

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TIAGO OST FRACARI

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS
MAGNÉTICAS DE FERRITA DE NÍQUEL PARA DETECÇÃO DE
ÁCIDO ASCÓRBICO E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, março de 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TIAGO OST FRACARI

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS
MAGNÉTICAS DE FERRITA DE NÍQUEL PARA DETECÇÃO DE
ÁCIDO ASCÓRBICO E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química


Prof. Dr. Vladimir Lavayen

Orientador

Porto Alegre, março de 2018.

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre março/2015 e janeiro/2018, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do Professor Doutor Vladimir Lavayen e Coorientação da Professora Doutora Jacqueline Arguello. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:




Prof. Dr. Márcio de Sousa Góes



Prof.^a Dra. Sandra Maria Maia



Prof. Dr. Aloir Antonio Merlo



Prof. Dr. Vladimir Lavayen



Prof.^a Dra. Jacqueline Arguello



Tiago Ost Fracari

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente aos meus pais, Dilso e Reni, pelo apoio e incentivo e também por ouvirem as minhas angústias e anseios ao longo desta caminhada. Pela compreensão por muitas vezes estar distante, e por mais que tivessem suas dificuldades, sempre estavam preocupados e dispostos a dar aquela palavra de motivação. Também agradeço a minha irmã, Tamara, que também esteve fazendo mestrado no mesmo período, com quem tive uma troca de experiências que me ajudou muito nesta caminhada.

Ao meu orientador, Vladimir Lavayen, e minha coorientadora, Jacqueline Arguello, os quais aceitaram o desafio de entrar nessa jornada comigo, por compartilharem um pouco do vasto conhecimento que possuem. Conhecimentos que transcenderam as atividades que permeiam o meio acadêmico, pois muitas vezes fizeram um papel além de orientadores, ajudando na adaptação a nova cidade e instituição no início, me incentivando sempre, puxando a orelha quando necessário, me aconselhando, compartilhando suas experiências, enfim, pelas inúmeras conversas sobre os mais variados assuntos, as quais me proporcionaram aprendizados que levarei para o resto de minha vida.

Aos meus colegas de laboratório, em especial a Nicole Lazzari, pela ajuda e dedicação nos muitos “dias de luta” durante a realização dos experimentos, cuja contribuição foi de suma importância para os resultados deste trabalho.

Ao Instituto Federal Farroupilha-Campus Panambi, instituição de onde venho, que me proporcionou o afastamento de meu trabalho para a realização do mestrado.

Ao CNANO, ao Instituto de Química e ao Centro de Microscopia e Microanálise da UFRGS, pela infraestrutura que possibilitaram a realização deste trabalho.

Um agradecimento especial ao professor João Baptista pelas medições e ensino da Espectroscopia Mössbauer, e ao professor Fabiano Rodembusch pela medições de refletância difusa.

Aos membros de minha banca pelas suas contribuições para a versão final deste trabalho.

Enfim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, direta ou indiretamente, participaram ou tornaram possível a realização desta dissertação.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DO PERÍODO

1. Trabalhos apresentados pelo autor em congressos gerados a partir dessa dissertação

Fracari, T. O.; Lavayen, V.; *Estudo estrutural e vibracional de nanopartículas de ferrita de níquel*. XXIII Encontro de Química da Região Sul, Santa Maria, RS (outubro/2016).

Sessão: Oral

Fracari, T. O.; Webber, J. S.; Ubatuba, M.; Lavayen, V.; *Estudo estrutural e vibracional de nanopartículas de óxidos mistos*. I Encontro Multidisciplinar em Ciência dos Materiais do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS (novembro/2016).

Sessão: Pôster

Fracari, T. O.; Lazzari, N.; Lavayen, V.; *XRD, TEM, and vibrational spectroscopy studies on doped nickel ferrite nanoparticles*. 46th World Chemistry Congress, 40^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química and IUPAC 49th General Assembly, São Paulo, SP (julho/2017).

Sessão: Pôster

Fracari, T. O.; Arguello, J.; Lazzari, N.; Lavayen, V.; *Caracterização estrutural de nanopartículas de ferrita de níquel*. 57^o Congresso Brasileiro de Química, Gramado, RS (outubro/2017).

Sessão: Pôster

2. Outros trabalhos gerados a partir dessa dissertação apresentados por outros autores em congressos

Lazzari, N.; **Fracari, T. O.**; Lavayen, V.; Arguello, J.; *Peroxidase like activity of NiFe₂O₄*. 5th Bioanalytical School, Santo André, SP (novembro/2017).

Sessão: Pôster

3. Outros trabalhos apresentados no período da dissertação

Lavayen, V.; **Fracari, T. O.**; *Estudio de espectros electrónicos de nanotubos de polipirrol*. 4^{to} Encuentro Nacional de Química, Montevideú, Uruguai (novembro/2015).

Sessão: Pôster

Lumbarque, E. C.; Martins, R.; Dallegrave, A.; **Fracari, T. O.**; Lavayen, V.; Sirtori, C.; *Pharmaceuticals Degradation using Solar Heterogeneous Photo-fenton Process over Modified Alginate Spheres: Preliminary Evaluation*. 3rd Iberoamerican Conference on Advanced Oxidation Technologies and 2nd Colombian Conference on Advanced Oxidation Processes, Guatapé, Colômbia (novembro/2017).

Sessão: Oral

4. Artigos completos publicados em periódicos

Lavayen, V.; Einloft, S.; **Fracari, T. O.**; *Thermal behaviour and spectroscopy analysis of carbonized nanostructures derived of polypyrrole manotubes*. Int. J. Nanosci. **2017**, 16, 1750014.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIV
RESUMO	XVI
ABSTRACT	XVII
INTRODUÇÃO	18
CAPÍTULO 1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
1.1 FERRITAS	20
1.2 NANOPARTÍCULAS DE FERRITA DE NÍQUEL	22
1.2.1 MÉTODOS DE SÍNTESE	22
1.2.2. APLICAÇÕES	26
1.3 ÁCIDO ASCÓRBICO: RELEVÂNCIA E MÉTODOS DE ANÁLISE	28
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS.....	33
2.1 OBJETIVO GERAL	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
CAPÍTULO 3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	34
3.1 MATERIAIS E REAGENTES	34
3.2 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE FERRITA DE NÍQUEL	35
3.3 MÉTODOS E TÉCNICAS UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO.....	36
3.3.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X	36
3.3.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	39
3.3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA NA REGIÃO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL	41
3.3.4 ESPECTROSCOPIA DE REFLETÂNCIA DIFUSA EM SÓLIDOS.....	42
3.3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA	43
3.3.6 ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER	45

3.3.7 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA	47
3.3.8 SUSCETIBILIDADE MAGNÉTICA	47
3.3.9 ANÁLISE TÉRMICA	47
3.3.10 OUTROS EQUIPAMENTOS	48
3.4 CONDIÇÕES REACIONAIS PARA OS TESTES COLORIMÉTRICOS	48
3.4.1. DETECÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO	48
3.4.2 DETECÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	50
3.5 SOFTWARES UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE DADOS E IMAGEM	50
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DE NiFe ₂ O ₄	51
4.1.1 ANÁLISE TÉRMICA	51
4.1.2 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	53
4.1.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS X	57
4.1.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA	58
4.1.5 ANÁLISE POR REFLETÂNCIA DIFUSA: CÁLCULO DO <i>BAND GAP</i>	62
4.1.6 ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER	63
4.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DE C-NiFe ₂ O ₄	66
4.2.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA	66
4.2.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS X	67
4.2.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	67
4.2.4 ANÁLISE DE SUSCETIBILIDADE MAGNÉTICA	71
4.3 DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE ÁCIDO ASCÓRBICO UTILIZANDO C-NiFe ₂ O ₄	73
4.3.1 PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO SENSOR	73
4.3.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE REAÇÃO	75
4.3.3 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE ÁCIDO ASCÓRBICO	81
4.4 DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO UTILIZANDO NiFe ₂ O ₄	86

CONCLUSÃO	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXO	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Segmento de célula unitária da estrutura de espinélio normal (a) e invertido (b). (Adaptado da Ref. 9)	21
Figura 2. Número de publicações por ano no intervalo de 1980 - 2017, pesquisando-se com o termo " <i>ferrite</i> " no site Web of Science (acesso em 27/12/2017)	22
Figura 3. Fórmula estrutural do ácido ascórbico.....	28
Figura 4. Alguns equipamentos utilizados nas medições deste trabalho: (A) microscópio eletrônico de varredura Zeiss EVO MA10. (B) microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM 1200 Exll. (C) microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM 2010. (D) espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu IRPrestige-21. (E) espectrofotômetro UV-Vis Varian, Cary 50 Conc.	36
Figura 5. Fenômeno da difração de raios X em um cristal (adaptado da ref. 60).....	37
Figura 6. Tipos de vibrações de uma molécula (+ e – significam vibrações perpendiculares ao plano do papel) (adaptado da Ref. 63)	40
Figura 7. Representação esquemática das interações do feixe eletrônico com a amostra no microscópio eletrônico (Adaptado da Ref. 67)	44
Figura 8. Representação esquemática de um espectrômetro Mössbauer, onde são observados o carrinho e o detector, além das transições responsáveis pela emissão de raios γ no detalhe. (Adaptado da Ref. 8)	46
Figura 9. Curva de TGA e primeira derivada da perda de massa do precursor de NiFe_2O_4 no intervalo entre 27°C - 900°C , com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ e imagens do material antes e após aquecimento a 500°C e a 900°C	52
Figura 10. Espectros de infravermelho do precursor e das amostras aquecidas a 150°C , 350°C , 400°C e 500°C , na região de 1250 cm^{-1} - 400 cm^{-1}	54
Figura 11. Espectros de infravermelho do precursor e das amostras calcinadas a 500°C a diferentes taxas de aquecimento, na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , com supressão da região entre 2700 cm^{-1} a 1350 cm^{-1}	56
Figura 12. Padrão de difração das nanopartículas de NiFe_2O_4 calcinadas a 350°C e 500°C ..	57

Figura 13. Imagem de microscopia eletrônica de varredura da amostra calcinada a 500°C (A). Histograma de distribuição de tamanho das partículas (B)	59
Figura 14. Espectro de EDS da amostra calcinada a 500°C com a imagem da região analisada e a tabela com as percentagens em massa e atômica dos elementos.....	60
Figura 15. Análise de mapeamento elementar, mostrando a imagem de MEV da região analisada (A), e as regiões coloridas mostrando a presença dos seguintes elementos: (O) Oxigênio (amarelo); (Fe) Ferro (verde); (Ni) Níquel (azul).	60
Figura 16. Imagem de Microscopia eletrônica de transmissão das amostras calcinadas em: 350°C (A) e 500°C (B). As setas vermelhas mostram as nanopartículas	61
Figura 17. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas em campo claro (A) e campo escuro (B). Spot de difração de elétrons da região de maior cristalinidade da imagem (C).....	62
Figura 18. Espectro de UV-Vis em estado sólido na região entre 400-900 nm para as amostras calcinadas a 350°C e 500°C (A). Gráfico de Tauc para as amostras calcinadas a 350°C e 500°C, onde a intersecção das linhas pontilhadas representa o valor do <i>band gap</i> para a banda direta (B).....	63
Figura 19. Espectro de Mössbauer das nanopartículas de NiFe ₂ O ₄ medido a temperatura ambiente (A). Distribuição de campo magnético hiperfino das nanopartículas de NiFe ₂ O ₄ , oriundo dos ajustes do espectro Mössbauer (B).....	64
Figura 20. Espectro de Mössbauer das NPs medido a temperatura de -178°C. Os pontos são dados experimentais enquanto as linhas passando pelos pontos são resultado dos ajustes dos espectros usando distribuição de campo hiperfino, para cada um dos sextetos, S1 e S2.....	65
Figura 21. Padrão de difração de amostra C-NiFe ₂ O ₄ no plano 10°-80°.	67
Figura 22. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão da amostra C-NiFe ₂ O ₄ em campo claro (A). Histograma de distribuição do tamanho das nanopartículas (B)	68
Figura 23. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão em campo escuro, da mesma região da imagem da Figura 22 A (A). Spot de difração de elétrons (B).....	68
Figura 24. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão da amostra C-NiFe ₂ O ₄ (A). Imagem ampliada de uma região da Figura 24 A, onde as setas identificam a presença de planos atômicos, assim como os arranjos dos átomos (B).....	69

Figura 25. Imagem ampliada de microscopia eletrônica de alta resolução de uma nanopartícula da amostra C-NiFe ₂ O ₄	70
Figura 26. Curvas de histerese do C-NiFe ₂ O ₄ e NiFe ₂ O ₂ medidas à temperatura ambiente, com inserção da região central ampliada	71
Figura 27. Reação de oxidação do TMB na presença de C-NiFe ₂ O ₄	73
Figura 28. Espectros de absorção e fotografia inserida mostrando a variação da coloração dos diferentes sistemas envolvidos nos testes colorimétricos em solução tampão HOAc/NaOAc pH 3,5: (A) C-NiFe ₂ O ₄ +TMB, (B) C-NiFe ₂ O ₄ , (C) TMB.....	74
Figura 29. Redução do TMB _{OX} por ação do ácido ascórbico	74
Figura 30. Gráfico de absorbância em função do pH. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão	75
Figura 31. Percentual de íons Fe lixiviados em função do pH. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão	76
Figura 32. Gráfico de absorbância em função da Temperatura. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão	77
Figura 33. Gráfico de absorbância em função do tempo de reação. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão	78
Figura 34. Gráfico de absorbância em função da concentração de TMB. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão	79
Figura 35. Gráfico de absorbância em função da concentração de nanopartículas. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão	79
Figura 36. Comparativo da intensidade da absorbância com 5 e 30 segundos de agitação. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão	80
Figura 37. (A) Espectros de absorção do TMB _{ox} a diferentes concentrações de AA. (B) Gráfico da absorbância em função da concentração de AA.....	81
Figura 38. (A) Curva analítica para o ácido ascórbico. (B) Foto mostrando a variação da coloração das suspensões de acordo com a [AA]. B=Branco	82
Figura 39. (A) Fotografia das soluções de TMB _{ox} na presença dos possíveis interferentes. (B) Intensidade da absorbância na presença de KCl, NaCl, Glu, DA, a mistura dos mesmos e AA	84

Figura 40. Curva analítica de adição de padrão para: (A) amostra de comprimido de vitamina C. (B) solução de vitamina C. As linhas pontilhadas mostram a interpolação da reta até o intercepto com o eixo X	85
Figura 41. Espectros de absorção e fotografia inserida mostrando a variação da coloração dos diferentes sistemas envolvidos nos testes colorimétricos em solução tampão HOAc/NaOAc pH 3,5: (A) NiFe ₂ O ₄ +TMB+H ₂ O ₂ , (B) TMB+H ₂ O ₂ , (C) NiFe ₂ O ₄ +TMB, (D) NiFe ₂ O ₄ +H ₂ O ₂	86
Figura 42. (A) Foto mostrando a variação da intensidade da coloração em função da concentração de H ₂ O ₂ . (B) Espectros de absorção a diferentes concentrações de H ₂ O ₂	87
Figura 43. Absorbância em função da concentração de H ₂ O ₂ e as duas faixas de relação linear: 2,28 μM-28,60 μM e 28,60 μM-114,20 μM.....	88
Figura A1. Curva de TGA e primeira derivada da perda de massa da amostra C-NiFe ₂ O ₄ no intervalo entre 27°C-700°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.....	97

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Condições de reação e dados de calibração analítica para diferentes materiais utilizados na determinação de ácido ascórbico	32
Tabela II. Composição dos componentes minerais presentes na clara de ovo fresca de galinha	34
Tabela III. Condições de reação avaliadas em cada parâmetro otimizado	48
Tabela IV. Temperaturas e intervalos de decomposição do precursor cerâmico no intervalo de 27-900 °C	53
Tabela V. Atribuição dos modos vibracionais das amostras calcinadas a diferentes temperaturas na taxa de aquecimento de 10°C/min	55
Tabela VI. Parâmetro hiperfino do ajuste dos espectros de Mössbauer a temperatura de -178°C	65
Tabela VII. Teores de ferro e níquel na amostra C-NiFe ₂ O ₄	66
Tabela VIII. Comparação de valores da literatura com as amostras sintetizadas neste estudo para a magnetização de saturação, magnetização remanescente e coercitividade	72
Tabela IX. Condições de reação otimizadas	80
Tabela X. Comparação da faixa linear e LD do ácido ascórbico	83
Tabela XI. Resultados da determinação de AA em suplementos de vitamina C	85
Tabela XII. Comparação da faixa linear e LD do peróxido de hidrogênio	89

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido Ascórbico

ABTS - ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

AgNPs – Nanopartículas de prata

AU – Ácido Úrico

AuNPs – Nanopartículas de ouro

B – Branco

CDS/Fe₃O₄ - Nanofibras de magnetita e quantum dots de carbono

Co₃O₄/CGM - Óxido de cobalto decorado com microesferas de grafeno

Cu-Ag/rGO - Nanopartículas de cobre e prata em lamelas de óxido de grafeno

Cu NPs@C - Nanocompósitos de carbono com nanopartículas de cobre derivadas de estruturas metal-orgânicas

DA - Dopamina

DRX – Difração de raios X

DTG – Termogravimetria derivada

EDS – Espectroscopia de energia dispersiva

Fe₃O₄/N-C - Nanofibras de magnetita e carbono dopado com nitrogênio

FL – Faixa linear

Glu - Glicose

HOAc/NaOAc - Solução tampão de ácido acético/acetato de sódio

K-M - Kubelka-Munk

LD – Limite de detecção

MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

min - Minutos

MS GNRs – Nanobastões de ouro recobertos por sílica mesoporosa

NPs – Nanopartículas

PSS-rGO - Óxido de grafeno funcionalizado com poli (4-estireno sulfonado de sódio)

s – segundos

ss-DNA – DNA de cadeia simples

T – Temperatura

TMB - 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina

TMB_{ox} – Forma oxidada do TMB

TGA – Análise termogravimétrica

UV-Vis – Ultravioleta-visível

RESUMO

Neste estudo apresenta-se a síntese de duas amostras de nanopartículas de ferrita de níquel, denominadas C-NiFe₂O₄ e NiFe₂O₄, através de um método simples, de baixo custo e ambientalmente amigável. Estudos morfológicos, estruturais, eletrônicos, ópticos e magnéticos foram realizados com o intuito de caracterizar as propriedades desses materiais para que possibilitassem, além de maior grau de conhecimento, sua aplicação como sensores colorimétricos para detecção de ácido ascórbico e peróxido de hidrogênio. Mediante a análise térmica dos precursores, foi possível determinar os intervalos de temperatura de decomposição, assim como a temperatura ótima de formação das nanopartículas. A amostra NiFe₂O₄ é ferromagnética e corresponde a uma fase cúbica de espinélio inverso. Os dados de difração de raios X, espectroscopia Mössbauer e o modelo iônico sugerem a presença de um certo grau de substituição, possuindo em sua estrutura um cátion divalente como agente dopante. As nanopartículas de C-NiFe₂O₄ foram utilizadas como catalisador na oxidação do 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) em meio ácido para formar uma solução azul sem adição de outro reagente. Como resultado foi utilizado como sensor colorimétrico para detecção de ácido ascórbico, visto que este reduz o complexo de transferência de carga, TMB_{OX}, novamente para TMB. A calibração analítica apresentou uma faixa linear entre 1-20 µM para a concentração de ácido ascórbico, com limite de detecção (3 σ/m) de 0,93 µM. A determinação em suplementos de vitamina C através do método de adição de padrão mostrou a eficiência do sensor para detectar ácido ascórbico em amostras reais. Já a amostra de NiFe₂O₄ demonstrou atividade catalítica semelhante as peroxidases naturais, oxidando o TMB na presença de H₂O₂ para formar TMB_{OX}, que dá coloração azul a solução. Dessa forma, NiFe₂O₄ foi utilizado em um sensor colorimétrico para detecção de H₂O₂ e a calibração analítica revelou duas faixas lineares, uma entre 2,28 - 28,60 µM e a outra entre 28,60 µM - 114,20 µM. O limite de detecção (3 σ/m) foi de 1,94 µM. Ambos os métodos apresentaram boa repetibilidade, com coeficiente de variação de 3,5% e 4% respectivamente.

Palavras-chave: nanopartículas de ferrita de níquel, sensor colorimétrico, ácido ascórbico, peróxido de hidrogênio.

ABSTRACT

This study presents the synthesis of two samples of nickel ferrite nanoparticles, termed C-NiFe₂O₄ and NiFe₂O₄, through a simple, low cost and environmentally friendly method. Morphological, structural, electronic, optical and magnetic studies were carried out with the aim of characterizing the properties of these materials, which allowed the application of colorimetric sensors for the detection of ascorbic acid and hydrogen peroxide. Through the thermal analysis of the precursors, it was possible to determine the decomposition temperature ranges, as well as the optimum temperature of formation of the nanoparticles. The sample NiFe₂O₄ is ferromagnetic and corresponds to a cubic phase of inverse spinel. The X-ray diffraction data, Mössbauer spectroscopy and the ionic model suggest the presence of a certain degree of substitution, having in its structure a divalent cation as a doping agent. The C-NiFe₂O₄ nanoparticles were used as catalysts in the oxidation of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) in acidic medium to form a blue solution without addition of another reagent. As a result, it was used as a colorimetric sensor for the detection of ascorbic acid, as it reduces the charge transfer complex, TMB_{OX}, again to TMB. The analytical calibration showed a linear range between 1-20 µM for the concentration of ascorbic acid, with a detection limit ($3 \sigma/m$) of 0.93 µM. The determination of vitamin C supplements using the standard addition method showed the efficiency of the sensor to detect ascorbic acid in actual samples. Already NiFe₂O₄ sample demonstrated catalytic activity similar to natural peroxidases, oxidizing the TMB in the presence of H₂O₂ to form TMB_{OX}, which gives blue coloration to the solution. Thus, NiFe₂O₄ was used in a colorimetric sensor to detect H₂O₂, and the analytical calibration revealed two linear ranges, one between 2.28 - 28.60 µM and the other between 28.60 µM - 114.20 µM. The detection limit ($3 \sigma/m$) was 1.94 µM. Both methods presented good repeatability, with a coefficient of variation of 3.5% and 4% respectively.

Keywords: nickel ferrite nanoparticles, colorimetric sensor, ascorbic acid, hydrogen peroxide.

INTRODUÇÃO

As ferritas são materiais cerâmicos que têm despertado grande interesse em diversas áreas nos últimos anos, devido as suas propriedades elétricas e magnéticas e a sua possibilidade de utilização em diversas aplicações. As ferritas são formadas por oxigênios, íons Fe^{3+} e um íon metálico divalente (M^{2+}), podendo apresentar estrutura cristalina de espinélio normal, onde a distribuição dos cátions é $(\text{M}^{2+})[\text{Fe}_2^{3+}]\text{O}_4$; espinélio invertido, com distribuição $(\text{Fe}^{3+})[\text{M}^{2+}\text{Fe}^{3+}]\text{O}_4$, onde os íons entre parênteses estão situados nos interstícios tetraédricos e os íons dentro dos colchetes estão situados nos interstícios octaédricos; ou ainda espinélio misto, que são estruturas intermediárias entre as duas citadas acima.

A ferrita de níquel, objeto de estudo desta dissertação, possui fórmula unitária NiFe_2O_4 e geralmente apresenta estrutura de espinélio inverso. Em relação a ferrita de níquel com dimensões na ordem dos nanômetros, é primordial o controle do tamanho, forma, área superficial e homogeneidade das nanopartículas, pois essas características influenciam diretamente nas diversas propriedades, sendo esses alguns dos fatores cruciais para a eficiência em possíveis aplicações deste material. O método de síntese influencia diretamente nesses fatores, sendo que existem diversas opções de rotas sintéticas para a obtenção de ferrita de níquel. Nesse contexto, a variação em alguns processos de uma mesma rota sintética utilizada como base possibilita obter como resultado materiais com diferentes propriedades, mesmo que os materiais de partida ainda sejam os mesmos. Nesta dissertação, optou-se por utilizar diferentes adaptações de uma rota sintética que emprega somente sais metálicos de níquel e ferro e também a clara de ovo, constituindo-se assim em um método ambientalmente amigável, simples e de fácil execução.

Dentre as diversas aplicações de nanopartículas de ferrita de níquel, elas já foram utilizadas em diversos tipos diferentes de sensores, porém ainda foi pouco explorado o seu uso em sensores colorimétricos, o que representa uma possibilidade de sua aplicação nessa área. E, mais especificamente, não há reportado o seu uso na detecção colorimétrica de ácido ascórbico, analito escolhido para detecção nesta dissertação.

O ácido ascórbico é conhecido popularmente pelo nome de vitamina C e possui fórmula molecular $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, destacando-se por ser um excelente antioxidante, impedindo a formação de radicais livres e estimulando o sistema imunológico. Também é imprescindível para o funcionamento adequado de células formadoras de vários tecidos, principalmente na formação

e manutenção do colágeno, além auxiliar na absorção do ferro pelo organismo e no depósito de cálcio e fosfato nos ossos.

Como o corpo humano não produz ácido ascórbico, outras fontes são buscadas para suprir sua necessidade, como a alimentação ou suplementação. Assim, existe uma gama de suplementos disponíveis no mercado com as mais variadas concentrações de ácido ascórbico, o que torna importante o desenvolvimento de métodos analíticos para a sua determinação. Existem diversas metodologias que podem ser utilizadas para detectar ácido ascórbico, sendo que os sensores colorimétricos apresentam uma série de vantagens, como a simplicidade, praticidade, rapidez, boa sensibilidade e custo relativamente baixo quando comparado com os outros métodos. A maioria dos métodos colorimétricos desenvolvidos para a detecção de ácido ascórbico são baseados na modificação da banda plasmônica de nanopartículas, proporcionalmente a adição do analito ou ainda na utilização de nanopartículas que catalisam a oxidação de um substrato orgânico na presença de H_2O_2 para formar uma solução colorida, que tem sua cor atenuada de acordo com a concentração de ácido ascórbico adicionada. Aqui, será apresentada uma alternativa em que as nanopartículas de ferrita de níquel oxidam um substrato orgânico sem a necessidade da adição de H_2O_2 para se obter uma solução colorida.

Esta dissertação foi organizada na forma de capítulos, que são precedidos por esta breve introdução. No Capítulo 1, denominado *Fundamentação teórica*, são apresentados o embasamento e relevância deste trabalho, mostrando os conceitos e considerações sobre ferritas, estado da arte sobre as rotas sintéticas, aplicações das nanopartículas de ferrita de níquel e revisão sobre métodos de detecção de ácido ascórbico. No segundo capítulo são apresentados o objetivo geral e os objetivos específicos traçados para a dissertação. No Capítulo 3, denominado *Metodologia experimental*, são descritos os materiais, reagentes, procedimentos e equipamentos utilizados, além da descrição das técnicas de caracterização empregadas. No quarto capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos, em termos de formação, estequiometria, tamanho, composição e fase das nanopartículas, bem como condições reacionais ótimas e parâmetros de mérito dos testes colorimétricos. Por fim, são apresentadas as conclusões deste trabalho, relacionando-as com os objetivos inicialmente traçados e em seguida são listadas as referências bibliográficas utilizadas.

O principal objetivo deste trabalho é a síntese e caracterização de nanopartículas de ferrita seguindo procedimento simples, fácil e de baixo custo e subsequente aplicação no desenvolvimento de sensores colorimétricos para detecção de peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico.

CAPÍTULO 1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 FERRITAS

As ferritas são materiais cerâmicos que têm despertado grande interesse em diversas áreas devido as suas propriedades elétricas e magnéticas.¹ Elas encontram diversas aplicações, tais como armazenamento de dados de alta densidade, ferrofluidos, sensores, refrigeração magneto-calorífica, catálise heterogênea, transporte de drogas guiadas magneticamente, imagem de ressonância magnética, tratamento contra o câncer através de hipertermia magnética, entre outros.¹⁻⁵ As propriedades e características desses materiais podem ser reguladas em função da estequiometria, tamanho, forma, relação de área/superfície.¹ A ferrita protótipo é o Fe_3O_4 , o mineral magnetita, que algumas vezes é chamado de pedra-ímã.¹ Estes compostos fazem parte dos óxidos mistos junto as perovskitas e ilmenitas.⁶

As ferritas podem ser representadas pelas fórmulas: $(\text{M}^{2+})[\text{Fe}_2^{3+}]\text{O}_4$ ou $(\text{Fe}^{3+})[\text{M}^{2+}\text{Fe}^{3+}]\text{O}_4$, onde M é um íon metálico divalente como Fe^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Cd^{2+} , os íons entre parênteses estão situados nos interstícios tetraédricos e os íons dentro do colchete estão situados nos interstícios octaédricos.^{7,8} Os íons óxido, O^{2-} , formam uma rede cristalina cúbica de empacotamento compacto. Além disso, podem ser produzidos ferritas mistas, que contém misturas de dois íons metálicos divalentes, como o $\text{Mn}_x\text{Mg}_{1-x}\text{Fe}_2\text{O}_4$, em que a razão $\text{Mn}^{2+}:\text{Mg}^{2+}$ pode ser variada.

As ferritas podem apresentar estrutura cristalina de espinélio normal, espinélio invertido ou espinélio misto. No espinélio normal o arranjo dos cátions é $(\text{M}^{2+})[\text{Fe}_2^{3+}]\text{O}_4$, onde os cátions divalentes ocupam um oitavo de sítios tetraédricos e os cátions trivalentes ocupam os sítios octaédricos, ver Figura 1(a). Já para o espinélio invertido, ver Figura 1(b), metade dos cátions trivalentes ocupam o interstício tetraédrico e os cátions divalentes ocupam o sítio octaédrico, formando um óxido misto de fórmula geral $(\text{Fe}^{3+})[\text{M}^{2+}\text{Fe}^{3+}]\text{O}_4$.⁵ Entre esses dois extremos estão os espinélios mistos, onde a distribuição dos cátions é $(\text{M}_{1-x}^{2+}\text{Fe}_x^{3+})[\text{M}_x^{2+}\text{Fe}_{2-x}^{3+}]\text{O}_4$, no qual x ($0 \leq x \leq 1$) é conhecido como o grau de inversão. Dessa forma, um espinélio totalmente normal apresenta o valor de $x = 0$, enquanto que um espinélio 100% inverso tem o valor de $x = 1$ e assim espinélios mistos possuem valores intermediários, entre 0 e 1.

