

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

**PREPARAÇÃO DE ELETRODOS COM NOVOS MATERIAIS**  
**À BASE DE CARBONO PARA APLICAÇÃO EM**  
**ELETROANALÍTICA**

**Patrícia Batista Deroco\***

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

**Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho**

**\* bolsista FAPESP**

**São Carlos - SP**

**2019**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

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

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Patricia Batista Deroco, realizada em 28/06/2019:

Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho  
UFSCar

Prof. Dr. Ricardo Francisco Brocenschi  
UFPR

Prof. Dr. Fernando Cruz de Moraes  
UFSCar

Profa. Dra. Maria Valnice Boldrin  
UNESP

Prof. Dr. Rafael Martos Buoro  
IQSC/USP

Dedico este trabalho,

À minha família, que são exemplos de caráter e dignidade,  
meus pais Terezinha e João, minha irmã Priscila,  
meus avôs Helena e Antônio e a minha tia Fátima,  
que sempre estiveram ao meu lado me apoiando,  
incentivando e nunca mediram esforços para me ajudar  
e principalmente por terem acreditado em mim.

Amo vocês!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.” (Robert Collier)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por me dar força, saúde e coragem durante toda esta longa caminhada;

À minha família por todo amor e carinho;

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho pela oportunidade, confiança, ensinamentos, e por toda contribuição no meu crescimento profissional;

Aos profs. Danila Moscone, Dra. Fabiana Arduini e Dr. Giuseppe Paleschi da *Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"* (Roma, Itália) por me receber em seu grupo de pesquisa durante o meu doutorado sanduíche, pelas discussões científicas e pelos trabalhos gerados;

Aos profs. Dr. Giancarlo R. Salazar-Banda e Dra. Katlin I. B. Eguiluz da Universidade de Tiradentes (Aracaju – SE) pela disponibilização das nanopartículas *core-shell* suportadas em CB e, também, pela pronta disponibilidade de discussão e contribuições durante a preparação do manuscrito;

A todos os meus amigos, pela amizade incondicional e por fazerem minha vida mais divertida sempre me apoiando e me dando forças;

Aos colegas do LABBES, LABIE, GQA pelo apoio, amizade, transmissão de conhecimentos e pelos momentos de descontração;

Ao departamento de Química da UFSCar e ao programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar pela oportunidade e por fornecerem todo o suporte necessário;

A todos os funcionários do DQ, especialmente as secretárias Cristina, Luciani e Ariane pela atenção e colaboração;

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq e FAPESP.

Em especial ao CNPq por um mês de bolsa concedida, processo 143303/2014-7 e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelos demais meses de bolsas: doutorado, processo nº 2014/07919-2, e bolsa no exterior BEPE processo nº 2017/23940-0;

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

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

A	<i>Ampère</i>
AC	Corrente alternada (do inglês: <i>alternating current</i> )
AF	Ácido ferúlico
AU	Ácido úrico
Au@Pd	Nanopartículas <i>core-shell</i> (casca-núcleo) de Au e Pd
AuNPs	Nanopartículas de ouro
AuNPs <sub>(ads)</sub>	Nanopartículas de ouro adsorvidas
AuNPs <sub>(elet)</sub>	Nanopartículas de ouro eletrodepositadas
BR	Britton–Robinson
C	<i>Coulombs</i>
CB	<i>Carbon black</i> (negro de fumo)
C <sub>D</sub>	Camada difusa
C <sub>dl</sub>	Capacitância diferencial
C <sub>H</sub>	Camada compacta ou camada de Helmholtz
cm	Centímetro
COD	Codeína
CPE	Elemento de fase constante
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
CV	Voltametria cíclica (do inglês: <i>cyclic voltammetry</i> )
DC	Corrente direta (do inglês: <i>direct current</i> )
DHP	Dihexadecilhidrogenofosfato (do inglês: <i>dihexadecyl hydrogen phosphate</i> )
DMF	Dimetilformamida
DP	Pulso diferencial (do inglês: <i>differential pulse</i> )
DPV	Voltametria de pulso diferencial (do inglês: <i>differential pulse voltammetry</i> )
E	Potencial

---

$E^0$	Potencial formal
EDS	Espectroscopia de raios X por dispersão de energia (do inglês: <i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i> )
EIS	Espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês: <i>electrochemical impedance spectroscopy</i> )
$E_p$	Potencial de pico
$E_{p1/2}$	Potencial de meia onda
FEG/SEM	Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (do inglês: <i>field emission gun scanning electron microscopy</i> )
GC	Carbono vítreo (do inglês: <i>glassy carbon</i> )
GCE	Eletrodo de carbono vítreo (do inglês: <i>glassy carbon electrode</i> )
HMDE	Eletrodo de gota pendente de mercúrio (do inglês: <i>hanging mercury drop electrode</i> )
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês: <i>high performance liquid chromatography</i> )
HQ	Hidroquinona
$I$	Corrente
$I_p$	Corrente de pico
$I_{pa}$	Corrente de pico anódica
ITO	Eletrodo de óxido de índio e estanho (do inglês: <i>indium tin oxide</i> )
$j_a$	Densidade corrente de pico anódico
$k^0$	Constante de transferência heterogênea de elétrons
L	Litro
ln	Logaritmo natural
LOD	Limite de detecção (do inglês: <i>limit of detection</i> )

---

log	Logaritmo
LSV	Voltametria de varredura linear (do inglês: <i>linear sweep voltammetry</i> )
m	Metro
m	Mili ( $10^{-3}$ )
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Mol	Unidade do SI da quantidade de substância
MST	Mesotriona
MWCNTs	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (do inglês: <i>multi-walled carbon nanotube</i> )
$n$	Número de elétrons
n	Nanômetro ( $10^{-9}$ m)
$N_2H_4$	Hidrazina
NiO(OH)NPs	Nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel
OCP	Potencial de circuito aberto (do inglês: <i>open circuit potential</i> )
PCT	Paracetamol
PDDA	Cloreto de polidialildimetilamônio
pH	Potencial hidrogeniônico
$pK_a^*$	$pK_a$ condicional
ppi	Poros por polegadas (do inglês: <i>pores per inch</i> )
PPy	Polipirrol (do inglês: <i>polypyrrole</i> )
PTFE	Politetrafluoretileno
PZC	Potencial de carga zero (do inglês: <i>potential of zero charge</i> )
$r$	Coefficiente de correlação
$R_{ct}$	Resistência de transferência de carga
RGO	Óxido de grafeno reduzido (do inglês: <i>reduced graphene oxide</i> )



---

rpm	Rotação por minuto
$R_s$	Resistência da solução
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês: <i>relative standard deviation</i> )
s	Segundos
SDS	Dodecil sulfato de sódio (do inglês: <i>sodium dodecyl sulfate</i> )
SW	Onda quadrada (do inglês: <i>square wave</i> )
SWAdASV	Voltametria adsortiva de redissolução anódica por onda quadrada (do inglês: <i>square-wave adsorptive anodic stripping voltammetry</i> )
SWV	Voltametria de onda quadrada (do inglês: <i>square wave voltammetry</i> )
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão (do inglês: <i>transmission electron microscopy</i> )
TPF	Triptofano
Triton X-100	4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil-poli(etilenoglicol)
V	<i>Volt</i>
$v$	Velocidade de varredura de potencial
$v^{1/2}$	Raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial
W	Impedância de Warburg
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (do inglês: <i>X-Ray photoelectron spectroscopy</i> )
XRD	Difração de raios X (do inglês, <i>X-Ray diffraction</i> )
3D-RVC	Carbono vítreo reticulado (do inglês: <i>reticulated vitreous carbono</i> )
$\Delta E_p$	Separação dos potenciais de pico anódico e catódico
$\mu$	Micro ( $10^{-6}$ )

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 – Propriedades físico-químicas de três CB tipo <i>furnace black</i> .....	6
TABELA 3.1 – Parâmetros de impedância eletroquímica obtidos ajustando os espectros com a resposta de um circuito elétrico equivalente para um eletrodo de GCE sem modificação e para um CB/GCE .....	35
TABELA 3.2 – Valores de $k^0$ reportados na literatura, obtidos com eletrodos modificados com materiais de carbono para diferentes analitos .....	51
TABELA 3.3 – Comparação de parâmetros analíticos obtidos usando o sensor proposto CB/GCE e outros sensores para a determinação de MST .....	54
TABELA 3.4 – Efeito de possíveis interferentes na SWV determinação de MST 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na proporção de 1:100 (analito/interferente) .....	56
TABELA 3.5 – Resultados obtidos na determinação de MST em amostras de águas e de caldo de cana-de-açúcar pelo método proposto usando CB/GCE.....	57
TABELA 4.1 – Comparação de parâmetros analíticos obtidos usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE e outros sensores eletroquímicos para a determinação simultânea de PCT e COD .....	76
TABELA 4.2 – Efeito de possíveis interferentes na determinação por SWV de uma solução de PCT e COD 7,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na proporção de 1:1 razão massa (analito:interferente) .....	78
TABELA 4.3 – Quantidade de PCT e COD contida em formulações farmacêuticas (comprimidos) determinada empregando-se o método proposto (SWV) usando o NiONPs–CB–DHP/GCE e o método comparativo HPLC-UV/Vis <sup>178</sup> .....	79
TABELA 4.4 – Resultados obtidos na determinação simultânea de PCT e COD em amostras de urina e soro humano pelo método proposto usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE.....	80
TABELA 5.1– Comparação dos parâmetros analíticos obtidos usando o eletrodo proposto Au@Pd/CB–DHP/GCE e outros sensores eletroquímicos para a determinação de $\text{N}_2\text{H}_4$ .....	101
TABELA 5.2 – Efeito de possíveis interferentes na determinação amperométrica de uma solução de $\text{N}_2\text{H}_4$ 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na proporção de 1:10 [ $\text{N}_2\text{H}_4$ ]:[interferente].....	103
TABELA 5.3– Resultados obtidos na determinação de $\text{N}_2\text{H}_4$ em amostras de águas por adição e recuperação usando o método proposto e o Au@Pd/CB–DHP/GCE .....	104

TABELA 5.4– Resultados obtidos na determinação de $N_2H_4$ em amostras de águas pelo método proposto e pelo método comparativo espectrofotométrico.....	105
TABELA 6.1 – Valores de correntes de pico e potenciais de pico obtidos para $[Fe(CN)_6]^{3-}$ extraídos da FIGURA 6.4.....	114
TABELA 6.2 – Valores de correntes de pico e potenciais de pico obtidos para $[Fe(CN)_6]^{3-}$ extraídos da FIGURA 6.6.....	119
TABELA 6.3 – Valores de correntes de pico e potenciais de pico obtidos para PCT, AU, HQ e TF, extraídos da FIGURA 6.8.....	124
TABELA 6.4 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de PCT obtidos com os eletrodos 3D–RVC, $AuNP_{(ads)}/3D–RVC$ e $AuNP_{(eletr)}/3D–RVC$ , e CV .....	126
TABELA 6.5 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de AU obtidos com os eletrodos 3D–RVC, $AuNP_{(ads)}/3D–RVC$ e $AuNP_{(eletr)}/3D–RVC$ , e CV .....	127
TABELA 6.6 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de HQ obtidos com os eletrodos 3D–RVC, $AuNP_{(ads)}/3D–RVC$ e $AuNP_{(eletr)}/3D–RVC$ , e CV .....	127
TABELA 6.7 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de TPF obtidos com os eletrodos 3D–RVC, $AuNP_{(ads)}/3D–RVC$ e $AuNP_{(eletr)}/3D–RVC$ , e CV .....	128
TABELA 6.8 – Resultados obtidos no estudo de repetibilidade do método e de produção do eletrodo na presença de PCT, AU, HQ e TPF usando CV .....	129
TABELA 6.9 – Resultados obtidos na determinação de PCT, AU, HQ e TPF em amostras biológicas empregando-se o método proposto usando o eletrodo $AuNP_{(eletr)}/3D–RVC$ .....	130
TABELA 7.1 – Valores de <i>LOD</i> e faixa linear obtidos usando o eletrodo $AuNPs/3D–RVC$ e outros sensores reportados para a determinação de AF.....	142
TABELA 7.2 – Resultados obtidos no estudo de repetibilidade intra-dia e inter-dias para a determinação de AF (em duas diferentes concentrações) usando amperometria e o eletrodo proposto ( $AuNPs/3D–RVC$ ) .....	143
TABELA 7.3 – Determinação de AF em amostras usando o método amperométrico proposto e o método comparativo espectrofotométrico .....	145

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Representação esquemática da estrutura de partículas primárias, agregados e aglomerados do CB.....	4
FIGURA 1.2 – Representação esquemática (A) da estrutura macroscópica e (B) da estrutura cristalográfica de 3D-RVC.....	7
FIGURA 1.3 – Estrutura química do herbicida MST.....	15
FIGURA 1.4 – Estrutura química dos analgésicos PCT e COD. ....	19
FIGURA 1.5 – Reação de eletrooxidação de AF proposta por ERADY <i>et al.</i> <sup>148</sup> .....	22
FIGURA 3.1 – Célula eletroquímica de compartimento único com os três eletrodos utilizados. ....	29
FIGURA 3.2 – Representação esquemática das etapas de preparo do eletrodo de trabalho. ....	31
FIGURA 3.3 – Imagens de SEM (A) CB; (B) Histograma de distribuição dos diâmetros de CB.....	33
FIGURA 3.4 – (A) Espectros de impedância de planos complexos (Diagramas de Nyquist) usando um eletrodo de GCE sem modificação (●) e o CB/GCE (■) para o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ na concentração de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (para demais condições usadas, veja o texto SEÇÃO 3.2.4). (B) Circuito equivalente adaptado do circuito de Randles usado para ajustar os espectros de impedância. ....	34
FIGURA 3.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos na ausência (--) e na presença (—) de MST $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CTAB no CB/GCE, $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ .....	37
FIGURA 3.6 – Voltamogramas cíclicos na presença de MST $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CTAB no GCE (—) e no CB/GCE (—), $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ .....	38
FIGURA 3.7 – Efeito do surfactante CTAB na estabilidade do sinal de CV para MST $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0), (■) na ausência e (●) na presença de CTAB $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Os sinais são dados em porcentagem da altura de pico medido por CV.....	40
FIGURA 3.8 – Estruturas químicas dos surfactantes utilizados. ....	41
FIGURA 3.9 – Voltamogramas cíclicos para MST $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de (—) CTAB, (—) SDS ou (—) Triton X-100 sobre o CB/GCE, $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ . ....	42

FIGURA 3.10 – Variação da capacitância diferencial ( $C_{dl}$ ) com o potencial aplicado (E) para solução de $\text{NaClO}_4$ $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ , na ausência (■) e na presença (●) de CTAB $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ .	45
FIGURA 3.11 – (A) Voltamogramas cíclicos para MST $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ contendo CTAB $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes pH usando o CB/GCE; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Gráfico de $E_p$ vs. pH.	46
FIGURA 3.12 – (A) Voltamogramas cíclicos para MST $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo CTAB $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre eletrodo CB/GCE em diferentes velocidades de varredura de potencial (1-15): 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 e $450 \text{ mV s}^{-1}$ ; (B) Relação linear de $\log I_p$ vs. $\log v$ ; (C) Corrente de pico ( $I_p$ ) vs. velocidade de varredura de potencial ( $v$ ) e (D) Corrente de pico ( $I_p$ ) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ( $v^{1/2}$ ).	48
FIGURA 3.13 – Mecanismo proposto para o primeiro pico de eletrorredução de MST no CB/GCE.	50
FIGURA 3.14 – Voltamogramas obtidos para MST em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) contendo CTAB $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ usando o CB/GCE (A) por DPV nas concentrações de (1–7): 0,072; 0,15; 0,37; 0,68; 1,5; 4,6 e $6,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (condições da DPV: $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ; $a = 50 \text{ mV}$ ; $t = 20 \text{ ms}$ ). (B) por SWV nas concentrações de (1–9): 0,040; 0,071; 0,10; 0,40; 0,70; 1,1; 2,5; 4,1 e $7,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (condições da SWV: $f = 30 \text{ Hz}$ ; $a = 40 \text{ mV}$ ; $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ ).	53
FIGURA 4.1 – Representação esquemática das etapas de preparo do eletrodo de trabalho.	62
FIGURA 4.2 – Imagens de SEM de obtidas (A) e (B) para o filme de CB–DHP no GCE, em diferentes ampliações; (C) para as NiOOHNPs sobre o filme de CB–DHP. (D) Histograma de distribuição do diâmetro das nanopartículas.	66
FIGURA 4.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos para o NiOOHNPs –CB–DHP/GCE em solução de $\text{NaOH}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura de potencial: (1 - 10): 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Inserção: relação linear entre $\log j_a$ e $\log v$ .	67
FIGURA 4.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos para (A) $50,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ PCT e (B) $100,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ COD em tampão BR pH 3,0 no CB–DHP/GCE (–) e no NiOOHNPs–CB–DHP/GCE (–) e no NiOOHNPs/GCE (–).	69

- FIGURA 4.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos para solução de: (A) PCT  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  e (B) COD  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  com diferentes valores de pH, usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE. Os Gráficos (C) e (D) apresentam a relação entre  $E_p$  e pH, para estes analitos respectivamente;  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ..... 71
- FIGURA 4.6 – Voltamogramas SW obtidos usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE para diferentes concentrações de: (A) PCT (1–6): de  $3,0$  a  $8,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  e concentração fixa de COD de  $5,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ; (B) COD (1–6): de  $2,3$  a  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  e concentração fixa de PCT de  $7,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Eletrólito suporte: solução de tampão BR pH 3,0. Condições da SWV:  $f = 10 \text{ Hz}$ ,  $a = 70 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 8,0 \text{ mV}$ . ..... 72
- FIGURA 4.7 – (A) Voltamogramas de SW obtidos usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE para diferentes concentrações de PCT (1–11): de  $3,0$  a  $48 \mu\text{mol L}^{-1}$  e COD de  $0,83$  a  $38 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Eletrólito suporte: solução de tampão BR pH 3,0. Condições da SWV:  $f = 10 \text{ Hz}$ ,  $a = 70 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 8,0 \text{ mV}$ . (B) e (C) curvas analíticas obtidas para PCT e COD, respectivamente. .... 74
- FIGURA 5.1 – Esquema representando as etapas de síntese das nanopartículas core-shell, 1ª etapa: formação do núcleo de Au e 2ª etapa: formação da casca de Pd. .... 85
- FIGURA 5.2 – (A) Imagem de MEV obtidas para Au@Pd core-shell sobre CB e (B) Imagem de TEM de uma nanopartícula individual de Au@Pd core-shell sobre CB. .... 88
- FIGURA 5.3 – (A) Caracterização da distribuição elementar de Au e Pd em toda a nanopartícula pela técnica de linha de varredura TEM-EDS (B) composição elementar da camada interna (*core*) e (C) da camada externa (*shell*). Nas figuras inseridas são mostradas as áreas e direção da análise realizada. .... 90
- FIGURA 5.4 – Espectro de difração de raios X obtido para o Au@Pd/CB. Radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ). .... 91
- FIGURA 5.5– Voltamogramas cíclicos obtidos para  $\text{N}_2\text{H}_4$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato pH 10,0 sobre os eletrodos de CB–DHP/GCE (–) e de Au@Pd/CB–DHP/GCE (—);  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ . .... 92
- FIGURA 5.6– (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para  $\text{N}_2\text{H}_4$   $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes pH (7,0 – 12) sobre o Au@Pd/CB–DHP/GCE; (B) Relação linear entre  $E_p$  e pH;  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ . .... 94
- FIGURA 5.7– (A) Relação linear entre  $\log I_p$  e  $\log \nu$ ; e (B) a corrente de pico anódica vs. a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, obtidas no estudo variando as

velocidades de varredura de 20 a 400 $\text{mV s}^{-1}$ para uma solução de $\text{N}_2\text{H}_4$ 0,5 $\text{mmol L}^{-1}$ sobre o Au@Pd/CB–DHP/GCE. ....	96
FIGURA 5.8– A relação entre $I_p$ e $E_p$ obtida amperometricamente ( $n = 3$ ) para 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de $\text{N}_2\text{H}_4$ em tampão fosfato (pH 10,0) sobre o Au@Pd/CB–DHP/GCE com agitação de 1000 rpm. ....	98
FIGURA 5.9 – Amperograma obtido sobre o Au@Pd/CB–DHP/GCE, após sucessivas adições de $\text{N}_2\text{H}_4$ : (a) 2,50; (b) 5,00; (c) 7,40; (d) 15,0; (e) 21,0; (f) 28,0; (g) 35,0; (h) 45,0; (i) 56,0; (j) 65,0; (k) 75,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução de tampão fosfato (pH 10,0) com agitação de 1000 rpm. Potencial aplicado foi 0,15 V. O gráfico inserido corresponde à respectiva curva analítica obtida ( $n = 3$ ). ....	99
FIGURA 6.1 – Montagem esquemática do eletrodo 3D–RVC usado neste trabalho. (A) RVC 45 ppi, (B) tubo de plástico cilíndrico e contato haste de liga metálica de cobre e zinco, e cilindro de cobre, (c) 3D–RVC pronto para o uso. ....	109
FIGURA 6.2 – Imagem de SEM obtida para a superfície de 3D–RVC. ....	111
FIGURA 6.3 – Imagens de SEM obtidas para (A) $\text{AuNPs}_{(\text{elet})}/3\text{D–RVC}$ ; (B) $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D–RVC}$ ; magnificação 200000 vezes. (C) e (D) São os respectivos histogramas de distribuição. ....	113
FIGURA 6.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo não modificado 3D–RVC (—) e os eletrodos modificados com AuNPs: $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D–RVC}$ (—) e $\text{AuNPs}_{(\text{elet})}/3\text{D–RVC}$ (—) na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 1,0 $\text{mmol L}^{-1}$ em solução de KCl 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ , $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ . ....	114
FIGURA 6.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial (10 – 500 $\text{mVs}^{-1}$ ) para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 1,0 $\text{mmol L}^{-1}$ em solução KCl 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ ; sendo em (A) para o eletrodo 3D–RVC, (B) para o $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D–RVC}$ e em (C) para o $\text{AuNPs}_{(\text{elet})}/3\text{D–RVC}$ . Os gráficos inseridos correspondem à relação linear entre a corrente de pico anódico e catódico, e a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial. ....	116
FIGURA 6.6 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo não modificado 3D–RVC (—) e os eletrodos modificados com AuNPs: $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D–RVC}$ (—) e $\text{AuNPs}_{(\text{elet})}/3\text{D–RVC}$ (—) na presença de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 1,0 $\text{mmol L}^{-1}$ em solução de KCl 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ , $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ . ....	119
FIGURA 6.7 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial (10 – 500 $\text{mVs}^{-1}$ ) na presença de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 1,0 $\text{mmol L}^{-1}$ em solução	

- KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; sendo em (A) para o eletrodo 3D-RVC, (B) para o  $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D-RVC}$  e em (C) para o  $\text{AuNPs}_{(\text{elet})}/3\text{D-RVC}$ . Os gráficos inseridos correspondem à relação linear entre a corrente de pico anódico e catódico, e a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial..... 121
- FIGURA 6.8 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo não modificado 3D-RVC (—) e os eletrodos modificados com AuNPs:  $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D-RVC}$  (—) e  $\text{AuNPs}_{(\text{elet})}/3\text{D-RVC}$  (—) na presença de (A) PCT  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ , (B) AU  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ , (C) HQ  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  e (D) TPF  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato pH 7,0,  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 123
- FIGURA 6.9 – Curvas analíticas obtidas após sucessivas adições de (A) PCT, (B) AU, (C) HQ e (D) TPF utilizando os eletrodos 3D-RVC (■),  $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D-RVC}$  (●) e  $\text{AuNPs}_{(\text{elet})}/3\text{D-RVC}$  (▲) em tampão fosfato pH 7,0,  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ..... 125
- FIGURA 7.1 – Voltamogramas cíclicos obtidos na ausência (linha tracejada) e na presença (linha sólida) de AF  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0) no 3D-RVC (—) e no  $\text{AuNPs}/3\text{D-RVC}$  (—),  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ ..... 136
- FIGURA 7.2 – Voltamogramas obtidos utilizando o eletrodo de  $\text{AuNPs}/3\text{D-RVC}$  (A) para diferentes potenciais e (B) em diferentes tempos de eletrodeposição na presença de AF  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0),  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ ..... 137
- FIGURA 7.3 – (A) Voltamogramas cíclicos para AF  $100,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes pH (2,0 – 6,0) usando o  $\text{AuNPs}/3\text{D-RVC}$ ,  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ ; (B) Gráfico de  $I_p$  (●) e  $E_p$  (■) versus pH..... 138
- FIGURA 7.4 – Influência do potencial aplicado na oxidação de  $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  de AF em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0) na superfície do  $\text{AuNPs}/3\text{D-RVC}$ ; agitação = 500 rpm..... 139
- FIGURA 7.5 – (A) Amperograma obtido usando o  $\text{AuNPs}/3\text{D-RVC}$ , após sucessivas adições de AF: (a) 0,07; (b) 0,27; (c) 0,56; (d) 0,86; (e) 1,2; (f) 1,4; (g) 1,8; (h) 2,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato (pH 3,0) com agitação de 500 rpm. Potencial aplicado foi 0,75 V. (B) Curva analítica correspondente..... 140
- FIGURA 7.6 – Amperograma obtido usando o  $\text{AuNPs}/3\text{D-RVC}$ , após adição de AF  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , seguida de sucessivas adições de possíveis interferentes na proporção 1:10 (amido, celulose, ácido ascórbico, estearato de magnésio e dióxido de silício), e



novamente AF  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato (pH 3,0) com agitação de 500 rpm. Potencial aplicado foi 0,75 V. .... 144

## RESUMO

PREPARAÇÃO DE ELETRODOS COM NOVOS MATERIAIS À BASE DE CARBONO PARA APLICAÇÃO EM ELETROANALÍTICA. Neste trabalho foram desenvolvidos e explorados sensores eletroquímicos à base de dois diferentes tipos de material de carbono: *carbon black* (CB) (negro de fumo) e carbono vítreo reticulado (3D-RVC) para estudos eletroquímicos e aplicações analíticas. Primeiramente, o CB foi empregado como único nanomaterial modificador, sendo as nanopartículas de CB imobilizadas, a partir de uma dispersão em dimetilformamida, sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo. Este eletrodo foi utilizado para a quantificação do herbicida mesotriona em águas naturais e caldo de cana-de-açúcar. A curva analítica obtida apresentou linearidade de 0,040 a 7,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  com limite de detecção de 0,026  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Em seguida, foi construído um eletrodo a partir da eletrodeposição de nanopartículas de óxido/hidróxido de níquel sobre um filme de CB e dihexadecilfosfato. Este novo sensor foi aplicado na quantificação simultânea de paracetamol e codeína em formulação farmacêutica e fluido biológico. Obteve-se curvas analíticas lineares nas faixas de 3,0 a 47,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,83 a 38,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e limites de detecção de 0,12  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,48  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para paracetamol e codeína, respectivamente. Em outro trabalho, o CB foi utilizado como suporte para a síntese de nanopartículas do tipo *core-shell* de Au e de Pd. Esta combinação de nanomateriais foi utilizada para a preparação de um filme sobre a superfície do carbono vítreo. Este sensor foi utilizado para quantificar hidrazina em amostras de água. A faixa linear obtida foi de 2,50 e 88,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com limite de detecção de 1,77  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Em sequência, a avaliação do desempenho eletroquímico do 3D-RVC modificado com nanopartículas ouro foi o objetivo principal deste trabalho. O 3D-RVC foi modificado por duas diferentes estratégias de incorporação, eletrodeposição e adsorção química de uma solução coloidal de nanopartículas previamente preparada.

Foram obtidos melhores resultados em termos de sinal analítico, faixa linear e limite de detecção para as sondas  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  e  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ , e para as moléculas orgânicas paracetamol, ácido úrico, hidroquinona e triptofano, quando o eletrodo modificado com as AuNPs por eletrodeposição foi utilizado. Então, este eletrodo foi utilizado para o desenvolvimento de um método para a determinação do composto fenólico ácido ferúlico em amostras de cosméticas e formulações farmacêuticas, sendo a curva analítica linear na faixa de concentrações de 0,07 a 2,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com limite de detecção de 9,0  $\text{nmol L}^{-1}$ . A seletividade, precisão e exatidão de todos os métodos propostos foram avaliadas por meio de estudos de possíveis interferentes, repetibilidade intra- e inter-dias e comparação com espectroscopia UV-Vis ou HPLC com detecção UV-Vis, respectivamente.

**ABSTRACT**

PREPARATION OF ELECTRODES WITH NEW CARBON-BASED MATERIALS FOR APPLICATION IN ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY. In this work, electrochemical sensors were developed using two different types of carbon material: carbon black (CB) and reticulated vitreous carbon (3D-RVC) for electrochemical studies and analytical applications. First, CB was used as the only modifier nanomaterial, being the CB nanoparticles immobilized from a dispersion in dimethylformamide, on the surface of a glassy carbon electrode. This electrode was used for quantification of mesotrione herbicide in natural waters and sugar cane sample. The obtained analytical curve showed linearity from 0.040 to 7.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  with detection limit of 0.026  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Next, it was constructed an electrode by the electrodeposition of nanoparticles of nickel oxide/hydroxide on a film of CB and dihexadecylphosphate. This new sensor was applied in the simultaneous quantification of paracetamol and codeine in commercial pharmaceutical samples and biological samples. Linear analytical curves in the ranges from 3.0 to 47.8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and 0.83 to 38.3  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and detection limits of 0.12  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and 0.48  $\mu\text{mol L}^{-1}$  were obtained for acetaminophen and codeine, respectively. In another work, the CB was used as support for the synthesis of nanoparticles of the core-shell type of Au and Pd. This combination of nanomaterials was used for the preparation of a film on the surface of the glassy carbon electrode. This sensor was used to quantify hydrazine in water samples. The linear range obtained was 2.50 and 88.0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , with a detection limit of 1.77  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Subsequently, the evaluation of the electrochemical performance of 3D-RVC modified with gold nanoparticles (AuNPs) was the main objective of this work. The 3D-RVC was modified by two different strategies of incorporation, electrodeposition and chemical adsorption of a previously prepared nanoparticle colloidal solution. The best results in terms of analytical signal,

linear range and detection limit for the probes  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  and  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ , and organic molecules: paracetamol, uric acid, hydroquinone and tryptophan were obtained using the electrode modified with the AuNPs electrodeposited. So, this electrode was used for the development of a method for the determination of ferulic acid in cosmetic samples and pharmaceutical formulations, being the linear analytical curve in the concentration range from 0.07 to 2.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , with detection limit of 9.0  $\text{nmol L}^{-1}$ . The selectivity, precision and accuracy of the all proposed methods were evaluated by possible interferences studies, intra- and inter-day repeatability measurements and comparison with UV-Vis spectroscopy or HPLC with UV-Vis detection, respectively.

## SUMÁRIO

1 – Introdução.....	2
1.1 Materiais à base de carbono .....	3
1.1.1 <i>Carbon black</i> .....	3
1.1.2 Carbono vítreo reticulado.....	6
1.2 Material de carbono como suporte para síntese de nanopartículas metálicas.....	9
1.2.1 Nanopartículas metálicas .....	10
1.2.1.1 Nanopartículas de ouro.....	11
1.2.1.2 Nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel.....	11
1.2.1.3 Nanopartículas <i>core-shell</i> de ouro e paládio.....	12
1.3 Aplicações analíticas.....	13
1.3.1 Controle ambiental.....	14
1.3.1.1 Pesticidas - Mesotriona.....	14
1.3.1.2 Substâncias emergentes - Hidrazina.....	17
1.3.2 Análises clínicas e industriais .....	18
1.3.2.1 Analgésicos - Paracetamol e codeína.....	18
1.3.2.2 Antioxidantes - Ácido ferúlico.....	20
2 – Objetivos.....	24
2.1 Objetivo geral .....	24
2.2 Objetivos específicos .....	24
2.2.1 Confeção, estudos eletroquímicos e aplicações de eletrodos à base de <i>carbon black</i> .....	24
2.2.2 Avaliação de eletrodos de carbono vítreo reticulado como substrato para deposição de nanopartículas de ouro e suas aplicações	25
3 – Eletrodo modificado com <i>carbon black</i> como sensor para estudos eletroquímicos e determinação voltamétrica do pesticida mesotriona .....	27
3.1 Objetivo específico .....	27
3.2 Experimental.....	28

3.2.1 Reagentes e padrões.....	28
3.2.2 Instrumentação.....	28
3.2.3 Preparação do eletrodo de trabalho (GCE modificado) .....	30
3.2.4 Medidas eletroquímicas .....	31
3.2.5 Preparo das amostras analisadas.....	32
3.3 Resultados e discussão .....	33
3.3.1 Caracterização morfológica e eletroquímica do filme de CB.....	33
3.3.2 Comportamento eletroquímico do MST.....	36
3.3.3 Estudo do efeito do surfactante .....	38
3.3.4 Estudo do efeito da concentração hidrogeniônica (pH) .....	45
3.3.5 Estudo da velocidade de varredura de potencial.....	47
3.3.6 Determinação de MST usando as técnicas eletroquímicas de pulso.....	52
3.3.7 Estudo de interferentes em potencial.....	55
3.3.8 Aplicação do método proposto para a determinação de MST em águas e caldo de cana-de-açúcar .....	56
3.4 Conclusões parciais.....	57
4 – Sensor eletroquímico para a determinação simultânea de paracetamol e codeína usando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de óxido de níquel e <i>carbon black</i> .....	60
4.1 Objetivo específico .....	60
4.2 Experimental.....	61
4.2.1 Reagentes e padrões.....	61
4.2.2 Instrumentação.....	61
4.2.3 Preparação do eletrodo modificado .....	62
4.2.4 Medidas eletroquímicas .....	63
4.2.5 Preparação de amostras analisadas.....	64
4.3 Resultados e discussão .....	65

4.3.1 Caracterização morfológica e eletroquímica do eletrodo de trabalho.....	65
4.3.2 Comportamento eletroquímico de PCT e COD .....	68
4.3.3 Efeito do pH e do eletrólito suporte .....	69
4.3.4 Determinação simultânea de PCT e COD usando SWV .....	71
4.3.5 Aplicação do método proposto para a determinação simultânea de PCT e COD em amostras farmacêuticas e fluidos biológicos sintéticos.....	77
4.1 Conclusões parciais.....	80
5 – Nanopartículas core-shell (casca-núcleo) de Au–Pd suportadas em carbon black em filme de dihexadecilfosfato para o desenvolvimento de um sensor eletroquímico de hidrazina .....	82
5.1 Objetivo específico .....	82
5.2 Experimental.....	83
5.2.1 Reagentes e padrões.....	83
5.2.2 Instrumentação.....	83
5.2.3 Síntese das nanopartículas <i>core-shell</i> .....	84
5.2.4 Preparação do eletrodo de trabalho .....	86
5.2.5 Preparação das amostras de água .....	86
5.2.6 Medidas eletroquímicas .....	86
5.3 Resultados e discussão .....	87
5.3.1 Caracterização de Au@Pd nanopartículas suportadas em CB ...	87
5.3.2 Comportamento eletroquímico de HDZ .....	91
5.3.2.1 Cálculo do número de elétrons e mecanismo de reação estimado por detecção amperométrica.....	94
5.3.2.2 Efeito da velocidade de varredura de potencial.....	95
5.3.3 Determinação de N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> por amperometria .....	97
5.3.4 Aplicação do sensor proposto Au@Pd/CB–DHP/GCE .....	102
5.1 Conclusões parciais.....	105



6 – Avaliação de eletrodos 3D baseados em carbono vítreo reticulado modificados com nanopartículas de ouro por duas diferentes estratégias	107
6.1 Objetivo específico	107
6.2 Experimental	107
6.2.1 Reagentes e soluções	107
6.2.2 Instrumentação	108
6.2.3 Síntese das nanopartículas de ouro	109
6.2.4 Preparação do eletrodo de trabalho	110
6.2.5 Medidas eletroquímicas	110
6.3 Resultados e discussão	111
6.3.1 Caracterização morfológica do eletrodo 3D–RVC e suas modificações com AuNPs	111
6.3.2 Caracterização eletroquímica dos eletrodos de 3D–RVC, AuNPs <sub>(ads)</sub> /3D–RVC e AuNPs <sub>(elet)</sub> /3D–RVC	113
6.3.3 Comportamento eletroquímico de moléculas orgânicas sobre os eletrodos propostos	121
6.3.4 Repetibilidade do método e da produção do eletrodo AuNPs <sub>(elet)</sub> /3D–RVC	128
6.4 Conclusões parciais	130
7 – Aplicação de um sensor constituído por carbono vítreo reticulado modificado com nanopartículas de ouro na determinação de ácido ferúlico em produtos cosméticos/farmacêuticos	133
7.1 Objetivo específico	133
7.2 Experimental	133
7.2.1 Reagentes e padrões	133
7.2.2 Instrumentação	134
7.2.3 Preparação do eletrodo AuNPs/3D–RVC	134
7.2.4 Medidas eletroquímicas	134
7.3 Resultados e discussão	135

---

7.3.1 Comportamento eletroquímico de AF .....	135
7.3.2 Eletrodeposição de nanopartículas de ouro .....	136
7.3.3 Estudo do efeito do pH .....	137
7.3.4 Determinação amperométrica de AF.....	139
7.3.5 Construção da curva analítica .....	140
7.4 Conclusões parciais.....	145
8 – Conclusões gerais.....	148
9 – Referências.....	150

# **CAPÍTULO 1**

## 1 – Introdução

A química analítica moderna tem como premissa básica o desenvolvimento de sistemas analíticos simples e de baixo custo para o monitoramento de analitos em diferentes amostras. O 11º princípio dos dozes “Princípios da Química Verde”, estabelecidos por ANASTAS e WARNER, é focado no desenvolvimento de métodos de monitoramento e controle dentro do processo, seja ele industrial ou de pesquisa, em tempo real, antes da formação de substâncias nocivas<sup>1-3</sup>.

Neste sentido, a confecção e o desenvolvimento de sistemas analíticos de detecção focados em análises ecologicamente corretas e seguras são de interesse global e, portanto, a pesquisa voltada para fabricação de sensores analíticos de nova geração é um campo altamente diversificado e dinâmico<sup>4</sup>. Como resultado desse imenso interesse, uma infinidade de dispositivos sensores está sendo continuamente desenvolvida, com aplicações sendo realizadas nos campos da análise clínica, industrial e ambiental<sup>5</sup>.

De particular interesse são os sensores derivados do ponto de vista eletroquímico, que atraem a atenção porque podem proporcionar métodos analíticos amigáveis ao meio ambiente. Estes métodos requerem apenas pequenos volumes (poucos mililitros ou microlitros) de reagentes e amostras, e com isso uma menor geração de resíduos; sendo que os reagentes utilizados são de baixa toxicidade (geralmente soluções tampão aquosas ou ácidas diluídas)<sup>6,7</sup>.

Além disso, a partir da seleção do material mais apropriado, podem-se gerar sensores sensíveis, seletivos, e ainda experimentalmente simples e de baixo custo. As propriedades analíticas a serem consideradas incluem a relação sinal-ruído, janela de potencial de trabalho, reprodutibilidade da superfície, capacidade de promover uma melhor transferência de elétrons e detectabilidade<sup>8,9</sup>.

A fim de melhorar estas capacidades analíticas, os pesquisadores buscam continuamente novos materiais de eletrodo que possuam propriedades melhoradas e vantajosas em comparação com os materiais de eletrodo mais tradicionais e comumente empregados.

O interesse em eletrodos baseados em carbono tem prosperado nos últimos anos com o surgimento de (nano)materiais de carbono avançados. Isto porque o carbono é um material versátil, capaz de compor uma gama de diferentes estruturas moleculares, sendo as propriedades químicas e físicas desses materiais, determinadas pela geometria estrutural dos átomos de carbono e pelo tipo de ligações químicas entre si<sup>10</sup>. Além disso, este tipo de material possui propriedades, como: (i) seu baixo custo de preparação, (ii) alta condutividade elétrica e (iii) biocompatibilidade, resultando em inúmeras oportunidades para desenvolver e implementar novos sensores aprimorados<sup>11,12</sup>.

*Carbon black* (CB) (conhecido também como negro de fumo) e carbono vítreo reticulado (3D-RVC, do inglês: *reticulated vitreous carbon*) são tipos de carbonos poliméricos que têm sido amplamente usados em aplicações em eletroanálises nos últimos anos devido às suas propriedades eletrônicas, como: alta condutividade elétrica e eficiência em promover transferência eletrônica<sup>13,14</sup>. Conseqüentemente, o trabalho de pesquisa desenvolvido nesta tese de doutorado enfoca no uso destes materiais carbonáceos, (CB e 3D-RVC) para a confecção de novos sensores eletroquímicos e suas potenciais aplicações como sensores.

## **1.1 Materiais à base de carbono**

### **1.1.1 *Carbon black***

O CB é um nanomaterial tipicamente constituído por mais de 95 % de carbono puro com uma quantidade mínima de oxigênio, hidrogênio

e nitrogênio<sup>15</sup>. Sua estrutura morfológica é composta por partículas primárias esféricas, com diâmetros típicos na faixa de 3,0 e 100 nm, que se ligam por meio de ligações covalentes, formando agregados aciniformes com diâmetros de 30 a 1000 nm, estes por sua vez, se agrupam em aglomerados de tamanho maior entre 100 e 1000  $\mu\text{m}$ <sup>16-18</sup>. Os aglomerados de CB geralmente consistem de dezenas a milhares de agregados aderentes mantidos unidos por forças de Van der Waals.

Na FIGURA 1.1 é apresentado um esquema da estrutura morfológica do CB<sup>16,19</sup>.

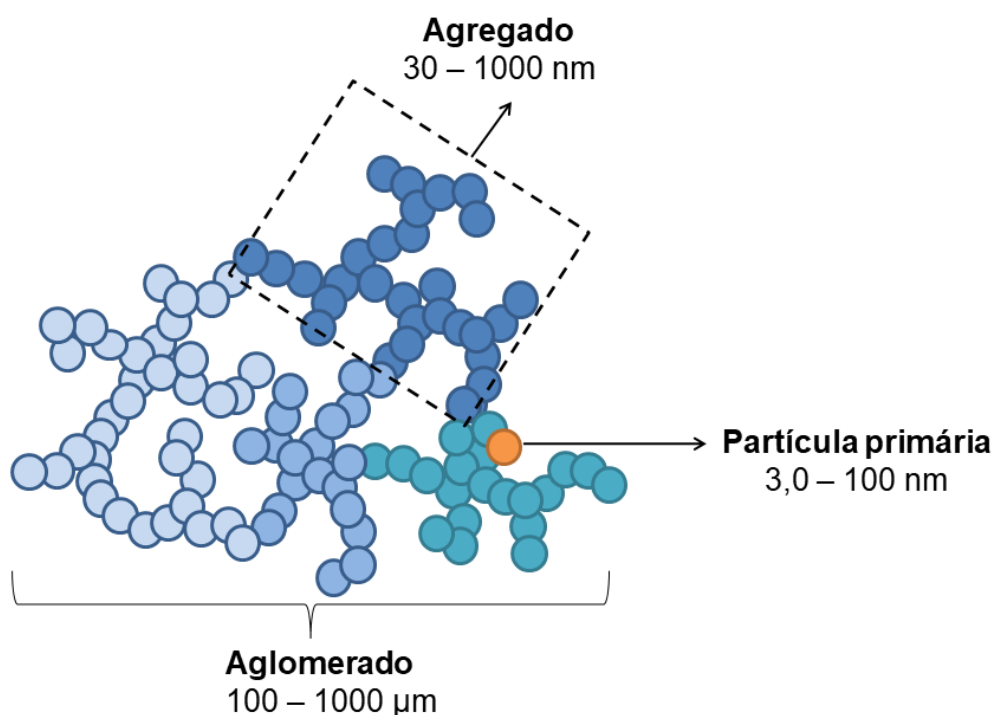


FIGURA 1.1 – Representação esquemática da estrutura de partículas primárias, agregados e aglomerados do CB.

O CB pode ser fabricado a partir de vários processos altamente controlados e bem estabelecidos, sendo sua pureza o que o diferencia de fuligens que são subprodutos impuros da combustão de carvão e óleos

combustíveis, como o diesel. Os principais processos são: o processo de forno (*furnace black*), o processo térmico (*thermal black*) e o processo de canal (*channel black*)<sup>20,21</sup>.

Todo método de produção de CB é baseado em dois elementos fundamentais: calor e decomposição; como estas etapas são planejadas é o que define a diferença entre eles, e conseqüentemente as características das partículas de CB obtidas<sup>18</sup>.

O *furnace black* é um tipo de CB, produzido pelo processo de oxidação térmica (combustão parcial) do gás natural, óleos aromáticos à base de alcatrão de carvão ou óleo mineral. Usando este método é possível produzir uma ampla gama de CB; tamanho de partícula primária na faixa de 10 a 80 nm ou área de superfície específica pode ser facilmente controlada definindo os parâmetros de processo apropriados<sup>22</sup>.

Com um volume de produção anual superior a dez milhões de toneladas, este é o mais importante processo de fabricação do CB. Mais de 95 % da produção anual de CB do mundo é fabricada a partir deste processo<sup>18,23</sup>.

Este material possui um baixíssimo custo (aproximadamente R\$ 5,00 reais o kg), e seu maior uso é como um agente de reforço em pneus de veículos e produtos automotivos de borracha, porém tendo sido utilizado em diversas áreas como para fabricação de tintas, plásticos condutores, revestimentos entre outros<sup>18</sup>.

Os CB especificados como VULCAN XC72R, BLACK PEARLS 4750 e CB N220 são três representantes fabricados a partir deste método pela *Cabot Corporation*. Eles possuem propriedades físico-químicas distintas como especificado na TABELA 1.1.

TABELA 1.1 – Propriedades físico-químicas de três CB tipo *furnace black*

Tipos de CB	Área superficial BET <sup>a</sup> (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Número de iodo <sup>b</sup> (mg g <sup>-1</sup> )	Tamanho de partícula (nm)	Aplicações típicas <sup>c</sup>
VULCAN	241 <sup>24</sup>	253 <sup>25</sup>	30-60 <sup>26</sup>	Condutivas
BLACK	1485 <sup>24</sup>	260 <sup>27</sup>	— <sup>d</sup>	Contato com alimentos
PEARLS				
CB N220	104 <sup>28</sup>	121 <sup>29</sup>	19-25 <sup>28</sup>	Reforço de borracha

<sup>a</sup> Método Brunauer–Emmet–Teller;

<sup>b</sup> Números de iodo são frequentemente usados para determinar o grau de insaturação;

<sup>c</sup> De acordo com o fabricante (Cabot Corporation);

<sup>d</sup> Não encontrado.

