricaram um eletrodo de disco de grafite expandido eletroquimicamente em dimetil sulfóxido para gerar nanofolhas e puderam determinar a ENR em duas faixas lineares, sendo 0,05–0,15 μM e 0,1–20 μM .

O uso de eletrodos com superfície modificada com polímeros de impressão molecular (*Molecularly Imprinted Polymers*, MIP) para a detecção de ENR pode ser verificado em diversos trabalhos. Neste tipo de abordagem, o princípio de detecção é baseado no reconhecimento molecular de processos biológicos através da formação de sítios de ligação em uma base polimérica, os quais mimetizam a afinidade e especificidade de anticorpos naturais para gerar receptores macromoleculares artificiais (Gallegos-Tabanico *et al.*, 2022). Yan et al. (2017) usaram um eletrodo de lápis de grafite (*Pencil Graphite Electrode*, PGE) como base para a eletro-copolimerização de pirrol e o-fenilenodiamina na presença de ENR. Após a remoção da molécula *template* (ENR), o eletrodo foi caracterizado por CV e

empregado para a determinação de ENR por SWV, alcançando determinações nas faixas entre $1,0 \times 10^{-4}$ – $1,0 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹. Gallegos-Tabanico et al. (2022) modificaram a superfície de ouro de um SPE com etilenoglicol dimetacrilato como monômero *cross-linking* da molécula de ENR que pode ser determinada na faixa entre 0,01–0,1 mM. Um sensor eletroquímico de MIP em suporte de MWCNT sobre GCE foi desenvolvido por Chen et al. (2022) para determinação de ENR por DPV, o qual verificou-se uma faixa linear de determinação entre 2,8 pM–28 µM. Também usando MWCNT, porém carboxilado e em combinação com óxido de grafeno reduzido, Wu et al. (2023) comparou os resultados da determinação de ENR entre um método com sensor de MIP e um método com oxidação eletrocatalítica direta. Usando cronoamperometria, o sensor de oxidação direta atingiu faixas lineares entre $5,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $9,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $9,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $5,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, usando SWV, o sensor com MIP atingiu um LOD de $2,5 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹. Um sensor eletroquimioluminescente (*Electrochemiluminescence*, ECL) de MIP combinado com *nanoclusters* de cobre foi proposto por Wang et al. (2022) e, mais recentemente, Liu et al. (2024) desenvolveram um sensor dual síncrono de eletroquimioluminescência por pontos quânticos de sulfeto de bismuto e DPV. O sensor com cobre foi capaz de determinar ENR na faixa linear de 0,1 nM–1 µM e o sensor síncrono forneceu faixas lineares de determinação entre 0,5 nM–25 µM (ECL) e 5,0 nM–25 µM (DPV) para a ENR.

Outra abordagem bastante explorada para o desenvolvimento de sensores para ENR são os biossensores eletroquímicos conhecidos como aptasensores, que alcançam limites de detecção destacadamente baixos. Os aptâmeros são oligonucleotídeos de DNA ou RNA de fita simples selecionados artificialmente, *in vitro*, por evolução sistemática de ligantes por enriquecimento exponencial (*Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment*, SELEX) e que são capazes de vincular diferentes analitos com alta especificidade e afinidade (Wei et al., 2022). Song et al. (2021) determinou a ENR por EIS com um aptasensor baseado em um MOF de cobre e níquel que atingiu limite de detecção a nível femtomolar dentro de uma faixa de quantificação entre 0,001–1 pg mL⁻¹. Hu et al. (2021) também realizou a determinação de ENR por método impedimétrico com um aptasensor conjugado de cobalto e ferro poli ftalocianina que apresentou faixa linear entre 0,1 fg mL⁻¹ a 100 pg mL⁻¹. Wei et al. (2022) e Lv et al. (2022) utilizaram nanopartículas de ouro combinadas com MOF para determinação de ENR por aptasensor. Ambos alcançaram faixas lineares de determinação à nível de pico gramas por mL. Um aptasensor de sinal duplo integrado formado por composto trimetálico de nanopartículas de platina, paládio e cobre foi desenvolvido por Wang et al. (2024). A ultradeteção alcançou limites de 0,112 no modo DPV e 0,0203 pg mL⁻¹ no modo

SWV. Com abordagem clássica, um imunossensor com anticorpos anti-quinolona imobilizados sobre SPE foi proposto por Aymard et al. (2022) e apresentou resposta linear nos limites entre $0,005 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A detecção simultânea de ENR com outras fluoroquinolonas também foi explorada na literatura. Zhang et al. (2021) propôs a detecção simultânea de ENR e CIP por um aptasensor fotoeletroquímico controlado por potencial de polarização. O aptasensor exibiu uma ampla faixa linear de detecção de ENR ($0,01\text{--}10000 \text{ ng mL}^{-1}$) e CIP ($0,01\text{--}1000 \text{ ng mL}^{-1}$). A detecção simultânea de ENR e norfloxacinina (NOR) através de um imunossensor de papel dobrado como origami foi proposta por Chomthong et al. (2024). Anticorpos diferentes foram imobilizados nas duas zonas de detecção e os analitos foram quantificados por SWV. A detecção alcançou limites à nível nanomolar. Um GCE modificado com filme de polímero de rutina foi empregado para a detecção simultânea de ENR, NOR, CIP e pefloxacinina. Foram alcançadas faixas lineares de detecção de $0,01\text{--}10 \mu\text{g mL}^{-1}$ (NOR e ENR).

Um eletrodo com membrana seletiva de cloreto de polivinila foi fabricado por Hassan et al. (2023) para a estimativa de ENR por método potenciométrico. Para isso, foi feita uma precipitação baseada na produção de fosfotúngstico e depois utilizando uma matriz de cloreto de polivinila (PVC) e dibutilftalato (DBPH) ou dibutil fosfato (DBP) como agente plastificante. A determinação pelo sensor foi possível na faixa linear entre $2,1 \times 10^{-6}\text{--}1,0 \times 10^{-1}$ (DBPH) and $3,0 \times 10^{-6}\text{--}1,0 \times 10^{-2}$ (DBP).

4. METODOLOGIA

4.1 Reagentes e amostras

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. CB do tipo Vulcan XC-72 foi gentilmente fornecido pela Cabot Corporation; quitosana de baixo peso molecular (CTS, grau de acetilação > 80%), epiclorigrina (ECH) e padrão de ENR foram adquiridos da fornecedora Sigma Aldrich; fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4 , ACS científica); fosfato de sódio monobásico anidro (NaH_2PO_4 , Êxodo científica); cloreto de potássio (KCl, ACS científica); hexacianoferrato (II/III) de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Êxodo científica); ácido acético glacial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ com 99,7 % de teor, Êxodo Científica) e hidróxido de sódio (NaOH, Êxodo Científica). As soluções-estoque de CTS, ECH e ENR foram armazenadas em refrigerador a 4 °C. Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura (com resistividade não menor que 18 M Ω cm) purificada em sistema Millipore Milli-Q®. Todos os reagentes listados foram usados como recebido do fabricante, portanto, sem qualquer processo de purificação adicional.

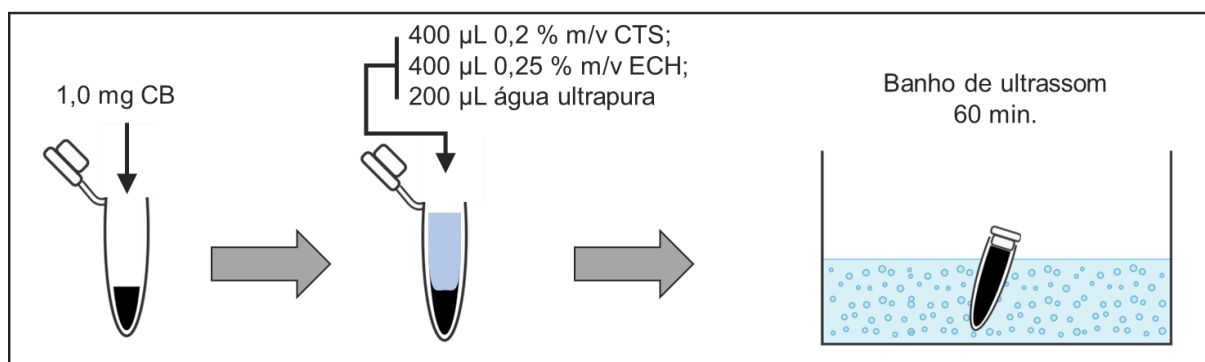
A amostra de água de rio foi recolhida de um ponto do Ribeirão São Bartolomeu, localizado na sede da Universidade Federal de Viçosa. Esta foi filtrada e armazenada em recipiente inerte sob refrigeração constante. As amostras de leite foram provenientes de marca comercial, do tipo UHT desnatado, contendo os estabilizantes trifosfato de sódio, citrato de sódio, monofosfato de sódio e difosfato de sódio como excipientes. As amostras de mel de abelha foram provenientes, também, de marca comercial.

4.2 Preparo da dispersão de CB em quitosana reticulada

Uma dispersão de CB em solução de quitosana reticulada foi preparada para posterior uso na modificação da superfície do GCE, conforme reportado na literatura (Meireles *et al.*, 2024; Silva, T. A. *et al.*, 2023; Silva; Wong; Fatibello-Filho, 2020). Esta dispersão foi produzida de acordo com o esquema da Figura 15, portanto, empregando-se ECH como agente de reticulação da quitosana, matriz polimérica do filme modificador. Uma solução-estoque de CTS 0,2 % m/v foi preparada em solução de ácido acético 1.0 % m/v e uma solução-estoque de ECH 2,5 % m/v foi preparada em solução de NaOH 0,01 mol L⁻¹. Logo, 1 mg de CB, 400 μL da solução-estoque de CTS e 400 μL da solução-estoque de ECH foram adicionados a um microtubo de 2 mL juntamente com 200 μL de água ultrapura. O microtubo

foi então submetido a 60 minutos de agitação em banho ultrassom, executada para a desagregação das partículas de CB, a fim de se obter uma dispersão homogênea e estável por mais tempo.

Figura 15 – Esquema do método de preparo da dispersão que foi usada como modificadora do eletrodo.

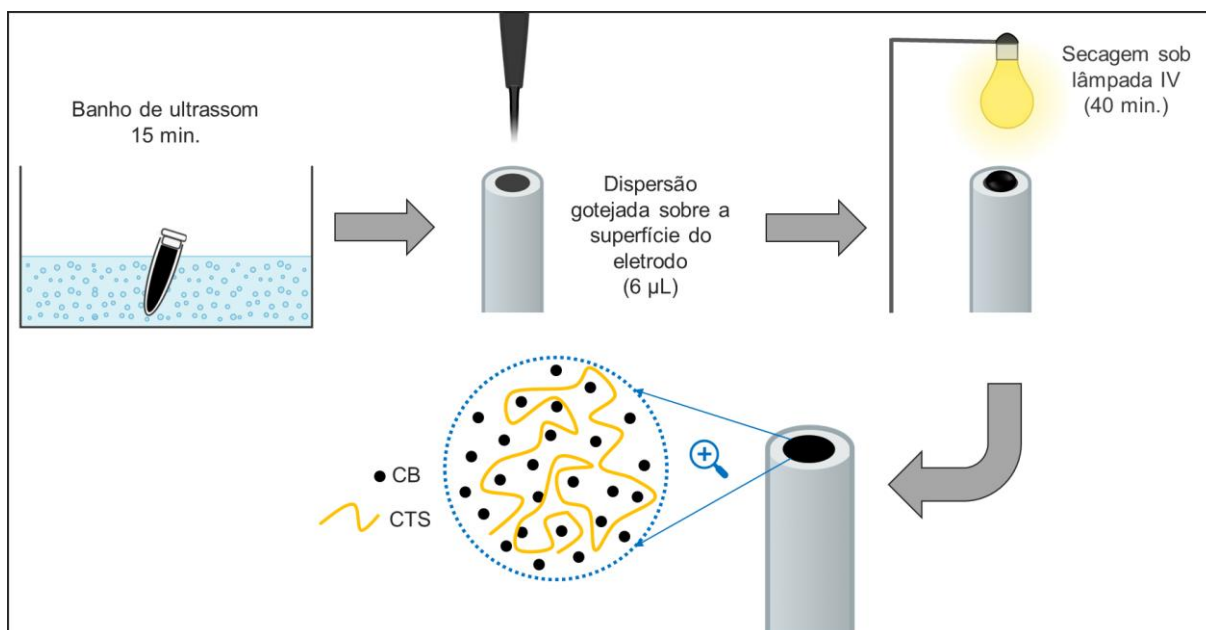


Fonte: própria autora.

4.3 Modificação do eletrodo de trabalho

Um GCE com diâmetro de 3,0 mm foi escolhido como eletrodo de trabalho. Antes de cada modificação do GCE, sua superfície foi cuidadosamente limpa e polida. O polimento foi realizado com pasta de alumina de 1,0 µm (5 min.), 0,3 µm (3 min.) e 0,05 µm (2 min.) seguido de enxágue abundante com água ultrapura. Em seguida, o procedimento de limpeza do eletrodo de trabalho foi finalizado pela ultrassonificação da superfície em etanol (5 min.) e em água ultrapura (5 min.) para garantir a ausência completa de resíduos aderentes. A modificação do GCE por método *drop coating* foi executada conforme o esquema da Figura 16.

Figura 16 – Esquema do método de modificação do eletrodo base GCE.



Fonte: própria autora.

Previamente a cada modificação, a dispersão de CB foi submetida a uma agitação em banho ultrassom por 15 minutos. Em seguida, 6 µL da dispersão foram cuidadosamente gotejados sobre a superfície polida e limpa do eletrodo, que foi mantido sob o aquecimento brando de uma lâmpada de infravermelho a uma distância de aproximadamente 45 cm, por 40 minutos para a secagem completa e uso imediato. O eletrodo modificado com filme de CB foi então nomeado como CB/GCE. Os mesmos procedimentos de polimento e limpeza também foram executados para os experimentos com o GCE sem modificação.

4.4 Preparação das amostras

As amostras fortificadas foram preparadas a partir de uma solução-estoque de ENR 0,01 mol L⁻¹ em HCl 0,01 mol L⁻¹, que foi mantida refrigerada durante todo o estudo. A partir da solução-estoque de ENR preparou-se também, por dissolução, uma solução de ENR 0,001 mol L⁻¹ usada nas adições de menor concentração e mantida nas mesmas condições de armazenamento.

A amostra de água de rio foi preparada como substituinte da água ultrapura na preparação da solução de eletrólito suporte de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ e teve seu pH ajustado para 7,0. As amostras de leite e mel foram diluídas na solução de eletrólito suporte padrão. Neste sentido, uma alíquota de 1 mL de leite foi adicionada a um balão volumétrico

de 10 mL, completado com solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) e agitado manualmente até a homogeneidade. Devido ao grau de complexidade da amostra de mel e características físico-químicas que poderiam ser limitantes para sua análise eletroquímica direta, como viscosidade e alta concentração de açúcares redutores, optou-se pela preparação de uma amostra diluída, empregando-se a proporção de 20 mL de solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) para cada grama de mel. A solução da amostra foi vigorosamente agitada em vórtex por aproximadamente 5 minutos.

4.5 Ensaios eletroquímicos

Uma sistematização dos processos de caracterização e ensaios eletroquímicos executados neste trabalho pode ser consultada no Apêndice A.

A caracterização eletroquímica do eletrodo foi efetuada por CV, com o uso de sonda redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de eletrólito suporte de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os estudos de verificação do pH ótimo foram executados por CV em soluções de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ajustadas para pH variando de 2,0 a 10. As demais medidas voltamétricas, tanto de caracterização por CV do comportamento dos eletrodos frente a ENR como de quantificação por LSV, foram executadas em solução de eletrólito suporte ótima de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) e limitadas a uma janela de potencial de 0,0 V a +1,3 V. Em todos os ensaios de caracterização eletroquímica a concentração de ENR foi mantida em $4,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Para a construção da curva analítica foram efetuados ensaios de otimização com DPV, SWV e LSV. Sob condições otimizadas de técnica e pH, as curvas analíticas foram construídas pelas leituras por LSV de soluções contendo concentração variável de ENR, partindo de $2,49 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ até $9,17 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com intervalos de 1 minuto de agitação mecânica da solução entre as leituras. A partir da curva analítica construída, foi possível registrar os parâmetros analíticos incluindo a faixa linear de resposta, sensibilidade analítica, limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ). Testes de repetibilidade de medidas intra-dia e repetibilidade de fabricação inter-dias foram conduzidos para avaliar a precisão do sensor em duas concentrações distintas, sendo $4,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,22 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Para testar a repetibilidade de fabricação do eletrodo modificado em um único dia, a resposta voltamétrica de um eletrodo, preparado conforme descrito no item 4.3, foi comparada pelos desvios relativos de 15 medidas. A repetibilidade de fabricação em dias diferentes foi obtida pela comparação dos desvios relativos da resposta voltamétrica de 15 medidas de três

eletrodos independentes, sendo 5 medidas de cada eletrodo, preparados em três dias com condições climáticas diferentes. Por fim, o método foi aplicado na recuperação de ENR em amostras ambientais de água de rio e em amostras alimentícias (leite e mel).

4.6 Caracterizações

A investigação da composição química e presença de grupos funcionais no CB foi realizada por análise no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) modelo Bruker ALPHA II. As informações estruturais e o grau de desordem da estrutura do CB foram avaliadas por Espectroscopia Raman usando um equipamento MicroRaman - InVia Renishaw, com laser de comprimento de onda de 514 nm e tempo de integração de 10 s. Análises com as técnicas combinadas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e de raios X por dispersão em energia (EDS) foram utilizadas para caracterizar a morfologia e topologia do material, além de sua composição elementar, com emprego de um Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM-6010LA. A quantificação do teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre do CB foi fornecida por um Analisador Elementar de CHNS da marca LECO, modelo TruSpec.

