

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

**Desenvolvimento de eletrodo modificado com o solvente eutético  
profundo cloreto de colina/glicerol para a determinação  
simultânea de paracetamol e diclofenaco**

**Gabriela Rizzo Piton\***

Dissertação apresentada ao PPGQ da  
UFSCar como parte dos requisitos para  
obtenção do título de MESTRA EM  
QUÍMICA, área de concentração:  
QUÍMICA ANALÍTICA

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

**\* Bolsista CAPES**

**São Carlos – SP**

**2021**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

---

## Folha de Aprovação

---

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Gabriela Rizzo Piton, realizada em 22/04/2021.

### Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho (UFSCar)

Prof. Dr. Elton Fabiano Sitta (UFSCar)

Profa. Dra. Silvia Helena Pires Serrano (USP)

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

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

*Aos meus pais, Elza e Osvaldo, que me apoiaram durante toda essa caminhada; a todos os meus professores, pela dedicação e incentivo; e aos meus amigos, que, também, sempre estiveram ao meu lado.*

*Muito obrigada!*

*DEDICO*

*“Some see things as they are and  
ask why. I dream things that never  
were and ask, why not.”*

***Robert F. Kennedy***

*“Pela maior parte da história, “anônimo”  
foi uma mulher.”*

***Virginia Woolf***

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, Elza e Osvaldo, por não medirem esforços para me proporcionar o acesso a uma educação de qualidade desde o início dos meus estudos, além de permitirem que eu construísse meu próprio caminho;

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello-Filho por me receber em seu grupo de pesquisa, pela orientação, os ensinamentos e dedicação durante o período de mestrado;

Aos colegas do LABBES, especialmente ao Ademar por realizar as análises de HPCL, de outros grupos de pesquisa da UFSCar, meus colegas do curso de licenciatura em química e, amigos de fora do ambiente universitário pelo apoio e momentos de descontração durante esse período;

Aos professores do Departamento de Química da UFSCar pelos ensinamentos;

À equipe da coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar, com especial atenção às secretárias do programa, Cristina, Luciani e Ariane, pela pronta disponibilidade, atenção, eficiência e paciência em seus atendimentos;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar por prover toda a estrutura necessária para o meu desenvolvimento pessoal e profissional;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pela bolsa concedida.

## Lista de abreviaturas e símbolos

ACP	Paracetamol ou acetaminofeno (do inglês, <i>acetaminophen</i> )
ATR	Reflectância total atenuada (do inglês, <i>attenuated total reflectance</i> )
CB	Negro de fumo (do inglês, <i>carbon black</i> )
ChCl	Cloreto de colina
CPE	Elemento de fase constante (do inglês, <i>constant phase element</i> )
CTS	Quitosana
CV	Voltametria cíclica (do inglês, <i>cyclic voltammetry</i> )
DES	Solvente eutético profundo (do inglês, <i>deep eutectic solvent</i> )
DCF	Diclofenaco
DPAdASV	Voltametria adsortiva de redissolução anódica de pulso diferencial (do inglês, <i>diferencial pulse adsorptive anodic stripping voltammetry</i> )
DPV	Voltametria de pulso diferencial (do inglês, <i>differential pulse voltammetry</i> )
ECH	Epicloridrina (do inglês, <i>epichlorhydrin</i> )
EIS	Espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês, <i>electrochemical impedance spectroscopy</i> )
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i> )
GCE	Eletrodo de carbono vítreo (do inglês, <i>glassy carbon electrode</i> )
HBA	Aceptor de ligação de hidrogênio (do inglês, <i>hydrogen bond acceptor</i> )
HBD	Doador de ligação de hidrogênio (do inglês, <i>hydrogen bond donor</i> )

HDES	Solvente eutético profundo hidrofóbico (do inglês, <i>Hydrophobic deep eutectic solvent</i> )
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )
IL	Líquido iônico (do inglês, <i>ionic liquid</i> )
LLE	Extração líquido-líquido (do inglês, <i>liquid-liquid extraction</i> )
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
OCP	Potencial de circuito aberto (do inglês, <i>open circuit potential</i> )
PB	Solução tampão fosfato
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês, <i>relative standard deviation</i> )
RTIL	Líquido iônico a temperatura ambiente (do inglês, <i>room temperature ionic liquid</i> )
$\alpha, \beta$	Coefficiente de transferência de carga de redução e oxidação
$D$	Coefficiente de difusão
$E^{0'}$	Potencial padrão de redução formal
$E_p$	Potencial de pico
$E_{pc}$	Potencial de pré-acumulação
$I_p$	Corrente de pico
$k^0$	Constante heterogênea de transferência de elétrons
$m$	Sensibilidade (coeficiente angular da curva analítica)
$n$	Número de elétrons
$n$	Número de repetições
$n_p$	Número de prótons

$R_{ct}$	Resistência de transferência de carga
$R_s$	Resistência da solução
$t_{pc}$	Tempo de pré-acumulação
$\nu$	Velocidade de varredura de potencial
$W_s$	Elemento de Warburg
$\Psi$	Parâmetro cinético da Equação de Nicholson



## Lista de tabelas

<b>TABELA 1</b> – Cátions e ânions mais comumente utilizados na síntese de IL .....	3
<b>TABELA 2</b> – Classificação dos solventes eutéticos profundos (DES) .....	5
<b>TABELA 3</b> – Propriedades físico-químicas de alguns solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES).....	9
<b>TABELA 4</b> – Temperatura de fusão ( $T_f/^\circ\text{C}$ ) das substâncias empregadas nas sínteses dos DES .....	22
<b>TABELA 5</b> – Valores de condutividade determinados para os DES produzidos .....	30
<b>TABELA 6</b> – Parâmetros ajustados a partir do circuito equivalente de Randles .....	35
<b>TABELA 7</b> – Áreas eletroativas, em $\text{cm}^2$ , determinadas para os eletrodos GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE .....	37
<b>TABELA 8</b> – Comparação dos valores de $k^0$ determinados para ACP e DCF empregando os eletrodos GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE .....	44
<b>TABELA 9</b> – Parâmetros estudados na voltametria de pulso diferencial (DPAdASV) e os valores selecionados para a determinação simultânea de ACP e DCF .....	55
<b>TABELA 10</b> – Parâmetros analíticos obtidos para ACP e DCF .....	59
<b>TABELA 11</b> – Métodos voltamétricos reportados para a determinação de ACP e DCF .....	60
<b>TABELA 12</b> – Estudo dos interferentes em potencial na determinação voltamétrica de ACP e DCF em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) utilizando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE .....	62
<b>TABELA 13</b> – Resultados obtidos para a determinação simultânea de ACP e DCF em produtos farmacêuticos utilizando o método proposto (técnica de DPV e um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE) e um método cromatográfico comparativo (HPLC/UV-Vis).....	63

**TABELA 14** – Resultados obtidos para a determinação simultânea de ACP e DCF em amostras de fluídos biológicos utilizando o método proposto (técnica de DPV e um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE) e um método cromatográfico comparativo (HPLC/UV-Vis)..... 65

## Lista de figuras

<b>FIGURA 1</b> – (a) Diagrama de fases para a mistura eutética de cloreto de colina e ureia (fora de escala) e (b) Esquemática das prováveis ligações de hidrogênio na mistura eutética entre cloreto de colina e ureia. ....	7
<b>FIGURA 2</b> – Representação esquemática das estruturas morfológicas do <i>carbon black</i> (CB). ....	13
<b>FIGURA 3</b> – Estrutura química idealizada da (a) quitina e (b) quitosana. ....	14
<b>FIGURA 4</b> – Fórmula estrutural das moléculas de (a) paracetamol e (b) diclofenaco. ....	16
<b>FIGURA 5</b> – Esquema de preparação do eletrodo modificado a base de DES, CB e CTS reticulada com ECH. $V_{sp}$ = volume suficiente para. ....	23
<b>FIGURA 6</b> – Imagens de MEV obtidas para (a – c) CB e (d – f) CB-DES. ....	32
<b>FIGURA 7</b> – Diagramas de Nyquist obtidos para (□) GCE, (○) CB-CTS:ECH/GCE e (Δ) DES-CB-CTS:ECH/GCE. Inserido: ampliação dos diagramas de Nyquist. ....	33
<b>FIGURA 8</b> – Circuito equivalente de Randles ( $R_s$ = resistência da solução; CPE = elemento de fase constante; $R_{ct}$ = resistência de transferência de carga; $W_s$ = elemento de Warburg). ....	34
<b>FIGURA 9</b> – Voltamogramas cíclicos obtidos empregando os eletrodos a) GCE, b) CB-CTS:ECH/GCE e c) DES-CB-CTS:ECH/GCE. Eletrólito suporte: KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . $[Fe(CN)^{-3/-4}] = 1,0 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> . $\nu$ : 10 – 100 mV s <sup>-1</sup> . d) Relações lineares de $I_p$ vs. ( $\nu^{1/2}$ ) para os eletrodos (●) GCE, (■) CB-CTS:ECH/GCE e (▲) DES-CB-CTS:ECH/GCE. ....	38
<b>FIGURA 10</b> – Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE, (b) CB-CTS:ECH/GCE e (c) DES-CB-CTS:ECH/GCE em PB 0,2 mol L <sup>-1</sup> (pH 7,0) e $[ACP] = 5,0 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> . Parâmetros: $\nu$ : 10 – 100 mV s <sup>-1</sup> . Inserido: curvas log $I_p$ vs. log $\nu$ correspondentes. ....	42

- FIGURA 11** – Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE, (b) CB-CTS:ECH/GCE e (c) DES-CB-CTS:ECH/GCE em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) e  $[\text{DCF}] = 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Parâmetros:  $\nu$ :  $10 - 100 \text{ mV s}^{-1}$ . Inserido: curvas  $\log I_p$  vs.  $\log \nu$  correspondentes. .... 44
- FIGURA 12** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução de ACP e DCF  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) utilizando o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE variando o tipo de DES utilizado na fabricação do eletrodo (DES 1: 1:2 ChCl/glicerol; DES 2: 1:2 ChCl/ureia; DES 3; 1:2 ChCl/etilenoglicol). Parâmetros:  $step = 5 \text{ mV}$ ,  $a = 25 \text{ mV}$ ,  $t = 50 \text{ ms}$  (b) Correntes de pico registradas para cada analito em função do tipo de DES. .... 46
- FIGURA 13** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução ACP e DCF  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) utilizando os eletrodos DES-CB-CTS:ECH/GCE variando a concentração de DES 1 ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) presente no filme. Parâmetros DPV:  $step = 5 \text{ mV}$ ,  $a = 25 \text{ mV}$ ,  $t = 50 \text{ ms}$ . (b) Correntes de pico registradas para cada analito em função da concentração de DES. .... 48
- FIGURA 14** – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE para concentração de ACP e DCF de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0). Parâmetros:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . .... 49
- FIGURA 15** – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes pHs (3,0 – 12) contendo  $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ACP e DCF. Parâmetros da técnica de DPV:  $step = 5 \text{ mV}$ ,  $a = 25 \text{ mV}$  e  $t = 50 \text{ ms}$ . Inserido: curva de  $E_p$  vs. pH para (■) ACP e (●) DCF. .... 51
- FIGURA 16** – Reação de oxidação proposta para a molécula de ACP. .... 52
- FIGURA 17** – Reação de oxidação proposta para a molécula de DCF. .... 53
- FIGURA 18** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial empregando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE aplicando  $E_{pc} = 50 \text{ mV}$  em diferentes  $t_{pc}$  (30 – 240 s).  $[\text{ACP}] = [\text{DCF}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Eletrólito suporte: solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0). Parâmetros:  $step = 5 \text{ mV}$ ,  $a = 25 \text{ mV}$ ;  $t = 50 \text{ ms}$ . (b)