Devido às propriedades físico-químicas que os CBs possuem, destacando-se a alta condutividade elétrica, estabilidade química e grande área superficial específica, tornam-se um material bastante atraente do ponto de vista eletroquímico, para aplicações na construção de catalisadores, baterias e sensores<sup>30,31</sup>.

Na literatura, muitos estudos têm demonstrado que este material, quando usado como material modificador na superfície do sensor eletroquímico, é capaz de melhorar a transferência de elétrons e aumentar a magnitude do sinal analítico<sup>32-35</sup>. Sendo assim, o CB é um material promissor para a modificação da superfície de sensores eletroquímicos.

### 1.1.2 Carbono vítreo reticulado

O 3D–RVC é uma estrutura de poros abertos, composta de carbono vítreo (GC, do inglês: *glassy carbon*), um material com alta condutividade elétrica e térmica. Enquanto o carbono vítreo monolítico se caracteriza pela predominância de micro e mesoporos fechados, o 3D–RVC é formado por uma estrutura macroporosa, obtido pela carbonização de



polímeros na forma expandida ou de materiais geradores de vazios, formando assim um caso particular de GC, a forma tridimensional<sup>36,37</sup>.

Estas matrizes porosas usadas como substratos, proporcionam um volume vazio de 90 a 97 %, dependendo do grau de ppi, (número de poros por polegadas), com um arranjo semelhante a um favo de mel - vide FIGURA 1.2 (A). Esta característica proporciona uma alta área superficial e baixa massa específica aparente. Por exemplo, um 3D-RVC com 100 ppi possui uma área superficial de  $65 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-3}$  (38).

Em termos de estrutura cristalográfica, este material é formado por planos de carbono, semelhantes a fitas entrelaçadas apresentando ordenação bidirecional destes planos e arranjos desordenados na terceira orientação com hibridização  $sp^2$ , como pode ser observado na FIGURA 1.2 (B).

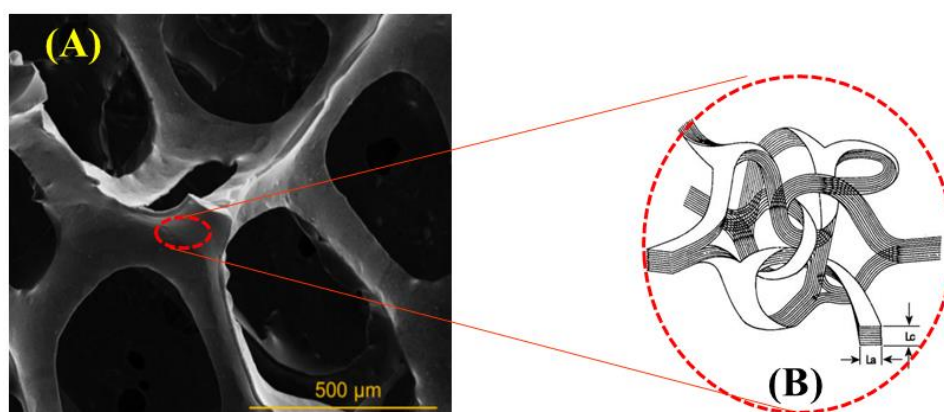


FIGURA 1.2 – Representação esquemática (A) da estrutura macroscópica e (B) da estrutura cristalográfica de 3D-RVC.

Diversas são as aplicações possíveis para este material, como isolamento térmico e acústico, próteses ósseas, colunas cromatográficas, suporte para crescimento biológico entre outros.

Considerando suas vantagens estruturais (tridimensional) e físico-químicas, principalmente a sua inércia química, elevada área

superficial e alta condutividade elétrica, torna-se um material de eletrodo atraente para várias finalidades em eletroquímica<sup>37,39,40</sup>.

As principais aplicações em eletroquímica estão concentradas na produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, remoção de íons metálicos, e nas aplicações para células combustíveis, baterias e sensores eletroquímicos<sup>38</sup>.

Apesar deste material já vir sendo utilizado há muito tempo para fins eletroanalíticos, ainda há muito que ser explorado, devido aos excelentes resultados proporcionados. Em 1981, WANG publicou uma revisão relatando as primeiras aplicações de 3D-RVC em eletroanálise<sup>41</sup>. Uma revisão atualizada foi descrita por FRIEDRICH *et al.*<sup>40</sup>, 23 anos depois. E recentemente, WALSH *et al.*<sup>13</sup> publicaram uma continuação ao trabalho desenvolvido por Friedrich descrevendo as novas tendências no uso de 3D-RVC como um sensor eletroquímico.

Os trabalhos descritos nestas revisões incluem o uso de RVC com enzimas imobilizadas para determinação de glicose<sup>42-45</sup>, NADH<sup>46</sup>, neutravidina<sup>47</sup>, e compostos fenólicos<sup>48</sup>. O eletrodo de 3D-RVC/platinizado foi utilizado para detecção de glicose<sup>49</sup>, revestido com parafina como um sensor para NAD<sup>+</sup><sup>50</sup> e modificado com níquel e lantânio para a quantificação de hidrazina<sup>51</sup>. Além disso, o 3D-RVC sem modificações foi empregado para a determinação de dopamina<sup>52</sup>, NO<sub>2</sub><sup>53</sup>, paracetamol, ácido úrico e dopamina<sup>54</sup>.

Em trabalho recente, BROWNSON *et al.*<sup>55</sup>, avaliaram a resposta eletroquímica de grafeno 3D e de 3D-RVC em soluções aquosas e não aquosas. O grafeno 3D apresentou respostas voltamétricas discretas em soluções aquosas, enquanto que o 3D-RVC exibiu respostas voltamétricas de maior intensidade e com melhor definição de sinais. Estes resultados concordam com o discutido anteriormente de que o 3D-RVC pode ser uma alternativa promissora para o desenvolvimento de sensores e/ou biossensores, devido à sua facilidade de uso e as diversas propriedades

estruturais. Além disso, o campo de aplicação deste material pode ser ampliado por meio da sua modificação com nanopartículas metálicas, o que corresponde aos principais objetivos deste trabalho, até agora poucas aplicações são relatadas na literatura, como supramencionadas.

## **1.2 Material de carbono como suporte para síntese de nanopartículas metálicas**

O uso de nanomateriais híbridos, como materiais de carbono e nanopartículas metálicas, está crescendo, pois, quando usados em conjunto, podem produzir um efeito sinérgico, promovendo melhores condições analíticas (sensibilidade e seletividade). Além disso, pode aumentar a estabilidade, permitindo trabalhar em potenciais mais próximos de zero, reduzindo assim o efeito de possíveis interferentes presentes nas amostras<sup>56,57</sup>.

As nanopartículas metálicas podem ser compostas por um único metal, mistura de metais ou ainda óxidos metálicos, formando ligas ou estruturas *core-shell*.

Metais como Pt, Au, Ag, Ni e Pd têm sido amplamente utilizados para este fim<sup>58</sup>. Porém devido ao alto custo destes metais nobres, é comum sintetizar estas partículas suportadas em outros materiais, como o carbono<sup>59-63</sup>, ftalocianina<sup>64-66</sup>, entre outros.

Esta estratégia, além de reduzir custos, também podem produzir efeitos sinérgicos, promovendo uma melhora nas propriedades do sensor, quando comparado com os sensores utilizando um único material, facilitando assim os processos de transferência eletrônica e transporte de massa, e aumentando a área superficial ativa<sup>67</sup>.

Assim, devido as excelentes propriedades dos materiais de carbonos (CB e 3D-RVC) discutidos neste trabalho, estes apresentam um

grande potencial para serem empregados não só como eletrodos ou modificadores únicos de eletrodo, mas também para atuar como suporte para a síntese de eletrocatalisadores, como nanopartículas metálicas. A junção destes materiais é uma estratégia interessante para a confecção de diferentes tipos de sensores.

### 1.2.1 Nanopartículas metálicas

Nanopartículas metálicas são compostas por metais puros (por exemplo, Au, Pt, Ag, Ni, Fe e Cu) ou seus compostos (óxidos e hidróxidos) de tamanho nanométrico ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ) com pelo menos uma das dimensões (comprimento, largura e espessura) na ordem de 100 nm ou menos<sup>68,69</sup>.

No campo da eletroanálise, as nanopartículas metálicas vem sendo empregadas como superfícies catalíticas, visto que estas possuem propriedades muito específicas, devido ao tamanho nanométrico, como: alta relação superfície/volume, que a melhora consideravelmente o transporte de massa, e à diminuição da razão sinal/ruído por apresentar baixa resistência interna<sup>70,71</sup>.

Por apresentar estas propriedades, eletrodos modificados com nanopartículas metálicas vêm cada vez mais sendo construídos e empregados em eletroanálise, pois podem proporcionar métodos mais sensíveis e seletivos, em comparação aos eletrodos convencionais<sup>72-74</sup>.

A construção de eletrodos modificados com nanopartículas metálicas é realizada principalmente pela deposição eletroquímica do metal, na forma de nanopartículas, sobre a superfície do eletrodo base. Porém, a modificação a partir de nanopartículas previamente produzidas também é relatada<sup>75,76</sup>.

### 1.2.1.1 Nanopartículas de ouro

O ouro é um eficiente condutor elétrico, sendo ideal para a construção de sensores eletroquímicos. No entanto, como o ouro é relativamente caro, as nanopartículas de ouro (AuNPs) podem oferecer uma alternativa econômica, além dos demais benefícios, já discutidos, fornecidos pelo seu tamanho reduzido<sup>77</sup>.

O método mais simples e amplamente empregado para a síntese de AuNPs, chamado método de Turkevich<sup>78</sup>, é baseado na redução química de precursores, como cloreto de ouro ou ácido tetracloáurico, usando citrato de sódio como agente redutor. O citrato de sódio além de promover a redução do ouro, atua também como agente dispersante para estabilizar as AuNPs formadas. Além disso, variando a concentração do citrato é possível controlar o tamanho e a forma do AuNPs<sup>79,80</sup>.

No entanto, a eletrodeposição também fornece uma maneira fácil e rápida, e é uma alternativa de menor custo para obter-se AuNPs. A vantagem dessa técnica é que a nanopartícula fica diretamente ligada ao substrato. O tamanho das partículas, a massa, a espessura e a morfologia dos materiais nanoestruturados podem ser controladas ajustando-se as condições de eletrodeposição<sup>81,82</sup>.

### 1.2.1.2 Nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel

Além das nanopartículas metálicas simples (apenas um metal), as nanopartículas de compostos, como óxidos são interessantes por ser uma classe de materiais diversificada, cujas propriedades variam de metais a semicondutores e isolantes.

As nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel (NiOOHNPs), são um importante nanomaterial devido às propriedades químicas, superficiais e microestruturais específicas<sup>83</sup>.

Elas podem ser geradas eletroquimicamente utilizando-se um eletrodo contendo nanopartículas de níquel em meio alcalino; então são geradas espécies de hidróxido ( $\text{Ni}(\text{OH})_2$ ) e óxido-hidróxido de níquel ( $\text{NiOOH}$ ), sendo esta última a principal responsável pelo efeito electrocatalítico. Estes tipo de material possui uma boa reversibilidade, facilidade de síntese, além do baixo custo dos materiais precursores<sup>84</sup>. Por isso seu uso tem sido bastante promissor na construção de sensores electroquímicos.

Alguns trabalhos na literatura relatam métodos analíticos usando eletrodos modificados com  $\text{NiOOHNPs}$  para diferentes analitos<sup>75,85-87</sup>. *BATCHELOR-MCAULEY et al.*<sup>85</sup> utilizaram  $\text{NiOOHNPs}$  imobilizadas em um eletrodo de grafite para a determinação de aspirina. Em outros trabalhos, o eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês: *glassy carbon electrode*) modificado com  $\text{NiOOHNPs}$  também foi usado na investigação da oxidação electroquímica de aminoácidos<sup>86</sup> e glutatona<sup>87</sup>. E ainda, *FIGUEIREDO-FILHO et al.*<sup>75</sup> aplicaram um eletrodo modificado com nanotubos de carbono e  $\text{NiOOHNPs}$  para a determinação simultânea de neurotransmissores de catecolaminas.

Até onde pode-se constatar, não foram relatados na literatura eletrodos modificados  $\text{NiOOHNPs}$  tendo CB como suporte para electrodeposição das mesmas. Devido às propriedades discutidas para estes dois nanomateriais este sensor é de grande interesse.

### **1.2.1.3 Nanopartículas *core-shell* de ouro e paládio**

Outro tipo de nanopartículas metálicas interessantes são aquelas formadas por dois metais ou mais metais, as chamadas ligas metálicas. Estas possuem propriedades eletrônicas, ópticas e catalíticas atrativas, diferentes daquelas dos metais simples correspondentes<sup>88,89</sup>. A adição de um segundo

componente metálico pode melhorar a atividade, seletividade e estabilidade de um metal puro<sup>90-92</sup>.

Em especial, as nanopartículas bimetálicas do tipo *core-shell* são estruturas onde uma casca fina composta de um metal envolve um núcleo composto de outro metal. Metais nobres, como Pt, Au, Ag e Pd, têm sido amplamente utilizados para essa finalidade<sup>58</sup>.

Entre várias nanopartículas bimetálicas, as estruturas *core-shell* formadas por Au-Pd têm sido amplamente utilizadas como materiais catalíticos para uma variedade de reações, porque Au e Pd são miscíveis em qualquer proporção, como pode ser visto em seu diagrama de fases apresentado anteriormente<sup>93,94</sup>.

Em alguns estudos demonstraram-se que nanopartículas de Au-Pd suportadas em diferentes materiais, tais como grafeno<sup>95,96</sup>, nanotubos de TiO<sub>2</sub><sup>97</sup>, e ftalocianinas<sup>98</sup> apresentam alta atividade catalítica para a oxidação de hidrazina. Algumas dessas abordagens usavam grafeno ou ftalocianina como modificador de eletrodos. No entanto, sabe-se que estes materiais são de alto custo e são difíceis de reproduzir sinteticamente. Como alternativa a estes materiais, o CB é um interessante material para este fim.

### 1.3 Aplicações analíticas

Desenvolver novas metodologias para a detecção e quantificação sensíveis de analitos alvos, bem como para fornecer ferramentas econômicas, rápidas e fáceis de usar para o controle/monitoramento de rotina é o grande desafio encontrado na área de química analítica.

Para esse fim, o uso de técnicas eletroanalíticas pode ser muito útil e confiável, pois exige tempo curto para análises combinadas com dados analíticos caracterizados por alta precisão e sensibilidade; além disso, o custo de instrumentação é baixo e pode ser facilmente miniaturizado.

Nesse sentido, as novas arquiteturas de sensores eletroquímicos aqui desenvolvidas foram empregadas para a quantificação de importantes substâncias relacionadas com o controle ambiental, análises clínicas e industriais como serão discutidos a seguir.

### **1.3.1 Controle ambiental**

A poluição ambiental atual é um grave problema mundial que requer novas estratégias de monitoramento e prevenção.

O impacto causado no meio ambiente pelo uso de pesticidas já vem sendo estudados há muito tempo. No entanto, há a necessidade de olhar para além dos poluentes alvos tradicionais (já considerados de risco) quando se avaliam os perigos dos produtos químicos para a saúde humana e para os ecossistemas, como uma questão prioritária em todas as áreas a nível mundial<sup>99,100</sup>.

#### **1.3.1.1 Pesticidas – Mesotriona**

Um grande número de pesticidas está disponível no mercado para suprir a necessidade das indústrias agrícolas no controle de pragas<sup>101</sup>. No entanto, há uma preocupação com o impacto ambiental de seu uso irregular, uma vez que a contaminação ambiental pode ocorrer pela migração de pesticidas das culturas tratadas para o ar, a água e solos<sup>101,102</sup>.

Os pesticidas são frequentemente divididos em grupos, incluindo herbicidas, inseticidas, fungicidas, nematicidas e rodenticidas<sup>102</sup>, e também podem ser classificados de acordo com composição química, seu modo de ação ou seu alvo<sup>101</sup>.

Mesotriona (MST) é o nome usual para 2-(4-metilsulfonil-2-nitrobenzoil)ciclo-hexano-1,3-diona, o qual a estrutura química está representada na FIGURA 1.3. O MST é considerado um novo membro da família dos herbicidas, pertencentes ao grupo químico das tricetonas, e é



utilizado para o controle seletivo pós-emergente de plantas daninhas e gramíneas em culturas de milho e cana-de-açúcar<sup>103,104</sup>.

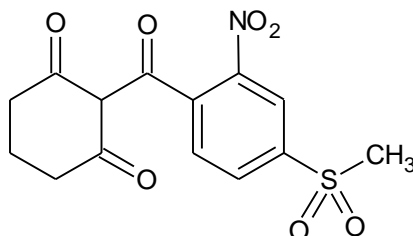


FIGURA 1.3 – Estrutura química do herbicida MST.

O milho e a cana-de-açúcar são tolerantes ao MST devido à sua capacidade de metabolizar rapidamente o herbicida sem produzir metabólitos com atividade herbicida, por outro lado, as ervas daninhas mais sensíveis são incapazes de fazer isso<sup>105</sup>. O MST é classificado como toxicologicamente perigoso para o meio ambiente. No entanto, há pouca informação sobre o seu impacto nos seres humanos porque a sua presença no mercado é relativamente nova<sup>106</sup>. Em geral, os estudos realizados in vivo em animais mostraram a segurança relativa das tricetonas após exposição aguda<sup>107</sup>.

Por se tratar de um herbicida relativamente novo, métodos analíticos de monitoramento são necessários para garantir o cumprimento dos requisitos legais, bem como auxiliar no controle ambiental.

Existem apenas quatro trabalhos na literatura utilizando técnicas eletroanalíticas para a determinação deste herbicida<sup>108-111</sup>.

WAGHEU *et al.*<sup>108</sup> utilizaram a voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês: *square wave voltammetry*) com um GCE, do inglês: modificado com argila orgânica, previamente modificada com surfactantes, para a determinação de MST em uma formulação comercial. A eletrorredução de MST foi realizada em solução de tampão de acetato (pH 6,0), após 2 minutos de acumulação em potencial de circuito aberto (OCP,

do inglês: *open circuit potential*). Obtiveram linearidade na faixa de 0,25 a 2,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e limite de detecção (*LOD*, do inglês: *limit of detection*) de 0,26  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

ERDOGDU e TITRETIR<sup>109</sup> descreveram um método que envolve um eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE, do inglês: *Hanging mercury drop electrode*) e voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês: *differential pulse voltammetry*), para a determinação de MST em amostras fortificadas de solo. A curva analítica foi construída em solução tampão fosfato pH 7,0, e foi linear na faixa de 0,10 a 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e *LOD* calculado foi de 0,050  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

BARCHANSKA *et al.*<sup>110</sup> utilizaram um eletrodo de GCE para a quantificação de MST e seus produtos de degradação usando DPV. As medidas voltamétricas para MST foram realizadas em solução tampão Britton–Robinson (BR) pH 6,0, e uma linearidade na faixa de 0,50 – 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  foi obtida, com um *LOD* de 0,17  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Este método foi aplicado para a determinação de MST em amostras de água potável e água superficial.

Recentemente, HDIOUECH *et al.*<sup>111</sup> desenvolveram um biosensor com nitroredutase imobilizada em GCE por adsorção em nanopartículas de  $\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3$  revestidas com nanopartículas de MgAl. As medidas amperométricas foram baseadas na redução enzimática competitiva entre  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  e MST. A faixa linear encontrada foi de 5,0 a 60  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e um *LOD* de 3,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

Como existem poucos métodos eletroanalíticos para a determinação deste herbicida, o desenvolvimento de métodos mais simples e econômicos ainda é de grande interesse.

### 1.3.1.2 Substâncias emergentes - Hidrazina

Substâncias ambientais emergentes são definidas como substâncias químicas sintéticas ou naturais que não são comumente monitoradas no ambiente, mas cuja presença e significância estão sendo esclarecidas. Isto porque sua presença neste meio está cada vez maior, e conseqüentemente gera uma preocupação relacionada com suas potenciais ameaças aos ecossistemas ambientais, devido à ausência de programas de monitoramento de rotina<sup>112</sup>.

Considerando sua alta relevância, essas substâncias estão sendo identificadas pelo Grupo Europeu NORMAN (Rede de laboratórios de referência, centros de pesquisa e organizações relacionadas para o monitoramento de substâncias ambientais emergentes) e incluídas em uma lista de substâncias prioritárias, cuja última atualização foi fornecida em fevereiro de 2016<sup>113</sup>.

Hidrazina ( $N_2H_4$ ) é um composto químico, que desde 2011 foi identificada e incluída nesta lista de substâncias prioritárias, na classe de produtos químicos industrial.

$N_2H_4$  é conhecida por suas extensas aplicações industriais, incluindo seu uso em produtos químicos agrícolas, intermediários farmacêuticos, inibidores de corrosão em caldeiras e tubulações industriais, e agentes catalisadores, bem como propulsor de foguete.<sup>114,115</sup>. No entanto, agências ambientais relataram a hidrazina como um possível carcinógeno para humanos, uma vez que alguns estudos mostraram um aumento na incidência de tumores de pulmão e fígado em ratos expostos à hidrazina<sup>116,117</sup>.

Além disso, devido à sua alta solubilidade, há grande preocupação com a contaminação do solo e da água pelo  $N_2H_4$ . Neste contexto, considerando as preocupações com a poluição ambiental, métodos simples, rápidos e de baixo custo para a quantificação de  $N_2H_4$  em água

natural são de grande interesse para auxiliar o monitoramento e controle ambiental.

$N_2H_4$  pode ser facilmente oxidada utilizando métodos eletroanalíticos. Neste contexto, na literatura são descritos a construção de vários sensores eletroquímicos para a determinação de  $N_2H_4$ <sup>118-126</sup>.

### **1.3.2 Análises clínicas e industriais**

A determinação de princípios ativos em produtos farmacêuticos e fluidos biológicos é uma área importante da química analítica, que está em rápido desenvolvimento e desempenha um papel significativo no controle de qualidade, diagnóstico em medicina clínica (em casos de suspeita de intoxicação por fármacos) e também estudos de função fisiológica<sup>127,128</sup>.

Entre os vários tipos de medicamentos, a classe dos analgésicos, que são usados para reduzir ou aliviar a dor e a febre, tem levado a preocupações constantes, pois a automedicação e a facilidade de compra contribuem para o uso excessivo e abusivo desse tipo de medicamento<sup>129,130</sup>.

Portanto, o desenvolvimento de procedimentos analíticos simples, rápidos, sensíveis e precisos para a identificação e quantificação de medicamentos é atualmente de grande interesse e significância.

#### **1.3.2.1 Analgésicos – Paracetamol e codeína**

O paracetamol (PCT) (FIGURA 1.4) (também conhecido como acetaminofeno) é um analgésico não esteroidal que é amplamente utilizado para o alívio de dores leves e febre<sup>131,132</sup>. Embora esse fármaco seja muito seguro em doses terapêuticas, sabe-se que doses excessivas causam danos graves ao fígado, podendo até causar falência de órgãos em questão de horas<sup>133-135</sup>. Quando ingerido, o PCT é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, sendo parcialmente convertido em metabólitos ativos no

fígado, e excretado principalmente através dos rins, sendo 4 % na sua forma inalterada<sup>136</sup>.

Para o alívio de dores mais intensas, a combinação de analgésicos com diferentes modos de ação é frequentemente recomendada.

A codeína (COD) (FIGURA 1.4) é um analgésico opioide derivado da morfina, que é metabolizado principalmente no fígado e 5-15% dela é excretada inalterada na urina<sup>137</sup>. É comumente utilizada em combinação com outros fármacos, como aspirina e PCT, porque é difícil conseguir um controle efetivo da dor de moderada a grave usando apenas um tipo analgésico. A combinação desses fármacos oferece analgesia eficaz utilizando doses reduzidas dos fármacos individuais, o que pode reduzir a gravidade da utilização doses excessivas<sup>137-140</sup>. Assim, PCT e COD são comumente encontrados em combinação nas formulações farmacêuticas.

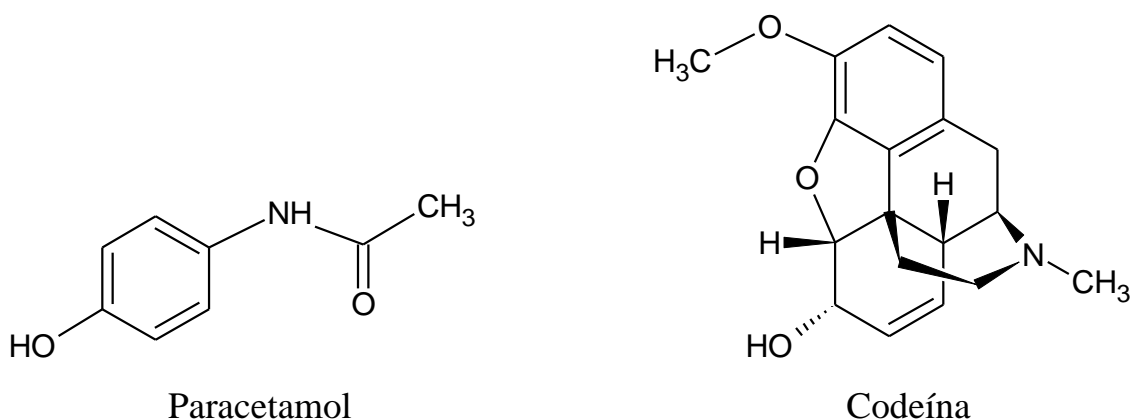


FIGURA 1.4 – Estrutura química dos analgésicos PCT e COD.

Portanto, é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para determinação simultânea de PCT e COD para o controle de qualidade industrial, e também para quantificação em fluidos biológicos a fim de auxiliar o diagnóstico clínico, e garantir a dose correta em pacientes durante o tratamento.

Alguns métodos eletroanalíticos têm sido relatados na literatura para a determinação simultânea de PCT e COD<sup>141-143</sup>.

AFKHAMI *et al.*<sup>141</sup> desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com grafeno e  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  para determinar simultaneamente PCT e COD. Utilizando SWV em solução de tampão BR pH 7,0 quantificaram estes dois fármacos em amostras de fluido biológicos e farmacêuticas. Neste método foram obtidos faixas lineares de 0,03 a 12,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para ambos analitos e *LOD* de 0,025  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para PCT e 0,011  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para COD.

BABAEI *et al.*<sup>142</sup> utilizaram um eletrodo de GCE modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs, do inglês: *multi-walled carbon nanotube*) para a eletrooxidação de PCT e COD por DPV. As curvas analíticas obtidas em solução de tampão fosfato pH 7,0 foram lineares na faixa de 5,00 a 400  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para PCT e de 5,00 a 240  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para COD. E os *LOD* alcançados foram de 0,19 e 0,20  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para PCT e COD, respectivamente.

MASHHADIZADEH *et al.*<sup>143</sup> confeccionaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  para a detecção simultânea de PCT e COD em amostras de soro sanguíneo humano. Usando DPV e solução tampão fosfato pH 5,0, obtiveram faixas lineares de 0,6 a 110,6  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e de 0,0 a 26  $\mu\text{mol L}^{-1}$  com *LOD* de 0,050  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,018  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para PCT e COD, respectivamente

### 1.3.2.2 Antioxidantes - Ácido ferúlico

O ácido ferúlico (AF) é um composto fenólico, FIGURA 1.5, que possui atividades farmacológicas, incluindo antienvhecimento, anti-inflamatória, antitrombótica e principalmente antioxidante, a qual é responsável pelos seus principais benefícios e aplicações<sup>144,145</sup>.

O AF tem sido amplamente utilizado nos campos da medicina, alimentos nutritivos e principalmente em cosméticos, sendo usado em: protetores solares, produtos anti-idade, e ainda como coadjuvante no clareamento de manchas<sup>146</sup>.

Devido a essas diversas aplicações de AF, a determinação deste analito em produtos comerciais é necessária para garantir o cumprimento dos requisitos legais, bem como os procedimentos de controle de qualidade nas indústrias cosméticas e farmacêutica.

Procedimentos eletroquímicos podem ser encontrados na literatura para a determinação de AF. A seguir são descritos os de maior relevância publicados nos últimos cinco anos.

ABDEL-HAMID e NEWAIR<sup>147</sup> construíram um eletrodo GCE modificado com polipirrol (PPy, do inglês: *polypyrrole*) e MWCNTs para a determinação AF em amostras de pipocas comerciais. Utilizaram a técnica de voltametria adsortiva de redissolução anódica por onda quadrada (SWAdASV do inglês: *square-wave adsorptive anodic stripping voltammetry*), com potencial de acumulação de  $-0,40$  V por 60 s, em solução de tampão fosfato pH 3,5. A faixa linear de concentrações obtida foi de 3,2 a  $25,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  e o *LOD* calculado igual a  $1,17 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

ERADY *et al.*<sup>148</sup> determinaram AF em amostras fortificadas de urina e vinho utilizando amperometria e um eletrodo de pasta de carbono composto por MWCNTs decorados com nanopartículas de Ag. Sob condições otimizadas em solução de tampão fosfato pH 7,0, obtiveram linearidade na faixa de 0,04 a  $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$  com um *LOD* igual a  $0,03 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Além disso, estes autores propuseram um mecanismo de eletrooxidação para AF em solução de tampão fosfato pH 7,0; o processo envolve a perda de um elétron e um próton do grupo OH da molécula de AF, uma vez que o íon fenóxido formado é estabilizado por ressonância, como ilustrado na FIGURA 1.5.

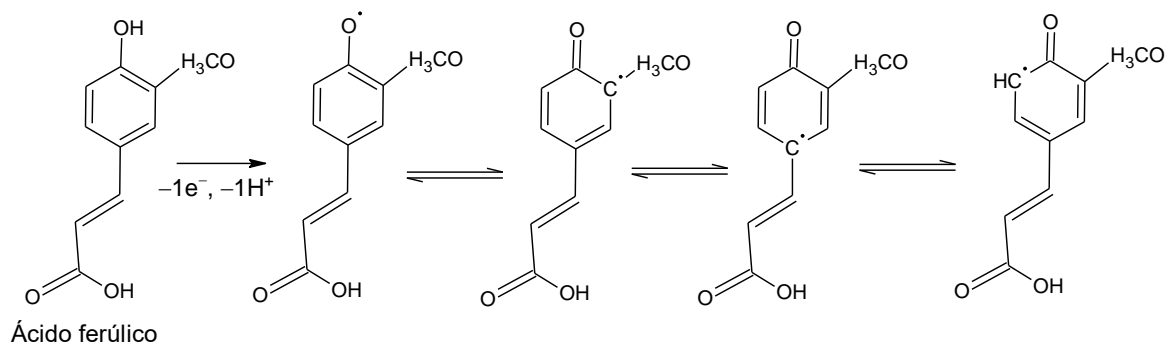


FIGURA 1.5 – Reação de eletrooxidação de AF proposta por ERADY *et al.*<sup>148</sup>

LIU *et al.* desenvolveram dois procedimentos para detectar AF no fitoterápico *Angelica sinensis* e em urina e plasma sanguíneo. No primeiro trabalho<sup>149</sup> utilizaram um eletrodo de GCE modificado com óxido de grafeno reduzido (RGO, do inglês: *reduced graphene oxide*) e no segundo<sup>150</sup> GCE modificado com grafeno funcionalizado com cloreto de polidialildimetilamônio (PDDA); Empregando-se a técnica de DPV obtiveram faixas lineares para AF de 0,085 a 38,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,09 a 52,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. E um *LOD* de 0,02 em ambos os métodos.

Por fim, ZHAO *et al.*<sup>151</sup> utilizaram um eletrodo de GCE modificado com MWCNTs para a determinação farmacêutica de AF. A técnica de DPV foi utilizada para construção da curva analítica, que foi linear na faixa de 2,0 a 10,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  com um *LOD* de 1,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .



## **CAPÍTULO 2**

## 2 – Objetivos

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi o de preparar eletrodos utilizando materiais à base de carbono como CB e 3D-RVC, e avaliar seu comportamento eletroquímico e a sua aplicabilidade no desenvolvimento de procedimentos eletroanalíticos para a determinação de analitos de interesse ambiental e farmacêutico empregando técnicas voltamétricas de pulso ou amperometria.

### 2.2 Objetivos específicos

Para o cumprimento do objetivo geral foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos, divididos em dois grupos, de acordo com o material de carbono utilizado:

#### 2.2.1 Confecção, estudos eletroquímicos e aplicações de eletrodos à base de CB

- ❖ Preparar e avaliar um eletrodo modificado com CB para o estudos eletroquímicos e determinação voltamétrica do pesticida MST;
- ❖ Explorar o uso de um sensor eletroquímico modificado com CB e dihexadecilfosfato (DHP) como suporte para a eletrodeposição de nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel (NiOOH) e aplicá-lo para a determinação simultânea de paracetamol e codeína;
- ❖ Sintetizar e caracterizar nanopartículas *core-shell* de Au-Pd suportadas em CB, e avaliá-las como material modificador, em filme de DHP, para o desenvolvimento de um sensor eletroquímico de hidrazina;

### **2.2.2 Avaliação de eletrodos de carbono vítreo reticulado como substrato para deposição de nanopartículas de ouro e suas aplicações**

- ❖ Preparar, caracterizar e avaliar eletrodos de 3D-RVC modificados com nanopartículas de ouro (AuNPs) utilizando duas diferentes estratégias de imobilização (eletrodeposição e adsorção);
- ❖ Explorar o uso do 3D-RVC modificados com nanopartículas de ouro utilizando a melhor estratégia avaliada anteriormente, para aplicação como um sensor eletroquímico para a quantificação de ácido ferúlico em cosméticos e produtos farmacêuticos.

# **CAPÍTULO 3**

### **3 – Eletrodo modificado com *carbon black* como sensor para estudos eletroquímicos e determinação voltamétrica do pesticida mesotriona**

Neste trabalho, desenvolveu-se um método analítico para a determinação do pesticida MST, em águas naturais e amostra de cana-de-açúcar, utilizando um sensor eletroquímico com base no GCE modificado com CB.

Os resultados discutidos neste capítulo encontram-se publicados na literatura e foram reproduzidos com permissão da *Elsevier*, a saber:

Patricia B. Deroco; Bruna C. Lourencao e Orlando Fatibello-Filho, O. “*The use of modified electrode with carbon black as sensor to the electrochemical studies and voltammetric determination of pesticide mesotrione.*” *Microchemical Journal*, v. 133, p. 188-194, 2017.

#### **3.1 Objetivo específico**

Objetivo desta parte do trabalho foi o de explorar as propriedades eletroquímicas do CB como único nanomaterial modificador de eletrodo, sendo as nanopartículas de CB imobilizadas, a partir de uma dispersão em dimetilformamida (DMF), sobre a superfície de um GCE.

Considerando a importância do controle do impacto ambiental, este sensor foi avaliado em relação à aplicação analítica, como alternativa, simples e rápida, para o controle ambiental do herbicida MST em águas naturais e amostra de cana-de-açúcar.

## 3.2 Experimental

### 3.2.1 Reagentes e padrões

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico: o padrão de MST foi adquirido da Fluka e a dimetilformamida (DMF) da Synth. Os surfactantes, brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Triton X-100 (4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil-polietilenoglicol) e dodecil sulfato de sódio (SDS) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e o CB tipo VXC72R foi fornecido pela *Cabot Corporation*, Brasil.

Soluções desoxigenada de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , foram preparadas pela adição de quantidades suficientes de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  para os pH 2,0 e 3,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  para o pH 4,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  para os pH 5,0, 6,0, 7,0, 8,0; em água suficiente para completar um balão volumétrico de 250 mL.

A solução estoque de MST  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada diariamente em acetonitrila e as demais diluições foram feitas no eletrólito suporte, que neste caso foi utilizado o tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  pH 2,0 (a solução mais concentrada de MST utilizada foi de  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$  que possui um teor de 0,3 % (v/v) de acetonitrila). Este eletrólito suporte foi selecionado de acordo com os resultados que foram discutidos na SEÇÃO 3.3.4.

Todas as soluções foram preparadas usando água ultrapura fornecida por um sistema Milli-Q (Millipore®), com resistividade  $> 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ .

### 3.2.2 Instrumentação

Todas as pesagens foram feitas utilizando-se balanças analíticas, Mettler (modelo H10) e Shimadzu (modelo AUW220D) e com precisão de  $\pm 0,1 \text{ mg}$  e de  $\pm 0,01 \text{ mg}$ , respectivamente.

Para as medidas do potencial hidrogeniônico (pH) das soluções foi utilizado um pHmetro Orion, modelo EA 940, conectado à um eletrodo de vidro Digimed e um eletrodo de referência externo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>) combinados em um único corpo.

Para a preparação das dispersões foi utilizado um ultrassom Soni-Tech (modelo SONI-TOP-402A) com uma frequência de 40 kHz.

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando um potenciostato/galvanostato  $\mu$ -Autolab tipo III (Ecochemie, Suíça) interfaciado a um computador e gerenciado pelo programa computacional GPES 4.9. Os voltamogramas de pulso diferencial (DP, do inglês: *differential pulse*) e onda quadrada (SW, do inglês: *square wave*) obtidos tiveram suas linhas base corrigidas pelo método da média móvel (largura do pico: 0,003) e os ruídos foram suavizados, quando necessário, utilizando o algoritmo Savicky-Golay disponível no software GPES 4.9.

Uma célula de vidro Pyrex<sup>®</sup> de compartimento único equipada com uma tampa de politetrafluoretileno (PTFE) foi utilizada com um sistema convencional de três eletrodos, incluindo uma placa de Pt como eletrodo auxiliar, um eletrodo de Ag/AgCl (solução interna de KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>) como referência e como eletrodo de trabalho, eletrodo modificado proposto, ver FIGURA 3.1.

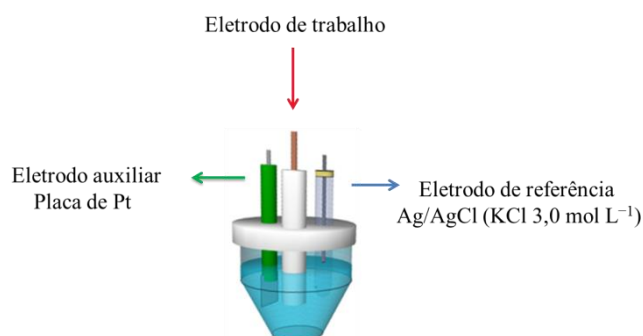


FIGURA 3.1 – Célula eletroquímica de compartimento único com os três eletrodos utilizados.

A análise morfológica dos nanomateriais foi realizada a partir de imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FEG/SEM, do inglês: *field emission gun scanning electron microscopy*), modelo Magellan 400 L, operado a 25 kV. Para esta análise, uma alíquota de 20  $\mu\text{L}$  da dispersão aquosa do nanomaterial de interesse (para este caso de CB) foi gotejada sobre uma placa GCE de  $1\text{ cm}^2$  e o solvente evaporado em temperatura ambiente.

### 3.2.3 Preparação do eletrodo de trabalho (GCE modificado)

A superfície do GCE ( $\varnothing = 3,0\text{ mm}$ ) foi polida com uma suspensão de alumina ( $0,3\ \mu\text{m}$ ) com o auxílio de uma politriz e um pano metalográfico, depois foi lavada com água ultrapura e isopropanol, e em seguida, submetida ao banho ultrassônico durante 2 min em água ultrapura para remover partículas adsorvidas.

Em seguida, um esquema das etapas experimentais para a preparação do GCE modificado com CB é apresentado na FIGURA 3.2. Primeiramente, uma dispersão, contendo 1,00 mg de CB e 1,0 mL de DMF, foi colocada num banho de ultrassom por 30 min. Em seguida, 8  $\mu\text{L}$  desta dispersão (CB–DMF) foi gotejada sobre a superfície do GCE e o eletrodo ficou à temperatura ambiente durante a noite toda para a secagem do solvente e a formação do filme de CB na superfície do GCE. Por fim, o eletrodo modificado foi simbolizado como CB/CGE.





FIGURA 3.2 – Representação esquemática das etapas de preparo do eletrodo de trabalho.

### 3.2.4 Medidas eletroquímicas

É importante salientar que todas as medidas voltamétricas foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio ( $N_2$ ) para evitar a interferência de oxigênio ( $O_2$ ) nas análises do MST.

As medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica, EIS (do inglês: *electrochemical impedance spectroscopy*) foram empregadas para caracterizar o CB/GCE usando uma solução de  $KCl$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  contendo o par redox  $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$  ambos na concentração de  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . Estas medidas foram efetuadas em potencial de circuito aberto ( $OCP = 0,22 \text{ V}$ ), na faixa de frequências de  $10 \text{ mHz}$  e  $100 \text{ kHz}$  (10 pontos por década) e com uma amplitude de  $10 \text{ mV}$ .

Para o experimento de potencial de carga zero (PZC, do inglês: *potential of zero charge*), espectros de impedância eletroquímica, baseados em uma perturbação AC (do inglês: *alternating current*) com amplitude de  $10 \text{ mV}$ , foram coletados em diferentes potenciais DC (do inglês: *direct current*) (entre  $-0,70 \text{ V}$  e  $0,20 \text{ V}$ ), na faixa de frequência de  $10 \text{ Hz}$  a  $100 \text{ kHz}$  (10 pontos por década) usando o CB/GCE em solução de  $NaClO_4$   $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ , na ausência e na presença do surfactante CTAB  $30,0 \text{ µmol L}^{-1}$ . As medidas de PZC e capacitância foram baseadas no modelo de Gouy-Chapman-Stern<sup>152,153</sup>.

O comportamento eletroquímico de MST foi investigado utilizando a voltametria cíclica (CV, do inglês: *cyclic voltammetry*) e a determinação do MST foi realizada utilizando DPV e SWV, a fim de selecionar as melhores condições analíticas (faixa linear, sensibilidade e *LOD*). Após otimização dos parâmetros experimentais para o método proposto, as curvas analíticas foram construídas com a adição de pequenos volumes de soluções padrão do analito. Todas as medidas foram efetuadas em triplicata ( $n = 3$ ) para cada concentração.

O *LOD* foi calculado de acordo com a equação  $3 \times SD/m$ , onde *SD* é o desvio padrão de dez brancos e *m* é o coeficiente angular da curva analítica<sup>154</sup>.

### 3.2.5 Preparo das amostras analisadas

As amostras de água foram coletadas na represa e em uma torneira localizadas na Universidade Federal de São Carlos, na cidade de São Carlos, Brasil. O ponto de coleta na represa foi registrado usando um GPS (21°59'08.06" S 47°52'55.13" W), amostras coletadas em 10/05/2016.

A amostra de caldo de cana-de-açúcar foi adquirida no comércio local.

Antes da utilização para as análises, as amostras foram filtradas utilizando um papel de filtro Nalgon<sup>®</sup>, tamanho de poro menor do que 1  $\mu\text{m}$ , para remover qualquer material em partículas suspensas.

Em seguida, elas foram fortificadas com duas diferentes concentrações de MST (5,10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 53,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), e então, uma alíquota de cada amostra foi transferido para a célula eletroquímica, e analisada aplicando-se o método proposto.

### 3.3 Resultados e discussão

#### 3.3.1 Caracterização morfológica e eletroquímica do filme de CB

A morfologia superficial do filme (CB–DMF) utilizado sobre o eletrodo de GCE foi analisada a partir de imagens de FEG/SEM. Na FIGURA 3.3 (A) foi apresentada a imagem de SEM para o filme CB formado, é possível observar que o material é constituído por várias partículas nanométricas de carbono com a formação de alguns aglomerados.

Estas nanopartículas possuem tamanho médio de 32,1 nm, como pode ser visto no histograma de distribuição apresentado na FIGURA 3.3 (B), e estão bem distribuídas na superfície do GCE, resultando numa superfície porosa, que pode proporcionar uma maior área superficial eletroativa.

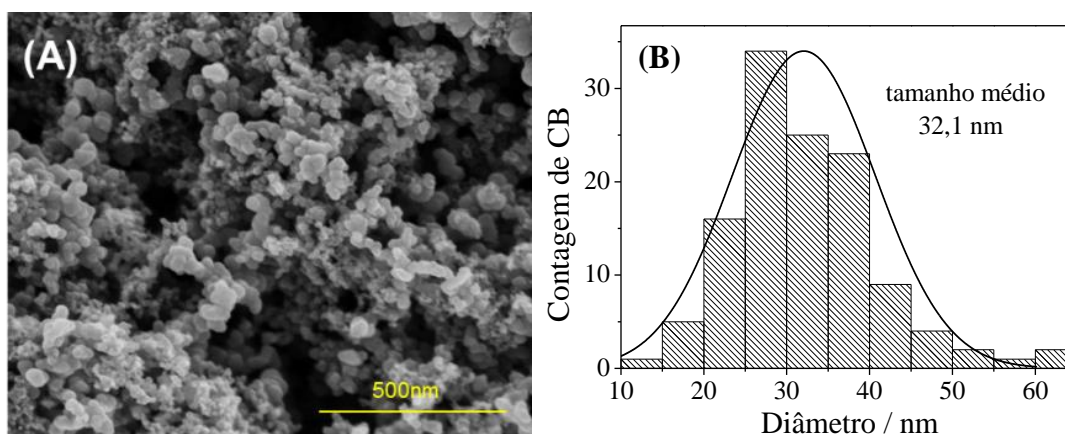


FIGURA 3.3 – Imagens de SEM (A) CB; (B) Histograma de distribuição dos diâmetros de CB.

A caracterização morfológica completa do material de CB, incluindo análises de Raman e XPS, foi apresentada em um trabalho previamente publicado pelo nosso grupo de pesquisa<sup>32</sup>.

A técnica de EIS foi empregada para analisar as propriedades superficiais do GCE sem modificação e modificado com CB. Os espectros

de impedância foram obtidos para uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  ambos na concentração de  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (para mais detalhes ver SEÇÃO 3.2.4) e foram apresentados na FIGURA 3.4.