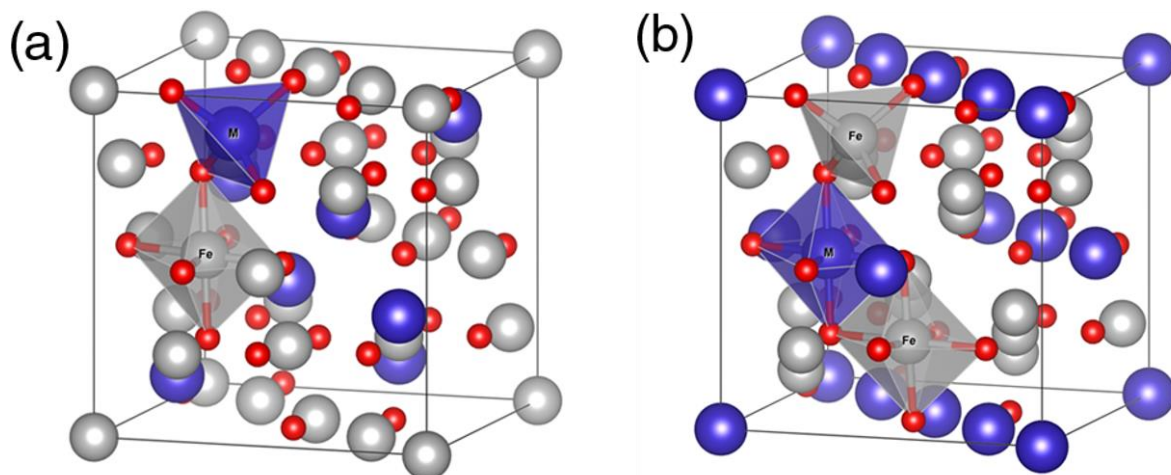


Figura 1. Segmento de célula unitária da estrutura de espinélio normal (a) e invertido (b). (Adaptado da Ref. 9)

A presença de diferentes íons metálicos, especialmente dos elementos de transição, pode modificar as propriedades magnéticas intrínsecas das ferritas. Por isso, a escolha deve ser realizada considerando os seguintes fatores: i) O tamanho relativo dos cátions divalentes e trivalentes. ii) a constante de Madelung dos íons, e iii) a energia de estabilização de campo ligante (EECL).^{8,9}

A ferrita de níquel, objeto de estudo desta dissertação, possui fórmula unitária NiFe_2O_4 , também conhecida como trevorita, nome do mineral no qual é encontrada na natureza.¹ Geralmente, NiFe_2O_4 possui estrutura de espinélio invertido e destaca-se por suas propriedades magnéticas, elétricas e catalíticas, possuindo baixa resistividade elétrica e coercividade.^{11,12}

A Figura 2 demonstra o crescimento das publicações sobre ferritas no período de 1980 a 2017, considerando artigos indexados na Web of Science-ISI. Foram encontrados um total de 57029 artigos para o termo “*ferrite*”, 4480 artigos para “*nickel ferrite*” e 176 artigos com os termos “*nickel ferrite*” e “*sensor*”. Analisando esses números, aproximadamente 8% dos artigos publicados está relacionada a ferrita de níquel, e menos de 5% desse número diz respeito a sua aplicação como sensor. O fato de que as aplicações das ferritas de níquel como sensores são ainda pouco exploradas, reforça a relevância desta dissertação, pelo aporte que pode significar nesta área de pesquisa.

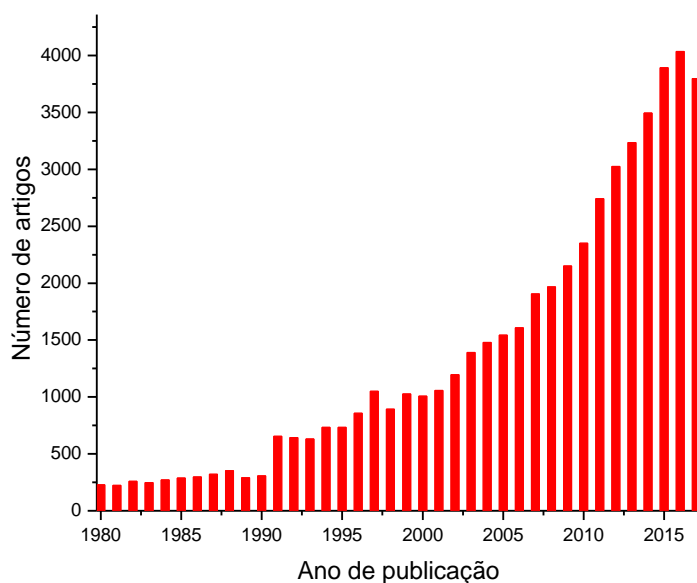


Figura 2. Número de publicações por ano no intervalo de 1980 - 2017, pesquisando-se com o termo "ferrite" no site Web of Science (acesso em 27/12/2017).

1.2 NANOPARTÍCULAS DE FERRITA DE NÍQUEL

1.2.1 MÉTODOS DE SÍNTESE

Em se tratando de ferrita de níquel (NiFe_2O_4) com dimensões na ordem dos nanômetros, é primordial o controle do tamanho, forma, área superficial e homogeneidade das nanopartículas, pois essas características influenciam diretamente nas diversas propriedades, sendo esses alguns dos fatores cruciais para a eficiência em possíveis aplicações deste material.¹³

As nanopartículas de ferrita de níquel podem ser sintetizadas utilizando diferentes metodologias tais como o método mecanoquímico¹, solvotérmico¹⁴, hidrotérmico¹⁵, sonoquímico¹⁶, interface líquido-líquido¹⁷, termólise¹⁸, supercrítico¹⁹, deposição polimérica assistida²⁰, precipitação/co-precipitação²¹, entre outros. O método utilizado define as características do material produzido em relação ao tamanho e forma das partículas, homogeneidade, diferenças nas propriedades magnéticas, presença ou ausência de impurezas,

relação estequiométrica, Ni:Fe, diferente de 1:2, entre outros.²² A seguir serão apresentados alguns desses métodos descritos na literatura.

Em 1997, Kurikka e colaboradores¹⁶ sintetizaram partículas de ferrita de níquel utilizando um método denominado sonoquímico, que consiste na preparação de materiais através da radiação de ultrassom. Neste método, ocorre um fenômeno chamado cavitação acústica, onde há a formação, crescimento e colapso implosivo de uma bolha em um líquido irradiado com ultrassom, gerando um aquecimento transitório a alta temperatura (T) (cerca de 5000 K) em um ponto específico, por um período de nanossegundos. Devido ao rápido resfriamento, óxidos metálicos amorfos são formados. Nesse estudo, foram utilizados precursores orgânicos voláteis $\text{Fe}(\text{CO})_5$ e $\text{Ni}(\text{CO})_4$, a 273 K e pressão de oxigênio de 1-1,5 atm, obtendo nanopartículas amorfas e de natureza superparamagnética, formando pequenos aglomerados de dimensão de cerca de 10 nm e de forma semelhante a uma esponja.

Em 2007, Vladimir Sepelák e colaboradores¹ utilizaram um método sintético denominado mecanoquímico (ou mecanossíntese). Esse método, como o próprio nome indica, baseia-se em processos mecânicos para a síntese em estado sólido, principalmente moagem a seco em alta energia, utilizando pós precursores em um vaso de moagem com esferas, ambos de alta dureza, girando a determinada rotação. Esses pesquisadores utilizaram $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e NiO como precursores, sendo moídos com bolas de carboneto de tungstênio (10 mm de diâmetro) por 8 horas a 600 RPM. Como resultado, obtiveram nanopartículas aproximadamente esféricas com uma estrutura do tipo núcleo-casca (*core-shell*). Também foram comparados os valores de saturação magnética das NPs com o NiFe_2O_4 *bulk*^a, sendo que para as NPs o valor foi de 24,4 emu/g e para o *bulk* foi de 54,5 emu/g, um valor 55% maior, demonstrando a influência do material em nanoescala nas propriedades magnéticas.

No mesmo ano, Nilsen e colaboradores¹⁹ sintetizaram nanopartículas de ferrita de níquel, além de outras ferritas contendo Fe, Co, Zn, utilizando um método hidrotérmico. Estes autores trabalharam a temperaturas próximas (473 K) ou acima do ponto crítico da água (673 K). No experimento, o Fe(III) foi misturado com o acetato de um cátion divalente em um reator de fluxo nas duas diferentes condições. Os resultados foram investigados por espectroscopia de absorção de raios X e, no caso do NiFe_2O_4 , foi obtido um produto com estrutura de espinélio inverso juntamente com níquel metálico, sendo este último em maior quantidade a temperatura de 473 K, e o tamanho médio das nanopartículas foi de 38 nm (473 K) e 43 nm (673 K).

^a *Bulk* é o termo utilizado para denominar o material sólido massivo, formado por partículas sólidas grandes e com propriedades que independem de seu tamanho.

Ainda em 2007, Bao e colaboradores¹⁸ sintetizaram nanopartículas de vários tipos de ferritas por decomposição térmica. Nessa metodologia, ocorre a decomposição térmica de compostos mistos orgânicos de Fe^{3+} e M^{2+} em solventes com alto ponto de ebulição, que combinados com algum surfactante resultam na formação de nanopartículas de ferritas monodispersas. Os autores utilizaram complexos metal-oleato como precursores para a síntese. Como resultado, foram obtidas nanopartículas de diferentes formas e dimensões médias para cada ferrita, sendo: quase esféricas e com 11 nm para o NiFe_2O_4 , cúbicas e com 9 nm para o CoFe_2O_4 , e perfeitamente esféricas e com 7 nm para o MnFe_2O_4 e 24 nm para o Fe_3O_4 . Outro resultado relevante foi a distribuição mais homogênea no tamanho das nanopartículas.

Em 2008, Sato e colaboradores¹⁵ utilizaram um método hidrotérmico semelhante ao de Nilsen *et. al.*¹⁹ para sintetizar nanopartículas de ferritas de Ni, Cu e Zn, utilizando nitratos dos metais como precursores em água supercrítica, a 673 K e pressão de 30 MPa em um reator de fluxo. No entanto, eles variaram o tempo de retenção de 0,002 s a 4 s, o que resultou em um pequeno aumento no tamanho das nanopartículas (~10 nm) bem como na relação molar entre os íons metálicos e o Fe.

Também em 2008, Nyutu e colaboradores²³ utilizaram um método que combinava aquecimento por micro-ondas e mistura através de pulverização ultrassônica em um processo contínuo para sintetizar ferrita de níquel e aluminato de zinco. Ambos os métodos já haviam sido utilizados separadamente para síntese de diversos materiais, porém buscou-se associá-los para produzir óxidos metálicos ultrafinos. Assim, a síntese foi realizada num reator tubular em uma câmara de micro-ondas. As nanopartículas de ferrita de níquel produzidas apresentaram alto grau de pureza quando foi utilizada a pulverização ultrassônica associada as micro-ondas com potência a partir de 300 W. Por outro lado, houve a formação de mais de uma fase quando foram utilizados somente um dos métodos ou nenhum deles. Além disso, o produto apresentou área superficial entre 57 e 72 m^2/g , tamanho do cristalito entre 6 e 20 nm e nanopartículas com forma aproximadamente esférica.

Um método amplamente utilizado para síntese de NPs é o método de co-precipitação. Esta rota é relativamente simples, e baseia-se na utilização de sais dos metais em meio aquoso mediante adição de um agente precipitante, como NaOH por exemplo. Para proteger as nanopartículas da oxidação com o oxigênio atmosférico e impedir a aglomeração é utilizado um surfactante, sendo dodecil sulfato de sódio ou ácido oleico os principais. Seguindo esta rota sintética, Maaz e colaboradores²¹ sintetizaram NPs de NiFe_2O_4 . As mesmas apresentaram uma única fase, e o tamanho médio variou entre 8 e 28 nm, aumentando proporcional e linearmente

conforme a temperatura do tratamento térmico subsequente (873-1273 K). A caracterização magnética mostrou que o valor de coercividade aumenta até o tamanho de 11 nm e decresce para as de maior dimensão.

Outra rota sintética consiste no processo de micela reversa, onde são formadas microemulsões constituídas por gotículas de água com dimensão nanométrica. Este foi o método utilizado por Thakur e seus colaboradores²⁴ buscando sintetizar NPs de ferritas de níquel-zinco. Para a síntese foram adicionados cloretos dos respectivos metais em uma solução composta por isooctano, água e um surfactante para a formação das micelas. Depois foi utilizado hidróxido de amônio para ocorrer a precipitação, aquecimento a 773 K por 4h e por último um tratamento térmico a 1473 K. O tamanho médio do cristalito foi de 8,4 nm e as NPs apresentaram uma estrutura não uniforme entre o núcleo e a superfície, sendo o grau de inversão de 0,58 no núcleo e 0,62 na superfície. Segundo os autores, isso mostra que essa rota sintética é metaestável, pois durante o aquecimento as nanopartículas relaxam para um estado magnético semelhante ao do *bulk*.

O método de síntese que será utilizado nesta dissertação foi introduzido por Maensiri e colaboradores²⁵, e consiste em um processo simples e de baixo custo, utilizando clara de ovo e os nitratos de níquel e de ferro em meio aquoso como precursores. A ovalbumina, principal proteína presente no ovo, funciona como uma matriz para o aprisionamento dos íons metálicos, agindo assim como um agente estrutural. Essa mistura foi aquecida até a formação de um sólido esponjoso e posteriormente calcinado a 773, 873 e 973 K, ocorrendo assim a formação das nanopartículas. Dentre os principais resultados, ficou evidente que com o aumento da temperatura de calcinação houve um aumento do tamanho das NPs, porém o estudo não foi realizado a menores temperaturas.

Esta rota também foi utilizada para sintetizar outros tipos de nanoestruturas, tais como NPs de $Ni_{1-x}Cu_xFe_2O_4$ ²⁶, NPs de CeO_2 ²⁷, nanobastões de $\beta-Ga_2O_3$ ²⁸, nanocristais de $CaCu_3Ti_4O_{12}$ ²⁹, entre outros. Este método de síntese foi escolhido nesta dissertação para realizar a síntese das nanopartículas de ferrita de níquel por ser ambientalmente amigável, visto que somente emprega os sais metálicos e a clara de ovo como reagentes, e também pela sua simplicidade e facilidade de execução. Além disso, é importante salientar que os trabalhos reportados utilizando esta rota mostram a caracterização e propriedades do material sintetizado, mas não demonstram o seu desempenho em alguma aplicação, o que reforça ainda mais a importância deste estudo.

1.2.2. APLICAÇÕES

As nanopartículas de NiFe_2O_4 podem ser utilizadas em seu estado normal ou ter a sua superfície modificada, possuindo aplicações principalmente como catalisadores e adsorventes, as quais terão alguns exemplos da literatura descritos a seguir.

Em 2007, Baruwati, Guin, e Manorama³⁰ reportaram a utilização de NPs de NiFe_2O_4 para catalisar reações de Suzuki^b e Heck^c envolvendo derivados de halogenetos metálicos. A superfície das NPs foi modificada com dopamina e paládio. O catalisador pode ser separado magneticamente e mostrou eficiência inalterada mesmo após a realização de 3 ciclos.

Em 2011, Lin e colaboradores³¹ mostraram que as NPs têm potencial aplicação na área ambiental, podendo contribuir para a redução do efeito estufa. Eles realizaram a decomposição de CO_2 sobre NPs de NiFe_2O_4 , utilizando um reator com fluxo contínuo conectado a um cromatógrafo de fase gasosa. Esta aplicação foi possível graças a redução das NPs com hidrogênio, tornando-as deficientes de oxigênio. Assim, o O_2 proveniente da decomposição incorporou-se as NPs. Além disso, eles conseguiram produzir metano, mediante reativação das NPs através de um fluxo de H_2 . Esta aplicação é extremamente importante em questões ambientais, pois o NiFe_2O_4 não é tóxico e pode contribuir eficientemente para a redução do efeito estufa, uma vez que a decomposição de CO_2 em C e O_2 impede a formação de CO, um dos principais gases que contribuem para o efeito estufa. Os autores relataram que houve pouca ou nenhuma produção de CO, sendo que a decomposição do CO_2 foi estável por 18 h e decaiu para 86% após 24 h. Ainda segundo os autores, é possível utilizar este processo em chaminés de indústrias que necessitam de energia calorífica em um processo economicamente viável.

Li e colaboradores³² também buscaram aproveitar as propriedades catalíticas das NPs de NiFe_2O_4 , utilizando-as com o intuito de melhorar a desidrogenação do LiAlH_4 , visto que este composto poderia ser uma opção ecologicamente viável como fonte de energia se a temperatura necessária do processo fosse diminuída. Os hidretos complexos demonstram capacidade e eficiência como suporte de energia por possuírem capacidade de armazenamento de hidrogênio. No entanto, eles possuem uma temperatura de dessorção elevada e cinética desfavorável. As NPs diminuíram a temperatura de dessorção inicial em 94 K, de 428 para 334

^b Reação de Suzuki-Miyaura, acoplamento entre haletos orgânicos e compostos orgânicos de boro, largamente utilizada para sintetizar poli-alcenos, estirenos e bifenilas substituídas.

^c Reação de Heck é uma reação organometálica do tipo acoplamento cruzado em que é formada uma nova ligação entre 2 átomos de carbono sp^2 , um pertencente a olefina e outro a arila conectada ao halogênio.

K, e aumentaram em 6,3% a quantidade em massa de hidrogênio liberada. Além disso, a energia de ativação foi substancialmente menor quando comparado com outros catalisadores relatados na literatura para este mesmo objetivo.

Já Glover e colaboradores³³ utilizaram algumas NPs de ferritas como adsorventes, dentre elas as NPs de NiFe_2O_4 . Eles investigaram a aplicação das NPs para adsorção do cloreto de cianogênio (CNCl) do ar, que é um gás tóxico, bem como as alterações posteriores nas propriedades magnéticas das NPs. Os resultados mostraram que as ferritas são capazes de remover o CNCl do ar por meio de quimissorção, porém com alguma dessorção posterior (entre 2 e 7 mol/kg). Como a área superficial está diretamente relacionada ao tamanho da NP, as NPs com menor tamanho demonstraram desempenho superior na adsorção. No entanto, as NPs de NiFe_2O_4 mostraram desempenho inferior quando comparadas com as NPs de mesmo tamanho de MnFe_2O_4 e CoFe_2O_4 . Por outro lado, as NPs de NiFe_2O_4 mostraram um pequeno aumento da susceptibilidade magnética após a adsorção, enquanto as outras duas citadas apresentaram diminuição.

Nanopartículas de NiFe_2O_4 também tem sido utilizadas no desenvolvimento de sensores, alguns exemplos são apresentados a seguir. Ensafi e colaboradores³³ utilizaram as NPs de NiFe_2O_4 para decorar nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) e assim, desenvolveram um sensor eletroquímico para detecção simultânea de adenina e guanina no DNA. Para a detecção foram utilizadas: i) voltametria de varredura linear, apresentando linearidade para a adenina entre 0,1-4,0 μM e entre 0,05-3,0 μM para a guanina; ii) amperometria hidrodinâmica, com linearidade entre 3,0-40,0 μM para adenina e entre 3,0-45,0 μM para a guanina. Os limites de detecção foram 0,01 μM e 0,006 μM para adenina e guanina, respectivamente.

Por outro lado, as NPs de NiFe_2O_4 também vem sendo utilizadas como sensor de gases, como é o caso reportado por Patil e seus colaboradores³⁵. Eles utilizaram um sensor de gás comercial composto por um tubo de vidro em que um filme preparado a partir das nanopartículas é fixado em seu interior, onde é possível medir a resistência elétrica. Quando o gás é injetado, a diferença da resistência elétrica do filme é monitorada, sendo comparada com a resistência elétrica em ar. Os autores testaram o sensor na presença de vários gases a diferentes temperaturas e obtiveram a melhor resposta para o gás liquefeito de petróleo (GLP) a 350°C.

Su e colaboradores³⁶ reportaram que as NPs de NiFe_2O_4 possuíam atividade catalítica semelhante à de enzimas biológicas. Muitas vezes os materiais que possuem essa característica são chamados de enzimas artificiais ou miméticas. Os autores relataram que as NPs podem

catalisar a reação do H_2O_2 na formação de radicais hidroxila, e estes oxidam o substrato orgânico ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) para formar um composto com coloração esverdeada, com máximo de absorção em 417 nm. Assim, foi desenvolvido um sensor colorimétrico para glicose, o qual consistiu na oxidação da glicose pela enzima glicose oxidase produzindo H_2O_2 , que reage com ABTS na presença das NPs de $NiFe_2O_4$. Os autores conseguiram detectar glicose na faixa de 0,94-25 μM com limite de detecção de 0,45 μM . Além disso, também foi reportado que as NPs de $NiFe_2O_4$ possuem atividade do tipo catalase, ou seja, são capazes de catalisar a reação de decomposição do H_2O_2 em água e oxigênio.

Diante disso, observa-se que há uma gama de aplicações já reportadas empregando NPs de $NiFe_2O_4$. No entanto, apesar de já existir conhecimento sobre suas propriedades magnéticas e catalíticas, até o presente momento foi pouco explorado sua utilização em sensores colorimétricos, o que abre uma possibilidade de aplicação deste material nesse segmento.

1.3 ÁCIDO ASCÓRBICO: RELEVÂNCIA E MÉTODOS DE ANÁLISE

O ácido ascórbico (AA), conhecido popularmente pelo nome de vitamina C, é uma substância de fórmula molecular $C_6H_8O_6$ (Figura 3) essencial para o funcionamento do corpo humano, onde está presente principalmente em sua forma ionizada, o ascorbato.

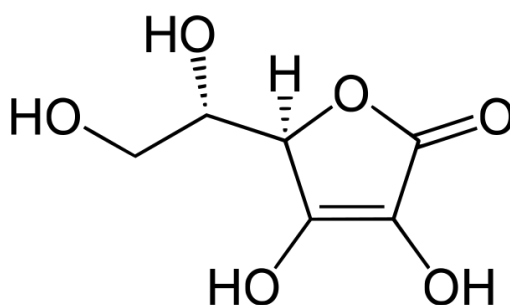


Figura 3. Fórmula estrutural do ácido ascórbico

Esta vitamina é imprescindível para o funcionamento adequado de células formadoras de vários tecidos, principalmente na formação e manutenção do colágeno, que é uma proteína fibrilar de função estrutural.³⁷ Além disso, a vitamina C auxilia na absorção do ferro pelo organismo e no depósito de cálcio e fosfato nos ossos. Mas o que destaca mesmo o ácido

ascórbico é o fato de ser um excelente antioxidante, pois impede a formação de radicais livres e estimula o sistema imunológico.³⁷

O corpo humano não produz ácido ascórbico e, dessa forma, deve buscar outras fontes para suprir sua necessidade, como a alimentação ou suplementação. De acordo com a recomendação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)³⁸, a ingestão diária recomendada de vitamina C para um adulto saudável é de 45 mg, mas recomendações internacionais falam em 75 mg para mulheres e 90 mg para homens³⁹. No entanto, o corpo absorve de 70%-90% quando ingeridos até 130 mg de AA por dia e cerca de 50 % quando ingerido 1 g diário, eliminando o excedente na urina.³⁹

Dada sua relevância, há uma grande gama de metodologias analíticas desenvolvidas para determinação de AA em alimentos, formulações farmacêuticas e fluidos biológicos. Entre os métodos tradicionais encontra-se a titulação com alguma solução contendo um agente oxidante, como diclorofenolindofenol, bromato ou iodado de potássio⁴⁰. Outros métodos descritos são o eletroquímico⁴¹, cromatográfico⁴², enzimático⁴², por fluorescência⁴⁴ e colorimétrico⁴⁵, sendo que este último apresenta uma série de vantagens, como a simplicidade, praticidade, rapidez, boa sensibilidade e custo relativamente baixo quando comparado com os outros métodos. A seguir, serão descritos alguns estudos reportados na literatura acerca da determinação de ácido ascórbico utilizando métodos colorimétricos.

Em 2010, Nezhad e colaboradores⁴⁶ desenvolveram um método para detecção de ácido ascórbico baseado na redução de íons prata na presença de citrato e um polímero, formando nanopartículas de prata (AgNPs) com diferentes tamanhos e conseqüentemente com soluções de diferentes colorações. Na construção da curva analítica, a faixa linear ficou entre 3-50 μM , com um limite de detecção (3 sd) de 0,8 μM . O método também foi testado em dois diferentes tipos de comprimidos de vitamina C, sendo obtidos valores de recuperação entre 98,8 e 103% quando comparados com o método de titulação iodométrica.

Seguindo a mesma abordagem, Wang e colaboradores⁴⁷ propuseram um sensor para ácido ascórbico baseado na redução de íons prata na presença de nanobastões de ouro recobertos por sílica mesoporosa (MS GNRs). Segundo os autores, após a adição do AA ocorre a redução dos íons Ag^+ para Ag^0 , os quais são depositados na superfície dos MS GNRs, acarretando em um deslocamento da banda de ressonância de plasma e alteração na cor da suspensão de roxo para verde. Dessa forma, o deslocamento da banda de ressonância de plasma apresentou uma linearidade em relação a [AA] entre 0,1-2,5 μM com um limite de detecção (razão sinal/ruído=3) de 0,049 μM .

Ferreira e colaboradores⁴⁸ demonstraram a possibilidade de utilizar as nanopartículas de prata na construção de sensores colorimétricos em papel para detecção de AA. Eles utilizaram papel cromatográfico onde os canais e zonas de detecção foram delimitados por impressão e fusão de tinta de cera hidrofóbica. Na região do teste colorimétrico o papel foi impregnado com uma suspensão de AgNPs e uma solução de AgNO₃. Na presença de AA há variação da coloração de amarelo para cinza em aproximadamente 20 min. A intensidade de coloração foi registrada utilizando dois métodos: no primeiro o papel foi digitalizado e transformado em escala de cinza no software Adobe Photoshop, obtendo a resposta colorimétrica através da intensidade de pixels da área de teste do papel; no segundo método foi utilizado um colorímetro de transmitância e a resposta foi obtida através do logaritmo negativo da razão entre a intensidade na presença de amostra e a intensidade do controle. Utilizando o scanner a faixa linear ficou entre 1-4 mM com limite de detecção (3 sd) de 82,8 µM. Já para a leitura com o colorímetro a linearidade ficou entre 1-3,5 mM com limite de detecção de 10,5 µM. O método foi testado em amostras reais de comprimido de vitamina C e sucos artificiais, tendo como resultados de recuperação entre 95,45%-103% e 97%-102% para a análise realizada com scanner e colorímetro respectivamente.

Por outro lado, Zhang e seus colaboradores⁴⁹ utilizaram nanopartículas de ouro (AuNPs) para detectar AA. Este método necessitou de vários reagentes, pois além das AuNPs foram adicionados DNA de cadeia simples (ss-DNA), tampão tris contendo NaCl, sulfato de ferro II (FeSO₄) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). As AuNPs teriam sua agregação induzida pelo sal adicionado, porém o ss-DNA evita este processo, mantendo a solução com a cor avermelhada, a qual apresenta uma banda de absorção com máximo em 520 nm. Após a adição de H₂O₂ e FeSO₄ ocorre uma reação de Fenton e radicais livres hidroxila são gerados, causando a clivagem do ss-DNA em fragmentos, o que permite a agregação das AuNPs e a mudança da solução de vermelho para azul, acarretando em uma nova banda de absorção com máximo em 670 nm. O AA acaba eliminando os radicais livres hidroxila, devido a sua ação antioxidante, inibindo a agregação das AuNPs e consequentemente diminuindo a mudança de cor da solução. A metodologia apresentou linearidade para [AA] entre 1-15 µM, com limite de detecção de 0,3 µM e coeficiente de variação de 2,8%, e foi aplicada em amostras reais de soro de sangue fortificadas e os resultados de recuperação obtidos foram 95±2%, 101±3% e 100±5%.

Em 2013, Lunhong Ai e seus colaboradores⁵⁰ utilizaram um método colorimétrico para detectar H₂O₂ e AA baseado na utilização de Fe(OH)(O₂C-C₆H₄-CO₂).H₂O. Este material é capaz de mimetizar a atividade da peroxidase, catalisando a reação entre H₂O₂ com alguns

substratos orgânicos, como a 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) e a *o*-Fenilenodiamina (OPD). Na detecção do H₂O₂ foi utilizado o TMB como substrato, que sofre oxidação formando um composto que apresenta coloração azul (TMB_{OX}) e máximo de absorção em torno de 652 nm. A absorbância a 652 nm variou linearmente para os valores de [H₂O₂] entre 0,95-19 µM com limite de detecção de 0,13 µM. Por outro lado, para a detecção de AA foi utilizado OPD na presença de H₂O₂, tendo como resultado a formação de um composto (OPD⁺) que dá coloração amarela a solução e possui máximo de absorção em 450 nm. Porém, ao adicionar certa quantidade de AA esta reação é inibida, pois o AA se oxida e reduz novamente o OPD⁺, diminuindo a intensidade da coloração amarelada da solução. Dessa forma, a curva de calibração foi construída utilizando a diferença de absorção na ausência e na presença de AA, sendo linear para concentrações entre 28,6-190,5 µM com um limite de detecção de 15 µM.

Seguindo a mesma abordagem, Zhang e colaboradores⁵¹ sintetizaram estruturas metal-orgânicas de Fe(III), denominadas MIL-68 e MIL-100, para detectar H₂O₂ e AA. Na detecção de H₂O₂ a faixa linear ficou no intervalo entre 3-40 µM para ambos os materiais, com limites de detecção de 0,256 µM e 0,155 µM para MIL-68 e MIL-100 respectivamente. Na determinação de AA, os autores não destacaram diferenciação entre os dois materiais, apenas mencionaram que a faixa linear ficou entre 30-485 µM e o limite de detecção foi estimado em torno de 6 µM.

Em 2016, Chen e colaboradores⁵² prepararam óxido de grafeno funcionalizado com poli (4-estireno sulfonato de sódio) (PSS-rGO) que também demonstrou atividade do tipo peroxidase, catalisando a reação de oxidação do TMB na presença de H₂O₂. Através da reação, a solução adquire coloração azul devido a formação do TMB_{OX}, que apresenta máximo de absorção em 652 nm. Pela adição de AA, TMB_{OX} é reduzido novamente a TMB, e a tonalidade azul da solução diminui proporcionalmente a quantidade de analito adicionada. A curva analítica ficou com uma faixa linear entre 0,8-60 µM e o limite de detecção foi de 0,15 µM. O método foi testado em amostras reais de comprimidos de vitamina C utilizando o método da adição de padrão, obtendo valores de recuperação entre 95,1% a 104,1% e coeficiente de variação de 5,2%.