Correntes de pico anódica registradas em função do potencial de pré-concentração aplicado e do tempo de pré-concentração para ACP e DCF..... 54

**FIGURA 19** – Voltamogramas adsortivos de redissolução anódica (DPAdASV) obtidos utilizando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE para várias concentrações de ACP (1 – 8:  $0,5 - 20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) a uma concentração fixa de DCF ( $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ). Eletrólito suporte: solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0). *Parâmetros:*  $E_{pc} = 50 \text{ mV}$ ,  $t_{pc} = 30 \text{ s}$ ,  $\text{step} = 5 \text{ mV}$ ;  $a = 40 \text{ mV}$ ;  $t = 20 \text{ ms}$ . Inserido: curva analítica correspondente. .... 56

**FIGURA 20** – Voltamogramas adsortivos de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdASV) obtidos utilizando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE para várias concentrações de DCF (1 – 8:  $5 - 24 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) a uma concentração fixa de ACP ( $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ). Eletrólito suporte: solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0). *Parâmetros:*  $E_{pc} = 50 \text{ mV}$ ,  $t_{pc} = 30 \text{ s}$ ,  $\text{step} = 5 \text{ mV}$ ;  $a = 40 \text{ mV}$ ;  $t = 20 \text{ ms}$ . Inserido: curva analítica correspondente. .... 57

**FIGURA 21** – (a) Voltamogramas adsortivos de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdASV) obtidos em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) contendo diferentes concentrações de ACP e DCF, sendo construídas as respectivas curvas analíticas para os analitos ACP e DCF (**FIGURA 21 (b – c)**). As curvas analíticas apresentaram linearidade ( $r > 0,990$ ) na faixa de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $3,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para ACP e  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  para DCF, de acordo com a **EQUAÇÃO 8** e **EQUAÇÃO 9**, respectivamente. .... 58

## RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO MODIFICADO COM O SOLVENTE EUTÉTICO PROFUNDO CLORETO DE COLINA/GLICEROL PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE PARACETAMOL E DICLOFENACO – Neste trabalho de mestrado foi investigado o emprego de solventes eutéticos profundos (DES) no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. O DES foi imobilizado na superfície de um eletrodo de carbono vítreo juntamente com nanopartículas de *carbon black* (CB) em filmes de quitosana (CTS) reticulada com epicloridrina (ECH). No desenvolvimento do método eletroanalítico para determinação simultânea de paracetamol (ACP) e diclofenaco (DCF) foram otimizados a composição e concentração do DES no filme, pH da solução, tempo e potencial de pré-concentração dos analitos e os parâmetros instrumentais da técnica de voltametria adsortiva de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdASV). Os DES utilizados neste trabalho foram caracterizados utilizando a espectroscopia na região do infravermelho e medidas de condutividade. O filme modificado sobre o eletrodo de carbono vítreo (DES-CB-CTS:ECH/GCE) foi caracterizado morfológicamente por microscopia eletrônica de varredura, sendo observadas alterações morfológicas em função da incorporação do DES ao filme de CB. A caracterização eletroquímica se deu por espectroscopia de impedância eletroquímica afim de determinar parâmetros eletrônicos como capacitância e resistência de transferência de carga. Empregando-se voltametria cíclica foram determinados o valor da constante heterogênea de transferência de elétrons ( $k^0$ ). Usando-se o método DPAdASV, as curvas analíticas foram lineares nas faixas de concentrações de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $3,9 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> para o ACP e de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $1,5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para o DCF, com limites de detecção de  $2,7 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> e de  $5,2 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. O método proposto se mostrou preciso e seletivo, observado a partir de estudos de repetibilidade e efeitos de possíveis interferentes, além de estudos de adição e recuperação. A exatidão do método desenvolvido foi avaliada na determinação simultânea de ACP e DCF em

amostras farmacêuticas comerciais e fluídos biológicos (urina sintética e soro bovino). Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos empregando-se o método comparativo (HPLC/UV-Vis).

**Palavras-chave:** solventes eutéticos profundos; *carbon black*; sensores; eletroanalítica.

## ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A CHOLINE CHLORIDE/GLYCEROL DEEP EUTECTIC SOLVENT MODIFIED ELECTRODE FOR THE SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ACETAMINOPHEN AND DICLOFENAC – In this master's dissertation has investigated the use of deep eutectic solvents (DES) for the development of electrochemical sensors. DES was immobilized on the surface of a glassy carbon electrode (GCE) within carbon black (CB) nanoparticles in chitosan (CTS) films crosslinked with epichlorohydrin (ECH). During the electroanalytical method development for the simultaneous determination of acetaminophen (ACP) and diclofenac (DCF), the experimental conditions were optimized, such as composition and concentration of the DES within the modification, support electrolyte's pH, time, and applied potential for the analytes pre-concentration, and instrumental parameters for the *differential pulse adsorptive anodic stripping voltammetry* technique (DPAdASV). The DES applied in this work were characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy and conductivity measurements. The proposed modified electrode had its morphological structure characterized by scanning electronic microscopy, which allowed to observe morphological changes after incorporating DES into the CB film. The electrochemical characterization was given by electrochemical impedance spectroscopy to calculate electronic parameters, such as capacitance and charge transfer resistance, and by cyclic voltammetry to calculate the heterogeneous electron transfer constant ( $k^0$ ). The DPAdASV method resulted in linear responses in the range from  $5.0 \times 10^{-7}$  to  $3.9 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> for ACP and from  $5.0 \times 10^{-7}$  to  $1.5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> for DCF, with limits of detection of  $2.7 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> and  $5.2 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> for ACP and DCF, respectively. The proposed method proved to be precise and selective, observed from studies of repeatability and effect of possible interferents besides addition and recovery studies. The accuracy of the proposed method was evaluated for the



simultaneous determination of ACP e DCF in commercial pharmaceutical samples and biological fluids (synthetic urine and bovine serum). The obtained results were compared with those obtained by HPLC/UV-Vis.

**Keywords:** deep eutectic solvents; carbon black; sensors; electroanalysis.

## Sumário

<b>Lista de abreviaturas e símbolos</b> .....	vi
<b>Lista de tabelas</b> .....	ix
<b>Lista de figuras</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	xiv
<b>ABSTRACT</b> .....	xvi
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	1
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1.1 Líquidos iônicos</b> .....	1
<b>1.2 Solventes eutéticos profundos</b> .....	4
<b>1.2.1 Princípio de preparação</b> .....	5
<b>1.2.2 DES hidrofóbicos</b> .....	8
<b>1.2.3 Aplicações dos DES em eletroquímica e eletroanalítica</b> .....	10
<b>1.3 Materiais carbonáceos</b> .....	12
<b>1.3.1 Negro de fumo</b> .....	12
<b>1.4 Quitosana</b> .....	14
<b>1.5 Analitos estudados</b> .....	16
<b>1.5.1 Paracetamol e diclofenaco</b> .....	16
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	18
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	19
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	19
<b>3.1 Reagentes e soluções</b> .....	19
<b>3.2 Instrumentação</b> .....	19
<b>3.3 Preparo do solvente eutético profundo</b> .....	21

3.4	Preparo do sensor eletroquímico.....	22
3.5	Preparo das amostras de formulações farmacêuticas .....	23
3.6	Preparo das amostras de fluidos biológicos .....	24
3.7	Procedimento analítico .....	24
CAPÍTULO 4 .....		27
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1	Caracterização dos DES .....	27
4.2	Caracterização morfológica.....	30
4.3	Caracterização eletroquímica.....	32
4.4	Determinação da área eletroativa do eletrodo.....	35
4.5	Determinação da constante heterogênea de transferência de elétrons ( $k^0$ ) .....	38
4.6	Efeito do tipo e concentração do DES.....	45
4.7	Perfil eletroquímico das moléculas de ACP e DCF .....	48
4.8	Efeito da concentração hidrogeniônica (pH) .....	50
4.9	Estudos de pré-acumulação e otimização dos parâmetros da técnica de DPV .....	53
4.10	Aplicação analítica do eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE.....	55
4.11	Estudo da repetibilidade intra e inter-dias e efeito de possíveis interferentes.....	61
4.12	Determinação simultânea de ACP e DCF em formulações farmacêuticas.....	62
4.13	Determinação simultânea de ACP e DCF em amostras de fluidos biológicos sintético e comercial.....	64
CAPÍTULO 5 .....		66
5.	Conclusões e perspectivas futuras .....	66
CAPÍTULO 6 .....		68
APÊNDICE 1.....		777

# CAPÍTULO 1

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Líquidos iônicos

Líquido iônico (IL, do inglês *ionic liquid*) é o termo utilizado para definir um líquido composto inteiramente por íons (cátions e ânions). Usualmente esses íons são provenientes de sais ou óxidos fundidos, dessa forma os ILs apresentam alto ponto de fusão.

O primeiro IL com baixo ponto de fusão foi sintetizado por Walden<sup>1</sup> em 1914 e apresentava ponto fusão igual a 12 °C. Outros IL também foram sintetizados a partir do trabalho de Walden utilizando íons cloro aluminatos<sup>2</sup>. Foi apenas no início da década de 1990 que o entendimento de que sais fundidos com temperatura de fusão abaixo de 100 °C permitiam aplicações únicas e, então, foi atribuído o termo “*Room Temperature Ionic Liquids*” (RTIL) a estes solventes com baixo ponto de fusão. Ou seja, líquidos iônicos que se mantinham estáveis a temperatura ambiente. Virtualmente, não há um limite de combinação de sais que podem apresentar baixo ponto de fusão e, foi estimado que esse número pode ultrapassar a marca de 1 trilhão<sup>3</sup>. Com o grande número de possibilidades de combinações, é possível a síntese de IL adequados para as mais diversas aplicações como: síntese orgânica<sup>4,5</sup>, química de materiais<sup>6,7</sup> e eletroquímica e eletroanalítica<sup>8-11</sup>.


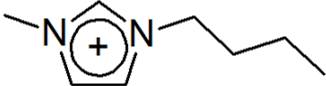
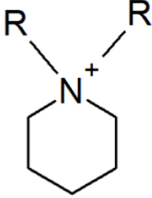
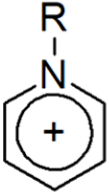
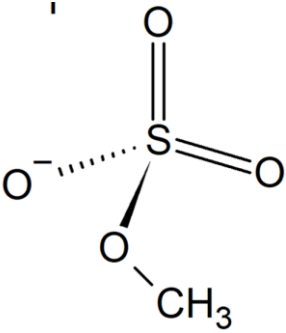
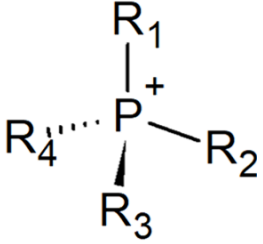
Diversas propriedades interessantes surgem a partir da síntese de IL, sendo que essas propriedades podem ser previstas, a partir da seleção adequada dos precursores, para aplicações específicas. Entre as principais características físico-químicas podem-se destacar o baixo ponto de fusão, densidade maior que

a da água, alta condutividade iônica, viscosidade moderada, solubilidade em diversos solventes, afinidade com diferentes materiais e grande estabilidade térmica e química. A estabilidade dos IL não é afetada, na maioria das vezes, pela faixa de temperatura, entretanto, esta é fortemente dependente da concentração de água presente no meio.

As propriedades únicas dos RTIL derivam da estrutura e das interações entre os íons quando fundidos. RTIL são comumente sintetizados a partir de cátions orgânicos volumosos e assimétricos e ânions orgânicos ou inorgânicos de pequeno volume. As principais interações entre esses íons, que governam a síntese dos RTIL, são ligações de van der Waals, ligações de hidrogênio e interações do tipo  $\pi$ - $\pi$ , resumindo-se a interações do tipo não-covalente. A natureza dessas interações tornam os ILs miscíveis com substâncias polares, entretanto, simultaneamente, a presença de uma cadeia carbônica longa substituída no cátion também determina as solubilidades desses líquidos em substâncias com menor polaridade<sup>12</sup>.

