

Projeto em Química II

Título do Projeto:	Desenvolvimento de eletrodo 3D a base de carvão e grafite para a detecção de ácido oxálico em forrageiras
Aluno:	Elysander Bernardo Munck
Orientadora:	Prof. Dr. Renato Camargo Matos
Co-orientador:	Ms. Wallace Burger Veríssimo de Oliveira

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS.....	6
2.1 Objetivo Geral	6
2.2 Objetivos específicos	6
3. METODOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE AÇÃO	7
3.1 Reagentes e Instrumentação.....	7
3.2 Modelo 3D e impressão do suporte.....	8
3.3 Otimização da composição do material compósito e construção do 3D-Gr/CA.....	8
3.4 Caracterização do sensor 3D-Gr/CA.....	9
3.5 Avaliação do comportamento eletroquímico do OXA frente ao sensor 3D-Gr/CA e otimização do método.....	10
3.6 Curva analítica e figuras de mérito	11
3.7 Tratamento de amostras.....	12
3.8 Método de comparação.....	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	13
4.1 Construção do eletrodo 3D-Gr/CA e otimização do material compósito.....	13
4.2 Caracterização por microscopia de varredura eletrônica e espectroscopia Raman dos eletrodos	14
4.3 Escolha do eletrólito suporte, otimização de pH e avaliação do regime de transporte de massa para o OXA.....	16
4.4 Otimização dos parâmetros de análise para a técnica de amperometria via análise por injeção em fluxo.....	18
4.5 Curva analítica e aplicação nas amostras	20
4.6 Estudo de interferentes.	24
4.7 Validação com o método oficial.....	25
4.8 Calculadores de impacto ambiental.....	26
5. CONCLUSÃO	27
6. DESCARTE DOS RESÍDUOS	28
7. INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL	28
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

RESUMO

O ácido oxálico (OXA) é um composto naturalmente presente em plantas como gramíneas, espinafre e tomate, podendo provocar efeitos tóxicos, como irritações e formação de cálculos renais, especialmente em ruminantes. Métodos convencionais para sua determinação, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a titulometria, apresentam limitações associadas ao alto custo, tempo de análise e consumo significativo de reagentes. Neste trabalho foi desenvolvido um eletrodo 3D de baixo custo, composto por grafite, carvão ativado e esmalte de unha, para a detecção eletroquímica de ácido oxálico em forrageiras. Foram avaliadas diferentes proporções dos materiais constituintes, com foco nas propriedades adsorptivas e condutivas do carvão ativado. A caracterização dos sensores foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pelas espectroscopias Raman e de impedância eletroquímica, visando à análise da morfologia, da estrutura superficial e da resistência à transferência de carga. O eletrodo foi otimizado com base na densidade de corrente, potencial de pico e sensibilidade, utilizando voltametria cíclica com a sonda redox Ferricianeto de potássio. A quantificação do analito foi realizada por amperometria com análise em injeção em fluxo, onde os parâmetros de eletrólito suporte, pH ideal, potencial aplicado e volume de fluxo foram otimizados. O método foi aplicado a amostras reais de capim sectária (*Setaria sphacelata*) fornecidos pela EMBRAPA, sendo obtidos valores de recuperação entre 91 e 96%, com boa precisão, e um desvio padrão relativo de 6%, além de não apresentar diferenças significativas com o método padrão.

Palavras-chave: Ácido oxálico; Eletrodo 3D; Carvão ativado; Amperometria; Forrageiras.

ABSTRACT

Oxalic acid (OXA) is a compound naturally present in plants such as grasses, spinach, and tomatoes, and can cause toxic effects—including irritation and the formation of kidney stones—especially in ruminants. Conventional methods for its determination, such as High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and titrimetry, present limitations associated with high costs, long analysis times, and significant reagent consumption. In this work, a low-cost 3D electrode composed of graphite, activated carbon, and nail polish was developed for the electrochemical detection of oxalic acid in forage. Different proportions of the constituent materials were evaluated, focusing on the adsorptive and conductive properties of the activated carbon. The sensors were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), Raman spectroscopy, and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) to analyze morphology, surface structure, and charge transfer resistance. The electrode was optimized based on current density, peak potential, and sensitivity, using cyclic voltammetry with the potassium ferricyanide redox probe. Analyte quantification was performed via amperometry with Flow Injection Analysis (FIA), optimizing parameters such as supporting electrolyte, ideal pH, applied potential, and flow volume. The method was applied to real grass samples (*Setaria sphacelata*) provided by EMBRAPA; recovery values between 91 and 96% were obtained with good precision, showing a relative standard deviation of 6%. Furthermore, the results passed statistical evaluations and showed no significant differences between the proposed method and the validation method.

Keywords: Oxalic acid; 3D electrode; Activated carbon; Amperometry; Forage.

1. INTRODUÇÃO

O ácido oxálico (OXA) é um ácido orgânico de cadeia curta amplamente encontrado em plantas, especialmente no gênero *Oxalis*, como por exemplo as espécies de trevo amarelo ou rosa (*Oxalis corniculata* e *debilis*, respectivamente), ou gramíneas, como o gênero *setaria* e *cynodon*, onde atua como metabólito secundário de defesa contra herbívoros e microrganismos patogênicos (MALFA et al., 2025). Em sua forma iônica, o íon oxalato possui a capacidade de se complexar facilmente com íons metálicos, como Ca^{2+} e Mg^{2+} , formando sais pouco solúveis. Sua ingestão em níveis elevados por animais ruminantes pode provocar distúrbios digestivos, inibição da absorção de cálcio e magnésio e queda na produção de biomassa e leite, impactando diretamente a produtividade e a saúde do rebanho (ABDISA; DILBATO DINBISO, 2024; BELENGUER et al., 2013).

Na literatura, os principais métodos de determinação do OXA são a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – Do inglês “High performance liquid chromatography”) com detector UV-Vis (NAPPI et al., 2006), titulometria (MONT’S O et al., 2022), e a espectrofotometria de UV-Visível (KASSIE; WASHE; ETSAY, 2019). Nappi e colaboradores utilizaram o HPLC com detector UV-Vis para determinar OXA em multimistura, onde obteve limite de detecção de $0,378 \text{ mmol L}^{-1}$ (NAPPI et al., 2006), já Trujillo-Vargas e colaboradores, utilizando um HPLC com detector de arranjo de diodos, obteve um limite de detecção de $0,224 \text{ mmol L}^{-1}$ (TRUJILLO VARGAS; VÉLEZ SALAZAR; RAMÍREZ CARMONA, 2020). Ambos os trabalhos evidenciam o alto custo operacional, intrínseco a técnica, e a necessidade de equipamentos sofisticados. Já Kassie e colaboradores empregaram titulação espectrofotométrica para quantificação em fontes de alimentação de gado, com sensibilidade adequada quando comparado aos outros métodos, onde o limite de detecção foi de $0,0012 \text{ mmol L}^{-1}$, porém com um volume de trabalho superior, uma vez que uma série de reação de complexação e precipitação eram necessárias para a análise (KASSIE; WASHE; ETSAY, 2019).

Como alternativa a essa problemática, as técnicas eletroquímicas têm se destacado na análise de diversos compostos, pois, além de agilizarem as análises e demandarem menor uso de reagentes, já foram aplicadas com sucesso na detecção de OXA em diferentes matrizes (MATSUURA et al., 2015; SHADAROVA et al., 2021). Pundir e colaboradores, por exemplo, utilizaram a amperometria para a determinação de oxalato em diversas folhas de consumo humano, demonstrando um limite de detecção de $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e boa rapidez analítica. Contudo, a metodologia exigiu modificações com nanopartículas e materiais nanoestruturados para realizar a análise eletroquímica (PUNDIR et al., 2011). Zheng e colaboradores apresentou o desenvolvimento de um método eletroquímico, por voltametria cíclica, utilizando apenas nanotubos de carbono como modificação em um eletrodo de carbono vítreo (GCE – do inglês “glassy carbon electrode”), com limite de detecção de $12 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, e aplicações em amostras de folhas de espinafre (ZHENG et al., 2009).

Os eletrodos 3D representam um avanço significativo no desenvolvimento de sensores eletroquímicos, principalmente pela sua capacidade de miniaturização, liberdade de modelagem, baixo

custo e facilidade de produção em larga escala (KALLIGOSFYRI; MIGLIONE; CINTI, 2025). Na literatura, muitos exemplos de trabalhos acerca do tema são facilmente encontrados, como sensores descartáveis (LISBOA et al., 2022), modificados com nanopartículas de prata (OLIVEIRA et al., 2023) ou ativados com tratamento usando hidróxido de sódio (BOANE et al., 2025). Contudo, o material que é majoritariamente explorado na produção destes sensores é o grafite. Outras espécies a base de carbono, embora relatadas, são sub-exploradas em comparação com este, como exemplos temos o biochar (GEMEINER et al., 2024) e o carvão ativado (ARROYO-GÓMEZ et al., 2018).

O carvão ativado é um material que apresenta propriedades únicas, como alta área superficial, estrutura altamente porosa, estabilidade química, biocompatibilidade e alta capacidade de adsorção de diversos compostos, sendo assim, um excelente material para aumentar a área superficial de sensores (ZHANG et al., 2016). Contudo, quando comparado a materiais como o grafite, sua condutividade é inferior, de forma que a utilização de uma mistura destas espécies pode ser capaz de gerar condições favoráveis para o desenvolvimento de novos sensores (YANG et al., 2022). Assim, a utilização de eletrodos à base de carvão ativado e grafite desponta como uma alternativa promissora para a determinação de OXA em amostras de forrageiras.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Desenvolver eletrodos de baixo custo a partir de um material compósito constituído por grafite, carvão ativado e esmalte de unha, imobilizado em suportes produzidos por impressão 3D, visando à aplicação em um método eletroquímico baseado em análise por injeção em fluxo, utilizando a técnica de amperometria para a quantificação de OXA em amostras de forrageiras.