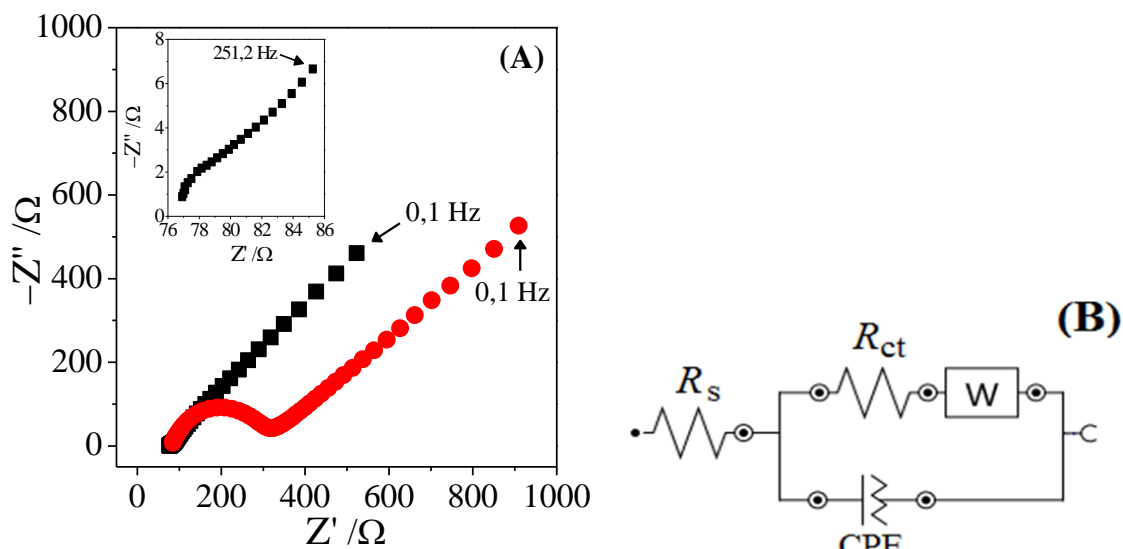


FIGURA 3.4 – (A) Espectros de impedância de planos complexos (Diagramas de Nyquist) usando um eletrodo de GCE sem modificação (●) e o CB/GCE (■) para o par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$  na concentração de  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (para demais condições usadas, veja o texto SEÇÃO 3.2.4). (B) Circuito equivalente adaptado do circuito de Randles usado para ajustar os espectros de impedância.

Como pode ser visto na FIGURA 3.4, ambos os espectros de impedância apresentam um semicírculo em altas frequências, que correspondem ao controle cinético do processo de transferência de carga, e um intervalo linear em frequências inferiores, atribuídas ao controle difusional das espécies eletroativas. Além disso, o diâmetro do semicírculo representa a resistência de transferência de carga ( $R_{ct}$ ).

Estes espectros de impedância foram ajustados usando um circuito equivalente adaptado do circuito de Randles - ver FIGURA 3.4 (B); este circuito inclui a resistência da solução ( $R_s$ ) em série com a combinação paralela de uma resistência de transferência de carga ( $R_{ct}$ ) e uma impedância

de Warburg ( $W$ ) com um elemento de fase constante ( $CPE$ ). O  $CPE$  é considerado um capacitor não ideal devido à natureza heterogênea da superfície do eletrodo, expressa a partir do expoente  $\alpha$ , que apresentou um valor menor que 1. O fator de rugosidade  $\alpha$  varia de 0,5 a 1, onde um valor  $\alpha$  de 1 representa uma superfície perfeitamente lisa e uniforme<sup>155</sup>.

Os valores dos parâmetros obtidos ajustando as respostas são apresentados na Tabela 3.1. Os baixos valores de  $\chi^2$  associados a estes ajustes confirmam a sua qualidade.

TABELA 3.1 – Parâmetros de impedância eletroquímica obtidos ajustando os espectros com a resposta de um circuito elétrico equivalente para um eletrodo de GCE sem modificação e para um CB/GCE

Eletrodos	Parâmetros					
	$R_s$ ( $\Omega$ )	$R_{ct}$ ( $\Omega$ )	CPE ( $\mu F s^{n-1}$ )	$n_{CPE}$	$\chi^2$	$k^0$ ( $cm s^{-1}$ )
GCE	82,2	234	2,47	0,82	$2,94 \times 10^{-2}$	$3,20 \times 10^{-3}$
CB/GCE	78,9	3,94	154	0,85	$2,77 \times 10^{-2}$	$1,90 \times 10^{-1}$

Comparando os valores de  $R_{ct}$  obtidos para ambos os sensores, observa-se que a modificação do GCE com CB levou a uma grande diminuição no valor  $R_{ct}$  de aproximadamente 59 vezes, o que confirma a aderência do CB na superfície do eletrodo, indicando a excelente condutividade elétrica deste material. Além disso, é possível observar um aumento no valor de CPE, o que indica maior acúmulo de carga, consequência de uma maior área eletroativa.

Em seguida, utilizando os valores de  $R_{ct}$ , a constante de transferência heterogênea de elétrons ( $k^0$ ) pode ser determinada pela EQUAÇÃO 3.1:

$$R_{ct} = \frac{RT}{F^2 k^0 C} \quad \text{EQUAÇÃO 3.1}$$

Para um processo simples envolvendo um elétron, onde  $R$  é a constante molar dos gases ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),  $T$  a temperatura termodinâmica ( $K$ ),  $F$  a constante de Faraday (representando a carga elementar molar) ( $96.485 \text{ C mol}^{-1}$ ) e  $C$  a concentração das espécies eletroativas ( $5,0 \text{ } \mu\text{mol cm}^{-3}$ ). Os valores de  $k^0$  foram estimados em  $3,20 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  e  $1,90 \times 10^{-1} \text{ cm s}^{-1}$  para o GCE sem modificação e para o CB/GCE, respectivamente.

Assim, foi observado um aumento significativo de quase duas ordens de grandeza no  $k^0$  para o GCE modificado com CB, indicando uma melhora significativa na velocidade de transferência eletrônica quando comparado ao GCE não modificado.

Este efeito pode ser atribuído ao grande número de defeitos e de átomos de oxigênio que as nanopartículas de CB possuem, o que providencia um grande número de sítios ativos na superfície do eletrodo disponíveis para a reação redox com a espécie de interesse.

### 3.3.2 Comportamento eletroquímico do MST

O comportamento eletroquímico de uma solução de MST  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  foi investigado por CV em solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) contendo  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  do surfactante CTAB, usando o eletrodo proposto (CB/GCE). Como pode ser observado a partir dos resultados mostrados na FIGURA 3.5, o MST exhibe três picos de redução bem definidos e irreversíveis em aproximadamente  $-0,242 \text{ V}$ ,  $-0,710 \text{ V}$  e  $-1,10 \text{ V}$  (vs. Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$ )). Como será discutido na seção 3.3.3, o emprego

do surfactante CTAB diminuiu a adsorção do analito, sendo observado um aumento da repetibilidade do sinal analítico.

O primeiro pico de redução do MST (pico 1 da FIGURA 3.5) foi selecionado para o desenvolvimento do método eletroanalítico, pois este apresentou uma maior intensidade de sinal de corrente, além disso, ocorre em um valor de potencial menos negativo, reduzindo assim a possibilidade de interferências eletroquímicas de compostos concomitantes.

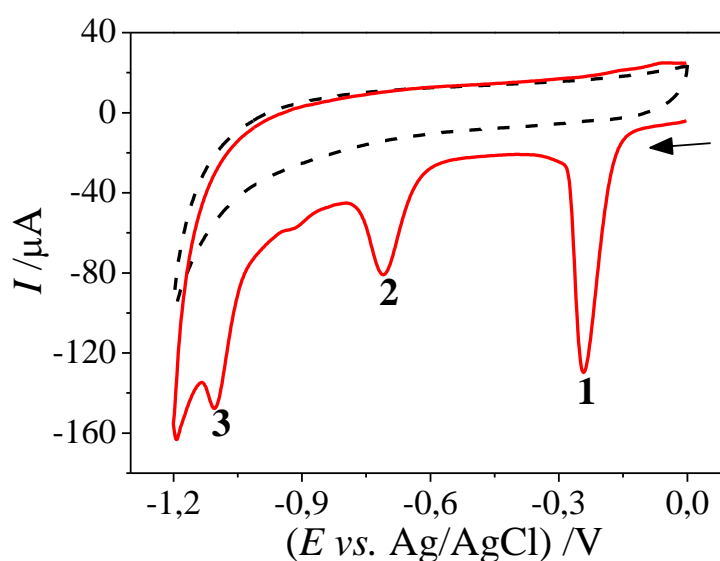


FIGURA 3.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos na ausência (--) e na presença (—) de MST  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) contendo  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de CTAB no CB/GCE,  $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ .

Em seguida, investigou-se o efeito do CB como modificador da superfície do GCE para a eletrorredução de MST. O comportamento eletroquímico de MST  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) contendo  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de CTAB foi comparado, usando CV e os eletrodos de GCE e GCE modificado com CB. Como pode ser visto na FIGURA 3.6, quando o GCE modificado com CB (voltamograma em linha vermelha) foi utilizado, obteve-se uma melhor resposta eletroquímica. O

sinal analítico foi substancialmente maior (36,2 vezes,  $I = -0,028 \mu\text{A}$  e  $I = -40,7 \mu\text{A}$  para GCE e CB/GCE, respectivamente) e o potencial de redução deslocou-se em torno de 0,17 V para valores menos negativo, ( $E_p = -0,39 \text{ V}$  e  $-0,22 \text{ V}$  para GCE e CB/GCE, respectivamente), caracterizando um processo eletrocatalítico. Estes resultados estão de acordo com os dados de impedância apresentados na Tabela 3.1, onde um maior valor de  $CPE$  foi obtido, confirmando uma maior área eletroativa, e um maior valor de  $k^0$ , atestando uma transferência eletrônica mais eficiente quando o eletrodo CB/GCE foi utilizado.

Desta maneira, todos os experimentos subsequentes foram realizados utilizando um CB/GCE.

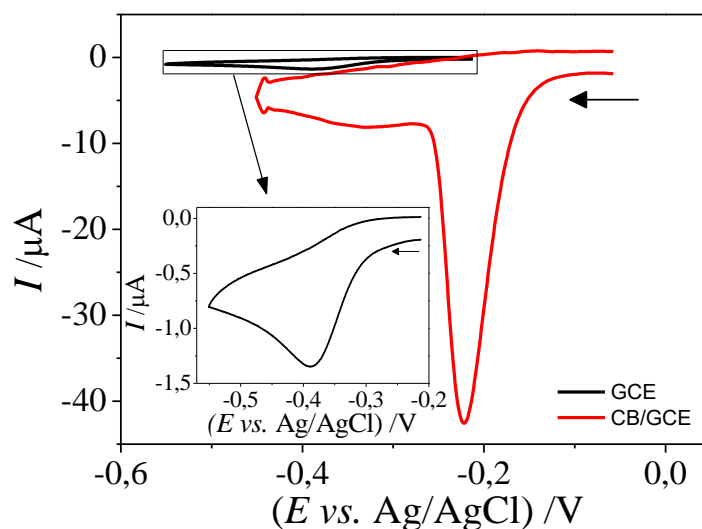


FIGURA 3.6– Voltamogramas cíclicos na presença de MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) contendo  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de CTAB no GCE (—) e no CB/GCE (—),  $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ .

### 3.3.3 Estudo do efeito do surfactante

Um problema encontrado em algumas análises, utilizando técnicas eletroquímicas, é o envenenamento da superfície do eletrodo causada principalmente por adsorção do analito e/ou de produtos da reação eletroquímica. A adsorção de uma substância pode levar a uma diminuição



da resposta analítica, ou mesmo inativação do eletrodo de trabalho por bloqueio de sua superfície, e/ou distorção dos picos voltamétricos, diminuindo desta maneira a repetibilidade do método analítico (sinais analíticos irreprodutíveis)<sup>156</sup>.

Uma estratégia comumente empregada para minimizar a adsorção de uma substância na superfície do eletrodo é utilizar surfactantes. Os surfactantes podem ser adicionados ao eletrólito suporte tanto para aumentar a solubilidade dos produtos de reação, que poderiam adsorver na superfície do eletrodo, ou ainda, os surfactantes podem adsorver-se na superfície do eletrodo, formando uma barreira física, diminuindo a adsorção das espécies indesejadas<sup>157,158</sup>.

Assim, o efeito da adição de um surfactante no eletrólito suporte, sobre a resposta eletroquímica de MST foi investigada usando CV. Para este estudo, voltamogramas cíclicos foram obtidos por dez repetitivas medidas (com 30 s de agitação entre elas) de MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0), na ausência e na presença de surfactante usando o CB/GCE.

Como apresentado na FIGURA 3.7, a resposta da corrente de pico obtida na ausência de surfactante (■) decresce gradualmente durante as repetitivas medidas, enquanto que na presença de surfactante (●), o sinal analítico permanece estável. O sinal analítico para solução de MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) diminui 1,0 % na presença de CTAB  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  quando comparado com a diminuição de 23,0 % na ausência de surfactante, mostrando assim a sua eficácia.

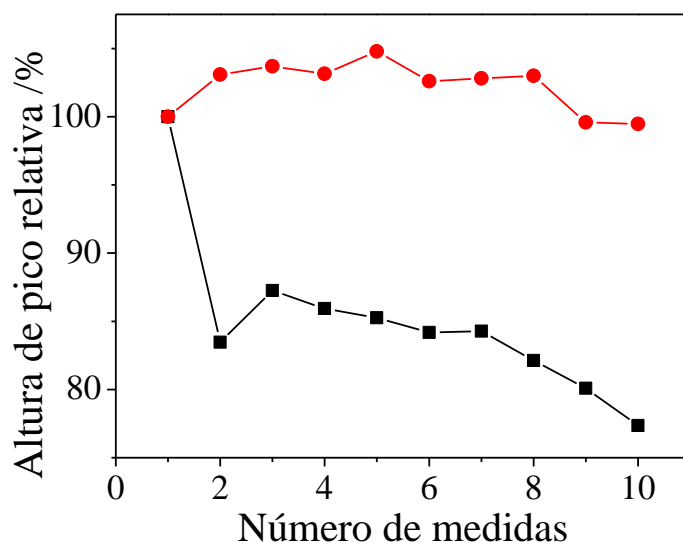


FIGURA 3.7 – Efeito do surfactante CTAB na estabilidade do sinal de CV para MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0), (■) na ausência e (●) na presença de CTAB  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Os sinais são dados em porcentagem da altura de pico medido por CV.

Uma vez que o uso do surfactante apresentou uma maior estabilidade na resposta eletroquímica de MST, optou-se por usá-lo no eletrólito suporte para todas as outras medidas.

O efeito de diferentes tipos de surfactantes, a saber: CTAB (catiônico), SDS (aniônico) e Triton X-100 (não iônico), os quais as estruturas químicas estão apresentadas na FIGURA 3.8, na concentração de  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  foram investigados sobre a resposta eletroquímica de MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0).

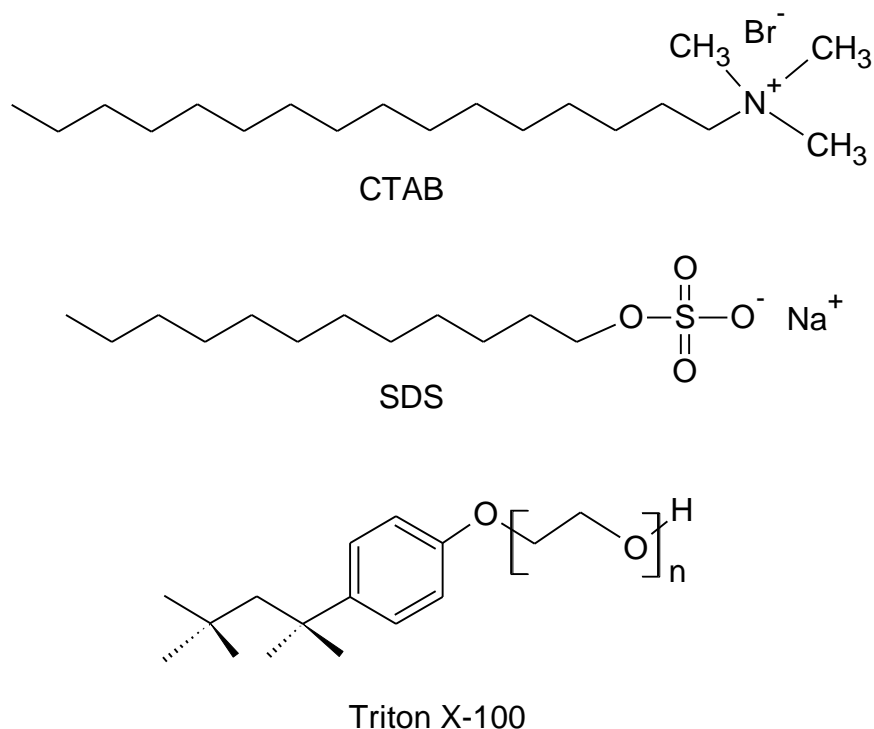


FIGURA 3.8 – Estruturas químicas do surfactantes utilizados.

Os voltamogramas obtidos para MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) contendo  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  dos surfactantes (—) CTAB, (—) SDS ou (—) Triton X-100 sobre o CB/GCE foram apresentados na FIGURA 3.9. Como pode ser observado, o uso do surfactante catiônico CTAB (voltamograma em preto) no eletrólito suporte proporcionou um aumento na resposta eletroquímica do MST quando comparado com o surfactante não iônico Triton X-100 (voltamograma vermelho) e o surfactante aniônico SDS (voltamograma azul). Isto indica que a redução de MST é facilitada na presença do tensoativo CTAB. Isto ocorre devido à atração eletrostática dos monômeros catiônicos pelo eletrodo de trabalho carregado negativamente.

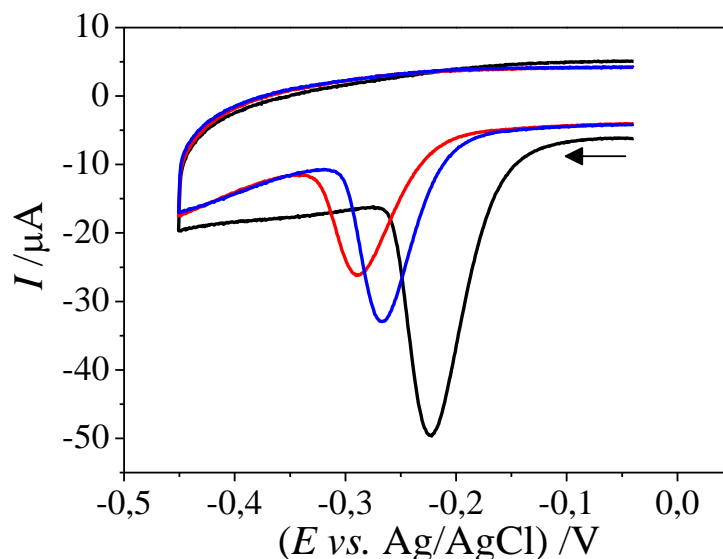


FIGURA 3.9 – Voltamogramas cíclicos para MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) contendo  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de (—) CTAB, (—) SDS ou (—) Triton X-100 sobre o CB/GCE,  $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ .

O efeito da concentração de CTAB ( $10, 30, 100$  e  $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na corrente de pico catódico para MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) foi também avaliado. A repetibilidade ( $n = 3$ ) entre as correntes de pico foi significativamente melhor a partir da concentração de  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de CTAB, sendo que em concentrações mais elevadas se manteve praticamente constante, com desvios padrão relativos (*RSD*, do inglês: *relative standard deviation*) de  $5,6 \%$ ,  $1,7 \%$ ,  $1,4 \%$  e  $1,1 \%$ , para  $10, 30, 100$  e  $300 \mu\text{mol L}^{-1}$  respectivamente. Por isso, a concentração de  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de CTAB foi selecionada por apresentar uma magnitude de sinal analítico satisfatório e alta repetibilidade das medidas.

Para avaliar se ocorre adsorção via atração eletrostática do surfactante no eletrodo, realizaram-se experimentos de ESI para encontrar-se o PZC. A teoria mais comum para medidas de capacitância e PZC é baseada no modelo de Gouy-Chapman-Stern<sup>159,160</sup>. Esta teoria define a estrutura de equilíbrio da dupla camada na interface eletrodo/eletrólito como

sendo constituída de dois elementos: (1) o elemento interno, conhecido como “camada compacta” ou “camada de Helmholtz” ( $C_H$ ), que é livre de carga (íons solvatados) e tem uma largura de dimensões atômicas e (2) a camada externa, a “camada difusa” ( $C_D$ ), que é uma camada semi-infinita a partir da camada interna e estendendo-se em direção ao seio da solução (excesso de carga irá diminuir progressivamente com a distância do eletrodo).

Como consequência, a capacitância diferencial ( $C_d$ ) total do sistema eletroquímico pode ser expressa como sendo a soma dos dois elementos:

$$\frac{1}{C_d} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_D} \quad \text{EQUAÇÃO 3.2}$$

A expressão detalhada pode ser escrita como:

$$\frac{1}{C_d} = \frac{x^2}{\varepsilon\varepsilon_0} + \frac{1}{(2\varepsilon\varepsilon_0z^2e^2n^0/kT)^{1/2} \cosh\left(\frac{ze\Phi_2}{2kT}\right)} \quad \text{EQUAÇÃO 3.3}$$

Sendo  $x^2$  a distância limite determinada pelo tamanho dos íons,  $\varepsilon$  a constante dielétrica do meio,  $\varepsilon_0$  a permissividade do espaço livre ( $8.854219 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ N}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ),  $z$  a carga dos íons,  $n^0$  a sua concentração em massa e  $\Phi_2$  o potencial do eletrodo.

O valor final da capacitância diferencial  $C_d$  é determinado pelos menores componente das duas contribuições: o primeiro termo descreve a camada de Helmholtz ( $C_H$ ) e o segundo termo a camada externa ( $C_D$ , camada difusa).

Quando a concentração do eletrólito é muito alta, a camada difusa será muito compacta, correspondendo a uma alta capacitância em  $C_D$ . Como consequência, o termo  $C_H$  dominará a capacitância final, e uma capacitância interfacial constante é esperada.

No entanto, quando a concentração do eletrólito é baixa o suficiente (menor do que  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) a capacitância diferencial ( $C_{dl}$ ) total será dominada pela capacitância da camada externa ( $C_D$ ).

De acordo com a EQUAÇÃO 3.3, somente o termo externo ( $C_D$ ) é dependente do potencial. Esta dependência tem uma forma em U, de modo que um mínimo em capacitância representa o PZC, seguida de uma subida acentuada em potenciais afastados do PZC em ambas as direções. Assim, o modelo prevê que o PZC, pode ser determinado na capacitância mínima de  $C_D$  se a concentração do eletrólito suporte não for muito alta. A vantagem deste método é que é aplicável a qualquer tamanho de partícula<sup>153,161</sup>.

Deste modo, com as medidas de EIS baseada no modelo Gouy-Chapman-Stern, onde as medidas de capacitância foram realizadas para cada potencial, foi possível calcular o PZC e avaliar a adsorção do CTAB no CB/GCE.

Neste estudo, medidas de EIS foram realizadas para uma solução de  $\text{NaClO}_4$   $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  (um eletrólito de baixa adsorção), na ausência e presença de CTAB  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  em diferentes potenciais (para mais detalhes das condições do experimento ver SEÇÃO 3.2.4).

A partir dos valores de capacitância diferencial ( $C_{dl}$ ) obtidos pelo ajuste dos dados de EIS, em cada potencial, um gráfico de  $C_{dl}$  versus potencial aplicado foi construído (FIGURA 3.10). Seguindo o modelo Gouy-Chapman-Stern previamente discutido, usou-se o menor valor de  $C_{dl}$ , como indicado pela linha vertical, para determinar os respectivos valores PZC.

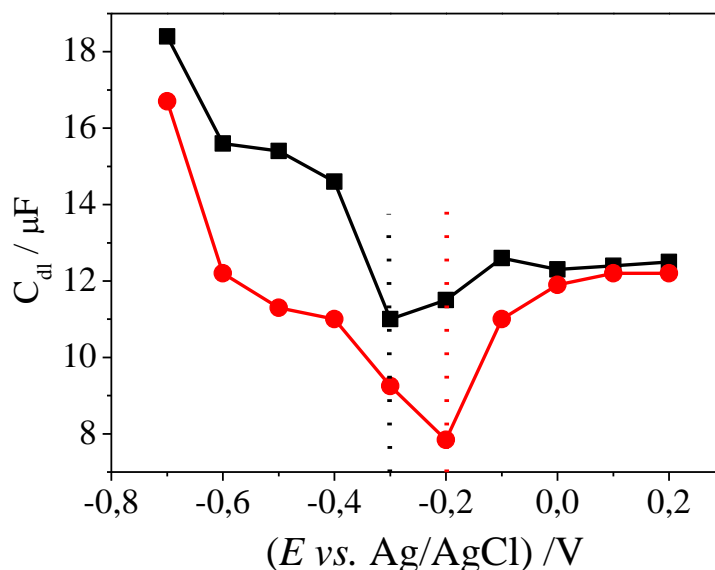


FIGURA 3.10 – Variação da capacitância diferencial ( $C_{dl}$ ) com o potencial aplicado ( $E$ ) para solução de  $\text{NaClO}_4$   $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ , na ausência (■) e na presença (●) de CTAB  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Como pode ser visto na FIGURA 3.10, o PZC obtido na ausência e na presença de CTAB foi em  $-0,30 \text{ V}$  e  $-0,20 \text{ V}$ , respectivamente.

Um valor menos negativo de PZC foi obtido na presença CTAB adsorvido, uma vez que o excesso de carga positivas adsorvidas - vide estrutura do CTAB, FIGURA 3.8 - é exatamente contrabalanceado por um excesso oposto de carga na camada difusa<sup>160</sup>, indicando assim que o CTAB é adsorvido via atração eletrostática no eletrodo proposto.

### 3.3.4 Estudo do efeito da concentração hidrogeniônica (pH)

A influência do pH foi investigada sobre o pico de redução do MST  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  na faixa de 1,0 a 8,0, contendo CTAB  $30,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , sobre o eletrodo CB/CGE. Como pode ser visto na FIGURA 3.11 (A), a intensidade de corrente de pico para MST diminuiu com o aumento do valor de pH, com exceção do pH 1,0. Além disso, o potencial de pico deslocou-se para valores mais negativos.

Considerando a maior intensidade de sinal e o potencial de redução mais próximo de zero, o pH 2,0 foi selecionado como pH ótimo para as demais análises.

Deve também notar-se que o potencial de pico apresentou uma dependência direta com pH no intervalo de 1,0 a 3,0 e 3,0 a 7,0 (ver FIGURA 3.11 (B)) de acordo com as seguintes equações:  $E_p$  (V) =  $-0,114 - 0,042$  pH ( $r = 0,999$ ) para a primeira região linear, e  $E_p$  (V) =  $-0,068 - 0,058$  pH ( $r = 0,996$ ) para a segunda região linear.

Para a segunda linearidade, o valor de  $-0,0580$  V pH<sup>-1</sup> obtido para o coeficiente angular da curva, está próximo ao valor teórico de  $-0,0592$  V pH<sup>-1</sup>, que corresponde a uma resposta Nernstiana para reações que envolve o mesmo número de prótons e elétrons (razão elétrons/prótons igual a 1).

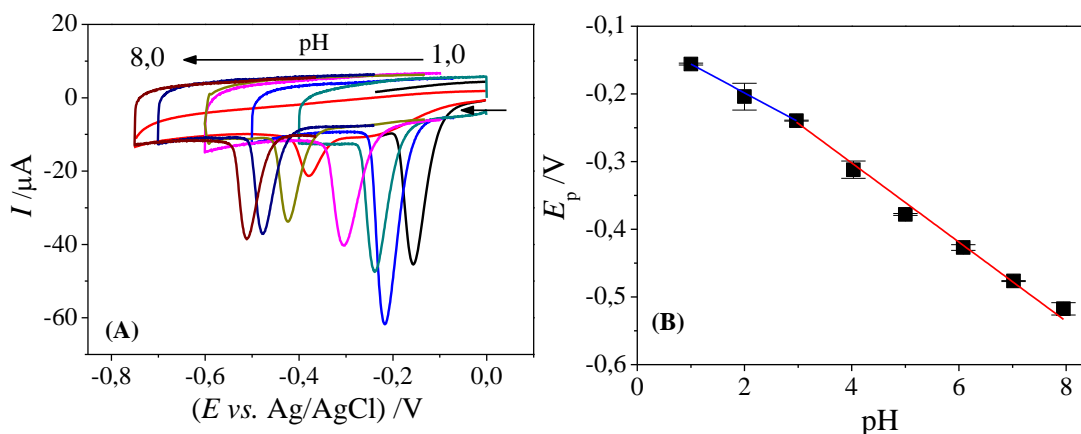


FIGURA 3.11 – (A) Voltamogramas cíclicos para MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  contendo CTAB  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em diferentes pH usando o CB/GCE;  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . (B) Gráfico de  $E_p$  vs. pH.

Como apresentado, foram obtidas duas faixas lineares, portanto, foi possível estimar o valor de  $pK_a$  condicional ( $pK_a^*$ ) na intersecção das duas retas. O  $pK_a^*$  encontrado foi igual a 2,8 que está em consonância com o  $pK_a$  termodinâmico da molécula MST (3,1)<sup>162</sup>.



### 3.3.5 Estudo da velocidade de varredura de potencial

O efeito da velocidade de varredura de potencial no sinal eletroquímico do primeiro pico de MST foi avaliado por CV variando a velocidade de varredura de 10 a 450 mV s<sup>-1</sup>. Como pode ser visto na FIGURA 3.13 (A), ocorreu uma mudança no potencial de pico de redução para valores mais negativos, um comportamento que é característico de processos irreversíveis<sup>163</sup>.

Além disso, uma maneira de identificar se o transporte de massa das espécies para a superfície do eletrodo é controlado por difusão ou adsorção, é analisando-se a dependência linear de logaritmo da corrente de pico ( $\log I_p$ ) em função do logaritmo da velocidade de varredura de potencial ( $\log v$ ), FIGURA 3.13 (B). Neste estudo foi obtido um coeficiente angular de 0,89, um valor próximo ao valor teórico de 1,0 reportado para processos controlados por adsorção<sup>160</sup>. Esta indicação foi confirmada pela análise da relação linear entre a corrente de pico ( $I_p$ ) e velocidade de varredura de potencial ( $v$ ), que é atribuída para processos adsorptivos FIGURA 3.13 (C) de acordo com a equação:

$$I_p/A = 4,70 \times 10^{-6} + 3,07 \times 10^{-4} v \text{ (V s}^{-1}\text{)}; r = 0,998.$$

Além disso, como pode ser observado na FIGURA 3.12 (D), a corrente de pico não varia linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, confirmando que o processo é controlado preferencialmente por adsorção. A adsorção do analito no eletrodo possui papel relevante no processo eletródico.

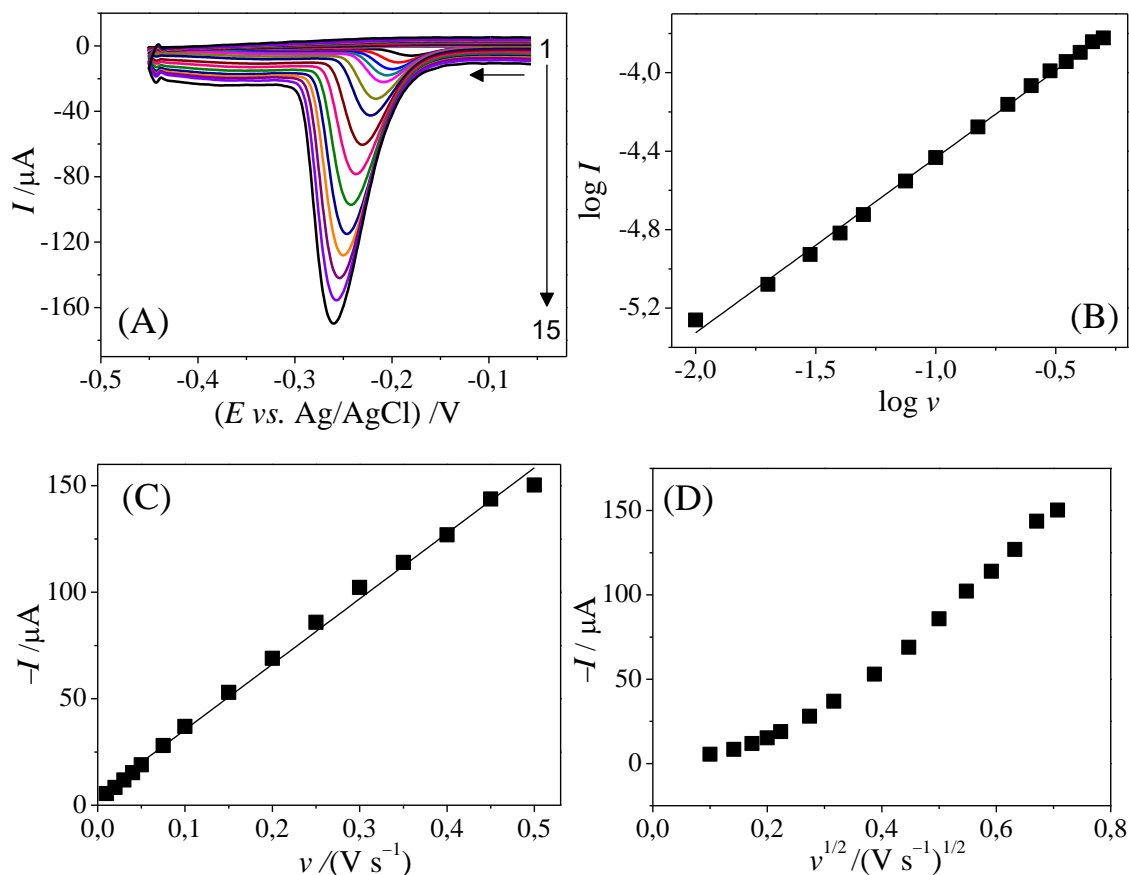


FIGURA 3.13 – (A) Voltamogramas cíclicos para MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 2,0) contendo CTAB  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  sobre eletrodo CB/GCE em diferentes velocidades de varredura de potencial (1-15): 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 e  $450 \text{ mV s}^{-1}$ ; (B) Relação linear de  $\log I_p$  vs.  $\log v$ ; (C) Corrente de pico ( $I_p$ ) vs. velocidade de varredura de potencial ( $v$ ) e (D) Corrente de pico ( $I_p$ ) vs. raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ( $v^{1/2}$ ).

Os parâmetros, número de elétrons ( $n$ ) e a constante de transferência heterogênea de elétrons ( $k^0$ ) para a redução de MST foi avaliada a partir dos dados de CV obtidos neste mesmo experimento.

Para o caso de processos catódicos irreversíveis controlados por adsorção, o  $\alpha n$  pode ser calculado pela diferença entre o potencial de pico ( $E_p$ ) e o potencial de meia onda ( $E_{p1/2}$ ) de acordo com a teoria para a CV, usando a EQUAÇÃO 3.4<sup>160</sup>:

$$\Delta E_{p1/2} = E_p - E_{p1/2} = \frac{62,5 \text{ (mV)}}{\alpha n} \quad \text{EQUAÇÃO 3.4}$$

sendo  $\alpha$  o coeficiente de transferência de carga e  $n$  o número de elétrons transferidos na reação.

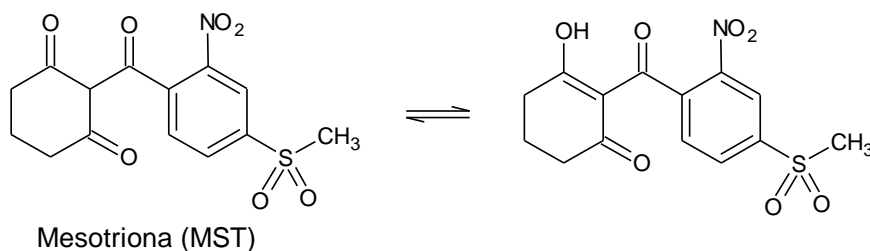
O valor estimado para  $\Delta E_{p1/2}$  foi igual a  $0,032 \pm 0,003$ ; usando este valor e aplicando-se a EQUAÇÃO 3.4, o valor calculado de  $\alpha n$  foi 1,95. Assim, assumindo que  $\alpha$  é igual a 0,5 (valor comumente assumido para compostos orgânicos<sup>164</sup>), o número de elétrons ( $n$ ) transferidos para o primeiro pico da eletrorredução de MST pode ser estimado sendo igual a 3,9 ( $\sim 4,0$ ).

Como relatado na literatura, o tautomerismo ceto-enol pode ser considerado como um equilíbrio químico entre a forma ceto e enol de um composto. Considerando-se o valor do  $pK_a^*$  do MST igual a 2,8, e o pH do eletrólito suporte utilizado igual a 2,0, tem-se que a molécula de MST está preferencialmente protonada na forma de um enol (FIGURA 3.14, primeira etapa – etapa química)<sup>165</sup>.

De acordo com alguns estudos sobre a redução de compostos nitroaromáticos e os resultados aqui obtidos, sugere-se que o primeiro pico de redução do MST (ver FIGURA 3.5) na superfície do CB/GCE em tampão fosfato, pH 2,0 ocorre segundo o mecanismo apresentado na FIGURA 3.14. (segunda etapa – etapa eletroquímica), sendo o primeiro pico de redução correspondente a formação da hidroxilamina<sup>166-168</sup> com o envolvimento de quatro elétrons e quatro prótons. Este produto de redução foi previamente identificado usando HPLC-UV (do inglês: *high performance liquid chromatography*) por Wagheu<sup>108</sup> para a redução de MST usando GCE modificado com argila orgânica.

Além disso, para os dois picos consecutivos, mostrado na FIGURA 3.5 em potenciais mais negativos, verificou-se que os picos são independentes um do outro (dados não mostrados), e que provavelmente, são provenientes da redução dos dois grupos cetonas da molécula de MST, como observado anteriormente na literatura para potencias maiores a  $-0,7\text{ V}$ <sup>169,170</sup>.

**Primeira etapa – etapa química:** ceto-enol tautomerismo



**Segunda etapa – etapa eletroquímica:** transferência de 4 elétrons

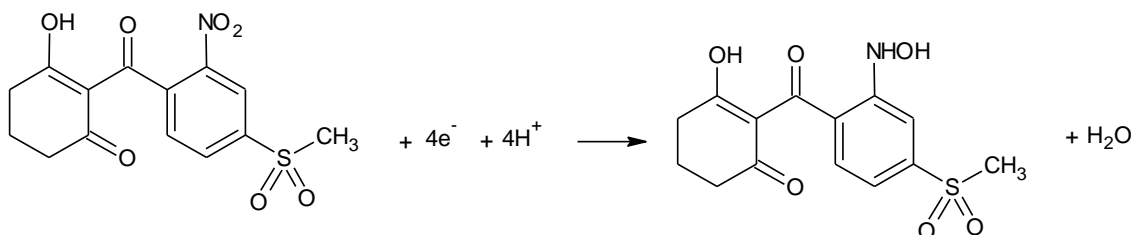


FIGURA 3.14 – Mecanismo proposto para o primeiro pico de eletrorredução de MST no CB/GCE.

Foi possível também estimar a  $k^0$  de MST usando a equação de Laviron, para processos irreversíveis controlados por adsorção<sup>160</sup>:

$$E_p = E^0 + \frac{RT}{\alpha n} \ln \left( \frac{RT}{\alpha n F} \frac{k^0}{v} \right) \quad \text{EQUAÇÃO 3.5}$$

onde  $E^0$  é o potencial formal e os outros símbolos têm seus significados usuais ou já foram previamente apresentados.

O valor de  $E^0$  foi determinado para cada corrente calculada como  $I = 0,82 I_p$  para as diferentes velocidades de varredura de potencial<sup>171</sup>, e a média do valor encontrado neste trabalho foi de  $E^0 = 0,21 \pm 0,03$  V.

O gráfico obtido entre  $E_p$  e logaritmo natural da velocidade de varredura de potencial ( $\ln v$ ) exibiu uma dependência linear, de acordo com a equação:

$$E_p \text{ (V)} = 0,2715 + 0,0207 \ln v$$

Usando o coeficiente linear desta equação, o valor de  $k^0$  foi calculado sendo igual a  $1,84 \text{ s}^{-1}$ . Este valor é similar ou maior do que os valores reportados na literatura usando eletrodos modificados com materiais de carbono<sup>172-176</sup>, como pode ser observado na TABELA 3.2. Isto indica a eficiência do CB/GCE em promover a transferência eletrônica entre MST e a superfície do eletrodo.

TABELA 3.2 – Valores de  $k^0$  reportados na literatura, obtidos com eletrodos modificados com materiais de carbono para diferentes analitos

<b>Eletrodo</b>	<b>Analito</b>	<b><math>k^0</math> (<math>\text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>Referência</b>
VACNT	Atorvastatina	0,26	172
GO/Nafion/GCE	Norfloxacin	0,28	173
Gr/GCE	Himecromona	1,72	174
rGO/MWCNTs/GCE	Hesperetina	1,48	175
rGO/SWCNTs/GCE	Morfina	0,80	176

VACNT: nanotubos de carbono verticalmente alinhados; GO: óxido de grafeno; Gr: grafeno; rGO: óxido de grafeno reduzido; MWCNTs: nanotubos de carbono de paredes múltiplas; SWCNTs nanotubos de carbono de parede simples.

### 3.3.6 Determinação de MST usando as técnicas eletroquímicas de DPV e SWV

As técnicas de pulso DPV e SWV foram comparativamente investigadas a fim de selecionar a melhor técnica para desenvolvimento do procedimento eletroanalítico para determinação MST. Em primeiro lugar, para ambas as técnicas, a otimização dos parâmetros que afetam a resposta analítica foi obtida para MST  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato pH 2,0 contendo CTAB  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  empregando-se o CB/GCE. Os correspondentes valores ótimos obtidos foram os seguintes: para DPV, amplitude de pulso ( $a$ ) 50 mV, velocidade de varredura de potencial ( $v$ )  $20 \text{ mV s}^{-1}$  e tempo de modulação ( $t$ ) 20 ms; e para SWV, frequência ( $f$ ) 30 Hz, amplitude ( $a$ ) 40 mV e incremento de varredura ( $E_s$ ) 3 mV.

Em seguida, medidas voltamétricas foram realizadas usando estes valores ótimos, e para ambas as técnicas, obtiveram-se as respectivas curvas analíticas apresentadas na FIGURA 3.15 (A) e (B).

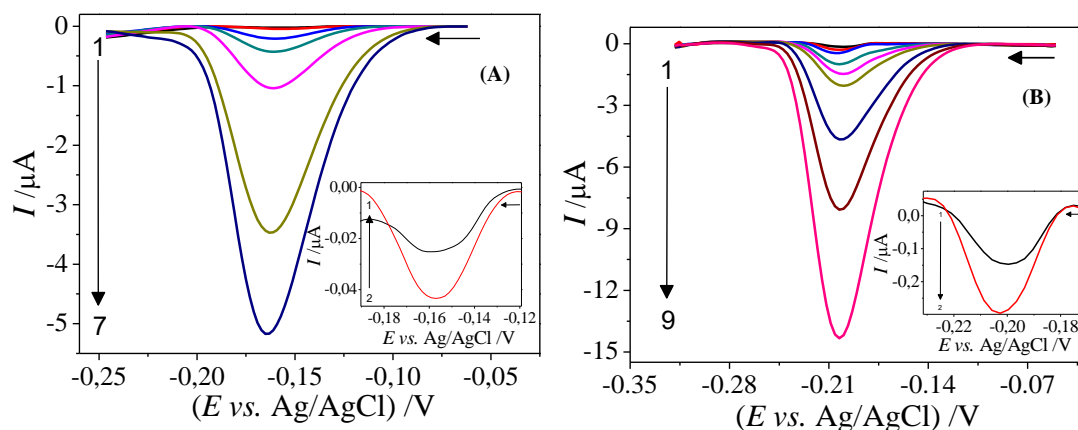


FIGURA 3.15 – Voltamogramas obtidos para MST em tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 2,0) contendo CTAB 30,0 μmol L<sup>-1</sup> usando o CB/GCE (A) por DPV nas concentrações de (1–7): 0,072; 0,15; 0,37; 0,68; 1,5; 4,6 e 6,8 μmol L<sup>-1</sup> (condições da DPV:  $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $a = 50 \text{ mV}$ ;  $t = 20 \text{ ms}$ ). (B) por SWV nas concentrações de (1–9): 0,040; 0,071; 0,10; 0,40; 0,70; 1,1; 2,5; 4,1 e 7,2 μmol L<sup>-1</sup> (condições da SWV:  $f = 30 \text{ Hz}$ ;  $a = 40 \text{ mV}$ ;  $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ ).

No caso da DPV, a curva analítica foi linear na faixa de 0,072 a 6,8 μmol L<sup>-1</sup> com um *LOD* de 0,038 μmol L<sup>-1</sup>, descrita pela equação

$$I_p (\text{A mol}^{-1} \text{L}) = -4,71 \times 10^{-8} + 0,742 [\text{MST/mol L}^{-1}] \quad r=0,998$$

No entanto, melhores valores de faixa de concentração, *LOD* e sensibilidade foram obtidos por SWV, apresentando uma linearidade na faixa de concentração de 0,040 a 7,2 μmol L<sup>-1</sup> com *LOD* de 0,026 μmol L<sup>-1</sup>. e a correspondente equação analítica foi:

$$I_p (\text{A mol}^{-1} \text{L}) = 2,34 \times 10^{-7} + 1,73 [\text{MST/ mol L}^{-1}] \quad r = 0,996$$

Conseqüentemente, SWV foi a técnica selecionada para a determinação voltamétrica deste pesticida, tal como apresentado a seguir.

Adicionalmente, os valores dos parâmetros analíticos obtidos com o método aqui proposto, são melhores do que aqueles previamente reportados na literatura, como podem ser vistos na TABELA 3.3.

O uso CB/GCE proporcionou um *LOD* 10 vezes menor do que o obtido por WAGHEU *et al.*<sup>108</sup> usando um eletrodo de GCE modificado com argila orgânica; ~2 vezes menor do que o obtido por ERDOGDU *et al.*<sup>109</sup> usando um eletrodo de gota pendente de mercúrio; 6,5 vezes menor do que o reportado por BARCHANSKA *et al.*<sup>110</sup> usando GCE e 115 vezes menor do que o obtido por HDIOUECH *et al.*<sup>111</sup> usando um biossensor com nitroreductase imobilizada em GCE por adsorção em nanopartículas de Mg<sub>2</sub>Al-NO<sub>3</sub> revestidas com nanopartículas de MgAl.

