

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

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE ELETRODOS À
BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO**

ALINE CARLOS DE OLIVEIRA*

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTORA EM QUÍMICA (área QUÍMICA ANALÍTICA).

Orientadoa: Profa. Dra. Lucia Helena Mascaro Sales

* Bolsista CAPES

**SÃO CARLOS – SP
2008**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

O48de

Oliveira, Aline Carlos de.

Desenvolvimento e aplicação de eletrodos à base de nanotubos de carbono / Aline Carlos de Oliveira. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

122 f.

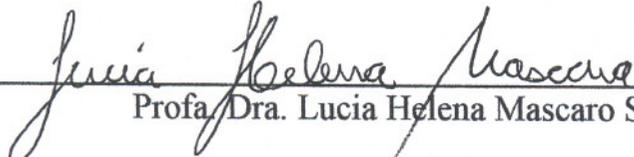
Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

1. Métodos elétricos. 2. Eletrodos. 3. Nanotubos de carbono. I. Título.

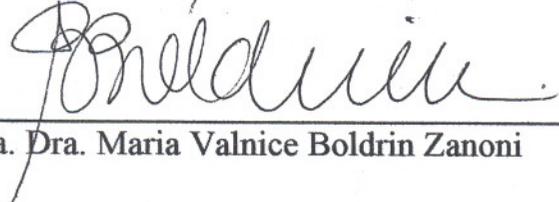
CDD: 543.0871 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Doutorado

Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado da candidata Aline Carlos de Oliveira, realizada em 11 de dezembro de 2008:



Profa. Dra. Lucia Helena Mascaro Sales



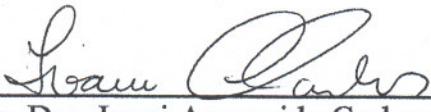
Profa. Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni



Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz



Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota



Profa. Dra. Ivani Aparecida Carlos

DEDICATÓRIA

A meus pais, por todo amor, respeito e confiança.

Aos meus irmãos: Patrícia e Adriano, pela amizade.

A minha cunhada Leandra por todo apoio nos momentos mais difíceis.

Ofereço ao Renato, pelo apoio, compreensão e por estar sempre ao meu lado, antes como um grande amigo e agora como meu namorado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, paz e saúde.

A amiga, professora e orientadora Dra. Lucia Helena Mascaro Sales, pela orientação, paciência e experiência de vida compartilhada durante os últimos quatro anos...

Ao Prof. Dr. Ernesto Chaves Pereira (LIEC-UFSCar) por colocar a disposição o laboratório.

Aos membros da Comissão examinadora pelas sugestões e discussões.

Aos colegas de laboratório, Fernando, Gabriel, Leandro, Emerson, Ettore, Roberta, Cris, Mariana, Janaina, Roberto, Alex, Murilo, Djenaine, Jaca, Adriane, pela amizade, convivência e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade da realização deste trabalho.

Aos demais amigos do Departamento de Química da UFSCar, principalmente a Tati e os colegas do LIEC, pelo apoio e amizade.

Aos meus amigos de Penápolis, Patrícia, Carina e Josiane pelos momentos de alegria e amizade.

A CAPES pela bolsa concedida.

E a todos que de alguma forma me ajudaram, cada um da sua maneira, sempre com a mesma importância, na realização deste trabalho.

Glossário de Símbolos e Abreviaturas

CNTs - Nanotubos de Carbono
MWCNTs - Nanotubos de Carbono Multi-walled
SWCNTs - Nanotubos de Carbono Single-walled
ACNTs- Nanotubos de Carbono Alinhados
CVD - Deposição Química de Vapor
DHP - Dihexadecil Hidrogênio Fosfato
DMF - N,N- dimetilformamida
DCP - Decetil Fosfato
CV - Voltametria Cíclica
DPV - Voltametria de Pulso Diferencial
LSV- Voltametria Linear
GC - Carbono Vítreo
GPU - Compósito Grafite/Poliuretana
TEM - Microscopia Eletrônica de Transmissão
RSD - Desvio Padrão Relativo
GOD - Glicose Oxidase
OPH- Organofosforado Hidrolase
POx - Piranose Oxidase
AchE - Acetilcolinesterase
AcSChI - Iodeto de Acetilticolina
MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura
FEG -
 i_{p_a} - Corrente de Pico Anódica
 r - Coeficiente de Correlação
 S_d - desvio padrão do branco
CA - coeficiente angular da reta
 v - Velocidade de Varredura
A - Amplitude de Pulso

MV - Paraquat

MP - Método Padrão

%I - Porcentagem de Inibição

LD - Limite de Detecção

Sumário

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	1
1.1- Apresentação	1
1.2- Revisão bibliográfica sobre aplicações de eletrodos à base de nanotubos de carbono	5
1.2.2- Eletrodos de pasta de CNTs	7
1.2.2- Eletrodo de carbono vítreo modificado com CNTS	12
1.2.3- Biossensores à base de CNTs	19
1.2.4- Considerações finais	25
1.3- Analitos de interesse	25
1.3.1- Hidroquinona	25
1.3.2- Paraquat	25
1.3.3- Rutina e Quercetina	26
1.3.4- Clorfenvinfos	33
1.4 - Objetivos do presente trabalho	35
CAPÍTULO 2 – PARTE EXPERIMENTAL	36
2.1- Reagentes e Soluções	36
2.1.1- Soluções tampão	36
2.1.2- Solução de ferricianeto de potássio	37

2.1.3- Soluções padrão	37
2.1.4- Preparo das amostras analisadas	38
2.2- Equipamentos	38
2.3- Células e eletrodos	39
2.4- Confeccção dos eletrodos de trabalho	39
2.4.1- Eletrodos de pasta de CNTs/Grafite e de CNTs	40
2.4.2- Eletrodos de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs	41
2.4.3- Eletrodo de pasta de CNTs modificado com micropartículas de cobre	41
2.4.4- Biossensor à base de CNTs e enzima acetilcolinesterase	42
2.5- Estudos voltamétricos	42
2.6- Determinação da área efetiva dos eletrodos	43
2.7- Parâmetros otimizados na construção do biossensor CNTs- AchE	43
2.8- Obtenção das curvas analíticas	43
2.9- Avaliações analíticas dos eletrodos à base de CNTs	44
2.9.1- Determinação de hidroquinona em reveladores fotográficos	44
2.9.2- Determinação de rutina em formulações farmacêuticas	45
2.9.3- Determinação de quercetina em amostra de suco de maçã	45
2.9.4- Efeito de interferentes sobre a determinação de quercetina	46
2.9.5- Determinação de clorfenvinfos em amostra de carrapaticida	46
2.10- Espectroscopia de impedância eletroquímica	46

CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS ELETRODOS À BASE DE CNTs	48
3.1- Eletrodos de pasta de CNTs/Grafite	48
3.1.1- Efeito da composição da pasta de CNTs/Grafite	48
3.1.2- Microscopia eletrônica de varredura	50
3.1.3- Estimativa da área dos eletrodos de pasta CNTs/Grafite	51
3.1.4- Efeito da velocidade de varredura	53
3.2- Eletrodos de filme de CNTs	54
3.2.1- Comportamento voltamétrico	54
3.3- Avaliação das potencialidades analíticas dos eletrodos	56
3.3.1- Desempenho do eletrodo de pasta CNTs/Grafite na determinação de hidroquinona	56
3.3.2- Desempenho do eletrodo de GC/Filme de CNTs na determinação de hidroquinona	61
CAPÍTULO 4 – CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS ELETRODOS DE PASTA DE CNTs	64
4.1- Efeito da composição CNTs-óleo mineral no comportamento voltamétrico	64

4.2- Intervalo de potenciais em diferentes eletrólitos de suporte	66
4.3- Avaliação das potencialidades analíticas do eletrodo de pasta de CNTs	69
4.3.1- Determinação de paraquat	69
4.3.2- Determinação de rutina	73
4.3.3- Determinação de quercetina	79
4.4- Avaliação das potencialidades analíticas do eletrodo de pasta de CNTs modificados	82
4.4.1- Eletrodo modificado com micropartículas de cobre	82
4.4.1.1- Determinação de quercetina em suco de maçã	88
Estudos de interferentes na determinação de quercetina	89
4.4.2- Biossensor à base de CNTs-AchE	92
4.4.2.4- Desempenho do biossensor CNTs-AchE na determinação de clorfenvinfos	99
CAPÍTULO 5 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E MORFOLÓGICA	103
5.1- Microscopia eletrônica de varredura	103
5.2- Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS)	106
CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES	111
CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

Listas de Tabelas

Tabela 2.1 – Proporções em massa de carbono grafite e nanotubos de carbono para a confecção dos eletrodos de trabalho	40
Tabela 2.2 – Proporções em massa de micropartículas de cobre e nanotubos de carbono para a confecção dos eletrodos de trabalho	41
TABELA 3.1 – Valores da área efetiva dos eletrodos de pasta de CNTs/Grafite e do eletrodo de pasta de carbono, determinadas utilizando cronocoulometria	52
TABELA 3.2 – Resultados da determinação de hidroquinona no revelador fotográfico D-76 usando o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) e DPV	60
TABELA 3.3 – Parâmetros otimizados na determinação de hidroquinona	62
TABELA 3.4 – Figuras de mérito referentes à determinação de hidroquinona usando o eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs e eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m)	63
TABELA 4.1 – Resultados da determinação de rutina presente em formulação farmacêutica usando o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em DPV comparado com o método padrão	77
TABELA 4.2 – Figuras de mérito referentes à determinação de quercetina usando o eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) e eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m)	87

TABELA 4.3 – Resultados da determinação de quercetina presente em suco de maçã usando o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) em DPV comparado com espectroscopia de absorção UV-Vísivel	89
TABELA 4.4 – Resultados obtidos para a determinação de quercetina na presença de ácido cítrico usando eletrodo de pasta de CNTs modificados com Cu 6% (Cu, m/m)	91
TABELA 4.5 – Resultados da determinação de clorfenvinfos presente em carrapaticida usando biossensor CNTs-AchE em cronoamperometria comparado com espectroscopia de absorção UV-Vísivel	102
TABELA 5.1- Valores dos elementos de circuito para os eletrodos à base de CNTs	110

Listas de Figuras

FIGURA 1.1 – Nanotubos (a) Multi-Walled (MWNT) e (b) Single-Walled (SWNT)	1
FIGURA 1.2 – Diagrama de formação de nanotubos de carbono a partir de uma folha de grafite	2
FIGURA 1.3 – Geometrias de CNTs perfeitos: (a) <i>armchair</i> , (b) <i>zig-zag</i> , (c) <i>chiral</i>	3
FIGURA 1.4 – Fórmula estrutural da hidroquinona	25
FIGURA 1.5 – Fórmula estrutural do paraquat	26
FIGURA 1.6 – Fórmula estrutural da rutina	26
FIGURA 1.7 – Mecanismo de oxidação da rutina	27
FIGURA 1.8 – Fórmula estrutural da quercetina	29
FIGURA 1.9 – Mecanismo de oxidação da quercetina	30
FIGURA 1.10 – Fórmula estrutural do clorfenvinfos	33
FIGURA 2.1 – Representação esquemática da célula voltamétrica	39
FIGURA 2.2 – Representação esquemática do eletrodo de pasta de CNTs	40

- FIGURA 3.1- Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos de pasta de CNTs/Grafite em diferentes proporções, usando uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]=5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $KCl 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ 49
- FIGURA 3.2 – Micrografias dos eletrodos (a) 10%, (b) 90%, (c) 50% e (d) pasta de carbono. Aumento 1000x 50
- FIGURA 3.3 - Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s^{-1} e utilizando eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em $KCl 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Inserção $t - I_{pa}$ vs. $v^{1/2}$ 53
- FIGURA 3.4 - Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura entre 2 e 100 mV s^{-1} e utilizando eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em $KCl 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 54
- FIGURA 3.5 - Voltamogramas cíclicos obtidos em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $K_3[Fe(CN)_6]$ em $KCl 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para os eletrodos de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ 55
- FIGURA 3.6 – Voltamograma cíclicos obtidos com eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m), em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4,0 e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ 56
- FIGURA 3.7 – Efeito da amplitude de pulso na resposta do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m), em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4,0 utilizando voltametria de pulso diferencial. $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ 57

FIGURA 3.8 – Efeito da velocidade de varredura em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4,0 utilizando voltametria de pulso diferencial, com $A=100 \text{ mV}$ no eletrodo de pasta de CNTs/grafite 90% (CNTs, m/m) 58

FIGURA 3.9 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) tampão acetato pH 4,0, contendo diferentes concentrações de hidroquinona 59

FIGURA 3.10 – Curva de adição de padrão para a amostra de revelador fotográfico D-76 Kodak usando o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com v de 20 mV s^{-1} e A de 100 mV 60

FIGURA 3.11 – Voltamograma cíclico obtido com eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4,0 61

FIGURA 3.12 – Curva analítica obtida para o eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs, com v de 10 mV s^{-1} e A de 50 mV 62

FIGURA 4.1- Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodo de pasta de CNTs em diferentes proporções, usando uma solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]=5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 65

FIGURA 4.2 - Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s^{-1} e utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 66

FIGURA 4.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em: (a) solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 0,71); (b) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); (c) tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0); (d) tampão amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 10,0) e (e) NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 13,0), $v = 25 \text{ mVs}^{-1}$ 67

FIGURA 4.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em: (a) solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 0,71); (b) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) 68

FIGURA 4.5 – Voltamograma cíclico obtido com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), em solução de paraquat $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de sulfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ 70

FIGURA 4.6 – Voltamogramas de pulso diferencial, em diferentes amplitudes, para o eletrodo de pasta de CNTs em solução de paraquat $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a v de 10 mV s^{-1} 71

FIGURA 4.7 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução de sulfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo diferentes concentrações de paraquat. $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$ 72

FIGURA 4.8 – Voltamograma cíclico obtidos com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), em solução de rutina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. 73

FIGURA 4.9 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) e eletrodo de pasta de carbono, em solução de rutina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1, $A = 100 \text{ mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$. 74

- FIGURA 4.10 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes pHs para o eletrodo de pasta de CNTs em solução de rutina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato, A de 100 mV e v de 10 mVs^{-1} 75
- FIGURA 4.11 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução de tampão fosfato pH 7,1, contendo diferentes concentrações de rutina, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$ 76
- FIGURA 4.12 – Curva de adição de padrão para amostra de formulação farmacêutica usando o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com v de 10 mV s^{-1} e A de 100 mV 77
- FIGURA 4.13 – Voltamograma de pulso diferencial obtido com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), em solução de quercetina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1, $A = 100 \text{ mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ 79
- FIGURA 4.14 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução de tampão fosfato pH 7,1, contendo diferentes concentrações de quercetina. $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$ 81
- FIGURA 4.15 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com os eletrodos de pasta de CNTs modificados com micropartículas de cobre nas proporções de 6 (A), 10 (B) e 18% (C) utilizando solução tampão fosfato pH 7,1 e quercetina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a v de 10 mV s^{-1} e A de 100 mV 83
- FIGURA 4.16 – Voltamogramas de pulso diferencial, em diferentes amplitudes de pulso, para o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m), em solução de quercetina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 a 10 mV s^{-1} 84

FIGURA 4.17 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com os eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) a 10 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 100 mV e eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) a v de 5 mV s^{-1} e A de 10 mV utilizando solução de quercetina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 85

FIGURA 4.18 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (m/m) em solução tampão fosfato pH 7,1, contendo diferentes concentrações de quercetina, com $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 10 \text{ mV}$ 87

FIGURA 4.19 – Curva de adição de padrão para amostra de suco de maçã usando o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com v de 5 mV s^{-1} e A de 10 mV 88

FIGURA 4.20 – Curva de recuperação para solução de quercetina $1,956 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 na presença de ácido cítrico usando o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com v de 5 mV s^{-1} e A de 10 mV 90

FIGURA 4.21 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos com os eletrodos de pasta de CNTs 60% (m/m) em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 após a adição 2,0 U de acetilcolinesterase para os tempos de reação 0, 20, 52 e 76 minutos. A de 50 mV, incremento de 2 mV e frequência de 50 s^{-1} 93

FIGURA 4.22 - Voltamograma de onda quadrada obtido com o eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1. A de 50 mV, incremento de 2 mV e frequência de 50 s^{-1} 94

- FIGURA 4.23 – Variação de potencial aplicado para solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1, utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) 95
- FIGURA 4.24 – Efeito do tempo de reação para oxidação de tiocolina em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1 contendo 2,0 U de acetilcolinesterase, utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m). Potencial aplicado: 250 mV 96
- FIGURA 4.25 – Efeito do potencial aplicado sobre a oxidação de tiocolina em tampão fosfato pH 7,1, utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) 97
- FIGURA 4.26 – Efeito da concentração do substrato sobre a corrente limite de difusão para a oxidação de tiocolina em tampão fosfato pH 7,1, utilizando o biossensor CNTs-AchE. Potencial aplicado: 300 mV 98
- FIGURA 4.27 – Efeito do tempo de incubação sobre a inibição enzimática causada pelo carrapaticida clorfenvinfos ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹), utilizando o biossensor CNTs-AchE. Potencial aplicado: 300 mV 100
- FIGURA 4.28 – Curva analítica obtida para o biossensor CNTs-AchE em solução AcSChI $3,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1, para soluções contendo diferentes concentrações de clorfenvinfos. Potencial aplicado: 300 mV 101
- FIGURA 4.29 – Curva de adição de padrão para amostra de carrapaticida usando o biossensor CNTs-AchE em cronoamperometria. Potencial aplicado: 300 mV 102

FIGURA 5.1 – Micrografias dos CNTs de paredes múltiplas empregados no preparo dos eletrodos	103
FIGURA 5.2 – Micrografias do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m)	104
FIGURA 5.3 – Micrografias do eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m)	105
FIGURA 5.4 – Micrografias do biossensor CNTs-AchE.	105
FIGURA 5.5- Espectros de Nyquist obtidos para os eletrodos de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), pasta de CNTs-Cu 6% (cu, m/m) e biossensor CNTs-AchE. Potencial de circuito aberto em solução 5,0 mmol L ⁻¹ de K ₃ [Fe(CN) ₆] em KCl 0,5 mol L ⁻¹	107
FIGURA 5.5- Circuito equivalente análogo aos processos interfaciais eletrodo-solução	108

Resumo

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE ELETRODOS À BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO Os eletrodos de CNTs foram preparados na forma de pasta de CNTs/Grafite e filme sobre eletrodo de carbono vítreo. Estes eletrodos foram caracterizados eletroquimicamente por meio de sua resposta em ferricianeto de potássio e hidroquinona. Considerando os resultados obtidos, o eletrodo na forma de pasta foi selecionado para aplicações analíticas. Neste trabalho também foi confeccionado eletrodo de pasta de CNTs puro, ou seja, sem a adição de grafite. Para a avaliação das potencialidades analíticas do eletrodo de pasta de CNTs, foram realizados estudos de quantificação de paraquat, rutina e quercetina, utilizando-se voltametria de pulso diferencial. Em relação à quantificação de paraquat foi obtida uma curva analítica, com limite de detecção de $2,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Avaliando-se o desempenho do eletrodo quanto à quantificação de rutina foi obtida uma curva analítica com limite de detecção de $3,39 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. O teor de rutina foi determinado em formulações farmacêuticas com variação inferior a 5%. Para a quantificação de quercetina foi obtida uma curva analítica com limite de detecção de $5,43 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Modificadores químicos, como micropartículas de cobre e a enzima acetilcolinesterase, foram imobilizados na matriz do eletrodo de pasta de CNTs. O eletrodo de pasta de CNTs modificado com micropartículas de cobre (CNTs-Cu) foi utilizado para a determinação de quercetina e os resultados indicaram a formação de complexo quercetina-Cu (II) sobre a superfície do eletrodo. Nesse caso a curva analítica para o sistema apresentou um limite de detecção de $2,36 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. A determinação de quercetina em amostra de suco de maçã industrializado foi efetuada observando-se recuperação entre 98,8 e 102,9%. O biossensor CNTs-AchE foi otimizado em relação ao potencial de trabalho, concentração de substrato iodeto de acetiltiocolina e tempo de incubação e foi obtida uma curva analítica para o carrapaticida clorfenvinfos com limite de detecção de $1,15 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Ainda com relação ao clorfenvinfos, foi possível a sua determinação em amostra de carrapaticida, com variação inferior a 2,5%.

Abstract

DEVELOPMENT AND APPLICATION OF ELECTRODE BASE ON CARBON NANOTUBES The electrodes based on carbon nanotubes (CNTs) were prepared in the form of paste of CNTs/Graphite and film on glassy carbon electrode. These electrodes were electrochemically characterized by their response in potassium ferricyanide and hydroquinone. Considering the obtained results, the electrode in the form of paste was selected for analytical applications. In this work, the paste electrode was also prepared of pure CNTs, ie, without adding of graphite. For the evaluation of analytical capabilities of the CNTs paste electrode, studies were performed about quantification of paraquat, rutin and quercetin, using differential pulse voltammetry. Regarding the quantification of paraquat, an analytical curve was obtained, with a detection limit of $2.8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. The performance of the carbon nanotubes paste electrode in the determination of rutin, an analytical curve was obtained, with a detection limit of $3.39 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. The content of rutin was determined in pharmaceutical formulations with relative error lower to 5%. For the quantification of quercetin, an analytical curve was obtained with a detection limit of $5.43 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Chemical modifiers, such as copper microparticles and acetylcholinesterase enzyme, were incorporated in the CNTs paste electrode. The CNTs paste electrode modified with copper microparticles (Cu-CNTs) was used for quercetin determination and the results indicated the formation of quercetin-Cu (II) complex on the electrode surface. The analytical curve obtained for this system presented a detection limit of $2.36 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. The determination of quercetin in a sample of industrialized apple juice was carried out observing the recovery between 98.8 and 102.9%. The biosensor CNTs-AchE was optimized with respect to the work potential, concentration of acetylthiocholine iodide substrate and the incubation time and analytical curve was obtained for chlorfenvinphos with a detection limit of $1.15 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Even with respect to chlorfenvinphos, its determination was possible in samples containing the pesticide, with relative error lower to 2.5%.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1- Apresentação

A descoberta de nanotubos com propriedades mecânicas, térmicas e elétricas únicas tem motivado a pesquisa para o desenvolvimento de uma nova geração de materiais nanocompósitos¹. Dentre estes materiais, pode-se destacar, os nanotubos de carbono (CNTs)² devido as suas propriedades e potenciais aplicações. Os CNTs são formados de arranjos hexagonais de carbono que originam pequenos cilindros, com as extremidades fechadas por um tipo de “abóbada” de grafite e usualmente têm faixa de diâmetro de poucos angstroms a dezenas de nanômetros³.

Dois tipos de CNTs podem ser distinguidos de acordo com as suas propriedades estruturais: os de paredes múltiplas – onde várias folhas de grafeno se enrolam de forma concêntrica para formar os nanotubos de carbono, conhecidos como MWCNTs, do inglês multi-walled nanotubes, Figura 1.1a – e os de parede simples – pelo enrolamento de uma única folha, conhecidos como SWCNTs, single-walled nanotubes, Figura 1.1b³.

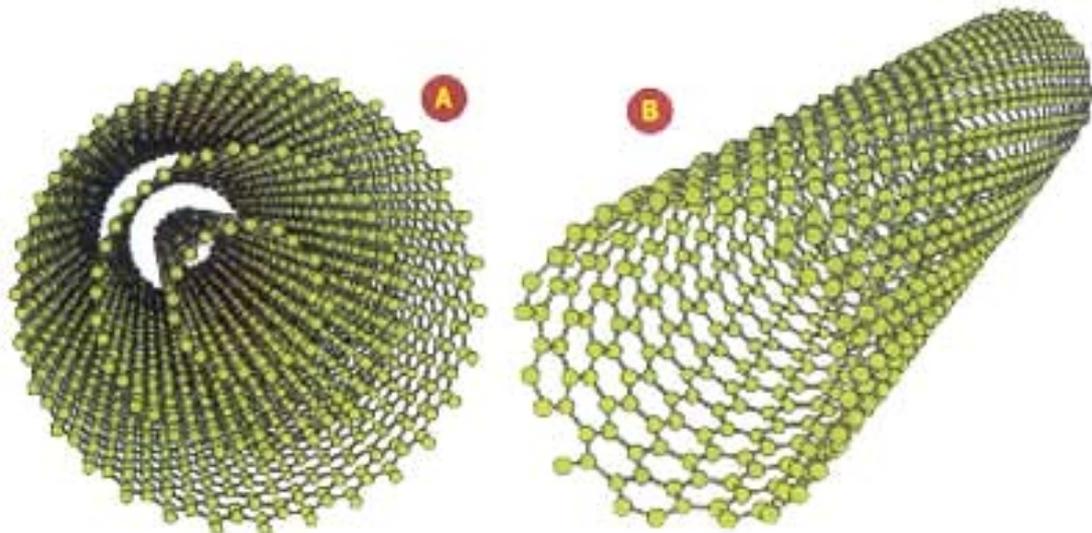


FIGURA 1.1 – Nanotubos (a) Multi-Walled (MWNT) e (b) Single-Walled (SWNT)⁴.

Um CNT pode ser construído a partir de uma folha de grafite enrolada de tal forma que coincidam dois sítios cristalograficamente equivalentes de sua rede hexagonal, Figura 1.2.

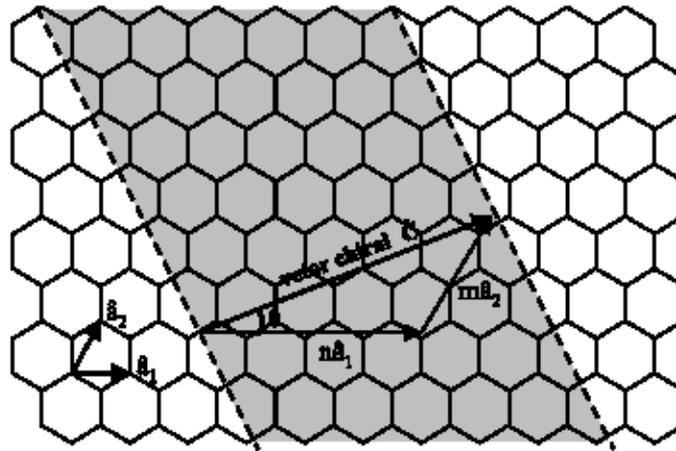


FIGURA 1.2 – Diagrama de formação de nanotubos de carbono a partir de uma folha de grafite⁴.

A maioria das propriedades dos CNTs depende do seu diâmetro e ângulo chiral, também chamado de ângulo de helicidade, ϕ . Estes dois parâmetros resultam dos chamados índices de Hamada (n,m) ⁵.

A condução eletrônica dos CNTs ocorre porque os elétrons podem propagar-se livremente, como em um metal. Isto contrasta fortemente com os polímeros condutores que apresentam condução de elétrons localizada quando dopados. Por outro lado, a condução do grafite é devido a um dos quatro elétrons deslocalizado da camada de valência e pode, conseqüentemente, ser compartilhado com demais átomo de carbono⁶. Em função dos índices de Hamada (n,m) , um nanotubo é metálico quando $n-m$ é múltiplo de 3, em caso contrário é semiconductor. Todos os CNTs do tipo *armchair* são metálicos ($n = m$), enquanto que os *zig-zag* ($n, m = 0$) e *chiral* ($n \neq m \neq 0$) podem ser metálicos ou semicondutores. As três variedades de CNT são ilustrados na FIGURA 1.3.

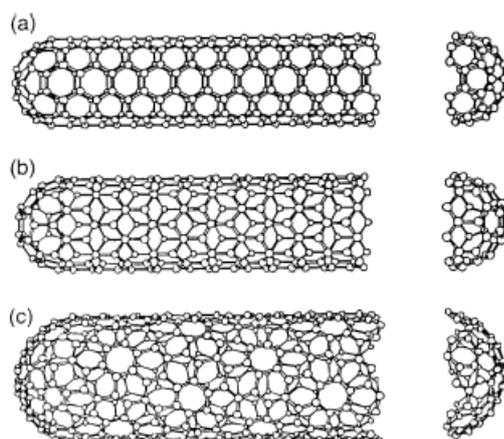


FIGURA 1.3 – Geometrias de CNTs perfeitos: (a) *armchair*, (b) *zig-zag*, (c) *chiral*⁴.

Os CNTs têm sido utilizados para uma infinidade de aplicações: fontes de elétrons para displays de tela plana, pontas (tips) para microscópio de sonda, estocagem de gás, suporte para catalisadores, sensores, capacitores de alta potencia, resistores quânticos, condutores balísticos, etc. e estão sendo cotados para próxima geração de dispositivos de eletrônica molecular⁷.

A maioria dessas aplicações de CNTs demandam nanotubos com uniformidade de diâmetro e de quiralidade e ainda, às vezes requerem grandes quantidades, boa qualidade (ausência de defeitos estruturais) e principalmente alta pureza dos nanotubos. Portanto, uma completa caracterização da estrutura dos nanotubos é essencial para entendermos as propriedades medidas.

Os métodos de preparação mais utilizados na obtenção de CNTs são: descarga por arco, ablação por laser e deposição química de vapor (CVD). Quando uma mistura de carbono e metais de transição (< 5%), normalmente Fe, Co, Ni, Y ou uma combinação deles são colocadas como ânodo e submetidas à descarga por arco, nanotubos de parede única foram obtidos⁸⁻¹⁰. Acredita-se que as partículas metálicas atuem como catalisadores.

No método de ablação por laser são produzidos tantos nanotubos de parede única como de paredes múltiplas. Os SWCNTs são produzidos quando grafite puro é submetido à ablação¹¹. Os SWCNTs são produzidos quando uma pequena quantidade de metal de transição é misturada ao grafite¹². Assim, novamente, o metal apresenta um papel fundamental para a obtenção de SWCNTs. Os CNTs produzidos por ablação por laser são mais puros do que

aqueles produzidos por descarga por arco (70-90% de pureza)¹³. As impurezas encontradas são partículas de grafite, carbono amorfo, fulerenos e partículas metálicas, levando a necessidade de uma etapa de purificação.

Assim, as propriedades eletrônicas, químicas e mecânicas dos CNTs o tornam um interessante grupo de nanomateriais, apontando para diversas aplicações no futuro^{14,15}. Entre as diversas aplicações dos CNTs encontram-se muitas na área de eletroquímica como na obtenção de sensores¹⁵, de compósitos condutores e como material para armazenamento de hidrogênio¹⁶.

1.2- Revisão Bibliográfica sobre Aplicações de Eletrodos à Base de Nanotubos de Carbono

Diferentes materiais podem ser utilizados na confecção de eletrodos à base de CNTs, sendo exemplos os eletrodos de ouro, de platina, de grafite pirolítico, de carbono vítreo, de fibras de carbono, além dos materiais compósitos, utilizando diversos solventes orgânicos e polímeros como aglutinantes. Devido a estas várias combinações a literatura apresenta diversas aplicações de eletrodos à base de nanotubos de carbono como material eletródico. Entretanto, nesta revisão, procurou-se destacar algumas aplicações eletroanalíticas, as quais têm maior relação com a proposta deste trabalho.

Wu e Hu¹⁷ desenvolveram um filme compósito de ouro coloidal-nanotubos de carbono sobre um eletrodo de ouro. O sistema eletródico foi preparado pela combinação de ouro coloidal (Au_{nano}) com CNTs e este compósito foi utilizado na modificação de um eletrodo de ouro. Dihexadecil hidrogênio fosfato (DHP) em solução aquosa de ouro coloidal foi usado para dispersar os CNTs. O filme do compósito Au_{nano} /CNTs/DHP sobre a superfície do eletrodo de ouro foi caracterizado por espectroscopia de impedância eletroquímica e voltametria cíclica em solução de $Fe(CN)_6^{3-}$. Este eletrodo foi aplicado na determinação de citocromo c. Foi construída uma curva analítica para citocromo c com região linear entre $1,5$ e 45×10^{-6} mol L^{-1} , com desvio padrão relativo de 2,6% para 20×10^{-6} mol L^{-1} de citocromo c, mostrando excelente reprodutibilidade.

He *et al.*¹⁸ utilizaram um sensor eletroquímico à base de nanotubos de carbono multi-walled (MWCNTs) para a determinação de monóxido de carbono (CO). O eletrodo foi preparado pelo preenchimento de uma microcavidade contida em um microeletrodo de disco de platina (Pt) com MWCNTs previamente tratados. O comportamento eletroquímico do eletrodo de disco de platina modificado com MWCNTs foi estudado e comparado ao eletrodo de Pt utilizando voltametria cíclica em solução de $HClO_4$ $0,5$ mol L^{-1} contendo CO e os resultados mostraram que os MWCNTs possuem excelente atividade eletrocatalítica sobre a oxidação de CO, que foi atribuída a imensa área efetiva dos eletrodos obtidos. O efeito da velocidade de varredura e do eletrólito

suporte sobre a resposta voltamétrica do eletrodo MWCNTME foi estudado pelos autores. A curva de corrente-tempo obtida variando-se a concentração de CO e mantendo-se constante o potencial aplicado sugeriu que a resposta de corrente varia linearmente com a concentração de CO. Uma curva analítica foi obtida para o sistema na faixa de concentração de 0,72 a 52 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com limite de detecção de 0,60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e erro relativo de 4,8%.

Utilizando um eletrodo de ouro modificado com uma bicamada de nanotubos de carbono multi-walled e (3-mercaptopropil)trimetoxisilano (MPS) Zeng e Huang¹⁹ estudaram o comportamento eletroquímico de flufenazina e a sua determinação em amostras de medicamentos. O sistema eletródico (MWCNTs/MPS/Au) foi preparado pela imersão do eletrodo de ouro em uma solução de MPS por 12 h, obtendo-se um eletrodo de ouro modificado com uma monocamada de MPS (MPS/Au). Após esta etapa o eletrodo MPS/Au foi recoberto com 5 μL de suspensão de MWCNTs e N,N-dimetilformamida (DMF) 1 mg mL^{-1} . O comportamento voltamétrico do eletrodo MWCNTs/MPS/Au foi investigado por voltametria cíclica em solução de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e em solução de flufenazina e as respostas obtidas foram comparadas as obtidas com eletrodo de ouro e com eletrodo MPS/Au. Os autores também estudaram o efeito do pH, da velocidade de varredura, da solução tampão, do tempo e potencial de acumulação, da quantidade de MWCNTs e de interferentes na resposta eletroquímica. Alguns parâmetros analíticos também foram avaliados, como a regeneração e a reprodutibilidade do eletrodo MWCNTs/MPS/Au e a construção de uma curva analítica. A faixa linear para a curva analítica foi de $5,0 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , com limite de detecção de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} . Foram realizadas curvas de adição e recuperação para a determinação de flufenazina em amostras de medicamentos e obteve-se coeficiente de recuperação entre 96,4 e 104,4%.

