

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Avaliação de novas arquiteturas de carbono para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a determinação de espécies de interesse em diferentes matrizes de amostras

Tiago Almeida Silva*

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho

***Bolsista CAPES**

SÃO CARLOS

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Tiago Almeida Silva, realizada em 01/03/2019.

Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho
UFSCar

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz
UFU

Prof. Dr. Hudson Giovani Zanin
UNICAMP

Prof. Dr. Fernando Cruz de Moraes
UFSCar

Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz
UFSCar

Aos meus pais, Cleiton e Selmes, pelos seus preciosos ensinamentos que me tornaram um ser humano capaz de encarar a vida como ela é, e por também jamais medirem esforços e sacrifícios para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu irmão Marcos, que mesmo distante muito me motivou pelos seus inúmeros exemplos de dedicação e superação. E, também, por ter me feito Titio dos anjinhos

Letícia e Betina.

À Katia, por todo seu amor, carinho e companhia que tornou esta jornada mais prazerosa.

Amo vocês!

DEDICO

“A personalidade criadora deve pensar e julgar por si mesma, porque o progresso moral da sociedade depende exclusivamente da sua independência.”

Albert Einstein

“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio têm qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”

Fernando Pessoa

Agradecimentos

Aos meus pais, Cleiton e Selmes, pela confiança em mim depositada e todo amor e carinho;

À Katia pelo seu carinho, paciência e companheirismo em todos os momentos;

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho pela oportunidade de ingresso em seu grupo de pesquisa, orientação e ensinamentos concedidos durante o período de doutorado;

Ao Profs. Drs. Evaldo José Corat e Hudson Zanin do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) pela disponibilização das amostras de carbono tipo-diamante porosos crescidos sobre nanotubos de carbono verticalmente alinhados devidamente caracterizadas e, também, pela pronta disponibilidade de ambos para discussão de resultados e excelentes contribuições durante a preparação dos manuscritos;

À Profa. Dra. Maryanne M. Collinson da Virginia Commonwealth University (VCU, Richmond, EUA) pela oportunidade de realização do doutorado sanduíche em seu grupo de trabalho, hospitalidade e enriquecedoras discussões científicas;

Aos colegas do LABBES, LABIE, GQA e VCU pelos momentos de discussão científica e, também, de descontração;

Aos Professores do Departamento de Química da UFSCar pelos seus ensinamentos;

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar pela pronta disponibilidade, atenção e eficiência em seus atendimentos: Cristina, Luciani e Ariane;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química da UFSCar por fornecer todo o suporte necessário para o meu bom desenvolvimento acadêmico;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Lista de Abreviaturas e Símbolos

AC _t	<i>Alternating Current Polarography</i>
AdSV	Voltametria adsortiva de redissolução (<i>Adsorptive stripping voltammetry</i>)
AR	<i>Allura red</i>
BDD	Diamante dopado com boro (<i>Boron-doped diamond</i>)
BPA	Bisfenol A (<i>Bisphenol A</i>)
BPPG	Grafite pirolítico de plano basal (<i>Basal-plane pyrolytic graphite</i>)
BR	Tampão Britton-Robinson
CAF	Cafeína
CB	Negro de fumo (<i>Carbon black</i>)
Ch-PtNPs	Nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana (<i>Chitosan-stabilized platinum nanoparticles</i>)
CNTs	Nanotubos de carbono (<i>Carbon nanotubes</i>)
COD	Codeína
CPE	Eletrodo de pasta de carbono (<i>Carbon paste electrode</i>)
CTS	Quitosana (<i>Chitosan</i>)
CVD	Deposição química de vapor (<i>Chemical Vapor Deposition</i>)
DA	Dopamina
DC _t	<i>Direct Current Polarography</i>
DHP	Dihexadecilhidrogenofosfato (Dihexadecy Hydrogen Phosphate)
DLC	Carbono tipo-diamante (<i>Diamond-like carbon</i>)
DPAdSV	Voltametria adsortiva de redissolução anódica por pulso diferencial (<i>Differential Pulse Adsorptive Anodic Stripping Voltammetry</i>)
DPP	<i>Differential Pulse Polarography</i>

DPV	Voltametria de pulso diferencial (<i>Differential Pulse Voltammetry</i>)
ECH	Epícloridrina (<i>Epichlorohydrin</i>)
EP	Epinefrina
EPPG	Grafite pirolítico de plano de borda (<i>Edge-plane pyrolytic graphite</i>)
FIA	Análise por injeção em fluxo (<i>Flow Injection Analysis</i>)
GCE	Eletrodo de carbono vítreo (<i>Glassy Carbon Electrode</i>)
HOPG	Grafite pirolítico altamente orientado (<i>Highly Ordered Pyrolytic Graphite</i>)
H ₂ Q	Hidroquinona
IL	Líquido iônico (<i>Ionic Liquid</i>)
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão (<i>Transmission Electron Microscopy</i>)
HR-TEM	Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (<i>High-Resolution Transmission Electron Microscopy</i>)
MWCNT	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (<i>Multi-Walled Carbon Nanotubes</i>)
MWCVD	Deposição química de vapor assistida por micro-ondas (<i>Microwave Chemical Vapor Deposition</i>)
ORR	Reação de redução de oxigênio (<i>Oxygen Reduction Reaction</i>)
PECVD	Deposição química de vapor assistida por plasma (<i>Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition</i>)
PAR	Paracetamol
RAM	Ramipril
RSD	Desvio-padrão relativo (<i>Relative Standard Deviation</i>)
sccm	Centímetro cúbico padrão por minuto (<i>Standard Cubic Centimeters Per Minute</i>)

SWAdASV	Voltametria adsortiva de redissolução anódica por onda quadrada (<i>Square-Wave Adsorptive Anodic Stripping Voltammetry</i>)
SWCNT	Nanotubos de carbono de parede simples (<i>Single-Walled Carbon Nanotubes</i>)
SWV	Voltametria de onda quadrada (<i>Square-Wave Voltammetry</i>)
VACNT	Nanotubos de carbono verticalmente alinhados (<i>Vertically Aligned Carbon Nanotubes</i>)
VACNT-GO	Nanotubos de carbono verticalmente alinhados e óxido de grafeno (<i>Vertically Aligned Carbon Nanotubes and Graphene Oxide</i>)
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (<i>X-Ray Photoelectron Spectroscopy</i>)
ΔE_p	Separação dos potenciais de pico anódico e catódico
α	Coefficiente de transferência de carga
C ₆₀	Fulereno
D	Coefficiente de difusão
E_F	Energia do nível de Fermi
$E^{\circ'}$	Potencial formal
E_p	Potencial de pico
E_{pc}	Potencial de pré-concentração
I_p	Corrente de pico
k° e k_s	Constante de transferência heterogênea de elétrons
m	Sensibilidade analítica (coeficiente angular da curva analítica)
n	Número de elétrons
n_p	Número de prótons
R_{ct}	Resistência de transferência de carga
t_{pc}	Tempo de pré-concentração
Ψ	Parâmetro cinético da equação de Nicholson

Lista de Tabelas

TABELA 3.1 – Parâmetros analíticos obtidos para a determinação por voltametria cíclica de DA, EP e PAR usando o eletrodo DLC:VACNT. (Reproduzido com permissão de ¹¹¹ . Copyright (2014) American Chemical Society).....	53
TABELA 3.2 – Valores de RSD obtidos para a corrente de pico anódica registrada durante dez medidas sucessivas por voltametria cíclica ($n = 10$) para soluções de DA, EP e PAR em diferentes níveis concentração. (Reproduzido com permissão de ¹¹¹ . Copyright (2014) American Chemical Society)	54
TABELA 4.1 – Parâmetros da técnica de SWV submetidos à otimização e respectivos valores ótimos	69
TABELA 4.2 – Comparação dos parâmetros analíticos obtidos para a determinação simultânea de PAR, COD e CAF utilizando o procedimento voltamétrico proposto e cromatográfico reportado na literatura. ⁸²	74
TABELA 4.3 – Resultados dos estudos de repetibilidade intra- e inter-dias (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).....	75
TABELA 4.4 – Aplicação do método de SWV proposto na análise de fluidos biológicos sintéticos (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).....	76
TABELA 5.1 – Resultados obtidos para os ensaios de adição/recuperação em amostras de creme dermatológico contendo H ₂ Q.....	96
TABELA 5.2 – Resultados de determinação de H ₂ Q em amostras de cremes dermatológicos empregando-se os métodos amperométrico proposto e UV-Vis comparativo	97
TABELA 6.1 – Parâmetros da técnica de SWV submetidos à otimização e respectivos valores ótimos	113

TABELA 6.2 – Procedimentos eletroanalíticos dedicados à determinação de RAM. (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	115
TABELA 6.3 – Efeito de possíveis interferentes encontrados em formulações farmacêuticas sobre a determinação voltamétrica de RAM.....	116
TABELA 6.4 – Resultados obtidos para a determinação de RAM em amostras de formulações farmacêuticas utilizando-se o procedimento voltamétrico proposto e o procedimento comparativo espectrofotométrico UV-Vis (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).....	117
TABELA 6.5 – Resultados obtidos para a determinação de RAM em amostras biológicas sintéticas de urina e soro humano (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).....	118
TABELA 7.1 – Otimização dos parâmetros de SWAdASV para determinação de AR $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹	144
TABELA 7.2 – Resultados obtidos para os estudos de repetibilidade intra- e inter-dias utilizando-se o sensor de IL-CB-CTS-ECH/GCE e SWAdASV	146
TABELA 7.3 – RSDs obtidos para o sinal de corrente anódica do corante AR ($3,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹) na presença de substâncias tipicamente encontradas em amostras de refresco em pó	147
TABELA 7.4 – Resultados obtidos para os ensaios de adição/recuperação em amostras de refresco em pó diluídas em solução de eletrólito suporte	148
TABELA 7.5 – Resultados obtidos para a análise de amostras comerciais de refresco em pó pelo método voltamétrico proposto e espectrofotométrico comparativo	149
TABELA 8.1 – Otimização dos parâmetros da DPAdASV para a determinação de BPA.....	176
TABELA 8.2 – Resultados de repetibilidade intra- e inter-dias obtidos para a determinação de BPA por DPAdASV	178

TABELA 8.3 – Efeito de possíveis interferentes sobre a determinação de BPA por DPAdASV empregando-se o sensor CB-Ch-PtNPs/GCE..... 180

TABELA 8.4 – Resultados de recuperação obtidos na análise amostras de águas naturais fortificadas com BPA 181

Lista de Figuras

FIGURA 1.1 – Representação das regiões no plano basal (<i>basal-plane</i>) e plano de borda (<i>edge-plane</i>) de um (a) SWCNT e (b) HOPG (Adaptado de Ref. ¹¹).	5
FIGURA 1.2 – Imagens de microscopia ótica (ampliação de 200 vezes) do ângulo de contato entre a água deionizada e a amostra de (a) VACNT e (b) VACNT-GO.	9
FIGURA 1.3 – Estrutura das formas alotrópicas de carbono diamante, DLC e grafite.	10
FIGURA 1.4 – (a) Esquema dos clusters de Csp^2 (Reproduzido da referência ¹⁹ com permissão da Elsevier). (b) Diagrama de estados σ e π para o DLC.	11
FIGURA 1.5 – Representação esquemática das nanopartículas de CB e respectivas estruturas de agregados e aglomerados formados.	13
FIGURA 1.6 – (a) Estrutura química do DHP. (b) Possível estrutura de um filme de DHP formado via ligações de hidrogênio.	18
FIGURA 1.7 – Estrutura química idealizada da (a) quitina e (b) quitosana.	19
FIGURA 1.8 – Fórmulas estruturais do paracetamol, codeína e cafeína.	21
FIGURA 1.9 – Fórmula estrutural da molécula de ramipril.	23
FIGURA 1.10 – Fórmula estrutural da molécula de allura red.	24
FIGURA 1.11 – Fórmula estrutural da molécula de bisfenol A.	26
FIGURA 1.12 – Fórmula estrutural da molécula de hidroquinona.	27
FIGURA 3.1 – (a) Representação esquemática do adaptador (tarugo) utilizado para a fixação do eletrodo de trabalho, contendo <i>O-ring</i> (anel de borracha) para vedação e delimitação da área geométrica em $0,44\text{ cm}^2$, (b) DLC:VACNT.	35
FIGURA 3.2 – (a, b) Imagem de MEV obtida para os VACNT com diferentes ampliações. (c) Imagem de MEV obtida para a região lateral dos VACNT (Reproduzido com permissão de ¹¹¹ . Copyright (2014) American Chemical Society). Inseto: Imagem de MEV obtida em alta resolução para um VACNT.	37

- FIGURA 3.3** – Imagens de MEV obtidas para as amostras de **(a)** DLC:Si e **(b-g)** DLC:VACNT. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society). 38
- FIGURA 3.4** – Espectros Raman obtidos para os filmes de DLC:Si, DLC:VACNT e VACNT. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society). 40
- FIGURA 3.5** – Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de $K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando eletrodos de DLC:Si (voltamograma cíclico inserido) e DLC:VACNT. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 42
- FIGURA 3.6** – Representação esquemática de alguns átomos de carbono com hibridação sp^2 e sp^3 do filme fino de DLC, indicando a formação de solitons na superfície. (Reproduzido de¹¹⁸ com permissão de Springer Nature). 42
- FIGURA 3.7** – **(a)** Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (1: $10 - 15: 500 \text{ mV s}^{-1}$) para o eletrodo de DLC:VACNT em solução de $K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. **(b)** Gráfico com o registro de I_p vs. $\nu^{1/2}$ para correntes de pico anódica e catódica. 43
- FIGURA 3.8** – Gráfico de Ψ vs. $32,79 \nu^{-1/2}$ obtido para o eletrodo de DLC:VACNT em solução de $K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 45
- FIGURA 3.9** – Voltamogramas cíclicos obtidos para **(a)** DA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, **(b)** EP $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e **(c)** PAR $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0) utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em diferentes velocidades de varredura de potencial (1: $10 - 13: 400 \text{ mV s}^{-1}$). Insetos: curvas de I_p vs. $\nu^{1/2}$ e $\log I_p$ vs. $\log \nu$. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society). 47
- FIGURA 3.10** – Voltamogramas cíclicos obtidos para **(a)** DA, **(b)** EP e **(c)** PAR a diferentes concentrações (1: $10 - 10: 100 \mu\text{mol L}^{-1}$) em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0) utilizando o eletrodo de DLC:VACNT. $\nu = 100$

mV s ⁻¹ . Curvas analíticas obtidas para (d) DA, (e) EP e (f) PAR. (Reproduzido com permissão de ¹¹¹ . Copyright (2014) American Chemical Society).	52
FIGURA 4.1 – Voltamograma cíclico obtido em solução de H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ contendo (a) PAR 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , (b) COD 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , (c) CAF 2,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ e (d) uma mistura de PAR 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , COD 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ e CAF 2,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ . $\nu = 50$ mV s ⁻¹ . (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).....	60
FIGURA 4.2 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ em diferentes pHs (2,0 – 10,0) contendo (a) PAR 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , (b) COD 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ e (c) CAF 2,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ . $\nu = 50$ mV s ⁻¹ . Nos gráficos inseridos são apresentadas as relações entre I_p e E_p em função do pH para cada caso. (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).....	61
FIGURA 4.3 – Possíveis reações de eletrooxidação para as moléculas de (a) PAR, (b) COD e (c) CAF.....	64
FIGURA 4.4 – (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes eletrólitos suporte (H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ , tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH 2,0) e tampão BR 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 2,0)) contendo PAR 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , COD 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ e CAF 2,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ . Parâmetros da técnica de SWV: $f = 70$ Hz, $A = 50$ mV e $\Delta E_s = 5$ mV. (b) Gráfico de I_p vs. Analito obtidos para as diferentes soluções de eletrólito suporte. (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).....	66
FIGURA 4.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (1: 20 mV s ⁻¹ – 12: 400 mV s ⁻¹) em H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ contendo (a) PAR 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , (b) COD 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ e (c) CAF 2,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ . Gráficos de (i) $\log I_p$ vs. $\log \nu$; (ii) I_p vs. $\nu^{1/2}$ e (iii) I_p vs. ν . (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).....	68
FIGURA 4.6 – (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ contendo PAR em	

diferentes níveis de concentração (1: 0,00 – 8: $5,63 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e COD e CAF em concentrações fixas de $3,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Inseto: Curva analítica para PAR (I_p vs. [PAR]). Parâmetros da SWV: $f = 80$ Hz, $A = 60$ mV e $\Delta E_s = 9$ mV. **(b)** Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo COD em diferentes níveis de concentração (1: 0,00 – 7: $3,92 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e PAR e CAF em concentrações fixas de $2,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Inseto: Curva analítica para COD (I_p vs. [COD]). Parâmetros da SWV: $f = 80$ Hz, $A = 60$ mV e $\Delta E_s = 9$ mV. **(c)** Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo CAF em diferentes níveis de concentração (1: 0,00 – 11: $9,79 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e PAR e CAF em concentrações fixas de $1,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Inseto: Curva analítica para CAF (I_p vs. [CAF]). Parâmetros da SWV: $f = 80$ Hz, $A = 60$ mV e $\Delta E_s = 9$ mV. (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons). 71

FIGURA 4.7 – **(a)** Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo diferentes concentrações de PAR (1: 0,00 – 11: $3,67 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), COD (1: 0,00 – 11: $3,67 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e CAF (1: 0,00 – 11: $9,17 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹). Parâmetros da SWV: $f = 80$ Hz, $A = 60$ mV e $\Delta E_s = 9$ mV. Curva analítica obtida para **(b)** PAR (I_p vs. [PAR]), **(c)** COD (I_p vs. [COD]) e **(d)** CAF (I_p vs. [CAF]). (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons). 73

FIGURA 5.1 – Ilustração da célula eletroquímica adaptada para o sistema FIA. Em **(a)** suporte em acrílico com *O-ring* para vedação, **(b)** suporte em acrílico com contato elétrico para acomodação do eletrodo de trabalho, **(c)** eletrodo de referência (Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)) miniaturizado, **(d)** eletrodo de trabalho DLC:VACNT e **(e)** eletrodo auxiliar em aço inoxidável e saída das soluções... 82

FIGURA 5.2 – Ilustração do sistema FIA utilizado. As representações são: **(a)** bomba peristáltica, **(b)** injetor comutador manual, **(c)** célula eletroquímica, **(d)**

solução transportadora (eletrólito suporte), (e) solução-padrão ou de amostra e (f) descarte.....	83
FIGURA 5.3 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo DLC:VACNT na ausência (linha pontilhada) e presença (linha sólida) de H ₂ Q 5,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ HQ. $\nu = 50$ mV s ⁻¹ . (b) Reação redox associada à molécula de H ₂ Q.	86
FIGURA 5.4 – (a) Voltamograma cíclico obtido usando o eletrodo DLC:VACNT para H ₂ Q 5,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ em diferentes pHs (2,0 a 8,0). $\nu = 50$ mV s ⁻¹ . (b) Gráficos de I_p vs. pH e E_p vs. pH obtidos para H ₂ Q.	87
FIGURA 5.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo DLC:VACNT para H ₂ Q 5,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH 7,0) em diferentes velocidades de varredura (1: 10, 2: 20, 3: 30, 4: 40, 5: 50, 6: 75, 7: 100, 8: 150 e 9:200 mV s ⁻¹). Insetos: Gráficos de (i) $\log I_p$ vs. $\log \nu$, (ii) I_p vs. $\nu^{1/2}$ e (iii) I_p vs. ν	89
FIGURA 5.6 – Respostas amperométricas obtidas usando o eletrodo de DLC:VACNT em diferentes valores de potencial aplicado para injeções sucessivas de H ₂ Q 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ preparada em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0). Inseto: voltamograma hidrodinâmico obtido para H ₂ Q.	90
FIGURA 5.7 – Efeito (a) da vazão da solução transportadora (eletrólito suporte) e (b) do volume de injeção sobre a resposta amperométrica do eletrodo de DLC:VACNT para H ₂ Q.	92
FIGURA 5.8 – Resposta amperométrica obtida para o eletrodo de DLC:VACNT após a injeção de soluções-estoque de H ₂ Q com diferentes concentrações (1: 1,0 × 10 ⁻⁶ ; 2: 3,0 × 10 ⁻⁶ ; 3: 5,0 × 10 ⁻⁶ ; 4: 7,0 × 10 ⁻⁶ ; 5: 1,0 × 10 ⁻⁵ ; 6: 3,0 × 10 ⁻⁵ ; 7: 5,0 × 10 ⁻⁵ ; 8: 7,0 × 10 ⁻⁵ e 9: 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹) preparadas em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0). Insetos:	

curvas analíticas obtidas para H ₂ Q com a injeção das soluções-estoque em ordem (i) crescente e (ii) decrescente de concentração.....	94
FIGURA 5.9 – Resposta amperométrica obtida para o eletrodo de DLC:VACNT após a injeção de soluções-estoque de H ₂ Q $1,0 \times 10^{-5}$ e $5,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ preparadas em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0).	95
FIGURA 6.1 – Representação esquemática do procedimento de preparação do GCE modificado. (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	102
FIGURA 6.2 – Imagem de MEV obtida para (a) GCE não modificado, (b, c) CB-GCE e (e-g) CB-DHP/GCE. (d) Histograma de distribuição de diâmetros obtido para o nanomaterial CB. (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	106
FIGURA 6.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos para K ₃ Fe(CN) ₆ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ utilizando GCE e CB-DHP/GCE. $\nu = 50$ mV s ⁻¹ . (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	106
FIGURA 6.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 5,0) contendo RAM $2,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ usando um GCE não modificado e o CB-DHP/GCE proposto. $\nu = 50$ mV s ⁻¹ . (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	108
FIGURA 6.5 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ em diferentes pHs (2,0 – 10,0) contendo RAM $2,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ usando o CB-DHP/GCE proposto. ν : 50 mV s ⁻¹ . (b) Gráficos de E_p vs. pH e I_p vs. pH. (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	109
FIGURA 6.6 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (1: 20 mV s ⁻¹ – 13: 400 mV s ⁻¹) em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ contendo RAM $2,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ usando o CB-DHP/GCE proposto. Inseto: Gráfico de $\log \nu$ vs. $\log I_p$. (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	111

FIGURA 6.7 – Possível reação de eletrooxidação proposta para a molécula de RAM. (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	112
FIGURA 6.8 – Efeito do (a) potencial de pré-concentração e (b) tempo de pré-concentração sobre a resposta voltamétrica do RAM. (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).....	113
FIGURA 6.9 – Voltamogramas de SWAdAS registrados em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 3,0) contendo diferentes níveis de concentração de RAM (1: 0,0; 2: 1,98 × 10 ⁻⁶ ; 3: 3,95 × 10 ⁻⁶ ; 4: 5,91 × 10 ⁻⁶ ; 5: 7,87 × 10 ⁻⁶ ; 6: 9,81 × 10 ⁻⁶ ; 7: 1,47 × 10 ⁻⁵ ; 8: 1,94 × 10 ⁻⁵ e 9: 2,42 × 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹) utilizando o CB-DHP/GCE. Condições da técnica de SWAdASV: tempo de pré-concentração = 90 s, $f = 30$ Hz, $A = 60$ mV e $\Delta E_s = 10$ mV. Inseto: Curva analítica obtida para o RAM (I_p vs. [RAM]). (Reproduzido de ¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).	114
FIGURA 7.1 – Esquema de preparação do eletrodo modificado a base de CB, IL e CTS reticulada.	124
FIGURA 7.2 – Imagens de MEV obtidas para (a, b) CB, (c, d) IL-CB e (e, f) IL-CB-CTS.....	127
FIGURA 7.3 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos usando GCE não-modificado, CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE para K ₃ Fe(CN) ₆ 2,44 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ . $v = 50$ mV s ⁻¹ . (b) Diagramas de Nyquist obtidos usando GCE não-modificado, CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE para K ₃ Fe(CN) ₆ 2,44 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹	130
FIGURA 7.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando (a) GCE, (b) CB-CTS-ECH/GCE e (c) IL-CB-CTS-ECH/GCE para K ₃ Fe(CN) ₆ 2,44 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ em diferentes velocidades de varredura (1: 10 mV s ⁻¹ – 13: 400 mV s ⁻¹). (d) Gráficos de I_p vs. $v^{1/2}$ obtidos para (▲) GCE não-modificado, (●) CB-CTS-ECH/GCE e (◆) IL-CB-CTS-ECH/GCE.....	132

- FIGURA 7.5** – Voltamogramas cíclicos obtidos usando GCE (ampliação para este caso é mostrada no inserto), CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Voltamogramas mostrados pela linha pontilhada são equivalentes aos brancos (ou seja, somente eletrólito suporte). 134
- FIGURA 7.6** – (a) Primeiro e (b) segundo ciclos voltamétricos registrados usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 136
- FIGURA 7.7** – (a) Variação da corrente de pico em função do tipo de líquido iônico utilizado na preparação do sensor proposto. (b) Variação da corrente de pico em função da concentração de líquido iônico na dispersão de CB. (c) Estruturas químicas dos ILs. 138
- FIGURA 7.8** – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com diferentes pHs (2,0 a 10,0). Inseto: Gráficos de I_p vs. pH e E_p vs. pH. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Voltamogramas cíclicos obtidos usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes soluções de eletrólito suporte (tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0), tampão BR $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0) e tampão acetato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,0)). Inseto: Gráfico de I_p vs. Eletrólito suporte. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 140
- FIGURA 7.9** – Voltamograma cíclico obtido usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) em diferentes velocidades de varredura (1: 10 a 13: 400 mV s^{-1}). Insetos: (i) Gráfico de $\log I_p$ vs. $\log \nu$, (ii) I_p vs. $\nu^{1/2}$ e (iii) I_p vs. ν 142
- FIGURA 7.10** – Efeito do (a) potencial e (b) do tempo de pré-concentração. 143
- FIGURA 7.11** – Voltamogramas de SWAdAS obtidos utilizando-se o IL-CB-CTS-ECH/GCE em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) contendo diferentes concentrações do corante AR: (1) 0,00 (solução de branco), (2) $3,98 \times 10^{-8}$, (3) $9,90 \times 10^{-8}$, (4) $1,96 \times 10^{-7}$, (5) $2,91 \times 10^{-7}$, (6) $4,76 \times 10^{-7}$, (7) $6,54 \times 10^{-7}$ e (8)

$9,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Parâmetros: $E_{pc} = 0,0 \text{ V}$, $t_{pc} = 180 \text{ s}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 70 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 10 \text{ mV}$. Inseto: Curva analítica obtida para o corante AR (I_p vs. [AR]).	145
.....	
FIGURA 8.1 – Esquema do procedimento de síntese das nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana.	153
FIGURA 8.2 – Esquema de preparação do eletrodo Ch-PtNPs-CB/GCE.....	155
FIGURA 8.3 – Representação esquemática da interação entre o biopolímero quitosana e as nanopartículas de platina (Adaptado de Deng et al. ¹⁶⁸).....	158
FIGURA 8.4 – Fotografia das PtNPs sintetizadas na (a) ausência e (b) presença de quitosana. (c) Fotografia das Ch-PtNPs após centrifugação a 10000 rpm (5 min).....	158
FIGURA 8.5 – Espectros de UV-Vis obtidos para a solução de partida de H_2PtCl_6 e para a dispersão coloidal de Ch-PtNPs.....	159
FIGURA 8.6 – (a-c) Imagens de TEM obtidas para as Ch-PtNPs em diferentes ampliações. (d) Histograma de distribuição de diâmetros obtido para as Ch-PtNPs com destaque para o diâmetro médio das Ch-PtNPs.	161
FIGURA 8.7 – (a-c) Imagens de HR-TEM obtidas para as Ch-PtNPs. (d) Perfil de espaçamento entre planos das Ch-PtNPs 1 e 2 marcadas em (c)	162
FIGURA 8.8 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) na ausência (linha pontilhada) e presença de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (linha contínua) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Comparação dos voltamogramas cíclicos obtidos para H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se os eletrodos CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (c) Comparação dos voltamogramas cíclicos obtidos para H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se os eletrodos Grafite-Ch-PtNPs/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (d) Cronoamperogramas obtidos utilizando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) contendo diferentes concentrações de H_2O_2 (1: $0,0$; 2: $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; 3: $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; 4: $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; 5: $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; 6:	

$7,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; 7: $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; 8: $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; 9: $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; 10: $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e 11: $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Inseto: Curva analítica obtida para H_2O_2 (I vs. $[\text{H}_2\text{O}_2]$) $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 165

FIGURA 8.9 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos GCE (—), CB-Ch/GCE (---) e CB-Ch-PtNPs/GCE (—) em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na janela de potenciais de 0,0 a +0,4 V. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos GCE (—), CB-Ch/GCE (---) e CB-Ch-PtNPs/GCE (—) em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (c) Voltamograma cíclico obtido para um eletrodo de Pt em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 167

FIGURA 8.10 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0) na ausência (linhas pontilhadas) e presença de BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (linha contínua) empregando-se o eletrodo (a) GCE, (b) CB-Ch/GCE e (c) CB-Ch-PtNPs/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (d) Comparação dos voltamogramas cíclicos obtidos para BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se os eletrodos GCE, CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 169

FIGURA 8.11 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos para BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com diferentes pHs (2,0 a 8,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Gráficos de E_p vs. pH e I_p vs. pH. 171

FIGURA 8.12 – Voltamogramas cíclicos obtidos para BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,0), tampão BR $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,0) e tampão acetato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Inseto: Gráfico de I_p vs. eletrólito (tipo). 172

FIGURA 8.13 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura para BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Inseto: Gráfico $\log I_p$ vs. $\log v$ 173

- FIGURA 8.14** – Efeito do **(a)** potencial de pré-concentração (faixa de $-0,5$ V a $+0,5$ V e tempo de pré-concentração fixado em 30 s) e **(b)** tempo de pré-concentração (faixa de 10 a 150 s e potencial de pré-concentração fixado em 0,0 V) sobre a corrente pico obtida para BPA $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em solução de tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 5,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE e DPAdASV. $\nu = 10$ mV s⁻¹; $a = 60$ mV e $t_m = 50$ ms. 175
- FIGURA 8.15** – **(a)** Voltamogramas de DPAdAS obtidos para diferentes concentrações de BPA (1: 0,0, 2: $4,98 \times 10^{-8}$, 3: $6,95 \times 10^{-8}$, 4: $9,90 \times 10^{-8}$, 5: $1,98 \times 10^{-7}$, 6: $3,95 \times 10^{-7}$, 7: $5,91 \times 10^{-7}$, 8: $7,87 \times 10^{-7}$, 9: $9,81 \times 10^{-7}$, 10: $1,46 \times 10^{-6}$, 11: $1,94 \times 10^{-6}$, 12: $2,89 \times 10^{-6}$, 13: $3,81 \times 10^{-6}$, 14: $4,72 \times 10^{-6}$ e 15: $5,61 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) em solução de tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 5,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. Condições: $E_{pc} = 0,0$ V, $t_{pc} = 90$ s, $\nu = 10$ mV s⁻¹; $a = 80$ mV e $t_m = 50$ ms. **(b)** Curva analítica obtida para BPA com duas regiões lineares (I_p vs. [BPA]). 177
- FIGURA 8.16** – Correntes de pico obtidas para BPA $9,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ empregando-se 6 diferentes eletrodos de CB-Ch-PtNPs/GCE. 179

Resumo

AVALIAÇÃO DE NOVAS ARQUITETURAS DE CARBONO PARA O DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE EM DIFERENTES MATRIZES DE AMOSTRAS – Neste trabalho os esforços foram despendidos no estudo eletroquímico e aplicação eletroanalítica de sensores eletroquímicos baseados em duas estruturas carbonáceas: carbono tipo-diamante (DLC, do inglês “*diamond-like carbon*”) e negro de fumo (CB, do inglês “*carbon black*”). No primeiro caso, filmes de DLC porosos foram sintetizados sobre um substrato de nanotubos de carbono verticalmente alinhados. A ideia da estratégia proposta foi desenvolver um material eletródico conciliando as propriedades condutivas dos nanotubos de carbono e as vantagens físicas e químicas do DLC, eliminando desta maneira a necessidade do uso de procedimentos para dopagem dos filmes de DLC e a obtenção de um material totalmente de carbono e poroso de alta área superficial. O desempenho eletroquímico e eletroanalítico do eletrodo de DLC poroso foi avaliado em relação à determinação dos analitos de interesse biológico (paracetamol, dopamina e epinefrina), farmacêutico (paracetamol, codeína e cafeína) e dermatológico (hidroquinona) por voltametria de onda quadrada ou análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica. Na segunda parte do presente trabalho de doutorado, focou-se no desenvolvimento de eletrodos modificados a base de CB. Neste sentido, avaliou-se o seu uso como modificador de eletrodos de carbono vítreo de maneira individual ou combinada com outros nanomateriais de interesse, nomeadamente, líquidos iônicos e nanopartículas metálicas. Os sensores modificados propostos foram aplicados na determinação de compostos de interesse farmacêutico, alimentício e ambiental.

Palavras-chave: *carbono tipo-diamante, negro de fumo, sensores, eletroanalítica.*

Abstract

EVALUATION OF NOVEL CARBON ARCHITECTURES FOR THE DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL SENSORS FOR THE DETERMINATION OF SPECIES OF INTEREST IN DIFFERENT MATRICE SAMPLES – In this doctorate work the efforts were expended in the electrochemical study and electroanalytical application of electrochemical sensors based on two carbonaceous structures: diamond-like carbon (DLC) and carbon black (CB). In the first case, porous DLC films were synthesized over a VACNT (Vertically Aligned Carbon Nanotubes) substrate. The idea of this proposed strategy was to develop an electrodic material combining the conductive properties of carbon nanotubes and the physical and chemical advantages of DLC, eliminating the necessity of use DLC doping procedures and with the generation of a totally carbon, porous and high surface area material. The electrochemical and electroanalytical performance of the porous DLC:VACNT was evaluated towards the determination of analytes of biological (paracetamol, dopamine and epinephrine), pharmaceutical (paracetamol, codeine and caffeine) and dermatologic (hydroquinone) interest by square-wave voltammetry or flow injection analysis with amperometric detection. In the second part of the work, it was focused on the development of modified electrodes based on CB. In this sense, it was evaluated its use as a modifier of glassy carbon electrodes in a individual or combined form with other nanomaterials, namely, ionic liquids and metallic nanoparticles. The proposed modified sensors were applied in the determination of compound of pharmaceutical, food and environmental interests.

Keywords: diamond-like carbon, carbon black, sensors, electroanalytical.

Sumário

Agradecimentos	v
Lista de Abreviaturas e Símbolos	vii
Lista de Tabelas	x
Lista de Figuras	xiii
Resumo	xxiv
Abstract	xxv
CAPÍTULO 1 – Introdução	1
1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Sensores eletroquímicos a base de materiais carbonáceos	2
1.1.1 Nanotubos de carbono	2
1.1.2 Carbono tipo-diamante	9
1.1.3 Negro de fumo	12
1.1.4 Líquidos iônicos	14
1.2 Dihexadecilhidrogenofosfato (DHP)	17
1.3 Quitosana	18
1.4 Analitos de interesse	20
1.4.1 Paracetamol, codeína e cafeína	20
1.4.2 Ramipril	22
1.4.3 Corante allura red	23
1.4.4 Bisfenol A	24
1.4.5 Hidroquinona	26
CAPÍTULO 2 – Objetivos	29
2.1 Objetivo geral	30
2.2 Objetivos específicos	30
CAPÍTULO 3 – <i>Design</i> e propriedades eletroquímicas de um eletrodo de carbono tipo-diamante poroso	31
3.1 Objetivos específicos	32

3.2 Parte experimental.....	32
3.2.1 Reagentes e soluções.....	32
3.2.2 Instrumentação	32
3.2.3 Síntese dos filmes de DLC:VACNT e montagem do eletrodo de trabalho.....	33
3.2.4 Ensaio eletroquímico	35
3.3 Resultados e Discussão	36
3.3.1 Caracterização dos filmes de DLC:VACNT	36
3.3.3 Caracterização eletroquímica do eletrodo de DLC:VACNT.....	40
3.3.4 Resposta eletroquímica das moléculas dopamina, paracetamol e epinefrina sobre o eletrodo de DLC:VACNT.....	45
3.4 Conclusões Parciais.....	54
CAPÍTULO 4 – Desenvolvimento de um procedimento voltamétrico para a determinação simultânea de paracetamol, codeína e cafeína utilizando como sensor eletroquímico um eletrodo de carbono tipo-diamante poroso.....	55
4.1 Objetivos específicos	56
4.2 Experimental.....	56
4.2.1 Reagentes e soluções.....	56
4.2.2 Síntese dos filmes de DLC:VACNT, montagem do eletrodo de trabalho e instrumentação eletroquímica	57
4.2.3 Procedimento analítico.....	57
4.2.4 Preparo de amostras biológicas sintéticas.....	58
4.3 Resultados e Discussão	58
4.3.1 Resposta eletroquímica das moléculas de PAR, COD e CAF.....	58
4.3.2 Influência do pH e composição da solução de eletrólito suporte	60
4.3.3 Efeito da velocidade de varredura	66
4.3.4 Determinação simultânea de PAR, COD e CAF por SWV	68
4.3.4 Estudos da repetibilidade	74

4.3.5 Aplicação analítica.....	75
4.4 Conclusões parciais.....	76
CAPÍTULO 5 – Eletrodo de carbono tipo-diamante poroso aplicado na determinação eletroquímica de hidroquinona em cremes dermatológicos por análise por injeção em fluxo acoplada à detecção amperométrica	79
5.1 Objetivos específicos	80
5.2 Experimental	80
5.2.1 Reagentes e soluções.....	80
5.2.2 Medidas eletroquímicas	80
5.2.3 Sistema FIA.....	82
5.2.4 Procedimento analítico.....	83
5.2.5 Preparo de amostras de cremes dermatológicos	84
5.3 Resultados e Discussão	84
5.3.1 Estudo do comportamento eletroquímico da H ₂ Q.....	84
5.3.2 Estudo do efeito do pH do eletrólito suporte por voltametria cíclica..	86
5.3.3 Influência da velocidade de varredura	88
5.3.4 Voltamograma hidrodinâmico	89
5.3.5 Otimização dos parâmetros do sistema FIA	90
5.3.6 Curva analítica	92
5.3.7 Estudo de repetibilidade e recuperação	94
5.3.7 Aplicação na análise de cremes dermatológicos.....	96
5.4 Conclusões parciais.....	97
CAPÍTULO 6 – Estudo eletroquímico e determinação voltamétrica do fármaco Ramipril empregando um sensor eletroquímico nanoestruturado à base de negro de fumo.....	99
6.1 Objetivos específicos	100
6.2 Experimental.....	100
6.2.1 Materiais e reagentes.....	100
6.2.2 Instrumentação	101

6.2.3	Preparação do eletrodo modificado	101
6.2.4	Etapas analíticas	102
6.3	Resultados e Discussão	104
6.3.1	Análise morfológica e eletroquímica	104
6.3.2	Resposta eletroquímica da molécula de RAM	107
6.3.3	Efeito do pH	108
6.3.4	Efeito da velocidade de varredura e número de elétrons (n)	109
6.3.5	Parâmetros analíticos	112
6.3.6	Aplicação analítica	116
6.4	Conclusões parciais	118
CAPÍTULO 7 – Sensor eletroquímico baseado em líquido iônico e negro de fumo de baixo custo para a determinação voltamétrica do corante alimentício Allura red		119
7.1	Objetivos específicos	120
7.2	Experimental	120
7.2.1	Reagentes e soluções	120
7.2.2	Preparo de amostras	121
7.2.3	Instrumentação	121
7.2.4	Preparação do sensor eletroquímico	122
7.3	Resultados e Discussão	125
7.3.1	Análise morfológica	125
7.3.2	Caracterização eletroquímica	127
7.3.3	Resposta eletroquímica do corante allura red	133
7.3.4	Efeito do tipo e concentração de IL	136
7.3.5	Efeito do pH e composição do eletrólito suporte	139
7.3.6	Efeito da velocidade de varredura	141
7.3.7	Efeito do tempo e potencial de pré-concentração	142
7.3.5	Determinação de allura red por SWAdASV	143
7.3.7	Estudos de interferência e recuperação	146

7.3.8 Análise de amostras	148
7.4 Conclusões parciais	149
CAPÍTULO 8 – Síntese de nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana e combinação com negro de fumo no desenvolvimento de um sensor eletroquímico para determinação do interferente endócrino bisfenol A.....	151
8.1 Objetivos específicos	152
8.2 Experimental	152
8.2.1 Materiais, reagentes e soluções.....	152
8.2.2 Síntese das nanopartículas de platina.....	153
8.2.3 Preparação do sensor eletroquímico	153
8.2.4 Instrumentação	155
8.2.5 Etapas analíticas	155
8.2.6 Preparo das amostras de águas naturais	156
8.3 Resultados e Discussão	157
8.3.1 Caracterização das Ch-PtNPs	157
8.3.2 Comportamento eletroquímico das Ch-PtNPs.....	162
8.3.3 Comportamento eletroquímico do BPA	167
8.3.4 Estudo do eletrólito suporte	170
8.3.5 Efeito da velocidade de varredura	172
8.3.6 Estudo do potencial e tempo de pré-concentração	173
8.3.7 Determinação de BPA por DPAdASV	175
8.3.8 Estudos de repetibilidade e possíveis interferentes	177
8.3.9 Aplicação na análise de amostras de águas	180
8.4 Conclusões parciais.....	181
CAPÍTULO 9 – Conclusões gerais e Perspectivas para Trabalhos Futuros.....	183
Referências	189

CAPÍTULO 1

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1 Sensores eletroquímicos a base de materiais carbonáceos

As determinações eletroanalíticas estão aliadas ao registro de dados eletroquímicos referentes a reações redox processadas na interface eletrodo/solução. Por conseguinte, o desempenho analítico dos métodos eletroanalíticos é completamente dependente do material eletródico utilizado como eletrodo de trabalho. Os materiais de carbono ou carbonáceos constituem-se como uma das classes de materiais mais importantes no cenário de construção de eletrodos de trabalho para fins analíticos, variando desde superfícies tradicionais como a dos eletrodos de carbono vítreo e pasta de carbono^{1,2} até superfícies avançadas, incluindo eletrodos à base de nanotubos de carbono³, grafeno⁴ e diamante⁵. Os eletrodos de carbono apresentam, em geral, elevada taxa de transferência de elétrons para uma ampla gama de compostos orgânicos e inorgânicos, resistência química e mecânica, sendo todas estas, propriedades fundamentais para o estabelecimento de métodos eletroanalíticos seletivos, sensíveis e reprodutíveis.

1.1.1 Nanotubos de carbono

Desde que os primeiros nanotubos de carbono (CNTs, do inglês “Carbon Nanotubes”) apresentados por Iijima em 1991⁶ e 1993⁷, estes materiais tem despertado enorme interesse pelos mais diversos setores do desenvolvimento tecnológico, sendo um dos materiais mais amplamente estudados e aplicados no campo da nanotecnologia^{3,8}. Um nanotubo de carbono pode ser compreendido como uma folha de grafeno (composta por átomos de carbono com hibridização sp^2) enrolada em torno de um eixo central, formando assim uma estrutura cilíndrica (tubo)^{3,9}. As extremidades ou pontas dos

nanotubos são abertas ou fechadas em uma forma hemisférica tipo fulereno⁸. Os CNTs são classificados em duas classes: os nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT, do inglês “Single-Walled Carbon Nanotubes”) e os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT, do inglês “Multi-Walled Carbon Nanotubes”). A diferença estrutural básica entre os SWCNT e os MWCNT está no número de camadas de folhas de grafeno. Como o próprio nome sugere, os SWCNT possuem apenas uma camada de carbono em ligação sigma e hibridização sp^2 , e os MWCNT múltiplas camadas. Ambos materiais podem ser compreendidos e modulados como camadas de folha(s) de grafeno cilíndrica(s) e no caso MWCNT ainda concêntricas^{3,8,9}.

Os CNTs reúnem um conjunto de características intrínsecas que justificam os intensos esforços que têm sido dedicados ao desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados nestas nanoestruturas. Em linhas gerais, são bons condutores, apresentando elevadas taxas de transferência de elétrons, possuem alta área superficial e quando funcionalizados podem ser facilmente utilizados como matriz para a imobilização de inúmeras espécies químicas e biológicas, tais como complexos metálicos, enzimas, proteínas, etc^{18,19}. A melhoria das taxas de transferência de elétrons possibilita a detecção de analitos em potenciais de trabalho menores do que os apresentados por outros tipos de eletrodos, e, além disso, o uso de CNTs pode proporcionar um aumento do sinal analítico, e, em muitos casos, procedimentos eletroanalíticos mais sensíveis e com níveis de detectabilidade cada vez menores^{3,10}.

Estudos desenvolvidos com o intuito de investigar as variáveis que afetam o comportamento eletroquímico dos CNTs como modificador ou mesmo como o próprio material de eletrodo demonstraram a influência de um conjunto de fatores físicos e químicos destes nanomateriais, como dimensões (comprimento e diâmetro), pureza, orientação e funcionalização química dos CNTs.

Banks e Compton¹¹ reportaram um artigo de revisão onde a origem da atividade electrocatalítica dos CNTs foi amplamente discutida. Observando-se a estrutura dos CNTs, duas regiões podem ser distinguidas: a região do plano das paredes (*basal-plane*) e a região do plano das pontas/bordas dos CNTs (*edge-plane*). Na Figura 1.1 (a) é destacado o posicionamento destas duas regiões dos CNTs, as quais podem ser correlacionadas com aquelas típicas para o grafite pirolítico altamente orientado (HOPG, do inglês “Highly Ordered Pyrolytic Graphite”), Figura 1.1 (b). O uso de eletrodos de HOPG preparados de forma a expor as regiões específicas *basal-plane* e *edge-plane* forneceu informação fundamental sobre a contribuição de cada uma das duas regiões para a resposta electroquímica observada e, conseqüentemente, serviu como base para elucidação do comportamento electroquímico dos eletrodos à base de CNTs. Recorrendo-se ao uso da sonda electroquímica de hexacianoferrato (III) de potássio e da técnica de voltametria cíclica, um eletrodo de grafite pirolítico de plano de borda (EPPG, do inglês, “Edge-Plane Pyrolytic Graphite”) apresentou um valor de ΔE_p (diferença de potencial entre os potenciais de pico anódico e catódico) igual a 78 mV, em contraste com o valor de 350 mV observado para um eletrodo de grafite pirolítico de plano basal (BPPG, do inglês “Basal-Plane Pyrolytic Graphite”)¹¹. Este resultado permitiu constatar a lenta taxa de transferência heterogênea de elétrons através dos sítios no plano basal (*basal-plane*), menor que aquela registrada para os sítios no plano de borda (*edge-plane*).

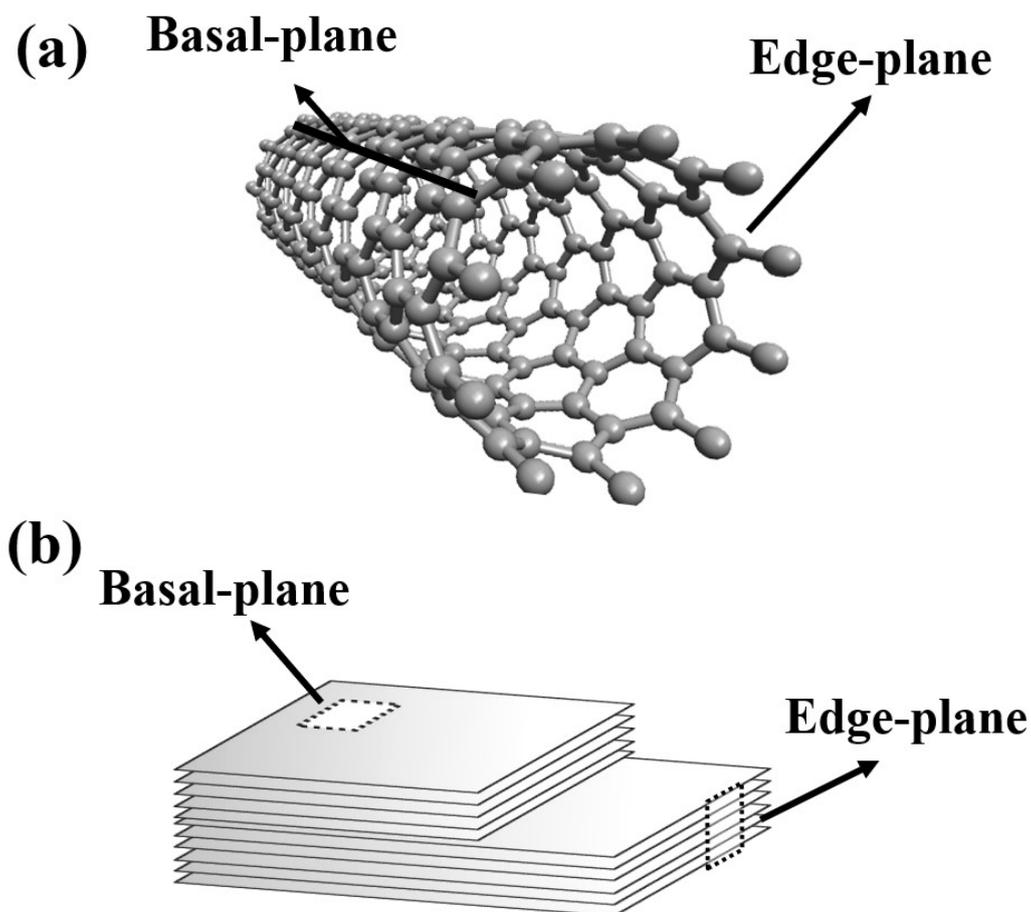


FIGURA 1.1 – Representação das regiões no plano basal (*basal-plane*) e plano de borda (*edge-plane*) de um (a) SWCNT e (b) HOPG (Adaptado de Ref.¹¹).

Inspirado nos resultados obtidos utilizando-se EPPG, e conhecendo-se que CNTs também podem ser identificados como tendo sítios no plano basal (*basal-plane*) e no plano de borda (*edge-plane*), investigações foram desenvolvidas de forma a tentar correlacionar o bom desempenho eletroquímico dos eletrodos à base de CNTs com a atividade dos sítios *edge-plane*. BANKS et al.¹² avaliaram a resposta eletroquímica do hexacianoferrato (III) de potássio, como sonda eletroquímica e, da epinefrina sobre eletrodos de EPPG, BPPG, e BPPG modificados com fulereno C₆₀ e MWCNTs. Utilizando-se os eletrodos de BPPG e BPPG modificado com fulereno C₆₀ (BPPG-C₆₀), uma lenta cinética de transferência de elétrons foi notada para ambas as moléculas eletroativas investigadas. No caso da molécula de epinefrina, um pico de oxidação

irreversível em +0,57 V e +0,64 V (vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)) foi registrado utilizando-se os eletrodos de BPPG e BPPG-C₆₀, respectivamente. Em contrapartida, utilizando-se os eletrodos de EPPG e BPPG modificado com MWCNT (BPPG-MWCNT), um comportamento quase-reversível foi diagnosticado para a molécula de epinefrina, com separação de picos em torno de 180 mV. Posteriormente, trabalhando-se com a sonda de hexacianoferrato (III) de potássio, resultados similares àqueles coletados para a epinefrina foram observados, ou seja, sobre os eletrodos de BPPG e BPPG-C₆₀ uma lenta cinética de transferência de elétrons foi verificada, com valores de ΔE_p de 350 e 550 mV, respectivamente, enquanto que os valores de 58 e 78 mV foram obtidos para os eletrodos de EPPG e BPPG-MWCNT. Tais resultados reafirmam a proposta da importante contribuição da região *edge-plane* para os processos de transferência eletrônica no caso de eletrodos de HOPG, podendo ser estendida para o caso dos MWCNT, uma vez que eletrodos de BPPG modificados com este nanomaterial apresentaram resposta eletroquímica idêntica ou próxima àquela fornecida por eletrodos de EPPG.

Os estudos demonstrando que a aparente atividade electrocatalítica dos CNTs advém da transferência majoritária de elétrons pelos sítios *edge-plane*, ou seja, através das extremidades ou pontas abertas dos CNTs, serviram de base para trabalhos posteriores relacionados à investigação do efeito da orientação dos CNTs sobre o desempenho eletroquímico destes nanomateriais. A ideia destes estudos foi aplicar eletrodos contendo CNTs verticalmente alinhados (VACNT, do inglês “Vertically Aligned Carbon Nanotubes”) relativamente ao substrato de deposição, onde, naturalmente, haveria uma maximização do número de *edge-planes* (pontas) expostos.

Liu et al.¹³ avaliaram o comportamento eletroquímico da enzima glicose oxidase imobilizada sobre uma camada auto-montada de SWCNT verticalmente alinhados depositada sobre um eletrodo de ouro. A obtenção de SWCNT verticalmente alinhados sobre o substrato de ouro foi conseguida por

meio da molécula de cistamina, cujo átomo de enxofre interagiu fortemente com a superfície do ouro e o átomo de nitrogênio do grupo amina presente na outra extremidade da molécula interagiu com os grupos carboxila presentes nas pontas dos SWCNT. Em uma análise do comportamento eletroquímico do eletrodo de ouro modificado com SWCNT verticalmente alinhados, um valor de ΔE_p igual a 59 mV foi verificado para a sonda de hexacianoferrato(III) de potássio.. Fazendo-se a mesma análise para um eletrodo de ouro contendo SWCNT aleatoriamente orientados, o valor de ΔE_p obtido foi de 99 mV. Portanto, a orientação dos SWCNT forneceu uma melhora significativa no desempenho eletroquímico, atribuído à exposição dos *edge-planes* para a solução eletrolítica. Resultados similares foram reportados por CHOU et al.¹⁴ utilizando SWCNT verticalmente alinhados preparados da mesma forma, corroborando, assim, com a premissa anterior de uma possível melhora do desempenho eletroquímico de eletrodos à base de VACNT.

O favorecimento da resposta eletroquímica dos eletrodos à base de VACNT tem sido explorado no uso desta arquitetura como sensor eletroquímico para o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos. Ye et al.¹⁵ reportaram o uso de VACNT depositados sobre um substrato de Ta utilizando um método CVD para a determinação seletiva de ácido úrico. A resposta voltamétrica do ácido úrico foi investigada na presença de ácido ascórbico, uma vez que são encontrados juntos em amostras de fluidos biológicos, como sangue e urina. Utilizando-se um eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês “Glassy Carbon Electrode”), houve evidente sobreposição dos picos de oxidação desses analitos nos seguintes potenciais (*vs.* Ag/AgCl (KCl 1,0 mol L⁻¹)): ácido úrico em 323 mV e ácido ascórbico em 357 mV. Portanto, a separação dos potenciais de pico no caso do GCE foi de apenas de 34 mV, impossibilitando assim a determinação de ácido úrico devido à interferência do ácido ascórbico. No entanto, utilizando o GCE modificado com VACNT, houve uma diminuição pronunciada dos potenciais de oxidação para ácido úrico e ácido ascórbico, assumindo os

seguintes valores (vs. Ag/AgCl (KCl 1,0 mol L⁻¹)): ácido úrico em 253 mV e ácido ascórbico em -111 mV. Com isso, a separação dos potenciais de pico aumentou significativamente para 364 mV. A partir do aumento da resolução dos picos desses analitos, o ácido úrico foi determinado utilizando-se voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês “Differential Pulse Voltammetry”) no intervalo de concentrações de $2,0 \times 10^{-7}$ a $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Ademais, o método voltamétrico desenvolvido foi empregado na determinação de ácido úrico em amostras de urina humana.

Os resultados prévios da literatura sobre a atividade eletroquímica e potencialidade eletroanalítica dos VACNT tem servido como base para a proposição de novas arquiteturas de carbono a partir da combinação de VACNT como substrato com outras formas alotrópicas de carbono. Em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa, sensores eletroquímicos à base de VACNT e óxido de grafeno (GO, do inglês “Graphene Oxide”) foram produzidos e utilizados para a determinação de estatinas. Os VACNT foram inicialmente sintetizados por deposição química de vapor assistida por micro-ondas (MWCVD, do inglês “Microwave Chemical Vapour Deposition”) e, em seguida, submetidos a um tratamento por plasma de oxigênio, dando origem ao composto de VACNT-GO. Fazendo-se isto, foi possível confirmar a exfoliação das pontas dos VACNT a partir de imagens de microscopia eletrônica de varredura, bem como a constatação da formação de GO por meio de medidas de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X, espectroscopia Raman e medidas de ângulo de contato. Como pode ser observado na Figura 1.2, o ângulo de contato diminuiu significativamente após o tratamento por plasma de oxigênio da superfície dos VACNT, alterando assim molhabilidade da superfície dos VACNT de super-hidrofóbico (ângulo de contato de $\approx 157^\circ$) para super-hidrofílico (ângulo de contato de $\approx 0^\circ$). O composto de VACNT-GO foi

empregado na determinação de atorvastatina cálcica¹⁶ e rosuvastatina cálcica¹⁷ em amostras de formulações farmacêuticas e biológicas sintéticas.

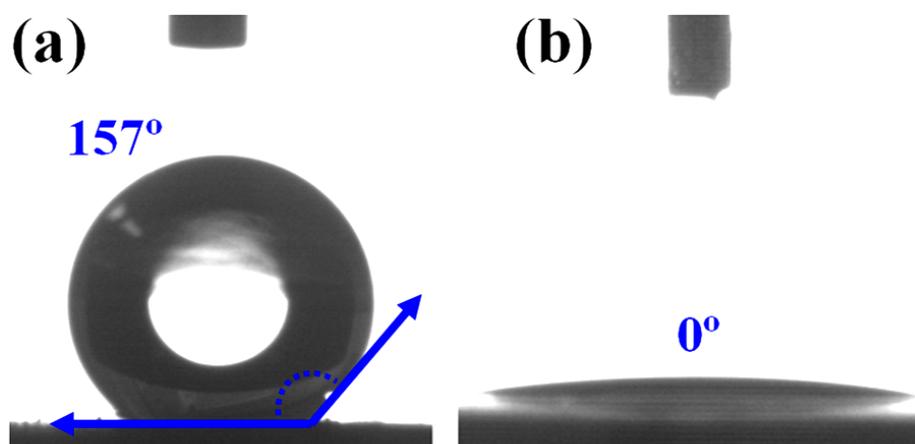


FIGURA 1.2 – Imagens de microscopia ótica (ampliação de 200 vezes) do ângulo de contato entre a água deionizada e a amostra de **(a)** VACNT e **(b)** VACNT-GO.

Em outra abordagem, nanotubos de carbono verticalmente alinhados foram empregados como substrato na preparação de filmes de diamante dopado com boro (BDD, do inglês “Boron-Doped Diamond”) porosos de alta área superficial¹⁸. Na metodologia desenvolvida por Zanin *et al.*¹⁸, um filme de BDD foi depositado empregando-se CVD sobre VACNTs preparados previamente pelo método MWCVD. Várias morfologias para o filme de BDD poroso foram obtidas a partir do controle das condições de síntese do substrato de VACNT. A superfície nanoestruturada porosa de BDD-VACNT apresentou área superficial 450 vezes maior do que aquela verificada para um eletrodo de BDD convencional (superfície plana), sugerindo a potencialidade analítica do material obtido para determinações eletroquímicas diversas.

1.1.2 Carbono tipo-diamante

Carbono tipo-diamante (DLC, do inglês “*diamond-like carbon*”) é uma forma interessante de carbono amorfo contendo átomos de carbono com hibridação sp^3 e sp^2 , com teores relativos de cada hibridização variável de acordo com as condições experimentais de síntese¹⁹. Na Figura 1.3 encontra-se representada a estrutura típica do DLC composta por átomos de carbono sp^3 e sp^2 contrastada com aquelas do diamante (C sp^3) e grafite (C sp^2). Um sítio de carbono sp^3 faz uso dos quatro elétrons de valência para formar ligações fortes do tipo σ com átomos de carbono adjacentes, dando origem a sítios tetraédricos. No caso de um sítio de carbono sp^2 , três elétrons de valência participam de ligações σ , que orientados no plano dão origem a sítios de geometria trigonal planar, enquanto o quarto elétron de valência em um orbital 2p não hibridizado se emparelha lateralmente com outro orbital 2p de um átomo de carbono adjacente, formando uma ligação mais fraca do tipo π .