Outros trabalhos têm sido publicados recentemente seguindo esta mesma metodologia, onde a detecção do AA é realizada mediante a redução do TMB_{OX}, produzido através da oxidação do TMB na presença de H₂O₂ e catalisada por diferentes tipos de materiais. Entre os materiais utilizados encontram-se óxido de cobalto decorado com microesferas de grafeno (Co₃O₄/CGM)⁵³, nanofibras de magnetita e quantum dots de carbono (CDS/Fe₃O₄)⁵⁴,

nanofibras de magnetita e carbono dopado com nitrogênio ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{N-C}$)⁵⁵, nanopartículas de cobre e prata em lamelas de óxido de grafeno (Cu-Ag/rGO)⁵⁶, estrutura metal-orgânica MIL-88⁵⁷ e nanocompósitos de carbono com nanopartículas de cobre derivadas de estruturas metal-orgânicas (Cu NPs@C)⁵⁸. As condições ótimas de reação (pH, temperatura, $[\text{H}_2\text{O}_2]$, $[\text{TMB}]$, $[\text{material}]$, tempo) e os parâmetros de mérito (faixa linear e limite de detecção) utilizando os materiais citados, são mostrados na Tabela 1.

Tabela I. Condições de reação e dados de calibração analítica para diferentes materiais utilizados na determinação de ácido ascórbico.

Material	Condições de reação						Calibração analítica	
	pH	T (°C)	$[\text{TMB}]$ (mM)	$[\text{mat.}]$ ($\mu\text{g/mL}$)	$[\text{H}_2\text{O}_2]$ (mM)	t (min)	FL (μM)	LD (μM)
$\text{CO}_3\text{O}_4/\text{CGM}$	4,0	35	0,5	5	0,5	10	30-140	0,19
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CDS}$	5,0	T.A.	0,1	20	65	10	1-30	0,285
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{N-C}$	4,0	T.A.	0,1	20	65	10	0-50	0,04
Cu-Ag/rGO	3,8	35	0,5	5	50	30	5-30	3,6
MIL-88	4,0	35	0,324	94,5	4,56	30	2,57-10,1	1,03
Cu NPs@C	4,0	45	0,84	50	8	20	10-1000	1,41

T = Temperatura; $[\text{TMB}]$ = concentração de TMB; $[\text{mat.}]$ = concentração de material; $[\text{H}_2\text{O}_2]$ = concentração de peróxido de hidrogênio; t = tempo; FL = faixa linear; LD = limite de detecção. T.A. = Temperatura Ambiente.

Tratando-se especificamente da utilização das NPs de NiFe_2O_4 para detecção de ácido ascórbico, foi encontrado apenas um trabalho reportado na literatura, em que há a tentativa de utilizá-las em um sensor amperométrico. Dimitrijević e seus colaboradores⁵⁹ investigam o desempenho de nanopartículas de ferrita de níquel e ferrita de cobalto (CoFe_2O_4) na modificação de um eletrodo de pasta de carbono vítreo. No entanto, as NPs de NiFe_2O_4 não demonstraram eficiência para esta aplicação, pois o sinal de oxidação não ficou bem definido quando comparado com o CoFe_2O_4 . Já como sensor colorimétrico de AA, não foi encontrado nenhum trabalho reportado na literatura utilizando NiFe_2O_4 . Isto reforça a relevância deste estudo, o qual apresenta uma alternativa diferente das já existentes, tanto na detecção de AA como na aplicação do NiFe_2O_4 .

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Preparação e caracterização de nanopartículas de ferrita seguindo procedimento simples, fácil e de baixo custo e subsequente aplicação no desenvolvimento de sensores colorimétricos para detecção de peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar nanopartículas de ferrita de níquel a partir dos seus sais precursores $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})$ e ovalbumina, presente na clara do ovo.
- Avaliar as reações/transformações químicas em função da temperatura através da curva de análise térmica (TGA/DTG).
- Caracterizar morfológica e estruturalmente o material sintetizado utilizando as técnicas de difração de raios X, espectroscopia de absorção eletrônica, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão.
- Determinar as propriedades magnéticas através da curva de histerese (M x H) e espectroscopia Mössbauer.
- Desenvolver e otimizar um método analítico para determinação de ácido ascórbico baseado na reação colorimétrica do TMB catalisada pelas nanopartículas de ferrita de níquel.
- Avaliar possíveis interferentes na determinação do ácido ascórbico.
- Aplicar o método desenvolvido na determinação de ácido ascórbico em amostras farmacêuticas.
- Construir uma curva analítica para determinação de peróxido de hidrogênio baseado na atividade peroxidase das nanopartículas de ferrita de níquel.

CAPÍTULO 3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Neste capítulo descreve-se os materiais e reagentes utilizados na síntese e aplicação analítica, a rota de síntese das nanopartículas, as técnicas de caracterização, assim como os procedimentos realizados nos testes colorimétricos.

3.1 MATERIAIS E REAGENTES

Todos os reagentes utilizados possuíam grau analítico, salvo especificação contrária. A água utilizada em todos os casos foi a água ultrapura, obtido a partir de um sistema de purificação Mili-Q da Millipore, com resistividade de 18,2 M Ω ·cm a 25°C.

Na síntese das nanopartículas foram utilizados nitrato de níquel hexahidratado ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, $\geq 97\%$), nitrato de ferro nonahidratado ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, Merck, $\geq 99\%$) e clara de ovo (marca ovos prata, Nova Prata, RS). A composição de clara de ovo fresca de galinha, segundo estudos reportados, é apresentada na Tabela II.

Tabela II. Composição dos componentes minerais presentes na clara de ovo fresca de galinha.

Íon	Composição/100g
Cálcio	7,0 mg
Ferro	0,08 mg
Magnésio	11,0 mg
Fósforo	15,0 mg
Potássio	163,0 mg
Sódio	166,0 mg
Zinco	0,03 mg
Cobre	0,023 mg
Manganês	0,011 mg
Selênio	20 μg

Fonte: Escola Paulista de Medicina – USP⁶⁰

Para os testes colorimétricos foram preparadas soluções tampão de ácido acético/acetato de sódio (HOAc/NaOAc) 0,2 M, a diferentes valores de pH (3, 3,5, 4, 4,5 e 5) utilizando ácido acético (CH₃COOH, Merck, 100%), e acetato de sódio tri-hidratado (CH₃COONa·3H₂O, Nuclear, ≥99%). A solução de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB, Sigma-Aldrich, ≥99%) 0,02 M foi preparada em etanol (CH₃CH₂OH, Merck, ≥99,5%). A solução estoque de ácido ascórbico (C₆H₈O₆, AA, Sigma-Aldrich, ≥99%) 5.10⁻³ M foi preparada em água ultrapura e realizadas as diluições necessárias para se obter as soluções de trabalho.

O teste de seletividade foi realizado com soluções 0,05 M de cloreto de potássio (KCl, Sigma-Aldrich, ≥99%), cloreto de sódio (NaCl, Sigma-Aldrich, ≥99%), glicose (C₆H₁₂O₆, Merck, ≥99%), ácido úrico (C₅H₄N₄O₃, Sigma-Aldrich, ≥99%), dopamina (C₈H₁₁NO₂, Sigma-Aldrich, ≥99%) e também uma solução com a mistura de todos esses interferentes, todos solubilizados em água ultrapura, sendo realizada a diluição necessária posteriormente.

Para os testes em amostras reais foram utilizados comprimidos efervescentes de vitamina C Cebion (1 g de AA por comprimido), fabricados pela Merck, e vitamina C líquida Redoxon (200 mg/mL de AA), fabricado pela Bayer, ambos dissolvidos em água ultrapura e posteriormente diluídos quando necessário.

3.2 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE FERRITA DE NÍQUEL

As nanopartículas de ferrita de níquel foram sintetizadas seguindo procedimento descrito na literatura com algumas modificações.²⁵ Inicialmente uma solução aquosa consistente em 60 % (v/v) de clara de ovo foi preparada sob vigorosa agitação a temperatura ambiente. Nessa solução foram adicionados lentamente 2 mmol de Ni(NO₃)₂·6H₂O e 4 mmol de Fe(NO₃)₃·9H₂O, seguido de agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, a suspensão foi submetida a aquecimento até secura em chapa a 80 °C. Um sólido de cor marrom foi recolhido, triturado e colocado em um forno tipo mufla para calcinação a diferentes temperaturas e taxas de aquecimento (150°C, 350°C e 400°C a 10°C/min; 500°C a 5°C/min, 10°C/min e 20°C/min). O material calcinado a 500°C, doravante NiFe₂O₄, será utilizado em testes colorimétricos para determinação de peróxido de hidrogênio. Um segundo material foi obtido seguindo o mesmo procedimento, porém ao invés de deixar a suspensão na chapa apenas até a sua secura, a mesma ficou sob aquecimento em 80°C até sua autocombustão, o que resultou na formação de um sólido preto. Este material, doravante denominado C-NiFe₂O₄, será utilizado na detecção colorimétrica de ácido ascórbico.

3.3 MÉTODOS E TÉCNICAS UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO

Nesta seção serão apresentados os equipamentos utilizados na síntese, caracterização e aplicação das nanopartículas de ferrita de níquel, além de uma breve descrição do princípio de funcionamento das principais técnicas utilizadas. Alguns dos equipamentos utilizados nesta dissertação estão localizados na Central Analítica do Instituto de Química, e os microscópios no Centro de Microscopia e Microanálise (CMM/UFRGS), ver Figura 4.

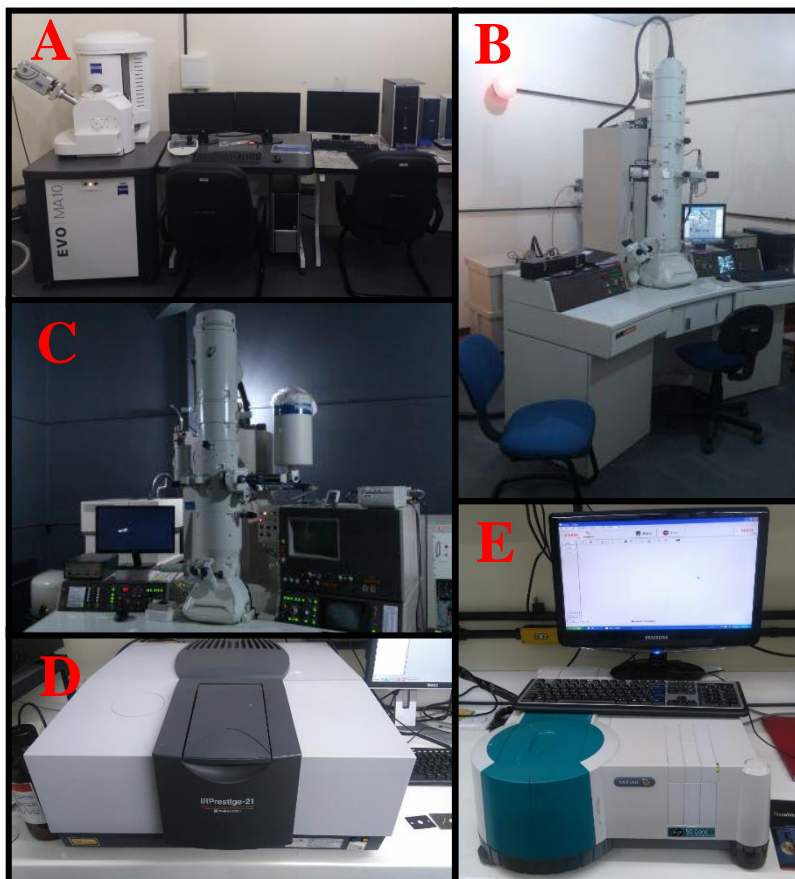


Figura 4. Alguns equipamentos utilizados nas medições deste trabalho: (A) microscópio eletrônico de varredura Zeiss EVO MA10. (B) microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM 1200 ExII. (C) microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM 2010. (D) espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu IRPrestige-21. (E) espectrofotômetro UV-Vis Varian, Cary 50 Conc.

3.3.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Difração de raios X (DRX) é uma das principais técnicas para caracterização de materiais sólidos inorgânicos policristalinos. Ela fornece informações sobre a cristalinidade da amostra, parâmetro de rede, tamanho médio e fase dos cristais.⁸

O fenômeno da difração de raios X baseia-se no espalhamento elástico da radiação eletromagnética provocada pela interação entre o feixe de raios X incidente sobre a amostra e os elétrons dos átomos ou íons que compõem o material. Se os átomos ou íons que provocam esse espalhamento estiverem regularmente espaçados, o que ocorre em cristais, e essa distância for próxima ao comprimento de onda da radiação incidente, os espalhamentos tornam-se periódicos e os efeitos de difração poderão ser observados em determinados ângulos. De acordo com a Figura 5, para que os raios difratados estejam em fase e sejam detectados, é necessário que o trajeto AB+BC seja igual a um múltiplo de λ .

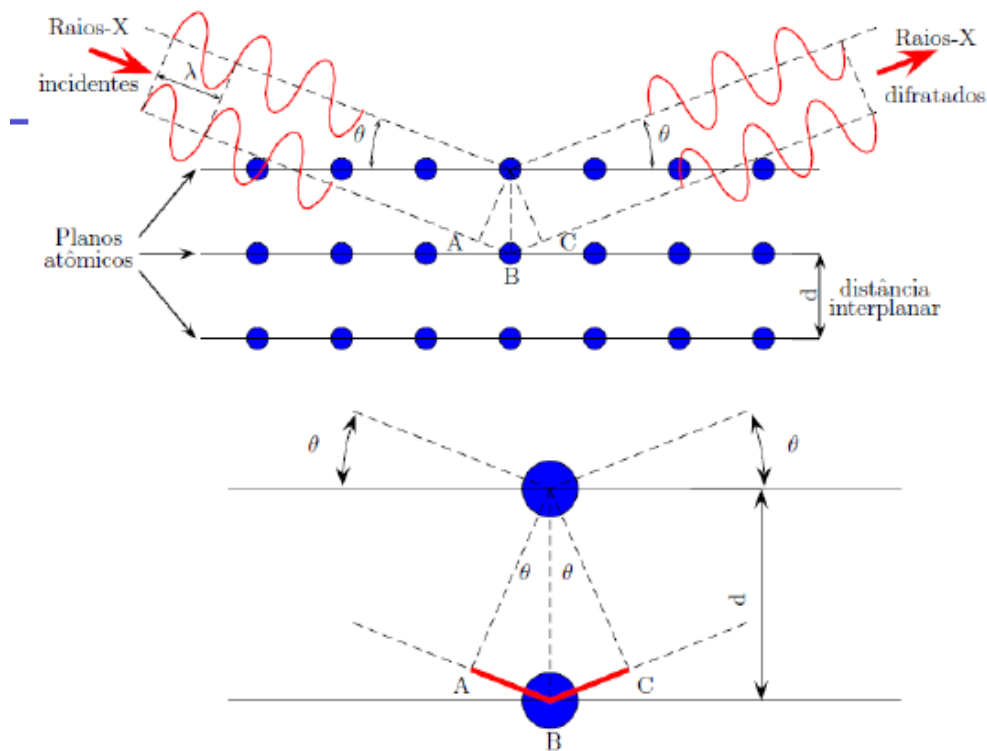


Figura 5. Fenômeno da difração de raios X em um cristal (adaptado da Ref. 61)

As condições para que a difração ocorra são expressas pela equação de Bragg, que relaciona o comprimento de onda com a distância interplanar, sendo expressa pela equação (1):

$$n \lambda = 2 d \text{ sen } \theta \quad \text{Eq. (1)}$$

onde n é um número inteiro (ordem de difração), λ é o comprimento de onda da fonte de raios X utilizado (a fonte mais usada é a de Cu, $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$), d é a distância interplanar para uma família de planos e θ é o ângulo de reflexão. Dessa forma, quando a diferença do caminho ótico

entre dois feixes é igual ao comprimento de onda ou seu múltiplo, isto significa que as ondas estão em fase construtiva, ou seja, os máximos e mínimos de uma onda coincidem com os da outra. Quando esta situação não é satisfeita, as ondas estão fora de fase e em desacordo com a equação de Bragg. O resultado é registrado num difratograma ou padrão de difração, que é um gráfico de intensidade das difrações em função da posição angular, 2θ .

A intensidade de difração, chamada normalmente de reflexões ou linhas, depende da estrutura do cristal e da identidade dos átomos. Quase todo sólido cristalino tem um padrão único de difração de raios X. Em estruturas na ordem dos nanômetros, as reflexões costumam ser mais alargadas que a amostra bulk devido a redução do número de átomos presentes no cristal, mas não o suficiente para não difratar. Assim, alargamento do pico e diminuição da intensidade podem ser observados.

O tamanho e o volume do cristalito podem ser calculados através da correlação da Lei de Bragg com a equação da distância interplanar, sendo necessário para isso a determinação dos Índices de Miller (hkl). A distância interplanar (d_{hkl}) entre dois planos paralelos sucessivos é uma função dos índices de Miller (h, k, l) e do parâmetro de rede da célula unitária (a), que está de acordo com a relação expressa pela equação (2):

$$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2+k^2+l^2}} \text{ Eq. (2)}$$

Por outro lado, também é possível calcular o tamanho médio do cristalito, por meio da equação de Debye-Scherrer, equação (3):

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \text{ Eq. (3)}$$

onde D é o tamanho do cristalito, K é uma constante associada ao equipamento e a forma da partícula e β é a largura observada da linha difratada a meia altura do pico (*fwhm*, do inglês full width at half maximum). Também é possível calcular a densidade da amostra por meio dos dados de raios X, utilizando a equação (4):

$$\rho_x = \frac{ZM}{Na^3} \text{ Eq. (4)}$$

onde ρ_x é a densidade de raios X, Z é o número de fórmulas unitárias por célula unitária, M é a massa molecular e N é o número de Avogadro.⁶²

Neste trabalho, as medições de difração de raios X (DRX) das amostras em pó foram realizadas no equipamento Rigaku D-Max 2000, usando radiação com o comprimento de onda da linha $K\alpha$ do cobre, $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$, voltagem de 40 Kv, 15 mA de intensidade de corrente e monocromador de grafite no feixe secundário. As medições foram realizadas a temperatura ambiente, com ângulo inicial de 10° e ângulo final de 80° , $\Delta 2\theta = 0,05^\circ$ e um incremento de 0,03 s a cada segundo. Fenda de divergência = 1,0 mm e fenda receptora = 0,15 mm.

3.3.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

A espectroscopia no infravermelho é um tipo de espectroscopia vibracional pela qual é possível obter informações sobre a composição química dos compostos analisados, geralmente tendo seus dados corroborados e complementados com os de outras técnicas. A região do infravermelho é dividida em três regiões no espectro eletromagnético: o infravermelho médio, que é a região mais utilizada para as análises e se estende de 2,5 a 25 μm ($4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$); o infravermelho próximo, que vai de 0,8 a 2,5 μm ($12500\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$) e o infravermelho distante, que compreende a faixa de 25 a 200 μm ($400\text{-}50 \text{ cm}^{-1}$).

A espectroscopia vibracional é usada para caracterizar os compostos em termos da força e do número de ligações que estão presentes. Assim, pode-se determinar a estrutura mais provável de um composto e medir as propriedades das ligações.⁸

Quando a radiação infravermelha incide sobre a amostra com a mesma frequência da vibração dos átomos, a energia é absorvida e ocorre o aumento na amplitude daquela vibração. Quando a molécula volta ao estado normal a energia absorvida é liberada. Assim, quando um feixe de radiação infravermelha passa pela amostra, a quantidade de energia transmitida é registrada. No infravermelho é mais comum utilizar a intensidade da energia em forma de transmitância do que absorbância, sendo ela representada em porcentagem de transmitância. Já a posição dessa transmissão é comumente representada em número de onda (ν), que corresponde ao número de ondas em um centímetro, ou seja, é inversamente proporcional ao comprimento de onda ($\nu = \frac{1}{\lambda}$).⁶³

Nas moléculas, os átomos não estão ligados de maneira rígida, sofrendo diferentes tipos de vibrações em frequências específicas. São dois tipos fundamentais de vibração: o estiramento axial, em que os átomos ficam no mesmo eixo de ligação mas a distância entre eles aumenta ou diminui; e a deformação angular, quando a posição do átomo muda em relação ao eixo de ligação. As vibrações de estiramento podem ser simétricas ou assimétricas e as de deformação podem ser no plano (tesoura ou balanço) ou fora do plano (sacudida ou torção), conforme pode ser observado na Figura 6.

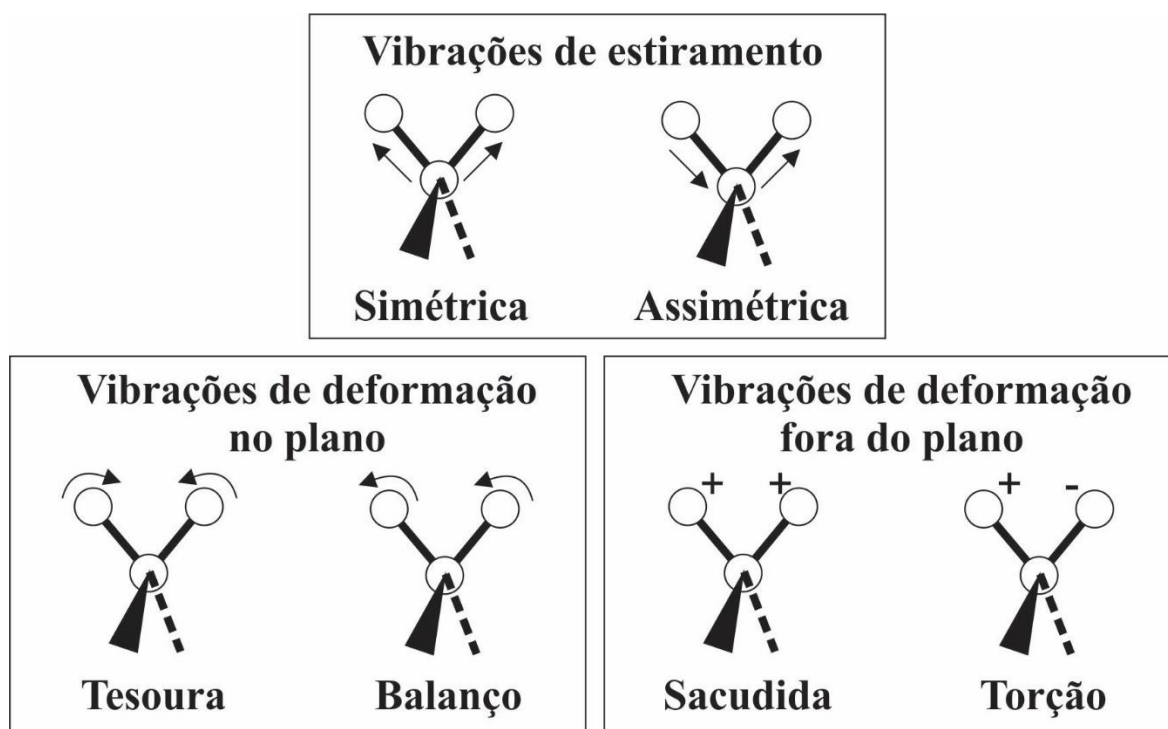


Figura 6. Tipos de vibrações de uma molécula (+ e – significam vibrações perpendiculares ao plano do papel) (adaptado da Ref. 63).

É importante destacar que as vibrações de deformação requerem menor energia e consequentemente ocorrem em número de onda menores que as de estiramento, porém geralmente os picos atribuídos as vibrações de estiramento são mais intensos.⁶³

Além disso, o valor aproximado para a frequência de estiramento pode ser calculado mediante a seguinte equação (5):

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{M_x M_y / (M_x + M_y)}} \quad \text{Eq. (5)}$$

em que ν é a frequência de estiramento (cm^{-1}), k é a força da constante de ligação (dina/cm) e M_x e M_y são as massas dos dois átomos envolvidos (g).

Espectros no infravermelho médio foram registrados utilizando um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo IR Prestige-21. Para a análise foram preparadas pastilhas de 1 mm de espessura e 5 mm de diâmetro, aproximadamente. Os espectros foram obtidos na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , em modo de transmitância, com resolução de 4 cm^{-1} e 64 varreduras.

3.3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA NA REGIÃO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL

A espectroscopia ultravioleta-visível, UV-Vis, baseia-se na absorção da radiação eletromagnética associada a transições eletrônicas, ocorrendo quando a luz interage com o meio absorvente promovendo um elétron de um estado de baixa energia para outro de energia mais elevada. Quando um feixe de luz monocromática (P_0) atravessa uma solução com moléculas absorventes, parte da luz é absorvida pela solução e o restante é transmitido (P). A quantidade luz absorvida depende de alguns fatores, como a concentração (c), o percurso óptico da radiação, chamado de caminho óptico (b) e a absorvidade molar (ϵ). Para concentrações menores que 0,01 M, a concentração do analito é linear com a absorbância (A), seguindo uma relação chamada Lei de Lambert-Beer, equação (6):

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad \text{Eq. (6)}$$

A espectroscopia UV-Vis pode ser utilizada para aplicações qualitativas, como identificação de grupos absorventes para determinação de grupos funcionais presentes na amostra, e quantitativas, como determinação da concentração do analito em uma amostra. Um exemplo de aplicação quantitativa da espectroscopia UV-Vis é o método colorimétrico, que se baseia na reação entre o composto a ser analisado com determinado reagente, gerando um produto colorido, possibilitando a construção de uma curva de calibração a partir da relação do máximo de absorção na região do visível e a concentração do analito. Também é possível a determinação do composto analisado mediante sua reação com um produto colorido gerado a

partir de outra reação, desde que este tenha sua coloração atenuada de acordo com o aumento da concentração do analito.

Os testes colorimétricos foram realizados utilizando um espectrofotômetro UV-Vis Varian, Cary 50 Conc. Para as medidas foram utilizadas cubetas de vidro com caminho óptico de 1 cm.

3.3.4 ESPECTROSCOPIA DE REFLETÂNCIA DIFUSA EM SÓLIDOS

Absorção, transmissão, reflexão e dispersão são fenômenos que resultam da interação de uma radiação eletromagnética com a amostra. A reflexão pode ser definida como a radiação luminosa que ao incidir numa superfície retorna para o meio onde foi originada. A reflexão pode se dar de forma especular, onde a luz é reemitida num ângulo igual ao da luz incidente ou de forma difusa, em que a luz é reemitida em várias direções. Para estudar a reflexão em materiais semicondutores é utilizada a técnica de refletância difusa na região UV-visível.⁶⁴

Para determinar a reflexão na região visível utiliza-se um espectrofotômetro, no qual um feixe de luz branca incide na amostra em pó em intervalos de 10 nm. A luz refletida é captada por um detector. Para garantir que tanto a iluminação como a refletância ocorram de forma difusa, é usada uma esfera de integração cuja superfície interna está recoberta de uma fina camada de BaSO₄ e MgO altamente refletora. Logo, a resposta do sinal é fornecida em valores fracionários.⁶⁴

O método tradicional para determinar o valor da banda proibida, denominado também gap óptico, é o método de Kubelka-Munk (K-M).^{64,65} Basicamente, no material irradiado parte do fluxo é absorvido e parte é espalhado pelas partículas, o que pode ser expressado em forma matemática como a função F(R), a qual é conhecida como "função de Kubelka-Munk", veja-se equação (7):

$$F(R) = \frac{K}{S} = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} \quad \text{Eq. (7)}$$

onde R_{∞} é a refletância de um espécime com espessura infinita, e K e S são os coeficientes de absorção e espalhamento, respectivamente. Os coeficientes de espalhamento da maioria dos

materiais são relativamente invariantes ao longo da faixa visível do espectro óptico, deste modo S pode ser considerado como uma constante e, assim, a função $F(R)$ pode ser estudada em função do valor de energia na região visível.

O valor do gap óptico pode ser determinado mediante a metodologia de Tauc⁶⁶, utilizando a seguinte expressão:

$$[F(R)h\nu]^\alpha \text{ vs } h\nu \text{ Eq. (8)}$$

onde α representa a natureza da transição, a qual pode ter diferentes valores, tais como 1/2, 2, 3/2, e 3 para transição permitida direta, transição permitida indireta, transição não permitida direta e transição não permitida indireta, respectivamente. O valor $h\nu$ é o valor da energia. A partir do gráfico obtido a partir da Eq. (8) o band gap do semiconductor pode ser calculado.

Os espectros de refletância difusa das amostras em pó foram obtidos, a temperatura ambiente, utilizando um equipamento da marca Shimadzu, UV 1601 PC com acessório de refletância difusa e uma esfera de integração ISR-2200. As amostras foram analisadas no intervalo de 800 nm a 200 nm utilizando uma célula de quartzo de 10 mm de diâmetro.

3.3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA

As microscopias eletrônicas são técnicas de análise muito valiosas e são utilizadas tanto na área de materiais como em ciências biológicas. Estas empregam um feixe primário de elétrons de intensidade de 1 até 300 KeV, que dependendo da energia, tipo de amostra e configuração do microscópio permite a obtenção de informações relacionadas a morfologia, cristalinidade e composição. Modulando a intensidade do feixe é até mesmo possível promover reações químicas. Existem dois tipos de microscopia eletrônica, que são a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e a Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

Basicamente, em uma coluna com alto vácuo, feixes de elétrons são produzidos por um cátodo e conduzidos ou focalizados, mediante lentes eletromagnéticas, em direção a amostra. A interação do feixe de elétrons com o material analisado gera diversos tipos de sinais que quando captadas corretamente irão fornecer informações características sobre a amostra. Como representado na Figura 7, quando o feixe primário penetra uma fina camada da amostra (de 100 nm até 5 μm) os elétrons perdem energia por absorção e dispersão. A perda de energia sofrida pelo elétron incidente ao ionizar um átomo da amostra, fornece informação do tipo de átomo

que foi ionizado (elétrons Auger e raios X característicos).⁶⁷ Os elétrons incidentes podem sofrer múltiplos espalhamentos, tanto elásticos como inelásticos. A deflexão dos elétrons numa faixa angular ampla gera a formação de elétrons de espalhamento elástico e desviados "para atrás" ou retroespalhados (responsável pelo contraste no MET).