O sensor CB/GCE proposto apresentou um desempenho muito atrativo para o seu uso no monitoramento ambiental de MST, com resultados satisfatórios, obtendo o menor *LOD* já relatado para métodos eletroanalíticos.

TABELA 3.3 – Comparação de parâmetros analíticos obtidos usando o sensor proposto CB/GCE e outros sensores para a determinação de MST

<b>Eletrodo</b>	<b>Técnica</b>	<b>Faixa linear (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b><i>LOD</i> (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Referências</b>
Argila/GCE	SWV	0,25 – 2,5	0,26	108
HMDE	DPV	0,10 – 10	0,050	109
GCE	DPV	0,50 – 5,0	0,17	110
Biossensor*	Amperometria	5,0 – 60	3,0	111
CB/GCE	SWV	0,040 – 7,2	0,026	Este trabalho

HMDE = eletrodo de gota pendente de mercúrio; \*Biossensor preparado com nitroreductase imobilizada em GCE por adsorção em nanopartículas de Mg<sub>2</sub>Al-NO<sub>3</sub> revestidas com nanopartículas de MgAl.



A precisão do procedimento voltamétrico foi avaliada a partir de estudos de repetibilidade intra-dia e inter-dias. Medidas de SWV sucessivas foram realizadas para duas concentrações de MST ( $0,39 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $3,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em solução de tampão fosfato pH 2,0 contendo CTAB  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Os experimentos da repetibilidade inter-dia foram baseados em dez sucessivas ( $n = 10$ ) medidas de soluções recentemente preparadas e os valores de *RSD* obtidos para a variação da corrente de pico para as duas concentrações estudadas foram de 7,1 % e 1,3 %, respectivamente.

Em sequência, a repetibilidade intra-dias foi baseada em medidas de soluções preparadas em três dias diferentes ( $n = 3$ ), para isso, o eletrodo modificado também foi preparado diariamente, e os *RSD* obtidos foram de 4,5 % e 4,1 %, respectivamente para as duas concentrações estudadas.

O método aqui proposto apresentou adequada precisão e o eletrodo modificado pode ser facilmente preparado, com a vantagem de reproduzir os resultados mesmo quando preparados em dias diferentes. Além disso, após 30 medidas avaliadas em solução de MST  $4,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ , o sinal analítico diminuiu somente 5,1 % .

### 3.3.7 Estudo de interferentes em potencial

A seletividade do método proposto foi avaliada pela adição de algumas espécies químicas comumente presentes em amostras de águas como: alguns cátions ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Ni}^{2+}$ ), ânions ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{CO}_3^{2-}$ ), ácido húmico e vermicompostos, todos empregados na razão de 1:100 [MST]:[interferentes], para uma solução de MST  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato pH 2,0 contendo CTAB  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Os valores de erros relativos obtidos para cada caso foram apresentados na TABELA 3.4. Nota-se a partir destes resultados que o

método proposto possui boa seletividade para a determinação de MST, uma vez que para todos os interferentes investigados, erros relativos menores do que 8,6 % foram obtidos.

TABELA 3.4 – Efeito de possíveis interferentes na SWV determinação de MST  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  na proporção de 1:100 (analito/interferente)

<b>Interferentes</b>	<b>Erro relativo (%)</b>
Íons de alcalinos terrosos ( $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Ba}^{2+}$ )	-8,5
Íons de metais de transição ( $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Al}^{3+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Ni}^{2+}$ )	6,2
Ânions ( $\text{NO}_3^-$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{SO}_4^{2-}$ e $\text{CO}_3^{2-}$ )	-7,5
Ácido húmico e vermicompostos	-1,1

### **3.3.8 Aplicação do método proposto para a determinação de MST em águas e caldo de cana-de-açúcar**

Finalmente, o método proposto foi aplicado para a análise de duas amostras de água e uma de caldo de cana-de-açúcar. Estas amostras foram fortificadas com uma concentração conhecida de MST e foram analisadas utilizando o método de adição de padrão.

A partir dos resultados apresentados na TABELA 3.5, é possível ver que recuperações satisfatórias foram obtidas (de 90 a 118 %) para MST. Assim, a técnica de SWV pode ser aplicada na determinação de MST em águas e caldo de cana-de-açúcar, uma vez que não há interferência significativa da matriz das amostras.

TABELA 3.5 – Resultados obtidos na determinação de MST em amostras de águas e de caldo de cana-de-açúcar pelo método proposto usando CB/GCE

Amostras		Adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Encontrado* ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Recuperado %
Água de represa	nível 1	0,10	$0,11 \pm 0,01$	110
	nível 2	1,0	$1,18 \pm 0,01$	118
Água de torneira	nível 1	0,10	$0,1 \pm 0,2$	100
	nível 2	1,0	$1,0 \pm 0,1$	100
Caldo de cana	nível 1	1,0	$0,9 \pm 0,1$	90,0

\* n = 3

### 3.4 Conclusões parciais

A partir dos resultados supramencionados, pode-se concluir que a incorporação do filme de CB na superfície do GCE produzindo o CB/GCE proporcionou um efeito eletrocatalítico na redução MST, levando a uma diminuição do potencial de trabalho e aumentando o sinal analítico quando comparado com o GCE.

Além disso, o método proposto utilizando o eletrodo modificado pode ser utilizado para a determinação quantitativa de MST em amostras de água e caldo de cana-de-açúcar e o *LOD* obtido foi significativamente mais baixo do que os obtidos nos outros dois métodos eletroanalíticos já descritos na literatura.

O método aqui proposto utilizando a SWV mostrou-se eficaz para a determinação de amostras MST, é simples, rápido e menos custoso.

# **CAPÍTULO 4**

## **4 – Sensor eletroquímico para a determinação simultânea de paracetamol e codeína usando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de óxido de níquel e *carbon black***

Neste trabalho, relatou-se um novo sensor eletroquímico com base no eletrodo de GCE modificado com CB e NiONPs em um filme de dihexadecilfosfato (DHP, do inglês: *dihexadecyl hydrogen phosphate*) para o desenvolvimento de um método de SWV para a determinação de PCT e COD em produtos farmacêuticos e amostras de fluidos biológicos.

Os resultados discutidos encontram-se publicados na literatura, e foram reproduzidos com permissão da *John Wiley and Sons* (número da licença 4603150695761), a saber:

Patricia B. Deroco; Fernando C. Vicentini e Orlando Fatibello-Filho, O. “*An electrochemical sensor for the simultaneous determination of paracetamol and codeine using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon black*”. *Electroanalysis*, v. 27, p. 2214-2220, 2015.

### **4.1 Objetivo específico**

Considerando-se os bons resultados obtidos anteriormente com o eletrodo modificado com CB, nesta etapa do trabalho, objetivou-se ampliar o leque de aplicações deste material, utilizando-o como suporte para a eletrodeposição de nanopartículas metálicas, com o intuito de buscar melhores condições analíticas, como detectabilidade e transferência de elétrons mais eficiente, para o novo sensor proposto.

A primeira estratégia adotada foi a eletrodeposição de NiONPs sobre um filme de CB e DHP. Neste caso, optou-se por utilizar o DHP, um surfactante capaz de formar dispersões estáveis tanto em meio aquoso, quanto em meio orgânico, com o objetivo de obter-se um filme mais homogêneo, aderente e

estável, para atuar como suporte para a eletrorredução das nanopartículas de interesse<sup>177</sup>.

Este novo sensor foi pensado com o objetivo de ser usado para avaliar comportamento eletroquímico e desenvolver um método voltamétrico para a quantificação de dois importantes analgésicos: PCT e COD, amplamente utilizados em combinação<sup>139,140</sup>. E ainda ser aplicado para a determinação destes medicamentos em amostras farmacêuticas e fluidos biológicos.

## 4.2 Experimental

### 4.2.1 Reagentes e padrões

Todos os reagentes foram de grau analítico: dihexadecilfosfato (DHP) e paracetamol (PCT) foram adquiridos de Sigma-Aldrich, e fosfato de codeína (COD) de Fagron - São Paulo, Brasil.

Soluções de tampão BR em diferentes pH (de 2,0 a 12,0) foram preparadas pela mistura de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) e ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) todos na concentração de  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ , os pH foram ajustados adicionando-se quantidade suficiente de solução de NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; seguida da adição de solução de KCl para produzir uma força iônica de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ .

As soluções padrão de PCT e COD  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e as demais diluições foram preparadas no eletrólito suporte, que neste trabalho foi o tampão BR pH 3,0, como discutido posteriormente na SEÇÃO 4.3.3. As amostras farmacêuticas comerciais de fosfato de COD e PCT foram adquiridas em uma farmácia local.

### 4.2.2 Instrumentação

A instrumentação utilizada foi a mesma especificado na SEÇÃO 3.2.2.

As determinações de PCT e COD foram também realizadas pelo método comparativo de HPLC usando um sistema LC-10 AT Shimadzu, com detector UV-Vis (SPD-M10-AVP) em 284 nm. Uma coluna cromatográfica CLC-ODS C-18 (250 x 6,0 mm; 5  $\mu\text{m}$ ) Shim-Pack foi utilizada.

A fase móvel foi uma mistura de acetonitrila e água na proporção de 75/25 v/v com o pH ajustado para 2,0 com uma solução de NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>; a vazão foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e o volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ <sup>178</sup>.

### 4.2.3 Preparação do eletrodo modificado

Previamente ao uso, o eletrodo de GCE foi submetido ao mesmo procedimento de limpeza especificado na SEÇÃO 3.2.3.

Na FIGURA 4.1 é encontrado o esquema com etapas de preparação do eletrodo. Inicialmente, uma dispersão de CB e DHP foi preparada pela adição de 1,00 mg de CB e 1,00 mg de DHP em 1,0 mL de água ultrapura. Esta dispersão foi levada a um banho ultrassônico por 30 min. e, em seguida, uma alíquota de 8  $\mu\text{L}$  foi gotejada sobre a superfície do GCE e o solvente evaporado em temperatura ambiente por 3 h.



FIGURA 4.1 – Representação esquemática das etapas de preparo do eletrodo de trabalho.



Então, este eletrodo foi exposto à eletrodeposição de NiONPs. Para isto, na primeira etapa, para a formação de nanopartículas de níquel, foram realizadas 40 varreduras de CV na janela de potencial de 0,0 a -0,8 V, em uma velocidade de varredura de potencial de 100 mV s<sup>-1</sup>, em solução de tampão acetato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 4,0) contendo 2,0 mmol L<sup>-1</sup> de nitrato de níquel. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água, e submetido em solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, onde o potencial foi ciclado 40 vezes de 0,2 para 0,7 V, a uma velocidade de varredura de potencial de 100 mV s<sup>-1</sup> para formação e passivação das nanopartículas de óxido-hidróxido de níquel no eletrodo<sup>75,179</sup>. Por fim, o eletrodo formado foi nomeado NiOOHNP<sub>s</sub>-CB-DHP/GCE.

#### 4.2.4 Medidas eletroquímicas

O comportamento eletroquímico de PCT e COD e os estudos preliminares (como efeito de pH e eletrólito suporte) foram investigados usando CV. Depois, o uso de SWV foi avaliado para a determinação simultânea de PCT e COD, os valores dos parâmetros SWV foram explorados e otimizados para determinar as melhores condições analíticas. Depois de otimizar os parâmetros experimentais para o método proposto, as curvas analíticas foram construídas pela adição de volumes pequenos das soluções padrões dos analitos ao eletrólito suporte. Os voltammogramas SW tiveram as linhas bases corrigidas pelo método da média móvel (largura do pico: 0,003) e suavizados com um algoritmo Savicky e Golay usando o software GPES 4.9. O *LOD* foi calculado usando o método sinal-ruído em uma proporção de 3:1<sup>180,181</sup>. Para a determinação desta relação sinal-ruído, uma comparação entre a medida do sinal analítico de uma solução de referência em baixas concentrações conhecidas do composto de interesse e do sinal de um branco (eletrólito suporte) é realizada. Assim, é estabelecida uma concentração mínima na qual a substância pode ser facilmente detectada.

### 4.2.5 Preparação de amostras analisadas

Para a preparação das soluções das amostras farmacêuticas, dez comprimidos de cada formulação farmacêutica foram pesados individualmente e macerados até virar pó, e sua massa média foi utilizada para os cálculos a seguir.

Uma quantidade ajustada foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL e seu volume completado com a solução de eletrólito suporte. Os sólidos não dissolvidos foram filtrados usando papel de filtro Nalgon<sup>®</sup>, tamanho de poro menor do que 1  $\mu\text{m}$ . Uma alíquota desta solução foi transferida diretamente para a célula eletroquímica contendo 10,0 mL do tampão BR (eletrólito suporte). As amostras foram analisadas utilizando a interpolação na curva analítica previamente obtida. As medidas foram feitas em triplicata ( $n = 3$ ).

A amostra de urina sintética foi preparada de acordo com o protocolo descrito por LAUBE *et al.*<sup>182</sup>. Assim, 730,0 mg de NaCl, 400,0 mg de KCl, 280,0 mg de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 560,0 mg de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 350,0 mg de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 205,0 mg de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e 6250,0 mg de ureia foram adicionados em um balão volumétrico de 250 mL e o volume completado com água ultrapura.

A amostra de soro humano sintética foi preparada seguindo o protocolo descrito por PARHAM e ZARGAR<sup>183</sup>. Esta amostra contém a seguinte composição: 1300,0 mg de NaCl, 160,0 mg de  $\text{NaHCO}_3$ , 2,30 mg de glicina, 3,50 mg de triptofano, 3,70 mg de tirosina, 3,20 mg de serina, 6,60 mg de fenilalanina, 9,10 mg de lisina, 6,30 mg de histidina, 29,00 mg de ácido aspártico, 10,00 mg de arginina, e 9,10 mg de alanina em um volume total de 250 mL de água ultrapura.

As amostras de urina sintética e soro humano sintético foram fortificadas com duas diferentes concentrações dos analitos. Então, uma alíquota de 150  $\mu\text{L}$  de cada amostra foi diluída no eletrólito suporte e a solução final analisada usando-se o método proposto.

## 4.3 Resultados e discussão

### 4.3.1 Caracterização morfológica e eletroquímica do eletrodo de trabalho

Imagens de SEM foram obtidas para o filme de CB e DHP formado sobre o eletrodo de GCE; e também após a eletrodeposição das NiOOHNPs estas imagens estão apresentadas na FIGURA 4.2 (A - C). Como pode ser visto, nas FIGURAS 4.2 A e B, as características morfológicas do CB (nanopartículas com a formação de alguns aglomerados) foram mantidas mesmo na presença DHP (afim de comparação ver FIGURA 3.3 (A)). Além disso, foi possível observar que o DHP formou um filme, cobrindo a superfície das partículas de CB e mantendo-as confinados na superfície do GCE, garantindo assim um filme mais estável e com elevada robustez mecânica para o eletrodepósito das NiOOHNPs no eletrodo modificado.

Como pode ser observado na imagem da FIGURA 4.2 (C), obtida após o procedimento de eletrodeposição das NiOOHNPs sobre o filme de CB–DHP/GCE, as NiOOHNPs foram formadas homogeneamente sobre a superfície do eletrodo com formato esférico e tamanho médio de 44,08 nm (ver histograma de distribuição na 4.2 (D)).

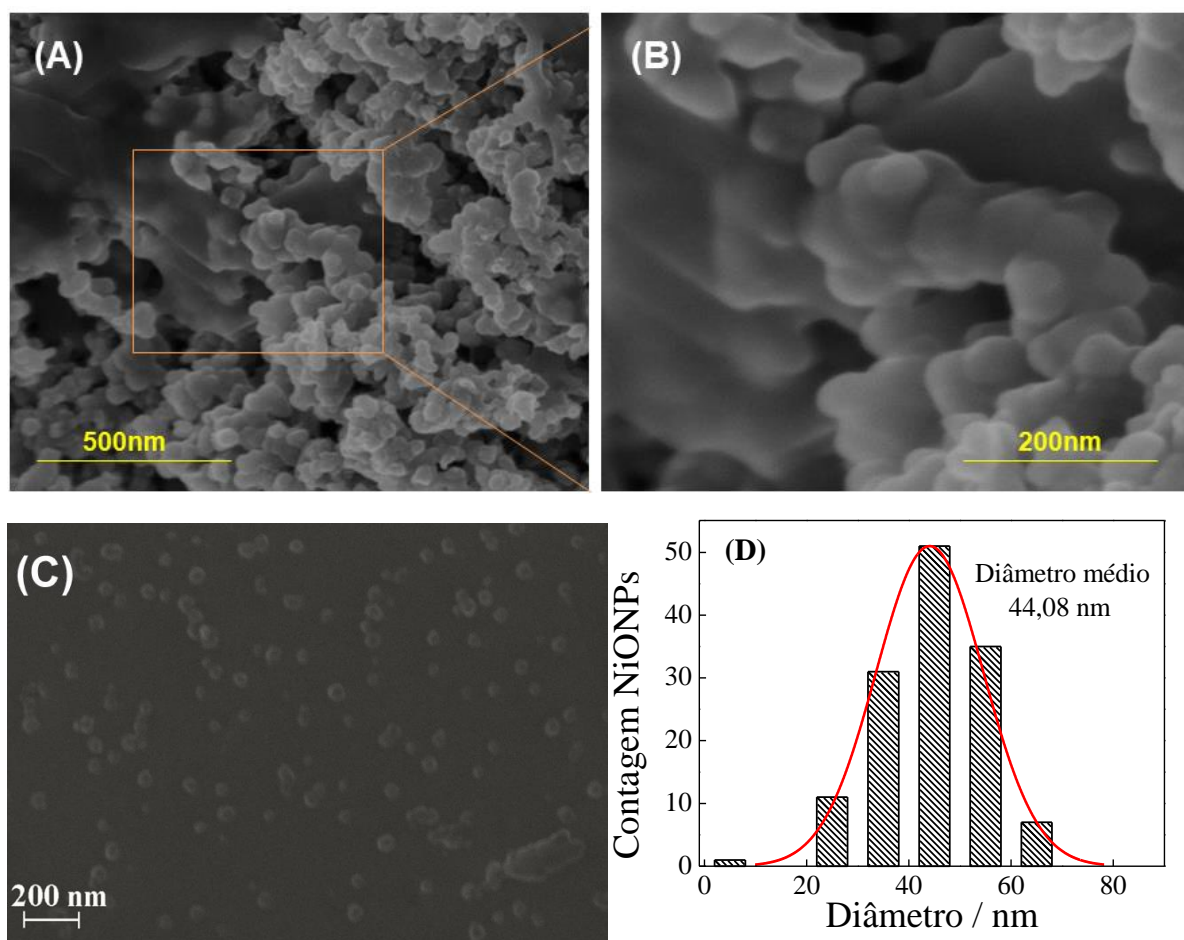
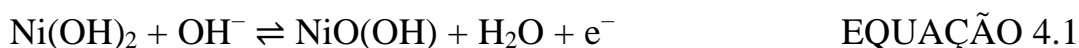


FIGURA 4.2 – Imagens de SEM de obtidas (A) e (B) para o filme de CB–DHP no GCE, em diferentes ampliações; (C) para as NiOOHNPs sobre o filme de CB–DHP. (D) Histograma de distribuição do diâmetro das nanopartículas.

A formação das NiOOHNPs também foi avaliada eletroquimicamente; para isso o eletrodo contendo as nanopartículas de NiOOHNPs, foi submetido às varreduras cíclicas em diferentes velocidades em solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Como pode ser visto nos voltamogramas da FIGURA 4.3, na varredura anódica ocorre a oxidação de Ni<sup>2+</sup> a Ni<sup>3+</sup>, sendo este processo reversível, como observado no pico de redução no sentido inverso (varredura catódica), confirmando a efetiva formação das NiOOHNPs, que foi atribuída a seguinte reação de equilíbrio:



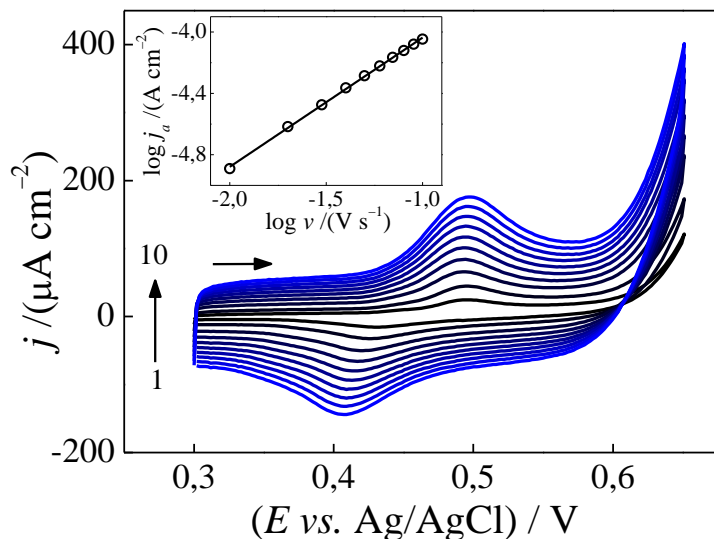


FIGURA 4.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos para o NiOOHNPs –CB–DHP/GCE em solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> em diferentes velocidades de varredura de potencial: (1 - 10): 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mV s<sup>-1</sup>. Inserção: relação linear entre  $\log j_a$  e  $\log \nu$ .

Na etapa de formação e passivação em meio alcalino, as espécies de Ni(OH)<sub>2</sub> são geradas, e depois são oxidadas para NiO(OH) (pico anódico). Quando o potencial de varredura é invertido, as espécies NiO(OH) são reduzidas ao hidróxido de níquel (pico catódico)<sup>75,179</sup>.

Foi obtida uma relação linear entre o logaritmo da densidade corrente de pico anódico ( $\log j_a$ ) e o  $\log \nu$ , como pode ser observado no gráfico inserido na FIGURA 4.3, com equação correspondente igual a:

$$\log j_a (\text{A cm}^{-2}) = -3,19 + 0,857 \log \nu (\text{V s}^{-1}) \quad (r = 0,999).$$

O valor de inclinação de 0,86 está próximo ao valor teórico de 1,0, que é atribuído para processos controlados por adsorção<sup>160</sup>, confirmando assim, mais uma vez, que as NiONPs foram adsorvidas no filme de CB–DHP.

### 4.3.2 Comportamento eletroquímico de PCT e COD

Após as caracterizações do eletrodo, objetivando-se estudar o efeito sinérgico entre cada material proposto para a modificação do eletrodo, avaliou-se o comportamento eletroquímico de PCT e COD usando CV e comparando os eletrodos propostos, a saber: o eletrodo apenas com o filme de CB e DHP (CB-DHP/GCE), seguido do eletrodo apenas com as NiOOH nanopartículas (NiOOHNPs/GCE) e por fim o eletrodo com a combinação destes dois materiais (NiOOHNPs -CB-DHP/GCE). Como pode ser visto a partir dos voltamogramas mostrados na FIGURA 4.4 (A), o PCT exhibe um pico quasi-reversível bem definido, em torno de 0,610 V para o pico de oxidação e 0,560 V para o pico de redução para ambos os eletrodos de CB-DHP/GCE e NiOOHNPs-CB-DHP/GCE. No entanto, o PCT apresentou apenas um processo anódico em 0,730 V quando o eletrodo NiOOHNPs/GCE foi utilizado. Na FIGURA 4.4 (B), é possível ver que a COD exibiu um pico irreversível bem definido, em torno de 1,13 V (pico de oxidação) para os eletrodos de CB-DHP/GCE e NiOOHNPs-CB-DHP/GCE e 1,19 V para o eletrodo NiOOHNPs/GCE.

Analisando a FIGURA 4.4, houve uma melhora na resposta eletroquímica observada quando o NiOOHNPs-CB-DHP/GCE foi utilizado, sendo que para o PCT as respostas de corrente anódica e catódica aumentaram cerca de 330 % e 230 % respectivamente, e para a COD o aumento foi superior a 180 %. Este efeito pode ser explicado pelo sinergismo ocasionado pela mistura de CB e NiOOHNPs, acredita-se que o CB é responsável pelo efeito eletrocatalítico, já que para o eletrodo sem este material os picos de oxidação para ambos os analitos ocorreram em potenciais maiores (representados pelos voltamogramas em vermelho da FIGURA 4.4). No entanto com a incorporação das NiOOHNPs no eletrodo contendo o CB, houve um aumento da área eletroativa, o que proporcionou uma maior interação química entre as NiOOHNPs e os grupos -OH presente na estrutura química destes fármacos<sup>184-186</sup>, e conseqüentemente um

maior sinal analítico. Além disso, uma excelente separação de pico de potencial entre PCT e COD foi obtida, cerca de 0,550 V, possibilitando assim a análise simultânea (sequencial) dos analitos.

Após demonstrar as vantagens da modificação do sensor de GCE com filme de CB-DHP e as NiOOHNPs, este eletrodo (NiOOHNPs-CB-DHP/GCE) foi utilizado para o desenvolvimento do novo método analítico para a determinação simultânea de PCT e COD.

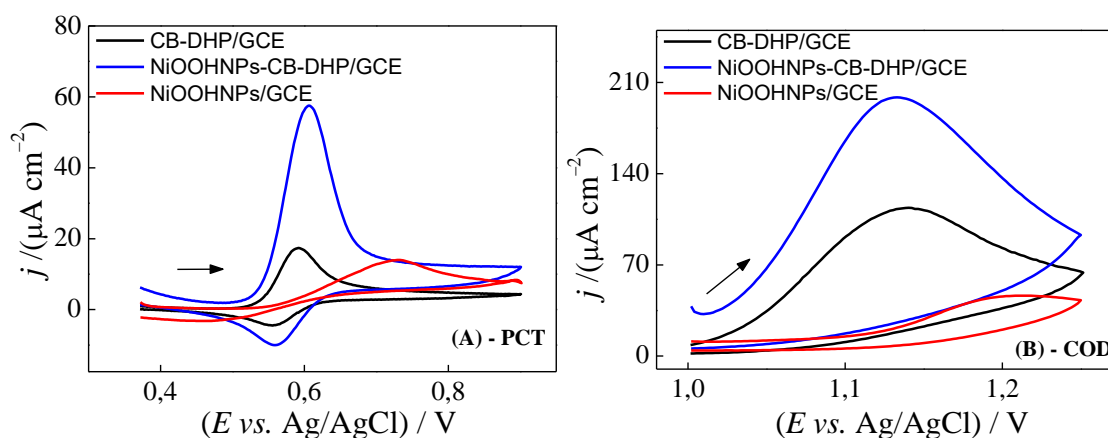


FIGURA 4.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos para (A) 50,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  PCT e (B) 100,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  COD em tampão BR pH 3,0 no CB-DHP/GCE (—) e no NiOOHNPs-CB-DHP/GCE (—).

### 4.3.3 Efeito do pH e do eletrólito suporte

A influência do pH do eletrólito suporte foi avaliada utilizando soluções de tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> na faixa de pH de 2,0 a 7,0 sobre a resposta redox de PCT 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e de COD 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  utilizando CV e o eletrodo NiOOHNPs-CB-DHP/GCE.

Para o PCT, FIGURA 4.5A, o aumento nos valores de pH ocasionou uma diminuição (deslocou-se para potenciais menos positivos, ou seja, mais próximos de zero) do potencial de pico anódico e catódico. Além disso, a corrente do pico anódico foi linearmente proporcional a variação dos valores de pH - vide FIGURA 4.5 (B), obtendo-se a seguinte equação:

$$E_{\text{pa}} \text{ (V)} = 0,712 - 0,054 \text{ pH} \text{ (} r = 0,990 \text{)}$$

Este valor obtido para o coeficiente angular ( $-0,054 \text{ V pH}^{-1}$ ), está próximo ao valor teórico de  $-0,059 \text{ V pH}^{-1}$  a  $25^\circ \text{ C}$ , que indica processos redox envolvendo números iguais de prótons e elétrons<sup>187</sup>. Este resultado está de acordo com trabalhos anteriores, que relataram o mecanismo de eletrooxidação de PCT envolvendo dois elétrons e dois prótons<sup>188,189</sup>.

Por outro lado, para a eletrooxidação de COD, FIGURA 4.5 (C e D), não apresentou um comportamento linear entre  $E_{pa}$  e pH. E com relação a intensidade de sinal analítico foi obtido um maior valor de corrente em solução com pH 3,0; para os demais valores de pH ocorreu diminuição no sinal analítico.

Assim, a solução tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  com pH 3,0 foi selecionada como o eletrólito suporte para os demais experimentos, por favorecer a oxidação de ambos os analitos.



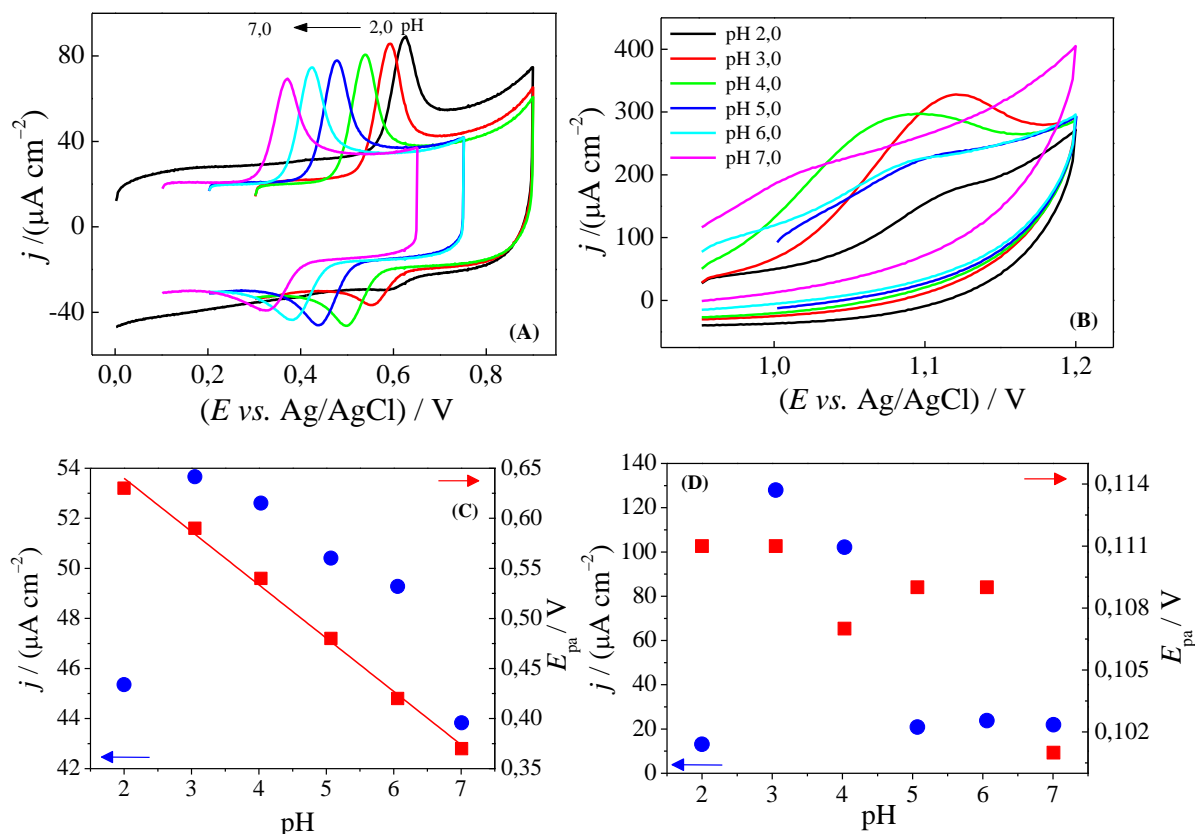


FIGURA 4.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos para solução de: (A) PCT 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e (B) COD 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução tampão BR 0,04  $\text{mol L}^{-1}$  com diferentes valores de pH, usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE. Os Gráficos (C) e (D) apresentam a relação entre  $E_p$  e pH, para estes analitos respectivamente;  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### 4.3.4 Determinação simultânea de PCT e COD usando SWV

A técnica de SWV foi utilizada, pois ofereceu melhor definição de pico e maior detectabilidade quando comparada a CV e DPV, para estes casos. Então, os parâmetros envolvidos nesta técnica (SWV) foram otimizados em solução de tampão BR (pH 3,0) na presença de PCT 20,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e COD 50,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo os seguintes parâmetros estudados: frequência ( $f$ : 5,0 Hz a 40 Hz), amplitude ( $a$ : 10 mV a 100 mV) e incremento de varredura ( $\Delta E_s$ : 1,0 mV a 15 mV). Os parâmetros otimizados considerando o máximo de intensidade de sinal analítico, a melhor resolução de pico e a baixa corrente de fundo foram:  $f = 10 \text{ Hz}$ ,  $a = 70 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 8,0 \text{ mV}$ .

Inicialmente, PCT e COD foram determinados individualmente, um na presença de concentração fixa do outro, para avaliar possíveis interferências. A curva analítica para PCT foi construída na faixa de concentração de 3,0 a 8,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão BR contendo concentração fixa de COD 5,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  - vide FIGURA 4.6 (A). De acordo com a FIGURA 4.6 (A), observa-se que o pico de oxidação de COD permanece praticamente constante ( $RSD = 2,1\%$ ) quando a concentração de PCT é aumentada. O mesmo procedimento foi realizado para a COD FIGURA 4.6 (B). Na faixa de concentração de 2,3 a 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão BR contendo PCT com concentração fixa (7,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Observou-se que a corrente de pico de oxidação do PCT permaneceu praticamente constante ( $RSD = 3,1\%$ ). Isto mostra que não há interferência quando ambas moléculas estão presentes na mesma solução.

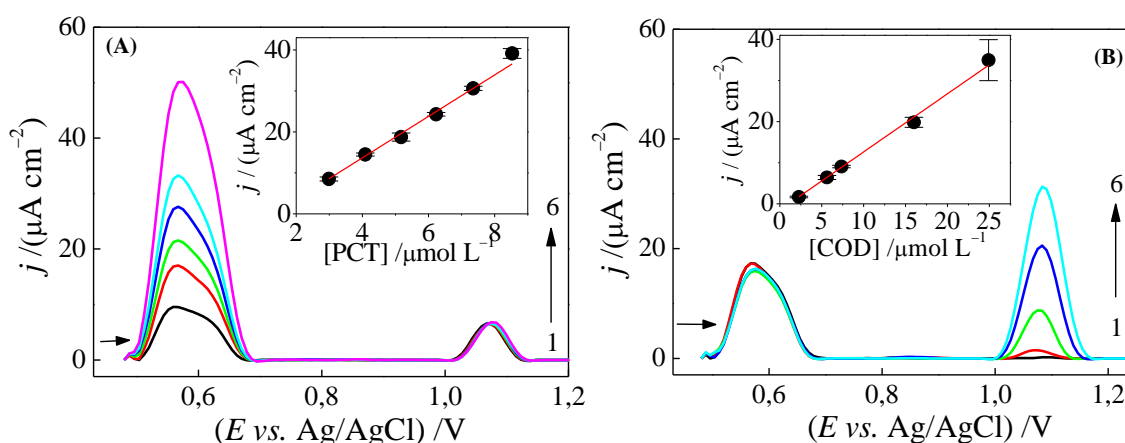


FIGURA 4.6 – Voltamogramas SW obtidos usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE para diferentes concentrações de: (A) PCT (1–6): de 3,0 a 8,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e concentração fixa de COD de 5,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ; (B) COD (1–6): de 2,3 a 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e concentração fixa de PCT de 7,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Eletrólito suporte: solução de tampão BR pH 3,0. Condições da SWV:  $f = 10\text{ Hz}$ ,  $a = 70\text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 8,0\text{ mV}$ .

Sendo assim, a determinação simultânea destes analitos foram obtidos a partir de adição simultânea de diferentes concentrações de PCT (3,0 a

47,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e COD (0,83 a 38,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em solução de tampão BR pH 3,0 (FIGURA 4.7). As respectivas equações da reta das curvas analíticas foram:

$$j_{\text{pa}} / \mu\text{A cm}^{-2} = -11,55 + 4,042 [c / (\mu\text{mol L}^{-1})], \text{ para PCT } (r = 0,999)$$

$$j_{\text{pa}} / \mu\text{A cm}^{-2} = -0,7467 + 1,756 [c / (\mu\text{mol L}^{-1})], \text{ para COD } (r = 0,996)$$

O *LOD* para PCT e COD (calculado como descrito na SEÇÃO 4.2.4) foram 0,12  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,48  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

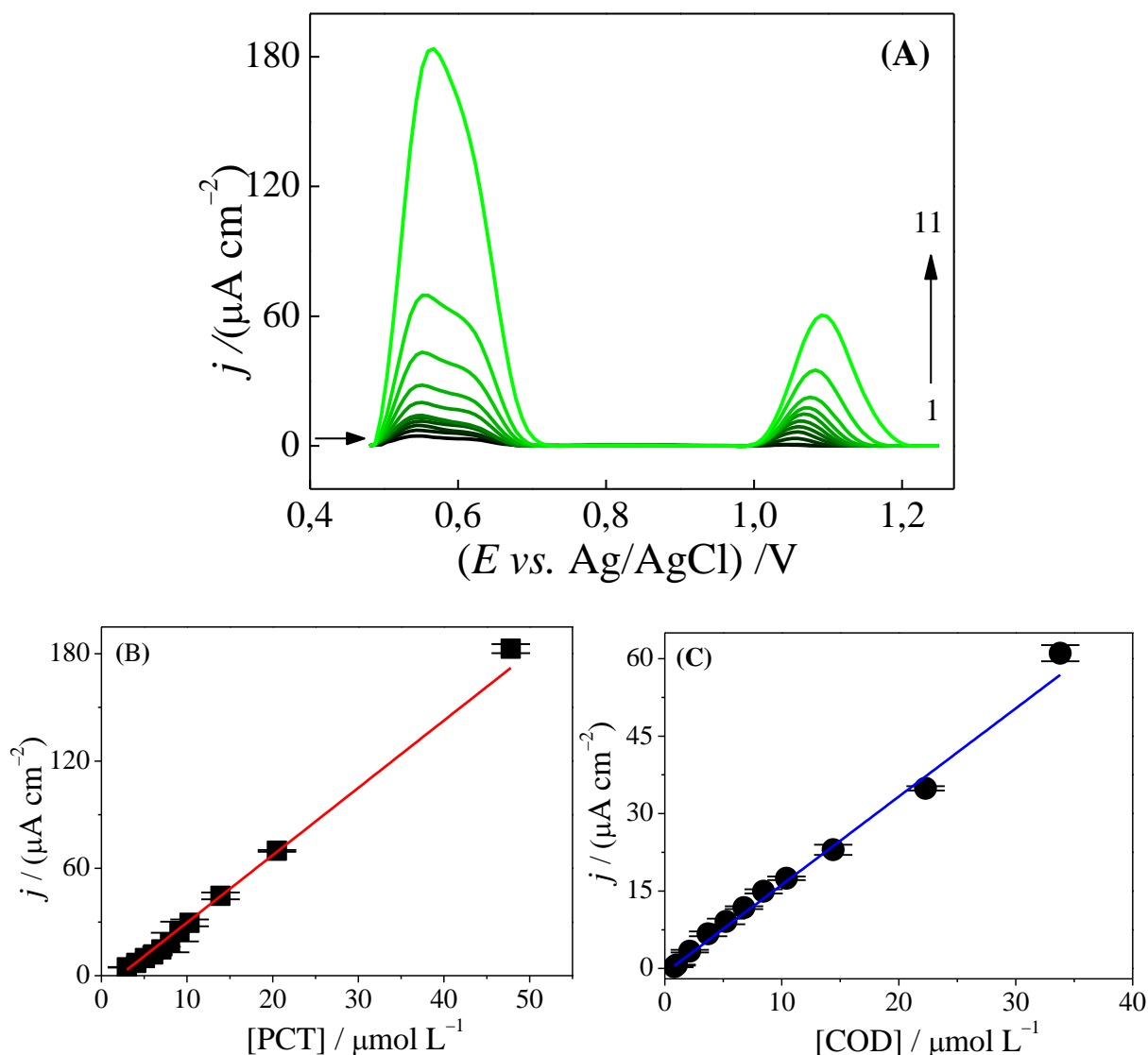


FIGURA 4.7 – (A) Voltamogramas de SW obtidos usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE para diferentes concentrações de PCT (1–11): de 3,0 a 48  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e COD de 0,83 a 38  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Eletrólito suporte: solução de tampão BR pH 3,0. Condições da SWV:  $f = 10$  Hz,  $a = 70$  mV e  $\Delta E_s = 8,0$  mV. (B) e (C) curvas analíticas obtidas para PCT e COD, respectivamente.

Outros procedimentos analíticos para a determinação simultânea de PCT e COD têm sido reportados na literatura, e os parâmetros analíticos obtidos estão apresentados na TABELA 4.1. Comparando os parâmetros analíticos obtidos pelo método proposto, os  $LOD$  foram similares aqueles obtidos usando GCE modificado com nanotubos de carbono<sup>142</sup>.

No entanto, AFKHAMI *et al.*<sup>141</sup> e MAHHADIZADEH *et al.*<sup>143</sup> obtiveram menores *LOD* usando um eletrodos de pasta de carbono modificado com grafeno e nanopartículas  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ; e modificado com nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , respectivamente. Apesar disso, cabe ressaltar que nestes métodos foram empregados materiais de custo mais elevado, como grafeno e nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , cuja as sínteses são trabalhosas e de difícil reprodução. Alternativamente, os materiais propostos neste trabalho, o CB é um material de baixíssimo custo (R\$ 5,00/kg) e o método de eletrodeposição das nanopartículas é simples e de baixo consumo de reagentes.

Além disso, considerando que a dose diária máxima para adultos é de 4000 mg e 240 mg para PCT e COD, respectivamente<sup>190</sup>; e sabendo-se que PCT e COD são excretados na urina na forma inalterada nas quantidades de 4 % e 15 %, respectivamente<sup>136,137</sup>, pode-se estimar a quantidade destes fármacos excretada em um litro de urina. Usando estes valores e as massas molares de PCT ( $151,16 \text{ g mol}^{-1}$ ) e COD ( $406,37 \text{ g mol}^{-1}$ ), um indivíduo excreta cerca de  $1,06 \text{ mmol L}^{-1}$  de PCT e  $88,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de COD. Estes valores são aproximadamente 9 mil vezes, no caso do PCT, e 185 vezes, no caso da COD, maiores do que os *LOD* obtidos com o método proposto, o que significa que este método é adequado para a quantificação de PCT e COD neste fluido biológico.

TABELA 4.1 – Comparação de parâmetros analíticos obtidos usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE e outros sensores eletroquímicos para a determinação simultânea de PCT e COD

Eletrodo	Técnica	Faixa linear ( $\mu\text{M}$ )		LOD ( $\mu\text{M}$ )		Ref.
		PCT	COD	PCT	COD	
MWCNTs/ GCE	DPV	5 – 400	5 – 240	0,19	0,20	142
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -Gr/CPE	SWV	0,03 – 12	0,03 – 12	0,025	0,011	141
TiO <sub>2</sub> NPs/ CPE	DPV	0,6 – 110,6	0,0 – 26	0,050	0,018	143
NiOOHNPs- CBDHP/GCE	SWV	3,0 – 47,8	0,83 – 38,3	0,12	0,48	Este trabalho

Pd: paládio; Al: alumínio; MWCNTs: nanotubos de carbono de paredes múltiplas; Gr: grafeno; CPE: eletrodo de pasta de carbono; TiO<sub>2</sub>NPs: nanopartículas de TiO<sub>2</sub>; M = mol L<sup>-1</sup>.

A repetibilidade intra e inter-dias do método proposto para soluções de PCT e COD, ambas na concentração de 5,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão BR 0,04 mol L<sup>-1</sup> (pH 3,0). Os ensaios de repetibilidade intra-dia foram baseados em dez medidas (n=10) sucessivas, em um único eletrodo, de soluções recentemente preparadas. Obtendo-se *RSD* de 3,7 % para PCT e de 7,8 % para COD.

A repetibilidade inter-dias, foi baseada em medidas de soluções recentemente preparadas em três dias sucessivos (n = 3). Para esta finalidade os eletrodos modificados também foram preparados diariamente, o *RSD* foi de 8,8 % para ambos os analitos (PCT e COD).

Além disso, após 50 medidas realizadas em um mesmo dia, no mesmo eletrodo, o sinal analítico diminuiu apenas 10%.

Estes valores de *RSD* indicam boa estabilidade do filme e a alta repetibilidade da fabricação do sensor. Isto foi possível devido à simplicidade de preparação do eletrodo com a vantagem de reproduzir os resultados mesmo

quando preparado em dias diferentes. Além disso, o método proposto apresentou precisão adequada nas determinações simultâneas destes analitos.

#### **4.3.5 Aplicação do método proposto para a determinação simultânea de PCT e COD em amostras farmacêuticas e fluidos biológicos sintéticos**

A seletividade do método proposto foi avaliada pela adição de possíveis interferentes (benzoato de sódio, dióxido de silício, EDTA, bissulfito de sódio, estearato de magnésio, amido e celulose) em uma solução padrão de PCT e COD  $7,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0) na razão em massa de 1:1 (analito:interferente). Essa proporção foi escolhida porque corresponde a maior quantidade de interferentes que geralmente são encontradas em comprimidos<sup>191</sup>.

Na TABELA 4.2 são apresentados os valores de erro relativo obtidos para o sinal analítico ( $n = 3$ ) de PCT e COD na presença de cada interferente. O erro foi calculado comparando-se de sinal de corrente obtido para a solução de PCT e COD na presença de cada interferente com aqueles ( $n = 3$ ) obtidos para a solução padrão de PCT e COD na ausência dos interferentes. Os valores de erro relativo obtidos foram menores do que 10 % em todos os casos. Assim pode-se concluir que estas substâncias não interferem significativamente na determinação simultânea de PCT e COD.