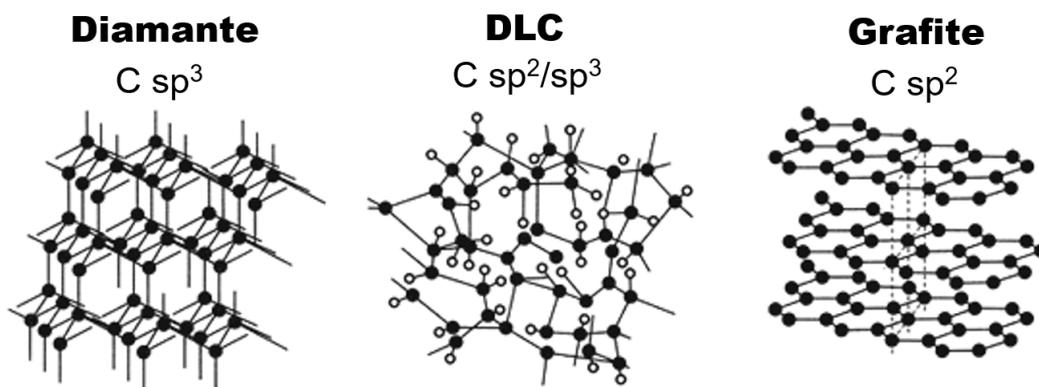


FIGURA 1.3 – Estrutura das formas alotrópicas de carbono diamante, DLC e grafite.

Os sítios de carbono sp^3 e sp^2 se arranjam de forma a prover a estrutura química de menor energia, e a análise desta condição para o caso do DLC resulta em uma estrutura do tipo “cluster”. Neste caso, os sítios de C sp^2 com ligações duplas C=C se combinam formando anéis de 6 membros planares contendo elétrons π deslocalizados (anéis benzênicos), e o conjunto de anéis benzeno constituem clusters gráfiticos que permanecem ligados a uma matriz de

C sp^3 ²⁰. Este aspecto do arranjo estrutural do DLC pode ser observado pelo esquema apresentado na Figura 1.4 (a). A estrutura eletrônica dos filmes de DLC pode ser representada pelo espectro de estados de densidade eletrônica mostrado na Figura 1.4 (b). O nível de Fermi (E_F) separando os estados preenchidos e vazios é localizado em $E = 0$. Os orbitais ligantes σ e antiligantes σ^* formam os estados de ligação σ preenchidos e σ^* vazios nas bandas de valência e de condução, com um *band-gap* de pelo menos 5 eV¹⁹⁻²¹. Por outro lado, os orbitais ligantes π e antiligantes π^* formam os estados de ligação π preenchidos e π^* vazios nas bandas de valência e de condução, localizados entres os estados σ e σ^* compondo, desta forma, os estados de borda das bandas de valência e de condução. Com isso, o par de estados vazio e preenchido π - π^* controla o *band-gap* dos filmes de DLC¹⁹⁻²¹.

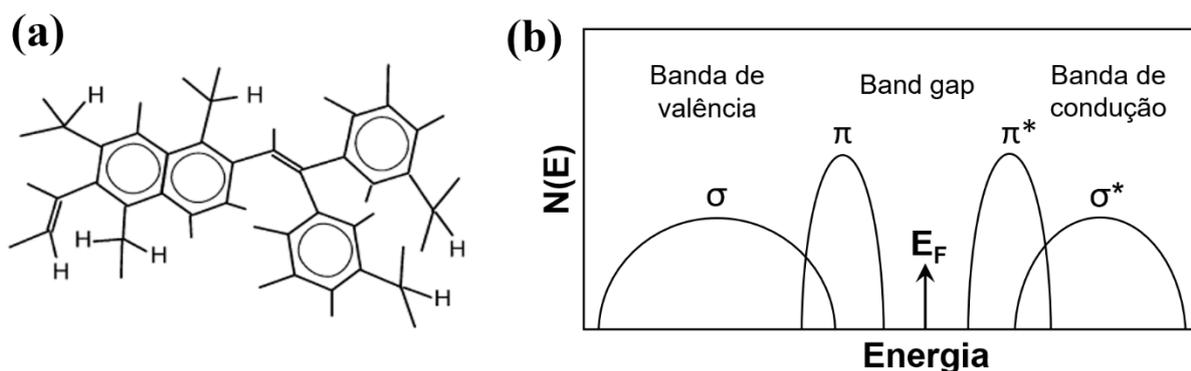


FIGURA 1.4 – (a) Esquema dos clusters de Csp^2 (Reproduzido da referência¹⁹ com permissão da Elsevier). (b) Diagrama de estados σ e π para o DLC.

As estruturas química e eletrônica brevemente descritas, controlam as propriedades físicas e químicas do DLC. Filmes de DLC possuem propriedades semelhantes àquelas observadas para o diamante, como inércia química, alta estabilidade mecânica e resistência elétrica muito elevada, mas com a vantagem de poderem ser depositados a temperaturas mais baixas (< 200 °C)²². Portanto, como o diamante, filmes de DLC também apresentam comportamento isolante, o que limita seu uso para algumas aplicações

eletroquímicas, como o caso da eletroanalítica. Para contornar o caráter isolante dos filmes de DLC várias estratégias têm sido reportadas, sendo a maioria destas consistindo no uso de agentes dopantes²³⁻²⁷. Entretanto, uma opção alternativa ao uso de dopantes, seria incorporar nanotubos de carbono na estrutura dos filmes de DLC durante a deposição destes, eliminando a necessidade do uso de procedimentos para dopagem dos filmes de DLC e com a geração de um material totalmente de carbono conciliando as propriedades condutivas dos nanotubos de carbono e as vantagens físicas e químicas do DLC. Ademais, o uso de VACNT como substrato, possibilita a formação de filmes de DLC altamente porosos, o que é de grande relevância para o alcance da maior área eletroquimicamente ativa possível.

Embora seja esta uma estratégia muito interessante, poucos trabalhos têm sido desenvolvidos onde o foco foi produzir o material compósito de CNTs e DLC, e utilizá-lo como material de eletrodo. Na verdade, a maior parte dos estudos apresentados sobre a investigação desta arquitetura, DLC-CNTs, estão centrados na investigação das propriedades mecânicas do novo material de carbono^{28,29}. Desta forma, o uso de filmes combinando DLC e nanotubos de carbono como material de eletrodo para aplicações eletroanalíticas é um campo aberto em potencial para ser explorado.

1.1.3 Negro de fumo

Negro de fumo (CB, do inglês “*Carbon black*”) é um nanomaterial condutivo de carbono de baixíssimo custo (em média R\$ 4,00 por kg), sendo as nanopartículas de CB compostas por uma estrutura amorfa e quase grafítica, com diâmetro médio de partícula variando de 3,0 a 100 nm. Uma das características das nanopartículas de CB é a formação de agregados de morfologia semiesférica, que por sua vez dão origem a aglomerados de dimensões superiores. Na Figura 1.5 é apresentado esquematicamente as

nanopartículas, agregados e aglomerados de CB, respectivamente. O CB é utilizado em diversas áreas tecnológicas, incluindo seu uso em tintas de impressora, reforços para borracha, aditivo para materiais plásticos condutores e como pigmento em tintas. O CB pode ser produzido por vários processos, incluindo os processos *furnace*, *channel* e *acetylene*^{30,31}. Dentre estes, o processo *furnace* é o mais importante, responsável por mais de 80% da produção mundial de CB.

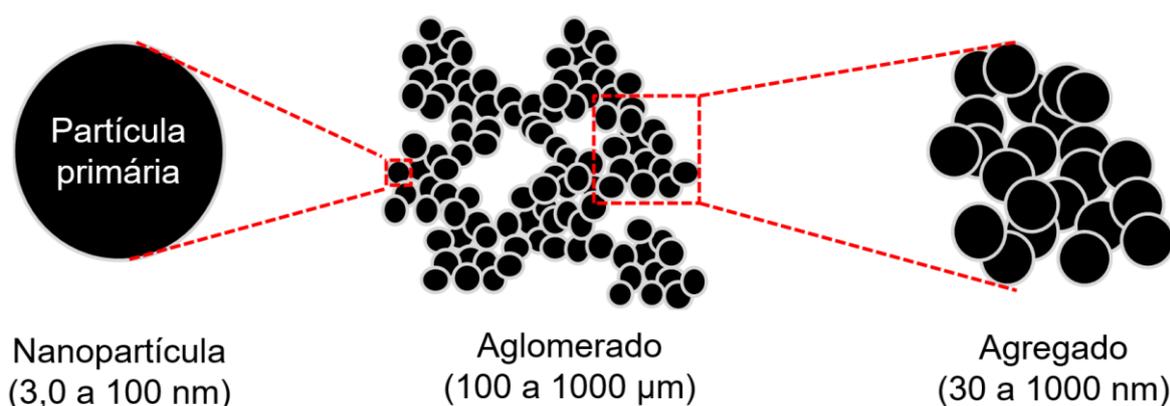


FIGURA 1.5 – Representação esquemática das nanopartículas de CB e respectivas estruturas de agregados e aglomerados formados.

A soma de características estruturais e elétricas/eletrônicas, habilidade para produção de dispersões estáveis sem a necessidade por procedimentos sofisticados, e o fato de ser um material de custo extremamente baixo, torna o CB um interessante nanomaterial para o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos. Usualmente, o CB é empregado na fabricação de eletrodos modificados na forma de filmes deste nanomaterial ou baseados em compósitos. Além disso, este nanomaterial pode ser facilmente modificado com outros materiais, como nanopartículas metálicas³² e polímeros³³, o que é uma propriedade interessante para o design de diferentes arquiteturas de sensores.

O desempenho eletroquímico e analítico de eletrodos de trabalho baseados no CB é comparável àquele de eletrodos construídos ou modificados

com materiais de carbono bem conhecidos e explorados, como nanotubos de carbono, fulereno e grafeno. Considerando, por exemplo, a determinação eletroquímica do neurotransmissor dopamina, é possível comparar os parâmetros analíticos obtidos empregando-se sensores eletroquímicos modificados com estes diferentes nanomateriais de carbono a partir de resultados da literatura. Fazendo-se uso de procedimentos similares de modificação de um eletrodo base de carbono vítreo, sensores eletroquímicos para determinação de dopamina baseados em grafeno, nanotubos de carbono, fulereno C₆₀ e CB foram reportados por Sheng et al.³⁴, Habibi e Pournaghi-Azar³⁵, Zhang *et al.*³⁶ e Vicentini *et al.*³⁷. Em todos os trabalhos mencionados, explorando-se técnicas voltamétricas, amplas faixas lineares de concentração foram verificadas e os seguintes valores de limite de detecção obtidos: $2,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ (sensor de grafeno)³⁴, $3,1 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ (sensor de nanotubos de carbono)³⁵, $7,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (sensor de C₆₀)³⁶ e $5,24 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (sensor de CB)³⁷. Comparando-se os limites de detecção obtidos em cada caso, é interessante notar que o sensor à base de CB proporcionou um limite de detecção na mesma ordem de concentração e inferior do que aqueles alcançados se utilizando como nanomaterial de carbono os nanotubos de carbono, fulereno C₆₀ e CB.

1.1.4 Líquidos iônicos

Líquidos iônicos (IL, do inglês “Ionic Liquid”) pertencem a um grupo especial de eletrólitos, constituídos de íons assimétricos de cargas opostas e que se encontram em fase líquida a temperaturas menores que 100 °C^{38,39}. Estes materiais exibem um conjunto de propriedades físicas e químicas relevantes, com destaque para a estabilidade química e térmica, alta condutividade iônica, solubilidade em vários solventes de interesse, afinidade

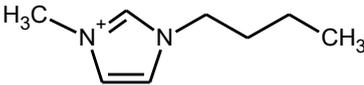
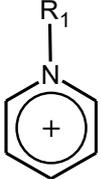
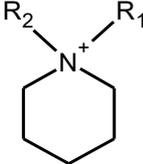
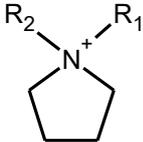
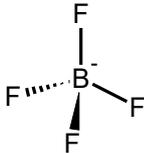
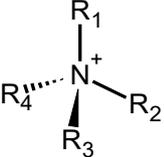
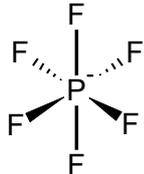
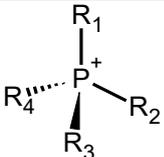
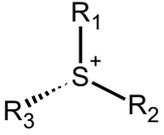
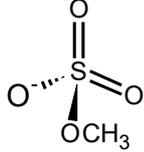
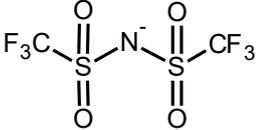
com diferentes compostos, volatilidade negligenciável, viscosidade moderada e alta polaridade⁴⁰.

A definição de IL baseia-se essencialmente no ponto de fusão destes compostos, para a sua diferenciação em relação aos sais fundidos. Os pontos de fusão dos ILs são inferiores a 100 °C, em contraste com os pontos de fusão elevados dos sais inorgânicos, tipicamente da ordem de 1000 °C. Os ILs são compostos de natureza orgânica, sendo o cátion volumoso combinado com um ânion de pequeno tamanho molecular, resultando em uma fraca atração eletrostática entre os íons, com predomínio de interações do tipo de van de Waals, ligação de hidrogênio e π - π ⁴¹. A grande diferença de volume entre o cátion e o ânion impede que estes se organizem em uma estrutura cristalina como em um sólido iônico comum e, assim, os íons de um IL encontram-se desorganizados e a maioria dos ILs são líquidos à temperatura ambiente⁴².

Diversas estruturas de ILs têm sido reportadas. Na Tabela 1.1 é apresentada uma compilação dos principais cátions e ânions utilizados na composição de ILs. É interessante notar que diferentes cátions e ânions podem ser combinadas para formar um IL, e ainda modificadas covalentemente com grupos funcionais específicos. A estrutura modular de um IL assegura que as suas propriedades físicas e químicas possam ser facilmente adaptadas e controladas pela modificação das espécies catiônica e/ou aniônica⁴³. Dentre as várias propriedades que podem ser alteradas desta forma, inclui-se o próprio ponto de fusão, viscosidade, densidade, solubilidade e hidrofobicidade⁴³.

As propriedades interessantes dos ILs como alta condutividade, ampla janela de potenciais de trabalho e versatilidade para formação de filmes sobre diferentes superfícies eletródicas, tem estimulado a sua aplicação na preparação de sensores e biossensores eletroquímicos⁴². Neste sentido, o uso de ILs abrange o desenvolvimento de sensores e biossensores potenciométricos, voltamétricos e amperométricos^{42,44}.

TABELA 1.1 – Cátions e ânions mais comumente utilizados na composição de ILs. (Adaptada de Vicentini et al.⁴¹)

Cátions		Ânions	
Imidazol		Brometo	Br^-
1-Butil-3-metilimidazol (BMIM)		Cloreto	Cl^-
Piridínio		Nitrato	NO_3^-
Piperidínio		Tiocianato	SCN^-
Pirrolidínio		Tetrafluorborato	
Tetraalquilamônio		Hexafluorofosfato	
Tetraalquilfosfônico		Dicianamida	$\text{N}\equiv\text{C}-\text{N}^--\text{C}\equiv\text{N}$
Trialquilsulfônico		Metilsulfato	
		Bis(trifluormetil sulfonilimida)	

$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ e R_4 = Grupos alquílicos ou H.

1.2 Dihexadecilhidrogenofosfato (DHP)

O dihexadecilhidrogenofosfato (DHP, do inglês “dihexadecyl hydrogen phosphate”) é um surfactante formado por um grupo polar fosfato ligado a duas cadeias carbônicas apolares contendo 16 átomos de carbono cada⁴⁵. A estrutura química do DHP pode ser visualizada na Figura 1.6 (a). O DHP é bastante versátil, sendo capaz de formar dispersões estáveis tanto em meio aquoso quanto em meio orgânico. No contexto da preparação de eletrodos modificados para fins eletroanalíticos, uma prática comum é o preparo de dispersões a partir da mistura de 1 mg de DHP e 1 mL de água (concentração de DHP = 1 mg mL⁻¹) seguido do tratamento da mistura obtida em banho de ultrassom para a completa dispersão do DHP. Além disso, um modificador adicional, como nanotubos de carbono ou nanopartículas metálicas, é também incluído na composição da dispersão de forma a obter filmes nanoestruturados. Após isto, um volume definido da dispersão aquosa de DHP e nanomaterial de interesse é depositado sobre a superfície de um eletrodo de trabalho base, e o volume de solvente é deixado evaporar a temperatura ambiente. Fazendo-se uso deste procedimento simples, um filme homogêneo, aderente e estável de DHP incorporando o nanomaterial selecionado é obtido. Acredita-se que a obtenção do filme de DHP com as propriedades de interesse mencionadas, se deve à formação de uma estrutura estendida composta por várias unidades de DHP que se mantêm interligadas por ligações de hidrogênio. Este conceito é ilustrado na representação da Figura 1.6 (b). Com base nisso, os filmes de DHP tem sido amplamente empregados na preparação de sensores e biossensores eletroquímicos⁴⁶, incorporando diferentes nanomateriais, como nanotubos de carbono^{47,48}, grafeno⁴⁹, CB⁴⁵, nanopartículas de ouro^{50,51}, nanopartículas de platina⁵² e nanopartículas de óxido de níquel⁵³.

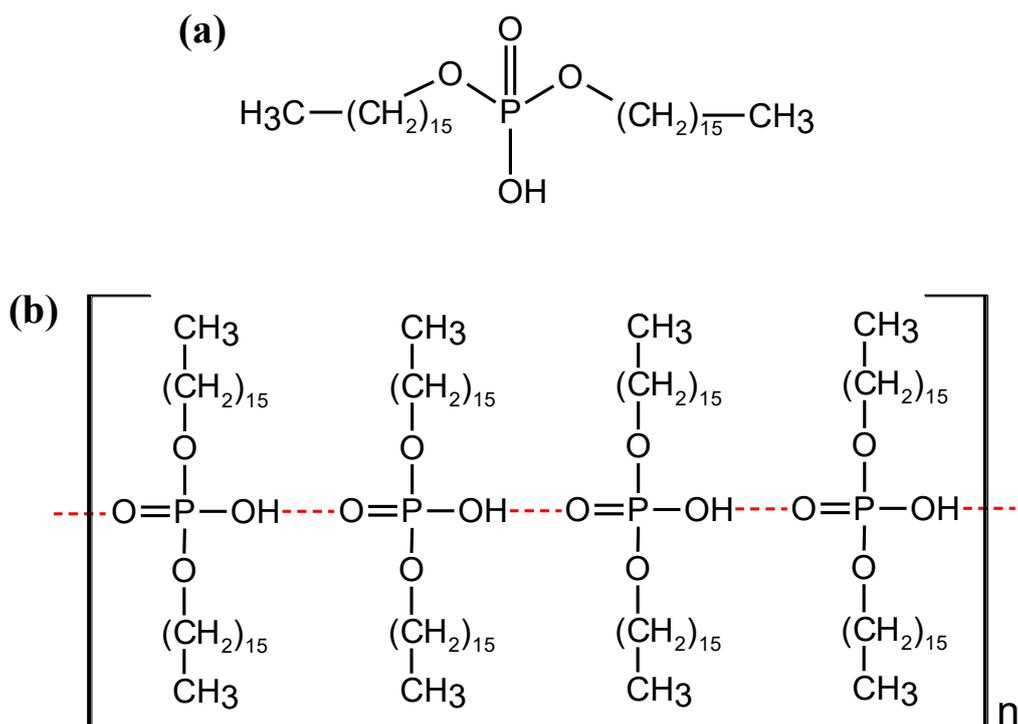


FIGURA 1.6 – (a) Estrutura química do DHP. (b) Possível estrutura de um filme de DHP formado via ligações de hidrogênio.

1.3 Quitosana

A quitosana é um bio-polímero obtido quimicamente a partir da quitina, um bio-polímero extraído do exoesqueleto de insetos e crustáceos por processos químicos de desmineralização e desproteínização^{54,55}. A disponibilidade de quitina e, conseqüentemente, de quitosana, é abundante, pois milhares de toneladas de carapaças de crustáceos são eliminadas como resíduos pela indústria pesqueira todos os anos. A estrutura química da quitosana baseia-se em unidades de *N*-acetil-*D*-glucosamina unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4). A quitosana é preparada a partir da quitina por uma reação de desacetilação. Nas Figuras 1.7 (a) e (b) são contrastadas as estruturas químicas destes dois bio-polímeros.

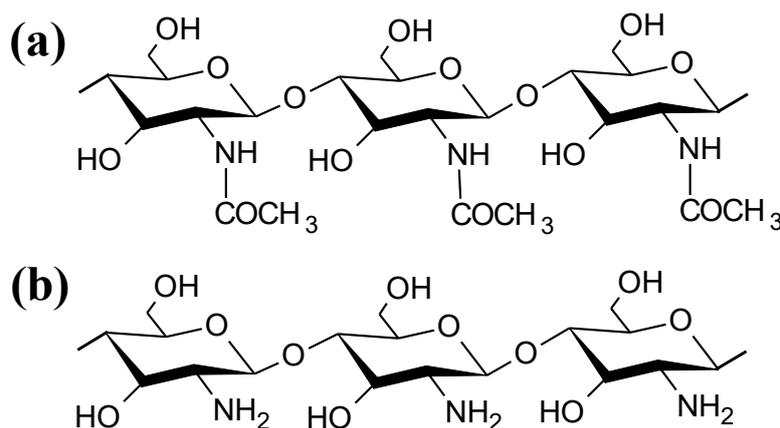


FIGURA 1.7 – Estrutura química idealizada da (a) quitina e (b) quitosana.

A quitosana é atrativa para aplicações diversas, levando-se em conta as suas propriedades físico-químicas como não-toxicidade, biocompatibilidade, estabilidade química e resistência mecânica. Devido a este conjunto de propriedades, juntamente ao fato de que muitos grupos hidroxila e amino encontram-se disponíveis ao longo da estrutura da quitosana, este biopolímero tem encontrado utilidade em diferentes setores, como no tratamento de águas e em indústrias farmacêuticas e bioquímicas.

No contexto da química eletroanalítica, a quitosana pode ser explorada de várias formas. Em um primeiro exemplo prático, as propriedades de adsorção de diferentes cátions metálicos da quitosana, levou ao desenvolvimento de eletrodos de pasta de carbono (CPE, do inglês “Carbon Paste Electrode”) modificada com quitosana para a detecção de metais como Pb^{2+} ⁵⁶, Cd^{2+} ⁵⁷, Hg^{2+} ⁵⁷ e Cu^{2+} ⁵⁸ em níveis de traço. Os grupos funcionais, especialmente amino, na estrutura da quitosana funcionam como sítios para adsorção via complexação destes íons metálicos com constantes de formação relativamente altas⁵⁹. A partir da complexação, uma quantidade maior de íons do analito pode ser pré-concentrada sobre a superfície eletródica, resultando em uma corrente de redissolução anódica significativamente superior àquela verificada para eletrodos de pasta preparados sem o uso de quitosana. Em outra abordagem, a quitosana é explorada na preparação de filmes sobre superfícies

eletródicas tradicionais incorporando algum agente modificador de interesse, de forma a prover um eletrodo modificado com propriedades eletroquímicas aprimoradas, como melhor taxa de transferência de elétrons e área superficial. A quitosana pode ser solubilizada em meio aquoso na presença de um ácido orgânico fraco⁵⁴. Assim, uma prática comum é realizar a dissolução da quitosana em meio de ácido acético diluído (por exemplo 1,0 % v/v). A partir disso, a um volume conhecido de quitosana é misturada a uma massa ou volume conhecido do modificador de interesse, e a mistura é mantida sob em um banho de ultrassom para obtenção de uma dispersão homogênea e estável, que pode, em seguida, ser diretamente aplicada para modificação da superfície do eletrodo base de interesse. Geralmente, além da quitosana e o agente modificador, também é adicionado um agente de reticulação, para reticulação da quitosana seja pelo grupo hidroxila ou amino, ou ambos. Isto geralmente é feito para melhoria da estabilidade mecânica e química do filme de quitosana, por exemplo, em soluções de amostras ácidas. Entretanto, deve-se saber que a concentração de quitosana para o preparo das dispersões é um fator crítico, e deve ser considerada como um fator a ser otimizado. A concentração ideal proverá um filme estável, homogêneo e reproduzível e sem apresentar prejuízos à resposta eletroquímica do eletrodo modificado devido a um efeito bloqueador da transferência de elétrons^{60,61}. A quitosana tem sido aplicada com sucesso para o preparo de filmes de nanotubos de carbono^{62,63}, grafeno^{64,65} e vários outros nanomateriais.

1.4 Analitos de interesse

1.4.1 Paracetamol, codeína e cafeína

Paracetamol (PAR, ou acetaminofeno, Figura 1.8) é um fármaco de ação antipirética e analgésica, amplamente receitado para o tratamento de febre,

dores de cabeça, dores musculares e outras⁶⁶⁻⁶⁹. Quando administrado nas doses terapêuticas, o paracetamol não exibe efeitos colaterais prejudiciais, e pode ser considerado como uma droga segura^{68,70}. Todavia, o consumo crônico ou mesmo a overdose por paracetamol, pode acarretar o acúmulo de metabólitos tóxicos nos rins e fígado, ocasionando o mal funcionamento destes órgãos^{71,72}. O paracetamol é comumente consumido em combinação com outros fármacos, especialmente codeína e cafeína. A codeína (COD, Figura 1.8) é um fármaco da família dos opióides com atividade analgésica e antitussígena, prescrito para o tratamento de tosse crônica e alívio de dores. Uma desvantagem séria do uso contínuo da codeína é a possibilidade da ocorrência de dependência química⁷³⁻⁷⁶. A cafeína (CAF, Figura 1.8) é um estimulante natural, e é extensivamente utilizada como agente estimulante em produtos comerciais energéticos, suplementos alimentares e formulações farmacêuticas^{77,78}. A incorporação de cafeína em formulações de analgésicos é uma prática comum devido à sua atividade diurética⁷⁹⁻⁸¹.

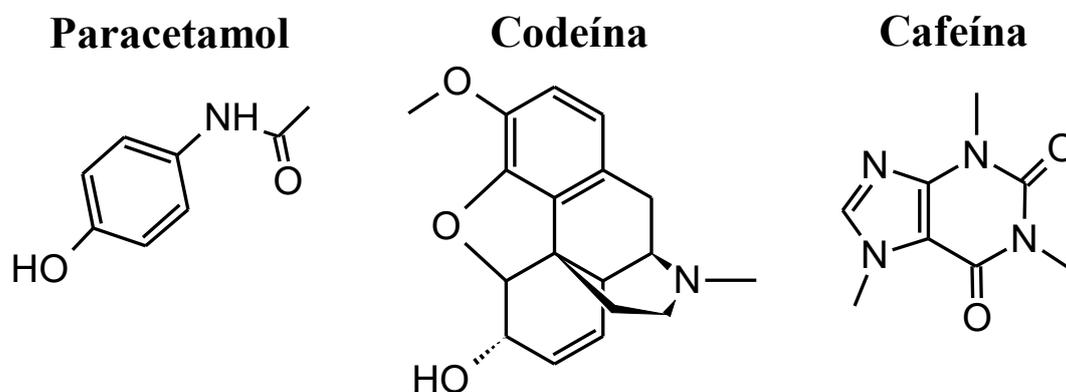


FIGURA 1.8 – Fórmulas estruturais do paracetamol, codeína e cafeína.

Considerando-se a importância e consumo amplo em todo o mundo, a identificação e quantificação destes fármacos em produtos farmacêuticos e em matrizes de fluidos biológicos, possui relevante importância analítica. A determinação simultânea destes analitos foi reportada anteriormente pelo uso de um método cromatográfico⁸². Em contrapartida, os métodos eletroanalíticos

podem ser explorados para a determinação simultânea destes compostos com vantagens importantes incluindo o emprego de equipamentos de menor custo, rotinas de trabalho mais simplificadas e minimização do consumo de reagentes e da geração de resíduos.

1.4.2 Ramipril

Ramipril (RAM, Figura 1.9) é um inibidor da enzima conversora de angiotensina, atuando como fármaco anti-hipertensivo^{83,84}. RAM pode melhorar a função endotelial e, conseqüentemente, auxiliar a prevenir homeostase metabólica nas formas de diabetes e obesidade⁸⁵. De fato, RAM é uma pró-droga e o seu principal metabólito ramiprilato, gerado no organismo pela clivagem de uma ligação éster, é o principal responsável pelo seu mecanismo de ação⁸³. Após a ingestão oral, RAM atinge um máximo de concentração no plasma em 8h, com 2/3 de RAM eliminado pelos rins e 1/3 de RAM eliminado pelo fígado⁸³. A determinação deste fármaco em formulações farmacêuticas e fluídos biológicos é importante para o controle de qualidade e ensaios de farmacocinética. Os métodos eletroanalíticos configuram-se como métodos alternativos potenciais para a análise rápida, com baixo consumo de reagentes e geração de resíduos, menor custo de instrumentação e simplicidade operacional^{1,39}. A determinação eletroquímica de RAM tem sido reportada utilizando-se métodos polarográficos explorando-se a eletrorredução desta molécula^{86,87} e via eletrooxidação empregando um sensor voltamétrico baseado em diamante dopado com boro⁸⁸.

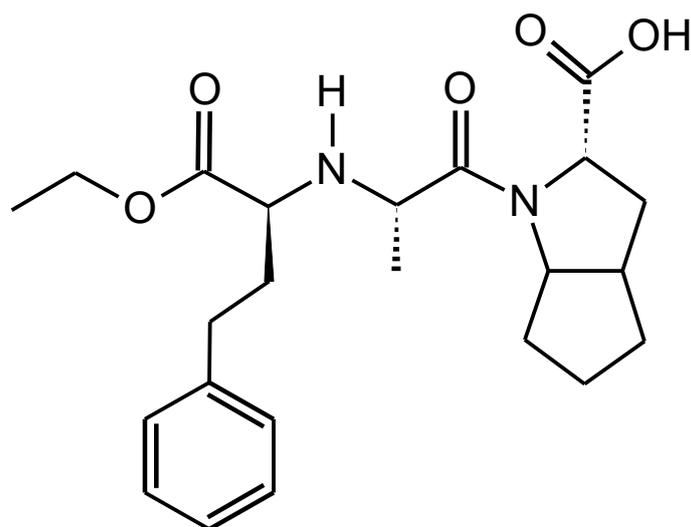


FIGURA 1.9 – Fórmula estrutural da molécula de ramipril.

1.4.3 Corante allura red

Uma prática muito comum na indústria de alimentos é a adição de substâncias aditivas para conferir aroma, cor e/ou sabor ao produto final. Uma das principais preocupações é a aparência do produto e, obviamente, este aspecto inclui a coloração do produto. A aparência é um fator decisivo no sucesso da comercialização de determinado produto aos consumidores. Desta forma, um número significativo de corantes artificiais encontra-se disponível como aditivos para fornecer a aparência desejada. O allura red (AR, Figura 1.10) é um corante hidrossolúvel pertencente ao grupo dos azo-compostos, caracterizado pela presença de uma ou mais ligações do tipo N=N entre anéis aromáticos⁸⁹. Este corante é utilizado em larga escala para a coloração artificial de diversos tipos de produtos alimentícios industrializados, tais como refrigerantes, gelatinas, produtos lácteos, doces, dentre outros produtos⁹⁰. Apesar do amplo uso e consumo deste corante, estudos conduzidos sobre os potenciais efeitos nocivos do AR sobre a saúde humana, indicaram que o consumo excessivo deste corante acarretaria em aumento das chances da ocorrência de alergias, hiperatividade em crianças, e até mesmo o desenvolvimento de câncer⁹¹. Por este motivo, os Estados Unidos da América e

muitos países da Europa baniram o uso deste corante em alimentos⁹². Conseqüentemente, o eficiente e rigoroso controle dos níveis de AR em amostras alimentícias é de fundamental importância. Na literatura, a determinação deste corante tem sido rotineiramente realizada por cromatografia líquida de alta eficiência^{93,94}, espectrofotometria UV-Vis^{95,96} e eletroforese⁹⁷. Um método alternativo para a determinação de AR pode ser otimizado explorando-se as técnicas voltamétricas pulsadas de elevada sensibilidade e detectabilidade analítica.

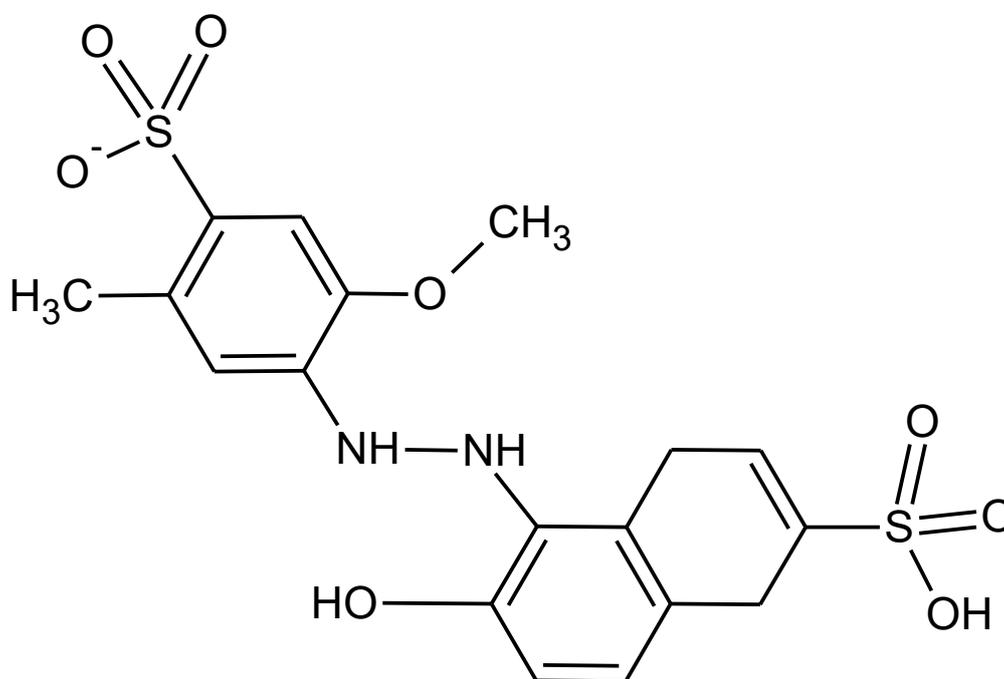


FIGURA 1.10 – Fórmula estrutural da molécula de allura red.

1.4.4 Bisfenol A

Bisfenol A (BPA, do inglês “*Bisphenol A*”, Figura 1.11) é um composto químico obtido pela combinação de dois mols de fenol com um mol de acetona em processos industriais⁹⁸. BPA tem sido produzido em larga escala, 90% como monômero a ser empregado para produção de policarbonato, resinas epóxi, resinas de poliéster estireno e retardantes de chamas⁹⁹. Os produtos finais

são aplicados, por exemplo, como filmes protetores de latas, aditivos em papéis termicamente estáveis e antioxidantes em plásticos⁹⁹. A demanda por BPA é muito grande e cada vez maior. Como fato curioso, a produção de BPA nos Estados Unidos da América no ano de 1964 foi de 42 toneladas, passando para mais de 1,0 milhão de toneladas no ano de 2003¹⁰⁰, em outras palavras, em 40 anos, a demanda por BPA aumentou mais de 20000 vezes.

Existe uma preocupação crescente sobre os possíveis efeitos do BPA sobre a saúde humana, animal e ambiental. A inserção de BPA no meio ambiente pode ocorrer durante os processos industriais ou mesmo a partir de estações de tratamento de esgoto municipais, lixiviação de aterros sanitários, combustão de lixo doméstico ou degradação natural de materiais plásticos^{99,100}. O BPA é considerado um poluente pseudo-persistente, visto que possui tempo de vida relativamente curto no ambiente. Entretanto, a sua reposição contínua a partir das diferentes fontes de contaminação faz com que o mesmo seja encontrado em determinado nível de concentração de forma permanente¹⁰⁰. Devido à sua baixa pressão de vapor, o BPA é pouco volátil, e possui solubilidade moderada em meio aquoso. Sendo pouco volátil, menos de 1% do teor de BPA encontrado no ambiente se refere ao BPA atmosférico e, também, considera-se que qualquer quantidade de BPA presente na atmosfera seria rapidamente degradada via foto-oxidação. Assim, os principais compartimentos ambientais no qual o BPA pode ser encontrado incluem águas naturais (mais de 50%), solos e sedimentos¹⁰⁰. Como o BPA é encontrado em uma ampla gama de produtos diários, como embalagens plásticas de alimentos, a exposição humana a este composto químico também pode se dar pela própria dieta ou exposição dérmica.

O BPA age como um disruptor endócrino. O sistema endócrino regula vários processos biológicos, como o desenvolvimento embrionário, diferenciação sexual, crescimento e digestão¹⁰⁰. Um disruptor endócrino é uma mistura de compostos ou um único composto químico exógeno que interfere

sobre estes processos seja por ligação ou bloqueio dos receptores hormonais, desencadeando assim uma série de efeitos adversos¹⁰⁰. Devido à sua atividade de disrupção endócrina, o BPA pode apresentar efeitos tóxicos multidirecionais em animais e em humanos. Há relatos sobre a perturbação provocada pelo BPA sobre a função de vários hormônios, acarretando redução de fertilidade, alteração no teor de hormônios tireoidianos, alteração das funções hepática e imunológica e desenvolvimento de problemas cardíacos^{101,102}. Um caso ainda mais preocupante, é a exposição ao BPA por gestantes, o que pode levar ao aumento das chances de aborto ou nascimento prematuro e redução de peso do recém-nascido¹⁰¹. Além disso, a exposição prolongada ao BPA tem sido associada ao aumento dos riscos de obesidade, diabetes e desenvolvimento de câncer¹⁰³⁻¹⁰⁵. Considerando-se a importância comercial e toxicidade do BPA, o monitoramento contínuo deste composto em produtos comerciais e amostras ambientais configura-se como um desafio analítico muito relevante.

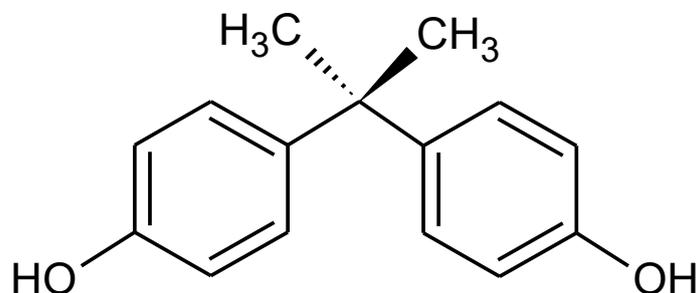


FIGURA 1.11 – Fórmula estrutural da molécula de bisfenol A.

1.4.5 Hidroquinona

A hidroquinona (H₂Q, Figura 1.12) é o principal composto utilizado como agente despigmentante em loções e cremes dermatológicos. O mecanismo de ação da hidroquinona não se encontra totalmente esclarecido na literatura, mas a principal hipótese centra-se na ação inibitória da H₂Q sobre a enzima tirosinase, a principal enzima responsável pela produção de melanina^{106,107}. O

amplo uso de H₂Q para fins dermatológicos é controversia¹⁰⁸, visto que vários efeitos colaterais tem sido relacionados ao uso excessivo deste princípio ativo, incluindo a ocronose exógena, dermatites, câncer de pele e diminuição da capacidade de cicatrização da pele¹⁰⁹. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) deixou de registrar produtos cosméticos contendo H₂Q em sua formulação desde 2007, permitindo o seu uso apenas em medicamentos da classe dos desmelanizantes, limitando a concentração de H₂Q em cremes dermatológicos em 4% (m/m)¹¹⁰. Assim, o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de hidroquinona em formulações de cremes dermatológicos é importante para o cumprimento da legislação vigente.

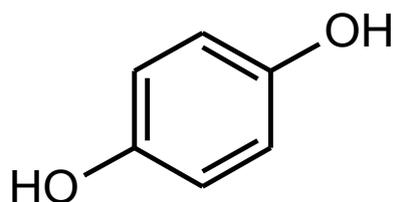


FIGURA 1.12 – Fórmula estrutural da molécula de hidroquinona.

CAPÍTULO 2

Objetivos

2.1 Objetivo geral

Neste trabalho de doutorado objetivou-se preparar e desenvolver a aplicação eletroanalítica de novas arquiteturas de sensores a base de carbono, a saber: eletrodos a base de DLC poroso e nanopartículas de CB.

2.2 Objetivos específicos

Para o cumprimento do objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram perseguidos:

➤ Preparar e caracterizar por técnicas microscópicas, espectroscópicas e eletroquímicas filmes de DLC porosos depositados sobre nanotubos de carbono verticalmente alinhados (compósito DLC:VACNT);

➤ Investigar a aplicação do eletrodo de DLC:VACNT para aplicações como sensor voltamétrico e amperométrico na determinação individual ou simultânea de espécies de interesse biológico e farmacêutico;

➤ Preparar e caracterizar morfologicamente e eletroquimicamente filmes contendo nanopartículas de CB imobilizadas sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês “*Glassy Carbon Electrode*”), e empregar os eletrodos modificados na determinação de analitos de interesse farmacêutico, biológico, alimentício e ambiental.

CAPÍTULO 3

Design e propriedades eletroquímicas de um eletrodo de carbono tipo-diamante poroso

3.1 Objetivos específicos

Objetivou-se nesta etapa do trabalho desenvolver uma nova arquitetura de carbono baseada na deposição de um filme de DLC sobre um substrato de VACNT. O material obtido é denominado DLC:VACNT, e possui elevada porosidade devido à morfologia do substrato de VACNT. As características de desempenho eletroquímico do DLC:VACNT como material eletródico foram investigadas em relação à resposta de espécies inorgânicas e orgânicas de conhecida resposta eletroquímica, sendo assim, consideradas como sondas redox. Tais espécies foram o hexacianoferrato (III) de potássio ($K_3Fe(CN)_6$), dopamina (DA), paracetamol (PAR) e epinefrina (EP). Os resultados apresentados neste capítulo encontram-se reportados na literatura com a seguinte referência: Tiago A. Silva, Hudson Zanin, Paul W. May, Evaldo J. Corat e Orlando Fatibello-Filho. “Electrochemical performance of porous diamond-like carbon electrodes for sensing hormones, neurotransmitters and endocrine disruptor”, *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 6, 21086–21092, 2014.

3.2 Parte experimental

3.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico, e as soluções preparadas em água ultrapura obtida em um sistema Milli-Q (Millipore[®], Bedford, MA) com resistividade superior a 18,2 M Ω cm.

3.2.2 Instrumentação

Um pHmetro Orion, modelo EA 940, equipado com um eletrodo combinado de vidro (contendo eletrodo de referência externo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)) foi utilizado para ajustar o pH das soluções. As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato PGSTAT-30 (Autolab, Eco Chemie) gerenciado pelo software GPES 4.9 (Eco Chemie). Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula eletroquímica de três eletrodos de compartimento único, volume igual a 25 mL e confeccionada em vidro Pyrex. Como eletrodo de trabalho foi empregado o eletrodo de DLC:VACNT. Como eletrodo de referência foi utilizado o eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e como eletrodo auxiliar foi empregada uma placa de platina de 0,5 cm de largura e 1 cm de comprimento fixada em um tubo de vidro contendo um fio de cobre para o contato elétrico.

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução JEOL6330 e FEI Inspect F50 operado a 10-20 kV. Os estudos de Espectroscopia Raman foram efetuados a temperatura ambiente empregando-se um sistema micro-Raman, usando-se excitação por laser de íon-argônio ($\lambda = 514,5$ nm), potência do laser de ~ 6 mW e um tamanho de ponta de ~ 15 μm . A análise dos dados de Espectroscopia Raman foi realizada utilizando-se o software *Fityk*.

3.2.3 Síntese dos filmes de DLC:VACNT e montagem do eletrodo de trabalho

VACNT foram inicialmente sintetizados e utilizados, em seguida, como substrato para a deposição do filme de DLC. VACNT foram sintetizados por deposição química de vapor assistida por microondas (MWCVD, do inglês “*Microwave Chemical Vapour Deposition*”) utilizando-se um reator com câmara de plasma de microondas de 2,45 GHz e 30 torr de pressão. Como substrato para

a deposição dos filmes de VACNT foi utilizada uma folha de Ti com dimensões $10 \text{ mm} \times 10 \text{ mm} \times 0,5 \text{ mm}$, recoberta com uma camada de Ni (10 nm) depositada por evaporação por feixe de elétrons. O substrato de Ti contendo a camada de Ni foi aquecido em um plasma de N_2/H_2 (10/90 sccm) de 350 a 800 °C por um período de 5 minutos, o que provocou a formação de nanoilhas de Ni que atuaram em seguida como partículas catalisadoras para o crescimento dos VACNT. Após a etapa de formação das partículas catalisadoras, foi inserido na câmara do reator o gás precursor CH_4 (vazão de 14 sccm) durante 1 min, mantendo-se a temperatura do substrato constante e igual a 800 °C. Este procedimento gerou VACNT com alta densidade espacial de nanotubos de carbono de aproximadamente 40 μm de comprimento e 40-50 nm de espessura. Em seguida, o substrato de Ti contendo os VACNT foi utilizado para a deposição de um filme de DLC, de forma a obter o compósito DLC:VACNT. Os filmes de DLC foram depositados utilizando-se um reator de deposição química de vapor assistida por plasma (PECVD, do inglês “Plasma-enhanced chemical vapor deposition”) alimentado com vapor de hexano e gás argônio a 0,1-0,3 torr e uma voltagem de descarga de -700 V e frequência de pulso de 20 kHz. Antes do crescimento dos filmes, *n*-hexano foi pulverizado sobre as amostras de VACNT e, em seguida, o plasma atingido sob vapor de hexano e argônio por 10 min. Uma amostra do eletrodo de DLC planar também foi preparada utilizando-se um substrato de silício polido, para servir como amostra controle. Para o preparo desta, o substrato de Si foi introduzido no reator PECVD e limpo usando uma atmosfera de plasma de argônio a 0,1 torr (vazão de Ar de 1 sccm) por 30 min. Em seguida, *n*-hexano foi pulverizado por 1 h na região do plasma via um bico direcionado para a superfície do substrato de forma a promover a deposição de um filme de DLC com 1 μm de espessura. O filme de DLC planar foi nomeado como DLC:Si. A vazão de Ar foi mantida durante todo o processo. Após a deposição, as amostras foram arrefecidas em alto vácuo (10^{-6} torr) por 3 h.

Para uso como eletrodo de trabalho, a placa de Ti contendo o compósito DLC:VACNT foi inserida em um adaptador (tarugo) constituído de um *O-ring* de vedação que também serviu para delimitar a área geométrica do eletrodo de trabalho em 0,44 cm² (Figura 3.1).

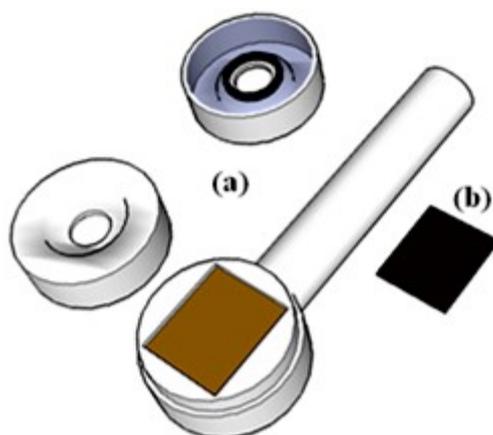


FIGURA 3.1 – (a) Representação esquemática do adaptador (tarugo) utilizado para a fixação do eletrodo de trabalho, contendo *O-ring* (anel de borracha) para vedação e delimitação da área geométrica em 0,44 cm², (b) DLC:VACNT.

3.2.4 Ensaios eletroquímicos

O comportamento eletroquímico do novo material eletródico à base de um filme poroso de DLC depositado sobre VACNT foi inicialmente explorado por voltametria cíclica utilizando-se como sonda eletroquímica o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. A partir destes ensaios foi possível obter a constante de transferência heterogênea de elétrons para o eletrodo DLC:VACNT.

Em seguida, o desempenho eletroanalítico do eletrodo de DLC:VACNT foi avaliado por voltametria cíclica ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$) para a determinação de DA, EP e PAR. As propriedades de transferência de elétrons bem como de detecção destas biomoléculas sobre o eletrodo de DLC:VACNT foram obtidas. Além disso, foi estudada a precisão das medidas empregando-se o eletrodo de DLC:VACNT.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Caracterização dos filmes de DLC:VACNT

Os VACNT foram sintetizados pelo método deposição química de vapor assistida por microondas (MWCVD), que tem garantido a produção eficiente de nanotubos de carbono perfeitamente alinhados em posição vertical em relação ao substrato de deposição. O alinhamento dos nanotubos de carbono obtido empregando-se este método se deve à formação das nanopartículas metálicas sobre o substrato de Ti durante a etapa de pré-tratamento, que catalisam a formação dos nanotubos de carbono, governando a orientação e o diâmetro dos nanotubos de carbono. As Figuras 3.2 (a-c) apresentam as imagens de MEV obtidas em diferentes ampliações para os VACNT produzidos. A partir destas imagens pode-se verificar que os nanotubos de carbono foram perfeitamente formados em posição perpendicular em relação ao substrato. Além disso, uma alta densidade de nanotubos de carbono foi obtida. O diâmetro dos VACNT formados pode ser determinado a partir da imagem de MEV obtida em alta resolução inserida na Figura 3.2 (c). A partir desta imagem foi observado que os VACNT têm diâmetro médio de ≈ 40 nm. Ademais, os VACNT apresentaram comprimento médio de 40 μm (Figura 3.2 (c)).

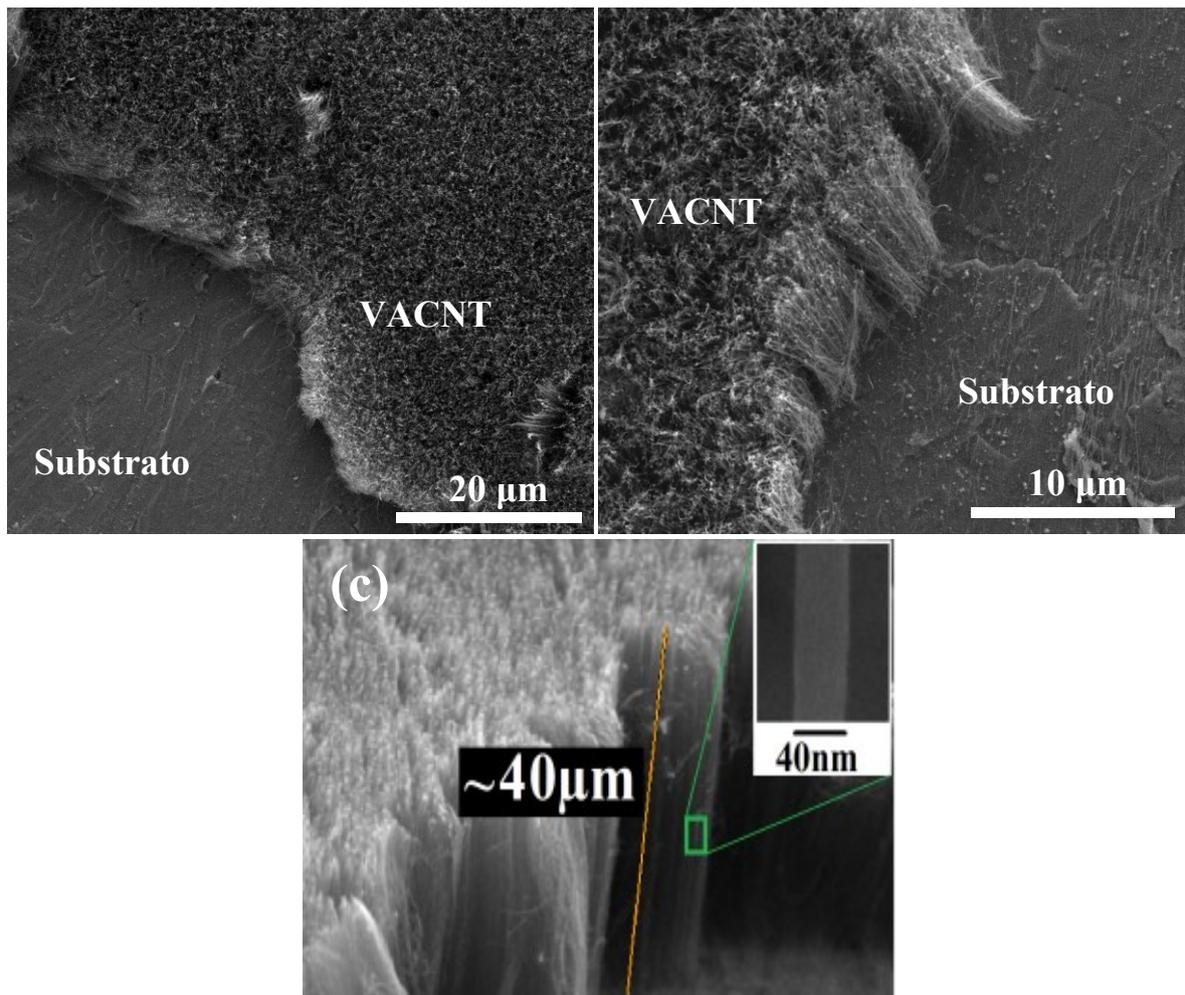


FIGURA 3.2 – (a, b) Imagem de MEV obtida para os VACNT com diferentes ampliações. (c) Imagem de MEV obtida para a região lateral dos VACNT (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society). Inseto: Imagem de MEV obtida em alta resolução para um VACNT.

Imagens de MEV coletadas para o filme DLC:Si e o compósito DLC:VACNT são apresentadas nas Figuras 3.3 (a-g). A morfologia da amostra controle DLC:Si revelou uma superfície planar, como esperado (Figura 3.3 (a)). A visualização superior do filme de DLC:VACNT indicou que após poucos minutos de deposição do filme de DLC as pontas dos VACNT se juntaram (Figuras 3.3 (b) e (d)). O revestimento de DLC promoveu a formação de anéis a partir da aglomeração das pontas dos VACNT. O tipo de microestrutura do filme de DLC poroso (pontas (*teepees*), favos de mel (*honeycombs*), cumes bidimensionais (*2-dimensional ridges*), ou teias de aranha (*spider-webs*))

depositado sobre filmes de VACNT depende essencialmente da densidade e comprimento dos VACNT, e para os VACNT utilizados neste trabalho, o filme de DLC:VACNT obtido possuiu uma estrutura predominantemente do tipo favos de mel.

Imagens de MEV obtidas em alta resolução revelaram detalhes dos vales e picos da microestrutura tipo favo de mel do filme DLC:VACNT (Figuras 3.3 (c, e-g)). Sobre as cristas das bordas dos anéis do “favo de mel” pôde-se observar uma acumulação de DLC, como mostrado nas Figuras 3.3 (c), (f) e (g). Verificam-se que algumas das cristas (Figura 3.3 (c)) são formadas por milhares de nanotubos encapsulados em conjunto pelo filme de DLC, enquanto outras cristas são formadas por 50-100 nanotubos (Figuras 3.3 (f) e (g)). Nos vales (Figuras 3.3 (b) e (d)), é possível ser observado que os VACNT mantiveram seu alinhamento mesmo após a cobertura pelo filme de DLC.

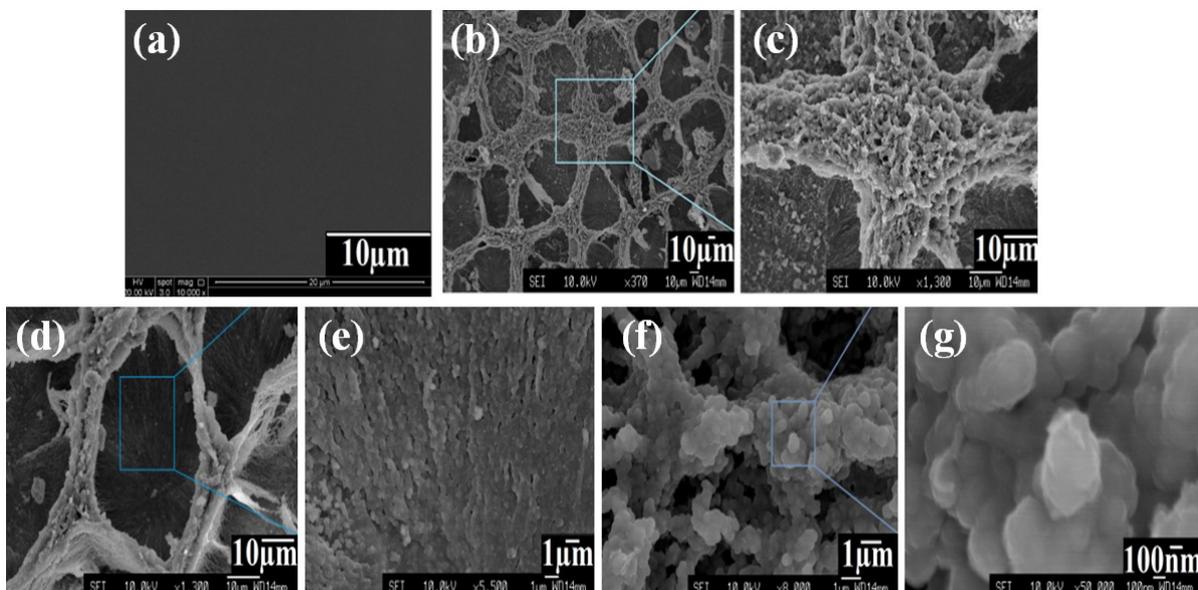


FIGURA 3.3 – Imagens de MEV obtidas para as amostras de (a) DLC:Si e (b-g) DLC:VACNT. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society).

Os espectros Raman obtidos para o compósito DLC:VACNT e os filmes de DLC:Si e VACNT como crescidos são apresentados nas Figuras 3.4

(a-c). O espectro obtido para o filme DLC:Si possuiu o perfil típico observado para filmes de carbono amorfo, apresentando duas bandas Gaussianas largas: a banda D centrada em 1340 cm^{-1} resultante do modo de respiração dos sítios de carbono sp^2 em anéis e não em cadeia, e a banda G centrada em $\sim 1537\text{ cm}^{-1}$ resultante do alongamento de qualquer par de sítios de carbono sp^2 presentes em anéis e cadeias^{112,113}. O espectro de primeira ordem registrado para o filme de VACNT apresentou dois picos pronunciados em 1357 cm^{-1} (banda D) e 1585 cm^{-1} (banda G). No caso de grafite ou nanotubos de carbono, a banda D é normalmente atribuída à desordem e imperfeição dos cristais de carbono e a banda G é atribuída a um dos dois modos E_{2g} correspondentes às vibrações de estiramento no plano basal (domínios sp^2) de cristais simples de grafeno¹¹⁴⁻¹¹⁶, e está relacionada a materiais grafíticos bem ordenados¹¹⁷. O pico D' (1622 cm^{-1}) também foi observado, e está relacionado à desordem da estrutura grafítica. O espectro Raman de segunda ordem obtido para a amostra VACNT (dado não mostrados) apresentou o pico G', confirmando a boa cristalinidade dos VACNT.

O espectro Raman obtido para o compósito DLC:VACNT é uma combinação das características dos espectros Raman dos filmes de DLC:Si e VACNT. Claramente, para o filme DLC:VACNT o pico referente à banda D dos VACNT encontra-se combinado com a mesma banda D larga observada para o filme DLC:Si, e a banda G mostrou uma forma larga, envolvendo a banda G do filme DLC:Si e os picos das bandas G e D' do filme VACNT. Estes resultados demonstraram que o filme de DLC não substituiu os VACNT, mas simplesmente recobriu os mesmos.

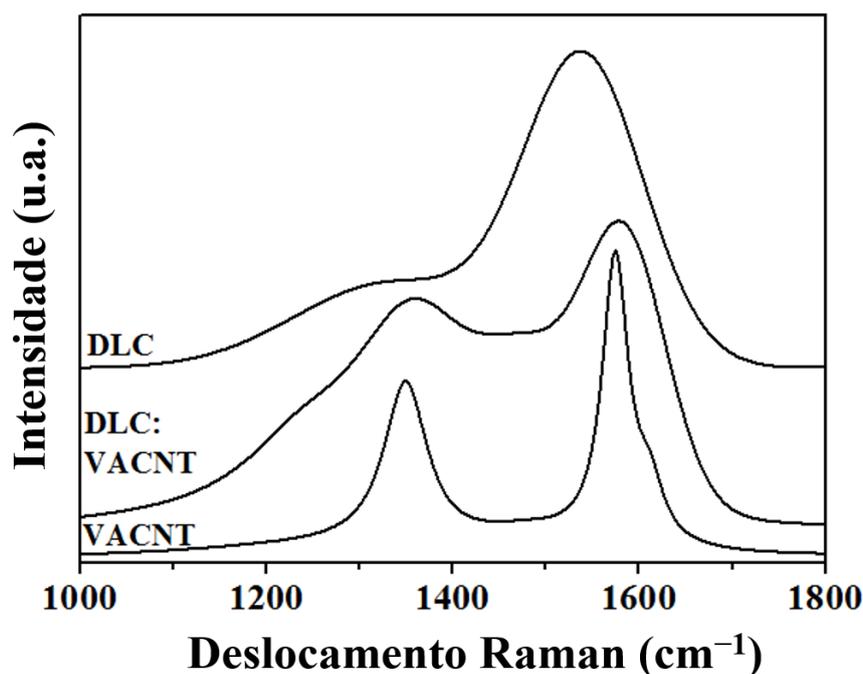


FIGURA 3.4 – Espectros Raman obtidos para os filmes de DLC:Si, DLC:VACNT e VACNT. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society).