Wang *et al.*²⁰ relataram o uso de eletrodos de MWCNT-intercalados com grafite (MWCNT-IE) para a determinação seletiva de dopamina e serotonina na presença de ácido ascórbico por voltametria de pulso diferencial (DPV). Os autores caracterizaram os eletrodos utilizando microscopia eletrônica de varredura. O comportamento voltamétrico do eletrodo MWCNT-IE foi investigado por meio de voltamogramas cíclicos de solução contendo

dopamina, serotonina e ácido ascórbico e as respostas obtidas foram comparadas as obtidas com eletrodo de grafite. A influência do pH sobre a resposta voltamétrica do eletrodo em soluções contendo dopamina, serotonina e ácido ascórbico também foi investigado. Curvas analíticas foram obtidas para o dopamina na presença de serotonina e ácido ascórbico, com faixa de concentração de 0,5 a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e para serotonina na presença de dopamina, e ácido ascórbico, com faixa de concentração de 1 a 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Para a determinação simultânea de dopamina, serotonina na presença de ácido ascórbico foi empregada DPV e os resultados mostraram que o ácido ascórbico não interfere na determinação. Também foram realizadas curvas de adição e recuperação para amostras de dopamina, serotonina e ácido ascórbico e obteve-se um coeficiente de recuperação entre 98 e 100%.

1.2.2- Eletrodos de Pasta de CNTs

O emprego de outras formas de eletrodos à base de nanotubos de carbono para aplicações em eletroanalítica também vem atraindo a atenção de inúmeros grupos de pesquisas. Dentre os materiais eletródicos à base de nanotubos de carbono, podem-se destacar os eletrodos de pasta de CNTs, em que um líquido orgânico não eletroativo é utilizado como aglutinante. A descrição mais detalhada do emprego de eletrodos de pasta de CNTs se deve a este tipo de eletrodo ter sido empregado neste trabalho.

Lawrence *et al.*²¹ empregaram um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono para a determinação de homocisteína. O eletrodo foi preparado pela mistura de CNTs previamente purificados e óleo mineral. O comportamento eletroquímico do eletrodo foi estudado e comparado ao do eletrodo de pasta de carbono, utilizando voltametria cíclica, e os resultados mostraram que ocorre um decréscimo de 120 mV no potencial de oxidação da homocisteína quando comparado ao eletrodo de pasta de carbono tradicional. Algumas características do eletrodo foram testadas, como a reprodutibilidade e a estabilidade de resposta, além de descreverem o efeito da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica do eletrodo. O eletrodo também foi

testado como detector cronoamperométrico de homocisteína em tampão fosfato pH 7,4. Uma curva analítica foi obtida para o sistema com limite de detecção de $6,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Luque *et al.*²² utilizaram um sensor eletroquímico à base de CNTs e micropartículas de cobre para a determinação de aminoácidos e albumina. O sensor foi preparado pela mistura de CNTs, óleo mineral e micropartículas de cobre, sendo que o efeito da composição de cobre foi estudado pelos autores. Aminoácidos como L-histidina não são eletroativos, mas os autores obtiveram resposta utilizando o sensor proposto, evidenciando a formação de um complexo de Cu (II) e L-histidina, produzido quando um potencial é aplicado. Voltamogramas hidrodinâmicos foram utilizados para selecionar o potencial de trabalho para futuras determinações amperométricas. Os autores também construíram curvas analíticas para alguns aminoácidos que apresentaram limites de detecção na ordem de 10^{-6} ou 10^{-5} mol L⁻¹. A determinação de albumina foi realizada utilizando voltametria de onda quadrada com redissolução. A curva analítica obtida para albumina apresenta região linear entre 5,0 e 25,0 mg mL⁻¹ e limite de detecção de 5,0 mg L⁻¹.

Pedano e Rivas²³ utilizaram eletrodo de pasta de CNTs para a determinação de ácidos nucleicos. O eletrodo de pasta de CNTs foi preparado pela mistura de CNTs e óleo mineral na proporção 6/4 (m/m) e os resultados obtidos com este eletrodo foram comparados aos obtidos com eletrodo de pasta de carbono. Os comportamentos voltamétrico e cronopotenciométrico dos ácidos nucleicos sobre o eletrodo de pasta de CNTs foram estudados. O efeito do pré-tratamento eletroquímico no procedimento potenciodinâmico foi estudado, e os resultados mostraram que as bases guanina e adenina adsorvem sobre o eletrodo de pasta de CNTs. O efeito do potencial e tempo de adsorção também foi estudado pelos autores. Cronopotenciometria foi empregada para a determinação de oligo x e dsDNA. Curvas analíticas foram construídas pra oligo x e dsDNA com regiões lineares entre 0 e 1,0 mg L⁻¹ e 0 e 15 mg L⁻¹, respectivamente.

Zhao *et al.*²⁴ desenvolveram um eletrodo de nanotubos de carbono alinhados (ACNTs) modificado com tionina para a determinação de nitrito. A oxidação eletrocatalítica de nitrito sobre o eletrodo tionina/ACNTs foi estudada pelos autores e os resultados mostraram que a tionina apresenta efeito de pré-

concentração sobre nitrito. Os autores também estudaram o efeito da quantidade de tionina como modificador, o efeito do pH e o efeito de interferentes sobre a resposta voltamétrica do eletrodo. Algumas características do eletrodo tionina/ACNTs foram testadas, como a reprodutibilidade e a estabilidade de resposta, além de construírem uma curva analítica na faixa linear de $3,0 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $1,12 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, utilizando DPV. A determinação de nitrito em amostras reais foi realizada utilizando o método proposto e os resultados apresentaram coeficientes de recuperação entre 95,2 e 102,2%.

Ly²⁵ empregou um eletrodo de pasta de CNTs modificado com DNA para a determinação de dopamina em formulações farmacêuticas. O eletrodo foi preparado pela mistura de CNTs previamente purificados, DNA e óleo mineral na proporção de 4:4:2 em massa. O comportamento eletroquímico do eletrodo de pasta de CNTs modificado com DNA foi estudado em voltametria cíclica em solução dopamina em diferentes concentrações. O autor também estudou alguns fatores experimentais como pH do eletrólito suporte, potencial e tempo de acumulação. Uma curva analítica foi obtida para o sistema com região linear entre 0,01-0,11 µg L⁻¹ e limite de detecção de 4,0 ng L⁻¹. Os resultados obtidos para a determinação de dopamina em formulações farmacêuticas apresentam coeficiente de recuperação em torno de 99%.

Zheng e Junfeng²⁶ investigaram o comportamento voltamétrico de urapidil utilizando um eletrodo de pasta de CNTs. O eletrodo foi preparado pela mistura de MWCNTs e parafina na razão de 60% em massa de MWCNTs. O comportamento eletroquímico do eletrodo de pasta de CNTs foi estudado e comparado ao do eletrodo de pasta de carbono por voltametria cíclica em solução de urapidil em tampão Britton-Robinson pH 6,8, e os resultados mostraram que o eletrodo de pasta de CNTs apresenta atividade electrocatalítica sobre a oxidação de urapidil. Alguns fatores experimentais foram investigados para a determinação de urapidil utilizando DPV, como o efeito do pH e efeito do tempo e potencial de acumulação. Uma curva analítica foi obtida para urapiril na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-8}$ a $2,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $3,8 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Os autores também estudaram o efeito de alguns interferentes sobre a seletividade do método proposto. Os

resultados obtidos para a determinação de urapidil em formulações farmacêuticas apresentam coeficiente de recuperação entre 98 e 102%.

Utilizando um eletrodo de pasta de CNTs modificado com 2,2'-[1,2-etanediilbis (nitriloetilidino)]-bis-hidroquinona (EBNBH) Beitollahi *et al.*²⁷ determinaram simultaneamente epinefrina, ácido úrico e ácido fólico em soro de sangue humano. O comportamento eletroquímico de eletrodo foi estudado em tampão fosfato utilizando voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura. Os resultados dos voltamogramas cíclicos mostraram perda de atividade eletrocatalítica do EBNBH, indicando necessidade de regeneração da superfície do eletrodo. Os autores também estudaram a oxidação eletrocatalítica de epinefrina sobre o eletrodo proposto. A determinação simultânea de epinefrina, ácido úrico e ácido fólico foi realizada utilizando DPV. Curvas analíticas foram obtidas para epinefrina, ácido úrico e ácido fólico nas faixas de concentração de 0,7 a $1200 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, de 25 a $750 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e de 15 a $800 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente. O limite de detecção para epinefrina foi de $0,216 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, de $8,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para ácido úrico e de $11 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para ácido fólico. Os resultados obtidos para a determinação simultânea de epinefrina, ácido úrico e ácido fólico em soro de sangue humano apresentam coeficientes de recuperação entre 95,2 e 102,4% e desvio padrão relativo entre 2,2 e 4,3%.

Os eletrodos de pasta de carbono modificados com CNTs ganharam cada vez mais popularidade no campo de eletroanalítica sendo de interesse analítico investigar o uso desses eletrodos em determinações de compostos orgânicos.

Utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com filme de CNTs Zhuang *et al.*²⁸ estudaram as propriedades eletrocatalíticas de bernegina e determinaram-no em formulações farmacêuticas. O sistema eletródico foi preparado recobrando o eletrodo de pasta de carbono com 10 μL de suspensão de CNTs e DMF 0,1 mg mL^{-1} . O comportamento eletroquímico do eletrodo de pasta de carbono modificado com CNTs foi estudado e comparado ao do eletrodo de pasta de carbono utilizando voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial em solução bernegina e os resultados mostraram que ocorre um decréscimo de 135 mV no potencial de oxidação da bernegina quando comparado ao eletrodo de pasta de carbono tradicional. Os autores também

estudaram o efeito do pH e da velocidade de varredura na resposta eletroquímica, além de descreverem o efeito de interferentes orgânicos no comportamento eletroquímico de bernequina. Uma curva analítica foi obtida para bernequina na faixa de concentração de $6,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $7,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Para a determinação de bernequina em formulações farmacêuticas foi utilizado o método de adição de padrão e os resultados apresentaram coeficientes de recuperação entre 99,8 e 100,2%.

Li *et al.*²⁹ relataram o uso de eletrodo de pasta de CNTs/grafite para a determinação de cisapride por voltametria de redissolução de pulso diferencial. O comportamento voltamérico do eletrodo foi investigado por meio de voltamogramas cíclicos em solução contendo cisapride e as respostas obtidas foram comparadas as obtidas com eletrodo de pasta de carbono. Os resultados mostraram que a oxidação de cisapride é controlada por um processo irreversível de adsorção. A influência do pH sobre a resposta voltamétrica do eletrodo em soluções de cisapride também foi investigado. Uma curva analítica foi obtida para cisapride com faixa de concentração de $4,0 \times 10^{-8}$ a $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Estudos de interferentes foram realizados pelos autores e os resultados mostraram que não ocorre perda de seletividade do método. Os resultados obtidos para a determinação de cisapride em formulações farmacêuticas apresentam coeficiente de recuperação entre 94 e 104%, com desvio padrão menor que 3,6%.

Dong *et al.*³⁰ utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificados com CNTs e Cu₂O para a determinação de aminoácidos. O sensor foi preparado pela mistura de CNTs, parafina, grafite e Cu₂O, sendo que o efeito da composição de Cu₂O foi estudado pelos autores. O efeito do pH sobre o potencial e corrente de oxidação de 19 aminoácidos foi avaliado. Voltamogramas hidrodinâmicos foram utilizados para selecionar o potencial de trabalho para futuras determinações utilizando o eletrodo com detector em eletroforese capilar. Os autores também construíram curvas analíticas para alguns aminoácidos que apresentaram limites de detecção na ordem de 10^{-7} a 10^{-8} mol L⁻¹.

1.2.2- Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com CNTS

Os eletrodos de carbono vítreo (GC) modificados com CNTs são cada vez mais empregados no campo de eletroanalítica sendo de interesse investigar o uso desses eletrodos em determinações analíticas. A seguir será apresentada uma breve revisão sobre o uso deste tipo de eletrodo, o qual tem maior relação com a proposta deste trabalho.

Wu *et al.*³¹ empregaram um eletrodo GC revestido com filme de MWCNTs na determinação simultânea de dopamina e serotonina. O sistema eletródico foi preparado recobrando o GC com 5 μL de suspensão de MWCNTs e dihexadecil hidrogênio fosfato (DHP) 1 mg mL^{-1} . As respostas eletroquímicas características desse eletrodo foram examinadas e comparadas às do eletrodo GC e do eletrodo GC recoberto com DHP em soluções de dopamina e serotonina em tampão fosfato pH 7,0. Os autores também estudaram o efeito do pH e da velocidade de varredura na resposta eletroquímica, além de descreverem o comportamento eletroquímico da mistura de dopamina e serotonina no eletrodo. Curvas analíticas foram obtidas para serotonina e dopamina nas faixas de concentração de $2,0 \times 10^{-8}$ a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,03 \times 10^{-8}$ a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O limite de detecção para serotonina foi de $5,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e de $1,1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para dopamina. Para a determinação simultânea de dopamina e serotonina, alíquotas de serotonina (ou dopamina) foram adicionadas à solução do eletrólito contendo dopamina (ou serotonina) com concentração conhecida, mostrando que não há interferência na oxidação de dopamina e serotonina. A influência de ácido ascórbico e ácido úrico sobre a determinação de dopamina e serotonina também foi estudada, e os resultados mostraram que ácido ascórbico e ácido úrico não interfere na resposta voltamétrica de dopamina e serotonina. O eletrodo modificado foi empregado para a determinação de dopamina e serotonina em soro de sangue humano.

Goyal e Singh³² determinaram simultaneamente dopamina e adenosina em fluídos biológicos utilizando um eletrodo de GC recoberto com um filme de suspensão CNTs e DMF. O comportamento eletroquímico de dopamina e adenosina sobre o eletrodo foi investigado por voltametria de pulso diferencial.

Os resultados foram comparados com os obtidos com o eletrodo grafite pirolítico, mostrando um aumento na corrente de pico ao utilizar o eletrodo GC recoberto com CNTs. Curvas analíticas foram obtidas para dopamina na presença de adenosina, e para adenosina na presença de dopamina com faixa de concentração de $1,0$ a $100,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $7,0$ e $34,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente.

Para a determinação seletiva de ácido úrico na presença de ácido ascórbico Rodriguez *et al.*³³ utilizou um eletrodo GC modificado com CNTs dispersos em polilisina e voltametria de pulso diferencial e voltametria de redissolução de pulso diferencial. Os comportamentos voltamétricos de ácido úrico, ácido ascórbico e da mistura destes ácidos sobre o eletrodo proposto foram investigados e comparados aos comportamentos observados em um eletrodo GC utilizando voltametria cíclica. Os resultados mostraram um aumento nas correntes de pico para o ácido úrico e ácido ascórbico quando o eletrodo proposto é utilizado, além de ocorrer um deslocamento nos picos de oxidação para potenciais mais negativos. Os resultados para a mistura de ácido úrico e ascórbico obtidos utilizando DPV mostram uma separação e definição nos picos de oxidação indicando que o eletrodo pode ser empregado para a determinação seletiva de ácido úrico. Curvas analíticas para ácido úrico na ausência e na presença de ácido ascórbico foram obtidas, com limite de detecção de 17×10^{-6} mol L⁻¹ na presença de ácido ascórbico. Os autores também construíram curvas analíticas utilizando voltametria de redissolução de pulso diferencial, e obteve-se limite de detecção de $2,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ para ácido úrico na presença de ácido ascórbico.

Huang *et al.*³⁴ determinaram 4-aminofenol em amostras de água utilizando um eletrodo GC recoberto com um filme de suspensão de nanotubos de carbono single-walled (SWCNTs) e Nafion por voltametria de redissolução. O eletrodo foi caracterizado por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e voltametria cíclica em solução de tampão HCl-citrato de sódio e, o comportamento eletroquímico de 4-aminofenol sobre o eletrodo proposto foi investigado por voltametria de pulso diferencial. Os resultados foram comparados com os obtidos com o eletrodo GC e com o eletrodo GC recoberto com Nafion, mostrando um aumento na corrente de pico ao utilizar o eletrodo SWCNTs-Nafion GC. Os autores também estudaram o efeito do pH, do

potencial e do tempo de acumulação e a influencia da quantidade da suspensão SWCNTs-Nafion sobre a resposta eletroquímica do eletrodo. Após a otimização das condições experimentais foi construída uma curva analítica com região linear entre $5,0 \times 10^{-9}$ e $2,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $8,0 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ e reprodutibilidade com desvio padrão relativo de 3,7%. A determinação de 4-aminofenol em amostra de água foi realizada utilizando o método proposto e os resultados foram comparados aos obtidos com titulação potenciométrica.

Lü³⁵ utilizou um eletrodo GC modificado com CNTs para a determinação de 8-azaguanina em urina humana. O sistema eletródico foi preparado recobrando o eletrodo GC com 5 µL de suspensão de MWCNTs e decetil fosfato (DCP) ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$). A caracterização do eletrodo foi feita por microscopia de transmissão de elétrons (TEM). O comportamento eletroquímico do eletrodo foi estudado e comparado ao eletrodo GC por voltametria cíclica e DPV em solução de 8-azaguanina em tampão fosfato pH 7,0. O autor também estudou o efeito do eletrólito suporte, da quantidade de suspensão MWCNTs-DCP, do tempo e potencial de acumulação e interferentes sobre a resposta voltamétrica do eletrodo. Uma curva analítica foi obtida para 8-azaguanina com região linear entre $2,5 \times 10^{-8}$ e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, limite de detecção de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e RSD de 5,3%. Os resultados obtidos para a determinação de 8-azaguanina em urina humana apresentaram coeficiente de recuperação entre 96,2 e 103,8%.

As análises simultâneas de substâncias com semelhanças estruturais, como os isômeros, despertam o interesse nos pesquisadores que buscam desenvolver métodos simples, rápidos, sensíveis e seletivos para a determinação concomitante de duas ou mais espécies sem os efeitos nocivos da interferência, como se comenta a seguir.

O comportamento voltamétrico dos isômeros de dihidroxibenzeno foi estudado por Ding *et al.*³⁶, utilizando eletrodo GC modificado com MWCNTs. O eletrodo foi preparado recobrando o eletrodo GC com 10 µL de suspensão de MWCNTs e DMF 1 mg mL^{-1} . As respostas eletroquímicas desse eletrodo foram examinadas e comparadas as do eletrodo GC por voltametria cíclica e voltametria linear (LSV) em soluções de hidroquinona, catecol e resorcinol em tampão acetato pH 5,5 e os resultados mostraram um aumento na corrente de pico e uma diminuição no potencial de oxidação ao utilizar o eletrodo proposto.

Os autores investigaram o efeito do pH, do eletrólito suporte, da velocidade de varredura e de interferentes sobre a resposta voltamétrica do eletrodo. Alguns parâmetros analíticos também foram avaliados, como a estabilidade de resposta e a construção de curvas analíticas para hidroquinona, catecol, e resorcinol, com regiões lineares entre $2,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ para catecol e hidroquinona e entre $5,0 \times 10^{-6}$ e $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ para resorcinol e limite de detecção de $6,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, $6,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. Para a determinação dos isômeros de dihidroxibenzeno foram realizadas curvas de adição e recuperação e obteve-se um coeficiente de recuperação entre 92,0 e 103,3%.

O comportamento voltamétrico dos isômeros de nitrofenol foi estudado por Luo *et al.*³⁷ utilizando eletrodo GC modificado com nanotubos de carbono. O eletrodo foi preparado recobrando o eletrodo GC com 20 µL de suspensão de nanotubos de carbono multi-walled (MWCNTs) e N,N- dimetilformamida (DMF) 1 mg mL⁻¹. A resposta eletroquímica desse eletrodo foi examinada por voltametria cíclica e voltametria linear em soluções de *o*-nitrofenol, *m*-nitrofenol e *p*-nitrofenol e os resultados mostraram picos de redução correspondentes aos isômeros ao utilizar o eletrodo à base de CNTs. Os autores investigaram o efeito do pH, do eletrólito suporte e da velocidade de varredura e de interferentes sobre a resposta voltamétrica do eletrodo proposto. Alguns parâmetros analíticos também foram avaliados, como a estabilidade de resposta e a construção de curvas analíticas para *o*-nitrofenol, *m*-nitrofenol e *p*-nitrofenol, com regiões lineares entre $4,0 \times 10^{-6}$ e $2,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, entre $1,0 \times 10^{-5}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e entre $2,0 \times 10^{-6}$ e $4,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e limites de detecção de $5,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, $6,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $4,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente. Para a determinação dos isômeros de nitrofenol em águas de rios foram realizadas curvas de adição e recuperação e obteve-se um coeficiente de recuperação entre 96,0 e 102%.

Utilizando um eletrodo GC modificado com CNTs Gong *et al.*³⁸ determinaram homocisteína em sistemas biológicos. Foram confeccionados eletrodos utilizando nanotubos de carbono purificados (p-CNTs) e nanotubos de carbono sem purificação prévia (CNTs). Inicialmente foram obtidos compósitos de Nafion e CNTs (purificados ou não purificados) e esta dispersão foi então adicionada sobre a superfície de um eletrodo GC, resultando em

eletrodos CNTs/Nafion/GC e p-CNTs/Nafion/GC. Os comportamentos eletroquímicos destes eletrodos foram avaliados por voltametria cíclica e os resultados mostraram que os CNTs (especialmente os purificados) apresentam excelente atividade eletrocatalítica sobre a oxidação de homocisteína. Algumas características do eletrodo p-CNTs/Nafion/GC foram testadas, como a estabilidade e a reprodutibilidade de resposta. A potencialidade do eletrodo para a determinação de homocisteína foi estudada por meio de técnica amperométrica. Uma curva analítica foi obtida para o sistema na faixa de concentração de $0,10$ a 60×10^{-6} mol L⁻¹, com limite de detecção de $0,06 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Os autores também discutiram o mecanismo catalítico e a possibilidade de aplicação do eletrodo p-CNTs/Nafion/GC para o estudo da auto-oxidação de homocisteína.

Utilizando um eletrodo GC modificado CNTs Rezaei e Zare³⁹ determinaram noscapina em sistemas biológicos e formulações farmacêuticas. Inicialmente foi obtida uma suspensão de CNTs em ácido nítrico (65%, m/V) e esta suspensão foi então adicionada sobre a superfície de um eletrodo GC. O comportamento eletroquímico de noscapine sobre o eletrodo GC modificado com CNTs foi estudado e comparado ao comportamento em GC em voltametria cíclica. Os resultados dos voltamogramas cíclicos mostraram que os CNTs exercem um efeito eletrocatalítico sobre a oxidação de noscapine. Alguns fatores experimentais foram estudados utilizando voltametria cíclica, como o efeito do pH, da velocidade de varredura, sendo que o mecanismo de oxidação também foi proposto pelos autores. A faixa linear para a curva analítica obtida foi de $4,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com limite de detecção de $8,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. O efeito de interferentes sobre a seletividade de resposta do método proposto também foi estudado. Foram realizadas curvas de adição e recuperação para a determinação de noscapina em amostras de plasma e formulações farmacêuticas e obtiveram-se erros relativos de 0,73 a 5,23%.

O comportamento eletroquímico de acetaminofenol (paracetamol) em um eletrodo GC modificado com o composto PANI-MWCNTs foi estudado por Li e Jing⁴⁰ utilizando voltametria cíclica, amperometria e voltametria de onda quadrada com redissolução. O eletrodo foi preparado recobrimo um eletrodo GC com 20 µL de uma suspensão de MWCNTs, anilina e DMF. Após a secagem do solvente o eletrodo obtido foi transferido para uma solução 0,5 mol

L⁻¹ de ácido sulfúrico para a eletropolimerização de anilina por voltametria cíclica com janela de potencial entre 0,0 e 1,2V. A resposta eletroquímica do eletrodo proposto foi examinada em solução de ABS e comparada as respostas do eletrodo GC, do eletrodo de GC modificado com PANI e do eletrodo GC modificado com MWCNTs, e os resultados indicaram que o eletrodo PANI-MWCNTs possui uma maior área efetiva. A oxidação de paracetamol sobre o eletrodo proposto foi investigada por meio de voltamogramas cíclicos e a resposta obtida foi comparada as obtidas com os demais eletrodos. Os resultados mostraram um aumento na corrente de pico e um comportamento reversível para paracetamol no eletrodo PANI-MWCNTs. Os autores estudaram o efeito da concentração de anilina e MWCNTs, o efeito do pH e o efeito do potencial e tempo de acumulação sobre a resposta do eletrodo. Alguns parâmetros analíticos também foram avaliados, como a estabilidade de resposta, a reprodutibilidade e a construção de curvas analíticas para paracetamol empregando voltametria de onda quadrada, com regiões lineares entre $1,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e entre $2,5 \times 10^{-4}$ e $2,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $2,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Para a determinação de paracetamol em formulações farmacêuticas foram realizadas curvas de adição e recuperação e obteve-se coeficiente de recuperação entre 94,6 e 104%.

Modificadores imobilizados na superfície de eletrodos também foram explorados tanto para acumulação das espécies de interesse, como para atividade electrocatalítica. Em ambos os casos, o desempenho analítico do eletrodo foi substancialmente melhorado, diminuindo o limite de detecção das espécies em análise e/ou aumentando a seletividade para uma determinada substância.

Para a determinação seletiva de dopamina Wang *et al.*⁴¹ utilizou um eletrodo GC modificado com SWCNTs e poli-(3-metiltiofeno) (P3MT) e voltametria de pulso diferencial. O eletrodo (P3MT/GC) foi preparado pela eletrodeposição de P3MT sobre o eletrodo GC por voltametria cíclica em solução 0,1 mol L⁻¹ de 3-metiltiofenol, com janela de potencial entre 0,0 e 1,7 V. Após esta etapa o eletrodo P3MT/GC foi recoberto com 5 µL de uma suspensão de SWCNTs e Nafion, o sistema eletródico obtido foi denominado Nafion/SWCNTs/P3MT/GC. O comportamento voltamétrico de dopamina sobre o eletrodo Nafion/SWCNTs/P3MT/GC foi investigado e comparado ao

comportamento sobre os eletrodos Nafion/SWCNTs/GC, P3MT/GC e GC. Os resultados mostraram um aumento nas correntes de pico catódicas e anódicas quando o eletrodo Nafion/SWCNTs/P3MT/GC é utilizado, além de ocorrer um deslocamento nos picos de oxidação e redução. Parâmetros como pH, velocidade de varredura, quantidade da suspensão Nafion/SWCNTs e interferentes foram estudados pelos autores a fim de avaliar o efeito destes parâmetros sobre a resposta voltamétrica do eletrodo. Os autores também avaliaram a reprodutibilidade e estabilidade de resposta e construíram curvas analíticas para dopamina com regiões lineares entre $0,02$ e $0,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; $0,1$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $1,0$ e $6,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $5,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. O método de curva de calibração foi empregado para a determinação de dopamina em amostras de formulações farmacêuticas e soro humano, e os resultados apresentaram coeficientes de recuperação entre 95 e 105%.

Utilizando um eletrodo GC modificado com CNTs e ácido cisteíco, Wang *et al.*⁴² determinaram nimesulida em amostras de formulações farmacêuticas e soro humano. O eletrodo ácido cisteíco/CNTs/GC foi preparado recobrando inicialmente um eletrodo GC com 10 µL de suspensão $1,0 \cdot 10^{-1}$ mg mL⁻¹ de CNTs em DMF. Após a secagem do solvente o eletrodo CNTs/GC foi imerso em uma solução $2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de L-cisteína e 20 ciclos consecutivos foram realizados por voltametria cíclica para a obtenção do sistema eletródico ácido cisteíco/CNTs/GC. Alguns fatores experimentais foram estudados, como o efeito do eletrólito suporte, do pH e o efeito do tempo e potencial de acumulação para DPV. Os autores também construíram uma curva analítica para nimesulida com faixa linear entre $1,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $5,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Parâmetros analíticos como reprodutibilidade, coeficiente de recuperação e interferentes também foram avaliados. Foram realizadas curvas de adição e recuperação para a determinação de nimesulida em amostras de soro humano e obteve-se coeficiente de recuperação entre 96,3 e 104,5%. Os resultados para a determinação de nimesulida em formulações farmacêuticas apresentaram erros relativos em torno de 3,3%.

1.2.3- Biossensores à base de CNTs

O biossensor pode ser definido como a combinação de um elemento de reconhecimento biológico (como por exemplo, enzima, célula, anticorpo, entre outros) e um transdutor físico, em contato íntimo entre eles. O papel de um transdutor é relacionar a concentração de um analito a uma propriedade química ou física, que será seqüencialmente detectada, convertida em um sinal elétrico/óptico, que é amplificado. Em geral, as medidas são feitas baseando-se no consumo ou na produção de algum composto que participa de uma reação bioquímica⁴³.

Os biossensores têm sido desenvolvidos e aplicados às análises clínicas, ambientais e de alimentos. Na atualidade, os biossensores eletroquímicos têm sido amplamente explorados devido a sua simplicidade e baixo custo e as enzimas são utilizadas como elementos de bio-reconhecimento⁴³.

O desenvolvimento de métodos empregando biossensores para o monitoramento de analitos atrai muita atenção, devido às características e vantagens como simplicidade e baixo custo de instrumentação, resposta rápida e mínimo preparo de amostras. Exemplos deste tipo de trabalho, utilizando eletrodos de CNTs, são apresentados a seguir.

Salimi *et al.*⁴⁴ desenvolveram um novo biossensor, para glicose, preparado pela imobilização da enzima glicose oxidase (GOD) em compósito sol-gel sobre a superfície de um eletrodo de grafite pirolítico basal plano (bpgg) modificado com MWCNTs. O comportamento eletroquímico do eletrodo modificado foi estudado e comparado ao do eletrodo bpgg não-modificado utilizando voltametria cíclica em solução de peróxido de hidrogênio e os resultados mostraram que os CNTs possuem excelente atividade electrocatalítica para a redução e oxidação de peróxido de hidrogênio liberado na reação enzimática entre a enzima GOD e a glicose, permitindo a determinação de glicose. O eletrodo também foi testado como detector amperométrico de glicose em tampão fosfato pH 7,4. Uma curva analítica foi obtida para o sistema com faixa de linearidade de 0,2 a 20×10^{-3} mol L⁻¹, apresentando sensibilidade de 196 nA/mmol L⁻¹. Algumas características do

eletrodo foram testadas, como a reprodutibilidade, a estabilidade, o tempo de resposta e tempo de vida, indicando que o eletrodo proposto apresenta propriedades adequadas para a determinação de glicose. Foram realizadas curvas de adição e recuperação para a determinação de glicose em amostras de soro humano e obteve-se um coeficiente de recuperação entre 95,6 e 103,0%.

Tang *et al.*⁴⁵ desenvolveram um novo biossensor amperométrico, baseado na adsorção GOD sobre eletrodo de nanopartícula de platina modificado com CNTs. Foram construídos eletrodos de grafite/CNTs, de Pt/CNTs e GOD/Pt/CNTs, sendo este último recoberto com filme de Nafion (Nafion/GOD/Pt/CNTs). As morfologias e o comportamento eletroquímico dos eletrodos grafite/CNTs, Pt/CNTs e Nafion/GOD/Pt/CNTs foram estudados por microscopia eletrônica de varredura, voltametria cíclica e métodos amperométricos. Algumas características do eletrodo Nafion/GOD/Pt/CNTs foram testadas, como a reprodutibilidade e a estabilidade de resposta, além de descreverem o efeito do pH, de interferentes e do potencial de oxidação na resposta eletroquímica do eletrodo. Para a determinação amperométrica de glicose utilizando o eletrodo Nafion/GOD/Pt/CNTs foi construída uma curva analítica, cuja faixa linear foi de 0,1 a $13,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, tempo de resposta menor que 5 s, densidade de corrente de 1,176 mA cm⁻² e sensibilidade de 91 mA mol⁻¹ L cm⁻². Os resultados obtidos para a determinação de glicose em plasma humano foram satisfatórios, com erro relativo de -3,33 a 4,19%.

Deo *et al.*⁴⁶ descreveram o uso de um biossensor de GC revestido com de CNTs e hidrolase organofosforado (OPH) para a determinação dos pesticidas organofosforados paraoxion e metil paration. O biossensor GC-OPH-CNTs foi preparado recobrimo inicialmente um eletrodo de GC com 20 µL de suspensão 5 mg mL⁻¹ de CNTs em uma mistura de Nafion e tampão fosfato pH 7,4 (1:9, v/v). Após a secagem do solvente, a enzima OPH foi imobilizada sobre a superfície do eletrodo por meio do recobrimento com 10 µL de solução de OHP (50 IU mL⁻¹) em Nafion. Os autores estudaram a detecção anódica de p-nitrofenol e os resultados mostraram que o eletrodo GC-OPH-CNT pode ser utilizado para a investigação do comportamento anódico de outros compostos fenólicos. Parâmetros como a composição do filme e o potencial para a determinação amperométrica foram estudados através de

voltamogramas hidrodinâmicos. Curvas analíticas para os pesticidas paraoxon e metil paration foram construídas nas faixas de concentração de 4,0 a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e 2,0 a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente.