Os ensaios eletroquímicos de CV e LSV foram realizados com o uso de uma célula eletroquímica de compartimento único conectada a um potenciostato/galvanostato PGSTAT 101 da marca Metrohm controlado pelo software NOVA 2.1.6. A célula eletroquímica montada foi constituída de três eletrodos, sendo o eletrodo de trabalho de carbono vítreo (GCE) modificado, contra eletrodo de platina e eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹). Os ajustes de pH foram realizados com uso de pHmetro modelo PH-5000 da marca Instrutherm. O equipamento usado para investigar a área superficial e o volume dos poros do material foi um analisador Nova 600 BET da Anton Paar.

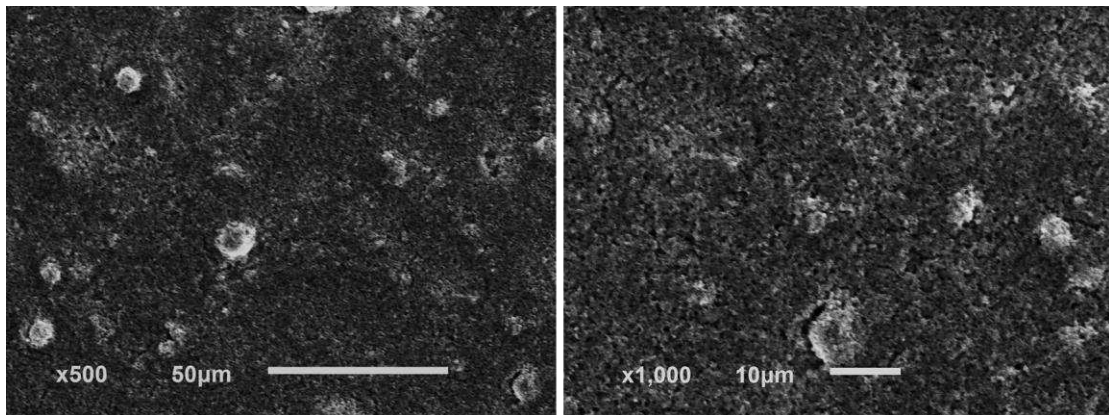
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do material

5.1.1 Análise morfológica por MEV

Para verificar a homogeneidade da distribuição e morfologia das partículas de CB foi realizada uma análise por MEV da dispersão com CB e quitosana reticulada que foi empregada para a formação do filme no eletrodo de trabalho. Nas imagens (Figura 17) é possível verificar a presença de estruturas moderadamente esféricas e rugosas de CB de tamanho próximo a 10 μm distribuídos regularmente no filme que foi formado na superfície metálica do porta-amostra circular (*stub*).

Figura 17 – Imagens de MEV obtidas para o filme de CB.



Fonte: própria autora.

5.1.2 Análise elementar por CHNS

A verificação do teor dos elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre no CB foi efetuada por análise elementar, com os resultados reunidos na Tabela 6.

Tabela 6 – Teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre obtidos por análise elementar do CB

C% (m/m)	H% (m/m)	N% (m/m)	S% (m/m)	O% (m/m)
85,8920	-0,0653	0,0315	1,2334	12,78*

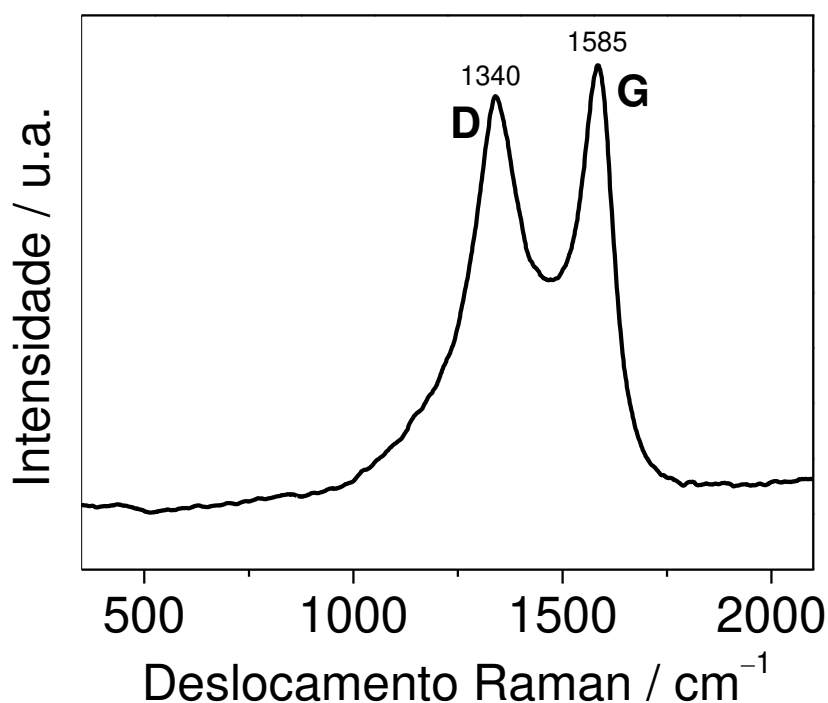
Fonte: própria autora. *Valor previsto (100 - %CHNS).

Os resultados revelaram que a amostra apresentou teores de nitrogênio e enxofre dentro dos valores reportados em publicações anteriores (0,0-0,3% em N e 0,2-1,7% em S), teor de hidrogênio abaixo dos relatados (0,1-0,7%) e teor de C notadamente abaixo dos valores encontrados na literatura, os quais foram predominantemente >95% (Hong *et al.*, 2021; Long; Nascarella; Valberg, 2013). Uma justificativa possível para o teor de carbono obtido pode ser a provável presença de grupos oxigenados no CB na origem. Com isso, a redução do conteúdo de carbono poderia estar relacionada ao aumento do conteúdo de oxigênio na estrutura aromática oxidada. Considerando que o oxigênio pode ser quimissorvido superficialmente no CB durante o processo de produção ou mesmo introduzido por meio de diferentes tratamentos, é suposto que essa característica possa ser específica da amostra que foi utilizada na análise (Ibáñez-Redín *et al.*, 2018).

5.1.3 Análise estrutural por RAMAN e FT-IR

O grau de desordem estrutural do CB utilizado foi examinado por Espectroscopia Raman, que produz dados relevantes para verificar a distorção estrutural de materiais carbonáceos. A Figura 18 apresenta o espectro Raman do CB utilizado neste trabalho.

Figura 18 – Espectro Raman obtido para o CB.

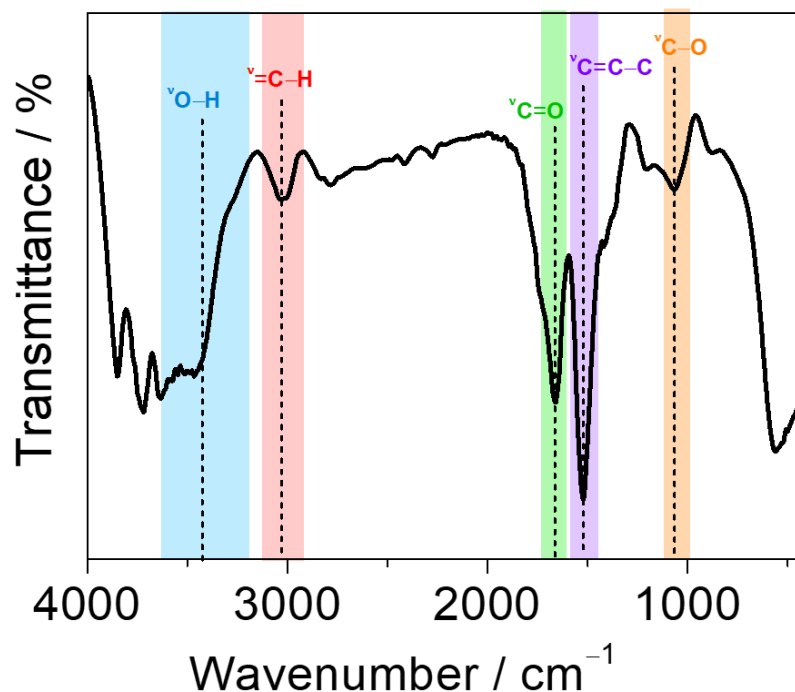


Fonte: própria autora.

O espectro do CB mostra a elevação de duas bandas bem definidas em 1340 e 1585 cm^{-1} atribuídas às bandas D e G, respectivamente. A banda G relaciona-se às vibrações dos átomos de carbono sp^2 (grafítico) conectados em um mesmo plano e a banda D refere-se às vibrações fora do plano, associadas aos defeitos na estrutura planar de carbonos (Karuppusamy *et al.*, 2022). Portanto, a proporcionalidade entre as bandas D e G oferece uma perspectiva das características estruturais que podem definir o material como mais cristalino ou mais amorfo. Diante disso, o grau de desordem do material foi estimado pela razão entre as intensidades dos picos, I_D/I_G , que resultou em 0,94, valor próximo ao reportado na literatura (Krasnova *et al.*, 2023). As unidades estruturais básicas gráficas do CB são domínios formados por 3 a 4 camadas de carbono poliaromáticos empilhadas com caráter turbostrático, ou seja, com o surgimento de superfícies não-planares ao longo de superfícies planares, o que proporciona as partículas de CB partes mais grafizadas e partes mais amorfas (Pawlyta; Rouzaud; Duber, 2015). Essa proporção confirmou, portanto, o caráter mais cristalino da amostra de CB, ainda que a razão seja próxima à unidade.

Para investigar a estrutura do CB a partir do ponto de vista das ligações químicas e grupos funcionais presentes no material, foi conduzida uma caracterização por espectroscopia FT-IR. O espectro da amostra de CB é exibido na Figura 19.

Figura 19 – Espectro FT-IR obtido para o CB.

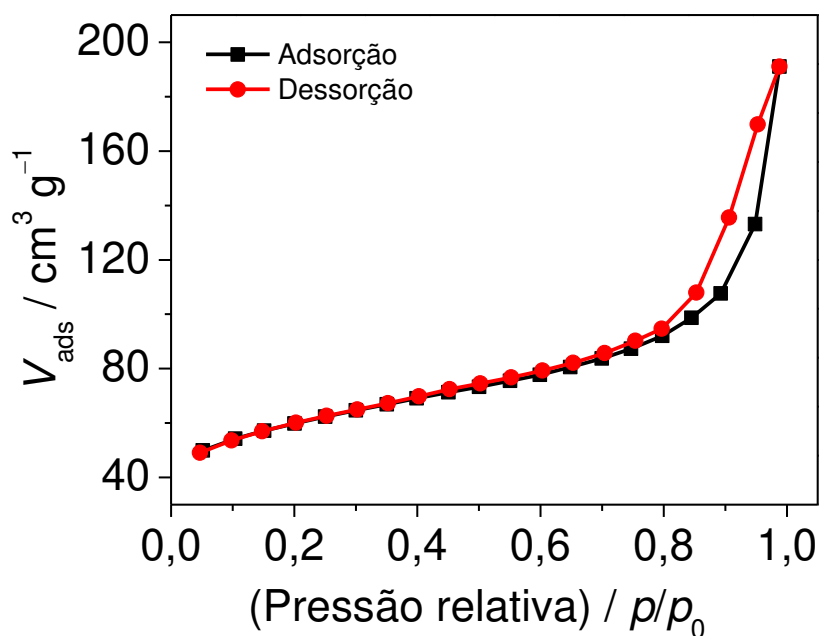


Fonte: própria autora.

O espectro de absorção no infravermelho apresentou bandas características dos grupos frequentemente presentes no CB. Observou-se uma banda ampla entre 3250 e 3600 cm^{-1} relacionada ao estiramento de grupos hidroxila, uma banda fraca em 3024 cm^{-1} associada ao estiramento das ligações =C-H de grupos vinil, ainda, uma banda forte em 1657 cm^{-1} associada ao estiramento de C=O da carbonila, uma banda fortemente aguda em 1523 cm^{-1} relacionada ao estiramento vibracional dos grupos C=C-C ressonantes em anéis aromáticos e uma banda fraca que corresponde às ligações C-O nas proximidades de 1100 cm^{-1} (Liu, 2024; Oreilly; Mosher, 1983; Zappiello *et al.*, 2016).

5.1.4 Análise de área superficial por fisissorção de nitrogênio

Informações sobre a porosidade e a área superficial do CB foram obtidas pelo método de adsorção-dessorção de nitrogênio em função da pressão relativa (Figura 20). De acordo com o modelo de Brunauer-Emmett-Teller (BET), mais apropriado para esse tipo de material (Gómez-Serrano; González-García; González-Martín, 2001), a fisissorção de N_2 no CB apresentou o tipo IV de isoterma, comum para sólidos com micro e mesoporos e área superficial de 65,1445 m^2/g , abaixo de valores reportados (Pérez-Rodríguez; Pastor; Lázaro, 2018; Yamazaki *et al.*, 2008) para esse mesmo material e que apresentaram áreas acima de 200 m^2/g . Os resultados de Pérez-Rodríguez; Pastor; Lázaro, (2018) que compararam CB com diferentes graus de funcionalização corroboraram com a suposição de diminuição da área superficial com o aumento de grupos oxigenados. Nesse tipo de isoterma nota-se um ciclo de histerese, percebido pela dessorção com padrão diferente da adsorção, que é justificado pela interação dos mesoporos do adsorvente com as moléculas do gás que leva à condensação capilar. O tipo de histerese pode ser associado ao formato dos poros, logo o ciclo de histerese percebido para o CB foi do tipo H1, correspondente a materiais mesoporosos com distribuição uniforme de poros esféricos e cilíndricos estreitos (Bardestani; Patience; Kaliaguine, 2019; Gómez-Serrano; González-García; González-Martín, 2001). O modelo de Barrett-Joyner-Halenda (BJH), baseado nas isotermas do equilíbrio de fisissorção, calcula a mudança na espessura do filme adsorvido pela diminuição da pressão relativa durante o processo de dessorção, que pode ser correlacionado ao volume e ao raio dos poros. Para a amostra de CB analisada, o volume médio de poros foi de 0,22 cm^3/g e diâmetro médio de poro de 3,07 nm, abaixo dos reportados por Pérez-Rodríguez; Pastor; Lázaro (2018) para este tipo de CB.

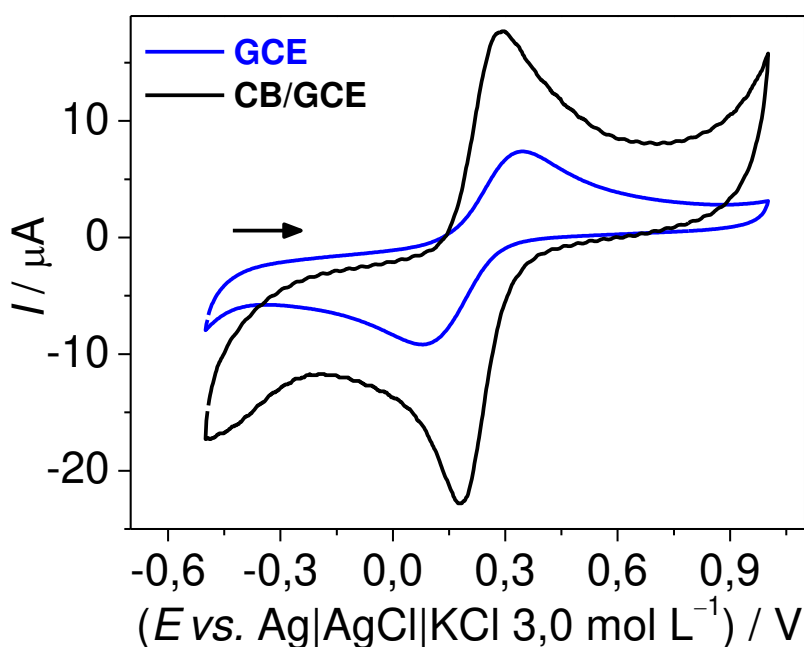
Figura 20 – Isotermas de adsorção–dessorção de N₂ a STP.

Fonte: própria autora.

5.2 Caracterização eletroquímica do sensor

Com o objetivo de investigar as características eletroquímicas do eletrodo modificado com filme de CB e obter dados capazes de fornecer indícios de possíveis mudanças em relação ao comportamento eletroquímico deste em relação ao eletrodo GCE sem modificação, foram conduzidos estudos de CV com a sonda redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, uma espécie com comportamento redox reversível relativo ao centro metálico já conhecido. A Figura 21 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados para os eletrodos GCE e CB/GCE em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo $9,90 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$.

Figura 21 – Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos GCE sem modificação (—) e CB/GCE (—) em KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo K₃Fe(CN)₆ 9,90 × 10⁻⁴ mol L⁻¹, $\nu = 50$ mV s⁻¹.



Fonte: própria autora.

Os perfis dos voltamogramas da Figura 21 evidenciam, para ambos os eletrodos, a presença de picos anódico e catódico bem definidos. Nota-se, porém, que o eletrodo modificado com filme a base de CB apresentou picos mais intensos, com um aumento de 125% na corrente de pico anódica (I_{pa}) e 137% na corrente de pico catódica (I_{pc}) em relação ao GCE não-modificado. Uma diminuição da diferença de potencial de pico (ΔE_p) de 143 mV e E_p mais energeticamente favoráveis também foram verificados para CB/GCE, evidenciando a melhor reversibilidade do processo redox pelo efeito eletrocatalítico no eletrodo modificado com CB. Comparativamente, correntes de pico mais intensas e menores valores de ΔE_p , geralmente, podem ser associados com a melhora da cinética de transferência de elétrons e maior área superficial eletroativa (Silva; Wong; Fatibello-Filho, 2020), parâmetros estes que foram calculados neste trabalho e corroboraram essa afirmação. A Tabela 7 reúne os parâmetros relativos à intensidade de correntes de pico (I_{pa} e I_{pc}), potenciais de pico (E_{pa} e E_{pc}) e diferença de potencial pico a pico (ΔE_p).