Diversas estruturas de ILs têm sido reportadas. Na **TABELA 1** são apresentados os principais cátions e ânions utilizados na síntese de ILs. Como citado, diferentes cátions e ânions podem ser combinados para formar um IL, e ainda podem ser modificados covalentemente com grupos funcionais específicos. A estrutura modular de um IL assegura que as suas propriedades físicas e químicas possam ser facilmente adaptadas e controladas pela modificação das espécies catiônica e/ou aniônica<sup>13</sup>. Dentre as várias propriedades que podem ser alteradas, inclui-se o próprio ponto de fusão, viscosidade, densidade, solubilidade e hidrofobicidade.

**TABELA 1** – Cátions e ânions mais comumente utilizados na síntese de IL

Cátions	Ânions
	$\text{NO}_3^-$
	$\text{Br}^-$
	$\text{Cl}^-$
	
	$\text{BF}_4^-$

Nos anos 1990, com a introdução dos conceitos da Química Verde por Anastas e Warner<sup>14</sup>, houve um aumento do engajamento dos pesquisadores para o desenvolvimento de líquidos iônicos livres de metais. Até então acreditava-se que a baixa pressão de vapor e alto ponto de ebulição permitia caracterizá-los como solventes verdes. Entretanto, estudos apontam alta toxicidade<sup>15</sup>, devido aos precursores mais comuns, e baixa biodegradabilidade, levando a comunidade científica a questionar as propriedades verdes destes solventes<sup>16</sup>. Foi a busca constante por alternativas sustentáveis, dos pontos de vista ambiental e financeiro, para solventes tradicionais que impulsionou o desenvolvimento de uma nova classe de líquidos iônicos, conhecidos como Solventes Eutéticos Profundos.

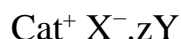
## 1.2 Solventes eutéticos profundos

Solventes eutéticos profundos (DES, do inglês *deep eutectic solvents*) são considerados uma nova classe de IL que vem atraindo grande atenção nos últimos anos por possuir propriedades físicas e termodinâmicas favoráveis quando comparados aos ILs e outros solventes orgânicos tradicionais. Comparando-se estes solventes não-aquosos com os líquidos iônicos convencionais, os DES são de baixo custo, possuem baixas volatilidade e toxicidade, além de serem biodegradáveis<sup>17,18</sup>.

Os DES foram preparados pioneiramente, em 2001, por Abbott *et al.*<sup>18</sup> por meio de combinações entre diferentes sais de amônio quaternário com cloreto de zinco ( $\text{ZnCl}_2$ ). Entre essas duas espécies ocorre uma reação ácido-base, sendo que o  $\text{ZnCl}_2$ , atuando como ácido de Lewis, aceita um par de elétrons doado pelo sal de amônio quaternário, que atua como base de Lewis. Ao contrário dos líquidos iônicos preparados a partir de sais de alumínio, que não permanecem líquidos às temperaturas menores do que 100 °C, os preparados a partir de sais de zinco apresentam temperaturas de fusão entre 25 – 45 °C. Esse comportamento pode estar relacionado à deslocalização de carga que ocorre nos complexos de zinco, como descrito pelos autores. Neste trabalho também foi observado que ao

utilizar o cloreto de colina (ChCl) em combinação com o  $ZnCl_2$ , foram obtidas as menores temperaturas de fusão para a mistura resultante.

Considerando as interações que definem um DES, estes podem ser descritos pela fórmula geral:



sendo  $Cat^+$  qualquer cátion de amônio, fosfônio ou sulfônico, e  $X^-$  um haleto metálico. O complexo aniônico é formado por  $X^-$  e Y, que pode ser um ácido de Lewis ou de Brønsted. Os DES são geralmente classificados de acordo com a natureza do agente complexante, sendo divididos em quatro classes<sup>19</sup> (ver TABELA 2).

**TABELA 2** – Classificação dos solventes eutéticos profundos (DES)

<b>Tipo</b>	<b>Descrição</b>	<b>Exemplo</b>
<b>Tipo 1</b>	Combinação sal metálico e sal orgânico	$ZnCl_2 + ChCl$
<b>Tipo 2</b>	Combinação sal metálico hidratado e sal orgânico	$CoCl_2 \cdot 6H_2O + ChCl$
<b>Tipo 3</b>	Combinação HBD e sal orgânico	Ureia + ChCl
<b>Tipo 4</b>	Combinação cloreto metálico e HBD	$MCl_x +$ ureia/etilenoglicol

### 1.2.1 Princípio de preparação

De forma geral, os DES são preparados a partir da combinação de duas ou mais substâncias que possuem a habilidade de auto associarem entre si. Tendo como exemplo o DES formado pela combinação entre ChCl e ureia, a formação do DES ocorre devido às ligações de hidrogênio que são estabelecidas entre os componentes individuais da mistura<sup>20,21</sup>.

Existe, dessa forma, uma razão molar específica entre os componentes HBA (do inglês, *hydrogen bond acceptor*) e HBD (do inglês,





**FIGURA 1** – (a) Diagrama de fases para a mistura eutética de cloreto de colina e ureia (fora de escala) e (b) Esquemática das prováveis ligações de hidrogênio na mistura eutética entre cloreto de colina e ureia.

O princípio de preparação dos DES é bastante simples, e concorda com um dos princípios da química verde por apresentar rendimento atômico igual a 100 %. As misturas resultantes são de fácil manuseio e não requerem purificação posterior<sup>22</sup>. Diversos procedimentos para a síntese dos DES são descritos na literatura. De maneira geral, o método mais utilizado é também o mais simples, consistindo no aquecimento e agitação dos precursores até a formação de uma mistura líquida e homogênea. Este método pode variar e, depende dos pontos de fusão dos precursores individuais: **1)** o componente de menor ponto de fusão é aquecido primeiro e, em seguida, o componente de maior ponto de fusão é adicionado para formar a mistura eutética; **2)** quando ambos os componentes apresentam pontos de fusão altos, eles são misturados e aquecidos juntos, resultando na formação de uma mistura líquida e homogênea.

É comumente reportada a prática de secagem dos reagentes precursores previamente ao preparo do DES<sup>23-25</sup>, assim diminuindo a quantidade de água incorporada à mistura eutética. Aqui, assim como nos IL, a presença de água pode afetar o comportamento dos DES. Abbott *et al.*<sup>26</sup> descreveram um procedimento para o preparo do DES, utilizando agitação e aquecimento, onde o cloreto de colina foi recristalizado em etanol absoluto, filtrado e secado à vácuo previamente ao seu uso. Os HBDs estudados neste trabalho também foram previamente secos à vácuo. Os DES foram formados a partir da mistura e agitação, a 100 °C, dos dois componentes, até a formação de uma mistura líquida, homogênea e incolor.

Ainda de forma a minimizar a presença de água na mistura final, outras abordagens foram aplicadas no preparo dos DES. Foi reportado por Guitiérrez *et al.*<sup>27</sup> o preparo de misturas eutéticas pelo método de liofilização. O

método consiste no preparo de soluções aquosas individuais contendo os precursores do DES, respeitando as devidas proporções molares. A solução aquosa resultante foi congelada e subsequentemente liofilizada para a obtenção de um líquido viscoso e incolor. Esse método permite a incorporação de estruturas nas misturas eutéticas, no seu estado puro<sup>27,28</sup>. Brandon *et al.*<sup>29</sup>, em 2015, reportaram o uso de uma *glove box*, com atmosfera inerte utilizando argônio e conteúdo de oxigênio e água menores que 1 ppm, para a síntese do DES utilizando diferentes precursores. Neste preparo, foi utilizado o método de aquecimento (348 K) e agitação (33 rpm).

Apesar das infinidades de combinações possíveis para a formação dos DES, o uso do  $\text{CHCl}_3$ , como HBA, ganhou grande destaque por sua abundância e baixo custo, e como HBDs, destacam-se o etilenoglicol, glicerol e ureia.

### 1.2.2 DES hidrofóbicos

O conceito de solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES, do inglês *hydrophobic deep eutectic solvents*) foi introduzido por van Osch e coautores<sup>30</sup>, em 2015, onde foram reportadas as combinações de diferentes sais de amônio quaternário com o ácido decanóico (DecAc). Devido ao comprimento das cadeias carbônicas tanto do ácido graxo quanto dos diferentes sais quaternários, foi possível atribuir um caráter hidrofóbico às misturas eutéticas. O mesmo princípio de formação aplicado aos DES pode ser estendido aos HDES, sendo também o método de agitação e aquecimento o mais empregado. Diferentemente dos DES, os HDES exigem menor controle da umidade durante a síntese ou armazenamento devido à natureza hidrofóbica dos precursores. A prática de secagem dos reagentes previamente à síntese é comum também para os HDES, em virtude da natureza higroscópica da maioria dos sais de amônio<sup>29</sup>. A depender da aplicação, pode-se ajustar a hidrofobicidade do HDES por meio da seleção apropriada dos reagentes precursores.

Apesar de compartilharem muitas propriedades similares às dos DES, os HDES são, em relação aos DES, de menor densidade e maior viscosidade. Na **TABELA 3** são apresentados os pontos de fusão, a densidade e viscosidade de quatro HDES. Com destaque à viscosidade, há indícios de que essa propriedade da mistura eutética está relacionada ao comprimento da cadeia carbônica substituída no amônio quaternário e, também, que HDES contendo sais de brometo possuem maior viscosidade quando comparado aos HDES à base de sais de cloreto. Esse comportamento, também observado nos ILs, pode estar relacionado à intensidade (força) de interação entre o HBA, através do haleto metálico, e o HBD.

**TABELA 3** – Propriedades físico-químicas de alguns solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES)

HDES	Ponto de fusão (°C)	Densidade (g cm <sup>-3</sup> )	Viscosidade (cP)
1:2 N <sub>4444</sub> -Cl:DecAc	-11,9	0,917	265,3
1:2 N <sub>7777</sub> -Cl:DecAc	-16,6	0,891	172,9
1:2 N <sub>8888</sub> -Cl:DecAc	1,95	0,889	472,6
1:2 N <sub>8888</sub> -Br:DecAc	8,95	0,930	636,4

N<sub>4444</sub>-Cl: cloreto de tetrabutilamônio; N<sub>7777</sub>-Cl: cloreto de tetraheptilamônio; N<sub>8888</sub>-Cl – cloreto de tetraoctilamônio; N<sub>8888</sub>-Br: brometo de tetraoctilamônio.

A principal aplicação dos HDES são em procedimentos de extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*)<sup>31</sup>. É de interesse da comunidade científica o desenvolvimento de novos meios extratores que possam substituir os tradicionais solventes orgânicos voláteis, comumente utilizados para este fim. Os HDES apresentam características importantes que os tornam potenciais candidatos em procedimentos de LLE sustentáveis como,

imiscibilidade com a água, baixa volatilidade e baixos ponto de fusão e congelamento<sup>32</sup>, permitindo a sua aplicação em ampla faixa de temperatura. Os HDES vem sendo explorados em procedimentos de extração para analitos diversos, a saber: fármacos<sup>33</sup>, pigmentos sintéticos<sup>34</sup>, ácidos graxos voláteis<sup>35,36</sup> e metais<sup>37,38</sup>.