Odaci *et al.*⁴⁷ desenvolveram um biossensor à base de CNTs e a enzima piranose oxidase (POx) para a determinação de glicose em vinhos. O sistema eletródico foi preparado pela mistura de CNTs, grafite, enzima piranose oxidase e óleo mineral em diferentes proporções. Os autores estudaram o efeito da quantidade de enzima como modificador e da quantidade de CNTs, o efeito do pH e o efeito de temperatura sobre a resposta voltamétrica do biossensor. Algumas características do biossensor CNTs/POx foram testadas, como a repetibilidade e a estabilidade de resposta, além de construírem uma curva analítica na faixa linear de $0,2 \times 10^{-3}$ a $30,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. A determinação de glicose em vinhos foi realizada utilizando o método proposto e os resultados apresentaram coeficientes de recuperação entre 93 e 109%.

Du *et al.*⁴⁸ utilizaram um biossensor à base da enzima acetilcolinesterase (AChE) imobilizada em compósito MWCNTs e quitosana (MC) sobre um eletrodo GC para a determinação de inseticidas organofosforados. O sistema eletródico AChE-MC/GCE foi preparado recobrando o eletrodo GC com 2 µL de suspensão de MWCNTs, quitosana e glutaraldeído. Sobre este compósito foram adicionados 4 µL de uma solução de AChE. O eletrodo foi caracterizado por AFM. O comportamento eletroquímico do biossensor AChE-MC/GCE foi estudado utilizando voltametria cíclica em solução cloreto de acetilticolina $0,4$ mmol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,0. Os resultados mostraram um pico de oxidação em 660 mV. Este pico corresponde ao processo de oxidação de tiocolina, produto da hidrólise de acetilticolina, catalisada pela enzima AChE imobilizada. Para a determinação do inseticida triazofos alguns fatores experimentais foram estudados, como o efeito do tempo de incubação sobre a inibição da atividade enzimática causada pelo inseticida. Curvas analíticas foram obtidas para o sistema com faixas de linearidade de 0,03 a $7,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e de 7,8 a 32×10^{-6} mol L⁻¹, apresentando limite de detecção de $0,01 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Utilizando o mesmo biossensor Du *et al.*⁴⁹ determinaram os inseticidas organofosforados carbaril, malation, dimetoate e monocrotofos. Os comportamentos eletroquímicos destes inseticidas sobre o biossensor AChE-MC/GCE foram estudados em voltametria cíclica. Os resultados dos

voltamogramas cíclicos mostraram uma perda significativa na corrente de pico com a adição destes inseticidas. Contudo, este decréscimo na corrente de pico é diferente para cada pesticida, indicando que a inibição depende da interação entre o pesticida e a enzima. Com base nestes resultados, os autores compararam a sensibilidade do sistema eletródico para cada inseticida. Este estudo mostrou uma maior sensibilidade para o pesticida carbaril, seguido de malatiom, dimetoate e monocrotofos.

1.2.4- Considerações Finais

Durante a última década, o desenvolvimento de eletrodos à base de CNTs mostrou um crescente interesse em eletroanalítica. Como já mencionado, inúmeros são os métodos existentes para o preparo destes eletrodos. No entanto, a escolha do método de preparo pode influenciar significativamente na resposta analítica, sendo que a escolha adequada do mesmo é de grande interesse para o bom desempenho dos eletrodos à base de CNTs.

Pela revisão de literatura, de uma forma geral, é possível concluir que a estratégia empregada no preparo de eletrodos à base de CNTs leva a obtenção de resultados analíticos variados, sobre tudo do ponto de vista de sensibilidade e limite de detecção. Estas diferenças encontradas em relação a limite de detecção e sensibilidade é uma das motivações para o desenvolvimento desta tese.

Outro parâmetro muito importante no desenvolvimento dos eletrodos à base de CNTs é a origem e o método de preparo dos mesmos. Assim, a grande variedade de CNTs encontrados comercialmente, com número de paredes, diâmetros e quiralidade diferentes leva a uma dificuldade na comparação das respostas analíticas obtidas. Considerando as referências apresentadas nota-se que eletrodos preparados por estratégias semelhantes, mas que utilizam CNTs de diferentes procedências pode levar a obtenção de diferentes resultados analíticos. De modo geral, estas observações são mais freqüentes em eletrodos preparados na forma de filme, visto que CNTs com

número de paredes, diâmetros e quiralidade distintos podem dispersar de diversas maneiras, influenciando no filme de CNTs obtido.

Quando se trata de eletrodos na forma de pasta de CNTs, uma grande variedade de trabalhos pode ser encontrada na literatura utilizando diversos tipos de aglutinantes. O aglutinante (responsável pela consistência da pasta) deve preencher os interstícios entre as partículas de CNTs e deve ser eletroinativo, quimicamente inerte, imiscível com água (e outros solventes), possuir baixa volatilidade e não conter impurezas. Sendo assim, o uso de diferentes aglutinantes no preparo de eletrodos na forma de pasta dificulta a comparação entre as inúmeras respostas analíticas encontradas na literatura.

Após a apresentação de CNTs ao meio científico em 1991, observou-se uma grande quantidade de trabalhos referentes ao desenvolvimento de eletrodos à base de CNTs, uma vez que esperava-se um grande aumento de sensibilidade, atribuída tanto as propriedades eletrônicas quanto ao diâmetro nanométrico (grande área superficial) dos CNTs. Contudo, pode-se concluir com base no que foi relatado nesta revisão bibliográfica, que o emprego de CNTs na confecção de eletrodos para determinações eletroanalíticas leva a um pequeno aumento na sensibilidade e também a uma pequena diminuição nos valores de limites de detecção. No entanto, é possível concluir também, que os CNTs apresentam propriedades eletrocatalíticas sobre a oxidação de inúmeros compostos orgânicos, e assim é possível a determinação simultânea de espécies com estruturas semelhantes, ou seja, ocorre um ganho em relação à seletividade de resposta. Estas propriedades eletrocatalíticas dos CNTs são atribuídas a grupos funcionais contendo oxigênio, como grupos carboxílicos, sobre a superfície dos mesmos.

Os CNTs também são muito utilizados no preparo de eletrodos modificados, onde modificadores químicos são introduzidos na matriz do eletrodo ou depositados sobre os mesmos. Muitos trabalhos foram encontrados na literatura empregando-se enzimas como modificador químico. Estes biossensores à base de CNTs apresentam vantagens em relação a tempo de vida e imobilização enzimática. Isto porque os CNTs apresentam propriedades adequadas, como alta área superficial, que podem favorecer a imobilização de enzimas na matriz do biossensor, ou ainda pelos grupos funcionais presentes nas superfícies dos CNTs, como grupos carboxílicos.

Com o grande volume de publicações muito se aprendeu sobre os eletrodos à base de CNTs. Entretanto, as discussões apresentadas nesta revisão mostram que o desenvolvimento de eletrodos à base de CNTs pode crescer ainda mais, haja vistas que muitas questões necessitam de resposta, principalmente com relação ao ganho de sensibilidade esperado para este material.

1.3- Analitos de Interesse

1.3.1- Hidroquinona

A hidroquinona é um sólido cristalino branco, obtido primeiramente em 1820 por Pelletier e por Caventou pela destilação seca de ácido quinico⁵⁰. Atualmente é usada como agente redutor orgânico, especialmente em reveladores fotográficos, na produção de inibidores de polimerização e borrachas e nos antioxidantes de alimentos. A hidroquinona e alguns de seus éteres são usados em cremes dermatológicos como despigmentadores e como agentes inibidores do mecanismo de formação de melanina. Sua fórmula molecular é $C_6H_6O_2$, e sua fórmula estrutural se encontra representada na Figura 1.4:

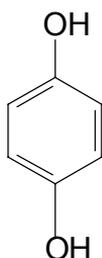


FIGURA 1.4 – Fórmula estrutural da hidroquinona.

São encontrados vários estudos na literatura sobre a determinação de hidroquinona utilizando técnicas eletroanalíticas empregando eletrodos à base de carbono^{51,52}.

1.3.2- Paraquat

O paraquat (MV) (1,1-dimetil-4,4-bipiridina-dicloreto) é um herbicida utilizado no controle de ervas daninhas em cultivos com chá, milho, soja e frutas. Essa substância foi introduzida na década de 30, porém somente começou a ser utilizado como indicador redox na década de 50. Suas propriedades como herbicida foram avaliadas em 1958 e alguns anos depois foi introduzido comercialmente⁵³. O paraquat é extremamente tóxico, podendo

causar intoxicações fatais em humanos e animais, sendo sua determinação em amostras, como águas naturais, de grande interesse nos dias atuais. Sua fórmula molecular é $C_{12}H_{14}Cl_2N_2$, e sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 1.5:

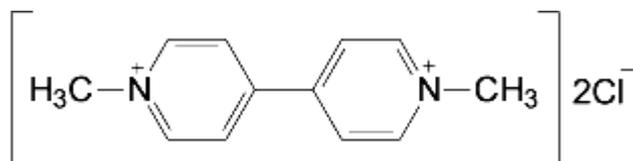


FIGURA 1.5 – Fórmula estrutural do paraquat.

1.3.3- Rutina e Quercetina

A rutina é um flavonol glicosídico pertencente a uma importante classe de flavonóides, sendo extensamente encontrados na natureza. A rutina apresenta uma importância terapêutica em virtude de determinar a normalização da resistência e permeabilidade das paredes dos vasos capilares, além de inibir o processo de formação de radicais livres em vários estágios⁵⁴. Sua fórmula molecular é $C_{27}H_{30}O_{16}$, e sua fórmula estrutural se encontra representada na Figura 1.6:

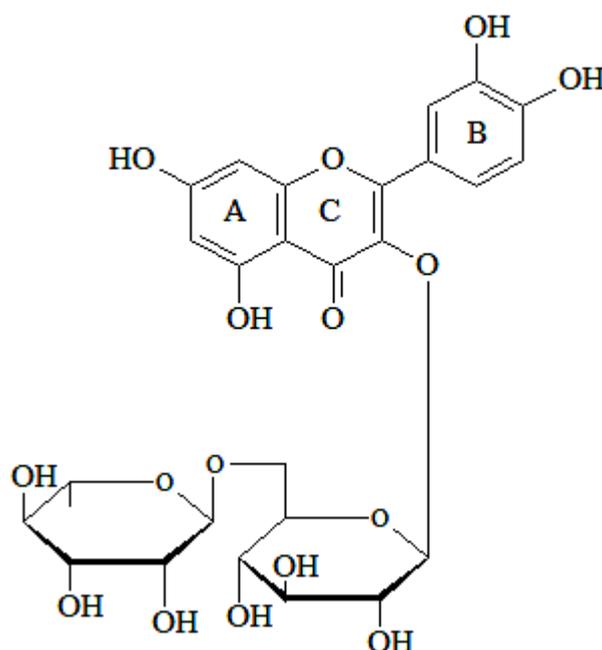


FIGURA 1.6 – Fórmula estrutural da rutina.

O mecanismo de oxidação desse flavonóide é observado na Figura 1.7. Em uma única etapa, a molécula de rutina é eletroquimicamente oxidada em um processo que envolve a oxidação 3'4' dihidróxi substituído no anel B.

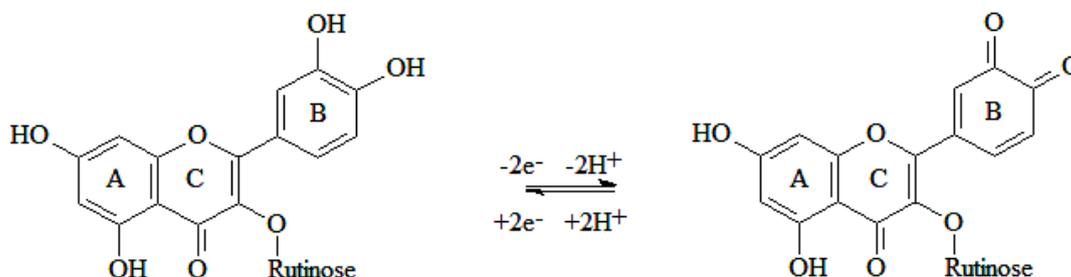


FIGURA 1.7 – Mecanismo de oxidação da rutina.

A determinação analítica de rutina envolve diferentes técnicas como espectrofotometria⁵⁵ e cromatografia⁵⁶. Entretanto, nesta revisão, procurou-se destacar alguns métodos eletroanalíticos, os quais tem maior relação com a proposta deste trabalho, que envolvem eletrodos à base de carbono.

Um eletrodo de pasta de carbono modificado com poli (vinilpirrolidona) (PVP) foi utilizado por Franzoi *et al.*⁵⁷ para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas. O eletrodo foi preparado misturando-se pó de grafite, Nujol e PVP na proporção de 75:15:10% em massa. O PVP foi utilizado como modificar por apresentar propriedades adsorptivas sobre rutina. Parâmetros experimentais foram otimizados pelos autores, como eletrólito suporte, pH, velocidade de varredura e tempo de acumulação. Após a otimização destes parâmetros foi obtida uma curva analítica para rutina utilizando voltametria linear sweep com faixa linear de $3,9 \times 10^{-7}$ a $1,3 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $1,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Alguns fatores analíticos como repetibilidade, reprodutibilidade e estudos de interferentes também foram avaliados pelos autores. Foram realizadas curvas de adição e recuperação para amostras de rutina e obteve-se coeficiente de recuperação entre 98,3 e 101,7%. A técnica de adição de padrão foi usada para a determinação rutina em formulações farmacêuticas. Os resultados encontrados foram satisfatórios, erro relativo entre 1,4 e 6,1%.

Utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de ácido poli glutâmico Santos *et al.*⁵⁸ determinaram rutina em formulações farmacêuticas. Inicialmente os autores investigaram a incorporação eletroquímica de rutina sobre o filme de ácido poli glutâmico por voltametria cíclica. Os autores também compararam a resposta voltamétrica do eletrodo proposto com a resposta obtida utilizando um eletrodo GC, e os resultados mostraram um aumento significativo nas correntes de pico anódica e catódica. Alguns fatores experimentais foram estudados utilizando voltametria cíclica, como o efeito da velocidade de varredura e o efeito do pH. Uma curva analítica para a rutina foi obtida utilizando voltametria de onda quadrada, com região linear ente $7,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $3,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Os resultados obtidos para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas apresentam coeficiente de recuperação entre 105 e 106,5%.

Fernandes *et al.*⁵⁹ desenvolveram um biossensor para rutina preparado pela imobilização de lacase em quitosana crosslinked com tripolifosfato (TPP) e um eletrodo de pasta de carbono. Para a construção do biossensor proposto foram realizados estudos para verificar o efeito da concentração de lacase. Parâmetros experimentais também foram otimizados, como o efeito do pH, frequência e amplitude de pulso para voltametria de onda quadrada. Após a otimização das condições experimentais, foram obtidas curvas analíticas para rutina com regiões lineares entre $5,99 \times 10^{-7}$ e $3,92 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e entre $5,82 \times 10^{-6}$ e $1,31 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $6,23 \times 10^{-8}$. Algumas características do biossensor foram testadas, como a repetibilidade, reprodutibilidade e a estabilidade indicando excelente imobilização de lacase sobre quitosana crosslinked com TPP. Foram realizadas curvas de adição e recuperação para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas e obteve-se coeficientes de recuperação entre 92 e 105%.

MALAGUTTI *et al.*⁶⁰ relataram o uso do eletrodo compósito à base de poliuretana e grafite (GPU) para a determinação de rutina em chá verde por voltametria de onda quadrada. O comportamento eletroquímico do eletrodo compósito foi estudado e comparado ao eletrodo de carbono vítreo utilizando voltametria cíclica em solução de rutina e os resultados mostraram um aumento na corrente de pico ao utilizar o eletrodo compósito GPU. A influência do pH sobre a resposta voltamétrica do eletrodo em soluções contendo rutina

também foi investigado. Parâmetros experimentais como frequência, step e amplitude foram otimizados. Os autores também construíram uma curva analítica para a rutina, com faixa linear entre $1,1 \times 10^{-6}$ e $3,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $7,1 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Os resultados obtidos para a determinação de rutina em chá verde utilizando o eletrodo composto GPU concordaram com os resultados obtidos com HPLC.

A quercetina é um flavonóide amplamente distribuído no reino vegetal. Trata-se de um composto polifenólico presente naturalmente em vegetais como, maçã, cebola, chá e em plantas medicinais como *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum*. A quercetina possui propriedades antioxidante. Tem atividade cardiovascular, reduzindo o risco de morte por doenças das coronárias e diminuindo a incidência de enfarte do miocárdio⁵⁴. Sua fórmula molecular é C₁₅H₁₀O₇, e sua fórmula estrutural se encontra representada na Figura 1.8:

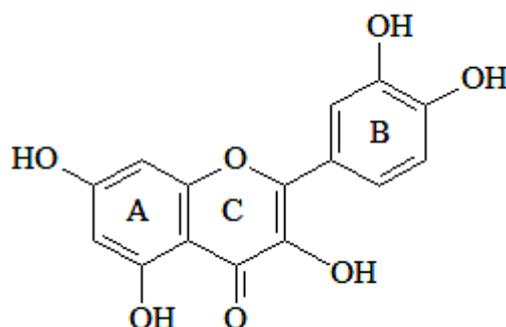


FIGURA 1.8 – Fórmula estrutural da quercetina.

O mecanismo de oxidação da quercetina é observado na Figura 1.9. Em uma primeira etapa, a molécula de quercetina é eletroquimicamente oxidada em um processo que envolve a oxidação de 3'4' dihidróxi substituído no anel B. Posteriormente, ocorre oxidação da hidroxila substituída no anel C.

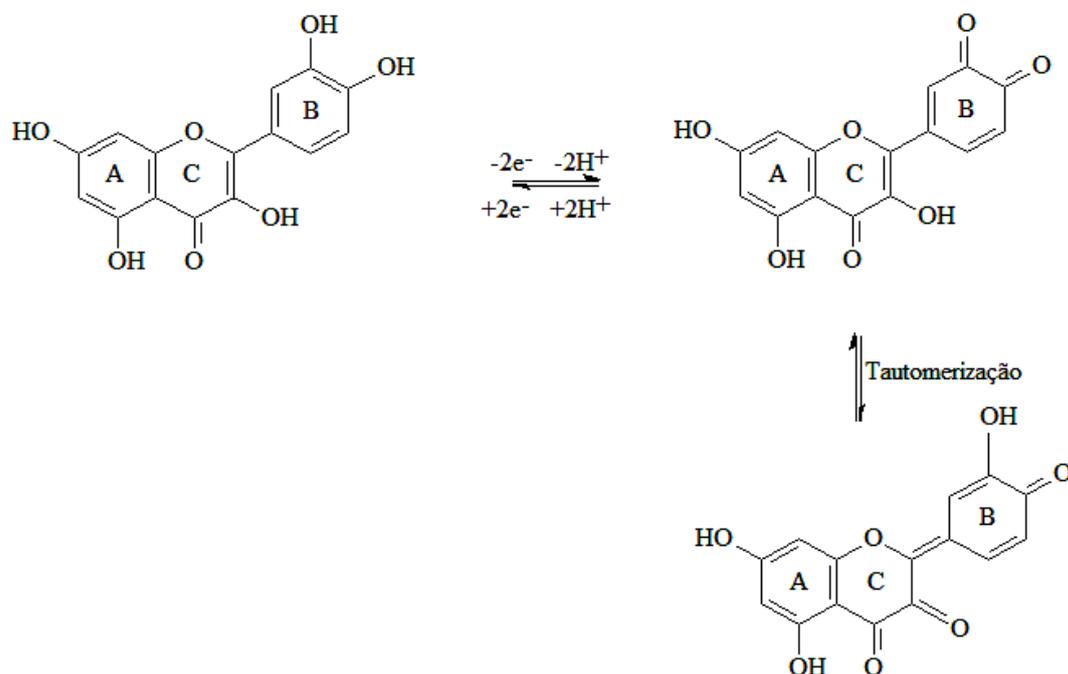


FIGURA 1.9 – Mecanismo de oxidação da quercetina.

São encontrados vários estudos na literatura sobre a determinação de quercetina, envolvendo diferentes técnicas. Entretanto, nesta revisão, destacam-se, a seguir, os métodos eletroanalíticos, os quais tem maior relação com a proposta deste trabalho que envolve eletrodos à base de carbono.

A determinação de quercetina na presença de ácido ascórbico foi realizada com auxílio da técnica de voltametria de onda quadrada por Xu e Kim⁶¹ utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de CNTs. O comportamento eletroquímico de quercetina sobre o eletrodo de carbono vítreo modificado com CNTs foi estudado e comparado ao comportamento em GC em voltametria cíclica e DPV. Os resultados dos voltamogramas cíclicos mostraram um ganho significativo na corrente de pico com a utilização do eletrodo GC modificado com CNTs. O efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do eletrodo foi estudado pelos autores. Alguns parâmetros analíticos também foram avaliados, como o efeito de interferentes. Uma curva analítica foi obtida para quercetina na presença de ácido ascórbico, com faixa de concentração de $0,02 \times 10^{-6}$ a $1,8 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Para a determinação seletiva

de quercetina foi utilizado o método de adição de padrão e os resultados mostraram que o método proposto pode ser utilizado para a determinação de quercetina.

Um eletrodo de carbono vítreo modificado com CNTs e os monômeros sucinoglicam foi utilizado por Jin et al.⁶² para a determinação de quercetina. Voltamogramas cíclicos foram realizados em solução quercetina para avaliar a resposta voltamétrica do eletrodo. Os resultados mostraram que ocorre um aumento de corrente em relação às respostas obtidas utilizando eletrodos de carbono vítreo convencionais. Para a determinação de quercetina foi obtida uma curva analítica utilizando voltametria de onda quadrada com região linear entre $2,36$ e $59 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

O comportamento voltamétrico de quercetina sobre um eletrodo de pasta de carbono foi investigado por Farglaly⁶³. O eletrodo foi preparado pela mistura de pó de grafite e parafina na proporção de 85:15% m/m. O comportamento eletroquímico de quercetina sobre o eletrodo de pasta de carbono foi estudado em voltametria cíclica. Alguns fatores experimentais foram estudados, como o efeito do eletrólito suporte, o efeito do pH, o efeito do potencial e tempo de acumulação para voltametria de onda quadrada, o efeito de interferentes e a construção de curva analítica para a quercetina. A faixa linear para a curva analítica foi de 67,66 e 338,3 ppb com limite de detecção de 6,77 ppb. O método de adição de padrão foi utilizado para a determinação de quercetina em amostras de urina e os resultados obtidos apresentaram coeficiente de recuperação de $99,9 \pm 0,5\%$.

Utilizando um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono e voltametria cíclica com pré-concentração XIAO *et al.*⁶⁴ determinaram o flavanóide quercetina. O eletrodo de pasta de CNTs foi preparado pela mistura de CNTs e parafina na proporção de 7/3 (m/m). Parâmetros como pH, velocidade de varredura, eletrólito suporte, potencial e tempo de acumulação e interferentes foram estudados pelos autores a fim de avaliar o efeito destes parâmetros sobre a resposta voltamétrica do eletrodo. Após a otimização dos parâmetros experimentais, uma curva analítica foi obtida com regiões lineares entre $2,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-7}$ a $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Algumas características do eletrodo foram testadas como a reprodutibilidade e a regeneração indicando que o eletrodo proposto apresenta propriedades adequadas para a

determinação de quercetina. O método de adição de padrão foi utilizado para a determinação de quercetina em rutina hidrolisada e os resultados apresentaram coeficiente de recuperação entre 99,2 e 102,6%.

Os eletrodos à base de nanotubos de carbono têm sido utilizados na determinação de rutina e de quercetina, como se observa a seguir:

Lin *et al.*⁶⁵ empregaram um eletrodo de pasta de CNTs na determinação simultânea de quercetina e rutina. As respostas eletroquímicas características desse eletrodo foram examinadas e comparadas às do eletrodo de carbono vítreo em solução de rutina, solução de quercetina e solução da mistura quercetina e rutina em tampão Britton-Robinson pH 7,0. Os resultados mostram que ocorre um decréscimo nos potenciais de oxidação da rutina e da quercetina quando utilizado o eletrodo de pasta de CNTs. Foi observado também resposta voltamétrica para a mistura quercetina e rutina quando utilizado o eletrodo de pasta de CNTs. Os autores também estudaram o efeito do pH e do tempo de pré-concentração na resposta eletroquímica do eletrodo. Algumas características do eletrodo foram testadas, como a reprodutibilidade, repetibilidade e o efeito de interferentes como ácido cítrico e ácido ascórbico. Uma curva analítica foi obtida para quercetina na presença de $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de rutina na faixa de concentração de $0,05 \times 10^{-6}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Também foi obtida uma curva analítica para rutina na presença de quercetina com região linear de $0,1 \times 10^{-6}$ a $10,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O limite de detecção para a quercetina foi de $2,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e de $4,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ para a rutina. O eletrodo foi empregado para a determinação de quercetina e rutina em soro de sangue humano e urina.

Xu *et al.*⁶⁶ discutem o uso de um eletrodo compósito à base de CNTs e polistireno para a determinação de rutina e quercetina em plantas medicinais utilizando eletroforese capilar. Os resultados obtidos utilizando o eletrodo compósito à base de CNTs foram comparados aos obtidos utilizando um eletrodo compósito à base de grafite. Os resultados mostraram uma maior separação dos picos dos flavonóides e também uma maior corrente. Os autores também estudaram fatores analíticos como estabilidade de resposta e construíram curvas analíticas para os flavonóides com região linear entre $1,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. A determinação de rutina e quercetina em plantas medicinais apresentaram desvio padrão entre 2,4 e 3,7%.

Os trabalhos acima representam alguns exemplos recentes do uso de técnicas eletroanalíticas para a determinação de rutina e quercetina. A literatura, entretanto, trás mais informações, porém estenderiam demasiadamente esta introdução.

1.3.4- Clorfenvinfos

O clorfenvinfos é um carrapaticida da classe dos organosfosforados. Tais compostos contêm carbono e fósforo, sendo geralmente obtidos por meio de sais orgânicos e de ácido fosfórico. São extremamente tóxicos, sendo fatais na proporção de alguns miligramas. Estas substâncias reagem com as enzimas que possuem resíduos do aminoácido serina (enzimas de serina) no sítio ativo, entre elas a acetilcolinesterase, que decompõe a acetilcolina após a transmissão do impulso nervoso de um neurônio a outro. Ao ser decomposta, a acetilcolinesterase não pode mais decompor a acetilcolina, que se acumula nos receptores sinápticos, impedindo as transmissões nervosas que acarretam a morte por falência dos órgãos⁶⁷. Por serem amplamente utilizados na agropecuária, o desenvolvimento de técnicas para a detecção de clorfenvinfos vem atraindo a atenção de vários grupos de pesquisa. Sua fórmula molecular é $C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$ e sua fórmula estrutural é apresentada abaixo:

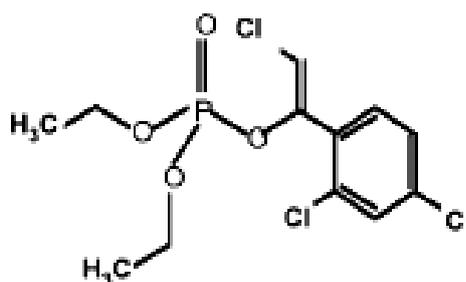


FIGURA 1.10 – Fórmula estrutural do clorfenvinfos.

A análise de pequenas quantidades de clorfenvinfos é de grande importância do ponto de vista ambiental e de saúde. No entanto, não são encontrados na literatura muitos trabalhos envolvendo sua determinação e técnicas eletroanalíticas. O único exemplo deste tipo de determinação é o

trabalho realizado por Sreedhar *et al.*⁶⁸ que relataram o uso de um eletrodo gotejante de mercúrio para a determinação de dicrotofos, crotoxifos e clorfenvinfos em formulações e amostras de grama ou solo. Os comportamentos voltamétricos destes pesticidas foram estudados utilizando voltametria de pulso diferencial. Os autores também analisaram o efeito do pH sobre a resposta do eletrodo. Os resultados obtidos para a determinação destes pesticidas apresentaram coeficientes de recuperação entre 96,33 e 99,67%.

1.4 - Objetivos do Presente Trabalho

Este trabalho teve por objetivo principal desenvolver eletrodos à base de nanotubos de carbono, que apresentam propriedades eletrônicas, químicas e mecânicas, adequadas para aplicações em eletroanalítica.

De modo específico os objetivos eram preparar eletrodos à base de CNTs em diferentes formas, caracterizar eletroquimicamente, bem como verificar a influência do modo de preparo na resposta eletroanalítica. Para tanto foram preparados eletrodos de carbono vítreo modificado com filme de CNTs, eletrodos de pasta de CNTs/Grafite em diferentes composições e eletrodos de pasta de CNTs. Estes eletrodos foram aplicados em determinações analíticas de substâncias de interesse farmacológico e/ou biológico tais como flavonóides e de interesse ambiental, como pesticidas.

Em outra etapa do trabalho havia o objetivo de introduzir modificadores químicos na matriz do eletrodo para melhorar a sensibilidade e seletividade de resposta. Neste caso, os eletrodos modificados também foram aplicados em amostras de interesse farmacológico, biológico e ambiental.

De maneira mais abrangente, pretendia-se associar as respostas analíticas encontradas com as características físicas e morfológicas por meio de espectroscopia de impedância eletroquímica e microscopia eletrônica de varredura.

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo, será apresentada toda a parte experimental, incluindo a construção dos eletrodos, os reagentes e os equipamentos utilizados durante a realização deste trabalho.

2.1- Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico (P.A.) e usados sem purificação prévia. A água usada no preparo das soluções foi purificada por um sistema de osmose reversa marca Gehaka modelo OS20 LX FARMA.

Nanotubos de carbono de paredes múltiplas, com pureza em torno de 90%, procedentes de SUN NANOTECH Co Ltda.e Schenzhen Nanotech Port Co. Ltd. (Schenzhen, China) com diâmetros que variam de 20 a 40 nm foram utilizados no preparo dos eletrodos à base de CNTs.

2.1.1- Soluções Tampão

A solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,0, foi preparada com 1,38 g de acetato de sódio (Merck) e 0,28 mL de ácido acético (Mallinckrodt), completando-se o volume para 100 mL.

A solução tampão fosfato 70 mmol L^{-1} , pH 7,1, foi preparada dissolvendo-se 15,95 g de fosfato dibásico de sódio (Merck) e 3,823 g de fosfato monobásico de sódio (Mallinckrodt) em água, ajustando-se o volume final para 2 L.

Para a solução tampão amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 11 foi utilizado 17,5 g de cloreto de amônio (Merck) e 142 mL de hidróxido de amônio (Merck) 28%, ajustando-se o volume para 250 mL.

2.1.2- Solução de Ferricianeto de Potássio

Pesou-se 0,165 g de $K_3[Fe(CN)_6]$ (Merck) e 3,728 g de KCl (Merck) que foram dissolvidos em 100 mL de água para preparar uma solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

2.1.3- Soluções Padrão

A solução de hidroquinona (Vetec) $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada adicionando-se 0,0550 g do composto em tampão acetato pH 4,0 e diluída para 100 mL.

Uma solução padrão de paraquat (Aldrich) com concentração de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada em meio de sulfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução de rutina (Aldrich) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada adicionando-se 0,0061 g do composto em uma solução 50% (v/v) de tampão fosfato pH 7,1 e etanol e diluída em um balão volumétrico para 10 mL.

Foram dissolvidos 0,0033 g de quercetina (Aldrich) em 10mL de etanol para preparar uma solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida uma alíquota de 1,25 mL desta solução foi diluída em 25 mL de tampão fosfato pH 7,1 e a concentração obtida foi de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Para os experimentos realizados com o biossensor à base de CNTs e a enzima acetilcolinesterase (AchE), soluções contendo diferentes concentrações do substrato iodeto de acetiltiocolina foram preparadas a partir de uma solução estoque de $1,2 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

Foram dissolvidos 0,0072 g de clorfenvinfos (Aldrich) em 10mL de metanol para preparar uma solução $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida uma alíquota de 500 μL desta solução foi diluída em 10 mL de tampão fosfato pH 7,1 e a concentração obtida foi de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

2.1.4- Preparo das Amostras Analisadas

Determinou-se hidroquinona em amostra de revelador fotográfico. Foram pesados 0,0220 g do revelador, que foram dissolvidos em 100 mL de uma solução tampão acetato pH 4,0 para a preparação da solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, a qual foi usada como solução estoque.

A rotina foi analisada em amostra de formulações farmacêuticas. A solução foi preparada dissolvendo-se 152,0 μL do medicamento em 10,0 mL de etanol. Após esta etapa, uma alíquota de 500 μL foi diluída em um balão volumétrico de 50 mL com solução tampão fosfato pH 7,1, obtendo-se assim uma solução com concentração final igual a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, de acordo com o rótulo. Como amostra de quercetina foi utilizado suco de maçã industrializado. A solução foi preparada dissolvendo-se 500,0 μL do suco em 25,0 mL de tampão fosfato pH 7,1.

Como amostra de clorfeninfos foi utilizado carrapaticida comercial. A solução foi preparada dissolvendo 52,0 μL do carrapaticida em 10,0 mL de metanol. Após esta etapa, uma alíquota de 12,5 μL foi diluída em um balão volumétrico de 10 mL com solução tampão fosfato pH 7,1.

2.2- Equipamentos

Os experimentos voltamétricos foram realizados em um potenciostato/galvanostato Autolab modelo PGSTAT20, acoplado a um microcomputador e controlado pelo software GPES 5.8. Todas as medidas foram realizadas a temperatura ambiente, com exceção das medidas utilizando o biossensor CNTs ($T=37^\circ\text{C}$).

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas em um equipamento Zeiss DSM 940-A, operado a 5kV em diferentes magnificações. Foram realizadas também análises microscópicas (FEG) utilizando um microscópio FEG-VP Zeiss Supra 35.

Todas as medidas espectrofotométricas foram feitas em um espectrofotômetro NIR Cary modelo 5G acoplado a um microcomputador e

controlado pelo software Cary Win UV contendo uma cela de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

2.3- Células e Eletrodos

Todas as medidas voltamétricas foram feitas em uma célula de vidro de 3 eletrodos, com capacidade para 25,0 mL. O eletrodo auxiliar era um fio de Pt, o eletrodo de referência era de Ag^+/AgCl e diferentes eletrodos à base de CNTs foram utilizados como eletrodos de trabalho. Os procedimentos de construção, tratamento e caracterização dos eletrodos de trabalho são descritos na sessão 2.4. Uma representação da célula voltamétrica pode ser vista na Figura 2.1.