Tabela 7 – Parâmetros eletroquímicos dos eletrodos GCE sem modificação e CB/GCE obtidos por CV para $K_3Fe(CN)_6$ $9,90 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹.

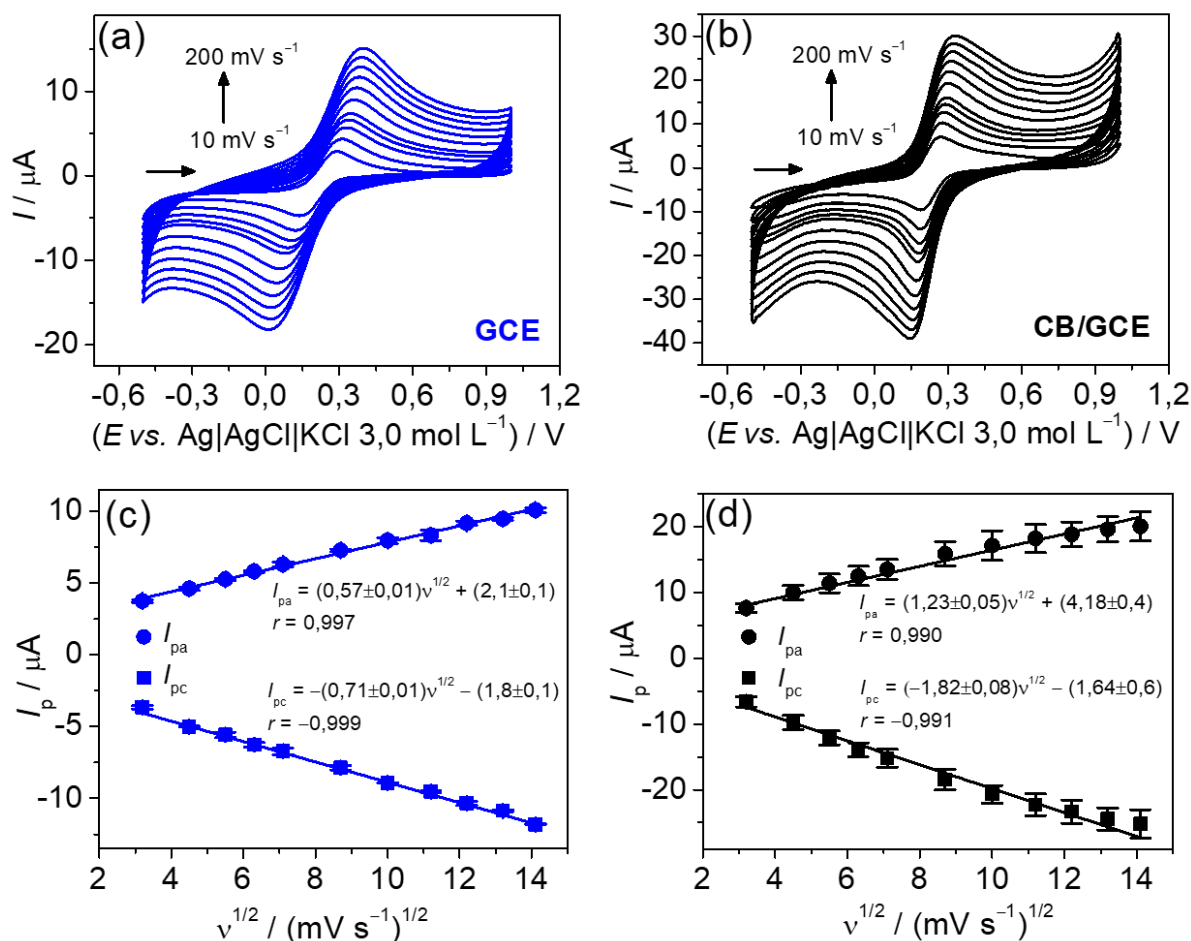
Eletrodo	I_{pa}^* (μA)	I_{pc}^* (μA)	I_{pa}/I_{pc}^* razão*	E_{pa}^* (V)	E_{pc}^* (V)	ΔE_p^* (mV)	k^0 (cm s ⁻¹)
GCE	6,32 $\pm 0,2$	- 6,72 $\pm 0,2$	0,94 $\pm 0,01$	0,34 $\pm 0,003$	0,09 $\pm 0,002$	245 $\pm 5,8$	$(7,71 \pm 0,3) \times 10^{-4}$
CB/GCE	14,24 $\pm 1,2$	-15,96 $\pm 0,5$	0,89 $\pm 0,04$	0,28 $\pm 0,002$	0,18 $\pm 0,002$	102 $\pm 0,0$	$(6,86 \pm 0,3) \times 10^{-3}$

*Dados registrados com $v = 50$ mV s⁻¹ (n = 2)

Fonte: própria autora.

Foram executados ensaios de velocidade de varredura por voltametria cíclica em uma amplitude de faixa de velocidade de 10 mV s⁻¹ a 200 mV s⁻¹ (Figure 2). Através desses estudos, foi possível confirmar que tanto no GCE quanto no CB/GCE o processo redox da sonda estudada foi controlado pelo transporte de massa difusional, fato verificado pelo incremento regular de corrente junto ao aumento da velocidade de varredura (Figura 22(a) e 22 (b)) e pela relação linear exibida entre corrente de pico (I_p) e raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) para ambas as correntes, anódica e catódica, de acordo com os gráficos apresentados nas Figuras 22 (c) e 22 (d) (Bard; Faulkner, 2001).

Figura 22 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (10 mV s⁻¹ – 200 mV s⁻¹) usando (a) GCE sem modificação (—) e (b) CB/GCE (—) em KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo K₃Fe(CN)₆ 9,90 × 10⁻⁴ mol L⁻¹. Gráficos de I_{pa} e I_{pc} vs. $v^{1/2}$ obtidos para (c) GCE sem modificação e (d) CB/GCE.



Fonte: própria autora.

Por meio do ajuste linear de I_p vs. $v^{1/2}$ foi possível também verificar maiores valores de coeficiente angular das retas de I_{pa} e I_{pc} empregando-se o CB/GCE, que sugere uma elevação da área eletroativa. O caráter difusional do transporte de massa pela relação I_p vs. $v^{1/2}$ é explicitado pela equação de Randles-Ševčík para processos reversíveis (Eq. 2):

$$I_p = \pm (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

Acima, representam-se a corrente de pico anódico ou catódico (I_p , em ampéres), o número de elétrons transferidos na reação redox (n), a área superficial eletroativa (A , em cm²), o coeficiente de difusão (D , em cm² s⁻¹), a concentração da espécie eletroativa (C , em mol

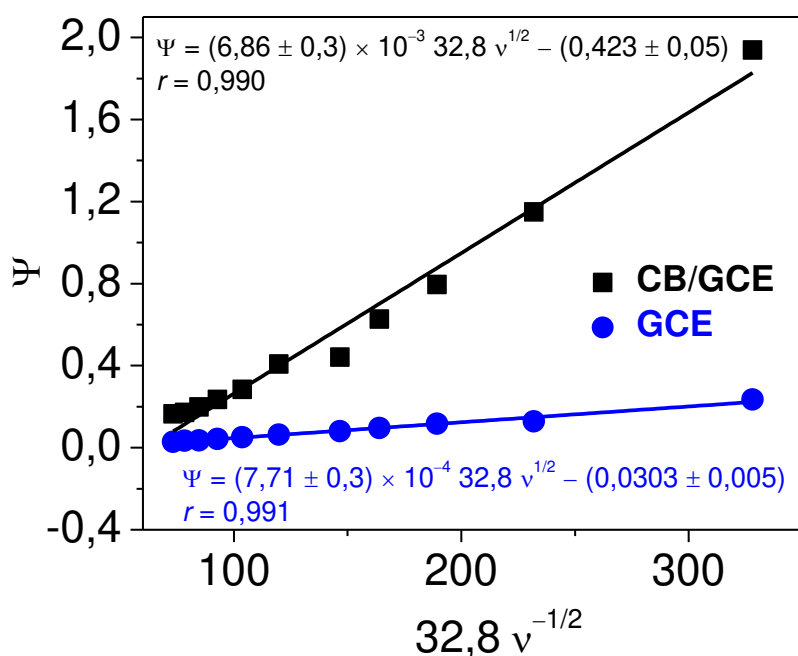
cm^{-3}) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$, em $\text{V}^{1/2} \text{s}^{-1/2}$). Com essa equação foi possível fazer uma previsão aproximada das áreas ativas dos eletrodos, considerando a média das áreas calculadas a partir das curvas de correntes de pico anódica e catódica. Considerou-se, portanto, $n = 1$ (número de elétrons transferidos entre o par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$), $D = 7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (Bard; Faulkner, 2001) e $C = 9,90 \times 10^{-7} \text{ mol cm}^{-3}$. As áreas superficiais ativas previstas foram de $0,0268 \text{ cm}^2$ e $0,0649 \text{ cm}^2$ para os eletrodos GCE e CB/GCE, respectivamente, tomando por objeto a corrente de oxidação da espécie tetravalente. Esse resultado confirma um aumento da área eletroativa em cerca de três vezes com a adição do filme de CB.

Inversamente proporcional à ΔE_p , a constante cinética de transferência heterogênea de elétrons (k^0) fornece indícios da cinética do processo redox na superfície do eletrodo. A Eq. 3 representa o método proposto por Nicholson (1965) para o cálculo de k^0 em sistemas reversíveis controlados por difusão.

$$\Psi = k^0 \left(\pi D \frac{nFv}{RT} \right)^{-1/2} \quad (\text{Eq. 3})$$

Nessa equação, além dos termos já definidos anteriormente, F representa a constante de Faraday ($96.485 \text{ C mol}^{-1}$), R representa a constante universal dos gases perfeitos ($8,313 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e T representa a temperatura do sistema, em Kelvin. Ainda, Ψ representa um parâmetro cinético que pode ser encontrado para cada velocidade de varredura, segundo o método de Lavagnini et al. (Lavagnini; Antiochia; Magno, 2004), conforme $\Delta E_p \times n$ maior ou menor que 200 mV . A partir dos valores encontrados para Ψ , foi possível construir uma curva de Ψ vs. $32,8 v^{-1/2}$, sendo $32,8$ relativo aos termos constantes da equação de Nicholson-Shain, $(\pi D n F / RT)^{-1/2}$. Dessa forma, pela análise de ajuste linear (Figura 23), k^0 foi encontrado como coeficiente angular da reta (Lavagnini; Antiochia; Magno, 2004; Silva, R. M. *et al.*, 2023b). Os valores estimados de k^0 foram $7,71 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ para o GCE e $6,86 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ para o CB/GCE (Tabela 7), mostraram que a cinética do processo redox foi mais favorecida na superfície do eletrodo CB/GCE.

Figura 23 – Gráfico de Ψ vs. $32,79 v^{-1/2}$ para o sistema redox de $K_3Fe(CN)_6$ $9,90 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} em KCl $0,1$ mol L^{-1} nos eletrodos GCE e CB/GCE.



Fonte: própria autora.

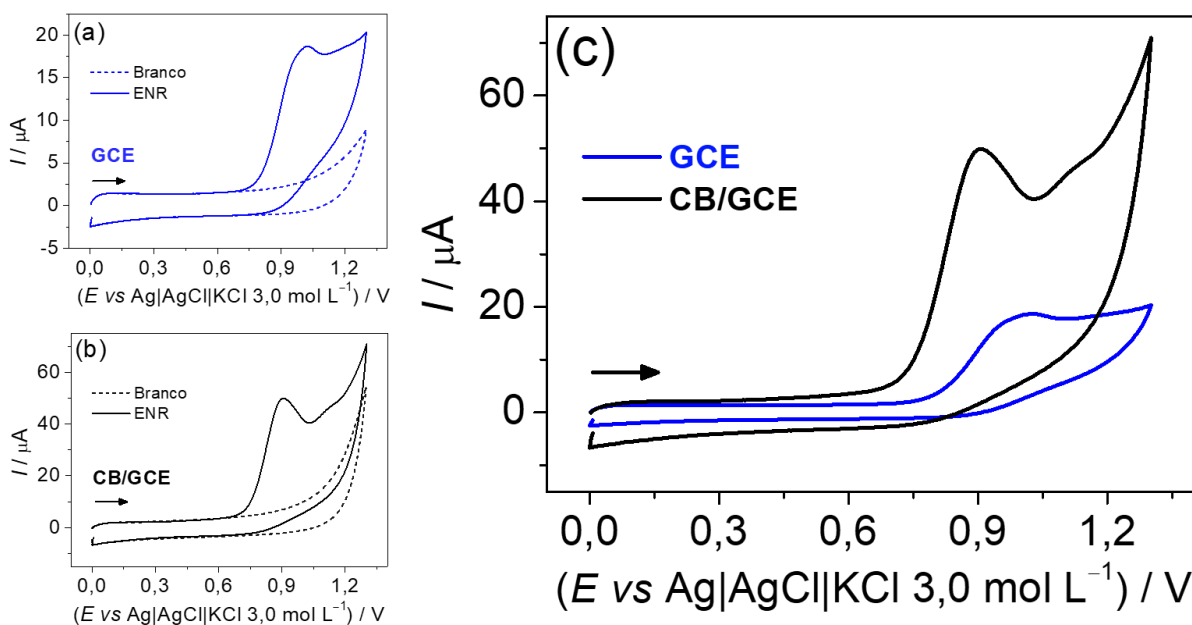
Os resultados de melhora do sinal analítico para sonda redox nos eletrodos modificados com a adição do filme de CB e CTS reticulada, em comparação com o GCE sem modificação, também foram verificados nos trabalhos reportados por Meireles et al. (2024) e por Taresh et al. (2024).

5.3 Resposta eletroquímica da enrofloxacin

O comportamento eletroquímico da ENR foi explorado por voltametria cíclica em solução de tampão fosfato $0,1$ mol L^{-1} contendo $4,76 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de ENR. Em $pH = 7,0$ (Figura 23), foram comparados os voltamogramas dos eletrodos sem e com modificação pelo filme de CB. Os voltamogramas cíclicos mostrados nas Figuras 24 (a) e 24 (b) sem a presença de ENR explicitam que não houve evidência de nenhum processo faradaico usando-se apenas a solução de tampão fosfato, de acordo com o comportamento puramente capacitivo entre eletrodo e eletrólitos suporte aguardado (Silva; Wong; Fatibello-Filho, 2020). Em contrapartida, no primeiro ciclo da voltametria na presença de ENR ocorreu o aparecimento de picos correspondentes à oxidação da espécie e ausência de picos de redução, indicando a

ocorrência de processo redox irreversível da ENR na superfície dos eletrodos GCE e CB/GCE (Do *et al.*, 2024; Doan *et al.*, 2024a, 2024b).

Figura 24 – Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos (a) GCE sem modificação (—), (b) CB/GCE (—) e (c) comparação entre ambos, em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 7,0) contendo 4,76 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ de ENR. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: própria autora.

É possível notar no perfil do voltamograma do eletrodo CB/GCE o surgimento de dois picos anódicos, sendo o primeiro, próximo ao potencial de +0,9 V e o segundo, menos acentuado, próximo ao potencial de +1,1 V. No pH = 7,0 e nesta concentração de ENR, a presença de um pico acentuado e de uma banda ampla à direita na oxidação da ENR poderia ser explicada pela possível existência de duas espécies principais no meio, o zwitterion da ENR (ENRH^\pm) e a ENR protonada (ENRH_2^+), sendo, o pico existente próximo ao potencial de +0,9 V relativo à ENRH^\pm e o pico próximo ao potencial de +1,1 V correspondente à ENRH_2^+ , admitindo que a espécie protonada necessita de mais energia para ser oxidada (Antilén *et al.*, 2017).

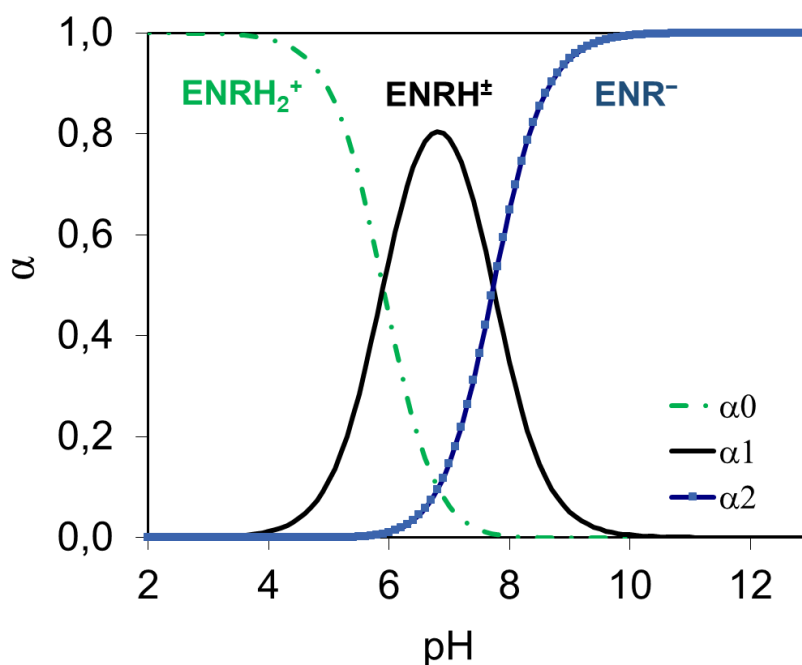
Pela observação da I_{pa} de GCE e CB/GCE próximos ao potencial de +0,9 V fica evidente, pela comparação dos perfis dos voltamogramas (Figura 24(c)), um aumento considerável da corrente de pico no CB/GCE, o que mostra o efeito eletrocatalítico pela adição do CB à superfície do eletrodo. Desse modo, I_{pa} para o GCE foi de 17,05(±0,1) μA para 47,30(±0,2) μA no caso do CB/GCE, portanto, um sinal analítico quase três vezes maior,

revelando a sensibilidade superior do eletrodo CB/GCE em relação ao eletrodo GCE sem o filme de CB para a detecção de ENR. Assim, nos estudos seguintes, o eletrodo CB/GCE foi o eletrodo de trabalho aplicado.