### 1.2.3 Aplicações dos DES em eletroquímica e eletroanalítica

Os DES compartilham muitas das principais e mais interessantes características dos tradicionais ILs, portanto, é natural que esta nova classe de líquidos iônicos seja um potencial candidato em aplicações na eletroquímica e eletroanalítica. Devido a habilidade de dissolver óxidos metálicos<sup>26,39</sup>, os DES vem ganhando espaço em pesquisas dedicadas à extração ou recuperação de metais de interesse industrial. Além disso, também permite a solubilização de outros sais metálicos para finalidades diversas, como síntese de nanopartículas<sup>40</sup>, fabricação de materiais de eletrodo (filmes metálicos e/ou ligas metálicas para proteção à corrosão<sup>41,42</sup> e aplicações em baterias<sup>43</sup>).

A eletrossíntese de polímeros condutores recebe especial atenção. O uso de meios orgânicos para a eletrossíntese desses materiais ganhou destaque pelas interessantes propriedades obtidas em termos de estabilidade, morfologia e área superficial quando comparadas com as propriedades obtidas através da síntese em meio aquoso convencional. Alguns exemplos recentes são polipirrol em ChCl/etilenoglicol<sup>44</sup> e polianilina em mistura de 1:2 (mol/mol) ChCl/propilenoglicol<sup>45</sup>. Os DES também são objeto de estudo como uma escolha ambientalmente correta para a síntese de polímeros molecularmente impressos (MIP, do inglês: *molecularly imprinted polymers*) proporcionando aumento da seletividade e sensibilidade às moléculas alvo<sup>46,47</sup>.

Outras aplicações dos DES em eletroanalítica também vem sendo exploradas. Foi reportado por Yuntao Gao *et al.*<sup>48</sup> o uso do DES à base de ChCl/ureia na determinação de quercetina com a adição de DES a uma solução tampão fosfato (pH 7,6) utilizando um eletrodo de grafite modificado com nanotubos de carbono como eletrodo de trabalho. Os autores otimizaram o volume de DES adicionado à solução tampão e, através de experimentos de impedância eletroquímica, concluíram que o DES reduziu a resistência de transferência de carga. O mesmo grupo reportou a determinação de cádmio em DES de ChCl/ureia nas mesmas condições descritas anteriormente<sup>49</sup>.

O uso dos DES como eletrólito suporte, sem a adição de água ou outra solução aquosa, também vem sendo explorado. Foram avaliadas as propriedades eletroquímicas e de transporte, em DES 1:2 (mol/mol) ChCl/ureia, do par redox Fe(II)/Fe(III) utilizando um eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *glassy carbon electrode*) empregando-se a técnica de voltametria cíclica<sup>50</sup>. Foi observado que a reação apresentou um comportamento *quasi*-reversível e o coeficiente de transferência de carga foi calculado sendo igual a 0,44 e o coeficiente de difusão, em meio eutético, foi determinado sendo igual a  $4,12 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ . Considerando que a viscosidade é um parâmetro importante para a difusão de espécies, a moderada viscosidade dos DES a 25°C, resulta em modesta condutividade que pode comprometer os mecanismos de transferência eletrônica. Também foi explorado o comportamento do ferroceno em DES utilizando ultramicroeletrodos e as técnicas de voltametria cíclica, cronoamperometria e microscopia eletroquímica de varredura. Além disso, foi determinado o coeficiente de difusão para o ferroceno em DES, sendo igual a  $2,7 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ <sup>51</sup>.

Até o momento os DES vinham sendo explorados em uma etapa para a modificação de superfícies eletródicas, não desempenhando o papel de modificador na construção de sensores eletroquímicos. Nesse sentido, recentemente foi reportado na literatura o uso dos DES como aglutinante em um

eletrodo de pasta de carbono (CPE, do inglês *carbon paste electrode*). No trabalho reportado por Cariati *et al.*<sup>52</sup> foi explorado o uso de DES ChCl/Ureia como aglutinante em CPE. Os autores realizaram a incorporação de soluções aquosas de sais de cloreto, que são totalmente solúveis e seus íons não sofrem hidrólise, à matriz do eletrodo com dois objetivos principais: reduzir a viscosidade do aglutinante e favorecer as interações de hidrogênio formada entre o cloreto e a ureia que ocorrem durante a formação do DES. A solução de KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup> foi selecionada, levando à diminuição da resistência de transferência de carga e redução da impedância do elemento de Warburg, o que melhorou a transferência de carga na superfície do eletrodo. Cabe aqui registrar que, como o KCl é solúvel em soluções aquosas, as características da pasta modificada podem sofrer alterações durante o seu emprego.

Apesar das inúmeras aplicações possíveis e dos avanços até o momento, ainda é evidente que a aplicação dos DES em eletroquímica e na construção de sensores eletroquímicos permite maior exploração.

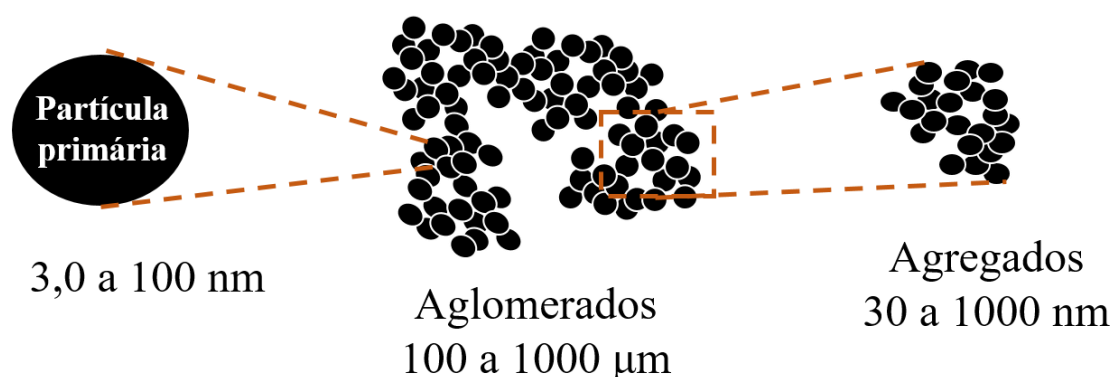
## **1.3 Materiais carbonáceos**

### **1.3.1 Negro de fumo**

O negro de fumo (CB, do inglês *carbon black*) é um material composto por carbono, na forma de partículas coloidais, que são produzidas a partir da combustão incompleta de hidrocarbonetos sobre condições controladas. Duas formas essenciais de produção são responsáveis pelo abastecimento mundial deste material<sup>53,54</sup>. O processo conhecido como *furnace black* é o mais comum e utiliza óleos aromáticos de alta massa molar como matéria-prima<sup>55</sup>, sendo este método responsável por mais de 90% da produção mundial deste material.

Dentre os materiais de carbono disponíveis, o CB está entre os mais utilizados. Tradicionalmente, o CB é aplicado como agente de reforço em pneus, atualmente, é utilizado em diversas áreas tecnológicas, incluindo seu uso em tintas de impressora, reforços para borracha, aditivo para materiais plásticos condutores e como pigmento em tintas<sup>54</sup>.

Morfologicamente, o CB é um material amorfo e apresenta estrutura quase grafítica na superfície, com diâmetro médio de partícula variando de 3,0 a 100 nm. Uma das características das nanopartículas de CB é a formação de agregados de morfologia semiesférica, que por sua vez dão origem a aglomerados de dimensões superiores que podem chegar a 1000  $\mu\text{m}$ <sup>53,54,56</sup> (ver **FIGURA 2**).



**FIGURA 2** – Representação esquemática das estruturas morfológicas do *carbon black* (CB).

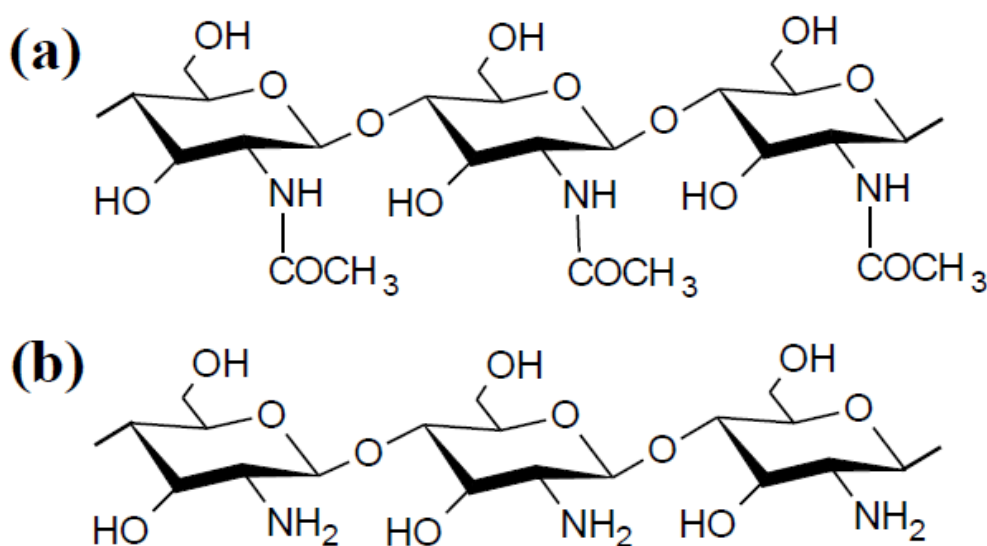
A química analítica, com ênfase na eletroanálise, busca pelo desenvolvimento de métodos analíticos que ofereçam vantagem tanto na aquisição de sinais, no preparo das amostras, além de custos competitivos. O CB é um forte aliado por atender a essas necessidades. Primeiro, o baixo custo do material (aproximadamente US\$ 1.0/kg) o torna bastante atrativo. Segundo, o conjunto de características estruturais e elétricas/eletrônicas como elevada área superficial, alta condutividade elétrica, atividade eletrocatalítica, ampla janela de potencial e biocompatibilidade, associado à habilidade de formação de dispersões estáveis, torna o CB um interessante nanomaterial para o desenvolvimento de



sensores e biossensores eletroquímicos<sup>56</sup>. Usualmente, o CB é empregado na fabricação de eletrodos modificados na forma de filmes deste nanomaterial, pasta ou compósitos.

## 1.4 Quitosana

A quitosana (CTS, do inglês *chitosan*) é um biopolímero obtido a partir da reação de desacetilação da quitina, que por sua vez é extraída do exoesqueleto de insetos e crustáceos a partir de processos de mineralização e desproteinização<sup>57,58</sup>. A estrutura química da quitosana baseia-se em unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas por ligações glicosídicas do tipo  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4). Na **FIGURA 3 (a – b)** são ilustradas as estruturas químicas dos biopolímeros de quitina e CTS.



**FIGURA 3** – Estrutura química idealizada da (a) quitina e (b) quitosana.

Os filmes formados a partir de CTS apresentam propriedades desejáveis como não-toxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade,

estabilidade química e resistência mecânica que tornam este material atrativo para aplicações em pesquisas diversas e também em produtos comerciais<sup>59</sup>.