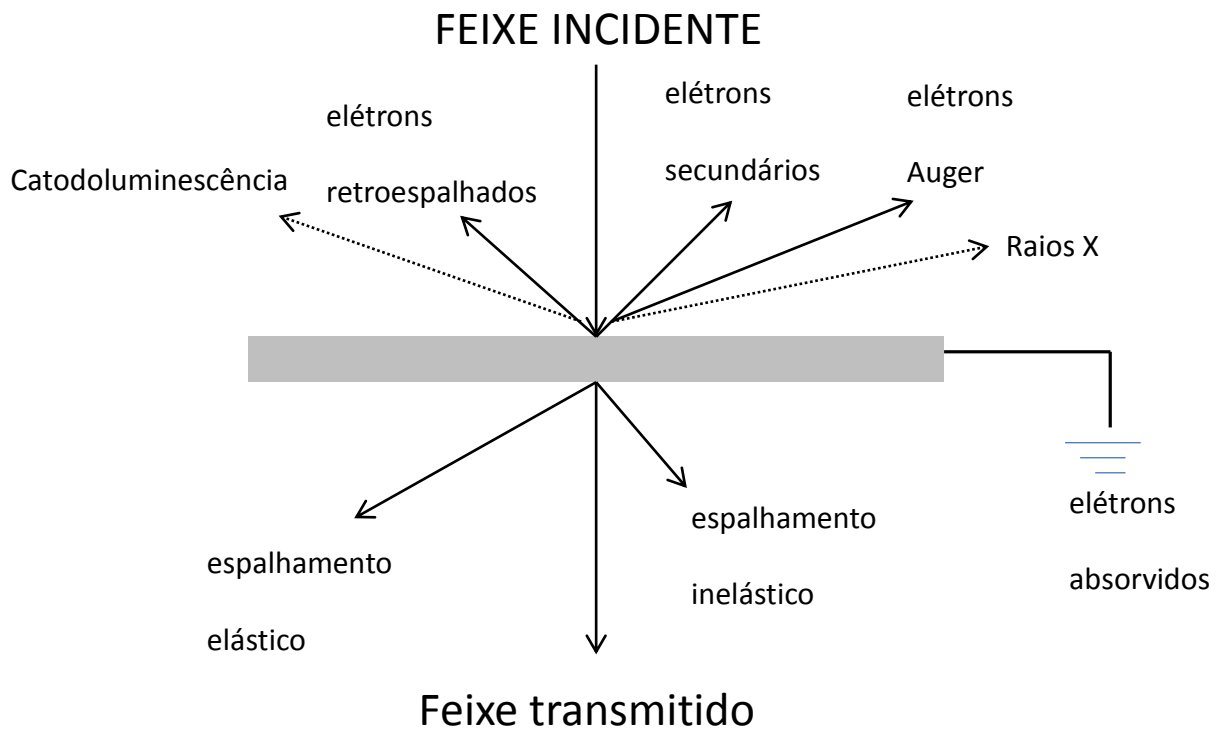


Figura 7. Representação esquemática das interações do feixe eletrônico com a amostra no microscópio eletrônico (adaptado da Ref. 67)

Especificamente, a MEV fornece informações sobre a superfície do material. Um feixe monocromático de elétrons de alta energia, no intervalo de 1-30 KeV, incide sobre a amostra, onde interage com os elétrons presentes nos elementos de seus componentes. Se estes estiverem próximos a superfície da amostra, podem ter energia suficiente para escapar dela. Estes elétrons são denominados secundários, veja-se Figura 7, e são coletados por um detector que converte o sinal em imagem. As imagens também podem ser adquiridas usando elétrons retroespalhados. Através da emissão de raios X é possível obter a composição química elementar, a nível semi-quantitativo e quantitativo, além de mapear a presença deles em determinadas regiões da amostra.

Por outro lado, na MET há a incidência de um feixe de elétrons primários, que atravessam uma amostra ultrafina de seção transversal de 60 a 90 nm, sofrendo diversos tipos

de espalhamento e a imagem é construída numa tela fosforescente. A microscopia eletrônica de transmissão permite obter imagens de alta resolução, com as quais é possível visualizar diversos materiais em escala atômica. Assim, é possível obter informação da estrutura cristalográfica, da distância entre os planos cristalinos, da direção de crescimento do cristal, das interfaces e dos defeitos presentes nos diversos materiais analisados.

As nanopartículas sintetizadas neste trabalho foram caracterizadas mediante os aparelhos e condições descritos a seguir: 1) Microscopia eletrônica de varredura foi realizada em um equipamento marca Zeiss modelo EVO MA10, usando voltagem de 10 a 20 KV e corrente de filamento de 2.72 A. As amostras em pó foram fixadas na superfície de um *stub* (porta-amostra de alumínio), com auxílio de uma fita de carbono dupla face, e recobertas com uma fina camada de ouro. 2) As imagens de microscopia eletrônica de transmissão de baixa resolução foram realizadas em um microscópio JEOL JEM 1200 ExII operado a uma tensão de 80 KV, e as imagens de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução, bem como a difração de elétrons, foram obtidas em um equipamento JEOL JEM 2010 operado a uma tensão de 200 KV. As amostras foram depositadas sobre “*grids*” de cobre de 300 mesh e recobertas por um filme fino de carbono.

3.3.6 ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER

A técnica de espectroscopia Mössbauer baseia-se na absorção ressonante da radiação γ pelo núcleo e explora o fato de que as energias nucleares são sensíveis ao ambiente eletrônico. Para compreender melhor, consideremos um núcleo de ^{57}Co que decai por captura eletrônica para produzir um estado excitado de ^{57}Fe , indicado por $^{57}\text{Fe}^{**}$, veja-se Figura 8. Este nuclídeo decai para um outro estado excitado, $^{57}\text{Fe}^*$, situado a 14,41 eV acima do estado fundamental e emite um raio γ de 14,41 eV de energia ao decair para o estado fundamental.

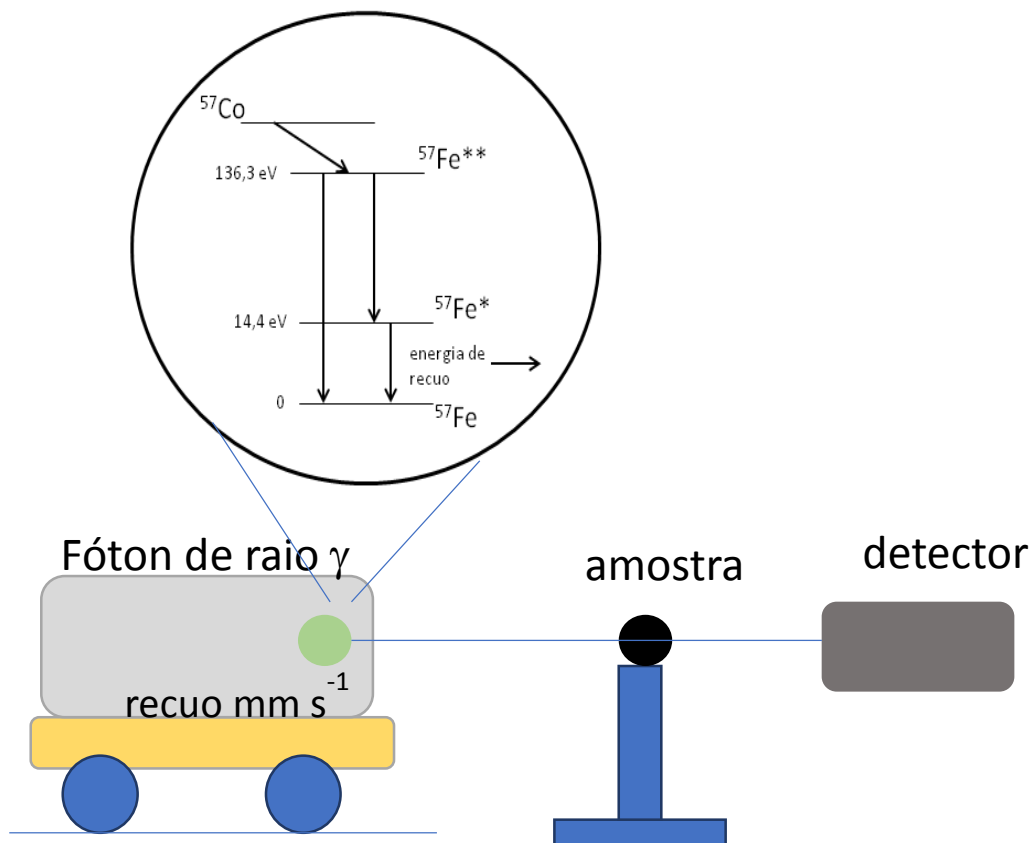


Figura 8. Representação esquemática de um espectrômetro Mössbauer, onde são observados o carrinho e o detector, além das transições responsáveis pela emissão de raios γ no detalhe. (Adaptado da Ref. 8)

Se uma amostra contendo ^{57}Fe (que ocorre com 2% de abundância natural) for colocada próxima de uma fonte de ^{57}Co , pode ocorrer um recuo do nuclídeo quando se produz a absorção dos raios γ . Para medir este valor de recuo são necessários dois detectores, um para medir a velocidade de recuo ($\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$), e o outro para medir a diminuição da energia quando ocorre a ressonância. Assim, pode-se dizer que a espectroscopia Mössbauer é o estudo da fração de recuo-livre de diferentes nuclídeos, como ^{57}Fe , ^{119}Sn , ^{129}I , ^{197}Au .

Espera-se que o espectro de Mössbauer de uma amostra contendo ferro seja formado por um único sinal, devido à absorção de radiação com a energia necessária (ΔE) para excitar o núcleo de seu estado fundamental para o estado excitado. A diferença entre o ΔE da amostra e o do ^{57}Fe metálico é chamado de deslocamento isomérico, o qual é expresso em termos de velocidade e mostra as diferenças do entorno químico entre a amostra e o nuclídeo da fonte. Pode haver um desdobramento quadrupolar da banda pela anisotropia do ambiente do núcleo. Este desdobramento é bom indicador do estado do Fe das diversas amostras, uma vez que ele depende do estado de oxidação e da distribuição da densidade eletrônica nos orbitais d.

Os espectros Mössbauer foram obtidos à temperatura ambiente, utilizando um sistema eletromecânico de aceleração constante com um analisador multicanal para coletar e armazenar os dados. Os parâmetros hiperfinos, independentes para cada fase, foram obtidos por mínimos quadrados assumindo formas de linha Lorentzianas. ^{57}Co em ródio foi usado como fonte, com atividade nominal de 50 mCi. Uma folha de metal de Fe de alta pureza foi utilizada para a calibração da escala de velocidade.⁶⁸

3.3.7 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Espectroscopia de absorção atômica com chama foi utilizada para determinar a concentração de ferro e níquel na amostra, além da quantidade de ferro lixiviado durante o experimento colorimétrico. Foi utilizado um equipamento Perkin-Elmer modelo AAnalyst 200, utilizando lâmpada de cátodo oco de cada elemento analisado (Lcumina™ Hollow Cathode Lamp – Perkin-Elmer), com uma vazão de oxidante de 10 L/min e vazão de acetileno de 2,5 L/min.

3.3.8 SUSCETIBILIDADE MAGNÉTICA

Suscetibilidade magnética foi realizada utilizando um magnetômetro de amostra vibrante da marca MicroSense, modelo EZ9. As curvas de magnetização foram medidas a temperatura ambiente, com um campo magnético de 2T. Desta forma, valores do campo coercitivo e o magnetismo remanescente poderiam ser obtidos.

3.3.9 ANÁLISE TÉRMICA

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em um equipamento da marca TA instruments, modelo Q50, sob atmosfera de N_2 com fluxo de 40 mL/min, na faixa entre 20°C-1000°C e taxa de aquecimento de 10°C/min.

3.3.10 OUTROS EQUIPAMENTOS

A síntese das nanopartículas foi realizada utilizando um agitador magnético com aquecimento da marca IKA (modelo KA – RH Basic). A calcinação foi realizada em um forno mufla da marca Quimis (modelo Q318S2ST). Foi utilizada a micro-centrifuga Eppendorf Minispin® velocidade de 10000 rpm, com força centrífuga relativa de aproximadamente 6700 x g. Também foi utilizado um pHmetro Tecnonon instrumentação (Mpa210) para verificar o pH das soluções preparadas.

3.4 CONDIÇÕES REACIONAIS PARA OS TESTES COLORIMÉTRICOS

Os dois materiais sintetizados foram utilizados em diferentes testes colorimétricos, sendo que o primeiro (C-NiFe₂O₄) destinou-se à quantificação de ácido ascórbico e o segundo (NiFe₂O₄) para peróxido de hidrogênio.

3.4.1. DETECÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Primeiramente, foram realizados experimentos visando a otimização das condições reacionais, sendo analisados os seguintes parâmetros: pH, temperatura, tempo de reação, tempo de permanência no banho de água e gelo, concentração do material e concentração do substrato cromogênico TMB. As condições iniciais escolhidas foram 40°C, 15 min de reação, 0,6 mM de TMB e 0,33 mg/mL de NPs. Cada parâmetro foi otimizado separadamente e o experimento para cada condição foi realizado em triplicata. Cada condição otimizada foi aplicada no parâmetro seguinte a ser otimizado. Na Tabela III são apresentadas as condições que foram avaliadas.

Tabela III. Condições de reação avaliadas em cada parâmetro otimizado

Parâmetros	Condições utilizadas					
pH	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	
Temperatura (°C)	25	30	35	40	45	50
tempo de reação (min)	5	10	15	20	25	30
[TMB] (mM)	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
[NPs] (mg/mL)	0,05	0,07	0,1	0,20	0,33	

Salvo em casos específicos descritos posteriormente, o procedimento de otimização foi realizado da seguinte forma: em um tubo de ensaio, foi adicionado 1 mg de material, 2,71 mL de solução tampão HOAc/NaOAc, 90 µL de solução de TMB (0,02 M) e água ultrapura, para se obter um volume total de 3 mL. O tubo de ensaio foi agitado e colocado em um banho termostático por determinado tempo de reação para formar um líquido de cor azul. Em seguida, o tubo de ensaio foi mergulhado em um banho de gelo por 30 s. Por último, o líquido foi separado do material por decantação magnética, transferido para uma cubeta e realizada a medição no espectrofotômetro.

Na otimização da concentração de NPs, foi variado o volume total da reação, mantendo sempre a quantidade de 1 mg de material adicionado. Os volumes totais foram de 3 mL, 5 mL, 10 mL, 15 mL e 20 mL.

Para determinar a concentração de íons ferro lixiviados e verificar a estabilidade do material em diferentes pHs, 1 mg de NPs foi deixado em contato com 3 mL de solução tampão HOAc/NaOAc (pH: 3; 3,5 e 4) em um banho termostático a 40°C por 15 min, seguido de centrifugação a 10000 rotações por minuto (RPM) por 10 min. O conteúdo de Fe total dissolvido foi determinado por espectroscopia de absorção atômica de chama.

O teste colorimétrico visando a detecção de ácido ascórbico foi realizado adicionando-se, em tubos de ensaio, 1 mg de material, 2,71 mL de solução tampão HOAc/NaOAc (pH 3,5 e 0,2 M) e 90 µL de solução de TMB (0,02 M). A suspensão foi agitada por 30 s e colocada em um banho termostático a 40 °C por 15 min. Depois, o tubo de ensaio foi colocado em um banho de gelo por 30 s e, em seguida, foi adicionado 200 µL de soluções padrões de ácido ascórbico de diferentes concentrações. Subsequentemente, o líquido foi separado do material por decantação magnética, transferido para uma cubeta e realizada a medição no espectrofotômetro. Para determinar o limite de detecção foram realizadas as medições de 5 amostras do branco, e calculado utilizando a equação (9):

$$LD = 3 \sigma/m \quad \text{Eq. (9)}$$

onde 3 é um valor tabelado considerando um nível de confiança de 98%, “σ” representa o desvio padrão dos brancos e “m” o coeficiente angular da curva de calibração.

A quantificação de ácido ascórbico em amostras reais foi realizada pelo método de múltiplas adições de padrão, utilizando duas amostras diferentes, sendo a primeira um comprimido efervescente de vitamina C e a segunda uma solução líquida. Primeiramente, é obtida a solução de TMB oxidado, seguindo o procedimento já descrito. Posteriormente, 2 mL

dessa solução são transferidos para a cubeta e realizada a medição no espectrofotômetro. Em seguida, é adicionado 100 µL da solução de amostra real e realizada a medição novamente. Na sequência foram realizadas 4 adições de 15 µL de uma solução padrão de AA ($4 \cdot 10^{-4}$ M) e realizada a medição da absorbância após cada adição.

As interferências de K^+ , Cl^- , Na^+ , glicose, dopamina e ácido úrico foram avaliadas adicionando na presença de AA, separadamente, soluções de KCl, NaCl, glicose, ácido úrico, dopamina e uma mistura dos mesmos. A concentração final dos interferentes foi fixada em 30 µM.

3.4.2 DETECÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

O teste colorimétrico para detecção de H_2O_2 foi realizado utilizando $NiFe_2O_4$. As condições experimentais empregadas foram as mesmas obtidas pela otimização dos experimentos com C- $NiFe_2O_4$. Para a construção da curva de calibração foram adicionados, em tubos de ensaio, 1 mg de material, 2,81 mL de solução tampão HOAc/NaOAc (pH 3,5 e 0,2 M), 100 µL de soluções de H_2O_2 de diferentes concentrações e 90 µL de solução de TMB (0,02 M). A suspensão foi agitada por 30 s e colocada em um banho termostático a 40 °C por 15 min para formar uma coloração azul, com intensidade proporcional a concentração de H_2O_2 presente no meio. O tubo de ensaio foi colocado em um banho de gelo por 30 s e, logo em seguida, a solução foi separada do material por decantação magnética, transferido para uma cubeta e realizada a medição no espectrofotômetro.

3.5 SOFTWARES UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE DADOS E IMAGEM

A manipulação das imagens foi realizada no software Fiji Image J 1.48V⁶⁹ e o tratamento matemático dos dados foi realizado no software Origin 8.5.⁷⁰

CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados alcançados nessa dissertação em termos de formação, estequiometria, tamanho, composição e fase das nanopartículas de NiFe_2O_4 e $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$, bem como as condições reacionais ótimas e parâmetros de mérito dos testes colorimétricos.

4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DE NiFe_2O_4

4.1.1 ANÁLISE TÉRMICA

Após a secagem do material na chapa de aquecimento foi obtido uma cerâmica esponjosa, que é o precursor das nanopartículas. Com o intuito de observar o comportamento térmico do material e determinar os intervalos de decomposição, o mesmo foi submetido a análise termogravimétrica (TGA) e a termogravimetria derivada (DTG), conforme mostrado na Figura 9. A primeira derivada da curva de análise térmica mostra os picos de decomposição a 68°C , 148°C , 200°C , 237°C , 342°C , 390°C , 726°C e 838°C os quais podem ser agrupados em três intervalos de temperatura, conforme mostrado na Tabela IV. A desnaturação das proteínas presentes em maior quantidade na clara de ovo foi relacionada com as temperaturas de 60°C , 67°C , 78°C e 82°C para conalbumina, lisozima, ovalbumina e *s*-ovalbumina, respectivamente.⁷¹ Os picos entre 100 a 150°C podem ser relacionados à perda de água de umidade.²⁵ Já os picos observados no segundo intervalo de decomposição são associados a queima de matéria orgânica remanescente da clara de ovo. Wang e colaboradores⁷² reportaram a decomposição da clara de ovo entre 40 - 350°C , com uma perda de massa de 49 % nesse intervalo. Neste trabalho, a porcentagem de decomposição a 350°C foi de 43%.

Em temperaturas acima de 500°C foi observada pouca variação na porcentagem de massa, principalmente até 640°C , onde a diminuição foi de apenas 5% nesse intervalo, o que pode indicar o término da decomposição dos resíduos orgânicos e a formação das nanopartículas de NiFe_2O_4 . O percentual de resíduo restante a 900°C foi de 19%. Estes dados estão em consonância com o que foi relatado previamente por Maensiri e colaboradores^{25,73}, com exceção dos picos abaixo de 150°C , que são mostrados pela primeira vez nesse trabalho.

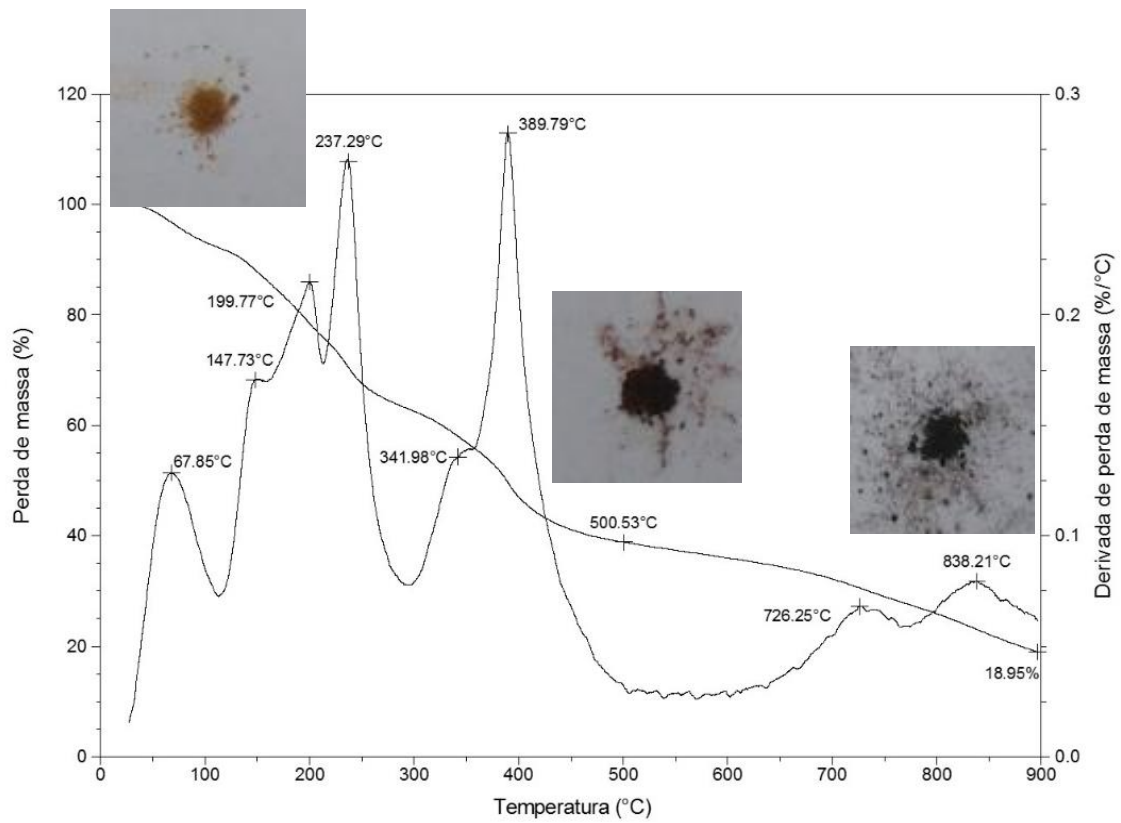


Figura 9. Curva de TGA e primeira derivada da perda de massa do precursor de NiFe_2O_4 no intervalo entre 27°C - 900°C , com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ e imagens do material antes e após aquecimento a 500°C e a 900°C .

Tabela IV. Temperaturas e intervalos de decomposição do precursor cerâmico no intervalo de 27-900 °C.

Intervalo de decomposição (°C)	Temperatura de decomposição (°C)	Massa de resíduo (%)	Temperatura de decomposição relatada na Ref. 73 (°C)
27 - 150	68	96,7	-
	148	86,2	-
150 - 500	200	78,5	207
	237	70,5	-
	342	59,3	294
	390	49,6	372
	500	38,8	502
500 - 900	726	27,4	-
	838	23,1	-
	900	18,9	1000

A curva de análise térmica da amostra C-NiFe₂O₄, no intervalo entre 27°C-700°C com taxa de aquecimento de 10°C/min, está presente no anexo desta dissertação e mostra praticamente os três intervalos de decomposição do precursor cerâmico da amostra NiFe₂O₄, com uma porcentagem de resíduo próximo de 40% a 700°C. Ver Figura A1.

4.1.2 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Os produtos resultantes do aquecimento nas temperaturas de 150°C, 350°C, 400°C e 500°C foram analisados por espectroscopia no infravermelho, com o intuito de obter informações sobre as características do material que apontem um possível mecanismo de formação das nanopartículas. Originalmente os espectros foram registrados na região de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹, entretanto, na Figura 10 mostra-se somente no intervalo de 1250 cm⁻¹ e 400 cm⁻¹, pois em números de onda maiores somente está presente uma banda larga de absorção referente a estiramentos de grupos hidroxila (O-H) provenientes de moléculas de água residual adsorvida, ~3380 cm⁻¹. A banda em 588 cm⁻¹ é devido ao modo vibracional de estiramento ferro-oxigênio no sítio tetraédrico (ν Fe-O_{tet}), enquanto que a banda em 418 cm⁻¹ está relacionada com a vibração de estiramento níquel-oxigênio no sítio octaédrico (ν Ni-O_{oct}), essas bandas podem ser chamadas de ν_1 e ν_2 , respectivamente. Estes dois modos vibracionais

começam a ser evidenciados nas amostras aquecidas a partir da temperatura de 350°C, não sendo possível observá-los no precursor e na amostra de 150°C, indicando que até esta temperatura ainda não há a presença da fase característica das nanopartículas de ferrita de níquel. A banda em 1105 cm^{-1} , relacionada aos íons nitrato, não aparece nos espectros do precursor e da amostra aquecida a 150°C, provavelmente pela grande quantidade de conteúdo orgânico ainda presente, proveniente da clara de ovo. A Tabela V mostra algumas bandas características e suas atribuições a diferentes temperaturas.

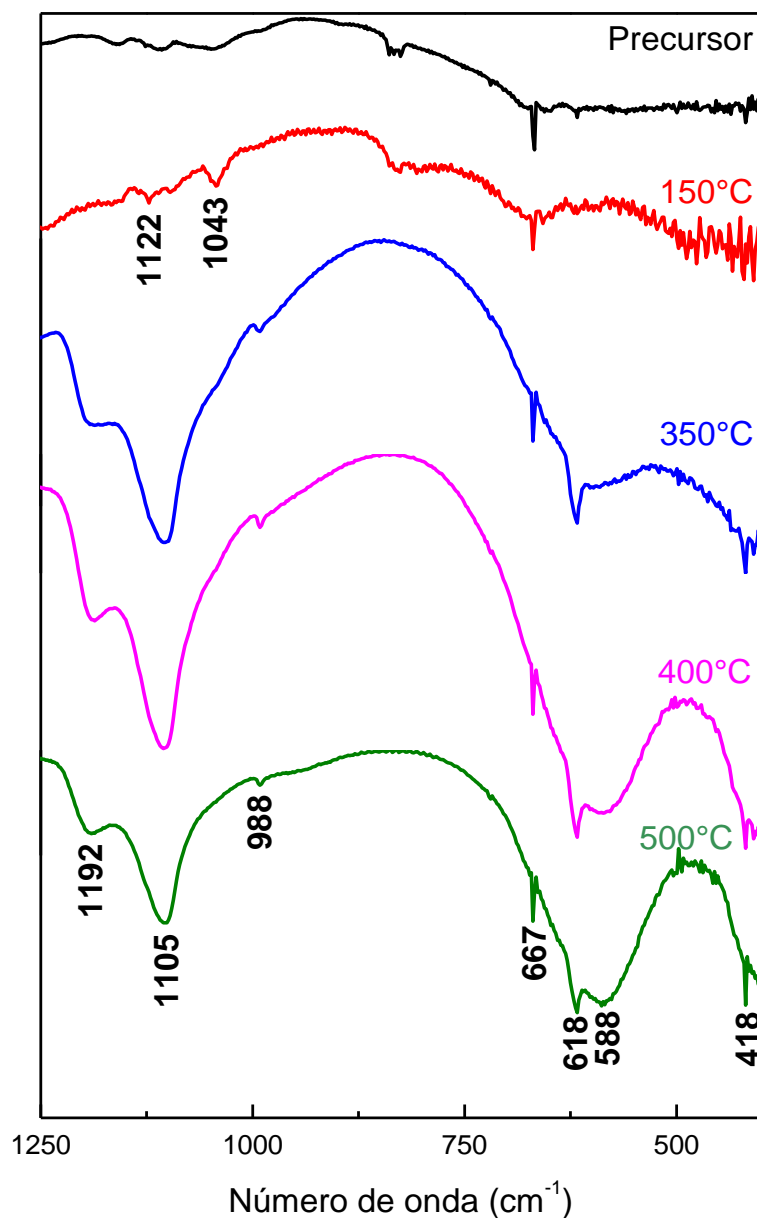


Figura 10. Espectros de infravermelho do precursor e das amostras aquecidas a 150°C, 350°C, 400°C e 500°C, na região de 1250 cm^{-1} -400 cm^{-1} .

Tabela V. Atribuição dos modos vibracionais das amostras calcinadas a diferentes temperaturas na taxa de aquecimento de 10°C/min

Precursor	150°C	350°C	400°C	500°C	Atribuição
-	-	418(<i>f</i>)	418 (<i>f</i>)	418 (<i>f</i>)	v M-O _{oct}
-	-	-	588 (<i>f</i>)	588(<i>f</i>)	v Fe-O _{tet}
-	-	618 (<i>f</i>)	618 (<i>f</i>)	618 (<i>f</i>)	v M-O _{tet}
667 (<i>mf</i>)	667 (<i>mf</i>)	667 (<i>f</i>)	667 (<i>f</i>)	667 (<i>f</i>)	v O-H <i>fora do plano</i>
-	-	988 (<i>f</i>)	988 (<i>f</i>)	988 (<i>f</i>)	δ P=O
-	-	1105 (<i>F</i>)	1105 (<i>F</i>)	1105 (<i>F</i>)	v NO ₃ ⁻
-	-	1192 (<i>f</i>)	1192 (<i>f</i>)	1192 <i>f</i>	v N-S-O ₂
3410 (<i>m,l</i>)				3380 (<i>m,l</i>)	v OH
3560-3940 (<i>mult</i>)	3560-3940(<i>mult</i>)	3560-3940(<i>mult</i>)	3560-3940(<i>mult</i>)	3560-3940(<i>mult</i>)	v OH

Intensidade relativa: *f*=fraca; *m*=média; *F*=Forte; *l*=larga; *mult*=múltipla.

Também foi realizado um seguimento da variação do aquecimento por espectroscopia de infravermelho até 500°C, usando diferentes taxas de aquecimento, sendo elas 5°C/min, 10°C/min e 20°C/min. Como é possível observar na Figura 11, os modos vibracionais não sofrem alterações significativas com a variação da taxa de aquecimento, o que é um estudo inédito, pois não foi relatado em outros trabalhos.

O método de Waldron foi utilizado para determinar a constante de força dos sítios tetraédrico (K_t) e octaédrico (K_o), mediante as equações 10 e 11:

$$K_t = 7.62 \times M_t \times v_t^2 \times 10^{-3} \text{ (Dyn/cm)} \quad \text{Eq. (10)}$$

$$K_o = 5.31 \times M_o \times v_o^2 \times 10^{-3} \text{ (Dyn/cm)} \quad \text{Eq. (11)}$$

onde M_t e M_o são as massas moleculares dos cátions nos sítios tetraédricos e octaédricos, respectivamente. Os valores obtidos foram de 1.47×10^5 Dyn/cm para K_t e 1.01×10^5 Dyn/cm para K_o , os quais estão próximos aos dados reportados previamente na literatura. Dados da literatura reportam as bandas ν_1 e ν_2 para a fase NiFe₂O₄ em 585 cm⁻¹ e 405 cm⁻¹, respectivamente, enquanto que neste trabalho os mesmos apresentam deslocamentos para

números de onda ligeiramente maiores, sugerindo que os comprimentos de ligação metal-oxigênio são menores.^{62,74,76} Como os íons Fe^{3+} do sítio tetraédrico possuem caráter covalente maior que no sítio octaédrico e os íons Ni^{2+} possuem forte preferência pelo sítio octaédrico, o modo vibracional $\text{Fe}^{3+}\text{-O}^{2-}$ pode ser afetado quando há a substituição por íons de maior raio iônico e massa atômica do que o ferro. Isso acarreta no deslocamento dos modos vibracionais e nos valores da constante de força.