2.2 Objetivos específicos:

- Construir suportes para eletrodos por meio da impressão 3D utilizando filamentos termoplásticos de PLA;
- Produzir eletrodos 3D a partir de compósitos com diferentes proporções de grafite e carvão ativado, visando à otimização das propriedades eletroquímicas;
- Caracterizar e otimizar os eletrodos quanto ao seu desempenho frente à sonda redox ferri/ferrocianeto de potássio, utilizando voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica;
- Selecionar a composição que apresenta melhor resposta eletroquímica, considerando critérios de sensibilidade, reprodutibilidade e estabilidade, pela comparação dos resultados obtidos em diferentes composições e eletrodos construídos;

- Caracterizar a morfologia e a estrutura superficial dos eletrodos por meio de espectroscopia Raman e microscopia eletrônica de varredura;
- Avaliar as condições ideais da técnica para maximizar o desempenho analítico do sensor na detecção de OXA por amperometria utilizando análise por injeção em fluxo;
- Aplicar o método desenvolvido em amostras reais de forrageiras, capim setária (*Setária sphacelata*) com elevado teor de OXA, fornecidos pela EMBRAPA;
- Comparar a sensibilidade, o custo e o tempo de análise da metodologia proposta com outros métodos eletroquímicos e técnicas analíticas convencionais;
- Avaliar a sustentabilidade do método proposto por meio do software AGREE (Analytical GREENness Metric Approach and Software), considerando os princípios da Química Verde e os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela ONU.

3. METODOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE AÇÃO

3.1 Reagentes e Instrumentação

Todas as soluções utilizadas foram preparadas com água deionizada (Milli-Q – Quantum EX), com resistividade maior ou igual a 18 MΩ cm. A solução estoque de OXA foi preparada usando padrão analítico Vetec. Os padrões de ácidos empregados, oxálico, málico, succínico, cítrico e tartárico, assim como os nitratos de sódio e de potássio, o ferricianeto e ferrocianeto de potássio e o cloreto de potássio foram adquiridos da marca Sigma-Aldrich. Os sais acetato de cálcio e acetato de sódio, o sólido permanganato de potássio e os ácidos clorídrico e sulfúrico utilizados neste trabalho foram obtidos da marca Vetec.

As medições eletroquímicas foram realizadas com um potenciostato modelo PGSTAT-128N (Metrohm, Herisau, Switzerland) integrado a um computador. A célula eletroquímica de volume total de 1 mL, foi constituída por um eletrodo de trabalho impresso em 3D, um eletrodo de referência Ag|AgCl_(s)|KCl_(sat.) e um eletrodo auxiliar feito com uma agulha de aço inoxidável. Os dados foram obtidos e tratados pelos softwares NOVA 2.1.8, Excel 365 e OriginPro 8.5. As medidas de pH foram realizadas com um potenciômetro (Digimed, modelo DM 20) e um eletrodo de vidro combinado (Digimed) calibrado com soluções tampão Merck com os seguintes valores de pH: 4,00 e 7,00. A caracterização morfológica da superfície dos eletrodos produzidos foram realizadas utilizando as técnicas de espectroscopia Raman (Horiba, modelo LabRam HR Evolution) e espectroscopia de impedância eletroquímica. Além disso, foi usado um microscópio eletrônico de varredura (FEI, modelo Quanta 250) na etapa de caracterização do eletrodo 3D.

3.2 Modelo 3D e impressão do suporte.

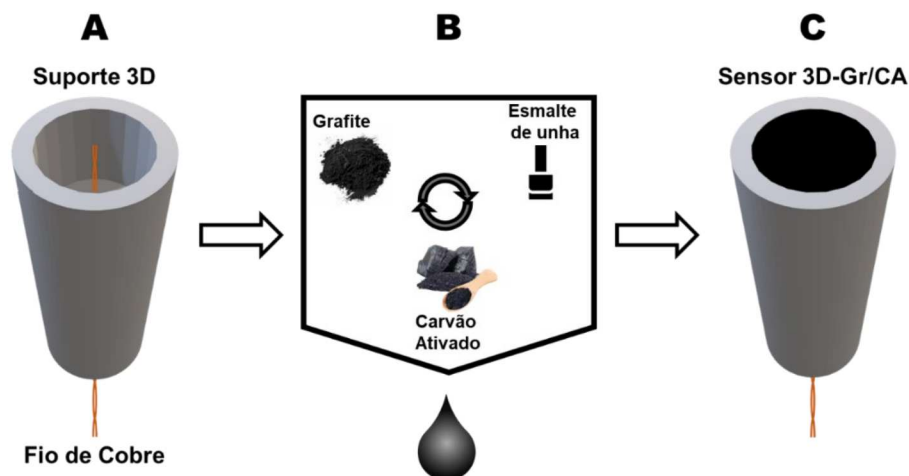
Os arquivos para impressão 3D foram modelados com o auxílio do software gratuito e online Tinkercad Autodesk. Os suportes apresentaram o formato de um cilindro oco, com 6 mm de diâmetro e 35 mm de altura, contendo uma cavidade cilíndrica concêntrica com 4 mm de diâmetro e 3 mm de profundidade, destinada à inserção do material compósito. O contato elétrico foi estabelecido por um fio de cobre, que foi inserido em um canal concêntrico com raio de 0,5 mm, percorrendo o corpo do suporte. O modelo digital foi convertido em arquivo de fatiamento (G-code) por meio do software Simplify3D, possibilitando a impressão em uma impressora GTMax3D Core A2V2, utilizando filamento isolante de ABS Premium. Foram impressos conjuntos com 12 suportes por lote, com tempo estimado de 2,5 horas por impressão, consumindo aproximadamente 10 gramas de filamento por ciclo.

3.3 Otimização da composição do material compósito e construção do 3D-Gr/CA.

O material compósito foi preparado em laboratório a partir da mistura de grafite e carvão ativado, utilizados como partículas condutoras, e esmalte de unha incolor, composto majoritariamente por resina epoxi, empregado como matriz polimérica. Diferentes proporções entre os componentes condutores foram avaliadas, onde a fração de esmalte de unha foi mantida em 50 % da massa total do compósito. A fração de carvão ativado variou entre 0, 12,5, 25, 37,5 e 50 % (m/m), sendo o grafite responsável por completar a proporção restante (50, 37,5, 25, 12,5 e 0 %), respectivamente.

Para cada 1,0 g da mistura sólida, foram adicionados 500 µL de acetona, com o objetivo de facilitar a dispersão homogênea do material condutor na matriz polimérica. A dispersão obtida foi cuidadosamente inserida no interior do suporte impresso em 3D, garantindo o contato direto com o fio de cobre condutor, até o preenchimento completo da cavidade cilíndrica, conforme apresentado na figura 1. Após a moldagem, os eletrodos foram submetidos à secagem em estufa a 50 °C por cerca de 12 horas. Antes da utilização, a superfície do eletrodo foi polida com lixas d'água de diferentes granulometrias (600, 1200 e 2000 grt) para garantir uniformidade e reprodutibilidade na resposta eletroquímica (DE OLIVEIRA et al., 2023).

Figura 1. Representação esquemática da construção dos eletrodos 3D-Gr/CA a partir da (A) inserção do fio condutor de cobre no suporte impresso 3D, seguido do (B) preparo da mistura de grafite, carvão ativado e resina epóxi (esmalte de unha) e (C) imobilização do material compósito no suporte.



Fonte: Adaptada de OLIVEIRA, Wallace (2024).

As diferentes composições do material compósito foram avaliadas com base na resposta eletroquímica do par redox ferri/ferrocianeto de potássio ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$) pela técnica de voltametria cíclica em solução de 5 mmol L^{-1} , preparada em eletrólito suporte de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os critérios de desempenho avaliados foram: maiores valores absolutos de densidade de corrente de oxidação e de redução, razão entre as correntes de pico próxima de 1 e menor diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico que indicam melhor reversibilidade do sistema. A composição que apresentou os melhores parâmetros eletroquímicos foi selecionada como a ideal, sendo utilizada nos experimentos subsequentes do estudo.

3.4 Caracterização do sensor 3D-Gr/CA.

A caracterização eletroquímica dos eletrodos foi realizada utilizando a mesma sonda redox de ferri/ferrocianeto de potássio, por meio das técnicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica. Os resultados obtidos com os sensores desenvolvidos foram comparados à resposta de um GCE, servindo como referência. A voltametria cíclica também foi empregada para avaliar a reprodutibilidade da construção dos sensores, analisando uma série de 10 unidades produzidas sob as mesmas condições experimentais.

A caracterização morfológica foi realizada por microscopia eletrônica de varredura, visando avaliar a homogeneidade da superfície e a presença de possíveis poros ou vacâncias. A caracterização estrutural foi feita por espectroscopia Raman, com foco na identificação das bandas características do grafite e do carvão ativado presentes na matriz.