3.3.3 Caracterização eletroquímica do eletrodo de DLC:VACNT

O comportamento eletroquímico do eletrodo à base de DLC:VACNT foi avaliado utilizando-se a sonda eletroquímica $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

Na Figura 3.5 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos de DLC:Si e DLC:VACNT em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Como pode ser observado, sobre o eletrodo de DLC:Si a sonda eletroquímica não apresentou qualquer resposta eletroquímica, em decorrência do comportamento praticamente isolante deste filme. Em contrapartida, quando o eletrodo de DLC:VACNT foi empregado, a sonda eletroquímica apresentou resposta eletroquímica, com comportamento quase-reversível e um valor de ΔE_p (diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico) igual a 83 mV, acima do valor teórico de 59 mV observado para um processo redox reversível envolvendo a transferência de 1 elétron. Este

resultado demonstrou a mudança drástica de condutividade do filme de DLC após a sua deposição sobre o filme condutor de VACNT como substrato, viabilizando a aplicação eletroquímica do compósito à base de DLC e VACNT.

Moreira *et al.*¹¹⁸ apresentaram recentemente uma teoria possível para explicar a condutividade de filmes de DLC depositados sobre VACNTs de alta área baseada na formação de solitons sobre a superfície do DLC poroso. Neste trabalho, imagens de TEM em alta resolução foram coletadas, demonstrando que os filmes de DLC possuem uma espessura variando entre 2 nm e 20 nm. Esta pequena espessura do filme de DLC poroso pode ser a origem da condutividade destes filmes comparativamente a filmes convencionais de DLC não condutivos. Da teoria quântica, o DLC consiste de uma combinação de orbitais sp^3 (carbono diamante, geometria tetraédrica) e sp^2 (carbono grafite, geometria trigonal plana) dispostos de tal maneira que, em filmes muito finos, muitas ligações permanecem pendentes ao longo do filme e ao longo da superfície/interface. Para minimizar a energia local, os átomos de carbono das ligações pendentes unem-se aos seus vizinhos de tal forma que uma onda viajante (um soliton) se forma na superfície. Por causa da concentração relativamente alta desses solitons, os elétrons ficam livres para se mover na superfície e através do filme. É provável que, como resultado, novos níveis de energia, como estados de armadilha (“*trap states*”), sejam formados ao longo da região de separação das bandas, para os quais elétrons podem ser facilmente promovidos, aumentando a condutividade. Um esquema simplificado do modelo soliton é apresentado na Figura 3.6.

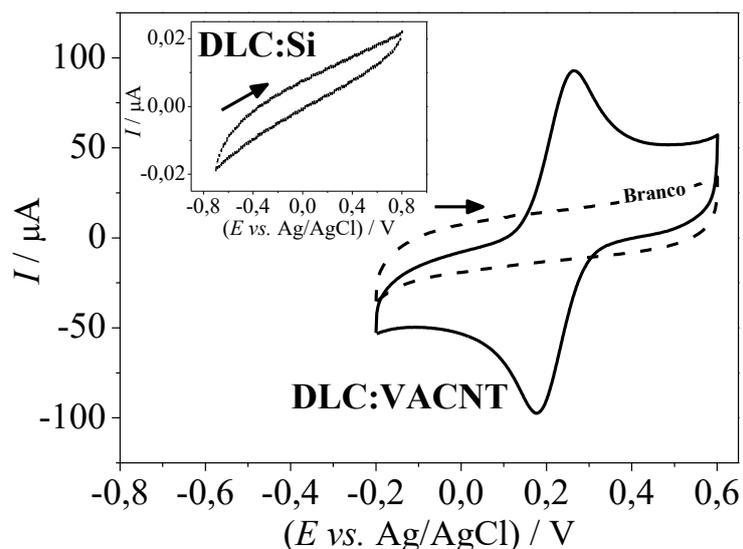


FIGURA 3.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ usando eletrodos de DLC:Si (voltamograma cíclico inserido) e DLC:VACNT. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

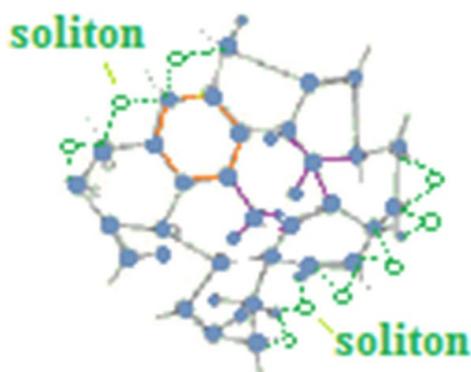


FIGURA 3.6 – Representação esquemática de alguns átomos de carbono com hibridação sp^2 e sp^3 do filme fino de DLC, indicando a formação de solitons na superfície. (Reproduzido de¹¹⁸ com permissão de Springer Nature).

Experimentos de voltametria cíclica conduzidos a diferentes velocidades de varredura foram realizados para a mesma sonda redox. Os voltamogramas registrados, bem como os gráficos de corrente de pico anódica e catódica (I_p) versus a raiz quadrada da velocidade de varredura ($\nu^{1/2}$) encontram-se nas Figuras 3.7 (a) e (b). Verificou-se que com o aumento da velocidade de varredura, ambas as correntes de pico variaram linearmente com a raiz quadrada

da velocidade de varredura de potencial, indicando que o transporte de massa por difusão controlou a corrente faradaica¹⁵.

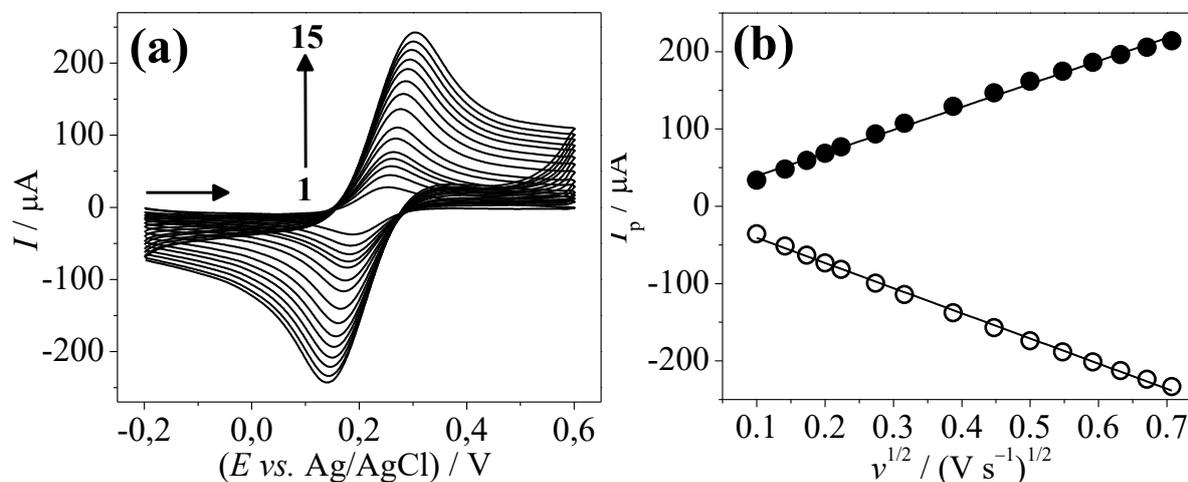


FIGURA 3.7 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (1: 10 – 15: 500 mV s^{-1}) para o eletrodo de DLC:VACNT em solução de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. **(b)** Gráfico com o registro de I_p vs. $v^{1/2}$ para correntes de pico anódica e catódica.

Tendo em vista o interesse em elucidar de forma mais detalhada o potencial de aplicação eletroquímica do material eletrodico proposto neste trabalho, seguiu-se para o cálculo da constante de transferência heterogênea de elétrons entre o eletrodo de DLC:VACNT e o par redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Os voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura (Figura 3.7 (a)) renderam informações importantes para o cumprimento deste objetivo. Analisando-se os voltamogramas da Figura 3.7 (a) verifica-se que com o aumento da velocidade de varredura de potencial, os potenciais de pico anódico foram deslocados para valores mais positivos enquanto os potenciais de pico catódico deslocaram-se para potenciais mais negativos, resultando em um aumento da separação de picos (ΔE_p). Para o cálculo da constante de transferência heterogênea de elétrons (k^0) para o eletrodo de DLC-VACNT foi utilizado o método de Nicholson¹⁹, amplamente empregado para o cálculo de

constantes de transferência de elétrons para sistemas quase-reversíveis controlados por difusão. Neste método, o valor de k^0 é obtido empregando-se a Equação 3.1:

$$\Psi = k^0 [\pi D n \nu F / (R T)]^{-1/2} \quad \text{Eq. 3.1}$$

sendo Ψ um parâmetro cinético, F a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), R a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T a temperatura termodinâmica ($298,15 \text{ K}$) e os demais termos já foram definidos anteriormente (Equação 3.1). O parâmetro cinético Ψ encontra-se tabelado de acordo com valores de ΔE_p a $298,15 \text{ K}$ para um processo envolvendo um elétron¹¹⁹. Os valores de Ψ também podem ser obtidos empregando-se a Equação 3.2 proposta por Lavagnini et al.¹²⁰ que relaciona de forma simples Ψ e os valores de ΔE_p :

$$\Psi = (-0,6288 + 0,0021n\Delta E_p) / (1 - 0,017n\Delta E_p) \quad \text{Eq. 3.2}$$

A partir dos valores calculados de Ψ , um gráfico de Ψ versus $32,79 \nu^{-1/2}$ foi obtido (Figura 3.8), a partir do qual k^0 pôde ser determinado. O fator $32,79$ representa o termo $[\pi D n F / (R T)]^{-1/2}$, calculado considerando-se $D = 7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$, $R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ e $T = 298,15 \text{ K}$. A equação da reta obtida para este gráfico (Equação 3.3) foi:

$$\Psi = 0,011 \nu^{-1/2} - 0,34 \quad (r = 0,990) \quad \text{Eq. 3.3}$$

Como o termo $[\pi D n F / (R T)]^{-1/2}$ já foi contabilizado, o coeficiente angular da equação da reta 3.3 representa diretamente o valor de k^0 , sendo, portanto, igual a $1,1 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$. A constante heterogênea de transferência de elétrons do eletrodo de DLC:VACNT foi em torno de 31 vezes maior que a mesma constante calculada para um CPE e 11 vezes maior do que a obtida para um eletrodo de carbono vítreo. Este resultado demonstra que o eletrodo à base

de DLC:VACNT apresenta um relevante potencial para aplicações diversas em eletroquímica, como nas áreas de eletrocatalise e sensores.

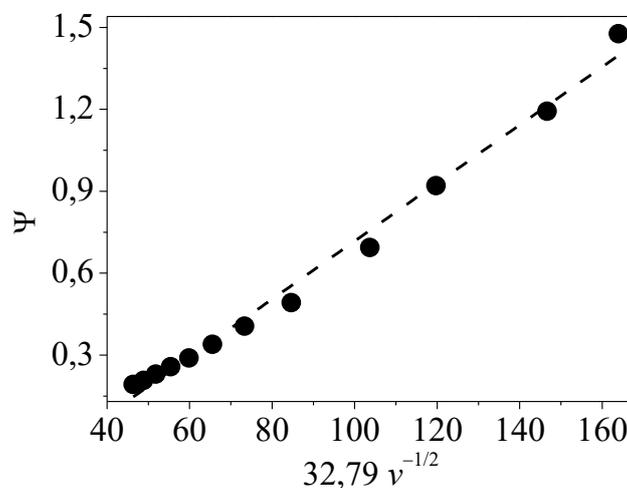


FIGURA 3.8 – Gráfico de Ψ vs. $32,79 v^{-1/2}$ obtido para o eletrodo de DLC:VACNT em solução de $K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

3.3.4 Resposta eletroquímica das moléculas dopamina, paracetamol e epinefrina sobre o eletrodo de DLC:VACNT

A influência da incorporação de nanotubos de carbono sobre o comportamento eletroquímico do filme de DLC foi, em seguida, explorado frente às biomoléculas de dopamina, paracetamol e epinefrina. Neste estudo, estas moléculas foram escolhidas pois apresentam resposta eletroquímica bem conhecida^{53,81}, permitindo que a performance analítica do novo material de eletrodo pudesse ser comparada com a de outros eletrodos reportados na literatura.

Experimentos de voltametria cíclica foram conduzidos sobre uma ampla faixa de velocidades de varredura de potenciais, de forma a investigar o processo de transferência de elétrons das moléculas selecionadas sobre o eletrodo de DLC:VACNT. Todos os ensaios de voltametria cíclica para DA,

PAR e EP foram realizados em solução de tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ e pH = 7,0. Os voltamogramas cíclicos registrados de 10 a 400 mV s⁻¹ obtidos para as três moléculas são apresentados nas Figuras 3.9 (a-c). DA e PAR mostraram comportamento quase-reversível, enquanto EP apresentou um perfil irreversível. A avaliação das correntes de pico (I_p) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$) revelou relações lineares entre I_p e $v^{1/2}$ em todos os casos (ver gráficos inseridos nas Figuras 3.9 (a-c)), indicando que os processos eletródicos foram governados somente pelo transporte de massa de difusão^{39,121,122}. Além disso, como esperado para o caso de difusão semi-infinita (Equação de Randles–Ševčík)¹²¹, gráficos de $\log I_p$ versus $\log v$ foram lineares com coeficientes angulares de 0,57 (DA), 0,39 (EP), e 0,50 (PAR). Todos estes valores estão próximos ao valor teórico de 0,5 para um processo controlado apenas por difusão¹²¹⁻¹²³.

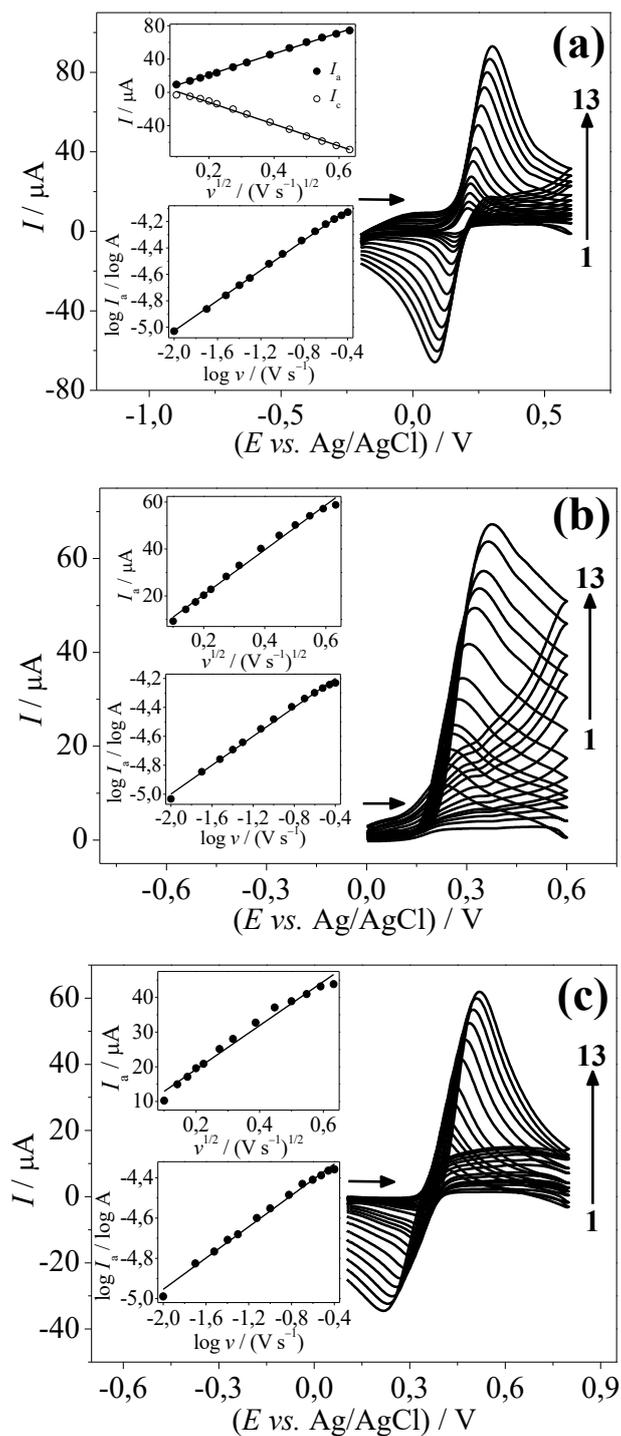


FIGURA 3.9 – Voltamogramas cíclicos obtidos para **(a)** DA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, **(b)** EP $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e **(c)** PAR $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em diferentes velocidades de varredura de potencial (1: 10 – 13: 400 mV s^{-1}). Insetos: curvas de I_p vs. $v^{1/2}$ e $\log I_p$ vs. $\log v$. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society).

Assumindo que as respostas voltamétricas dos analitos sobre o eletrodo de DLC:VACNT foram controladas pelo transporte de massa difusional, as teorias apropriadas foram selecionadas para a determinação das respectivas constantes de transferência heterogênea de elétrons (k^0). DA e PAR apresentaram comportamento quase-reversível e, conseqüentemente, o método de Nicholson¹¹⁹ para processos quase-reversíveis controlados pela difusão foi selecionado para estes compostos. Para EP a abordagem proposta por Nicholson e Shain¹²⁴ foi empregada, no qual é aplicável para processos irreversíveis controlados por difusão.

Para aplicação do método de Nicholson através do uso da Equação 3.1, os valores de Ψ foram calculados inicialmente. Para obter os valores de Ψ , as Equações 3.2 e 3.4 propostas por Lavagnini et al.¹²⁵ foram empregadas, no qual relacionam Ψ e o valor de ΔE_p para cada velocidade de varredura de potencial:

$$\Psi = (-0,6288 + 0,0021n\Delta E_p)/(1 - 0,017n\Delta E_p) \quad \text{Eq. 3.2}$$

$$\Psi = 2,18 [\beta/\pi]^{1/2} \exp[-(\beta^2 F/RT)n\Delta E_p] \quad \text{Eq. 3.4}$$

onde β é o coeficiente de transferência de carga na Equação 3.5, e os demais termos já foram definidos anteriormente. A Equação 3.2 é empregada para aqueles casos no qual $n \times \Delta E_p < 200$ mV, enquanto a Equação 3.4 é usada quando $n \times \Delta E_p > 200$ mV. Os valores de $n \times \Delta E_p$ variaram de 84 – 434 mV para DA, e de 114 – 600 mV para PAR, assumindo que 2 elétrons estão envolvidos na eletrooxidação destas duas moléculas^{126,127}. Conseqüentemente, cada equação (Equação 3.2 ou 3.4) foi empregada para o cálculo de Ψ em suas respectivas faixas de $n \times \Delta E_p$. A partir dos valores de Ψ , o parâmetro cinético k^0 foi previsto a partir do coeficiente angular dos gráficos de Ψ vs. $23,66 v^{-1/2}$ para DA e Ψ vs. $10,37 v^{-1/2}$ para PAR. Os fatores 23,66 e 10,37 são equivalentes ao termo $[\pi D$

$n F/(R T)]^{-1/2}$ da Equação 3.1, calculado considerando D (DA) = $7,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ¹²⁷, D (PAR) = $3,8 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ¹²⁸, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$, $R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ e $T = 298,15 \text{ K}$. A partir das relações lineares, os valores de $k^0 = 5,2 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ para DA e $4,5 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ para PAR foram obtidos. Os resultados indicam uma taxa de transferência eletrônica similar para ambos os analitos (DA e PAR) sobre o eletrodo de DLC:VACNT. Além disso, as constantes de transferência de elétrons foram similares a valores típicos encontrados por outros autores para DA e PAR usando-se um CPE modificado por nanotubos de carbono (DA, $2,21 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$) ¹²⁷ e um eletrodo de grafite (PAR, $4,8 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$) ¹²⁹.

Para a determinação de k^0 para a molécula de EP, o método de Nicholson e Shain foi empregado. De acordo com este método, a corrente de pico apresenta uma relação exponencial com a diferença entre o potencial de pico (E_p) e o potencial formal ($E^{o'}$) em um processo irreversível controlado pela difusão, Equação 3.5:

$$I_p = 0,227 n F A C k^0 \exp \left[\left(\frac{\alpha n F}{R T} \right) (E_p - E^{o'}) \right] \quad \text{Eq. 3.5}$$

onde C é a concentração da espécie eletroativa ($[EP] = 1,0 \times 10^{-7} \text{ mol cm}^{-3}$), A é a área geométrica do eletrodo de trabalho ($0,44 \text{ cm}^2$ neste trabalho) e os demais termos já tiveram seus respectivos significados e valores mencionados. Aplicando-se a função logaritmo natural (\ln) e rearranjando-se a Equação 3.5, a Equação 3.6 a seguir pode ser facilmente obtida:

$$\ln I_p = \ln (0,227 n F A C k^0) + \left(\frac{\alpha n F}{R T} \right) (E_p - E^{o'}) \quad \text{Eq. 3.6}$$

A partir da Equação 3.6, k^0 pode ser determinado a partir do coeficiente linear de um gráfico de $\ln I_p$ vs. $(E_p - E^{o'})$. O valor de $E^{o'}$ foi determinado a cada corrente calculada¹³⁰ como sendo $I = 0,82 I_p$ para as

diferentes velocidades de varredura de potenciais, e o valor médio previsto neste caso foi $E^{\circ'} = 0,25 \pm 0,04$ V. Assim, k^0 foi calculado através da comparação do coeficiente linear da curva de $\ln I_p$ vs. $(E_p - E^{\circ'})$ com o coeficiente linear da Equação de Nicholson-Shain¹²⁴ (Equação 3.6), assumindo que 2 elétrons foram transferidos na eletrooxidação da molécula de EP¹³¹. Fazendo-se isso, um valor de k^0 igual a $8,9 \times 10^{-3}$ cm s⁻¹ foi obtido. Como também observado para as moléculas de DA e PAR, o valor de k^0 determinado para EP foi similar ou maior do que aqueles valores reportados sobre vários outros materiais de eletrodo, incluindo eletrodos de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e líquido iônico ($1,17 \times 10^{-3}$ cm s⁻¹)¹³², CPE ($1,47 \times 10^{-3}$ cm s⁻¹)¹³¹, CPE modificado com nanotubos de carbono ($2,13 \times 10^{-3}$ cm s⁻¹)¹³¹, CPE modificado com dodecilsulfato de sódio ($4,51 \times 10^{-3}$ cm s⁻¹)¹³¹, e CPE modificado com nanotubos de carbono e dodecilsulfato de sódio ($6,38 \times 10^{-3}$ cm s⁻¹)¹³¹. Os resultados apresentados demonstram, novamente, que a incorporação de nanotubos de carbono melhorou significativamente o comportamento eletroquímico do filme de DLC.

Em adição à exploração do comportamento eletroquímico das moléculas de DA, EP e PAR, a potencialidade eletroanalítica do eletrodo de DLC:VACNT para a detecção destes analitos foi investigada em seguida. Assim, curvas analíticas para os três compostos foram construídas usando voltametria cíclica. Os voltamogramas cíclicos foram registrados com a concentração dos analitos variando de 10 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, como mostrado nas Figuras 3.10 (a-c). Nesta faixa de concentração, as curvas analíticas apresentaram excelentes coeficientes de correlação linear para todas as biomoléculas (Figuras 3.10 (d-f)). A Tabela 3.1 contém os parâmetros analíticos obtidos a partir das respectivas curvas analíticas. Os valores de limite de detecção (LOD) apresentados na Tabela 3.1 foram estimados usando-se a Equação 3.8:

$$LOD = 3\sigma/m \quad \text{Eq. 3.8}$$

onde σ é o desvio-padrão de dez medidas do branco (somente eletrólito suporte) e m é a sensibilidade do método analítico (inclinação da curva analítica). A faixa linear e LODs obtidos por voltametria cíclica são significativos quando comparados àqueles reportados para diferentes materiais de eletrodo para a detecção por voltametria cíclica de DA¹³³⁻¹³⁶, EP^{137,138} e PAR^{126,139-141}.

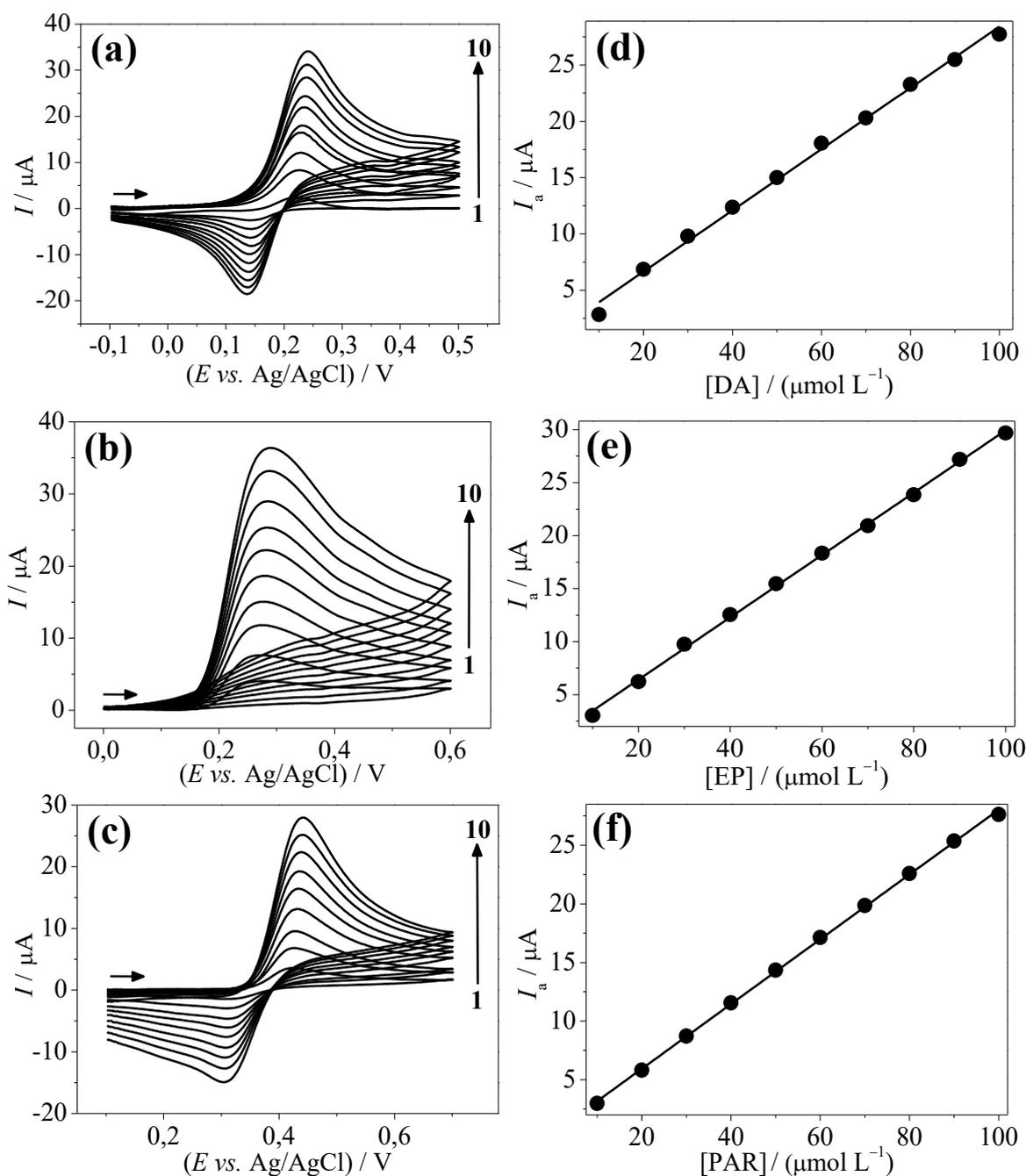


FIGURA 3.10 – Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) DA, (b) EP e (c) PAR a diferentes concentrações (1: 10 – 10: 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em solução de tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} (pH = 7,0) utilizando o eletrodo de DLC:VACNT. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Curvas analíticas obtidas para (d) DA, (e) EP e (f) PAR. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society).

TABELA 3.1 – Parâmetros analíticos obtidos para a determinação por voltametria cíclica de DA, EP e PAR usando o eletrodo DLC:VACNT. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society)

Analito	Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
DA	0,27	10 – 100	3,9
EP	0,29	10 – 100	4,5
AC	0,28	10 – 100	2,3

A estabilidade de resposta do material de eletrodo proposto foi avaliada a partir de um estudo de repetibilidade intra-dia, no qual várias medidas de voltametria cíclica foram realizadas em um mesmo dia ($n = 10$) para soluções de ambos os analitos a diferentes níveis de concentração. Os resultados de desvio-padrão relativo (RSD, do inglês “*Relative Standard Deviation*”) obtidos para a variação da corrente de pico durante dez sucessivas determinações por voltametria cíclica de soluções de DA, EP e PAR em dois diferentes níveis de concentração (30,0 e 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) são apresentados na Tabela 3.2. Baixos valores de RSD, variando de 1,6 a 6,7% foram observados, indicando a boa precisão das medidas obtidas empregando-se o eletrodo de DLC:VACNT.

TABELA 3.2 – Valores de RSD obtidos para a corrente de pico anódica registrada durante dez medidas sucessivas por voltametria cíclica ($n = 10$) para soluções de DA, EP e PAR em diferentes níveis concentração. (Reproduzido com permissão de¹¹¹. Copyright (2014) American Chemical Society)

Analito	Concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD (%)
DA	30,0	2,9
	50,0	3,5
EP	30,0	1,6
	50,0	1,9
PAR	30,0	6,7
	50,0	3,1

Os resultados apresentados demonstraram a potencialidade eletroanalítica do novo eletrodo à base de DLC:VACNT para a determinação de importantes analitos alvo.

3.4 Conclusões Parciais

Eletrodos de DLC porosos foram produzidos pela deposição do filme de DLC sobre nanotubos de carbono verticalmente alinhados. O material eletródico obtido, DLC:VACNT, foi caracterizado por MEV, espectroscopia Raman e voltametria cíclica, a partir do qual foi possível confrontar as propriedades morfológicas, químicas e eletroquímicas da estrutura porosa e condutora obtida comparativamente a uma amostra padrão de filme de DLC, planar, de baixa área superficial e isolante. Além disso, foi possível constatar a potencialidade do filme de DLC poroso para aplicações eletroanalíticas, a partir do estudo eletroquímico e determinação por voltametria cíclica das biomoléculas dopamina, paracetamol e epinefrina.

CAPÍTULO 4

Desenvolvimento de um procedimento voltamétrico para a determinação simultânea de paracetamol, codeína e cafeína utilizando como sensor eletroquímico um eletrodo de carbono tipo-diamante poroso

4.1 Objetivos específicos

Uma vez sintetizado e devidamente caracterizado o material de DLC:VACNT poroso e, também, demonstrada a potencialidade eletroanalítica do mesmo, partiu-se para o desenvolvimento de aplicações eletroanalíticas do eletrodo de DLC:VACNT poroso como sensor eletroquímico. Sendo assim, objetivou-se nesta etapa realizar a determinação voltamétrica simultânea dos fármacos paracetamol (PAR), codeína (COD) e cafeína (CAF). Inicialmente, investigou-se a resposta voltamétrica de todos os analitos sobre a superfície do eletrodo de DLC:VACNT poroso e, em seguida, investigaram-se as otimizações das condições experimentais que afetam as respostas voltamétricas dos analitos para o desenvolvimento de um procedimento por voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês “*Square-Wave Voltammetry*”). Os resultados apresentados neste capítulo encontram-se reportados na literatura com a seguinte referência: Tiago A. Silva, Hudson Zanin, Evaldo J. Corat e Orlando Fatibello-Filho. “Simultaneous Voltammetric Determination of Paracetamol, Codeine and Caffeine on Diamond-like Carbon Porous Electrodes”, *Electroanalysis*, vol. 29, 907–916, 2017.

4.2 Experimental

4.2.1 Reagentes e soluções

Os padrões de PAR, COD e CAF foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico, e as soluções preparadas em água ultrapura obtida em um sistema Milli-Q (Millipore®, Bedford, MA) com resistividade superior a 18,2 MΩ cm. As soluções-estoque de PAR, COD e CAF ($1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) foram preparadas diariamente em água ultrapura.

4.2.2 Síntese dos filmes de DLC:VACNT, montagem do eletrodo de trabalho e instrumentação eletroquímica

Vide as seções “3.2.2 Instrumentação” e “3.2.3 Síntese dos filmes de DLC:VACNT e montagem do eletrodo de trabalho”.

4.2.3 Procedimento analítico

No desenvolvimento do procedimento voltamétrico para a determinação simultânea dos analitos PAR, COD e CAF, etapas de estudo do comportamento eletroquímico dos analitos de interesse, otimização e aplicação analítica foram seguidas. Primeiramente, o comportamento eletroquímico de todos os analitos foi investigado sobre o eletrodo proposto de DLC:VACNT empregando-se voltametria cíclica e solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como o eletrólito suporte. A influência do pH e composição do eletrólito suporte, e dos parâmetros da técnica de SWV (frequência, amplitude e incremento de potencial) foi estudada como parte da otimização da resposta voltamétrica do sensor proposto. Foi selecionado o melhor eletrólito suporte (composição e pH) para a resposta voltamétrica dos fármacos. Sob as condições otimizadas, as respectivas curvas analíticas individuais para cada analito foram construídas, na presença dos demais analitos em uma concentração fixa. A partir deste estudo foi avaliado possíveis interferências mútuas dos analitos. Em seguida, as curvas analíticas para os analitos PAR, COD e CAF foram construídas de forma simultânea, e os parâmetros de desempenho analítico em relação a cada analito obtidos, incluindo faixa linear de resposta, sensibilidade e limite de detecção.

A precisão do procedimento voltamétrico foi verificada a partir de estudos de repetibilidade intra-dia ($n = 10$) e inter-dias ($n = 3$). O procedimento voltamétrico desenvolvido foi empregado na análise de amostras biológicas

sintéticas de urina e soro humano fortificadas com uma concentração conhecida de cada analito. Na seção seguinte são descritos os procedimentos adotados para preparação das amostras supracitadas.

4.2.4 Preparo de amostras biológicas sintéticas

De forma a investigar a potencialidade do procedimento voltamétrico desenvolvido para a determinação de PAR, COD e CAF em amostras biológicas reais de urina e soro humano, substitutos sintéticos para tais amostras foram preparados contendo alguns dos componentes químicos (concomitantes) presentes em amostras reais, seguindo procedimentos pré-estabelecidos na literatura^{142,143}.

Para preparação da amostra de urina sintética, 0,73 g de NaCl, 0,40 g de KCl, 0,28 g de CaCl₂.2H₂O, 0,56 g de Na₂SO₄, 0,35 g de KH₂PO₄, 0,25 g de NH₄Cl e 6,25 g de ureia foram dissolvidos em água em um balão volumétrico de 250 mL. No caso da amostra de soro humano 3,0 g de NaCl, 0,16 g de NaHCO₃, 3,5 mg de triptofano, 2,3 mg de glicina, 3,2 mg de serina, 3,7 mg de tirosina, 6,6 mg de fenilalanina, 9,1 mg de lisina, 6,3 mg de histidina, 29,0 mg de ácido aspártico, 9,1 mg de alanina e 10,0 mg de arginina foram dissolvidos em água em um balão volumétrico de 250 mL. As amostras foram, em seguida, fortificadas com concentrações conhecidas de PAR, COD e CAF e analisadas diretamente empregando-se o procedimento voltamétrico proposto.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Resposta eletroquímica das moléculas de PAR, COD e CAF

A eletroatividade das três moléculas alvo sobre o eletrodo de DLC:VACNT foi investigada em um primeiro momento utilizando a técnica de

voltametria cíclica. Para estes estudos, foi empregado como solução de eletrólito suporte H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e uma velocidade de varredura de potencial (ν) de 50 mV s^{-1} . Nas Figuras 4.1 (a-c) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para esta solução na ausência e presença de cada um dos analitos de interesse. Primeiramente, é importante notar a ausência de qualquer processo redox para as soluções de branco (somente eletrólito suporte). Na presença dos respectivos analitos, em todos os casos, um pico de oxidação pronunciado foi verificado durante a varredura anódica de potenciais, com ausência de um pico de redução equivalente durante a varredura catódica de potenciais. Estes resultados sugerem que as moléculas sob estudo sofreram processos de oxidação irreversíveis; na verdade, no caso do PAR um ligeiro pico de redução pôde ser detectado. Entretanto, a razão entre as correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) foi muito maior que a unidade ($I_{pa} / I_{pc} = 8,5$), mostrando o caráter irreversível do processo anódico verificado para o PAR nesta condição de pH. As posições de pico (*vs.* Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$)) foram: $+0,70 \text{ V}$ para PAR; $+1,22 \text{ V}$ para COD e $+1,47 \text{ V}$ para CAF, respectivamente. Isto implica em separações de potenciais de pico de 520 mV (entre PAR e COD) e 250 mV (entre COD e CAF). Estas separações de potenciais de pico são suficientes para garantir a determinação voltamétrica simultânea de PAR, COD e CAF. Um voltamograma cíclico registrado na presença de PAR, COD e CAF é mostrado na Figura 4.1 (d), ilustrando as excelentes separações de pico obtidas utilizando-se o eletrodo de DLC:VACNT.

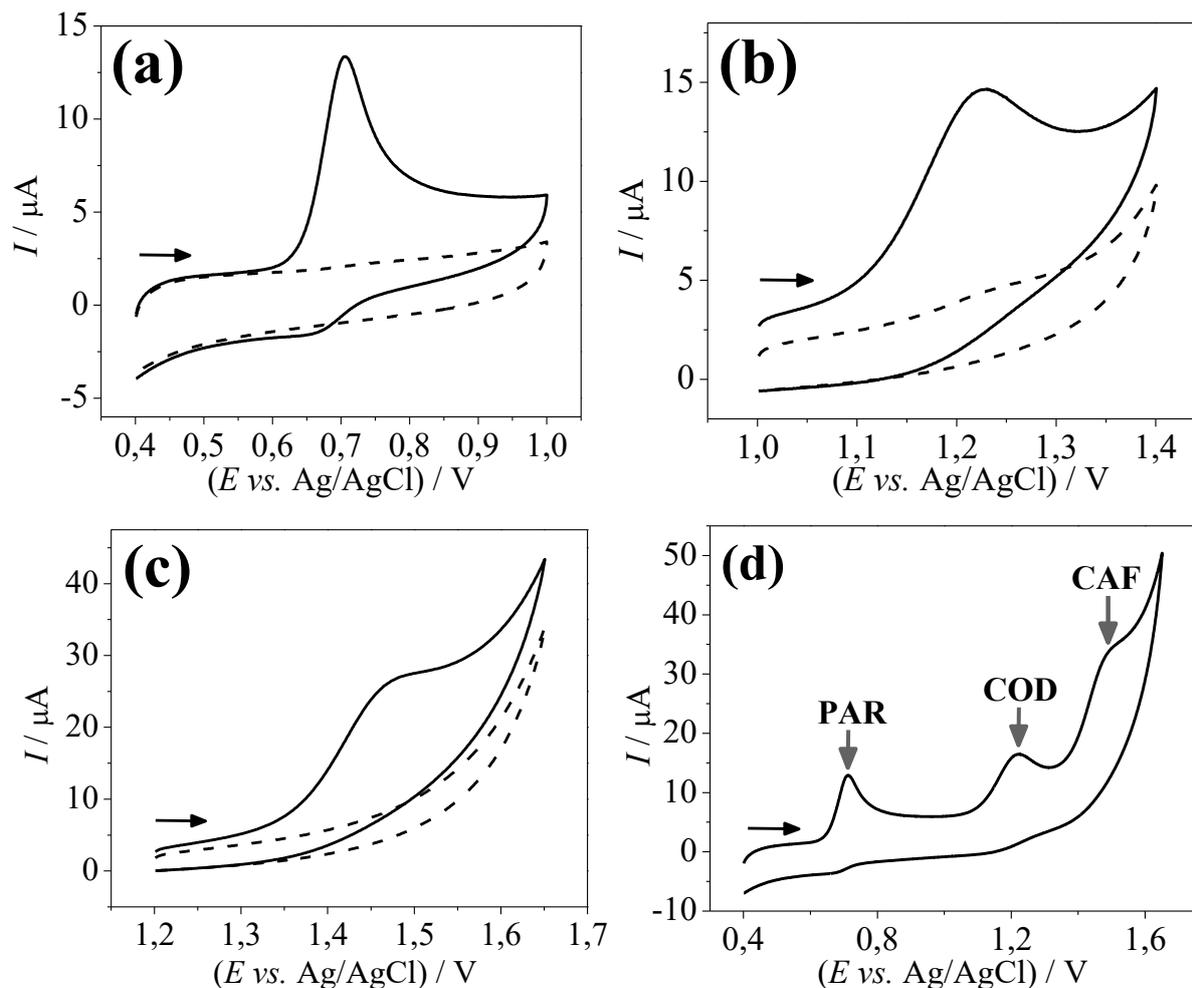


FIGURA 4.1 – Voltamograma cíclico obtido em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo **(a)** PAR $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, **(b)** COD $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, **(c)** CAF $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e **(d)** uma mistura de PAR $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, COD $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e CAF $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).

4.3.2 Influência do pH e composição da solução de eletrólito suporte

Nesta etapa, foi avaliada a influência do pH e da composição da solução de eletrólito suporte sobre a resposta voltamétrica das moléculas de PAR, COD e CAF. O efeito do pH é um parâmetro importante tanto do ponto de vista analítico quanto eletroquímico. Por um lado, determina-se a melhor condição de pH para obtenção de um elevado sinal analítico e, por outro, a partir do estudo do pH é possível obter informações relevantes sobre o processo redox.

O estudo de pH foi realizado utilizando soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com pH variando de 2,0 a 10,0. Nas Figuras 4.2 (a-c) são mostrados os voltamogramas cíclicos obtidos para PAR, COD e CAF em diferentes condições de pH.

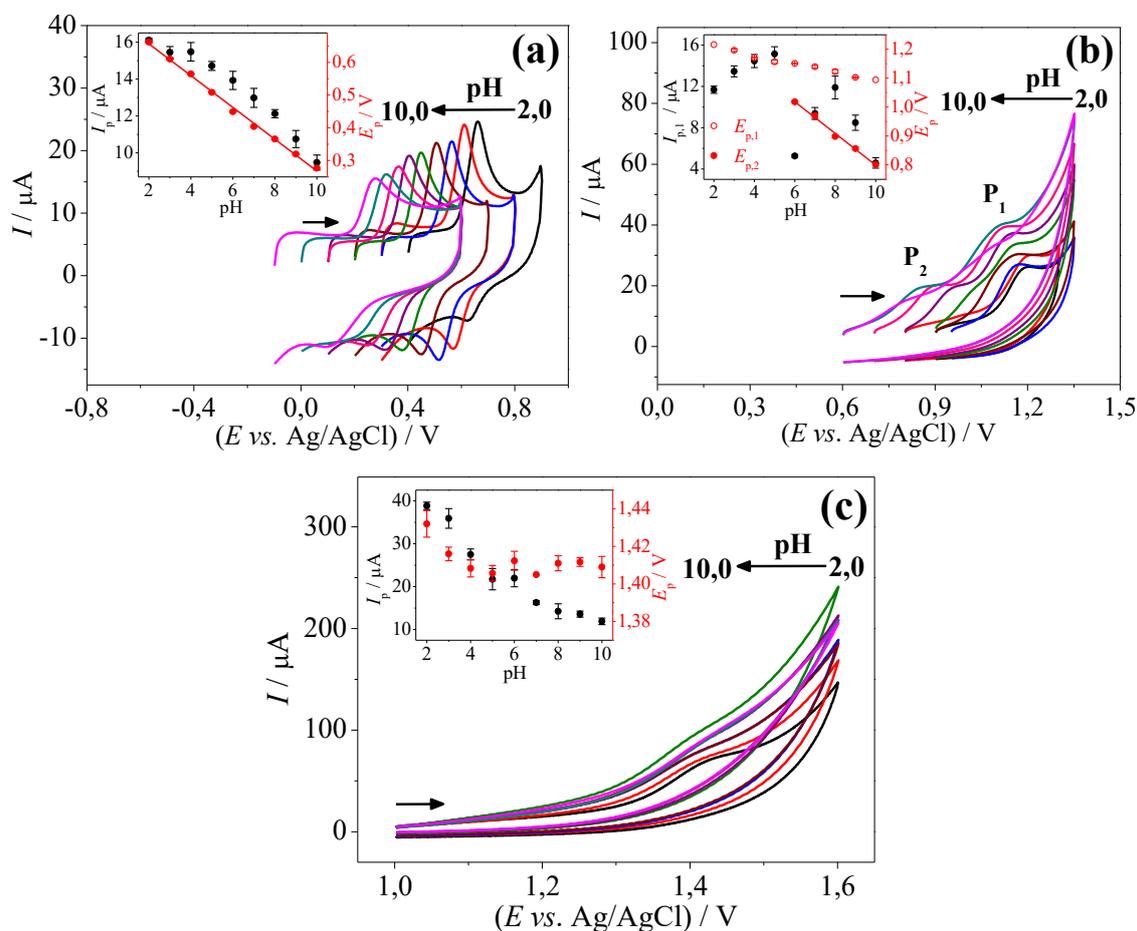


FIGURA 4.2 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pHs (2,0 – 10,0) contendo **(a)** PAR $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, **(b)** COD $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e **(c)** CAF $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Nos gráficos inseridos são apresentadas as relações entre I_p e E_p em função do pH para cada caso. (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).

Analisando-se os voltamogramas das Figuras 4.2 (a-c) ficou evidente que o pH da solução eletrolítica influenciou diferentemente a resposta eletroquímica das moléculas de analito. Esta diferença na variação do

comportamento redox em função do pH se deu principalmente em relação à variação do potencial de pico anódico (E_p). No caso do PAR, uma relação linear entre E_p e pH foi obtida em toda a faixa de pH estudada, seguindo a equação de regressão linear, Eq. 4.1:

$$\text{PAR: } E_p = 0,75 - 0,049 \text{ pH, } r = 0,998 \quad \text{Eq. 4.1}$$

O coeficiente angular verificado para a curva de E_p vs. pH ($-0,049 \text{ V pH}^{-1}$) foi próximo ao coeficiente angular Nernstiano teórico ($-0,0596 \text{ V pH}^{-1}$) típico para um processo redox envolvendo igual número de prótons e elétrons. Este resultado está de acordo com a reação de eletrooxidação mostrada na Figura 4.3 (a) amplamente aceita na literatura para o PAR, envolvendo a perda de dois elétrons e dois prótons gerando a espécie N-acetil-p-quinoneimina¹⁴⁵⁻¹⁴⁸.

Um comportamento mais complexo no caso da molécula de COD foi verificado, como pode ser observado nos voltamogramas apresentados na Figura 4.2 (b). Na faixa de pH de 2,0 a 4,0, um único pico anódico foi verificado (pico P_1). Em pH = 5,0, houve a ocorrência de um pico mais alargado, sugerindo a sobreposição de dois picos anódicos. A partir deste pH, dois picos anódicos (picos P_1 e P_2) puderam ser claramente distinguidos. A molécula de COD pode sofrer reações de eletrooxidação irreversíveis em diferentes pontos. Na faixa de pH estudada, os picos associados à oxidação dos grupos 6-hidroxi e amina terciária são detectáveis, como esquematizado na Figura 4.3 (b)^{149,150}. A atribuição de cada pico à eletrooxidação de cada um destes grupos funcionais eletroativos pôde ser feita avaliando-se as relações entre E_p e pH em cada caso. No gráfico inserido da Figura 4.2 (b) são mostrados os gráficos de E_p vs. pH obtidos para os picos P_1 ($E_{p,1}$ vs. pH) e P_2 ($E_{p,2}$ vs. pH). $E_{p,1}$ não apresentou uma dependência linear do pH. Por outro lado, $E_{p,2}$ foi linearmente dependente do pH, de acordo com a seguinte equação de regressão linear, Eq. 4.2:

$$\text{Pico } P_2 \text{ da COD: } E_{p,2} = 1,35 - 0,055 \text{ pH, } r = 0,996 \quad \text{Eq. 4.2}$$

O coeficiente angular obtido para a curva de $E_{p,2}$ vs. pH ($-0,055 \text{ V pH}^{-1}$) foi próximo ao valor teórico Nernstiano ($-0,0592 \text{ V pH}^{-1}$) que, como comentado anteriormente, é indicado para um processo redox envolvendo igual número de elétrons e prótons. Conseqüentemente, o pico P_2 está relacionado com um processo de oxidação envolvendo a perda do mesmo número de prótons e elétrons. Considerando estes resultados, o pico P_1 pode ser associado à oxidação do grupo 6-hidroxi com perda de 2 elétrons e o pico P_2 à oxidação do grupo amina terciária com a perda de 2 elétrons e 2 prótons. Conclusões similares foram reportadas por Garrido et al.¹⁵⁰, os quais estudaram a resposta eletroquímica da molécula de COD em função do pH utilizando um eletrodo de carbono vítreo. De um ponto de vista analítico, a determinação voltamétrica de COD na presença de PAR é mais indicada de ser realizada utilizando como eletrólito suporte soluções ácidas, de forma a eliminar possíveis interferências do segundo pico anódico da COD sobre a determinação de PAR.

O comportamento eletroquímico da molécula de CAF em função do pH é mostrado nos voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 4.2 (c). Neste caso, a maior intensidade de corrente de pico foi verificada em $\text{pH} = 2,0$. Em relação à variação do potencial de pico, este parâmetro sofreu pouca variação durante a variação do pH, sem a ocorrência de regiões lineares entre E_p e pH. O possível mecanismo de eletrooxidação da cafeína que tem sido proposto na literatura¹⁵¹ é mostrado também na Figura 4.3 (c).

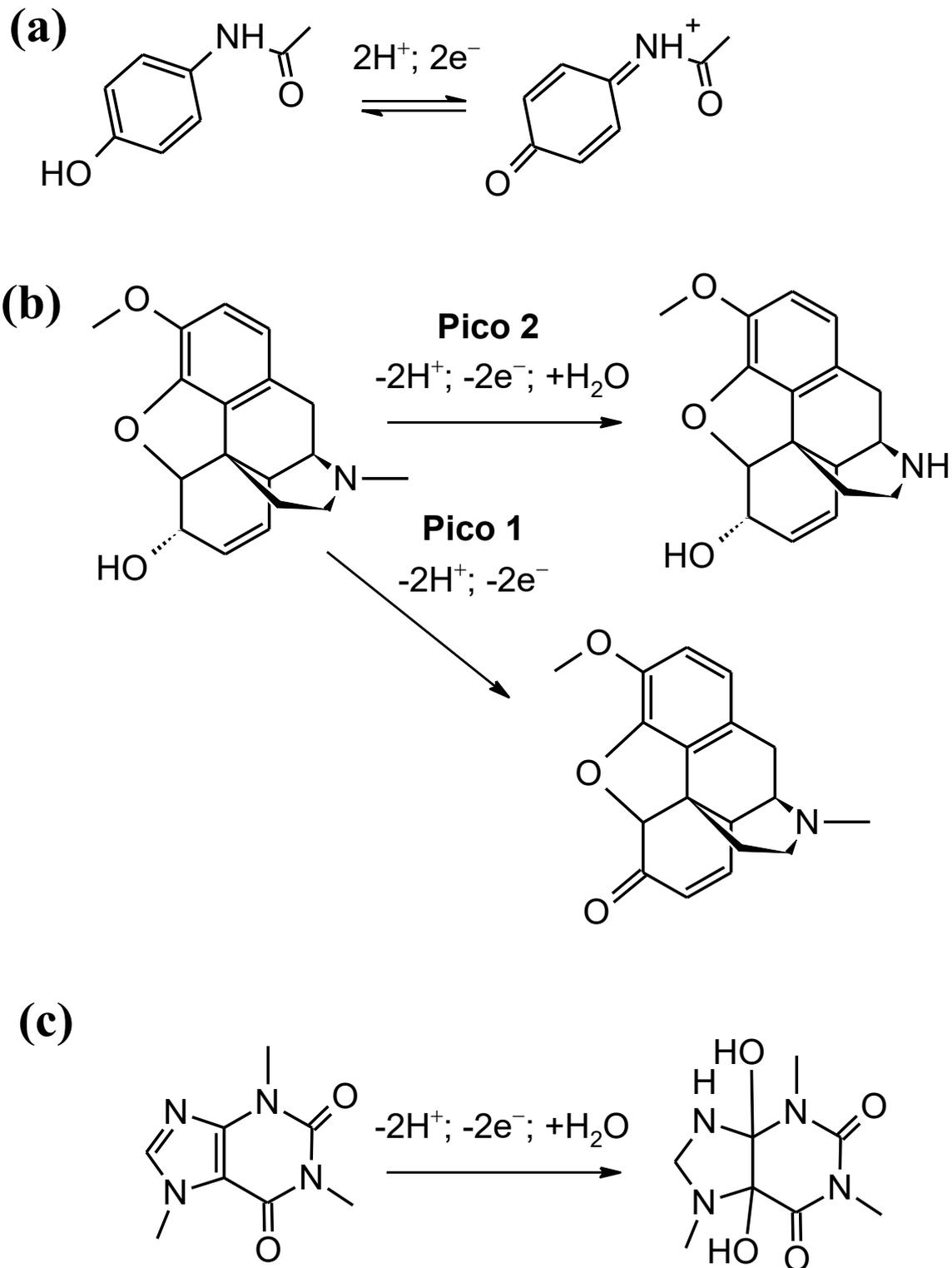


FIGURA 4.3 – Possíveis reações de eletrooxidação para as moléculas de (a) PAR, (b) COD e (c) CAF.

Considerando-se que uma condição de pH menor que 7,0 apresentou ser mais indicada para a determinação voltamétrica simultânea de PAR, COD e CAF (melhor separação de picos e intensidades de corrente de pico mais altas), nos estudos posteriores selecionaram-se soluções ácidas para avaliar o efeito da composição do eletrólito suporte sobre a resposta dos referidos analitos. Assim, a resposta voltamétrica por onda quadrada (SWV, do inglês “*Square-Wave Voltammetry*”) de PAR, COD e CAF foi testada simultaneamente utilizando como eletrólito suporte as seguintes soluções: H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH 2,0) e tampão Britton-Robinson (BR) 0,2 mol L⁻¹ (pH = 2,0). Na Figura 4.4 (a) são fornecidos os voltamogramas de SW registrados na presença de PAR, COD e CAF nas condições de eletrólito suporte mencionadas. A partir destes, as respectivas correntes de pico foram coletadas e colocadas em gráfico em função do analito/eletrólito suporte (Figura 4.4 (b)). Considerando a comparação fornecida pelo gráfico da Figura 4.4 (b), pode-se concluir que a solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ proporcionou os valores mais altos de corrente e, conseqüentemente, foi selecionada como o melhor eletrólito suporte para a condução dos experimentos seguintes.

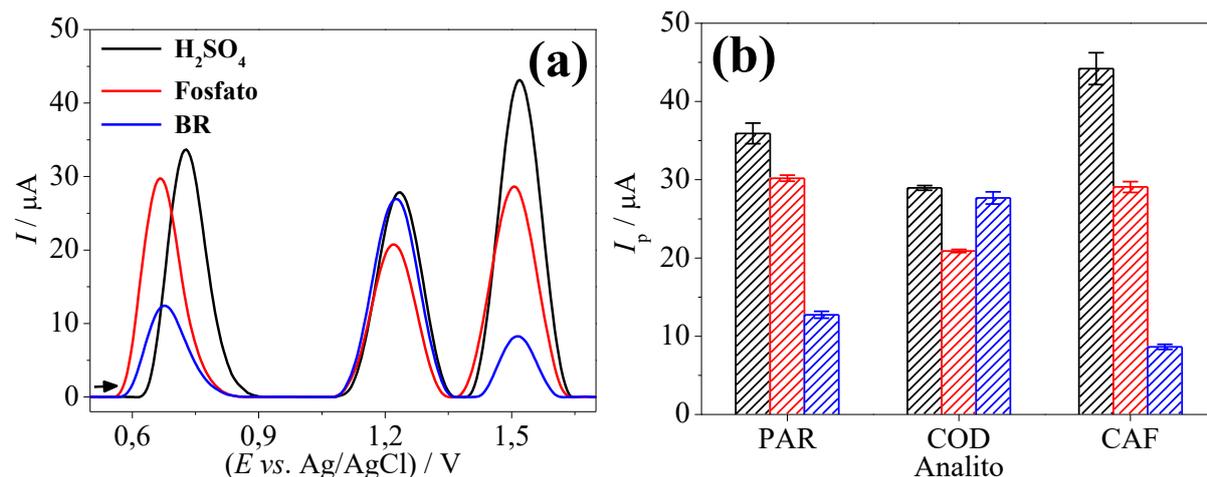


FIGURA 4.4 – (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes eletrólitos suporte (H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) e tampão BR $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 2,0)) contendo PAR $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, COD $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e CAF $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Parâmetros da técnica de SWV: $f = 70 \text{ Hz}$, $A = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$. (b) Gráfico de I_p vs. Analito obtidos para as diferentes soluções de eletrólito suporte. (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).