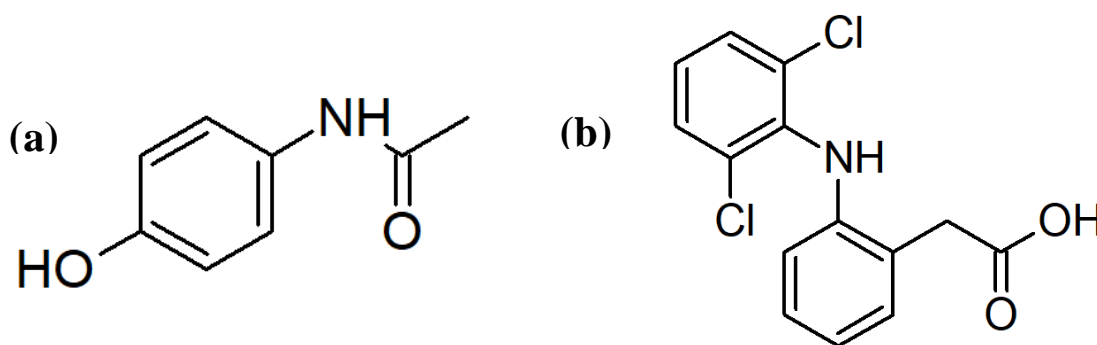
No contexto da química eletroanalítica, a quitosana é amplamente aplicada na confecção de sensores eletroquímicos de pasta de carbono (CPE) modificados com quitosana. A adsorção de cátions metálicos como  $Pb^{2+60}$ ,  $Cd^{2+61}$ ,  $Hg^{2+61}$  e  $Cu^{2+62}$  pela quitosana, permitiu a determinação destes analitos em níveis de traços. Essa adsorção ocorre através dos grupos funcionais presentes na estrutura da quitosana, principalmente os grupos aminos<sup>63</sup>, com constantes de formação dos complexos relativamente altas<sup>59</sup>. Em outra abordagem, o uso da CTS na elaboração de sensores eletroquímicos é realizada pela formação de filmes em decorrência de sua capacidade de incorporar diferentes materiais com alta aderência em superfícies eletródicas tradicionais, como no eletrodo de carbono vítreo (GCE)<sup>64</sup>. Neste caso, a incorporação de algum agente modificador de interesse, resulta em um eletrodo modificado com propriedades eletroquímicas aprimoradas, como melhor taxa de transferência de elétrons e maior área superficial<sup>65,66</sup>.

No sentido de obter filmes homogêneos e com alta estabilidade mecânica e química, a CTS é imobilizada em superfícies utilizando agentes de reticulação (formam ligações cruzadas). O uso desses agentes de reticulação se faz necessário uma vez que 50 % dos grupos aminos do polímero estão protonados em pH igual a 6,5, que aumenta com o aumento da acidez da solução, tornando o polímero solúvel, diminuído desta maneira a estabilidade do filme. Assim, entre os agentes de reticulação mais utilizados tem-se o glutaraldeído, glioxal e epicloridrina (ECH, do inglês *epichlorohydrin*). Estes reagentes se ligam aos grupos  $-NH_2$  (glutaraldeído ou glioxal) ou  $-OH$  (epicloridrina) da cadeia do polímero de CTS formando uma rede polimérica estável<sup>67</sup>.

## 1.5 Analitos estudados

### 1.5.1 Paracetamol e diclofenaco

O paracetamol ou acetoaminofeno (ACP, do inglês *acetaminophen*, **FIGURA 4 (a)**) é um fármaco com ações analgésicas e antipiréticas amplamente empregado no tratamento de febres, dores de cabeça e dores musculares, sendo um dos medicamentos mais consumidos em todo o mundo<sup>68</sup>. Apesar de ser muito



**FIGURA 4** – Fórmula estrutural das moléculas de (a) paracetamol e (b) diclofenaco.

utilizado e considerado seguro em doses terapêuticas, o consumo exagerado deste fármaco pode ocasionar sérios danos crônicos aos rins e ao fígado<sup>69</sup>.

O diclofenaco (DCF, **FIGURA 4 (b)**) é um fármaco da classe dos anti-inflamatórios não-esteroides que possui ação analgésica e anti-inflamatória. Apesar de ser um fármaco muito utilizado no tratamento de diversas condições incluindo distúrbios osteomusculares e articulares, periarticulares e condições dolorosas<sup>70</sup>, o seu uso não foi liberado pela FDA (do inglês *Food and Drug Administration*) até 1988. Em dosagem terapêutica, o diclofenaco não oferece riscos à saúde. Entretanto, não é recomendada a administração deste fármaco em pacientes com quadros de gastrite, crises asmáticas e rinite aguda. Efeitos mais graves são observados quando o fármaco é administrado em dosagem excessiva

ou por longos períodos de tempo, podendo ocasionar acidentes vasculares cerebrais, insuficiência cardíaca e problemas hepáticos<sup>71,72</sup>.

No contexto deste trabalho de mestrado, estes dois analitos foram escolhidos como sondas eletroquímicas, uma vez que seus comportamentos eletroquímicos e mecanismos redox já foram amplamente explorados em literatura recente<sup>73-76</sup>.

## **CAPÍTULO 2**

### **2. OBJETIVOS**

O presente trabalho de mestrado teve como objetivo investigar o uso de três DES, a saber: ChCl/etilenoglicol, ChCl/glicerol e ChCl/ureia, como modificadores em filmes de quitosana reticulada sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo e sua aplicação eletroanalítica para determinação simultânea de ACP e DCF em amostras farmacêuticas comerciais e fluidos biológicos.

## CAPÍTULO 3

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes químicos usados neste trabalho foram de grau analítico e foram empregados como recebidos. O pó de CB tipo VULCAN® VXC72R foi gentilmente cedido pela companhia Cabot Corporation. O padrão de ACP, DCF, ChCl, biopolímero de quitosana (baixa massa molar (50 – 190 kD) e grau de desacetilação não menor que 80 %), ECH e ureia foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Etilenoglicol e glicerol foram fornecidos pela Labsynth (Diadema, São Paulo). Para as análises de FTIR, brometo de potássio (KBr, Ecibra – Santo Amaro, São Paulo) foi seco em estufa a 100 °C por 24h antes da análise.

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura obtida em um sistema de purificação Milli-Q (Millipore® Direct-8, Bedford, MA) com resistividade elétrica maior ou igual a 18,0 MΩ cm. Uma solução-estoque de CTS 0,5 % (m/v) foi preparada em solução de ácido acético 1,0 % (m/v) e a solução-estoque de ECH 2,5 % (m/v) foi preparada em solução de NaOH 0,01 mol L<sup>-1</sup>. Ambas as soluções foram estocadas em refrigerador. CTS foi empregada como matriz polimérica e ECH como agente reticulante da CTS nas etapas de modificação da superfície do GCE, descritas nas seções subsequentes. As soluções-estoque de ACP e DCF na concentração de 1,0× 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> eram preparadas diariamente em água ultrapura.

#### 3.2 Instrumentação

Para os ensaios voltamétricos e experimentos de espectroscopia de impedância eletroquímica, uma célula eletroquímica de compartimento único com três eletrodos, a saber: de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>), placa de platina como auxiliar e, como eletrodo de trabalho, GCE com ou sem modificação foram empregados. Nos estudos voltamétricos e impedimétricos foi utilizado um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT-204 (EcoChemie, Holanda) equipado com módulo de impedância FRA, controlado pelo software NOVA 2.1.2. Os espectros de impedância eletroquímica foram analisados com o software de simulação Zview-Impedance e, o circuito elétrico equivalente de Randles para ajuste e determinação dos valores experimentais dos parâmetros elétricos. As medidas de pH foram realizadas utilizando um pHmetro Orion Expandable Ion Analyzer (modelo EA-940, EUA), equipado com um eletrodo combinado de vidro e de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>).

Para a caracterização estrutural dos DES preparados neste trabalho foi utilizada a espectroscopia na região do infravermelho (400 – 4000 cm<sup>-1</sup>) sendo aplicada a transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier-transform infrared spectroscopy*). Foi utilizado um espectrofotômetro modelo IRPrestige 21 (Shimadzu) e o software Shimadzu IR Resolution 1.60 com apodização Happ-Genzel, 32 varreduras e resolução de 4,0 cm<sup>-1</sup>. Os precursores em estado sólido foram analisados em placas de KBr; os precursores e os DES, em estado líquido, foram analisados acoplado um acessório ATR (do inglês: *Attenuate Total Reflectance*) ao espectrofotômetro.

As medidas de condutividade dos DES foram obtidas empregando-se um condutivímetro CA 150 (Marconi – Piracicaba, São Paulo).

As análises morfológicas dos filmes obtidos foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscope*) utilizando um microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo, MEV XL30 FEG.

Como método comparativo, foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High-performance liquid chromatography*), modelo Shimadzu 20 A, acoplado com um detector SPD – 20A UV-Vis um amostrador SIL – 20A e coluna cromatográfica 250 ×4,6 mm Shim-Pack CLC-ODS.

### **3.3 Preparo do solvente eutético profundo**

Os procedimentos de preparação dos solventes eutéticos profundos foram amplamente estudados de forma a entender o princípio de preparação e as condições mínimas necessárias, como a temperatura e razão molar entre os precursores, para garantir o sucesso da síntese. Na literatura são descritos diferentes procedimentos de preparação, sendo os mais comuns realizados com instrumentos e/ou vidrarias simples. Assim, a partir da análise de diferentes procedimentos optou-se por utilizar um agitador magnético com aquecimento e um frasco de vidro fechado hermeticamente.

A temperatura da reação foi controlada utilizando o próprio sistema de aquecimento do agitador magnético e um termômetro. O componente de menor temperatura de fusão foi fundido ou, no caso do componente já se apresentar no estado líquido a temperatura ambiente, foi aquecido isoladamente. Após a completa fusão, ou estabilização da temperatura, foi incorporado o componente de maior temperatura de fusão. As misturas do HBA e do HBD foram mantidas sob agitação e aquecimento, em temperatura de 60 °C. A prática de fundir o componente de menor temperatura de fusão primeiro evita a necessidade de atingir altas temperaturas e, assim, diminuir o gasto energético durante a síntese dos DES. Após aproximadamente 1h de reação, o aquecimento foi cessado. Sob agitação, permitiu-se que a mistura resfriasse naturalmente. Em seguida, os solventes obtidos foram armazenados em dessecador, com peneiras moleculares



com poros com 3Å de diâmetro, para a remoção e/ou retirada da humidade dos DES sintetizados.

Para os DES empregados neste trabalho, utilizou-se o ChCl como HBA e, como HBD, foram empregados a ureia, o etilenoglicol e o glicerol. Na **TABELA 4** são apresentadas as temperaturas de fusão para cada um dos componentes aplicados neste trabalho.

**TABELA 4** – Temperatura de fusão ( $T_f$ /°C) das substâncias empregadas nas sínteses dos DES

<b>Componente</b>	<b>Precursor</b>	<b><math>T_f</math> (°C)</b>
HBA	ChCl	302°C
HBD	ureia	133°C
	etilenoglicol	-12,9°C
	glicerol	18,8°C

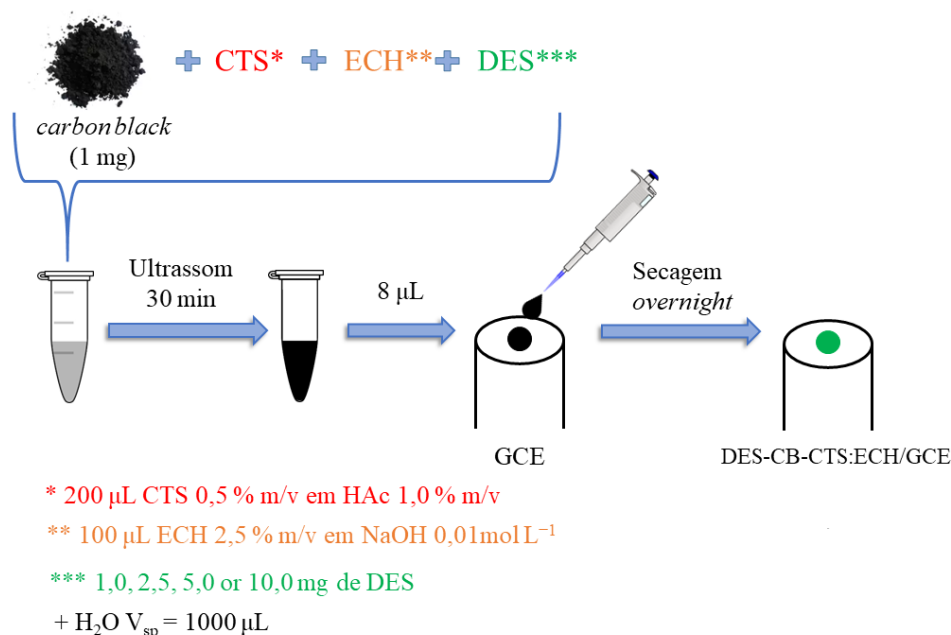
Fonte: Sigma-Aldrich.