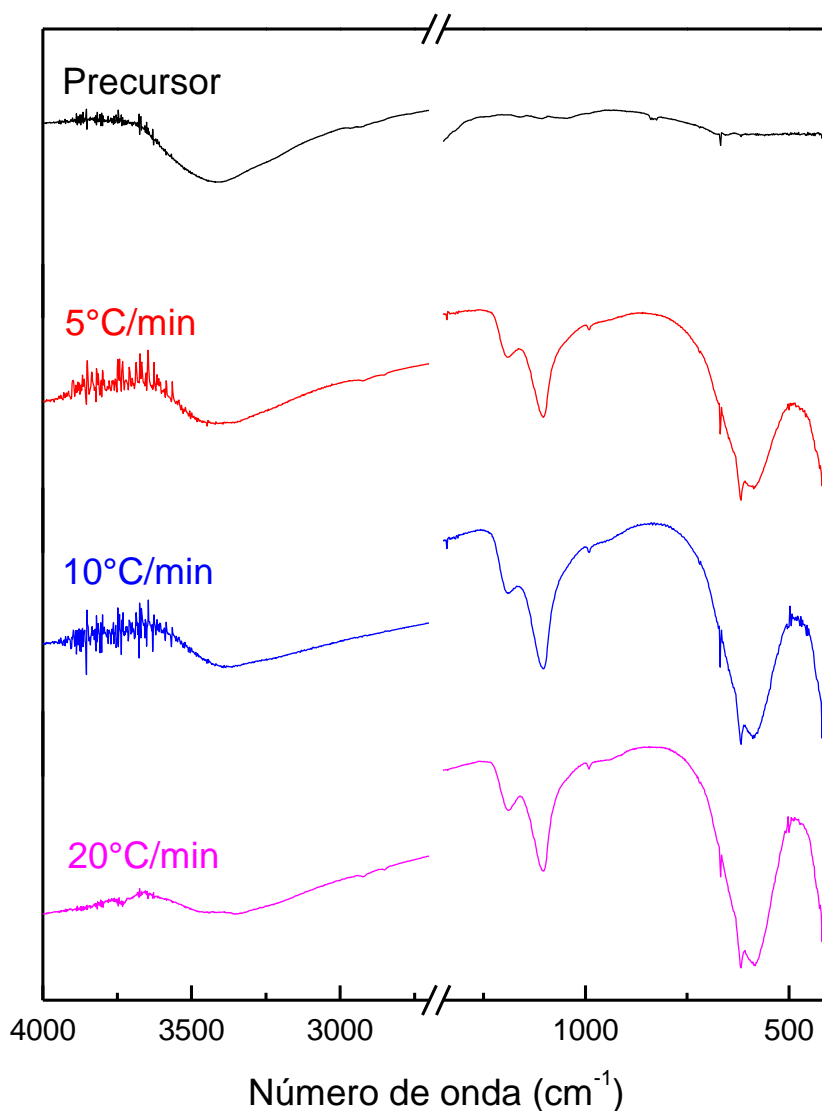


Figura 11. Espectros de infravermelho do precursor e das amostras calcinadas a 500°C a diferentes taxas de aquecimento, na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , com supressão da região entre 2700 cm^{-1} a 1350 cm^{-1} .

Diante dos resultados apresentados na análise por infravermelho, conclui-se que até 150°C ainda não há a formação da fase característica das nanopartículas de ferrita de níquel,

visto que não aparecem os modos vibracionais intrínsecos dos sítios tetraédrico e octaédrico. Dessa forma, optou-se por realizar um estudo mais detalhado nas temperaturas de 350°C e 500°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.

4.1.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

As amostras calcinadas a 350°C e 500°C foram analisadas mediante difração de Raios X. Os picos em 18,9°, 30,2°, 35,4°, 37,4°, 43,4°, 54,0°, 57,2°, 62,9°, 74,0° e 75,1° foram indexados aos planos cristalográficos (111), (220), (311), (222), (400), (422), (511), (440), (533) e (622) da fase cúbica do NiFe₂O₄ (JCPDS 10-0325). O difratograma da amostra de 350°C mostra alguns picos relacionados a fases secundárias, os quais estão presentes com menor intensidade na amostra de 500°C.

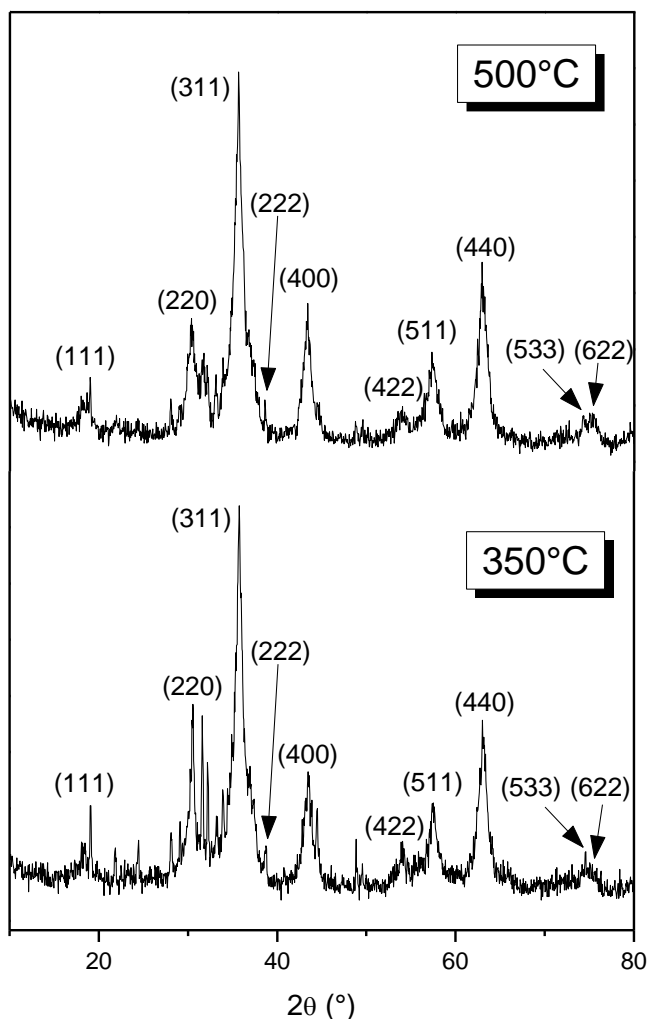


Figura 12. Padrão de difração das nanopartículas de NiFe₂O₄ calcinadas a 350°C e 500°C.

O tamanho do cristalito para a amostra de 500°C foi calculado através da equação de Debye-Scherrer (Eq. 3), considerando os picos mais intensos correspondentes aos planos (311), (440), (400) e (220), e o valor médio obtido foi de $16,5 \pm 4,1$ nm. O valor do parâmetro de rede da célula unitária foi calculado através da relação entre distância interplanar e os índices de Miller (Eq. 2). O valor experimental (a_{exp}) calculado foi de 8,3406 Å, o qual está próximo do valor teórico (a_t), que é de 8,3391 Å (JCPDS 10-0325). O parâmetro de rede pode ser afetado por fatores como carga livre, temperatura, composição e impurezas. De acordo com a literatura, o parâmetro de rede de NiFe₂O₄ aumenta com a presença de cátions substituintes com maior raio iônico, o que provoca expansão na célula unitária.^{74,75,76} Como apresentado na Tabela II, a clara de ovo apresenta alguns íons metálicos em sua composição, os quais possuem raio iônico maior que o Ni²⁺ e o Fe³⁺. Dessa forma, a diferença de 0,0015 Å no valor do parâmetro de rede pode ser atribuída a uma pequena quantidade de íons metálicos substituintes na estrutura, provenientes da clara de ovo, podendo ser o Fe²⁺ ou Mg²⁺ devido a seus valores de raio iônico. Porém, a sua presença e a distribuição dos cátions precisaria ainda ser confirmada por técnicas como espectroscopia de absorção de raios X juntamente com o método de refinamento de estrutura, chamado método Rietveld.

Utilizando o valor do parâmetro de rede experimental na equação 4 foi calculada a densidade da amostra, sendo encontrado 5,37 g cm⁻³, este valor é idêntico ao reportado na literatura⁷⁶ para nanopartículas de NiFe₂O₄, e está próximo ao determinado experimentalmente aplicando o princípio de Arquimedes, de 5,33 g cm⁻³.

4.1.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA

A amostra calcinada a 500°C foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 13 mostra uma imagem obtida com detector de elétrons secundários, na qual é possível observar uma estrutura granular constituída de aglomerado de nanopartículas, dando um aspecto esponjoso ao material. Foi construído um histograma de distribuição do tamanho das partículas na faixa de 22 nm a 45 nm, sendo encontrado um diâmetro médio de 36 nm.

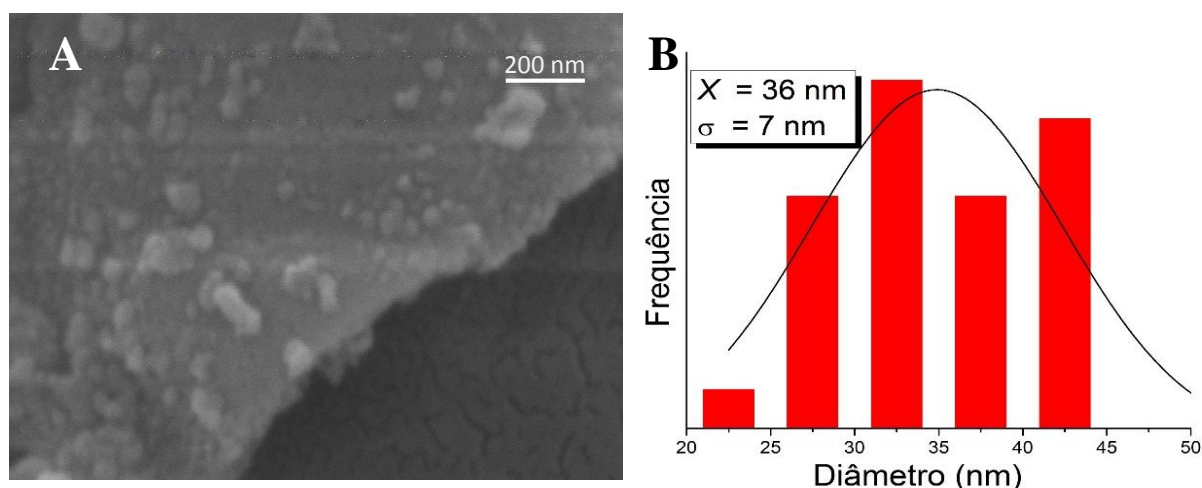


Figura 13. Imagem de microscopia eletrônica de varredura da amostra calcinada a 500°C (A). Histograma de distribuição de tamanho das partículas (B).

A identificação e mapeamento dos elementos químicos foram realizados utilizando um detector de elétrons retroespalhados junto à energia dispersiva de raios X. Na Figura 14 é apresentado o espectro de energia dispersiva de uma das regiões analisadas. O espectro mostrou a presença dos picos correspondentes ao níquel, ferro, oxigênio, carbono e sódio, estes dois últimos provenientes da clara de ovo.⁷⁷ Também são apresentados os valores médios das porcentagens de massa e atômica desses elementos determinados em três regiões diferentes da amostra. Dessa análise semiquantitativa pode ser verificada uma relação Fe:Ni de 2:1. A fim de verificar a homogeneidade da amostra foram efetuados os mapeamentos dos elementos ferro, níquel e oxigênio, os quais são apresentados na Figura 15. Através dessas imagens fica evidente a homogeneidade na distribuição do O, Fe e Ni na amostra. O mapeamento também mostrou a presença de magnésio e enxofre, que não são apresentados aqui pela baixa qualidade da imagem devido à pequena concentração desses elementos.⁷⁷

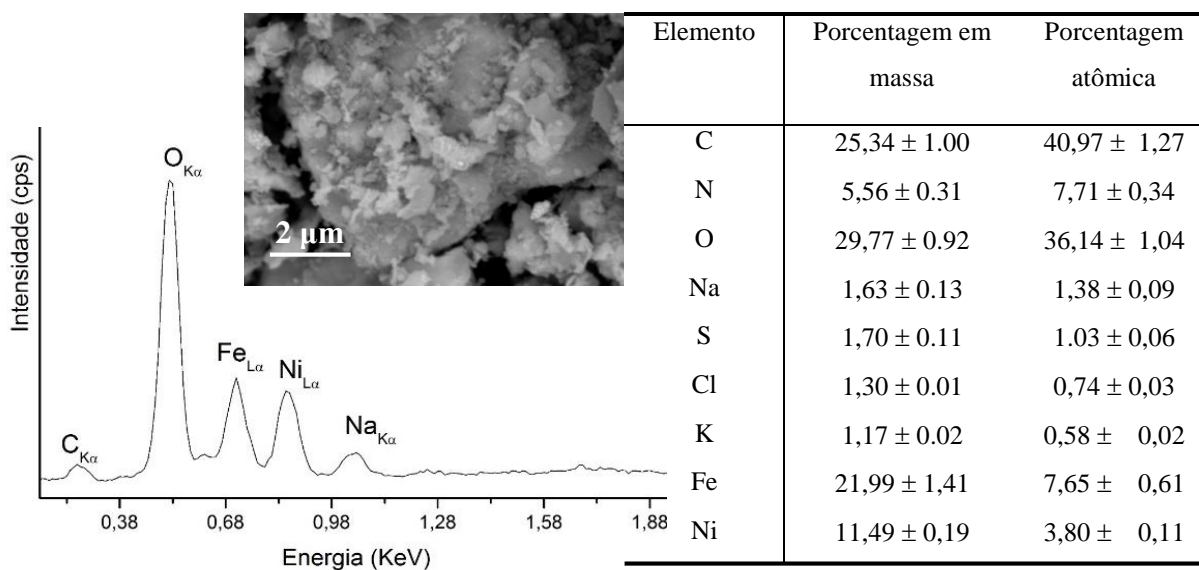


Figura 14. Espectro de EDS da amostra calcinada a 500°C com a imagem da região analisada e a tabela com as porcentagens em massa e atômica dos elementos.

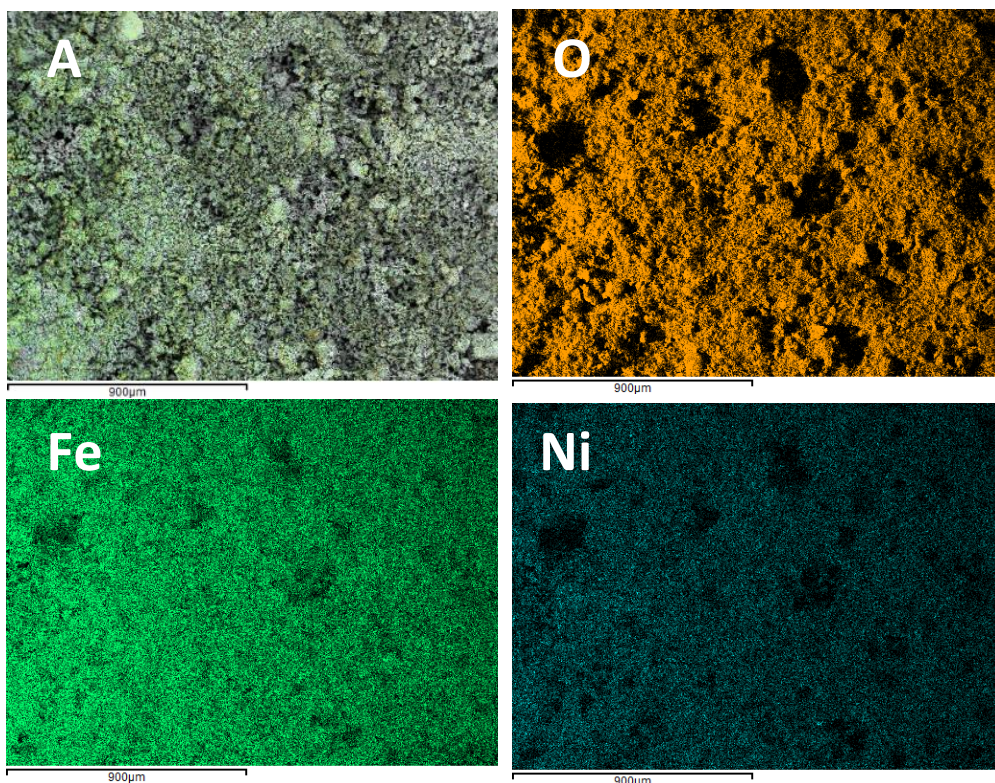


Figura 15. Análise de mapeamento elemental, mostrando a imagem de MEV da região analisada (A), e as regiões coloridas mostrando a presença dos seguintes elementos: (O) Oxigênio (amarelo); (Fe) Ferro (verde); (Ni) Níquel (azul).

As amostras calcinadas a 350°C e 500°C foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET). As imagens são mostradas na Figura 16, onde pode ser visto que a 350°C as nanopartículas ainda se encontram em estágio inicial de formação evidenciado pelo grande número de núcleos de crescimento distribuídos na região mais clara, havendo somente algumas nanopartículas na região mais escura da imagem. Já o aquecimento a 500°C favoreceu a formação das nanopartículas de NiFe_2O_4 , as quais apresentam boa dispersão e homogeneidade de tamanho, com diâmetro médio de $6,8 \text{ nm} \pm 0,9 \text{ nm}$. Quanto a morfologia, a maioria delas possuem forma esférica. Estas imagens comprovam que as estruturas observadas no MEV, com dimensão média de 36 nm, são constituídas de aglomerados de nanopartículas.

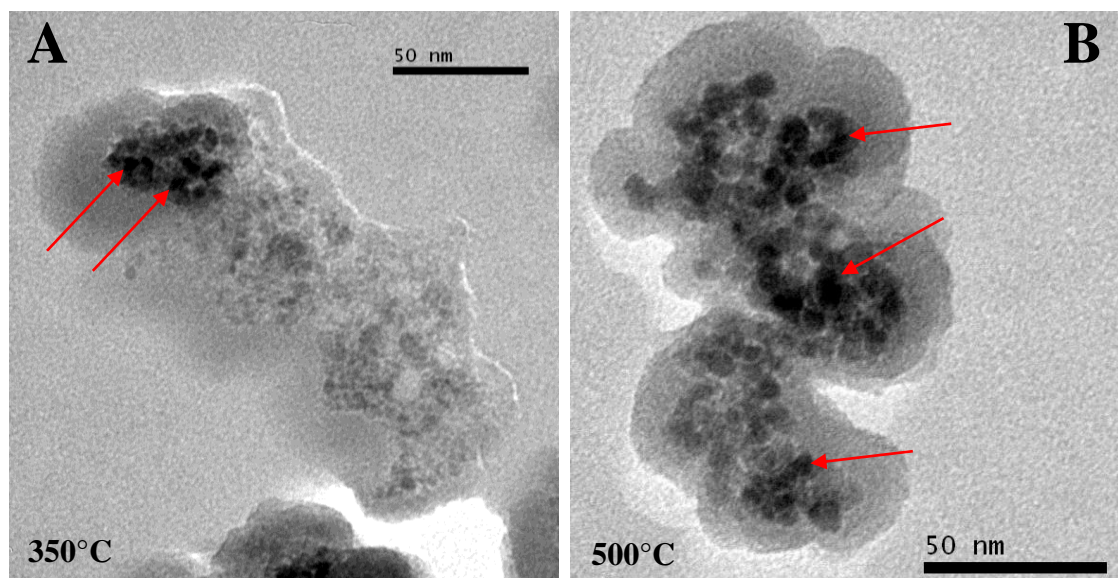


Figura 16. Imagem de Microscopia eletrônica de transmissão das amostras calcinadas em: 350°C (A) e 500°C (B). As setas vermelhas mostram as nanopartículas.

Utilizando um microscópio de alta resolução (200 kV) foram obtidas imagens das nanopartículas em campo claro e campo escuro para identificar as regiões de maior cristalinidade na amostra e realizar análise de difração de elétrons. As imagens são apresentadas na Figura 17, onde em campo escuro são nitidamente observadas algumas nanopartículas esféricas. Na região de maior brilho foi realizada a medição de difração de elétrons que é apresentada na Figura 17 (C), onde a presença dos círculos concêntricos indica um material policristalino. Cada anel formado pela interconexão entre os pontos representa um plano cristalográfico, que correspondem aos planos (311), (422), (440), (220), (400), (511) da fase

cúbica do NiFe_2O_4 , o que está em consonância com os dados mostrados por difração de raios X.

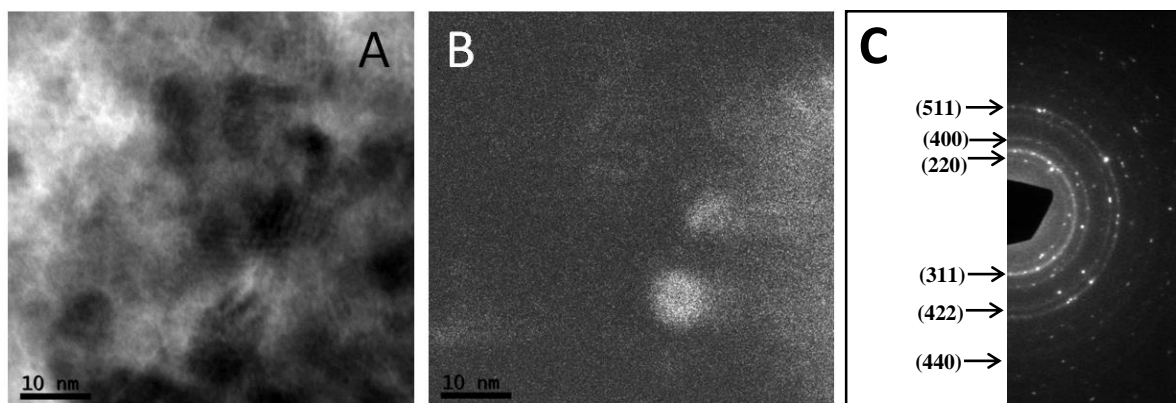


Figura 17. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas em campo claro (A) e campo escuro (B). Spot de difração de elétrons da região de maior cristalinidade da imagem (C).

4.1.5 ANÁLISE POR REFLETÂNCIA DIFUSA: CÁLCULO DO *BAND GAP*

Na Figura 18 (A) são apresentados os espectros de refletância difusa (DRS) das amostras calcinadas a 350°C e 500°C . O coeficiente de absorção foi expresso pela função $F(R)$ de Kubelka-Munk. No espectro observa-se uma banda contínua na região entre 400-700 nm e um ombro em torno de 750 nm somente na amostra de 500°C . O valor do gap óptico foi determinado através do gráfico de Tauc, que relaciona a função de remissão de Kubelka-Munk com a energia (Eq. 8).⁷⁸ A Figura 18 (B) mostra os valores de *band gap* para a banda direta de 2,2 eV e 2,0 eV para as amostras aquecidas a 350°C e 500°C , respectivamente. A pequena diferença no valor do gap óptico é atribuída a presença de nanopartículas menores na amostra de 350°C . Estudos teóricos relatados por Meinert e colaboradores⁷⁹ mostram a presença de duas bandas proibidas, a primeira em 2,3 eV (atribuído a transição $X \rightarrow \Gamma$), e a segunda em 2,7 eV (atribuído para a transição $\Gamma \rightarrow \Gamma$), além da presença da banda indireta a 1,5 eV. Não obstante, os valores do *band gap* podem variar devido a presença de vacâncias e mistura de cátions na fase do NiFe_2O_4 , como relatado por Dileep e colaboradores.⁸⁰ Dessa forma, os valores do gap óptico obtidos para as amostras são característicos de materiais semicondutores.

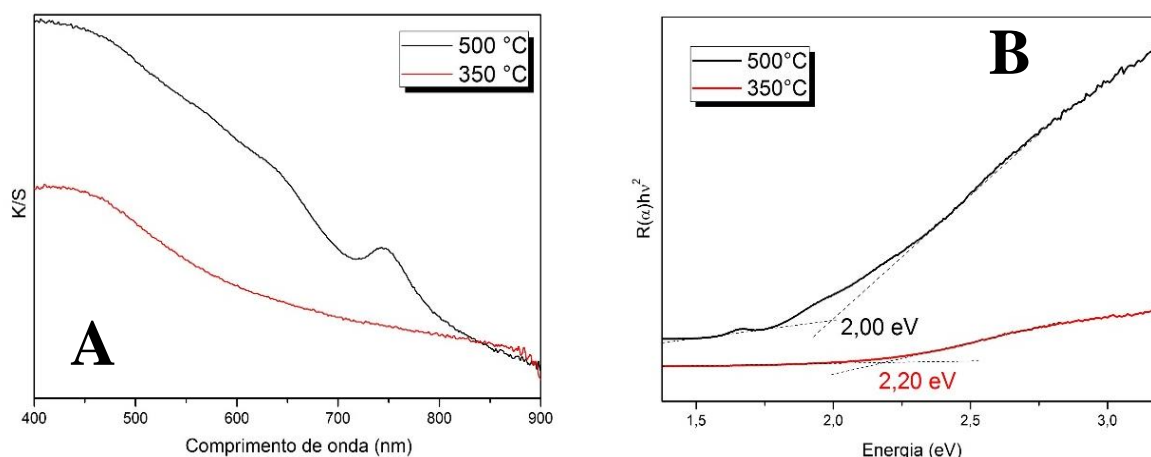


Figura 18. Espectro de UV-Vis em estado sólido na região entre 400-900 nm para as amostras calcinadas a 350°C e 500°C (A). Gráfico de Tauc para as amostras calcinadas a 350°C e 500°C, onde a intersecção das linhas pontilhadas representa o valor do *band gap* para a banda direta (B).

4.1.6 ESPECTROSCOPIA MÖSSBAUER

A amostra NiFe_2O_4 de 500°C foi analisada por espectroscopia Mössbauer a temperatura ambiente e a baixa temperatura (-178 °C) sem aplicação de campo magnético externo. O espectro a temperatura ambiente é mostrado na Figura 19 (A), onde os pontos representam os dados coletados, enquanto que a linha contínua em vermelho é o resultado do ajuste, calculado através de uma função de distribuição Lorentziana de mínimos quadrados. No espectro, observa-se a presença de dois sextetos, os quais estão relacionados a presença de íons Fe^{3+} nos interstícios tetraédricos e octaédricos. Além disso, também é observada a presença de um dubleto central que caracteriza uma fase paramagnética ou superparamagnética. Este dubleto é atribuído a presença de íons Fe^{3+} nos interstícios octaédricos, mas que não participam do ordenamento magnético de longo alcance devido à grande quantidade de íons vizinhos não magnéticos.^{81,82} A Figura 19 (B) mostra a distribuição do campo magnético hiperfino das nanopartículas, onde estão presentes duas diferentes fases a 48 T e 3 T.

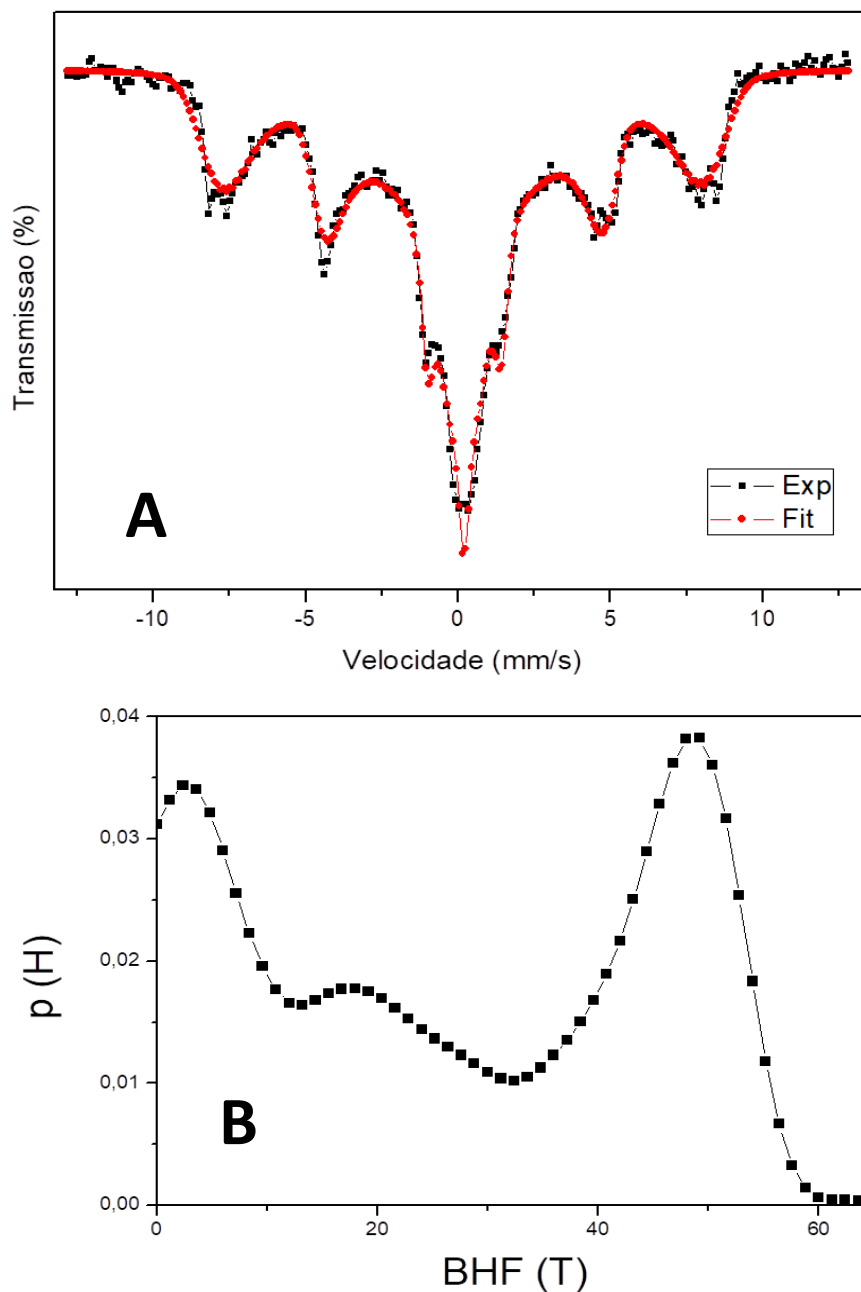


Figura 19. Espectro de Mössbauer das nanopartículas de NiFe_2O_4 medido a temperatura ambiente (A). Distribuição de campo magnético hiperfino das nanopartículas de NiFe_2O_4 , oriundo dos ajustes do espectro Mössbauer (B).