4.3.3 Efeito da velocidade de varredura

O efeito da velocidade de varredura de potencial sobre as respostas das moléculas de PAR, COD e CAF foi acessado variando-se este parâmetro entre 20 e 400 mV s^{-1} em diferentes ensaios de voltametria cíclica. Nas Figuras 4.5 (a-c) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos na faixa de velocidade de varredura de potenciais mencionada para PAR, COD e CAF. Em todos os casos, o incremento de velocidade de varredura provocou uma variação positiva da corrente de pico. A partir disto, os gráficos do logaritmo decimal da corrente de pico ($\log I_p$) versus o logaritmo decimal da velocidade de varredura de potenciais ($\log v$) foram construídos. Os gráficos de $\log I_p$ vs. $\log v$ obtidos em cada caso encontram-se inseridos (insertos (i)) nas Figuras 4.5 (a-c). Relações lineares foram verificadas em todos os casos, com os seguintes valores de coeficientes angulares: $0,63$ (PAR), $0,70$ (COD) e $0,64$ (CAF). Estes valores

de coeficientes angulares estão entre os valores teóricos de 0,5, reportado para um processo redox controlado apenas por transporte difusional de massa, e 1,0, típico para um processo redox governado por adsorção. De forma a conferir qual destes fenômenos predominou no controle dos processos de transferência de carga, os gráficos de corrente de pico *versus* a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial (I_p vs. $v^{1/2}$) e corrente de pico *versus* a velocidade de varredura de potencial (I_p vs. v) foram construídos. Estes gráficos também se encontram inseridos nas Figuras 4.5 (a-c) (insertos (ii) e (iii)). Como pode ser visto, somente os gráficos de I_p vs. $v^{1/2}$ foram lineares, o que permite concluir que em todos os casos os processos de transferência de carga foram controlados pela difusão. Abaixo, encontram-se as equações de regressão linear obtidas para as curvas de I_p vs. $v^{1/2}$, Eqs. 4.3-4.5:

$$PAR: I_p = -4,6 \times 10^{-6} + 6,6 \times 10^{-5} v^{1/2}, r = 0,997 \quad \text{Eq. 4.3}$$

$$COD: I_p = -3,5 \times 10^{-6} + 3,9 \times 10^{-5} v^{1/2}, r = 0,997 \quad \text{Eq. 4.4}$$

$$CAF: I_p = -6,1 \times 10^{-6} + 8,8 \times 10^{-5} v^{1/2}, r = 0,997 \quad \text{Eq. 4.5}$$

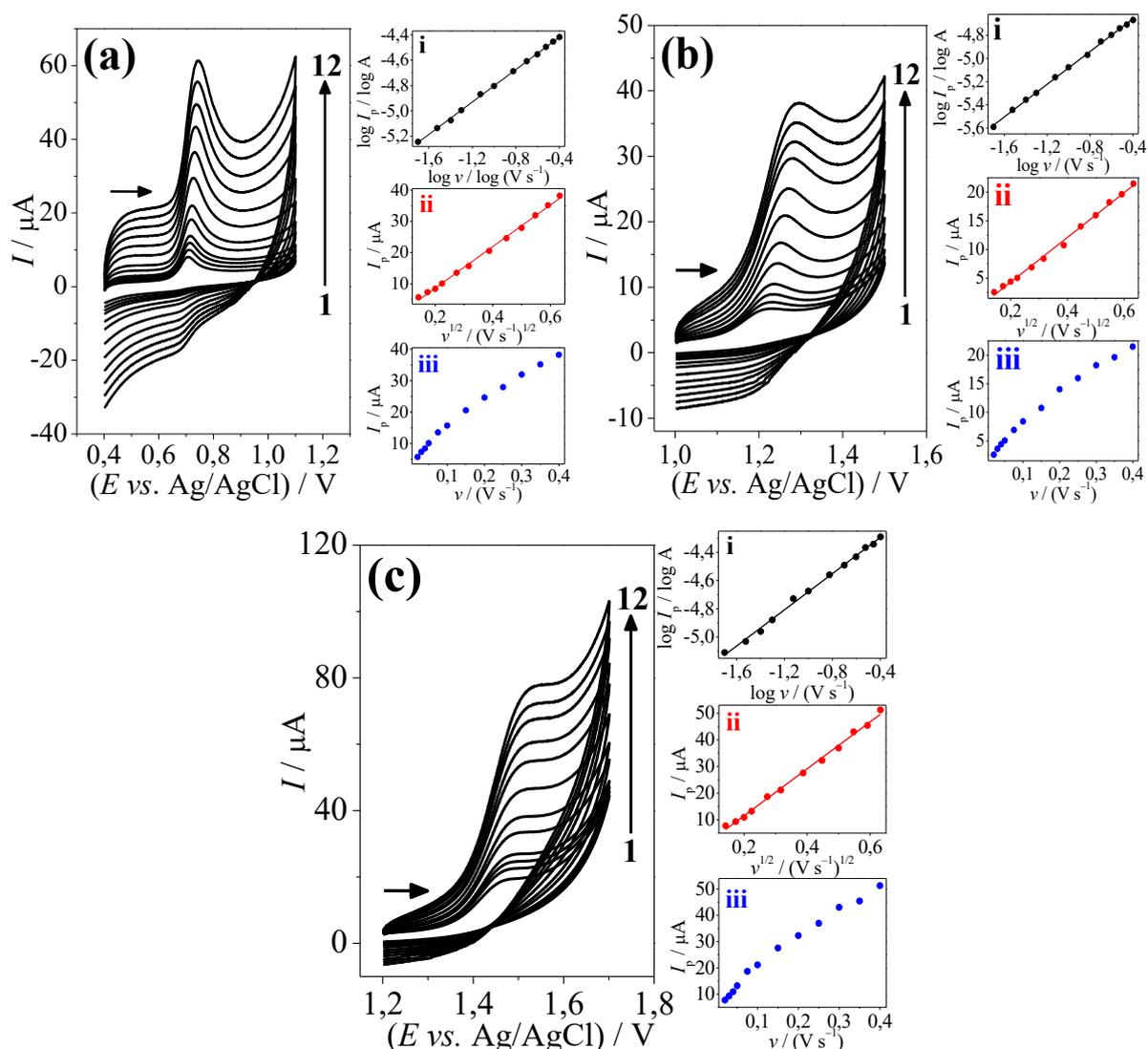


FIGURA 4.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (1: 20 mV s^{-1} – 12: 400 mV s^{-1}) em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo (a) PAR $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (b) COD $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) CAF $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Gráficos de (i) $\log I_p$ vs. $\log v$; (ii) I_p vs. $v^{1/2}$ e (iii) I_p vs. v . (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).

4.3.4 Determinação simultânea de PAR, COD e CAF por SWV

Para realizar a determinação voltamétrica simultânea de PAR, COD e CAF, a técnica de SWV foi selecionada como ferramenta eletroanalítica. Assim, os parâmetros experimentais afetando a resposta dos analitos por SWV foram submetidos a otimização. Na Tabela 4.1 são apresentados os parâmetros

avaliados (frequência, amplitude e incremento de potencial) e as respectivas faixas. Os valores ótimos foram selecionados levando-se em conta a obtenção de um elevado sinal analítico e boa definição dos sinais voltamétricos para PAR, COD e CAF.

TABELA 4.1 – Parâmetros da técnica de SWV submetidos à otimização e respectivos valores ótimos

Parâmetro	Faixa	Selecionado
Frequência, f (Hz)	10 – 100	80
Amplitude, A (mV)	10 – 100	60
Incremento de potencial, ΔE_s (mV)	1 – 10	9

Em seguida, as curvas analíticas individuais foram construídas mantendo-se os demais analitos em uma concentração fixa. Estes estudos foram importantes para verificar a possível interferência de um ou mais analito(s) sobre a determinação de cada um dos analitos. Na Figura 4.6 (a) são mostrados os voltamogramas de SW registrados em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo PAR em diferentes níveis de concentração ($9,69 \times 10^{-7} - 5,63 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e COD e CAF em concentrações fixas de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. A resposta voltamétrica do PAR mostrou excelente linearidade na faixa de concentrações estudada (vide a curva analítica para PAR no inserto da Figura 4.6 (a), com coeficiente de correlação linear igual a 0,996) na presença de COD e CAF, os quais apresentaram intensidade de corrente de pico praticamente constantes (desvios-padrões relativos, RSD, de 2,85% para o sinal da COD e 2,55% para o sinal da CAF). Estudos similares foram realizados variando-se as concentrações de COD e CAF. Na Figura 4.6 (b) são apresentados os voltamogramas de SW obtidos para COD em diferentes níveis de concentração ($2,67 \times 10^{-6} - 3,92 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com as concentrações de PAR e CAF fixas em $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e, na Figura

4.6 (c) estão organizados os voltamogramas de SW coletados para CAF em diferentes concentrações ($9,88 \times 10^{-6} - 9,79 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) na presença de PAR e COD, ambos, a uma concentração fixa de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Novamente, as correntes de pico registradas para COD e CAF variaram linearmente em função das respectivas concentrações com excelentes coeficientes de correlação linear ($r = 0,997$ para a curva analítica da COD e $r = 0,999$ para a curva analítica da CAF) e, os sinais analíticos verificados para os analitos mantidos em uma concentração fixa também permaneceram praticamente constantes (RSDs $< 10\%$). A partir deste conjunto de resultados, conclui-se que os analitos podem ser simultaneamente determinados sem a ocorrência de interferência de um analito sobre a determinação do outro.

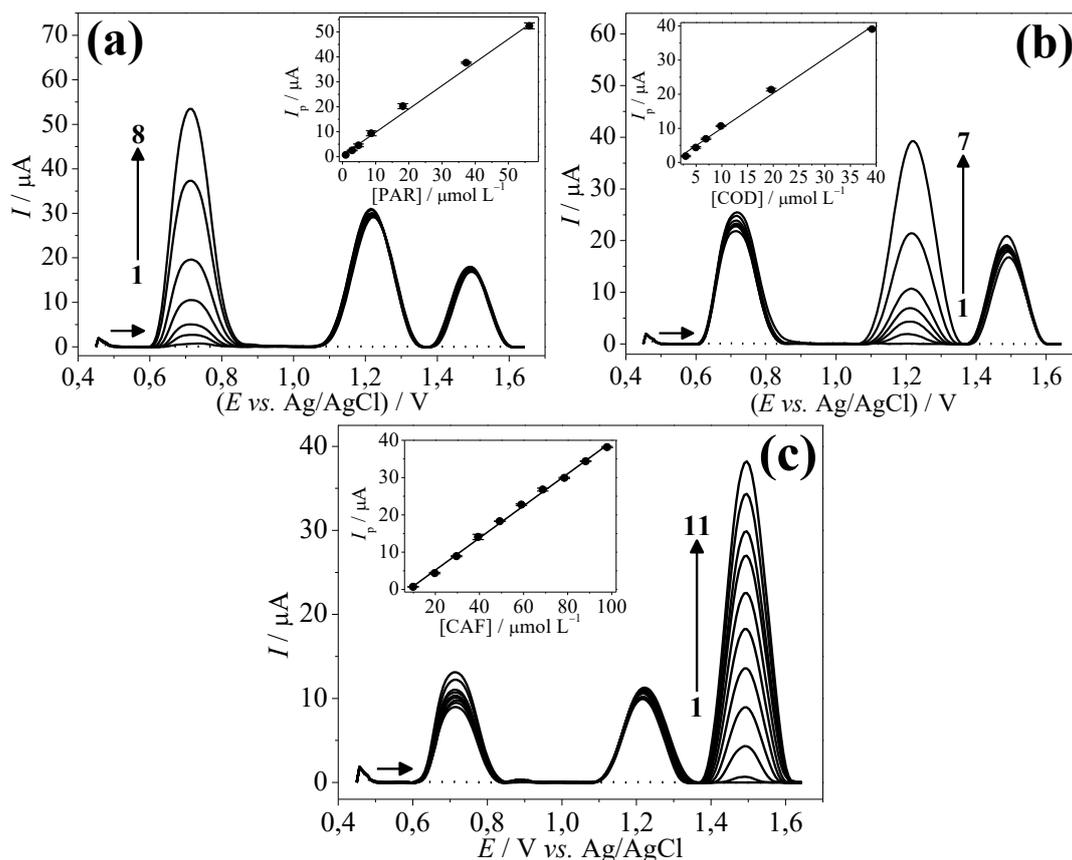


FIGURA 4.6 – (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo PAR em diferentes níveis de concentração (1: $0,00$ – 8: $5,63 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e COD e CAF em concentrações fixas de $3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Inseto: Curva analítica para PAR (I_p vs. [PAR]). Parâmetros da SWV: $f = 80 \text{ Hz}$, $A = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 9 \text{ mV}$. (b) Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo COD em diferentes níveis de concentração (1: $0,00$ – 7: $3,92 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e PAR e CAF em concentrações fixas de $2,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Inseto: Curva analítica para COD (I_p vs. [COD]). Parâmetros da SWV: $f = 80 \text{ Hz}$, $A = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 9 \text{ mV}$. (c) Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo CAF em diferentes níveis de concentração (1: $0,00$ – 11: $9,79 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e PAR e CAF em concentrações fixas de $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Inseto: Curva analítica para CAF (I_p vs. [CAF]). Parâmetros da SWV: $f = 80 \text{ Hz}$, $A = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 9 \text{ mV}$. (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).

Uma vez confirmada a não interferência mútua dos analitos, partiu-se para a construção das curvas analíticas para PAR, COD e CAF utilizando SWV de forma simultânea. Na Figura 4.7 (a) são mostrados os voltamogramas de SW registrados em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de PAR, COD e CAF em diferentes concentrações. A partir destes, as respectivas curvas analíticas para PAR, COD e CAF foram construídas (Figuras 4.7 (b-d)). As curvas analíticas foram lineares de $9,97 \times 10^{-7}$ a $3,67 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para PAR e COD e de $9,97 \times 10^{-6}$ a $9,17 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para CAF, de acordo com as seguintes equações de regressão linear, Equações 4.6-4.8:

$$\text{PAR: } I_p(A) = 1,4 \times 10^{-6} + 0,89 [\text{PAR}] (\text{mol L}^{-1}), r = 0,998 \quad \text{Eq. 4.6}$$

$$\text{COD: } I_p(A) = 7,7 \times 10^{-7} + 0,94 [\text{COD}] (\text{mol L}^{-1}), r = 0,994 \quad \text{Eq. 4.7}$$

$$\text{CAF: } I_p(A) = -2,5 \times 10^{-6} + 0,35 [\text{CAF}] (\text{mol L}^{-1}), r = 0,999 \quad \text{Eq. 4.8}$$

Comparativamente, as sensibilidades analíticas obtidas para os analitos PAR e COD foram pelo menos duas vezes maior que aquela fornecida para a determinação de CAF. Uma possível explicação para esta diferença de sensibilidade encontra-se no fato da CAF ter sido determinada em uma região de potencial com corrente capacitiva mais elevada, impedindo a detecção deste analito em níveis de concentração mais baixos. Os LODs foram calculados de acordo com a Equação 3.8, sendo obtidos respectivamente: $3,34 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para PAR, $1,57 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para COD e $3,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para CAF. Até o presente momento nenhum procedimento voltamétrico dedicado à determinação simultânea de PAR, COD e CAF foi reportado. Assim, os parâmetros analíticos alcançados neste trabalho utilizando o eletrodo poroso de DLC:VACNT como sensor eletroquímico foram comparados na Tabela 4.2 com aqueles reportados por Kartal⁸² utilizando um método analítico baseado em cromatografia líquida. Analisando-se a Tabela 4.2, pode-se observar que o método voltamétrico proposto neste trabalho forneceu LODs menores para PAR e COD, e um LOD

ligeiramente superior para CAF. Esta comparação é notória, considerando que o procedimento voltamétrico proposto é mais simples que o método cromatográfico, além de alta rapidez de análise e permitir também a análise direta de amostras.

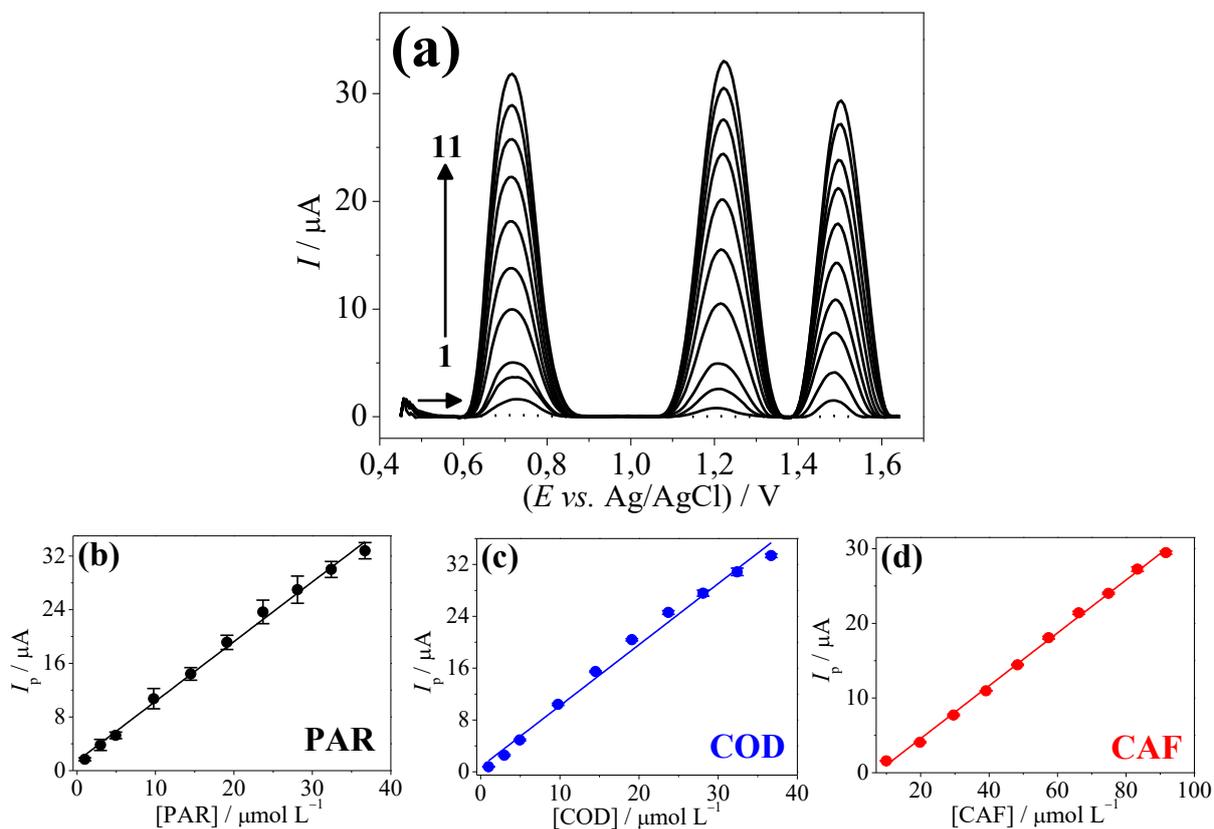


FIGURA 4.7 – (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos utilizando o eletrodo de DLC:VACNT em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo diferentes concentrações de PAR (1: $0,00 - 11: 3,67 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), COD (1: $0,00 - 11: 3,67 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e CAF (1: $0,00 - 11: 9,17 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Parâmetros da SWV: $f = 80 \text{ Hz}$, $A = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 9 \text{ mV}$. Curva analítica obtida para (b) PAR (I_p vs. $[\text{PAR}]$), (c) COD (I_p vs. $[\text{COD}]$) e (d) CAF (I_p vs. $[\text{CAF}]$). (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons).

TABELA 4.2 – Comparação dos parâmetros analíticos obtidos para a determinação simultânea de PAR, COD e CAF utilizando o procedimento voltamétrico proposto e cromatográfico reportado na literatura.⁸²

Método	Analito	Parâmetro analítico		Referência
		Faixa linear (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	
SWV	PAR	$9,97 \times 10^{-7} - 3,67 \times 10^{-5}$	$3,34 \times 10^{-7}$	Este trabalho
	COD	$9,97 \times 10^{-7} - 3,67 \times 10^{-5}$	$1,57 \times 10^{-7}$	
	CAF	$9,97 \times 10^{-6} - 9,17 \times 10^{-5}$	$3,67 \times 10^{-7}$	
LC	PAR	$2,64 \times 10^{-6} - 9,92 \times 10^{-3}$	$9,92 \times 10^{-7}$	82
	COD	$1,00 \times 10^{-6} - 1,00 \times 10^{-4}$	$3,34 \times 10^{-7}$	
	CAF	$3,86 \times 10^{-7} - 4,63 \times 10^{-4}$	$1,18 \times 10^{-7}$	

4.3.4 Estudos da repetibilidade

A precisão do eletrodo de DLC:VACNT proposto foi avaliada por estudos de repetibilidade intra- e inter-dias. Para tanto, medidas de SWV foram realizadas para soluções de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ contendo PAR, COD e CAF em dois níveis diferentes de concentração localizados dentro das respectivas faixas lineares de resposta. As concentrações de PAR, COD e CAF selecionadas para estes estudos foram: Nível 1 – [PAR] = [COD] = $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e [CAF] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; Nível 2 – [PAR] = [COD] = $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e [CAF] = $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Para a repetibilidade intra-dia, dez medidas sucessivas de SWV foram conduzidas no mesmo dia ($n = 10$) e, para o estudo de repetibilidade inter-dias os sinais analíticos de SWV foram monitorados durante três diferentes dias de trabalho ($n = 3$). Na Tabela 4.3 são reportados os valores de RSD obtidos para os sinais analíticos nos estudos de repetibilidade. Como pode ser observado, uma excelente precisão foi obtida pelo uso do eletrodo de DLC:VACNT como sensor eletroquímico para a determinação simultânea por SWV de PAR, COD e CAF, com baixos valores de RSD (menores que 8,6%).

TABELA 4.3 – Resultados dos estudos de repetibilidade intra- e inter-dias (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons)

Analito	Concentração (mol L ⁻¹)	Repetibilidade (% RSD)	
		Intra-dia*	Inter-dia**
PAR	$5,0 \times 10^{-6}$	7,2	7,6
	$2,0 \times 10^{-5}$	3,3	4,8
COD	$5,0 \times 10^{-6}$	2,4	7,1
	$2,0 \times 10^{-5}$	5,3	7,6
CAF	$3,0 \times 10^{-5}$	3,0	8,1
	$6,0 \times 10^{-5}$	3,1	8,6

*n = 10; **n= 3.

4.3.5 Aplicação analítica

Finalmente, a aplicabilidade do método de SWV desenvolvido foi testada frente à quantificação de PAR, COD e CAF em duas matrizes de fluidos biológicos sintéticos diferentes: urina e soro humano. Estas amostras foram fortificadas com concentrações conhecidas dos respectivos analitos e diretamente analisadas empregando-se o método de SWV proposto. Na Tabela 4.4 encontram-se organizadas as respectivas porcentagens de recuperação obtidas para a análise das amostras biológicas supramencionadas. Como pode ser observado, excelentes porcentagens de recuperação foram verificadas (próximo a 100%), demonstrando a real aplicabilidade do sensor proposto para a determinação simultânea de PAR, COD e CAF.

TABELA 4.4 – Aplicação do método de SWV proposto na análise de fluidos biológicos sintéticos (Reproduzido de ¹⁴⁴ com permissão de John Wiley and Sons)

Amostra	Analito	Concentração (mol L ⁻¹)		Recuperação (%)
		Adicionado	Encontrado	
Urina	PAR	$4,0 \times 10^{-6}$	$(3,6 \pm 0,4) \times 10^{-6}$	90
		$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,04 \pm 0,04) \times 10^{-5}$	104
	COD	$4,0 \times 10^{-6}$	$(3,65 \pm 0,08) \times 10^{-6}$	91,2
		$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,1 \pm 0,4) \times 10^{-5}$	110
	CAF	$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,06 \pm 0,07) \times 10^{-5}$	106
		$5,0 \times 10^{-5}$	$(4,5 \pm 0,3) \times 10^{-5}$	90
Soro humano	PAR	$4,0 \times 10^{-6}$	$(4,1 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	102,5
		$1,0 \times 10^{-5}$	$(8,9 \pm 0,4) \times 10^{-6}$	89
	COD	$4,0 \times 10^{-6}$	$(3,9 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	97,5
		$1,0 \times 10^{-5}$	$(8,5 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	85
	CAF	$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,08 \pm 0,03) \times 10^{-5}$	108
		$5,0 \times 10^{-5}$	$(4,90 \pm 0,04) \times 10^{-5}$	98

4.4 Conclusões parciais

A aplicação eletroanalítica do compósito DLC:VACNT foi testada pela primeira vez neste trabalho. Assim, a determinação simultânea voltamétrica de paracetamol, codeína e cafeína foi feita pioneiramente utilizando-se o eletrodo de DLC:VACNT. Utilizando o eletrodo de DLC:VACNT, o comportamento eletroquímico dos analitos alvo foram investigados em diferentes condições de pH e velocidades de varredura (voltametria cíclica), a partir dos quais informações sobre os processos de transferência de carga foram obtidos. Após uma etapa de otimização, a determinação voltamétrica simultânea de PAR, COD e CAF foi realizada utilizando voltametria de onda quadrada

(SWV), e as curvas analíticas foram lineares de $9,97 \times 10^{-7}$ a $3,67 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para PAR e COD e de $9,97 \times 10^{-6}$ a $9,17 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para CAF, com limites de detecção de $3,34 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para PAR, $1,57 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para COD e, $3,67 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para CAF, respectivamente. Estes parâmetros analíticos foram similares ou superiores àqueles reportados previamente com o uso de um método cromatográfico. Finalmente, o método de SWV proposto foi aplicado com sucesso na determinação simultânea de PAR, COD e CAF em amostras de fluidos biológicos. Os resultados apresentados neste trabalho demonstraram que o eletrodo poroso de DLC:VACNT é um potencial candidato como material de eletrodo para aplicações diversas em eletroanalítica, como a detecção de várias moléculas de interesse farmacêutico, alimentício, biológico ou ambiental, e ainda como plataforma para o desenvolvimento de biossensores eletroquímicos.

CAPÍTULO 5

Eletrodo de carbono tipo-diamante poroso aplicado na determinação eletroquímica de hidroquinona em cremes dermatológicos por análise por injeção em fluxo acoplada à detecção amperométrica

5.1 Objetivos específicos

Considerando-se os bons resultados obtidos anteriormente para aplicação do eletrodo de DLC:VACNT na determinação individual ou simultânea de analitos de interesse empregando-se técnicas voltamétricas, nesta etapa do trabalho, objetivou-se ampliar o leque aplicações do material proposto. Neste sentido, foi avaliada a aplicabilidade do eletrodo de DLC:VACNT como sensor amperométrico acoplado a um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA, do inglês “*Flow Injection Analysis*”) para a determinação de hidroquinona (H₂Q) em amostras de cremes dermatológicos.

5.2 Experimental

5.2.1 Reagentes e soluções

Padrão de H₂Q foi adquirido da Sigma-Aldrich. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico, e as soluções preparadas em água ultrapura obtida em um sistema Milli-Q (Millipore[®], Bedford, MA) com resistividade superior a 18,2 MΩ cm. Soluções-estoque de H₂Q $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ foram preparadas diariamente em solução de eletrólito suporte, e diluídas também com eletrólito suporte para obtenção de soluções-padrão de H₂Q de diferentes concentrações.

5.2.2 Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato μAUTOLAB Tipo 3 (Autolab, Eco Chemie) gerenciado pelo software NOVA 2.1. Os experimentos de voltametria cíclica foram realizados em uma célula eletroquímica de três eletrodos de

compartimento único, volume igual a 25 mL e confeccionada em vidro Pyrex, utilizando como eletrodo de trabalho o DLC:VACNT (montado em um tarugo como mostrado na Figura 3.1), eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹), e como eletrodo auxiliar uma placa de platina de 0,5 cm de largura e 1 cm de comprimento fixada em um tubo de vidro contendo um fio de cobre.

A célula eletroquímica para o sistema FIA foi construída com uma configuração mista entre a configuração *wall jet* e camada delgada. Esta célula constituída em acrílico foi projetada de acordo com um modelo proposto por Richter et al.¹⁵² com algumas modificações e adaptações feitas em nosso grupo de pesquisa. Na Figura 5.1 está ilustrada a montagem e a configuração da célula eletroquímica desenvolvida. Nesta célula, o eletrodo de trabalho (DLC:VACNT), teve a sua área delimitada com o auxílio de um *O-ring* de borracha que também foi usado para vedar a passagem da solução. O eletrodo de referência foi um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) miniaturizado de modo a ser acoplado no sistema. Já o eletrodo auxiliar foi um tubo de aço inoxidável que também serviu para a saída das soluções empregadas na análise.

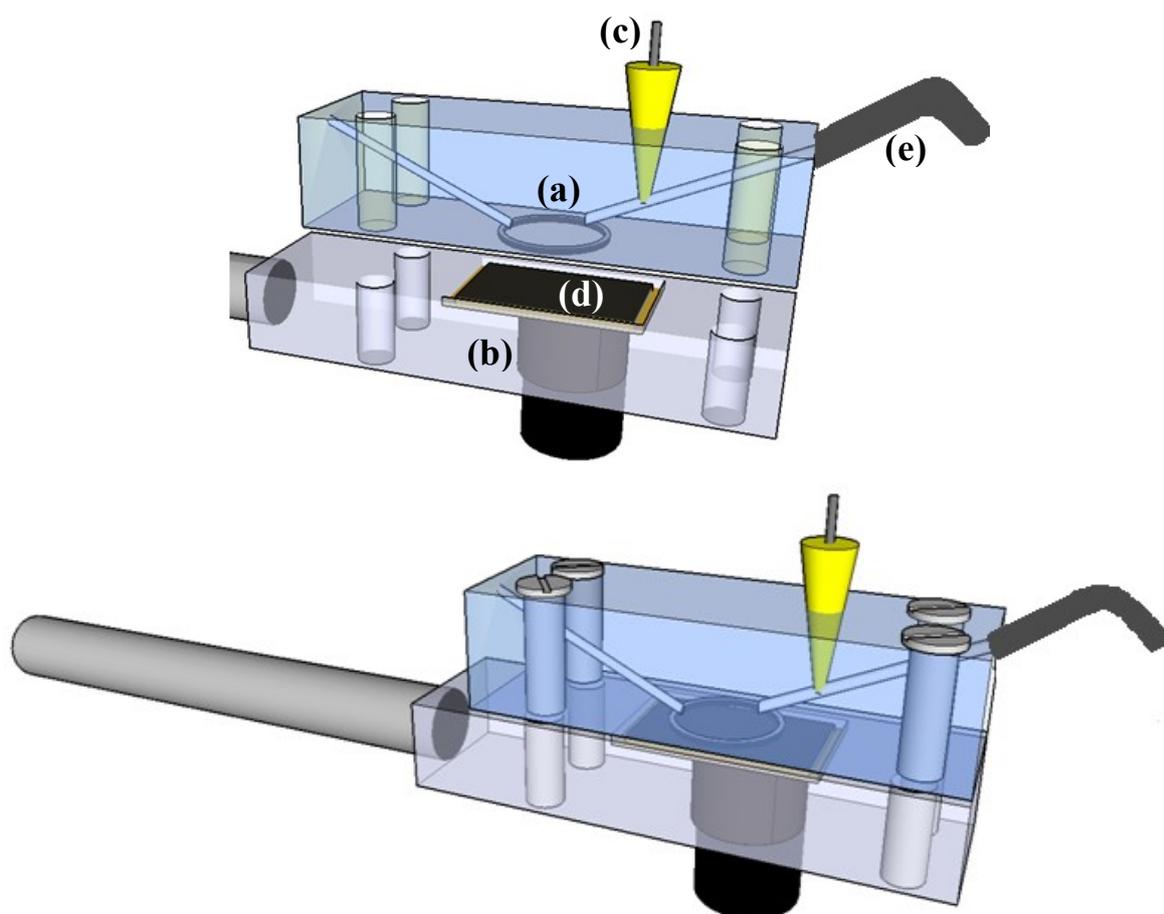


FIGURA 5.1 – Ilustração da célula eletroquímica adaptada para o sistema FIA. Em (a) suporte em acrílico com *O-ring* para vedação, (b) suporte em acrílico com contato elétrico para acomodação do eletrodo de trabalho, (c) eletrodo de referência (Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)) miniaturizado, (d) eletrodo de trabalho DLC:VACNT e (e) eletrodo auxiliar em aço inoxidável e saída das soluções.

5.2.3 Sistema FIA

O sistema FIA empregado foi composto por uma bomba peristáltica a qual foi utilizada para propulsionar a solução transportadora e as amostras, um injetor comutador manual construído em acrílico com alça de amostragem com volumes conhecidos para inserir as soluções-padrão e as amostras e uma célula eletroquímica como descrita anteriormente. Para os tubos da linha de condução e da alça de amostragem foram utilizados tubos de polipropileno de 0,8 mm de

diâmetro interno. O esquema do sistema FIA de linha única está representado na Figura 5.2.

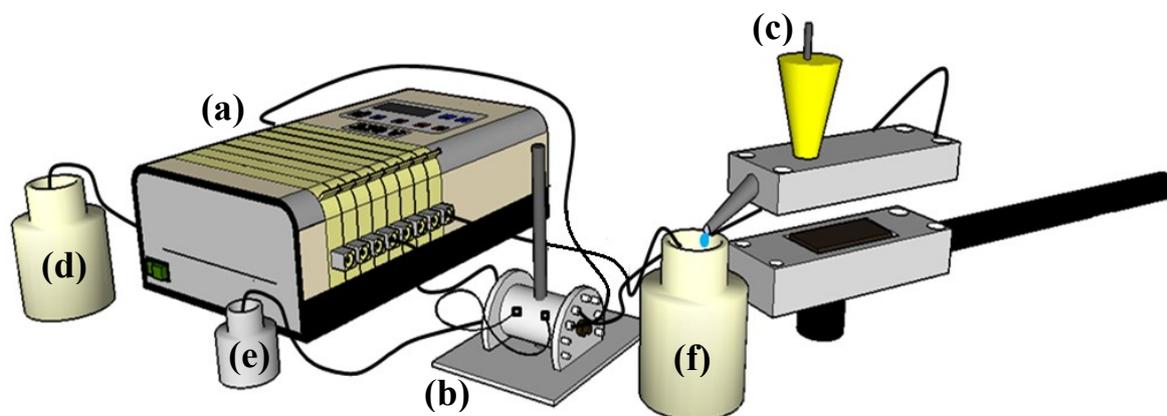


FIGURA 5.2 – Ilustração do sistema FIA utilizado. As representações são: **(a)** bomba peristáltica, **(b)** injetor comutador manual, **(c)** célula eletroquímica, **(d)** solução transportadora (eletrólito suporte), **(e)** solução-padrão ou de amostra e **(f)** descarte.

5.2.4 Procedimento analítico

No desenvolvimento do procedimento de análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica para determinação de H_2Q , foram seguidas diferentes etapas de otimização, construção de curvas analíticas e aplicação. Inicialmente, a resposta eletroquímica da molécula de H_2Q foi avaliada sobre o eletrodo de DLC:VACNT empregando-se voltametria cíclica. Além disso, ainda por voltametria cíclica, foi estudado a influência do pH da solução-tampão utilizada como eletrólito suporte. Este estudo proveu informação sobre a relação entre o número de elétrons e prótons envolvidos no processo de eletrooxidação do analito e, também, para fins de otimização, a condição de pH fornecendo a mais alta intensidade de corrente. Em seguida, o voltamograma hidrodinâmico para H_2Q foi construído, e o potencial a ser aplicado na medida amperométrica selecionado. Os parâmetros afetando o desempenho do sistema FIA foram

otimizados, incluindo a vazão da solução e volume de injeção. Conhecendo-se as condições otimizadas, a curva analítica para H₂Q foi construída a partir da injeção de soluções-estoque de H₂Q de diferentes concentrações. Os parâmetros de desempenho analítico faixa linear de resposta, limite de detecção e sensibilidade foram obtidos a partir das respectivas curvas analíticas.

A precisão do procedimento desenvolvido foi verificada a partir de estudos de repetibilidade intra-dia ($n = 10$) e inter-dias ($n = 3$). A aplicabilidade do procedimento eletroanalítico foi estudada a partir da análise de amostras de cremes dermatológicos a base de H₂Q. Na seção seguinte é descrito o procedimento adotado para preparação destas amostras.

5.2.5 Preparo de amostras de cremes dermatológicos

Amostras de cremes dermatológicos a base de H₂Q foram adquiridas no comércio local de São Carlos-SP. Inicialmente, 1,0000 g de cada amostra foi pesado e transferido para um balão volumétrico de 10 mL, e o volume foi aferido com solução de eletrólito suporte. Para a completa solubilização dos analitos alvo, as misturas obtidas foram levadas a um banho ultrassons por 10 min. Após isto, as soluções foram apropriadamente diluídas com solução de eletrólito suporte, para o ajuste da concentração à faixa linear das respectivas curvas analíticas e diretamente injetadas no sistema FIA para a análise amperométrica.

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Estudo do comportamento eletroquímico da H₂Q

Na Figura 5.3 (a) encontram-se os voltamogramas cíclicos obtidos na ausência e presença de H₂Q. Os voltamogramas foram registrados com o

eletrodo de DLC:VACNT e empregando-se como eletrólito suporte solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) e concentração de H_2Q igual a $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Na medida do branco (ausência de analito), nenhum processo faradaico de oxidação ou redução foram notados na respectiva janela de potencial utilizada. Após a adição de H_2Q à solução de eletrólito suporte, foram observados picos de oxidação e redução durante as varreduras de potencial anódica e catódica. Os potenciais de pico anódico e catódico foram iguais a $+0,134 \text{ V}$ e $+0,028 \text{ V}$, resultando em uma separação de picos (ΔE_p) de 110 mV . Segundo a teoria da voltametria cíclica, a separação dos potenciais de pico para um processo reversível a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ é dada por: $\Delta E_p = 59,2 \text{ mV}/n$, sendo n o número de elétrons envolvidos no processo redox. Os processos anódico e catódico da H_2Q envolvem dois elétrons ($n = 2$) (Figura 3 (b))^{153,154}, portanto, um valor de ΔE_p teórico para o processo totalmente reversível para H_2Q é igual a $29,6 \text{ mV}$. Como os processos de oxidação e redução da H_2Q sobre o eletrodo DLC:VACNT ocorreram com um valor de ΔE_p maior do que o teórico, o processo de transferência de elétrons neste caso foi um processo quase-reversível.

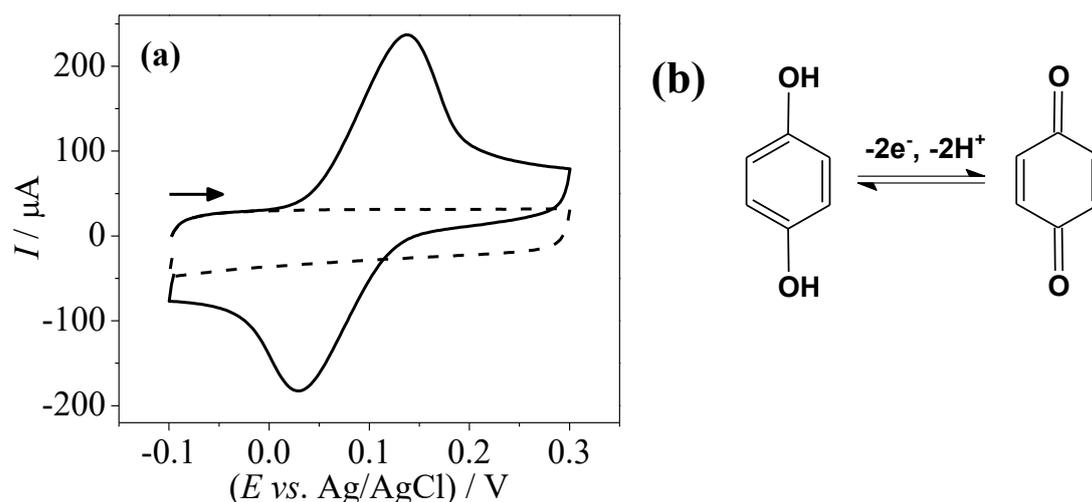


FIGURA 5.3 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo DLC:VACNT na ausência (linha pontilhada) e presença (linha sólida) de H_2Q $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ HQ. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Reação redox associada à molécula de H_2Q .

5.3.2 Estudo do efeito do pH do eletrólito suporte por voltametria cíclica

Para o estudo da influência do pH do eletrólito suporte sobre a resposta da H_2Q , empregou-se soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com pH variando de 2,0 a 8,0. Na Figura 5.4 (a) e (b) são mostrados os voltamogramas cíclicos obtidos nesta faixa de pH, a partir dos quais pode-se verificar que o pH afetou diretamente a resposta voltamétrica observada para H_2Q . Em relação ao potencial de pico (E_p), com o aumento do pH (ou diminuição da concentração hidrogeniônica, $[\text{H}_3\text{O}^+]$), foi notado um deslocamento dos potenciais para valores menos positivos. Esta variação inversa entre E_p e pH ocorreu de forma periódica, havendo uma relação linear entre estas variáveis como mostrado no gráfico da Figura 5.4 (b) (eixo secundário), de acordo com a Eq. 5.1:

$$E_p \text{ (V)} = 0,517 \text{ V} - 0,0541 \text{ (V pH}^{-1}\text{) pH, } r = 0,998 \quad \text{Eq. 5.1}$$

Como pode ser observado pela Eq. 5.1, um coeficiente angular igual a $-54,1 \text{ mV pH}^{-1}$ foi obtido, respectivamente. Este valor de coeficiente angular foi próximo ao coeficiente Nernstiano de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$, o qual é o coeficiente angular teórico para processos de oxi-redução envolvendo o mesmo número de elétrons (n) e prótons (n_p), ou razão n/n_p igual a 1. Este resultado está em consonância com o mecanismo redox reportado previamente para a molécula de H_2Q envolvendo a transferência de 2 elétrons/2 prótons^{153,154}. Ainda sobre o efeito do pH, na Figura 5.4 (b) (eixo primário) é apresentado o gráfico de corrente de pico (I_p) versus pH. Neste caso, foram observadas correntes de pico de maior intensidade para os tampões com pH igual a 2,0 e 7,0. Para a realização dos próximos ensaios, foi selecionado a solução de tampão fosfato 0,2 mol L com pH igual a 7,0, pois neste caso, um valor de potencial de pico menos positivo foi obtido em relação àquele registrado em pH igual a 2,0. O uso ou aplicação de potenciais menos positivos em medidas amperométricas é recomendado para minimização de possíveis interferências em potenciais mais elevados.

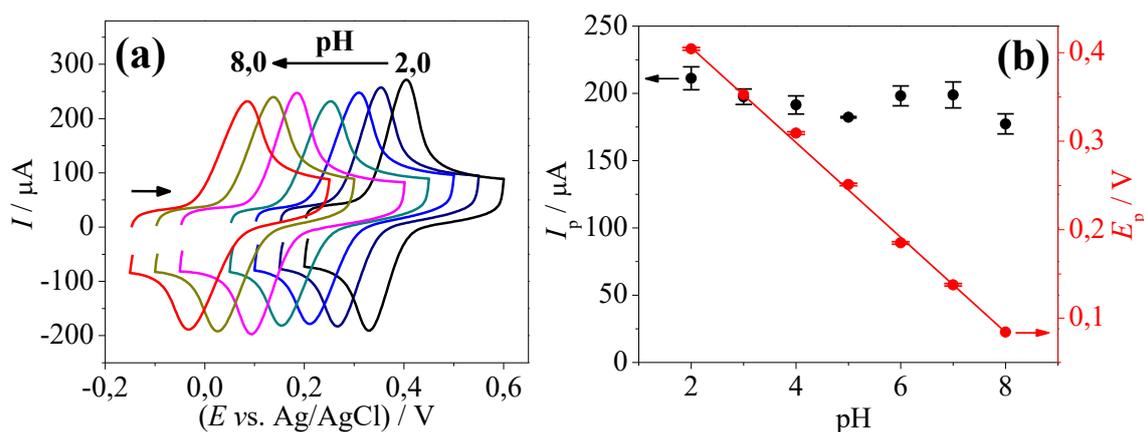


FIGURA 5.4 – (a) Voltamograma cíclico obtido usando o eletrodo DLC:VACNT para H_2Q $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} em diferentes pHs (2,0 a 8,0). $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Gráficos de I_p vs. pH e E_p vs. pH obtidos para H_2Q .

5.3.3 Influência da velocidade de varredura

Empregando-se experimentos de voltametria cíclica realizados em diferentes velocidades de varredura é possível viabilizar informações adicionais sobre a cinética de transferência de elétrons do analito sob estudo sobre a superfície eletródica proposta. Neste sentido, utilizando-se o eletrólito suporte otimizado anteriormente (tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ pH = 7,0), medidas de voltametria cíclica na faixa de velocidades de varredura de potenciais de 10 a 200 mV s⁻¹ foram realizadas. Os voltamogramas cíclicos obtidos nesta faixa de velocidades de varredura são mostrados na Figura 5.5. As correntes de pico ao longo das diferentes velocidades de varredura foram registradas, e o gráfico de log I_p vs. log v construídos (inserto (i) da Figura 5.5). As curvas correspondentes às componentes de corrente anódica e catódica do processo quase-reversível foram obtidas. Os gráficos de log I_p vs. log v foram lineares, de acordo com as seguintes equações de regressão linear:

$$\text{Corrente anódica: } \log(I_a) = -3,23 + 0,50 \log v, r = 0,996 \quad \text{Eq. 5.2}$$

$$\text{Corrente catódica: } \log(-I_c) = -3,24 + 0,50 \log v, r = 0,996 \quad \text{Eq. 5.3}$$

Como pode ser observado nas equações 5.2 e 5.3, coeficientes angulares para as curvas de log I_p vs. log v iguais a 0,50 foram obtidos, respectivamente. Estes valores de coeficiente angular foram iguais ao valor de 0,5 para um processo controlado apenas por difusão. Esta informação foi confirmada a partir da avaliação dos gráficos de I_p vs. $v^{1/2}$ e I_p vs. v também construídos para H₂Q. Estes gráficos são apresentados nos insertos ii (I_p vs. $v^{1/2}$) e iii (I_p vs. v) da Figura 5.5. Uma relação linear foi observada apenas entre I_p e $v^{1/2}$, no qual é o resultado aguardado para processos redox controlados por difusão. Esta constatação, juntamente com a não linearidade das curvas de I_p e v ,

determinado para processos redox controlados por adsorção, sugeriu que o processo redox do H₂Q sobre DLC:VACNT foi controlado apenas por difusão.

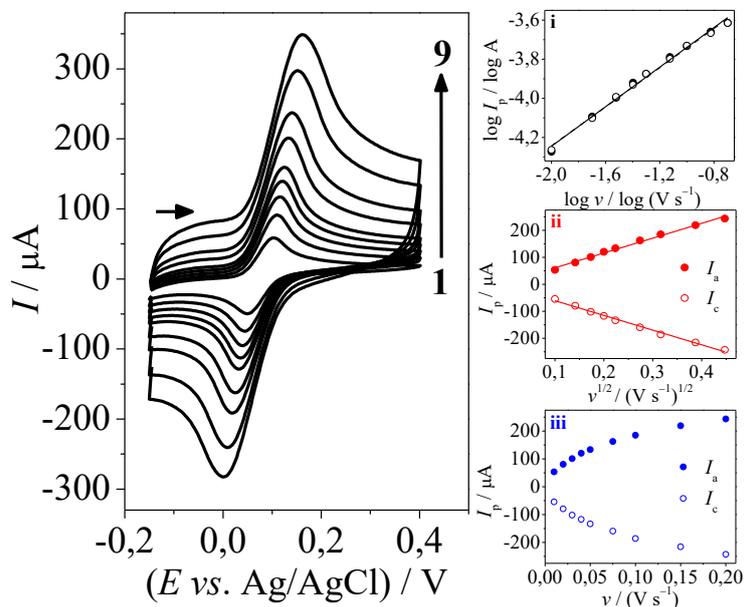


FIGURA 5.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo DLC:VACNT para H₂Q $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) em diferentes velocidades de varredura (1: 10, 2: 20, 3: 30, 4: 40, 5: 50, 6: 75, 7: 100, 8: 150 e 9:200 mV s^{-1}). Insetos: Gráficos de (i) $\log I_p$ vs. $\log v$, (ii) I_p vs. $v^{1/2}$ e (iii) I_p vs. v .

5.3.4 Voltamograma hidrodinâmico

Em seguida, o voltamograma hidrodinâmico para H₂Q foi construído empregando-se o sistema FIA acoplado à detecção amperométrica. Neste estudo, foram realizadas injeções no sistema FIA de uma solução-estoque de H₂Q $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Na Figura 5.6 encontram-se os amperogramas obtidos sob condições de fluxo para H₂Q na faixa de potenciais de 0,0 a +0,4 V. Esta faixa de potenciais positivos foi estabelecida selecionando-se potenciais em torno do respectivo potencial de pico anódico da H₂Q, considerando-se valores mais ou menos positivos. Para cada potencial empregado, a solução-estoque de H₂Q supramencionada foi injetada em triplicata. As correntes de pico corrigidas

pela linha base (I_p) foram obtidas para cada condição de potencial aplicado, e os valores médios acompanhados dos seus respectivos valores de desvio-padrão foram colocados em gráfico em função do potencial aplicado, dando origem ao voltamograma hidrodinâmico mostrado no inserto da Figura 5.6. Como pode ser observado, a corrente de pico sofreu incrementos até o potencial de +0,2 V, a partir do qual a corrente de pico atingiu um patamar de corrente. Sendo assim, selecionou-se para os demais experimentos analíticos o potencial de +0,2 V a ser aplicado para a determinação de H_2Q .

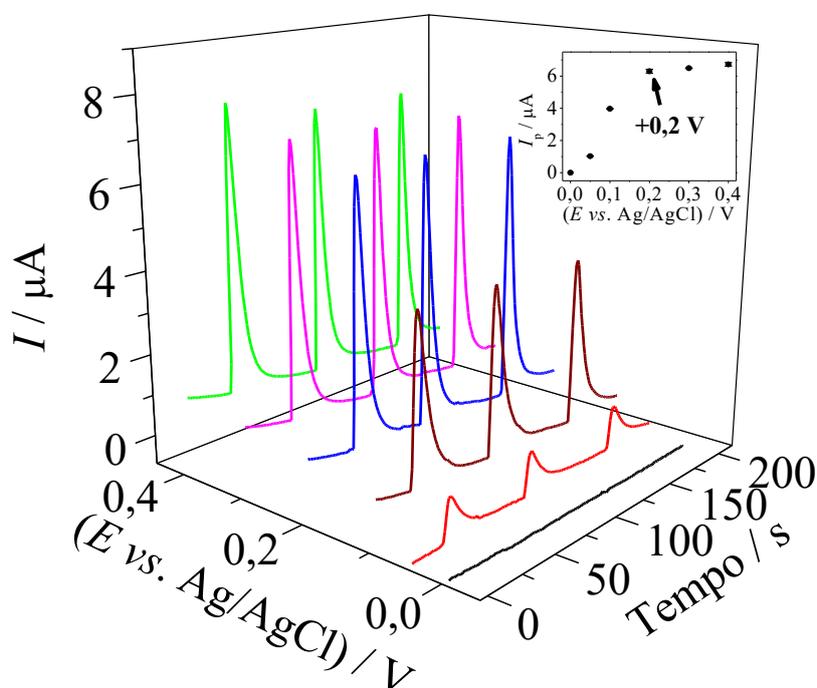


FIGURA 5.6 – Respostas amperométricas obtidas usando o eletrodo de DLC:VACNT em diferentes valores de potencial aplicado para injeções sucessivas de H_2Q $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$). Inseto: voltamograma hidrodinâmico obtido para H_2Q .

5.3.5 Otimização dos parâmetros do sistema FIA

Nesta etapa do trabalho, os parâmetros experimentais do sistema FIA foram sujeitos à otimização, incluindo a vazão da solução transportadora

(eletrólito suporte) e o volume de injeção (volume da alça de amostragem). No caso da vazão, este parâmetro foi avaliado variando-o de 1,1 a 4,7 mL min⁻¹, sendo as correntes de pico obtidas para H₂Q a cada vazão mostradas no gráfico da Figura 5.7 (a). A corrente de pico aumentou com o acréscimo da vazão até o valor de 3,8 mL min⁻¹, a partir do qual a corrente de pico tendeu a um valor constante sendo, portanto, este o valor de vazão selecionado para os demais ensaios. A corrente de pico normalmente aumenta com a elevação da vazão devido ao aumento do transporte de massa do analito para a superfície do eletrodo por unidade de tempo provocado pela diminuição da espessura da camada de difusão de Nernst para valores mais altos de vazão. Todavia, após certo valor de vazão da solução transportadora, a corrente atinge o seu valor máximo pois a espessura da camada de difusão de Nernst não diminui mais de forma significativa¹⁵⁵.

O efeito do volume de injeção sobre a resposta amperométrica do eletrodo de DLC:VACNT para H₂Q é mostrado no gráfico da Figura 5.7 (b). Neste caso, o volume de injeção foi estudado na faixa de 50 a 500 µL, e as correntes de pico obtidas para H₂Q aumentaram de forma significativa com o acréscimo do volume de injeção até o valor de 350 µL. Sendo assim, foi selecionado este volume de 350 µL como o volume de injeção para os experimentos subsequentes. No caso do volume de injeção, o sinal de corrente tende a aumentar para valores superiores deste parâmetro, devido à diminuição do efeito de diluição da zona de amostra ao longo do caminho analítico entre o injetor e a cela eletroquímica. Este efeito positivo é observado até certo valor do volume de injeção, onde a diluição nas extremidades da zona de amostra injetada não atinge a região central da zona de amostra injetada, e o valor de máximo de corrente de pico é alcançado nesta condição, e qualquer incremento adicional do volume de injeção não resultará em ganhos significativos de corrente¹⁵⁵.

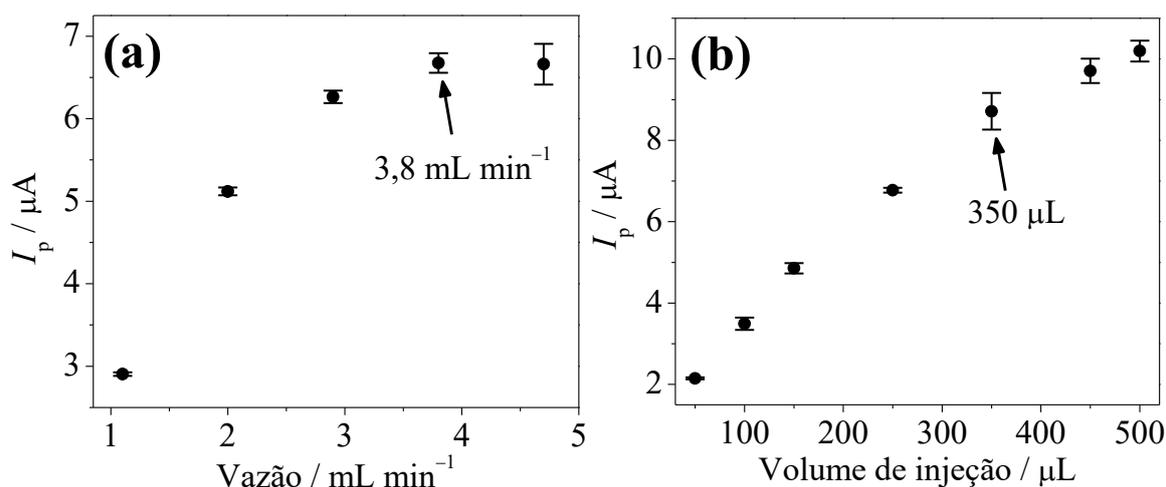


FIGURA 5.7 – Efeito (a) da vazão da solução transportadora (eletrólito suporte) e (b) do volume de injeção sobre a resposta amperométrica do eletrodo de DLC:VACNT para H_2Q .

5.3.6 Curva analítica

Uma vez otimizadas as condições experimentais para a determinação amperométrica de H_2Q , a respectiva curva analítica foi construída empregando-se o eletrodo de DLC:VACNT. Para tal, soluções-estoque de H_2Q com diferentes concentrações foram preparadas, e sucessivamente injetadas no sistema FIA. Na Figura 5.8 é mostrado o amperograma obtido para injeções sucessivas das soluções-estoque de H_2Q , sendo cada solução injetada em triplicata. Como pode ser visto, incrementos sucessivos de corrente foram observados após a injeção de soluções de H_2Q mais concentradas. Esta variação de corrente resultou em uma relação linear entre corrente de pico e concentração de H_2Q , na faixa de concentrações de $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, como mostrado pela curva analítica do inserto (i) da Figura 5.8. A curva analítica obtida para H_2Q seguiu a seguinte equação de regressão linear:

$$I_p (\mu\text{A}) = -0,0073 + 0,089 [\text{H}_2\text{Q}] (\mu\text{mol L}^{-1}), r = 0,999 \quad \text{Eq. 5.4}$$

Além disso, de forma a verificar possíveis efeitos de memória, as soluções-estoque de H₂Q foram em seguida injetadas no sistema FIA com concentrações decrescentes. As correntes de pico observadas, neste caso, foram similares às registradas quando as soluções-estoque de H₂Q foram injetadas em ordem crescente de concentração. Esta observação pode ser diretamente avaliada pela comparação das alturas de pico correspondentes aos números de 1 a 9 no amperograma da Figura 5.8. Quantitativamente, a curva analítica resultante da injeção das soluções-estoque em ordem decrescente de concentração (mostrada no inserto (ii) da Figura 5.8) seguiu a equação de regressão linear:

$$I_p (\mu\text{A}) = +0,068 + 0,088 [\text{H}_2\text{Q}] (\mu\text{mol L}^{-1}); r = 0,999 \quad \text{Eq. 5.5}$$

As sensibilidades do eletrodo DLC:VACNT na determinação amperométrica de H₂Q com a concentração crescente e decrescente foram muito próximas (RSD de apenas 1,1%), mostrando a ausência de qualquer efeito de memória. Se algum efeito de memória tivesse tomado lugar, a linearidade da curva analítica obtida durante a injeção de soluções-estoque em ordem crescente de concentração deveria ter sido perdida, ou a sensibilidade alterada significativamente devido à resposta de moléculas de analito pré-adsorvidas. O LOD para H₂Q foi estimado como sendo $7,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

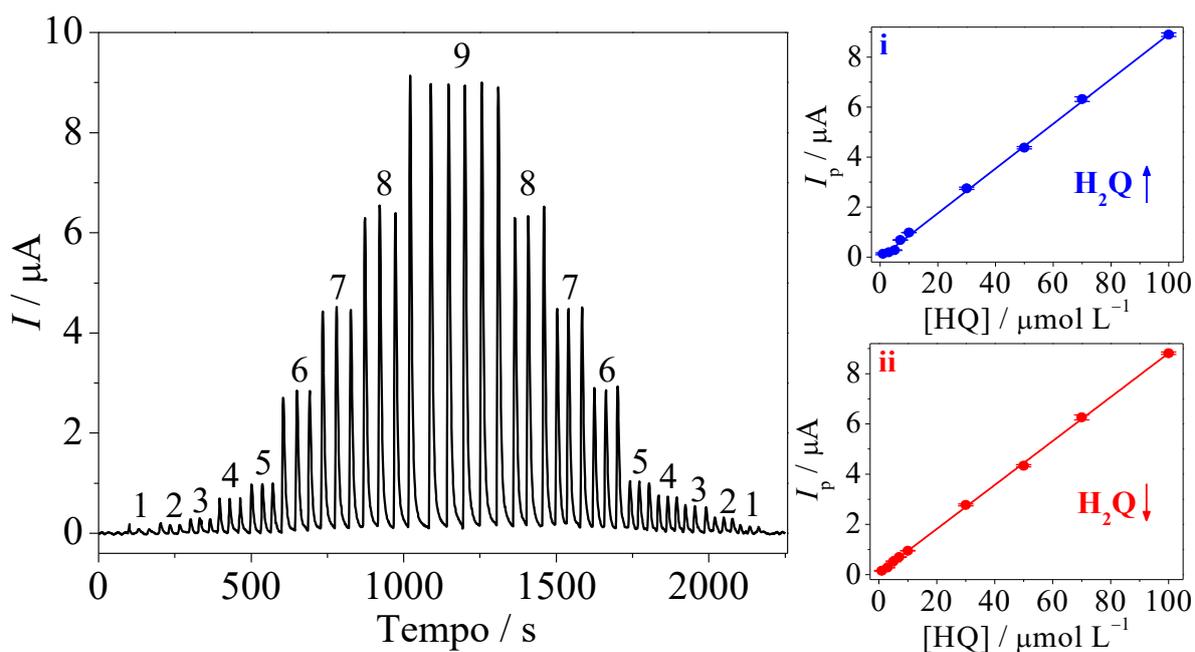


FIGURA 5.8 – Resposta amperométrica obtida para o eletrodo de DLC:VACNT após a injeção de soluções-estoque de H_2Q com diferentes concentrações (1: $1,0 \times 10^{-6}$; 2: $3,0 \times 10^{-6}$; 3: $5,0 \times 10^{-6}$; 4: $7,0 \times 10^{-6}$; 5: $1,0 \times 10^{-5}$; 6: $3,0 \times 10^{-5}$; 7: $5,0 \times 10^{-5}$; 8: $7,0 \times 10^{-5}$ e 9: $1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) preparadas em solução de tampão fosfato $0,2$ mol L^{-1} (pH = 7,0). Insetos: curvas analíticas obtidas para H_2Q com a injeção das soluções-estoque em ordem (i) crescente e (ii) decrescente de concentração.

5.3.7 Estudo de repetibilidade e recuperação

Para o estudo de repetibilidade, soluções-estoque de H_2Q foram injetadas no sistema FIA, e o sinal amperométrico para cada analito monitorado ao longo de dez injeções sucessivas ($n = 10$). Na Figura 5.9 é mostrado o amperograma obtido para as injeções sucessivas de H_2Q $1,0 \times 10^{-5}$ e $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} . Os sinais de corrente para as soluções de H_2Q $1,0 \times 10^{-5}$ e $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}) apresentaram valores de RSD iguais a 6,2 e 1,9%, respectivamente. Os valores de RSD registrados em ambos os casos, demonstram a excelente repetibilidade de resposta do eletrodo de DLC:VACNT para a detecção amperométrica de H_2Q sob condições de FIA.

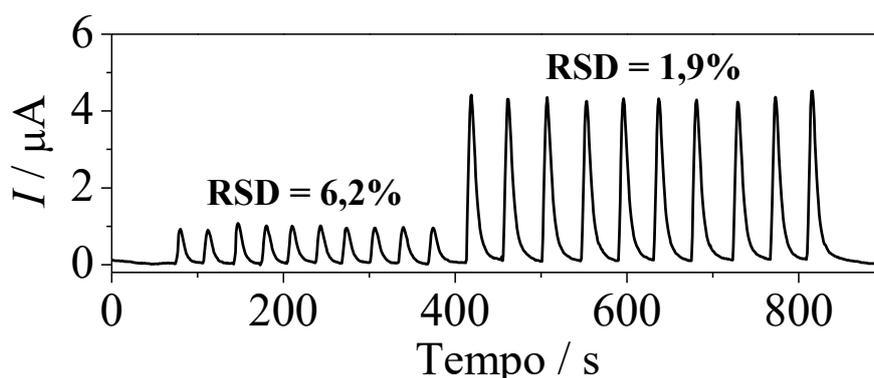


FIGURA 5.9 – Resposta amperométrica obtida para o eletrodo de DLC:VACNT após a injeção de soluções-estoque de H_2Q $1,0 \times 10^{-5}$ e $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} preparadas em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0).