TABELA 4.2 – Efeito de possíveis interferentes na determinação por SWV de uma solução de PCT e COD  $7,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  na proporção de 1:1 razão massa (analito:interferente)

Interferentes	Erro relativo (%)	
	PCT	COD
Benzoato de sódio	0,4	-9,5
Dióxido de silício	-2,9	9,5
EDTA	1,2	-7,3
Bissulfito de sódio	2,4	8,0
Estearato de magnésio	-2,3	4,1
Amido	5,7	2,9
Celulose	6,9	3,5

Em seguida, a determinação simultânea de PCT e COD foi testada em duas amostras farmacêuticas comerciais pela interpolação nas respectivas curvas analíticas previamente obtidas. Na TABELA 4.3 são apresentadas as concentrações de PCT e COD determinadas simultaneamente nas amostras farmacêuticas pelo método SWV proposto, bem como as obtidas pelo método comparativo (HPLC-UV/Vis – metodologia apresentada na SEÇÃO 4.2.2). Ao analisar os resultados obtidos para as análises de amostras farmacêuticas, não foram observadas diferenças significativas entre os valores determinados usando o método SWV proposto e aqueles obtidos pelo método comparativo. Aplicando o teste *t*-pareado aos valores obtidos por ambos os métodos, os valores  $t_{\text{experimental}}$  (0,59 para PCT e 2,02 para COD) foram menores que o  $t_{\text{crítico}}$  (4,30), o que permite concluir que esses resultados não apresentam diferenças significativas em um nível de confiança de 95%.



TABELA 4.3 – Quantidade de PCT e COD contida em formulações farmacêuticas (comprimidos) determinada empregando-se o método proposto (SWV) usando o NiONPs–CB–DHP/GCE e o método comparativo HPLC-UV/Vis<sup>178</sup>

Amostras <sup>a</sup>	PCT		COD		PCT	COD
	HPLC <sup>b</sup>	SWV <sup>b</sup>	HPLC <sup>b</sup>	SWV <sup>b</sup>	Erro (%) <sup>c</sup>	Erro (%) <sup>c</sup>
1	572 ± 12	584 ± 53	26,6 ± 0,7	29,5 ± 0,1	2,0	11
2	553 ± 8	552 ± 26	29,9 ± 0,4	30,4 ± 0,3	-0,3	5,0

<sup>a</sup>mg/comprimido; <sup>b</sup>n = 3; <sup>c</sup>Erro (%) = 100 × [(valor SWV – valor comparativo)/valor comparativo].

Finalmente, o desempenho do método SWV também foi estudado para determinar de duas concentrações diferentes de PCT (6,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 13,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e COD (5,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 14,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em amostras urina e soro humano sintéticos fortificados. A partir dos resultados apresentados na TABELA 4.4, as recuperações satisfatórias foram obtidas para PCT e COD (91,3 a 110 %). Assim, o método SWV pode ser aplicado para a determinação simultânea de PCT e COD em amostras de urina e soro humano, uma vez que não há interferência significativa introduzida pela amostra da matriz.

TABELA 4.4 – Resultados obtidos na determinação simultânea de PCT e COD em amostras de urina e soro humano pelo método proposto usando o NiOOHNPs–CB–DHP/GCE

Amostras	Analito	Adicionado	Encontrado <sup>a</sup>	Recuperado	
		( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	%	
Urina	Nível 1	PCT	6,9	$7,2 \pm 0,1$	104
		COD	5,2	$5,7 \pm 0,2$	110
	Nível 2	PCT	13,9	$15,1 \pm 0,1$	109
		COD	14,4	$14,1 \pm 0,6$	97,9
Soro humano	Nível 1	PCT	6,9	$6,3 \pm 0,1$	91,3
		COD	5,2	$5,6 \pm 0,3$	108
	Nível 2	PCT	13,9	$14,6 \pm 0,1$	105
		COD	14,4	$13,9 \pm 1,3$	96,5

<sup>a</sup> n = 3.

#### 4.1 Conclusões parciais

Neste estudo, as nanopartículas NiOOHNPs foram imobilizados com sucesso em CB–DHP/GCE. O sensor eletroquímico de NiOOHNPs–CB–DHP/GCE foi aplicado para a determinação simultânea de PCT e COD por SWV, uma vez que o eletrodo proposto apresentou boa separação dos potenciais de pico de oxidação para PCT e COD (cerca de 0,550 V), com respostas lineares nos intervalos de concentração de 3,0 a 48  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para PCT e de 0,83 a 38  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para COD com *LOD* de 0,12  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,48  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para PCT e COD, respectivamente. Além disso, o método proposto apresentou valores adequados de repetibilidade intra e inter-dia. Em amostras comerciais a determinação de PCT e COD apresentou resultados satisfatórios sem interferência significativa das matrizes.

# **CAPÍTULO 5**

## **5 – Nanopartículas core-shell (casca-núcleo) de Au–Pd suportadas em carbon black em filme de dihexadecilfosfato para o desenvolvimento de um sensor eletroquímico de hidrazina**

Nesta etapa realizou-se a preparação e o estudo de caracterização do eletrodo de GCE modificado com filme de DHP contendo nanopartículas com estrutura casca-núcleo (core-shell) de Au–Pd suportadas em CB bem como a avaliação de seu potencial como sensor eletroquímico para a determinação de  $N_2H_4$  em amostras de águas.

Os resultados discutidos neste capítulo encontram-se publicados na literatura e foram reproduzidos com permissão da *Elsevier*, a saber:

Patricia B. Deroco; Iasmim G. Melo; Lays S. R. Silva; Katlin I. B. Eguiluz; Giancarlo R. Salazar-Banda e Orlando Fatibello-Filho, O. “Carbon black supported Au–Pd core-shell nanoparticles within a dihexadecylphosphate film for the development of hydrazine electrochemical sensor”. *Sensors and Actuators B*, v. 256, p. 535-542, 2018.

### **5.1 Objetivo específico**

Ainda com a ideia de explorar o CB como suporte para a deposição de nanopartículas metálicas, em uma segunda estratégia, objetivou-se utilizar este material como suporte para a síntese de catalisadores, como nanopartículas do tipo *core-shell*. Deste modo, sintetizou-se nanopartículas *core-shell* (casca-núcleo) de Au e Pd suportadas em CB a partir da redução química de seus precursores. Esta combinação de nanomateriais foi utilizada para preparar um filme polimérico sobre a superfície do GCE. Este sensor foi construído para investigar

comportamento eletroquímico de  $N_2H_4$  e quantificar este analito em amostras de água.

## 5.2 Experimental

### 5.2.1 Reagentes e padrões

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico: sulfato de hidrazina, cloreto de paládio (II) ( $PdCl_2$ ), cloreto de ouro (III) ( $AuCl_3$ ) e etilenoglicol foram obtidos da Sigma-Aldrich.

Soluções desoxigenada de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes pH (pH de 7,0 a 12,0) foram preparadas conforme já descrito na SEÇÃO 3.2.1.

A solução padrão de  $N_2H_4$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e as demais diluições foram preparada diariamente no eletrólito suporte desoxigenado, que neste trabalho foi utilizado tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em pH igual a 10,0, como será discutido na SEÇÃO 5.3.2.

### 5.2.2 Instrumentação

A instrumentação utilizada foi a mesma especificado na SEÇÃO 3.2.2.

Além disso, a análise morfológica dos nanomateriais também foi realizada utilizando-se imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês: *transmission electron microscopy*) utilizando um microscópio modelo FEI Tecnai G2F20, operado a 200 kV. Para esta análise, as amostras de Au@Pd/CB (o primeiro metal representa o núcleo, e o segundo a casca da partícula) foram dispersas em álcool isopropílico usando um banho ultrassônico por 20 min. Então, uma alíquota desta dispersão foi depositada em um filme de carbono poroso, suportado em uma grade de cobre e esperou-se o solvente secar em temperatura ambiente.

A caracterização estrutural das amostras foi completada com medidas de difração de raios X (XRD, do inglês: *X-Ray diffraction*), realizadas em um difratorômetro modelo Bruker-AXS D8-Advance com radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) na faixa  $2\theta$  de  $15^\circ$  a  $90^\circ$ , na velocidade de varredura  $0,5^\circ \text{ min}^{-1}$ .

Como método comparativo, a determinação de  $\text{N}_2\text{H}_4$  também foi realizada utilizando um método espectrofotométrico. As medidas foram realizadas utilizando um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu (Modelo UV-2550) em um comprimento de onda de 458 nm, utilizando uma cubeta de quartzo (comprimento do caminho ótico de 10 mm) e solução de HCl 1:99 v/v como solvente, e p-dimetilaminobenzaldeído como cromóforo<sup>192</sup>.

### 5.2.3 Síntese das nanopartículas *core-shell*

As nanopartículas metálicas foram sintetizadas na forma de partículas casca-núcleo (*core-shell*), em colaboração com o grupo de pesquisa do Prof. Dr. Giancarlo Salazar Banda da Universidade de Tiradentes, Aracaju-SE.

O método aplicado foi a redução do íon metálico por álcool, o qual proporciona dispersões coloidais de nanopartículas de tamanho e distribuições bem uniformes. O método é baseado no refluxo de uma solução alcoólica (etilenoglicol, neste caso) na presença do íon metálico precursor. O álcool atua como solvente e também como agente redutor, sendo oxidado à aldeído e/ou cetonas<sup>193</sup>.

O procedimento para a síntese das nanopartículas utilizado foi apresentado no esquema da FIGURA 5.1 e descrito a seguir:

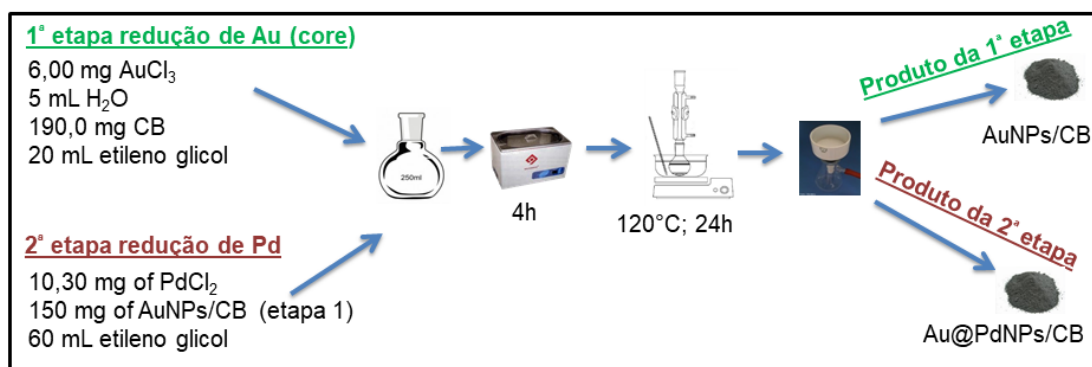


FIGURA 5.1 – Esquema representando as etapas de síntese das nanopartículas core-shell, 1ª etapa: formação do núcleo de Au e 2ª etapa: formação da casca de Pd.

Na primeira etapa, 6,00 mg de AuCl<sub>3</sub>, 5,0 mL de água ultrapura e 190,0 mg de CB foram adicionados à 20,0 mL etilenoglicol (utilizado como solvente e agente redutor) em um balão de fundo chato de 250 mL. Esta mistura foi submetida à agitação ultrassônica por 4h, a fim de se obter uma dispersão homogênea. Então, a reação de redução do ouro foi realizada sob refluxo a 120°C, durante 24 h sob agitação constante. A solução obtida foi filtrada, lavada com água ultrapura e seca em estufa a 80°C. Como produto final tem-se as nanopartículas com núcleos de Au suportadas no CB.

Na segunda etapa, 10,30 mg de PdCl<sub>2</sub> foram dispersos em 15,0 mL de HCl 0,40 mol L<sup>-1</sup> num balão de fundo chato de 250 mL, com o auxílio de um ultrassom durante 1 h. Subsequentemente, à esta dispersão previamente preparada, foram adicionados 150,0 mg do produto obtido na primeira etapa (AuNPs/CB) e 60,0 mL de etilenoglicol. Então, esta mistura foi mantida em agitação ultrassônica durante 4 h. Após este tempo, a reação de redução do paládio foi então realizada sob refluxo a 120 ° C durante 24 h sob agitação constante. A solução obtida foi filtrada, lavada com água ultrapura e seca em estufa a 80°C. Nesta etapa foram obtidas as nanopartículas casca, formando assim, as nanopartículas *core-shell* (núcleo-casca) de Au e Pd suportados no CB.

### 5.2.4 Preparação do eletrodo de trabalho

Previamente, o eletrodo de GCE foi submetido ao mesmo procedimento de limpeza descrito na SEÇÃO 3.2.3. Para a modificação do eletrodo, as etapas foram as mesmas apresentadas no esquema da FIGURA 4.1, com a diferença de que o material sintetizado previamente foi utilizado no lugar do CB. Então uma dispersão foi preparada pela adição de 1,00 mg de Au@Pd/CB e 1,00 mg de DHP em 1,0 mL de água ultrapura, com o auxílio de um banho de ultrassom por 30 min. Em seguida, uma alíquota de 8  $\mu\text{L}$  da dispersão Au@Pd/CB–DHP foi gotejada sobre a superfície do GCE e o solvente foi evaporado à temperatura ambiente durante 3 h. Assim, o GCE modificado com nanopartículas de Au@Pd, CB e DHP foi obtido. Este sensor foi designado como Au@Pd/CB–DHP/GCE.

### 5.2.5 Preparação das amostras de água

As amostras de água natural foram coletadas na represa e em uma torneira da Universidade Federal de São Carlos, na cidade de São Carlos, Brasil. O ponto de coleta na represa foi registrado usando um GPS (21°59'08.06" S 47°52'55.13" W), amostras coletadas em 29/11/2015.

Estas amostras foram filtradas e fortificadas com duas concentrações diferentes (0,20 e 1,8  $\text{mmol L}^{-1}$ ) de analito. Em seguida, uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  de cada amostra foi diluída em solução de eletrólito suporte e as soluções finais com concentrações de 4,0 e 34,7  $\mu\text{mol L}^{-1}$  foram analisadas.

### 5.2.6 Medidas eletroquímicas

Todos os experimentos foram realizados em atmosfera de  $\text{N}_2$ , para evitar a interferência de  $\text{O}_2$ , na oxidação do analito de interesse.



O comportamento eletroquímico do  $N_2H_4$  e o efeito do pH foram investigados usando CV; e a amperometria foi usada para a eletrólise e para a determinação de  $N_2H_4$ . Utilizando os parâmetros experimentais otimizados para o método proposto, a curva analítica foi construída adicionando-se alíquotas da solução padrão de  $N_2H_4$  ao eletrólito suporte. Todas as medidas foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ) para cada concentração.

O *LOD* foi calculado usando o método de sinal-ruído em uma proporção de 3 para 1, como descrito com mais detalhes na SEÇÃO 4.2.4. A precisão do eletrodo e do método proposto foi avaliada por meio de estudos de repetibilidade intra-dia ( $n = 10$ ) e inter-dias ( $n = 3$ ).

Por fim, a aplicabilidade do método eletroanalítico proposto foi verificada na análise de  $N_2H_4$  em amostras de água, e os resultados comparados com aqueles obtidos pelo método de referência.

## 5.3 Resultados e discussão

### 5.3.1 Caracterização de Au@Pd nanopartículas suportadas em CB

A estrutura detalhada de Au@Pd/CB foi estudada usando as técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), TEM, espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS, do inglês: *energy dispersive X-ray spectroscopy*) e XRD.

Na imagem de SEM apresentada na FIGURA 5.2 (A) observa-se a morfologia geral dos nanomateriais utilizados. As partículas core-shell estão bem dispersas nas superfícies do CB, formando ocasionalmente aglomerados. Na FIGURA 5.2 (B) é apresentada a imagem de TEM obtida em alta resolução para uma nanopartícula individual com a composição de Pd e Au sobre CB. Como pode ser observado há evidente presença da

estrutura *core-shell* nesta partícula, a qual pode ser percebida pelo núcleo da nanopartícula com um forte contraste de brilho correspondente ao elemento mais pesado (Au) e ao seu redor, com um baixo contraste de brilho correspondendo ao elemento mais leve (Pd).

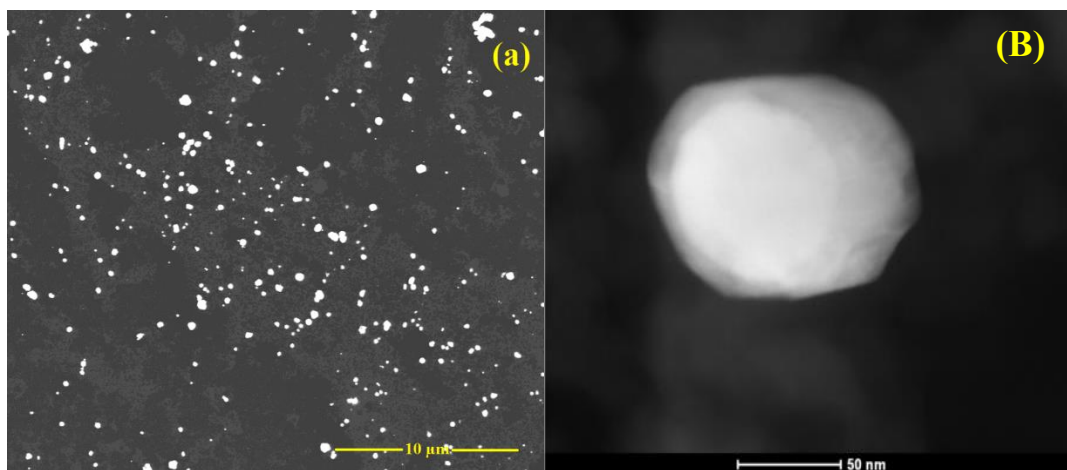


FIGURA 5.2 – (A) Imagem de MEV obtidas para Au@Pd core-shell sobre CB e (B) Imagem de TEM de uma nanopartícula individual de Au@Pd core-shell sobre CB.

Análises de linha de varredura no modo de TEM-EDS obtidas para esta nanopartícula revelaram detalhes sobre a distribuição dos elementos, como pode ser visto nas FIGURA 5.3 (A-C).

Na FIGURA 5.3 (A), verifica-se no espectro correspondente ao Pd (linha azul), que as maiores concentrações estão nas bordas das partículas e há uma diminuição da concentração perto do núcleo. Por outro lado, o pico de concentração de Au (linha verde) está somente no centro da partícula.

Adicionalmente, a estrutura *core-shell* foi confirmada por análise semi-quantitativa obtida a partir de espectros TEM-EDS de nanopartículas na região central e na região da borda. Os espectros obtidos são apresentados na FIGURA 5.3 (B) e (C), respectivamente.

Como pode ser observado, a camada mais interna (FIGURA 5.3 (B)) é rico em elemento de Au, e isso é consistente com a região mais

brilhante da nanopartícula na FIGURA 5.2. A camada mais externa (FIGURA 5.3 (C)) é formada apenas por Pd, e isso justifica o menor nível de contraste observado.

Além disso, é interessante notar que o centro é constituído pelos dois elementos (Pd e Au) (FIGURA 5.3 (B)), confirmando assim que a estrutura de nanopartícula *core-shell* foi formada durante a síntese. Os picos de Cu também observados nos espectros são relativos ao material (*grid*) utilizado como suporte para esta análise.

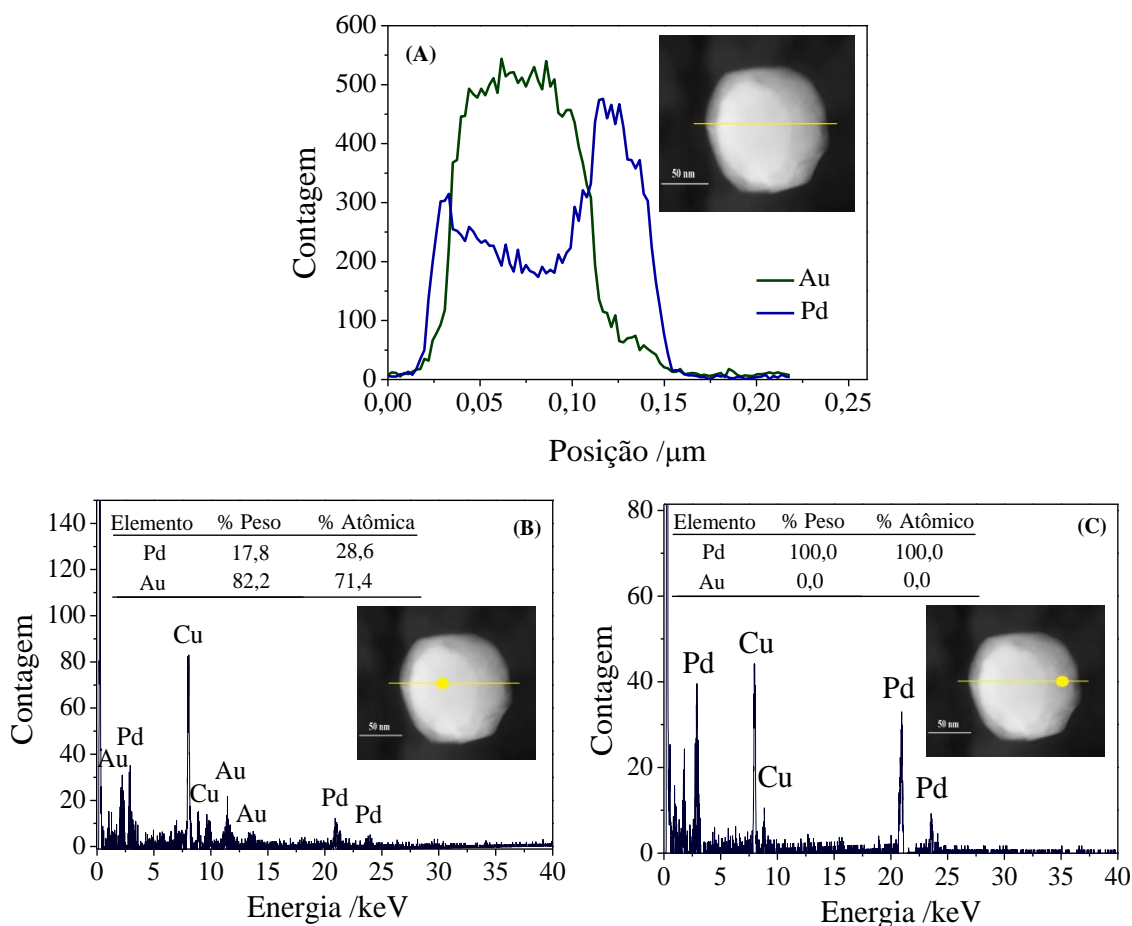


FIGURA 5.3 – (A) Caracterização da distribuição elementar de Au e Pd em toda a nanopartícula pela técnica de linha de varredura TEM-EDS (B) composição elementar da camada interna (*core*) e (C) da camada externa (*shell*). Nas figuras inseridas são mostradas as áreas e direção da análise realizada.

O espectro de XRD obtido para o material Au@Pd/CB está apresentado na FIGURA 5.4. As medidas foram comparadas com os dados cristalográficos JCPDS dos possíveis componentes formados. Portanto, as estruturas cristalinas encontradas com sua respectiva lima metalográfica são Au metálico (ficha JCPDS 04784) e Pd (ficha JCPDS 0461043). Os respectivos planos cristalinos para Au e Pd são mostrados dentro da FIGURA 5.4. A banda larga em  $2\theta = 29$ , típica de estrutura amorfa, é relacionado com o plano (002) do carbono usado como substrato, de acordo com a ficha JCPDS No. 001-0640.

O tamanho de cristalito foi calculado a partir do alargamento dos picos mais intensos de Au e Pd (111) usando a equação de Scherrer<sup>194</sup>. O tamanho médio estimado do cristalito foi de 29,4 nm e 43,5 nm para Au e Pd, respectivamente.

$$G_{hkl} = \frac{0,9 \cdot \lambda}{B_{hkl} \cdot \cos\theta}$$

sendo  $G_{hkl}$  o diâmetro médio das partículas, 0,9 corresponde a constante que depende da forma das partículas,  $\lambda$  o comprimento de onda da radiação eletromagnética,  $B_{hkl}$  o alargamento da linha de difração medida à meia altura de sua intensidade máxima (em radianos) e  $\theta$  o ângulo de difração.

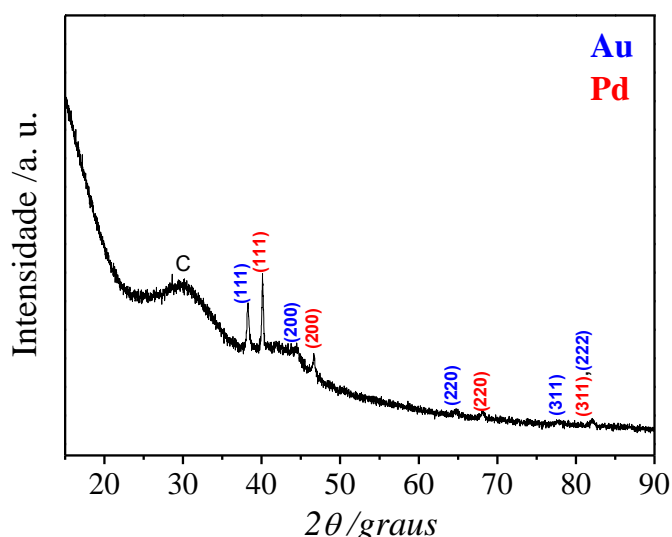


FIGURA 5.4 – Espectro de difração de raios X obtido para o Au@Pd/CB. Radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ).

### 5.3.2 Comportamento eletroquímico de $\text{N}_2\text{H}_4$

Na FIGURA 5.5 foram apresentados os voltamogramas obtidos na ausência e na presença de uma solução de  $\text{N}_2\text{H}_4$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em tampão fosfato pH 10,0, sobre os eletrodos de CB–DHP/GCE (—), e de Au@Pd/CB–DHP/GCE (—). Como pode ser visto a partir desta figura, observou-se um pico de corrente no sentido positivo de varredura de

potencial (varredura anódica), indicando a ocorrência de um processo de oxidação da  $N_2H_4$ , bem definido com  $E_p$  em aproximadamente 0,330 e 0,030 V, para CB-DHP/GCE e Au@Pd/CB-DHP/GCE respectivamente. Além disso, não foi observado nenhum pico no sentido inverso (varredura catódica), o que caracteriza um processo irreversível.

Comparativamente, os voltamogramas cíclicos da FIGURA 5.5 evidenciaram uma melhora na resposta eletroquímica (maior  $I_p$  e  $E_p$  mais próximo de zero) obtida quando o eletrodo contendo as nanopartículas de Au e Pd combinadas com CB-DHP foi utilizado. O sinal analítico aumentou substancialmente de  $9,37 \mu A$  para  $17,52 \mu A$  (87%) e o potencial de oxidação diminuiu, *ca.* 0,320 V (de 0,338 V para 0,010 V), o que é característico de processo eletrocatalítico. Este aumento de sinal de corrente é uma melhoria importante para o uso deste material como um sensor eletroquímico. Conseqüentemente, todos os demais experimentos foram realizados utilizando o Au@Pd/CB-DHP/GCE.

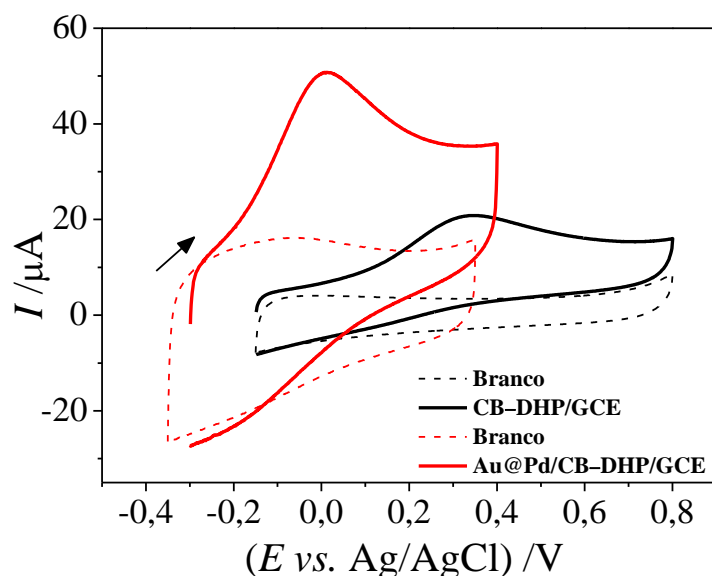


FIGURA 5.5– Voltamogramas cíclicos obtidos para  $N_2H_4$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato pH 10,0 sobre os eletrodos de CB-DHP/GCE (—) e de Au@Pd/CB-DHP/GCE (—);  $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$ .

A influência do pH da solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  na resposta voltamétrica de  $\text{N}_2\text{H}_4$  foi avaliado na faixa de pH 7,0 a 12,0 a partir de medidas de CV para uma solução de  $\text{N}_2\text{H}_4$   $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  empregando-se o eletrodo  $\text{Au@Pd/CB-DHP/GCE}$ . Na FIGURA 5.6 (A) foram apresentados os voltamogramas obtidos.

Pode-se observar, a partir destes voltamogramas, que o pH influenciou diretamente a eletrooxidação de  $\text{N}_2\text{H}_4$ . Com o aumento dos valores de pH, o potencial de pico ( $E_p$ ) de  $\text{N}_2\text{H}_4$  é linearmente deslocada para potenciais menos positivos (mais próximos de zero) conforme a equação:

$$E_p / \text{V} = 0,6125 - 0,0588 \text{ pH} \quad (r = 0,995)$$

O valor do coeficiente angular igual a  $-0,0588 \text{ V}$  por unidade de pH, está próximo valor teórico de  $-0,0592 \text{ V pH}^{-1}$ , que corresponde a uma resposta Nernstiana para reações que envolve o mesmo número de prótons e elétrons (razão elétrons/prótons igual a 1).

Comparando-se os respectivos valores de potencial e de corrente de pico, a solução tampão fosfato pH 10,0 foi selecionada como o eletrólito suporte para os experimentos seguintes, por apresentar uma maior corrente de pico, uma vez que a obtenção de uma corrente de pico mais alta pode proporcionar melhores condições analíticas, como alta sensibilidade (inclinação da curva analítica) e menor *LOD* (maior detectabilidade).

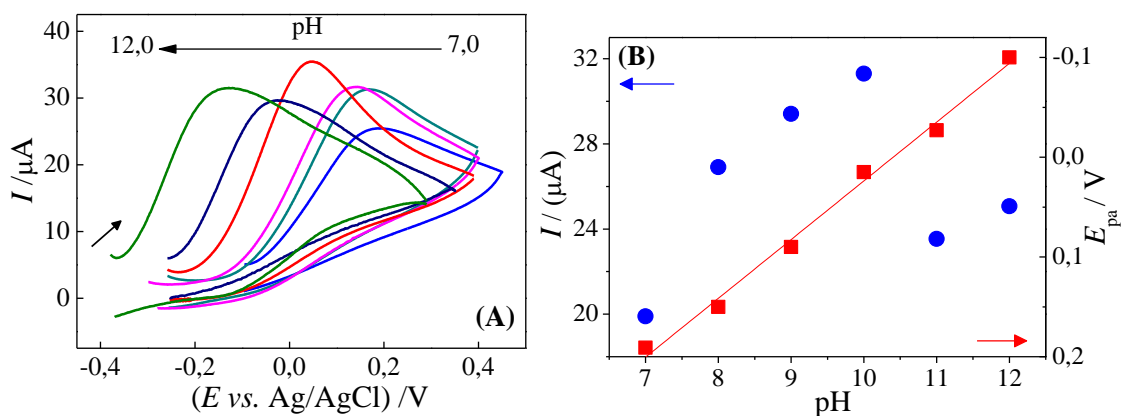


FIGURA 5.6– (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,5 mmol L<sup>-1</sup> em solução de tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> em diferentes pH (7,0 – 12) sobre o Au@Pd/CB–DHP/GCE; (B) Relação linear entre  $E_p$  e pH;  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ .

### 5.3.2.1 Cálculo do número de elétrons e mecanismo de reação estimado por detecção amperométrica

O número de elétrons ( $n$ ) envolvidos no processo de eletrooxidação de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> foi amperometricamente estimado. Para isso, foi feita uma eletrólise a um potencial controlado (0,15 V) de uma solução de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 0,1 mmol L<sup>-1</sup> em tampão fosfato pH 10,0, durante 40 min, sob agitação.

A determinação das concentrações final e inicial de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> foi feita por CV, sendo registrados voltamogramas cíclicos antes e após a eletrólise, respectivamente. Assim foi possível estabelecer a variação da corrente no início e fim da eletrólise e calcular a quantidade de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> consumida, assim o  $n$  foi estimado utilizando-se a seguinte relação (Equação Faraday)<sup>160</sup>:

$$Q = n F N$$

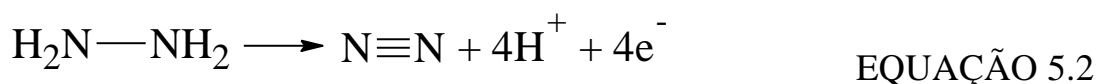
$$\text{EQUAÇÃO 5.1}$$

sendo  $Q$  a carga elétrica em Coulombs (C),  $n$  o número de elétrons transferidos,  $N$  a quantidade de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, em mol, consumida durante a eletrólise, e  $F$  a constante de Faraday (96485 C mol<sup>-1</sup>). O valor de  $Q$  foi



calculado integrando-se a área do amperograma obtido foi igual a 0,228 C. O valor de  $N$  obtido a partir das medidas de CV foi  $3,59 \times 10^{-7}$  mol. Assim, o valor estimado de  $n$  foi de 3,74 ( $\sim 4,0$ ), o que permite concluir que o processo de eletrooxidação da  $N_2H_4$  na superfície do Au@Pd/CB–DHP/GCE envolve quatro elétrons.

Baseado nesta informação, o mecanismo geral da oxidação eletroquímica de  $N_2H_4$  sobre Au@Pd/CB–DHP/GCE e em meio alcalino pode ser expresso pela EQUAÇÃO 5.2, concordando com o que foi relatado previamente na literatura<sup>195,196</sup>.



### 5.3.2.2 Efeito da velocidade de varredura de potencial

Para obter mais informações sobre o processo de eletrooxidação de  $N_2H_4$ , voltamogramas cíclicos foram obtidos variando a velocidade de varredura de potencial de 20 a 400  $mV s^{-1}$  para uma solução de  $N_2H_4$  0,5  $mmol L^{-1}$  sobre o Au@Pd/CB–DHP/GCE.

Então, usando as correntes de pico obtidas foram construídos os gráficos apresentados na FIGURA 5.7.

Comumente, para a relação linear de  $\log I_p$  e  $\log v$ , encontra-se um coeficiente angular igual a 0,50 ou 1,0, quando o processo redox é controlado exclusivamente pelo processo de difusão ou adsorção, respectivamente<sup>160</sup>. A partir da equação da reta (EQUAÇÃO 5.3) para o gráfico da FIGURA 5.7 (A), foi obtido um valor de coeficiente angular de 0,59, um valor próximo ao valor teórico de 0,50, indicando que o processo de oxidação de  $N_2H_4$  sobre o eletrodo Au@Pd/CB–DHP/GCE foi controlado por difusão.

$$\log I = -3,79 + 0,59 \log v \quad \text{EQUAÇÃO 5.3}$$

Adicionalmente, o controle difusional foi confirmado pela dependência linear de  $I_p$  e  $v^{1/2}$ , FIGURA 5.7 (B), para a qual foi obtido um coeficiente de correlação de 0,999.

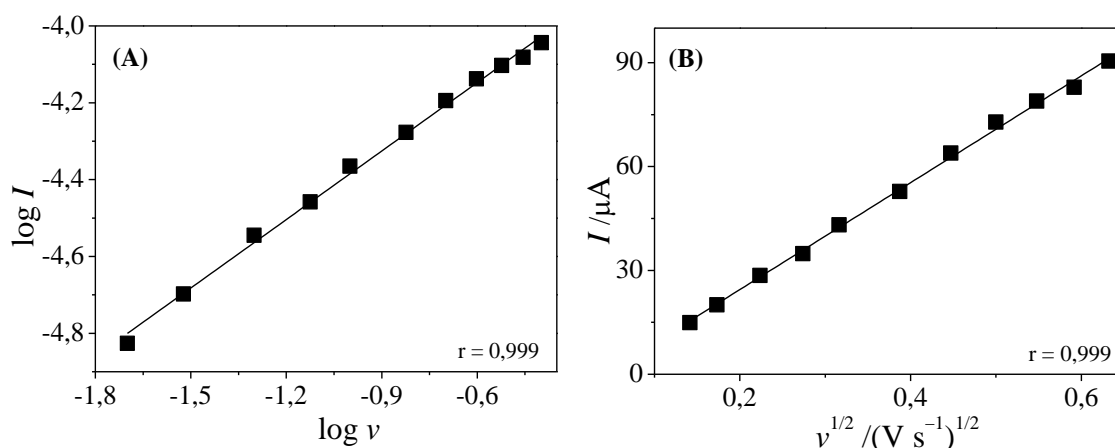


FIGURA 5.7– (A) Relação linear entre  $\log I_p$  e  $\log v$ ; e (B) a corrente de pico anódica *vs.* a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, obtidas no estudo variando as velocidades de varredura de 20 a 400  $\text{mV s}^{-1}$  para uma solução de  $\text{N}_2\text{H}_4$  0,5  $\text{mmol L}^{-1}$  sobre o  $\text{Au@Pd/CB-DHP/GCE}$ .

A partir dos dados obtidos, neste mesmo experimento foi também possível calcular a  $k^0$  utilizando a equação de Nicholson e Shain<sup>197</sup>, que é específica para os casos de processos anódicos, irreversíveis, e controlados por difusão das espécies. Neste método, o pico de corrente ( $I_p$ ) é linearmente dependente da diferença entre o potencial de pico ( $E_p$ ) e o potencial formal ( $E^0$ ), de acordo com a EQUAÇÃO 5.4:

$$I_p = 0,227 n F A C k^0 \exp \left[ \left( \frac{\alpha n F}{RT} \right) (E_p - E^0) \right] \quad \text{EQUAÇÃO 5.4}$$

sendo  $n$  o número de elétrons transferidos na reação (neste caso 4 elétrons),  $A$  a área geométrica do GCE (0,107  $\text{cm}^2$ ),  $C$  a concentração da

espécie eletroativa ( $\text{N}_2\text{H}_4 = 0,5 \mu\text{mol cm}^{-3}$ ), e os outros termos tem seus significados e valores usuais.

Aplicando o logaritmo natural e rearranjando a EQUAÇÃO 5.3, obtém-se EQUAÇÃO 5.5:

$$\ln I_p = \ln(0,227 n F A C k^0) + \left(\frac{\alpha n F}{RT}\right) (E_p - E^0) \quad \text{EQUAÇÃO 5.5}$$

Primeiro, o valor de  $E^0$  foi determinado para cada corrente calculada como  $I = 0,82 I_p$  obtida em cada velocidade de varredura<sup>171</sup>, e o valor médio encontrado foi  $E^0 = 0,022 \pm 0,005 \text{ V}$ . Depois, usando a EQUAÇÃO 5.4, o valor de  $k^0$  foi determinado usando o coeficiente linear da dependência entre  $\ln I_p$  e  $(E_p - E^0)$ . Um valor de  $k^0$  de  $0,15 \text{ cm s}^{-1}$  foi estimado. Como pode ser observado o valor de  $k^0$  determinado para  $\text{N}_2\text{H}_4$  no  $\text{Au@Pd/CB-DHP/GCE}$  foi maior do que o valor determinado no  $\text{CB-DHP/GCE}$  ( $0,068 \text{ cm s}^{-1}$ ). Este efeito sugere maior facilidade da troca de elétrons entre a  $\text{N}_2\text{H}_4$  e a superfície do  $\text{Au@Pd/CB-DHP/GCE}$  devido a incorporação das nanopartículas  $\text{Au@Pd}$  no  $\text{CB}$ .

### 5.3.3 Determinação de $\text{N}_2\text{H}_4$ por amperometria

A fim de desenvolver um método quantitativo para a análise de  $\text{N}_2\text{H}_4$ , foi utilizada detecção amperométrica e o eletrodo proposto ( $\text{Au@Pd/CB-DHP/GCE}$ ).

Inicialmente, para obter-se a melhor resposta amperométrica para HDZ, o efeito da aplicação de diferentes potenciais no eletrodo de trabalho, sobre a resposta de corrente de  $\text{N}_2\text{H}_4$  foi investigado em uma solução de tampão fosfato (pH 10,0), na presença de  $\text{N}_2\text{H}_4$   $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , (ver FIGURA 5.8). A corrente de oxidação  $\text{N}_2\text{H}_4$  aumentou com a aplicação de valores mais positivos de potencial a partir de  $-0,20 \text{ V}$ , sendo atingido

um valor máximo de potencial em +0,15 V. Sendo assim, este foi o potencial selecionado para a determinação  $N_2H_4$ .

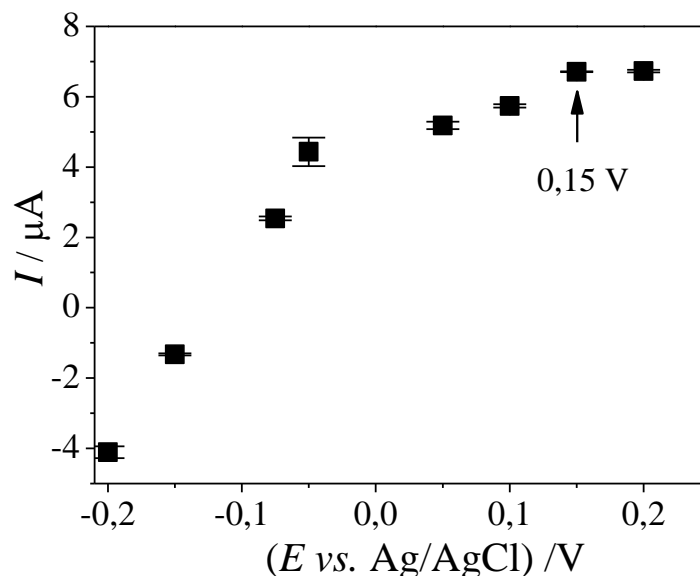


FIGURA 5.8– A relação entre  $I_p$  e  $E_p$  obtida amperometricamente ( $n = 3$ ) para  $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de  $N_2H_4$  em tampão fosfato (pH 10,0) sobre o  $Au@Pd/CB-DHP/GCE$  com agitação de 1000 rpm.

Após otimizar os parâmetros para a amperometria ( $E = 0,15 \text{ V}$ ; com agitação de 1000 rpm; em atmosfera de  $N_2$ ) a curva analítica para  $N_2H_4$  foi obtida.

O amperograma obtido durante sucessivos incrementos de  $N_2H_4$  em solução de tampão fosfato (pH 10,0), foi apresentado na FIGURA 5.9, onde o gráfico inserido corresponde a respectiva curva analítica obtida. Como pode ser observado, os incrementos de corrente estabeleceram relação linear com o aumento da concentração  $N_2H_4$  na célula eletroquímica, entre  $2,50$  e  $88,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , e com  $LOD$  de  $1,77 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $0,23 \text{ ppm}$ ), seguindo a equação:

$$I/A = -3,22 + 0,0824 [N_2H_4/(\text{mol L}^{-1})]; r = 0,998.$$

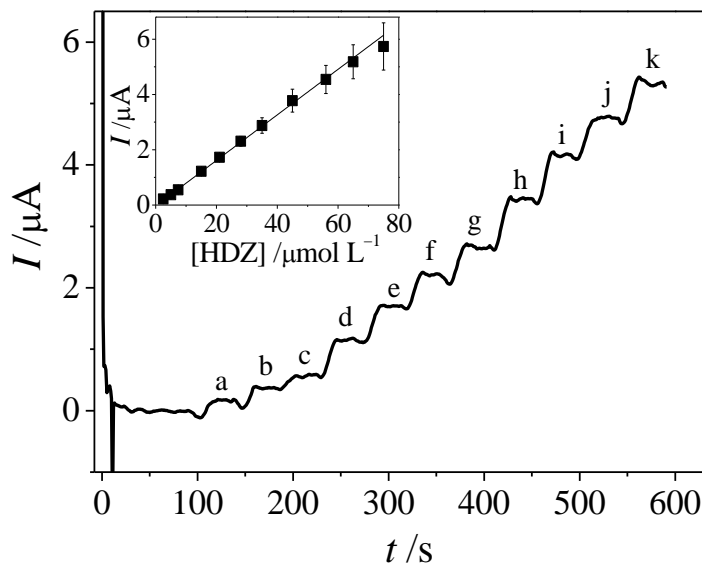


FIGURA 5.9 – Amperograma obtido sobre o Au@Pd/CB-DHP/GCE, após sucessivas adições de  $N_2H_4$ : (a) 2,50; (b) 5,00; (c) 7,40; (d) 15,0; (e) 21,0; (f) 28,0; (g) 35,0; (h) 45,0; (i) 56,0; (j) 65,0; (k) 75,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato (pH 10,0) com agitação de 1000 rpm. Potencial aplicado foi 0,15 V. O gráfico inserido corresponde à respectiva curva analítica obtida ( $n = 3$ ).

Outros procedimentos para a determinação eletroanalítica de  $N_2H_4$  usando eletrodos modificados foram relatados na literatura e os parâmetros analíticos obtidos estão apresentados na TABELA 5.1. Comparando-se os valores de  $LOD$ , o valor obtido no método aqui proposto foi significativamente menor do que aqueles relatados usando um GCE modificado com cobalto e octaetilporfirina<sup>118</sup>; um eletrodo de cobalto modificado com nanofolhas de oxi-hidróxido de cobalto<sup>122</sup>; um GCE modificado com um compósito de nanobastões de ZnO e nanofibras de carbono<sup>124</sup> e um eletrodo de óxido de índio e estanho (ITO, do inglês: *indium tin oxide*) modificado com  $SnO_2$  e goma guar<sup>123</sup>. Além disso, o desempenho do eletrodo proposto foi similar aqueles obtidos empregando-se um eletrodo

de compósito de carbono macroporoso modificado com Co e estrutura de metalorgânicas<sup>125</sup>.

Por outro lado, LEE *et al.*<sup>121</sup>; DING *et al.*<sup>119</sup>; ZHOU *et al.*<sup>126</sup> e KRITTAYAVATHANANON<sup>120</sup> obtiveram valores de *LOD* menores usando um eletrodo de ITO modificado com poli(dopamina) e CV; um GCE modificado com ZnO e RGO e amperometria; um GCE modificado com Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e Au e amperometria; e um eletrodo de carbono vítreo de disco rotatório modificado com nanopartículas de Pd e RGO e amperometria, respectivamente.