5.3.1 Influência do pH na oxidação da enrofloxacin

Haja vista a influência do pH da solução de eletrólitos suporte na presença de diferentes espécies neutras e carregadas de ENR, uma investigação para a otimização do pH foi realizada. Para isso, foram preparadas soluções de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ajustadas em seis diferentes valores de pH: 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0. A Figura 25 exibe o diagrama de distribuição de espécies para a ENR em relação ao pH do meio.

Figura 25 – Diagrama de distribuição de espécies (DDE) para a ENR em relação ao pH do meio.

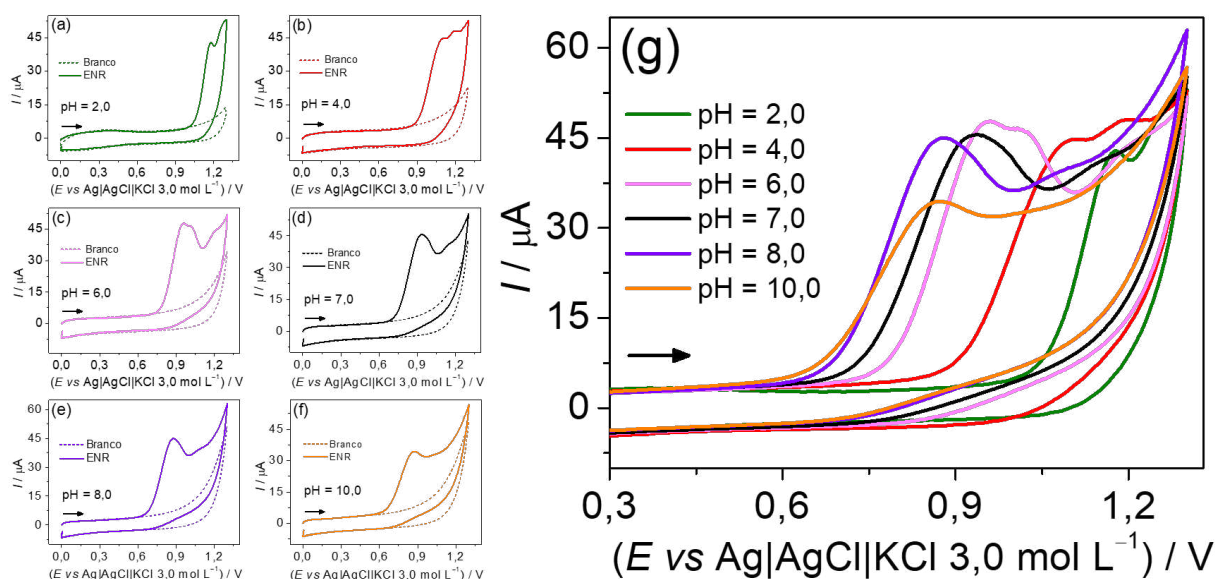


Fonte: própria autora

Os voltamogramas exibidos na Figura 26 sugerem a ocorrência de um deslocamento do pico na direção positiva do E_p com o aumento da acidez da solução de eletrólitos suporte. Nota-se também, nas soluções mais ácidas, a presença mais evidente do pico de E_p mais positivo, o que corrobora a sugestão de tratar-se da espécie protonada ENRH₂⁺, considerando

que a única variação que ocorre no meio reacional é o pH e a concentração de ENR permanece constante.

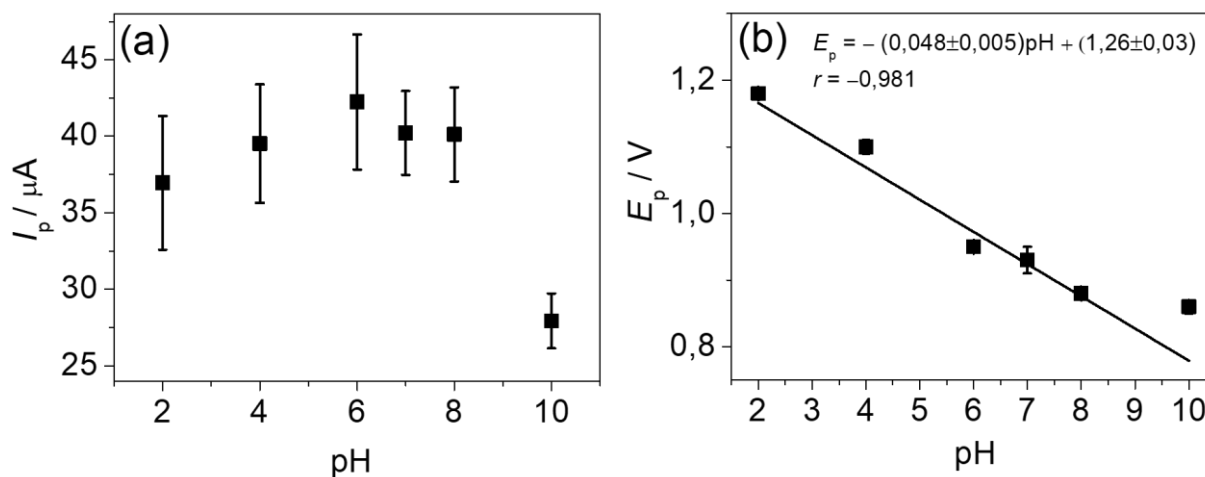
Figura 26 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo CB/GCE em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com valores de pH distintos contendo $4,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ENR. (a) pH = 2,0; (b) pH = 4,0; (c) pH = 6,0; (d) pH = 7,0; (e) pH = 8,0; (f) pH = 10,0 e (g) comparação entre os voltamogramas obtidos na presença de ENR. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: própria autora.

Com a finalidade de avaliar a influência do pH da solução de eletrólito suporte sobre a intensidade da corrente de pico e o potencial do pico de oxidação da ENR, foram relacionados na Figura 27 os parâmetros I_p vs. pH e E_p vs. pH. Na Figura 27 (a) é possível notar uma tendência decrescente de I_p em relação ao aumento da acidez da solução, uma possível estabilidade em pH próximos ao meio neutro e uma queda considerável de corrente de pico em solução mais básica (pH = 10,0), que pode ser justificada pela quase ausência de ENRH^\pm neste pH. O aumento da fração molar de ENRH^\pm até o máximo em pH próximo de 6,0-7,0 (Figura 25) pode ser o motivo que explica o aumento de I_p em função do aumento de pH, até o começo da presença da espécie ENR^- na solução. A presença dos grupos COO^- e $(\text{NH})^+$, por suposto, poderia criar uma atração eletrostática entre as moléculas de ENRH^\pm que seria responsável pelo movimento de mais moléculas ENRH^\pm à superfície do eletrodo, aumentando o sinal analítico. Diante disso, essa melhora da I_p não seria verificada em valores de pH onde as espécies ENRH_2^+ e ENR^- são predominantes por, justamente, não proporcionarem esse tipo de atração entre as moléculas do analito (Do *et al.*, 2024).

Figura 27 – Gráficos de (a) I_{pa} vs. pH e (b) E_{pa} vs. pH obtidos dos voltamogramas cíclicos registrados com CB/GCE em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como pH variável contendo $4,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ENR. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: própria autora.

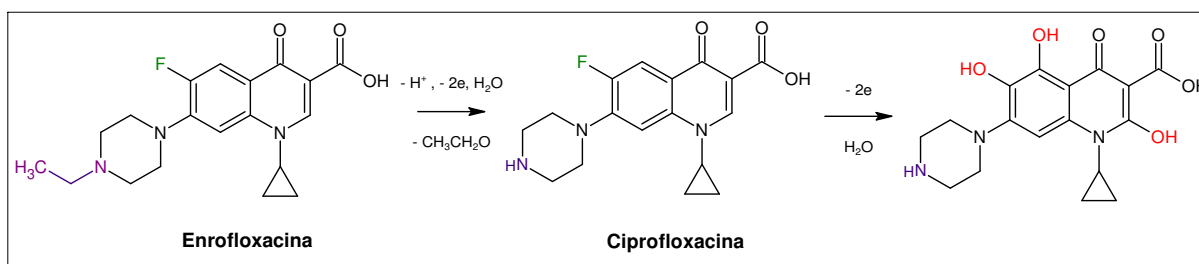
A associação do pH aos E_p (Figura 27 (b)) revelou, presumidamente, uma tendência de favorecimento da oxidação da ENR com o aumento do pH, devido à diminuição dos potenciais de pico e sugeriu, ainda, o início de uma possível estabilização de E_p a partir de pH 8,0. Adicionalmente, a equação dada pelo ajuste linear, $E_p = (-0,048 \pm 0,005)\text{pH} + (1,26 \pm 0,03)$, forneceu um coeficiente angular de $-0,048 \text{ V/pH}$, cujo valor é próximo ao valor teórico estabelecido pela equação de Nernst para processos envolvendo números iguais de elétrons e prótons ($-0,059 \text{ V/pH}$), exibido na Eq. 4 (Doan *et al.*, 2024b; Karuppusamy *et al.*, 2022).

$$E_p = -\left(\frac{0,0592m}{n}\right)\text{pH} + b \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde, m representa o número de prótons, n representa o número de elétrons envolvidos na oxidação da ENR e b é o coeficiente linear. Estudos anteriores sugerem que a oxidação da ENR ocorre com o envolvimento de 4 elétrons e 4 prótons (Antilén *et al.*, 2017; Canales; Peralta; Antilen, 2019; Doan *et al.*, 2024b; Karuppusamy *et al.*, 2022). O mecanismo das reações é estruturado no esquema da Figura 28. Nessa representação, o átomo de carbono alfa do grupo etil ligado a piperazina perde 2 elétrons e libera, imediatamente, um acetaldeído. O produto formado nesse passo, a ciprofloxacina (metabólito ativo da ENR) participa da

segunda oxidação, que envolve a perda de mais 2 elétrons e a consequente formação de uma espécie trihidroxilada (Antilén *et al.*, 2017; Canales; Peralta; Antilen, 2019; Doan *et al.*, 2024b; Karuppusamy *et al.*, 2022).

Figura 28 – Possível mecanismo da oxidação da ENR.



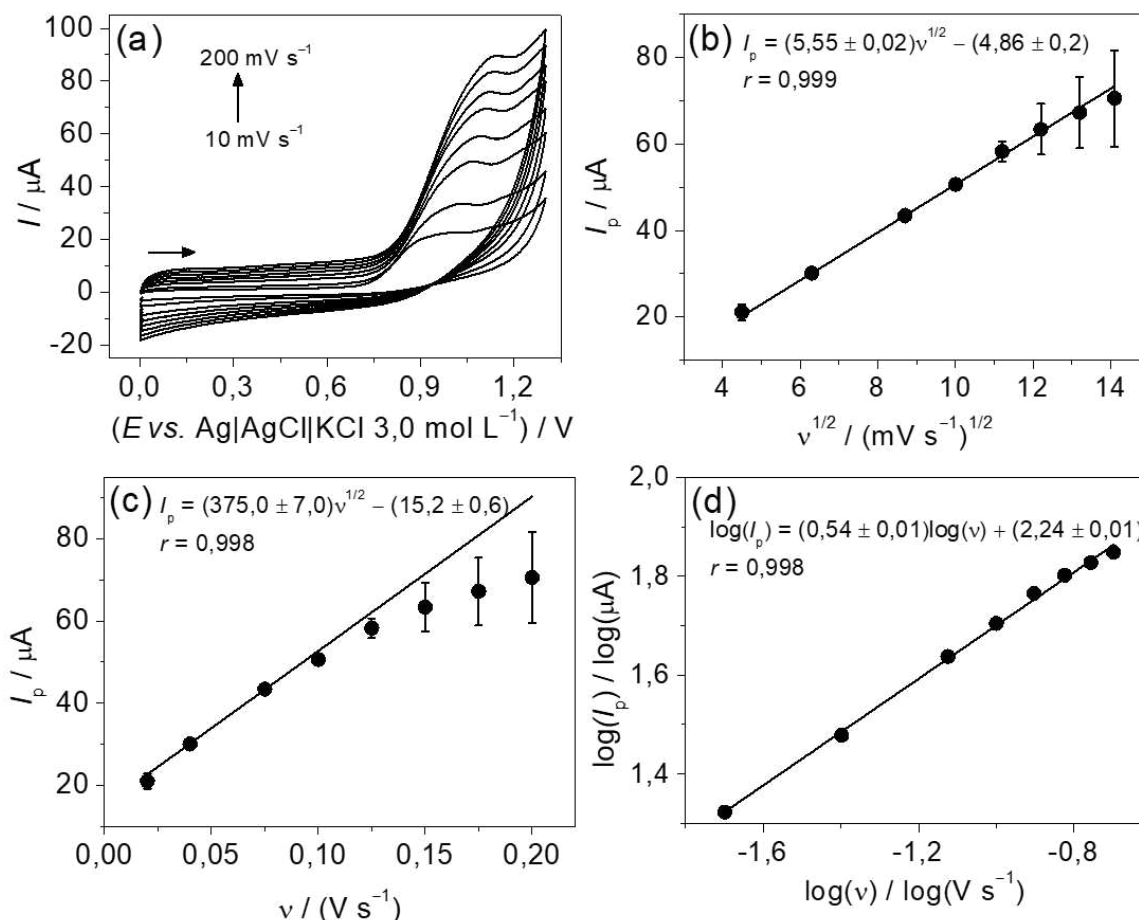
Fonte: de Faria et al., (2021), adaptado.

Logo, foram considerados os perfis do pico de oxidação da ENR apresentados pelos voltamogramas de CV, menores valores de E_p e maiores intensidades de I_p para a escolha do pH da solução de eletrólito suporte mais adequado à aplicação do método, pelo qual optou-se pelo pH = 7,0.

5.3.2 Estudos de velocidade de varredura para a oxidação da ENR

Para entender melhor a dinâmica e a cinética do processo de transferência de elétrons na oxidação da ENR sobre a superfície do CB/GCE foram realizados estudos de variação da velocidade de varredura entre 10–200 mV s^{-1} , por técnica de CV, com concentração fixa de $4,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ENR em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 7,0 (Figura 29). A partir desses dados foi possível construir correlações lineares entre os parâmetros corrente de pico e velocidade de varredura que serviram para interpretar o comportamento da ENR.

Figura 29 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos com o CB/GCE em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0) contendo $4,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ENR em diferentes velocidades de varredura (10 mV s^{-1} – 200 mV s^{-1}). Gráficos de (b) I_{pa} vs. $v^{1/2}$, (c) I_{pa} vs. v e (d) $\log I_{pa}$ vs. $\log v$.



Fonte: própria autora.

A Figura 29 (a) exibe os voltamogramas cíclicos obtidos para cada uma das oito velocidades de varredura aplicadas. Notadamente, o pico da corrente anódica aumentou gradualmente com o acréscimo da velocidade de varredura, um comportamento esperado, considerando que em maiores velocidades de varredura a oxidação do analito ocorre em regiões mais próximas à superfície do eletrodo (Antilén *et al.*, 2017). É possível verificar na Figura 29 (b) que houve uma correlação linear ($r = 0,999$) entre I_p e $v^{1/2}$, o que corresponde ao controle da corrente de pico pelo processo de transporte de massa da ENR até a superfície do eletrodo por difusão (Bard; Faulkner, 2001). No gráfico de I_p vs. v (Figura 29 (c)) não foi possível determinar uma correlação linear satisfatória entre todas as medidas, o que significa que não houve influência considerável de moléculas do analito adsorvidas na superfície do

eletrodo (Bond *et al.*, 2010). A Figura 29 (d) exibe a correlação linear entre o logaritmo decimal da velocidade de varredura, $\log v$, e o logaritmo decimal da corrente de pico anódica, $\log I_p$. A equação linear correspondente apresentou coeficiente de correlação próximo à unidade e coeficiente angular experimental de 0,54, próximo ao valor teórico de 0,5 esperado para processos redox controlados por difusão, o que reafirmou o controle majoritariamente difusional do processo redox da ENR, sem a ocorrência de reações superficiais consideráveis nos limites de velocidade de varredura analisados (Antilén *et al.*, 2017).