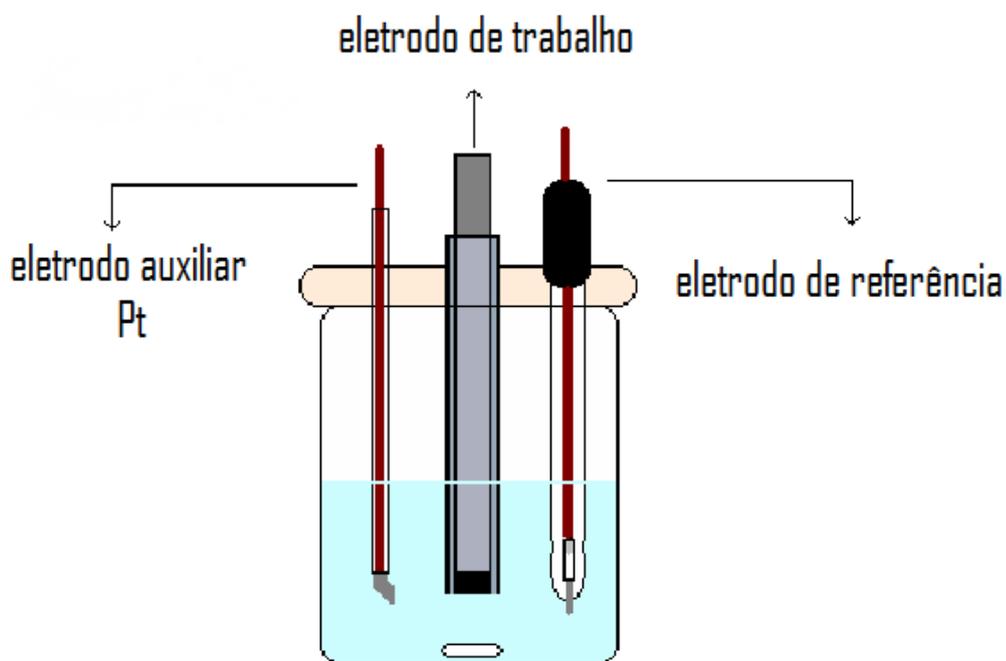


FIGURA 2.1 – Representação esquemática da célula voltamétrica.

2.4- Confeção dos Eletrodos de Trabalho

Os eletrodos de CNTs foram preparados nas formas de pasta e de filme sobre eletrodo de GC. As respostas voltamétricas obtidas utilizando um par redox conhecido (ferro/ferricianeto) e hidroquinona foram comparadas a fim de verificar a melhor estratégia para o preparo de eletrodos à base de CNTs.

2.4.1- Eletrodos de Pasta de CNTs/Grafite e de CNTs

Os eletrodos de pasta de CNTs/Grafite e CNTs puros foram construídos dentro de um capilar de vidro de diâmetro interno de 1,2 mm e externo de 8 mm. O contato foi feito por meio de um fio de latão fixado dentro do capilar.

Os eletrodos de pasta de CNTs foram preparados pela mistura de quantidades apropriadas de CNTs e óleo mineral (Nujol) de modo a obter a proporção de CNTs desejada (40-70%, m/m). As pastas foram homogeneizadas com o auxílio de um almofariz e um pistilo de ágata e então prensadas na ponta do eletrodo. A superfície exposta foi polida antes de cada medida.

Foram preparados quatro eletrodos de pasta de CNTs/Grafite variando as proporções, em massa, de carbono grafite (CG) (ALDRICH) e nanotubos de carbono (CNTs) conforme Tabela 2.1. Os CNTs e o Grafite foram misturados ao óleo mineral de modo a obter a proporção de 40 e 60% m/m de carbono. Uma representação do eletrodo pode ser vista na Figura 2.2.

Tabela 2.1 – Proporções em massa de carbono grafite e nanotubos de carbono para a confecção dos eletrodos de trabalho

Eletrodo	Composição
1	90 % CG + 10 % CNTs
2	10 % CG + 90 % CNTs
3	50 % CG + 50 % CNTs
4	100 % CG

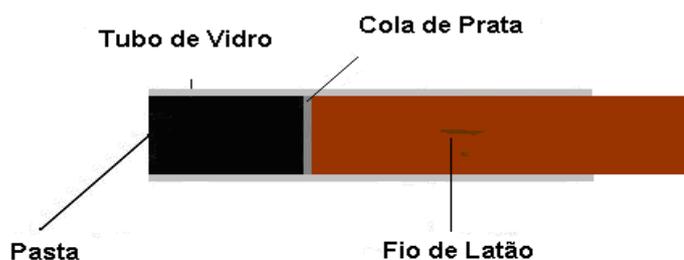


FIGURA 2.2 – Representação esquemática do eletrodo de pasta de CNTs.

2.4.2- Eletrodos de Carbono Vítreo Recoberto com Filme de CNTs

Os eletrodos de filme de CNTs foram preparados recobrimo uma superfície de carbono vítreo (GC) com diâmetro de 3 mm com 20 μL de suspensão de nanotubos de carbono e N,N-dimetilformamida (DMF) 1 mg mL^{-1} . O eletrodo foi armazenado em um dessecador para a evaporação do solvente. A seguir o contato elétrico foi estabelecido conectando-se um fio de cobre ao eletrodo com auxílio de um jacaré.

2.4.3- Eletrodo de Pasta de CNTs Modificado com Micropartículas de Cobre

O eletrodo de pasta de CNTs modificado com micropartículas de cobre foi construído dentro de um capilar de vidro de diâmetro interno de 1,2 mm. O contato foi feito por meio de um fio de latão fixado dentro do capilar. Foram preparados três eletrodos de pasta variando as proporções, em massa, de micropartículas de cobre (Cu,) com pureza em torno de 90%, procedentes da Acros Organics com diâmetro médio de 45 μm e nanotubos de carbono (CNTs)²² conforme Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Proporções em massa de micropartículas de cobre e nanotubos de carbono para a confecção dos eletrodos de trabalho

Eletrodo	Composição
1	6 % Cu + 54 % CNTs + 40% de óleo mineral
2	10 % Cu + 50 % CNTs + 40% de óleo mineral
3	18 % Cu + 42 % CNTs + 40% de óleo mineral

2.4.4- Biossensor à base de CNTs e Enzima Acetilcolinesterase

O preparo do biossensor CNTs-AChE foi realizado utilizando uma massa de 0,050 g de pasta de CNTs (60%, m/m) e 6,75 mg da enzima AchE 250 U. A proporção de enzima/pasta ($39,4 \text{ U g}^{-1}$) foi estudada por Dragunski⁶⁹. A mistura foi homogeneizada e inserida em tubos de vidro com 1,2 mm de diâmetro interno e o contato elétrico foi estabelecido conectando-se um fio de latão ao material ainda não curado, com auxílio de epóxi de prata (EPO-TEK 410E, Epoxy Technology).

2.5- Estudos Voltamétricos

A caracterização eletroquímica dos eletrodos de pasta de CNTs/Grafite e CG/filme de CNTs foi obtida por VC em meio de ferricnato de potássio. Nesses estudos o potencial foi variado entre -150 e 650 mV e a velocidade de varredura de potenciais de 10 a 500 mV s^{-1} .

Alguns estudos de voltametria cíclica para avaliar o intervalo útil de potenciais para os eletrodos de pasta de CNTs puros, contendo 60% (m/m) de CNTs foram realizados em diferentes pH e eletrólitos: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; tampão acetato; tampão fosfato; solução; tampão amônio e NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

As curvas de voltametria de pulso diferencial foram obtidas para as soluções de hidroquinona, paraquat, rutina e quercetina, sendo o intervalo de potencial e o tipo de eletrodo utilizado escolhido de acordo com cada analito avaliado. Nestes experimentos, inicialmente, foi avaliada as condições experimentais em que se tinha a melhor resposta para cada analito. Na otimização das condições experimentais foi variada a velocidade de varredura (10 a 100 mV s^{-1}) e a amplitude de pulso (10 a 100 mV).

Todos os experimentos voltamétricos foram realizados sem desaeração das soluções, exceto as medidas realizadas com solução de paraquat.

2.6- Determinação da Área Efetiva dos Eletrodos

As áreas efetivas dos eletrodos foram estimadas por meio de experimentos cronocoulométricos utilizando solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e aplicada a equação de Cottrell⁷⁰.

2.7- Parâmetros Otimizados na Construção do Biossensor CNTs- AchE

Estudos para a otimização de parâmetros na construção do biossensor CNTs-AchE foram realizados utilizando voltametria de onda quadrada. Inicialmente foi estudado o comportamento eletroquímico do substrato de AcSChI $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em um eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m). Após esta etapa foi adicionada à célula eletroquímica 2,0 U da enzima acetilcolina para a avaliação do potencial de oxidação de tiocolina (produto da reação enzimática entre AcSChI e a enzima AchE).

A avaliação da ação enzimática foi realizada por cronoamperometria aplicando diferentes potenciais (250, 300, 350, 400, 450, 500 e 620 mV). Nesta etapa também foram avaliados o tempo de reação enzimática e o e o potencial de oxidação de tiocolina (0, 100, 200, 250, 300 e 350).

Cronoamperogramas foram obtidos em diferentes concentrações de AcSChI (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e $3,0 \text{ mmol L}^{-1}$) para avaliar a melhor concentração do substrato.

A inibição enzimática causada pelo pesticida clorfenvinfos $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 foi estudada variando-se o tempo de incubação do biossensor CNTs-AChE (0, 2, 5, 8, 10, 15 e 20 minutos).

2.8- Obtenção das Curvas Analíticas

As curvas analíticas foram obtidas por voltametria diferencial de pulso, exceto para o clorfenvinfos, na velocidade de varredura e amplitude de pulso previamente otimizados e por adições sucessivas do analito. As medidas foram

realizadas com renovação da superfície do eletrodo no caso do uso de eletrodos do tipo pasta.

A curva analítica para o clorfenvinfos foi obtida com o uso o biossensor CNTs-AchE nas condições otimizadas de potencial, tempo de incubação e concentração do substrato AcSChI.

Inicialmente foi obtida uma curva cronoamperométrica para uma solução de $3,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AcSChI em tampão fosfato pH 7. Após esta etapa o biossensor foi imerso em soluções contendo diferentes concentrações de clorfenvinfos e o mesmo foi posteriormente transferido para a célula eletroquímica contendo a solução do substrato AcSChI e realizou-se as medidas croamperométricas para determinar a inibição provocada nas correntes limites de difusão, relacionadas com a oxidação da tiocolina. A partir dos cronoamperogramas medidos em cada concentração, determinou-se a % de inibição e uma curva analítica de % de inibição em função da concentração de clorfenvinfos foi obtida.

2.9- Avaliações Analíticas dos Eletrodos à Base de CNTs

2.9.1- Determinação de Hidroquinona em Reveladores Fotográficos

Para a determinação de hidroquinona na amostra de revelador fotográfico, foram realizadas curvas de adição de padrão e a técnica de voltametria de pulso diferencial. A concentração de hidroquinona inicial foi ajustada para aproximadamente $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, segundo informações do rótulo, e foram realizadas três adições sucessivas de $100 \text{ } \mu\text{L}$ de solução padrão $8,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de hidroquinona. Para cada adição três voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos. Por meio da média das correntes de pico encontradas, obteve-se um gráfico de concentração hidroquinona em função de i_{pa} . Este procedimento de adição de padrão foi feito em duplicata.

2.9.2- Determinação de Rutina em Formulações Farmacêuticas

A determinação de rutina em formulações farmacêuticas foi realizada utilizando o mesmo procedimento descrito para hidroquinona sendo que a concentração inicial de rutina foi de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e três adições de $400 \mu\text{L}$ da solução $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de rutina foram realizadas.

Para efeito de comparação a rutina também foi determinada utilizando o método padrão AOAC⁷¹. Este método constitui em realizar as medidas de absorvância de rutina diretamente em $352,5 \text{ nm}$. A concentração de rutina inicial foi de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e foram realizadas três adições sucessivas de $20 \mu\text{L}$ de solução padrão $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ rutina.

2.9.3- Determinação de Quercetina em Amostra de Suco de Maçã

Nesse caso também foi utilizado o método de adição de padrão. Inicialmente $500 \mu\text{L}$ de suco foram diluídos em 25 mL de tampão fosfato $\text{pH } 7,1$ e em seguida foram realizadas três adições de $400 \mu\text{L}$ de solução contendo $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de quercetina sendo determinada a corrente de pico obtida na voltametria de pulso diferencial.

Para que se pudesse efetuar uma validação dos resultados obtidos pela técnica de voltametria de pulso diferencial foi utilizada espectroscopia de absorção UV-Vísivel na determinação da quercetina no suco de maçã. Este método constitui em realizar as medidas de absorvância de quercetina diretamente em 368 nm . Foram adicionadas a cubeta $3,0 \text{ mL}$ da amostra diluída no método eletroquímico e após esta etapa foram realizadas três adições sucessivas de $24 \mu\text{L}$ de uma solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de quercetina.

2.9.4- Efeito de Interferentes sobre a Determinação de Quercetina

Para avaliar uma possível interferência de ácido cítrico sobre a determinação de quercetina foram realizadas curvas de adição e recuperação fixando a concentração de quercetina em $1,956 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e variando a concentração de ácido cítrico em até 100 vezes a concentração de quercetina.

2.9.5- Determinação de Clorfenvinfos em Amostra de Carrapaticida

A determinação de clorfenvinfos em carrapaticida foi realizada utilizando o método de adição de padrão e o biossensor CNTs-AchE. Inicialmente 52 µL de carrapaticida foram diluídos em 10 mL metanol e em seguida 12,5 µL desta solução foram diluídas em 10 mL de tampão fosfato pH 7,1. Após esta etapa foram realizadas três adições de 100 µL de solução contendo $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de clorfenvinfos sendo determinada a inibição enzimática utilizando o mesmo procedimento descrito para curva analítica.

Para que se pudesse efetuar uma validação dos resultados obtidos com o biossensor CNTs-AchE foi utilizada espectroscopia de absorção UV-Vísivel na determinação clorfenvinfos. Este método constitui em realizar as medidas de absorvância de clorfenvinfos diretamente em 245 nm. Foram adicionadas a cubeta 3,0 mL da amostra diluída no método eletroquímico e após esta etapa foram realizadas três adições sucessivas de 24 µL de uma solução contendo $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de clorfenvinfos.

2.10- Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

As medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foram executadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato AUTOLAB (GPES/FRA) da ECO CHEMIE modelo PGSTAT20 para os eletrodos de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) e biossensor

CNTs-AchE em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. As medidas foram realizadas no potencial de circuito aberto, sendo polarizados por um período de 300 s realizando-se as medidas em um intervalo de frequência de $10 \text{ mHz} < f < 10 \text{ kHz}$ com uma amplitude de 10 mV.

Utilizou-se o software ZView 2.6 para o ajuste dos espectros de impedância eletroquímica, e obtenção dos valores dos respectivos elementos de circuito.

CAPÍTULO 3

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS ELETRODOS À BASE DE CNTs

Diferentes estratégias podem ser empregadas no preparo de eletrodos à base de nanotubos de carbono, sendo que o modo de preparo do material eletródico é considerado um parâmetro crítico na obtenção e na qualidade da resposta voltamétrica. Desta forma decidiu-se construir diferentes eletrodos à base de CNTs como os de pasta de CNTs e os eletrodos de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs e o comportamento eletroquímico destes foi avaliado em um par redox conhecido (ferro/ferricianeto). Após esta etapa foram realizados estudos utilizando hidroquinona a fim de investigar uma possível aplicação analítica destes eletrodos.

3.1- Eletrodos de Pasta de CNTs/Grafite

3.1.1- Efeito da Composição da Pasta de CNTs/Grafite

A composição da pasta nos eletrodos do tipo pasta de carbono é um fator importante na resposta voltamétrica obtida e, assim, foi feito um estudo para avaliar o efeito da composição do eletrodo no seu comportamento voltamétrico.

Segundo Trijueque^{72,73} as partículas de grafite se comportariam como um multimicroeletrodo, ao estabelecer contato físico. Seguindo a teoria de percolação os autores estabeleceram que 62% de grafite seria a composição ótima para sistemas compósitos à base de grafite. Assim, optou-se por preparar eletrodo de pasta de CNTs e grafite com quantidade total de condutor correspondente a 60% em massa.

Os eletrodos de pasta de CNTs/Grafite preparados em diferentes composições contendo de 10-90% m/m de CNTs foram avaliados por voltametria cíclica em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,5 mol L⁻¹ e

comparados com a resposta de um eletrodo de pasta de carbono não modificado. Na Figura 3.1 apresenta-se um resultado típico obtido.

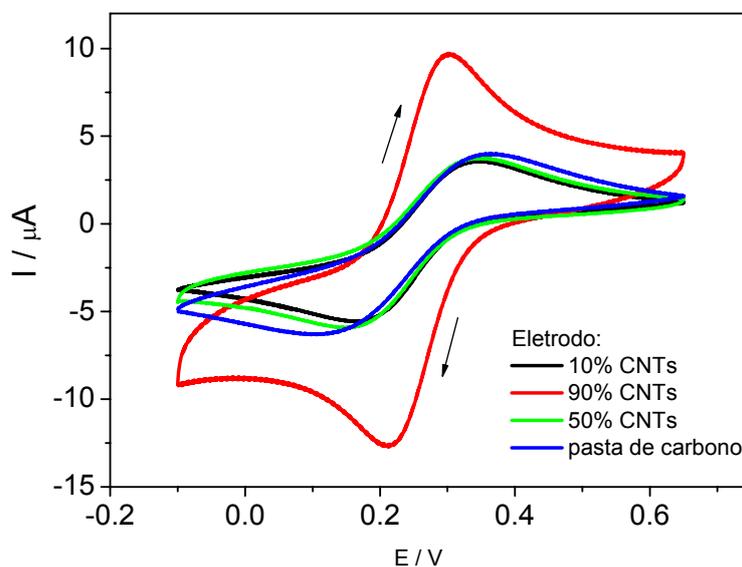


FIGURA 3.1- Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos de pasta de CNTs/Grafite em diferentes proporções, usando uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]=5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $KCl 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

Na Figura 3.1 observa-se o comportamento típico do par redox ferro/ferri para todos os eletrodos avaliados com pequenas diferenças entre as curvas. O eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) apresenta uma maior corrente de pico e uma maior reversibilidade, observada pela menor separação entre o pico catódico e anódico e estes são parâmetros importantes para a aplicação destes eletrodos em eletroanalítica, pois melhora a sensibilidade e indica que a reação de transferência de carga é mais rápida. Nas outras composições não se observa nenhum ganho significativo com a adição dos CNTs ao grafite.

3.1.2- Microscopia Eletrônica de Varredura

A morfologia dos eletrodos de pasta de CNTs/Grafite e de carbono puro foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura e as micrografias obtidas após abrasão com lixa d'água 600, são apresentadas na Figura 3.2.

Observa-se que não é possível detectar uma variação significativa na morfologia dos eletrodos com o aumento do conteúdo de CNTs em comparação ao eletrodo de pasta de carbono. Entretanto, pode-se diferenciar uma pequena variação no tamanho dos aglomerados. Para a composição de 10% (CNTs, m/m) a superfície apresenta-se ainda muito semelhante à superfície observada para o eletrodo de pasta de carbono. Nas composições de 50 e 90% (CNTs, m/m) as superfícies mostram-se um pouco mais rugosas, apesar do polimento. Em todos os casos tem-se uma superfície homogênea.

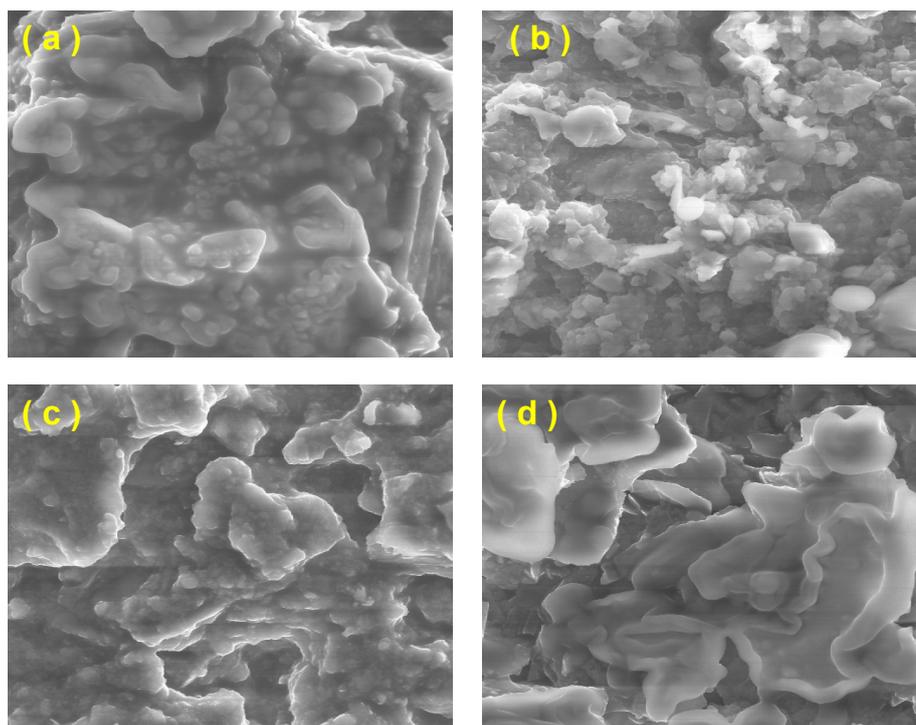


FIGURA 3.2 – Micrografias dos eletrodos (a) 10%, (b) 90%, (c) 50% e (d) pasta de carbono. Aumento 1000 x.

3.1.3- Estimativa da Área dos Eletrodos de Pasta CNTs/Grafite

As áreas efetivas dos eletrodos de pasta de CNTs/Grafite foram determinadas utilizando-se cronocoulometria em solução 5,0 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em KCl 0,5 mol L⁻¹, aplicando um pulso de potencial de 0,4 a 0 V, com duração de 1 segundo.

No uso de cronocoulometria para estimar a área efetiva dos eletrodos usou-se a forma integrada da Equação de Cottrell⁷⁰ (Equação 3.1):

$$q = \frac{2nFAD_0^{1/2}C_0}{\pi^{1/2}} \frac{1}{t^{1/2}} \quad (\text{Equação 3.1})$$

sendo,

q - carga determinada (C)

A - área (cm²)

F - constante de Faraday (96487 eq⁻¹)

C- concentração do reagente na solução (mol cm⁻³)

D – coeficiente de difusão de [Fe(CN)₆]³⁻ (7,6.10⁻⁶ cm² s⁻¹)

t – tempo (s)

Gráficos de carga (q) em função de tempo^{1/2} fornecem retas com coeficiente angular (CA), que se relaciona com a área do eletrodo pela Equação 3.2, segundo a qual a área do eletrodo é diretamente proporcional ao coeficiente angular da reta:

$$A = \frac{(CA)\pi^{1/2}}{2nFD_0^{1/2}C_0} \quad (\text{Equação 3.2})$$

A Tabela 3.1 descreve os resultados obtidos onde se pode verificar que os eletrodos de pasta de CNTs apresentam uma área efetiva maior que o de pasta de carbono. Todos os eletrodos de pasta de CNTs/Grafite apresentam

áreas efetivas maiores que as áreas geométricas de $4,5 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$, esperada para diâmetro de 0,12 cm.

TABELA 3.1 – Valores da área efetiva dos eletrodos de pasta de CNTs/Grafite e do eletrodo de pasta de carbono, determinadas utilizando cronocoulometria

<i>Eletrodo</i>	Área / cm^2
Pasta de carbono	0,057
Pasta de CNTs 90%	0,259
Pasta de CNTs 50%	0,123
Pasta de CNTs 10%	0,133

Com base nos resultados do estudo de composição dos eletrodos de pasta de CNTs/Grafite, MEV e área efetiva, optou-se por utilizar o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) para comparação com eletrodos de filme de CNTs em aplicações analíticas.

3.1.4- Efeito da Velocidade de Varredura

O efeito da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica dos eletrodos de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) foi investigado em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos variando as velocidades de varredura de 5 a 100 mV s^{-1} são apresentados na Figura 3.3.

Os voltamogramas cíclicos mostram que há um aumento linear da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura e um deslocamento dos potenciais de picos anódico e catódico, sugerindo um processo controlado pela transferência de massa.

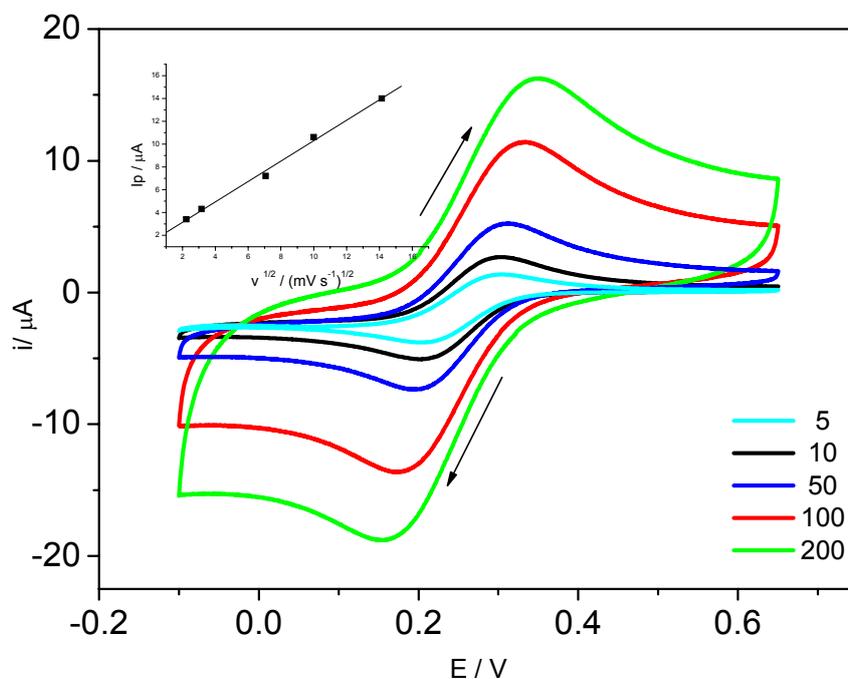


FIGURA 3.3 - Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura utilizando eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Inserção $t - I_{pa}$ vs. $v^{1/2}$

3.2- Eletrodos de Filme de CNTs

3.2.1- Comportamento Voltamétrico

A resposta voltamétrica do eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs foi investigado em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas obtidos variando as velocidades de varredura de 5 a 100 mV s^{-1} são apresentados na Figura 3.4. A comparação do comportamento voltamétrico dos dois tipos de eletrodo à base de CNTs pode ser melhor visualizada na Figura 3.5, onde se apresenta a sobreposição dos CVs obtidos a 5 mV s^{-1} .

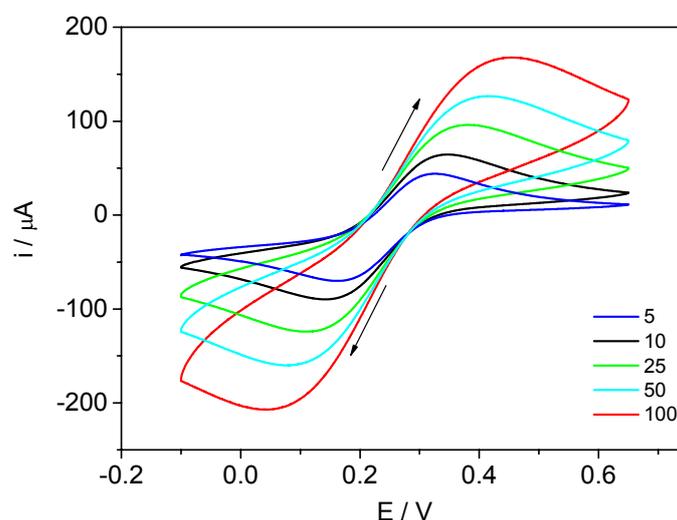


FIGURA 3.4 - Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura utilizando eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Comparando-se as Figuras 3.3 e 3.4 observa-se que para os eletrodos de filme o processo redox é menos reversível (maior separação entre processo anódico e catódico) e os picos não estão bem definidos. Esse resultado indica que a reação de transferência de carga é dificultada neste tipo de eletrodo.

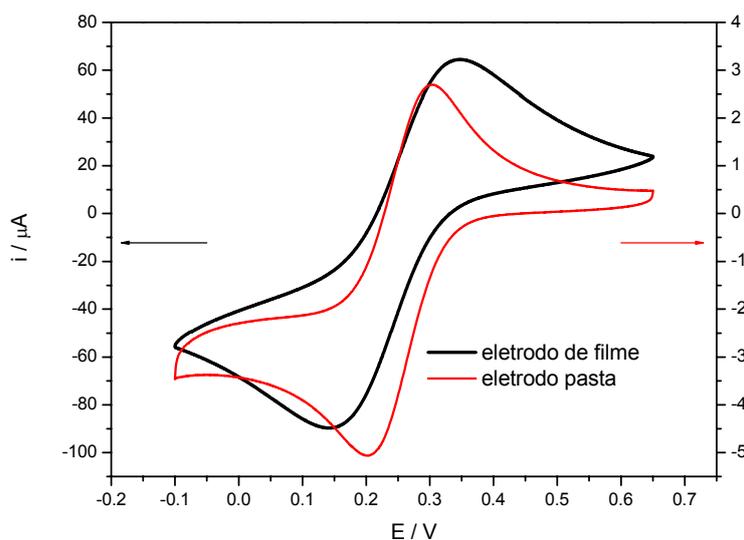


FIGURA 3.5 - Voltamogramas cíclicos obtidos em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para os eletrodos de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$

A maior corrente de pico observada para o eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs é atribuída à maior área geométrica deste eletrodo, o que não sugere um melhor desempenho analítico. Para avaliar o desempenho analítico destes eletrodos à base de CNTs, em termos de sensibilidade, é necessário utilizar densidade de corrente e não corrente de pico.

3.3- Avaliação das Potencialidades Analíticas dos Eletrodos

3.3.1- Desempenho do Eletrodo de Pasta CNTs/Grafite na Determinação de Hidroquinona

O eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) foi testado empregando a técnica de voltametria cíclica para investigar os potenciais de oxidação e redução da hidroquinona e o resultado obtido é apresentado na Figura 3.6. O uso de hidroquinona na avaliação das potencialidades analíticas dos eletrodos à base de CNTs é atribuído ao seu perfil voltamétrico quase-reversível e muito conhecido na literatura.

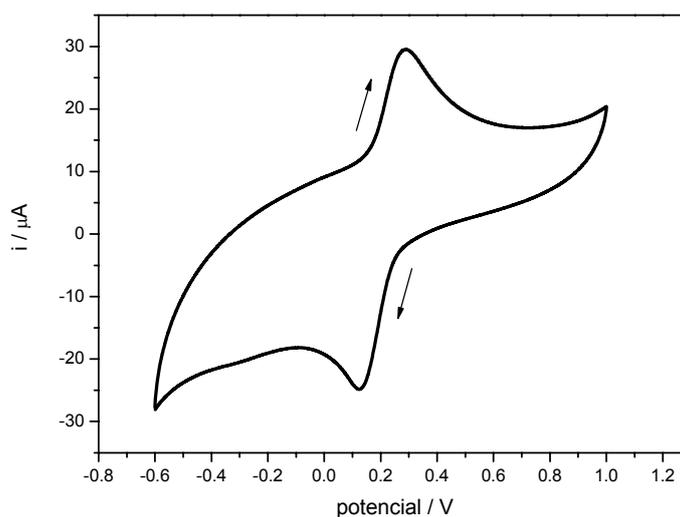
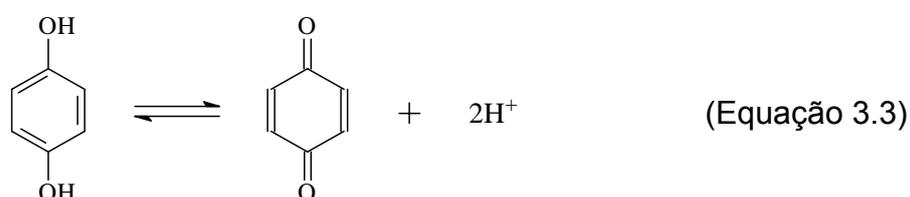


FIGURA 3.6 – Voltamograma cíclico obtido com eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m), em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em tampão acetato pH 4,0 e $v = 5$ mV s^{-1} .

Na Figura 3.6 é possível observar os picos característicos de oxidação/redução da hidroquinona correspondentes a reação reversível dada abaixo:



A voltametria cíclica é considerada uma técnica com potencialidades para investigação de mecanismos, porém apresenta aplicabilidade limitada em determinações quantitativas, nas quais a corrente capacitiva é relativamente alta. Desta forma decidiu-se avaliar o comportamento do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite em voltametria de pulso diferencial.

Inicialmente foi feito um estudo para avaliar o efeito da amplitude de pulso (A) sobre a resposta do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m). Os resultados obtidos variando as amplitudes de pulso de 10 a 100 mV em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão acetato pH 4,0 são apresentados na Figura 3.7. Após esse estudo optou-se por usar amplitude de pulso de 100 mV, por apresentar uma maior sensibilidade, aliada a um perfil voltamétrico melhor definido.