Para verificar a seletividade do método amperométrico proposto, testes de adição e recuperação de H_2Q foram realizados empregando-se duas amostras comerciais de creme dermatológico. As concentrações de H_2Q utilizadas foram $5,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , respectivamente. As porcentagens de recuperação obtidas neste estudo encontram-se apresentadas na Tabela 5.1. Como pode ser observado, porcentagens de recuperação próximas a 100% foram obtidas em todos os casos, demonstrando a não interferência de qualquer substância presente na matriz de amostra sobre a determinação do analito alvo pelo método eletroanalítico em fluxo desenvolvido.

TABELA 5.1 – Resultados obtidos para os ensaios de adição/recuperação em amostras de creme dermatológico contendo H₂Q

Amostra	[H ₂ Q] (mol L ⁻¹)		Recuperação* (%)
	Adicionado	Encontrado	
1	$5,0 \times 10^{-6}$	$(4,9 \pm 0,1) \times 10^{-8}$	98
	$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,08 \pm 0,01) \times 10^{-7}$	108
2	$5,0 \times 10^{-6}$	$(5,3 \pm 0,2) \times 10^{-7}$	106
	$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,14 \pm 0,01) \times 10^{-7}$	114

*Porcentagem de recuperação = $([\text{Encontrado}] / [\text{Adicionado}]) \times 100\%$.

5.3.7 Aplicação na análise de cremes dermatológicos

O método FIA com detecção amperométrica otimizado foi aplicado na determinação de H₂Q em amostras de cremes dermatológicos. As mesmas amostras foram também analisadas por um método de espectroscopia UV-Vis para efeitos de comparação. Na Tabela 5.2 encontram-se os teores de H₂Q obtidos (em % m/m) por ambos os métodos. De fato, no caso da amostra 2, a análise por UV-Vis não foi possível, tendo sido verificado uma interferência positiva de matriz muito significativa. Em contrapartida, o método amperométrico foi capaz de quantificar a H₂Q nesta amostra sem problemas de interferência. Analisando-se os resultados fornecidos por ambos os métodos para a amostra 1, verifica-se que estes foram concordantes, com um valor de RSD de apenas +3,1%, respectivamente. A concordância dos dados sugere a boa exatidão do método amperométrico desenvolvido.

TABELA 5.2 – Resultados de determinação de H₂Q em amostras de cremes dermatológicos empregando-se os métodos amperométrico proposto e UV-Vis comparativo

Amostra	Teor de H ₂ Q (% m/m)		RSD* (%)
	Comparativo	Proposto	
1	3,9 ± 0,2	4,02 ± 0,02	+3,1
2**	----	3,10 ± 0,01	----

*RSD = [(Proposto – Comparativo) / (Comparativo)] × 100%. **Valor rotulado: 4,0% (m/m).

5.4 Conclusões parciais

O uso do eletrodo de DLC:VACNT proposto nesta tese foi também explorado na determinação de um composto de interesse farmacêutico/cosmético empregando-se análise por injeção em fluxo acoplada à detecção amperométrica. Uma vez confirmada a eletroatividade do analito de interesse (hidroquinona (H₂Q)) sobre o eletrodo de DLC:VACNT, uma série de otimizações foram realizadas para seleção das melhores condições de eletrólito suporte, potencial aplicado e parâmetros do sistema FIA (vazão e volume de injeção). Sob as condições ótimas, a curva analítica para H₂Q foi construída, e uma faixa linear de $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ foi obtida, assim como um limite de detecção igual a $7,7 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Interessantemente, não foi verificado nenhum efeito de memória durante as análises de H₂Q empregando-se o eletrodo proposto. A determinação de H₂Q em formulações comerciais de cremes dermatológicos pelo método amperométrico proposto e por um método comparativo de espectroscopia UV-Vis confirmou a efetividade e exatidão do novo método eletroanalítico na análise de amostras contendo H₂Q.

CAPÍTULO 6

Estudo eletroquímico e determinação voltamétrica do fármaco Ramipril empregando um sensor eletroquímico nanoestruturado à base de negro de fumo

6.1 Objetivos específicos

A partir deste ponto, inicia-se a apresentação dos resultados obtidos no desenvolvimento de eletrodos modificados à base de CB. Em um primeiro momento, o CB foi empregado como único nanomaterial modificador, sendo as nanopartículas de CB imobilizadas em um filme de dihexadecilhidrogenofosfato (DHP) sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês “*Glassy Carbon Electrode*”). O eletrodo modificado obtido, denominado CB-DHP/GCE, foi utilizado para explorar o comportamento eletroquímico do fármaco Ramipril (RAM) e no desenvolvimento de um procedimento de SWV para a determinação deste fármaco em produtos farmacêuticos e amostras biológicas sintéticas. Os resultados apresentados nesta seção também se encontram reportados na literatura, com a seguinte referência: Tiago A. Silva e Orlando Fatibello-Filho. “Square-wave adsorptive anodic stripping voltammetric determination of ramipril using an electrochemical sensor based on nanostructured *carbon black*”, *Analytical Methods*, vol. 32, 4680–4687, 2017.

6.2 Experimental

6.2.1 Materiais e reagentes

O padrão de RAM foi adquirido da Farmácia de Manipulação Calêndula (São Carlos, Brasil). CB do tipo VULCAN[®] VXC72R foi gentilmente fornecido pela empresa Cabot Corporation. DHP e todos os demais reagentes foram de grau analítico e adquiridos da Sigma-Aldrich. As soluções aquosas foram preparadas utilizando água ultrapura obtida em um sistema Milli-Q (Millipore[®], Bedford MA) com resistividade superior a 18,2 MΩ cm. Uma

solução-estoque de RAM $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diariamente em metanol, sendo as demais diluições realizadas em solução de eletrólito suporte.

6.2.2 Instrumentação

Um banho de ultrassom (ou banho ultrassônico) UltraCleaner 1400 A da Unique Ultrasonic Systems (Indaiatuba, Brasil) foi empregado nos procedimentos de limpeza do GCE e de preparação das dispersões de CB. As medidas de pH foram realizadas com um pHmetro Orion Expandable Ion Analyzer (modelo EA-940, EUA), equipado com um com um eletrodo combinado de vidro (contendo eletrodo de referência externo de Ag/AgCl (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$)). Os ensaios voltamétricos foram conduzidos em um potenciostato/galvanostato μ Autolab Tipo III (EcoChemie, Holanda) gerenciado pelo software GPES 4.9. Foi adotada uma célula eletroquímica de compartimento único com sistema de três eletrodos, sendo estes: o GCE (diâmetro de 3,0 mm) modificado como o eletrodo de trabalho, o eletrodo de Ag/AgCl (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$) como o eletrodo de referência e uma folha de Pt como o eletrodo auxiliar. As características morfológicas do CB bem como da superfície de GCE modificada foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) usando um microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo Magellan 400 L. Para a análise das amostras farmacêuticas pelo método comparativo foi utilizado um espectrofotômetro Shimadzu UV-2550 equipado com uma cubeta de quartzo de 1,00 cm.

6.2.3 Preparação do eletrodo modificado

Um esquema das etapas experimentais seguidas para a preparação do GCE modificado com CB imobilizado em filme de DHP é apresentado na Figura 6.1. Primeiramente, uma dispersão de CB-DHP foi preparada pela

mistura de CB (1 mg) e DHP (1 mg) em 1 mL de água. Esta mistura foi então submetida à sonicação por 1 h, sendo então obtida uma dispersão estável de CB-DHP. Antes da modificação, a superfície do GCE foi cuidadosamente polida em politriz com alumina 0,05 μm até a obtenção de uma superfície espelhada. Em seguida, a superfície do GCE foi lavada exaustivamente com água ultrapura e mantido em banho ultrassônico com álcool isopropílico por 2 min. Para a modificação do GCE, 8 μL da dispersão de CB-DHP foi gotejada sobre a superfície do GCE e o solvente deixado evaporar a temperatura ambiente por 2 h. O eletrodo modificado foi nomeado como CB-DHP/GCE.

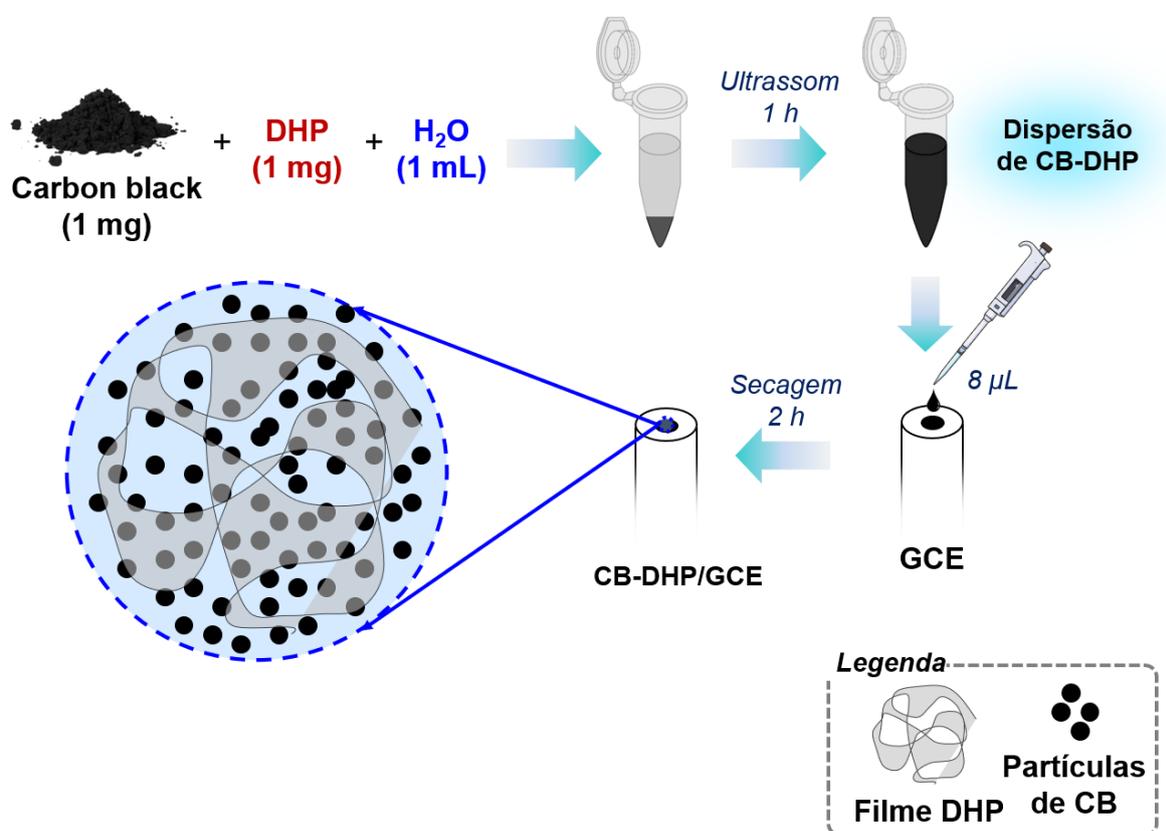


FIGURA 6.1 – Representação esquemática do procedimento de preparação do GCE modificado. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

6.2.4 Etapas analíticas

As etapas analíticas consistiram do estudo do comportamento eletroquímico da molécula de RAM, otimização das condições experimentais, construção da curva analítica, estudos de repetibilidade e de interferência e análise de amostras. O comportamento eletroquímico da molécula de RAM sobre CB-DHP/GCE foi investigado por voltametria cíclica em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,0). Para propósitos de comparação, a resposta voltamétrica do RAM também foi estudada sobre o GCE não modificado. Após confirmada a eletroatividade da molécula de RAM, uma série de ensaios foram conduzidos para otimizar as condições experimentais que afetam o sinal analítico (corrente de pico) da RAM. Assim, foi avaliada a influência do pH da solução de eletrólito suporte, tempo e potencial de pré-concentração e os parâmetros experimentais da técnica de voltametria adsortiva de redissolução anódica por onda quadrada (SWAdASV, do inglês “*Square-Wave Adsorptive Anodic Stripping Voltammetry*”), a qual foi a técnica eletroanalítica selecionada neste trabalho. Os parâmetros da SWAdASV submetidos à otimização foram a frequência (f), amplitude (A) e incremento de potencial (ΔE_s). Em seguida, a curva analítica para a RAM, empregando-se a SWAdASV, foi construída a partir da adição de pequenas alíquotas de uma solução-estoque de RAM na célula eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte. A partir disso, os parâmetros analíticos para a determinação de RAM foram obtidos, incluindo a faixa linear de resposta e o LOD. Similarmente, o LOD foi calculado empregando-se a Eq. 3.8. Foi avaliada a possível interferência de algumas substâncias concomitantes tipicamente encontradas em amostras de formulações farmacêuticas em uma razão analito:concomitante de 1:10. A precisão de medição do sensor voltamétrico proposto foi testada por estudos de repetibilidade intra- e inter-dias.

O procedimento voltamétrico proposto foi aplicado na determinação de RAM em amostras de formulações farmacêuticas e amostras biológicas sintéticas. Duas formulações farmacêuticas contendo RAM como

princípio ativo foram adquiridas em uma drogaria local, contendo dois diferentes teores de RAM por comprimido: Amostra A – 5,0 mg comprimido⁻¹; Amostra B – 10,0 mg comprimido⁻¹. Para análise destas amostras, elas foram inicialmente sujeitas a um procedimento de preparo de amostra simples. Assim, dez comprimidos de cada amostra foram macerados com o uso de almofariz e pistilo e rigorosamente pesados e a massa média de cada comprimido calculada. A massa equivalente a um comprimido foi pesada e dissolvida em 10 mL de metanol. Os concomitantes não solubilizados foram separados da amostra por um procedimento simples de filtração, e o filtrado transferido para um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, um volume adequado de cada amostra foi adicionado na célula eletroquímica contendo 10 mL de eletrólito suporte para a medida de SWAdASV.

As amostras biológicas sintéticas de urina e soro humano foram preparadas seguindo o procedimento descrito por Laube et al.¹⁴² e Parham e Zargar¹⁴³. Ambas as amostras foram fortificadas com concentrações conhecidas de RAM e diretamente analisadas empregando-se o procedimento voltamétrico proposto. Nestes casos, os resultados foram reportados como porcentagem de recuperação.

6.3 Resultados e Discussão

6.3.1 Análise morfológica e eletroquímica

Na Figura 6.2 são reportadas as imagens de MEV coletadas para as diferentes superfícies. A imagem de MEV obtida para a superfície do GCE não modificada é mostrada na Figura 6.2 (a), a partir da qual pode-se verificar uma superfície planar para o GCE. As características morfológicas do nanomaterial de CB foram investigadas na presença e ausência do filme de DHP. Nas Figuras 6.2 (b, c) são apresentadas as imagens de MEV registradas para o CB depositado

sobre a superfície do GCE. Como pode ser observado, o CB é formado por nanopartículas praticamente esféricas, com a ocorrência de alguns aglomerados. Um histograma de distribuição por diâmetro das partículas foi construído para o CB, a partir do qual foi determinado que as nanopartículas de CB apresentaram um diâmetro médio de 34,5 nm (Figura 6.2 (d)). Nas Figuras 6.2 (e-g) encontram-se as imagens de MEV registradas em diferentes ampliações para o GCE modificado com CB e o filme de DHP. Considerando-se estas imagens, ficou evidenciado que o CB manteve suas características morfológicas e um segundo material pode ser claramente distinguido, sendo este o filme de DHP. Além disso, é possível notar que o filme de DHP cobriu as nanopartículas de CB, mantendo estas confinadas sobre a superfície do GCE, o que gerou uma arquitetura de sensor com boa robustez mecânica e, por conseguinte, excelente precisão de medidas.

Na Figura 6.3 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de GCE não-modificado e CB-DHP/GCE na presença da sonda redox $K_3Fe(CN)_6$. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos para uma solução de $K_3Fe(CN)_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a 50 mV s^{-1} . Comparativamente, a separação de potenciais de pico (ΔE_p) diminuiu de 124 mV no caso do eletrodo de GCE não-modificado para 91 mV com o uso do CB-DHP/GCE, demonstrando a melhoria da cinética de transferência de carga alcançada com a incorporação de nanopartículas de CB sobre a superfície de GCE. Além disso, as correntes de pico anódica e catódica também sofreram incrementos, após a modificação do eletrodo base com CB, indicando o aumento da área eletroativa.

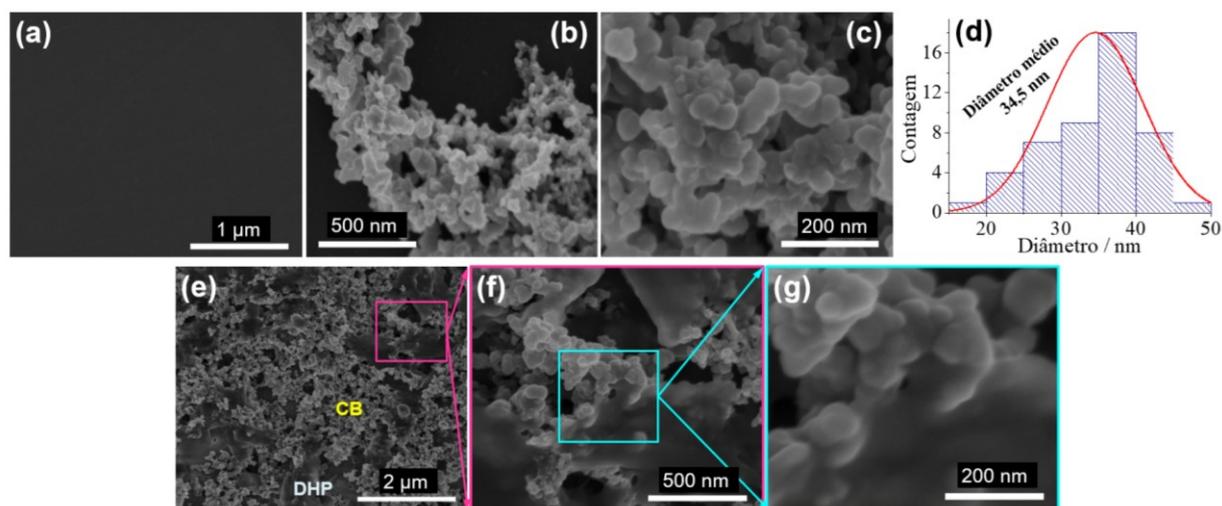


FIGURA 6.2 – Imagem de MEV obtida para (a) GCE não modificado, (b, c) CB-GCE e (e-g) CB-DHP/GCE. (d) Histograma de distribuição de diâmetros obtido para o nanomaterial CB. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

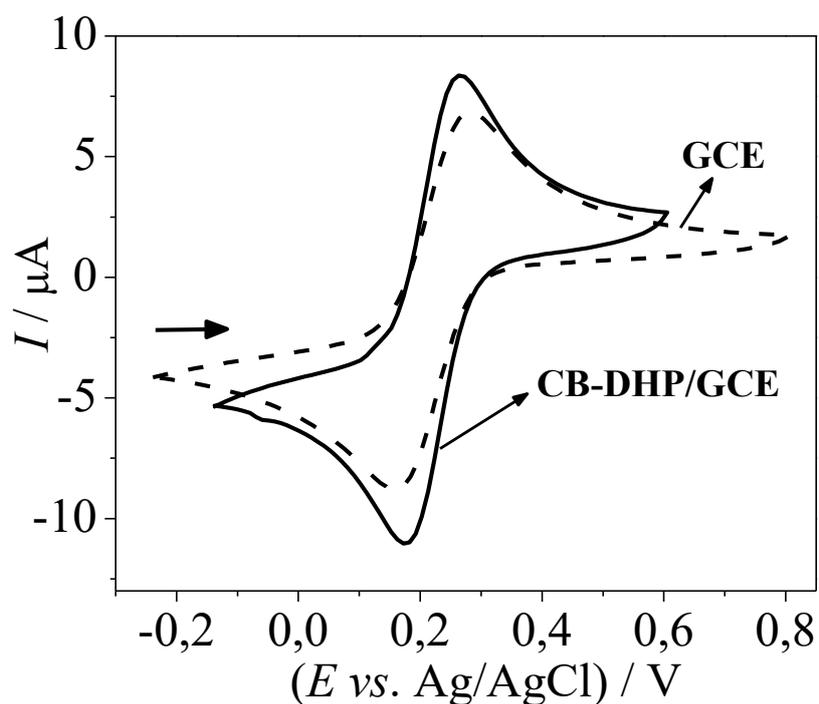


FIGURA 6.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos para $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando GCE e CB-DHP/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

6.3.2 Resposta eletroquímica da molécula de RAM

A eletroatividade da molécula de RAM foi avaliada por voltametria cíclica. As medidas de voltametria cíclica foram realizadas em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 5,0$) contendo RAM $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos obtidos sob estas condições utilizando o GCE não modificado e o CB-DHP/GCE proposto são apresentados na Figura 6.4. Em ambos os casos, um processo de oxidação foi verificado durante a varredura de potenciais anódica, com ausência de processos de redução após a inversão do sentido da varredura de potenciais. Estes resultados sugerem que a molécula de RAM sofreu uma reação de oxidação irreversível. Comparativamente, ficou evidente, a partir dos voltamogramas cíclicos da Figura 6.4, que a modificação da superfície do GCE com um filme de DHP contendo CB nanoestruturado provocou uma melhora bastante significativa da resposta voltamétrica do composto RAM. O uso do CB-DHP/GCE promoveu o deslocamento do potencial de pico (E_p) de $+1,37 \text{ V}$ para $+1,17 \text{ V}$ e a corrente de pico anódica (I_p) passou de $1,9 \text{ }\mu\text{A}$ para $10,6 \text{ }\mu\text{A}$, isto é, o E_p foi 200 mV menos positivo e a corrente de pico aumentou $5,6$ vezes. Este conjunto de resultados demonstrou o efeito eletrocatalítico das nanopartículas de CB sobre a eletrooxidação do RAM, e a potencialidade do CB-DHP/GCE proposto para realizar a detecção voltamétrica de RAM.

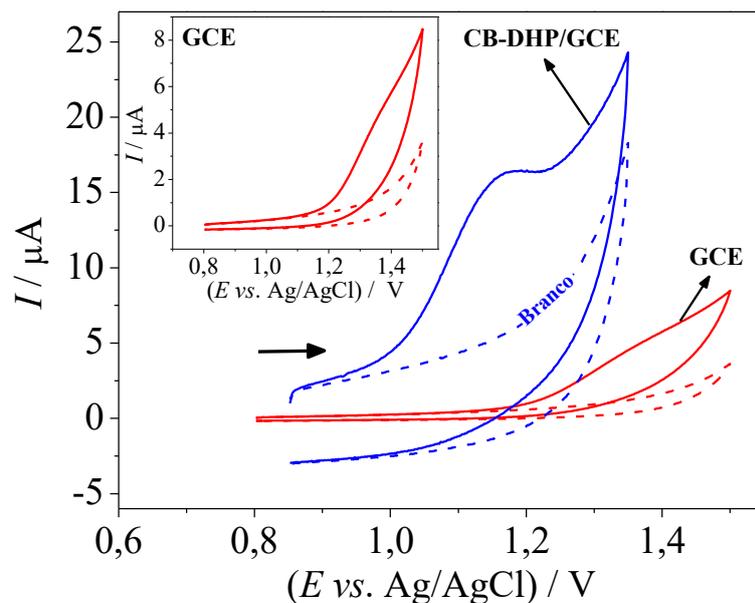


FIGURA 6.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 5,0$) contendo $\text{RAM } 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ usando um GCE não modificado e o CB-DHP/GCE proposto. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

6.3.3 Efeito do pH

A influência do pH sobre a resposta voltamétrica do RAM foi estudada usando soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH como eletrólito suporte. Na Figura 6.5 (a) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos em soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com pH variando entre 2,0 e 10,0, e contendo $\text{RAM } 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Analisando-se os voltamogramas da Figura 6.5 (a), pode-se inferir que a concentração hidrogeniônica afetou diretamente a resposta voltamétrica da molécula de RAM. Em relação aos valores de I_p obtidos nas diferentes condições de pH (Figura 6.5 (b), eixo secundário: gráfico de I_p vs. pH), o sinal analítico mais intenso foi verificado em $\text{pH} = 3,0$, respectivamente. Conseqüentemente, foi decidido selecionar o $\text{pH} = 3,0$ para os estudos seguintes. Ainda sobre o efeito do pH, o potencial de pico variou com o pH (Figura 6.5 (b), eixo primário: gráfico de E_p vs. pH). O potencial de pico variou linearmente em duas faixas de pH, entre 2,0

e 5,0 e, posteriormente, entre 5,0 e 8,0. Tais curvas lineares apresentaram uma intersecção em $\text{pH} = 5,2$ (valor do $\text{p}K_a$ condicional ($\text{p}K_a^*$), o qual está em consonância com o $\text{p}K_a$ termodinâmico reportado para a molécula de RAM ($\text{p}K_a = 5,7$)¹⁵⁷.

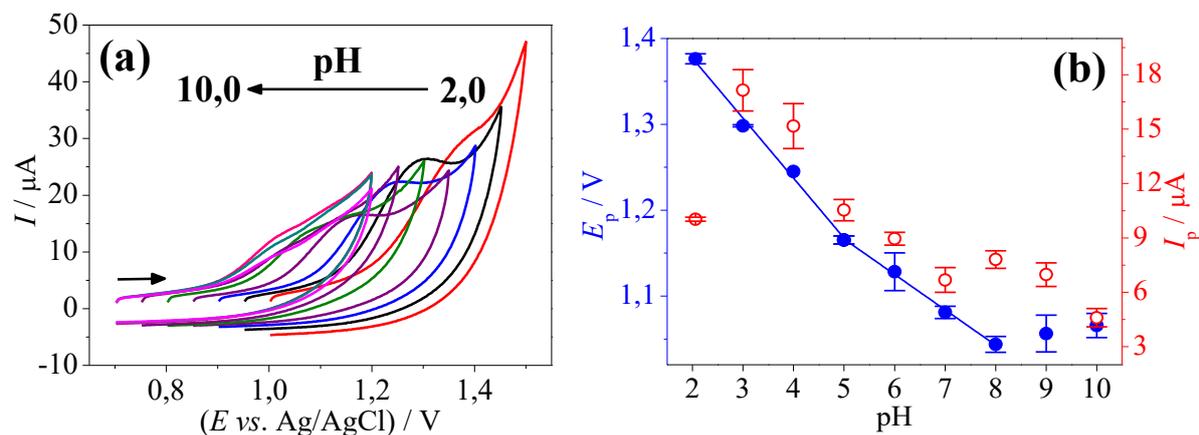


FIGURA 6.5 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pHs (2,0 – 10,0) contendo RAM $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ usando o CB-DHP/GCE proposto. ν : 50 mV s^{-1} . (b) Gráficos de E_p vs. pH e I_p vs. pH. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

6.3.4 Efeito da velocidade de varredura e número de elétrons (n)

Na Figura 6.6 encontram-se os voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura ($10 - 400 \text{ mV s}^{-1}$) em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,0$) contendo RAM $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Considerando o coeficiente angular obtido para a curva de $\log \nu$ versus $\log I_p$ ($0,77$) (inserto da Figura 6.6), pode-se concluir que o processo de oxidação verificado para o RAM foi governado pela mistura dos processos de difusão e adsorção. Isto foi confirmado pela não linearidade entre I_p e $\nu^{1/2}$ (típico para um processo controlado por difusão) e I_p vs. ν (típico para um processo controlado por adsorção).

A teoria da voltametria cíclica estabelece a seguinte relação entre potencial de pico (E_p) e potencial de meia-onda ($E_{1/2}$) para processos redox irreversíveis, Eq. 6.1:

$$E_p - E_{1/2} = 47,7 / \alpha n \quad \text{Eq. 6.1}$$

Aplicando-se a Eq. 6.1 aos resultados de voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura (Figura 6.6), o seguinte valor médio de αn foi obtido: $0,54 \pm 0,07$. Considerando $\alpha = 0,5$, o número de elétrons para a eletrooxidação da molécula de RAM foi determinado como sendo 1,08 ($n \approx 1,0$). Outra abordagem foi adotada para o cálculo do número de elétrons. Utilizando-se a teoria da voltametria de onda quadrada para processos irreversíveis, tem-se que o potencial de pico é linearmente dependente do logaritmo decimal da frequência de aplicação de pulsos ($\log f$), Eq. 6.2:

$$E_p = (2,3 RT/\alpha nF) \log f \quad \text{Eq. 6.2}$$

onde f é a frequência de aplicação dos pulsos de potencial e os demais termos tem seus significados usuais. Portanto, a partir de um gráfico de E_p versus $\log f$ o número de elétrons envolvidos no processo pode ser calculado utilizando-se o coeficiente angular deste gráfico. A frequência foi variada de 10 a 40 Hz, e a partir disso, a seguinte relação linear entre E_p e $\log f$ foi obtida, Eq. 6.3:

$$E_p = 1,16 + 0,113 \log f, r = 0,992 \quad \text{Eq. 6.3}$$

Comparando-se os valores de coeficiente angular das Eqs. 6.2 e 6.3, um valor de αn igual a 0,52 foi obtido. Assumindo novamente α como sendo igual a 0,5, o número de elétrons pôde ser previsto como 1,04 ($n \approx 1,0$), em concordância com o mesmo resultado encontrado empregando-se a Eq. 6.1 no

estudo de velocidade de varredura de potencial. Considerando-se estes resultados, uma possível reação de eletrooxidação foi proposta para o ramipril (Figura 6.7) envolvendo a oxidação do grupo amina secundária com a perda de um elétron, inspirada na eletrooxidação da molécula de enalapril reportada na literatura^{158,159}.

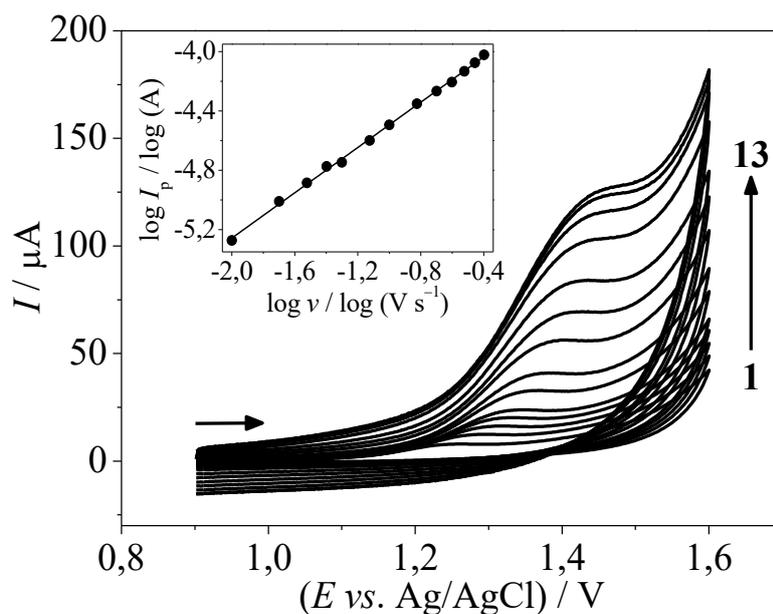


FIGURA 6.6 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura (1: 20 mV s^{-1} – 13: 400 mV s^{-1}) em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ contendo RAM $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ usando o CB-DHP/GCE proposto. Inseto: Gráfico de $\log v$ vs. $\log I_p$. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

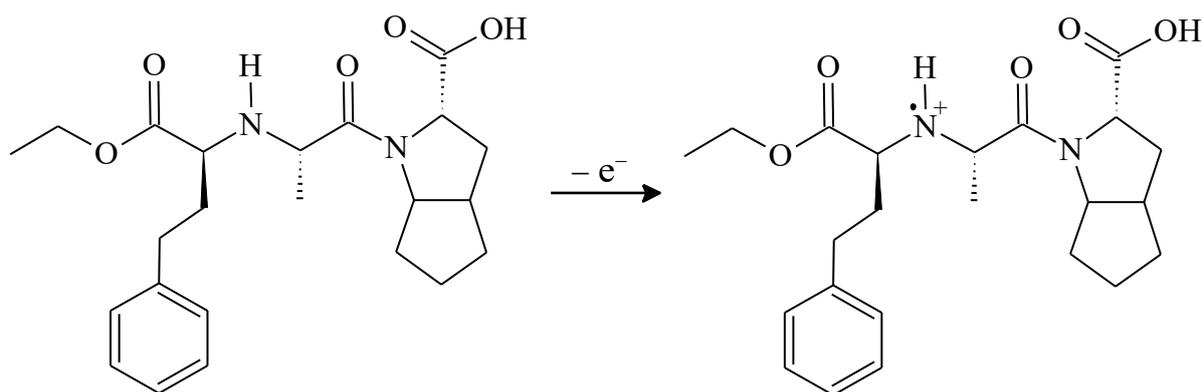


FIGURA 6.7 – Possível reação de eletrooxidação proposta para a molécula de RAM. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

6.3.5 Parâmetros analíticos

A determinação voltamétrica de RAM foi realizada utilizando SWAdASV. Assim, os parâmetros experimentais desta técnica foram sistematicamente otimizados. Os ensaios de otimização foram conduzidos para uma concentração de RAM igual a $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Primeiramente, foi avaliada a influência do potencial e do tempo de pré-concentração. Na Figura 6.8 (a) são graficados os valores de corrente de pico em função do potencial de pré-concentração. Este parâmetro foi variado de $-0,5 \text{ V}$ a $+0,5 \text{ V}$ e, como pode ser visto, a aplicação de um potencial de pré-concentração diferente de zero (positivo ou negativo) não resultou em incrementos significados de corrente de pico. Conseqüentemente, decidiu-se realizar a etapa de pré-concentração sem a aplicação de um potencial. Em seguida, variou-se o tempo de pré-concentração entre 10 e 150 s. A variação da corrente de pico em função do tempo de pré-concentração é mostrada no gráfico da Figura 6.8 (b). O sinal analítico aumentou até 90 s e, após este valor, manteve-se praticamente constante, indicando que a superfície do eletrodo de trabalho foi saturada pelas moléculas do analito. Considerando este resultado, o tempo de pré-concentração de 90 s foi selecionado para os estudos posteriores. Na Tabela 6.1 encontram-se organizados os resultados obtidos para a otimização dos parâmetros da

voltametria de onda quadrada. Mais uma vez, os valores ótimos foram selecionados levando-se em conta a obtenção da maior corrente de pico.

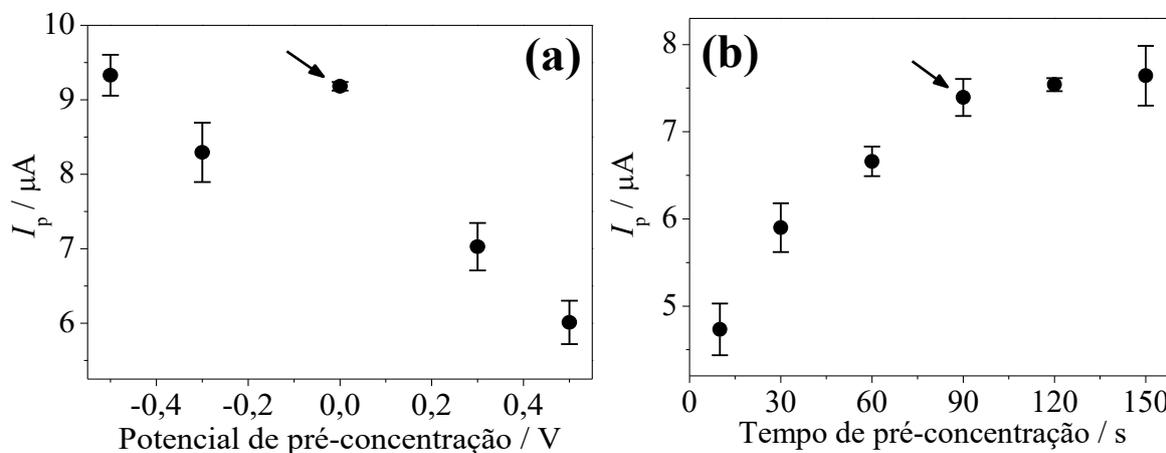


FIGURA 6.8 – Efeito do (a) potencial de pré-concentração e (b) tempo de pré-concentração sobre a resposta voltamétrica do RAM. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

TABELA 6.1 – Parâmetros da técnica de SWV submetidos à otimização e respectivos valores ótimos

Parâmetro	Faixa	Selecionado
Frequência, f (Hz)	10 – 100	30
Amplitude, A (mV)	10 – 100	70
Incremento de potencial, ΔE_s (mV)	1 – 20	10

Sob as condições experimentais otimizadas, a curva analítica para RAM foi construída. Os voltamogramas de SWAdAS obtidos em diferentes concentrações de RAM são mostrados na Figura 6.9, e a curva analítica resultante no inserto da Figura 6.9. A curva analítica foi linear no intervalo de concentrações de $1,98 \times 10^{-6}$ a $2,42 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (coeficiente de correlação de 0,998), com um LOD de $4,25 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Os parâmetros de desempenho analítico dos métodos eletroanalíticos dedicados à determinação de RAM encontram-se listados na Tabela 6.2. A faixa linear e o LOD obtidos usando o

eletrodo proposto e SWAdASV foram similares àqueles reportados empregando um eletrodo gotejante de mercúrio (*dropping mercury electrode*) e diferentes métodos polarográficos^{86,87}, bem como usando-se um eletrodo de BDD⁸⁸. Enfatizamos, entretanto, que o método voltamétrico proposto é uma alternativa adequada aos métodos polarográficos e voltamétrico propostos até o momento, visto que o sensor modificado foi preparado com um nanomaterial de carbono de baixíssimo custo.

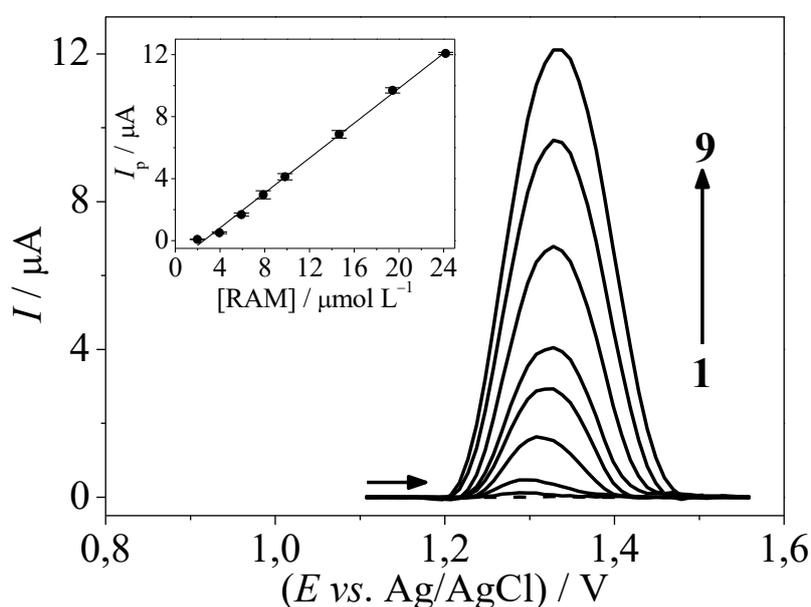


FIGURA 6.9 – Voltamogramas de SWAdASV registrados em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 3,0$) contendo diferentes níveis de concentração de RAM (1: $0,0$; 2: $1,98 \times 10^{-6}$; 3: $3,95 \times 10^{-6}$; 4: $5,91 \times 10^{-6}$; 5: $7,87 \times 10^{-6}$; 6: $9,81 \times 10^{-6}$; 7: $1,47 \times 10^{-5}$; 8: $1,94 \times 10^{-5}$ e 9: $2,42 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) utilizando o CB-DHP/GCE. Condições da técnica de SWAdASV: tempo de pré-concentração = 90 s , $f = 30 \text{ Hz}$, $A = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$. Inseto: Curva analítica obtida para o RAM (I_p vs. $[\text{RAM}]$). (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

TABELA 6.2 – Procedimentos eletroanalíticos dedicados à determinação de RAM. (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry).

Eletrodo	Técnica	Faixa linear / mol L ⁻¹	LOD / mol L ⁻¹	Ref.
DME	DC _t	$2,4 \times 10^{-5} - 1,2 \times 10^{-4}$	---	86
	DPP	$9,6 \times 10^{-6} - 9,6 \times 10^{-5}$	---	
	AC _t	$3,8 \times 10^{-7} - 2,9 \times 10^{-5}$	$4,8 \times 10^{-8}$	
DME	DC _t	$4,8 \times 10^{-6} - 7,2 \times 10^{-5}$	---	87
	DPP	$2,4 \times 10^{-7} - 4,8 \times 10^{-5}$	$2,88 \times 10^{-8}$	
BDD	SWV	$1,96 \times 10^{-6} - 3,67 \times 10^{-5}$	$2,7 \times 10^{-8}$	88
CB-DHP/GCE	SWAdASV	$1,98 \times 10^{-6} - 2,42 \times 10^{-5}$	$4,27 \times 10^{-7}$	Este trabalho

AC_t: *alternating current polarography*; BDD: *boron-doped diamond*; DC_t: *direct current polarography*; DPP: *differential pulse polarography*.

A seletividade do procedimento voltamétrico em relação a alguns dos principais compostos excipientes tipicamente encontrados em amostras de formulações farmacêuticas de RAM foi testada. Para tanto, comparou-se o sinal analítico registrado para uma solução de RAM $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ na ausência e presença de cada um dos excipientes em uma razão analito:excipiente de 1:10. Na Tabela 6.3 encontram-se os valores de RSD obtidos para o sinal analítico na presença dos seguintes excipientes: polividona, estearato de magnésio, celulose microcristalina, lactose mono-hidratada, dióxido de silício e amido. Baixos valores de RSD foram obtidos em todos os casos, indicando que estas substâncias não interferiram significativamente na determinação de RAM.

TABELA 6.3 – Efeito de possíveis interferentes encontrados em formulações farmacêuticas sobre a determinação voltamétrica de RAM

Excipiente	RSD (%)
Polividona	-5,0
Estearato de magnésio	-0,34
Celulose microcristalina	+2,3
Lactose mono-hidratada	+0,74
Dióxido de silício	+5,1
Amido	-6,8

6.3.6 Aplicação analítica

O analito alvo RAM foi quantificado em amostras de formulações farmacêuticas e amostras de fluidos biológicos sintéticos utilizando o procedimento de SWAdASV proposto. Na Tabela 6.4 encontram-se organizados os resultados obtidos para a análise de duas amostras farmacêuticas comerciais de RAM utilizando o procedimento voltamétrico e um procedimento comparativo espectrofotométrico. Em ambos os casos, os valores do teor de RAM/comprimido foram próximos aos valores indicados nos respectivos rótulos, com valores de RSD de +1,0% e -2,0% para a comparação entre o valor rotulado e o valor determinado pelo procedimento voltamétrico. Comparativamente, pode-se também observar uma excelente similaridade entre os resultados obtidos pelos procedimentos proposto e comparativo, com baixos valores de RSD (+2,1% e +1,0%). Além disso, os resultados obtidos pelos dois procedimentos foram estatisticamente comparados aplicando-se o teste-*t* pareado a um nível de confiança de 95%. Fazendo isto, o $t_{\text{experimental}}$ (0,71) foi menor que o valor de $t_{\text{teórico}}$ (12,71) e, conseqüentemente, pode-se concluir que não houve diferença estatística entre os resultados obtidos pelos dois procedimentos de análise.

TABELA 6.4 – Resultados obtidos para a determinação de RAM em amostras de formulações farmacêuticas utilizando-se o procedimento voltamétrico proposto e o procedimento comparativo espectrofotométrico UV-Vis (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry)

Amostra	Teor de RAM / mg comprimido ⁻¹			RSD ₁ * (%)	RSD ₂ ** (%)
	Valor rotulado	Procedimento comparativo	Procedimento proposto		
A	5,0	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,3	-2,0	+2,1%
B	10,0	10 ± 1	10,1 ± 0,4	+1,0	+1,0%

$$*RSD_1 = [(Proposto - Valor rotulado) / (Valor rotulado)] \times 100\%$$

$$**RSD_2 = [(Proposto - Comparativo) / (Comparativo)] \times 100\%.$$

Por fim, as amostras sintéticas de urina e soro humano fortificadas com RAM em dois níveis diferentes de concentração ($8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) foram diretamente analisadas pelo procedimento voltamétrico proposto. Na Tabela 6.5 são reportados os valores de porcentagem de recuperação previstos para análise de ambas as amostras. Analisando-se os dados da Tabela 6.5, verifica-se que excelentes porcentagens de recuperação foram alcançadas (variando de 91,2 a 102,5%), demonstrando a aplicabilidade do procedimento voltamétrico proposto para a quantificação de RAM em amostras biológicas.

TABELA 6.5 – Resultados obtidos para a determinação de RAM em amostras biológicas sintéticas de urina e soro humano (Reproduzido de¹⁵⁶ com permissão da The Royal Society of Chemistry)

Amostra	Concentração de RAM / $\mu\text{mol L}^{-1}$		Recuperação (%)
	Adicionado	Encontrado	
Urina	8,0	$7,3 \pm 0,4$	91,2
	20,0	$19,3 \pm 0,3$	96,5
Soro humano	8,0	$8,2 \pm 0,4$	102,5
	20,0	$19,2 \pm 0,2$	96

6.4 Conclusões parciais

CB de baixo custo apresentou um destacado desempenho eletroquímico quando foi empregado imobilizado em um filme de DHP sobre a superfície de um GCE, sendo assim possível desenvolver um procedimento voltamétrico alternativo para a determinação de Ramipril. A modificação do GCE com o filme de CB-DHP assegurou uma melhora significativa da resposta voltamétrica do analito RAM, com um deslocamento do potencial de pico para um valor 200 mV menos positivo e um aumento da intensidade de corrente de pico (5,6 vezes) em comparação com o eletrodo de GCE não-modificado. Explorando este efeito, o eletrodo modificado foi aplicado no estudo do comportamento eletroquímico da molécula de RAM, e uma possível reação de eletrooxidação para esta molécula foi proposta. Sob condições ótimas, a curva analítica para RAM foi construída por SWAdASV, e a curva obtida foi linear na faixa de concentrações de $1,98 \times 10^{-6}$ a $2,42 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com um limite de detecção de $4,27 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. A aplicabilidade do procedimento voltamétrico proposto foi testada na determinação de RAM em formulações farmacêuticas comerciais e fluidos corporais sintéticos (urina e soro).

CAPÍTULO 7

Sensor eletroquímico baseado em líquido iônico e negro de fumo de baixo custo para a determinação voltamétrica do corante alimentício Allura red

7.1 Objetivos específicos

Considerando-se a relevância da determinação de substâncias adicionadas em produtos alimentícios com o intuito de conferir cor, aroma e sabor, nesta etapa do trabalho, decidiu-se avaliar a possibilidade do uso de nanopartículas de CB combinadas com um líquido iônico no desenvolvimento de um sensor voltamétrico para a determinação do corante Allura red (AR).

7.2 Experimental

7.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes químicos utilizados neste trabalho foram de grau analítico e utilizados como recebido dos respectivos fornecedores. Padrão do corante AR, líquidos iônicos (cloreto de 1-butil-3-metilimidazol, cloreto de 1-etil-3-metilimidazol e tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazol), biopolímero quitosana (baixa massa molar e grau de desacetilação de pelo menos 80%) e epiclorigrina (ECH, do inglês “epichlorohydrin”) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Pó de CB tipo VULCAN[®]VXC72R foi gentilmente fornecido pela companhia Cabot Corporation. Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura obtida em um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore[®], Bedford, MA) com resistividade elétrica não menor que 18,2 MΩ cm. Uma solução-estoque de CTS 1,0% (m/v) foi preparada em solução de ácido acético 1,0% (m/v) e a solução-estoque de ECH 2,5% (m/v) foi preparada em solução de NaOH 0,01 mol L⁻¹. Ambas as soluções foram estocadas em refrigerador. CTS foi empregada como matriz polimérica e ECH como agente reticulante da CTS nas etapas de modificação da superfície do GCE, descritas nas seções subsequentes. A solução-estoque do

analito de interesse ($AR\ 1,0 \times 10^{-2}\ \text{mol L}^{-1}$) foi diariamente preparada em água ultrapura.

7.2.2 Preparo de amostras

Amostras de refresco em pó contendo o corante AR foram adquiridas no comércio local de São Carlos, SP, Brasil. Para análise pelo método voltamétrico desenvolvido, 1,0 g da amostra em pó foi acuradamente pesado e transferido para um balão volumétrico de 10 mL e o volume completado com água ultrapura. As soluções-estoque de amostra assim obtidas foram submetidas a ultrassonicação por 5 min para a completa extração do corante hidrossolúvel AR. Finalmente, alíquotas específicas das respectivas soluções-estoque de amostra foram diluídas em eletrólito suporte ou água ultrapura para análises empregando-se o método voltamétrico proposto ou o método espectrofotométrico comparativo.

7.2.3 Instrumentação

Para ambos os ensaios voltamétricos e impedimétricos, uma célula eletroquímica de três eletrodos e compartimento único foi utilizada. O sistema de três eletrodos foi composto pelo GCE modificado como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de Ag/AgCl ($KCl\ 3,0\ \text{mol L}^{-1}$) e uma folha de Pt como eletrodo auxiliar. As medidas voltamétricas foram conduzidas em um potenciostato/galvanostato μ Autolab Tipo III (EcoChemie, Holanda) gerenciado pelo software GPES. No caso das medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês “Electrochemical Impedance Spectroscopy”), foi utilizado um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT-30 (EcoChemie, Holanda) equipado com o módulo de impedância FRA e controlado pelo software NOVA 2.0. As medidas de pH foram feitas empregando-se um

pHmetro Orion Expandable Ion Analyzer (modelo EA-940, EUA), equipado com um eletrodo combinado de vidro (eletrodo de referência externo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹)). A análise morfológica dos filmes obtidos foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) usando um microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo Magellan 400 L. Para a análise das amostras de refrescos em pó pelo método comparativo foi utilizado um espectrofotômetro Shimadzu UV-2550 equipado com uma cubeta de quartzo de 1 cm.

7.2.4 Preparação do sensor eletroquímico

O eletrodo base utilizado neste trabalho foi um GCE com diâmetro de 3,0 mm. Antes da modificação da superfície do GCE, esta foi cuidadosamente polida com pasta de alumina 0,05 µm e exaustivamente enxaguada com água ultrapura. Em seguida, o procedimento de limpeza do eletrodo base foi finalizado pela ultrassonificação da superfície do GCE em clorofórmio por 2 min e finalmente em água ultrapura por mais 2 min.

A superfície do GCE foi modificada com uma dispersão aquosa de IL, CB e CTS reticulada, preparada de acordo com as etapas mostradas no esquema da Figura 7.1. Esta dispersão foi preparada a partir da mistura de 1,0 mg de CB, IL (1,0, 2,5, 5,0 ou 10,0 mg), 400 µL de CTS 0,1% (m/v) (obtida a partir da diluição da solução-estoque de CTS 1,0% (m/v) em ácido acético 1,0% (m/v)) e 600 µL de ECH 0,25% (m/v) (obtida a partir da diluição da solução-estoque de ECH 2,5% (m/v) em NaOH 0,01 mol L⁻¹). Para homogeneização, esta mistura foi colocada em banho de ultrassom por 60 min. Após este período, dispersões homogêneas e estáveis contendo CB 1,0 mg mL⁻¹ e IL em diferentes concentrações (1,0, 2,5, 5,0 ou 10,0 mg mL⁻¹) foram obtidas. Para a modificação do GCE, 8,0 µL da dispersão foi gotejada com o auxílio de uma micropipeta sobre a superfície do GCE, e o solvente evaporado em 20-25 min sob

aquecimento brando provido por uma lâmpada de infravermelho (IV). Cada eletrodo modificado obtido foi nomeado como IL-CB-CTS-ECH/GCE.

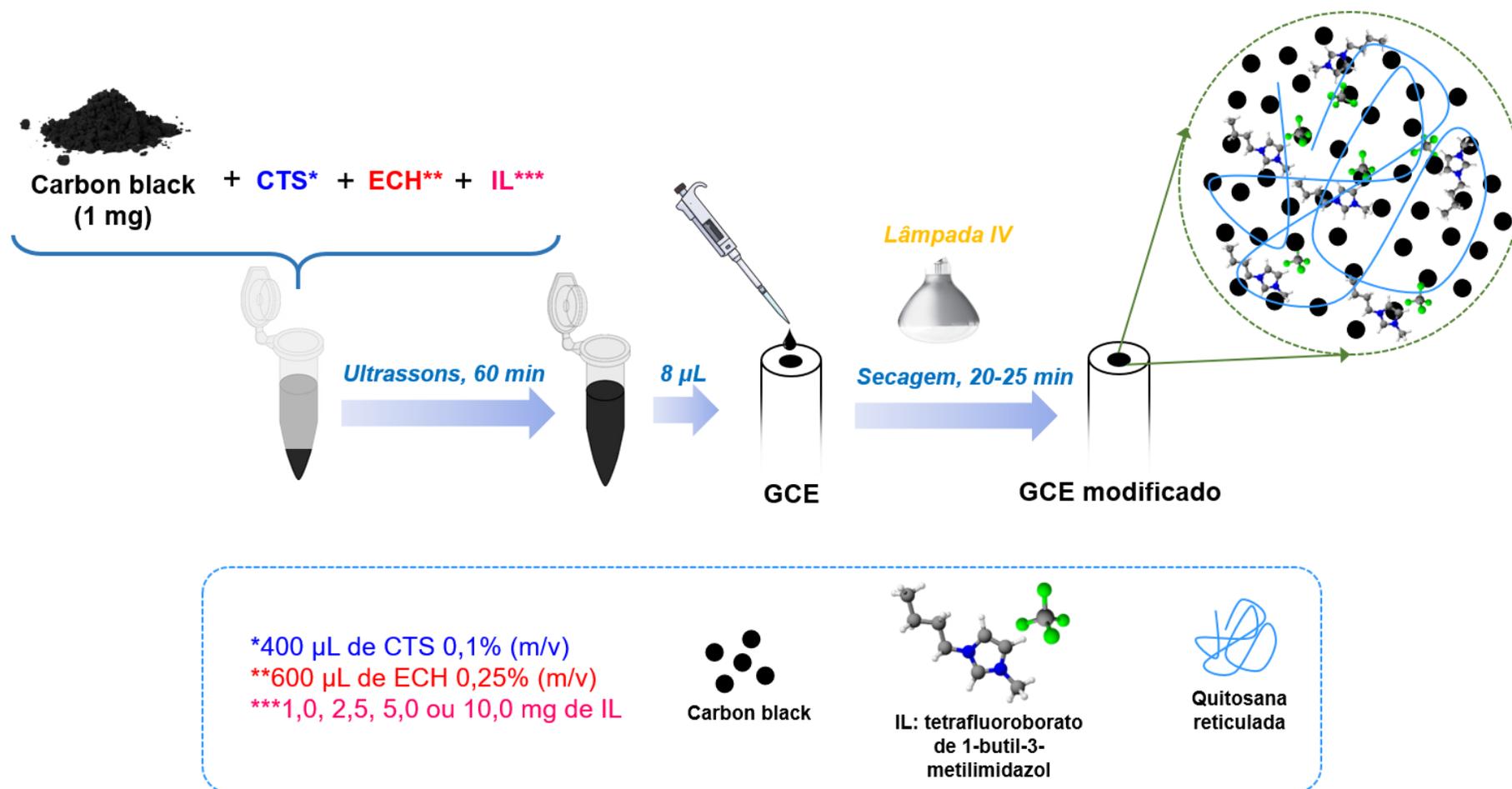


FIGURA 7.1 – Esquema de preparação do eletrodo modificado a base de CB, IL e CTS reticulada.

7.3 Resultados e Discussão

7.3.1 Análise morfológica

Neste trabalho, foi proposto a preparação de um eletrodo de carbono vítreo modificado com partículas de CB e líquido iônico imobilizado em uma matriz polimérica de quitosana reticulada. CB e IL foram selecionados como agentes modificadores devido as vantagens analíticas e eletroquímicas que têm sido reportadas a partir do uso destes materiais, como aumento de sinal analítico e sensibilidade analítica, obtenção de baixos limites de detecção e diminuição do potencial de trabalho. Objetivando-se obter um filme robusto de CB e IL sobre a superfície do GCE, foi selecionado CTS reticulada para imobilização destes materiais, uma vez que CTS possui a habilidade de formar filmes homogêneos e bem aderentes sobre GCE. Por esta razão, diversos sensores eletroquímicos têm sido apresentados na literatura consistindo de GCE modificado com filmes de CTS contendo nanomateriais de carbono (principalmente grafeno e nanotubos de carbono) e nanopartículas metálicas^{65,160-162}.

A análise morfológica dos filmes preparados segundo o procedimento experimental descrito no esquema da Figura 7.1 foi conduzida por MEV. Nas Figuras 7.2 (a-f) são mostradas as imagens de MEV obtidas para CB, IL-CB e IL-CB-CTS sobre GCE. Desta forma, foi possível verificar as características morfológicas das partículas de CB antes e após a inclusão dos agentes modificadores adicionais, IL e CTS. Inicialmente, observando-se as Figuras 7.2 (a) e (b), o perfil morfológico típico do CB é verificado, consistindo de nanopartículas de carbono com diâmetro variável entre 10 e 50 nm que se aglomeram formando agregados de tamanho superior. Após a inclusão do IL, as partículas de CB previamente observadas são completamente envolvidas por uma camada de IL (Figuras 7.2 (c) e (d)). Finalmente, nas Figuras 7.2 (e) e (f)

são apresentadas as imagens de MEV coletadas para o filme de CTS reticulada contendo CB e IL. Confrontando-se estas imagens com aquelas das Figuras 7.2 (a-d), uma fase adicional de material contínua e homogênea pode ser claramente distinguida. Esta fase adicional pode ser atribuída à matriz polimérica de CTS reticulada incluída sobre a superfície do GCE. Outro aspecto interessante, o qual pode ser mais claramente notado na imagem de MEV da Figura 7.2 (f), é que as nanopartículas de CB são mantidas recobertas pelo filme de CTS reticulada. Com isso, as nanopartículas modificadoras permaneceram confinadas sob o filme proposto, resultando em um eletrodo modificado de excelente robustez física e estabilidade de resposta voltamétrica, devido à baixa perda de material para a solução aquosa de eletrólito suporte. Este aspecto é demonstrado nas seções posteriores dedicadas ao estudo da estabilidade do sinal do sensor eletroquímico proposto.

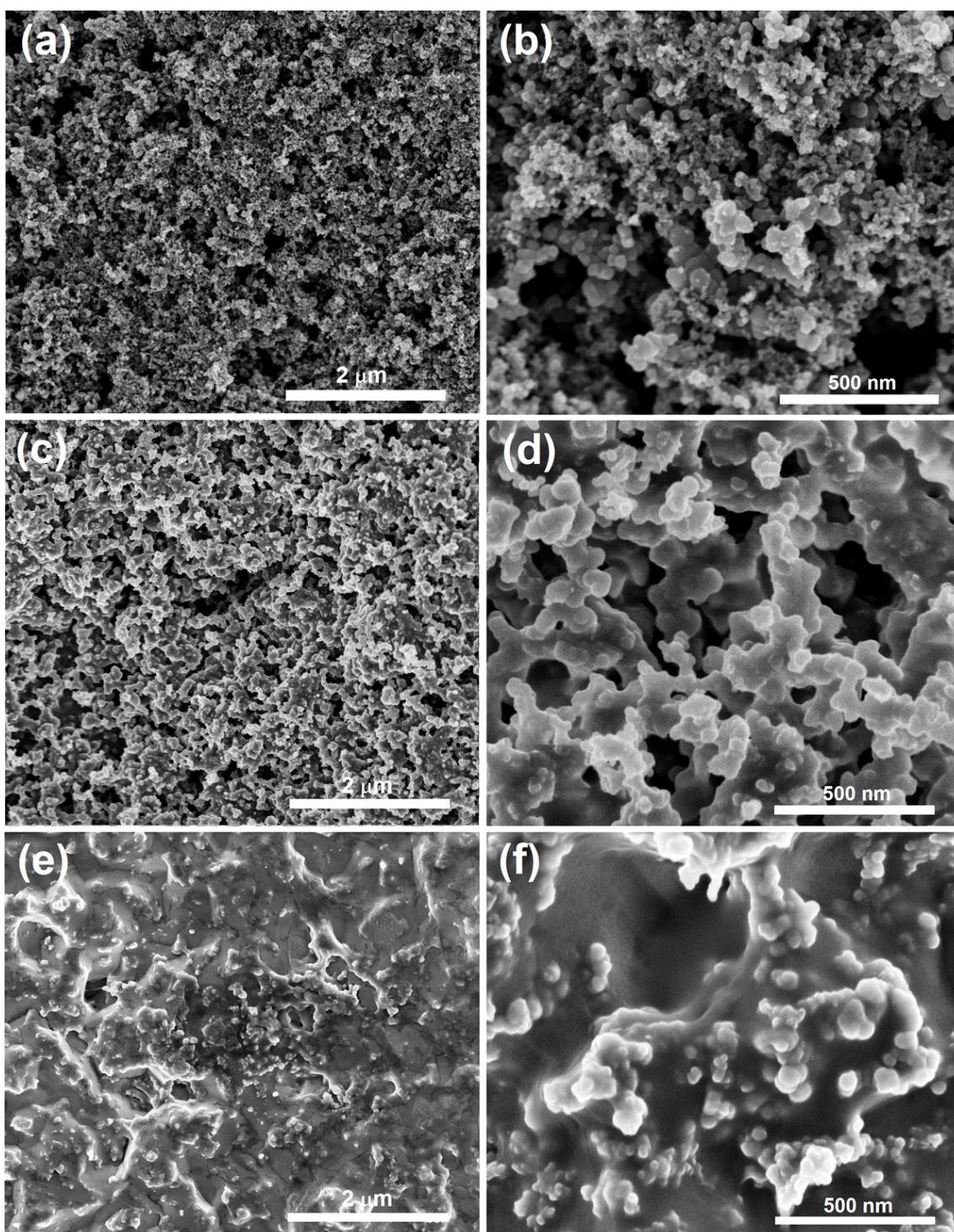


FIGURA 7.2 – Imagens de MEV obtidas para (a, b) CB, (c, d) IL-CB e (e, f) IL-CB-CTS.