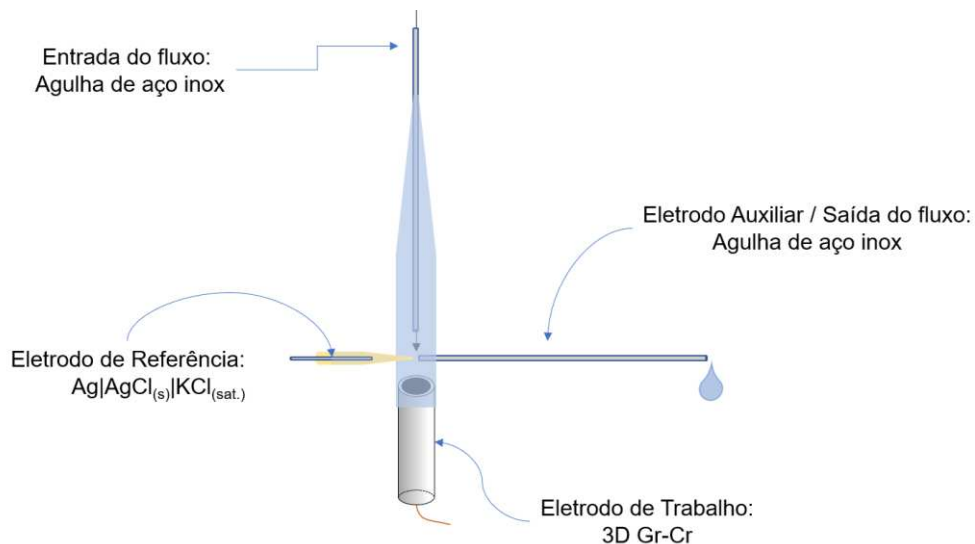
3.5 Avaliação do comportamento eletroquímico do OXA frente ao sensor 3D-Gr/CA e otimização do método.

Inicialmente, foi realizada a seleção do eletrólito suporte mais adequado para a detecção do OXA, onde foram testadas soluções de ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, tampão acetato e tampão Britton-Robinson (BR – Concentrações equimolares dos ácidos acético, fosfórico e bórico), todos em concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Além disso, foram realizadas análises a fim de definir qual o valor de pH ideal para as soluções de tampão BR, onde os valores testados foram 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0, e 12,0 e avaliado o comportamento eletroquímico do OXA. O meio que proporcionou o maior valor de corrente de pico e maior antecipação do valor de potencial de oxidação foi selecionado como condição ideal para as etapas subsequentes.

Na sequência, foi investigado o regime de transporte de massa predominante, com o objetivo de compreender os mecanismos envolvidos no processo de oxidação do analito na superfície do eletrodo e suas implicações. A técnica de amperometria foi utilizada para o desenvolvimento do método analítico, sendo otimizado parâmetros como potencial aplicado e vazão do fluxo. O volume de injeção de amostra foi fixado no valor de $50 \text{ }\mu\text{L}$. A escolha dos valores ótimos para cada parâmetro considerou critérios como intensidade máxima do sinal, menor desvio padrão relativo e maior frequência analítica. O método otimizado foi submetido a um estudo de repetibilidade a dois níveis de concentração de ácido oxálico, com o objetivo de avaliar a precisão e a estabilidade do sinal obtido.

Para a realização das análises em sistema de injeção por fluxo, foi necessária a construção de uma célula eletroquímica capaz de acomodar os eletrodos de referência, auxiliar e trabalho, além de suportar a pressão exercida pela passagem do fluxo proveniente da bomba peristáltica. Diante dessa necessidade, foi construída a célula eletroquímica apresentada na Figura 2, da seguinte forma: Uma ponteira para micropipeta de plástico, cujo volume máximo é de aproximadamente 1 mL , foi utilizado como célula eletroquímica, uma agulha de aço inoxidável foi alocada na extremidade mais fina da ponteira, e outra em um furo feito na lateral do recipiente, para que fossem utilizadas como entrada e saída de fluxo, além disso, a segunda agulha também funcionava como eletrodo auxiliar (que deve ser composto de material inerte), um eletrodo de referência $\text{Ag}|\text{AgCl}_{(\text{s})}|\text{KCl}_{(\text{sat.})}$ feito em laboratório segundo um protocolo presente na literatura foi utilizado como eletrodo de referência (PEDROTTI; ANGNES; GUTZ, 1996), e um eletrodo de trabalho 3D proposto foi alocado diretamente na maior cavidade da ponteira.

Figura 2. Esquema da célula eletroquímica desenvolvida para análises em sistema de injeção por fluxo, destacando a entrada e a saída do fluxo, o eletrodo auxiliar (agulha de aço inoxidável), o eletrodo de referência Ag|AgCl(s)|KCl_(sat.) e o eletrodo de trabalho 3D-Gr/CA.



Fonte: elaborado pelo autor.

3.6 Curva analítica e figuras de mérito

Ao final da otimização do método, uma curva analítica foi construída utilizando soluções padrão de OXA em diferentes concentrações, preparadas no eletrólito suporte selecionado. Todos os parâmetros estatísticos da curva foram avaliados, incluindo testes de normalidade (Shapiro-Wilk), homoscedasticidade (Cochran) e análise de falta de ajuste e significância (lack-of-fit). As figuras de mérito, como limite de detecção (L_D), limite de quantificação (L_Q) e sensibilidade, também foram calculadas. Posteriormente, o método foi aplicado a amostras reais de forrageiras, cedidas pela EMBRAPA Gado de Leite, de juiz de fora.

A fim de avaliar a exatidão do método, ensaios de adição e recuperação foram realizados, onde as amostras previamente analisadas foram fortificadas com quantidades conhecidas de OXA, a 20,0 e 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. As concentrações selecionadas foram definidas com base na região central da calibração, onde estatisticamente a possibilidade de erros é menor, de modo a garantir adequada avaliação da recuperação do analito. Os valores de recuperação do ácido oxálico foram calculados de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C_{\text{encontrada}} - C_{\text{amostra}}}{C_{\text{adicionada}}} \right)$$

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, sendo os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão, juntamente com o desvio padrão relativo (RSD, %).

3.7 Tratamento de amostras

O preparo das amostras foi adaptado a partir de um procedimento padrão operacional, “Determinação de oxalato de cálcio por titulometria em forrageiras”, utilizado pela EMBRAPA, porém, reduzindo o número de passos experimentais. O método apresentado pela EMBRAPA consiste em 14 passos de tratamento, que normalmente levam cerca de 4 dias de preparo para que permita a análise por titulometria, enquanto que o método adaptado encurta para apenas 6 passos que levam um tempo máximo de apenas 2 horas.

As amostras foram previamente secas e então trituradas em um moinho de granulometria de 1 mm. Cerca de 250 mg da amostra foi pesada em uma balança analítica, e em sequência transferida para um erlenmeyer onde foram adicionados 25 mL de HCl 0,25 mol L⁻¹ que foi mantido sobre aquecimento no banho maria por 70 °C, por uma hora, para que o analito fosse extraído da amostra. Após o aquecimento, as amostras foram transferidas para um balão de 25,00 mL, e avolumadas com HCl, seguido de filtrações com um sistema de algodão e seringa. Por fim, alíquotas destas amostras foram analisadas eletroquimicamente.

3.8 Método de comparação.

Os resultados obtidos para as amostras por amperometria foram comparados com os obtidos pelo método oficial da titulometria, visando avaliar a exatidão do método desenvolvido. A titulometria foi realizada com base na reação de oxidação do OXA com uma solução padrão de permanganato de potássio (Permanganometria). Para realização do método, 10,00 mL da amostra foi transferida para um tubo de ensaio e resfriado a cerca de 10 °C e 2,0 mL de uma solução precipitante (386 g L⁻¹ de acetato de sódio e 72 g L⁻¹ de acetato de cálcio em 50% v/v de ácido acético) foi adicionado ao tubo de ensaio, após essa etapa o tubo foi centrifugado por 30 minutos a 2700 RPM e deixado em repouso por 12 horas para decantar o precipitado. Após as 12 horas, o material foi centrifugado novamente por 10 minutos, onde o sobrenadante foi descartado. O precipitado então foi lavado, solubilizado e precipitado, repetindo todo o processo de centrifugação e decantação por mais duas vezes.

O precipitado foi então completamente seco em estufa a 40 °C por pelo menos 12 horas. Depois, foi solubilizado em 5 mL de ácido sulfúrico, o volume foi ajustado com água para cerca de 50,00 mL e mantido em banho maria sobre aquecimento até os 70 °C, não deixando passar de 90 °C. A titulação foi realizada nessas condições com solução padrão de permanganato de potássio 0,02 mol L⁻¹ e o teor de OXA calculado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Construção do eletrodo 3D-Gr/CA e otimização do material compósito.

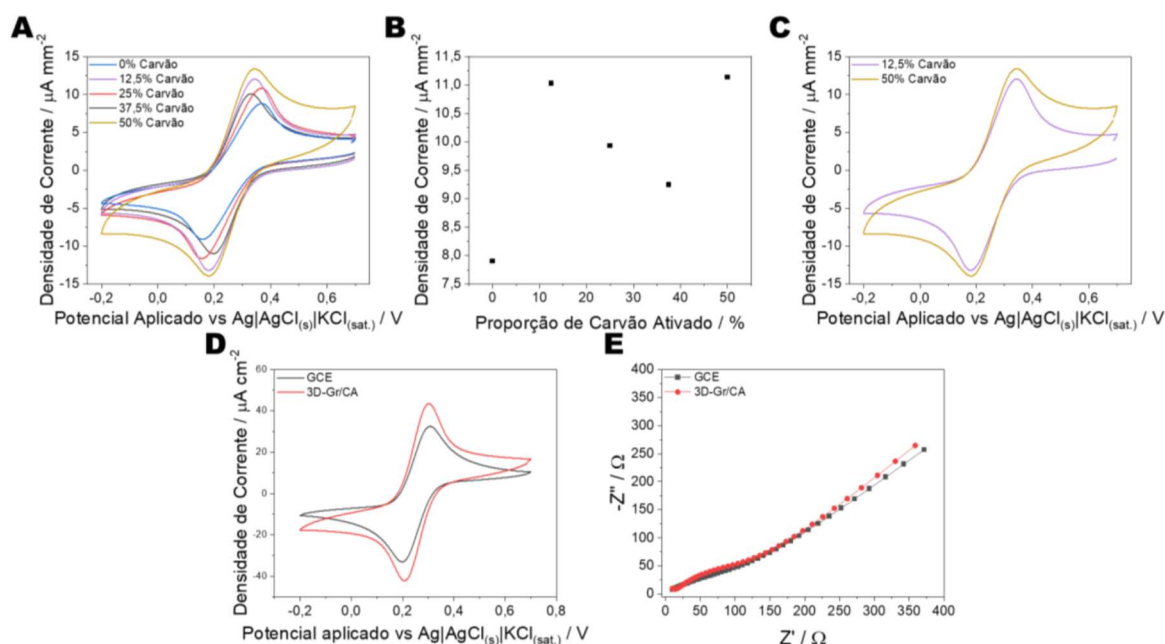
Inicialmente foi realizado o processo de otimização do material compósito por meio da variação da proporção de carvão presente em sua composição. Eletrodos contendo diferentes materiais compósitos foram confeccionados a partir da variação da porcentagem de carvão (% m/m), nas proporções de 0,0; 12,5; 25; 37,5 e 50 %. Estes eletrodos foram avaliados por voltametria cíclica utilizando a sonda redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 mmol L^{-1} em meio de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$), onde foi possível observar (Figura 3A) que os valores de potencial de pico (E_p) de redução e oxidação não sofreram diferenças significativas entre as diferentes composições do material compósito, e nesse caso o valor máximo da densidade de corrente de pico seria determinante na escolha da melhor composição. Conforme a Figura 3B, foi observado que os valores máximos de corrente ocorrem nas proporções 12,5 e 50 % de carvão no material compósito. Como os valores observados se encontram relativamente próximos, quase indistinguíveis, o perfil voltamétrico foi avaliado (Figura 3C) e a composição de 12,5 % de carvão foi escolhida por apresentar picos mais bem definidos e menos alargados.