### 3.4 Preparo do sensor eletroquímico

O eletrodo base para a execução deste trabalho foi um GCE com 3,0 mm de diâmetro. Para a modificação do eletrodo, inicialmente a sua superfície foi polida cuidadosamente com pasta de alumina (micropartículas com diâmetro de 1 µm) em um pano de polimento umedecido com água. Em seguida, o eletrodo foi tratado com álcool isopropílico e água ultrapura com o auxílio de um banho ultrassônico por 1 minuto cada.

A superfície do GCE foi modificada com uma dispersão aquosa contendo CB, DES e CTS reticulada. O procedimento para a modificação da superfície do eletrodo está esquematizado na **FIGURA 5**. Esta dispersão foi

preparada a partir da mistura de 1,0 mg de CB, DES (1,0, 3,0, 5,0, 10 ou 15 mg), 200  $\mu\text{L}$  de CTS 1,0 % (m/v) em ácido acético 1,0 % (m/v), 100  $\mu\text{L}$  de ECH 2,5 % (m/v) em NaOH 0,01 mol L<sup>-1</sup>, e o volume foi completado para 1000  $\mu\text{L}$  utilizando água ultrapura. A mistura foi submetida a banho ultrassônico por 30 minutos para a obtenção de uma dispersão homogênea. Por fim, 8  $\mu\text{L}$  desta dispersão foram gotejados sobre a superfície do GCE, e o solvente foi evaporado por aproximadamente 12 horas (*overnight*) Os eletrodos modificados foram nomeados como CB-CTS:ECH/GCE quando modificado apenas com CB e CTS reticulada e, como DES-CB-CTS:ECH/GCE quando modificado também com DES.



**FIGURA 5** – Esquema de preparação do eletrodo modificado a base de DES, CB e CTS reticulada com ECH. V<sub>sp</sub> = volume suficiente para.

### 3.5 Preparo das amostras de formulações farmacêuticas

Quatro formulações farmacêuticas foram adquiridas em drogarias locais (São Carlos, SP), sendo as quatro compostas por ACP e DCF, respectivamente 300 mg/comprimido e 50 mg/comprimido. Para preparar as amostras foram utilizados dez comprimidos de cada uma das amostras, que foram

pesados e, determinada a massa média de um comprimido. Em seguida, dez comprimidos foram triturados utilizando-se um almofariz e pistilo. A massa equivalente a um comprimido foi pesada e transferida para um béquer e dissolvida em 10 mL de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e levado ao ultrassom por 30 minutos para total solubilização dos analitos de interesse. A solução resultante foi filtrada em papel qualitativo, com gramatura de 80 g cm<sup>-3</sup>, de forma a separar os componentes insolúveis da formulação. Uma alíquota de 1,0 mL da solução resultante foi diluída em balão volumétrico de 25,0 mL utilizando PB 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0), obtendo-se as respectivas soluções estoque para cada amostra. Em seguida, a amostra foi analisada empregando-se o método voltamétrico proposto e o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE e, também, o método comparativo cromatográfico.

### **3.6 Preparo das amostras de fluidos biológicos**

A urina sintética foi preparada a partir de procedimento descrito na literatura<sup>77</sup> e descrito brevemente a seguir. Em um balão volumétrico de 250 mL foram dissolvidos 0,73 g de NaCl, 0,40 g de KCl, 0,275 g de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,562 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,35 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,25 g de NH<sub>4</sub>Cl e 6,25 g de ureia utilizando água ultrapura. Soro bovino foi adquirido da Sigma-Aldrich (MO, USA), de forma a simular a composição do soro humano. Em seguida, as amostras foram fortificadas em dois níveis de concentrações conhecidas de ACP e DCF e analisadas diretamente empregando-se o método voltamétrico proposto e um eletrodo de DES-CB-CTS:ECH/GCE, e pelo método comparativo cromatográfico.

### **3.7 Método analítico**

No desenvolvimento do método para determinação voltamétrica simultânea de ACP e DCF foram seguidas diferentes etapas de otimização, incluindo o tipo e a concentração de DES utilizada na modificação dos eletrodos, a concentração hidrogeniônica do eletrólito suporte e os parâmetros experimentais da técnica de DPV, como descritas a seguir.

Inicialmente, avaliou-se o efeito da composição e da concentração do DES no filme de quitosana sobre as respostas eletroquímicas para os dois analitos.

Empregando-se a técnica DPV, foi estudado o efeito da concentração hidrogeniônica do eletrólito suporte sobre a resposta analítica. Em seguida, avaliou-se possíveis efeitos da pré-concentração de cada um dos analitos no filme do eletrodo. Os parâmetros experimentais (*step*, a amplitude e o tempo de modulação) da técnica de DPV foram então estudados e otimizados. Empregando-se as melhores condições experimentais selecionadas foram construídas as curvas analíticas para ACP e DCF. As curvas analíticas foram obtidas em duas condições, a saber: (a) mantendo a concentração de um dos analitos constante e variando a concentração do outro e, (b) variando a concentração dos dois analitos simultaneamente.

O desempenho analítico deste método foi então avaliado por meio dos parâmetros obtidos a partir das equações lineares, sendo a faixa linear de resposta, o limite de detecção e a sensibilidade. Ademais, foram avaliadas a repetibilidade inter-dias ( $n = 5$ ) e intra-dia ( $n = 10$ ), e o efeito de possíveis interferentes.

Em seguida o método proposto foi aplicado para a determinação voltamétrica simultânea de ACP e DCF em amostras farmacêuticas comerciais e em amostras de fluídos biológicos (urina sintética e soro bovino). Por fim, foi aplicado um método adaptado<sup>78</sup> de HPLC/UV-Vis, sendo as condições do método para a determinação de ACP (fase móvel: 60:40 (v/v) acetonitrila:ácido acético 0,5 %; vazão de 0,8 mL min<sup>-1</sup>; volume de injeção de 20 µL, comprimento de onda

de 275 nm). Para o DCF, a fase móvel: 20:70 (v/v) acetonitrila:acetato de amônio 20 mmol L<sup>-1</sup>, vazão de 0,8 mL min<sup>-1</sup>, volume de injeção de 20 µL e comprimento de onda de 247 nm foram empregados.

## CAPÍTULO 4

### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 Caracterização dos DES

A caracterização estrutural dos DES utilizados neste trabalho foi realizada com o uso da espectroscopia na região do infravermelho aplicando a transformada de Fourier (FTIR). De forma a identificar as alterações espectrais e estruturais devido às ligações de hidrogênio formadas durante a síntese dos DES, analisou-se os precursores individualmente e os DES produzidos a partir destes.

O espectro vibracional de absorção no infravermelho para o glicerol apresenta uma banda larga e forte em  $3292\text{ cm}^{-1}$  característica do grupamento  $\text{-OH}$  de álcoois, que estão associados através de interações intermoleculares. As bandas em  $2931$  e  $2877\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas ao estiramento  $\text{C-H}$  de carbonos alifáticos primário e secundário, respectivamente. A banda em  $1420\text{ cm}^{-1}$  representa a deformação angular dos grupos  $\text{-CH}_2$ . As absorções em  $1109\text{ cm}^{-1}$  e  $1031\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas, respectivamente, aos modos de estiramento  $\text{C-O}$  de álcoois secundários e primários<sup>79</sup>. O etilenoglicol apresentou espectro vibracional semelhante ao glicerol, com uma banda larga e forte em  $3292\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupamento  $\text{-OH}$  associados através de interações intermoleculares. As bandas em  $2935$  e  $2873\text{ cm}^{-1}$  são associadas aos modos de estiramento da ligação  $\text{C-H}$  de carbonos alifáticos. À deformação axial das ligações  $\text{C-O}$  foram atribuídas as bandas de absorção em  $1082$  e  $1031\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro vibracional para o  $\text{ChCl}$  apresentou perfil característico de sais de amônio quaternário, com ausência de interações  $\text{N-H}$ , e banda larga e intensa na região de  $3500\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo  $\text{O-H}$  da colina. Na região do

espectro entre  $1480 - 1090 \text{ cm}^{-1}$  é possível identificar as bandas características do estiramento C–N e, também, na mesma região, mas de menor intensidade, observa-se a banda de absorção em  $1136 \text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação C–O<sup>80</sup>.

A ureia também apresentou espectro vibracional característico de amidas primárias. Na região de  $3450 - 3340 \text{ cm}^{-1}$  observa-se banda intensa referente aos grupos  $-\text{NH}_2$  deste composto; em  $790 \text{ cm}^{-1}$  também é observada banda de absorção referente ao estiramento da ligação N–H. A banda referente à carbonila surge, na forma de duplete, em torno de  $1680 - 1620 \text{ cm}^{-1}$ <sup>81</sup>. Finalmente, em  $1460 \text{ cm}^{-1}$  ocorre a banda de absorção referente ao modo vibracional das ligações C–N.

A identificação das interações de hidrogênio responsáveis pela formação e estabilidade dos DES foi realizada por comparação entre as bandas de absorção discutidas anteriormente e o espectro vibracional obtido para os DES utilizados neste trabalho. Nos três DES estudados, observou-se diferenças entre os espectros na região de  $400 - 1305 \text{ cm}^{-1}$ , região do espectro conhecida como *fingerprinter*, indicando que as interações de hidrogênio ocorreram principalmente nesta região. Os espectros obtidos tanto para os precursores como para os DES são apresentados no **APÊNDICE A1.1**.

Neste apêndice estão organizados os espectros vibracionais obtidos para o DES ChCl:glicerol na razão molar de 1:2. Ocorreu um ligeiro aumento de intensidade e largura da banda característica do grupo  $-\text{OH}$  podendo ser atribuída às interações de hidrogênio formadas<sup>82</sup>. O modo vibracional referente ao estiramento angular do grupo  $-\text{CH}_2$  deslocou  $+57 \text{ cm}^{-1}$ , sendo identificado no espectro do DES em  $1477 \text{ cm}^{-1}$ ; indicando que este grupo está envolvido em interações de hidrogênio. Foi observada redução de intensidade na banda em  $1109 \text{ cm}^{-1}$ , referente a ligação C–O, devido às interações de hidrogênio formadas, causando um deslocamento da densidade de carga sobre o átomo de oxigênio,

alterando o ambiente da ligação. Nesta região supramencionada, na faixa de número de onda entre  $1460 - 1020 \text{ cm}^{-1}$ , são observados estiramentos referentes às ligações  $\text{C} - \text{O} - \text{C}$  e  $\text{C} - \text{O} - \text{H}$ <sup>83</sup>. Como esperado, o espectro vibracional do DES 1:2 ChCl:etilenoglicol é semelhante ao do DES 1:2 ChCl:glicerol uma vez que a diferença entre o glicerol e o etilenoglicol é a presença de um grupo  $-\text{OH}$  a mais neste último composto. A comparação entre os espectros vibracionais dos precursores (ChCl e etilenoglicol) e do DES preparado na razão molar 1:2 ChCl:etilenoglicol é apresentada no **APÊNDICE A1.2**.