Portanto, para a previsão de k^0 no sistema de oxidação da ENR na superfície do eletrodo, a equação de Nicholson-Shain (Nicholson; Shain, 1964) para reações anódicas irreversíveis controladas por difusão foi aplicada (Eq. 5):

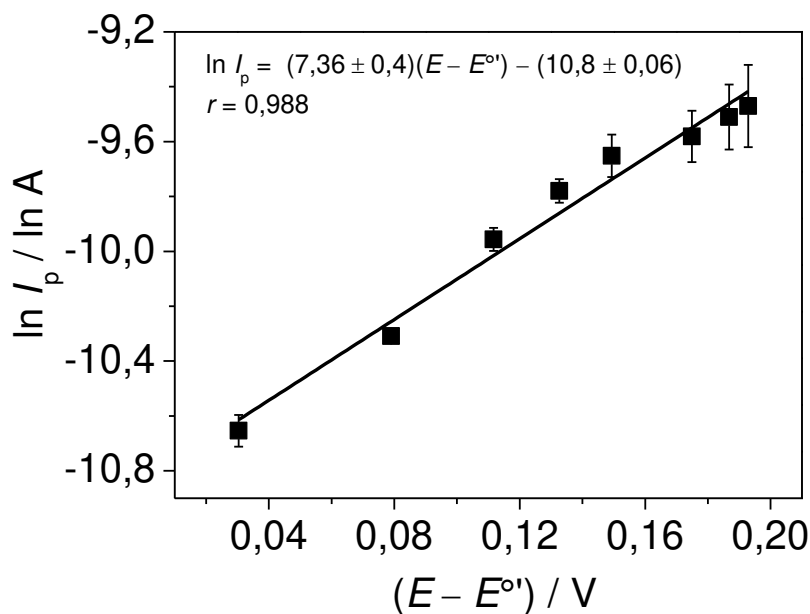
$$I_p = 0,227nFAck^0 \exp \left[\left(\frac{\alpha n F}{RT} \right) (E_p - E^{o'}) \right] \quad (\text{Eq. 5})$$

Nesta, I_p corresponde à corrente do pico anódico, n ao número de elétrons que participam da reação de oxidação ($n = 2$), F é a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), A representa a área superficial do eletrodo ($7,07 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$), c é a concentração de ENR ($4,76 \times 10^{-7} \text{ mol cm}^{-3}$), α é o coeficiente de transferência, R é a constante universal dos gases ($8313 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T é a temperatura ($298,15 \text{ K}$), E_p (em V) representa o potencial de pico encontrado experimentalmente para cada velocidade de varredura e $E^{o'}$ é o potencial formal. A forma linearizada da equação é obtida aplicando-se o logaritmo natural, conforme a Eq. 6.

$$\ln I_p = \ln(0,227nFAck^0) + \left[\left(\frac{\alpha n F}{RT} \right) (E_p - E^{o'}) \right] \quad (\text{Eq. 6})$$

Logo, foi possível construir graficamente a relação linear entre I_p vs $(E_p - E^{o'})$ a partir dos dados experimentais das CV de cada velocidade de varredura para encontrar o valor do coeficiente linear ($\ln(0,227nFAck^0)$) da curva. Para isso, foi considerada a condição de $I = 0,82 I_p$ para a obtenção dos valores de $E^{o'}$ em cada velocidade e, então, utilizou-se a média entre esses valores na subtração que representa o eixo x . A Figura 30 exibe o gráfico de I_p vs $(E_p - E^{o'})$ e a respectiva equação linear.

Figura 30 – Gráfico de I_p vs $(E_p - E^\circ)$ para a oxidação de $4,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ENR no eletrodo CB/GCE em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0).



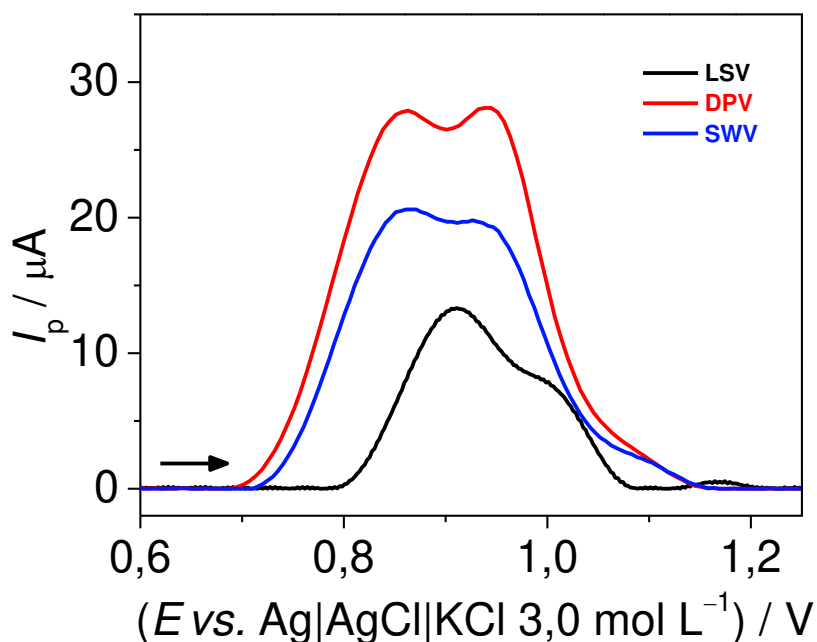
Fonte: própria autora.

Com a definição do coeficiente linear da relação, foi possível rearranjar o termo inicial da Eq. 6 para calcular k^0 , que correspondeu a $1,33 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$. Ressalta-se que, pela concentração de ENR empregada nos estudos de velocidade e pelos valores de E_p obtidos, a constante encontrada é referente à segunda oxidação da ENR, portanto, a oxidação da CIP.

5.4 Seleção da técnica voltamétrica

Conforme elucidado em seções anteriores, as técnicas de voltametria têm características inerentes ao seu tipo de leitura. No entanto, o exame experimental do comportamento redox do analito frente a técnicas diferentes e a variações de parâmetros de entrada é fundamental para otimizar a análise. Nesse sentido, o trabalho proposto avaliou a resposta analítica do sensor CB/GCE sob a aplicação de três técnicas voltamétricas: DPV, SWV e LSV. É possível notar, na Figura 31, um perfil bem distinto entre os voltamogramas de cada técnica para ENR em concentração de $4,39 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com correção da linha de base.

Figura 31 – Comparação dos voltamogramas obtidos com o eletrodo CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 7) contendo ENR 4,39 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ pelas técnicas (—) LSV ($\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$), (—) DPV ($\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$; amplitude de modulação = 100 mV; tempo de modulação = 0,02 s) e (—) SWV (frequência = 10 Hz; amplitude de modulação = 90 mV; incremento de potencial = 5 mV).



Fonte: própria autora.

Os ensaios para verificar a correspondência entre concentração de ENR na solução e corrente de oxidação com o emprego de cada técnica foram executados com adições consecutivas de uma solução-estoque de ENR à célula eletroquímica, que variaram a concentração da solução na célula na faixa entre $4,98 \times 10^{-6}$ a $9,17 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O APÊNDICE B e o APÊNDICE C exibem os voltamogramas e os pontos das adições de ENR para DPV e SWV, respectivamente. Ainda que tenham exibido correntes de pico mais intensas em comparação com a LSV, tanto os ensaios com DPV quanto os ensaios com SWV mostraram resultados insatisfatórios quanto à correspondência da variação da corrente em relação ao aumento da concentração de ENR, correspondência essa que foi notada fortemente nos ensaios realizados com LSV. Com as duas técnicas de pulso não foi possível desenvolver uma curva analítica aceitável para o CB/GCE, considerando os padrões de ajuste linear adequados para um método analítico. Uma possível explicação para esse fenômeno é fornecida pela discussão aprofundada de Canales; Peralta; Antilen (2019), que compararam a resposta de um GCE para a determinação de ENR com o emprego de CV e SWV. Os ensaios comparativos abarcaram uma faixa de concentração entre 30,0 e 300,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ENR em

solução de eletrólito suporte de tampão fosfato-salino com $\text{pH} = 7,0$. Em concordância com os ensaios descritos nesta dissertação, os pesquisadores relataram que a análise de concentrações variáveis de ENR por SWV não demonstraram uma resposta linear em concentrações acima de $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Canales; Peralta; Antilen (2019) justificaram a ocorrência desse comportamento pela provável saturação do eletrodo de trabalho que causou a diminuição da disponibilidade de sítios ativos na superfície do eletrodo, efeito que se tornou mais evidente com as condições de leitura da técnica SWV. Logo, foi suposto que o transporte difusional não foi suficiente para retornar o analito oxidado ao seio da solução, o que limitou o aumento da corrente faradaica com o aumento da concentração de ENR. Os pesquisadores relataram ainda que observaram uma corrente limitante a partir de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, o que pode corroborar o declínio considerável da I_p no voltamograma relativo à concentração de $3,54 \times 10^{-4} \text{mol L}^{-1}$ observado nas análises por SWV desta dissertação. Os ensaios com CV, no entanto, mostraram uma resposta diretamente proporcional das variáveis.

Em relação aos dois picos de oxidação, foi notado um padrão interessante nos voltamogramas de DPV e SWV (Figura 31). Nas duas técnicas, em concentrações abaixo de $2,68 \times 10^{-4} \text{mol L}^{-1}$ o primeiro pico, com E_p próximo a $+0,85 \text{ V}$, apresentou corrente de pico mais elevada que o segundo pico, com E_p próximo a $+0,95 \text{ V}$. Com o aumento da concentração de ENR, a partir desse ponto, foi observado então um nivelamento entre as correntes de pico de ambos os picos, nas concentrações entre $3,54 \times 10^{-4}$ a $4,39 \times 10^{-4} \text{mol L}^{-1}$ na DPV e entre $3,54 \times 10^{-4}$ a $5,22 \times 10^{-4} \text{mol L}^{-1}$ na SWV. Nas concentrações acima dessas, o segundo pico passou a exibir maiores I_p para ambas as técnicas.

Essa alternância de aumento de I_p entre os picos também pode ser explicada por um apontamento de Canales; Peralta; Antilen (2019). Os pesquisadores recordaram que a eletro-oxidação da ENR é um processo de dois passos, no qual primeiramente a ENR é oxidada à CIP, que é então oxidada ao produto final trihidroxilado. Portanto, o aparecimento desses dois picos poderia ser atribuído à oxidação da ENR e à oxidação da CIP, respectivamente. Propuseram, a partir dessa observação, que as duas espécies competem para ser oxidadas na superfície do eletrodo, sendo a ENR mais suscetível à oxidação. Logo, em concentrações menores, ocorreria somente a oxidação da ENR, sendo notado o aparecimento de dois picos na faixa entre $100,0$ a $250,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os pesquisadores propuseram que pode haver duas explicações para o aparecimento de somente um pico nas leituras de concentrações menores: a de que a passagem de $\text{ENR} \leftrightarrow \text{CIP}$ ocorre com uma velocidade de reação maior ou que o sinal de oxidação da CIP ao produto trihidroxilado é bem menor e não reconhecível devido à capacitância do sistema ou a evolução do oxigênio da solução.

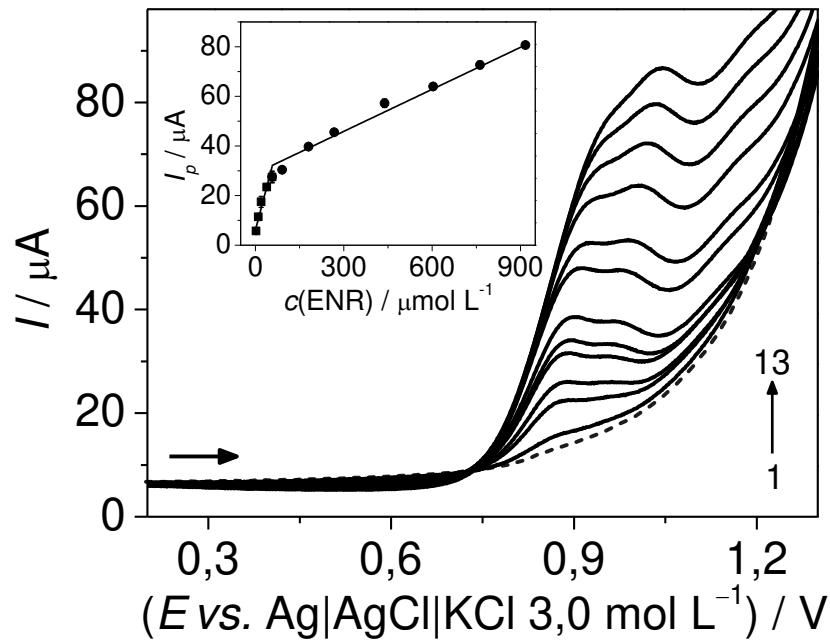
Tendo em conta as explicações de Canales; Peralta; Antilen (2019) e a observação do comportamento da corrente de oxidação da ENR com as técnicas de DPV e SWV, há evidências para a suposição de que, neste estudo, o pico único visível nas concentrações menores seria relacionado a oxidação da ENR à CIP e que o segundo pico, que se torna cada vez mais visível com o aumento da concentração de ENR, seja relacionado à oxidação da CIP ao produto trihidroxilado. Logo, considerando essas suposições, optou-se pela continuidade dos estudos seguintes com a técnica de LSV, que mostrou melhores parâmetros de correspondência das variáveis e ajuste linear mais adequado.

5.5 Determinação de ENR por LSV

Com a constatação da técnica voltamétrica mais adequada para a análise da oxidação da ENR com o eletrodo CB/GCE, seguiram-se estudos referentes a variação da concentração do analito na célula para a construção da curva analítica. Alíquotas de solução-padrão de ENR foram pipetadas na solução em intervalos regulares, intercalados com 1 minuto de agitação mecânica entre cada leitura. As concentrações de ENR na célula variaram na faixa de $2,5 \times 10^{-6}$ a $9,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, conforme expresso na Figura 32. Observou-se, portanto, uma correspondência linear entre a corrente de pico anódica e a concentração de ENR na célula em duas faixas distintas, o que pode ser verificado na inserção da Figura 32. A percepção de duas faixas lineares de resposta para a ENR já era conjecturada pela avaliação de estudos de determinação eletroquímica desse analito e de outras fluoroquinolonas na literatura (Doan *et al.*, 2024a; Lu *et al.*, 2021; Meireles *et al.*, 2024; Yu; Yang; Yang, 2024). As faixas lineares correspondentes foram de $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $57 \mu\text{mol L}^{-1}$ (■) e $57 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $920 \mu\text{mol L}^{-1}$ (●), condicionadas pelas equações das regressões lineares subsequentes (Eq. 7 e Eq. 8, respectivamente).

Figura 32 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o CB/GCE em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0) contendo diferentes concentrações de ENR: (1) 0,0 (branco), (2) $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, (3) $9,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, (4) $19,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, (5) $38,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, (6) $56,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, (7) $90,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, (8) $180,2 \mu\text{mol L}^{-1}$, (9) $267,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, (10) $438,6 \mu\text{mol L}^{-1}$,

(11) $603,4 \mu\text{mol L}^{-1}$, (12) $762,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (13) $916,7 \mu\text{mol L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Inserção: curva analítica correspondente.



Fonte: própria autora.

$$I_p / \mu\text{A} = (0,45 \pm 0,04)c(\text{ENR}) / \mu\text{mol L}^{-1} + (6,08 \pm 1,4), r = 0,990 \quad (\text{Eq. 7})$$

$$I_p / \mu\text{A} = (0,056 \pm 0,001)c(\text{ENR}) / \mu\text{mol L}^{-1} + (28,9 \pm 1,2), r = 0,998 \quad (\text{Eq. 8})$$

Os coeficientes angulares apresentados em Eq. 7 ($0,45 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$) e Eq. 8 ($0,056 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$) mostram sensibilidade maior do sensor na primeira faixa de concentração da curva. Os valores de $r = 0,990$ e $r = 0,998$ evidenciaram uma correlação forte entre concentração de ENR e corrente de pico anódica no sensor proposto. Os coeficientes de determinação, encontrados no ajuste linear das curvas, indicam que o modelo explica a variação da concentração pela variação da corrente em aproximadamente 97,4% na primeira faixa e 99,6% na segunda faixa de concentração. Com os dados da primeira faixa da curva analítica, que abrange menores concentrações de ENR na amostra, foi possível calcular uma estimativa de LOD e LOQ para método proposto, seguindo as fórmulas apresentadas em Eq. 9 e Eq. 10.

$$LOD = \frac{3 \times SD}{s} \quad (\text{Eq. 9})$$

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{s} \quad (\text{Eq. 10})$$

Acima, SD representa o desvio-padrão de 10 medidas consecutivas sem a adição do analito de interesse e s representa o coeficiente angular da primeira faixa da curva ($0,45 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$). A partir desses cálculos o LOD obtido foi de $2,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o LOQ foi de $6,84 \mu\text{mol L}^{-1}$. Este resultado sinaliza que o método proposto para determinação eletroquímica da ENR foi capaz de determinar a ENR com sensibilidade em duas faixas lineares, ainda que o limite de detecção não sejam tão baixo quanto os de outros métodos na literatura, que empregam nanopartículas metálicas e materiais carbonáceos reconhecidamente mais condutivos (Tabela 8). No entanto, é notável a diminuição do LOD em comparação aos trabalhos que utilizaram somente o GCE, sem filmes modificadores (Antilén *et al.*, 2017; Canales; Peralta; Antilen, 2019). Isso contribui para poder afirmar que o sensor proposto já exhibe uma melhora considerável na determinação de ENR, mesmo com uma modificação relativamente simples. Somam-se como vantagens a fabricação simples e rápida do filme, a adoção de material condutivo de baixíssimo custo e em fração ínfima na composição da dispersão modificadora, a utilização de reagentes mais amigáveis ao meio ambiente na confecção do filme (quitosana), além de não gerar mais gastos energéticos adicionais na síntese do material modificador, visto que o CB já é um material fabricado em escala industrial e facilmente disponível para compra.

Tabela 8 – Métodos voltamétricos de determinação da ENR reportados na literatura.

Eletrodo	Técnica	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostras	Referência
CoCH-6 h/GCE ^a	Cronoamp.	0,5–65	Carne suína	Yu et al. (2024)
Fe ₃ O ₄ NPs/MWCNTs/ CPE ^b	DPV	0,1–10	Ovos, leite, frango e mel	Khaloo et al. (2015)
GCE	CV	30–300	Solo	Antilén et al. (2017)
GCE	CV; SWV	3,0–10	Solo	Canales et al. (2019)
CW/RGO/GCE ^c	CV	0,001–115	Leite, água de rio	Karuppusamy et al (2022)
CB/GCE	LSV	2,5–57; 57– 920	Água de rio, leite e mel	Este trabalho

^a Carbonato de cobalto 6h de aquecimento/Eletrodo de carbono vítreo; ^b Nanopartículas de óxido de ferro (II,III)/Nanotubos de carbono multicamadas/Eletrodo de pasta de carbono; ^c Tungstato de cálcio/Óxido de grafeno reduzido/Eletrodo de carbono vítreo.