7.3.2 Caracterização eletroquímica

Dando sequência aos estudos de caracterização da modificação proposta, estudos do comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados foram realizados utilizando-se a sonda redox de hexacianoferrato (III) de potássio. Para tanto, experimentos de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica foram conduzidos em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo K₃Fe(CN)₆ 2,44 × 10⁻³ mol L⁻¹. Apresenta-se na Figura 7.3 (a) os voltamogramas cíclicos obtidos a 50 mV s⁻¹ utilizando-se como eletrodos de trabalho o GCE não-modificado e os eletrodos modificados CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE. Na caracterização eletroquímica, a ideia foi diagnosticar possíveis melhorias do comportamento eletroquímico do eletrodo base após modificação apenas com CB, como uma modificação parcial e, posteriormente, com CB e IL. A partir disso, foi possível verificar a contribuição de cada componente modificador (CB e IL). Em todos os casos, picos anódico e catódico relacionados a oxirredução reversível do par redox Fe(CN)₆^{3-/4-} foram observados. Entretanto, diferenças significativas em termos de intensidade de corrente e separação de picos (ΔE_p) puderam ser facilmente discriminadas quando os diferentes eletrodos de trabalho foram utilizados. Comparativamente, após a modificação do eletrodo de trabalho GCE com o filme de CTS reticulada contendo CB, as correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) aumentaram em aproximadamente 35% e o valor de ΔE_p diminuiu em 25 mV. O aumento das correntes de pico bem como a diminuição da separação dos potenciais de pico anódico e catódico podem ser atribuídos ao aumento da área eletroativa e melhoria da taxa de transferência de carga provida pelas nanopartículas de CB. Após a inclusão do IL tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazol na estrutura do filme, um valor de ΔE_p ligeiramente inferior àquele verificado para o CB-CTS-ECH/GCE foi notado e um aumento adicional das correntes de pico de 45% foi observado, demonstrando a contribuição do IL no incremento da área eletroativa do eletrodo modificado.

Em seguida, de forma a explorar em mais detalhes as melhorias providas pelas nanopartículas de CB bem como o IL utilizado, medidas de EIS e experimentos de voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura de potencial foram conduzidos. Na Figura 7.3 (b) são mostrados os diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de GCE não-modificado bem como os diferentes eletrodos modificados. Os espectros de EIS foram obtidos na faixa de frequência de 0,01 Hz a 100 kHz. Nos diagramas de Nyquist, a região de alta frequência está relacionada ao processo de transferência de carga na interface eletrodo/solução. Desta forma, geralmente um semi-círculo é observado nesta região, onde o seu diâmetro equivale a resistência de transferência de carga (R_{ct}). Comparando-se os resultados de EIS obtidos para os diferentes eletrodos, um semi-círculo claramente definido foi notado apenas no caso do GCE não-modificado. Entretanto, após a modificação do eletrodo de GCE com filme de CTS reticulada contendo CB ou IL-CB, uma diminuição significativa do diâmetro do arco foi notada. Na verdade, o mesmo semi-círculo não foi observado nesta região no caso dos eletrodos CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE, demonstrando que a R_{ct} foi praticamente zero para estes eletrodos como um resultado da excelente transferência de carga sobre estes eletrodos.

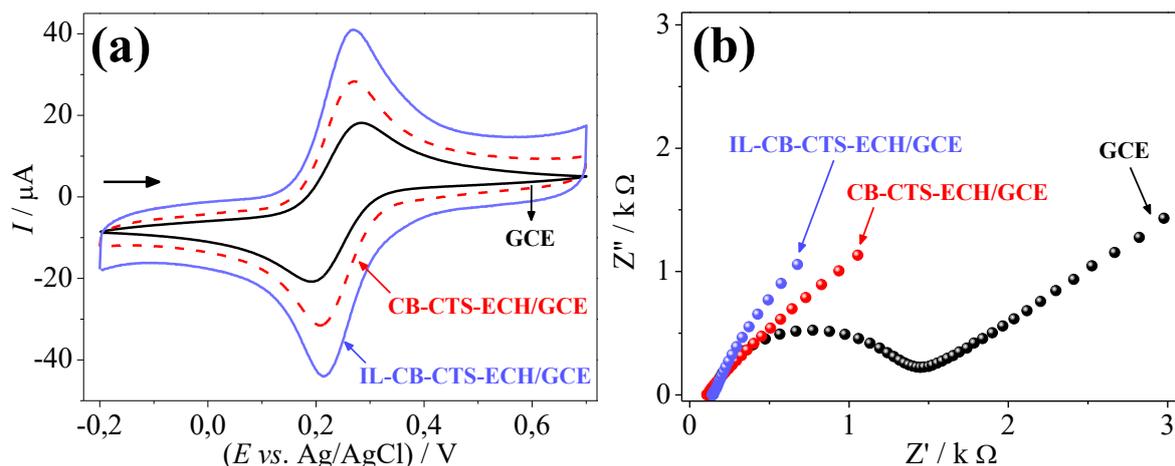


FIGURA 7.3 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos usando GCE não-modificado, CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE para $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,44 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Diagramas de Nyquist obtidos usando GCE não-modificado, CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE para $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,44 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Para determinação das áreas eletroativas, voltamogramas cíclicos para a mesma sonda redox foram obtidos na faixa de velocidades de varredura de 10 a 400 mV s^{-1} , e estes são mostrados nas Figuras 7.4 (a-c) para os eletrodos GCE não-modificado, CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE, respectivamente. Como esperado, as correntes de pico anódica e catódica sofreram incrementos sucessivos após cada incremento de velocidade de varredura de potencial. Estes incrementos foram periódicos, de forma que as correntes de pico anódica e catódica variaram linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial. O comportamento linear da corrente de pico em função da raiz quadrada de velocidade de varredura é previsto para processos redox controlados apenas pelo transporte de massa de difusão, e matematicamente representado pela equação de Randles-Sevcik (Eq. 7.1):

$$I_p = \pm(2,69 \times 10^5)n^{3/2}AD^{1/2}C\nu^{1/2} \quad \text{Eq. 7.1}$$

sendo I_p a corrente de pico anódica ou catódica, n o número de elétrons envolvidos no processo redox, A a área eletroativa do eletrodo, D o coeficiente de difusão, C a concentração da espécie eletroativa e $v^{1/2}$ a raiz quadrada da velocidade de varredura. Considerando-se $D = 7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ¹⁶³, $n = 1$ e $C = 2,44 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$, os valores de área eletroativa foram calculados como sendo 0,078, 1,5 e 2,1 cm^2 para GCE, CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE, respectivamente. Portanto, a modificação do GCE com o filme nanoestruturado baseado em CB e IL promoveu um aumento da área eletroativa de 2,7 vezes. O aumento de área eletroativa é altamente desejado na preparação de sensores eletroquímicos, uma vez que uma maior área eletroativa geralmente resulta na obtenção de sinais analíticos mais intensos e, possivelmente, maior sensibilidade analítica e limites de detecção mais baixos. Previamente, o uso associado de nanotubos de carbono e IL na preparação de sensores eletroquímicos foi reportado. Nestes casos, a melhoria da resposta eletroquímica a partir do uso combinado de nanotubos de carbono e IL foi atribuída às interações do tipo cátion- π entre o cátion imidazol e os elétrons π dos grupos funcionais oxigenados presentes na superfície dos nanotubos de carbono funcionalizados, aumentando o número de sítios ativos dos nanotubos de carbono expostos para conduzir a transferência de elétrons a partir de um efeito de “desenrolamento” dos nanotubos^{39,164,165}. As nanopartículas de CB tipo VXC72-R são conhecidas por apresentar um teor de oxigênio relativamente elevado. Em um trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa, por meio de análises de XPS foi diagnosticado que as nanopartículas de CB VXC72-R são compostas por 91,2% em C e 7,8% em O, demonstrando a presença de uma estrutura carbonácea oxigenada neste caso. Desta forma, acredita-se que uma consideração similar àquela para o caso dos nanotubos de carbono pode ser atribuída para o caso do CB, isto é, o cátion imidazol do IL interage com elétrons π de grupos funcionais oxigenados, tais como ácido carboxílico e cetona, presentes sobre a superfície das nanopartículas de CB, resultando em

uma melhor dispersibilidade das nanopartículas de CB sobre a superfície do eletrodo modificado.

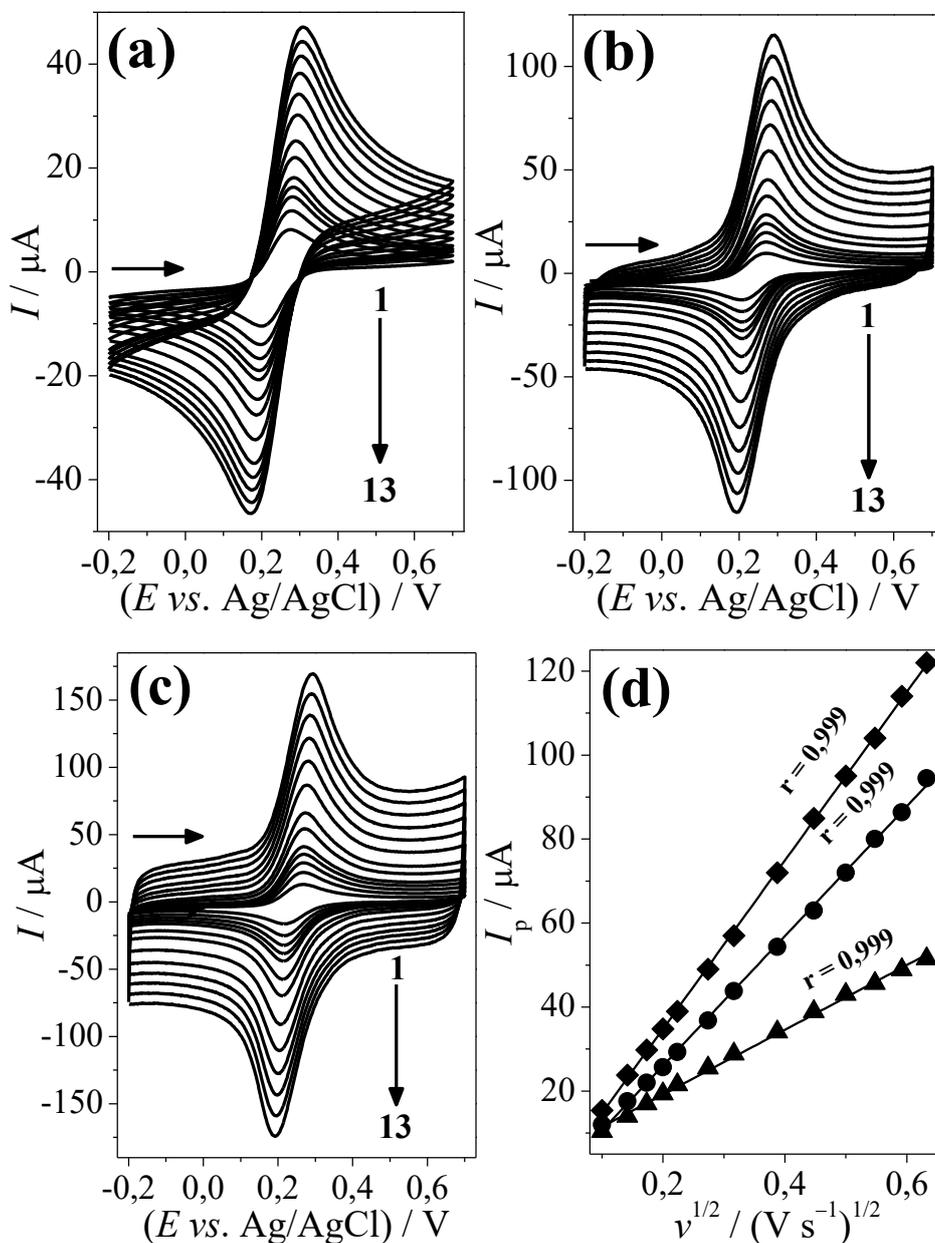


FIGURA 7.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando (a) GCE, (b) CB-CTS-ECH/GCE e (c) IL-CB-CTS-ECH/GCE para $K_3Fe(CN)_6$ $2,44 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura (1: 10 mV s^{-1} – 13: 400 mV s^{-1}). (d) Gráficos de I_p vs. $v^{1/2}$ obtidos para (▲) GCE não-modificado, (●) CB-CTS-ECH/GCE e (◆) IL-CB-CTS-ECH/GCE.

7.3.3 Resposta eletroquímica do corante allura red

A resposta eletroquímica do analito alvo deste trabalho, o corante AR, foi explorada por voltametria cíclica utilizando-se como eletrólito suporte solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) e uma concentração de analito de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Para fins de comparação, a resposta voltamétrica do corante sob estudo foi acessada sobre o GCE não-modificado e os eletrodos modificados CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE. Na Figura 7.5 são organizados os voltamogramas cíclicos obtidos a 50 mV s^{-1} na faixa de potenciais de +0,65 V a +1,1 V sob as condições supramencionadas. Em todos os casos, iniciando-se a varredura de potenciais no sentido anódico, um pico de oxidação foi observado por volta de +0,9 V e, após a inversão da varredura de potenciais, nenhum pico equivalente de redução foi notado durante a varredura catódica de potenciais. Este resultado indica que a molécula de AR sofreu um processo de oxidação irreversível na região de potenciais utilizada. Adicionalmente, as correntes de pico anódica verificadas sobre os eletrodos modificados com CB ou IL-CB foram significativamente superiores às verificadas no caso do GCE não-modificado. Em termos quantitativos, o sinal de corrente anódica aumentou em 6 e 12 vezes utilizando-se os eletrodos CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE. O expressivo aumento de corrente demonstrou a vantagem do uso combinado de CB e IL como modificadores na elaboração de um eletrodo modificado para detecção do corante AR. Como já discutido, a obtenção de picos de corrente elevados para uso como sinal analítico é desejado em eletroanálise pois, frequentemente, melhores parâmetros analíticos podem ser alcançados a partir disso, como alta sensibilidade analítica e baixos limites de detecção.

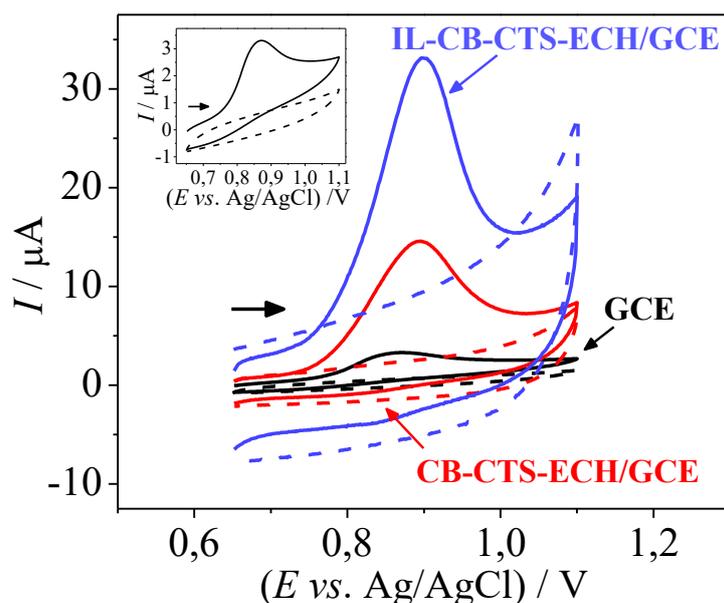


FIGURA 7.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando GCE (ampliação para este caso é mostrada no inserto), CB-CTS-ECH/GCE e IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Voltamogramas mostrados pela linha pontilhada são equivalentes aos brancos (ou seja, somente eletrólito suporte).

Ainda sobre o comportamento eletroquímico da molécula de corante AR, utilizando-se o eletrodo modificado IL-CB-CTS-ECH/GCE foi possível detectar picos de oxidação e redução adicionais de mais baixa intensidade quando a medida de voltametria cíclica foi realizada em uma faixa de potenciais mais ampla ($-0,2$ a $+1,1 \text{ V}$). Nas Figuras 7.6 (a) e (b) são mostrados o primeiro e segundo ciclos voltamogramas obtidos nesta janela de potencial. Iniciando-se a varredura de potenciais no sentido anódico, apenas o pico de oxidação previamente observado em aproximadamente $+0,9 \text{ V}$ foi notado e nomeado como pico P_1 , e após a inversão da varredura, três picos de redução (picos P_2' , P_3' e P_4') foram detectados. No segundo ciclo de varredura de potenciais, picos de oxidação durante a varredura anódica de potenciais os quais são acreditados ser equivalentes aos picos de redução verificados no primeiro ciclo formando pares de oxirredução quase-reversíveis foram observados e,

consequentemente, indexados como picos anódicos P_2 , P_3 e P_4 . Ademais, avaliando-se a varredura anódica durante o segundo ciclo voltamétrico, o pico anódico irreversível de mais alta intensidade P_1 praticamente desapareceu. Entretanto, na varredura catódica, os picos de redução observados no primeiro ciclo se mantiveram constantes. Estes resultados sugerem que a molécula de allura red é capaz de sofrer diferentes reações redox em um complexo mecanismo de oxirredução. O fato de os picos de oxidação P_2 , P_3 e P_4 terem sido detectados apenas no segundo ciclo, após os processos de redução, indica que estas reações de oxidação são dependentes das etapas prévias de redução e, não podem ser observadas diretamente. Ademais, o quase desaparecimento do pico anódico P_1 pode ser atribuído à adsorção do(s) produto(s) de oxidação sobre a superfície eletródica. Para detecção/determinação do corante allura red foi selecionado o pico de oxidação irreversível P_1 , devido a maior magnitude de corrente deste pico e independência de qualquer outra reação previa de oxidação-redução.

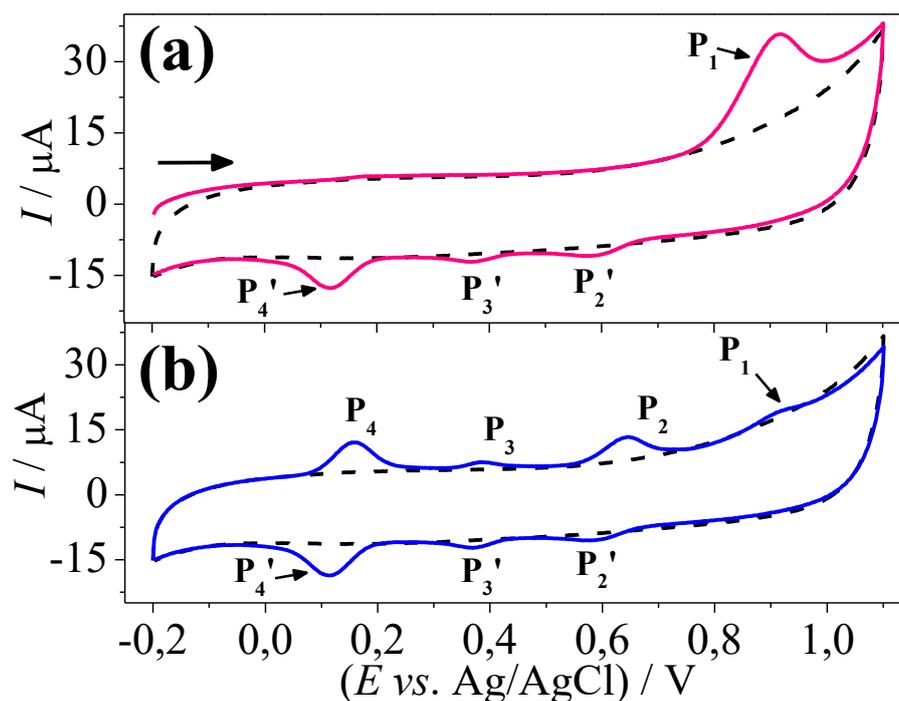


FIGURA 7.6 – (a) Primeiro e (b) segundo ciclos voltamétricos registrados usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$ em solução de tampão fosfato 0,2 mol L $^{-1}$ (pH 4,0). $\nu = 50$ mV s $^{-1}$.

7.3.4 Efeito do tipo e concentração de IL

Como parte da otimização da resposta do sensor modificado proposto, foi avaliada a influência do tipo e concentração de líquido iônico utilizado. As quantidades dos demais modificadores (CB, quitosana e agente reticulante epícloridrina) foram otimizados em trabalhos anteriores¹⁶⁶. Geralmente, o uso de uma massa de CB superior a 1 mg resulta em um filme menos aderente e, portanto, com menor repetibilidade de resposta. O uso de 400 μ L de CTS 0,1% (m/v) e 600 μ L de ECH 0,25% (m/v) mostrou ser uma composição ótima em um trabalho anterior do nosso grupo para obtenção de um filme de CTS reticulada contendo nanomateriais de carbono de excelente aderência e menor corrente capacitiva¹⁶⁶. Em relação ao tipo de IL, foi investigada a influência do comprimento da cadeia carbônica do substituinte alquila do grupo metilimidazol constituindo o íon catiônico bem como a

influência do íon aniônico. Desta forma, foram aplicados os líquidos iônicos cloreto de 1-butil-3-metilimidazol (IL 1), cloreto de 1-etil-3-metilimidazol (IL 2) e tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazol (IL 3). Neste estudo, as dispersões foram preparadas mantendo-se uma concentração fixa de IL igual a $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$. Na Figura 7.7 (a) são apresentadas as correntes de pico anódica obtidas a partir de medidas de voltametria cíclica ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$) realizadas usando-se os eletrodos modificados IL-CB-CTS-ECH/GCE preparados com os líquidos iônicos (1), (2) e (3) para uma solução de allura red $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). A partir da comparação dos sinais analíticos obtidos com o uso dos líquidos iônicos (1) e (2) pode-se avaliar o efeito de se utilizar uma cadeia carbônica mais longa para o substituinte alquila do grupo metilimidazol. Como pode ser observado no gráfico da Figura 7 (a), picos de corrente anódica muito similares foram obtidos com o uso dos líquidos iônicos (1) e (2), evidenciando assim que o uso de um IL contendo -etil ou -butil como substituinte alquila não influenciou significativamente a resposta do sensor proposto. Todavia, mantendo-se a estrutura da parte catiônica constante, o uso de líquidos iônicos contendo os ânions cloreto (Cl^-) ou tetrafluoroborato (BF_4^-) exerceu maior influência sobre a resposta voltamétrica do corante allura red. Utilizando-se o IL (3) baseado no ânion BF_4^- uma corrente de pico praticamente quatro vezes superior foi notada. O melhor desempenho analítico dos eletrodos modificados com um IL a base de BF_4^- comparativamente àqueles contendo halogenetos também foi observada por Xiao et al. 2007, que desenvolveu um sensor eletroquímico à base de nanotubos de carbono de paredes simples, nanopartículas de ouro e IL para determinação do antibiótico cloranfenicol¹⁶⁷. Os autores atribuíram a melhor resposta do sensor à base de BF_4^- devido ao maior caráter hidrofóbico deste ânion, promovendo uma melhor interação com o analito de interesse na interface eletrodo solução. Desta forma, o IL (3) foi selecionado para os demais experimentos e, assim, o efeito da concentração do IL na dispersão utilizada para modificação do sensor proposto

foi também estudada. Na Figura 7.7 (b) encontram-se os valores de sinal analítico obtidos com o uso de eletrodos modificados preparados com o uso de dispersões com concentração de IL iguais a: 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg mL⁻¹. A corrente de pico sofreu incrementos a partir do uso de soluções 2,5 e 5,0 vezes mais concentradas, com um valor máximo de corrente sendo verificado para aquele caso da dispersão contendo IL a 5,0 mg mL⁻¹. Além de prover o sinal analítico mais elevado, uma boa repetibilidade das medidas também foi observada neste caso (pequena barra de erro), sendo então esta concentração de IL selecionada para as etapas posteriores do trabalho.

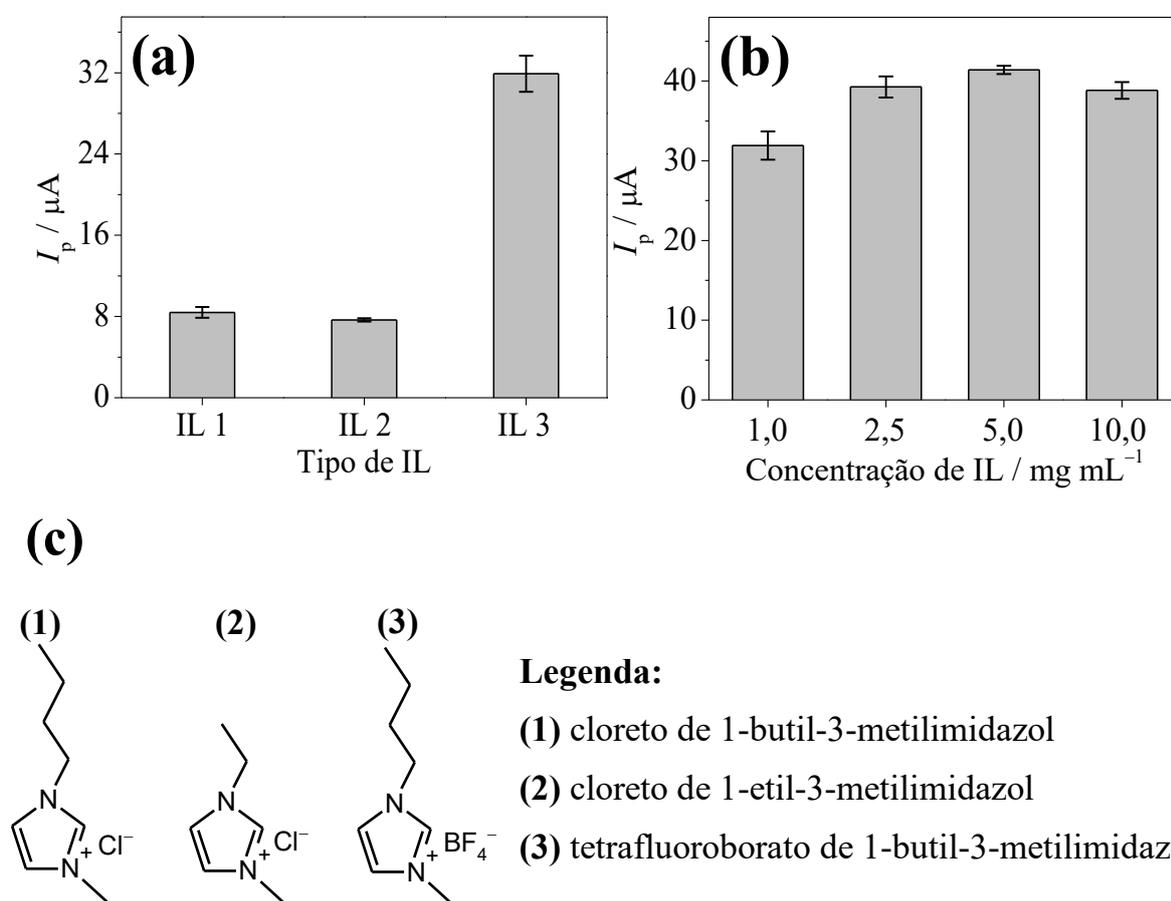


FIGURA 7.7 – (a) Variação da corrente de pico em função do tipo de líquido iônico utilizado na preparação do sensor proposto. (b) Variação da corrente de pico em função da concentração de líquido iônico na dispersão de CB. (c) Estruturas químicas dos ILs.

7.3.5 Efeito do pH e composição do eletrólito suporte

Um fator importante para trabalhos envolvendo medidas eletroquímicas é a natureza (composição) e pH do eletrólito suporte. Desta forma, foi considerado o estudo da influência do pH e composição do eletrólito suporte sobre a resposta voltamétrica do corante AR. Inicialmente, o efeito do pH foi acessado utilizando-se como eletrólito suporte soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com pH variando de 2,0 a 10,0. Os voltamogramas cíclicos obtidos nas diferentes condições de pH são mostrados na Figura 7.8 (a). A partir dos voltamogramas cíclicos coletados, os gráficos de corrente de pico (I_p) e potencial de pico (E_p) em função do pH foram construídos, e estes são apresentados no inserto da Figura 7.8 (a). O fator decisivo na seleção do melhor pH de trabalho foi a intensidade de corrente de pico. Com isso, uma vez que a maior intensidade de I_p foi alcançada com o emprego da solução de pH 4,0, este foi o pH selecionado para os demais experimentos. Continuando a avaliação do efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do corante allura red, outro aspecto interessante foi que o potencial de pico variou linearmente e de forma inversa com o pH, isto é, um incremento do valor de pH resultou em um deslocamento do potencial de pico para valores menos positivos, caracterizando assim em um típico comportamento Nernstiano. A relação linear entre E_p e pH mostrada no gráfico inserido da Figura 7.8 (a) apresentou um coeficiente angular igual a -33 mV pH^{-1} . De acordo com a equação de Nernst, um coeficiente angular igual a $-29,6 \text{ mV pH}^{-1}$ é esperado para processos redox envolvendo um número de elétrons duas vezes maior ao de prótons. Consequentemente, o valor de coeficiente angular experimental da curva de E_p vs. pH foi muito próximo deste valor teórico, e sugere uma razão entre número de elétrons/prótons de 2 para esta reação de eletrooxidação.

Uma vez determinado o melhor pH, diferentes composições de tampão com pH = 4,0 também foram investigadas como eletrólito suporte, sendo

estas: tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$), tampão BR $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$) e tampão acetato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 4,0$). Os voltamogramas cíclicos resultantes do uso dos diferentes eletrólitos suporte são organizados na Figura 7.8 (b). As correntes de pico registradas foram lançadas em gráfico em função do tipo de eletrólito suporte no inserto da Figura 8 (b). Como pode ser constatado, a maior intensidade de corrente foi obtida utilizando-se o tampão fosfato e, conseqüentemente, este foi o eletrólito suporte escolhido para a condução dos estudos eletroquímicos e analíticos posteriores.

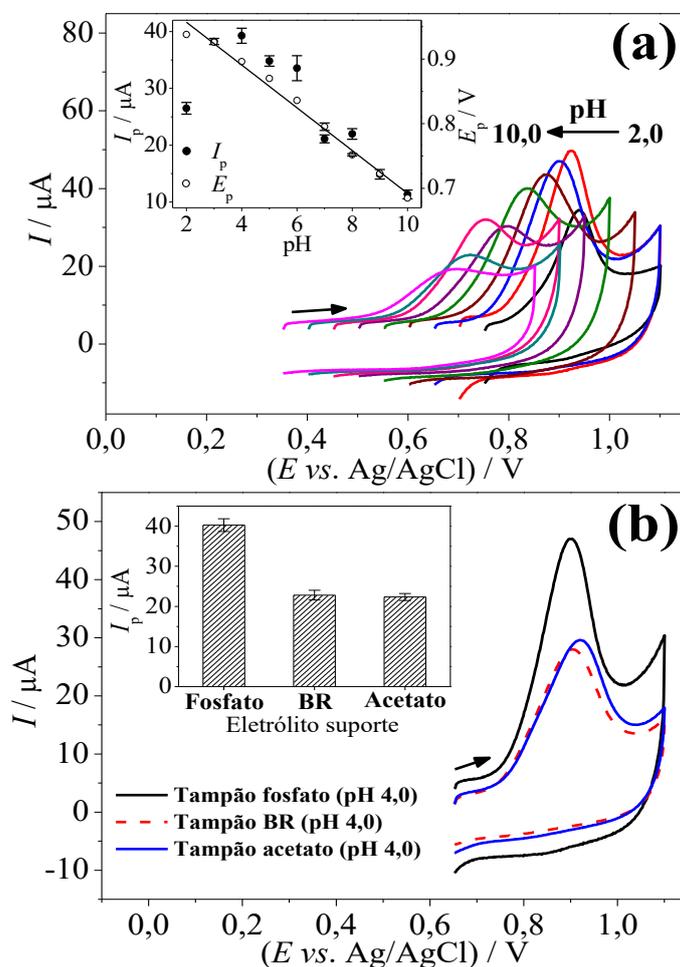


FIGURA 7.8 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com diferentes pHs (2,0 a 10,0). Inseto: Gráficos de I_p vs. pH e E_p vs. pH. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Voltamogramas cíclicos obtidos usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes soluções de eletrólito

suporte (tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 4,0), tampão BR 0,2 mol L⁻¹ (pH = 4,0) e tampão acetato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 4,0)). Inseto: Gráfico de I_p vs. Eletrólito suporte. $\nu = 50$ mV s⁻¹.

7.3.6 Efeito da velocidade de varredura

O efeito da velocidade de varredura de potencial sobre a resposta do corante AR foi estudado a partir da variação deste parâmetro de 10 a 400 mV s⁻¹ em diferentes experimentos de voltametria cíclica. Os voltamogramas cíclicos obtidos na faixa de velocidades de varredura supramencionada são apresentados na Figura 7.9. Um aumento da velocidade de varredura de potencial proporcionou um aumento das correntes. No inserto (i) da Figura 7.9 apresenta-se o gráfico de $\log I_p$ vs. $\log \nu$ obtido para este caso. O coeficiente angular da curva de $\log I_p$ vs. $\log \nu$ foi igual a 0,82, indicando assim que a reação de oxidação irreversível do analito foi governada pelos processos de difusão e adsorção. Este resultado foi confirmado pela ausência de linearidade para os gráficos de I_p vs. $\nu^{1/2}$ (inserto (ii)) e I_p vs. ν (inserto (iii)) que correspondem, respectivamente, a processos controlados predominantemente por difusão e adsorção.

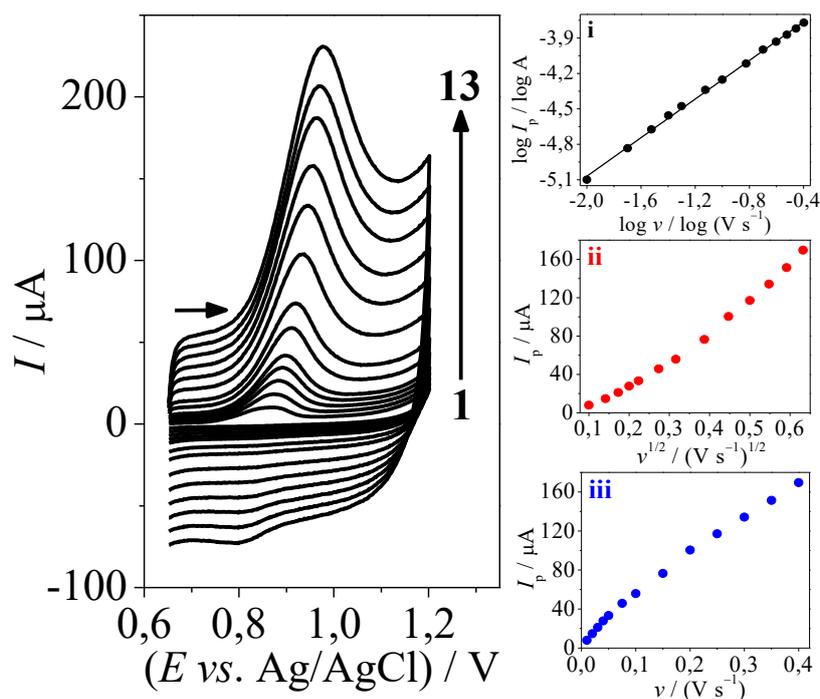


FIGURA 7.9 – Voltamograma cíclico obtido usando IL-CB-CTS-ECH/GCE para AR $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) em diferentes velocidades de varredura (1: 10 a 13: 400 mV s^{-1}). Insetos: (i) Gráfico de $\log I_p$ vs. $\log v$, (ii) I_p vs. $v^{1/2}$ e (iii) I_p vs. v .

7.3.7 Efeito do tempo e potencial de pré-concentração

Neste trabalho, o corante AR foi determinado por voltametria adsorptiva de redissolução anódica, que implicou na aplicação de uma etapa de pré-concentração do analito de interesse sobre a superfície eletródica anteriormente à medida voltamétrica. Sendo assim, os parâmetros relacionados à etapa de pré-concentração, potencial e tempo de pré-concentração, foram sujeitos a otimização. Na Figura 7.10 (a) encontram-se as correntes de pico obtidas por SWAdASV em solução de AR $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ variando-se o potencial de pré-concentração de $-0,1 \text{ V}$ a $+0,5 \text{ V}$ e mantendo-se o tempo de pré-concentração fixo e igual a 60 s . Como pode ser observado, a aplicação de um potencial de pré-concentração diferente de $0,0 \text{ V}$ (positivo ou negativo) não resultou em ganhos significativos de corrente. Desta forma, não se aplicou um

potencial na etapa de pré-concentração, trabalhando-se em circuito aberto. Em seguida, fixou-se o potencial de pré-concentração em zero, sendo então estudado o efeito do tempo de pré-concentração na faixa de 10 a 240 s. Assim como para o caso do potencial de pré-concentração, as correntes de pico registradas neste estudo foram graficadas em função do tempo de pré-concentração (Figura 7.10 (b)). Notavelmente, o uso de tempos de pré-concentração superiores resultou em correntes de pico cada vez maiores. Entretanto, a corrente de pico tendeu a assumir um valor constante a partir de 180 s, indicando a saturação da superfície do eletrodo pelas moléculas de analito. Por conta disso, o tempo de 180 s foi fixado como tempo de pré-concentração ótimo.

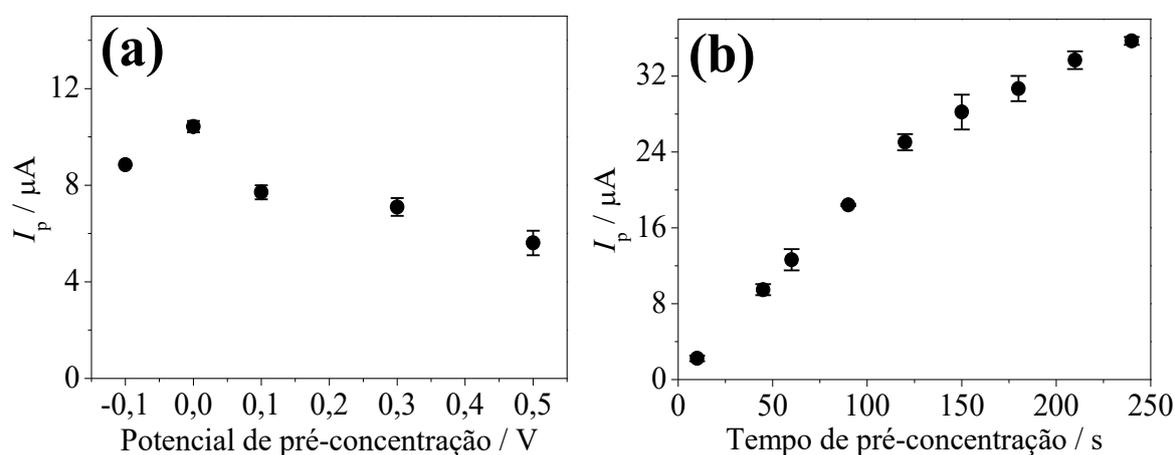


FIGURA 7.10 – Efeito do (a) potencial e (b) do tempo de pré-concentração.

7.3.5 Determinação de allura red por SWAdASV

Após a otimização dos parâmetros de pré-concentração, antes de realizar a construção das curvas analíticas, foi avaliada a influência dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada, aplicada na etapa de redissolução anódica do analito de interesse. Os parâmetros técnicos sujeitos a otimização foram frequência, amplitude e tempo de modulação. Na Tabela 7.1 encontram-se as faixas estudadas bem como os respectivos valores ótimos obtidos. Os valores ótimos reportados na Tabela 7.1 foram selecionados tendo-

se em conta a obtenção de um sinal analítico de maior magnitude e, ao mesmo tempo, um perfil voltamétrico bem definido. Neste estudo, uma concentração de AR $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foi empregada.

TABELA 7.1 – Otimização dos parâmetros de SWAdASV para determinação de AR $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Parâmetro	Faixa estudada	Valor selecionado
Frequência, Hz	10 a 100	10
Amplitude, mV	10 a 90	70
Incremento de potencial, mV	2 a 20	10

Na sequência, empregando-se os parâmetros otimizados a partir de todos os estudos discutidos anteriormente, a curva analítica para o corante AR foi construída em triplicata utilizando-se o eletrodo modificado IL-CB-CTS-ECH/GCE e a técnica voltamétrica de SWAdASV. Na Figura 7.11 são mostrados os voltamogramas de SWAdAS obtidos para diferentes concentrações de AR em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). As diferentes concentrações de AR foram obtidas na célula eletroquímica contendo um volume inicial de eletrólito suporte de 10 mL a partir de injeções de pequenas alíquotas de uma solução-estoque de AR preparada no mesmo eletrólito suporte. A concentração de AR foi variada de $3,98 \times 10^{-8}$ a $9,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e, uma dependência linear entre corrente de pico e concentração de AR foi verificada nesta faixa de concentração. Portanto, esta foi a faixa linear do sensor proposto, e a curva analítica obtida encontra-se apresentada no inserto da Figura 7.11. A curva analítica seguiu a seguinte equação de regressão linear (Eq. 7.2):

$$I_p (\mu\text{A}) = -0,429 + 28,0 [\text{AR}] (\mu\text{mol L}^{-1}), r = 0,998 \quad \text{Eq. 7.2}$$

Portanto, uma elevada sensibilidade analítica de $28 \mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}$ foi obtida. Utilizando-se esta sensibilidade analítica, e a relação $3 \times (\sigma / m)$, o limite de detecção para AR foi calculado como sendo igual a $9,21 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,92 \text{ nmol L}^{-1}$). Assim, um limite de detecção inédito na ordem de sub-nanomolar foi obtido utilizando-se o sensor proposto combinando-se nanopartículas de CB, IL e um filme de CTS reticulada.

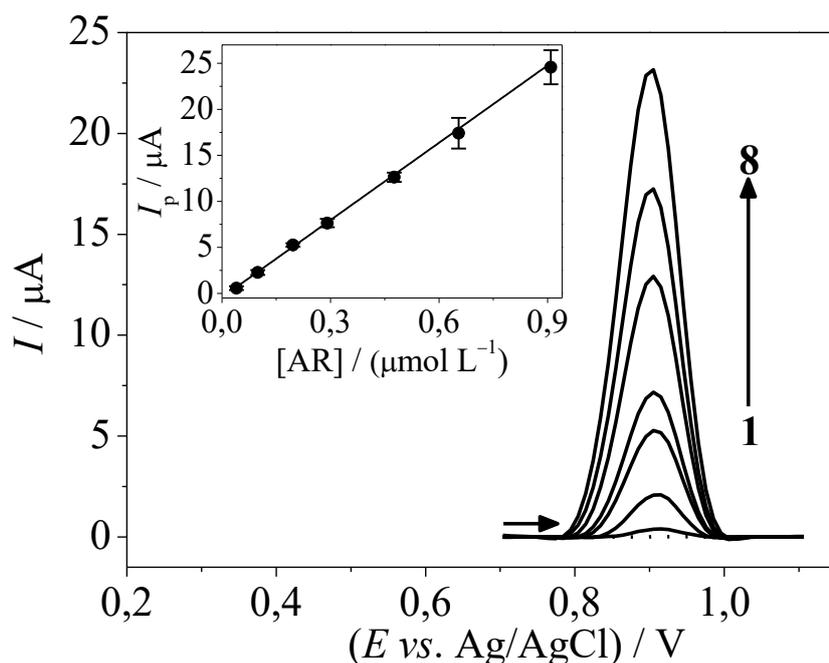


FIGURA 7. 11 – Voltamogramas de SWAdAS obtidos utilizando-se o IL-CB-CTS-ECH/GCE em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) contendo diferentes concentrações do corante AR: (1) 0,00 (solução de branco), (2) $3,98 \times 10^{-8}$, (3) $9,90 \times 10^{-8}$, (4) $1,96 \times 10^{-7}$, (5) $2,91 \times 10^{-7}$, (6) $4,76 \times 10^{-7}$, (7) $6,54 \times 10^{-7}$ e (8) $9,09 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Parâmetros: $E_{pc} = 0,0 \text{ V}$, $t_{pc} = 180 \text{ s}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 70 \text{ mV}$ e $\Delta E_p = 10 \text{ mV}$. Inseto: Curva analítica obtida para o corante AR (I_p vs. $[\text{AR}]$).

A precisão de medidas do sensor proposto foi estudada por meio de experimentos de repetibilidade intra- e inter-dias. No caso da repetibilidade intra-dia, a resposta voltamétrica do sensor proposto foi monitorada ao longo de 10 medidas sucessivas de SWAdASV realizadas para três diferentes concentrações de padrão de AR inseridas na faixa linear da curva analítica. Para

a repetibilidade inter-dias, a resposta analítica obtida utilizando-se sensores modificados preparados em três diferentes dias foi comparada. Na Tabela 7.2 os valores de desvio-padrão relativo (RSD, do inglês “Relative Standard Deviation”) obtidos em ambos estudos são reportados. Como pode ser visto, RSDs na faixa de 3,5 a 11,1 foram obtidos, os quais são valores aceitáveis de RSD e indicam a boa precisão de medidas do sensor voltamétrico proposto.

TABELA 7.2 – Resultados obtidos para os estudos de repetibilidade intra- e inter-dias utilizando-se o sensor de IL-CB-CTS-ECH/GCE e SWAdASV

[AR] / mol L ⁻¹	RSD (%)	
	Repetibilidade intra-dia	Repetibilidade inter-dias
	(n = 10)	(n = 3)
$6,00 \times 10^{-8}$	4,4	7,6
$1,00 \times 10^{-7}$	3,5	11,1
$5,00 \times 10^{-7}$	6,7	8,9

7.3.7 Estudos de interferência e recuperação

O sensor proposto neste trabalho foi destinado à análise de amostras alimentícias, mais especificamente, amostras de refrescos em pó. Diante disso, a seletividade do eletrodo modificado foi estudada em dois tipos de experimentos. O primeiro consistiu em comparar o sinal analítico registrado para uma determinada concentração de AR na ausência e presença de possíveis interferentes, os quais foram substâncias tipicamente encontradas (concomitantes) naquele tipo de amostras supramencionado. A concentração de AR empregada nestes estudos foi $3,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e a possível interferência das substâncias concomitantes foi testada utilizando-se razões analito:interferente 1:1 e 1:10. Na Tabela 7.3 são mostrados os valores de RSD obtidos neste estudo, considerando-se como possíveis interferentes as seguintes

substâncias: ácido ascórbico, ácido cítrico, citrato de sódio, aspartame, acesulfame-K e sacarina sódica. Como pode ser observado, valores de RSD menores que $\pm 7,1\%$ foram obtidos, indicando assim um efeito de matriz da amostra não muito importante.

TABELA 7.3 – RSDs obtidos para o sinal de corrente anódica do corante AR ($3,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) na presença de substâncias tipicamente encontradas em amostras de refresco em pó

Possível interferente	Razão analito:interferente	RSD* (%)
Ácido ascórbico	1:1	+0,74
	1:10	+7,1
Ácido cítrico	1:1	+2,0
	1:10	-5,9
Citrato de sódio	1:1	-2,1
	1:10	+2,5
Aspartame	1:1	+4,0
	1:10	-4,3
Acesulfame-K	1:1	-3,2
	1:10	-5,6
Sacarina sódica	1:1	+3,6
	1:10	-5,0

*RSD = $[(\text{Sinal allura red}_{\text{presença}} - \text{Sinal allura red}_{\text{ausência}}) / \text{Sinal allura red}_{\text{ausência}}] \times 100\%$.

Na sequência, o segundo tipo de experimento realizado para avaliar a seletividade do sensor de IL-CB-CTS-ECH/GCE foram ensaios de adição e recuperação em amostras comerciais de refresco em pó. Três amostras comerciais de refresco em pó foram adquiridas em comércio local e submetidas ao tratamento de amostra mencionado na seção “7.2.2. Preparo de amostras”.

Após o tratamento de amostra, todas as amostras foram fortificadas com concentrações conhecidas do padrão de AR, especificamente, em três diferentes níveis de concentração: $6,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $2,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $4,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Na Tabela 7.4 as porcentagens de recuperação obtidas em todas as concentrações utilizadas são mostradas. Assim, porcentagens de recuperação por volta de 100% foram alcançadas em todos os casos mostrando assim, como discutido anteriormente, que não houve efeito de matriz significativo.

TABELA 7.4 – Resultados obtidos para os ensaios de adição/recuperação em amostras de refresco em pó diluídas em solução de eletrólito suporte

Amostra	[AR] (mol L^{-1})		Recuperação* (%)
	Adicionado	Encontrado	
A ₁	$6,0 \times 10^{-8}$	$(6,5 \pm 0,1) \times 10^{-8}$	108
	$2,0 \times 10^{-7}$	$(2,04 \pm 0,07) \times 10^{-7}$	102
	$4,0 \times 10^{-7}$	$(3,6 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	90
A ₂	$6,0 \times 10^{-8}$	$(5,7 \pm 0,8) \times 10^{-7}$	95
	$2,0 \times 10^{-7}$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^{-7}$	100
	$4,0 \times 10^{-7}$	$(3,7 \pm 0,5) \times 10^{-7}$	92,5
A ₃	$6,0 \times 10^{-8}$	$(5,9 \pm 0,4) \times 10^{-8}$	98,3
	$2,0 \times 10^{-7}$	$(2,01 \pm 0,07) \times 10^{-7}$	100
	$4,0 \times 10^{-7}$	$(3,5 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	87,5

*Porcentagem de recuperação = $([\text{Encontrado}] / [\text{Adicionado}]) \times 100\%$.

7.3.8 Análise de amostras

Finalmente, a aplicabilidade do sensor voltamétrico proposto foi testada para a quantificação de AR em amostras comerciais de refresco em pó adquiridas no comércio local de São Carlos. Para fins comparativos, as amostras foram analisadas pelo método voltamétrico proposto e, também, por um método

espectrofotométrico. Na Tabela 7.5 são organizados os resultados de quantificação obtidos empregando-se ambos os métodos. Assim, pode-se notar que os teores de AR encontrados empregando-se os dois métodos foram bastante próximos. Comparativamente, valores de RSD menores do que $\pm 7,9\%$ foram previstos, indicando a boa concordância dos dados de quantificação os quais estiveram na ordem $1 \mu\text{g mg}^{-1}$ nas amostras analisadas. Os dados obtidos empregando-se os dois métodos analíticos também foram estatisticamente comparados pela aplicação do teste *t*-pareado a um nível de confiança de 95%. O valor de $t_{\text{calculado}} = 0,22$ foi menor que o valor de $t_{\text{teórico}}$ (valor crítico) = 3,18 (95%, 2), indicando que os resultados obtidos nos métodos proposto e comparativo foram estatisticamente equivalentes. Este conjunto de dados demonstrou a excelente exatidão do método voltamétrico proposto utilizando o sensor IL-CB-CTS-ECH/GCE e SWAdASV, e a potencialidade da arquitetura de sensor proposta para futuras aplicações eletroanalíticas.

TABELA 7.5 – Resultados obtidos para a análise de amostras comerciais de refresco em pó pelo método voltamétrico proposto e espectrofotométrico comparativo

Amostra	Teor de AR ($\mu\text{g} / 100 \text{ mg}$)		RSD* (%)
	Método comparativo	Método proposto	
A ₁	126,2 \pm 0,5	119 \pm 4	-5,7
A ₂	81 \pm 1	84 \pm 2	+3,7
A ₃	89 \pm 2	96 \pm 3	+7,9

*RSD = [(Método proposto) – (Método comparativo) / (Método comparativo)] \times 100%.

7.4 Conclusões parciais

Neste trabalho, uma nova arquitetura de sensor eletroquímico foi proposta, baseada em um eletrodo de GCE modificado com CTS reticulada contendo nanopartículas de CB e IL. As características morfológicas e eletroquímicas dos diferentes eletrodos modificados foram exploradas. Quando explorado para a determinação do corante AR, o uso combinado de CB e IL promoveu um aumento extraordinário da corrente de pico anódica obtida para este analito. Sob condições experimentais ótimas, a técnica de SWAdASV proveu uma faixa linear de resposta de $3,98 \times 10^{-8}$ a $9,09 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e um limite de detecção na ordem de concentração sub-nanomolar foi verificado, $9,1 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ (0,91 nmol L⁻¹). O sensor proposto apresentou boa precisão e seletividade como mostrado a partir de estudos de repetibilidade, possíveis interferentes e ensaios de adição e recuperação. Finalmente, a exatidão do procedimento voltamétrico proposto para a determinação de AR foi avaliada por meio da determinação deste composto em amostras comerciais de refrescos em pó.

CAPÍTULO 8

Síntese de nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana e combinação com negro de fumo no desenvolvimento de um sensor eletroquímico para determinação do interferente endócrino bisfenol A

8.1 Objetivos específicos

Conhecendo-se as excelentes propriedades da quitosana como filme para imobilização de nanomateriais sobre a superfície de carbono vítreo, e a disponibilidade de grupos funcionais passíveis de serem explorados na estabilização de nanopartículas metálicas, objetivou-se nesta etapa do trabalho investigar a síntese de nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana (Ch-PtNPs, do inglês “chitosan-stabilized platinum nanoparticles”). Após sintetizadas as Ch-PtNPs, estas foram empregadas juntamente com nanopartículas de CB para o desenvolvimento de um sensor voltamétrico para a determinação do interferente endócrino bisfenol A (BPA).

8.2 Experimental

8.2.1 Materiais, reagentes e soluções

O padrão de BPA, ácido hexacloroplatínico hexahidratato ($\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), borohidreto de sódio (NaBH_4), CTS de baixa massa molar e grau de desacetilação de pelo menos de 80% e ECH foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Pó de CB tipo VULCAN[®]VXC72R foi gentilmente fornecido pela companhia Cabot Corporation. Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura obtida por um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore[®], Bedford, MA) com resistividade elétrica não menor que 18,0 M Ω cm. Uma solução de CTS 0,2% (m/v) foi preparada em solução de ácido acético 1,0% (m/v) e a solução-estoque de ECH 2,5% (m/v) foi preparada em solução de NaOH 0,01 mol L⁻¹. Ambas as soluções foram estocadas em refrigerador. A solução-estoque de BPA $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ foi diariamente preparada em água ultrapura.

8.2.2 Síntese das nanopartículas de platina

Para síntese das nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana (Ch-PtNPs), foi seguido o protocolo proposto recentemente por Deng et al.¹⁶⁸, envolvendo a redução de H_2PtCl_6 na presença de CTS empregando-se NaBH_4 como agente redutor. Um esquema do procedimento de síntese das Ch-PtNPs é apresentado na Figura 8.1. Assim, inicialmente, 47 mL da solução de CTS 0,2 % (m/v) preparada em ácido acético 1,0 % (v/v) foram misturados com 2 mL de uma solução de H_2PtCl_6 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, e a mistura obtida foi mantida sob agitação por 30 min a temperatura ambiente. Em seguida, 1 mL de uma solução de NaBH_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionado à mistura de H_2PtCl_6 e CTS gota-a-gota. Finalmente, a mistura reacional foi mantida sob agitação por mais 90 min. Após este intervalo de tempo, a suspensão coloidal de PtNPs estabilizadas em CTS foi armazenada em frasco ambar.

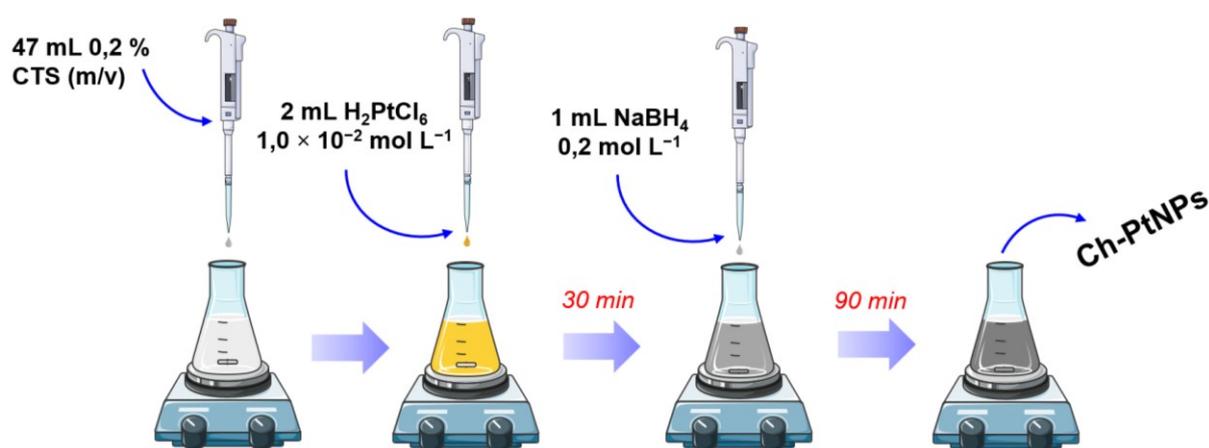


FIGURA 8.1 – Esquema do procedimento de síntese das nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana.

8.2.3 Preparação do sensor eletroquímico

O eletrodo base utilizado foi um GCE com diâmetro de 3,0 mm. Antes da modificação do GCE sua superfície foi cuidadosamente polida com pasta de alumina 0,05 μm e exaustivamente enxaguada com água ultrapura. Em seguida, o procedimento de limpeza do eletrodo base foi finalizado pela ultrassonificação da superfície do GCE em clorofórmio por 2 min e, finalmente, em água ultrapura por mais 2 min.

As etapas de preparação do eletrodo modificado encontram-se organizadas na Figura 8.2. A superfície do GCE foi modificada com uma dispersão aquosa contendo CB e as Ch-PtNPs. Para preparação desta dispersão, 1,0 mg de CB foi pesado e transferido para um microtubo de 2 mL, seguido da adição de 400 μL da suspensão de Ch-PtNPs preparada previamente e 600 μL de ECH 0,25% (m/v) (obtida a partir da diluição da solução-estoque de ECH 2,5% (m/v) em NaOH 0,01 mol L⁻¹). A ECH agiu como agente reticulante do biopolímero de quitosana. Para homogeneização, esta mistura foi colocada em banho de ultrassom por 60 min. Após este período, uma dispersão homogênea e estável contendo CB e Ch-PtNPs foi obtida. Para a modificação do GCE, 8,0 μL desta dispersão foi gotejada com o auxílio de uma micropipeta sobre a superfície do GCE, e o solvente evaporado em 20-25 min sob aquecimento brando provido por uma lâmpada de infravermelho (IV). Cada eletrodo modificado obtido foi nomeado como CB-Ch-PtNPs/GCE. Para efeitos de comparação, uma dispersão de CB e quitosana foi preparada (ausência de PtNPs) empregando-se 1,0 mg de CB, 400 μL da solução de CTS 0,2% (m/v) e 600 μL de ECH 0,25% (m/v), e o eletrodo modificado assim obtido denominado CB-Ch/GCE.