Vale ressaltar que o método eletroanalítico proposto apresenta a vantagem de ter uma amplitude de faixa linear semelhante aos demais métodos, porém com menores concentrações de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, permitindo a quantificação de baixas concentrações deste analito. Muitas das referências citadas utilizam sensores eletroquímicos constituídos de materiais de suporte para as nanopartículas catalíticas, de alto custo, como grafeno ou ftalocianina. Além disso, a síntese dos materiais de suporte é trabalhosa e difícil de reproduzir. Em contrapartida, a arquitetura do sensor proposto nesta tese utiliza material de carbono (CB) que é mais simples e de menor custo. Além disso, proporcionou procedimento com resultados altamente reprodutíveis.

TABELA 5.1– Comparação dos parâmetros analíticos obtidos usando o eletrodo proposto Au@Pd/CB–DHP/GCE e outros sensores eletroquímicos para a determinação de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>

Eletrodo	Técnica	Faixa linear ( $\mu\text{M}$ )	LOD ( $\mu\text{M}$ )	Referências
Co/OEP/GCE	Amperometria	50–5000	51,8	<sup>118</sup>
pDA/ITO eletrodo	CV	100–10000	1,00	<sup>121</sup>
Co/MOF/MPC eletrodo	Amperometria	5–630	1,75	<sup>125</sup>
CoOOH nanofolhas	Amperometria	0–1000	20,0	<sup>122</sup>
Hb/ZnO/CNF/GCE	Amperometria	19,8–1710	6,60	<sup>124</sup>
SnO <sub>2</sub> -GG/ITO eletrodo	CV	2000– 22000	2760	<sup>123</sup>
ZnO/RGO eletrodo	Amperometria	1–33500	0,80	<sup>119</sup>
Mn <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /Au/GCE	Amperometria	2–1300	1,10	<sup>126</sup>
PdNPs/RGO/RDE	Amperometria	10–300	0,2	<sup>120</sup>
Au@Pd/CB– DHP/GCE	Amperometria	2,50–88,0	1,77	Este trabalho

OEP: octaetilporfirina; pDA: poli(dopamina); ITO: óxido de índio e estanho; MOF: estrutura metalorgânica; MPC: compósito de carbono macroporoso; CoOOH: oxi-hidróxido de Co; Hb: hemoglobina; CNF: nanofibra de carbono; GG: goma guar; RGO: óxido de grafeno reduzido; PdNPs: nanopartículas de Pd; RDE: eletrodo de disco rotatório;

A precisão do método amperométrico proposto foi avaliada a partir de estudos de repetibilidade intra e inter-dias. Para a repetibilidade inter-dias foram utilizados três eletrodos modificados preparados em dias diferentes, para duas concentrações de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (5,0 e 75  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em solução

de tampão fosfato (pH 10,0), o valor de *RSD* obtido para resposta amperométrica de  $N_2H_4$  foi de 7,9 % e 3,0 %, para as diferentes concentrações, respectivamente, indicando uma boa repetibilidade do sensor proposto.

Além disso, foi realizado o estudo da repetibilidade de um único eletrodo, nas mesmas concentrações de  $N_2H_4$  (5,0 e 75,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), onde foram realizadas 10 medidas amperométricas sucessivas com o mesmo  $Au@Pd/CB\text{-}DHP/GCE$  e para este estudo foram obtidos *RSD* de 6,5 % e 5,8 %, respectivamente. O sensor aqui proposto apresentou baixos *RSD* para a repetibilidade do sinal de  $N_2H_4$ , indicando assim, uma boa precisão na resposta analítica.

### 5.3.4 Aplicação do sensor proposto $Au@Pd/CB\text{-}DHP/GCE$

A seletividade do sensor amperométrico para o quantificação de  $N_2H_4$  foi examinada realizando-se as medidas amperométricas de uma solução de  $N_2H_4$  50,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e de sucessivas adições (na mesma solução) de algumas espécies químicas comumente encontradas em águas, que foram consideradas como possíveis interferentes, tais como alguns cátions ( $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  e  $Ca^{2+}$ ), ânions ( $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$  e  $NO_3^-$ ), ácido húmico, e vermicomposto, todos foram avaliados numa proporção de 1:10 [ $N_2H_4$ ]:[interferente].

Os valores de *RSD* obtidos para cada caso são apresentados na TABELA 5.2. Não foram observadas respostas significativas (valores de *RSD* menores que 7,8%) no sinal analítico de  $N_2H_4$  quando o potencial do eletrodo foi mantido a 0,15 V e as substâncias supramencionadas adicionadas na solução. Portanto, este sensor pode ser usado como um sensor seletivo para detecção de  $N_2H_4$  na presença de diferentes espécies químicas.



TABELA 5.2 – Efeito de possíveis interferentes na determinação amperométrica de uma solução de  $\text{N}_2\text{H}_4$   $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  na proporção de 1:10  $[\text{N}_2\text{H}_4]:[\text{interferente}]$

<b>Interferente</b>	<b>% interferente</b>
$\text{Ca}^{2+}$	2,4
$\text{Fe}^{3+}$	7,8
$\text{Na}^+$	4,6
$\text{Mg}^{2+}$	2,9
$\text{K}^+$	2,0
$\text{Cu}^{2+}$	4,2
$\text{Cl}^-$	3,3
$\text{SO}_4^{2-}$	4,4
$\text{NO}_3^-$	6,3
Ácido húmico	2,4
vermicomposto	0,50

Em seguida, a possível ocorrência de efeitos de matriz das amostras de água na determinação de  $\text{N}_2\text{H}_4$  foi estudada, a partir de ensaios de adição e recuperação. Foram analisadas duas amostras de água fortificadas com duas diferentes concentrações de  $\text{N}_2\text{H}_4$  conhecidas; as determinações foram feitas usando o método proposto, e os resultados calculados por interpolação na respectiva curva analítica, previamente obtida. Como pode ser observado na TABELA 5.3, obteve-se uma recuperação que variou de 88 % a 104 %. Com base nestes resultados, pode-se concluir que os efeitos da matriz não apresentam interferência significativa no método amperométrico proposto.

Finalmente, o desempenho do novo método analítico amperométrico descrito foi comparado ao desempenho de um método espectrofotométrico descrito na literatura<sup>192</sup> – ver TABELA 5.4.

Os resultados obtidos foram comparados empregando-se o teste *t*-pareado em um nível de confiança de 95 % ( $t_{\text{experimental}} = 2,53 < t_{\text{crítico}} = 4,30$ ). Pode-se concluir que os resultados obtidos empregando-se os dois métodos são estatisticamente concordantes neste nível de certeza. Além disso, quando os resultados obtidos aplicando-se ambos os métodos analíticos foram comparados, valores de erro relativo inferior a 6,5% foram alcançadas para todas as amostras. Estes resultados são uma indicação da boa exatidão do novo método proposto e a sua viabilidade para a determinação de  $\text{N}_2\text{H}_4$  em amostras de água.

TABELA 5.3– Resultados obtidos na determinação de  $\text{N}_2\text{H}_4$  em amostras de águas por adição e recuperação usando o método proposto e o Au@Pd/CB–DHP/GCE

Amostras		Adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Encontrado <sup>a</sup> ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Recuperado %
Água de represa	Nível 1	4,0	3,9±0,3	98
	Nível 2	34,7	33,2±0,2	96
Água da torneira	Nível 1	4,0	3,5±0,4	88
	Nível 2	34,7	36,1±0,3	104

<sup>a</sup> n = 3

TABELA 5.4– Resultados obtidos na determinação de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> em amostras de águas pelo método proposto e pelo método comparativo espectrofotométrico

Amostras	Espectrofotométrico <sup>a</sup> Amperométrico <sup>a</sup>		Erro <sup>b</sup> (%)
	(μmol L <sup>-1</sup> )		
Água de represa	48 ± 4	51 ± 4	6,3
Água da torneira	47 ± 1	46 ± 1	-2,1

<sup>a</sup> n = 3; <sup>b</sup> erro (%) = 100 [(valor amperométrico – valor espectrofotométrico)/ valor espectrofotométrico].

## 5.1 Conclusões parciais

As nanopartículas de Au@Pd suportadas em CB foram preparadas com sucesso por meio da redução química dos precursores AuCl<sub>3</sub> e PdCl<sub>2</sub>. A caracterização do Au@Pd/CB por TEM e EDS indicou que a estrutura *core-shell* das nanopartículas de Au e Pd foi formada no CB.

Além disso, o eletrodo proposto (Au@Pd/CB–DHP/GCE) apresentou atividade eletrocatalítica para a oxidação do N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> com elevada detectabilidade e seletividade, e uma rápida resposta amperométrica, podendo assim ser aplicado com sucesso na determinação de N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> em amostras de água sem interferência significativa da matriz.

# **CAPÍTULO 6**

## **6 – Avaliação de eletrodos 3D baseados em carbono vítreo reticulado modificados com nanopartículas de ouro por duas diferentes estratégias**

A partir deste ponto, inicia-se a apresentação dos resultados obtidos no desenvolvimento de eletrodos à base 3D–RVC.

### **6.1 Objetivo específico**

Apesar deste tipo de material (3D–RVC) ser utilizado há muito tempo para fins eletroquímicos, como nas células combustíveis e baterias<sup>37,39</sup>, ainda há muito a ser explorado do uso deste material em aplicações eletroanalíticas, especialmente em termos de modificação com nanopartículas metálicas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o de incorporar nanopartículas de ouro neste material, utilizando duas diferentes estratégias, eletrodeposição e adsorção química de uma solução coloidal de nanopartículas previamente preparada. Ademais, também avaliou-se o desempenho eletroquímico dos 3D–RVC modificados com AuNPs em relação à resposta de espécies inorgânicas e orgânicas de conhecida resposta eletroquímica, sendo consideradas como sondas redox as seguintes substâncias: hexacianoferrato (III) de potássio ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ), cloreto de hexaminrutênio ( $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$ ) (III), paracetamol (PCT), ácido úrico (AU), hidroquinona (HQ) e triptofano (TPF).

### **6.2 Experimental**

#### **6.2.1 Reagentes e soluções**

Os reagentes utilizados foram de grau analítico: paracetamol (PCT), ácido úrico (AU) e triptofano (TPF) foram adquiridos de Sigma-Aldrich e hidroquinona (HQ) de Vetec. O 3D–RVC Duocel® (45 ppi) (do

inglês: *pores per inch*) foi adquirido de *Energy Research and Generation Aerospace Corporation* – Califórnia.

Soluções de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  e de  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  foram preparadas em  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , e usadas como sondas eletroquímicas para investigar o comportamento eletroquímico dos eletrodos propostos.

Uma solução de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0), foi preparada pesando-se massas adequadas de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  para um volume de 250 mL. Esta solução foi utilizada como eletrólito suporte. Todas as outras soluções empregadas neste trabalho foram preparadas com água ultrapura fornecida por um sistema Mili-Q (Millipore®).

Na síntese das AuNPs uma solução de  $\text{HAuCl}_4$   $50,0 \text{ mmol L}^{-1}$  e uma solução de citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ )  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  foram usadas como mostrado na SEÇÃO 6.2.3.

## 6.2.2 Instrumentação

Detalhes da instrumentação utilizada podem ser encontrados na SEÇÃO 3.2.2.

O eletrodo de trabalho 3D–RVC foi montado como mostra o esquema ilustrado na FIGURA 6.1. Usou-se um tubo cilíndrico de plástico (*o.d.* 1,3 cm, *i.d.* 1,0 cm) e um cilindro de cobre conectado com uma haste de liga metálica de cobre e zinco para contato elétrico (FIGURA 6.1 (B)), após a inserção do 3D–RVC (FIGURA 6.1 (A)) no tubo foi mantido aproximadamente 0,40 cm para ser submerso na solução, este comprimento foi medido para cada eletrodo usando paquímetro e todos os resultados expressos em densidade de corrente ( $\text{A cm}^3$ ), ou seja, em termos de volume para permitir a comparação direta (FIGURA 6.1 (C)).

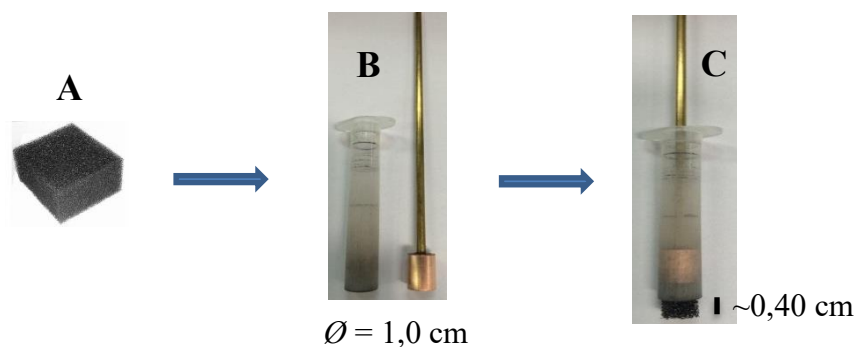


FIGURA 6.1 – Montagem esquemática do eletrodo 3D-RVC usado neste trabalho. (A) RVC 45 ppi, (B) tubo de plástico cilíndrico e contato haste de liga metálica de cobre e zinco, e cilindro de cobre, (c) 3D-RVC pronto para o uso.

Para as análises de SEM, o 3D-RVC foi usado como recebido do fornecedor sem qualquer modificação adicional. Imagens de SEM também foram coletadas para o 3D-RVC após as modificações com as nanopartículas.

### 6.2.3 Síntese das nanopartículas de ouro

As AuNPs foram obtidas pelo método Turkevich<sup>78</sup>. Esse método consiste na adição de 4,0 mL de uma solução de  $\text{HAuCl}_4$  50,0 mmol  $\text{L}^{-1}$  em um balão volumétrico de 200 mL e água ultrapura até completar o volume. Então, esta solução foi colocada em erlenmeyer e aquecida até 85 °C, sob agitação. Em seguida foi adicionado 2,0 mL de uma solução de citrato de sódio 0,3 mol  $\text{L}^{-1}$ . Após 4 minutos sob agitação constante, ocorreu uma mudança de coloração de amarelo claro para vermelho escuro, indicando o final da reação e obtendo-se, assim, uma dispersão coloidal das AuNPs. Em seguida, o meio reacional foi rapidamente resfriado em banho de gelo até a temperatura ambiente (25 °C). A dispersão coloidal final de AuNPs foi transferida para um frasco âmbar e armazenada em temperatura ambiente.

## 6.2.4 Preparação do eletrodo de trabalho

Para a preparação do eletrodo de trabalho foram estudadas duas diferentes estratégias de incorporação das AuNPs no substrato 3D-RVC:

1º) O primeiro método de incorporação foi baseado no método de adsorção, onde o 3D-RVC foi imerso em uma solução coloidal de AuNPs (previamente preparada, SEÇÃO 6.2.3) e mantido por 10 minutos, após este tempo o material foi mantido em um dessecador durante 5 horas para a evaporação do solvente, este sensor foi nomeado como AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC.

2º) O segundo método foi baseado na eletrodeposição, que foi realizada aplicando-se amperometricamente um potencial de  $-0,4$  V durante 40 segundos, em solução de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  contendo HAuCl<sub>4</sub>  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ , estas condições foram estudadas previamente em outro trabalho do grupo de pesquisa<sup>198</sup>, este eletrodo foi nomeado como AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC.

## 6.2.5 Medidas eletroquímicas

Primeiro, para verificar a influência das AuPNs no comportamento do eletrodo 3D-RVC, um estudo eletroquímico foi realizado usando CV em diferentes velocidades de varredura de potenciais ( $10 - 500 \text{ mV s}^{-1}$ ). Neste estudo, as medidas voltamétricas foram realizadas na presença de sondas eletroquímicas  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  e  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ , em solução de KCl  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , além de moléculas orgânicas com o comportamento eletroquímico bem difundido na literatura: PCT, UA, HQ e TP.

Com base nos dados obtidos neste estudo, foi possível calcular a  $k^0$  para cada caso, além de identificar se o transporte de massa da espécie em solução à superfície do eletrodo foi controlado por difusão ou adsorção.

Além disso, foram realizadas as curvas analíticas com adição de alíquotas sucessivas de cada solução padrão para cada molécula orgânica. E



ainda, foram comparados os parâmetros analíticos, como sensibilidade, faixa linear e *LOD* para cada eletrodo de trabalho proposto.

A repetibilidade intra-dia foi determinada por medidas sucessivas usando o mesmo eletrodo ( $n = 10$ ) e a repetibilidade inter-dias a partir de medidas utilizando três eletrodos preparados em dias diferentes ( $n=3$ ). Ambos os estudos foram realizados para soluções individuais de cada analito PCT, UA, HQ e TP na concentração de  $25,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato pH 7,0.

Por fim, a seletividade do método eletroanalítico proposto foi avaliada em matrizes biológicas, estas moléculas foram quantificadas em amostras de soro sanguíneo e urina.

### 6.3 Resultados e discussão

#### 6.3.1 Caracterização morfológica do eletrodo 3D–RVC e suas modificações com AuNPs

Os eletrodos 3D–RVC com ou sem modificações foram caracterizados morfológicamente por SEM. Observa-se na FIGURA 6.2 que a estrutura deste material é macroporosa, com elevada área de superfície (devido à estrutura 3D), o diâmetro médio de poro é de aproximadamente  $400 \mu\text{m}$ .

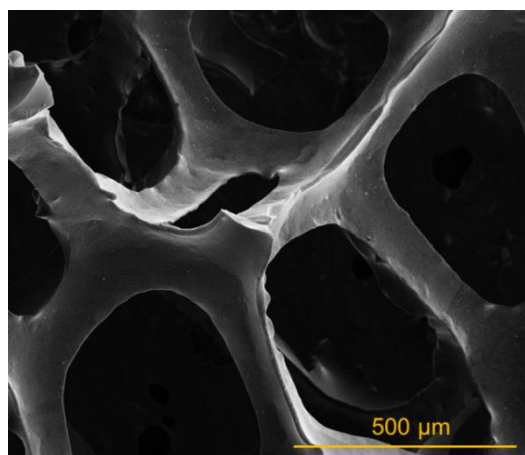


FIGURA 6.2 – Imagem de SEM obtida para a superfície de 3D–RVC.

Em seguida, seguiu-se para a caracterização morfológica do 3D-RVC após a incorporação das AuNPs por ambos os métodos aplicados. Na FIGURA 6.3 podem ser vistas as imagens de SEM obtidas, em (A) para o sensor AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e em (B) para o AuNPs<sub>(elet)</sub>/ 3D-RVC). Como observado na FIGURA 6.3 (A) as AuNPs foram incorporados no material (3D-RVC) pouco distribuídas, e formando alguns aglomerados. O tamanho destas partículas está entre 20 e 35 nm (ver histograma de distribuição FIGURA 6.3 (C)). Por outro lado, para o método de eletrodeposição (FIGURA 6.3 (B)), as AuNPs formados foram distribuídas homogeneamente sobre a superfície 3D-RVC. É possível notar que o tamanho do AuNPs está entre 30 e 50 nm, como pode ser observado no histograma de distribuição, FIGURA 6.3 (D).

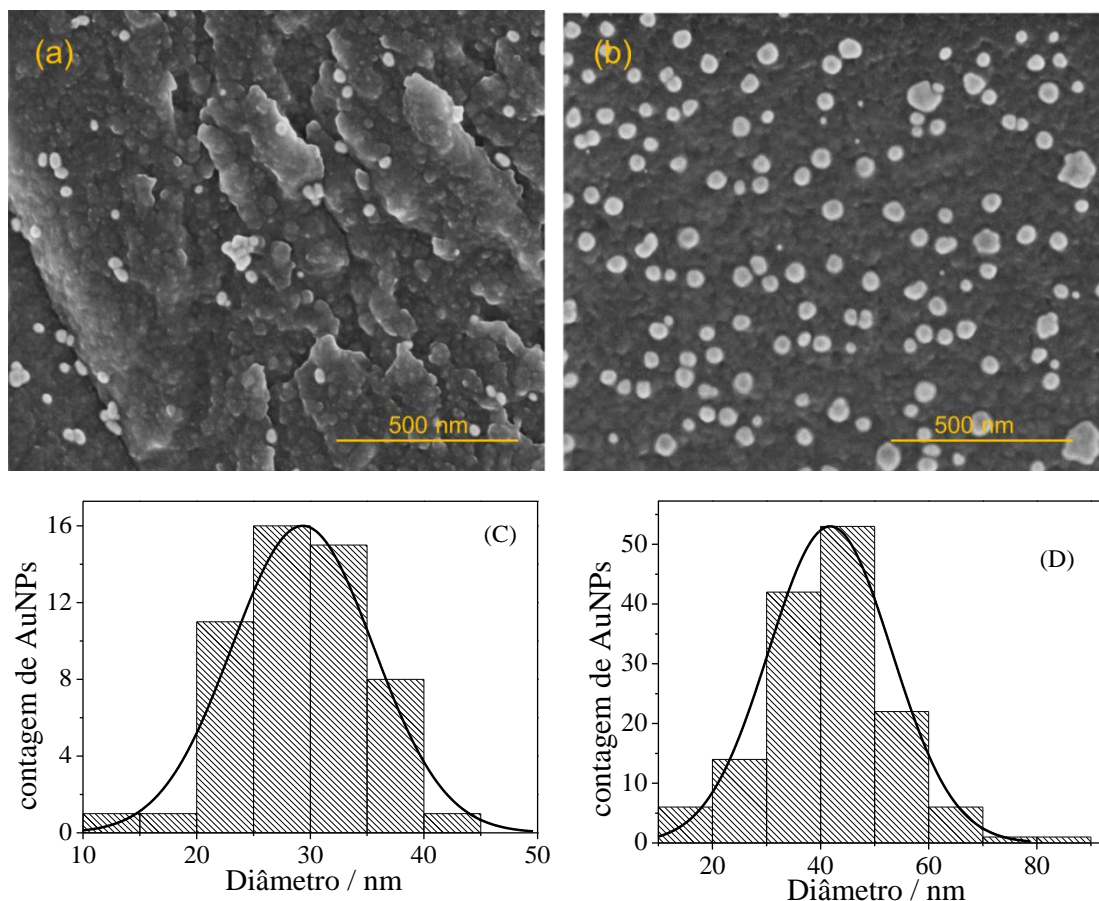


FIGURA 6.3 – Imagens de SEM obtidas para (A) AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC; (B) AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC; magnificação 200000 vezes. (C) e (D) São os respectivos histogramas de distribuição.

### 6.3.2 Caracterização eletroquímica dos eletrodos de 3D-RVC, AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC

O comportamento eletroquímico dos eletrodos propostos (3D-RVC, AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC) foi estudado usando CV para as sondas redox ([Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup> e [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>).

Na FIGURA 6.4 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para os três eletrodos avaliados, na presença de [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup> 1,0 mmol L<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>,  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ . E os valores de correntes de pico e potenciais de pico extraídos destes voltamogramas estão apresentados na TABELA 6.1.

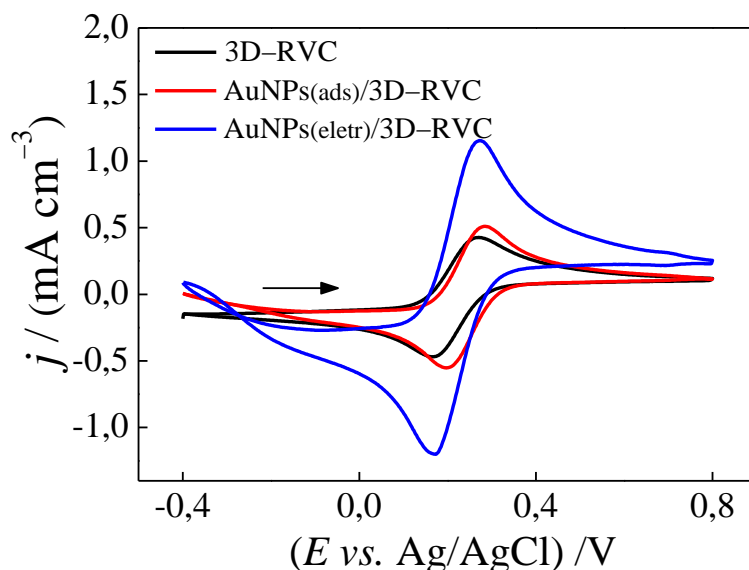


FIGURA 6.4 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo não modificado 3D-RVC (—) e os eletrodos modificados com AuNPs: AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC (—) e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC (—) na presença de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  1,0 mmol L<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>,  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ .

TABELA 6.1 – Valores de correntes de pico e potenciais de pico obtidos para  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  extraídos da FIGURA 6.4

Eletrodo	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$				
	$I_{\text{pa}}$ (A)	$E_{\text{pa}}$ (V)	$I_{\text{pc}}$ (A)	$E_{\text{pc}}$ (V)	$\Delta E_p$ (V)
<b>3D-RVC</b>	0,537	0,265	-0,484	0,166	0,099
<b>AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC</b>	0,602	0,285	-0,590	0,200	0,085
<b>AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC</b>	1,34	0,274	-1,362	0,167	0,107

A partir da FIGURA 6.4 e da TABELA 6.1, nota-se que foi obtido um par redox bem definido, e com comportamento quasi-reversível com valores de  $\Delta E_p$  de 0,099, 0,085 e 0,107 V para 3D-RVC, AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC, respectivamente.

Outra característica que pode ser observada, é que a magnitude de sinal analítico aumenta *c.a.* 2,6 vezes para o AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC, quando

comparado com os outros dois eletrodos, indicando que as propriedades eletroquímicas do material 3D–RVC foram melhorada com a incorporação das AuNPs, sendo que essa melhoria pode estar ligada a melhor distribuição de AuNPs no material, para este caso.

Da mesma forma, o menor sinal analítico obtido usando o AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D–RVC pode ser atribuído à baixa adsorção e distribuição de AuNPs na superfície, como confirmado por imagens de SEM (FIGURA 6.3 (A)).

Adicionalmente, outros estudos utilizando a técnica de CV foram realizados para melhor investigação do comportamento eletroquímico dos eletrodos propostos.

Na FIGURA 6.5 (A–C) são apresentados voltamogramas cíclicos obtidos em solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  à diferentes velocidade de varredura de potencial (10 a  $500 \text{ mVs}^{-1}$ ) forneceram valores de correntes de pico ( $I_{pa}$  e  $I_{pc}$ ) linearmente dependentes com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, evidenciando um controle difusional referente ao transporte de massa para o eletrodo. Os coeficientes angulares de 0,39, 0,42 e 0,41 obtidos a partir do gráfico de logaritmo da densidade de corrente ( $\log J$ ) com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial ( $\log \nu$ ), corroboram com a afirmação, evidenciando a ausência de efeitos de adsorção e camada fina<sup>163</sup>.

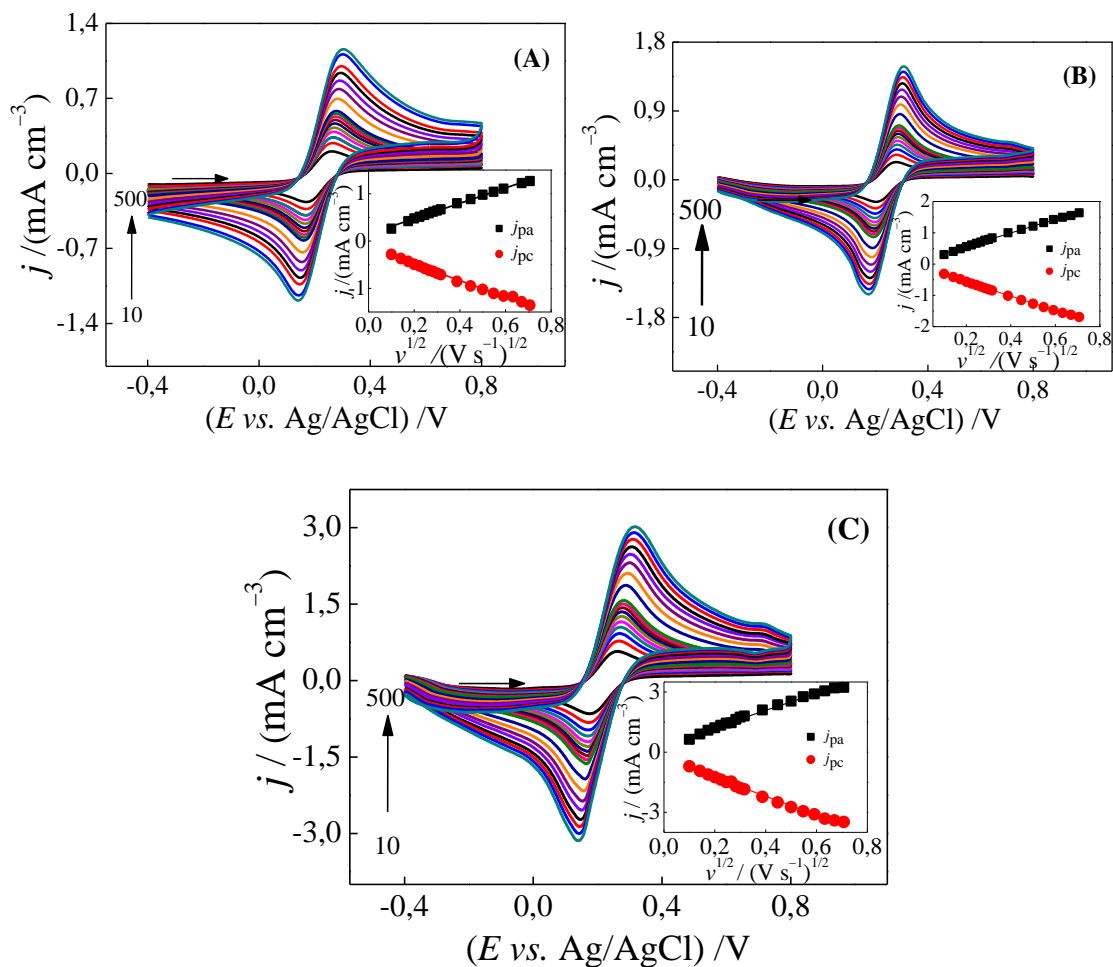


FIGURA 6.5 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial ( $10 - 500 \text{ mV s}^{-1}$ ) para  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução  $\text{KCl}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; sendo em (A) para o eletrodo 3D-RVC, (B) para o  $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D-RVC}$  e em (C) para o  $\text{AuNPs}_{(\text{eletr})}/3\text{D-RVC}$ . Os gráficos inseridos correspondem à relação linear entre a corrente de pico anódico e catódico, e a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial.

Utilizando estes mesmos dados obtidos nos experimentos de CV, foi possível calcular a área eletroativa para os eletrodos propostos empregando-se a EQUAÇÃO 6.1 de Randles-Sevcik<sup>160,199</sup>.

$$I_p = (2,69 \times 10^5)n^{3/2}AD^{1/2}Cv^{1/2} \quad \text{EQUAÇÃO 6.1}$$

Sendo  $I_p$  a corrente de pico anódica ou catódica em *Ampère* (A),  $n$  é o número de elétrons envolvidos na reação,  $A$  é a área eletroativa em  $\text{cm}^2$ ,  $D$  é o coeficiente de difusão em  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ,  $C$  é a concentração das espécies em solução em  $\text{mol cm}^{-3}$  e  $v^{1/2}$  a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial em  $\text{V s}^{-1}$ ,

O coeficiente angular obtido na regressão linear de  $I_{pa}$  vs.  $v^{1/2}$  foi aplicado na EQUAÇÃO 6.1, com os valores de  $D = 7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ <sup>200</sup>,  $n = 1$  e  $C = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$ , e os resultados indicaram uma área eletroativa de  $0,98 \text{ cm}^2$ ,  $1,31 \text{ cm}^2$  e  $2,62 \text{ cm}^2$  for 3D-RVC, AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC, respectivamente. É importante notar que após as modificações dos eletrodos, a área eletroativa aumentou cerca de 34 % AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e 167 % AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC, o que mostra uma evidente melhora baseada na adição das AuNPs. Estes resultados estão em consonância com as imagens de SEM obtidas, onde foi observada uma maior e melhor distribuição de AuNPs 3D-RVC para o método de eletrodeposição, o que proporcionou a maior área eletroativa.

Esta área eletroativa maior é de extrema importância para as propostas analíticas, uma vez que uma alta área eletroativa pode proporcionar o aumento do sinal analítico (magnitude da corrente) e a obtenção de métodos com melhor desempenho analítico.

Finalmente, para avaliar a qualidade do material, foi estimado o valor de  $k^0$ , para cada um dos eletrodos propostos, utilizando o método de NICHOLSON para sistemas quasi-reversíveis controlados por difusão<sup>201</sup>. Os cálculos envolvidos neste método estão relacionados com a EQUAÇÃO 6.2:

$$\Psi = k^0[\pi D n v F/(R T)]^{-1/2} \quad \text{EQUAÇÃO 6.2}$$

sendo  $\Psi$  um parâmetro cinético, e os demais termos já foram definidos anteriormente. O parâmetro cinético  $\Psi$  pode ser obtido empregando-se a EQUAÇÃO 6.3 proposta por LAVAGNINI *et al.*<sup>202</sup> que relaciona de forma simples  $\Psi$  e os valores de  $\Delta E_p$ :

$$\Psi = (-0,6288 + 0,0021n\Delta E_p)/(1 - 0,017n\Delta E_p) \quad \text{EQUAÇÃO 6.3}$$

A partir dos valores calculados de  $\Psi$ , e aplicando a EQUAÇÃO 6.2, os valores de  $k^0$  obtidos foram iguais a  $1,9 \times 10^{-3}$ ,  $4,4 \times 10^{-3}$  e  $2,6 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  para 3D-RVC, AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC, respectivamente. O valor obtido para o eletrodo 3D-RVC está de acordo com o valor relatado por SILVA *et al.* ( $1,0 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ )<sup>203</sup> para um eletrodo de carbono vítreo monolítico. Para os eletrodos modificados com AuNPs houve um pequeno aumento no valor de  $k^0$ , indicando uma ligeira melhoria nas propriedades eletrônicas e desempenho eletroquímico desses eletrodos. Sendo que para o eletrodo com as AuNPs adsorvidas uma melhor taxa de transferência de elétrons foi obtida, imagina-se que isso se deve ao fato das nanopartículas serem de menor tamanho neste caso - vide FIGURA 6.3 (C), o que facilita a eletrocatalise, pois melhora o transporte de massa devido à contribuição da difusão radial.

Para completar a caracterização eletroquímica dos eletrodos propostos, voltamogramas cíclicos foram obtidos em solução contendo  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$  (FIGURA 6.6). E os valores de correntes de pico e potenciais de pico extraídos destes voltamogramas estão apresentados na TABELA 6.2.



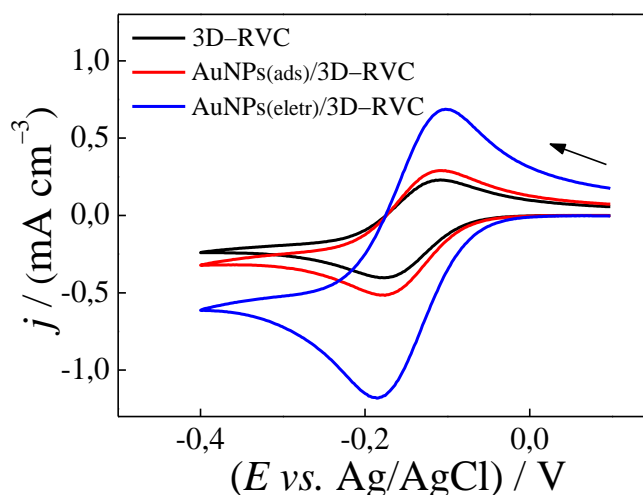


FIGURA 6.6 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo não modificado 3D-RVC (—) e os eletrodos modificados com AuNPs: AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC (—) e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC (—) na presença de [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> 1,0 mmol L<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>,  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ .

TABELA 6.2 – Valores de correntes de pico e potenciais de pico obtidos para [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup> extraídos da FIGURA 6.6

Eletrodo	[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>				
	$I_{pa}$ (A)	$E_{pa}$ (V)	$I_{pc}$ (A)	$E_{pc}$ (V)	$\Delta E_p$ (V)
<b>3D-RVC</b>	0,370	-0,112	-0,445	-0,172	0,060
<b>AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC</b>	0,461	-0,110	-0,558	-0,176	0,066
<b>AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC</b>	1,082	-0,102	-1,22	-0,185	0,083

Como pode ser visto, o pico redox foi bem definido e os valores de  $\Delta E_p$  foram 0,060, 0,066 e 0,083 V para 3D-RVC, AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC, respectivamente, mostrando-se um comportamento quase-reversível. Quando os voltamogramas cíclicos obtidos (FIGURA 6.6) são novamente comparados, AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC apresenta o incremento de

corrente mais alto, confirmando os resultados obtidos para a sonda eletroquímica  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ .

Além disso, FIGURA 6.7 (A-C) são apresentados voltamogramas cíclicos obtidos em solução de  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  1,0 mmol L<sup>-1</sup> em solução KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> à diferentes velocidade de varredura de potencial (10 a 500 mVs<sup>-1</sup>) forneceram valores de correntes de pico ( $I_{pa}$  e  $I_{pc}$ ) linearmente dependentes com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, indicando que o processo de transporte de massa para o eletrodo é controlado por difusão. Os coeficientes angulares de 0,45, 0,47 e 0,41 obtidos a partir do gráfico de logaritmo da densidade de corrente ( $\log J$ ) com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial ( $\log v$ ), corroboram com a afirmação, indicando a ausência de efeitos adsortivos.

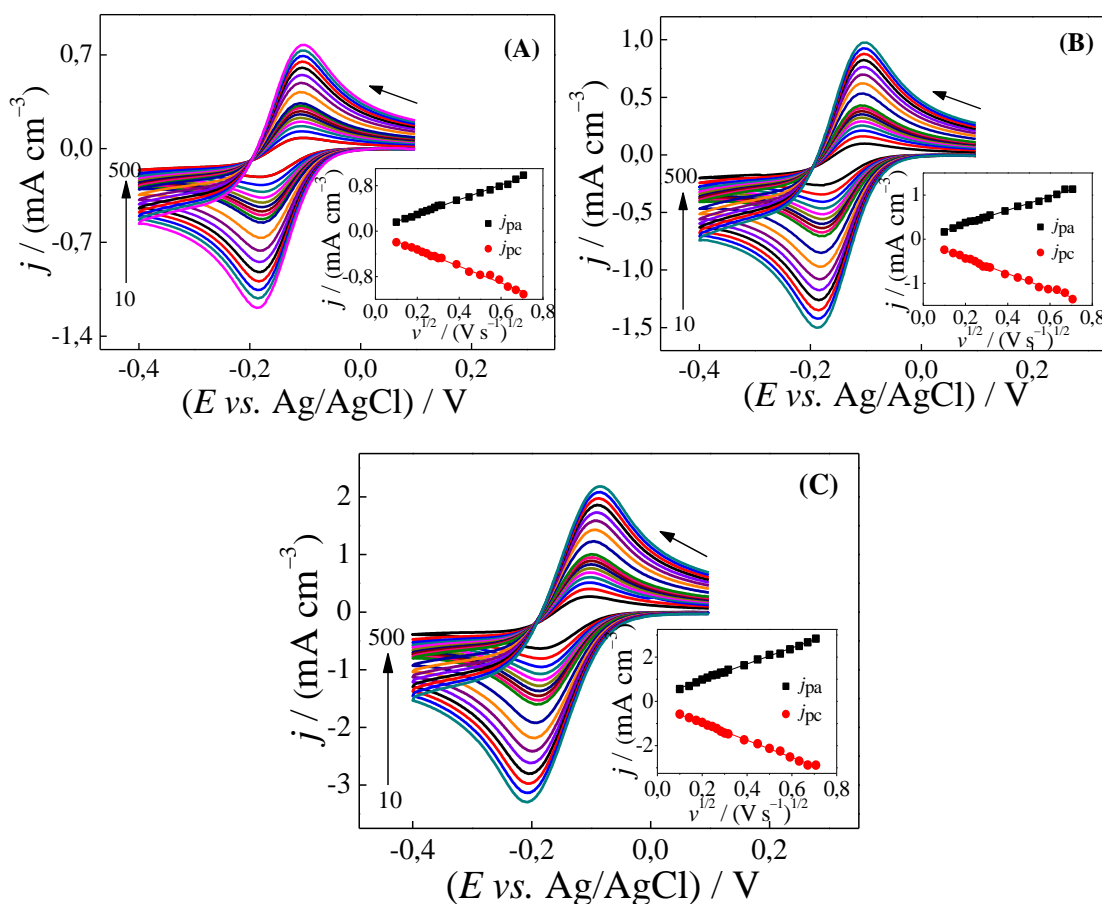


FIGURA 6.7 – Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial ( $10 - 500 \text{ mVs}^{-1}$ ) na presença de  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução  $\text{KCl}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; sendo em (A) para o eletrodo 3D-RVC, (B) para o  $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}/3\text{D-RVC}$  e em (C) para o  $\text{AuNPs}_{(\text{eletr})}/3\text{D-RVC}$ . Os gráficos inseridos correspondem à relação linear entre a corrente de pico anódico e catódico, e a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial.

### 6.3.3 Comportamento eletroquímico de moléculas orgânicas sobre os eletrodos propostos

Após a caracterização eletroquímica e morfológica, o comportamento eletroquímico dos eletrodos propostos foi avaliado para algumas biomoléculas bem conhecidas na literatura (PCT, AU, HQ, TP) utilizando CV. Na FIGURA 6.8 (A – D) é possível observar as respostas

voltamétricas para cada biomolécula (A) PCT  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ , (B) AU  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ , (C) HQ  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  (D) TPF  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ . E na TABELA 6.3, observa-se os valores de correntes de pico e potenciais de pico extraídos destes voltamogramas.

Observa-se que não há diferenças significativas nos potenciais de pico para todas as moléculas. No entanto, se for observado o incremento de sinal analítico, o  $\text{AuNPs}_{(\text{elett})}/3\text{D-RVC}$  apresentou um melhor desempenho quando comparado com o 3D-RVC sem modificação, sendo de 33%, 118%, 69% e 48% para PCT, AU, HQ e TPF, respectivamente.

Concentrando-se no eletrodo modificado por adsorção das nanopartículas ( $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}$ ), o incremento de sinal de corrente foi menor ou igual a 3D-RVC, exceto para HQ, mostrando que a má distribuição das AuNPs sobre a superfície pode afetar drasticamente a resposta do eletrodo. No entanto, para HQ ocorre um aumento no sinal de corrente, este comportamento divergente observado para os eletrodos  $\text{AuNPs}_{(\text{ads})}$ , pode ser um indício de que o processo de adsorção para fabricação dos eletrodos modificados, não seja reproduzível. Outra hipótese é que no processo de incorporação das nanopartículas por adsorção no RVC, estas entram dentro dos poros do material, diminuindo assim a superfície disponível para a ocorrência da reação eletroquímica, diminuindo desta maneira a magnitude do sinal analítico obtido, como observado neste estudo. No entanto, a deposição eletroquímica ocorre diretamente na superfície do eletrodo RVC, o que explica a maior quantidade de nanopartículas, devido ao maior sinal analítico observado para estes eletrodos.

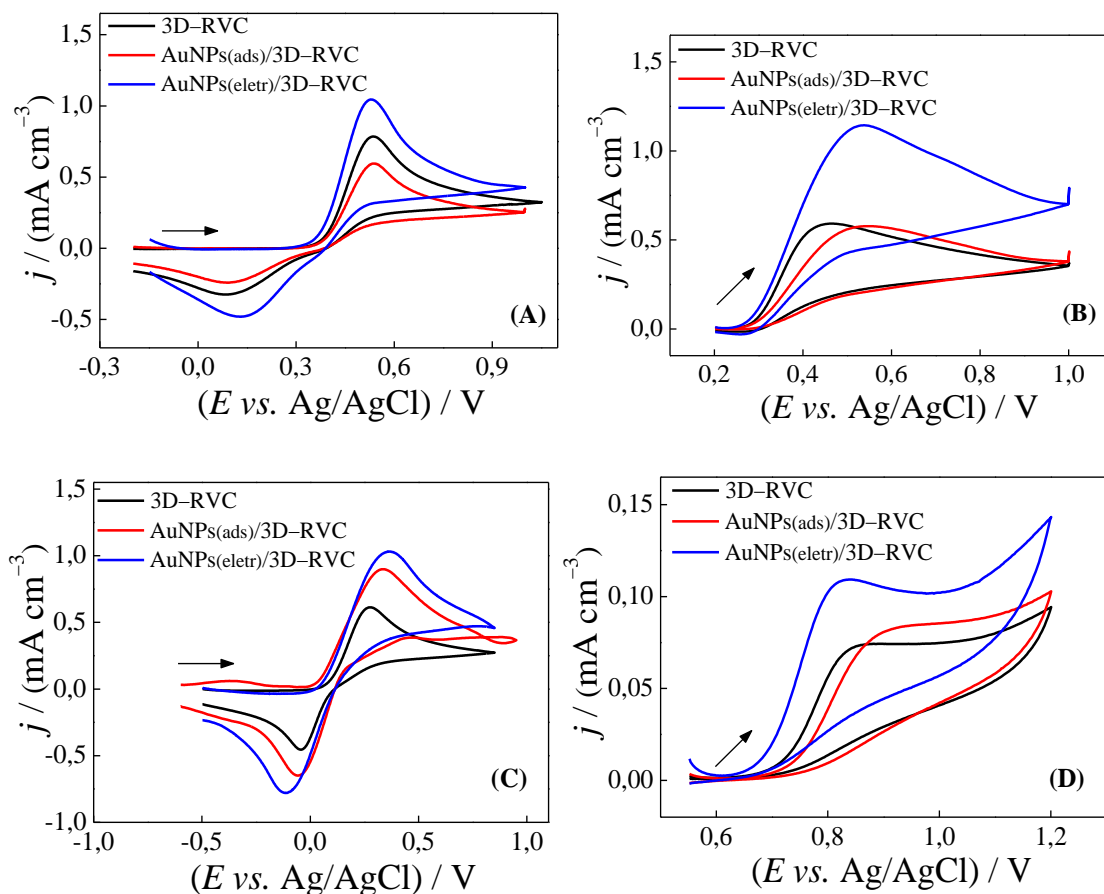


FIGURA 6.8 – Voltamogramas cíclicos obtidos usando o eletrodo não modificado 3D-RVC (—) e os eletrodos modificados com AuNPs: AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC (—) e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC (—) na presença de (A) PCT  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ , (B) AU  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ , (C) HQ  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  e (D) TPF  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato pH 7,0,  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

TABELA 6.3 – Valores de correntes de pico e potenciais de pico obtidos para PCT, AU, HQ e TF, extraídos da FIGURA 6.8

Analito	Eletrodo			
	3D-RVC	AuNPs <sub>(ads)</sub> /3D-RVC	AuNPs <sub>(elet)</sub> /3D-RVC	
<b>PCT</b>	$I_{pa}$ (A)	0,778	0,588	1,03
	$E_{pa}$ (V)	0,537	0,537	0,529
	$I_{pc}$ (A)	0,130	0,087	0,245
	$E_{pc}$ (V)	0,095	0,090	0,137
	$I_{pa}$ (A)	0,543	0,525	1,097
<b>AU</b>	$E_{pa}$ (V)	0,432	0,525	0,532
	$I_{pa}$ (A)	0,609	0,864	1,08
<b>HQ</b>	$E_{pa}$ (V)	0,272	0,339	0,362
	$I_{pc}$ (A)	0,6187	1,0218	1,180
	$E_{pc}$ (V)	-0,042	-0,051	-0,111
	$I_{pa}$ (A)	0,068	0,077	0,104
<b>TF</b>	$E_{pa}$ (V)	0,844	0,911	0,822

Após este estudo, para avaliar a potencialidade analítica destes eletrodos, foram realizadas sucessivas adições de soluções padrão individuais de PCT, AU, HQ e TPF em solução tampão fosfato pH 7,0, utilizando CV ( $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$ ), construindo-se assim, as curvas analíticas para cada analito de interesse.