Os espectros vibracionais referentes aos precursores (ChCl e ureia) e o DES produzido na razão molar 1:2 ChCl:ureia são apresentados no **APÊNDICE A1.3**. Assim como observado para os outros DES estudados neste trabalho, o espectro vibracional do DES produzido a partir de ChCl e ureia também apresentou alterações na região de *fingerprinter*, além do deslocamento para menores números de ondas de outras bandas características. Na região do espectro, em torno de  $3300 \text{ cm}^{-1}$ , ocorreu um *overlap* das banda de  $-\text{OH}$  e  $-\text{NH}_2$  com aumento da intensidade e deslocamento do número de onda<sup>80</sup>, uma vez que estes grupos estão envolvidos em interações de hidrogênio. Como discutido anteriormente, o envolvimento de um grupo em interações de hidrogênio leva ao deslocamento da densidade eletrônica e, assim, mudanças no ambiente químico das ligações químicas. Como nos outros DES apresentados anteriormente, neste caso surgiu uma banda de pequena intensidade em  $3030 \text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação  $\text{N}-\text{H}$ . Também foi observado o deslocamento para menores números de onda das bandas referentes à carbonila e à ligação  $\text{C}-\text{N}$ . Na região de *fingerprinter* do espectro, é interessante destacar o deslocamento da banda referente ao estiramento  $\text{N}-\text{H}$ , em  $785 \text{ cm}^{-1}$ , indicando a participação destes grupos em interações de hidrogênio.

Continuando os estudos de caracterização dos DES apresentados neste trabalho, medidas de condutividade foram realizadas em triplicata para cada DES preparado. A condutividade do solvente que será incorporado à modificação



proposta pode afetar positivamente ou negativamente o desempenho do sensor eletroquímico por favorecer ou não a transferência de carga na superfície eletródica. Os resultados das medidas de condutividade realizadas são apresentados na **TABELA 5**. Os valores determinados de condutividade estão em acordo com outros reportados na literatura, para os DES a base de glicerol e etileno glicol<sup>84,85</sup>. Para o DES a base de ureia, o valor determinado foi consideravelmente maior do que aqueles reportados. Para este DES especificamente, tanto o HBA quanto o HBD são altamente higroscópicos e, mesmo com o armazenamento em dessecador e o uso de peneiras moleculares, pode ocorrer maior incorporação de água neste sistema em relação aos outros. A presença de maior quantidade de água no solvente eutético leva à diminuição da viscosidade, mesmo em temperatura ambiente, podendo afetar as medidas de condutividade.

No estudo do efeito da composição do DES utilizado na modificação do eletrodo (seção 4.6) é possível observar o efeito da condutividade do solvente eutético no sinal analítico.

**TABELA 5** – Valores de condutividade determinados para os DES produzidos

<b>DES</b>	<b>Condutividade elétrica<sup>a,b</sup> (mS cm<sup>-1</sup>)</b>
1:2 (mol/mol) ChCl:ureia	(2,3 ± 0,1)
1:2 (mol/mol) ChCl:etilenoglicol	(2,9 ± 0,3)
1:2 (mol/mol) ChCl:glicerol	(11,4 ± 0,9)

<sup>a</sup> n = 3. <sup>b</sup> Medidas realizadas a 25°C.

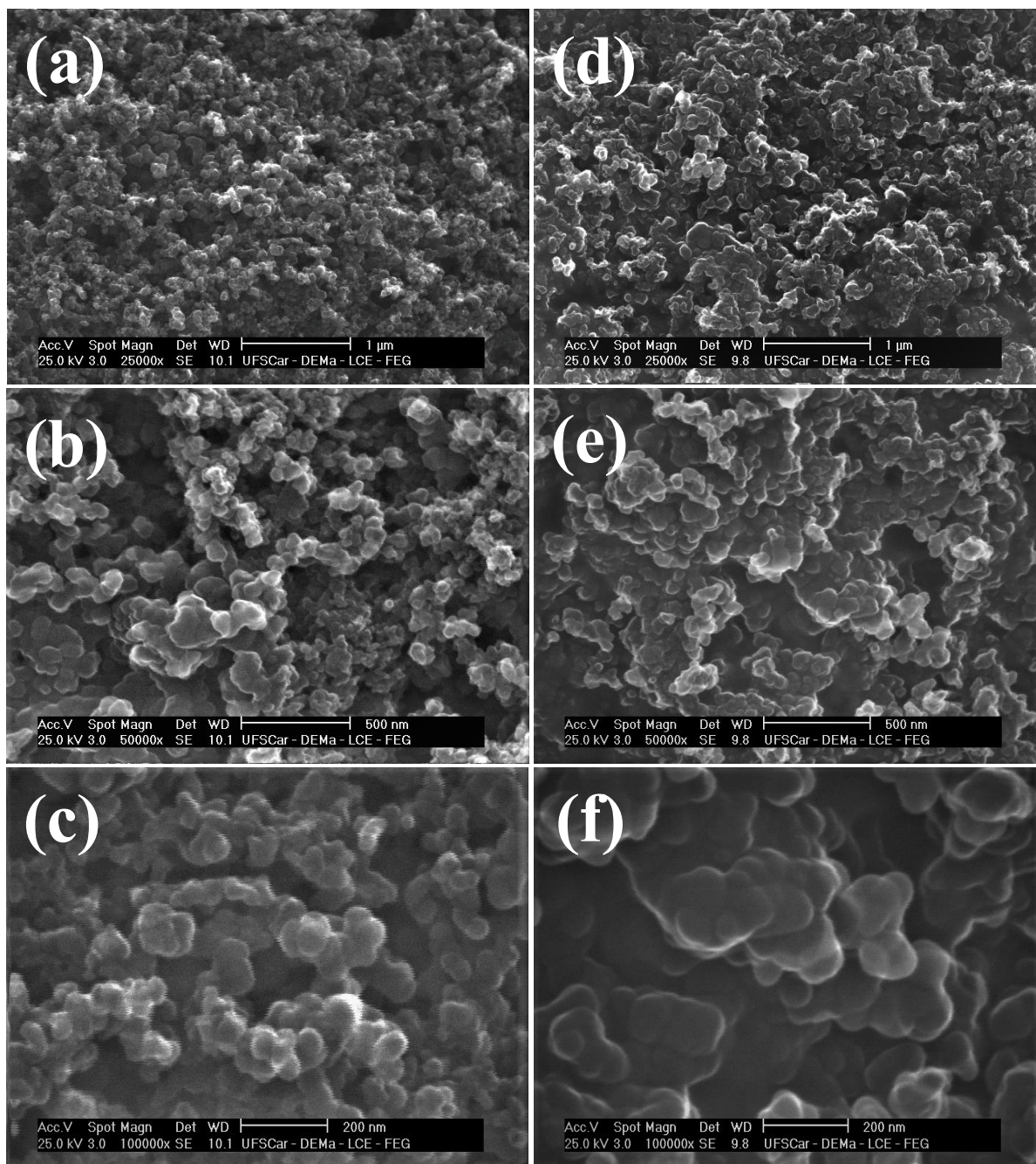
## **4.2 Caracterização morfológica**

Neste trabalho de mestrado foi proposta a preparação de um GCE modificado com DES e nanopartículas de CB imobilizados utilizando CTS reticulada com ECH. O CB foi o nanomaterial selecionado por apresentar diversas

vantagens analíticas e eletroquímicas, como aumento do sinal analítico, melhores sensibilidade e seletividade e, atividade catalítica. A escolha de utilizar os DES como parte da modificação proposta se deu pelo potencial destes novos líquidos iônicos em diferentes aplicações analíticas, eletroquímicas e eletroanalíticas, como vem sendo reportado na literatura. Ademais, são materiais de baixo custo, de fácil preparação e armazenamento. Para garantir a aderência do filme na superfície do eletrodo, utilizou-se o polímero de CTS reticulada com ECH. A CTS forma filmes aderentes e homogêneos na superfície do GCE, assegurando a imobilização dos materiais (DES e CB).

Os filmes preparados para a realização das análises morfológicas seguiram o procedimento experimental descrito na **FIGURA 5**. Na **FIGURA 6 (a – f)** são mostradas as micrografias obtidas para CB (suspenso em água) e CB-DES sobre a superfície de uma placa de silício, que foi previamente limpa com isopropanol. Desta maneira, foi possível observar alterações nas características morfológicas das nanopartículas de CB antes e depois da incorporação dos outros agentes modificadores. Nesta etapa, foi empregado o DES 1:2 ChCl/glicerol em concentração de  $5 \text{ mg mL}^{-1}$ .

Na **FIGURA 6 (a – c)** são apresentadas as imagens de MEV de CB depositado na superfície de uma placa de silício. Pode ser observado que o CB é um material formado por nanopartículas de geometria esférica (ou semiesférica), que formam aglomerados de maior tamanho. Com a incorporação do DES, é possível observar, a partir da **FIGURA 6 (d – f)**, a ocorrência de recobrimento das partículas de CB pelo DES, aumentando significativamente o tamanho dos aglomerados.

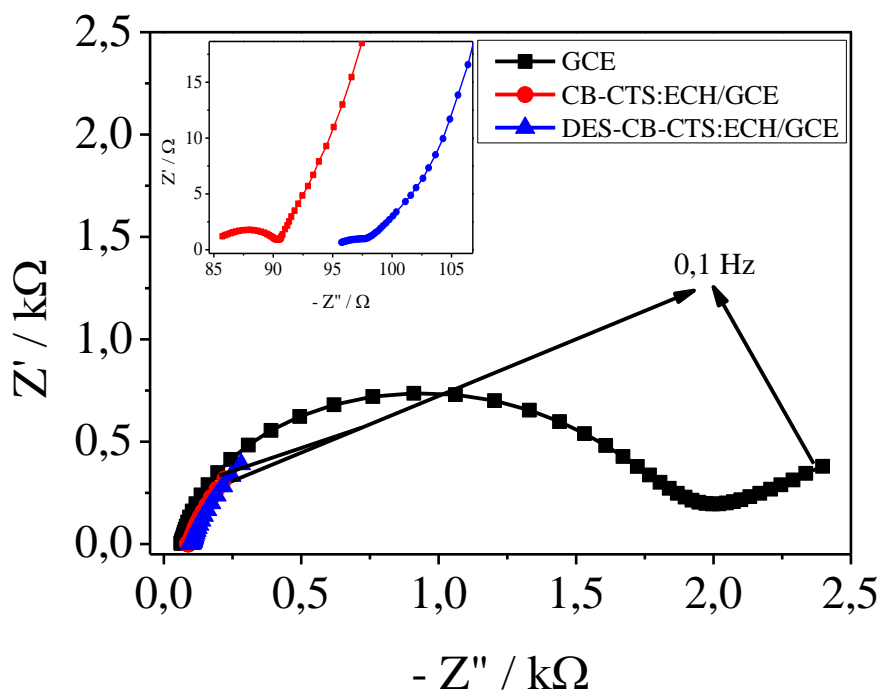


**FIGURA 6** – Imagens de MEV obtidas para (a – c) CB e (d – f) CB-DES. DES 1:2 ChCl/glicerol ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

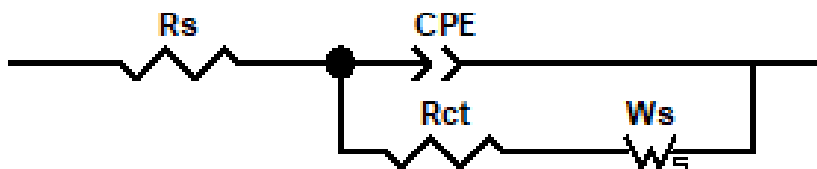
### 4.3 Caracterização eletroquímica

Seguindo os estudos de caracterização do eletrodo de filme modificado com DES, investigou-se o comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados com o par redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/-4}$ . Assim, experimentos de

espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês *electrochemical impedance spectroscopy*) foram realizados em solução KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  do par redox (1:1 mol/mol), sendo as medidas feitas em potencial de circuito aberto (OCP, do inglês *open circuit potential*). Para a caracterização eletroquímica foi verificada a contribuição de cada agente modificador. A superfície do GCE foi modificada inicialmente apenas com CB em quitosana (CB-CTS:ECH/GCE) e depois modificada com DES (1:2 mol/mol ChCl/glicerol) e CB (DES-CB-CTS:ECH/GCE). Na **FIGURA 7** são apresentados os diagramas de Nyquist obtidos para os eletrodos de GCE sem modificação, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE. Os espectros de EIS foram obtidos na faixa de frequência de  $0,1 - 100 \text{ kHz}$ . Nos diagramas de Nyquist, a impedância registrada em altas frequências corresponde aos processos de transferência de carga na interface eletrodo/solução e, a impedância registrada na região de baixa frequência, está relacionada aos processos de difusão.