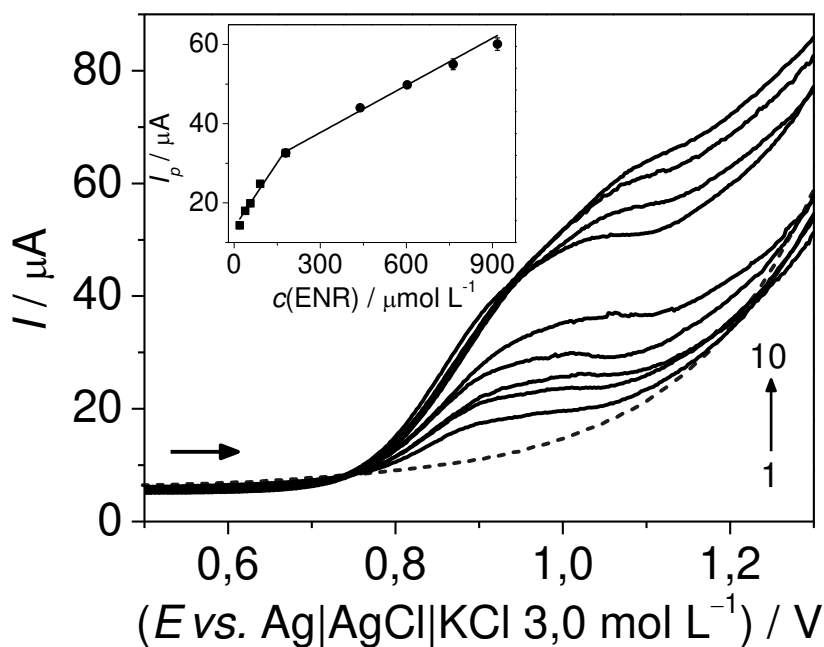
5.6 Determinação de ENR em amostras de água de rio, leite e mel

Para atestar a confiabilidade do sensor eletroquímico desenvolvido para a determinação de ENR, foram eleitas amostras de água natural e produtos alimentícios minimamente processados. Selecionou-se uma amostra de água de rio filtrada, uma amostra de leite UHT comercial e uma amostra de mel de abelhas também vendida comercialmente. Ensaios de recuperação da ENR nas amostras consideradas evidenciaram que a curva analítica previamente proposta se mostrou adequada para a determinação de ENR adicionada à água de rio. Por outro lado, a complexidade das amostras de leite e mel exigiram que fosse desenvolvida uma curva analítica matrizada específica para cada uma, visto que os ensaios prévios de recuperação da ENR nessas matrizes não foram satisfatórios.

O desenvolvimento da curva analítica das amostras contendo leite foi seguido conforme explicitado anteriormente nos ensaios da curva analítica de ENR em solução aquosa

de tampão fosfato. Alíquotas com quantidade de matéria crescente foram adicionadas na amostra, com leitura instrumental após cada adição e agitação mecânica antes de cada leitura. A Figura 33 exibe o perfil dos voltamogramas de varredura linear e a curva analítica resultante, seguida pelas equações de regressão linear das duas faixas de concentração, menor (Eq. 11) e maior (Eq. 12).

Figura 33 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o CB/GCE em amostra de leite diluída em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$), em 1:9 (v/v), contendo diferentes concentrações de ENR: (1) $0,0$ (branco), (2) $19,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (3) $38,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (4) $56,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (5) $90,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (6) $180,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (7) $438,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (8) $603,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (9) $762,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e (10) $916,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Inserção: curva analítica correspondente.



Fonte: própria autora.

$$I_p / \mu\text{A} = (0,11 \pm 0,008)c(\text{ENR}) / \mu\text{mol L}^{-1} + (13,8 \pm 0,6), r = 0,991 \quad (\text{Eq. 11})$$

$$I_p / \mu\text{A} = (0,040 \pm 0,001)c(\text{ENR}) / \mu\text{mol L}^{-1} + (25,8 \pm 0,8), r = 0,998 \quad (\text{Eq. 12})$$

Seguindo a tendência da curva analítica da Figura 30, duas faixas de resposta linear foram obtidas: $19,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $180,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (■) e $180,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $916,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (●). Os coeficientes angulares de Eq. 11 e Eq. 12 mostraram maior sensibilidade do método na faixa de menor concentração da curva, assim como verificado apenas em tampão. Ainda que a

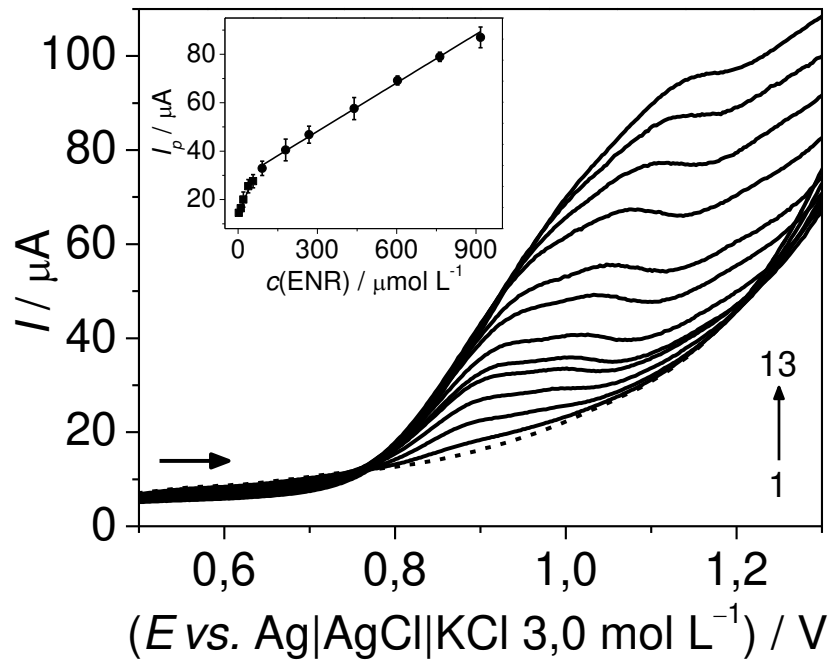
sensibilidade do sensor tenha decaído nas amostras de leite, conforme o esperado considerando as características dessa matriz, foi possível verificar um ajuste satisfatório do modelo em ambas as faixas de concentração, sendo, 97,7% na primeira faixa e 99,5% na segunda faixa. A correlação entre as variáveis foi forte nos dois seguimentos da curva ($r = 0,991$ e $r = 0,998$, respectivamente), afirmando a correspondência entre concentração de ENR e corrente de pico. Os limites de detecção e quantificação foram calculados conforme Eq. 9 e Eq. 10 e apresentaram valores de $5,20 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $17,3 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Conforme exibido na Tabela 5, a regulamentação nº37/2010 da União Européia (The European Commission, 2010) estabelece que o limite residual máximo da soma de ENR e CIP em amostras de leite de vacas é de $100 \mu\text{g/kg}$, enquanto a FDA não regulamenta um limite específico de ENR para esse alimento (Food and Drug Administration; Department of Health and Human Services, 2024a). No Brasil, a Instrução Normativa nº17, de 31 de maio de 2013, apresentada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para a regulação das quantidades de contaminantes e resíduos em matrizes de origem animal (Brasil, 2013) estabelece o limite de $100 \mu\text{g/L}$ de ENR e CIP somados. Considerando o valor estimado de densidade relativa do leite desnatado como $1,035 \text{ g/mL}$ (Agência Embrapa de Informação Tecnológica - Ageitec, 2021) os limites podem ser convertidos para $2,06 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (União Européia) e $2,78 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (Brasil), ambos valores abaixo do LOD calculado para a curva analítica da amostra de leite. Logo, é possível concluir que somente concentrações de ENR que sejam a partir de uma década maior que os limites máximos permitidos pelos órgãos regulamentadores poderiam ser adequadamente determinadas pelo método proposto, até o limite da segunda faixa da curva analítica.

A curva analítica do mel de abelhas (Figura 34) foi construída seguindo a mesma metodologia de adições consecutivas de ENR relatada nas curvas anteriormente exibidas. Essa curva também apresentou dois segmentos lineares, sendo um na faixa entre $2,5\text{--}56,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ (■) e o outro na faixa entre $90,9\text{--}916,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ (●). As equações do ajuste linear de ambas as faixas são exibidas na Eq. 13 e Eq. 14, respectivamente.

Figura 34 – Voltamogramas de varredura linear obtidos com o eletrodo CB/GCE em amostra de mel completada com solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0), em 1:20 (m/v), contendo diferentes concentrações de ENR: (1) 0,0 (branco), (2) $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, (3) $9,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, (4) $19,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, (5) $38,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, (6) $56,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, (7) $90,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, (8) $180,2$

$\mu\text{mol L}^{-1}$, (9) $267,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, (10) $438,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, (11) $603,4 \mu\text{mol L}^{-1}$, (12) $762,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (13) $916,7 \mu\text{mol L}^{-1}$. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Inserção: curva analítica correspondente.



Fonte: própria autora.

$$I_p / \mu\text{A} = (0,26 \pm 0,02)c(\text{ENR}) / \mu\text{mol L}^{-1} + (13,9 \pm 0,3), r = 0,992 \quad (\text{Eq. 13})$$

$$I_p / \mu\text{A} = (0,067 \pm 0,002)c(\text{ENR}) / \mu\text{mol L}^{-1} + (28,1 \pm 0,9), r = 0,998 \quad (\text{Eq. 14})$$

A partir da observação dos coeficientes angulares de Eq. 13 e Eq. 14 notou-se uma maior sensibilidade do método na faixa de menor concentração da curva, seguindo a tendência percebida nas curvas das amostras de água de rio e de leite. A sensibilidade também decaiu nas amostras de mel em comparação à sensibilidade da curva analítica representada em Eq. 7 e Eq. 8, no entanto o sensor mostrou-se mais sensível na determinação de ENR em amostra contendo mel do que em amostra contendo leite. Foi possível verificar um ajuste satisfatório do modelo em ambas as faixas de concentração, sendo, 98,0% na primeira faixa e 99,6% na segunda faixa. A correlação entre as variáveis foi forte nos dois seguimentos da curva ($r = 0,992$ e $r = 0,998$, respectivamente), afirmando a correspondência entre concentração de ENR e corrente de pico. Os limites de detecção e quantificação foram calculados conforme Eq. 9 e Eq. 10 e apresentaram valores de $1,92 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $6,41 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Não há ainda registro de regulamentações na União Européia ou na *U. S. Food and Drug Administration* sobre o limite residual máximo de ENR, ou da soma de ENR e CIP,

permitido em amostras de mel. A agência americana, no entanto, deixa claro que não aprova o uso de cloranfenicol, nitrofuranos ou fluoroquinolonas como medicamentos para o tratamento de abelhas, o que pode ser verificado em um alerta de importação publicado recentemente (Food and Drug Administration; Department of Health and Human Services, 2024b). No Brasil, a Instrução Normativa nº 51 de 19 de dezembro de 2019 preconiza limites máximos de resíduos (LMR) em amostras de mel para somente dois medicamentos veterinários: Amitraz (200 µg/kg) e Coumafós (100 µg/kg) (Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019).

Apesar da escassa legislação sobre o controle de antibióticos no mel, existem alguns antimicrobianos aprovados para a administração nos casos de infestação bacteriana em colônias de abelhas. Contudo, alguns apicultores insistem na aplicação de medicamentos veterinários proibidos, caso das fluoroquinolonas (de Souza *et al.*, 2022). Uma publicação do *Centre for Science and Environment* da Índia reportou a análise por HPLC-DAD-FLD de 12 amostras de mel (10 indianas e 2 importadas) das quais 10 exibiram níveis detectáveis de ENR, variando entre 10,9 a 144,8 µg/kg (Johnson *et al.*, 2010).

Após o desenvolvimento da curva analítica para cada tipo de amostra, foram executados ensaios de recuperação da ENR em cada matriz. Para isso, as amostras foram fortificadas com o analito em dois níveis de concentração. Os resultados das concentrações de ENR calculadas pela equação das respectivas curvas analíticas, a porcentagem de recuperação e o desvio-padrão relativo (RSD) entre os valores adicionados e recuperados podem ser conferidos na Tabela 9. As porcentagens das recuperações foram satisfatórias, com valores entre 94,4 a 105,02 % e desvio-padrão relativo máximo de 10,42%.

Tabela 9 – Resultados obtidos por LSV com o eletrodo CB/GCE para a determinação de ENR em diferentes amostras fortificadas.

Amostra	c(ENR) / µmol L ⁻¹		Recuperação (%)	RSD (%)
	Adicionada	Encontrada		
Água de rio	47,6	45,0	94,45	2,89

	522,0	524,0	100,43	9,09
Leite	47,6	50,0	105,02	1,99
	522,0	542,0	103,93	0,23
Mel	47,6	48,6	102,01	10,42
	522,0	53,0	102,30	4,77

Fonte: própria autora.

5.7 Estudos de interferentes

A despeito de as análises anteriores terem sido realizadas considerando-se a complexidade das matrizes de determinação da ENR, um estudo dos possíveis interferentes em concentrações consideráveis mostrou-se necessário para a legitimação da seletividade do sensor.

Para os ensaios de LSV, foram selecionadas 11 substâncias concomitantes normalmente encontradas em amostras de água de rio, leite e mel, que foram adicionadas à célula nas proporções de 1:1 e 1:10 (ENR:interferente), respectivamente. Observou-se, então, as porcentagens do erro gerado na comparação entre corrente de pico da solução contendo apenas ENR e corrente de pico da solução composta por ENR junto aos possíveis interferentes (Tabela 10). Como esperado, a ciprofloxacina foi o interferente que exibiu maior erro positivo em concentração mais elevada (+106,63%), o que pode justificar a adoção da soma de CIP e ENR nas regulamentações de limites máximos de resíduos anteriormente discutidas. Em nível 1:1 de concentração, com exceção do ácido ascórbico e da ciprofloxacina, os erros não ultrapassaram 10%, na direção positiva ou negativa. Com concentração 10 vezes maior, os interferentes, com exceção da ciprofloxacina, exibiram erros entre -16,54 (glicose) e +10,25 (ácido ascórbico).

A interferência excessiva da CIP, que causa o aumento do sinal analítico da ENR, pode ser explicada pelo deslocamento do equilíbrio $ENR \leftrightarrow CIP$, já presente na solução, devido ao fato da CIP ser um subproduto da primeira oxidação da ENR. No sistema em equilíbrio formado na solução, a adição de CIP, principalmente em grandes concentrações, acarreta o deslocamento das reações na direção reversa e, conseqüentemente, aumenta o sinal analítico da ENR (Canales; Peralta; Antilen, 2019).

Tabela 10 – Erros percentuais obtidos para ENR $4,76 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 7,0) na presença de substâncias concomitantes tipicamente encontradas em amostras de águas naturais, leite e mel.

Substância concomitante	Proporção analito:concomitante	E*(%)
Catecol	1:1	+3,18
	1:10	-11,60
Íons Ca ²⁺ e Mg ²⁺	1:1	-1,00
	1:10	-12,64
Íon CO ₃ ²⁻	1:1	-2,68
	1:10	-8,80
Íon Fe ³⁺ e Cd ²⁺	1:1	-1,68
	1:10	-8,81
Íon K ⁺	1:1	-7,17
	1:10	-14,42
Na ⁺	1:1	-4,90
	1:10	-12,55
Ciprofloxacina	1:1	+12,31
	1:10	+106,63
Glicose	1:1	-8,09
	1:10	-16,64
Ácido ascórbico	1:1	+10,01
	1:10	+10,25

Fonte: própria autora.

5.8 Estudos de repetibilidade

A estabilidade da dispersão modificadora e a precisão de resposta do sensor à ENR foram verificadas através de ensaios realizados em intervalos de horas e de dias, conforme relatado na Seção 4.5. Para isso, foram escolhidas duas concentrações de ENR, cada uma

dentro de uma faixa de linearidade da curva de analítica padrão. A Tabela 11 exhibe os desvios-padrão relativos das correntes de pico verificadas nesses estudos. Os RSD com valores entre 8,11 a 12,96 % são justificáveis e, em certo ponto, satisfatórios, visto que é exigida a preparação de um novo eletrodo a cada ensaio, sob condições variáveis de temperatura do ambiente e umidade do ar, além de outros condicionantes capazes de interferir na secagem do filme de CB.

Tabela 11 – Resultados obtidos nos ensaios de repetibilidade intra-dia e inter-dias para o sensor CB/GCE.

$c(\text{ENR}) / \mu\text{mol L}^{-1}$	RSD (%)	
	Intra-dia ($n = 15$)	Inter-dias ($n = 3$)
47,6	12,96	11,51
522,0	4,70	8,11

Fonte: própria autora.

6 CONCLUSÕES

O trabalho proposto apresentou o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a determinação do antibiótico veterinário ENR em amostras de águas naturais e alimentícias. Com esse intuito, um eletrodo de carbono vítreo foi modificado com um filme polimérico de nanopartículas de CB, que foram morfologicamente e estruturalmente caracterizadas. O sensor modificado foi então submetido a caracterizações eletroquímicas por voltametria cíclica, que mostraram melhora considerável do sinal analítico e cinética favorecida no eletrodo com CB em comparação ao eletrodo sem modificação. Em seguida, estudou-se a resposta eletroquímica da ENR e parâmetros de análise como pH e técnica voltamétrica foram otimizados. A partir dessas otimizações definiu-se o pH = 7,0 e a leitura por LSV como as condições mais favoráveis para a utilização do sensor.