Assim, a composição final do eletrodo apresentou 12,5 % de carvão ativado PA, 37,5 % de grafite e 50 % de esmalte de unha incolor. O eletrodo de composição otimizada foi então comparado com um eletrodo de carbono vítreo (GCE) comercial, onde apresentou valores um pouco superior de densidade de corrente, indicando que o processo redox é mais favorecido na superfície do sensor 3D em comparação com o eletrodo comercial de carbono vítreo. Já pela espectroscopia eletroquímica de impedância (EIS) apresentada na Figura 3E, o perfil dos diagramas Nyquist não apresentaram diferença observável entre o eletrodo 3D-Gr/CA e o GCE, de maneira que os valores de RTC observados foram muito próximos, sendo $87,5 \Omega$ e $102,1 \Omega$ respectivamente. A área eletroativa dos eletrodos 3D-Gr/CA foi calculada utilizando a equação de Randles-Sevcik.

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

Onde, I_p é a corrente de pico, n é o número de elétrons transferidos na reação eletroquímica, A é a área eletroativa do eletrodo (cm^2), D é o coeficiente de difusão da espécie eletroativa ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), C é a concentração da espécie eletroativa na solução (mol cm^{-3}) e V é a Velocidade de varredura do potencial (V s^{-1}). O valor obtido de área foi de $59,10 \pm 2,36 \text{ mm}^2$ para o eletrodo com 12,5 % de carvão em sua composição.

Figura 3. (A) Voltamogramas cíclicos dos eletrodos com as diferentes proporções de carvão no material compósito. (B) Relação entre corrente máxima e proporção de carvão ativado no material compósito; (C) Recorte dos voltamogramas com apenas composições que apresentaram os melhores sinais. (D) Comparação entre os sinais obtidos com o sensor 3D-Gr/CA e um GCE. (E) Diagramas de Nyquist para os sensores 3D-Gr/CA e GCE. Condições: Sonda redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5,0 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹, velocidade de varredura 0,1 mV s⁻¹, e EIS de 100.000 a 0,1 Hz de frequência.

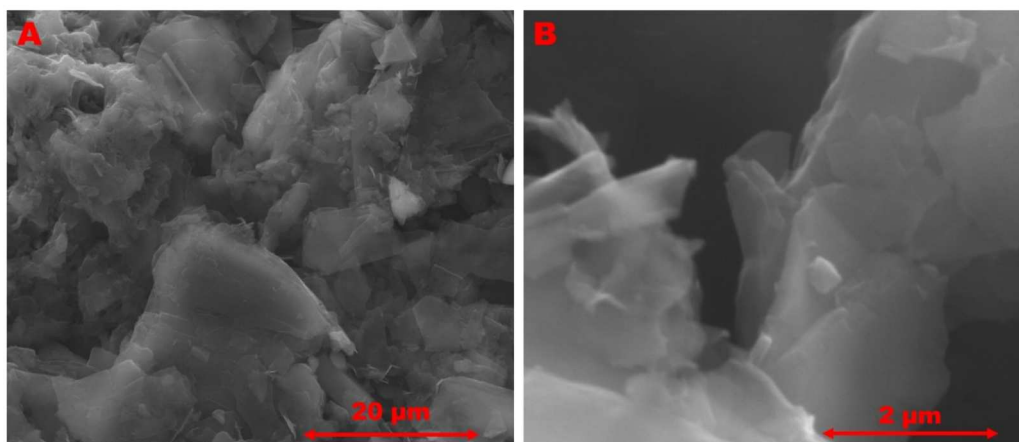


Fonte: elaborado pelo autor.

4.2 Caracterização por microscopia de varredura eletrônica e espectroscopia Raman dos eletrodos.

Para a caracterização da superfície dos eletrodos, foi utilizado a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Conforme apresentado na Figura 4, foi possível observar a morfologia do material compósito e evidenciar as vacâncias e porosidade características do material, as quais estão associadas à presença do carvão na estrutura do material. Tais regiões são responsáveis por gerar aumento da área eletroativa do sensor, definida como a área efetiva de interação entre a superfície eletródica e o analito em solução, e consequentemente promover ganho no sinal analítico observado durante as análises prévias.

Figura 4. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície do sensor, com ampliações de (A) 5.000 e (B) 50.000 vezes.

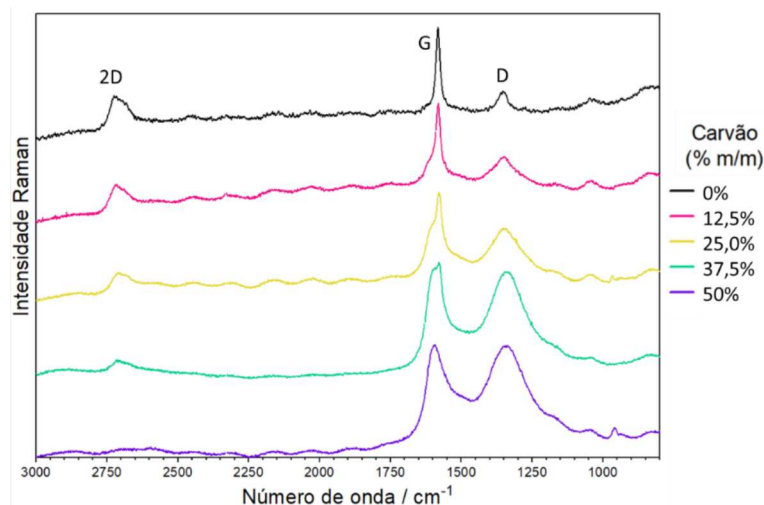


Fonte: elaborado pelo autor.

Após a caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura, foi realizada a caracterização estrutural do material compósito por espectroscopia Raman. Conforme apresentado na Figura 5, foi possível identificar as bandas D, G e 2D características de materiais carbonáceos. A banda G, observada em aproximadamente 1580 cm^{-1} , está associada a domínios grafíticos contendo carbono com hibridização sp^2 , enquanto a banda D, localizada em torno de 1350 cm^{-1} , relaciona-se à presença de defeitos estruturais e desordem da rede de carbono, estando assimilada a carbonos de hibridização sp^3 . Já a banda 2D, localizada em torno de 2700 cm^{-1} , é relacionada ao número de camadas em que o material se organiza.

Assim ao se observar o aumento da intensidade da banda D com o aumento do teor de carvão ativado no material, foi possível indicar que o mesmo foi responsável por aumentar o grau de desordem no material ao contribuir com carbonos de hibridização diferentes favorecendo a presença da porosidade característica. Há também a perda de sinal da banda 2D, indicando que o material adicionado não se organiza na forma de camadas sobrepostas, ou pelo menos em camadas muito menos numerosas. Assim, tais resultados corroboram com as análises morfológicas e eletroquímicas previamente apresentadas.

Figura 5. Espectros Raman dos eletrodos contendo diferentes proporções de carvão (% m/m), evidenciando as bandas D ($\sim 1350\text{ cm}^{-1}$) G ($\sim 1580\text{ cm}^{-1}$) e 2D ($\sim 2700\text{ cm}^{-1}$).

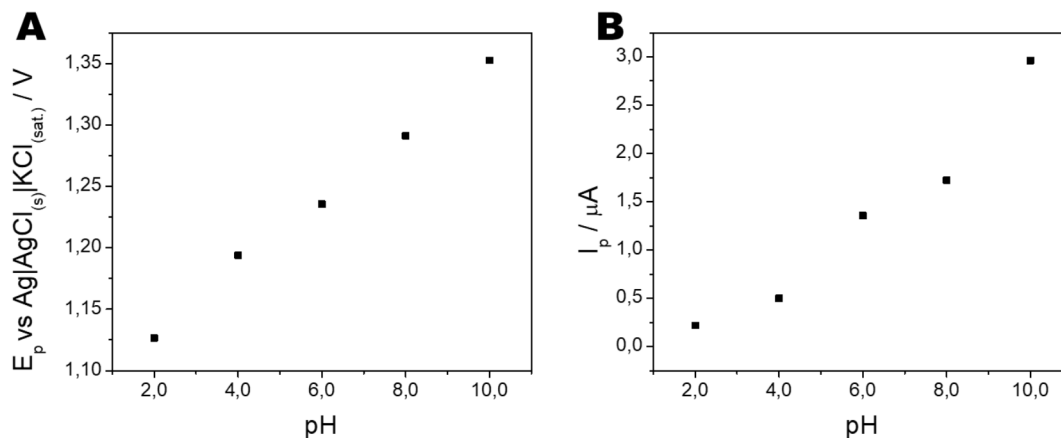


Fonte: elaborado pelo autor.