Na FIGURA 6.9 (A – D) são apresentados os gráficos relacionando os sinais analíticos obtidos (densidade de corrente catódica  $-j$ ) em função das concentrações dos analitos de interesse, quando os diferentes eletrodos foram utilizados.

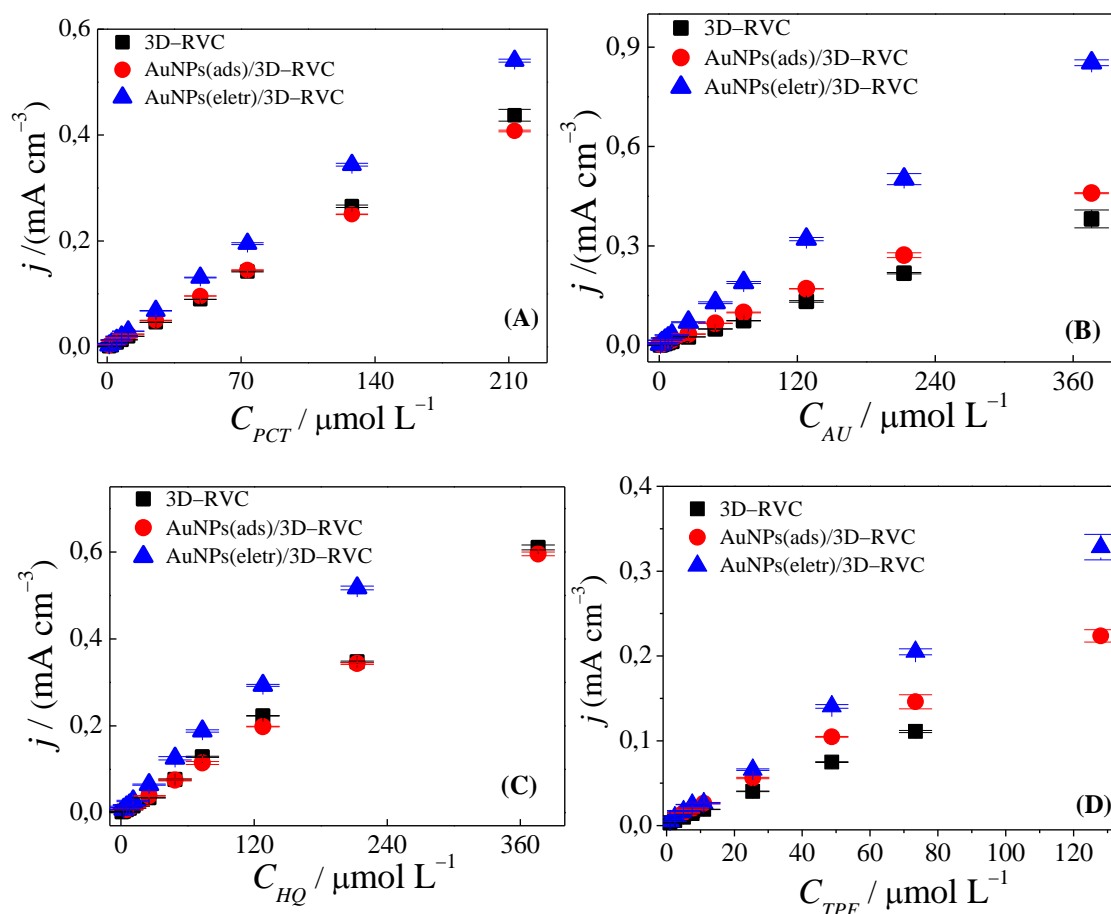


FIGURA 6.9 – Curvas analíticas obtidas após sucessivas adições de (A) PCT, (B) AU, (C) HQ e (D) TPF utilizando os eletrodos 3D-RVC (■), AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC (●) e AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC (▲) em tampão fosfato pH 7,0,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Observando-se estes gráficos e os parâmetros analíticos reportados na TABELA 6.4, TABELA 6.5, TABELA 6.6 e TABELA 6.7, para PCT, AU, HQ e TPF, respectivamente; como esperado o AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC proporcionou maior sensibilidade para todos os analitos estudados e menores  $LOD$ , evidenciando, mais uma vez, que a

incorporação de AuNPs sobre o 3D-RVC melhorou as propriedades eletroquímicas, principalmente o aumento de sinal analítico. Também foi possível observar que o AuNP<sub>s(ads)</sub>/3D-RVC e 3D-RVC apresentaram valores similares de sensibilidade. Neste trabalho os *LOD* foram calculados baseados no método de 3 vezes o sinal-ruído (3S/N), como detalhado na SEÇÃO 4.2.4.

TABELA 6.4 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de PCT obtidos com os eletrodos 3D-RVC, AuNP<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNP<sub>(eletr)</sub>/3D-RVC, e CV

Sensores	Parâmetros analíticos	Valores obtidos
3D-RVC	Sensibilidade	1,9 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,36 µmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 210,0 µmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(ads)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	1,9 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,39 µmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 210,0 µmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(eletr)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	2,6 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,32 µmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 210,0 µmol L <sup>-1</sup>



TABELA 6.5 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de AU obtidos com os eletrodos 3D-RVC, AuNP<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNP<sub>(eletr)</sub>/3D-RVC, e CV

Sensores	Parâmetros analíticos	Valores obtidos
3D-RVC	Sensibilidade	1,1 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,23 μmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 380,0 μmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(ads)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	1,3 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,33 μmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 380,0 μmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(eletr)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	2,4 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,21 μmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 380,0 μmol L <sup>-1</sup>

TABELA 6.6 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de HQ obtidos com os eletrodos 3D-RVC, AuNP<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNP<sub>(eletr)</sub>/3D-RVC, e CV

Sensores	Parâmetros analíticos	Valores obtidos
3D-RVC	Sensibilidade	1,7 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,27 μmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 380,0 μmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(ads)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	1,6 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,24 μmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	5,0 – 380,0 μmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(eletr)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	2,4 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	<i>LOD</i>	0,20 μmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	2,5 – 210,0 μmol L <sup>-1</sup>

TABELA 6.7 – Comparação dos parâmetros analíticos para a determinação de TPF obtidos com os eletrodos 3D-RVC, AuNP<sub>(ads)</sub>/3D-RVC e AuNP<sub>(eletr)</sub>/3D-RVC, e CV

Sensores	Parâmetros analíticos	Valores obtidos
3D-RVC	Sensibilidade	1,5 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	LOD	0,11 µmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 73,0 µmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(ads)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	2,0 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	LOD	0,10 µmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	5,0 – 130,0 µmol L <sup>-1</sup>
AuNP <sub>(eletr)</sub> /3D-RVC	Sensibilidade	2,6 Acm <sup>-3</sup> L mol <sup>-1</sup>
	LOD	0,07 µmol L <sup>-1</sup>
	Faixa linear	1,0 – 210,0 µmol L <sup>-1</sup>

### 6.3.4 Repetibilidade do método e da produção do eletrodo AuNPs<sub>(eletr)</sub>/3D-RVC

Após observar que o eletrodo AuNPs<sub>(eletr)</sub>/3D-RVC apresentou o melhor desempenho eletroanalítico, dentre os eletrodos estudados, foi realizado um estudo para avaliar a repetibilidade deste eletrodo. Primeiro, foram feitas dez medidas (n = 10) sucessivas com o mesmo eletrodo para soluções contendo os respectivos analitos alvos separadamente (PCT, AU, HQ e TPF) na concentração de 25,0 µmol L<sup>-1</sup> usando CV em solução de tampão fosfato pH 7,0. Para avaliar a repetibilidade da produção de eletrodos, três diferentes eletrodos AuNPs<sub>(eletr)</sub>/3D-RVC foram utilizados com diferentes soluções (25,0 µmol L<sup>-1</sup>) contendo os respectivos analitos apresentados neste estudo. O *RSD* para cada analito é apresentado na TABELA 6.8, os valores obtidos foram satisfatórios com *RSD* menores do

que 1,65% para repetibilidade do método e menos de 10,7% para a construção do eletrodo.

TABELA 6.8 – Resultados obtidos no estudo de repetibilidade do método e de produção do eletrodo na presença de PCT, AU, HQ e TPF usando CV

<b>Analito</b> <b>25,0 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math></b>	<b>Repetibilidade do método<sup>a</sup></b> <b>RSD %</b>	<b>Repetibilidade de produção do eletrodo<sup>b</sup></b> <b>RSD %</b>
<b>PCT</b>	0,672	10,7
<b>AU</b>	1,06	7,16
<b>HQ</b>	1,05	1,66
<b>TPF</b>	1,65	2,66

<sup>a</sup>  $n = 10$  ; <sup>b</sup>  $n = 3$

Para avaliar a seletividade do método proposto, investigou-se o efeito de potenciais interferentes pela adição de algumas substâncias comumente encontradas nas amostras biológicas analisadas, como ureia, albumina e glicose. A razão em concentração ( $\text{mol L}^{-1}$ ) aplicada foi de 1:10 (analito: interferente), e os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos apenas na presença da solução padrão de cada analito usando CV em solução de tampão fosfato pH 7,0. Os valores de erro relativo obtidos variaram entre -4,2 e 0,5 para todos os analitos, sendo observado a partir destes resultados que não houve interferência significativa das substâncias comumente encontradas nas amostras analisadas.

Por fim, o procedimento desenvolvido utilizando o eletrodo  $\text{AuNP}_{(\text{eltr})}/3\text{D-RVC}$  e a técnica de CV foi empregado para a determinação de PCT, AU, HQ e TPF em amostras biológicas sintéticas (soro sanguíneo e urina). Estas amostras foram adicionadas com uma concentração de 24,4

$\mu\text{mol L}^{-1}$  de cada analito e analisadas usando o método de adição padrão. É possível ver na TABELA 6.9 que o percentual de recuperação foi satisfatório (93,4 – 117%).

TABELA 6.9 – Resultados obtidos na determinação de PCT, AU, HQ e TPF em amostras biológicas empregando-se o método proposto usando o eletrodo  $\text{AuNP}_{(\text{elett})}/3\text{D-RVC}$

Amostras		Adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Encontrado* ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Recuperado %
Soro sanguíneo	PCT	24,4	$22,8 \pm 0,01$	93,4
	AU	24,4	$28,5 \pm 0,01$	117
	HQ	24,4	$23,5 \pm 0,03$	96,3
	TPF	24,4	$25,5 \pm 0,04$	104
Urina	PCT	24,4	$28,6 \pm 0,02$	117
	AU	24,4	$25,8 \pm 0,02$	106
	HQ	24,4	$24,1 \pm 0,04$	98,8
	TPF	24,4	$23,8 \pm 0,02$	97,5

\* n = 3

## 6.4 Conclusões parciais

Demonstrou-se que a incorporação das AuNPs no eletrodo 3D–RVC melhora suas propriedades principalmente em termos de magnitude de sinal analítico (aumento de corrente). Outrossim, dentre as estratégias estudadas, o método de eletrodeposição apresentou melhores resultados, pois gerou AuNPs com tamanhos uniformes e homogeneamente distribuídas na superfície do RVC. Deste modo, o eletrodo de  $\text{AuNP}_{(\text{elett})}/3\text{D-RVC}$  demonstrou grande potencial para ser empregado como material eletródico

em aplicações eletroanalítica, em termos de magnitude do sinal analítico e sensibilidade.

Depois de comprovada a potencialidade deste eletrodo nas determinações de PCT, AU HQ e TPF em amostras biológicas sem interferências da matriz, ele poderá ser usado para o desenvolvimento de procedimentos analíticos para outras moléculas de interesse, explorando-se as técnicas de pulso, a fim de obter maior sensibilidade e menores limites de detecção.

# **CAPÍTULO 7**

## **7 – Aplicação de um sensor constituído por carbono vítreo reticulado modificado com nanopartículas de ouro na determinação de ácido ferúlico em produtos cosméticos/farmacêuticos**

Após demonstrar que o eletrodo modificado com as AuNPs por eletrodeposição (AuNPs<sub>(elet)</sub>/3D-RVC) apresentou melhor desempenho eletroquímico, quando comparado com o eletrodo modificado com as AuNPs por adsorção (AuNPs<sub>(ads)</sub>/3D-RVC), este eletrodo foi utilizado para o desenvolvimento de um procedimento eletroanalítico para a determinação AF em amostras cosméticas e formulações farmacêuticas.

### **7.1 Objetivo específico**

Objetivou-se nesta etapa explorar o eletrodo 3D-RVC modificado com AuNPs eletrodepositadas para desenvolver um método amperométrico, como alternativa simples, e de menor custo para auxiliar no controle de qualidade de AF em amostras de dois cosméticos e de uma formulação farmacêutica.

### **7.2 Experimental**

#### **7.2.1 Reagentes e padrões**

O padrão de AF foi adquirido de Sigma-Aldrich. Solução padrão de AF 0,01 mol L<sup>-1</sup> foram preparadas diariamente em etanol, sendo as demais diluições preparadas diretamente no eletrólito suporte.

Todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico e utilizados como recebidos.

Soluções de tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> em diferentes pH (pH de 2,0 a 6,0) foram preparadas conforme já descrito na SEÇÃO 3.2.1.

## 7.2.2 Instrumentação

A instrumentação utilizada foi a mesma já descrita na SEÇÃO 3.2.2.

Adicionalmente, a determinação de AF também foi realizada utilizando um método espectrofotométrico, como método comparativo, adaptado da referência<sup>204</sup>. As medidas foram realizadas utilizando um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu (Modelo UV-2550) em um comprimento de onda de 372 nm, utilizando uma cubeta de quartzo (comprimento do caminho ótico de 10 mm) e etanol como solvente.

## 7.2.3 Preparação do eletrodo AuNPs/3D-RVC

Para detalhes da montagem do eletrodo, ver SEÇÃO 6.2.2.

Após a montagem, o eletrodo foi submetido ao processo de eletrodeposição, o qual foi realizado amperometricamente aplicando-se um potencial de  $-0,4$  V por 40 segundos, em solução de HCl  $0,1$  mol L<sup>-1</sup> contendo HAuCl<sub>4</sub>  $0,1$  mmol L<sup>-1</sup>. O eletrodo proposto foi nomeado como AuNPs/3D-RVC.

## 7.2.4 Medidas eletroquímicas

O comportamento eletroquímico de AF foi investigado sobre o eletrodo proposto de AuNPs/3D-RVC empregando-se CV e solução de tampão fosfato  $0,2$  mol L<sup>-1</sup> (pH 3,0) como o eletrólito suporte. Além disso, ainda por CV, foi estudado a influência do pH da solução tampão utilizada como eletrólito suporte.

Em continuidade, fez-se um estudo para avaliar a influência do potencial e do tempo aplicado na amperometria para a eletrodeposição das AuNPs. Foi selecionado o melhor potencial e tempo para a resposta voltamétrica de AF.



Para definir o potencial a ser aplicado para detecção de AF na amperometria, variaram-se os potenciais em torno do potencial de pico de oxidação obtido por CV. Utilizando os parâmetros experimentais otimizados para o método proposto, a curva analítica foi construída adicionando-se alíquotas da solução padrão de AF ao eletrólito suporte. Todas as medidas foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ) para cada concentração.

O *LOD* foi calculado de acordo com a equação  $3 \times SD/m$ , onde *SD* é o desvio padrão de dez brancos e *m* é o coeficiente angular da curva analítica.

A precisão do eletrodo e do método proposto foi avaliada por meio de estudos de repetibilidade intra-dia ( $n = 10$ ) e inter-dias ( $n = 3$ ).

Por fim, a aplicabilidade do método eletroanalítico proposto foi verificada na análise de AF em amostras de dois cosméticos e uma formulação farmacêutica, e os resultados comparados com aqueles obtidos pelo método de referência (espectrofotômetro, como descrito na SEÇÃO 7.2.2).

## 7.3 Resultados e discussão

### 7.3.1 Comportamento eletroquímico de AF

Na FIGURA 7.1 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para AF  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0) no 3D-RVC (—) e no AuNPs/3D-RVC (—). Como pode ser visto AF apresenta um processo redox quase-reversível, sendo o pico de oxidação em aproximadamente 0,66 V e o pico de redução em 0,41 V para ambos os eletrodos.

Observa-se ainda na FIGURA 7.1 que a incorporação das AuNPs no 3D-RVC promoveu uma melhora na resposta eletroquímica, um

aumento de 35 % no sinal analítico; o que pode contribuir na melhora dos parâmetros analíticos como sensibilidade e *LOD*.

Por isso nos demais experimentos utilizou-se o eletrodo de 3D-RVC modificado com AuNPs (AuNPs/3D-RVC).

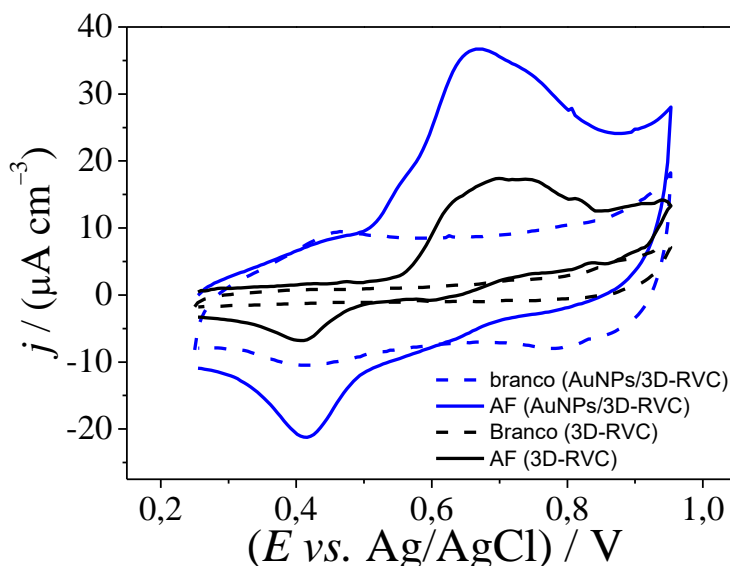


FIGURA 7.1 – Voltamogramas cíclicos obtidos na ausência (linha tracejada) e na presença (linha sólida) de AF  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0) no 3D-RVC (—) e no AuNPs/3D-RVC (—),  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ .

### 7.3.2 Eletrodeposição de nanopartículas de ouro

Como mencionado anteriormente, a eletrodeposição de AuNPs no 3D-RVC aumenta significativamente a área eletroativa deste eletrodo. Este aumento tende a melhorar o desempenho analítico do método e como consequência um aumento na detectabilidade dos analitos (valores menores de *LOD*), maior sensibilidade (aumento do coeficiente angular da curva analítica), entre outros.

Sendo assim, fez-se um estudo da influência do potencial e do tempo aplicado na eletrodeposição das AuNPs para encontrar a melhor condição.

Na FIGURA 7.2 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos para AF ( $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em solução de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0) empregando-se o AuNPs/3D-RVC (A) com a aplicação de diferentes potenciais ( $-0,2$ ;  $-0,3$ ;  $-0,4$  e  $-0,5 \text{ V}$ ) e (B) em diferentes tempos ( $20$ ;  $30$ ;  $40$  e  $50 \text{ s}$ ) para a eletrodeposição do ouro. Observa-se que o máximo de corrente e o menor potencial de pico foi obtido quando as AuNPs foram eletrodepositadas aplicando-se um potencial de  $-0,4 \text{ V}$  durante  $40 \text{ s}$ . Sendo assim, estas condições foram as selecionadas para os próximos experimentos.

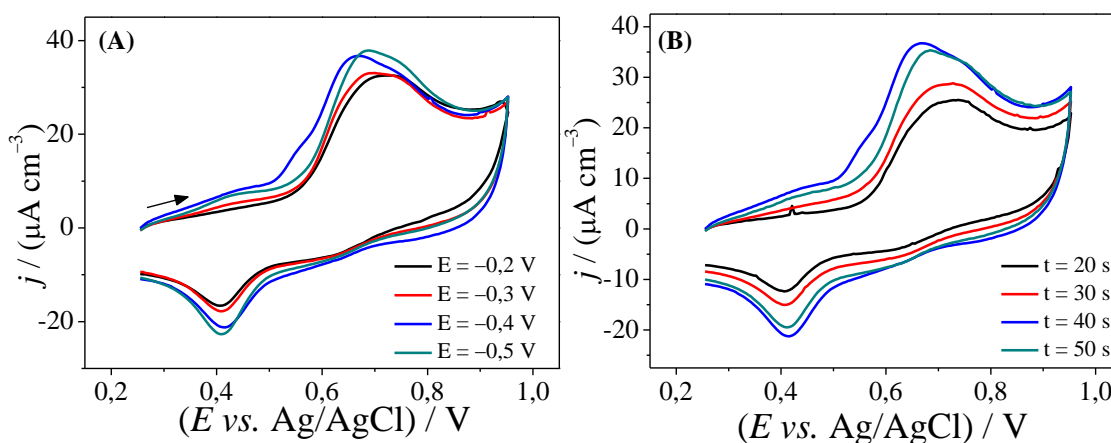


FIGURA 7.2 – Voltamogramas obtidos utilizando o eletrodo de AuNPs/3D-RVC (A) para diferentes potenciais e (B) em diferentes tempos de eletrodeposição na presença de AF  $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0),  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ .

### 7.3.3 Estudo do efeito do pH

O efeito do pH (concentração hidrogeniônica) do eletrólito suporte na eletrooxidação de AF foi investigado utilizando CV; as medidas foram realizadas para uma solução de AF  $100,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  na faixa de pH de 2,0 a 6,0. Os voltamogramas cíclicos obtidos neste estudo são apresentados na FIGURA 7.3 (A). Verificou-se que o pH do eletrólito suporte afeta o potencial e a corrente de pico anódica do AF; A magnitude de corrente para AF atingiu um máximo em pH 3,0, como pode

ser visto na FIGURA 7.3 (B). Já o potencial de pico anódico, à medida que o pH aumenta, desloca-se para potenciais menos positivos, ou seja, mais próximos de zero. Além disso, observou-se uma relação linear entre o potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) e o pH no intervalo de 2,0 a 4,0 e no intervalo de 4,0 a 6,0 (FIGURA 7.3 (B)), que pode ser expresso pelas seguintes equações:

$$E_p \text{ (V)} = 0,87 - 0,056 \text{ pH para a primeira região linear}$$

$$E_p \text{ (V)} = 0,79 - 0,037 \text{ pH para a segunda região linear}$$

Sendo assim, foi possível estimar o valor de  $pK_a$  condicional ( $pK_a^*$ ) na intersecção das duas retas. O  $pK_a^*$  encontrado foi igual a 4,2 que está em consonância com o  $pK_a$  termodinâmico da molécula de AF que é igual a 4,3<sup>205</sup>. A solução tampão com o pH 3,0 foi a selecionada como eletrólito suporte neste trabalho por ter proporcionado maior sinal analítico e melhor definição de pico.

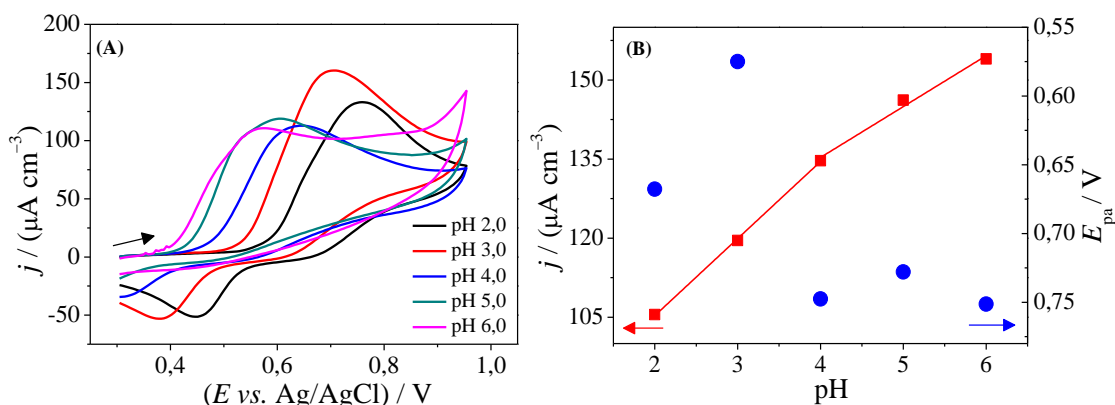


FIGURA 7.3 – (A) Voltamogramas cíclicos para AF  $100,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes pH (2,0 – 6,0) usando o AuNPs/3D–RVC,  $\nu = 50 \text{ mVs}^{-1}$ ; (B) Gráfico de  $I_p$  (●) e  $E_p$  (■) versus pH.

### 7.3.4 Determinação amperométrica de AF

Buscando-se obter as melhores condições analíticas para a determinação de AF, a influência do potencial de trabalho foi investigada na faixa de 0,65 a 0,90 V. Esta faixa de potencial foi selecionada levando-se em consideração o potencial de pico obtido para AF apresentado na FIGURA 7.1. Este experimento foi realizado em solução de tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 3,0) na presença de AF 1,0 μmol L<sup>-1</sup> e velocidade de agitação da solução de 500 rpm. Como pode ser observado na FIGURA 7.4, a corrente de oxidação aumenta com o aumento do potencial aplicado, atingindo o maior sinal em 0,75 V. Após este potencial, ocorreu uma diminuição no sinal analítico, uma hipótese para explicar este efeito seria a oxidação do Au. Desta forma, selecionou-se para estudos posteriores o potencial de trabalho de 0,75 V para garantir o melhor desempenho analítico do sensor proposto.

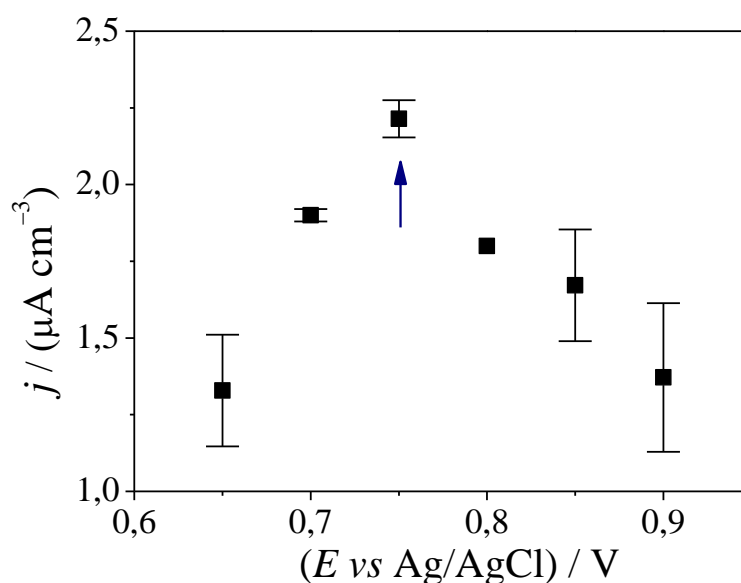


FIGURA 7.4 – Influência do potencial aplicado na oxidação de 0,6 μmol L<sup>-1</sup> de AF em tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 3,0) na superfície do AuNPs/3D-RVC; agitação = 500 rpm.

### 7.3.5 Construção da curva analítica

Uma vez otimizados os parâmetros da técnica amperométrica ( $E = 0,75$  V; com agitação de 500 rpm), a curva analítica para AF foi obtida por meio de sucessivos incrementos de AF (de 0,07 a 2,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em solução de tampão fosfato 0,2 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 3,0). Na FIGURA 7.5 (A) é apresentado o amperograma obtido neste estudo e na FIGURA 7.5 (B) a curva analítica correspondente.

Como pode observado, a curva analítica apresentou uma faixa linear de concentração de 0,07 a 2,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com a equação de regressão:

$$I/A = -6,43 \times 10^{-8} + 2,70 [\text{AF}/(\text{mol L}^{-1})]; r = 0,999.$$

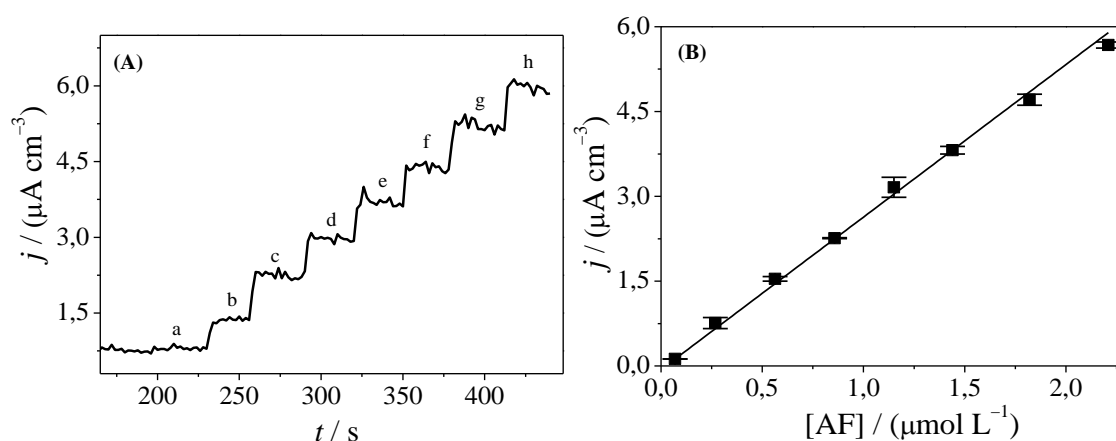


FIGURA 7.5 – (A) Amperograma obtido usando o AuNPs/3D-RVC, após sucessivas adições de AF: (a) 0,07; (b) 0,27; (c) 0,56; (d) 0,86; (e) 1,2; (f) 1,4; (g) 1,8; (h) 2,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato (pH 3,0) com agitação de 500 rpm. Potencial aplicado foi 0,75 V. (B) Curva analítica correspondente.

O cálculo do  $LOD$  foi realizado utilizando-se a equação  $3 \times SD/m$ , onde  $SD$  é o desvio padrão de dez brancos e  $m$  é o coeficiente angular da curva analítica<sup>154</sup> e o resultado foi 9,0  $\text{nmol L}^{-1}$ .

Outros procedimentos eletroanalíticos para a determinação de AF foram relatados; assim, o valor de  $LOD$  aqui obtido pode ser comparado

com aqueles obtidos pelos métodos descritos na literatura – vide TABELA 7.1. Como pode ser inferido a partir dos dados nesta tabela, o valor do *LOD* obtido neste trabalho é: i) 130 vezes menor do que aquele obtido por ABDEL-HAMID e NEWAIR<sup>147</sup> pela SWAdASV usando um eletrodo de carbono vítreo tubular modificado com polipirrol (PPy, do inglês: *polypyrrole*) e MWCNTs; ii) 3,3 vezes menor do que aquele obtido por ERADY *et al.*<sup>148</sup> usando amperometria e um eletrodo de pasta de carbono composto por MWCNTs decorados com nanopartículas de Ag; iii) 2,2 vezes menor do que o obtido por LIU *et al.*<sup>149</sup> por DPV usando um eletrodo de GCE modificado com óxido de grafeno reduzido RGO, iv) 2,2 vezes menor do que aquele obtido por estes mesmos autores<sup>150</sup> por DPV usando um GCE modificado com grafeno funcionalizado com PDDA e v) 110 vezes menor do que aquele obtido por ZHAO *et al.*<sup>151</sup> empregando-se um eletrodo de GCE modificado com MWCNTs.

Assim, o valor de *LOD* determinado neste trabalho é melhor dentre aqueles os levantados na literatura para métodos eletroanalíticos e foi obtido a partir de um novo método que tem a importante vantagem de utilizar um eletrodo com uma simples modificação, a qual leva pouco menos de 1 min para ser realizada.

TABELA 7.1 – Valores de *LOD* e faixa linear obtidos usando o eletrodo AuNPs/3D–RVC e outros sensores reportados para a determinação de AF

Eletrodo	Técnica	Faixa linear ( $\mu\text{M}$ )	<i>LOD</i> ( $\mu\text{M}$ )	Referências
PPy– MWCNTs/GCE	SWAdASV	3,2–25,0	1,17	<sup>147</sup>
Ag–MWCNTs/CPE	Amperometria	0,04–1000	0,03	<sup>148</sup>
ERGO/GCE	DPV	0,085–38,9	0,02	<sup>149</sup>
PDDA–Gr/GCE	DPV	0,09– 52,9	0,02	<sup>150</sup>
MWCNTs/GCE	LSV	2,0– 10,0	1,00	<sup>151</sup>
AuNPs/3D–RVC	Amperometria	0,07 a 2,2	0,009	Este trabalho

Em seguida, para avaliar a precisão do método e da fabricação do eletrodo, a repetibilidade intra-dia foi determinada por dez medidas sucessivas ( $n = 10$ ) no mesmo dia e com o mesmo eletrodo. Enquanto que a repetibilidade inter-dias foi realizada a partir de medidas em três diferentes dias, usando três diferentes eletrodos ( $n = 3$ ). Ambos os estudos foram realizados para soluções de AF em duas diferentes concentrações (0,56 e  $1,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Os *RSD* para estes estudos foram apresentados na TABELA 7.2. Nota-se que os resultados de repetibilidade intra e inter-dias obtidos foram satisfatórios com *RSD* menores do que 3,7 %, atestando assim a boa precisão do método proposto.



TABELA 7.2 – Resultados obtidos no estudo de repetibilidade intra-dia e inter-dias para a determinação de AF (em duas diferentes concentrações) usando amperometria e o eletrodo proposto (AuNPs/3D–RVC)

AF ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Intra-dia <i>RSD</i> * (%)	Inter-dias <i>RSD</i> ** (%)
0,56	2,8	1,4
1,44	3,7	3,5

\*n=10; \*\*n=3.

Na próxima etapa avaliou-se a seletividade do método proposto, investigando-se o efeito de possíveis interferentes na determinação de AF. Para isto, foram realizadas adições de algumas substâncias comumente presentes nas amostras farmacêuticas e de cosméticos analisadas na razão de 1:10, a saber: amido, celulose, ácido ascórbico, estearato de magnésio e dióxido de silício. Esta proporção foi escolhida porque corresponde a uma quantidade de interferente muito maior do que a usualmente encontradas neste tipo de cosméticos (sérum).

Como pode ser visto na FIGURA 7.6, a detecção de AF não é afetada pela adição desses possíveis interferentes, sendo que não foi observada variação significativa do sinal analítico quando estes compostos foram adicionados na solução do analito. Além disso, após a adição dos possíveis diferentes o sinal analítico para a segunda adição de AF variou apenas 5,7 %.

Sendo assim, estes resultados demonstram que não há interferência significativa destes compostos. Portanto, o procedimento é capaz de quantificar o fármaco na presença de excipientes e, portanto, pode ser considerado seletivo, neste caso.

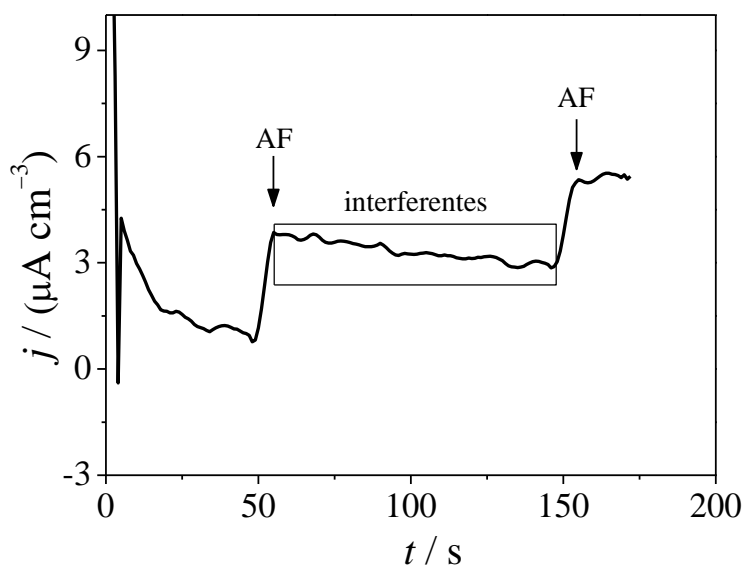


FIGURA 7.6 – Amperograma obtido usando o AuNPs/3D–RVC, após adição de AF  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , seguida de sucessivas adições de possíveis interferentes na proporção 1:10 (amido, celulose, ácido ascórbico, estearato de magnésio e dióxido de silício), e novamente AF  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de tampão fosfato (pH 3,0) com agitação de 500 rpm. Potencial aplicado foi 0,75 V.

Por fim, o procedimento desenvolvido utilizando o eletrodo AuNPs/3D–RVC e amperometria foi empregado na determinação de AF em amostras comerciais de cosméticos e fármaco. Para esta quantificação utilizou-se o método da interpolação na curva analítica. Na TABELA 7.3 são apresentados os resultados obtidos para os teores de AF determinados empregando-se o método amperométrico proposto e o método espectrofotométrico como método comparativo.

TABELA 7.3 – Determinação de AF em amostras usando o método amperométrico proposto e o método comparativo espectrofotométrico

Amostras (mg L <sup>-1</sup> )	Amperométrico <sup>a</sup>	Espectrofotométrico <sup>a</sup>	Erro <sup>b</sup> (%)
Sérum A	40 ± 3	41 ± 1	-2,4
Sérum B	14 ± 1	13,4 ± 0,1	4,5
Comprimido	704 ± 52	724 ± 11	-2,8

<sup>a</sup> n = 3;

<sup>b</sup> erro médio relativo (%) = 100 [(valor amperométrico – valor espectrofotométrico)/ valor espectrofotométrico].

Para avaliar o nível de concordâncias dos resultados obtidos empregando-se os dois procedimentos, aplicou-se o teste *t*-pareado. Foi obtido um valor de  $t_{\text{experimental}}$  de 0,80, este valor foi menor que o  $t_{\text{crítico}} = 4,3$ , indicando que não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos empregando-se ambos os métodos, a um nível de confiança de 95 %. Além disso, vale ressaltar que os erros obtidos estão dentro de um intervalo aceitável<sup>206</sup>, apresentando assim uma exatidão satisfatória para o método amperométrico proposto.

## 7.4 Conclusões parciais

O uso do eletrodo AuNPs/3D-RVC promoveu um importante aumento da corrente de pico anódica para este AF. Sob condições experimentais ótimas, utilizando a técnica de amperometria foi possível obter uma faixa linear de resposta de 0,07 a 2,2 μmol L<sup>-1</sup> e um limite de detecção de 0,009 μmol L<sup>-1</sup> (9,0 nmol L<sup>-1</sup>). Este *LOD* obtido foi significativamente mais baixo do que os obtidos nos outros métodos eletroanalíticos já descritos na literatura.

Adicionalmente, o sensor proposto apresentou satisfatórias precisão e seletividade como mostrado a partir de estudos de repetibilidade

e interferentes. Finalmente, adequada exatidão do procedimento amperométrico proposto para a determinação de AF foi obtida por meio da determinação deste composto em amostras comerciais de cosméticos e formulação farmacêutica, comparando-as com um método espectrofotométrico.

# **CAPÍTULO 8**

## **8 – Conclusões gerais**

Todos os sensores e métodos propostos neste trabalho de doutorado foram considerados muito atraentes, pois são métodos simples e rápidos, de baixo custo, com emprego de reagentes de baixa toxicidade, e ainda apresentaram elevada sensibilidade. Estes métodos podem ser importantes ferramentas para o auxílio no controle de qualidade nas indústrias e no diagnóstico em clínica médica, no caso da determinação de fármacos. Já no caso da determinação dos poluentes ambientais, pode-se auxiliar no monitoramento da contaminação de leitos dos rios e dos alimentos provenientes das culturas tratadas com pesticidas.

# **CAPÍTULO 9**

## 9 – Referências

1. GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z. & NAMIEŚNIK, J., "The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices". *TrAC, Trends Anal. Chem.* **50**(0): 78, 2013.
2. ARMENTA, S.; GARRIGUES, S. & DE LA GUARDIA, M., "Green Analytical Chemistry". *TrAC, Trends Anal. Chem.* **27**(6): 497, 2008.
3. TOBISZEWSKI, M.; MECHLINSKA, A. & NAMIESNIK, J., "Green analytical chemistry-theory and practice". *Chem. Soc. Rev.* **39**(8): 2869, 2010.
4. SORIANO, M.L.; ZOUGAGH, M.; VALCÁRCEL, M. & RÍOS, Á., "Analytical nanoscience and nanotechnology: where we are and where we are heading". *Talanta.* **177**: 104, 2018.
5. STRADIOTTO, N.R.; YAMANAKA, H. & ZANONI, M.V.B., "Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry". *J. Brazil. Chem. Soc.* **14**(2): 159, 2003.
6. ALBAREDA-SIRVENT, M.; MERKOCI, A. & ALEGRET, S., "Configurations used in the design of screen-printed enzymatic biosensors. A review". *Sensor. Actuat. B: Chem.* **69**(1): 153, 2000.
7. LI, M.; LI, Y.-T.; LI, D.-W. & LONG, Y.-T., "Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays—A review". *Anal. Chim. Acta.* **734**: 31, 2012.
8. GALLI, A.; DE SOUZA, D.; GARBELLINI, G.S.; COUTINHO, C.F.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A. & MACHADO, S.A.S., "Electroanalytical techniques for the determination of pesticides in foods.". *Quim. Nova.* **29**(1): 105, 2006.
9. BAREK, J.; FISCHER, J.; NAVRATIL, T.; PECKOVA, K.; YOSYPCHUK, B. & ZIMA, J., "Nontraditional electrode materials in environmental analysis of biologically active organic compounds". *Electroanalysis.* **19**(19-20): 2003, 2007.
10. ZAYTSEVA, O. & NEUMANN, G., "Carbon nanomaterials: production, impact on plant development, agricultural and environmental applications". *Chemical and Biological Technologies in Agriculture.* **3**(1): 17, 2016.
11. SINHA, A.; JAIN, R.; ZHAO, H.; KAROLIA, P. & JADON, N., "Voltammetric sensing based on the use of advanced carbonaceous nanomaterials: a review". *Microchim. Acta.* **185**(2): 89, 2018.
12. POWER, A.C.; GOREY, B.; CHANDRA, S. & CHAPMAN, J., "Carbon nanomaterials and their application to electrochemical sensors: a review". *Nanotechnol. Rev.* **7**(1): 19, 2018.
13. WALSH, F.; ARENAS, L.; DE LEÓN, C.P.; READE, G.; WHYTE, I. & MELLOR, B., "The continued development of reticulated vitreous carbon as a versatile electrode material: Structure, properties and applications". *Electrochim. Acta.* **215**: 566, 2016.
14. SILVA, T.A.; MORAES, F.C.; JANEGITZ, B.C. & FATIBELLO-FILHO, O., "Electrochemical Biosensors Based on Nanostructured Carbon Black: A Review". *J. Nanomat.* **2017**: 14, 2017.
15. JIANG, Z.; JIN, J.; XIAO, C. & LI, X., "Effect of surface modification of carbon black (CB) on the morphology and crystallization of poly(ethylene terephthalate)/CB masterbatch". *Colloids Surf. A.* **395**: 105, 2012.
16. GRAY, C.A. & MURANKO, H., "Studies of robustness of industrial aciniform aggregates and agglomerates—Carbon black and amorphous silicas: A review amplified by new data". *J. Occup. Environ. Med.* **48**(12): 1279, 2006.