Para ferritas com estruturas 100% inversa, o espectro Mössbauer apresenta sextetos bem definidos, o que significa um grande acoplamento ferromagnético entre os íons Fe^{3+} . Portanto, a presença do duplete estaria indicando uma estrutura de espinélio misto.⁷⁵

Por outro lado, o espectro de Mössbauer da mesma amostra realizado a baixa temperatura, -178°C , mostra a presença unicamente de dois sextetos. Além disso, observa-se

certos pontos abaixo dos picos centrais, que não foram considerados para o ajuste da análise de distribuição, o que também indicaria que a amostra apresenta um certo grau de substituição. A partir do espectro da Figura 20 foram obtidos os valores para o desvio isomérico (IS), campo hiperfino (H_f) e espalhamento de quadrupolo (QS), os resultados são mostrados na Tabela VI.

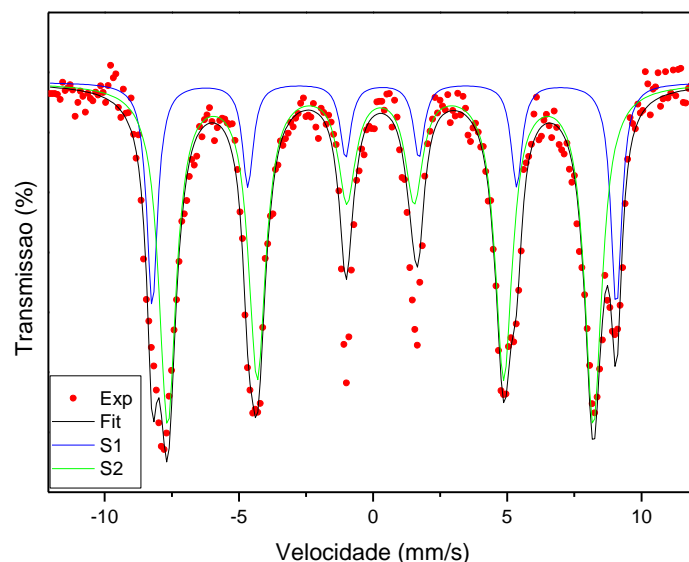


Figura 20. Espectro de Mössbauer das NPs medido a temperatura de -178°C . Os pontos são dados experimentais enquanto as linhas passando pelos pontos são resultado dos ajustes dos espectros usando distribuição de campo hiperfino, para cada um dos sextetos, S1 e S2.

Tabela VI. Parâmetros hiperfinos do ajuste dos espectros de Mössbauer a temperatura de -178°C

Interstício	IS (mm s^{-1})	QS (mm s^{-1})	H_f (T)	Γ (mm s^{-1})	Área (%)
Sexteto (S1)	0,49	0,07	53,7	0,49	0,25
Sexteto (S2)	0,38	0,00	49,3	0,78	0,75

Em função dos dados apresentados, a análise por espectroscopia Mössbauer mostra que as nanopartículas sintetizadas são ferromagnéticas com presença de um componente paramagnético.

4.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DE C-NiFe₂O₄

4.2.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

A quantidade de ferro e níquel presentes na amostra C-NiFe₂O₄ foi determinada por meio de espectroscopia de absorção atômica por atomização com chama. Os resultados são apresentados na Tabela VII. As análises foram realizadas pelo técnico responsável na Central Analítica- IQ-UFRGS.

Tabela VII. Teores de ferro e níquel na amostra C-NiFe₂O₄

	Teor (mg g ⁻¹)	Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)
Fe	132,42	4,169	3,15
Ni	55,69	1,075	1,93

Os resultados apontam que o material está constituído de 13,2 % de ferro e 5,6 % de níquel, o que corresponde pela estequiometria a 6,1 % de oxigênio, levando a um total de 24,9% de NiFe₂O₄ na amostra, os 75% restantes estariam constituídos essencialmente por carbono e uma pequena quantidade de impurezas, como nitrogênio, enxofre, fósforo, entre outros. A relação molar Ni:Fe encontrada foi de 1:2,5, visto que na síntese foi adicionada a proporção molar de 1:2 e a quantidade superior de Fe pode ser atribuída a presença de Fe na clara de ovo.

4.2.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Na Figura 21 é observado o difratograma da amostra C-NiFe₂O₄, onde os planos cristalográficos (220), (311), (222), (400), (422), (511), (440) e (533) foram indexados para a fase cúbica do NiFe₂O₄ (JCPDS 10-0325).

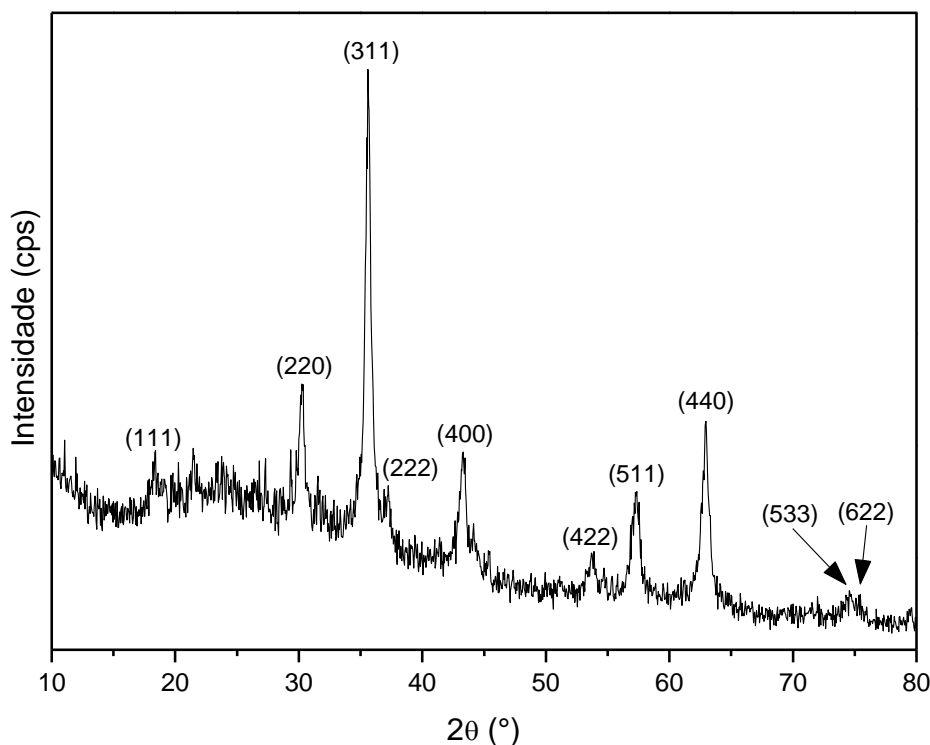


Figura 21. Padrão de difração de amostra C-NiFe₂O₄ no plano 10°-80°.

O tamanho do cristalito foi calculado pela equação de Scherrer (Eq. 3) e o resultado obtido foi de 20 ± 3 nm. Este valor foi calculado utilizando os picos mais intensos, (311), (440), (400) e (220), para levar em consideração diferentes orientações do cristal. Diferente do material NiFe₂O₄, a amostra C-NiFe₂O₄ contém 75% de materiais carbonáceos que são de natureza amorfa ou de baixa cristalinidade.

4.2.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão de C-NiFe₂O₄ revelam a presença de nanopartículas com morfologia esférica ligeiramente irregular e tamanho homogêneo. O diâmetro médio de 12 nm foi determinado a partir do histograma de frequência de tamanho conforme mostra a Figura 22 (B).

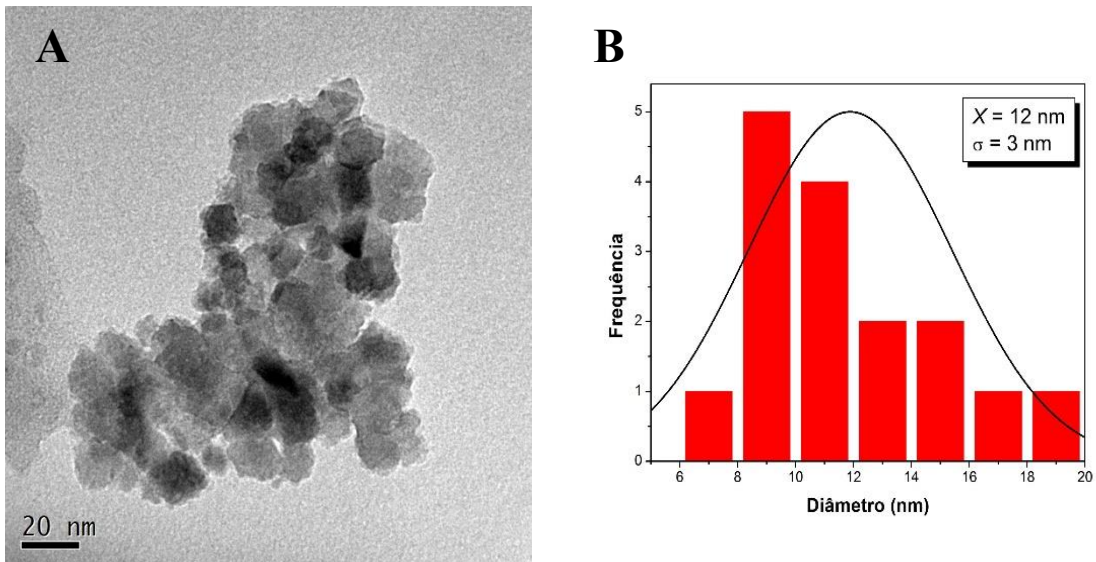


Figura 22. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão da amostra C-NiFe₂O₄ em campo claro (A). Histograma de distribuição do tamanho das nanopartículas (B).

A análise de difração de elétrons foi realizada na região de maior cristalinidade da Figura 23 (A). Os círculos formados pela interconexão dos pontos indicam a policristalinidade da amostra e foram indexados aos planos (220), (311), (400), (422), (440) e (511) da fase cúbica do NiFe₂O₄.

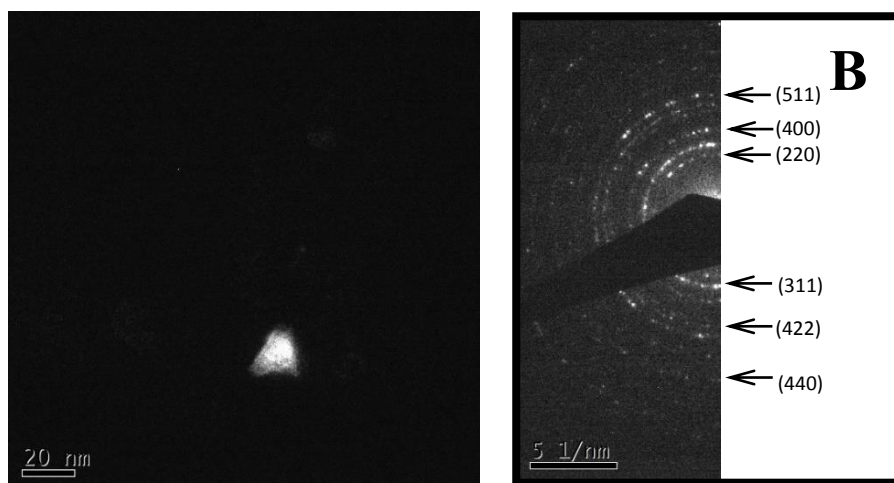


Figura 23. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão em campo escuro, da mesma região da imagem da Figura 22 A (A). Spot de difração de elétrons (B).

A Figura 24 (A) mostra a imagem de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução das nanopartículas, onde observa-se a presença de material com certo grau de aglomeração, de forma aproximadamente esférica, além da presença de faces bem definidas em algumas delas. Na Figura 24 (B), a magnificação de uma nanopartícula permite enxergar a presença dos planos atômicos, os quais apresentam uma distância de 0.33 nm, indicado pela seta I. Entretanto, na região indicada pela seta II, há a presença de um defeito de Frenkel, um defeito cristalino em que uma vacância e um átomo intersticial são criados.⁸⁰

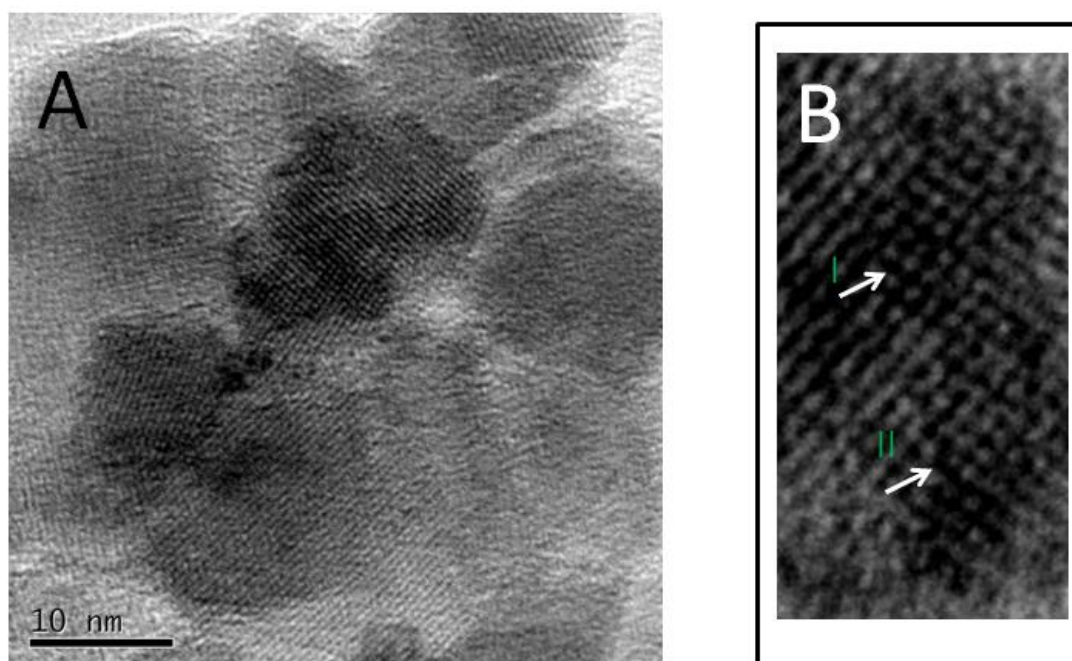


Figura 24. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão da amostra C-NiFe₂O₄ (A). Imagem ampliada de uma região da Figura 24 A, onde as setas identificam a presença de planos atômicos, assim como os arranjos dos átomos (B).

Na imagem da Figura 25 foram indicadas as distâncias dos planos atômicos de 0,46 nm, 0,41 nm, 0,33 nm, sendo que este último corresponde ao plano (111) da ferrita de níquel. Além disso, também foi observado o ângulo de 117° presente entre duas faces da nanopartícula. Assim, a imagem mostra algumas faces bem definidas enquanto outras apresentam defeito de superfície.

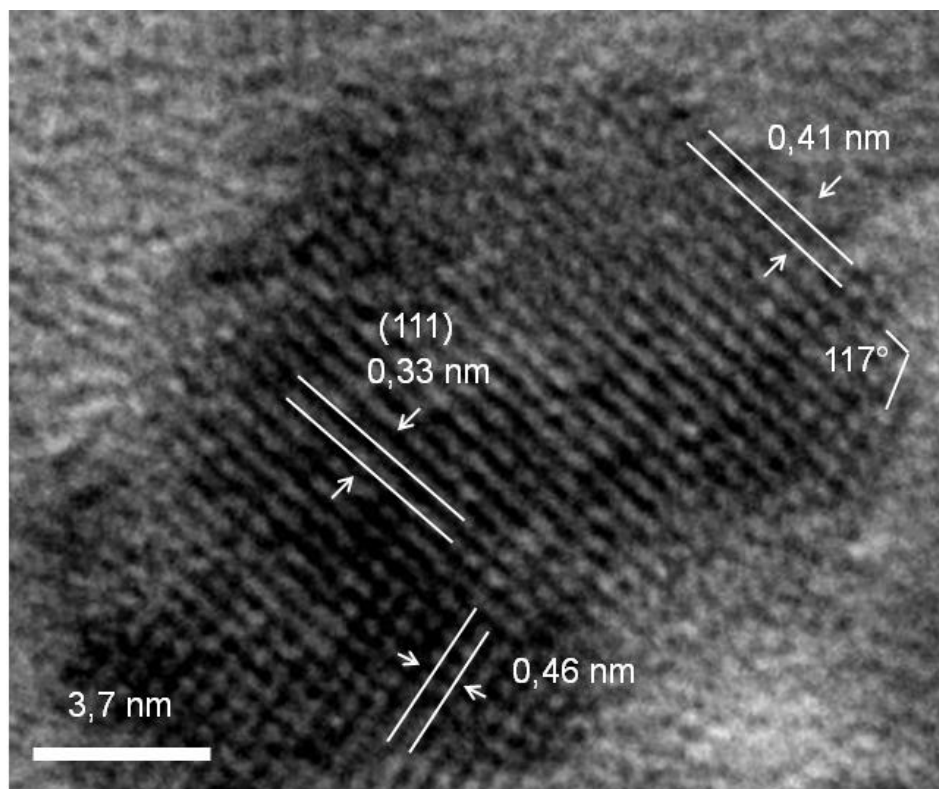


Figura 25. Imagem ampliada de microscopia eletrônica de alta resolução de uma nanopartícula da amostra C-NiFe₂O₄.

4.2.4 ANÁLISE DE SUSCETIBILIDADE MAGNÉTICA

Para fins de comparação a análise de suscetibilidade magnética das duas amostras sintetizadas neste trabalho, NiFe_2O_4 e $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$, serão mostradas nesta seção. A Figura 26 mostra as curvas de magnetização (também conhecidas como curvas BH ou curvas de histerese). Essa curva relaciona a indução magnética (M) com a intensidade do campo magnético (H), e mostra um comportamento de histerese, em que a medição dos *loops* possibilita determinar alguns parâmetros magnéticos, como magnetização de saturação (M_s), coercitividade (H_c) e magnetização remanescente (M_r). Os resultados são apresentados na Tabela VIII juntamente com os dados reportados na literatura para nanopartículas de NiFe_2O_4 sintetizadas através de diferentes métodos.

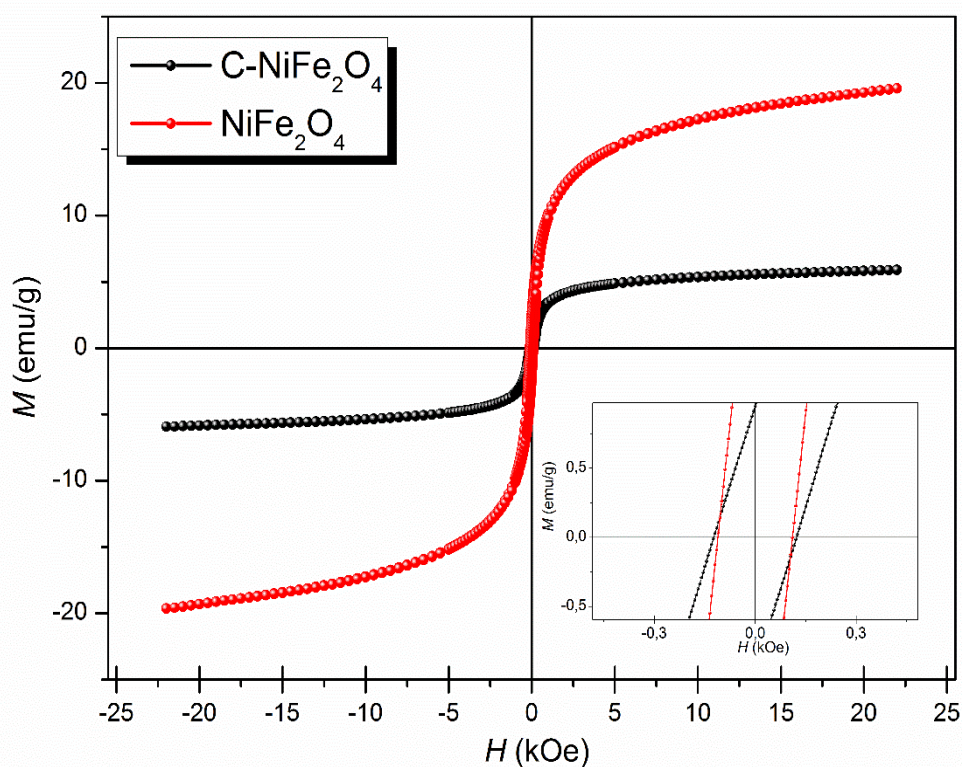


Figura 26. Curvas de histerese do $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$ e NiFe_2O_4 medidas à temperatura ambiente, com inserção da região central ampliada.

Os resultados mostram que NiFe_2O_4 e $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$ apresentam um comportamento ferromagnético. Os menores valores de M_s e M_r observados para $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$ podem ser devido as nanopartículas estarem dispersas em materiais carbonáceos não magnéticos.⁸³ Já os valores de M_r/M_s e H_c são semelhantes para o NiFe_2O_4 e $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$, embora este último tenha maior

quantidade de carbono. A relação de proporção de quadratura (M_r/M_s) inferior a 0,5 significa que não há partículas isoladas orientadas e também indica que ambos os materiais são ferromagnéticos moles, apresentando esta propriedade semelhante apesar de C-NiFe₂O₄ possuir valores menores de M_r e M_s .

O NiFe₂O₄ apresenta valores de M_s e M_r ligeiramente menores que os reportados na literatura. Fatores tais como tamanho, impurezas, rugosidade, rachaduras, deformação superficial, anisotropia de cristal, podem acarretar na diminuição dos valores de magnetização de saturação e magnetização remanescente.⁷⁶ Dessa forma, quando os resultados de NiFe₂O₄ são comparados com os materiais sintetizados em outros trabalhos, os valores menores para M_s e M_r são atribuídos ao menor tamanho de cristalito. Por outro lado, o valor de H_c tem a mesma ordem de grandeza que os trabalhos citados. Geralmente a coercividade diminui com o aumento de tamanho do cristalito, visto que cristalitos maiores tendem a apresentar mais domínios magnéticos para reduzirem a energia de magnetização. Porém, a anisotropia dos cristais e a presença de cátions substituintes não magnéticos também pode afetar esta propriedade, fatores que explicam alguns desvios na tendência destes valores.

Tabela VIII. Comparação de valores da literatura com as amostras sintetizadas neste estudo para a magnetização de saturação, magnetização remanescente e coercitividade.

Método de síntese	M_r (emu/g)	M_s (emu/g)	M_r/M_s	H_c (Oe)	Tamanho do cristalito (nm)	Referência
Hidrotérmico	0.066	45.1	1.4×10^{-3}	0.10	9	84
Hidrotérmico	13	24	0,54	330	27-30	83
Clara de ovo	6,4	26,6	0,24	139	20-40	76
Clara de ovo	~ 15*	26.4	--	246	< 60	25
NiFe ₂ O ₄	2,42	19,9	0,12	220	16,5	Neste trabalho
C-NiFe ₂ O ₄	0,96	6,3	0,15	245	20	

* calculado a partir da referência 25.

4.3 DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE ÁCIDO ASCÓRBICO UTILIZANDO C-NiFe₂O₄

4.3.1 PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO SENSOR

As NPs de C-NiFe₂O₄ podem ser utilizadas como sensor colorimétrico para quantificar ácido ascórbico. As reações químicas envolvidas na detecção colorimétrica de ácido ascórbico são descritas nas Figuras 27 e 29, onde primeiramente é levada a cabo a reação de oxidação do TMB em meio ácido na presença do C-NiFe₂O₄, em que ocorre a formação de um complexo de transferência de carga (TMB_{OX}) que dá coloração azul a solução, como pode ser visto na Figura 28, onde são mostrados os espectros de absorção do TMB na presença e na ausência de C-NiFe₂O₄ e as respectivas fotografias das soluções.

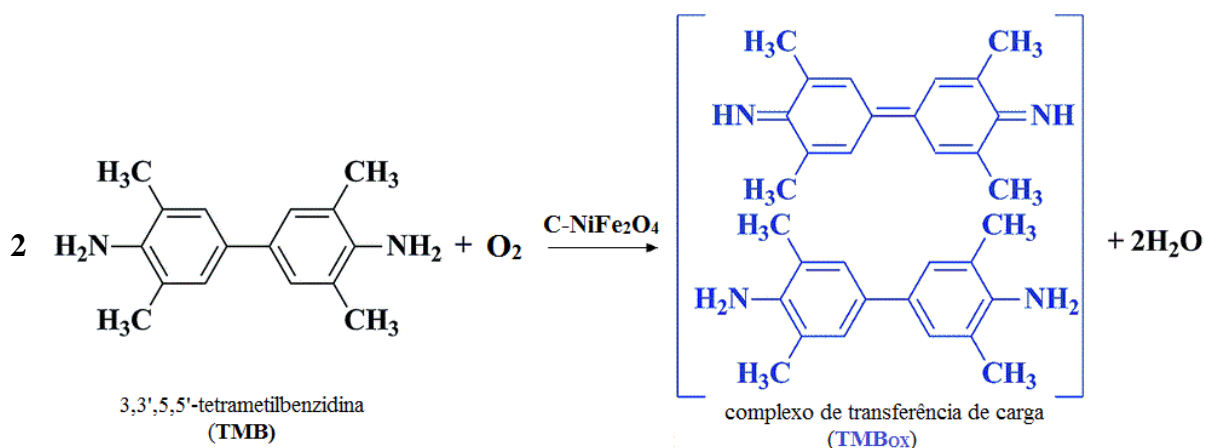


Figura 27. Reação de oxidação do TMB na presença de C-NiFe₂O₄.

Na sequência é adicionado o AA, que por ser um forte agente redutor, irá reduzir o TMB_{OX}, voltando a TMB, sua forma incolor. Dessa forma, a atenuação da intensidade da coloração guarda relação com a concentração do ácido ascórbico. A absorbância é monitorada no espectrofotômetro a 653 nm.

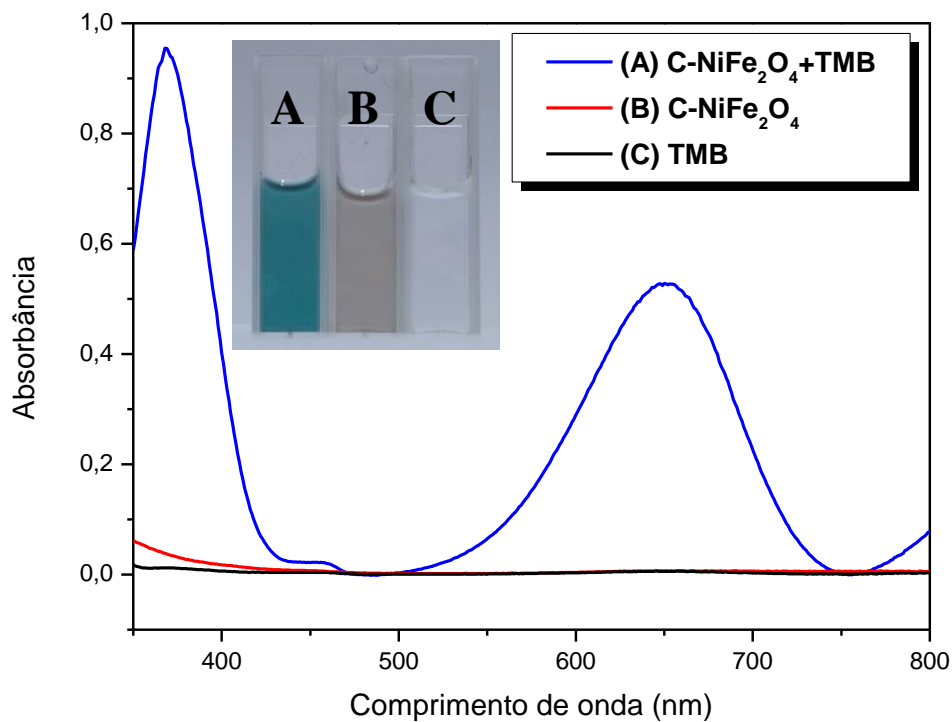


Figura 28. Espectros de absorção e fotografia inserida mostrando a variação da coloração dos diferentes sistemas envolvidos nos testes colorimétricos em solução tampão HOAc/NaOAc pH 3,5: (A) C-NiFe₂O₄+TMB, (B) C-NiFe₂O₄, (C) TMB.

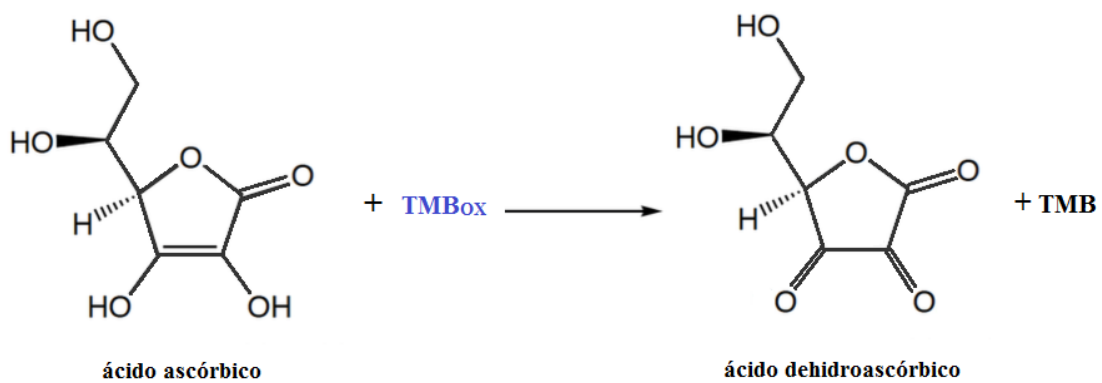


Figura 29. Redução do TMB_{ox} por ação do ácido ascórbico.

Cabe destacar que não foi necessária a adição de H₂O₂, reagente comumente utilizado na oxidação do TMB, e cuja abordagem já fora publicado em outros trabalhos.⁵⁰⁻⁵⁶

4.3.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE REAÇÃO

Como já mencionado no capítulo 3, foi necessário realizar a otimização de alguns parâmetros, para determinar quais são as condições de reação mais favoráveis em termos de estabilidade e sensibilidade. Os parâmetros otimizados foram pH, temperatura, tempo de reação, concentração de TMB e concentração do material. Cada parâmetro foi analisado separadamente, mantendo todos os outros fixos, e os experimentos foram realizados na ordem descrita acima. A definição das condições iniciais de reação foi baseada nos reportes de Ya-lei Dong *et al.*⁸⁵ e Yanzhou Jiang *et al.*⁵⁵, sendo elas: 40°C, 15 min de reação, 0,6 mM de TMB e 0,33 mg/mL de NPs.