4.3 Escolha do eletrólito suporte, otimização de pH e avaliação do regime de transporte de massa para o OXA

Foram estudados diversos eletrólitos suportes, com o objetivo de obter maior estabilidade e reprodutibilidade do sinal eletroquímico. Foram testados os ácidos: clorídrico, sulfúrico e nítrico, todos com $0,1\text{ mol L}^{-1}$, porém esses eletrólitos não apresentaram respostas adequadas. Após os testes realizados com os ácidos, foram testados os tampões acetato e BR na concentração de $0,1\text{ mol L}^{-1}$, este último, sendo o que apresentou maior estabilidade e reprodutibilidade do sinal de corrente, sendo selecionado como eletrólito suporte para os estudos subsequentes. Após a definição do eletrólito suporte, foi realizada a escolha do valor de pH ideal para análise do OXA, onde o valor de pH 6,0 foi escolhido para o tampão, pois apresentou boa resposta, com boa antecipação do sinal (Figura 6A), ou seja, potenciais mais próximos de 0,0 V e com sinal de corrente adequado (Figura 6B), de forma a evitar os potenciais de zona de descarga do eletrodo. Assim, foi mantido para os passos posteriores.

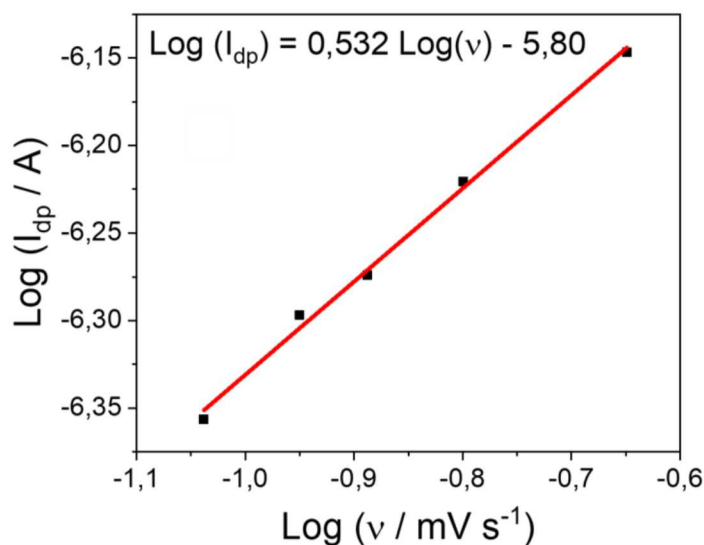
Figura 6. Avaliação do efeito do pH no processo de oxidação de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de OXA por VC com tampão BR (0,1 mol L^{-1}), com pHs variando de 2,0 a 10,0. **(A)** E_p versus pH. **(B)** Relação entre I_p e o valor do pH.



Fonte: elaborado pelo autor.

Após a seleção do eletrólito suporte e a otimização do pH, avaliou-se o regime de transporte de massa do OXA, a fim de determinar se o processo eletroquímico era controlado por adsorção ou por difusão. Conforme apresentado na Figura 7, observa-se que o transporte de massa ocorre predominantemente por difusão, uma vez que o coeficiente angular da reta obtida apresenta valor próximo de 0,5, como esperado teoricamente. Esse comportamento indica que o analito difunde da solução até a superfície do eletrodo, onde ocorre a reação eletroquímica, retornando em seguida à solução.

Figura 7. Estudo do regime do transporte de massa para OXA (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) no 3D-Gr/CA. Relação entre $\text{Log}(I_p)$ e $\text{Log}(v)$ ($R^2 = 0,987$).



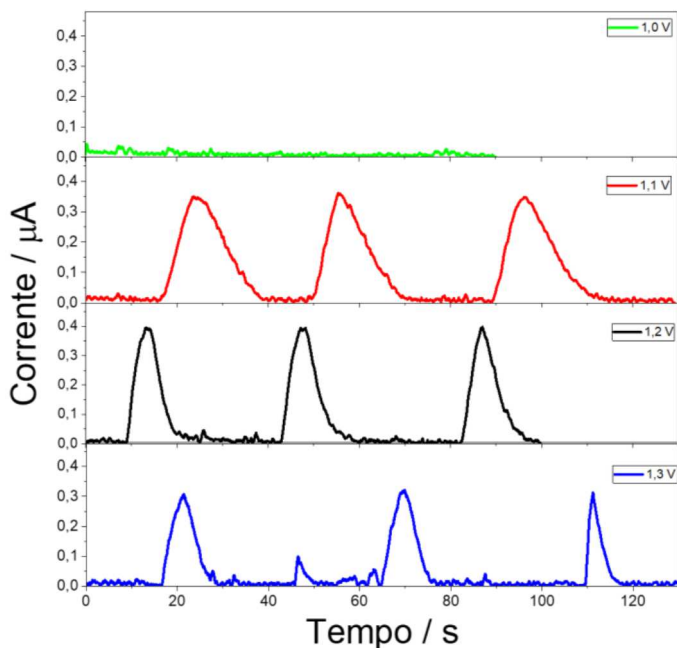
Fonte: elaborado pelo autor.

4.4 Otimização dos parâmetros de análise para a técnica de amperometria via análise por injeção em fluxo.

Após a construção da célula eletroquímica, foram realizados os experimentos de otimização dos parâmetros operacionais da técnica, especificamente o potencial aplicado para a oxidação do OXA e a vazão do eletrólito suporte. O volume da alça de amostragem foi mantido fixo e, portanto, esse parâmetro não foi otimizado, sendo mantido em 50 μL por injeção de amostra em todas as análises.

Inicialmente, foi realizado a otimização do potencial aplicado na amperometria, técnica na qual aplica-se um potencial constante durante todo o experimento e mede-se a corrente de oxidação do analito estudado, minimizando desta forma a corrente capacitiva gerada pela formação da dupla camada elétrica na superfície do eletrodo, melhorando a sensibilidade do método analítico. Para essa finalidade, foram avaliados diferentes potenciais, com o objetivo de maximizar o pico de corrente associado ao processo de oxidação do OXA. Os potenciais estudados foram 1,0; 1,1; 1,2 e 1,3 V, conforme apresentado na Figura 8. Pode-se observar que em 1,0 V não há presença de sinal, indicando que o processo de oxidação ainda não ocorreu. Já para os demais valores, é possível observar um pico de oxidação, sendo que em potencial de 1,2 V além de mais definido, o pico apresentou maior valor de corrente. Dessa forma, o potencial de 1,2 V foi selecionado como a condição ideal para as análises subsequentes.

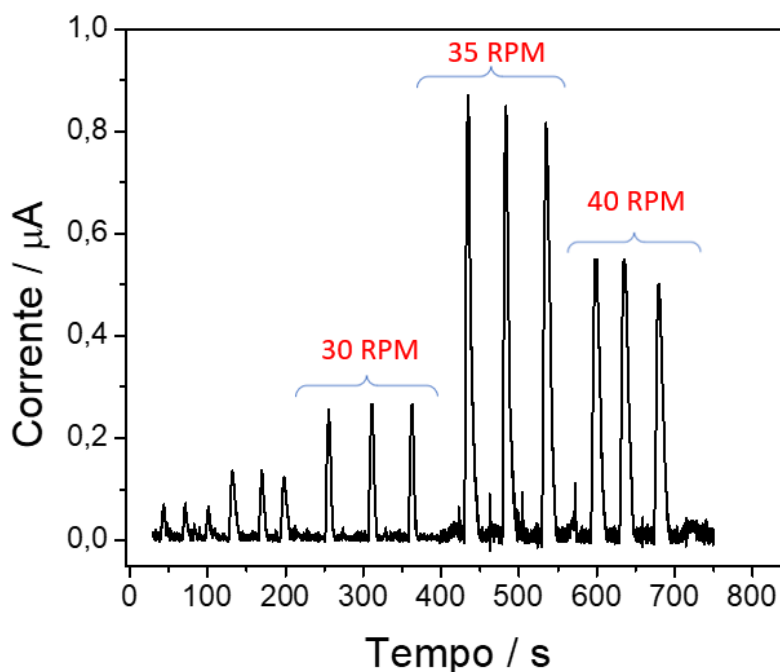
Figura 8: Amperogramas obtidos para diferentes potenciais aplicados (1,0; 1,1; 1,2 e 1,3 V) para solução de OXA a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: elaborado pelo autor.

A vazão do sistema foi otimizada em função da rotação da bomba peristáltica, expressa em rotações por minuto (rpm). Para isso, foram realizadas injeções sucessivas nos fluxos correspondentes a 20, 25, 30, 35 e 40 rpm, conforme apresentado na Figura 9. Esses valores de rpm são equivalentes a aproximadamente 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 mL min⁻¹. Em condições de baixas vazões, o fluxo do eletrólito suporte foi reduzido, favorecendo a dispersão e a diluição excessiva da amostra injetada ao longo do trajeto até o eletrodo, o que resultou na diminuição da intensidade do sinal de corrente. Assim, foi necessário o aumento da rotação da bomba peristáltica a fim de reduzir os efeitos de diluição da amostra no eletrólito suporte e melhorar a eficiência do transporte de massa até a superfície do eletrodo. Nesse contexto, a rotação de 35 rpm, correspondente a uma vazão de aproximadamente 2 mL min⁻¹, apresentou-se como a condição ideal, uma vez que minimizou a dispersão do ácido oxálico no eletrólito suporte e proporcionou tempo suficiente para que haja boa interação entre o analito e a superfície do sensor 3D-Gr/CA. Em vazões maiores, o fluxo ocasionou uma diminuição do sinal analítico, visto que o ácido oxálico pouco entrava em contato com a superfície do sensor. Assim, o valor de 35 rpm foi definido como o ideal e adotado para as análises subsequentes.