17. KUHNBUSCH, T. & FISSAN, H., "Particle characteristics in the reactor and pelletizing areas of carbon black production". *J. Occup. Environ. Hyg.* **3**(10): 558, 2006.
18. ASSOCIATION, I.C.B., "Carbon Black User's Guide, Safety, Health, & Environmental Information". *International Carbon Black Association*, 2004.
19. LEVY, L.; CHAUDHURI, I.S.; KRUEGER, N. & MCCUNNEY, R.J., "Does carbon black disaggregate in lung fluid? A critical assessment". *Chem. Res. Toxicol.* **25**(10): 2001, 2012.
20. LONG, C.M.; NASCARELLA, M.A. & VALBERG, P.A., "Carbon black vs. black carbon and other airborne materials containing elemental carbon: Physical and chemical distinctions". *Environ. Pollut.* **181**: 271, 2013.
21. FABRY, F.; FLAMANT, G. & FULCHERI, L., "Carbon black processing by thermal plasma. Analysis of the particle formation mechanism". *Chem. Eng. Sci.* **56**(6): 2123, 2001.
22. DONNET, J.-B., *Carbon black: science and technology*. 1993: CRC Press.
23. WANG, M.J.; GRAY, C.A.; REZNEK, S.A.; MAHMUD, K. & KUTSOVSKY, Y., "Carbon black". *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 2000.
24. CARMO, M.; DOS SANTOS, A.R.; POCO, J.G. & LINARDI, M., "Physical and electrochemical evaluation of commercial carbon black as electrocatalysts supports for DMFC applications". *J. Power Sources.* **173**(2): 860, 2007.
25. VULCAN® XC72 Conductive Carbon Black, <http://www.quintech.de/img/technische-informationen/MSDS-Datasheet/Katalysatoren/Datasheets/Datasheet-VULCAN-XC72.pdf>, accessed 08.02.2019.
26. LÁZARO, M.; CALVILLO, L.; CELORRIO, V.; PARDO, J.; PERATHONER, S. & MOLINER, R., "Study and application of carbon black Vulcan XC-72R in polymeric electrolyte fuel cells". *Carbon Black: Production, Properties and Uses*: 41, 2011.
27. Specialty carbon blacks for plastic film and sheet applications, <http://www.cabotcorp.com/~-/media/files/brochures/specialty-carbon-blacks/brochure-specialty-carbon-blacks-for-plastic-film-and-sheet-applications.pdf>, accessed 08.02.2019.
28. ZANARDI, C.; PIGANI, L.; SEEBER, R.; TERZI, F.; ARDUINI, F.; CINTI, S.; MOSCONE, D. & PALLESCHI, G., *Carbon Black/Gold Nanoparticles Composite for Efficient Amperometric Sensors*, in *Sensors*. 2015, Springer. p. 159.
29. VULCAN® 6 carbon black, [https://www.fetc.com.tw/upload/files/N-220\(V6\).pdf](https://www.fetc.com.tw/upload/files/N-220(V6).pdf), accessed 08.02.2019.
30. SILVA, T.A.; MORAES, F.C.; JANEGITZ, B.C. & FATIBELLO-FILHO, O., "Electrochemical Biosensors Based on Nanostructured Carbon Black: A Review". *J. Nanomat.* **2017** 2017.
31. WATSON, A.Y. & VALBERG, P.A., "Carbon black and soot: Two different substances". *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **62**(2): 218, 2001.
32. VICENTINI, F.C.; RAVANINI, A.E.; FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; INIESTA, J.; BANKS, C.E. & FATIBELLO-FILHO, O., "Imparting improvements in electrochemical sensors: evaluation of different carbon blacks that give rise to significant improvement in the performance of electroanalytical sensing platforms". *Electrochim. Acta.* **157**: 125, 2015.
33. DEROCO, P.B.; ROCHA-FILHO, R.C. & FATIBELLO-FILHO, O., "A new and simple method for the simultaneous determination of amoxicillin and nimesulide

- using carbon black within a dihexadecylphosphate film as electrochemical sensor". *Talanta*. **179**: 115, 2018.
34. TOMEI, M.R.; ARDUINI, F.; NEAGU, D. & MOSCONE, D., "Carbon black-based disposable sensor for an on-site detection of free chlorine in swimming pool water". *Talanta*. **189**: 262, 2018.
  35. ŁAWRYWIANIEC, M.; SMAJDOR, J.; PACZOSA-BATOR, B. & PIECH, R., "Application of a glassy carbon electrode modified with carbon black nanoparticles for highly sensitive voltammetric determination of quetiapine". *Anal. Method*. **9**(47): 6662, 2017.
  36. FERRARI, P.E. & REZENDE, M.C., "Carbono polimérico: processamento e aplicação". *Polímeros*. **6**(4): 35, 1998.
  37. GONCALVES, E.S.; REZENDE, M.C.; BALDAN, M.R. & FERREIRA, N.G., "Thermal treatment effect on the microstructure, turbostraticity and surface of reticulated vitreous carbon analyzed by XPS, Raman scattering and cyclic voltammetry". *Quim. Nova*. **32**(1): 158, 2009.
  38. FRIEDRICH, J.; PONCE-DE-LEÓN, C.; READE, G. & WALSH, F., "Reticulated vitreous carbon as an electrode material". *J. Electroanal. Chem.* **561**: 203, 2004.
  39. GONCALVES DA SILVA, L.L.; FERREIRA, L.G.; SANTOS, A.L.; BOTELHO, E.C.; TOTH, A. & KOSTOV, K.G., "Treatment of Reticulated Vitreous Carbon by Dielectric Barrier Discharge Plasma for Electrodes Production". *IEEE Trans. Plasma Sci.* **41**(12): 3207, 2013.
  40. FRIEDRICH, J.M.; PONCE-DE-LEON, C.; READE, G.W. & WALSH, F.C., "Reticulated vitreous carbon as an electrode material". *J. Electroanal. Chem.* **561**(1-2): 203, 2004.
  41. WANG, J., "Reticulated vitreous carbon—a new versatile electrode material". *Electrochim. Acta*. **26**(12): 1721, 1981.
  42. DENG, C.Y.; PENG, Y.; SU, L.; LIU, Y.N. & ZHOU, F.M., "On-line removal of redox-active interferents by a porous electrode before amperometric blood glucose determination". *Anal. Chim. Acta*. **719**: 52, 2012.
  43. LANGE, M.A. & CHAMBERS, J.Q., "Amperometric determination of glucose with a ferrocene-mediated glucose-oxidase polyacrylamide-gel electrode". *Anal. Chim. Acta*. **175**: 89, 1985.
  44. WIECK, H.J.; HEIDER, G.H. & YACYNYCH, A.M., "Chemically modified reticulated vitreous carbon electrode with immobilized enzyme as a detector in flow-injection determination of glucose". *Anal. Chim. Acta*. **158**(1): 137, 1984.
  45. WIECK, H.J.; SHEA, C. & YACYNYCH, A.M., "Reticulated vitreous carbon electrode materials chemically modified with immobilized enzyme". *Anal. Chim. Acta*. **142**: 277, 1982.
  46. JARABA, P.; AGUI, L.; YANEZ-SEDENO, P. & PINGARRON, J.M., "NADH amperometric sensor based on poly(3-methylthiophene)-coated cylindrical carbon fiber microelectrodes: application to the enzymatic determination of L-lactate". *Electrochim. Acta*. **43**(23): 3555, 1998.
  47. SHEDGE, H.Y. & CREAGER, S.E., "Evaluation of non-specific binding suppression schemes for neutravidin and alkaline phosphatase at the surface of reticulated vitreous carbon electrodes". *Anal. Chim. Acta*. **657**(2): 154, 2010.
  48. PENA, N.; REVIEJO, A.J. & PINGARRON, J.M., "Detection of phenolic compounds in flow systems based on tyrosinase-modified reticulated vitreous carbon electrodes". *Talanta*. **55**(1): 179, 2001.

49. HEIDER, G.H.; SASSO, S.V.; HUANG, K.M.; YACYNYCH, A.M. & WIECK, H.J., "Electrochemical platinization of reticulated vitreous carbon electrodes to increase biosensor response". *Anal. Chem.* **62**(11): 1106, 1990.
50. SAIDMAN, S.B. & BESSONE, J.B., "The influence of electrode material on NAD(+) oxidation". *Electrochim. Acta.* **45**(19): 3151, 2000.
51. BABANOVA, S.; MARTINEZ, U.; ARTYUSHKOVA, K.; ASAZAWA, K.; TANAKA, H. & ATANASSOV, P., "Hydrazine Sensor for Quantitative Determination of High Hydrazine Concentrations for Direct Hydrazine Fuel Cell Vehicle Applications". *J. Electrochem. Soc.* **161**(3): H79, 2014.
52. TOUGAS, T. & CURRAN, D., "Stopped-flow linear sweep voltammetry at the reticulated vitreous carbon electrode in a flow injection system: Determination of dopamine in the presence of ascorbic acid". *Anal. Chim. Acta.* **161**: 325, 1984.
53. HRNCIROVA, P.; OPEKAR, F. & STULIK, K., "An amperometric solid-state NO<sub>2</sub> sensor with a solid polymer electrolyte and a reticulated vitreous carbon indicator electrode". *Sensor. Actuat. B: Chem.* **69**(1): 199, 2000.
54. FIGUEIREDO, L.C.S.; BROWNSON, D.A.C.; FATIBELLO, O. & BANKS, C.E., "Electroanalytical Performance of a Freestanding Three-Dimensional Graphene Foam Electrode". *Electroanalysis.* **26**(1): 93, 2014.
55. BROWNSON, D.A.C.; FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; JI, X.; GOMEZ-MINGOT, M.; INIESTA, J.; FATIBELLO-FILHO, O.; KAMPOURIS, D.K. & BANKS, C.E., "Freestanding three-dimensional graphene foam gives rise to beneficial electrochemical signatures within non-aqueous media". *J. Mater. Chem. A.* **1**(19): 5962, 2013.
56. RAHI, A.; KARIMIAN, K. & HELI, H., "Nanostructured materials in electroanalysis of pharmaceuticals". *Anal. Biochem.* **497**: 39, 2016.
57. WANG, Z.; YU, J.; GUI, R.; JIN, H. & XIA, Y., "Carbon nanomaterials-based electrochemical aptasensors". *Biosens. Bioelectron.* **79**: 136, 2016.
58. SAU, T.K.; ROGACH, A.L.; JÄCKEL, F.; KLAR, T.A. & FELDMANN, J., "Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles". *Adv. Mater.* **22**(16): 1805, 2010.
59. ZHOU, L.; ZHANG, T.; TAO, Z. & CHEN, J., "Ni nanoparticles supported on carbon as efficient catalysts for the hydrolysis of ammonia borane". *Nano Res.* **7**(5): 774, 2014.
60. IQBAL, S.; KONDRAT, S.A.; JONES, D.R.; SCHOENMAKERS, D.L.C.; EDWARDS, J.K.; LU, L.; YEO, B.R.; WELLS, P.P.; GIBSON, E.K. & MORGAN, D.J., "Ruthenium nanoparticles supported on carbon: an active catalyst for the hydrogenation of lactic acid to 1, 2-propanediol". *ACS Catal.* **5**(9): 5047, 2015.
61. XIA, J.; FU, Y.; HE, G.; SUN, X. & WANG, X., "Core-shell-like Ni-Pd nanoparticles supported on carbon black as a magnetically separable catalyst for green Suzuki-Miyaura coupling reactions". *Appl. Catal. B.* **200**: 39, 2017.
62. HUANG, M.; ZHANG, J.; WU, C. & GUAN, L., "Networks of connected Pt nanoparticles supported on carbon nanotubes as superior catalysts for methanol electrooxidation". *J. Power Sources.* **342**: 273, 2017.
63. BLANDEZ, J.F.; ESTEVE-ADELL, I.; PRIMO, A.; ALVARO, M. & GARCÍA, H., "Nickel nanoparticles supported on graphene as catalysts for aldehyde hydrosilylation". *J. Mol. Catal. A: Chem.* **412**: 13, 2016.
64. SONG, X.; GAO, L.; LI, Y.; MAO, L. & YANG, J.-H., "A sensitive and selective electrochemical nitrite sensor based on glassy carbon electrode modified with cobalt phthalocyanine-supported Pd nanoparticles". *Anal. Method.*, 2017.

65. ZENG, J.-Q.; SUN, S.-N.; ZHONG, J.-P.; LI, X.-F.; WANG, R.-X.; WU, L.-N.; WANG, L. & FAN, Y.-J., "Pd nanoparticles supported on copper phthalocyanine functionalized carbon nanotubes for enhanced formic acid electrooxidation". *Int. J. Hydrogen Energ.* **39**(28): 15928, 2014.
66. KHOZA, P. & NYOKONG, T., "Photocatalytic behavior of phthalocyanine-silver nanoparticle conjugates supported on polystyrene fibers". *J. Mol. Catal. A: Chem.* **395**: 34, 2014.
67. ONO, L.K.; BEHAFARID, F. & CUENYA, B.R., "Nano-Gold Diggers: Au-Assisted SiO<sub>2</sub>-Decomposition and Desorption in Supported Nanocatalysts". *ACS Nano.* **7**(11): 10327, 2013.
68. POOLE, C.P.J., *Introduction to nanotechnology*. 2003: Willey interscience.
69. PEREIRA, F.C.; BERGAMO, E.P.; BOLDRIN ZANONI, M.V.; MORETTO, L.M. & UGO, P., "Applications of nanoelectrodes as sensors in analytical chemistry". *Quim. Nova.* **29**(5): 1054, 2006.
70. CAMPBELL, F.W. & COMPTON, R.G., "The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review". *Anal. Bioanal. Chem.* **396**(1): 241, 2010.
71. WANG, S.F.; XU, Q. & LIU, G.D., "Differential pulse voltammetric determination of uric acid on carbon-coated iron nanoparticle modified glassy carbon electrodes". *Electroanalysis.* **20**(10): 1116, 2008.
72. MARÍN, S. & MERKOÇI, A., "Nanomaterials based electrochemical sensing applications for safety and security". *Electroanalysis.* **24**(3): 459, 2012.
73. COX, J.T. & ZHANG, B., "Nanoelectrodes: recent advances and new directions". *Annu. Rev. Anal. Chem.* **5**: 253, 2012.
74. COMPTON, R.G.; WILDGOOSE, G.G.; REES, N.V.; STREETER, I. & BARON, R., "Design, fabrication, characterisation and application of nanoelectrode arrays". *Chem. Phys. Lett.* **459**(1-6): 1, 2008.
75. FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; SILVA, T.A.; VICENTINI, F.C. & FATIBELLO-FILHO, O., "Simultaneous voltammetric determination of dopamine and epinephrine in human body fluid samples using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon nanotubes within a dihexadecylphosphate film". *Analyst.* **139**(11): 2842, 2014.
76. SARTORI, E.R.; VICENTINI, F.C. & FATIBELLO-FILHO, O., "Indirect determination of sulfite using a polyphenol oxidase biosensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and gold nanoparticles within a poly(allylamine hydrochloride) film". *Talanta.* **87**: 235, 2011.
77. YOGESWARAN, U. & CHEN, S.-M., "A review on the electrochemical sensors and biosensors composed of nanowires as sensing material". *Sensors.* **8**(1): 290, 2008.
78. TURKEVICH, J.; STEVENSON, P.C. & HILLIER, J., "A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold". *Discuss. Farad. Soc.* **11**(0): 55, 1951.
79. BALASUBRAMANIAN, S.K.; YANG, L.; YUNG, L.-Y.L.; ONG, C.-N.; ONG, W.-Y. & YU, L.E., "Characterization, purification, and stability of gold nanoparticles". *Biomaterials.* **31**(34): 9023, 2010.
80. MELO JR, M.A.; SANTOS, L.S.S.; GONÇALVES, M.D.C. & NOGUEIRA, A.F., "Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino". *Quim. Nova*, 2012.
81. CHIANG, H.-C.; WANG, Y.; ZHANG, Q. & LEVON, K., "Optimization of the Electrodeposition of Gold Nanoparticles for the Application of Highly Sensitive, Label-Free Biosensor". *Biosensors.* **9**(2): 50, 2019.

82. MOHANTY, U., "Electrodeposition: a versatile and inexpensive tool for the synthesis of nanoparticles, nanorods, nanowires, and nanoclusters of metals". *J. Appl. Electrochem.* **41**(3): 257, 2011.
83. BEITOLLAHI, H.; KARIMI-MALEH, H. & KHABAZZADEH, H., "Nanomolar and Selective Determination of Epinephrine in the Presence of Norepinephrine Using Carbon Paste Electrode Modified with Carbon Nanotubes and Novel 2-(4-Oxo-3-phenyl-3,4-dihydro-quinazoliny)-N'-phenyl-hydrazinecarbothioamide". *Anal. Chem.* **80**(24): 9848, 2008.
84. VIDOTTI, M.; TORRESI, R. & TORRESI, S.I., "Nickel hydroxide modified electrodes: a review study concerning its structural and electrochemical properties aiming the application in electrocatalysis, electrochromism and secondary batteries". *Quim. Nova.* **33**(10): 2176, 2010.
85. BATCHELOR-MCAULEY, C. & WILDGOOSE, G.G., "The influence of substrate effects when investigating new nanoparticle modified electrodes exemplified by the electroanalytical determination of aspirin on NiO nanoparticles supported on graphite". *Electrochem. Commun.* **10**(8): 1129, 2008.
86. ROUSHANI, M.; ABDI, Z.; DANESHFAR, A. & SALIMI, A., "Hydrogen peroxide sensor based on riboflavin immobilized at the nickel oxide nanoparticle-modified glassy carbon electrode". *J. Appl. Electrochem.* **43**(12): 1175, 2013.
87. YUAN, B.; ZENG, X.; DENG, D.; XU, C.; LIU, L.; ZHANG, J.; GAO, Y. & PANG, H., "Electrochemical determination of glutathione based on an electrodeposited nickel oxide nanoparticles-modified glassy carbon electrode". *Anal. Method.* **5**(7): 1779, 2013.
88. ZHIGUO, G.; SHUPING, Y.; ZAIJUN, L.; XIULAN, S.; GUANGLI, W.; YINJUN, F. & JUNKANG, L., "An ultrasensitive electrochemical biosensor for glucose using CdTe-CdS core-shell quantum dot as ultrafast electron transfer relay between graphene-gold nanocomposite and gold nanoparticle". *Electrochim. Acta.* **56**(25): 9162, 2011.
89. CANCAR, D.H.; SOYLEMEZ, S.; AKPINAR, Y.; KESIK, M.; GÖKER, S.; GUNBAS, G.; VOLKAN, M. & TOPPARE, L., "A Novel acetylcholinesterase biosensor: core-shell magnetic nanoparticles incorporating a conjugated polymer for the detection of organophosphorus pesticides". *ACS Appl. Mater. Interf.* **8**(12): 8058, 2016.
90. LÓPEZ-SUÁREZ, F.E.; BUENO-LÓPEZ, A.; EGUILUZ, K.I.B. & SALAZAR-BANDA, G.R., "Pt-Sn/C catalysts prepared by sodium borohydride reduction for alcohol oxidation in fuel cells: Effect of the precursor addition order". *J. Power Sources.* **268**: 225, 2014.
91. LIU, J.-H.; WANG, A.-Q.; CHI, Y.-S.; LIN, H.-P. & MOU, C.-Y., "Synergistic effect in an Au-Ag alloy nanocatalyst: CO oxidation". *J. Phys. Chem. B.* **109**(1): 40, 2005.
92. SHARMA, G.; KUMAR, A.; SHARMA, S.; NAUSHAD, M.; DWIVEDI, R.P.; ALOTHMAN, Z.A. & MOLA, G.T., "Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: A Review". *J. King Saud Univ.* **31**(2): 257, 2017.
93. FERRER, D.; TORRES-CASTRO, A.; GAO, X.; SEPÚLVEDA-GUZMÁN, S.; ORTIZ-MÉNDEZ, U. & JOSÉ-YACAMÁN, M., "Three-layer core/shell structure in Au-Pd bimetallic nanoparticles". *Nano Lett.* **7**(6): 1701, 2007.
94. OKAMOTO, H., *Phase diagrams for binary alloys*. 2nd ed. ASM International. 2010, United States of America Materials Park.

95. WAN, Q.; LIU, Y.; WANG, Z.; WEI, W.; LI, B.; ZOU, J. & YANG, N., "Graphene nanoplatelets supported metal nanoparticles for electrochemical oxidation of hydrazine". *Electrochem. Commun.* **29**: 29, 2013.
96. DUTTA, S.; RAY, C.; MALLICK, S.; SARKAR, S.; ROY, A. & PAL, T., "Au@ Pd core-shell nanoparticles-decorated reduced graphene oxide: a highly sensitive and selective platform for electrochemical detection of hydrazine". *RSC Advances*. **5**(64): 51690, 2015.
97. CHEN, X.; LIU, W.; TANG, L.; WANG, J.; PAN, H. & DU, M., "Electrochemical sensor for detection of hydrazine based on Au@ Pd core-shell nanoparticles supported on amino-functionalized TiO<sub>2</sub> nanotubes". *Mater. Sci. Eng. C*. **34**: 304, 2014.
98. MARINGA, A.; MASHAZI, P. & NYOKONG, T., "Electrocatalytic activity of bimetallic Au-Pd nanoparticles in the presence of cobalt tetraaminophthalocyanine". *J. Colloid Interface Sci.* **440**: 151, 2015.
99. JALLOW, M.F.A.; AWADH, D.G.; ALBAHO, M.S.; DEVI, V.Y. & THOMAS, B.M., "Pesticide risk behaviors and factors influencing pesticide use among farmers in Kuwait". *Sci. Total Environ.* **574**: 490, 2017.
100. BRACK, W.; DULIO, V. & SLOBODNIK, J., "The NORMAN Network and its activities on emerging environmental substances with a focus on effect-directed analysis of complex environmental contamination". *Environ. Sci. Eur.* **24**(1): 29, 2012.
101. ARIAS-ESTEVEZ, M.; LOPEZ-PERIAGO, E.; MARTINEZ-CARBALLO, E.; SIMAL-GANDARA, J.; MEJUTO, J.C. & GARCIA-RIO, L., "The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources". *Agric. Ecosyst. Environ.* **123**(4): 247, 2008.
102. YOUNES, M. & GALAL-GORCHEV, H., "Pesticides in drinking water—A case study". *Food Chem. Toxicol.* **38**: S87, 2000.
103. MITCHELL, G.; BARTLETT, D.W.; FRASER, T.E.M.; HAWKES, T.R.; HOLT, D.C.; TOWNSON, J.K. & WICHERT, R.A., "Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize". *Pest Manag. Sci.* **57**(2): 120, 2001.
104. LEWIS, R.W. & BOTHAM, J.W., "A review of the mode of toxicity and relevance to humans of the triketone herbicide 2-(4-methylsulfonyl-2-nitrobenzoyl)-1, 3-cyclohexanedione". *Cr. Rev. Toxicol.* **43**(3): 185, 2013.
105. Herbicide; registration; in; brazil; <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/file/defis/dfi/bulas/herbicidas/callisto.pdf>; 2016; (ACCESSED & 30.05.16).
106. AUTHORITY; EUROPEAN; FOOD & SAFETY, "Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance mesotrione". *EFSA Journal*. **14**(3): 103, 2016.
107. BOELS, D.; MONTEIL-GANIERE, C.; TURCANT, A.; BRETAUDEAU, M. & HARRY, P., "Triketone toxicity: A report on two cases of sulcotrione poisoning". *Hum. Exp. Toxicol.* **32**(7): 778, 2013.
108. WAGHEU, J.K.; FORANO, C.; BESSE-HOGGAN, P.; TONLE, I.K.; NGAMENI, E. & MOUSTY, C., "Electrochemical determination of mesotrione at organoclay modified glassy carbon electrodes". *Talanta*. **103**: 337, 2013.
109. ERDOGDU, G. & TITRETIR, S., "Voltammetric determination of mesotrione at hanging mercury drop electrode". *J. Anal. Chem.* **62**(8): 777, 2007.
110. BARCHANSKA, H.; MARKOWSKI, P. & STRZEBIN, M., "Electrochemical determination of mesotrione and its degradation products on glassy carbon electrode". *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **98**(6): 493, 2018.
111. HDIOUECH, S.; BRUNA, F.; BATISSON, I.; BESSE-HOGGAN, P.; PREVOT, V. & MOUSTY, C., "Amperometric detection of the herbicide mesotrione based on

- competitive reactions at nitroreductase@ layered double hydroxide bioelectrode". *J. Electroanal. Chem.* **835**: 324, 2019.
112. GEISSEN, V.; MOL, H.; KLUMPP, E.; UMLAUF, G.; NADAL, M.; VAN DER PLOEG, M.; VAN DE ZEE, S.E. & RITSEMA, C.J., "Emerging pollutants in the environment: a challenge for water resource management". *Int. Soil Water Cons.Res.* **3**(1): 57, 2015.
113. NORMAN List of Emerging Substances, <http://www.norman-network.net/?q=node/81>, accessed 10.11.2017.
114. US EPA, *Health and Environmental Effects profile for Hydrazine and Hydrazine Sulfate*. Environmental Criteria and Assessment Office, Office of Health and Environmental Assessment, Office of Research and Development, Cincinnati, OH. 1984, Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency.
115. PINGARRÓN, J.M.; ORTIZ HERNÁNDEZ, I.; GONZÁLEZ-CORTÉS, A. & YÁÑEZ-SEDEÑO, P., "Carbon fibre microelectrodes modified with rhodium for the electrocatalytic determination of hydrazine". *Anal. Chim. Acta.* **439**(2): 281, 2001.
116. US EPA, *Integrated Risk Information System (IRIS) on Hydrazine/Hydrazine Sulfate*. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development. 1999, Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency.
117. CHOUDHARY, G. & HANSEN, H., "Human health perspective of environmental exposure to hydrazines: A review". *Chemosphere.* **37**(5): 801, 1998.
118. CANALES, C.; GIDI, L.; ARCE, R. & RAMIREZ, G., "Hydrazine electrooxidation mediated by transition metal octaethylporphyrin-modified electrodes". *New J. Chem.* **40**(3): 2806, 2016.
119. DING, J.; ZHU, S.; ZHU, T.; SUN, W.; LI, Q.; WEI, G. & SU, Z., "Hydrothermal synthesis of zinc oxide-reduced graphene oxide nanocomposites for an electrochemical hydrazine sensor". *RSC Advances.* **5**(29): 22935, 2015.
120. KRITTAYAVATHANANON, A.; SRIMUK, P.; LUANWUTHI, S. & SAWANGPHRUK, M., "Palladium nanoparticles decorated on reduced graphene oxide rotating disk electrodes toward ultrasensitive hydrazine detection: effects of particle size and hydrodynamic diffusion". *Anal. Chem.* **86**(24): 12272, 2014.
121. LEE, J.Y.; NGUYEN, T.L.; PARK, J.H. & KIM, B.-K., "Electrochemical detection of hydrazine using poly(dopamine)-modified electrodes". *Sensors.* **16**(5): 647, 2016.
122. LEE, K.K.; LOH, P.Y.; SOW, C.H. & CHIN, W.S., "CoOOH nanosheet electrodes: simple fabrication for sensitive electrochemical sensing of hydrogen peroxide and hydrazine". *Biosens. Bioelectron.* **39**(1): 255, 2013.
123. MALIK, P.; SRIVASTAVA, M.; VERMA, R.; KUMAR, M.; KUMAR, D. & SINGH, J., "Nanostructured SnO<sub>2</sub> encapsulated guar-gum hybrid nanocomposites for electrocatalytic determination of hydrazine". *Mater. Sci. Eng. C.* **58**: 432, 2016.
124. WU, M.; DING, W.; MENG, J.L.; NI, H.M.; LI, Y. & MA, Q.H., "Electrocatalytic behavior of hemoglobin oxidation of hydrazine based on ZnO nano-rods with carbon nanofiber modified electrode". *Anal. Sci.* **31**(10): 1027, 2015.
125. ZHANG, Y.; BO, X.; NSABIMANA, A.; HAN, C.; LI, M. & GUO, L., "Electrocatalytically active cobalt-based metal-organic framework with incorporated macroporous carbon composite for electrochemical applications". *J. Mater. Chem. A.* **3**(2): 732, 2015.

126. ZHOU, B.; YANG, J. & JIANG, X., "Porous Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods synthesized from thermal decomposition of coordination polymer and used in hydrazine electrochemical sensing". *Mater. Lett.* **159**: 362, 2015.
127. ABBAR, J.C.; MALODE, S.J. & NANDIBEWOR, S.T., "Electrochemical determination of a hemorheologic drug, pentoxifylline at a multi-walled carbon nanotube paste electrode". *Bioelectrochemistry.* **83**: 1, 2012.
128. NUSSBAUMER, S.; BONNABRY, P.; VEUTHEY, J.-L. & FLEURY-SOUVERAIN, S., "Analysis of anticancer drugs: A review". *Talanta.* **85**(5): 2265, 2011.
129. GOODMAN, L.S., *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. Vol. 1549. 1996: McGraw-Hill New York.
130. KRISTENSEN, D.M.; MAZAUD-GUITTOT, S.; GAUDRIAULT, P.; LESNÉ, L.; SERRANO, T.; MAIN, K.M. & JÉGOU, B., "Analgesic use—prevalence, biomonitoring and endocrine and reproductive effects". *Nat. Rev. Endocrinol.* **12**(7): 381, 2016.
131. BOSCH, M.E.; SANCHEZ, A.J.R.; ROJAS, F.S. & OJEDA, C.B., "Determination of paracetamol: Historical evolution". *J. Pharmaceut. Biomed.* **42**(3): 291, 2006.
132. JEFFERIES, S.; SAXENA, M. & YOUNG, P., "Paracetamol in critical illness: a review". *Crit. Care Resusc.* **14**(1): 74, 2012.
133. SOLIMAN, M.M.; NASSAN, M.A. & ISMAIL, T.A., "Immunohistochemical and molecular study on the protective effect of curcumin against hepatic toxicity induced by paracetamol in Wistar rats". *BMC Complement. Altern. Med.* **14** 2014.
134. HOLUBEK, W.J.; KALMAN, S. & HOFFMAN, R.S., "Acetaminophen-induced acute liver failure: Results of a United States multicenter, prospective study". *Hepatology.* **43**(4): 880, 2006.
135. JAESCHKE, H.; WILLIAMS, C.D.; RAMACHANDRAN, A. & BAJT, M.L., "Acetaminophen hepatotoxicity and repair: the role of sterile inflammation and innate immunity". *Liver Int.* **32**(1): 8, 2012.
136. KULO, A.; PEETERS, M.Y.; ALLEGAERT, K.; SMITS, A.; DE HOON, J.; VERBESSELT, R.; LEWI, L.; VAN DE VELDE, M. & KNIBBE, C.A.J., "Pharmacokinetics of paracetamol and its metabolites in women at delivery and post-partum". *Br. J. Clin. Pharmacol.* **75**(3): 850, 2013.
137. WILLIAMS, D.G.; HATCH, D.J. & HOWARD, R.F., "Codeine phosphate in paediatric medicine". *Brit. J. Anaesth.* **86**(3): 413, 2001.
138. DAHAN, A.; WOLK, O.; ZUR, M.; AMIDON, G.L.; ABRAHAMSSON, B.; CRISTOFOLETTI, R.; GROOT, D.W.; KOPP, S.; LANGGUTH, P.; POLLI, J.E.; SHAH, V.P. & DRESSMAN, J.B., "Biowaiver Monographs for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Codeine Phosphate". *J. Pharm. Sci.* **103**(6): 1592, 2014.
139. RAEDER, J.C.; STEINE, S. & VATSGAR, T.T., "Oral ibuprofen versus paracetamol plus codeine for analgesia after ambulatory surgery". *Anesth. Analg.* **92**(6): 1470, 2001.
140. SCHUG, S.A., "Combination analgesia in 2005 - a rational approach: focus on paracetamol-tramadol". *Clin. Rheumatol.* **25**: S16, 2006.
141. AFKHAMI, A.; KHOSHSAFAR, H.; BAGHERI, H. & MADRAKIAN, T., "Facile simultaneous electrochemical determination of codeine and acetaminophen in pharmaceutical samples and biological fluids by graphene CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite modified carbon paste electrode". *Sensor. Actuat. B-Chem.* **203**: 909, 2014.



142. BABAEI, A.; DEHDASHTI, A.; AFRASIABI, M.; BABAZADEH, M.; FARSHBAF, M. & BAMDAD, F., "A Sensor for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Codeine at Glassy Carbon Electrode Modified with Multi-Walled Carbon Nanotubes". *Sens. Lett.* **10**(3-4): 1039, 2012.
143. MASHHADIZADEH, M.H. & RASOULI, F., "Design of a New Carbon Paste Electrode Modified with TiO<sub>2</sub> Nanoparticles to Use in an Electrochemical Study of Codeine and Simultaneous Determination of Codeine and Acetaminophen in Human Plasma Serum Samples". *Electroanalysis*. **26**(9): 2033, 2014.
144. SRINIVASAN, M.; SUDHEER, A.R. & MENON, V.P., "Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property". *J. Clin. Biochem. Nutr.* **40**(2): 92, 2007.
145. OU, S. & KWOK, K.C., "Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods". *J. Sci. Food Agr.* **84**(11): 1261, 2004.
146. LI, L.-J.; YU, L.-B.; CHEN, Q.-F.; CHENG, H.; WU, F.-M.; WU, J.-L. & KONG, H.-X., "Determination of ferulic acid based on L-cysteine self-assembled modified gold electrode coupling irreversible biamperometry". *Chinese J. Anal. Chem.* **35**(7): 933, 2007.
147. ABDEL-HAMID, R. & NEWAIR, E., "Voltammetric Determination of Ferulic Acid Using Polypyrrole-Multiwalled Carbon Nanotubes Modified Electrode with Sample Application". *Nanomaterials*. **5**(4): 1704, 2015.
148. ERADY, V.; MASCARENHAS, R.J.; SATPATI, A.K.; DETRICHE, S.; MEKHALIF, Z.; DALHALLE, J. & DHASON, A., "Sensitive detection of Ferulic acid using multi-walled carbon nanotube decorated with silver nanoparticles modified carbon paste electrode". *J. Electroanal. Chem.* **806**: 22, 2017.
149. LIU, L.; GOU, Y.; GAO, X.; ZHANG, P.; CHEN, W.; FENG, S.; HU, F. & LI, Y., "Electrochemically reduced graphene oxide-based electrochemical sensor for the sensitive determination of ferulic acid in *A. sinensis* and biological samples". *Mater. Sci. Eng. C*. **42**: 227, 2014.
150. LIU, L.-J.; GAO, X.; ZHANG, P.; FENG, S.-L.; HU, F.-D.; LI, Y.-D. & WANG, C.-M., "Ultrasensitive detection of ferulic acid using poly (diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene-based electrochemical sensor". *J. Ana. Method. Chem.* **2014** 2014.
151. ZHAO, X.; ZHANG, Y.; GAO, D.; XIONG, H.; GAO, Y.; LI, S.; LI, X.; YANG, Z.; LIU, M. & DAI, J., "Electrochemical Behavior and Determination of four drugs using Multi-Wall Carbon Nanotubes Modified Glassy Carbon Electrode". *Int. J. Electrochem. Sci.* **14**(1): 506, 2019.
152. JANEK, R.P.; FAWCETT, W.R. & ULMAN, A., "Impedance spectroscopy of self-assembled monolayers on Au (111): evidence for complex double-layer structure in aqueous NaClO<sub>4</sub> at the potential of zero charge". *J. Phys. Chem. B*. **101**(42): 8550, 1997.
153. ZEBARDAST, H.; ROGAK, S. & ASSELIN, E., "Potential of zero charge of glassy carbon at elevated temperatures". *J. Electroanal. Chem.* **724**: 36, 2014.
154. BRUNS, R.E.; SCARMINIO, I.S. & NETO, B.D.B., *Statistical Design - Chemometrics*. 1st ed. 2006, New York: Elsevier Science.
155. CESARINO, I.; CAVALHEIRO, É.T. & BRETT, C.M., "Characterization of graphite-polyurethane composite electrodes modified with organofunctionalized SBA-15 nanostructured silica in the presence of heavy metal ions. Application to anodic stripping voltammetry". *Microchim. Acta*. **171**(1-2): 1, 2010.
156. HANSSSEN, B.L.; SIRAJ, S. & WONG, D.K., "Recent strategies to minimise fouling in electrochemical detection systems". *Rev. Anal. Chem.* **35**(1): 1, 2016.

157. ANANDHAKUMAR, S.; CHANDRASEKARAN, M. & NOEL, M., "Anodic oxidation of chlorophenols in micelles and microemulsions on glassy carbon electrode: the medium effect on electroanalysis and electrochemical detoxification". *J. Appl. Electrochem.* **40**(2): 303, 2010.
158. NARMADHA, M.; NOEL, M. & SURYANARAYANAN, V., "Relative deactivation of boron-doped diamond (BDD) and glassy carbon (GC) electrodes in different electrolyte media containing substituted phenols—Voltammetric and surface morphologic studies". *J. Electroanal. Chem.* **655**(2): 103, 2011.
159. BOCKRIS, J.; CONWAY, B. & WHITE, R., *Modern aspects of electrochemistry Vol. 29*. 1995: Springer.
160. BARD, A.J. & FAULKNER, L.R., *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. . 2nd ed. 2001, New York: John Wiley.
161. LICA, G.C. & TONG, Y.J., "Electrochemical impedance spectroscopic measurement of potential of zero charge of octanethiolate-protected Au and Pd nanoparticles". *J. Electroanal. Chem.* **688**: 349, 2013.
162. AUTHORITY, E.F.S., *Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance mesotrione*, JOURNAL, E., Editor. 2016. p. 103.
163. GOSSER, D.K., *Cyclic Voltammetry: Simulation and analysis of reaction mechanisms*. 1993, New York: VCH. 165.
164. O'DEA, J.J.; RIBES, A. & OSTERYOUNG, J.G., "Square-wave voltammetry applied to the totally irreversible reduction of adsorbate". *J. Electroanal. Chem.* **345**(1): 287, 1993.
165. DURAND, S.; LÉGERET, B.; MARTIN, A.S.; SANCELME, M.; DELORT, A.M.; BESSE-HOGGAN, P. & COMBOURIEU, B., "Biotransformation of the triketone herbicide mesotrione by a Bacillus strain. Metabolite profiling using liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry". *Rapid Commun. Mass Sp.* **20**(17): 2603, 2006.
166. MANZANILLA-CANO, J.A.; REYES-SALAS, E.O. & BARCELÓ-QUINTAL, M.H., "Electrochemical elimination of the pesticide methylparathion in an aqueous medium". *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **75**(4): 387, 1999.
167. SMYTH, M.R. & OSTERYOUNG, J.G., "A pulse polarographic investigation of parathion and some other nitro-containing pesticides". *Anal. Chim. Acta.* **96**(2): 335, 1978.
168. ZUMAN, P. & FIJALEK, Z., "Contribution to the understanding of the reduction mechanism of nitrobenzene". *J. Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.* **296**(2): 583, 1990.
169. TRINDADE, M.A.G.; BILIBIO, U. & ZANONI, M.V.B., "Enhancement of voltammetric determination of quinizarine based on the adsorption at surfactant-adsorbed-layer in disposable electrodes". *Fuel.* **136**: 201, 2014.
170. STANKOVIĆ, D.M.; MEHMETI, E.; SVORC, L. & KALCHER, K., "Simple, rapid and sensitive electrochemical method for the determination of the triketone herbicide sulcotrione in river water using a glassy carbon electrode". *Electroanalysis.* **27**(7): 1587, 2015.
171. VELASCO, J.G., "Determination of standard rate constants for electrochemical irreversible processes from linear sweep voltammograms". *Electroanalysis.* **9**(11): 880, 1997.
172. SILVA, T.A.; ZANIN, H.; VICENTINI, F.C.; CORAT, E.J. & FATIBELLO-FILHO, O., "Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of nanomolar levels of atorvastatin calcium in pharmaceutical and biological

- samples using a vertically aligned carbon nanotube/graphene oxide electrode". *Analyst*. **139**(11): 2832, 2014.
173. YE, Z.; WANG, L. & WEN, J., "A simple and sensitive method for determination of Norfloxacin in pharmaceutical preparations". *Braz. J. Pharm. Sci.* **51**(2): 429, 2015.
174. WANG, L.; LI, Y.; LI, G.; XIE, Z. & YE, B., "Electrochemical characters of hymecromone at the graphene modified electrode and its analytical application". *Anal. Method*. **7**(7): 3000, 2015.
175. WU, J.; WANG, L.; WANG, Q.; ZOU, L. & YE, B., "The novel voltammetric method for determination of hesperetin based on a sensitive electrochemical sensor". *Talanta*. **150**: 61, 2016.
176. LI, Y.; ZOU, L.; LI, Y.; LI, K. & YE, B., "A new voltammetric sensor for morphine detection based on electrochemically reduced MWNTs-doped graphene oxide composite film". *Sensor. Actuat. B: Chem.* **201**: 511, 2014.
177. JANEGITZ, B.C.; BACCARIN, M.; RAYMUNDO-PEREIRA, P.A.; DOS SANTOS, F.A.; OLIVEIRA, G.G.; MACHADO, S.A.; LANZA, M.R.; FATIBELLO-FILHO, O. & ZUCOLOTTI, V., "The use of dihexadecylphosphate in sensing and biosensing". *Sensor. Actuat. B: Chem.* **220**: 805, 2015.
178. RAMOS-MARTOS, N.; AGUIRRE-GOMEZ, F.; MOLINZ-DIAZ, A. & CAPITAN-VALLVEY, L.F., "Application of liquid chromatography to the simultaneous determination of acetylsalicylic acid, caffeine, codeine, paracetamol, pyridoxine, and thiamine in pharmaceutical preparations". *J. Aoac Int.* **84**(3): 676, 2001.
179. ROUSHANI, M.; SHAMSIPUR, M. & POURMORTAZAVI, S.M., "Amperometric detection of Glycine, L-Serine, and L-Alanine using glassy carbon electrode modified by NiO nanoparticles". *J. Appl. Electrochem.* **42**(12): 1005, 2012.
180. ICH, *Validation of analytical procedures: text and methodology*, GUIDELINE, I.H.T., Editor. 2005. p. 1.
181. RIBEIRO, F.A.L.; FERREIRA, M.M.C.; MORANO, S.C.; SILVA, L.R. & SCHNEIDER, R.P., "Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados". *Quim. Nova*. **31**: 164, 2008.
182. LAUBE, N.; MOHR, B. & HESSE, A., "Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines". *J. Cryst. Growth*. **233**(1-2): 367, 2001.
183. PARHAM, H. & ZARGAR, B., "Determination of isosorbide dinitrate in arterial plasma, synthetic serum and pharmaceutical formulations by linear sweep voltammetry on a gold electrode". *Talanta*. **55**(2): 255, 2001.
184. ADEKUNLE, A.S.; AGBOOLA, B.O.; PILLAY, J. & OZOEMENA, K.I., "Electrocatalytic detection of dopamine at single-walled carbon nanotubes-iron (III) oxide nanoparticles platform". *Sensor. Actuat. B-Chem.* **148**(1): 93, 2010.
185. RASTGAR, S. & SHAHROKHIAN, S., "Nickel hydroxide nanoparticles-reduced graphene oxide nanosheets film: Layer-by-layer electrochemical preparation, characterization and rifampicin sensory application". *Talanta*. **119**: 156, 2014.
186. ZOLGHARNEIN, J.; SHARIATMANESH, T. & BABAEI, A., "Multivariate optimization of a new 4-chlorophenol sensor fabricated by modification of glassy carbon electrode using Ni(OH)<sub>2</sub> nanoparticles-carbon nanotubes (NNH-MWCNTs)". *Sensor. Actuat. B-Chem.* **186**: 536, 2013.

187. VANBENSCHOTEN, J.J.; LEWIS, J.Y.; HEINEMAN, W.R.; ROSTON, D.A. & KISSINGER, P.T., "Cyclic voltammetry experiment". *J. Chem. Educ.* **60**(9): 772, 1983.
188. BROOKES, B.A.; WHITE, P.C.; LAWRENCE, N.S. & COMPTON, R.G., "Voltammetric sensing of thiols. The electrocatalytic oxidation of 4-acetamidophenol in the presence of cysteine: A mechanistic rotating disk electrode study". *J. Phys. Chem. B.* **105**(27): 6361, 2001.
189. SĂNDULESCU, R.; MIREL, S. & OPREAN, R., "The development of spectrophotometric and electroanalytical methods for ascorbic acid and acetaminophen and their applications in the analysis of effervescent dosage forms". *J. Pharmaceut. Biomed.* **23**(1): 77, 2000.
190. "Paco® (paracetamol + fosfato de codeína), ANVISA, [http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=25941362016&pIdAnexo=4090576](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=25941362016&pIdAnexo=4090576), (accessed 21.02.2019)".
191. R.C. ROWE; P. J. SHESKEY & QUINN, M.E., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. sixth ed ed. 2009, Grayslake.
192. WATT, G.W. & CHRISP, J.D., "A Spectrophotometric method for the determination of hydrazine". *Anal. Chem.* **24**(12): 2006, 1952.
193. TOSHIMA, N. & YONEZAWA, T., "Bimetallic nanoparticles—novel materials for chemical and physical applications". *New J. Chem.* **22**(11): 1179, 1998.
194. KLUNG, H. & ALEXANDER, L., "X-ray diffraction procedures". *John Wiley & Sons, New York.* **1**: 974, 1962.
195. ALDOUS, L. & COMPTON, R.G., "The mechanism of hydrazine electro-oxidation revealed by platinum microelectrodes: role of residual oxides". *J. Chem. Phys.* **13**(12): 5279, 2011.
196. UDDIN, M.E.; KIM, N.H.; KUILA, T.; LEE, S.H.; HUI, D. & LEE, J.H., "Preparation of reduced graphene oxide-NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanocomposites for the electrocatalytic oxidation of hydrazine". *Compos. Part B Eng.* **79**: 649, 2015.
197. NICHOLSON, R.S. & SHAIN, I., "Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems". *Anal. Chem.* **36**(4): 706, 1964.
198. JANEGITZ, B.C.; MEDEIROS, R.A.; ROCHA-FILHO, R.C. & FATIBELLO-FILHO, O., "Direct electrochemistry of tyrosinase and biosensing for phenol based on gold nanoparticles electrodeposited on a boron-doped diamond electrode". *Diamond Relat. Mater.* **25**: 128, 2012.
199. BRETT, C.M.A. & BRETT, A.M.O., *Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*. 1993, Oxford: Oxford University Press. 464.
200. KONOPKA, S. & MCDUFFIE, B., "Diffusion coefficients of ferri- and ferrocyanide ions in aqueous media, using twin-electrode thin-layer electrochemistry". *Anal. Chem.* **42**(14): 1741, 1970.
201. NICHOLSON, R.S., "Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics". *Anal. Chem.* **37**(11): 1351, 1965.
202. LAVAGNINI, I.; ANTIOCHIA, R. & MAGNO, F., "An extended method for the practical evaluation of the standard rate constant from cyclic voltammetric data". *Electroanalysis.* **16**(6): 505, 2004.
203. SILVA, T.A.; ZANIN, H.; SAITO, E.; MEDEIROS, R.A.; VICENTINI, F.C.; CORAT, E.J. & FATIBELLO-FILHO, O., "Electrochemical behaviour of vertically aligned carbon nanotubes and graphene oxide nanocomposite as electrode material". *Electrochim. Acta.* **119**: 114, 2014.

204. SPAGNOL, C.M.; OLIVEIRA, T.S.; ISAAC, V.L.B.; CORRÊA, M.A. & SALGADO, H.R.N., "Validation of caffeic acid in emulsion by UV-Spectrophotometric method". *Physical Chemistry*. **5**(1): 16, 2015.
205. ERDEMGIL, F.; ŞANLI, S.; ŞANLI, N.; ÖZKAN, G.; BARBOSA, J.; GUITERAS, J. & BELTRAN, J., "Determination of pK a values of some hydroxylated benzoic acids in methanol–water binary mixtures by LC methodology and potentiometry". *Talanta*. **72**(2): 489, 2007.
206. FOOD, U. & ADMINISTRATION, D., "FDA guidance for industry: bioanalytical method validation". *US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research: Rockville, MD*, 2001.