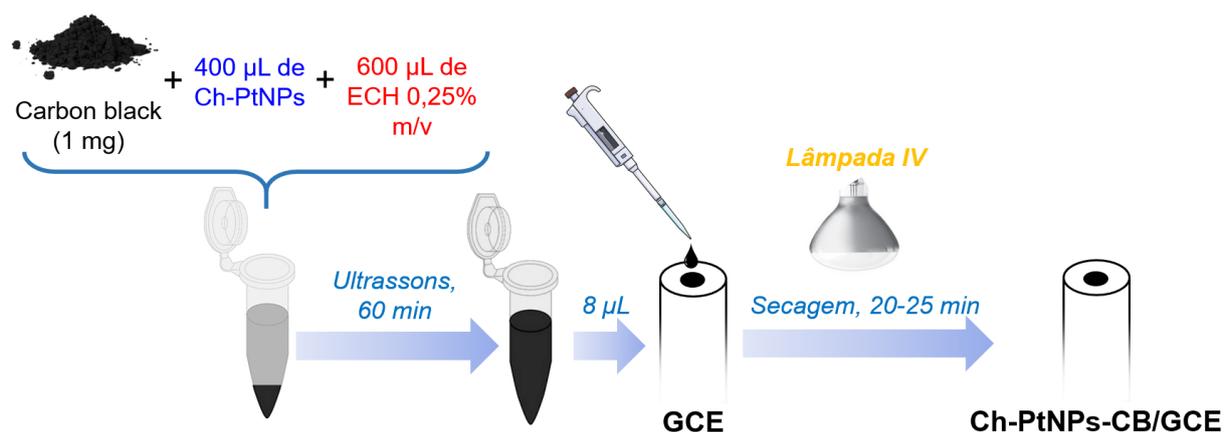


FIGURA 8.2 – Esquema de preparação do eletrodo Ch-PtNPs-CB/GCE.

8.2.4 Instrumentação

Os ensaios eletroquímicos foram realizados em uma célula eletroquímica de três eletrodos e compartimento único. Os três eletrodos foram o GCE modificado como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e uma folha de Pt como eletrodo auxiliar. As medidas voltamétricas e amperométricas foram conduzidas em um potenciostato/galvanostato μ Autolab Tipo III (EcoChemie, Holanda) gerenciado pelo software NOVA 2.1. As medidas de pH foram feitas empregando-se um pHmetro Orion Expandable Ion Analyzer (modelo EA-940, EUA), equipado com um eletrodo combinado de vidro (eletrodo de referência externo de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$)). A análise morfológica das Ch-PtNPs foi realizada por microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês “Transmission Electron Microscopy”) usando um microscópio eletrônico de transmissão FEI Tecnai G2F20. Para a análise das Ch-PtNPs por espectroscopia UV-Vis foi utilizado um espectrofotômetro Shimadzu UV-2550 equipado com uma cubeta de quartzo de 1 cm.

8.2.5 Etapas analíticas

Inicialmente, a efetividade da preparação das Ch-PtNPs foi avaliada em termos eletroquímicos realizando-se medidas de voltametria cíclica para o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE em meio de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e para soluções de H_2O_2 preparadas em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$). O intuito foi verificar a presença dos picos característicos da platina em meio ácido bem como as propriedades eletrocatalíticas das Ch-PtNPs em relação à redução do peróxido de hidrogênio. Em seguida, ainda por voltametria cíclica, foi estudada a resposta voltamétrica do analito BPA sobre os eletrodos de GCE não-modificado, CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE. A partir da confirmação do melhor desempenho eletroquímico do eletrodo modificado CB-Ch-PtNPs/GCE em relação à oxidação do BPA, experimentos adicionais de voltametria cíclica foram realizados para explorar a influência do eletrólito suporte (pH e composição) e da velocidade de varredura de potencial. Neste estudo, foi empregada a voltametria adsortiva de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdASV, do inglês “Differential Pulse Adsorptive Anodic Stripping Voltammetry”) para a determinação do analito BPA. Sendo assim, otimizou-se os valores de potencial e tempo de pré-concentração bem como os parâmetros técnicos da voltametria de pulso diferencial, sendo estes: velocidade de varredura, amplitude e tempo de modulação. Sob as condições ótimas, os estudos analíticos seguintes consistiram da construção da curva analítica para BPA, estudos de repetibilidade (intra- e inter-dias), estudo de potenciais interferentes e análise de amostras de águas naturais, sendo estas últimas coletadas e preparadas de acordo com o procedimento relatado na próxima seção.

8.2.6 Preparo das amostras de águas naturais

Amostras de águas naturais foram coletadas em três pontos diferentes da represa da Universidade Federal de São Carlos e armazenadas em

frascos âmbar. No laboratório, as três amostras de águas naturais foram filtradas e fortificadas com BPA, de forma a obter três níveis diferentes de concentração de BPA. As amostras foram em seguida analisadas pelo método voltamétrico proposto, e os resultados reportados em termos de porcentagem de recuperação das concentrações de fortificação.

8.3 Resultados e Discussão

8.3.1 Caracterização das Ch-PtNPs

O biopolímero de quitosana foi explorado neste trabalho como agente de estabilização das Ch-PtNPs e, mais tarde, como filme polimérico modificado com PtNPs para incorporação de nanopartículas de CB sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. A capacidade de estabilização de nanopartículas metálicas pela quitosana, se deve à interação dos grupos amino e hidroxila presentes ao longo da estrutura da quitosana com as PtNPs. Este modelo de interação e estabilização das PtNPs encontra-se representado no esquema mostrado na Figura 8.3. A estabilidade das PtNPs promovida pela quitosana pode ser observada nas imagens apresentadas na Figura 8.4. Na Figura 8.4 (a) encontra-se a fotografia das PtNPs preparadas pela redução do sal de Pt(IV) na ausência de quitosana. Neste caso, logo após o término da reação e a agitação cessada, as PtNPs rapidamente se depositaram no fundo do recipiente, demonstrando a falta de estabilidade devido à ausência de um agente de estabilização apropriado. Entretanto, quando a mesma síntese foi conduzida na presença de quitosana, o aspecto da solução ao final da reação foi totalmente diferente. Como pode ser observado na fotografia da Figura 8.4 (b), uma solução de coloração escura foi obtida neste caso, significando que as Ch-PtNPs permaneceram estabilizadas no meio. A estabilidade das Ch-PtNPs frente à centrifugação foi avaliada a 10000 rpm, e como pode ser observado pela Figura

8.4 (c), as mesmas mantiveram-se estáveis mesmo após 5 min de centrifugação. As Ch-PtNPs foram estáveis por um longo período, apresentando o aspecto físico mostrado na Figura 8.4 (b) por pelo menos 6 meses.

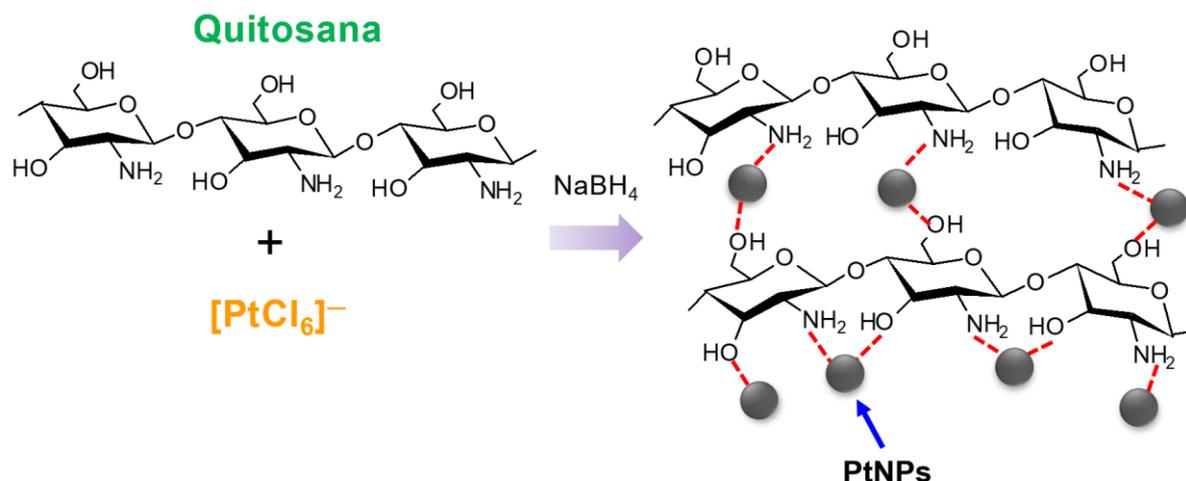


FIGURA 8.3 – Representação esquemática da interação entre o biopolímero quitosana e as nanopartículas de platina (Adaptado de Deng et al.¹⁶⁸).

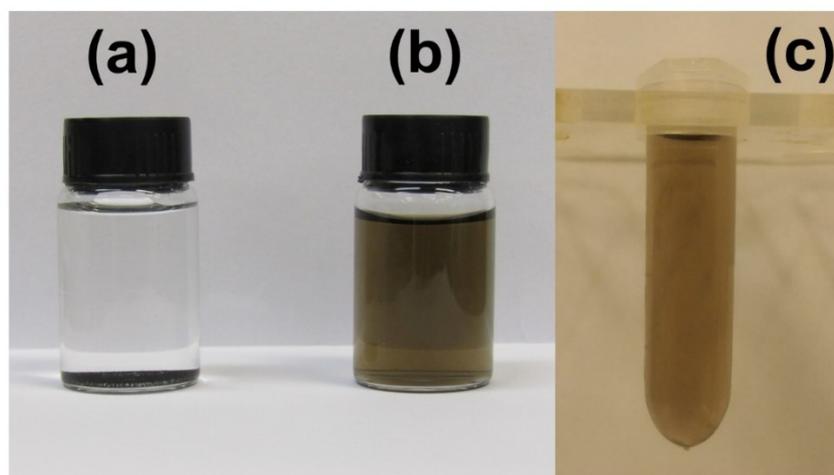


FIGURA 8.4 – Fotografia das PtNPs sintetizadas na (a) ausência e (b) presença de quitosana. (c) Fotografia das Ch-PtNPs após centrifugação a 10000 rpm (5 min).

A efetividade da redução do centro metálico de Pt(IV) para Pt⁰ pelo agente redutor borohidreto durante a preparação das Ch-PtNPs pôde ser

inicialmente confirmada pela análise da solução de partida de H_2PtCl_6 e da dispersão coloidal de PtNPs obtida por espectroscopia UV-Vis. Na Figura 8.5 encontram-se os espectros UV-Vis obtidos para as soluções de H_2PtCl_6 e Ch-PtNPs na faixa de comprimentos de onda de 200 a 600 nm. Para a coleta do espectro UV-Vis das Ch-PtNPs, a solução de CTS 0,2% (m/v) foi utilizada como solução de branco (*background*). Para a solução de partida, foi obtido um pico de absorção em 260 nm, correspondente a transferência de carga metal-ligante para o complexo $[\text{PtCl}_6]^{2-}$ ¹⁶⁹. Após a completa redução deste íon-complexo, a sua banda característica de absorção deixou de existir, demonstrando a efetividade da reação de redução pelo agente de borohidreto.

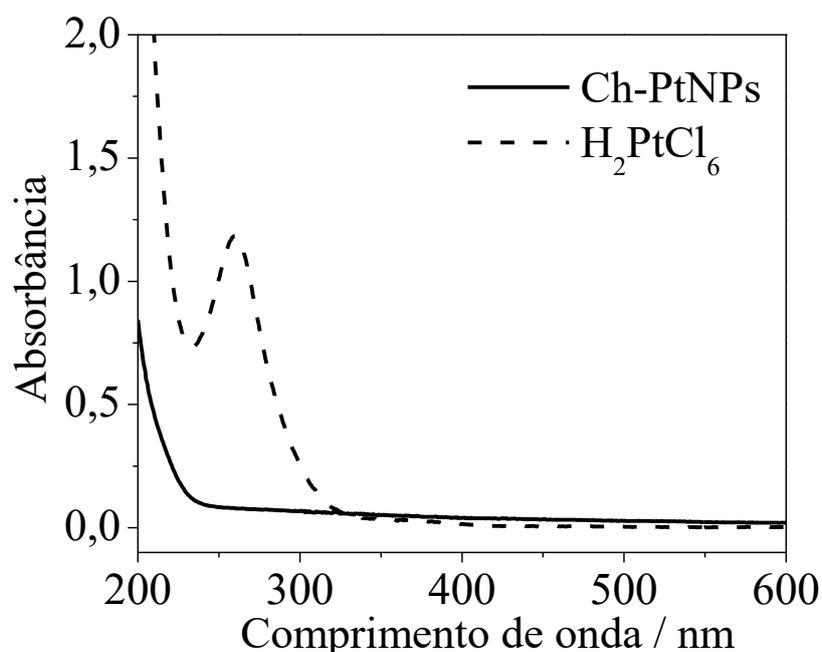


FIGURA 8.5 – Espectros de UV-Vis obtidos para a solução de partida de H_2PtCl_6 e para a dispersão coloidal de Ch-PtNPs.

O conjunto de imagens de TEM coletadas em diferentes ampliações apresentadas nas Figuras 8.6 (a-c) mostra a boa dispersibilidade das Ch-PtNPs. A partir das diferentes imagens de TEM, a contagem dos diâmetros das Ch-PtNPs foi realizada e utilizada na construção do histograma de distribuição de diâmetros apresentado na Figura 8.6 (d). Portanto, as Ch-PtNPs apresentaram

um pequeno diâmetro médio de 2,7 nm. As Figuras 8.7 (a-c) consistem de imagens de TEM obtidas em alta resolução (HR-TEM), a partir das quais foi possível observar a morfologia esférica das Ch-PtNPs. Algumas das Ch-PtNPs encontram-se marcadas, com diâmetros medidos próximo ao valor médio de 2,7 nm. Ainda, a partir das imagens de HR-TEM, verifica-se a existência de linhas contínuas sobre a extensão das Ch-PtNPs, cujo espaçamento foi determinado empregando-se o software *Digital Micrograph*. Os perfis apresentados na Figura 8.6 (d) equivalem às nanopartículas 1 e 2 marcadas na imagem de HR-TEM da Figura 8.6 (c), sendo o espaçamento entre linhas contínuas obtido pela distância entre os picos de máximo. Fazendo-se isto, um espaçamento médio de $0,21 \pm 0,01$ nm foi obtido, sendo este equivalente ao espaçamento entre os planos cristalográficos (200) da platina metálica¹⁶⁸.

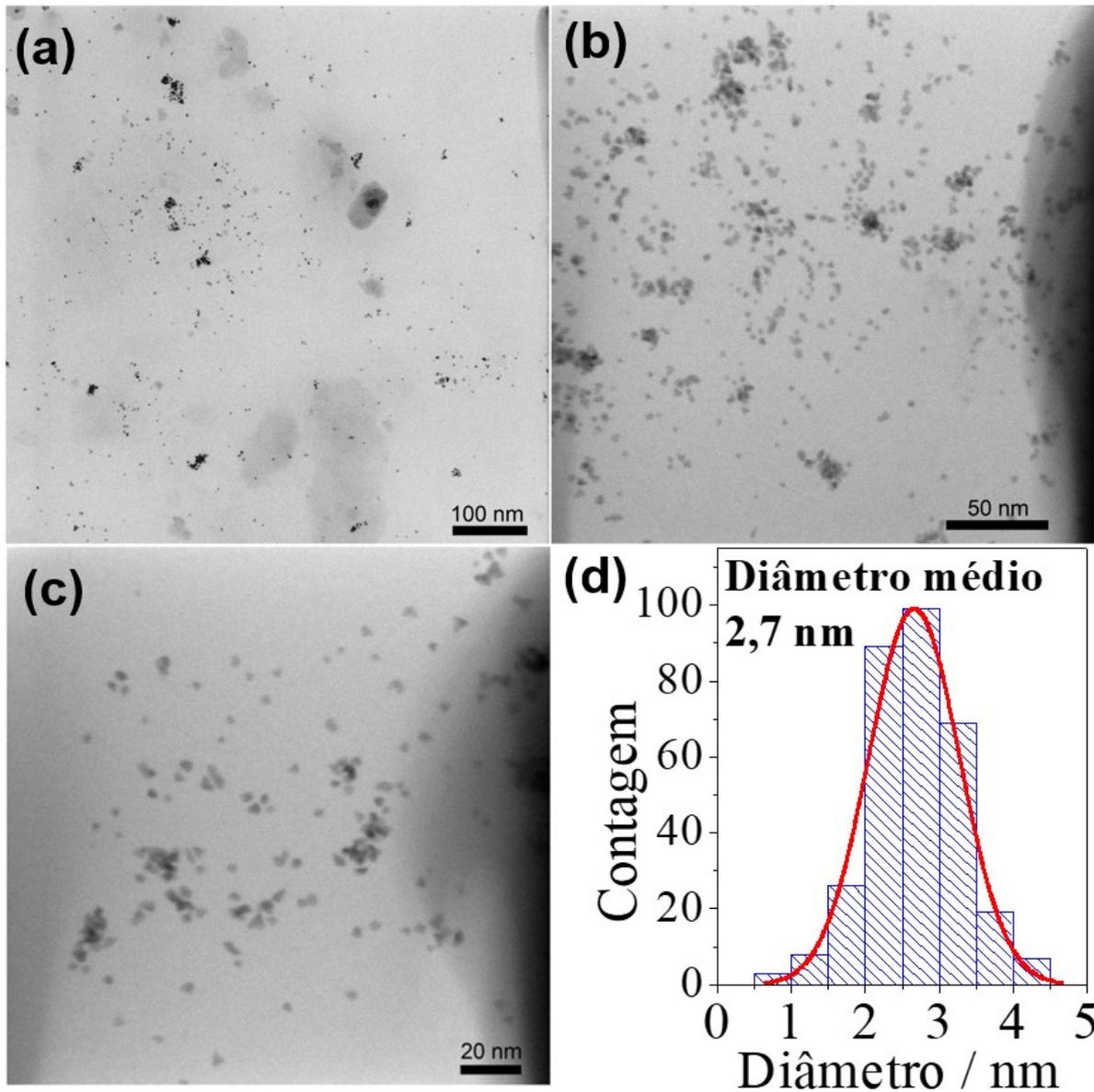


FIGURA 8.6 – (a-c) Imagens de TEM obtidas para as Ch-PtNPs em diferentes ampliações. (d) Histograma de distribuição de diâmetros obtido para as Ch-PtNPs com destaque para o diâmetro médio das Ch-PtNPs.

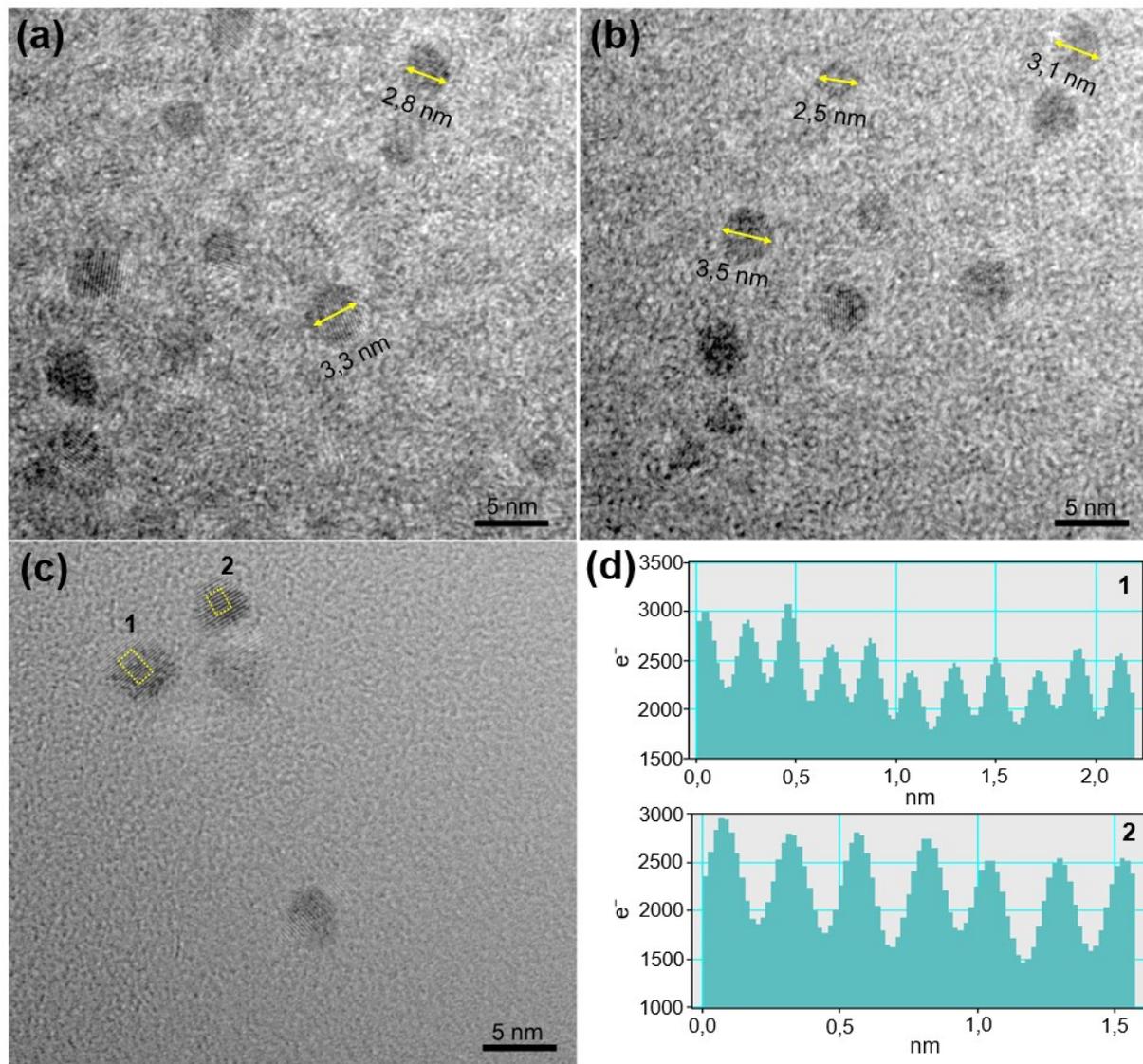


FIGURA 8.7 – (a-c) Imagens de HR-TEM obtidas para as Ch-PtNPs. (d) Perfil de espaçamento entre planos das Ch-PtNPs 1 e 2 marcadas em (c).

8.3.2 Comportamento eletroquímico das Ch-PtNPs

Para explorar o comportamento eletroquímico das Ch-PtNPs preparadas, foram realizados experimentos eletroquímicos típicos no qual a atividade eletroquímica de nanopartículas de platina ou mesmo platina metálica é conhecida. Neste sentido, foram preparados eletrodos modificados com CB na ausência e presença das Ch-PtNPs, e conduzidas medidas de voltametria cíclica

para verificação da redução eletroquímica do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e perfil voltamétrico dos eletrodos em meio de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Encontra-se bem fundamentado na literatura que eletrodos à base de platina são capazes de promover a reação de redução eletroquímica do H_2O_2 ^{170,171}. Assim, a avaliação da resposta eletroquímica desta molécula sobre o eletrodo modificado com as Ch-PtNPs serviria como um indicador eletroquímico da eficiente síntese das mesmas. Na Figura 8.8 (a) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos na ausência e presença de H_2O_2 empregando-se o CB-Ch-PtNPs/GCE como eletrodo de trabalho. A solução de eletrólito suporte foi desaerada com fluxo de N_2 e, conseqüentemente, nenhum pico faradaico associado à reação de redução do oxigênio (ORR, do inglês “Oxygen Reduction Reaction”) dissolvido foi notado. Após a adição de H_2O_2 , com concentração final em cela de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, um claro pico catódico foi observado. Para comparação, os voltamogramas cíclicos obtidos para H_2O_2 empregando-se os eletrodos CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE são apresentados conjuntamente na Figura 8.8 (b). O emprego das Ch-PtNPs como modificador além das partículas de CB forneceu um pico catódico para H_2O_2 mais pronunciado, ocorrendo em um potencial de pico catódico menos negativo e com corrente de pico catódica aproximadamente 3 vezes mais intensa, evidenciando assim a atividade eletrocatalítica das Ch-PtNPs sintetizadas. Além disso, para constatar a utilidade das nanopartículas de CB, foi construído um eletrodo modificado com as Ch-PtNPs e grafite como material carbonáceo. Os voltamogramas obtidos para H_2O_2 empregando-se os eletrodos de Ch-PtNPs a base de CB e grafite encontram-se na Figura 8.8 (c). Assim, ficou evidente que a resposta eletroquímica do H_2O_2 foi significativamente dependente do tipo de material de carbono empregado na preparação do filme de Ch-PtNPs. De fato, o desempenho do eletrodo à base de CB foi muito superior àquele do eletrodo à base de grafite, demonstrando que o tamanho nanométrico das partículas de CB e alta área superficial foram essenciais para garantir maior contato elétrico das

Ch-PtNPs com o eletrodo base. A sensibilidade do eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE em relação à redução de H_2O_2 também foi investigada a partir da construção de uma curva analítica para este analito empregando-se cronoamperometria. Na Figura 8.8 (d) são apresentados os cronoamperogramas obtidos frente a diferentes concentrações de H_2O_2 , a partir dos quais a curva analítica foi construída (ver inserto). A resposta do eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE foi linear na faixa de concentrações de $5,0 \times 10^{-5}$ a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com sensibilidade analítica de $3,8 \mu\text{A mmol}^{-1} \text{ L}$ e limite de detecção de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

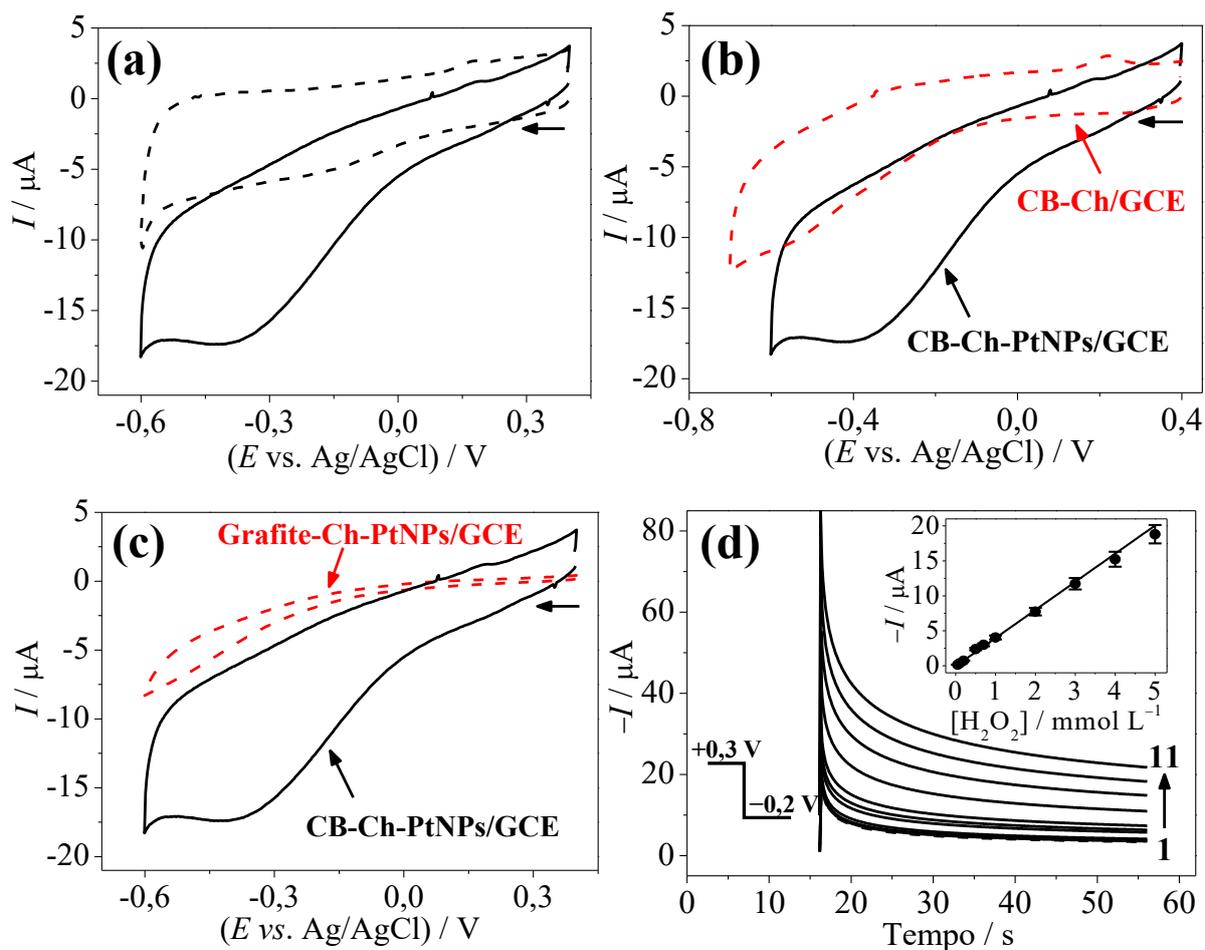


FIGURA 8.8 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 7,0) na ausência (linha pontilhada) e presença de H₂O₂ 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ (linha contínua) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Comparação dos voltamogramas cíclicos obtidos para H₂O₂ 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ empregando-se os eletrodos CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (c) Comparação dos voltamogramas cíclicos obtidos para H₂O₂ 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ empregando-se os eletrodos Grafito-Ch-PtNPs/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (d) Cronoamperogramas obtidos utilizando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE em tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 7,0) contendo diferentes concentrações de H₂O₂ (1: 0,0; 2: 5,0 × 10⁻⁵ mol L⁻¹; 3: 1,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹; 4: 2,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹; 5: 5,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹; 6: 7,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹; 7: 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹; 8: 2,0 × 10⁻³ mol L⁻¹; 9: 3,0 × 10⁻³ mol L⁻¹; 10: 4,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ e 11: 5,0 × 10⁻³ mol L⁻¹). Inseto: Curva analítica obtida para H₂O₂ (I vs. [H₂O₂]) $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Na Figura 8.9 (a) são mostrados os voltamogramas cíclicos obtidos empregando-se os eletrodos GCE não-modificado, CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na janela de potenciais de $0,0$ a $+0,4$ V. Como esperado, nenhum processo Faradaico foi observado na janela de potenciais empregada e voltamogramas cíclicos com forma retangular típica foram obtidos, representando o comportamento puramente capacitivo dos eletrodos¹⁷². A corrente capacitiva obtida para o eletrodo modificado com CB e Ch-PtNPs foi maior que a observada para o GCE não-modificado e CB-Ch/GCE, consistente com uma maior área superficial provida pelas nanopartículas de platina. Finalmente, para evidenciar a presença de nanopartículas metálicas de platina, o comportamento redox dos três eletrodos foi avaliado em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos registrados para GCE não-modificado, CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE sob esta condição de eletrólito suporte na faixa de potenciais de $-0,25$ a $+1,20$ V são mostrados na Figura 8.9 (b). Na Figura 8.9 (c) é mostrada a resposta de um eletrodo de Pt, cujo perfil voltamétrico conhecido em solução de H_2SO_4 foi verificado consistindo de vários picos voltamétricos que podem ser distribuídos em três regiões: região A abaixo de $+0,2$ V devido à adsorção/dessorção de hidrogênio; região B entre $+0,2$ a $+1,3$ V devido à reações relacionadas ao oxigênio e região C acima de $+1,3$ V correspondente à evolução de oxigênio durante a varredura anódica de potenciais¹⁷³. No caso dos voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 8.9 (b), é possível discriminar picos nas regiões de adsorção/dessorção de hidrogênio e reações envolvendo oxigênio no caso do eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE, os quais não se encontraram presentes no caso dos eletrodos inteiramente carbonáceos (GCE e CB-Ch/GCE). Embora os picos não tenham sido bem definidos como no caso de Pt pura, a discriminação dos picos observados pode ser atribuída à presença de Pt metálica.

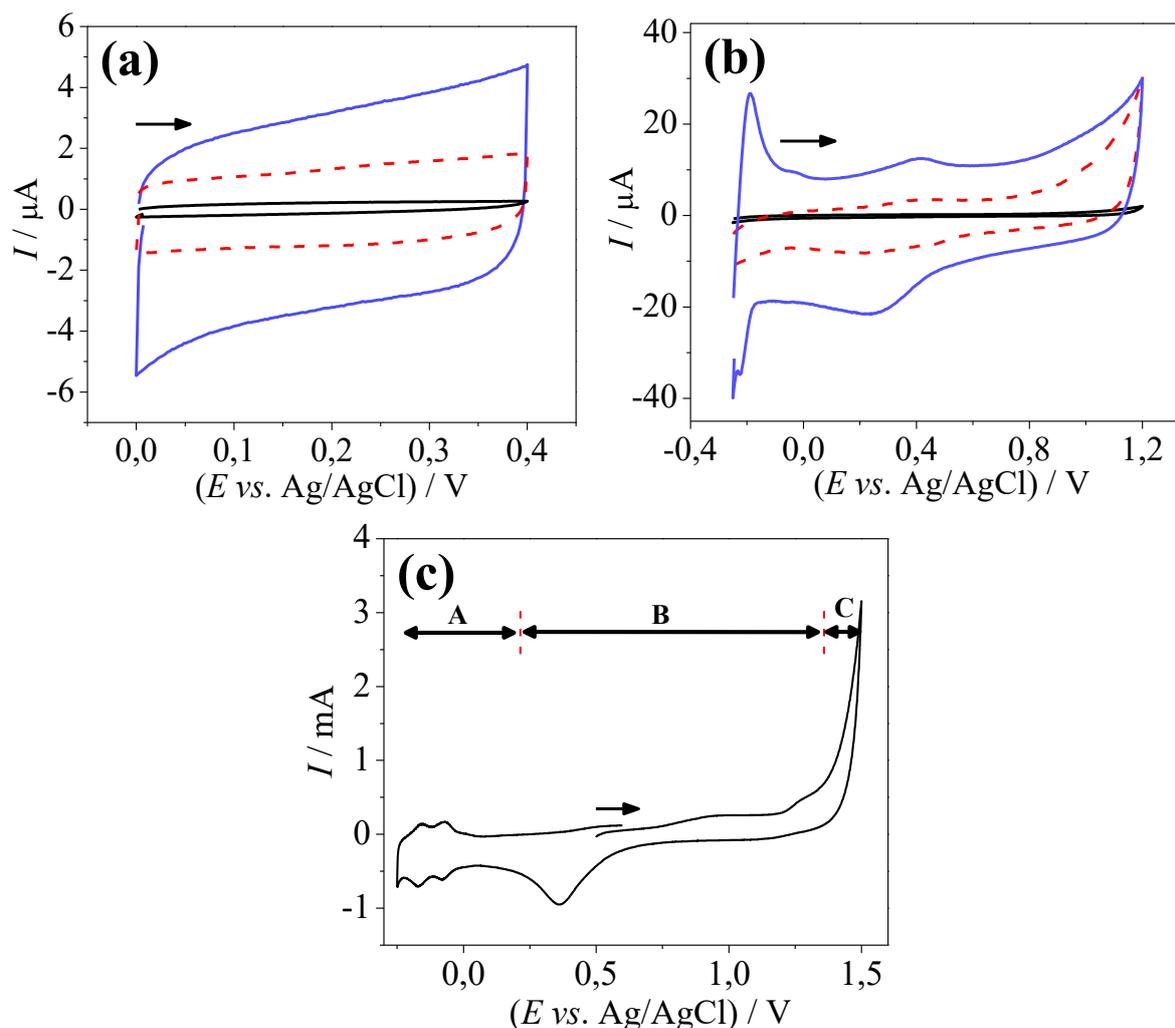


FIGURA 8.9 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos GCE (—), CB-Ch/GCE (---) e CB-Ch-PtNPs/GCE (—) em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ na janela de potenciais de 0,0 a +0,4 V. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Voltamogramas cíclicos obtidos para os eletrodos GCE (—), CB-Ch/GCE (---) e CB-Ch-PtNPs/GCE (—) em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (c) Voltamograma cíclico obtido para um eletrodo de Pt em solução de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

8.3.3 Comportamento eletroquímico do BPA

A aplicabilidade eletroanalítica das Ch-PtNPs combinadas com nanopartículas de CB foi estudada na preparação de um sensor voltamétrico para a determinação do interferente endócrino BPA. Neste sentido, a resposta

voltamétrica deste analito foi inicialmente avaliada por voltametria cíclica sobre um eletrodo de GCE não-modificado, GCE modificado com quitosana e CB (eletrodo CB-Ch/GCE) e GCE modificado com CB imobilizado no filme de Ch-PtNPs (eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE) viabilizando, assim, uma análise comparativa da resposta do BPA. Nas Figuras 8.10 (a-c) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para estes eletrodos em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0) na ausência e presença de BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Na ausência do analito de interesse, apenas o comportamento capacitivo foi verificado, sem a ocorrência de qualquer processo faradaico, como desejado. Após a adição da solução-estoque de BPA de forma a obter uma concentração na cela de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, um nítido pico de oxidação foi observado durante a varredura anódica de potenciais (no sentido de +0,2 a +0,8 V), e quando o sentido da varredura de potenciais foi invertido, nenhum pico correspondente de redução foi notado. O mesmo comportamento foi obtido sobre todos os eletrodos de trabalho, indicando que a molécula de BPA sofreu um processo de oxidação irreversível sob as condições empregadas. Este resultado encontra-se em total concordância com o comportamento eletroquímico reportado na literatura para o BPA¹⁷⁴⁻¹⁷⁶.

Os voltamogramas cíclicos registrados na presença de BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se os diferentes eletrodos de trabalho previamente mencionados são apresentados conjuntamente na Figura 8.10 (d), a partir do qual é possível se comparar a resposta do analito alvo sobre as diferentes superfícies eletródicas. Comparativamente, o pico de oxidação irreversível do BPA ocorreu praticamente na mesma posição em termos de potencial de pico, entretanto, um claro incremento de corrente de pico foi observado quando o eletrodo de GCE foi modificado sucessivamente com CB e depois com CB e as Ch-PtNPs. A corrente de pico foi igual a $3,64 \mu\text{A}$ empregando-se o GCE, $18,8 \mu\text{A}$ e $30,2 \mu\text{A}$, empregando-se os eletrodos modificados CB/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE, aumentando assim o sinal analítico de 5,2 e 8,3 vezes,

respectivamente. Estas razões de incrementos da corrente de pico demonstram a contribuição das nanopartículas de CB e Ch-PtNPs no provimento de um eletrodo de alta área superficial e, conseqüentes, superiores correntes de pico para o analito sob estudo. Tais resultados demonstraram a potencialidade do eletrodo modificado com CB e Ch-PtNPs, e demais estudos eletroquímicos e analíticos para este analito foram conduzidos sobre o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE.

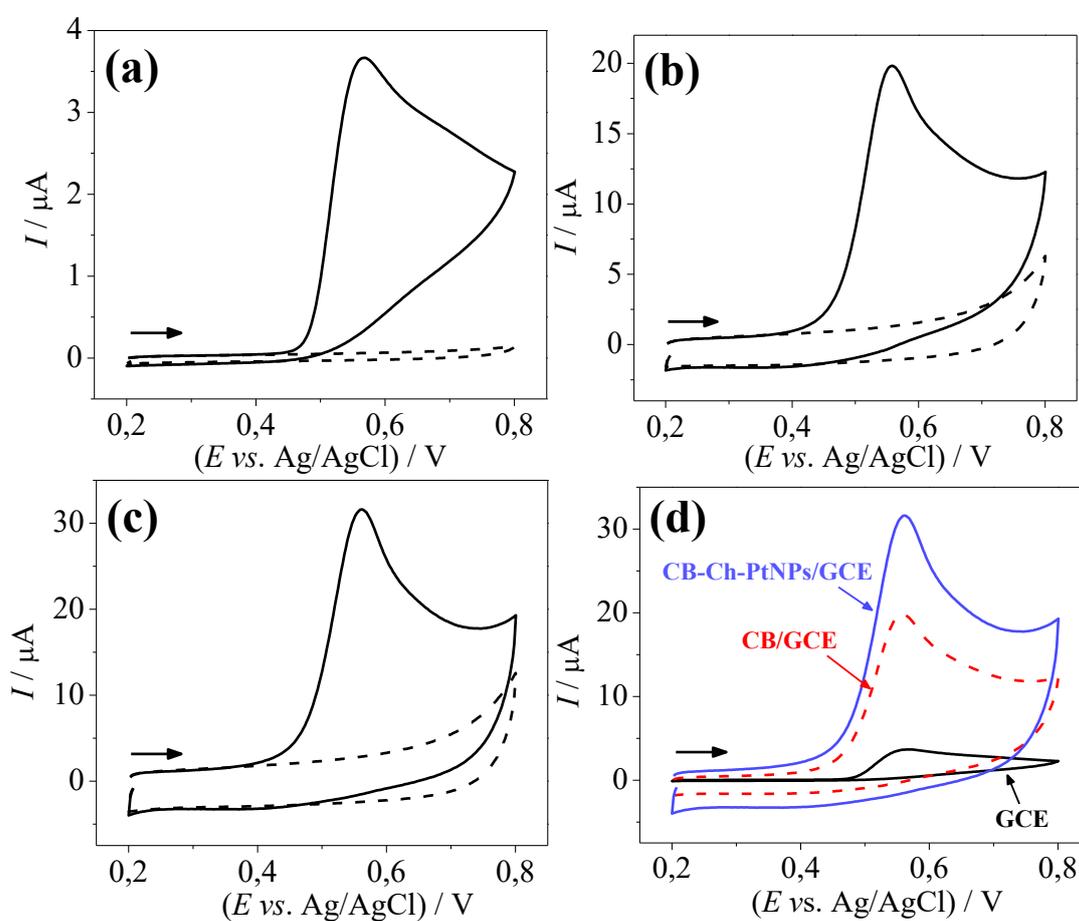


FIGURA 8.10 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) na ausência (linhas pontilhadas) e presença de BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (linha contínua) empregando-se o eletrodo (a) GCE, (b) CB-Ch/GCE e (c) CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (d) Comparação dos voltamogramas cíclicos obtidos para BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se os eletrodos GCE, CB-Ch/GCE e CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

8.3.4 Estudo do eletrólito suporte

Para o estudo do eletrólito suporte, foi considerado para efeitos de otimização o efeito do pH e da composição do eletrólito suporte. Para o estudo do efeito do pH, medidas de voltametria cíclica foram realizadas em soluções de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ com pH variando de 2,0 a 8,0 contendo o analito BPA a uma concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos obtidos sob tais condições são apresentados na Figura 8.11 (a). A partir destes voltamogramas, os valores de corrente de pico (I_p) e potencial de pico (E_p) para BPA em cada valor de pH foram obtidos e lançados em gráficos em função do pH. As curvas de I_p vs. pH e E_p vs. pH obtidas em cada caso encontram-se organizadas no gráfico da Figura 8.11 (b). Em relação a corrente de pico, esta apresentou máximos de corrente nos pHs iguais a 2,0 e 5,0. Considerando-se que o potencial de pico foi menos positivo quando o tampão com pH 5,0 foi utilizado, este foi o pH selecionado para os demais experimentos. Ademais, sobre o efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do BPA, ficou claro observando-se os voltamogramas cíclicos da Figura 8.11 (a), que com o aumento do pH do eletrólito suporte, o potencial de pico anódico se deslocou para valores menos positivos. Esta relação inversa entre E_p e pH ocorreu de forma linear, como pode ser verificado pela curva linear do gráfico de E_p vs. pH da Figura 8.11 (b). Esta curva obedeceu à seguinte equação de regressão linear:

$$E_p(\text{V}) = +0,943 \text{ V} - 0,0545(\text{V pH}^{-1}) \text{ pH}, r = 0,996 \quad \text{Eq. 8.1}$$

O coeficiente angular de $-54,5 \text{ mV pH}^{-1}$ está de acordo com o coeficiente Nernstiano de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$ observado para processos redox envolvendo o mesmo número de prótons e elétrons (ou seja, razão entre o número de prótons e elétrons igual a 1). No caso da molécula de BPA, um

mecanismo de eletrooxidação envolvendo 2 prótons e 2 elétrons tem sido proposto¹⁷⁷⁻¹⁷⁹, coerente com o observado no presente trabalho.

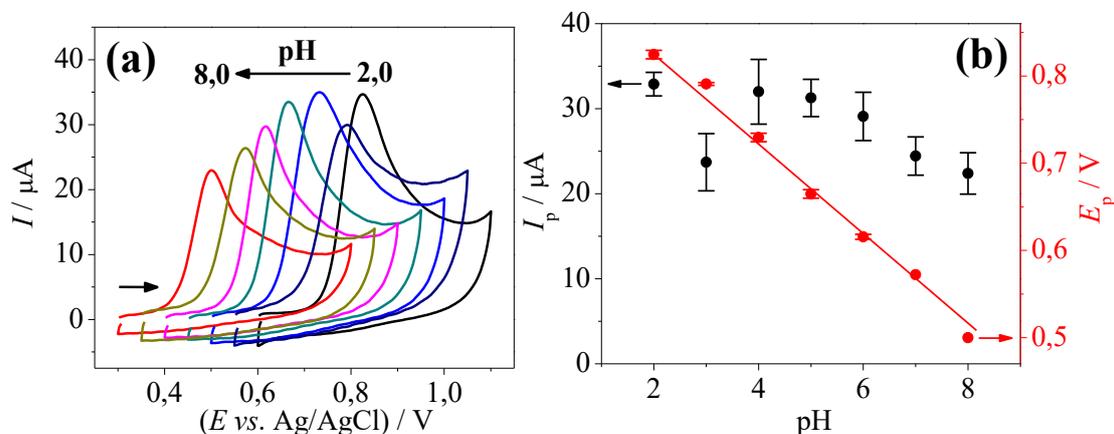


FIGURA 8.11 – (a) Voltamogramas cíclicos obtidos para BPA $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em soluções de tampão fosfato $0,2$ mol L⁻¹ com diferentes pHs (2,0 a 8,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50$ mV s⁻¹. (b) Gráficos de E_p vs. pH e I_p vs. pH.

Em seguida, foram conduzidos experimentos de voltametria cíclica para BPA na mesma concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e utilizando-se diferentes composições de tampão a pH = 5,0. Os voltamogramas cíclicos registrados empregando-se como eletrólito suporte tampão fosfato $0,2$ mol L⁻¹ (pH = 5,0), tampão Britton-Robinson (BR) $0,2$ mol L⁻¹ (pH = 5,0) e tampão acetato $0,2$ mol L⁻¹ (pH = 5,0) são apresentados na Figura 8.12. Em todos os casos, o mesmo pico de oxidação irreversível foi verificado e com a mesma posição de potencial. Entretanto, variações significativas de corrente puderam ser diagnosticadas e, assim, um gráfico de I_p vs. eletrólito (composição) foi organizado e esboçado no inserto da Figura 8.12. Comparativamente, a corrente registrada para BPA na solução de tampão fosfato $0,2$ mol L⁻¹ (pH = 5,0) foi superior de forma considerável. Esta constatação foi o motivo para a seleção da solução de tampão fosfato $0,2$ mol L⁻¹ (pH = 5,0) para condução dos demais experimentos eletroquímicos relacionados à determinação voltamétrica de BPA.

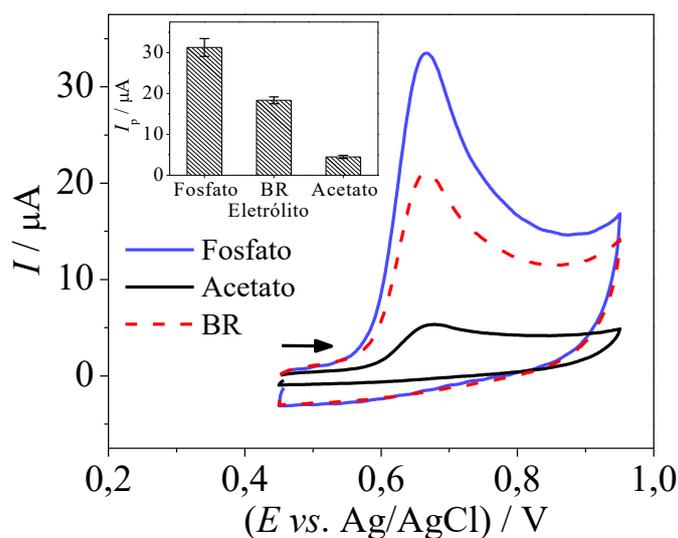


FIGURA 8.12 – Voltamogramas cíclicos obtidos para BPA $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em soluções de tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 5,0), tampão BR 0,2 mol L⁻¹ (pH = 5,0) e tampão acetato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 5,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $\nu = 50$ mV s⁻¹. Inseto: Gráfico de I_p vs. eletrólito (tipo).

8.3.5 Efeito da velocidade de varredura

Interessados na determinação de características adicionais sobre o comportamento eletroquímico verificado previamente para a molécula de BPA, uma série de experimentos de voltametria cíclica realizados no intervalo de velocidades de 10 a 400 mV s⁻¹ foram realizados para BPA $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ empregando-se a composição de eletrólito suporte determinada no estudo anterior. Os voltamogramas cíclicos obtidos para a faixa de velocidades mencionada podem ser encontrados na Figura 8.13. A partir das correntes de pico obtidas ao longo das diferentes velocidades de varredura, um gráfico de $\log I_p$ vs. $\log \nu$ foi inicialmente construído. Este gráfico encontra-se apresentado no inserto (i) da Figura 8.13. A relação entre $\log I_p$ e $\log \nu$ foi linear, de acordo com a seguinte equação de regressão linear:

$$\log I_p = -3,72 + 0,730 \log v, r = 0,998 \quad \text{Eq. 8.2}$$

Tipicamente, um coeficiente angular igual a 0,5 ou 1,0 é aguardado para a curva de $\log I_p$ vs. $\log v$ quando o processo redox é controlado exclusivamente pelo processo de difusão ou adsorção. O coeficiente angular obtido a partir dos experimentos realizados encontra-se entres estes valores, indicando que o processo de oxidação de BPA sobre o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE foi controlado pela mistura de ambos os fenômenos.

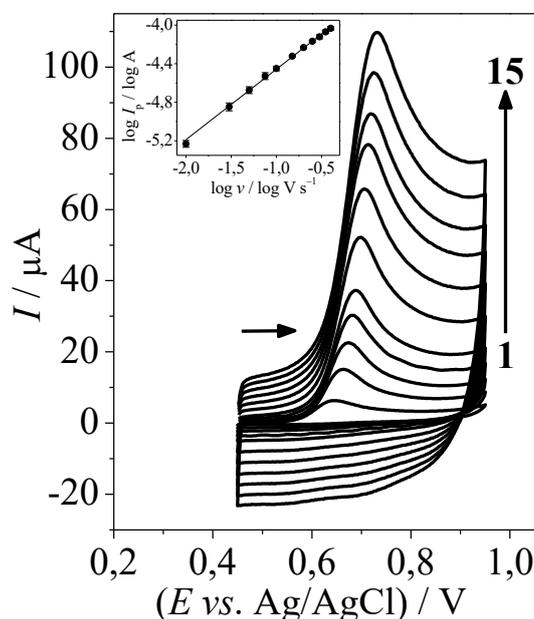


FIGURA 8.13 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura para BPA $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 5,0$) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Inseto: Gráfico $\log I_p$ vs. $\log v$.

8.3.6 Estudo do potencial e tempo de pré-concentração

Para obtenção de um procedimento voltamétrico de alta sensibilidade e detectabilidade para BPA utilizando-se o sensor de CB-Ch-PtNPs/GCE, foi decidido aplicar a técnica de DPAdASV que envolve,

consequentemente, uma etapa preliminar de pré-concentração do analito de interesse. Os parâmetros técnicos envolvidos na etapa de pré-concentração de um analito sobre a superfície do eletrodo de trabalho incluem o potencial e o tempo de pré-concentração. Assim, foram otimizados o potencial e tempo de pré-concentração em diferentes medidas de DPAdASV para uma solução de BPA $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,0). Na Figura 8.14 (a) são apresentadas as correntes de pico em função do potencial de pré-concentração aplicado, sendo este variado entre $-0,5$ e $+0,5$ V. Neste estudo, o tempo de pré-concentração foi fixado em 30 s. A partir do gráfico da Figura 8.14 (a) fica claro que a polarização do eletrodo a potenciais positivos ou negativos durante a pré-concentração do analito não resultou em melhorias do sinal analito em termos de aumento de intensidade. Cabe ainda destacar que, interessante, a aplicação de potenciais de pré-concentração tão negativos quanto $-0,3$ e $-0,5$ V resultou em correntes de pico consideravelmente inferiores. Uma possível explicação para esta observação é a ocorrência da ORR a potenciais negativos devido à presença de oxigênio dissolvido no eletrólito suporte e reconhecida atividade catalítica das Ch-PtNPs em relação a esta reação. Com a ORR tomando lugar de forma significativa sobre o eletrodo contendo as Ch-PtNPs durante a pré-concentração, ocorreu uma diminuição da área superficial disponível para a pré-concentração do analito. Considerando-se os resultados obtidos, não foi considerada a aplicação de um potencial diferente de zero nas demais etapas do trabalho.

Com o potencial de pré-concentração otimizado, avaliou-se a influência do tempo de pré-concentração sobre a resposta voltamétrica do sensor CB-Ch-PtNPs/GCE para BPA. Na Figura 8.14 (b) é mostrado o gráfico de I_p vs. tempo de pré-concentração. Avaliando-se este parâmetro de 10 a 150 s, a corrente de pico apresentou um aumento até 90 s, a partir do qual o seu valor tendeu a ser constante. O alcance de um patamar de corrente indica que a

saturação da superfície eletródica ocorreu já em 90 s e, assim, este foi o tempo de pré-concentração considerado ótimo para os demais ensaios de DPAdASV.

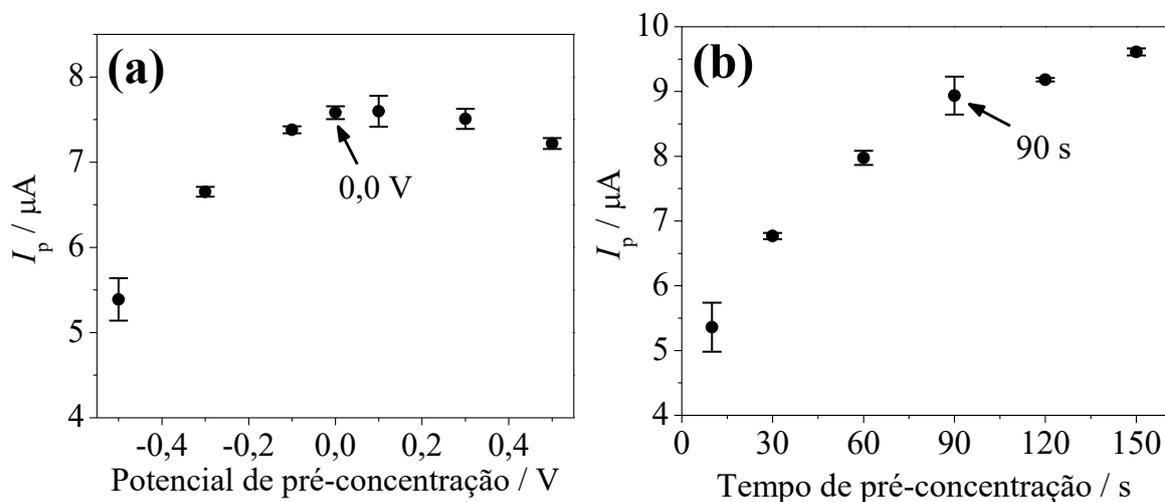


FIGURA 8.14 – Efeito do (a) potencial de pré-concentração (faixa de $-0,5$ V a $+0,5$ V e tempo de pré-concentração fixado em 30 s) e (b) tempo de pré-concentração (faixa de 10 a 150 s e potencial de pré-concentração fixado em 0,0 V) sobre a corrente pico obtida para BPA $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em solução de tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} (pH = 5,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE e DPAdASV. $\nu = 10$ mV s^{-1} ; $a = 60$ mV e $t_m = 50$ ms.

8.3.7 Determinação de BPA por DPAdASV

Como parte final da otimização das condições experimentais para determinação de BPA, os parâmetros técnicos da DPV empregada na etapa de redissolução anódica da DPAdASV também foram otimizados. Na Tabela 8.1 pode ser encontrado as faixas estudadas e os respectivos valores selecionados para os parâmetros velocidade de varredura, amplitude e tempo de modulação. Como em todos os procedimentos voltamétricos anteriores, selecionou-se aqueles valores de cada parâmetro fornecendo a máxima corrente de pico.

TABELA 8.1 – Otimização dos parâmetros da DPAdASV para a determinação de BPA

Parâmetro	Faixa	Valor ótimo
Velocidade de varredura, mV s ⁻¹	5,0 a 20	10
Amplitude, mV	10 a 120	80
Tempo de modulação, ms	10 a 100	50

Sob as condições ótimas, a curva analítica para BPA empregando-se DPAdASV e o sensor proposto CB-Ch-PtNPs/GCE foi construída. Na Figura 8.15 (a) encontram-se os voltamogramas de DPAdASV obtidos em solução de tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 5,0) contendo diferentes concentrações de BPA, obtidas por meio de adições sucessivas de volumes conhecidos de soluções-estoque de BPA à cela eletroquímica. As correntes de pico após cada adição foram registradas, e empregadas na construção da curva analítica, mostrada na Figura 8.15 (b). Como pode ser visto, a curva analítica para BPA consistiu de duas regiões lineares claramente definidas, nas regiões de concentração de $4,98 \times 10^{-8}$ a $5,91 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ (região I) e de $7,87 \times 10^{-7}$ a $5,61 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (região II), e um LOD igual a $7,29 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ foi obtido para BPA. As equações de regressão linear correspondentes a cada região linear da curva analítica foram:

$$\text{Região I: } I_p (\mu\text{A}) = -0,0514 \mu\text{A} + 3,68 (\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L}) [\text{BPA}] (\mu\text{mol L}^{-1}), r = 0,999 \quad \text{Eq. 8.3}$$

$$\text{Região II: } I_p (\mu\text{A}) = +1,63 \mu\text{A} + 1,50 (\mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L}) [\text{BPA}] (\mu\text{mol L}^{-1}), r = 0,998 \quad \text{Eq. 8.4}$$

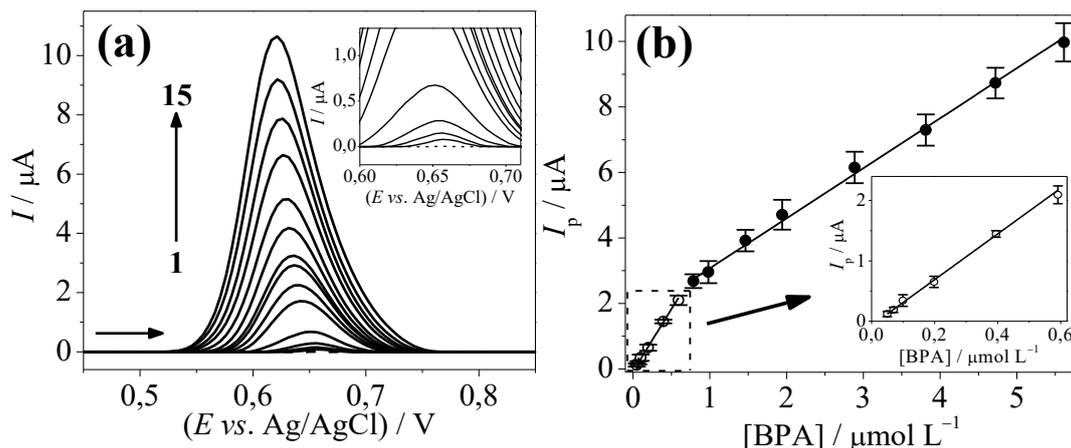


FIGURA 8.15 – (a) Voltamogramas de DPAdAS obtidos para diferentes concentrações de BPA (1: 0,0, 2: $4,98 \times 10^{-8}$, 3: $6,95 \times 10^{-8}$, 4: $9,90 \times 10^{-8}$, 5: $1,98 \times 10^{-7}$, 6: $3,95 \times 10^{-7}$, 7: $5,91 \times 10^{-7}$, 8: $7,87 \times 10^{-7}$, 9: $9,81 \times 10^{-7}$, 10: $1,46 \times 10^{-6}$, 11: $1,94 \times 10^{-6}$, 12: $2,89 \times 10^{-6}$, 13: $3,81 \times 10^{-6}$, 14: $4,72 \times 10^{-6}$ e 15: $5,61 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) em solução de tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 5,0) empregando-se o eletrodo CB-Ch-PtNPs/GCE. Condições: $E_{pc} = 0,0$ V, $t_{pc} = 90$ s, $\nu = 10$ mV s⁻¹; $a = 80$ mV e $t_m = 50$ ms. (b) Curva analítica obtida para BPA com duas regiões lineares (I_p vs. [BPA]).