Figura 9. Amperogramas obtidos para diferentes vazões do fluxo no sistema FIA para solução de OXA 50 µmol L⁻¹.



Fonte: elaborado pelo autor.

4.5 Curva analítica e aplicação nas amostras.

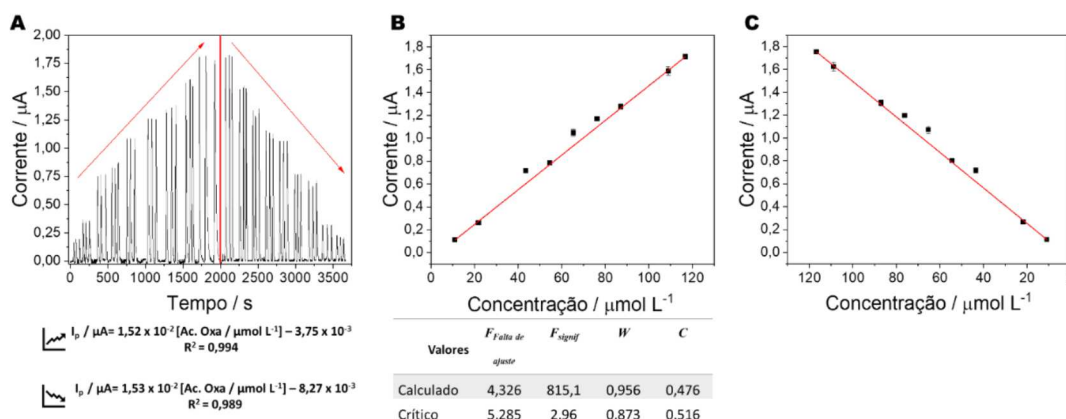
Após a finalização dos procedimentos de otimização dos parâmetros da técnica, foi construída uma curva analítica para a determinação do OXA. As injeções foram realizadas inicialmente em ordem crescente de concentração e, posteriormente, em ordem decrescente, com o objetivo de avaliar a existência de efeito de memória no sistema. Desta forma, uma curva analítica (Figura 10) foi construída utilizando soluções padrão de OXA nas concentrações de 10,89; 21,77; 32,66; 43,54; 54,43; 65,31; 76,20; 87,08 e 108,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Assim, foi observado duas curvas analíticas modeladas pelas equações apresentadas a seguir:

$$I_p / \mu\text{A} = 1,52 \times 10^{-2} [\text{Ac. Oxa} / \mu\text{mol L}^{-1}] - 3,75 \times 10^{-3} \quad (R^2 = 0,994)$$

$$I_p / \mu\text{A} = 1,53 \times 10^{-2} [\text{Ac. Oxa} / \mu\text{mol L}^{-1}] - 8,27 \times 10^{-3} \quad (R^2 = 0,989)$$

Para ambas as curvas foi possível determinar o valor dos limites de detecção (L_D) e quantificação (L_Q) foram calculados seguindo o método da IUPAC, onde L_D foi calculado por $L_D = 3 \times S_b \times a^{-1}$ e L_Q por $L_Q = 10 \times S_b \times a^{-1}$, sendo para a primeira: $L_{D1} = 0,74 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $L_{Q1} = 2,47 \mu\text{mol L}^{-1}$ e para a segunda: $L_{D2} = 1,62 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $L_{Q2} = 5,41 \mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso foi possível observar que os valores de inclinação são muito próximo, descartando assim a presença de significativos efeitos de memória. A regressão linear foi avaliada a partir dos parâmetros estatísticos de validação do modelo. O teste de falta de ajuste (Lack of Fit) apresentou valor calculado ($F_{\text{calc}} = 4,326$) inferior ao valor crítico ($F_{\text{crit}} = 5,285$), indicando que o modelo linear foi adequado para descrever a relação entre corrente e concentração. O teste de significância apresentou valor calculado ($F = 815,1$) significativamente superior ao valor crítico ($F = 2,96$), confirmando a elevada significância estatística da regressão linear. A normalidade dos resíduos foi avaliada pelo teste de Shapiro–Wilk, cujo valor calculado ($W = 0,956$) foi superior ao valor crítico ($W = 0,873$), indicando que os resíduos seguem uma distribuição normal. A homoscedasticidade do método foi avaliada por meio do teste de Cochran, no qual o valor calculado ($C = 0,476$) foi inferior ao valor crítico ($C = 0,516$), confirmando a homogeneidade das variâncias. Esses resultados comprovam a adequação estatística do modelo analítico proposto.

Figura 10. (A) Amperogramas da construção da curva analítica para o OXA em sistema de injeção por fluxo, com regressões lineares para as curvas em ordem crescente e decrescente de concentração. (B) Curva analítica em ordem crescente e resultados dos testes estatísticos de validação do modelo (falta de ajuste, significância da regressão, Shapiro–Wilk e Cochran). (C) Curva analítica em ordem decrescente.



Fonte: elaborado pelo autor.

Após a construção da curva analítica, as amostras de capim setária foram analisadas seguindo o procedimento de preparo descrito anteriormente. As análises foram realizadas tanto para amostras não fortificadas quanto para amostras fortificadas com OXA nas concentrações de 20 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Finalizado o preparo e a fortificação das amostras, foi possível determinar a razão entre a massa do analito presente na amostra e a massa de OXA adicionada, bem como as respectivas porcentagens de recuperação (%), conforme apresentado na Tabela 1. Os ensaios de fortificação apresentaram porcentagens de recuperação de $91 \pm 1\%$ e $96 \pm 2\%$ para as concentrações de 20 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores indicam boa exatidão e eficiência do método analítico, demonstrando que o procedimento de preparo de amostras e a metodologia eletroquímica empregada foram adequados para a determinação de OXA em amostras de capim setária, com mínima interferência da matriz. O valor médio de OXA encontrado na amostra foi de 4,60 % m/m, estando de acordo com o valor relatado na literatura para oxalatos totais, que pode se encontrar em torno de 3 a 5c%.

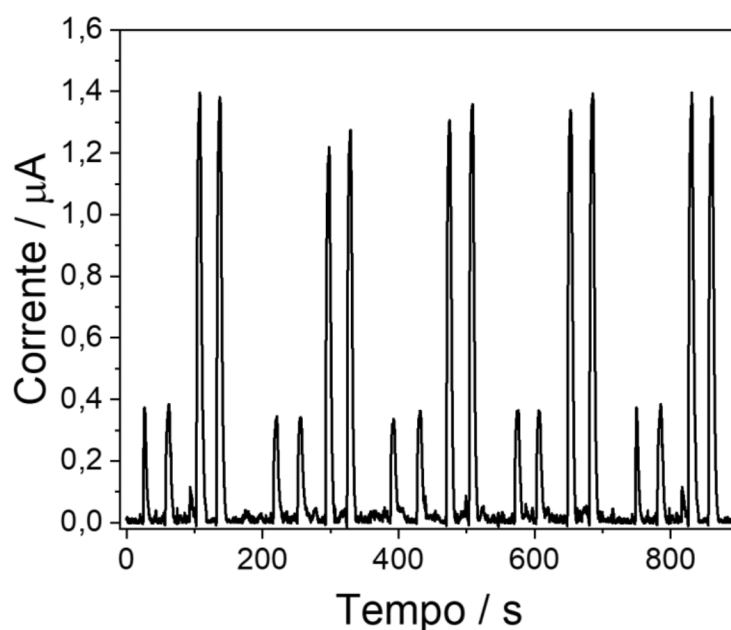
Tabela 1: Resultados obtidos para a determinação de OXA em amostras de capim setária, incluindo a razão entre a massa do analito na amostra e a massa de OXA e as porcentagens de recuperação obtidas nos ensaios de fortificação em 20 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Amostra	Teor Ác. Oxálico (%m/m)	Recuperação (%) 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação (%) 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$
Capim setária	(4,60 $\pm$ 0,13)	(91 $\pm$ 1)	(96 $\pm$ 2)

Fonte: elaborado pelo autor.

Finalizados os procedimentos para a determinação de OXA nas amostras de forrageira, foi iniciado um estudo de repetibilidade do método, onde foram injetados cinco vezes os pontos de menor e maior concentração da curva analítica, correspondentes a 10,89 e 108,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Conforme apresentado na Figura 11, o método apresentou boa repetibilidade, ou seja, adequada precisão, dos sinais de corrente obtidos, evidenciada pela semelhança entre os picos registrados para cada nível de concentração, demonstrando um desvio padrão relativo de aproximadamente 6 % entre as correntes de pico mensuradas.

Figura 11. Estudo de repetibilidade do método para a determinação de OXA, obtido a partir de cinco injeções sucessivas dos pontos de menor (10,89 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e maior concentração (108,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$).



Fonte: elaborado pelo autor.