Com os parâmetros de leitura definidos, seguiu-se à construção das curvas analíticas padrão e específicas para cada matriz de análise e posterior estudo da recuperação de ENR em cada uma delas. A curva analítica para água de rio apresentou LOD de $2,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ e recuperação de ENR de 94–100%. A curva analítica do leite apontou um LOD de $5,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, com 104–105% de recuperação de ENR nessa matriz. O LOD estimado pela curva analítica do mel foi de $1,92 \mu\text{mol L}^{-1}$, com porcentagens de recuperação de aproximadamente 102%. Destaca-se que esses resultados foram obtidos com as amostras de água de rio, leite e mel *in natura*, sem submissão a processos prolongados de extração com solventes orgânicos.

Os estudos de possíveis interferentes em dois níveis de concentração mostraram uma mudança de corrente significativa com a adição de ciprofloxacina, um produto da reação de oxidação da ENR. Os desvios relativos verificados nos estudos de repetibilidade intra-dia e repetibilidade de fabricação (inter-dias) foram aceitáveis, considerando as limitações causadas por variáveis que podem interferir na fabricação desse tipo de eletrodo modificado.

Apesar de o sensor desenvolvido não alcançar o mínimo valor do limite residual máximo de ENR preconizado pelos órgãos regulamentadores, as faixas de determinação de ENR foram amplas, o que pode adequar o sensor para o uso em análises de pré-triagem. Cabe ressaltar que o sensor proposto apresentou resultados promissores e vantagens relativas à economia de recursos e processos, além de rapidez e simplicidade das análises. Com vista às perspectivas de pesquisa e próximos passos para a melhoria do sensor, estudos de pré-concentração da ENR nas amostras, incorporação de nanopartículas de metais ou de outros materiais carbonáceos em combinação com CB na dispersão modificadora ou mesmo uma mudança do tipo de eletrodo, como os SPE que favorecem a análise *point of care*, podem ser

considerados para o desenvolvimento de novos sensores para a ENR. Também mostra-se necessária a busca de estratégias para diminuir a interferência da CIP para possível determinação simultânea da ENR com outras fluoroquinolonas.

7 REFERÊNCIAS

ABEDEEN, M. Z. *et al.* Sensitive enzyme-free electrochemical sensors for the detection of pesticide residues in food and water. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 176, p. 117729, 2024. Disponível em: Acesso em: 6 nov. 2024.

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA - AGEITEC. **Agronegócio do leite: Densidade relativa**. [S. l.], 2021.

AJEEL, M. A.; AROUA, M. K.; DAUD, W. M. A. W. p-Benzoquinone Anodic Degradation by Carbon Black Diamond Composite Electrodes. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 169, p. 46–51, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468615009159>.

ANTILÉN, M. *et al.* Enrofloxacin behavior in presence of soil extracted organic matter: An electrochemical approach. **ELECTROCHIMICA ACTA**, [s. l.], v. 244, p. 104–111, 2017.

APRIANTI, N. *et al.* Prospect and challenges of producing carbon black from oil palm biomass: A review. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 23, p. 101587, 2023. Disponível em: Acesso em: 9 jun. 2024.

ARDUINI, F. *et al.* Carbon black as an outstanding and affordable nanomaterial for electrochemical (bio)sensor design. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 156, p. 112033, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566320300300>.

ARTESHI, Y. *et al.* Rapid and inexpensive voltammetric detection of ochratoxin A in wheat matrices. **Bioelectrochemistry**, [s. l.], v. 152, p. 108451, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567539423000889>.

AYMARD, C. *et al.* Development of a new dual electrochemical immunosensor for a rapid and sensitive detection of enrofloxacin in meat samples. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 370, 2022.

BADAWY, S. *et al.* Toxicity induced by ciprofloxacin and enrofloxacin: oxidative stress and metabolism. **Critical Reviews in Toxicology**, [s. l.], v. 51, n. 9, p. 754–787, 2021. Disponível

em: <https://www-tandfonline-com.ez35.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1080/10408444.2021.2024496>. Acesso em: 9 jun. 2024.

BARANWAL, J. *et al.* Electrochemical Sensors and Their Applications: A Review. **Chemosensors** 2022, Vol. 10, Page 363, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 363, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9040/10/9/363/htm>. Acesso em: 6 nov. 2024.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2nd eded. New York: Wiley, 2001.

BARDESTANI, R.; PATIENCE, G. S.; KALIAGUINE, S. Experimental methods in chemical engineering: specific surface area and pore size distribution measurements-BET, BJH, and DFT. **CANADIAN JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING**, [s. l.], v. 97, n. 11, p. 2781–2791, 2019.

BHATT, S.; CHATTERJEE, S. Fluoroquinolone antibiotics: Occurrence, mode of action, resistance, environmental detection, and remediation – A comprehensive review. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 315, p. 120440, 2022. Disponível em: Acesso em: 10 jun. 2024.

BOND, A. M. *et al.* **Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications**. 2. ed. Heidelberg: Springer Berlin, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa nº17, de 31 de maio de 2013. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**: Brasil, 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/documentos-da-pncrc/pncrc-2013.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2024.

BUKKITGAR, S. D.; SHETTI, N. P. Fabrication of a TiO₂ and clay nanoparticle composite electrode as a sensor. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 9, n. 30, p. 4387–4393, 2017. Disponível em: Acesso em: 20 jun. 2024.

CANALES, C.; PERALTA, E.; ANTILEN, M. Electrochemical techniques to detect and quantify Enrofloxacin in presence of highly potential interferences: Assays in Chilean aqueous-soil matrices. **JOURNAL OF ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY**, [s. l.], v. 832, p. 329–335, 2019.

CHANG, X. *et al.* Construction of carboxyl functional groups and their enhancement effect for methanol electrocatalytic oxidation reaction. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 44, n. 50, p. 27445–27454, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360319919332124>.

CHEN, J. *et al.* Novel electrochemical sensor modified with molecularly imprinted polymers for determination of enrofloxacin in marine environment. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 189, n. 3, 2022.

CHEN, C.-C.; HUANG, Y.-H.; CHIEN, H.-J. Waste tire-derived porous nitrogen-doped carbon black as an electrode material for supercapacitors. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, [s. l.], v. 24, p. 100535, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352554121001625>.

CHERIAN, A. R. *et al.* Recent advances in functionalization of carbon nanosurface structures for electrochemical sensing applications: tuning and turning. **JOURNAL OF NANOSTRUCTURE IN CHEMISTRY**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 441–466, 2022.

CHOMTHONG, K. *et al.* Label-free simultaneous detection of quinolone antibiotic residues using an origami paper-based electrochemical immunosensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 410, 2024.

CINCOTTO, F. H. *et al.* Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide modified with palladium nanoparticles for determination of desipramine in urine samples. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 239, p. 488–493, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400516312953>.

DA SILVA ARAUJO, M. *et al.* Electrochemical Determination of 17- α -Ethinylestradiol on a Graphene Quantum Dots and Carbon-Black-Modified Glassy Carbon Electrode.

Electroanalysis, [s. l.], v. 37, n. 1, 2025. Disponível em: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85213008942&doi=10.1002%2felan.202400269&partnerID=40&md5=c00584010b7454f33e9f9787cfbd8773>.

DE FARIA, L. V. *et al.* Electrochemical methods for the determination of antibiotic residues in milk: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1173, p. 338569, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267021003950>.

DE SOUZA, C. C. *et al.* Low-cost paper-based electrochemical sensor for the detection of ciprofloxacin in honey and milk samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 112, 2022.

DEROCO, P. B.; VICENTINI, F. C.; FATIBELLO-FILHO, O. An Electrochemical Sensor for the Simultaneous Determination of Paracetamol and Codeine Using a Glassy Carbon Electrode Modified with Nickel Oxide Nanoparticles and Carbon Black. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 27, n. 9, p. 2214–2220, 2015. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elan.201500156>.

DO, T. N. Q. *et al.* Electrochemical Determination of Enrofloxacin Using an Electrode Composed of Graphite Nanosheets Fabricated by Expansion in Dimethyl Sulfoxide. **Analytical Letters**, [s. l.], v. 57, n. 13, 2024. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=lanl20>. Acesso em: 28 set. 2024.

DOAN, T. D. *et al.* A novel electrochemical sensor based on CuBTC metal-organic framework decorated with carbon nanotube for highly sensitive detection of enrofloxacin in water samples. **Journal of Applied Electrochemistry**, [s. l.], v. 123, 2024a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10800-024-02163-3>. Acesso em: 28 set. 2024.

DOAN, T. D. *et al.* Fabrication and application of functionalized carbon nanotubes for highly sensitive and selective sensing of enrofloxacin. **Vietnam Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. S1, p. 76–85, 2024b. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vjch.202300298>.

DOS SANTOS SILVA, A. A. *et al.* Biochar from malt residue: Toward a circular economy for sustainable fluoroquinolone removal in aqueous systems. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, [s. l.], v. 183, 2024.

FATIBELLO-FILHO, O. *et al.* **Eletroanálises: aspectos teóricos e práticos**. São Carlos: EdUFSCar, 2022. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=_Y-JEAAAQBAJ.

FERNANDES, J. S. *et al.* A New Electrochemical Sensor Based on Carbon Black Modified With Palladium Nanoparticles for Direct Determination of 17 alpha-ethinylestradiol in Real Samples. **ELECTROANALYSIS**, [s. l.], v. 34, n. 5, p. 863–871, 2022. Disponível em: files/149/Fernandes et al. - 2022 - A New Electrochemical Sensor Based on Carbon Black.pdf.

FERREIRA, L. M. C. *et al.* Using nanostructured carbon black-based electrochemical (bio)sensors for pharmaceutical and biomedical analyses: A comprehensive review. **JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS**, [s. l.], v. 221, 2022.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION; DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. **CFR - Code of Federal Regulations Title 21: CHAPTER I SUBCHAPTER E - ANIMAL DRUGS, FEEDS, AND RELATED PRODUCTS**. 30 ago. 2024a. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=556.226>. Acesso em: 6 dez. 2024.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION; DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. **Import Alert 36-04**. [S. l.], 2024b. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/cms_ia/importalert_111.html. Acesso em: 3 dez. 2024.

FU, C. *et al.* Hierarchically porous graphitic carbon membrane with homogeneously encapsulated metallic nanoparticles as monolith electrodes for high-performance electrocatalysis and sensing. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 570, p. 223–231, 2020. Disponível em: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0->

85081039298&doi=10.1016%2fj.jcis.2020.02.106&partnerID=40&md5=e029cbab260fc0eeb6e0ee950ef687d1.

GALLEGOS-TABANICO, A. *et al.* Development of an Electrochemical Sensor Conjugated with Molecularly Imprinted Polymers for the Detection of Enrofloxacin. **Chemosensors**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 448, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9040/10/11/448>.

GOMES, M. P. *et al.* Emerging Contaminants in Streams of Doce River Watershed, Minas Gerais, Brazil. **Frontiers in Environmental Science**, [s. l.], v. 9, 2022.

GÓMEZ-SERRANO, V.; GONZÁLEZ-GARCÍA, C. M.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M. L. Nitrogen adsorption isotherms on carbonaceous materials. Comparison of BET and Langmuir surface areas. **Powder Technology**, [s. l.], v. 116, n. 1, p. 103–108, 2001. Disponível em: Acesso em: 21 dez. 2024.

GRABOWSKI, L. *et al.* Enrofloxacin-The Ruthless Killer of Eukaryotic Cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections?. **INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 3648, 2022.

GULLO, L. *et al.* Carbon black as a cost-effective nanomodifier for (electro)chemical-free pre-treatment thermoplastic polyurethane-based 3D printed electrodes. **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 482, p. 143982, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468624002263>.

HARRIS, D. C.; BARCIA, O. E.; AFONSO, J. C. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

HASSAN, O. S. *et al.* Fabrication of PVC Enrofloxacin-Selective Electrodes for Estimating Enrofloxacin in Pure Form and as Preparation Formula. **Baghdad Science Journal**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 2234–2240, 2023.

HONG, J. *et al.* Differentiation of carbon black from black carbon using a ternary plot based on elemental analysis. **Chemosphere**, [s. l.], v. 264, 2021.

HU, M. *et al.* Conjugated bimetallic cobalt/iron polyphthalocyanine as an electrochemical aptasensing platform for impedimetric determination of enrofloxacin in diverse environments. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 188, n. 12, 2021.

HU, J.; ZHANG, Z. Application of Electrochemical Sensors Based on Carbon Nanomaterials for Detection of Flavonoids. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 2020, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/10/10/2020>.

HUANG, B. *et al.* High-Performance Pt Catalyst with Graphene/Carbon Black as a Hybrid Support for SO₂ Electrocatalytic Oxidation. **Langmuir**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 20–27, 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.langmuir.9b02391>.

IBÁÑEZ-REDÍN, G. *et al.* Effect of carbon black functionalization on the analytical performance of a tyrosinase biosensor based on glassy carbon electrode modified with dihexadecylphosphate film. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 116, p. 41–47, 2018. Disponível em: Acesso em: 17 dez. 2024.

JIANG, H. *et al.* Production mechanism of high-quality carbon black from high-temperature pyrolysis of waste tire. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 443, p. 130350, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389422021446>.

JOHNSON, S. *et al.* **Antibiotic Residues in Honey**. [S. l.: s. n.], 2010.

KARUPPUSAMY, N. *et al.* A novel electrochemical sensor for the detection of enrofloxacin based on a 3D flower-like metal tungstate-incorporated reduced graphene oxide nanocomposite. **Nanoscale**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 1250–1263, 2022. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/nr/d1nr06343j>.

KELLY, F. M. *et al.* Polyaniline: Application as solid state electrochromic in a flexible textile display. **Displays**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 1–7, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141938212000765>.

KHALOO, S. S. *et al.* Fabrication of a modified electrode based on multi-walled carbon nanotubes decorated with iron oxide nanoparticles for the determination of enrofloxacin.

Micro & Nano Letters, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 561–566, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1049/mnl.2015.0123>.

KHAN, W. U. *et al.* A review of the growing trend towards heteroatoms-doped carbon dots based on dopamine acting as a hybrid agent and detected analyte. **Talanta**, [s. l.], v. 265, p. 124781, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914023005325>.

KHODABAKHSHI, S.; FULVIO, P. F.; ANDREOLI, E. Carbon black reborn: Structure and chemistry for renewable energy harnessing. **Carbon**, [s. l.], v. 162, p. 604–649, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008622320302049>.

KRASNOVA, A. *et al.* Differences in the electrochemical behavior of Vulcan XC-72 carbon black and glassy carbon after prolonged potential cycling. **Electrochemistry Communications**, [s. l.], v. 155, p. 107578, 2023. Disponível em: Acesso em: 21 dez. 2024.

LAVAGNINI, I.; ANTIOCHIA, R.; MAGNO, F. An Extended Method for the Practical Evaluation of the Standard Rate Constant from Cyclic Voltammetric Data. **Electroanalysis**, [s. l.], v. 16, n. 6, p. 505–506, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/elan.200302851>. Acesso em: 3 out. 2024.

LI, S. *et al.* Electrochemical Sensor Based on Carboxymethyl Cellulose-Coated Copper Nanoparticle Composite for Detection of Norfloxacin in Milk. **Shipin Kexue/Food Science**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 184–191, 2025. Disponível em: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85213812601&doi=10.7506%2fshpx1002-6630-20240314-103&partnerID=40&md5=a78604d2a2396cfe43b3370659757f5d>.

LIU, N. *et al.* A novel Bi₂S₃ QD-based DPV/ECL synchronous dual-mode molecularly imprinted sensor for enrofloxacin detection in eggs. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 444, 2024.

LIU, X. **ORGANIC CHEMISTRY I**. [S. l.]: LibreTexts, 2024. Disponível em: <https://LibreTexts.org>.

LIZONDO, M. *et al.* Physicochemical properties of enrofloxacin. **JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 1845–1849, 1997.

LONG, C. M.; NASCARELLA, M. A.; VALBERG, P. A. **Carbon black vs. black carbon and other airborne materials containing elemental carbon: Physical and chemical distinctions**. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2013.

LU, S. *et al.* A composite prepared from covalent organic framework and gold nanoparticles for the electrochemical determination of enrofloxacin. **Advanced Powder Technology**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 2106–2115, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921883121002120>.

LV, L. *et al.* A “signal off” aptasensor based on AuNPs/Ni-MOF substrate-free catalyzed for detection Enrofloxacin. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 911, 2022.

MEIRELES, L. M. *et al.* Low-cost electrochemical sensor for ciprofloxacin antibiotic based on green-synthesized silver nanoparticles and carbon black. **Journal of Solid State Electrochemistry**, [s. l.], 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Instrução Normativa n° 51, de 19 de dezembro de 2019**. Diário Oficial, 2019.

MITCHELL, M. A. Enrofloxacin. **JOURNAL OF EXOTIC PET MEDICINE**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 66–69, 2006.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Enrofloxacin**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71188>. Acesso em: 8 jun. 2024.

NGUYEN, T. K. N. *et al.* Electrochemical nanostructured CuBTC/FeBTC MOF composite sensor for enrofloxacin detection. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, [s. l.], v. 15, p. 1522–1535, 2024. Disponível em: <https://www.beilstein-journals.org/bjnano/articles/15/120>.

NICHOLSON, R. S. Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 37, n. 11, p. 1351–1355, 1965. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac60230a016>.

NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I. Theory of Stationary Electrode Polarography - Single Scan + Cyclic Methods Applied to Reversible Irreversible + Kinect Systems. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 178–190, 1964.

OREILLY, J. M.; MOSHER, R. A. Functional-groups in carbon black by FT-IR Spectroscopy. **CARBON**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 47–51, 1983.

PALADIYA, C.; KIANI, A. Nano structured sensing surface: Significance in sensor fabrication. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, [s. l.], v. 268, p. 494–511, 2018.