— **Influência da variação do pH:** Os experimentos foram realizados em solução tampão HOAc/NaOAc 0,2 M, ajustando o valor de pH para 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 e 5,0. Como pode ser observado na Figura 30, quanto mais ácido o pH, maior o valor da absorbância, evidenciando uma tendência para esta reação, que é a de ser favorável em meios mais ácidos. Com pH 3, o valor da absorbância foi de 0,549, enquanto que em pH 3,5 decaiu para 0,360 e em pH 4 para 0,274. Em pH 4,5 e 5 os valores de absorbância foram muito baixos, 0,121 e 0,039 respectivamente, e assim esses pHs foram descartados de qualquer possibilidade de utilização.

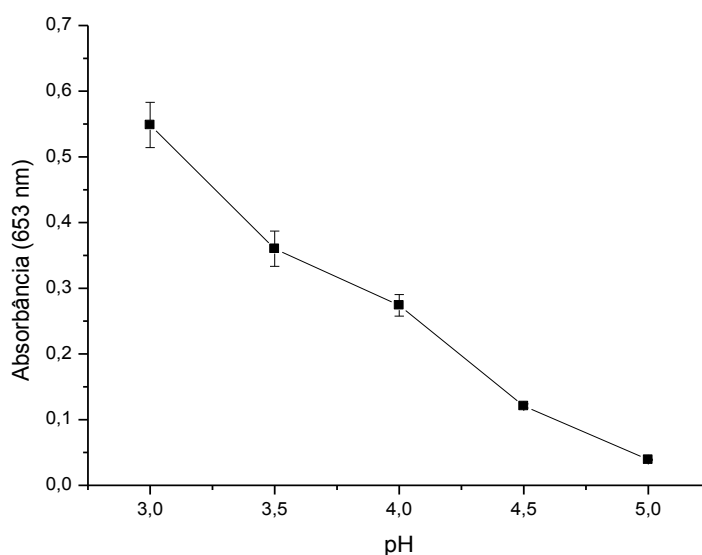


Figura 30. Gráfico de absorbância em função do pH. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão.

Outro fator determinante na escolha do pH é a quantidade de ferro que pode ser lixiviado das nanopartículas durante o experimento.^{36,85,86} Assim, o teor de ferro dissolvido foi determinado após deixar o material em solução de tampão HOAc/NaOAc de pHs 3; 3,5 e 4, durante 15 min a 40°C. Para garantir uma boa separação do material foi realizada uma centrifugação a 10000 rpm. As medidas foram realizadas utilizando espectrômetro de absorção atômica com chama. As porcentagens de ferro lixiviados do material são apresentadas na Figura 31. O valor de 5,76 %, encontrado para o pH = 3, foi considerado alto, então esse pH foi descartado. De acordo com o resultado deste experimento, a melhor opção seria o pH = 4, que apresentou a quantidade de 3,39 % de íons Fe, contra 4,76% para pH = 3,5. No entanto, dada a maior sensibilidade observada para pH= 3,5, Abs = 0,360, versus Abs = 0,274 para pH = 4, o valor de 4,76% de íons Fe lixiviados foi considerado tolerável. Dessa maneira, o pH = 3,5 foi escolhido como a condição ideal para os testes colorimétricos.

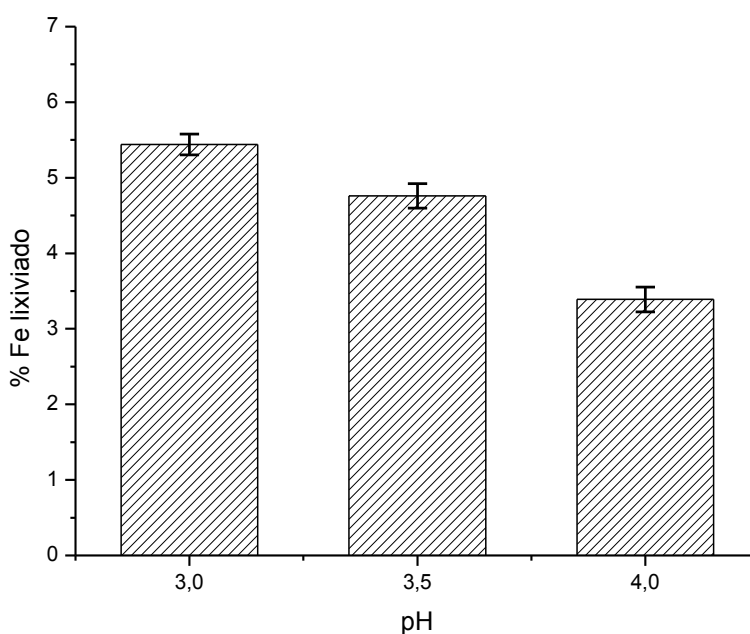


Figura 31. Percentual de íons Fe lixiviados em função do pH. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão.

— **Influência da variação da temperatura:** A temperatura foi considerada outro fator de suma importância para os resultados e, por esse motivo, foi otimizada logo após o pH. Foram avaliadas temperaturas entre 25°C e 50°C, com incrementos de 5°C. Os experimentos foram realizados fixando o pH da solução a 3,5. Como pode ser visualizado na Figura 32, houve um

ligeiro aumento da absorvância até atingir 40°C, onde se manteve estável até 45°C, diminuindo drasticamente a 50°C. Devido a tendência apresentada pelos resultados e pelo interesse em estabelecer condições que acarretassem menor consumo de energia não foram avaliadas temperaturas superiores a 50°C. Embora o valor da absorvância a 40°C não fosse significativamente maior que a 25°C, 30°C e 35°C, os desvios padrões nessas temperaturas foram relativamente maiores, o que poderia afetar a repetibilidade dos resultados. Assim, os resultados mostraram que 40°C é a temperatura ótima por apresentar o maior valor de absorvância e menor desvio padrão.

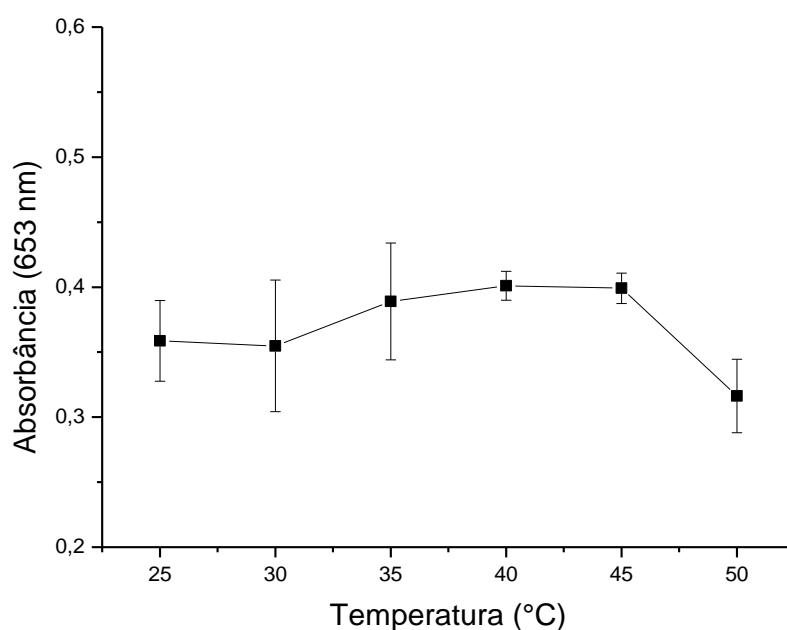


Figura 32. Gráfico de absorvância em função da Temperatura. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão.

— **Influência da variação do tempo:** O tempo de reação foi avaliado entre 5 e 30 min, com incrementos de 5 min. Os experimentos foram realizados fixando o pH da solução em 3,5 e a temperatura a 40°C. Como mostra a Figura 33, a reação apresentou uma reta ascendente até atingir o seu máximo em 15 min e, depois disso, apresentou um comportamento mais ou menos estável. Em virtude disso, 15 min foi determinado como o tempo de reação ideal.

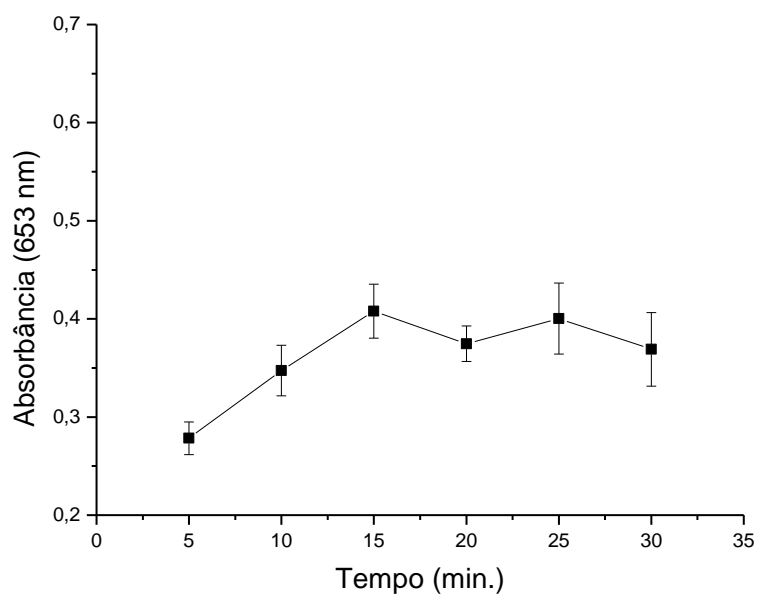


Figura 33. Gráfico de absorvância em função do tempo de reação. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão.

— **Influência da concentração de TMB:** A influência da concentração de TMB foi avaliada no intervalo entre 0,1 mM e 1,0 mM. Conforme mostrado na Figura 34, houve um incremento da absorvância até o valor de 0,6 mM, com poucas variações nas concentrações maiores. Embora o valor máximo de absorvância fosse observado a 1,0 mM, o desvio padrão foi maior, indicando menor repetibilidade entre as medidas. Dessa maneira, 0,6 mM foi escolhida como a concentração ótima de TMB.

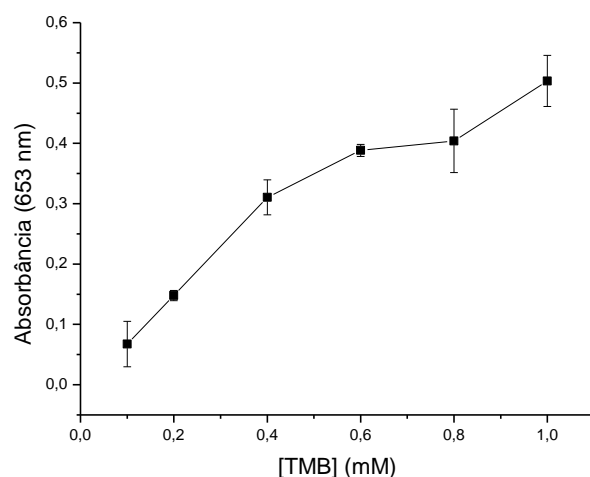


Figura 34. Gráfico de absorvância em função da concentração de TMB. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão.

— **Influência da concentração de C-NiFe₂O₄:** A concentração das nanopartículas foi avaliada utilizando valores entre 0,05 mg/mL e 0,33 mg/mL. De acordo com a Figura 35 houve um aumento proporcional da absorvância com o aumento da concentração de C-NiFe₂O₄ até atingir um patamar. Visto que 0,33 mg/mL apresentou o maior valor de absorvância e teve um baixo desvio padrão, foi escolhida como a concentração ótima de material. Esta concentração é a mesma que vem sendo utilizada nos experimentos anteriores (1 mg de NPs para um volume total de reação de 3 mL).

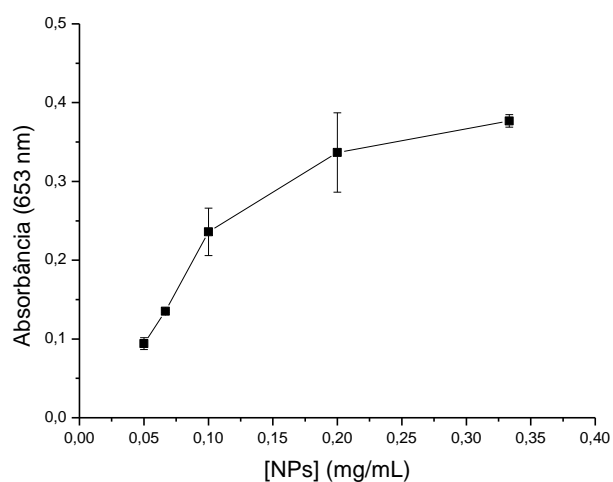


Figura 35. Gráfico de absorvância em função da concentração de nanopartículas. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão.

Adicionalmente, foi observado que agitando o tubo de ensaio por mais tempo após adicionar os reagentes era possível melhorar de maneira significativa a intensidade da coloração sem alterar qualquer outro parâmetro já otimizado. Nos experimentos anteriores era realizada uma pequena agitação (cerca de 5 s) do tubo de ensaio antes de colocá-lo no banho termostático. Aqui, o tubo foi agitado por 30 s antes de ser colocado sob aquecimento, e isso acarretou em um aumento de 0,120 no valor médio de absorbância (de 0,377 para 0,497), conforme mostrado na Figura 36. Este aumento ocorre devido ao maior choque entre as moléculas provocado pela agitação e pela melhor distribuição do material C-NiFe₂O₄ no meio reacional.

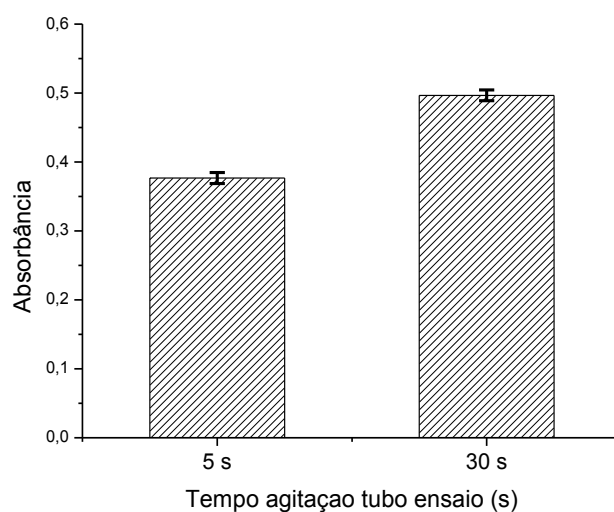


Figura 36. Comparativo da intensidade da absorbância com 5 e 30 segundos de agitação. Os valores representam a média de 3 medições e as barras de erro representam o desvio padrão.

As condições otimizadas para realizar os experimentos colorimétricos são apresentadas na Tabela IX.

Tabela IX. Condições de reação otimizadas

Parâmetros	Condições otimizadas
pH	3,5
Temperatura (°C)	40
tempo de reação (min)	15
[TMB] (mM)	0,6
[NPs] (mg/mL)	0,33

4.3.3 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Para a quantificação do ácido ascórbico foi monitorada a variação da intensidade do TMB_{ox} em 653 nm, com a variação da concentração de AA. Visando determinar a faixa dinâmica linear, o experimento foi realizado nas concentrações de 1 μM , 2 μM , 5 μM , 10 μM , 15 μM , 20 μM , 25 μM e 30 μM . A Figura 37 mostra os respectivos espectros de absorção e o gráfico da absorbância em função da concentração de AA. É possível observar que a partir de 25 μM o sinal do TMB_{ox} desaparece completamente.

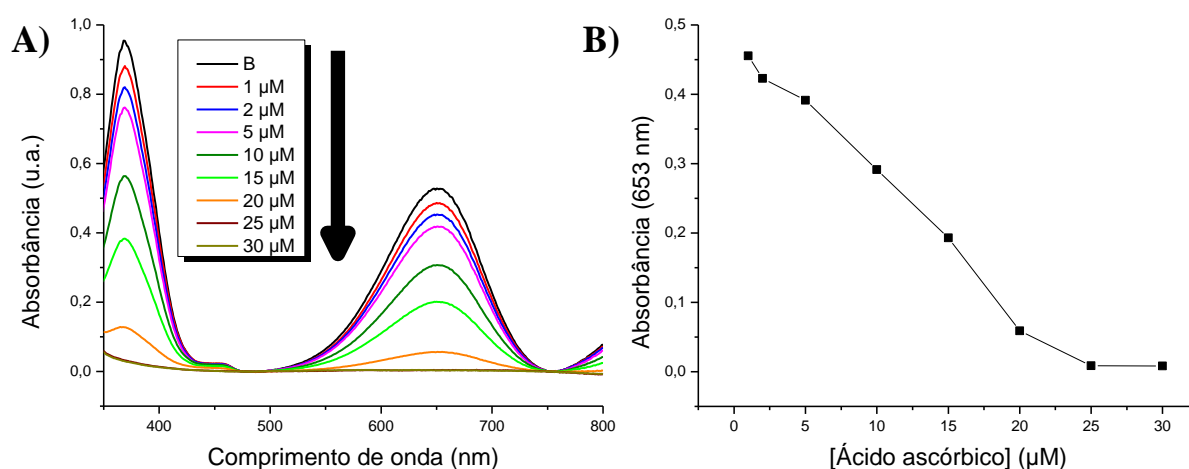


Figura 37. (A) Espectros de absorção do TMB_{ox} a diferentes concentrações de AA. (B) Gráfico da absorbância em função da concentração de AA.

Na construção da curva analítica foi utilizada a variação da absorbância em função da concentração de AA ($A_0 - A$), onde A_0 e A são as absorbâncias na ausência e na presença de AA, respectivamente. A Figura 38 (A) mostra a curva analítica com um coeficiente de determinação, R^2 , de 0,988 na faixa linear entre 1 μM e 20 μM . O limite de detecção (LD) foi calculado utilizando o desvio padrão das medições de 5 amostras do branco, para um nível de confiança de 98% (Eq. 9), e o valor obtido foi de 0,93 μM . O coeficiente de variação de três medidas individuais foi de 3,5 %, mostrando que o método apresenta boa repetibilidade.

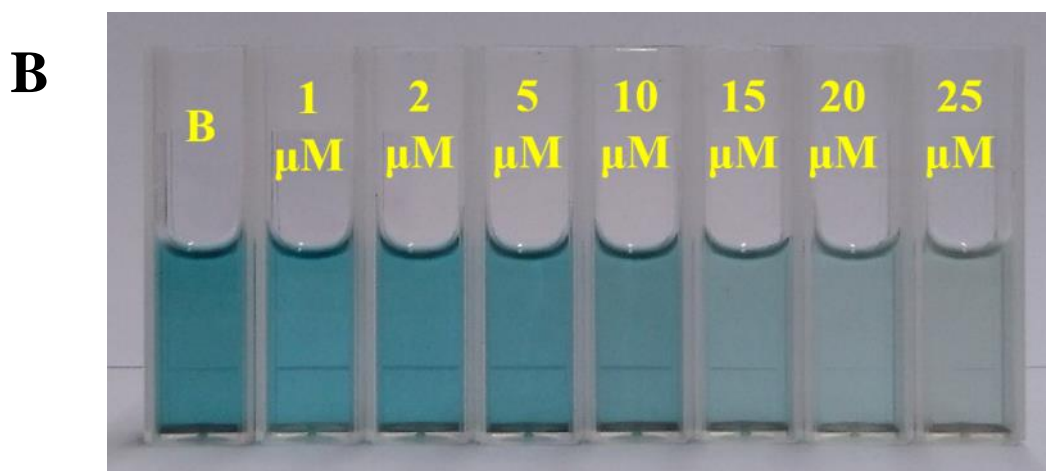
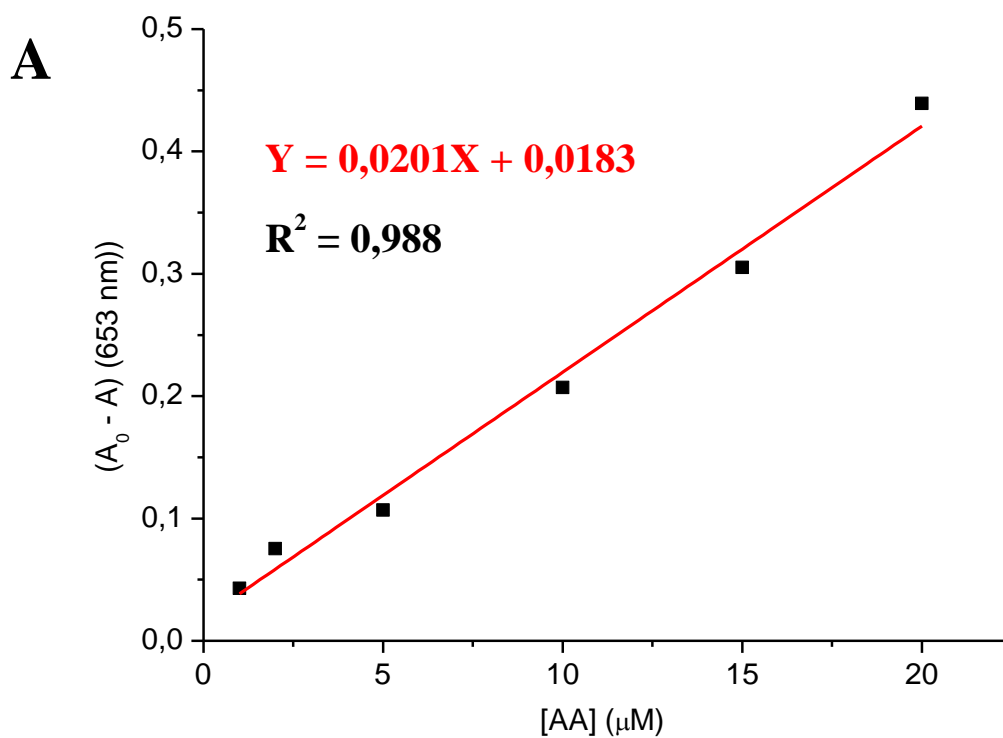


Figura 38. (A) Curva analítica para o ácido ascórbico. (B) Foto mostrando a variação da coloração das suspensões de acordo com a [AA]. B=Branco.

A Tabela X apresenta um comparativo do desempenho analítico do C-NiFe₂O₄ (faixa linear e LD) com outros materiais publicados nos últimos anos, todas referindo-se ao método colorimétrico para determinação de AA. Os resultados obtidos neste trabalho mostram que C-NiFe₂O₄ apresenta LD menor que a maioria dos resultados reportados na literatura. Além disso, a faixa linear mostra que o sensor desenvolvido neste trabalho apresenta como vantagem a

possibilidade de ser utilizado para concentrações significativamente menores e, os trabalhos que apresentam este mesmo propósito, como a Ref. 49, apresenta faixa linear menos ampla.

Tabela X. Comparação da faixa linear e LD do ácido ascórbico.

Material	Faixa linear (μM)	LD (μM)	Referência	Ano
Au NPs-ssDNA	1-15	0,3	49	2012
MIL-53 (Fe)	28,6-190,5	15	50	2013
MIL-68/MIL-100	30-485	6	51	2014
PSS-rGO	0,8-60	0,15	52	2016
$\text{Co}_3\text{O}_4/\text{CGM}$	30-140	0,19	53	2017
Cu-Ag/rGO	5-30	3,6	56	2017
C-NiFe ₂ O ₄	1-20	0,93	Este trabalho	2018

Para avaliar a seletividade desta metodologia, foram testados alguns interferentes, sendo eles: ácido úrico (AU), NaCl, KCl, glicose (Glu), dopamina (DA) e a mistura de todos estes reagentes. A concentração final de todos os interferentes testados foi de 30 μM e os resultados são mostrados na Figura 39. O AU e NaCl provocaram um pequeno aumento na absorbância, de 9% e 3% respectivamente. Já o KCl, Glu e DA provocaram uma pequena diminuição na absorbância, de 4%, 5% e 6% respectivamente e, somente quando foram adicionados todos os reagentes supracitados houve uma diminuição maior na absorbância, em torno de 11%. Porém, nenhum destes resultados apresentou significativa variação na absorbância e na coloração da suspensão quando comparado com o AA e, dessa forma, ficou evidente que o método é seletivo para este analito.

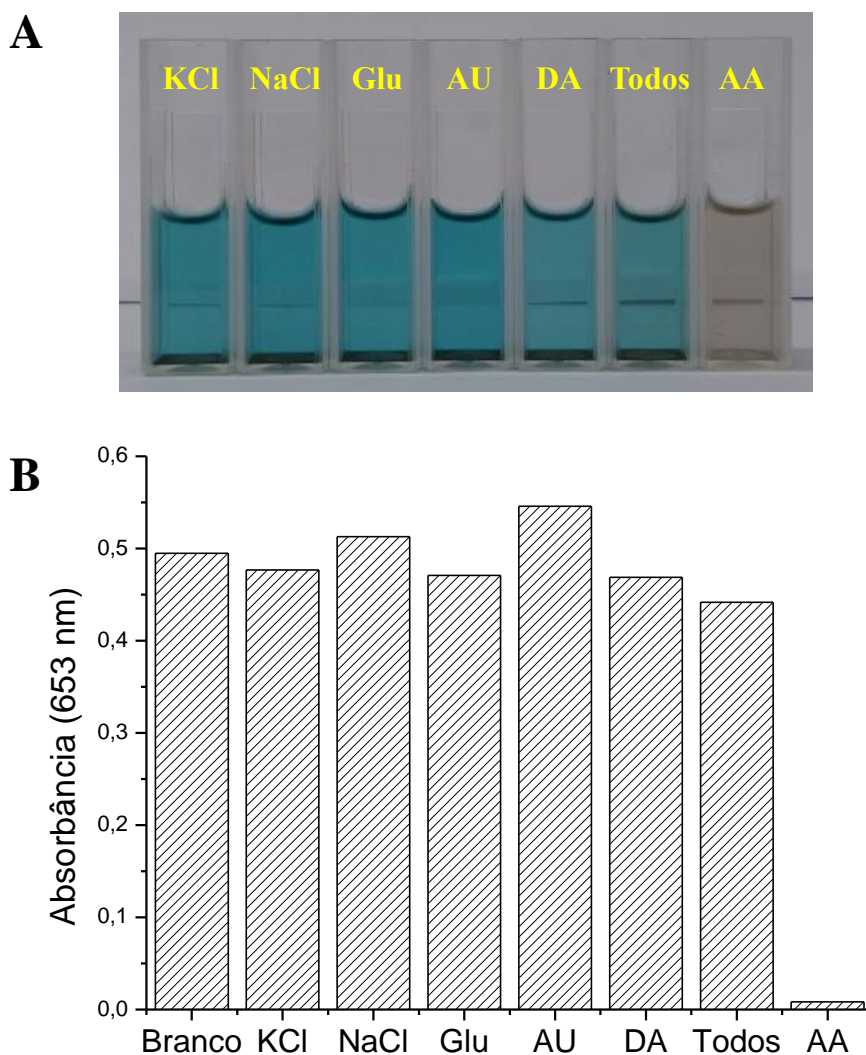


Figura 39. (A) Fotografia das soluções de TMB_{ox} na presença dos possíveis interferentes. (B) Intensidade da absorbância na presença de KCl, NaCl, Glu, DA, a mistura dos mesmos e AA.

Com o intuito de verificar a eficácia desta metodologia para quantificar AA em amostras reais, foram realizados testes com dois suplementos de vitamina C disponíveis no mercado. Em específico, o teste foi realizado com um comprimido que continha 1 g de AA e uma solução com a concentração de 200 mg/mL de AA, valores estes informados no rótulo dos produtos pelos respectivos fabricantes. Inicialmente houve a tentativa de realização do teste sem a utilização de calibração externa, porém ocorreu efeito de matriz. Assim, para manter um efeito da matriz constante nas medidas foi utilizado o método de adição de padrão. Na Figura 40 são apresentados os gráficos da absorbância em função da concentração de AA. O valor da

absorbância em $[AA] = 0$ corresponde a solução da amostra cuja concentração é determinada por extrapolação, fazendo $y = 0$ na equação da reta e tomando o módulo de X.

Na Tabela XI são mostrados os resultados, os valores encontrados representam 108% e 92% do valor informado pelo fabricante, para o comprimido e para a solução respectivamente. A Farmacopeia Brasileira⁸⁷, norma que estabelece os requisitos mínimos de qualidade de fármacos no Brasil, exige uma quantidade na faixa de 90%-110% em relação ao valor declarado. Os valores não foram comparados com outro método devido a indisponibilidade de alguns reagentes e o pouco tempo para adquiri-los antes do término deste estudo.

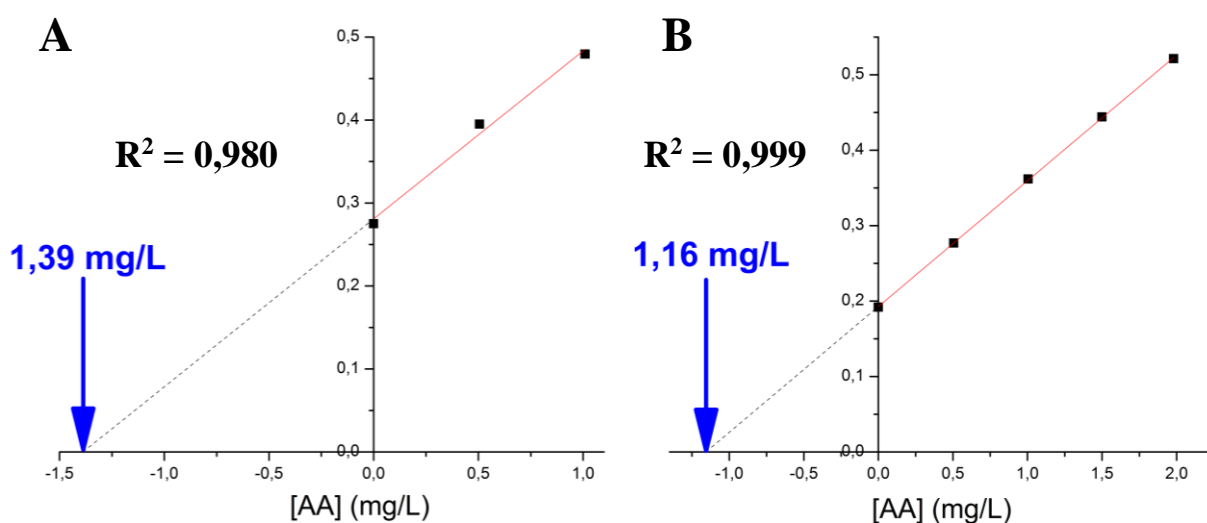


Figura 40. Curva analítica de adição de padrão para: A) amostra de comprimido de vitamina C. B) solução de vitamina C. As linhas pontilhadas mostram a interpolação da reta até o intercepto com o eixo X.