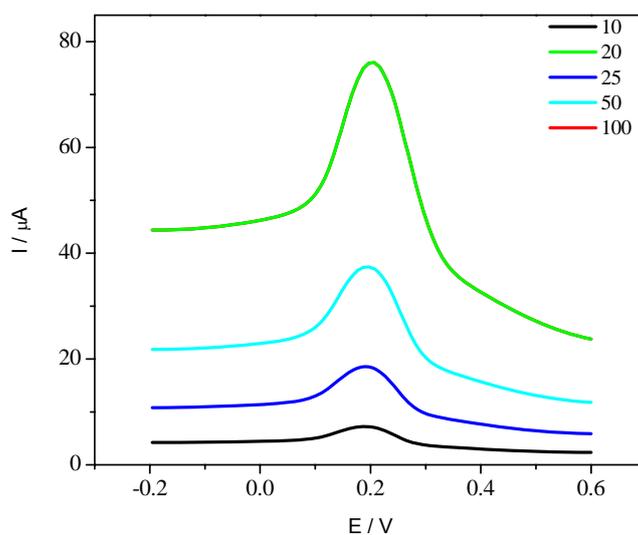


FIGURA 3.7 – Efeito da amplitude de pulso na resposta do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m), em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão acetato pH 4,0 utilizando voltametria de pulso diferencial. $v = 20$ mV s⁻¹.

Usualmente amplitudes de pulso elevadas levam a distorção na forma do pico em DPV, entretanto, neste caso, isto não foi observado e as vantagens do uso de pulso elevado em termos de corrente de pico e sensibilidade puderam ser aproveitadas.

Também efetuou-se um estudo variando a velocidade de varredura de 5 a 100 mV s^{-1} a fim de avaliar o efeito deste parâmetro sobre a resposta do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m), Figura 3.8.

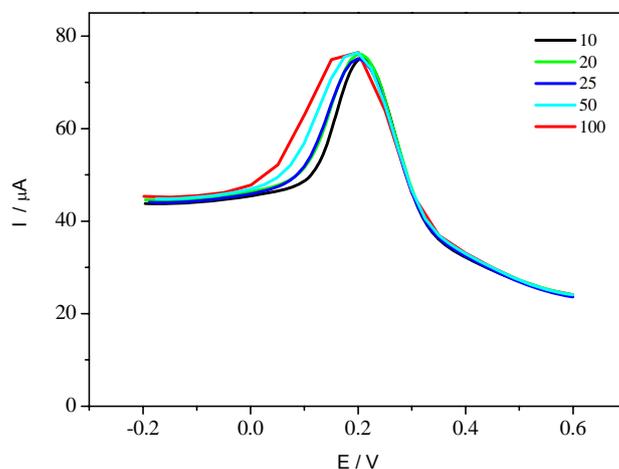


FIGURA 3.8 – Efeito da velocidade de varredura em solução de hidroxiquinona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4,0 utilizando voltametria de pulso diferencial, com $A=100 \text{ mV}$ no eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m).

Apesar de ocorrer um aumento na intensidade de corrente com velocidade de 25, 50 e 100 mV s^{-1} , optou-se por utilizar a velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} nos demais experimentos, por ocorrer perda de resolução no pico de corrente, como observado na Figura 3.8 para velocidade maiores que 25 mV s^{-1} .

Para observar a repetibilidade da resposta do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) em voltametria de pulso diferencial, foi realizado um estudo no qual mediram-se as correntes de pico para solução de hidroxiquinona $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4,0, em dez replicatas. Os resultados obtidos apresentaram um valor médio de $3,99 \times 10^{-5} \text{ A}$ e desvio padrão de $0,047 \times 10^{-5} \text{ A}$. Com base nestes resultados, conclui-se que o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) apresenta repetibilidade adequada para a quantificação de hidroxiquinona por DPV, quando submetida a sucessivas regenerações de superfície. Isto é importante porque a hidroxiquinona adsorve ao eletrodo, sendo necessário lixar a superfície após cada determinação.

Após otimizar as condições experimentais foi obtida uma curva analítica para o sistema, adicionando diferentes concentrações de hidroquinona da ordem de 10^{-5} mol L⁻¹ em tampão acetato pH 4,0. As medidas voltamétricas foram realizadas com renovação da superfície do eletrodo

A Figura 3.9 mostra a curva resultante, que obedece à equação I_{pa} (μA) = 0,443 (μA) + 0,217 [hidroquinona] (10^{-5} mol L⁻¹), com $r = 0,9998$ ($n = 5$) no intervalo de concentração de $1,99 \times 10^{-5}$ a $1,92 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $2,30 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. O limite de detecção foi calculado usando a equação⁷⁴:

$$\frac{3 S_d}{CA} \quad (\text{Equação 3.4})$$

sendo,

Sd – desvio padrão do branco

CA – coeficiente angular da reta

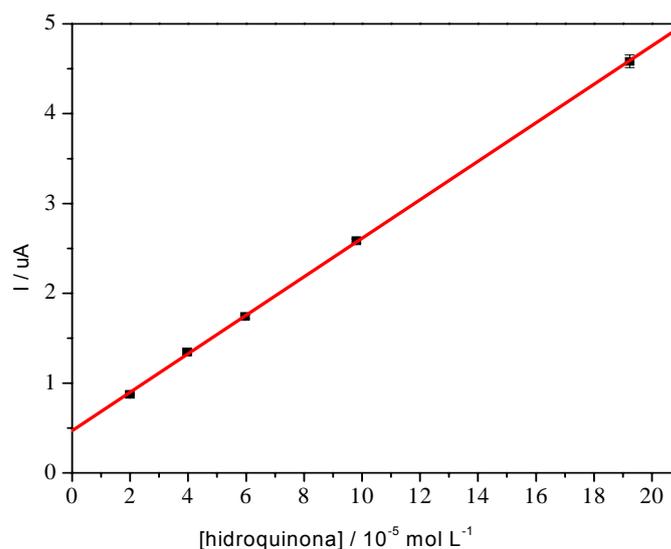


FIGURA 3.9 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) tampão acetato pH 4,0, contendo diferentes concentrações de hidroquinona.

O teor de hidroquinona presente em revelador fotográfico foi determinado pelo método de adição de padrão, nas condições especificadas na parte experimental e a curva obtida está representada na Figura 3.10.

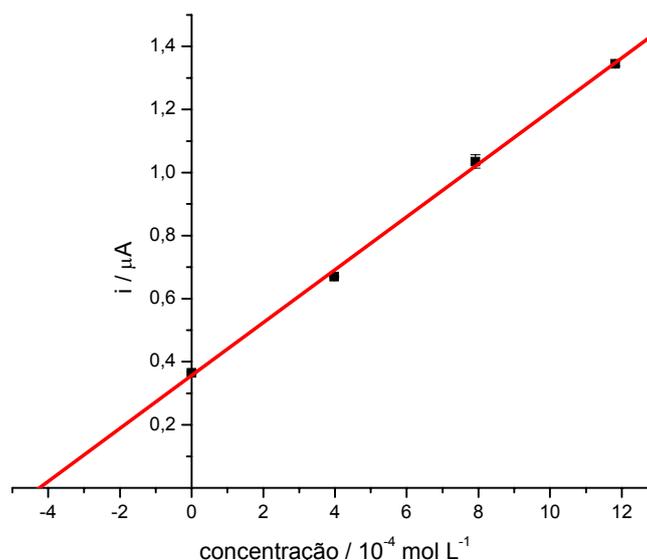


FIGURA 3.10 – Curva de adição de padrão para a amostra de revelador fotográfico usando o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com v de 20 mV s⁻¹ e A de 100 mV.

Na Tabela 3.2 são apresentados os resultados obtidos na determinação da hidroquinona com o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite, que apresenta variação de 1,2%, e concordam com os valores encontrados na literatura comparar⁵⁰.

TABELA 3.2 - Resultados da determinação de hidroquinona em revelador fotográfico usando o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) e DPV

Valor rotulado	<i>Hidroquinona /</i>	
	<i>mg g⁻¹</i>	
	Valor encontrado	Varição* / %
	(DPV)	
50	50,6	1,2

* variação relativo ao rótulo.

Pode-se concluir, então, que quando se utiliza eletrodo de pasta de CNTs/Grafite na determinação de hidroquinona se tem resultados próximos do

rotulado, sendo possível a utilização do método proposto na determinação de hidroquinona em reveladores fotográficos.

3.2.2- Desempenho do Eletrodo de GC/Filme de CNTs na Determinação de Hidroquinona

Foi feita uma comparação entre a resposta do eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs e do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) para a determinação da hidroquinona.

A Figura 3.11 apresenta voltamograma cíclico para hidroquinona no eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs. Quando comparados, sob as mesmas condições experimentais, os voltamogramas apresentados nas Figuras 3.10 e 3.6 mostram que o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m) comporta-se melhor em termos de reversibilidade, pela menor separação entre o pico catódico e anódico.

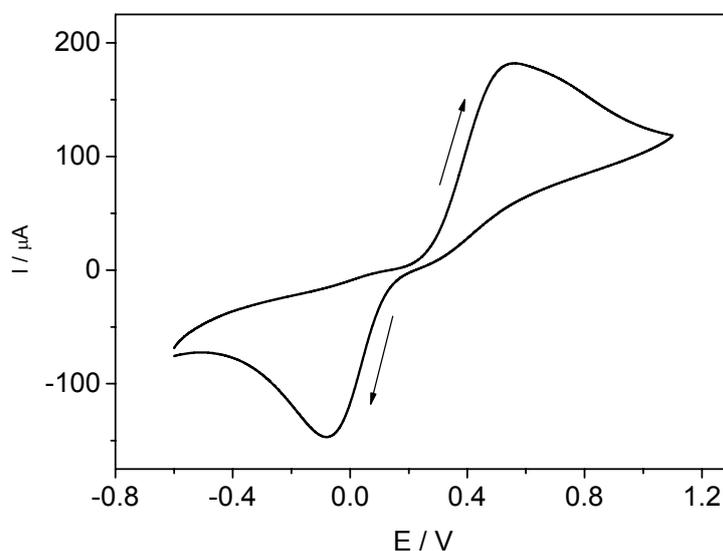


FIGURA 3.11 – Voltamograma cíclico obtido com eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs em solução de hidroquinona $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato pH 4,0.

Nesse caso também foi utilizada a técnica de voltametria de pulso diferencial para a determinação de hidroquinona e os parâmetros de obtenção

das curvas voltamétricas foram otimizados da mesma maneira e são listados na Tabela 3.3.

TABELA 3.3 - Parâmetros otimizados na determinação de hidroquinona

Parâmetro	Intervalo	Selecionado
Amplitude de pulso / mV	10-100	50
Velocidade de varredura / mv s^{-1}	10-100	10

A curva analítica obtida para este eletrodo nas condições otimizadas pode ser observada na Figura 3.12, que apresenta a média de três determinações.

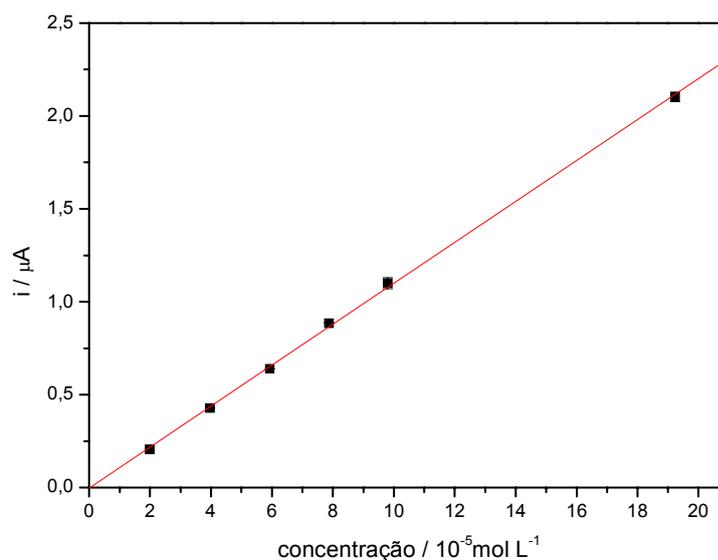


FIGURA 3.12 – Curva analítica obtida para o eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs, com v de 10 mV s^{-1} e $A = 50 \text{ mV}$.

Foram comparadas figuras de mérito como região linear e limite de detecção para o eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de CNTs e o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m). A Tabela 3.4 resume os resultados obtidos.

TABELA 3.4 – Figuras de mérito referentes à determinação de hidroquinona usando o eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs e eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m)

<i>Eletrodo</i>	<i>Região linear / mol L⁻¹</i>	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>LD / mol L⁻¹</i>
GC com filme de CNTs	$1,99 \times 10^{-5} - 1,98 \times 10^{-4}$	6	0,999	$3,64 \times 10^{-6}$
Pasta CNTs/Grafite	$1,99 \times 10^{-5} - 1,98 \times 10^{-4}$	5	0,999	$2,30 \times 10^{-6}$

Observando a Tabela 3.4 nota-se que ao utilizar o eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme CNTs o limite de detecção apresentou-se maior que o encontrado utilizando o eletrodo de pasta de CNTs/Grafite 90% (CNTs, m/m), enquanto a região linear apresentou-se a mesma.

Durante a caracterização do eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs em técnica voltamétrica de pulso diferencial, foi observado que a hidroquinona adsorve sobre a superfície do eletrodo. Para um possível aproveitamento analítico deste eletrodo em voltametria de pulso diferencial, seria necessária uma limpeza do eletrodo ciclando-o em solução ácida. Este tratamento levaria a um aumento no tempo de análise e também a uma dificuldade de repetibilidade de resposta. Outro fato também observado durante a caracterização do eletrodo de carbono vítreo recoberto com filme de CNTs é a falta de aderência do filme de CNTs sobre o substrato de carbono vítreo; após um período de trabalho o filme de CNTs se desprendia do eletrodo de carbono vítreo, sendo necessária a repetição de todo o procedimento. Além disto, muitas dificuldades foram observadas no processo de preparo do eletrodo de filme CNTs.

Considerando os resultados obtidos tanto para $K_3[Fe(CN)_6]$ como para hidroquinona, e levando-se em conta a dificuldade na limpeza e na aderência do filme de CNTs sobre o eletrodo de carbono vítreo, o eletrodo na forma de pasta foi selecionado para aplicações analíticas.

CAPÍTULO 4

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS ELETRODOS DE PASTA DE CNTs

4.1- Efeito da Composição CNTs-Óleo Mineral no Comportamento Voltamétrico

Uma das maiores dificuldades encontradas no uso de eletrodos de pasta de CNTs/Grafite é a dificuldade de homogeneização do material o que poderia dificultar o processo de preparação/renovação da superfície do eletrodo, com conseqüente perda de repetibilidade.

Com base nos resultados do capítulo anterior e considerando a dificuldade de homogeneização do material, optou-se por utilizar eletrodo de pasta de CNTs puro, isto é, sem a adição de grafite, já que apenas os eletrodos contendo 90% de CNTs levaram a um aumento na sensibilidade. Além disto, um dos objetivos do trabalho é a introdução de modificadores químicos na matriz do eletrodo, para melhorar a sensibilidade e seletividade de resposta. A introdução de modificadores químicos na matriz do eletrodo leva a um aumento no número de fases e conseqüentemente a um aumento na dificuldade de homogeneização do material.

Definido que o eletrodo a ser utilizado neste trabalho seria de pasta de CNTs puro foi iniciado um estudo a respeito da composição CNTs-nujol na pasta. Para isso medidas voltamétricas foram realizadas em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando os eletrodos preparados em diferentes composições CNTs-nujol, contendo de 40-70% de CNTs, em massa. Valores maiores de CNTs não foram avaliados por não ser possível uma boa agregação do material com uma quantidade pequena de nujol. A Figura 4.1 apresenta um resultado típico obtido.

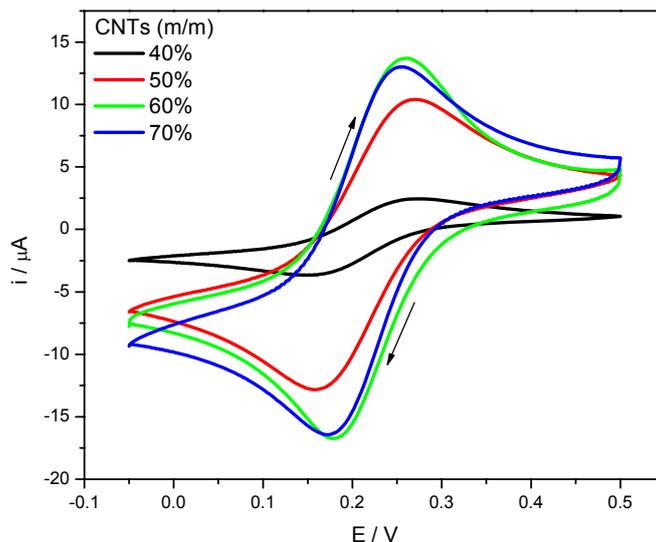


FIGURA 4.1- Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodo de pasta de CNTs em diferentes proporções, usando uma solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]=5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Pode-se observar que ocorre um aumento na corrente de pico com o aumento da quantidade de CNTs, e é possível observar também que as composições de 60 e 70% de CNTs apresentam valores de corrente muito próximas. Devido a esta semelhança nos resultados e também devido à dificuldade no preparo do eletrodo de pasta de CNTs na composição de 70%, atribuída à dificuldade de homogeneização e no empacotamento da pasta no tubo de vidro, a composição de 60% foi selecionada para os demais estudos.

O efeito da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) foi investigado em solução $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 4.2. O comportamento observado é semelhante ao do eletrodo de pasta de CNTs/Grafite e já foi discutido anteriormente.

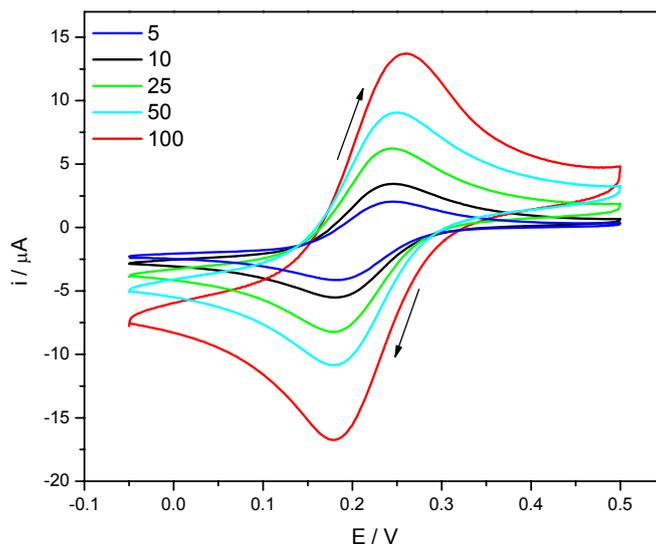


FIGURA 4.2 - Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura entre 5 e 100 mV s^{-1} e utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução 5,0 mmol L^{-1} de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em KCl 0,5 mol L^{-1} .

4.2- Intervalo de Potenciais em Diferentes Eletrólitos de Suporte

O desempenho do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) foi avaliado por CV em diferentes eletrólitos suporte, para verificar o intervalo útil de potenciais sob diferentes condições, Figura 4.3.

Os eletrólitos testados foram: H_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH 0,71); tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0); tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,1); tampão amônio 0,1 mol L^{-1} (pH 11,0) e NaOH 0,1 mol L^{-1} (pH 13,0). Foi observado, em todos os casos avaliados, uma corrente capacitiva característica dos CNTs, a qual apresentou diferentes intensidades quando se variou o eletrólito. A resposta voltamétrica tem estabilidade entre ciclos sucessivos. Nos extremos de potenciais observa-se um aumento exponencial de corrente, correspondentes a reação de desprendimento de oxigênio nos potenciais mais positivos e ao desprendimento de hidrogênio nos potenciais mais negativos.

Nos pHs 4,0 e 7,1 o potencial em que se inicia a reação de desprendimento de oxigênio ocorre em potenciais mais positivos do que para o carbono vítreo⁷⁵ indicando que houve um ganho na faixa de potencial de

trabalho quando se utiliza o eletrodo de pasta de CNTs. No entanto, a reação de desprendimento de hidrogênio ocorre em potenciais menos negativos do que o carbono vítreo neste intervalo de pH. Para os pHs 11,0 e 13,0 (Figuras 4.3.d e 4.3.e) o intervalo útil de potenciais assemelha-se ao observado em eletrodos de carbono vítreo.

Nas Figuras 4.4 a e b se tem uma ampliação dos voltamogramas obtidos em meio ácido e observa-se picos de oxidação e redução referentes a grupos carboxílicos presentes nos CNTs, resultantes do processo de produção.

Estes resultados mostram que o eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) pode ser empregado em determinações eletroanalíticas em que o processo ocorre em regiões de potenciais positivos onde os eletrodos de mercúrio não podem ser empregados, ou seja, se tem uma melhor utilização destes eletrodos nas reações de oxidação, como é observado nos demais eletrodo à base de carbono.

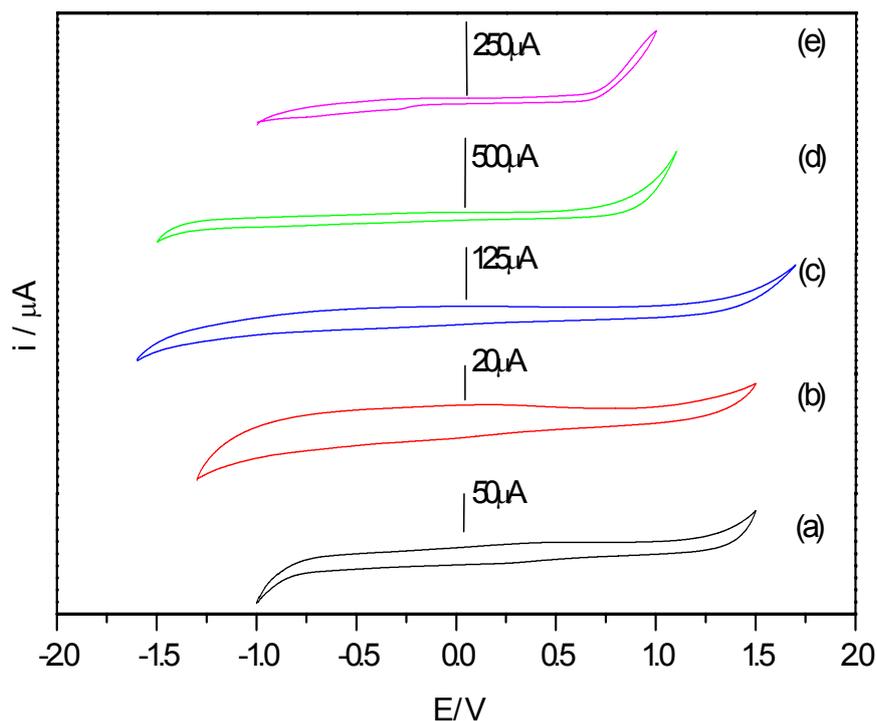


FIGURA 4.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em: (a) solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 0,71); (b) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0); (c) tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,1); (d) tampão amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 11,0) e (e) NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 13,0), $v = 25 \text{ mVs}^{-1}$.

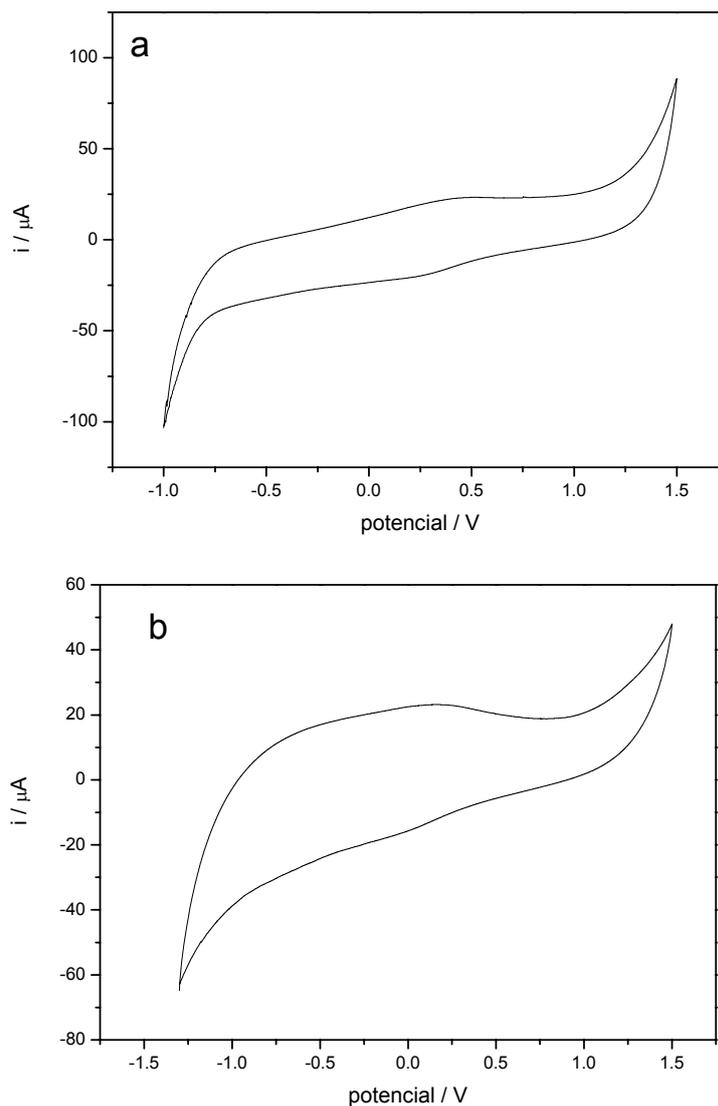


FIGURA 4.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em: (a) solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 0,71); (b) tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0).

4.3- Avaliação das Potencialidades Analíticas do Eletrodo de Pasta de CNTs

4.3.1- Determinação de Paraquat

Para avaliar as potencialidades analíticas do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) inicialmente foram realizados estudos utilizando o paraquat (MV) como analito teste, visto que este é um pesticida amplamente conhecido na literatura.

O eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) foi testado empregando a técnica de voltametria cíclica para investigar os potenciais oxidação e redução do paraquat e o resultado obtido é apresentado na Figura 4.5.

Este pesticida apresenta dois processos de oxi-redução correspondentes aos picos a1/c1 e a2/c2 observados na Figura 4.5. O par redox a1/c1 pode ser representado pela eq. 4.1 e o segundo processo a2/c2 pela eq. 4.2. Em seguida pode haver, segundo a literatura, a formação de um dímero, dado pela eq. 4.3 ⁷⁶.



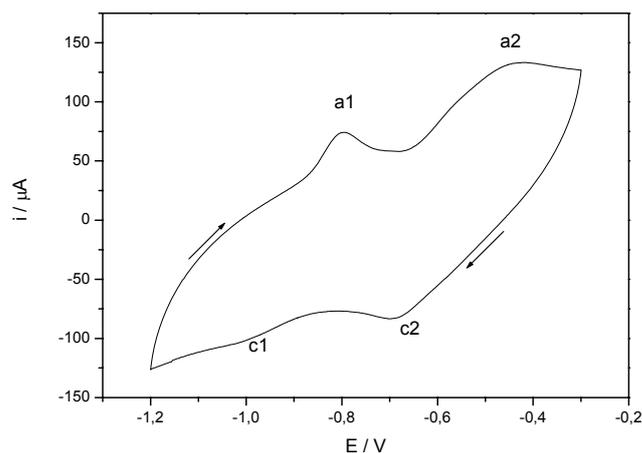


FIGURA 4.5 – Voltamograma cíclico obtido com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), em solução de paraquat $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de sulfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$.

Como foi empregada a técnica de voltametria de pulso diferencial nas análises posteriores, novamente se iniciou o estudo pela otimização dos parâmetros a serem utilizados. Os resultados obtidos variando as amplitudes de pulso de 5 a 100 mV em solução de paraquat $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de sulfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ são apresentados na Figura 4.6. Observa-se nesta figura que o processo avaliado foi o de redução e que há dois picos de redução bem definidos, como no caso da voltametria cíclica. Após esse estudo optou-se por usar amplitude de pulso de 100 mV, por apresentar uma maior sensibilidade, aliada a um perfil voltamétrico melhor definido.

Na análise do efeito da velocidade de varredura utilizou-se o intervalo de 5 a 100 mV s^{-1} e devido a fortes distorções observadas nos picos de correntes para velocidades de varredura superiores a 20 mV s^{-1} , optou-se por utilizar a velocidade de 10 mV s^{-1} nos demais experimentos.

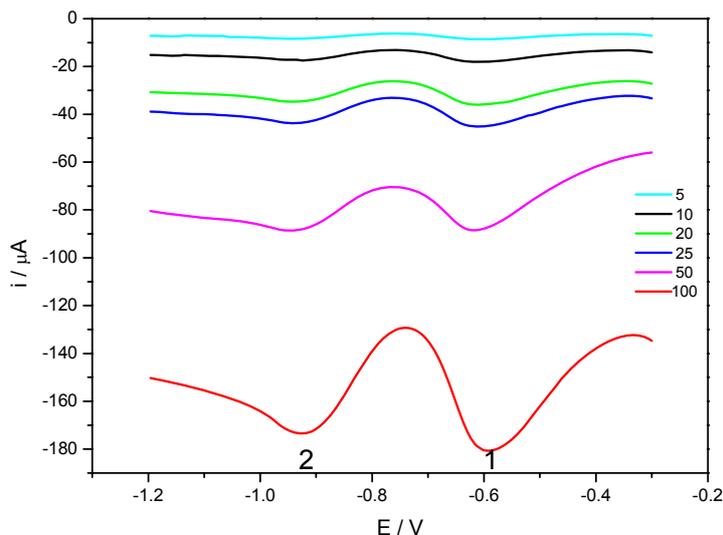


FIGURA 4.6 – Voltamogramas de pulso diferencial, em diferentes amplitudes, para o eletrodo de pasta de CNTs em solução de paraquat $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a v de 10 mV s^{-1} .

Após otimizar as condições experimentais para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) utilizando voltametria de pulso diferencial, foi obtida uma curva analítica para sistema utilizando o primeiro pico de redução. Vale salientar que o segundo pico de redução apenas foi observado para concentrações de paraquat superiores a $3,70 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

A Figura 4.7 mostra a curva resultante, cuja equação obtida foi $I_{pa} (\mu\text{A}) = 1,586 (\mu\text{A mol L}^{-1}) + 0,578 [\text{paraquat}] (10^{-5} \text{ mol L}^{-1})$, com $r = 0,9997$ ($n = 5$) no intervalo de concentração de paraquat de $1,99 \times 10^{-5}$ a $9,80 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $2,80 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

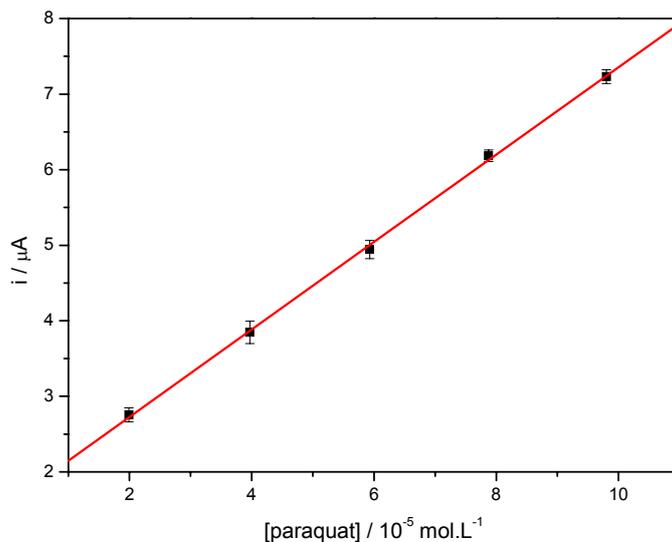


FIGURA 4.7 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução de sulfato de sódio 0,1 mol L⁻¹, contendo diferentes concentrações de paraquat. $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

Nota-se, por meio das figuras de mérito encontradas como região linear e limite de detecção, que o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) apresenta potencialidades analíticas para a determinação de paraquat em diferentes amostras. São encontrados na literatura inúmeros trabalhos sobre a determinação de paraquat, sendo observados limites de detecção menores⁷⁶. No entanto, nestes trabalhos normalmente são empregadas técnicas mais sensíveis que DPV, como voltametria de onda quadrada.

4.3.2- Determinação de Rutina

O eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) foi testado empregando a técnica de voltametria cíclica para investigar o mecanismo de oxidação de rutina e o resultado obtido é apresentado na Figura 4.8. A rutina apresenta um processo de oxi-redução atribuído ao grupo 3'4' dihidróxi substituído no anel B, como apresentado na Figura 1.7.

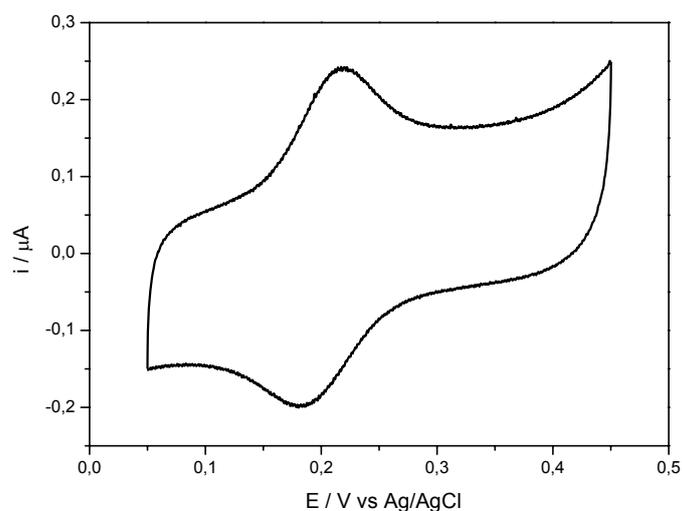


FIGURA 4.8 – Voltamograma cíclico obtidos com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), em solução de rutina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Após esta etapa, o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) foi empregando para a determinação de rutina, utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial e o resultado obtido (Figura 4.9) foi comparado ao obtido com o eletrodo pasta de carbono, nas mesmas condições.