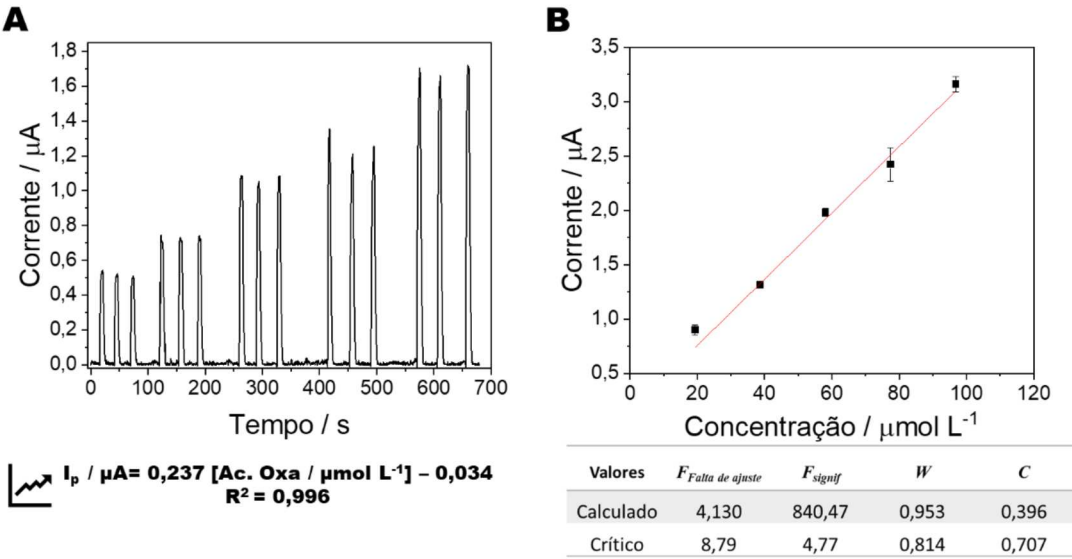
Com o objetivo de analisar um maior número de amostras de capim setária, em outro momento, foi construída uma nova curva analítica, apresentada na Figura 12, simplificando o número total de pontos, porém mantendo a faixa linear obtida, a partir de concentrações de 19,37; 38,74; 57,11; 77,49 e 96,86 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Assim, foi obtido uma nova equação linear, conforme expresso a seguir:

$$I_p / \mu\text{A} = 0,237 [\text{Ac. Oxa} / \mu\text{mol L}^{-1}] - 0,034 (R^2 = 0,996)$$

O elevado valor de R^2 indica boa linearidade do método na faixa de concentração estudada. Adicionalmente, foram novamente aplicados os mesmos testes estatísticos para validação do modelo

analítico, onde novamente foi obtido um resultado positivo pelos testes, com ausência de falta de ajuste ($F_{\text{calc}} = 4,13 < F_{\text{crit}} = 8,79$), alta significância ($F_{\text{calc}} = 840,47 > F_{\text{crit}} = 4,77$), normalidade adequada dos resíduos ($W_{\text{calc}} = 0,953 > W_{\text{crit}} = 0,814$) e homoscedasticidade adequada ($C_{\text{calc}} = 0,396 < C_{\text{crit}} = 0,707$). Em conjunto, esses resultados demonstraram a robustez e a confiabilidade da curva analítica construída para a análise das amostras de capim sectária.

Figura 12. (A) Amperogramas da construção da curva analítica para o OXA de 19,37 a 96,86 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em sistema de injeção por fluxo, com regressão linear para a curva. **(B)** Curva analítica e resultados dos testes estatísticos de validação do modelo (falta de ajuste, significância da regressão, Shapiro–Wilk e Cochran).



Fonte: elaborado pelo autor.

Com a curva analítica devidamente construída e validada, foi possível determinar a concentração de OXA nas amostras de forrageira, bem como calcular sua porcentagem em relação à massa da amostra (% m/m). As análises foram realizadas em triplicata real, utilizando quatro amostras distintas de capim sectária. Os resultados obtidos para cada réplica, assim como os valores médios acompanhados do desvio padrão, estão apresentados na Tabela 2. Os resultados apresentaram baixos valores de desvio padrão entre as réplicas além de variação no teor de OXA entre as diferentes amostras, o que pode estar associado a fatores como condições de cultivo, estágio de desenvolvimento da planta e variabilidade natural da matriz vegetal.

Tabela 2. Resultados da determinação do teor de OXA (% m/m) em amostras de capim setária, obtidos em triplicata real, com apresentação dos valores individuais e da média acompanhada do respectivo desvio padrão.

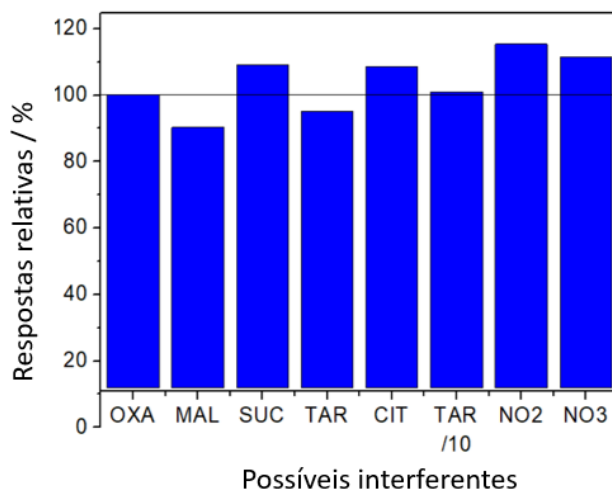
Amostra	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	%m/m Média
73	5,3	5,3	4,4	(5,00 ± 0,12)
76	5,1	5,2	4,5	(4,91 ± 0,14)
45	2,6	2,1	2,8	(2,43 ± 0,08)
49	2,8	3,0	2,6	(2,81 ± 0,06)

Fonte: elaborado pelo autor.

4.6 Estudo de interferentes.

Uma das principais limitações da análise eletroquímica é a baixa seletividade, que demanda de avaliações rigorosas acerca de potenciais interferentes. Assim, foi necessário avaliar a resposta analítica do OXA na presença de compostos comumente encontrados em amostras de forrageiras. Na matriz do capim-setária (*Setaria sphacelata*), a concentração de OXA é superior à dos demais ácidos orgânicos; contudo, o estudo de interferência foi conduzido em proporção equimolar (1:1), com exceção do ácido tartárico que foi avaliado em duas proporções, estabelecendo um cenário analítico mais rigoroso do que o observado nas amostras reais. Foram investigados os ácidos málico (MAL), succínico (SUC), cítrico (CIT) e tartárico em duas proporções, 1:1 (TAR) e 1:0,1 (TAR/10), além dos íons nitrito (NO₂) e nitrato (NO₃). Os resultados indicaram que tais espécies não promovem interferências significativas no sinal eletroquímico do analito, contribuindo para atestar a seletividade do método proposto para a aplicação em matrizes vegetais, sendo importante evidenciar que na amostra, as concentrações de possíveis interferentes ainda serão muito inferiores do que as aqui testadas.

Figura 13. Estudo do efeito de possíveis interferentes sobre o sinal eletroquímico do OXA, avaliando em mesma proporção (1:1) os ácidos málico (MAL), succínico (SUC), cítrico (CIT) e tartárico em duas proporções, 1:1 (TAR) e 1:0,1 (TAR/10), além dos íons nitrito (NO₂) e nitrato (NO₃).



Fonte: elaborado pelo autor.

4.7 Validação com o método oficial.

Após a determinação do OXA nas amostras de forrageira por amperometria por injeção em fluxo (FIA), tornou-se necessária a validação dos resultados obtidos por meio da comparação com o método oficial empregado para a quantificação desse analito em amostras de forrageira. O método oficial baseia-se na permanganometria, cujo Procedimento Operacional Padrão (POP) foi fornecido pela EMBRAPA Gado de Leite, polo de Juiz de Fora, o qual é composto por quatorze etapas experimentais para o preparo de amostra, com tempo total de execução de aproximadamente quatro dias, conforme descrito na metodologia.

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3, na qual são mostrados os valores médios de OXA expressos em porcentagem em massa (% m/m), determinados tanto pelo método de titulação quanto pela amperometria por injeção em fluxo. Em função da limitada disponibilidade de amostra, apenas três foram analisadas por titulação. Onde é possível observar que os valores se encontram próximos, e concordantes entre si. Para confirmar as similaridades dos resultados obtidos, na mesma tabela, são apresentados os valores calculados e críticos referentes aos testes estatísticos t-Student e F-Fisher, cujos valores calculados são inferiores aos valores críticos, indicando que não há diferenças significativas entre os valores de média e variância obtido pelos métodos respectivamente.

Tabela 3. Comparação entre os teores de OXA (% m/m) determinados por titulação permanganométrica e por amperometria por injeção em fluxo (FIA) em amostras de forrageira, bem como os valores calculados e críticos dos testes *t*-Student e *F*-Fisher.

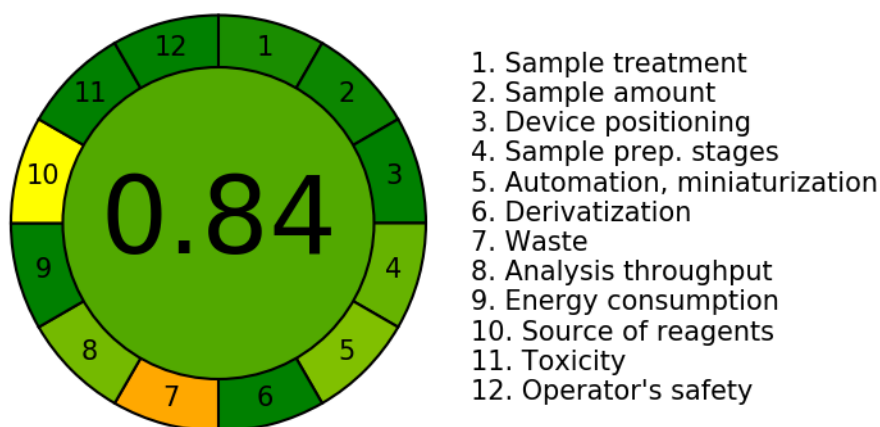
Amostra	Conc. (% m/m) Titulação	Conc. (% m/m) Amperometria	T _{calc.}	T _{crit.}	F _{calc.}	F _{crit.}
73	(5,24 ± 0,25)	(5,00 ± 0,12)	0,760	2,776	9,34	19
76	(4,71 ± 0,03)	(4,91 ± 0,14)	1,03	2,776	1,88	19
45	(2,34 ± 0,01)	(2,43 ± 0,08)	0,78	2,776	3,90	19

Fonte: elaborado pelo autor.