PAWLYTA, M.; ROUZAUD, J. N.; DUBER, S. Raman microspectroscopy characterization of carbon blacks: Spectral analysis and structural information. **Carbon**, [s. l.], v. 84, n. 1, p. 479–490, 2015. Disponível em: Acesso em: 16 dez. 2024.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, S.; PASTOR, E.; LÁZARO, M. J. Electrochemical behavior of the carbon black Vulcan XC-72R: Influence of the surface chemistry. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 43, n. 16, p. 7911–7922, 2018. Disponível em: Acesso em: 21 dez. 2024.

PHAM, T. D. M.; ZIORA, Z. M.; BLASKOVICH, M. A. T. Quinolone antibiotics. **MedChemComm**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 1719–1739, 2019. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/md/c9md00120d>. Acesso em: 1 jan. 2025.

PINGARRÓN, J. M. *et al.* Terminology of electrochemical methods of analysis (IUPAC Recommendations 2019). **Pure and Applied Chemistry**, [s. l.], v. 92, n. 4, p. 641–694, 2020.

RAGUMOORTHY, C. *et al.* Advanced detection of the protozoacide dimetridazole in complex fluids using cassiterite nanoparticles incorporated carbon black composite. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 470, 2025. Disponível em: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0->

85213563855&doi=10.1016%2fj.foodchem.2024.142660&partnerID=40&md5=b4d21d55ee91080ad1a2c3f388161396.

ROSCA, R. O.; BOUNEGRU, A. V; APETREI, C. Quantification of Statins in Pharmaceutical Products Using Screen-Printed Sensors Based of Multi-Walled Carbon Nanotubes and Gold Nanoparticles. **INVENTIONS**, [s. l.], v. 8, n. 5, 2023.

SHEN, Y. *et al.* Wearable microfluidic electrochemical sensor integrated with iontophoresis for non-invasive sweat ketone monitoring. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [s. l.], v. 421, 2024.

SHTERTSER, A. A. *et al.* Production of hydrogen and carbon black by detonation of fuel-rich acetylene-oxygen mixtures. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 47, n. 30, p. 14039–14043, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360319922007789>.

SILVA, L. R. G. *et al.* Additive manufactured microfluidic device for electrochemical detection of carbendazim in honey samples. **Talanta Open**, [s. l.], v. 7, 2023.

SILVA, T. A. *et al.* An electrochemical sensing platform based on carbon black and chitosan-stabilized platinum nanoparticles. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 15, n. 8, p. 1077–1086, 2023. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D2AY01964G>.

SILVA, R. M. *et al.* Carbon Nanomaterials-Based Screen-Printed Electrodes for Sensing Applications. **Biosensors**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 453, 2023a. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6374/13/4/453>.

SILVA, T. A. *et al.* Electrochemical Biosensors Based on Nanostructured Carbon Black: A Review. **JOURNAL OF NANOMATERIALS**, [s. l.], v. 2017, 2017.

SILVA, R. M. *et al.* Electrochemically reduced graphene oxide films from Zn-C battery waste for the electrochemical determination of paracetamol and hydroquinone. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 190, n. 7, p. 1–16, 2023b. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00604-023-05858-0>. Acesso em: 17 dez. 2024.

SILVA, T. A.; WONG, A.; FATIBELLO-FILHO, O. Electrochemical sensor based on ionic liquid and carbon black for voltammetric determination of Allura red colorant at nanomolar levels in soft drink powders. **Talanta**, [s. l.], v. 209, p. 120588, 2020. Disponível em: Acesso em: 23 set. 2024.

SKOOG, D. A. **Fundamentals of analytical chemistry**. 9th Eded. Belmont, CA: Cengage - Brooks/Cole, 2012.

SONG, Y. *et al.* A label-free enrofloxacin electrochemical aptasensor constructed by a semiconducting CoNi-based metal–organic framework (MOF). **Electrochimica Acta**, [s. l.], v. 368, p. 137609, 2021. Disponível em: Acesso em: 11 dez. 2024.

SPEIGHT, J. G.; VITHA, M. F. **Handbook of Petroleum Product Analysis**. 2. ed. New Jersey, USA: Wiley, 2015. v. 182 Disponível em: files/381/Speight - Handbook of Petroleum Product Analysis.pdf.

TARESH, R. R. *et al.* Selective electrochemical detection of chromium ions in water samples by poly (rutin)/carbon black-chitosan nanocomposite-modified glassy carbon electrode. **Journal of Applied Electrochemistry**, [s. l.], v. 54, p. 1627–1636, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10800-023-02054-z>. Acesso em: 3 out. 2024.

TEYMOURIAN, H. *et al.* Wearable Electrochemical Sensors for the Monitoring and Screening of Drugs. **ACS Sensors**, [s. l.], v. 5, n. 9, p. 2679–2700, 2020. Disponível em: <https://pubs-acsc.org.ez35.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1021/acssensors.0c01318>. Acesso em: 18 out. 2024.

THE EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation (EU) no. 37/ 2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin (Text with EEA relevance). **Official Journal of the European Union**: p. 1–72, 2010.

TROUCHON, T.; LEFEBVRE, S. A Review of Enrofloxacin for Veterinary Use. **Open Journal of Veterinary Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 40–58, 2016. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=63869>.

VICENTINI, F. C.; SILVA, T. A.; FATIBELLO-FILHO, O. Carbon black electrodes applied in electroanalysis. **Current Opinion in Electrochemistry**, [s. l.], v. 43, p. 101415, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2451910323002089>.

WANG, D. *et al.* Selective detection of enrofloxacin in biological and environmental samples using a molecularly imprinted electrochemiluminescence sensor based on functionalized copper nanoclusters. **Talanta**, [s. l.], v. 236, 2022.

WANG, Q. *et al.* “Two-in-One” PtPdCu Trimetallic Multifunctional Nanoparticles-Mediated Dual-Signal-Integrated Aptasensor for Ultradetection of Enrofloxacin. **Cite This: ACS Appl. Mater. Interfaces**, [s. l.], v. 16, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsami.4c02707>. Acesso em: 28 set. 2024.

WEI, P. *et al.* CoNi bimetallic metal–organic framework and gold nanoparticles-based aptamer electrochemical sensor for enrofloxacin detection. **Applied Surface Science**, [s. l.], v. 604, p. 154369, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016943322201902X>.

WONG, A. *et al.* A new electrochemical platform based on low cost nanomaterials for sensitive detection of the amoxicillin antibiotic in different matrices. **TALANTA**, [s. l.], v. 206, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Action Plan on Antimicrobial Resistance**. Geneva: WHO Press, 2015.

WU, H. G. *et al.* Research Progress in the Preparation of Enrofloxacin for Use in Veterinary Medicine. **INDIAN JOURNAL OF ANIMAL RESEARCH**, [s. l.], v. 58, n. 4, p. 545–549, 2024.

WU, S. *et al.* Sensitive electrochemical detection of enrofloxacin in eggs based on carboxylated multi-walled carbon nanotubes-reduced graphene oxide nanocomposites: Molecularly imprinted recognition versus direct electrocatalytic oxidation. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 413, 2023.

YAMAZAKI, S. I. *et al.* An electrochemical method for determining the number of carboxyl groups on carbon black. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 616, n. 1–2, p. 64–70, 2008.

YAN, C. *et al.* Electrochemical determination of enrofloxacin based on molecularly imprinted polymer via one-step electro-copolymerization of pyrrole and o-phenylenediamine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 806, p. 130–135, 2017.

YI, Y. *et al.* Simultaneous electrochemical sensing of 1-chloro-4-nitrobenzene and N-(4-hydroxyphenyl) acetamide based on nitrogen-doped carbon black. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 159, p. 105346, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X20305567>.

YU, Q.; YANG, H.; YANG, Y. Fabrication of an electrochemical sensor for the rapid and sensitive detection of enrofloxacin in meat samples. **Journal of Food Measurement and Characterization**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 87–94, 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s11694-023-02149-3>.

YUTING, L.; JING, Z.; DONGHUI, L. Preparation of cadmium sulfide nanoparticles and their application for improving the properties of the electrochemical sensor for the determination of enrofloxacin in real samples. **Chirality**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 174–184, 2019.

ZAPPIELO, C. D. *et al.* Solid Phase Extraction to On-Line Preconcentrate Trace Cadmium Using Chemically Modified Nano-Carbon Black with 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 27, n. 10, p. 1715–1726, 2016.

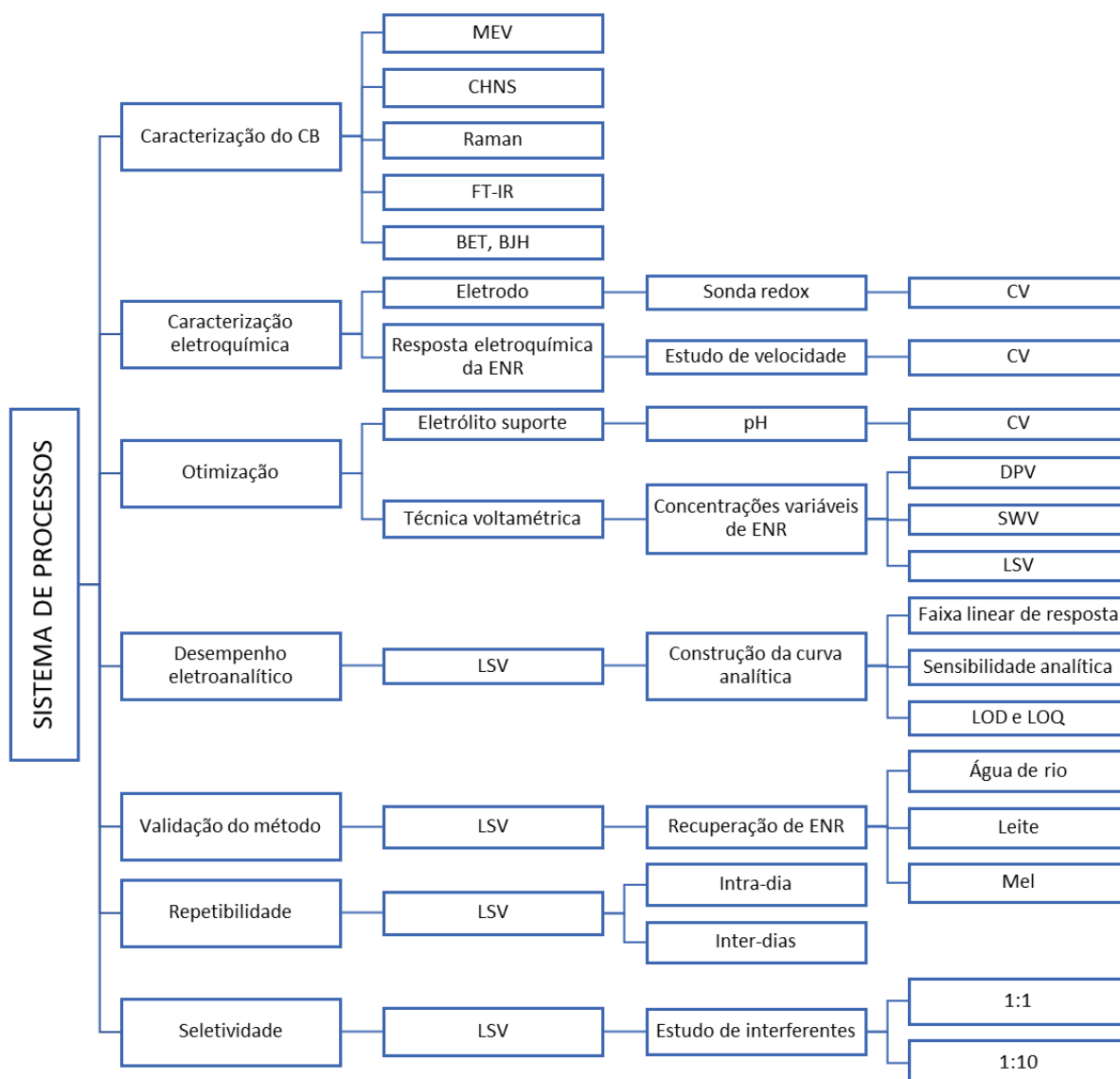
ZHANG, X. *et al.* An electrochemical biosensor for ascorbic acid based on carbon-supported PdNi nanoparticles. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 183–190, 2013.

ZHANG, Z. *et al.* Simultaneous detection of enrofloxacin and ciprofloxacin in milk using a bias potentials controlling-based photoelectrochemical aptasensor. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 416, 2021.

ZHANG, J.; QIU, S.; DENG, F. Oxygen-doped carbon nanotubes with dual active sites to enhance $\bullet\text{OH}$ formation through three electron oxygen reduction. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 465, p. 133261, 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389423025451>.

ZHUANG, L. *et al.* Nitrogen-doped carbon black supported synergistic palladium single atoms and nanoparticles for electrocatalytic oxidation of methanol. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 438, p. 135585, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894722010877>.

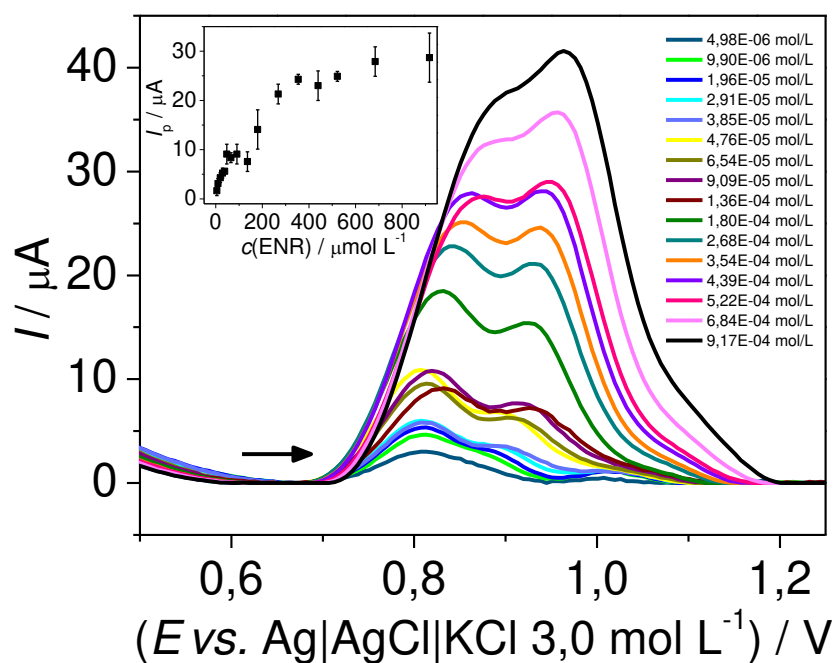
APÊNDICE A – Fluxo de trabalho sistematizado



Fonte: própria autora.

APÊNDICE B – Voltamogramas DPV

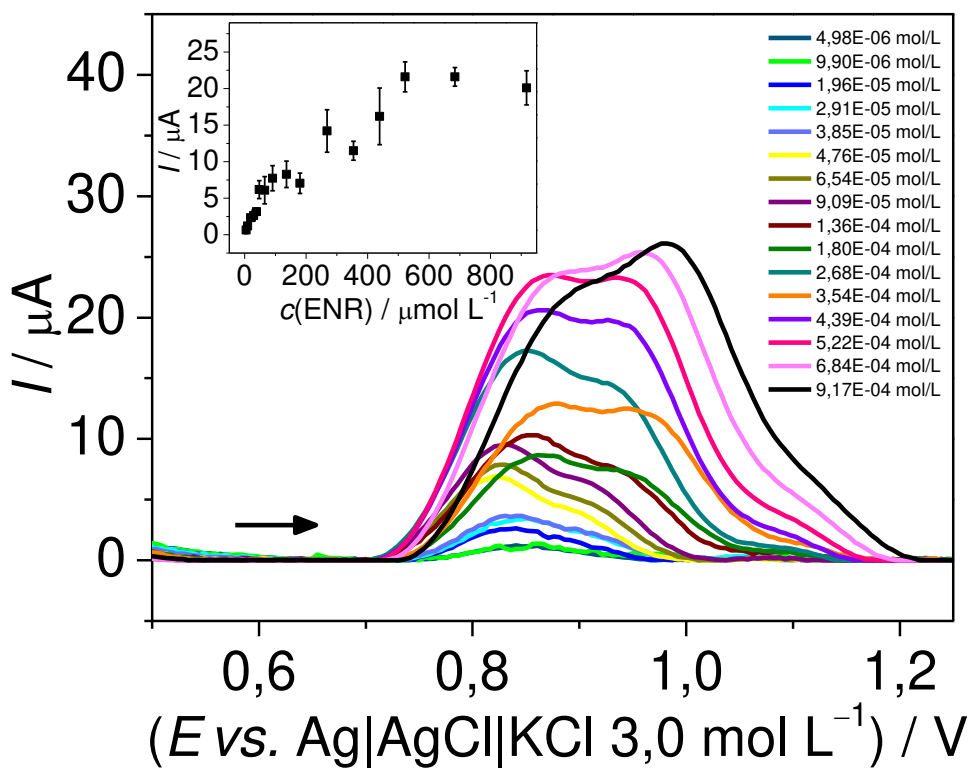
Apêndice A – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o eletrodo CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 7,0) contendo concentrações crescentes de ENR. $v = 100$ mV; amplitude de modulação = 100 mV; tempo de modulação = 0,02 s.



Fonte: própria autora.

APÊNDICE C – Voltamogramas SWV

Apêndice B – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo CB/GCE em solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 7,0) contendo concentrações crescentes de ENR. Frequência = 10 Hz; amplitude de modulação = 90 mV; incremento de potencial = 100 mV.



Fonte: própria autora.

APÊNDICE D – Correlações com o termo “sensores eletroquímicos”

Apêndice C – Distribuição por cores baseada na incidência das palavras-chave em período anual, com destaque nas coocorrências ligadas ao termo “sensores eletroquímicos”.