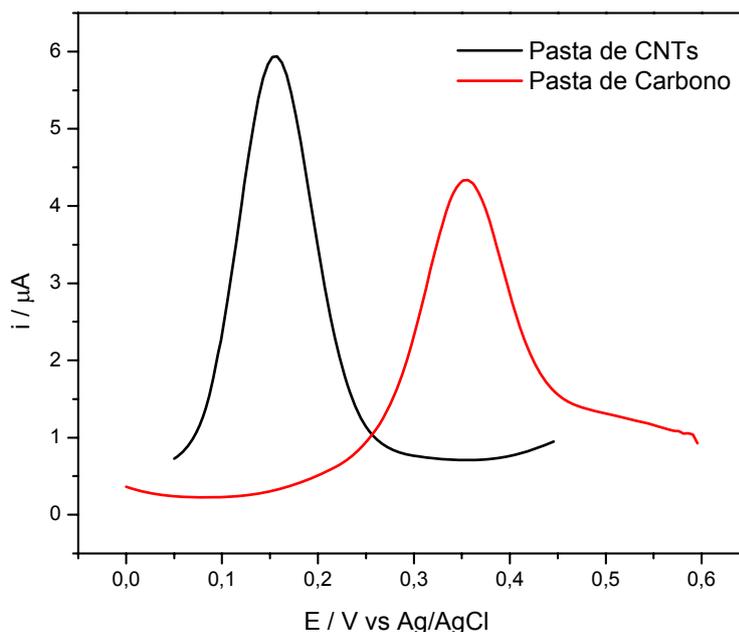


FIGURA 4.9 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) e eletrodo de pasta de carbono, em solução de rutina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1, $A = 100 \text{ mV}$ e $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

Na figura acima é possível observar que o processo de oxidação da rutina ocorre em 356 mV quando utilizado o eletrodo de pasta de carbono. Ao utilizar o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) este processo ocorre em 156 mV. Esta diminuição de 200 mV no potencial de oxidação indica efeito catalítico dos CNTs sobre a oxidação da rutina, atribuído a grupos funcionais contendo oxigênio, como grupos carboxílicos, sobre a superfície dos CNTs. Pode-se observar ainda, um ganho significativo na corrente de pico ao utilizar o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), indicando um melhor desempenho analítico.

O efeito do pH da solução sobre a resposta voltamétrica do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) para a determinação de rutina foi estudado no intervalo de pH de 4,2 e 9,1. As curvas obtidas são apresentadas na Figura 4.10.

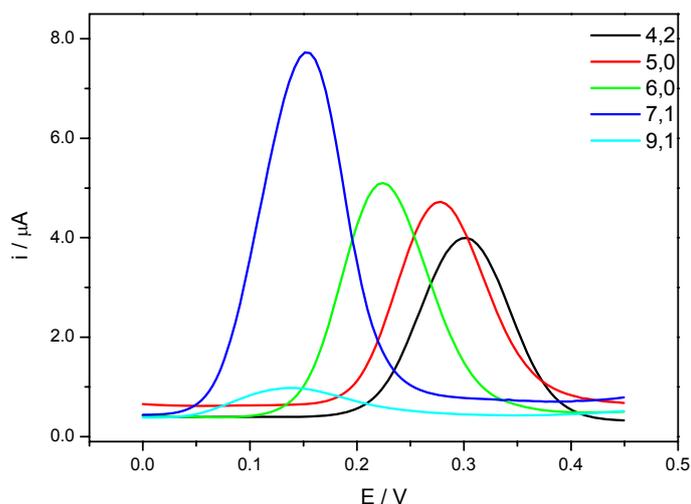


FIGURA 4.10 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes pHs para o eletrodo de pasta de CNTs em solução de rutina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato, A de 100 mV e v de 10 mVs^{-1} .

A corrente de pico para a oxidação de rutina é maior entre pHs 6,0 e 7,1 e o pH de 7,1, foi escolhido para os estudos posteriores. Nesse pH além de uma maior sensibilidade se tem um perfil voltamétrico melhor definido, sendo o mesmo utilizado em outros trabalhos da literatura⁶⁵.

Após esta etapa, foi feito um estudo para avaliar o efeito da amplitude de pulso e da velocidade de varredura sobre a resposta do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução de rutina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato pH 7,1 e os valores escolhidos foram de 100 mV e 10 mV s^{-1} .

Para observar a repetibilidade de resposta do eletrodo foi realizado um estudo no qual mediram-se as correntes de pico em dez replicatas, polindo-se o eletrodo entre cada medida voltamétrica. Os resultados obtidos apresentaram uma corrente média de $1,63 \text{ μA}$ e desvio padrão de $0,073 \text{ μA}$. Com base nestes resultados, conclui-se que o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) apresenta repetibilidade adequada para a quantificação de rutina por DPV, quando submetida a sucessivas regenerações de superfície. Isto é importante porque a rutina adsorve sobre o eletrodo, sendo necessário polir a superfície após cada determinação.

Após otimizar as condições experimentais para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) foi obtida uma curva analítica para o sistema adicionando diferentes concentrações de rutina em solução tampão fosfato pH

7,1. A Figura 4.11 mostra a curva resultante, cuja equação obtida foi $I_{pa} \text{ (A)} = -0,196 (10^{-8} \text{ A mol L}^{-1}) + 0,408 [\text{rutina}] (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, com $r = 0,9999$ ($n = 8$) no intervalo de concentração de rutina de $1,99 \times 10^{-7}$ a $9,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $3,39 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

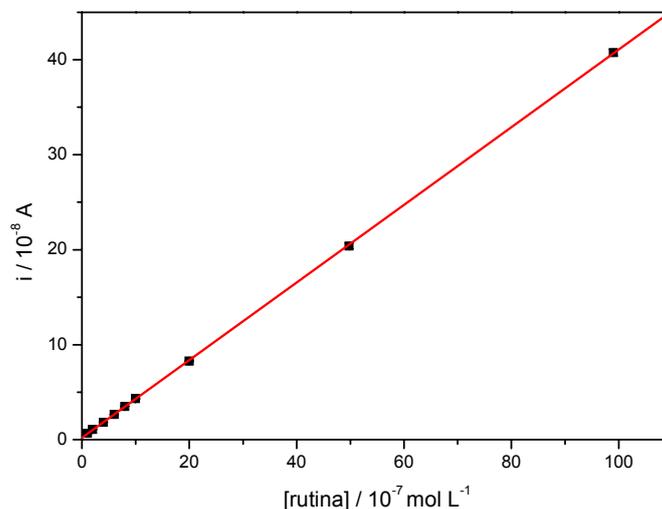


FIGURA 4.11 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução de tampão fosfato pH 7,1, contendo diferentes concentrações de rutina, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

Na literatura⁶⁵ são encontrados trabalhos com limites de detecção da mesma ordem de grandeza ao encontrado com o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), no entanto são utilizadas técnicas com pré-concentração o que leva a um aumento no tempo de análise.

O método de adições sucessivas de padrão foi utilizado na determinação do teor de rutina presente em formulação farmacêutica, usando as condições previamente otimizadas e com a metodologia descrita na parte experimental. Um exemplo da curva de adição de padrão obtida neste experimento pode ser observado na Figura 4.12.

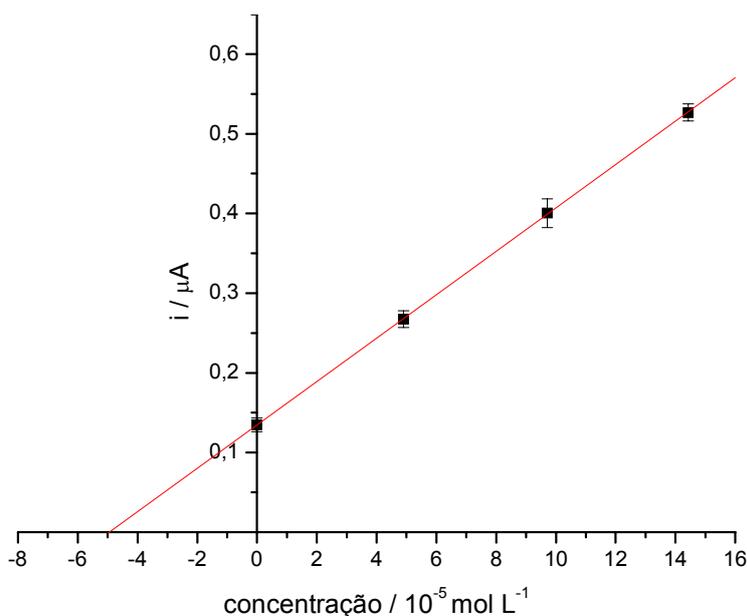


FIGURA 4.12 – Curva de adição de padrão para amostra de formulação farmacêutica usando o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com v de 10 mV s^{-1} e A de 100 mV .

Como método comparativo para a determinação de rutina foi utilizado o método padrão (MP) recomendado pela AOAC⁷¹ (espectroscopia de absorção no UV-Visível) e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.1.

TABELA 4.1 – Resultados da determinação de rutina presente em formulação farmacêutica usando o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em DPV comparado com o método padrão

Valor rotulado	<i>Rutina / mg ml⁻¹</i>			
	DPV ^a	MP ^b	Varição ₁ ^c / %	Varição ₂ ^d / %
20	19,9 ± 0,1	20,8 ± 0,1	-0,5	-4,3

a) média ± desvio padrão (n=3)

b) média ± desvio padrão (n=2)

c) $[(\text{DPV} - \text{rotulado}) / \text{rotulado}] \times 100\%$

d) $[(\text{DPV} - \text{MP}) / \text{MP}] \times 100\%$

Os resultados obtidos com método proposto apresentam coeficiente de recuperação entre 99,20 e 100,5%, e concordam com os valores encontrados

pelo método recomendado em 95% de confiança, de acordo com o teste t-Student.

Pode-se concluir que o método voltamétrico baseado no eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) leva a resultados próximos dos encontrados utilizando o método padrão da AOAC, sendo possível a utilização do método proposto na determinação de rutina em formulações farmacêuticas.

4.3.3- Determinação de Quercetina

O eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) foi testado empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial para investigar o mecanismo de oxidação de quercetina e o resultado obtido é apresentado na Figura 4.13. O pH selecionado para a determinação de quercetina foi de 7,1, o mesmo escolhido para a determinação de rutina, por pertencerem a mesma classe de flavonóides e apresentarem processos de oxidação semelhantes.

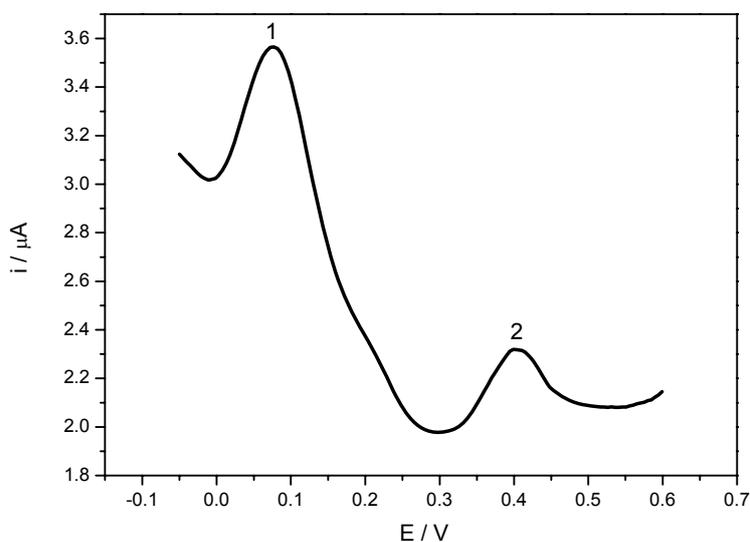


FIGURA 4.13 – Voltamograma de pulso diferencial obtido com eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), em solução de quercetina $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em tampão fosfato pH 7,1, $A = 100$ mV e $v = 10$ mV s^{-1} .

Nessa figura é possível observar dois processos de oxidação, sendo o primeiro em 82 mV correspondente a oxidação de 3'4' dihidróxi substituído no anel B e um segundo processo em 400 mV referente à oxidação da hidroxila substituída no anel C, como apresentado na Figura 1.9.

Para um possível aproveitamento analítico do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) na determinação de quercetina em voltametria de pulso diferencial, foram realizados estudos com relação à amplitude de pulso e a velocidade de varredura. Após esse estudo optou-se por usar amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de 10 mV s⁻¹ por apresentar uma maior sensibilidade, aliada a um perfil voltamétrico melhor definido.

A quercetina possui grupos carboidratos hidrofílicos que são capazes de acumular-se sobre a superfície de CNTs e devido a esta habilidade, a quercetina adsorve sobre a superfície do eletrodo levando a perda de repetibilidade. Assim, outro estudo foi feito medindo-se as correntes de pico em 10 replicatas, lixando-se a superfície do eletrodo entre cada medida, para observar a repetibilidade de resposta. Os resultados obtidos apresentaram correntes médias de $1,06 \pm 0,150 \mu\text{A}$ e de $0,421 \pm 0,067 \mu\text{A}$ para os picos 1 e 2, respectivamente. Nota-se, que o primeiro pico de oxidação apresenta maior corrente e melhor repetibilidade, sendo este pico selecionado para determinação de quercetina.

Após otimizar as condições experimentais foi obtida uma curva analítica para o sistema utilizando o primeiro pico de oxidação, adicionando diferentes concentrações de quercetina da ordem de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1. A Figura 4.14 mostra a curva resultante, cuja equação obtida foi $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,530 (\mu\text{A mol L}^{-1}) + 0,127 [\text{quercetina}] (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, com $r = 0,9999$ ($n = 6$) no intervalo de concentração de quercetina de $4,98 \times 10^{-6}$ a $3,85 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $5,43 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

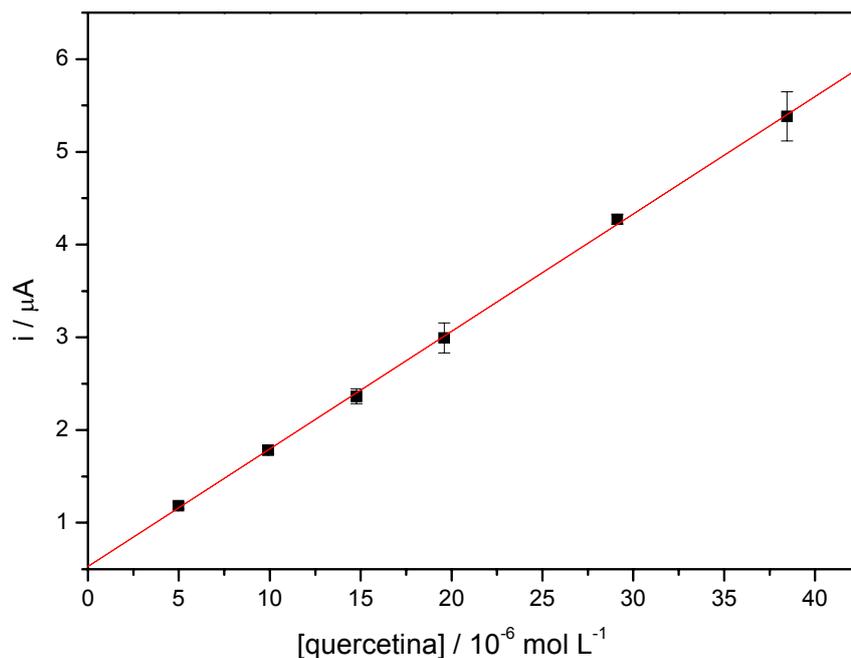


FIGURA 4.14 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) em solução de tampão fosfato pH 7,1, contendo diferentes concentrações de quercetina. $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

Pode-se concluir que o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) pode ser empregado para a determinação de quercetina em diversas amostras.

Modificadores químicos são amplamente utilizados em matrizes de eletrodos para melhorar a sensibilidade e seletividade de resposta. São encontrados na literatura alguns trabalhos sobre a formação de complexo entre a quercetina e cobre (II)^{77,78}. Assim, micropartículas de cobre foram introduzidas na matriz do eletrodo de pasta de CNTs para melhorar a sensibilidade e seletividade para a determinação de quercetina.

4.4- Avaliação das Potencialidades Analíticas do Eletrodo de Pasta de CNTs Modificados

4.4.1- Eletrodo Modificado com Micropartículas de Cobre

O cobre exerce ação catalítica sobre a oxidação de inúmeros compostos orgânicos, além de formar complexos com agentes quelantes. Com base nestas propriedades, micropartículas de cobre vem sendo utilizadas como modificador em eletrodos à base de CNTs^{22,79}.

Um estudo realizado por Valle *et al.*⁷⁷ mostrou a interação de íons cobre com a quercetina. Neste estudo foi observada a formação de complexo quercetina-Cu por meio de espectroscopia de UV-Visível e voltametria de onda quadrada.

Os relatos acima levaram a proposição de introduzir micropartículas de cobre na matriz do eletrodo de pasta de CNTs para a determinação de quercetina visando melhorar a sensibilidade e a seletividade deste tipo de eletrodo.

Inicialmente foi feito um estudo para avaliar o efeito da porcentagem de cobre no comportamento voltamétrico do eletrodo de pasta de CNTs. Este estudo foi realizado para evitar interferência do pico de oxidação do cobre sobre o processo de oxidação da quercetina.

Os eletrodos de pasta de CNTs preparados em diferentes composições contendo de 6-18%, em massa, de micropartículas de cobre foram avaliados por voltametria de pulso diferencial em solução de tampão fosfato, pH 7,1, para observar o processo de oxidação do cobre. Esses experimentos também foram realizados em solução de quercetina $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. A Figura 4.15 apresenta as curvas obtidas neste estudo.

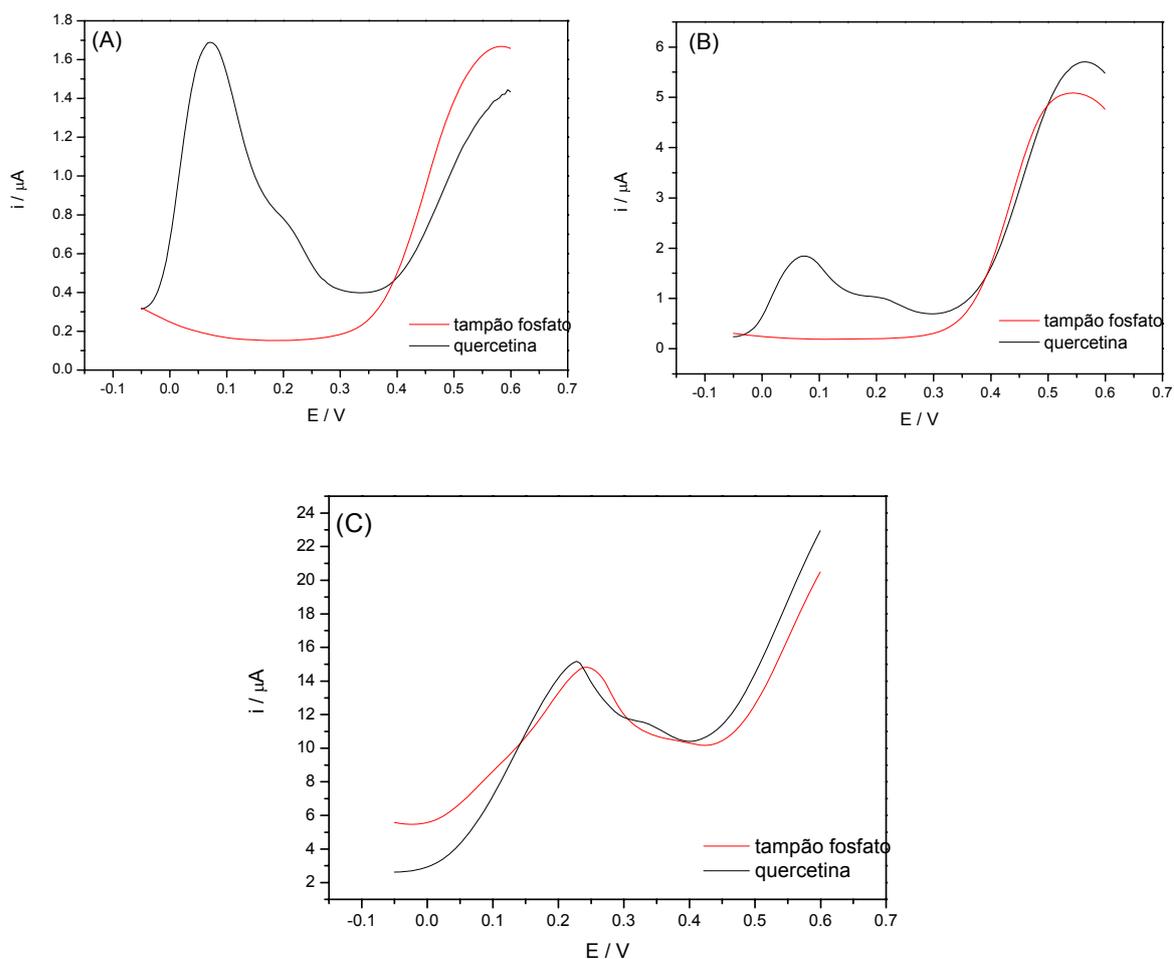


FIGURA 4.15 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com os eletrodos de pasta de CNTs modificados com micropartículas de cobre nas proporções de 6 (A), 10 (B) e 18% (C) utilizando solução tampão fosfato pH 7,1 e quercetina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a v de 10 mV s^{-1} e A de 100 mV .

Tal estudo demonstrou que com o aumento da porcentagem de cobre o pico referente ao processo de oxidação deste ocorre na mesma região de oxidação da quercetina. Este processo limita o uso de altas porcentagens de cobre como modificador em eletrodo de pasta CNTs. Assim a composição de 6% foi selecionada para os demais experimentos.

O efeito da amplitude de pulso sobre a resposta voltamétrica do eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) foi investigado em solução $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de quercetina em tampão fosfato pH 7,1. Os resultados obtidos variando as amplitudes de 10 a 100 mV são apresentados na Figura 4.16. Os voltamogramas mostram que, com o aumento da amplitude de pulso, ocorre

um aumento na intensidade de corrente, entretanto, também ocorre uma menor definição e separação dos picos de oxidação da quercetina. Desse modo, a amplitude de 10 mV foi selecionada para os demais estudos, apesar desta amplitude apresentar uma menor sensibilidade.

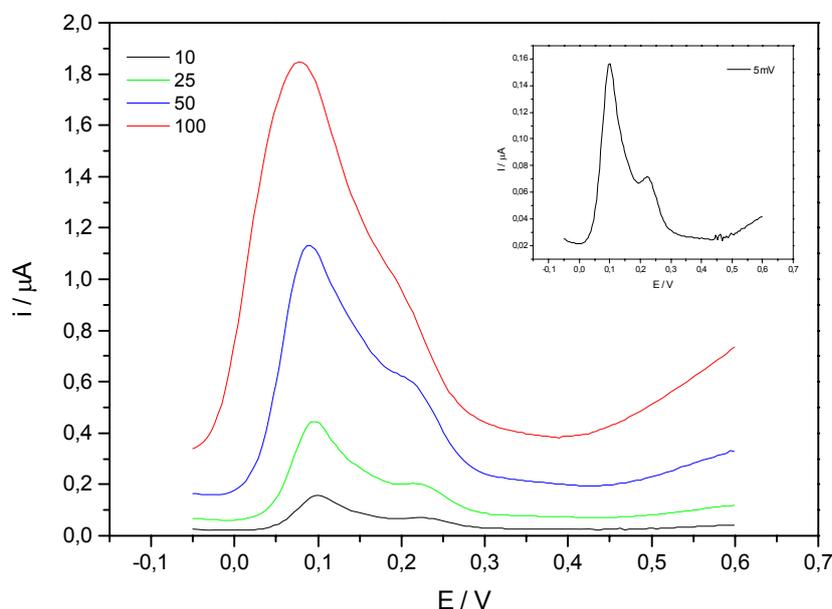


FIGURA 4.16 – Voltamogramas de pulso diferencial, em diferentes amplitudes de pulso, para o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m), em solução de quercetina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 a 10 mV s^{-1} .

Em seguida foi avaliada a velocidade de varredura para a solução de quercetina nas mesmas condições. As velocidades de varredura foram variadas de 5 a 25 mV s^{-1} e a velocidade de varredura selecionada foi de 5 mV s^{-1} , por apresentar uma maior definição e separação dos picos de oxidação da quercetina.

Quando se compara as curvas voltamétricas obtidas para os eletrodos sem e com micropartículas de cobre é possível observar o desaparecimento do segundo pico de oxidação da quercetina (400 mV), referente a oxidação da hidroxila substituída no anel C e o aparecimento de um novo pico em 230 mV (pico 3), Figura 4.17. Não se podem comparar as magnitudes de corrente por ter sido os voltamogramas obtidos em diferentes amplitudes e velocidades de varredura.

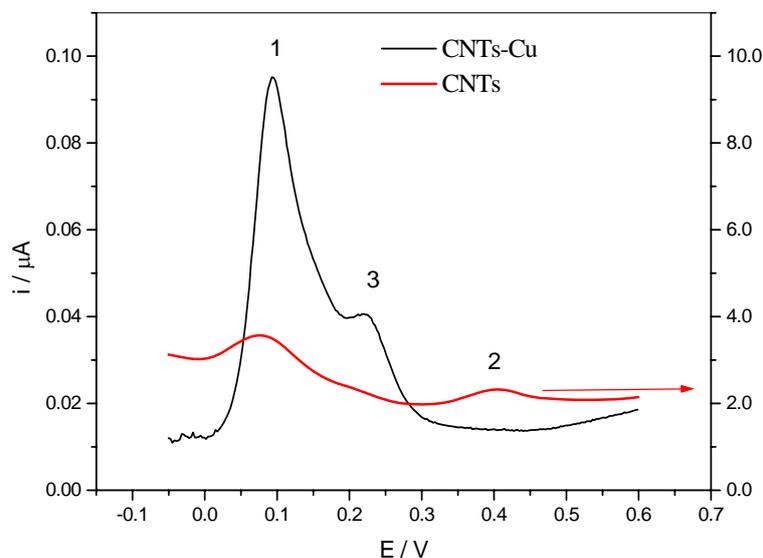
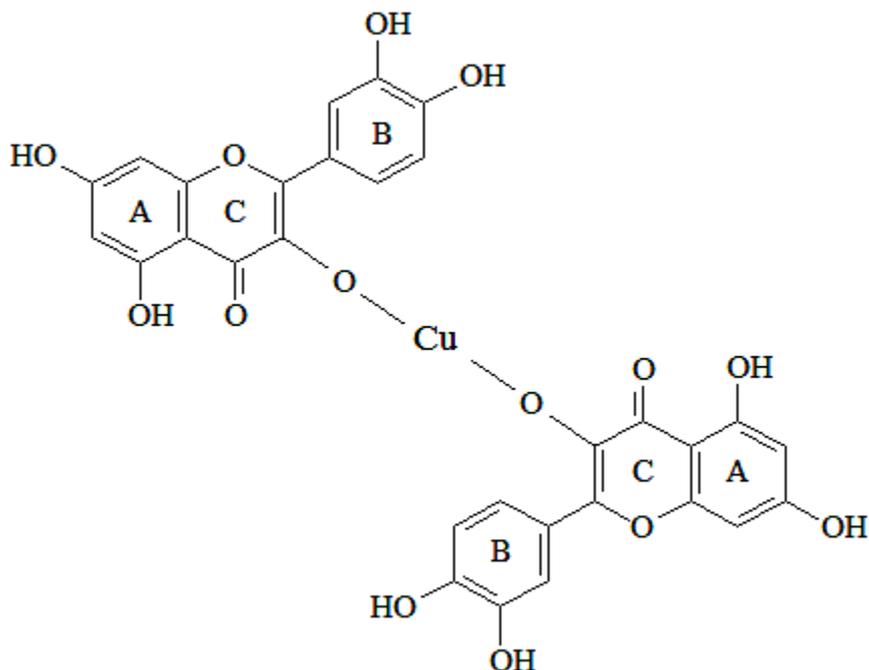


FIGURA 4.17– Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com os eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) a 10 mV s^{-1} e A de 100 mV e eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) a v de 5 mV s^{-1} e A= 10 mV utilizando solução de quercetina $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1.

Com base nestes resultados é possível sugerir a formação do complexo quercetina-Cu (II) por meio da ligação entre o anel C de quercetina e o Cu (II). Inicialmente, o cobre metálico é convertido a óxido de cobre por meio da aplicação de potencial, assim o cobre (II) presente na superfície do eletrodo é responsável pela formação do complexo. Um estudo realizado por Ni⁷⁸ utilizando um eletrodo de carbono vítreo mostrou que o processo de oxidação do complexo quercetina-Cu (II) ocorre em 213 mV o que sugere que o pico observado em 230 mV corresponde à oxidação do complexo quercetina-Cu (II). O complexo formado é apresentado a seguir:



Após esta etapa foi realizado um estudo para avaliar a repetibilidade de resposta do eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m), polindo-se o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) entre cada medida voltamétrica. Os resultados obtidos em dez replicatas, para o primeiro pico de oxidação, apresentaram um corrente média de 0,269 μA e desvio padrão de 0,011 μA .

Para a construção da curva analítica utilizando o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (m/m) também foi utilizado o primeiro pico de oxidação da quercetina. A Figura 4.18 mostra a curva resultante, cuja equação obtida foi I_{pa} (μA) = -0,075 ($10^{-9}\text{A mol L}^{-1}$) + 0,0032 [quercetina] ($10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$), com $r = 0,9996$ ($n = 6$) no intervalo de concentração de quercetina de $9,96 \times 10^{-7}$ a $9,62 \times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $2,36 \times 10^{-7}\text{ mol L}^{-1}$. Para concentrações maiores que $9,62 \times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$ as correntes de pico apresentam valores muito próximos, sugerindo saturação dos sítios ativos do eletrodo e indicando que realmente ocorre um processo de adsorção neste caso, como proposto anteriormente.

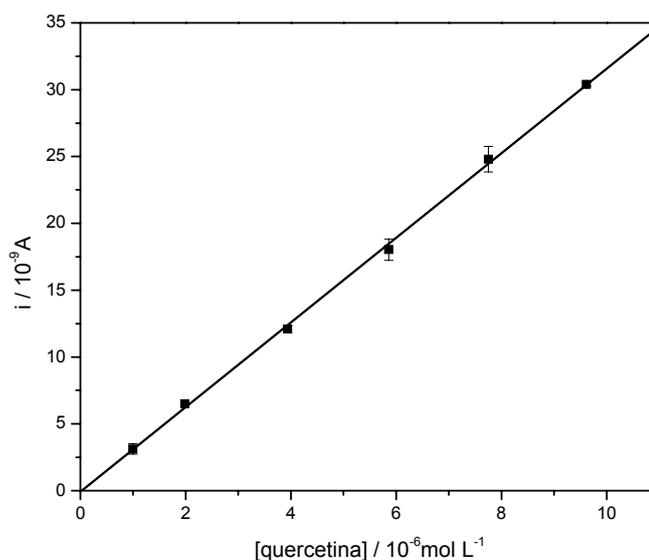


FIGURA 4.18 – Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (m/m) em solução tampão fosfato pH 7,1, contendo diferentes concentrações de quercetina, com $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 10 \text{ mV}$.

Foram comparadas figuras de mérito como região linear e limite de detecção para a determinação de quercetina utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) e eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m). A Tabela 4.2 resume os resultados obtidos.

TABELA 4.2 – Figuras de mérito referentes à determinação de quercetina usando o eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) e eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m)

Eletrode	Região linear/ mol L ⁻¹	n	r	Limite de detecção / mol L ⁻¹
Pasta de CNTs	$4,98 \times 10^{-6} - 3,85 \times 10^{-5}$	6	0,9999	$5,43 \times 10^{-7}$
Pasta de CNTs-Cu	$9,96 \times 10^{-7} - 9,62 \times 10^{-6}$	6	0,9996	$2,36 \times 10^{-7}$

Na Tabela 4.2 nota-se uma pequena diminuição no limite de detecção quando utilizado o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m). Esta pequena diminuição é atribuída ao complexo quercetina-Cu (II) ser formado sobre a

superfície do eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (m/m) por meio da interação entre íons Cu(II) e o anel C da quercetina. Limites de detecção menores ($2,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) foram encontrados na literatura⁶⁵, no entanto, estes trabalhos utilizaram técnicas com redissolução com pré-concentração, o que leva a um aumento no tempo de análise. Desta forma, o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) foi selecionado para a determinação de quercetina em amostras de suco de maçã.

4.4.1.1- Determinação de Quercetina em Suco de Maçã

O método de adições sucessivas de padrão foi utilizado na determinação do teor de quercetina presente em suco de maçã, usando as condições previamente otimizadas e o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m). Foram realizadas três adições sucessivas de 400 μL de uma solução estoque $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de quercetina em solução tampão fosfato pH 7,1 (Figura 4.19) sendo a curva de adição de padrão foi obtida em duplicata.

O método de UV-Vísivel também foi utilizado na determinação do teor de quercetina em suco de maçã e os resultados obtidos por DPV e por UV-Vísivel são apresentados na Tabela 4.3.

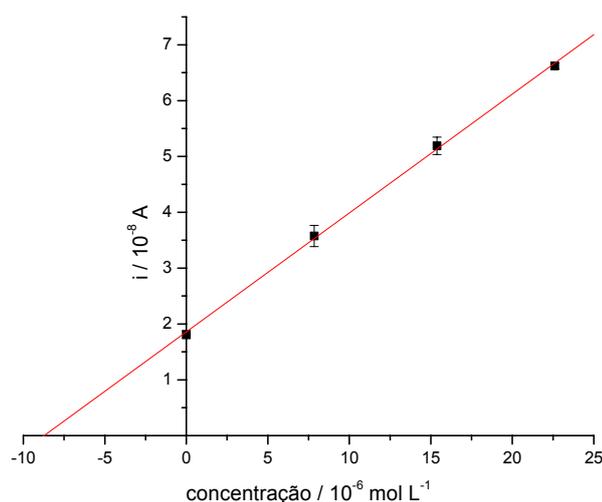


FIGURA 4.19 – Curva de adição de padrão para amostra de suco de maçã usando o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com v de 5 mV s^{-1} e A de 10 mV .