8.3.8 Estudos de repetibilidade e possíveis interferentes

Para avaliar a precisão de resposta do sensor a base de CB e Ch-PtNPs, foram realizados estudos de repetibilidade intra- e inter-dias. Para o estudo de repetibilidade intra-dia, foram determinados os valores de RSD da resposta voltamétrica do sensor CB-Ch-PtNPs/GCE ao longo de dez medidas sucessivas ($n = 10$) realizadas para BPA em três níveis de concentração: $9,9 \times 10^{-8}$, $9,8 \times 10^{-7}$ e $2,9 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. No caso da repetibilidade inter-dias, a resposta voltamétrica do sensor proposto também foi monitorada para estas três concentrações de BPA, empregando-se eletrodos modificados preparados em três dias diferentes ($n = 3$). Na Tabela 8.2 são mostrados os valores de RSD obtidos para cada caso sendo, assim, possível observar que valores de RSD

inferiores a 11,7% foram obtidos, indicando a boa precisão de resposta do sensor proposto na detecção de BPA.

TABELA 8.2 – Resultados de repetibilidade intra- e inter-dias obtidos para a determinação de BPA por DPAdASV

Repetibilidade	[BPA] (mol L ⁻¹)	RSD (%)
Intra-dia (<i>n</i> = 10)	$9,9 \times 10^{-8}$	7,4
	$9,8 \times 10^{-7}$	3,9
	$2,9 \times 10^{-6}$	3,6
Inter-dias (<i>n</i> = 3)	$9,9 \times 10^{-8}$	11,7
	$9,8 \times 10^{-7}$	10,2
	$2,9 \times 10^{-6}$	6,7

Para avaliar a reprodutibilidade de preparação do sensor CB-Ch-PtNPs/GCE, foi comparada a resposta voltamétrica de 6 eletrodos modificados preparados em diferentes momentos para a determinação de BPA $9,8 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Na Figura 8.16 são organizadas as correntes de pico obtidas para cada eletrodo, sendo obtido um valor de RSD 4,8% para a comparação das correntes, demonstrando a excelente repetibilidade de preparação do sensor proposto. Este resultado se deve a facilidade de preparação do eletrodo modificado.

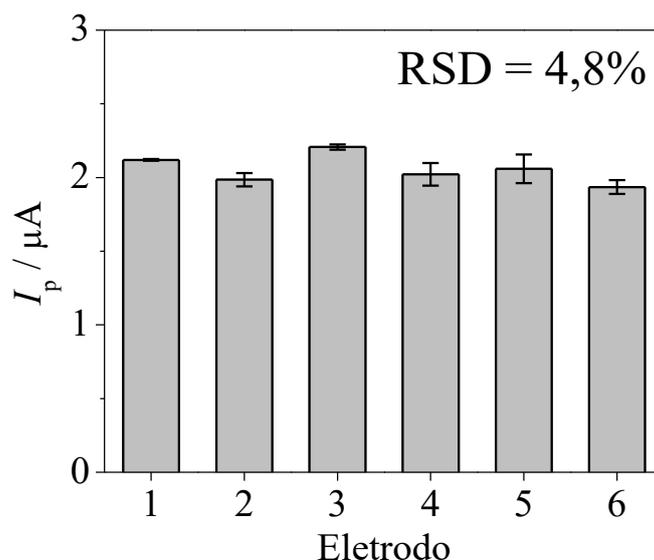


FIGURA 8.16 – Correntes de pico obtidas para BPA $9,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ empregando-se 6 diferentes eletrodos de CB-Ch-PtNPs/GCE.

O sensor proposto foi destinado à determinação de BPA em amostras de águas naturais. Desta forma, estudou-se a possível interferência de íons e espécies orgânicas tipicamente encontradas neste tipo de amostra. Na Tabela 8.3 encontram-se organizados os valores de RSD obtidos para a comparação do sinal de corrente de pico obtido para BPA $9,8 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ na ausência e presença de possíveis interferentes em razões de concentração [BPA]:[Interferente] 1:10 e 1:100. Os possíveis interferentes foram cátions (Ca^{2+} , Mg^{2+} e Ba^{2+}), ânions (CO_3^{2-} , NO_3^- e SO_4^{2-}), hidroquinona, catecol, ácido húmico e vermicomposto. Realizando-se este estudo, como pode ser verificado a partir dos valores de RSD obtidos, nenhum dos possíveis interferentes afetaram de forma significativa a resposta do eletrodo modificado sendo este, portanto, seletivo em relação às espécies avaliadas nos níveis de concentração empregados.

TABELA 8.3 – Efeito de possíveis interferentes sobre a determinação de BPA por DPAdASV empregando-se o sensor CB-Ch-PtNPs/GCE

Interferente	Razão [BPA]:[Interferente]	RSD (%)
Cátions (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ e Ba ²⁺)	1:10	-1,1
	1:100	+2,8
Ânions (CO ₃ ²⁻ , NO ₃ ⁻ e SO ₄ ²⁻)	1:10	+1,6
	1:100	-3,0
Hidroquinona	1:10	-0,64
	1:100	+5,2
Catecol	1:10	+1,4
	1:100	-0,89
Ácido húmico	---	-5,0
Vermicomposto	---	+2,5

8.3.9 Aplicação na análise de amostras de águas

Para avaliar a possível aplicabilidade do sensor proposto, três amostras de águas naturais foram coletadas na represa da UFSCar. Após submissão ao processo de preparo de amostras discutido na seção 8.2.6 as amostras foram analisadas pelo método voltamétrico proposto. As determinações foram realizadas em triplicata e para amostras fortificadas com três diferentes níveis de concentração de BPA, a saber: $5,9 \times 10^{-8}$, $6,9 \times 10^{-7}$ e $2,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. As porcentagens de recuperação, previstas pela comparação das concentrações de BPA obtidas experimentalmente (encontrado) com os valores teóricos (adicionado), podem ser visualizadas no conjunto de dados da Tabela 8.4. Uma porcentagem de recuperação ideal corresponde a um valor o mais próximo possível de 100%. Assim, os resultados da Tabela 8.4 indicam que o sensor a base de CB e Ch-PtNPs foi capaz de prover boas porcentagens de

recuperação, indicando a sua susceptibilidade para determinações de BPA em recursos hídricos.

TABELA 8.4 – Resultados de recuperação obtidos na análise amostras de águas naturais fortificadas com BPA

Amostra	[BPA] (mol L ⁻¹)		Recuperação* (%)
	Adicionado	Encontrado	
1	$5,9 \times 10^{-8}$	$(5,5 \pm 0,4) \times 10^{-8}$	93,2
	$6,9 \times 10^{-7}$	$(6,8 \pm 0,5) \times 10^{-7}$	98,6
	$2,0 \times 10^{-6}$	$(2,17 \pm 0,08) \times 10^{-6}$	108,5
2	$5,9 \times 10^{-8}$	$(6,0 \pm 0,5) \times 10^{-8}$	101,7
	$6,9 \times 10^{-7}$	$(6,2 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	89,9
	$2,0 \times 10^{-6}$	$(1,89 \pm 0,04) \times 10^{-6}$	94,5
3	$5,9 \times 10^{-8}$	$(5,7 \pm 0,6) \times 10^{-8}$	96,6
	$6,9 \times 10^{-7}$	$(7,2 \pm 0,4) \times 10^{-7}$	104,3
	$2,0 \times 10^{-6}$	$(2,2 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	110

8.4 Conclusões parciais

Nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana foram sintetizadas por um procedimento simples e conduzido à temperatura ambiente. As Ch-PtNPs sintetizadas foram caracterizadas por UV-Vis, TEM, HR-TEM e eletroquimicamente. Segundo imagens de TEM e HR-TEM, as Ch-PtNPs apresentaram morfologia esférica com diâmetro médio de 2,7 nm e a sua atividade eletroquímica em relação à redução de peróxido de hidrogênio verificada por experimentos de voltametria cíclica e cronoamperometria. Filmes

de Ch-PtNPs e CB foram preparados sobre a superfície de um GCE, e aplicados no desenvolvimento de um novo procedimento voltamétrico para a determinação do interferente endócrino BPA. Por experimentos comparativos de voltametria cíclica, foi possível verificar uma melhoria significativa da resposta voltamétrica do analito alvo sobre a superfície eletródica modificada simultaneamente por partículas de CB e Ch-PtNPs. Sob condições ótimas, duas faixas lineares foram verificadas para a curva analítica para BPA construída por DPAdASV, cobrindo duas décadas de concentração e resultando em um limite de detecção igual a $7,9 \text{ nmol L}^{-1}$. O procedimento voltamétrico proposto foi aplicado com sucesso na determinação de BPA em amostras de águas naturais, com porcentagens de recuperação próximas a 100%.

CAPÍTULO 9

Conclusões gerais e Perspectivas para Trabalhos Futuros

9. Conclusões Gerais e Perspectivas para Trabalhos Futuros

Durante o desenvolvimento deste trabalho de doutorado, focou-se no estabelecimento de novos materiais de eletrodo de trabalho a serem empregados como sensores eletroquímicos para aplicações eletroanalíticas. Neste sentido, a classe dos nanomateriais de carbono foi principalmente explorada, em duas vertentes: obtenção de filmes de DLC porosos e eletrodos de carbono vítreo modificados com filmes contendo nanopartículas de CB.

Em um primeiro momento, filmes de DLC porosos foram sintetizados e suas potencialidades eletroquímicas e analíticas investigadas. Para obtenção de filmes de DLC condutores e porosos, estes foram depositados sobre um substrato de nanotubos de carbono verticalmente alinhados. Os VACNT foram inicialmente sintetizados por deposição química de vapor assistida por microondas (MWCVD) e utilizados em seguida como substrato para a deposição do filme de DLC. Os filmes de DLC foram depositados utilizando-se um reator de deposição química de vapor *plasma-enhanced*. A partir de imagens de MEV obtidas para o filme de DLC:VACNT, foi possível verificar que o revestimento de DLC sobre os VACNT promoveu a formação de anéis a partir da aglomeração das pontas dos VACNT, dando origem a uma microestrutura do tipo favos de mel (*honeycomb*). Apesar deste efeito aglomerativo, foi possível observar que os VACNT mantiveram seu alinhamento mesmo após a cobertura pelo filme de DLC. O espectro Raman obtido para o compósito DLC:VACNT consistiu de uma combinação das características dos espectros Raman dos filmes de DLC e VACNT, sugerindo que o filme de DLC não substituiu os VACNT, mas simplesmente recobriu os mesmos. Em termos eletroquímicos, o eletrodo planar de DLC (amostra controle) mostrou comportamento predominantemente isolante, como verificado pela ausência de qualquer pico de oxidação-redução em medidas de voltametria cíclica realizadas para a sonda de hexacianoferrato (III) de potássio ($K_3Fe(CN)_6$). Este resultado foi contrastado com aquele

observado para o DLC:VACNT poroso, no qual um comportamento reversível e difusional foi obtido para esta mesma sonda eletroquímica. Além disso, o desempenho eletroquímico do eletrodo de DLC:VACNT poroso também foi estudado em relação à resposta voltamétrica das moléculas de paracetamol (PAR), dopamina (DA) e epinefrina (EP). Empregando-se estas moléculas de comportamento eletroquímico conhecido, foi possível observar a qualidade eletroquímica do eletrodo de DLC:VACNT poroso, fornecendo sensibilidades analíticas e constantes de transferência heterogênea de elétrons comparáveis àquelas obtidas com diferentes eletrodos modificados reportados na literatura e, principalmente, uma boa precisão de medidas, como verificado por intermédio de estudos de repetibilidade. Com base nos resultados preliminares sobre o desempenho eletroquímico do eletrodo de DLC:VACNT poroso, o trabalho foi, em seguida, direcionado para o estabelecimento de dois procedimentos eletroanalíticos empregando-se este como sensor eletroquímico. O desempenho eletroanalítico desta nova arquitetura de eletrodo foi demonstrado utilizando-a para determinar simultaneamente paracetamol, codeína e cafeína por voltametria de onda quadrada, e na análise de hidroquinona em cremes dermatológicos por análise por injeção em fluxo acoplada à detecção amperométrica

Na segunda parte do presente trabalho de doutorado, focou-se no desenvolvimento de eletrodos modificados à base de CB. Três arquiteturas de sensores foram propostas empregando-se CB. Primeiramente, um eletrodo de carbono vítreo foi modificado com um filme de DHP contendo nanopartículas de CB. O eletrodo modificado CB-DHP/GCE foi explorado na determinação voltamétrica do fármaco ramipril (RAM), indicado como anti-hipertensivo. Um possível mecanismo de eletrooxidação foi proposto para esta molécula. O conjunto de resultados demonstrou o efeito eletrocatalítico das nanopartículas de CB sobre a eletrooxidação irreversível do RAM, e a potencialidade do CB-DHP/GCE proposto para realizar a detecção voltamétrica de RAM. Um sensor eletroquímico dedicado à determinação do corante allura red (AR) foi também

desenvolvido. Neste caso, as nanopartículas de CB foram confinadas juntamente com um líquido iônico (IL) selecionado em um filme de quitosana reticulada. Os filmes de CB e CB-IL foram devidamente caracterizados por MEV, voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica. A modificação do GCE com CB e IL resultou em um aumento considerável da área eletroativa e da cinética de transferência de carga, como verificado nos experimentos de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica conduzidos para a sonda de $K_3Fe(CN)_6$. A partir da combinação de IL e CB no filme de quitosana reticulada, uma resposta voltamétrica melhorada foi observada para o corante AR, com um aumento de 12 vezes da magnitude de corrente de pico anódica em relação ao GCE não-modificado. Em termos de desempenho analítico, foi possível detectar o corante a níveis de traço (LOD igual a $0,91 \text{ nmol L}^{-1}$) foi estimado e o procedimento de SWAdASV desenvolvido foi aplicado com sucesso na quantificação de AR em amostras de refrescos em pó. Finalmente, a capacidade do bio-polímero de quitosana para estabilizar nanopartículas metálicas foi explorada para preparar nanopartículas de platina (PtNPs), e as nanopartículas de platina estabilizadas em quitosana (Ch-PtNPs) obtidas foram combinadas com nanopartículas de CB para preparação de filmes sobre a superfície do GCE. Imagens de TEM e HR-TEM registradas para as Ch-PtNPs mostraram uma morfologia esférica com diâmetro médio de 2,7 nm e boa dispersibilidade. As Ch-PtNPs mostraram-se estáveis por um longo período de tempo. A potencialidade eletroanalítica da nova arquitetura de eletrodo modificado à base de Ch-PtNPs e CB foi estudada frente à determinação do disruptor endócrino bisfenol A.

O trabalho apresentado nesta tese é passível de desdobramentos futuros de pesquisa. O eletrodo à base de VACNT e DLC (poroso) possui alta área superficial e, assim, poderia ser, por exemplo, empregado na incorporação de agentes biológicos para a confecção de biossensores eletroquímicos. O sistema de análise em fluxo também pode ser aplicado na quantificação de

analitos de interesse de forma simultânea empregando-se amperometria múltipla de pulsos. As arquiteturas de sensores eletroquímicos à base de CB construídas poderiam ser empregadas para a detecção dos mais diversos tipos de analitos de interesse, e adaptadas para a modificação de outros materiais de eletrodo base, incluindo dispositivos de eletrodos descartáveis. O fato de as Ch-PtNPs combinadas com CB responderem à peróxido de hidrogênio também demonstra a potencialidade do uso desta combinação de nanomateriais na concepção de biossensores eletroquímicos, visto que o peróxido de hidrogênio se encontra envolvido em vários processos biocatalíticos. A estratégia de preparação de nanopartículas metálicas estabilizadas em quitosana pode ser estendida para vários outros metais de interesse para fins eletroquímicos e eletroanalíticos, como ouro (Au), prata (Ag), cobre (Cu), etc.

Referências

Referências

1. CAVALHEIRO, E.T.G.; BRETT, C.A.; OLIVEIRA-BRETT, A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Bioelectroanalysis of pharmaceutical compounds". *Bioanal Rev*, **4** (1): 31, 2012.
2. ŠVANCARA, I.; VYTRÁS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A. & WANG, J. "Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis". *Electroanalysis*, **21** (1): 7, 2009.
3. GOODING, J.J. "Nanostructuring electrodes with carbon nanotubes: A review on electrochemistry and applications for sensing". *Electrochim. Acta*, **50** (15): 3049, 2005.
4. HUANG, X.; ZENG, Z.; FAN, Z.; LIU, J. & ZHANG, H. "Graphene-Based Electrodes". *Adv. Mater.*, **24** (45): 5979, 2012.
5. FISCHER, A.E.; SHOW, Y. & SWAIN, G.M. "Electrochemical Performance of Diamond Thin-Film Electrodes from Different Commercial Sources". *Anal. Chem.*, **76** (9): 2553, 2004.
6. IJIMA, S. "Helical microtubules of graphitic carbon". *Nature*, **354** (6348): 56, 1991.
7. IJIMA, S. & ICHIHASHI, T. "Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter". *Nature*, **363** (6430): 603, 1993.
8. SOUZA FILHO, A.G.D. & FAGAN, S.B. "Functionalization of carbon nanotubes". *Quim. Nova*, **30** (7): 1695, 2007.
9. ZARBIN, A.J.G. & OLIVEIRA, M.M. "Nanoestruturas de carbono (nanotubos, grafeno): Quo Vadis?". *Quim. Nova*, **36**: 1533, 2013.
10. WANG, J. "Carbon-Nanotube Based Electrochemical Biosensors: A Review". *Electroanalysis*, **17** (1): 7, 2005.
11. BANKS, C.E. & COMPTON, R.G. "New electrodes for old: from carbon nanotubes to edge plane pyrolytic graphite". *Analyst*, **131** (1): 15, 2006.
12. BANKS, C.E.; MOORE, R.R.; DAVIES, T.J. & COMPTON, R.G. "Investigation of modified basal plane pyrolytic graphite electrodes: definitive evidence for the electrocatalytic properties of the ends of carbon nanotubes". *Chem. Commun.*, (16): 1804, 2004.
13. LIU, J.; CHOU, A.; RAHMAT, W.; PADDON-ROW, M.N. & GOODING, J.J. "Achieving Direct Electrical Connection to Glucose Oxidase Using Aligned Single Walled Carbon Nanotube Arrays". *Electroanalysis*, **17** (1): 38, 2005.
14. CHOU, A.; BOCKING, T.; SINGH, N.K. & GOODING, J.J. "Demonstration of the importance of oxygenated species at the ends of carbon nanotubes for their favourable electrochemical properties". *Chem. Commun.*, (7): 842, 2005.
15. YE, J.-S.; WEN, Y.; DE ZHANG, W.; GAN, L.M.; XU, G.Q. & SHEU, F.-S. "Selective Voltammetric Detection of Uric Acid in the Presence of Ascorbic

- Acid at Well-Aligned Carbon Nanotube Electrode". *Electroanalysis*, **15** (21): 1693, 2003.
16. SILVA, T.A.; ZANIN, H.; VICENTINI, F.C.; CORAT, E.J. & FATIBELLO-FILHO, O. "Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of nanomolar levels of atorvastatin calcium in pharmaceutical and biological samples using a vertically aligned carbon nanotube/graphene oxide electrode". *Analyst*, **139** (11): 2832, 2014.
17. SILVA, T.A.; ZANIN, H.; VICENTINI, F.C.; CORAT, E.J. & FATIBELLO-FILHO, O. "Electrochemical determination of rosuvastatin calcium in pharmaceutical and human body fluid samples using a composite of vertically aligned carbon nanotubes and graphene oxide as the electrode material". *Sens. Actuators, B*, **218** (0): 51, 2015.
18. ZANIN, H.; MAY, P.W.; FERMIN, D.J.; PLANA, D.; VIEIRA, S.M.C.; MILNE, W.I. & CORAT, E.J. "Porous Boron-Doped Diamond/Carbon Nanotube Electrodes". *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **6** (2): 990, 2014.
19. ROBERTSON, J. "Diamond-like amorphous carbon". *Materials Science and Engineering: R: Reports*, **37** (4–6): 129, 2002.
20. ROBERTSON, J. "Electronic structure of diamond-like carbon". *Diamond Relat. Mater.*, **6** (2): 212, 1997.
21. ROBERTSON, J. "Properties of diamond-like carbon". *Surface and Coatings Technology*, **50** (3): 185, 1992.
22. ZENG, A.; NETO, V.F.; GRACIO, J.J. & FAN, Q.H. "Diamond-like carbon (DLC) films as electrochemical electrodes". *Diamond Relat. Mater.*, **43**: 12, 2014.
23. CHEN, C.W. & ROBERTSON, J. "Doping mechanism in tetrahedral amorphous carbon". *Carbon*, **37** (5): 839, 1999.
24. COMPTON, R.G.; FOORD, J.S. & MARKEN, F. "Electroanalysis at Diamond-Like and Doped-Diamond Electrodes". *Electroanalysis*, **15** (17): 1349, 2003.
25. HAYASHI, Y.; ISHIKAWA, S.; SOGA, T.; UMENO, M. & JIMBO, T. "Photovoltaic characteristics of boron-doped hydrogenated amorphous carbon on n-Si substrate prepared by r.f. plasma-enhanced CVD using trimethylboron". *Diamond Relat. Mater.*, **12** (3–7): 687, 2003.
26. MOHAMAD, R.; SHARIFF, M.M.; TETSUO, S.; TAKASHI, J. & MASAYOSHI, U. "Characterization of Phosphorus-Doped Amorphous Carbon and Construction of n-Carbon/p-Silicon Heterojunction Solar Cells". *Japanese Journal of Applied Physics*, **42** (4S): 2339, 2003.
27. VEERASAMY, V.S.; AMARATUNGA, G.A.J.; DAVIS, C.A.; TIMBS, A.E.; MILNE, W.I. & MCKENZIE, D.R. "n-type doping of highly tetrahedral diamond-like amorphous carbon". *Journal of Physics: Condensed Matter*, **5** (13): L169, 1993.
28. WEI, C.; WANG, C.-I.; TAI, F.-C.; TING, K. & CHANG, R.-C. "The effect of CNT content on the surface and mechanical properties of CNTs doped diamond like carbon films". *Diamond Relat. Mater.*, **19** (5–6): 562, 2010.

29. WEI, C. & YANG, J.-F. "A finite element study on the hardness of carbon nanotubes-doped diamond-like carbon film". *Journal of Materials Research*, **27** (01): 330, 2012.
30. FABRY, F.; FLAMANT, G. & FULCHERI, L. "Carbon black processing by thermal plasma. Analysis of the particle formation mechanism". *Chemical Engineering Science*, **56** (6): 2123, 2001.
31. LONG, C.M.; NASCARELLA, M.A. & VALBERG, P.A. "Carbon black vs. black carbon and other airborne materials containing elemental carbon: Physical and chemical distinctions". *Environmental Pollution*, **181**: 271, 2013.
32. BATISTA DEROCO, P.; CAMPANHÃ VICENTINI, F. & FATIBELLO-FILHO, O. "An Electrochemical Sensor for the Simultaneous Determination of Paracetamol and Codeine Using a Glassy Carbon Electrode Modified with Nickel Oxide Nanoparticles and Carbon Black". *Electroanalysis*, **27** (9): 2214, 2015.
33. LI, C.T.; LEE, C.T.; LI, S.R.; LEE, C.P.; CHIU, I.T.; VITTAL, R.; WU, N.L.; SUN, S.S. & HO, K.C. "Composite films of carbon black nanoparticles and sulfonated-polythiophene as flexible counter electrodes for dye-sensitized solar cells". *J. Power Sources*, **302**: 155, 2016.
34. SHENG, Z.-H.; ZHENG, X.-Q.; XU, J.-Y.; BAO, W.-J.; WANG, F.-B. & XIA, X.-H. "Electrochemical sensor based on nitrogen doped graphene: Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid". *Biosens. Bioelectron.*, **34** (1): 125, 2012.
35. HABIBI, B. & POURNAGHI-AZAR, M.H. "Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid by use of a MWCNT modified carbon-ceramic electrode and differential pulse voltammetry". *Electrochim. Acta*, **55** (19): 5492, 2010.
36. ZHANG, X.; MA, L.-X. & ZHANG, Y.-C. "Electrodeposition of platinum nanosheets on C60 decorated glassy carbon electrode as a stable electrochemical biosensor for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid". *Electrochim. Acta*, **177**: 118, 2015.
37. VICENTINI, F.C.; RAYMUNDO-PEREIRA, P.A.; JANEGITZ, B.C.; MACHADO, S.A.S. & FATIBELLO-FILHO, O. "Nanostructured carbon black for simultaneous sensing in biological fluids". *Sens. Actuators, B*, **227**: 610, 2016.
38. DUPONT, J. "On the solid, liquid and solution structural organization of imidazolium ionic liquids". *J. Braz. Chem. Soc.*, **15**: 341, 2004.
39. VICENTINI, F.C.; ELISA RAVANINI, A.; SILVA, T.A.; JANEGITZ, B.C.; ZUCOLOTTI, V. & FATIBELLO-FILHO, O. "A novel architecture based upon multi-walled carbon nanotubes and ionic liquid to improve the electroanalytical detection of ciprofibrate". *Analyst*, **139** (16): 3961, 2014.
40. ARMAND, M.; ENDRES, F.; MACFARLANE, D.R.; OHNO, H. & SCROSATI, B. "Ionic-liquid materials for the electrochemical challenges of the future". *Nature materials*, **8** (8): 621, 2009.

41. VICENTINI, F.C. "Desenvolvimento de biossensores à base de filmes poliméricos, nanotubos de carbono e nanopartículas de ouro". 2013.
42. WEI, D. & IVASKA, A. "Applications of ionic liquids in electrochemical sensors". *Anal. Chim. Acta*, **607** (2): 126, 2008.
43. VEKARIYA, R.L. "A review of ionic liquids: Applications towards catalytic organic transformations". *Journal of Molecular Liquids*, **227**: 44, 2017.
44. SHIDDIKY, M.J.A. & TORRIERO, A.A.J. "Application of ionic liquids in electrochemical sensing systems". *Biosens. Bioelectron.*, **26** (5): 1775, 2011.
45. HU, X.; WANG, P.; YANG, J.; ZHANG, B.; LI, J.; LUO, J. & WU, K. "Enhanced electrochemical detection of erythromycin based on acetylene black nanoparticles". *Colloids Surf., B*, **81** (1): 27, 2010.
46. JANEGITZ, B.C.; BACCARIN, M.; RAYMUNDO-PEREIRA, P.A.; DOS SANTOS, F.A.; OLIVEIRA, G.G.; MACHADO, S.A.S.; LANZA, M.R.V.; FATIBELLO-FILHO, O. & ZUCOLOTTI, V. "The use of dihexadecylphosphate in sensing and biosensing". *Sens. Actuators, B*, **220** (Supplement C): 805, 2015.
47. ARDILA, J.A.; OLIVEIRA, G.G.; MEDEIROS, R.A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Square-wave adsorptive stripping voltammetric determination of nanomolar levels of bezafibrate using a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes within a dihexadecyl hydrogen phosphate film". *Analyst*, **139** (7): 1762, 2014.
48. HUANG, W.; LUO, S.; ZHOU, D.; ZHANG, S. & WU, K. "Electrochemical Determination of Resveratrol Using Multi-Walled Carbon Nanotubes-Modified Glassy Carbon Electrode". *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, **5** (3): 367, 2013.
49. JANEGITZ, B.C.; DOS SANTOS, F.A.; FARIA, R.C. & ZUCOLOTTI, V. "Electrochemical determination of estradiol using a thin film containing reduced graphene oxide and dihexadecylphosphate". *Materials Science and Engineering C*, **37** (1): 14, 2014.
50. ZHAO, J.; YU, J.; WANG, F. & HU, S. "Fabrication of gold nanoparticle-dihexadecyl hydrogen phosphate film on a glassy carbon electrode, and its application to glucose sensing". *Microchim. Acta*, **156** (3): 277, 2006.
51. CAMPANHÃ VICENTINI, F.; GARCIA, L.L.C.; FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; JANEGITZ, B.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "A biosensor based on gold nanoparticles, dihexadecylphosphate, and tyrosinase for the determination of catechol in natural water". *Enzyme and Microbial Technology*, **84**: 17, 2016.
52. ZHENG, D.; LIU, X.; ZHOU, D. & HU, S. "Sensing of nitric oxide using a glassy carbon electrode modified with an electrocatalytic film composed of dihexadecyl hydrogen phosphate, platinum nanoparticles, and acetylene black". *Microchim. Acta*, **176** (1): 49, 2012.
53. FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; SILVA, T.A.; VICENTINI, F.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous voltammetric determination of dopamine and epinephrine in human body fluid samples using a glassy carbon

- electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon nanotubes within a dihexadecylphosphate film". *Analyst*, **139** (11): 2842, 2014.
54. RINAUDO, M. "Chitin and chitosan: Properties and applications". *Progress in Polymer Science*, **31** (7): 603, 2006.
55. AZEVEDO, V.; CHAVES, S.; BEZERRA, D.; LIA FOOK, M. & COSTA, A. "Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais". *Revista eletrônica de Materiais e processos*, **2** (3): 27, 2007.
56. VICENTINI, F.C.; SILVA, T.A.; PELLATIERI, A.; JANEGITZ, B.C.; FATIBELLO-FILHO, O. & FARIA, R.C. "Pb(II) determination in natural water using a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan". *Microchem. J.*, **116** (Supplement C): 191, 2014.
57. JANEGITZ, B.C.; FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; SOUZA, S.P.N.; PEREIRA-FILHO, E.R. & FATIBELLO-FILHO, O. "Development of a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan for cadmium(II) and mercury(II) determination". *J. Electroanal. Chem.*, **660** (1): 209, 2011.
58. JANEGITZ, B.C.; MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; CAMPANA-FILHO, S.P.; FARIA, R.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Anodic stripping voltammetric determination of copper(II) using a functionalized carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan". *Sens. Actuators, B*, **142** (1): 260, 2009.
59. RAVI KUMAR, M.N.V. "A review of chitin and chitosan applications". *Reactive and Functional Polymers*, **46** (1): 1, 2000.
60. GUO, W.; PI, F.; ZHANG, H.; SUN, J.; ZHANG, Y. & SUN, X. "A novel molecularly imprinted electrochemical sensor modified with carbon dots, chitosan, gold nanoparticles for the determination of patulin". *Biosens. Bioelectron.*, **98** (Supplement C): 299, 2017.
61. BACCARIN, M.; SANTOS, F.A.; VICENTINI, F.C.; ZUCOLOTTO, V.; JANEGITZ, B.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide/carbon black/chitosan composite for the simultaneous determination of dopamine and paracetamol concentrations in urine samples". *J. Electroanal. Chem.*, **799** (Supplement C): 436, 2017.
62. PAULIUKAITE, R.; GHICA, M.E.; FATIBELLO-FILHO, O. & BRETT, C.M.A. "Comparative Study of Different Cross-Linking Agents for the Immobilization of Functionalized Carbon Nanotubes within a Chitosan Film Supported on a Graphite–Epoxy Composite Electrode". *Anal. Chem.*, **81** (13): 5364, 2009.
63. BABAEI, A.; AFRASIABI, M. & BABAZADEH, M. "A Glassy Carbon Electrode Modified with Multiwalled Carbon Nanotube/Chitosan Composite as a New Sensor for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Mefenamic Acid in Pharmaceutical Preparations and Biological Samples". *Electroanalysis*, **22** (15): 1743, 2010.
64. YIN, H.; MA, Q.; ZHOU, Y.; AI, S. & ZHU, L. "Electrochemical behavior and voltammetric determination of 4-aminophenol based on graphene–chitosan

- composite film modified glassy carbon electrode". *Electrochim. Acta*, **55** (23): 7102, 2010.
65. YIN, H.; ZHANG, Q.; ZHOU, Y.; MA, Q.; LIU, T.; ZHU, L. & AI, S. "Electrochemical behavior of catechol, resorcinol and hydroquinone at graphene–chitosan composite film modified glassy carbon electrode and their simultaneous determination in water samples". *Electrochim. Acta*, **56** (6): 2748, 2011.
66. DI PROFIO, G.; TUCCI, S.; CURCIO, E. & DRIOLI, E. "Controlling polymorphism with membrane-based crystallizers: application to form I and II of paracetamol". *Chemistry of Materials*, **19** (10): 2386, 2007.
67. WARWICK, C. "Paracetamol and fever management". *The Journal of the Royal Society for the Promotion of health*, **128** (6): 320, 2008.
68. SANTOS, A.M.; VICENTINI, F.C.; FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; DEROCO, P.B. & FATIBELLO-FILHO, O. "Flow injection simultaneous determination of acetaminophen and tramadol in pharmaceutical and biological samples using multiple pulse amperometric detection with a boron-doped diamond electrode". *Diamond Relat. Mater.*, **60**: 1, 2015.
69. GOYAL, R.N.; GUPTA, V.K. & CHATTERJEE, S. "Voltammetric biosensors for the determination of paracetamol at carbon nanotube modified pyrolytic graphite electrode". *Sens. Actuators, B*, **149** (1): 252, 2010.
70. KANG, X.; WANG, J.; WU, H.; LIU, J.; AKSAY, I.A. & LIN, Y. "A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol". *Talanta*, **81** (3): 754, 2010.
71. CLAYTON, B.D. & WILLIHNGANZ, M., *Basic pharmacology for nurses* 2016, Elsevier Health Sciences. p.
72. MARTIN, F.L. & MCLEAN, A.E. "Comparison of paracetamol-induced hepatotoxicity in the rat in vivo with progression of cell injury in vitro in rat liver slices". *Drug and chemical toxicology*, **21** (4): 477, 1998.
73. DAHAN, A.; WOLK, O.; ZUR, M.; AMIDON, G.L.; ABRAHAMSSON, B.; CRISTOFOLETTI, R.; GROOT, D.; KOPP, S.; LANGGUTH, P. & POLLI, J.E. "Biowaiver Monographs for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Codeine Phosphate". *J. Pharm. Sci.*, **103** (6): 1592, 2014.
74. CARACO, Y.; SHELLER, J. & WOOD, A. "Pharmacogenetic determination of the effects of codeine and prediction of drug interactions". *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **278** (3): 1165, 1996.
75. FROST, J.; LØKKEN, T.N.; HELLAND, A.; NORDRUM, I.S. & SLØRDAL, L. "Post-mortem levels and tissue distribution of codeine, codeine-6-glucuronide, norcodeine, morphine and morphine glucuronides in a series of codeine-related deaths". *Forensic Science International*, **262**: 128, 2016.
76. GARRIDO, J.; DELERUE-MATOS, C.; BORGES, F.; MACEDO, T.R. & OLIVEIRA-BRETT, A. "Voltammetric oxidation of drugs of abuse II. Codeine and metabolites". *Electroanalysis*, **16** (17): 1427, 2004.

77. BAILEY, R.L.; SALDANHA, L.G.; GAHCHE, J.J. & DWYER, J.T. "Estimating caffeine intake from energy drinks and dietary supplements in the United States". *Nutrition reviews*, **72** (suppl 1): 9, 2014.
78. PEACOCK, A.; MARTIN, F.H. & CARR, A. "Energy drink ingredients. Contribution of caffeine and taurine to performance outcomes". *Appetite*, **64**: 1, 2013.
79. SAWYNOK, J. "Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine". *Drugs*, **49** (1): 37, 1995.
80. LOURENCAO, B.C.; MEDEIROS, R.A.; ROCHA-FILHO, R.C.; MAZO, L.H. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode". *Talanta*, **78** (3): 748, 2009.
81. LOURENÇÃO, B.C.; MEDEIROS, R.A.; ROCHA-FILHO, R.C.; MAZO, L.H. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode". *Talanta*, **78** (3): 748, 2009.
82. KARTAL, M. "LC method for the analysis of paracetamol, caffeine and codeine phosphate in pharmaceutical preparations". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **26** (5–6): 857, 2001.
83. VERHO, M.; LUCK, C.; STELTER, W.; RANGOONWALA, B. & BENDER, N. "Pharmacokinetics, metabolism and biliary and urinary excretion of oral ramipril in man". *Curr. Med. Res. Opin.*, **13** (5): 264, 1995.
84. BELAL, F.; AL-ZAAGI, I.A.; GADKARIEM, E.A. & ABOUNASSIF, M.A. "A stability-indicating LC method for the simultaneous determination of ramipril and hydrochlorothiazide in dosage forms". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **24** (3): 335, 2001.
85. KOH, K.K.; QUON, M.J.; LEE, Y.; HAN, S.H.; AHN, J.Y.; CHUNG, W.-J.; KIM, J.-A. & SHIN, E.K. "Additive beneficial cardiovascular and metabolic effects of combination therapy with ramipril and candesartan in hypertensive patients†". *Eur. Heart J.*, **28** (12): 1440, 2007.
86. AL-MAJED, A.A.; BELAL, F.; ABADI, A. & AL-OBAID, A.M. "The voltammetric study and determination of ramipril in dosage forms and biological fluids". *Il Farmaco*, **55** (3): 233, 2000.
87. BELAL, F.; AL-ZAAGI, I.A. & ABOUNASSIF, M.A. "Voltammetric determination of benazepril and ramipril in dosage forms and biological fluids through nitrosation". *J. AOAC Int.*, **84** (1): 1, 2001.
88. MATTOS, G.J.; SCREMIN, J.; SALAMANCA-NETO, C.A.R. & SARTORI, E.R. "The Performance of Boron-Doped Diamond Electrode for the Determination of Ramipril and its Association with Hydrochlorothiazide". *Electroanalysis*, **29** (4): 1180, 2017.
89. DEROCO, P.B.; MEDEIROS, R.A.; ROCHA-FILHO, R.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Selective and simultaneous determination of indigo carmine and allura red in candy samples at the nano-concentration range by flow

- injection analysis with multiple pulse amperometric detection". *Food Chemistry*, **247**: 66, 2018.
90. POURREZA, N.; RASTEGARZADEH, S. & LARKI, A. "Determination of Allura red in food samples after cloud point extraction using mixed micelles". *Food Chemistry*, **126** (3): 1465, 2011.
91. ROVINA, K.; SIDDIQUEE, S. & SHAARANI, S.M. "Extraction, analytical and advanced methods for detection of allura red AC (E129) in food and beverages products". *Frontiers in microbiology*, **7** 2016.
92. ROVINA, K.; SIDDIQUEE, S. & SHAARANI, S.M. "Extraction, Analytical and Advanced Methods for Detection of Allura Red AC (E129) in Food and Beverages Products". *Frontiers in Microbiology*, **7**: 798, 2016.
93. YOSHIOKA, N. & ICHIHASHI, K. "Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection". *Talanta*, **74** (5): 1408, 2008.
94. DINC, E.; AKTAS, A.H.; BALEANU, D. & USTUNDAG, O. "Simultaneous determination of tartrazine and allura red in commercial preparation by chemometric HPLC method". *Journal of food and drug analysis*, **14** (3): 284, 2006.
95. DINÇ, E.; BAYDAN, E.; KANBUR, M. & ONUR, F. "Spectrophotometric multicomponent determination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor-ratio spectra derivative, inverse least-squares and principal component regression methods". *Talanta*, **58** (3): 579, 2002.
96. SOYLAK, M.; UNSAL, Y.E. & TUZEN, M. "Spectrophotometric determination of trace levels of allura red in water samples after separation and preconcentration". *Food and Chemical Toxicology*, **49** (5): 1183, 2011.
97. KUO, K.-L.; HUANG, H.-Y. & HSIEH, Y.-Z. "High-performance capillary electrophoretic analysis of synthetic food colorants". *Chromatographia*, **47** (5): 249, 1998.
98. STAPLES, C.A.; DOME, P.B.; KLECKA, G.M.; OBLOCK, S.T. & HARRIS, L.R. "A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A". *Chemosphere*, **36** (10): 2149, 1998.
99. FROMME, H.; KÜCHLER, T.; OTTO, T.; PILZ, K.; MÜLLER, J. & WENZEL, A. "Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment". *Water Research*, **36** (6): 1429, 2002.
100. FLINT, S.; MARKLE, T.; THOMPSON, S. & WALLACE, E. "Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective". *Journal of Environmental Management*, **104**: 19, 2012.
101. ROCHESTER, J.R. "Bisphenol A and human health: A review of the literature". *Reproductive Toxicology*, **42**: 132, 2013.
102. MICHAŁOWICZ, J. "Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation". *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **37** (2): 738, 2014.

103. YANG, M.; RYU, J.-H.; JEON, R.; KANG, D. & YOO, K.-Y. "Effects of bisphenol A on breast cancer and its risk factors". *Archives of Toxicology*, **83** (3): 281, 2009.
104. SHANKAR, A.; TEPPALA, S. & SABANAYAGAM, C. "Bisphenol A and peripheral arterial disease: results from the NHANES". *Environmental health perspectives*, **120** (9): 1297, 2012.
105. VOM SAAL, F.S.; NAGEL, S.C.; COE, B.L.; ANGLE, B.M. & TAYLOR, J.A. "The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity". *Molecular and Cellular Endocrinology*, **354** (1): 74, 2012.
106. COUTEAU, C. & COIFFARD, L. "Overview of Skin Whitening Agents: Drugs and Cosmetic Products". *Cosmetics*, **3** (3): 27, 2016.
107. PALUMBO, A.; D'ISCHIA, M.; MISURACA, G. & PROTA, G. "Mechanism of inhibition of melanogenesis by hydroquinone". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, **1073** (1): 85, 1991.
108. DRAELOS, Z.D. "Skin lightening preparations and the hydroquinone controversy". *Dermatologic Therapy*, **20** (5): 308, 2007.
109. RIBAS, J.; SCHETTINI, A.P.M. & CAVALCANTE, M.D.S.M. "Ocronose exógena induzida por hidroquinona: relato de quatro casos". *Anais Brasileiros de Dermatologia*, **85**: 699, 2010.
110. Cosméticos X Medicamentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2868594&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=cosmeticos-x-medicamentos&inheritRedirect=true.
111. SILVA, T.A.; ZANIN, H.; MAY, P.W.; CORAT, E.J. & FATIBELLO-FILHO, O. "Electrochemical Performance of Porous Diamond-like Carbon Electrodes for Sensing Hormones, Neurotransmitters, and Endocrine Disruptors". *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **6** (23): 21086, 2014.
112. TSUKADA, J.; ZANIN, H.; BARBOSA, L.C.A.; DA SILVA, G.A.; CERAGIOLI, H.J.; PETERLEVITZ, A.C.; TEÓFILO, R.F. & BARANAUSKAS, V. "Electro-Deposition of Carbon Structures at Mid Voltage and Room Temperature Using Ethanol/Aqueous Solutions". *J. Electrochem. Soc.*, **159** (3): D159, 2012.
113. ZANIN, H.G.; PETERLEVITZ, A.C.; TEÓFILO, R.F.; CERAGIOLI, H.J. & BARANAUSKAS, V. "Synthesis and Characterization of Magnetic Nanocrystalline Diamond Films". *Ferroelectrics*, **436** (1): 96, 2012.
114. ZANIN, H.; SAITO, E.; CERAGIOLI, H.J.; BARANAUSKAS, V. & CORAT, E.J. "Reduced graphene oxide and vertically aligned carbon nanotubes superhydrophilic films for supercapacitors devices". *Mater. Res. Bull.*, **49** (0): 487, 2014.
115. LOBO, A.O.; ZANIN, H.; SIQUEIRA, I.A.W.B.; LEITE, N.C.S.; MARCIANO, F.R. & CORAT, E.J. "Effect of ultrasound irradiation on the

- production of nHAp/MWCNT nanocomposites". *Mater. Sci. Eng., C*, **33** (7): 4305, 2013.
116. DRESSELHAUS, M.S.; JORIO, A.; HOFMANN, M.; DRESSELHAUS, G. & SAITO, R. "Perspectives on Carbon Nanotubes and Graphene Raman Spectroscopy". *Nano Lett.*, **10** (3): 751, 2010.
117. ZANIN, H.; SAITO, E.; MARCIANO, F.R.; CERAGIOLI, H.J.; CAMPOS GRANATO, A.E.; PORCIONATTO, M. & LOBO, A.O. "Fast preparation of nano-hydroxyapatite/superhydrophilic reduced graphene oxide composites for bioactive applications". *J. Mater. Chem. B*, **1** (38): 4947, 2013.
118. MOREIRA, J.V.S.; MAY, P.W.; CORAT, E.J.; PETERLEVITZ, A.C.; PINHEIRO, R.A. & ZANIN, H. "Diamond and carbon nanotube composites for supercapacitor devices". *Journal of Electronic Materials*, **in press** 2016.
119. NICHOLSON, R.S. "Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics". *Anal. Chem.*, **37** (11): 1351, 1965.
120. LAVAGNINI, I.; ANTIOCHIA, R. & MAGNO, F. "An extended method for the practical evaluation of the standard rate constant from cyclic voltammetric data". *Electroanalysis*, **16** (6): 505, 2004.
121. BARD, A.J. & L.R., F., *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. 2 ed. ed. 2001, John Wiley & Sons: New York. 833 p.
122. LOURENCAO, B.C.; SILVA, T.A.; FATIBELLO-FILHO, O. & SWAIN, G.M. "Voltammetric Studies of Propranolol and Hydrochlorothiazide Oxidation in Standard and Synthetic Biological Fluids Using a Nitrogen-Containing Tetrahedral Amorphous Carbon (ta-C:N) Electrode". *Electrochim. Acta*, **in press** (0)
123. FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; BROWNSON, D.A.C.; GOMEZ-MINGOT, M.; INIESTA, J.; FATIBELLO-FILHO, O. & BANKS, C.E. "Exploring the electrochemical performance of graphitic paste electrodes: graphene vs. graphite". *Analyst*, **138** (21): 6354, 2013.
124. NICHOLSON, R.S. & SHAIN, I. "Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems". *Anal. Chem.*, **36** (4): 706, 1964.
125. LAVAGNINI, I.; ANTIOCHIA, R. & MAGNO, F. *Electroanalysis*, **16** (6): 505, 2004.
126. DE OLIVEIRA, K.M.; DOS SANTOS, T.C.C.; DINELLI, L.R.; MARINHO, J.Z.; LIMA, R.C. & BOGADO, A.L. "Aggregates of gold nanoparticles with complexes containing ruthenium as modifiers in carbon paste electrodes". *Polyhedron*, **50** (1): 410, 2013.
127. MAZLOUM-ARDAKANI, M.; BEITOLLAHI, H.; GANJIPOUR, B.; NAEIMI, H. & NEJATI, M. "Electrochemical and catalytic investigations of dopamine and uric acid by modified carbon nanotube paste electrode". *Bioelectrochemistry*, **75** (1): 1, 2009.
128. WANG, C.; LI, C.; WANG, F. & WANG, C. "Covalent Modification of Glassy Carbon Electrode with L-Cysteine for the Determination of Acetaminophen". *Microchim. Acta*, **155** (3-4): 365, 2006.

129. LI, Q.; WANG, Y. & LUO, G. "Voltammetric separation of dopamine and ascorbic acid with graphite electrodes modified with ultrafine TiO₂". *Mater. Sci. Eng., C*, **11** (1): 71, 2000.
130. GONZÁLEZ-VELASCO, J. "The linear sweep voltametric method: An application to the study of reversible and irreversible processes". *Electroanalysis*, **6** (9): 711, 1994.
131. THOMAS, T.; MASCARENHAS, R.J.; D' SOUZA, O.J.; DETRICHE, S.; MEKHALIF, Z. & MARTIS, P. "Pristine multi-walled carbon nanotubes/SDS modified carbon paste electrode as an amperometric sensor for epinephrine". *Talanta*, **125** (0): 352, 2014.
132. NASIRIZADEH, N.; SHEKARI, Z.; ZARE, H.R.; REZA SHISHEHBORE, M.; FAKHARI, A.R. & AHMAR, H. "Electrosynthesis of an imidazole derivative and its application as a bifunctional electrocatalyst for simultaneous determination of ascorbic acid, adrenaline, acetaminophen, and tryptophan at a multi-wall carbon nanotubes modified electrode surface". *Biosens. Bioelectron.*, **41** (0): 608, 2013.
133. GALAL, A.; ATTA, N.F. & EL-ADS, E.H. "Probing cysteine self-assembled monolayers over gold nanoparticles – Towards selective electrochemical sensors". *Talanta*, **93** (0): 264, 2012.
134. FERREIRA, M.; DINELLI, L.; AMP; X; S, R.; WOHNATH, K.; BATISTA, A.A. & OLIVEIRA JR, O.N. "Langmuir–Blodgett films from polyaniline/ruthenium complexes as modified electrodes for detection of dopamine". *Thin Solid Films*, **446** (2): 301, 2004.
135. HARLEY, C.C.; ROONEY, A.D. & BRESLIN, C.B. "The selective detection of dopamine at a polypyrrole film doped with sulfonated β -cyclodextrins". *Sens. Actuators, B*, **150** (2): 498, 2010.
136. SHANKAR, S.S.; SWAMY, B.E.K.; MAHANTHESHA, K.R.; SATHISHA, T.V. & VISHWANATH, C.C. "Acetanilide Modified Carbon Paste Electrode for the Electrochemical Detection of Dopamine: A Cyclic Voltammetric Study". *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*, **5** (1): 19 2013.
137. WANG, L.; BAI, J.; HUANG, P.; WANG, H.; ZHANG, L. & ZHAO, Y. "Self-assembly of gold nanoparticles for the voltammetric sensing of epinephrine". *Electrochem. Commun.*, **8** (6): 1035, 2006.
138. AKYILMAZ, E.; TUREMIS, M. & YASA, İ. "Voltammetric determination of epinephrine by White rot fungi (*Phanerochaete chrysosporium* ME446) cells based microbial biosensor". *Biosens. Bioelectron.*, **26** (5): 2590, 2011.
139. TEIXEIRA, M.F.S.; MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; FATIBELLO-FILHO, O.; MORAES, F.C. & NUNES, R.S. "Determination of Analgesics (Dipyron and Acetaminophen) in Pharmaceutical Preparations by Cyclic Voltammetry at a Copper(II) Hexacyanoferrate(III) Modified Carbon Paste Electrode". *Current Analytical Chemistry*, **5** (4): 303, 2009.

140. HUANG, S.-S.; TANG, H. & LI, B.-F. "Electrochemistry of electropolymerized tetra (p-aminophenyl)porphyrin nickel film electrode and catalytic oxidation of acetaminophen". *Microchim. Acta*, **128** (1-2): 37, 1998.
141. BOOPATHI, M.; WON, M.-S. & SHIM, Y.-B. "A sensor for acetaminophen in a blood medium using a Cu(II)-conducting polymer complex modified electrode". *Anal. Chim. Acta*, **512** (2): 191, 2004.
142. LAUBE, N.; MOHR, B. & HESSE, A. "Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines". *J. Cryst. Growth*, **233** (1-2): 367, 2001.
143. PARHAM, H. & ZARGAR, B. "Determination of isosorbide dinitrate in arterial plasma, synthetic serum and pharmaceutical formulations by linear sweep voltammetry on a gold electrode". *Talanta*, **55** (2): 255, 2001.
144. SILVA, T.A.; ZANIN, H.; CORAT, E.J. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous Voltammetric Determination of Paracetamol, Codeine and Caffeine on Diamond-like Carbon Porous Electrodes". *Electroanalysis*, **29** (3): 907, 2017.
145. TEFERA, M.; GETO, A.; TESSEMA, M. & ADMASSIE, S. "Simultaneous determination of caffeine and paracetamol by square wave voltammetry at poly(4-amino-3-hydroxynaphthalene sulfonic acid)-modified glassy carbon electrode". *Food Chemistry*, **210**: 156, 2016.
146. DE HOLANDA, L.F.; RIBEIRO, F.W.P.; SOUSA, C.P.; DA SILVA CASCIANO, P.N.; DE LIMA-NETO, P. & CORREIA, A.N. "Multi-walled carbon nanotubes–cobalt phthalocyanine modified electrode for electroanalytical determination of acetaminophen". *J. Electroanal. Chem.*, **772**: 9, 2016.
147. KALAMBATE, P.K.; SANGHAVI, B.J.; KARNA, S.P. & SRIVASTAVA, A.K. "Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and domperidone based on a graphene/platinum nanoparticles/nafion composite modified glassy carbon electrode". *Sens. Actuators, B*, **213**: 285, 2015.
148. BUI, M.-P.N.; LI, C.A.; HAN, K.N.; PHAM, X.-H. & SEONG, G.H. "Determination of acetaminophen by electrochemical co-deposition of glutamic acid and gold nanoparticles". *Sens. Actuators, B*, **174**: 318, 2012.
149. GARRIDO, J.M.P.J.; DELERUE-MATOS, C.; BORGES, F.; MACEDO, T.R.A. & OLIVEIRA-BRETT, A.M. "Electroanalytical determination of codeine in pharmaceutical preparations". *Anal. Lett.*, **35** (15): 2487, 2002.
150. GARRIDO, J.M.P.J.; DELERUE-MATOS, C.; BORGES, F.; MACEDO, T.R.A. & OLIVEIRA-BRETT, A.M. "Voltammetric Oxidation of Drugs of Abuse II. Codeine and Metabolites". *Electroanalysis*, **16** (17): 1427, 2004.
151. TADESSE, Y.; TADESE, A.; SAINI, R.C. & PAL, R. "Cyclic Voltammetric Investigation of Caffeine at Anthraquinone Modified Carbon Paste Electrode". *International Journal of Electrochemistry*, **2013**: 7, 2013.
152. RICHTER, E.M.; JESUS, D.P.D.; NEVES, C.A.; LAGO, C.L.D. & ANGNES, L. "Aplicações eletroanalíticas com eletrodos de prata confeccionados a partir de CDs graváveis". *Quim. Nova*, **26**: 839, 2003.

153. GANESH, P.S. & SWAMY, B.E.K. "Voltammetric resolution of catechol and hydroquinone at eosin Y film modified carbon paste electrode". *Journal of Molecular Liquids*, **220**: 208, 2016.
154. DU, H.; YE, J.; ZHANG, J.; HUANG, X. & YU, C. "A voltammetric sensor based on graphene-modified electrode for simultaneous determination of catechol and hydroquinone". *J. Electroanal. Chem.*, **650** (2): 209, 2011.
155. DOS SANTOS, W.T.P.; GIMENES, D.T.; RICHTER, E.M. & ANGNES, L. "Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos: Potencialidades e aplicações". *Quim. Nova*, **34** (10): 1753, 2011.
156. SILVA, T.A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Square-wave adsorptive anodic stripping voltammetric determination of ramipril using an electrochemical sensor based on nanostructured carbon black". *Anal. Methods*, **9** (32): 4680, 2017.
157. KRÄMER, S.D.; GAUTIER, J.-C. & SAUDEMONT, P. "Considerations on the Potentiometric Log P Determination". *Pharm. Res.*, **15** (8): 1310, 1998.
158. VALEZI, C.F.; DUARTE, E.H.; MANSANO, G.R.; DALL'ANTONIA, L.H.; TARLEY, C.R.T. & SARTORI, E.R. "An improved method for simultaneous square-wave voltammetric determination of amlodipine and enalapril at multi-walled carbon nanotubes paste electrode based on effect of cationic surfactant". *Sens. Actuators, B*, **205**: 234, 2014.
159. SALAMANCA-NETO, C.A.R.; HATUMURA, P.H.; TARLEY, C.R.T. & SARTORI, E.R. "Electrochemical evaluation and simultaneous determination of binary mixture of antihypertensives hydrochlorothiazide and enalapril in combined dosage forms using carbon nanotubes paste electrode". *Ionics*, **21** (6): 1615, 2015.
160. PAULIUKAITE, R.; GHICA, M.E.; FATIBELLO-FILHO, O. & BRETT, C.M.A. "Electrochemical impedance studies of chitosan-modified electrodes for application in electrochemical sensors and biosensors". *Electrochim. Acta*, **55** (21): 6239, 2010.
161. WANG, Y.; WEI, W.; ZENG, J.; LIU, X. & ZENG, X. "Fabrication of a copper nanoparticle/chitosan/carbon nanotube-modified glassy carbon electrode for electrochemical sensing of hydrogen peroxide and glucose". *Microchim. Acta*, **160** (1): 253, 2008.
162. ZOU, Y.; XIANG, C.; SUN, L.-X. & XU, F. "Glucose biosensor based on electrodeposition of platinum nanoparticles onto carbon nanotubes and immobilizing enzyme with chitosan-SiO₂ sol-gel". *Biosens. Bioelectron.*, **23** (7): 1010, 2008.
163. BARD, A.J. & FAULKNER, L.R., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications* 2001, John Wiley & Sons Inc: New York. p.
164. VICENTINI, F.C.; JANEGITZ, B.C.; BRETT, C.M.A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Tyrosinase biosensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and 1-butyl-3-methylimidazolium chloride within a dihexadecylphosphate film". *Sens. Actuators, B*, **188**: 1101, 2013.

165. TAO, H.; WEI, W.; ZENG, X.; LIU, X.; ZHANG, X. & ZHANG, Y. "Electrocatalytic oxidation and determination of estradiol using an electrode modified with carbon nanotubes and an ionic liquid". *Microchim. Acta*, **166** (1): 53, 2009.
166. WONG, A.; RAZZINO, C.A.; SILVA, T.A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Square-wave voltammetric determination of clindamycin using a glassy carbon electrode modified with graphene oxide and gold nanoparticles within a crosslinked chitosan film". *Sens. Actuators, B*, **231**: 183, 2016.
167. XIAO, F.; ZHAO, F.; LI, J.; YAN, R.; YU, J. & ZENG, B. "Sensitive voltammetric determination of chloramphenicol by using single-wall carbon nanotube–gold nanoparticle–ionic liquid composite film modified glassy carbon electrodes". *Anal. Chim. Acta*, **596** (1): 79, 2007.
168. DENG, H.-H.; LIN, X.-L.; LIU, Y.-H.; LI, K.-L.; ZHUANG, Q.-Q.; PENG, H.-P.; LIU, A.-L.; XIA, X.-H. & CHEN, W. "Chitosan-stabilized platinum nanoparticles as effective oxidase mimics for colorimetric detection of acid phosphatase". *Nanoscale*, **9** (29): 10292, 2017.
169. KASHISH; GUPTA, S.; DUBEY, S.K. & PRAKASH, R. "Genosensor based on a nanostructured, platinum-modified glassy carbon electrode for *Listeria* detection". *Anal. Methods*, **7** (6): 2616, 2015.
170. YOU, T.; NIWA, O.; TOMITA, M. & HIRONO, S. "Characterization of Platinum Nanoparticle-Embedded Carbon Film Electrode and Its Detection of Hydrogen Peroxide". *Anal. Chem.*, **75** (9): 2080, 2003.
171. KATSOUNAROS, I.; SCHNEIDER, W.B.; MEIER, J.C.; BENEDIKT, U.; BIEDERMANN, P.U.; AUER, A.A. & MAYRHOFER, K.J.J. "Hydrogen peroxide electrochemistry on platinum: towards understanding the oxygen reduction reaction mechanism". *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **14** (20): 7384, 2012.
172. BENCK, J.D.; CHEN, Z.; KURITZKY, L.Y.; FORMAN, A.J. & JARAMILLO, T.F. "Amorphous Molybdenum Sulfide Catalysts for Electrochemical Hydrogen Production: Insights into the Origin of their Catalytic Activity". *ACS Catal.*, **2** (9): 1916, 2012.
173. SUGAWARA, Y.; OKAYASU, T.; YADAV, A.P.; NISHIKATA, A. & TSURU, T. "Dissolution mechanism of platinum in sulfuric acid solution". *J. Electrochem. Soc.*, **159** (11): F779, 2012.
174. SU, B.; SHAO, H.; LI, N.; CHEN, X.; CAI, Z. & CHEN, X. "A sensitive bisphenol A voltammetric sensor relying on AuPd nanoparticles/graphene composites modified glassy carbon electrode". *Talanta*, **166**: 126, 2017.
175. LI, J.; KUANG, D.; FENG, Y.; ZHANG, F. & LIU, M. "Voltammetric determination of bisphenol A in food package by a glassy carbon electrode modified with carboxylated multi-walled carbon nanotubes". *Microchim. Acta*, **172** (3): 379, 2011.
176. GOULART, L.A. & MASCARO, L.H. "GC electrode modified with carbon nanotubes and NiO for the simultaneous determination of bisphenol A, hydroquinone and catechol". *Electrochim. Acta*, **196**: 48, 2016.

177. JING, P.; ZHANG, X.; WU, Z.; BAO, L.; XU, Y.; LIANG, C. & CAO, W. "Electrochemical sensing of bisphenol A by graphene-1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate modified electrode". *Talanta*, **141**: 41, 2015.
178. LI, Y.; ZHAI, X.; LIU, X.; WANG, L.; LIU, H. & WANG, H. "Electrochemical determination of bisphenol A at ordered mesoporous carbon modified nano-carbon ionic liquid paste electrode". *Talanta*, **148**: 362, 2016.
179. WANG, Y.; LI, C.; WU, T. & YE, X. "Polymerized ionic liquid functionalized graphene oxide nanosheets as a sensitive platform for bisphenol A sensing". *Carbon*, **129**: 21, 2018.