4.8 Calculadores de impacto ambiental

A métrica AGREE foi aplicada para avaliar a sustentabilidade e a compatibilidade ambiental do sistema proposto, fundamentando-se nos 12 princípios da Química Analítica Verde (GAC). O software atribui pontuações em uma escala de 0,0 (menos ecológico, representado pela cor vermelha) a 1,0 (mais ecológico, em verde) (PENA-PEREIRA; WOJNOWSKI; TOBISZEWSKI, 2020). O índice obtido de 0,84 (figura 14) demonstra que o método possui um elevado nível de sustentabilidade. Entre os parâmetros que mais favoreceram este resultado, destacam-se a redução das etapas de preparo de amostra (Princípio 4), o potencial de automação e miniaturização (Princípio 5) e a segurança operacional (Princípio 12). Por outro lado, a geração de resíduos (Princípio 7) e a origem dos reagentes (Princípio 10) apresentaram pontuações inferiores, devido ao volume de descarte intrínseco ao sistema em fluxo e ao uso do ABS como polímero de fonte não renovável.

Figura 14: Resultado obtido pela calculadora analítica GREENness (AGREE)



Fonte: elaborado pelo autor.

O presente trabalho está intrinsecamente alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030 da ONU, com destaque para os ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura) e ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis). Ao desenvolver um sensor eletroquímico de baixo custo utilizando materiais acessíveis, como o esmalte de unha e o carvão ativado, a pesquisa promove a inovação tecnológica (ODS 9) voltada para a agricultura. A aplicação do método na análise de forrageiras contribui diretamente para a segurança alimentar e o bem-estar animal, prevenindo a toxicidade por OXA em ruminantes e otimizando a produtividade pecuária (ODS 2). Além disso, a proposta se enquadra nos princípios da Química Verde ao substituir métodos convencionais de alto custo e elevado consumo de solventes, como a HPLC, por uma alternativa miniaturizada, de análise rápida e com mínima geração de resíduos químicos, fomentando padrões de produção e consumo mais sustentáveis (ODS 12).

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido com sucesso um eletrodo 3D-Gr/CA de baixo custo à base de grafite e carvão ativado, imobilizado em suporte produzido por impressão 3D, destinado à determinação eletroquímica de OXA em amostras de forrageiras.

A otimização da composição do material compósito demonstrou que a incorporação de 12,5 % (m/m) de carvão ativado proporcionou um equilíbrio adequado entre condutividade elétrica e aumento da área superficial eletroativa, resultando em maior intensidade de corrente e melhor definição dos picos eletroquímicos quando comparado às demais composições avaliadas. As análises por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia Raman confirmaram a presença de porosidade, corroborando os resultados eletroquímicos obtidos.

O método analítico desenvolvido, baseado em amperometria acoplada à análise por injeção em fluxo (FIA), apresentou boa linearidade na faixa de concentração estudada, limites de detecção e quantificação adequados, além de boa sensibilidade e precisão. A validação estatística da curva analítica demonstrou ausência de falta de ajuste, elevada significância da regressão, normalidade dos resíduos e homocedasticidade, confirmando a robustez do modelo proposto.

A aplicação do método em amostras reais de capim setária resultou em valores de recuperação entre 91 e 96%, indicando elevada exatidão e mínima interferência da matriz vegetal. Os estudos de repetibilidade apresentaram erro relativo de aproximadamente 6 %, evidenciando boa precisão instrumental da curva analítica. Adicionalmente, o estudo de interferentes demonstrou que ácidos orgânicos e íons comumente presentes em forrageiras não causaram interferências significativas na resposta analítica do OXA, reforçando a validade da análise.

Por fim a validação dos resultados por comparação com o método oficial de permanganometria, por meio dos testes estatísticos *t*-Student e *F*-Fisher, indicou que não há diferenças estatisticamente

significativas entre os métodos, confirmando a confiabilidade do procedimento eletroanalítico desenvolvido. Dessa forma, o eletrodo 3D-Gr/CA e o método amperométrico proposto configuram uma alternativa promissora aos métodos convencionais para a determinação de OXA em forrageiras, apresentando vantagens como redução do tempo de análise, menor consumo de reagentes, baixo custo, simplicidade operacional e potencial aplicação em análises de rotina e monitoramento agrícola. Além disso, o método apresenta alinhamento com os princípios da Química Verde, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias analíticas mais sustentáveis.

6. DESCARTE DOS RESÍDUOS

Os resíduos provenientes da análise, soluções padrão, amostras líquidas e soluções de calibração serão destinados às classes de descarte apropriadas conforme a classificação química, de acordo com os critérios estabelecidos pela Coordenação de Sustentabilidade da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os eletrodos construídos serão desmontados e levados para a reciclagem e produção de outros sensores.

7. INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

A IA ChatGPT foi utilizada para revisar gramática, ortografia e auxiliar em traduções.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDISA, T.; DILBATO DINBISO, T. Toxic Plants and Their Impact on Livestock Health and Economic Losses: A Comprehensive Review. **Journal of Toxicology**, v. 2024, n. 1, 18 jan. 2024.
- ARROYO-GÓMEZ, J. J. et al. Applicability of activated carbon obtained from peach stone as an electrochemical sensor for detecting caffeine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 822, p. 171–176, ago. 2018.
- BELENGUER, A. et al. Impact of oxalic acid on rumen function and bacterial community in sheep. **Animal**, v. 7, n. 6, p. 940–947, 2013.
- BOANE, A. A. et al. Indirect determination of trace concentrations of amoxicillin in environmental samples using a low-cost, disposable additively manufactured sensor. **Electrochimica Acta**, v. 526, p. 146175, jun. 2025.
- DE OLIVEIRA, W. B. V. et al. Composite material immobilized in 3D-printed support, an economical approach for electrochemical sensing of nimesulide. **Microchemical Journal**, v. 188, p. 108463, maio 2023.
- GEMEINER, P. et al. A new generation of fully-printed electrochemical sensors based on biochar/ethylcellulose-modified carbon electrodes: Fabrication, characterization and practical applications. **Electrochimica Acta**, v. 487, p. 144161, maio 2024.
- KALLIGOSFYRI, P. M.; MIGLIONE, A.; CINTI, S. Screen-Printing and 3D-Printing Technologies in Electrochemical (Bio)sensors: Opportunities, Advantages and Limitations. **ECS Sensors Plus**, v. 4, n. 1, p. 010601, 1 mar. 2025.
- KASSIE, W.; WASHE, A. P.; ETSAY, H. Spectrophotometric Determination of Oxalic Acid in Dietary Sources Through Catalytic Titration with Hexavalent Chromium. **Food Science and Quality Management**, jan. 2019.
- LISBOA, T. P. et al. A pencil graphite-based disposable device for electrochemical monitoring of sulfanilamide in honey and water samples. **Analytical Methods**, v. 14, n. 39, p. 3867–3874, 2022.
- MALFA, G. A. et al. Oxalis pes-caprae L. (Oxalidaceae): From Invasive Concern to Promising Bioresource for Health and Sustainable Applications. **Plants**, v. 14, n. 4, p. 578, 14 fev. 2025.
- MATSUURA, H. et al. Voltammetric Detection of Oxalic Acid by Using Glassy Carbon Electrodes

with Covalently Attached Nitrogen-containing Functional Groups. **Analytical Sciences**, v. 31, n. 7, p. 733–735, 10 jul. 2015.

MONT'SO, K. E. et al. Development of a 'drop-count' method for the screening of the ethanol content in hand sanitisers using oxalic acid and potassium permanganate titrimetry. **Orapuh Journal**, v. 3, n. 1, p. e901, 2022.

NAPPI, G. U. et al. Validação de métodos para determinação dos ácidos fítico e oxálico em multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 811–820, dez. 2006.

OLIVEIRA, W. B. V. et al. Chemometric tools applied to silver nanoparticles electrodeposition in 3D-printed disposable device for the determination of sulfamethoxazole in different samples by voltammetry. **Microchemical Journal**, v. 193, n. May, 2023.

PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L.; GUTZ, I. G. R. Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. **Electroanalysis**, v. 8, n. 7, p. 673–675, jul. 1996.

PENA-PEREIRA, F.; WOJNOWSKI, W.; TOBISZEWSKI, M. AGREE—Analytical GREENness Metric Approach and Software. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 14, p. 10076–10082, 21 jul. 2020.

PUNDIR, C. S. et al. A novel amperometric biosensor for oxalate determination using multi-walled carbon nanotube-gold nanoparticle composite. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 155, n. 2, p. 796–803, jul. 2011.

SHADAROVA, L. G. et al. In situ Voltammetry Determination of Ascorbic and Oxalic Acids in Juices and Fruits Using an Electrode Modified by a Gold–Palladium Bimetallic System. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 76, n. 3, p. 365–370, 13 mar. 2021.

TRUJILLO VARGAS, L. M.; VÉLEZ SALAZAR, Y. H.; RAMÍREZ CARMONA, M. E. Determination of citric and oxalic acid in fungi fermentation broth through HPLC-DAD and solid-phase extraction. **DYNA**, v. 87, n. 212, p. 26–30, 1 jan. 2020.

YANG, X. et al. Electrochemical sensors for hydroquinone and catechol based on nano-flake graphite and activated carbon sensitive materials. **Synthetic Metals**, v. 287, p. 117079, jul. 2022.

ZHANG, G. et al. Radially Aligned Porous Carbon Nanotube Arrays on Carbon Fibers: A Hierarchical 3D Carbon Nanostructure for High-Performance Capacitive Energy Storage. **Advanced Functional Materials**, v. 26, n. 18, p. 3012–3020, 22 maio 2016.

ZHENG, Y. et al. Determination of oxalic acid in spinach with carbon nanotubes-modified electrode. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1523–1528, jun. 2009.