TABELA 4.3 – Resultados da determinação de quercetina presente em suco de maçã usando o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) em DPV comparado com espectroscopia de absorção UV-Vísivel

<i>Quercetina / mg L⁻¹</i>		
DPV^a	UV-Vísivel^b	Varição^c / %
144,85 ± 3,60	141,50 ± 2,12	2,37

a) média ± desvio padrão (n=2)

b) média ± desvio padrão (n=2)

c) [(DPV – UV-Vísivel) / UV-Vísivel] x 100%

Os resultados obtidos com o método proposto apresentam coeficiente de recuperação entre 98,80 e 102,9%, e concordam com os valores encontrados pelo método recomendado em 95% de confiança, de acordo com o teste t-Student¹¹, com variação menor que 3%. Estes resultados indicam a ausência de efeito de matriz. Sendo assim, o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) pode ser empregado para a determinação de quercetina em amostras de suco de maçã sem que haja a necessidade de pré-tratamento.

Estudos de Interferentes na Determinação de Quercetina

No preparo de sucos industrializados são utilizados acidulantes para conservação e conseqüente aumento do prazo a validade do mesmo. Um dos acidulantes mais comumente utilizados é o ácido cítrico e o efeito desta espécie sobre a resposta do eletrodo pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) na determinação de quercetina foi avaliado. Nesse caso foram realizadas curvas de recuperação fixando a concentração de quercetina e variando-se a concentração do ácido cítrico em até 100 vezes maior que a concentração de quercetina. Os resultados obtidos neste estudo são apresentados na Tabela 4.4. Um exemplo de uma curva de recuperação é apresentado na Figura 4.20.

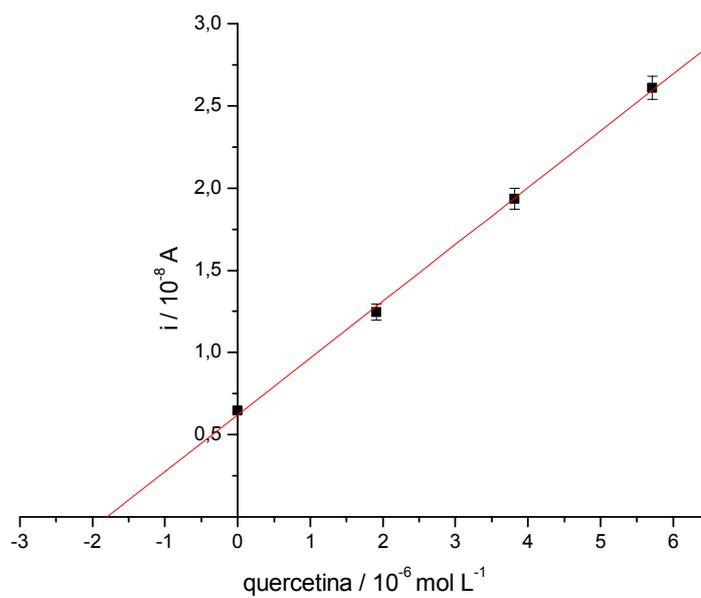


FIGURA 4.20 – Curva de recuperação para solução de quercetina $1,96 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 na presença de ácido cítrico usando o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) em voltametria de pulso diferencial, com vde 5 mV s^{-1} e A de 10 mV.

TABELA 4.4 – Resultados obtidos para a determinação de quercetina na presença de ácido cítrico usando eletrodo de pasta de CNTs- Cu 6% (Cu, m/m)

Ácido cítrico (10^{-6} mol L $^{-1}$)	Quercetina (10^{-6} mol L $^{-1}$)		Recuperação (%)
	Adicionado	Recuperado	
1,960	1,96	1,76	90,2
98,00	1,96	1,79	91,7
192,3	1,91	1,80	93,9

Observando a Tabela 4.4 nota-se que os valores de recuperação encontrados estão dentro dos valores permitidos pela AOAC⁸⁰ (entre 70 e 130%). Desta forma, é possível concluir que o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) pode ser utilizado na determinação de quercetina sem a necessidade de tratamento prévio para a eliminação de ácido cítrico.

4.4.2- Biossensor à base de CNTs-AchE

Uma das maiores dificuldades na construção de biossensores enzimáticos está relacionado com a estabilidade da molécula biológica. Fora do seu ambiente bioquímico, a proteína, da qual a enzima faz parte, tende, naturalmente, a se desnaturar, perdendo seu poder catalítico⁶⁹. Assim, a atividade enzimática diminui com o tempo e o biossensor perde seu desempenho analítico. Esta dificuldade pode ser diminuída pela imobilização adequada da enzima o que diminui a velocidade de desnaturação. O uso de suporte para a imobilização enzimática aumenta a estabilidade e fixa melhor a enzima sobre a superfície do eletrodo.

A acetilcolinesterase é uma enzima capaz de degradar 300 mil moléculas de acetilcolina (principal neurotransmissor do sistema nervoso parassimpático) por minuto, tendo como produto desta reação a colina. Como a colina pode ser oxidada em baixos potenciais, esta enzima é uma das mais utilizadas para a construção de biossensores utilizados na determinação de pesticidas das classes dos carbamatos e organofosforados⁶⁹.

No presente trabalho a construção do biossensor CNTs-AchE foi realizada sem adição de qualquer suporte para a imobilização enzimática. Isto porque os CNTs apresentam propriedades adequadas, como alta área superficial, que podem favorecer a imobilização da enzima AchE na matriz do biossensor, ou ainda pelos grupos funcionais presentes nas superfícies dos CNTs, como grupos carboxílicos.

Assim, um estudo sobre a estabilidade do biossensor foi realizado utilizando cronoamperometria (potencial aplicado, 300 mV) em solução de AcSChI 3,0 mmol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1. Medidas realizadas após 20 dias da construção do biossensor não apresentaram perda significativa na corrente limite de difusão. Estes resultados mostram que é possível a obtenção de biossensores à base de CNTs sem a necessidade do uso de suporte para imobilização enzimática.

O primeiro passo na otimização de biossensor amperométrico, é a determinação do potencial de trabalho. Para isto foram realizados voltamogramas de onda quadrada (parâmetros utilizados: amplitude de pulso de 50 mV, incremento de 2 mV e frequência de 50 Hz) em solução de AcSChI

$3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1 contendo 2,0 U de acetilcolinesterase, para observar o pico de oxidação de tiocolina (produto da reação enzimática), utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m). Os voltamogramas foram realizados em diferentes tempos de reação e os resultados obtidos são apresentados na Figura 4.21. É possível observar dois picos referentes aos processos de oxidação da tiocolina, sendo o segundo pico (~250 mV) selecionado para os procedimentos cronoamperométricos.

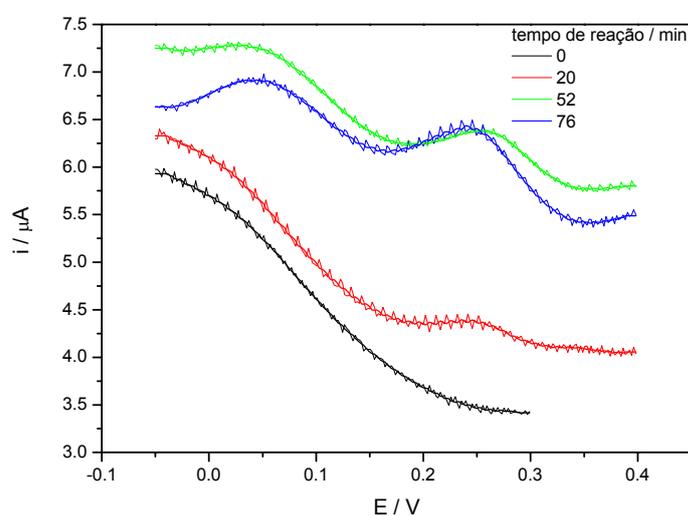
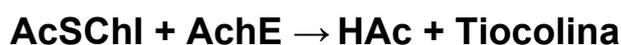


FIGURA 4.21 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos com os eletrodos de pasta de CNTs 60% (m/m) em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1 após a adição 2,0 U de acetilcolinesterase para os tempos de reação 0, 20, 52 e 76 minutos. A = 50 mV, incremento = 2 mV e frequência de 50 s⁻¹.

A fim de verificar se o processo de oxidação do substrato AcSChI interfere na ação enzimática, estudos utilizando voltametria de onda quadrada nas mesmas condições anteriores foram realizados em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1. A Figura 4.22 apresenta o resultado obtido, onde se pode notar que o início do processo de oxidação do substrato

AcSChI (~ 500 mV) é próximo do potencial de término do pico de oxidação da tiocolina (~350 mV).

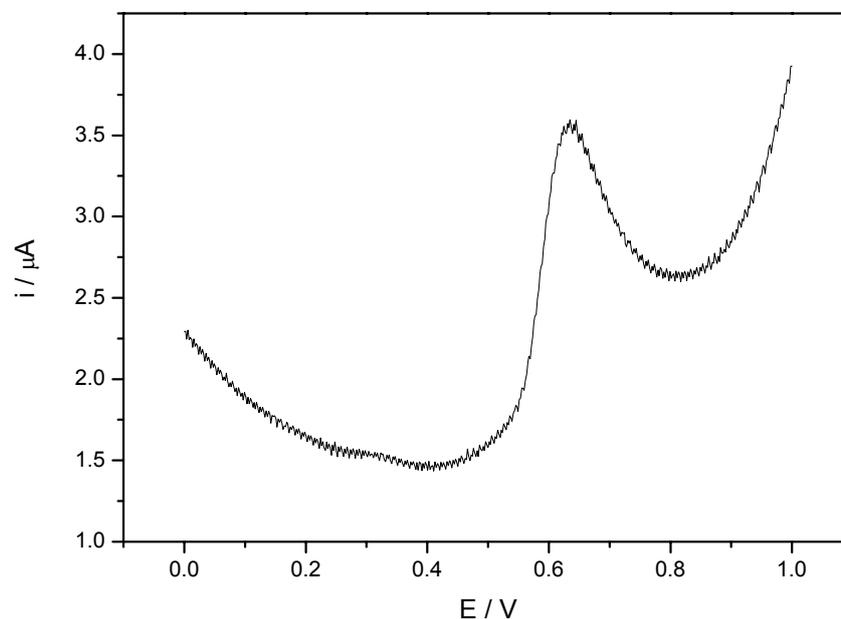


FIGURA 4.22 - Voltamograma de onda quadrada obtido com o eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1. A de 50 mV, incremento de 2 mV e frequência de 50 s^{-1} .

Estes resultados mostram a necessidade de um estudo mais detalhado dos potenciais possíveis para a avaliação da ação enzimática, sem sofrer a interferência da oxidação do substrato. Com este intuito saltos potencioestáticos para diferentes potenciais finais foram executados em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Os potenciais aplicados foram variados entre 250 mV (pico de oxidação da tiocolina) e 620 mV (pico de oxidação de AcSChI) e os resultados são apresentados na Figura 4.23.

Na Figura 4.23 pode-se observar que até o potencial de 450 mV as correntes do patamar são pequenas e não variam com o potencial aplicado e, portanto, não houve a interferência do substrato. A partir do potencial de 500 mV foi observado um aumento da corrente com o tempo referente ao processo de oxidação de AcSChI.

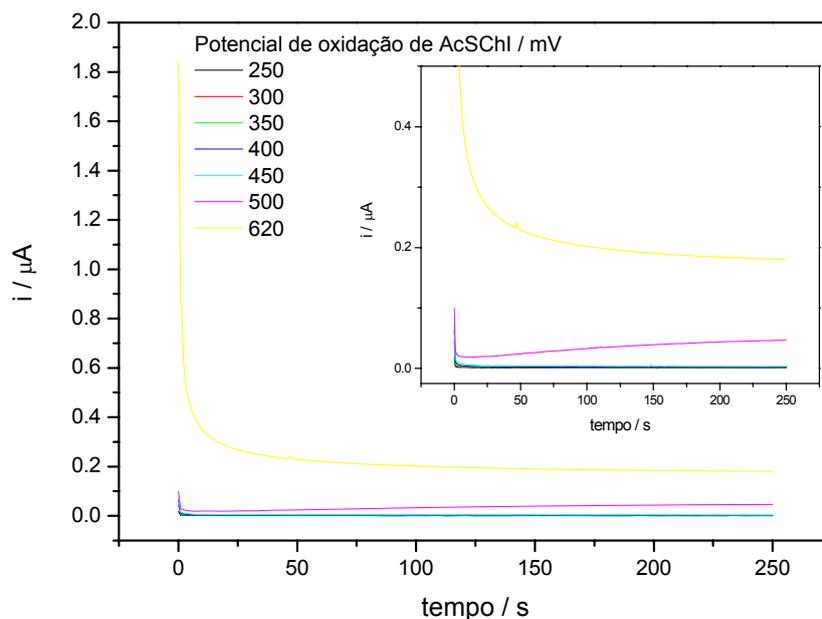


FIGURA 4.23 – Variação de potencial aplicado para solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 7,1, utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m).

Em seguida, foram adicionadas 0,14 U de acetilcolinesterase na célula contendo solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ a fim de avaliar o tempo de reação enzimática. Medidas cronoamperométricas para os tempos de reação entre 0 e 300 minutos foram realizadas polarizando o eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m) em 250 mV, Figura 4.24. Pode-se observar que a corrente aumenta com o tempo de reação até o tempo de 100 min indicando a oxidação da tiocolina. Após este tempo não há variação da corrente o que indica que todos os sítios ativos da enzima já foram ocupados.

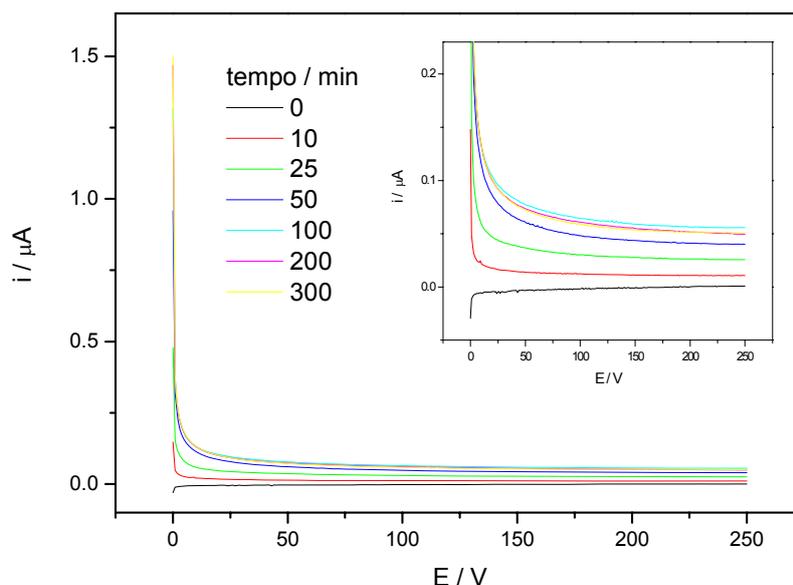


FIGURA 4.24 – Efeito do tempo de reação para oxidação de tiocolina em solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} em tampão fosfato pH 7,1 contendo 2,0 U de acetilcolinesterase, utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m). Potencial aplicado: 250 mV.

Após praticamente toda reação enzimática ter ocorrido (300 minutos), ou seja, tempo necessário para o substrato reagir com a enzima e ser transformado em tiocolina, foram realizados cronoamperogramas para observar o potencial de oxidação da tiocolina sem a interferência do substrato. Os potenciais foram variados entre 0 e 350 mV (término do pico de oxidação da tiocolina) e os resultados são apresentados na Figura 4.25. É possível observar um aumento nas correntes limites de difusão com o aumento do potencial aplicado. Para os potenciais de 300 e 350 mV as correntes limite de difusão apresentam valores muito próximos. Devido a diferença não significativa entre as correntes destes potenciais, selecionou-se para os demais estudos o potencial de 300 mV, pois além de estar próximo ao potencial de oxidação da tiocolina (~ 350 mV), está afastado do início do processo de oxidação do substrato AcSChI (~ 500 mV), evitando eventuais interferências.

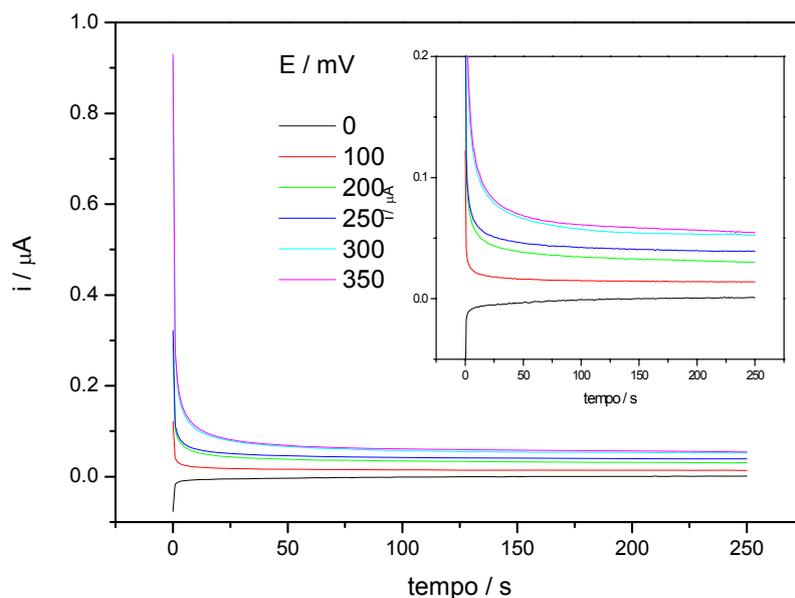


FIGURA 4.25 – Efeito do potencial aplicado sobre a oxidação de tiocolina em tampão fosfato pH 7,1, utilizando eletrodo de pasta de CNTs 60% (m/m).

A concentração do substrato é outro parâmetro fundamental para se avaliar nos biossensores, pois este juntamente com a enzima acetilcolinesterase resulta nas correntes medidas nas análises. O efeito da concentração do substrato sobre a corrente limite de difusão foi avaliado no intervalo de concentração entre 0,5 e 3,0 mmol L^{-1} , utilizando o biossensor CNTs-AchE, Figura 4.26.

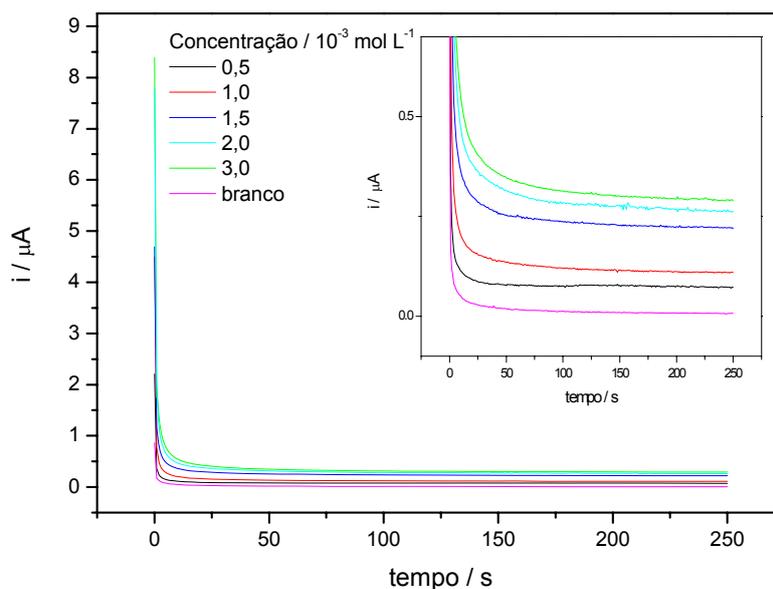


FIGURA 4.26 – Efeito da concentração do substrato sobre a corrente limite de difusão para a oxidação de tiocolina em tampão fosfato pH 7,1, utilizando o biossensor CNTs-AchE. Potencial aplicado: 300 mV.

Observa-se na Figura 4.26 que o patamar de corrente aumenta com a adição AcSChI, entretanto para as duas últimas adições (de 2,0 e 3,0 mmol L⁻¹) a corrente tende a se estabilizar o que poderia indicar que a velocidade de reação enzimática passou a ser controlada pela sua cinética e não mais pelo transporte de substrato para a superfície do eletrodo. Após esse estudo optou-se por usar a concentração de 3,0 mmol L⁻¹ de AcSChI, por apresentar uma maior corrente limite de difusão.

4.2.2.1 - Desempenho do Biossensor CNTs-AchE na Determinação de Clorfenvinfos

Após a otimização dos parâmetros experimentais (potencial de trabalho e concentração de AcSChI), foram realizados estudos relacionados com a inibição enzimática na presença do carrapaticida clorfenvinfos.

O clorfenvinfos compete com o substrato AcSChI pelo sítio ativo da enzima AchE, diminuindo a velocidade da reação. Assim, um estudo para avaliar o efeito do tempo de incubação sobre a inibição da atividade catalítica da enzima foi realizado.

As porcentagens de inibição (%) causadas pelo carrapaticida clorfenvinfos sobre a atividade enzimática do eletrodo CNTs-AchE foram calculadas de acordo com a equação:

$$\% I = \frac{\Delta I_0 - \Delta I_1}{\Delta I} \times 100$$

onde ΔI_0 e ΔI_1 são as respostas do biossensor antes e após o processo de incubação, respectivamente.

O tempo de incubação, ou seja, tempo em que o eletrodo deve ficar imerso na solução de clorfenvinfos antes das medidas cronoamperométricas serem realizadas, foi variado entre 2 e 20 minutos e os resultados são apresentados na Figura 4.27.

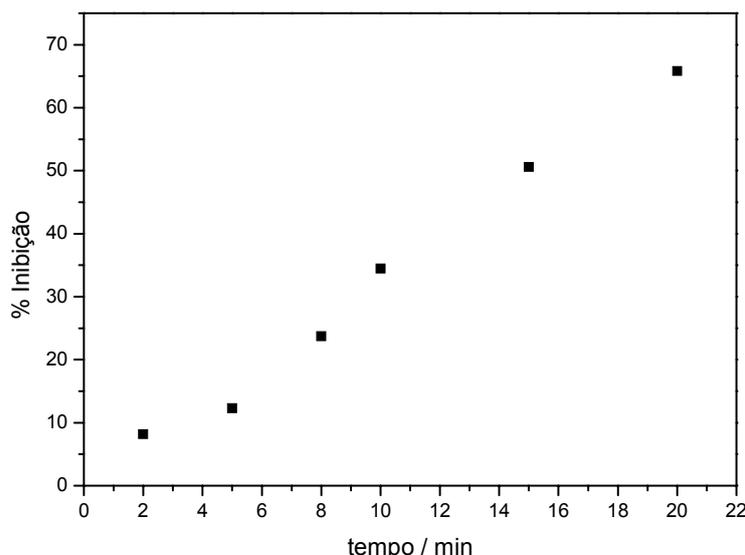


FIGURA 4.27 – Efeito do tempo de incubação sobre a inibição enzimática causada pelo carrapaticida clorfenvinfos ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), utilizando o biossensor CNTs-AchE. Potencial aplicado: 300 mV.

É possível observar na Figura 4.26 que a porcentagem de inibição aumenta com o tempo. No entanto, o tempo de 10 minutos foi selecionado como o tempo de incubação. Esta escolha é justificada pelo aumento no tempo de análise e também pela perda de linearidade ao se utilizar tempos de incubação maiores.

Após a otimização das condições experimentais para o biossensor CNTs-AchE, utilizando cronoamperometria, foi obtida uma curva analítica para o sistema. Inicialmente o eletrodo foi imerso pelo tempo de incubação selecionado em soluções contendo diferentes concentrações de clorfenvinfos. Em seguida o biossensor foi transferido para a cela eletroquímica contendo solução de AcSChI $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1 e realizou-se os cronoamperogramas para se determinar a %I provocada nas correntes limites de difusão, relacionadas com a oxidação da tiocolina. A Figura 4.28 mostra a curva resultante, que obedece à equação $I_{pa} (\mu\text{A}) = 21,81 (\%I) + 4,91 [\text{clorfenvinfos}] (10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, com $r = 0,995$ ($n = 6$) no intervalo de concentração de $4,90 \times 10^{-7}$ a $4,76 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $1,15 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

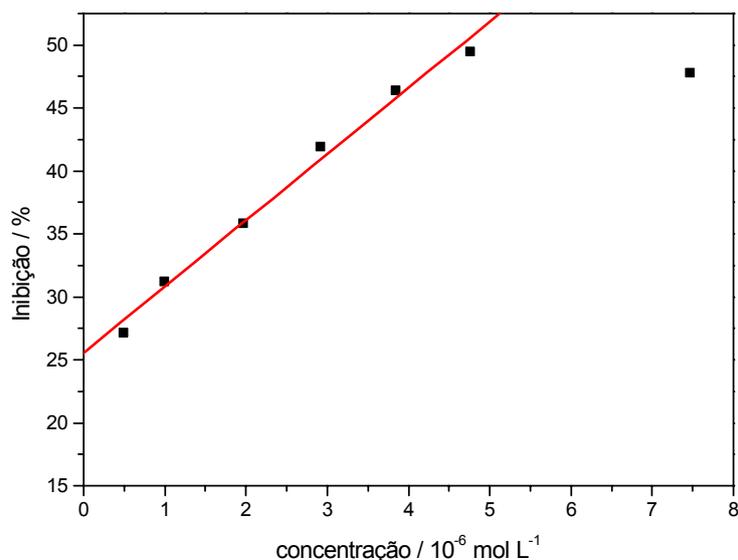


FIGURA 4.28 – Curva analítica obtida para o biossensor CNTs-AchE em solução AcSChI $3,0 \times 10^{-3}$ mol L $^{-1}$ em tampão fosfato pH 7,1, para soluções contendo diferentes concentrações de clorfenvinfos. Potencial aplicado: 300 mV.

O método de adições sucessivas de padrão foi utilizado na determinação do teor de clorfenvinfos presente em carrapaticida, usando as condições previamente otimizadas e com a metodologia descrita na parte experimental. Um exemplo da curva de adição de padrão obtida neste experimento pode ser observado na Figura 4.29.

O método de UV-Vísivel também foi utilizado na determinação clorfenvinfos em carrapaticida e os resultados obtidos utilizando o biossensor CNTs-AchE e por UV-Vísivel são apresentados na Tabela 4.5.

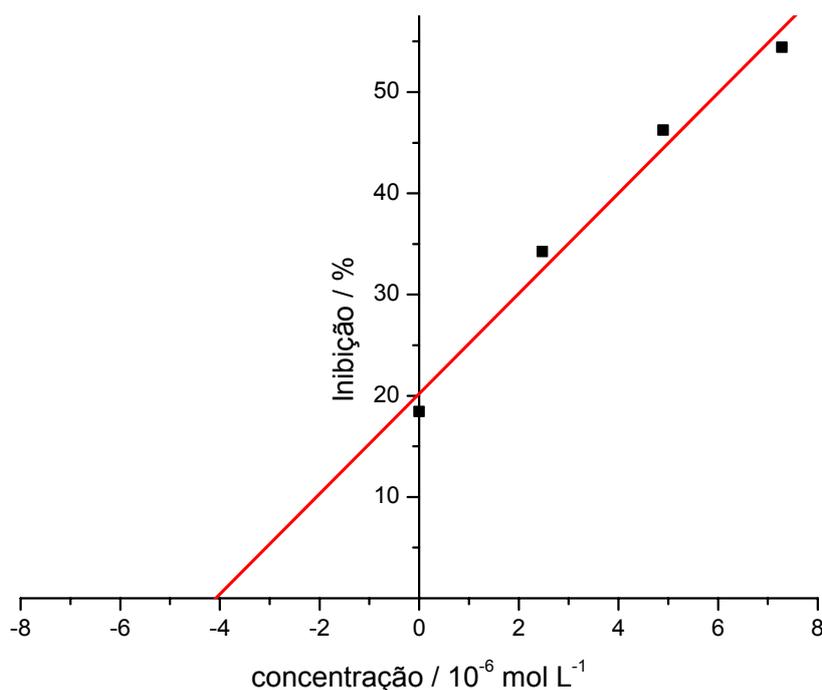


FIGURA 4.29 – Curva de adição de padrão para amostra de carrapaticida usando o biossensor CNTs-AchE em cronoamperometria. Potencial aplicado: 300 mV.

TABELA 4.5 – Resultados da determinação de clorfeninfos presente em carrapaticida usando biossensor CNTs-AchE em cronoamperometria comparado com espectroscopia de absorção UV-Vísivel

Clorfeninfos / g L⁻¹		
Biossensor CNTs-AchE	UV-Vísivel	Varição^a / %
225	220	2,27

a) $[(\text{Biossensor} - \text{UV-Vísivel}) / \text{UV-Vísivel}] \times 100\%$

Pode-se concluir que o método baseado no biossensor CNTs-AchE leva a resultados próximos dos encontrados utilizando o método UV-Vísivel sendo possível a utilização do método proposto na determinação de clorfeninfos em diversas amostras.

CAPÍTULO 5

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E MORFOLÓGICA

5.1- Microscopia Eletrônica de Varredura

Inicialmente as imagens de MEV-FEG foram empregadas para caracterizar os CNTs usados neste trabalho na confecção dos eletrodos. Essas medidas foram realizadas no pó de CNTs, sendo o mesmo disperso em acetona e pingado sobre o porta amostra. Na Figura 5.1 apresentam-se as micrografias obtidas em diferentes aumentos.

Na Figura 5.1a observa-se claramente que o material se apresenta bastante uniforme o que permitiu uma boa homogeneização dos eletrodos de pasta. Também pode-se concluir destas micrografias que grande parte do material é composto pelos CNTs e não por outras formas de carbono.

Na Figura 5.1b é apresentada a micrografia dos CNTs com um maior aumento onde é destacado o diâmetro dos CNTs que variam entre 20 e 40 nm, concordando com o dado da ficha técnica informado pelo fabricante.

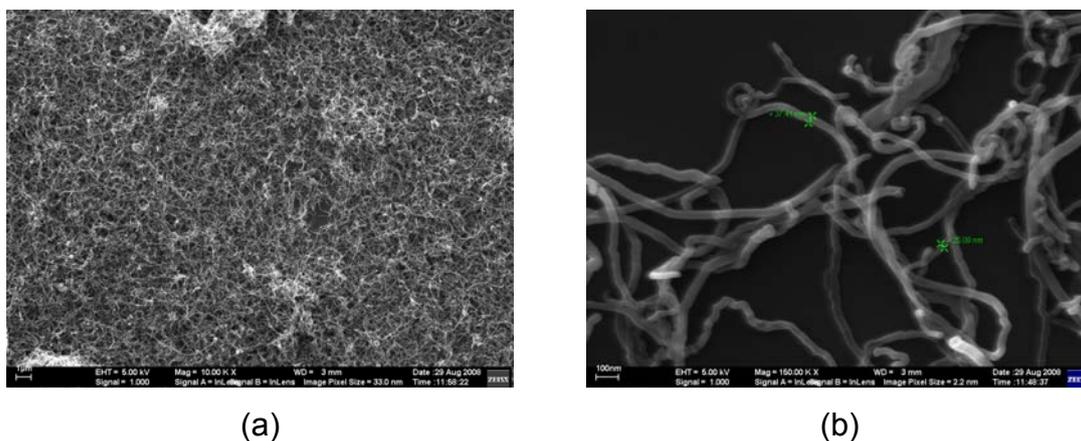


FIGURA 5.1 – Micrografias dos CNTs de paredes múltiplas empregados no preparo dos eletrodos. Escalas: (a) 1 μm e (b) 100 nm.

A Figura 5.2 mostra as micrografias das superfícies do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) após abrasão com lixa d'água 600. Nota-se na Figura 5.2a que a superfície da pasta é bastante uniforme e ainda que os CNTs permanecem com sua estrutura, indicando que mesmo com o processo de maceração, os CNTs não são destruídos. Ainda pode-se concluir que os CNTs estão distribuídos de forma homogênea na pasta. Já em ampliações maiores, Figura 5.2b, é possível observar que o diâmetro dos CNTs é aumentado, o que se deve, provavelmente, a presença do aglutinante utilizado (Nujol), que reveste os CNTs.

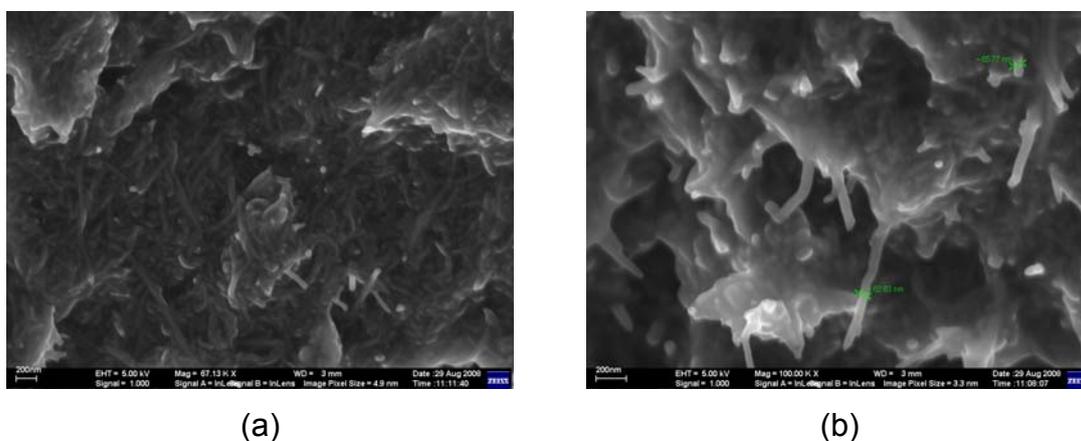


FIGURA 5.2 – Micrografias do eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m). Escalas: (a) 200 nm e (b) 200 nm.