Tabela XI. Resultados da determinação de AA em suplementos de vitamina C

Amostra	Quantidade de AA*	Quantidade de AA detectada	Porcentagem de AA encontrada (%)
Comprimido	1,00 g	1,08 g	108
Solução	200 mg/mL	184 mg/mL	92

*concentração informada no rótulo pelo fabricante.

4.4 DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO UTILIZANDO NiFe_2O_4

As nanopartículas de NiFe_2O_4 , obtidas a partir da calcinação de C- NiFe_2O_4 , foi utilizada na detecção colorimétrica de peróxido de hidrogênio. Diferentemente do C- NiFe_2O_4 , o material após calcinação não oxida o TMB, mas sim catalisa a sua reação com peróxido de hidrogênio, como pode ser visto na Figura 41, (A) versus (B).

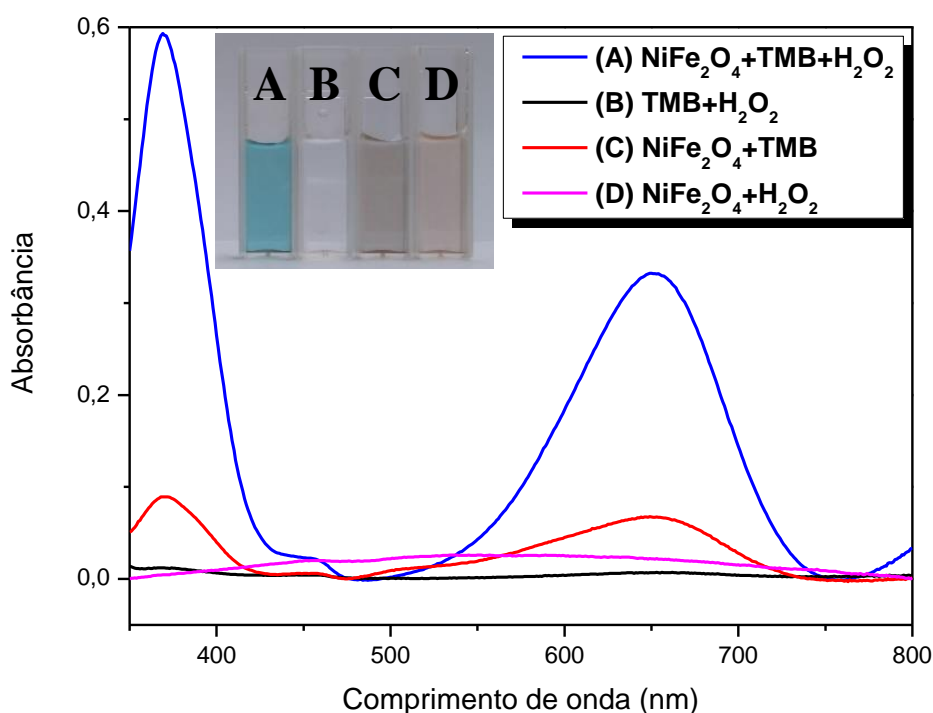


Figura 41. Espectros de absorção e fotografia inserida mostrando a variação da coloração dos diferentes sistemas envolvidos nos testes colorimétricos em solução tampão HOAc/NaOAc pH 3,5: (A) $\text{NiFe}_2\text{O}_4 + \text{TMB} + \text{H}_2\text{O}_2$, (B) $\text{TMB} + \text{H}_2\text{O}_2$, (C) $\text{NiFe}_2\text{O}_4 + \text{TMB}$, (D) $\text{NiFe}_2\text{O}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$.

NiFe_2O_4 demonstrou ter atividade catalítica semelhante à das peroxidases naturais e, dessa forma, oxida o TMB na presença de H_2O_2 , formando o TMB_{OX} que, como já foi mencionado, dá coloração azul a solução. Assim, foi desenvolvido um sensor colorimétrico para o H_2O_2 , visto que a intensidade da cor da solução é proporcional a quantidade de analito adicionada.

Para investigar a faixa linear e construir a curva de calibração foram utilizadas concentrações de H_2O_2 entre $2,28 \mu\text{M}$ e $285,50 \mu\text{M}$. A Figura 42 (A) exibe as fotos das soluções nas cubetas mostrando a variação da intensidade da coloração em função da concentração de peróxido de hidrogênio e na Figura 42 (B) os seus respectivos espectros de absorção.

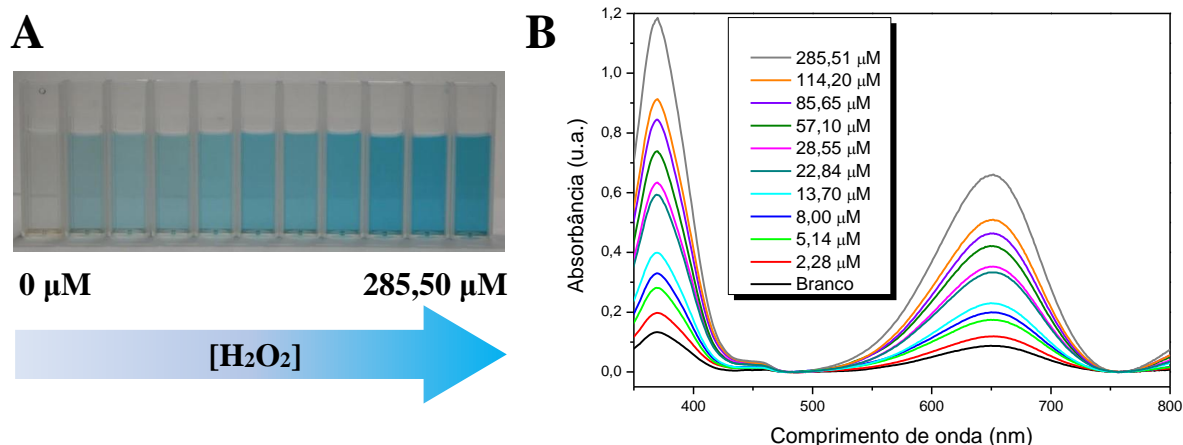


Figura 42. (A) Foto mostrando a variação da intensidade da coloração em função da concentração de H_2O_2 . (B) Espectros de absorção a diferentes concentrações de H_2O_2 .

Nas concentrações investigadas foi possível constatar a tendência de duas regiões lineares, ver Figura 43. Dessa forma, foram construídas duas curvas de calibração: a primeira na faixa de $2,28 \mu\text{M}$ - $28,60 \mu\text{M}$, com a equação da reta sendo $Y = 0,0080X + 0,0326$ e $R^2 = 0,966$, e a segunda na faixa de $28,60 \mu\text{M}$ - $114,20 \mu\text{M}$ com equação da reta $Y = 0,0016X + 0,2114$ e $R^2 = 0,970$. As duas curvas analíticas apresentaram uma boa correlação linear, porém a primeira região ficou com uma faixa de concentração menor em relação a segunda. A segunda faixa pode ser utilizada para concentrações um pouco maiores, embora seja notável que sua sensibilidade ficou bem menor que a primeira. O limite de detecção foi calculado utilizando as medições de 5 brancos ($\sigma = 0,00518$) e com os dados da primeira faixa linear, obtendo-se como resultado o valor de $1,94 \mu\text{M}$ para um nível de confiança de 98%. A repetibilidade foi avaliada com a concentração de $13,70 \mu\text{M}$ ($n=3$), obtendo como resultado um coeficiente de variação de 4%.

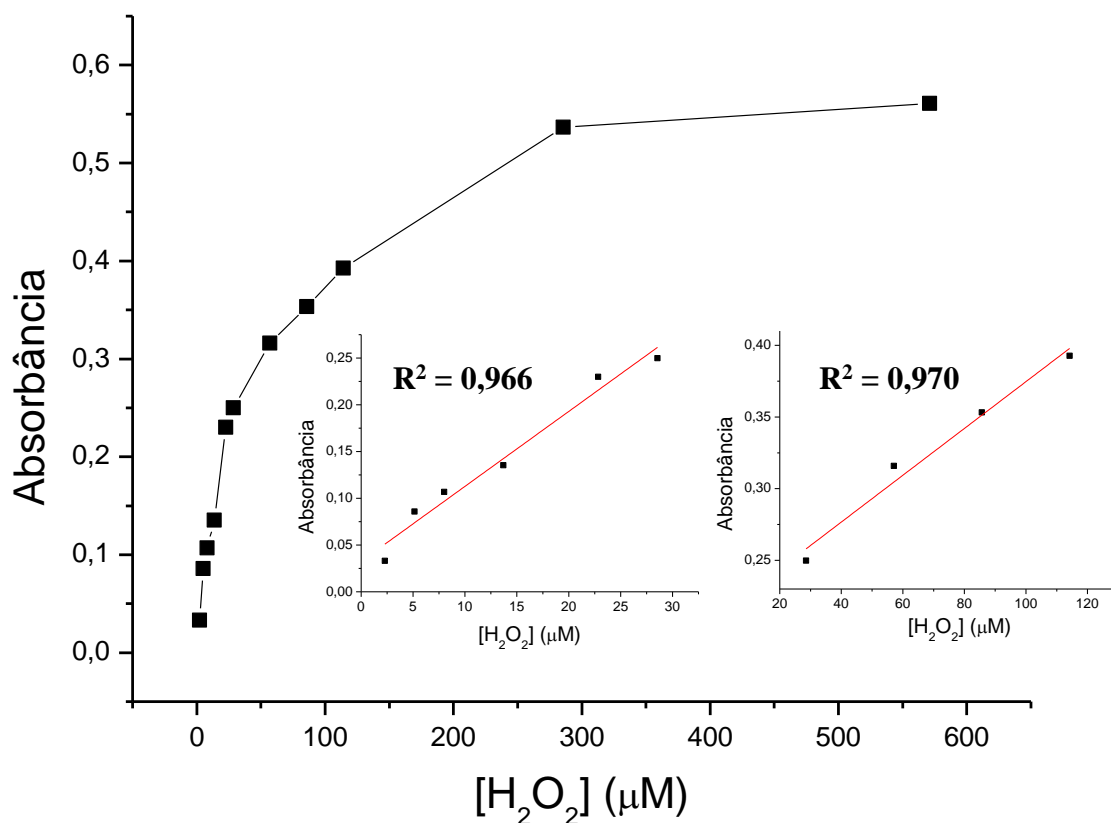


Figura 43. Absorbância em função da concentração de H₂O₂ e as duas faixas de relação linear: 2,28 µM-28,60 µM e 28,60 µM-114,20 µM.

A Tabela XII apresenta a comparação dos dados de calibração analítica com outros trabalhos publicados nos últimos anos, referindo-se a testes colorimétricos utilizando diferentes materiais como catalisadores. Observando os dados, os valores deste trabalho estão na média no que se refere a limite de detecção, pois alguns resultados são melhores, como o das Ref. 50, 51 e 53. Por outro lado, com o sensor desenvolvido neste trabalho é possível quantificar concentrações menores do que as Ref. 51, 88 e 89. Com respeito a faixa dinâmica linear, os resultados deste trabalho apresentam uma faixa um pouco menor em relação a outros resultados apresentados aqui, mas sendo o único a possuir dois diferentes comportamentos, com duas faixas lineares em diferentes concentrações. Desta forma, os resultados mostram que a NiFe₂O₄ pode ser aplicada na detecção de H₂O₂, apresentando ótimo desempenho em um teste colorimétrico rápido e simples.

Tabela XII. Comparação da faixa linear e LD do peróxido de hidrogênio.

Material	Faixa linear (μM)	LD (μM)	Referência	Ano
MIL-53 (Fe)	0,95-480	0,13	50	2013
MIL-68/MIL-100	3-40	0,256	51	2014
H ₂ TCPP-NiO	20-100	8,0	88	2015
Co ₃ O ₄ /CGM	1-500	1,0	53	2017
H ₂ TCPP-CeO ₂ NPs	10-100	1,8	89	2017
NiFe ₂ O ₄	2,28-28,60/ 28,60-114,20	1,94	Este trabalho	2018

CONCLUSÃO

Neste estudo foram sintetizados dois materiais diferentes com dimensão na ordem dos nanômetros, NiFe_2O_4 e $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$, utilizando variações da mesma rota sintética, a qual se mostrou simples, de fácil execução e ambientalmente amigável.

Ambos os materiais sintetizados apresentaram uma fase principal cúbica correspondente a ferrita de níquel, policristalinidade, certo grau de substituição atribuído a componentes da clara de ovo, homogeneidade na distribuição do tamanho das nanopartículas, morfologia próxima da esférica e comportamento ferromagnético. NiFe_2O_4 apresentou tamanho de cristalito de 16,5 nm enquanto $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$ apresentou um valor de 20 nm. Além disso, $\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$ possui 75% de materiais carbonáceos amorfos ou de baixa cristalinidade em sua composição, nos quais as nanopartículas estão dispersas.

$\text{C-NiFe}_2\text{O}_4$ oxidou o TMB sem a necessidade de adição de H_2O_2 , sendo utilizado em um sensor colorimétrico para detecção de ácido ascórbico. A calibração analítica revelou uma faixa linear entre 1-20 μM , com LD de 0,93 μM . Além disso, esta metodologia mostrou-se aplicável em amostras reais de comprimido e solução de vitamina C.

NiFe_2O_4 demonstrou atividade catalítica semelhante as peroxidases naturais, oxidando o TMB na presença de H_2O_2 e sendo utilizado em sua detecção. Na calibração analítica foram obtidas duas faixas lineares, uma entre 2,28-28,60 μM e outra entre 28,60-114,20 μM , com LD de 1,94 μM .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kova, M. N.; Donkova, B.; Romanova, J.; Tzvetkov, G.; Madurga, S.; Simeonova, V.; *Adv. Colloid. Interfac.* **2017**, 249, 192.
2. Šepelák, V.; Bergmann, I.; Feldhoff, A.; Heitjans, P.; Krumeich, F.; Menzel, D.; Litterst, F. J.; Campbell, S. J.; Becker, K. D.; *J. Phys. Chem. C.* **2007**, 111, 5026.
3. Cahn, R. W.; Haasen, P.; Kramer, E. J.; *Materials Science and Technology: A Comprehensive Treatment*; Wiley: Nova Iorque, 1994.
4. Walter, A.; Billotey, C.; Garofalo, A.; Ulhaq-Bouillet, C.; Lefèvre, C.; Taleb, J.; Laurent, S.; *Chem. Mater.*, **2014**, 26 (18), 5252.
5. Lee, N.; Yoo, D.; Ling, D.; Cho, M. H.; Hyeon, T.; Cheon, J.; *Chem. Rev.* **2015**, 115 (19), 10637.
6. Attia, Y.; Samer, M.; *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2017**, 79, 878.
7. Callister Jr., W. D.; Rethwisch, G. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*. 8. ed. LTC: Rio de Janeiro, 2012.
8. Shriver, D. F.; Atkins, P. W.; Overton, T. L.; Rourke, J. P.; Weller, M. T.; Armstrong, F. A.; *Química Inorgânica*; 4. ed. Bookman: São Paulo, 2008.
9. Taffa, D. H.; Dillert, R.; Ulpe, A. C.; Bauerfeind, K. C. L.; Bredow, T.; Bahnemann, D. W.; Wark, M.; *J. Photon. Energy.* **2016**, 7, 0120009.
10. Huheey, J. E.; *Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity*. 3. ed. Harper Collins: Nova Iorque, 1983.
11. Smart, L. E.; Moore, E. A.; *Solid State Chemistry: An Introduction*; 4. Ed. Boca Raton: CRC, 2012.
12. C. Pebley, A. C.; Peek, A.; Pollock, T. M.; Gordon, M. J.; *Chem. Mater.* **2014**, 26, 6026.
13. Carta, D.; Loche, D.; Mountjoy, G.; Navarra, G.; Corrias, A.; *J. Phys. Chem. C.* **2008**, 112, 15623.
14. Adireddy, S.; Carbo, C. E.; Yao, Y.; Vargas, J. M.; Spinu, L.; Wiley, J. B.; *Chem. Mater.* **2013**, 25, 3902.

15. Sato, T.; Sue, K.; Suzuki, W.; Suzuki, M.; Matsui, K.; Hakuta, Y.; Hayashi, H.; Kunio, A.; Shin-Ichiro, K.; Kawai-Nakamura, A.; Hiaki, T.; *Ind. Eng. Chem. Res.* **2008**, 47, 1855.
16. Shafi, K. V. P. M.; Kolytyn, Y.; Gedanken, A.; Prozorov, R.; Balogh, J.; Lendvai, J.; Felner, I.; *J. Phys. Chem. B.* **1997**, 101, 6409.
17. Chen, N.; Pan, Q.; *ACS Nano.* **2013**, 7, 6875.
18. Bao, N.; Shen, L.; Wang, Y.; Padhan, P.; Gupta, A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 12374.
19. Nilsen, M. H.; Nordhei, C.; Ramstad, A. L.; Nicholson, D. G.; Poliakoff, M.; Cabañas, A.; *J. Phys. Chem. C.* **2007**, 111, 6252.
20. Luo, H.; Yang, H.; Baily, S. A.; Ugurlu, O.; Jain, M.; Hawley, M. E.; McCleskey, T. M.; Burrell, A. K.; Bauer, E.; Civale, L.; Holesinger, T. G.; Jia, Q.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14132.
21. Maaz, K.; Karim, S.; Mumtaz, A.; Hasanain, S. K.; Liu, J.; Duan, J. L.; *J. Magn. Magn. Mater.* **2009**, 321, 1838.
22. Jia, X.; Chen, D.; Jiao, X.; He, T.; Wang, H.; Jiang, W.; *J. Phys. Chem. C.* **2008**, 112, 911.
23. Nyutu, E. K.; Conner, C. C.; Auerbach, S. M.; Chen, C.; Suib, S. L.; *J. Phys. Chem. C.* **2008**, 112, 1407.
24. Thakur, S.; Katyal, S. C.; Gupta, A.; Reddy, V. R.; Sharma, S. K.; Knobel, M.; Singh, M.; *J. Phys. Chem. C.* **2009**, 113, 20785.
25. Maensiri, S.; Masingboon, C.; Boonchom, B.; Seraphin, S.; *Scripta Mater.* **2007**, 56, 797.
26. Wang, L.; Li, Z.; Liang, Y.; Zhao, K.; *Adv. Powder Technol.* **2014**, 25, 1510.
27. Maensiri, S.; Masingboon, C.; Laokul, P.; Jareonboon, W.; Promarak, V.; Anderson, P. L.; Seraphin, S.; *Cryst. Growth Des.* **2007**, 7, 950.
28. Phumying, S.; Labauyai, S.; Chareonboon, W.; Phokha, S.; Maensiri, S.; *Jpn. J. Appl. Phys.* **2015**, 54, 06FJ13.
29. Masingboon, C.; Maensiri, S.; Yamwong, T.; Anderson, P. L.; Seraphin, S.; *J. Appl. Phys. A.* **2008**, 91, 87.
30. Baruwati, B.; Guin, D.; Manorama, S. V.; *Org. Lett.* **2007**, 9, 5377.
31. Lin, K.; Adhikari, A. K.; Tsai, Z.; Chen, Y.; Chien, T.; Tsai, H.; *Catal. Today.* **2011**, 174, 88.

32. Li, P.; Li, Z.; Zhai, F.; Wan, Q.; Li, X.; Qu, X.; Volinsky, A. A.; *J. Phys. Chem. C*. **2013**, 117, 25917.
33. Glover, T. G.; DeCoste, J. B.; Sabo, D.; Zhang, Z. J.; *Langmuir*. **2013**, 29, 5500.
34. Ensafi, A. A.; Jafari-Asl, M.; Rezaei, B.; Allafchian, A. R.; *Sensor. Actuat. B-Chem*. **2013**, 177, 634.
35. Patil, J. Y.; Nadargi, D. Y.; Gurav, J. L.; Mulla, I. S.; Suryavanshi, S. S.; *Mater. Lett.* **2014**, 124, 144.
36. Su, L.; Qin, W.; Zhang, H.; Rahman, Z. U.; Ren, C.; Ma, S.; Chen, X.; *Biosens. Bioelectron.* **2015**, 63, 384.
37. Nelson, D. L.; Cox, M. M.; *Princípios de Bioquímica de Lehninger*; 5. ed. Artmed: Porto Alegre, 2011.
38. ANVISA. *Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005: Regulamento Técnico Sobre a Ingestão Diária Recomendada (Idr) de Proteína, Vitaminas e Minerais*. <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3> (Acessado em 13/12/2017).
39. Jacob, R. A.; Sotoudeh, G.; *Nutr Clin Care*. **2002**, 5, 66.
40. Pisoschi, A. M.; Pop, A.; Serban, A. I.; Fafaneata, C.; *Electrochim. Acta*. **2014**, 121, 443.
41. Sheng, Z.; Zheng, X. Q.; Xu, J. Y.; Bao, W. J.; Wang, F. B.; Xia, X. H. *Biosens. Bioelectron.* **2012**, 34, 125.
42. Hernandez, Y.; Lobo, M. G.; Gonzalez, M.; *Food Chem*. **2006**, 96, 654.
43. Uchiyama, S.; Kobayashi, Y.; Suzuki, S.; Hamamoto, O.; *Anal. Chem.* **1991**, 63, 2259.
44. Rong, M. C.; Lin, L. P.; Song, X. H.; Wang, Y. R.; Zhong, Y. X.; Yan, J. W.; Feng, Y. F.; Zeng, X. Y.; Chen, X.; *Biosens. Bioelectron.* **2015**, 68, 210.
45. Mudabuka, B.; Ondigo, D.; Degni, S.; Vilakazi, S.; Torto, N.; *Microchim. Acta*. **2014**, 181, 395.
46. Nezhad, M. R. H.; Karimi, M. A.; Shahheydari, F.; *Sci. Iran. Trans. F*. **2010**, 17, 148.
47. Wang, G.; Chen, Z.; Chen, L.; *Nanoscale*. **2011**, 3, 1756.
48. Ferreira, D. C. M.; Giordano, G. F.; Soares, C. C. S.; Oliveira, J. F. A.; Mendes, R. K.; Piazzetta, M. H.; Gobbi, A. L.; Cardoso, M. B.; *Talanta*. **2015**, 141, 188.

49. Zhang, L.; Hu, B.; Wang, J. *Anal. Chim. Acta.* **2012**, 717, 127.
50. Ai, L.; Li, L.; Zhang, C.; Fu, J.; Jiang, J.; *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 15105.
51. Zhang, J.; Zhang, H.; Du, Z.; Wang, X.; Yu, S.; Jiang, H.; *Chem. Commun.* **2014**, 50, 1092.
52. Chen, J.; Ge, J.; Zhang, L.; Li, Z.; Li, J.; Sun, Y.; Qu, L.; *Microchim. Acta.* **2016**, 183, 1847.
53. Fana, S.; Zhaoa, M.; Dinga, L.; Lib, H.; Chen, S.; *Biosens. Bioelectron.* **2017**, 89, 846.
54. Chen, S.; Chi, M.; Yang, Z.; Gao, M.; Wang, C.; Lu, X.; *Inorg. Chem. Front.* **2017**, 4, 1621.
55. Jiang, Y.; Song, N.; Wang, C.; Pinna, N.; Lu., X.; *J. Mater. Chem. B.* **2017**, 5, 5499.
56. Darabdhara, G.; Sharma, B.; Das, M. R.; Boukherroub, R.; Szunerits, S.; *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2017**, 238, 842.
57. Gao, C.; Zhu, H.; Chen, J.; Qiu, H.; *Chinese Chem. Lett.* **2017**, 28, 1006.
58. Tan, H.; Ma, C.; Gao, L.; Li, Q.; Song, Y.; Xu, F.; Wang, T.; Wang, L.; *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 16377.
59. Dimitrijević, T.; Vulić, P.; Manojlović, D.; Nikolić, A. S.; Stanković, D. M.; *Anal. Biochem.* **2016**, 504, 20.
60. Escola Paulista de Medicina. *Composição da clara de ovo fresca de galinha.* <<http://tabnut.dis.epm.br/alimento/01124/ovo-galinha-clara-crua-fresco>> (Acessado em 21/01/2018).
61. R. Longo, F. R.; *Química general*; McGraw-Hill Interamericana: São Paulo, 1978.
62. Gabal, M. A.; Angari, Y. M. A.; *Mater. Chem. Phys.* **2009**, 118, 153.
63. Dyer, J. R.; *Aplicações da espectroscopia de absorção aos compostos orgânicos*; Edgard Blucher: São Paulo, 1965.
64. Gonçalves, I. G.; *Determinação da concentração de Contaminantes no Caolim através da Teoria de Kubelka-Munk*; Dissertação, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais, UFRGS, Porto Alegre, 2009.
65. Pankove, J. I.; *Optical Processes in Semiconductors*; Dover: Nova Iorque, 1975.
66. Dolgonos, A.; Mason, T. O.; Poeppelmeier, K. T.; *J. Solid State Chem.* **2016**, 240, 43.
67. Farina, M.; *Uma Introdução à Microscopia Eletrônica de Transmissão*; Livraria da Física: São Paulo, 2010.

68. Osorio, A. G.; Pereira, L. G.; Cunha, J. B. M.; Bergmann, C. P.; *Mater. Res. Bull.* **2013**, 48, 4168.
69. *Fiji Image J*, versão 1.48; National Institutes of Health: Rockville, EUA, 2014.
70. *Origin*, versão 8.5; OriginLab Corporation: Northampton, EUA, 2010.
71. Ferreira, M.; Raemy, H. A.; *J. Therm. Anal.* **1997**, 48, 683.
72. Wang, J.; Wang, C.; Chen, S.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 9297.
73. Maensiri, S.; Boonchon, B.; *J. Therm. Anal. Calorim.* **2009**, 98, 879.
74. Gabal, M. A.; Al Angari, Y. M.; *Mater. Chem. Phys.* **2009**, 115, 578.
75. Adhikari, R.; Sarkar, A.; Limaye, M. V.; Kulkarni, S. K.; Das, A. K.; *J. Appl. Phys.* **2012**, 111, 73903.
76. Gabal, M. A.; Al Angari, Y. M.; Zaki, H. M.; *J. Magn. Magn. Mater.* **2014**, 363, 6.
77. Dhara, S.; Pradhan, M.; Ghosh, D.; Bhargava, P.; *Adv. Appl. Ceram.* **2005**, 104, 9.
78. Tauc, J.; *Amorphous and Liquid Semiconductor*; Plenum: New York, 1974.
79. Meinert, M.; Reiss, G.; *J. Phys. Condens. Matter.* **2014**, 26, 115503.
80. Dileep, K.; Loukya, B.; Pachauri, N.; Gupta, A.; Datta, R.; *J. Appl. Phys.* **2014**, 116, 103505.
81. Nogueira, N. A. S.; Utuni, V. H. S.; Silva, Y. C.; Kiyohara, P. K.; Vasconcelos, I. F.; Miranda, M. A. R.; Sasaki, J. M.; *Mater. Chem. Phys.* **2015**, 163, 402.
82. Mahmoud, M. H.; Elshahawy, A. M.; Makhlof, S. A.; Hamdeh, H. H.; *J. Magn. Magn. Mater.* **2014**, 369, 55.
83. Khairy, M.; *Synthetic Met.* **2014**, 189, 34.
84. Naidu, K. C. B.; Madhuri, W.; *Bull. Mater. Sci.* **2017**, 40, 417.
85. Dong, Y.; Zhang, H.; Rahman, Z.; Su, L.; Chen, X.; Huab, J.; Chen, X. G.; *Nanoscale.* **2012**, 4, 3969.
86. Su, L.; Feng, J.; Zhou, X.; Ren, C.; Li, H.; Chen, X.; *Anal. Chem.* **2012**, 84, 5753.
87. Brasil; *Farmacopeia Brasileira*, 5. ed. Anvisa: Brasília, 2010; v. 2.
88. Liu, Q.; Yang, Y.; Li, H.; Zhu, R. R.; Shao, Q.; Yang, S.; Xu, J.; *Biosens. Bioelectron.* **2015**, 64, 147.

89. Liua, Q.; Yanga, Y.; Lvb, X.; Dinga, Y.; Zhanga, Y.; Jinga, J.; Xu, C.; *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2017**, 240, 726.

ANEXO

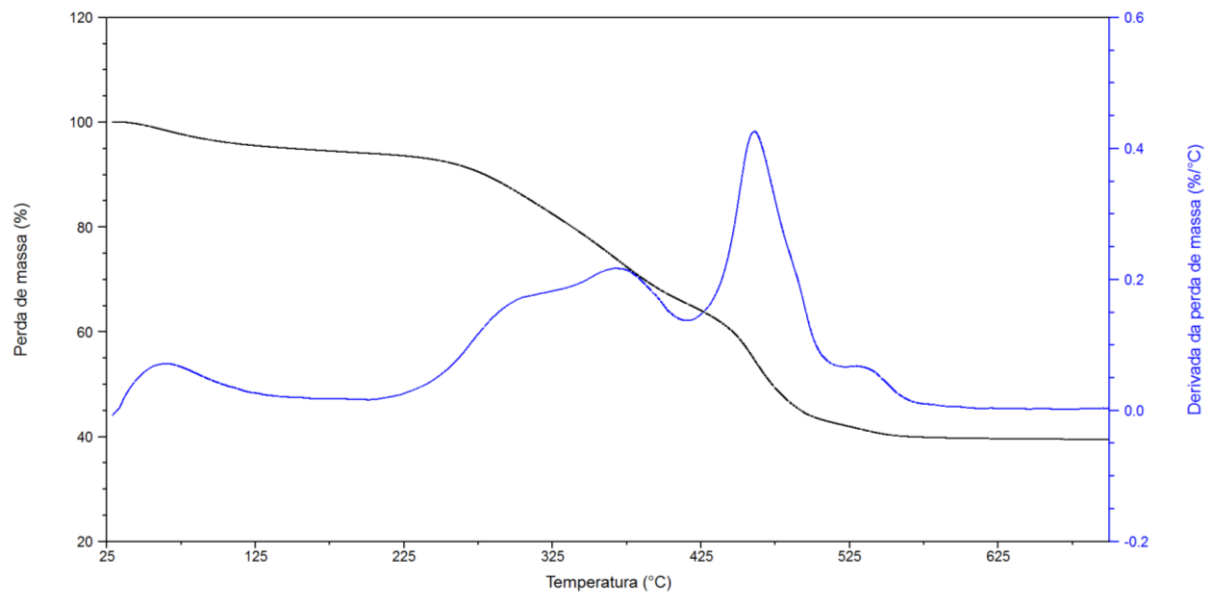


Figura A1. Curva de TGA e primeira derivada da perda de massa da amostra C-NiFe₂O₄ no intervalo entre 27°C-700°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min.