Foram obtidas também micrografias para o eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) após abrasão com lixa d'água 600. Na Figura 5.3a é apresentada a micrografia deste eletrodo, a qual se distingue das anteriores (Figura 5.2) por apresentar regiões formadas por placas sobrepostas com uma morfologia mais lisa. Essas regiões podem ser atribuídas as micropartículas de cobre metálico utilizadas como modificador. Vale salientar que as partículas de cobre têm tamanho médio 45 μm e a porcentagem em massa deste modificador é de apenas 6%, portanto, era de se esperar que fossem observados nas micrografias da superfície apenas alguns poucos pontos que caracterizassem estas micropartículas. Em ampliações maiores também foi observado, como no caso anterior, a presença dos CNTs, Figura 5.3b.

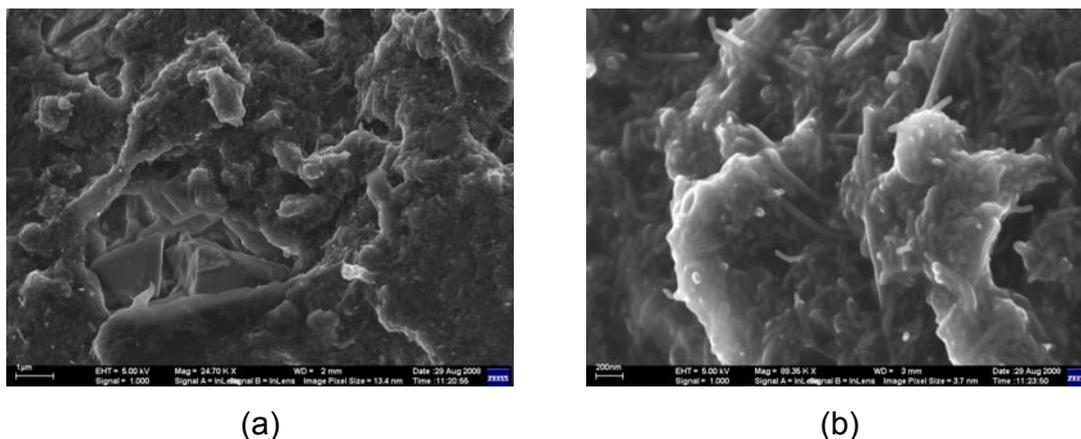


FIGURA 5.3 – Micrografias do eletrodo de pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m).
Escala: (a) 1 μm e (b) 200 nm.

As Figuras 5.4a e 5.4b mostram as micrografias da superfície do biossensor CNTs-AchE após abrasão com lixa d'água 600. Na Figura 5.4a nota-se que a superfície do biossensor apresenta uma estrutura mais compacta, com regiões mais rugosas e outras mais planas e ainda pequenas partículas na forma esférica. Em ampliações maiores (Figura 5.4b) é possível observar a presença dos CNTs e regiões com pequenos grumos, atribuídos a presença da enzima AchE, a qual tem uma estrutura do tipo couve-flor.

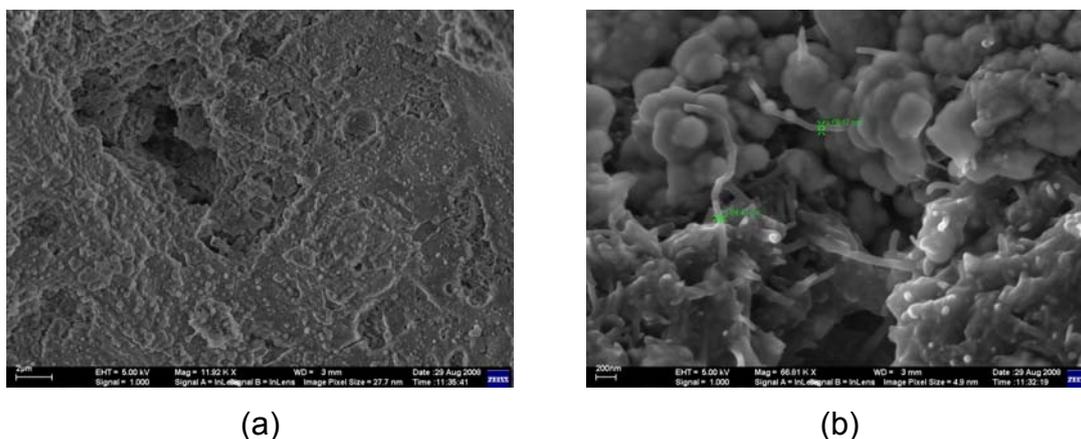


FIGURA 5.4 – Micrografias do biossensor CNTs-AchE. Escalas: (a) 2 μm e (b) 200 nm.

5.2- Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)

A espectroscopia de impedância eletroquímica é uma técnica bastante útil na investigação dos processos eletroquímicos e é amplamente utilizada para caracterização dos processos que ocorrem em superfícies eletródicas eletrodo/solução. Neste sentido, a determinação de parâmetros tais como resistência da solução, transferência de carga, capacitância interfacial e elementos de circuitos envolvidos nos fenômenos estudados se fazem bastante útil, na correlação dos diferentes eletrodos de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) e biossensor CNTs-AchE.

O estudo utilizando EIS se baseou na polarização dos eletrodos à base de CNTs no potencial de circuito aberto. O perfil geral dos espectros de Nyquist para eletrodos de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m), pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) e biossensor CNTs-AchE são mostrados na Figura 5.5, bem como seus respectivos ajustes.

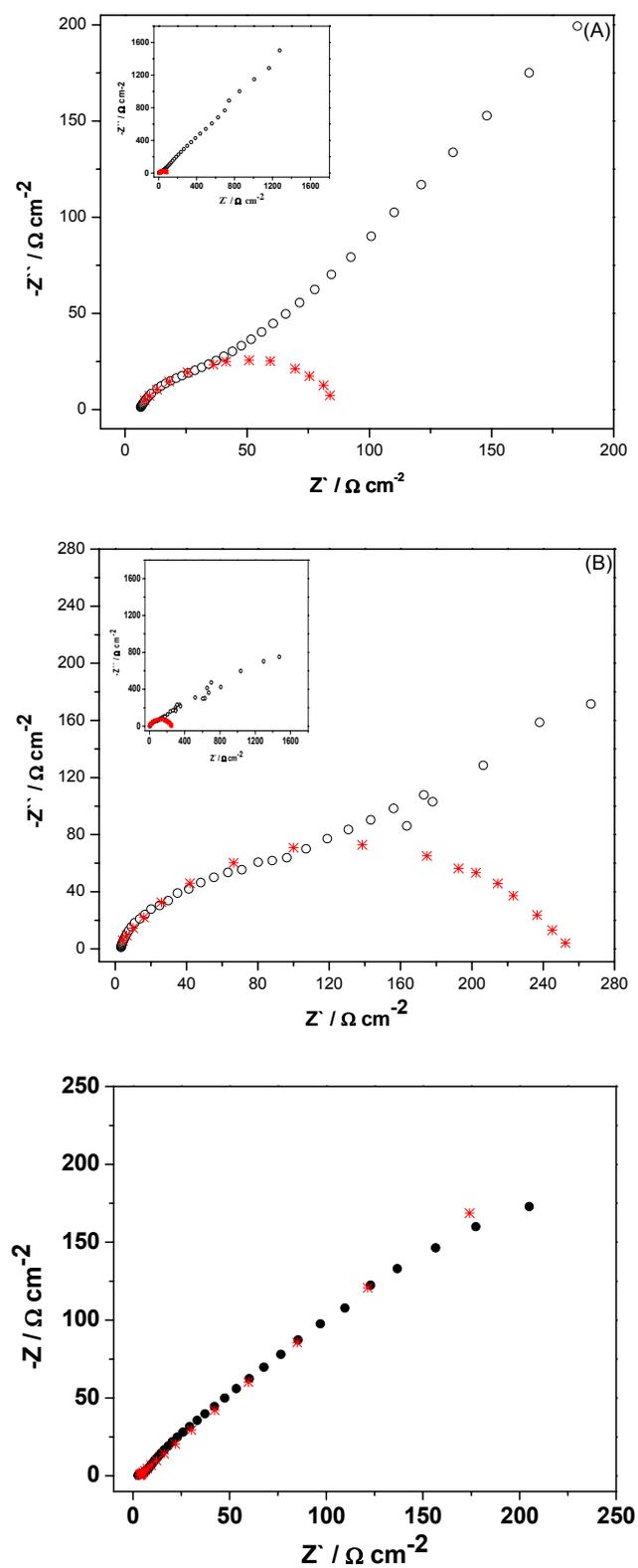


FIGURA 5.5- Espectros de Nyquist obtidos para os eletrodos de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) (A), pasta de CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) (B) e biossensor CNTs-AchE (C) em potencial de circuito aberto de 0,346; 0,207 e 0,192 V respectivamente. Solução 5,0 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆] em KCl 0,5 mol L⁻¹.

Os espectros obtidos para os três eletrodos analisados são distintos, entretanto, pode-se observar um semi-círculo em altas frequências e uma região linear em baixas frequências, exceto para o biossensor CNTs-AchE. De forma geral, os espectros de impedância que apresentam esta forma são interpretados como característicos de processos eletródicos simples controlados por transferência de carga (semi-círculo em altas frequências) e transporte de massa (região linear em baixas frequências).

Uma análise comparativa entre os espectros obtidos foi realizada considerando o sistema eletrodo/solução como um circuito elétrico, mostrado na Figura 5.6. Ele se baseia na resistência da solução (R_s) em serie com um elemento de fase constante (CPE) paralelo à resistência de transferência de carga (R_{tc}) e um elemento difusional Warburg.

A partir do circuito proposto foi obtido, utilizando o software ZView 2.6, o espectro de impedância teórico e a curva obtida foi sobreposta a experimental para comparação.

Para a região de altas frequências foi definido um semi-círculo para os três eletrodos, que na curva experimental está incompleto. Esse semi-círculo permite determinar os valores de R_{tc} apresentados na Tabela 5.1. Vale salientar que para o biossensor não está representado o semi-círculo calculado porque a escala do gráfico teria que ser muito ampliada e os pontos experimentais e a sobreposição das curvas ficaria pouco visível.

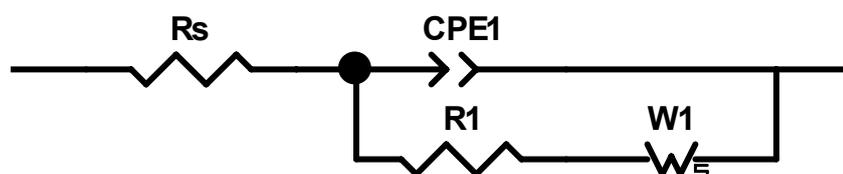


FIGURA 5.6- Circuito equivalente análogo aos processos interfaciais eletrodo-solução.

Os valores de R_{tc} foram distintos para os três eletrodos, sendo que o eletrodo de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) é o que apresenta menor resistência e o biossensor CNTs-AchE maior resistência.

Os valores de resistência obtidos podem ser justificados da seguinte forma. Sistemas de baixa dimensionalidade tais como CNTs, apresentam menores valores de R_{tc} devido suas propriedades ímpares características, tais como boa condução elétrica o que se remete num valor de R_{tc} baixo.

Apesar de ser esperado que a modificação com partículas metálicas fosse melhorar a condutividade da pasta, o comportamento observado foi o oposto e a resistência do eletrodo foi 2,5 vezes superior com a adição de Cu. O aumento do valor de R_{tc} pode ser atribuído a possível formação de uma camada de passivação oriunda da oxidação do Cu^0 , formando CuO. Esta formação de CuO foi observada também nos estudos realizados com o analito quercetina por meio da formação do complexo quercetina-Cu (II) sobre a superfície do eletrodo.

Já para o biossensor CNTs-AchE o valor de R_{tc} aumentou em uma ordem de grandeza para a reação $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ o que se deve, provavelmente, a diminuição do número de sítios de CNTs disponíveis, pois a enzima ocupa grande parte da área superficial, como visto nas micrografias e a mesma é não condutora.

Os valores de CPE também são apresentados na Tabela 5.1. Para os eletrodos de pasta de CNTs 60% (CNTs, m/m) e CNTs-Cu 6% (Cu, m/m) os valores de CPE são muito próximos e característicos do processo de carregamento de dupla camada para uma interface do tipo metal/solução. Já para o biossensor CNTs-AchE o valor de CPE aumenta em 100 vezes o que se deve a característica menos condutora deste.

Uma análise mais detalhada dos diagramas de impedância não foi realizada porque o objetivo destas medidas foi apenas o de comparar os diferentes eletrodos em termos de sua condutividade elétrica.

TABELA 5.1- Valores dos elementos de circuito para os eletrodos à base de CNTs

Elementos de Circuito			
Eletrodo	CPE / F	n	R_{tc} / Ω
Pasta CNTs	$4,5 \times 10^{-8}$	0,6472	90,5
Pasta CNTs-Cu	$3,0 \times 10^{-8}$	0,6709	252,0
Biossensor	$1,5 \times 10^{-6}$	0,5330	3.050,0

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que os eletrodos à base de CNTs na forma de pasta apresentam respostas voltamétricas melhores que as obtidas com o eletrodo de GC recoberto com filme de CNTs. Ainda com relação ao eletrodo de pasta de CNTs, estes eletrodos apresentam facilidade de construção, sensibilidade e facilidade de regeneração da superfície.

A melhor resposta voltamétrica em solução de ferricianeto de potássio foi obtida para o eletrodo de pasta contendo 60% (m/m) de CNTs, o que está de acordo com relatos da literatura. Esta composição também apresentou-se reprodutível quanto a renovação de superfície.

O eletrodo de pasta de CNTs se mostrou útil em intervalos de potenciais comparáveis às do carbono vítreo. Este eletrodo respondeu satisfatoriamente aos analitos: paraquat, rutina e quercetina.

Avaliando-se o analito rutina por DPV, foi possível observar um decréscimo de 200 mV no potencial de oxidação quando comparado ao eletrodo de pasta de carbono tradicional, indicando um efeito eletrocatalítico dos CNTs. Ainda com relação à rutina, foi possível a obtenção de um limite de detecção de $3,39 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e a sua determinação em formulações farmacêuticas, com variações inferiores a 5%.

Ao empregar-se a quercetina como analito, observou-se dois processos de oxidação, sendo o primeiro pico selecionado para determinação de quercetina por ter apresentado maior corrente e melhor repetibilidade. Para este sistema obteve-se um limite de detecção de $5,43 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

O eletrodo de pasta de CNTs foi modificado com micropartículas de Cu para a determinação de quercetina. Os resultados observados neste estudo indicaram a formação do complexo quercetina-Cu II sobre a superfície do eletrodo modificado. A formação deste complexo resultou numa pequena diminuição no limite de detecção para o valor de $2,36 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Ainda com relação à quercetina, foi possível a sua determinação em amostra de suco de maçã industrializado, com coeficientes de recuperação entre 98,8 e 102,9%.

O biossensor CNTs-AchE apresentou facilidade de construção, não sendo necessária a utilização de suporte para a imobilização enzimática. Este biossensor foi empregado para a determinação do carrapaticida clorfenvinfos apresentado limite de detecção de $1,15 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Ainda com relação ao clorfenvinfos, foi possível a sua determinação em amostra de carrapaticida, com variações inferiores a 2,5%.

CAPÍTULO 7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ XIAN, Y.; ZHOU, Y.; WUNG, H; ZHOU, L.; JIN, L. “Nanostructured electrode base don muti-wall carbon nanotubes/Pt microparticles nanocomposite electrochemical determination of thiols in rat by performance liquid chromatography separation”. *J. Chromatogr., B*, 817, 239, **2005**.

² IIJIMA, S. “Helical microtubules of graphitic carbon”. *Nature*, 56, 354, 1991.

³ DAI, L.; MAU, A. W. H. “Controlled synthesis and modification of carbon nanotubes and c60: carbon nanostructures for advanced polymeric composite materials”. *Adv. Mater.*, 13, 899, **2001**.

⁴ <http://www.pa.msu.edu/cmp/csc/nanotube.html> acessada em 03/03/05.

⁵ HAMADA, N.; SAWADA, S., OSHIYAMA, A. “New one-dimensional conductors - graphitic microtubules” *Phys. Rev. Lett.*, 68, 1579, **1992**.

⁶ <http://www.pa.msu.edu/cmp/csc/nanotube.html> acessada em 03/03/05.

⁷ HUCZKO, A. “Synthesis of aligned carbon nanotubes”. *Appl. Phys. A*, 74, 617, **2002**.

⁸ IIJIMA, S.; ICHIHASHI, T. “Single-shell carbon nanotubes of 1 nm diameter”. *Nature*, 358, 220, **1992**.

⁹ BETHUNE, D.S.; KIANG, C.H.; VRIES, M.S.; GORMAN, G.; SAVOY, R.; VAZQUEZ, J.; BEYERS, R.. “Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls”. *Nature*, 363, 605, **1993**.

¹⁰ JOURNET, C.; MASER, W.K.; BERNIER, P.; LOISEAU, A.; CHAPELLE, M.L.; LEFRANT, S.; DENIARD, P.; LEE, R.; FISHER, J.E.. "Large-scale production of single-walled carbon nanotubes by the electric-arc- technique". *Nature*, 388, 756, **1997**.

¹¹ GUO, T.; NIKOLAEV, P.; RINZLER, A.; TAMÁNEK, D.; COLBERT, D.T.; SMALLEY, R.E.. "Self-assembly of tubular fullerenes". *J. Phys. Chem.*, 99, 10694, **1995**.

¹² GUO, T.; NIKOLAEV, P.; THESS, A.; COLBERT, D.T.; SMALLEY, R.E.. "Catalytic growth of single-walled nanotubes by laser vaporization". *Chem. Phys. Lett.*, 243, 49, **1995**.

¹³ THESS, A.; LEE, R.; NIKOLAEV, P.; DAI, H.; PETIT, P.; ROBERT, J.; XU, C.; LEE, Y.H.; KIM, S.G.; RINZLER, A.G.; COLBERT, D.T.; SCUSERIA, G.E.; TAMÁNEK, D.; FISCHER, J.E.; SMALLEY, R.E.. "Crystalline ropes of metallic carbon nanotubes". *Science*, 276, 483, **1996**.

¹⁴ RAO, C. N. R.; SATISJKUMAR, B. C.; GOVINDARAJ, A.; NATH, M. "Nanotubes". *Chem. PhysChem*, 2, 78, **2001**.

¹⁵ HERBST, M. H.; MACEDO, M. I. F.; ROCCO, A. M. "Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar". *Quim. Nova*, 27, 986, **2004**.

¹⁶ SLOAN, J.; COOK, J.; GREEN, M. L. H.; HUTCHISON, J. L.; TENNE, R. "Crystallisation inside fullerene related structures". *J. Mater. Chem.*, 7, 1089, **1997**.

¹⁷ WU, T.; HU, S. "The fabrication of colloidal gold-carbon nanotubes composite film on a gold electrode and its application for the determination of cytochrome c". *Colloids Surf., A*, 41, 81, **2005**.

¹⁸ HE, J; CHEN, C; LIU, J “Study of multi-wall carbon nanotubes self-assembled electrode and its application to determination of carbon monoxide”. *Sens. Actuators, B*, 99, 1, **2004**.

¹⁹ ZENG, B.; HUANG, F. “Electrochemical behavior and determination of fluphenazine at multi-walled carbon nanotubes/(3-mercaptopropyl)trimethoxysilane bilayer modified gold electrodes”, *Talanta*, 64, 380, **2004**.

²⁰ WANG, Z.; LIANG, Q.; WANG, Y.; LUO, G. “Carbon nanotube-intercalated graphite electrodes for simultaneous determination of dopamine and serotonin in the presence of ascorbic acid”, *J. Electroanal. Chemi.*, 540, 129, **2003**.

²¹ LAWRENCE, N. S.; DEO, R. P.; WANG, J. “Detection of homocysteine at carbon nanotube paste electrodes”. *Talanta*, 63, 443, **2004**.

²² LUQUE, G. L.; FERREYRA, N. F.; RIVAS, G. A. “Electrochemical sensor for amino acids and albumin based on composites containing carbon nanotubes and copper microparticles”. *Talanta*, 71, 1282, **2006**.

²³ PEDANO, M; RIVAS, G. A. “Adsorption and electrooxidation of nucleic acids at carbon nanotubes paste electrodes”. *Electrochem. Commun.*, 6, 10, **2004**.

²⁴ ZHAO, K.; SONG, H.; ZHUANG, S.; DAI, L.; HE, P.; FANG, Y. “Determination of nitrite with the electrocatalytic property to the oxidation of nitrite on thionine modified aligned carbon nanotubes”. *Electrochem. Commun.*, 9, 65, **2007**.

²⁵ LY, S. Y. “Detection of dopamine in the pharmacy with a carbon nanotube paste electrode using voltammetry”. *Bioelectrochemistry*, 68, 227, **2006**.

²⁶ ZENG, L.; JUNFENG, S. “Voltammetric behavior of urapidil and its determination at multi-wall carbon nanotube paste electrode”. *Talanta*, 73, 943, **2007**.

-
- ²⁷ BEITOLLAHI, H.; ARDAKANI M. M.; GANJIPOUR B.; NAEIMI. H. "Novel 2,2_-[1,2-ethanediybis(nitriloethylidyne)]-bis-hydroquinone double-wall carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of epinephrine, uric acid and folic acid". *Biosens. Bioelectron.*, 24, 362, **2008**.
- ²⁸ ZHUANG Q.; CHEN, J.; CHEN, J.; LIN, X. "Electrocatalytical properties of bergenin on a multi-wall carbon nanotubes modified carbon paste electrode and its determination in tablets". *Sens. Actuators, B*, 128, 500, **2008**.
- ²⁹ LI, Z.; JUN-FENG, S. "Adsorptive voltammetric determination of cisapride at a carbon nanotubes paste electrode". *Chin. J. Anal. Chem.*, 35, 7, **2007**.
- ³⁰ DONG, S.; ZHANG, S.; CHI, L.; HE P.; WANG, Q.; FANG, Y. "Electrochemical behaviors of amino acids at multiwall carbon nanotubes and Cu₂O modified carbon paste electrode". *Anal. Biochem.*, 381, 199, **2008**.
- ³¹ WU, K.; FEI, J.; HU, S. "Simultaneous determination of dopamine and serotoni on a glassy carbon electrode coated with a film pf carbon nanotubes". *Anal. Biochem.*, 3180 100, **2003**.
- ³² GOYAL, R. N.; SINGH, S. P. " Simultaneous voltammetric determination of dopamine and adenosine using a single walled carbon nanotube – modified glassy carbon electrode". *Carbon*, 4 6, 1556, **2008**.
- ³³ RODRÍGUEZ M. C.; SANDOVAL J.; GALICIA, L.; GUTIÉRREZ, S.; RIVAS G. A. " Highly selective determination of uric acid in the presence of ascorbic acid at glassy carbon electrodes modified with carbon nanotubes dispersed in polylysine". *Sens. Actuators, B*, 134, 559, **2008**.
- ³⁴ HUANG, W.; HU, W.; SONG, J. "Adsorptive stripping voltammetric determination of 4-aminophenol at a single-wall carbon nanotubes film coated electrode". *Talanta*, 61, 411, **2003**.

-
- ³⁵ LÜ, S. "Electrochemical determination of 8-azaguanine in human urine at a multi-carbon nanotubes modified electrode". *Microchem. J.*, 77, 37, **2004**.
- ³⁶ DING, Y.; LIU, W.; WU, Q.; WANG, X. "Direct simultaneous determination of dihydroxybenzene isomers at C-nanotube-modified electrode by derivative voltammetry". *Bioelectrochemistry*, 65, 135, **2005**.
- ³⁷ LUO, L.; ZOU X.; DING, Y.; WU, Q, "Derivative voltammetric direct simultaneous determination of nitrophenol isomers at a carbon nanotube modified electrode". *Sens. Actuators, B*, **2008**.
- ³⁸ GONG, K.; DONG, Y.; XIONG, S.; CHEN, Y.; MAO, L. "Novel electrochemical method for sensitive determination of homocysteine with carbon nanotube-based electrodes". *Biosens. Bioelectron.*, 20, 253, **2004**.
- ³⁹ REZAEI B.; ZARE Z.; "Modified glassy carbon electrode with multiwall carbon nanotubes as a voltammetric sensor for determination of nescapine in biological and pharmaceutical samples". *Sens. Actuators, B*, 134, 292, **2008**.
- ⁴⁰ LI, M.; JING, L. "Electrochemical behavior of acetaminophen and its detection on the PANI-MWCNTs composite modified electrode". *Electrochim Acta*, 52, 3250, **2007**.
- ⁴¹ WANG, H.; LI, T.; JIA, W.; XU, H. "Highly selective and sensitive determination of dopamine using a Nafion/carbon nanotubes coated poly(3-methylthiophene) modified electrode". *Biosens. Bioelectron.* 22, 664, **2006**.
- ⁴² WANG, C.; SHAO, X.; LIU, Q.; QU, Q.; YANG, G.; HU, X. "Differential pulse voltammetric determination of nimesulide in pharmaceutical formulation and human serum at glassy carbon electrode modified by cysteic acid/ CNTs based

on electrochemical oxidation of L-cysteine". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 42, 237, **2006**.

⁴³ AMARANTE, O. P.; SANTOS, T. C. R.; NUNES, G. S. "Breve revisão de métodos de determinação de resíduos do herbicida ácido 2,2-diclorofenoxiacético (2,4-D)". *Quim. Nova*, 26, 223, **2003**.

⁴⁴ SALAMI, A.; COMPTON, R., G.; HALLAJ, R. "Glucose biosensor prepared by glucose oxidase encapsulated sol-gel and carbon-nanotube-modified basal plane pyrolytic graphite electrode". *Anal. Biochem.*, 333, 49, **2004**.

⁴⁵ TANG, H.; CHEN, J.; YAO, S.; NIE, L.; DENG, G.; KUANG, Y. "Amperometric glucose biosensor based on adsorption of glucose oxidase at platinum nanoparticle-modified carbon nanotube electrode". *Anal. Biochem.*, 331, 89, **2004**.

⁴⁶ DEO, R. P.; WANG, J.; BLOCK, I.; MULCHANDANI, A.; JOSHI, K. A.; TROJANOWICZ, M.; SCHOLZ, F.; CHEN, W.; LIN, Y. " Determination of organophosphate pesticides at a carbon nanotube0organophosphorus hydrolase electrochemical biosensor". *Anal. Chim. Acta*, 530, 185, **2005**.

⁴⁷ ODACI D.; TELEFONCU A.; TIMUR, S. "Pyranose oxidase biosensor based on carbon nanotube (CNT)-modified carbon paste electrodes". *Sens. Actuators, B*, 132, 159, **2008**.

⁴⁸ DU, D.; HUANG, X.; CAI, J.; ZHANG, A. "Amperometric detection of triazophos pesticide using acetylcholinesterase biosensor based on multiwall carbon nanotube-chitosan matrix". *Sens. Actuators, B*, 127, 531, **2007**.

⁴⁹ DU, D.; HUANG, X.; CAI, J.; ZHANG, A. "Comparison of pesticide sensitivity by electrochemical test based on acetylcholinesterase biosensor". *Biosens. Bioelectron.*, 27, 285, **2007**.

⁵⁰ VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O. & ANGNES, L. "Zucchini crued extract-palladium-modified carbon paste electrode for the determination of hydroquinone in photographic developers". *Anal. Chim. Acta*, 398, 661, 1999.

⁵¹ VIANELLO, F.; CAMBRIA, A.; RAGUSA, S.; CAMBRIA, M. T.; ZENNARO, L.; RIGO, A. "A high sensitivity amperometric biosensor using a monomolecular layer of laccase as biorecognition element". *Biosens. Bioelectron.*, 20, 315, **2004**.

⁵² CARVALHO, R. M.; MELLO, C.; KUBOTA, L. T. "Simultaneous determination of phenol isomers in binary mixtures by differential pulse voltammetry using carbon fibre electrode and neural network with as a multivariate calibration tool". *Anal. Chim. Acta*, 420, 109, **2000**.

⁵³ Klaassen, C. D.; *Toxicology-the basic science of poisons (Casartt & Doull's)*, 5th ed., International Ed.: New York, **1989**.

⁵⁴ www.sanrisil.com.br acessado em março/2006.

⁵⁵ KREFT, S.; STRUKEL, B.; GABERSCIK, A.; KREFT, I. "Rutin in buckwheat herbs grow at different UV-B radiation levels: comparison of two UV spectrophotometric and an HPLC method". *J. Exp. Bot.*, 53, 1801, **2002**.

⁵⁶ LU, Y.; LIU, Z.; WANG, Z.; WEI, D. "Quality evaluation of Platycladus (L.) Franco through simultaneous determination of four bioactive flavonoids by high-performance liquid chromatography". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 41, 1186, **2006**.

⁵⁷ FRANZOI, A. C.; SPINELLI, A.; VIEIRA, I. C. "Rutin determination in pharmaceutical formulations using a carbon paste electrode modified with poly(vinylpyrrolidone)". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 47, 973, **2008**.

⁵⁸ SANTOS, D. P.; BERGAMINI, M. F.; SANTOS, V. A. F. F. M.; FURLAN, M.; ZANONI, M. V. B. "Preconcentration of rutin at a poly glutamic acid modified

electrode and its determination by square wave voltammetry". *Anal. Lett.*, 40, 3430, **2007**.

⁵⁹ FERNANDES, S. C.; OLIVEIRA, I. R. W. Z.; FATIBELLO-FILHO, O.; SPINELLI, A.; VIEIRA, I. C. "Biosensor based on laccase immobilized on microspheres of chitosan crosslinked with tripolyphate". *Sens. Actuators, B*, 133, 202, **2008**.

⁶⁰ MALAGUTTI, A. R.; ZUIN, V. G.; CAVALHEIRO, E. T. G. & MAZO, L. H. "Determination of rutin in green tea infusions using square-wave voltammetry with a rigid carbon-polyurethane composite electrode". *Electroanalysis*, 18, 1028, **2006**.

⁶¹ XU, G.; KIM, S. "Selective determination of quercetin using carbon nanotube-modified electrodes". *Electroanalysis*, 18, 1786, **2006**.

⁶² JIN, J.; KWON, C.; PARK, W.; KIM, S.; JUNG, S. "Electrochemical characterization of a glassy carbon electrode modified with succinoglycan monomers and multi-wall carbon nanotubes for the detection of quercetin in an aqueous electrolyte". *J. Electroanal. Chem.*, **2008**.

⁶³ FARGHALY, O. A. "Voltammetric determination of quercetin in urine at carbon paste electrode". *Anal. Lett.*, 38, 2247, **2005**.

⁶⁴ XIAO, P.; ZHAO, F. & ZENG, B. "Voltammetric determination of quercetin at a multi-walled carbon nanotubes paste electrode". *Microchem. J.*, 85, 244, **2007**.

⁶⁵ LIN, X.; HE, J.; ZHA, Z. "Simultaneous determination of quercetin and rutin at a multi-wall carbon-nanotube paste electrodes by reversing differential pulse voltammetry". *Sens. Actuators, B*, 119, 608, **2006**.

⁶⁶ XU, J.; ZHANG, H.; CHEN, G. “Carbon nanotube/polystyrene composite electrode for microchip electrophoretic determination of rutin and quercetin in *Flos Sophorae Immaturus*”. *Talanta*, 73, 932, **2007**.

⁶⁷ www.wikipedia.org/wiki/Agentesorganofosforados acessado em novembro de 2007

⁶⁸ SREEDHAR, N. Y.; REDDY, P. R. K.; REDDY, G. V. S.; REDDY, S. J. “Differential pulse polarographic determination of dicrotophos, crotoxyphos and chlorfenvinphos in grains and soils”. *Talanta*, 44, 1859, **1997**.

⁶⁹ DRAGUNSKI, J. C. *Desenvolvimento e aplicações de eletrodos modificados com a enzima acetilcolinesterase para a detecção de pesticidas em matrizes de alimentos*. São Carlos, Programa de Pós Graduação em Química Analítica-USP, **2007**. Tese de doutorado

⁷⁰ ADAMS, R. N. “Electrochemistry at solid electrodes”. In; *Monographs in electroanalytical chemistry and electrochemistry*, BARD, A. J. (Ed.), New York, Marcel Dekker, **1969**, p. 402.

⁷¹ Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. **1995**, p. 29.

⁷² TRIJUEQUE, J.; GARCÍA-GALEÑO, J.J.; NAVARRO-LABOULAIS, J.; SANMANTÍAS, A.; VICENTE, F. “Ohmic drop of Prussian-blue/graphite+epoxy electrodes”. *Electrochim. Acta*, 45, 789, **1999**.

⁷³ NAVARRO-LABOULAOS, J.; TRIJUEQUE, J.; VICENTE, F., SCHOLL, H. “Voltammetric determination of optimal load proportion in graphite-epoxy composite electrodes”. *J. Eletroanal. Chem*, 379, 159, **1994**.

⁷⁴ MILLER, J.; MILLER, J. *Statistic for Analytical Chemistry*. 3^a ed. New York, Prentice Hall, p. 256.

⁷⁵ MENDES, R.K. *Desenvolvimento e Aplicação de Eletrodos Compósitos à Base de Poliuretana e Grafite*. São Carlos, Programa de Pós Graduação em Química – UFSCAR, **2002**. Dissertação de mestrado.

⁷⁶ DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S. “Electrochemical detection of the herbicide paraquat in natural water and citric fruit juices using microelectrodes”. *Anal. Chim. Acta*, 546, 85, **2005**.

⁷⁷ VALLE, E. M. A.; MALAGUTTI, A. R.; MAZO, L. H.; MACHADO, S. A. S. “Interação de íons cobre (II) com o flavonóide quercetina: um estudo espectroscópico e eletroquímico”. In: SBQ, **2006**.

⁷⁸ Ni, Y.; Du, S., Kokot, S. “Interaction between quercetin-copper(II) complex DNA with the use of the Neutral Red dye fluorophore”. *Anal. Chim. Acta.*, 584, 19, **2007**.

⁷⁹ ARRIBAS, A. S.; BERMEJO, E.; CHICARRO, M.; ZAPARDIEL, A.; LUQUE, G. L.; FERREYRA, N. F.; RIVAS, G.A. “Analytical applications of a carbon nanotubes composite modified with copper microparticles as detector in flow systems”. *Anal. Chim. Acta*, 577, 183, **2006**.

⁸⁰ Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. **1995**.