**FIGURA 7** – Diagramas de Nyquist obtidos para (■) GCE, (●) CB-CTS:ECH/GCE e (▲) DES-CB-CTS:ECH/GCE. Inserido: ampliação dos diagramas de Nyquist. DES 1:2 ChCl/glicerol ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ).



**FIGURA 8** – Circuito equivalente de Randles ( $R_s$  = resistência da solução; CPE = elemento de fase constante;  $R_{ct}$  = resistência de transferência de carga;  $W_s$  = elemento de Warburg).

Para a avaliação quantitativa dos resultados obtidos nestes experimentos, os espectros de impedância foram ajustados ao circuito equivalente de Randles (**FIGURA 8**), constituído de uma resistência (atribuída a resistência da solução do eletrólito suporte,  $R_s$ ) em série com uma combinação em paralelo de um elemento de fase constante (CPE, do inglês *constant phase element*), representando a formação da dupla camada elétrica como um capacitor não-ideal, e uma segunda resistência (atribuída a resistência de transferência de carga,  $R_{ct}$ ) em série com um elemento de Warburg (referente à difusão das espécies,  $W_s$ ).

Na **TABELA 6** são mostrados os parâmetros ajustados para os resultados experimentais utilizando os elementos do circuito de Randles. Para as medidas de impedância eletroquímica, foi determinado o potencial de circuito aberto. OCP é a diferença de potencial entre dois terminais elétricos quando não há nenhuma corrente externa fluindo entre eles. O sistema NOVA 2.1.2 determina o OCP em um intervalo máximo de 120 s de imersão do eletrodo em solução, de forma a garantir condições estacionárias. Assim, na **TABELA 6**, é também indicado qual foi o potencial de circuito aberto determinado em cada caso.

Dos resultados apresentados na **TABELA 6** observa-se que houve variação significativa na resistência da solução. No gráfico de Nyquist,  $R_s$  refere-se ao ponto inicial do gráfico. Esse parâmetro pode ter sofrido variação devido a dois fatores: primeiro, à composição do filme na modificação do eletrodo; segundo, à queda ôhmica uma vez que a distância relativa entre os eletrodos de

trabalho e de referência não é controlada com precisão<sup>86</sup>. Os valores de capacitância, determinados a partir do CPE, aumentaram quando comparados aos valores do GCE sem modificação e dos eletrodos CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE, o que pode estar relacionado com o aumento da rugosidade da superfície eletródica<sup>87</sup> e reflete inversamente no valor da  $R_{ct}$  que diminuiu em relação ao GCE sem modificação. A diminuição da resistência de transferência de carga na superfície do eletrodo indica que o processo eletroquímico ocorreu com mais facilidade e maior rapidez. Com a modificação do GCE com CB (CB-CTS:ECH/GCE) ocorreu diminuição da  $R_{ct}$  da ordem de 490 vezes e, com a posterior incorporação do DES no filme do eletrodo, a  $R_{ct}$  atingiu valor próximo a 3,5  $\Omega$ . Em seguida, a área eletroativa dos eletrodos modificados foi determinada a partir de experimentos por voltametria cíclica.

**TABELA 6** – Parâmetros ajustados a partir do circuito equivalente de Randles

<b>Eletrodo</b>	<b><math>R_s</math> (<math>\Omega</math>)</b>	<b><math>C</math> (<math>\mu\text{F s}^{\alpha-1}</math>)</b>	<b><math>\alpha</math></b>	<b><math>R_{ct}</math> (<math>\Omega</math>)</b>	<b>OCP (mV)</b>
<b>GCE</b>	63,85	0,783	0,91	2835	20,01
<b>CB-CTS:ECH/GCE</b>	91,49	69,46	0,70	5,786	15,95
<b>DES-CB-CTS:ECH/GCE</b>	84,82	61,90	0,76	3,435	15,28

$R_s$  = resistência da solução;  $C$  = capacitância;  $R_{ct}$  = resistência de transferência de carga; OCP = potencial de circuito aberto.

#### 4.4 Determinação da área eletroativa do eletrodo

Prosseguindo com a caracterização eletroquímica dos eletrodos, foram realizados experimentos aplicando-se a técnica de voltametria cíclica variando-se a velocidade de varredura do potencial objetivando-se calcular a área eletroativa dos eletrodos em estudo, a saber: GCE sem modificações, CB-

CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE. Nesta etapa empregou-se o DES 1:2 ChCl/glicerol, 5 mg mL<sup>-1</sup>.

Os voltamogramas cíclicos foram registrados na faixa de potencial de 10 – 100 mV s<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> contendo o par redox Fe(CN)<sub>6</sub><sup>-3/-4</sup> na concentração de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> (1:1 mol/mol) empregando-se os eletrodos de GCE sem modificação, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE, respectivamente. Os voltamogramas obtidos nas condições descritas são apresentados na **FIGURA 9 (a – c)**. Como pode ser observado nestas figuras, há um aumento das correntes de pico anódica e catódica com o aumento da velocidade de varredura de potencial para os três eletrodos. Na **FIGURA 9 (d)** são apresentadas as correntes de picos em função da raiz quadrada da velocidade da varredura de potencial. A dependência linear de  $I_p$  vs.  $v^{1/2}$ , como previsto pela equação de Randles-Sevcik (**EQUAÇÃO 1**), indica que o transporte de massa da espécie eletroativa é difusional.

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

sendo  $I_p$  a corrente de pico anódica ou catódica,  $n$  número de elétrons envolvidos no processo redox,  $A$  área eletroativa do eletrodo em cm<sup>2</sup>,  $D$  coeficiente de difusão em cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>,  $C$  concentração da espécie eletroativa em mol cm<sup>-3</sup> e  $v^{1/2}$  raiz quadrada da velocidade de varredura do potencial em V s<sup>-1</sup>.

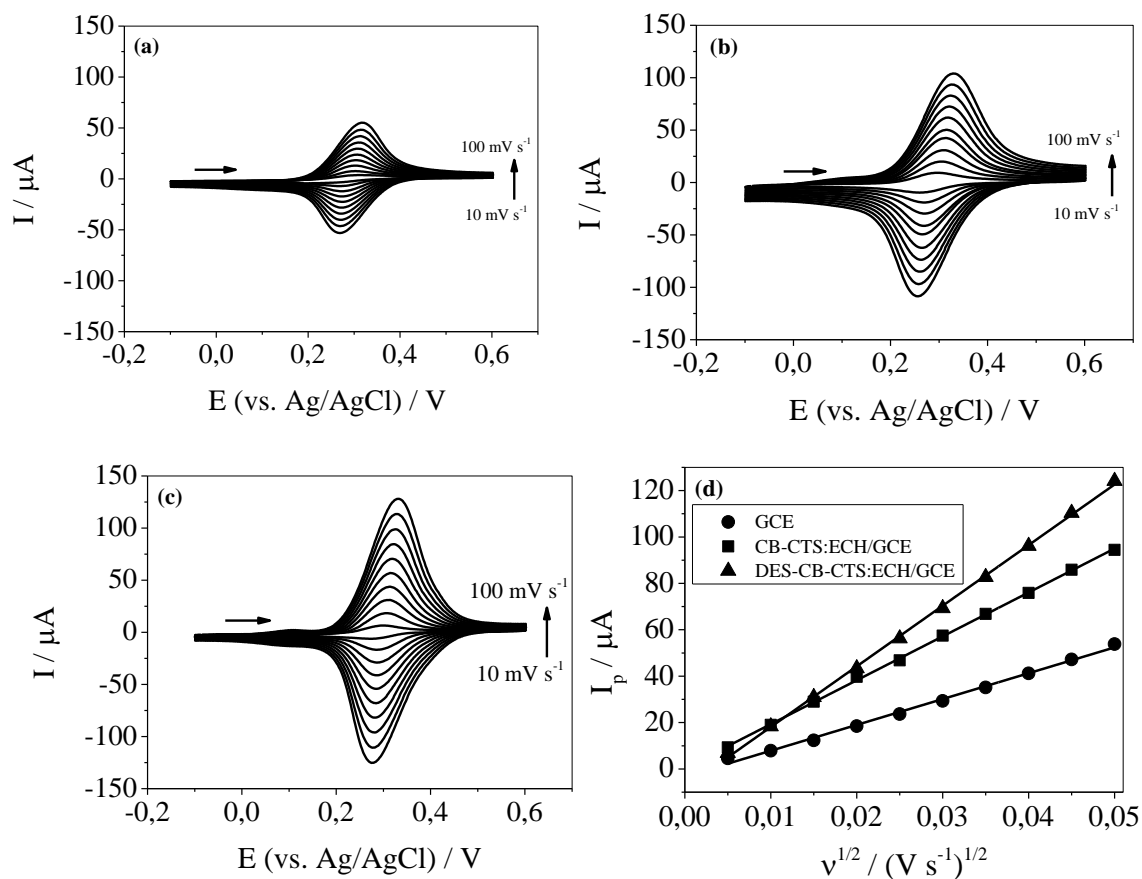
Considerando-se  $D^{88} = 7,6 \times 10^{-6}$  cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>,  $n = 1$  e  $C = 1,0 \times 10^{-6}$  mol cm<sup>-3</sup>, os valores da área eletroativa foram calculados como sendo iguais a 0,075, 0,175 e 0,181 cm<sup>2</sup> para GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECG/GCE, respectivamente. Os valores obtidos de área eletroativa para cada eletrodo avaliado estão organizados na **TABELA 7**. A área eletroativa do eletrodo CB-CTS:ECH/GCE foi 2,4 vezes maior que aquela obtida para o GCE, sendo que a posterior modificação do eletrodo com o DES (DES-CB-CTS:ECH/GCE)

proporcionou um aumento de 2,5 em relação ao GCE e de 1,1 vez maior que a área obtida empregando-se o eletrodo CB-CTS:ECH/GCE. Como pode ser observado, a incorporação do DES no filme do eletrodo não proporcionou aumento considerável de área. No entanto, como será discutido, a incorporação do DES ao filme do eletrodo exerce função de relevância na pré-concentração de cada um dos analitos (ver seção 4.9).

**TABELA 7** –Áreas eletroativas, em cm<sup>2</sup>, determinadas para os eletrodos GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE

<b>Eletrodo</b>	<b>Área eletroativa (cm<sup>2</sup>)</b>
<b>GCE</b>	0,072
<b>CB-CTS:ECH/GCE</b>	0,175
<b>DES-CB-CTS:ECH/GCE</b>	0,181





**FIGURA 9** – Voltamogramas cíclicos obtidos empregando os eletrodos **a)** GCE, **b)** CB-CTS:ECH/GCE e **c)** DES-CB-CTS:ECH/GCE. Eletrólito suporte: KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .  $[\text{Fe}(\text{CN})^{-3/-4}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .  $v$ :  $10 - 100 \text{ mV s}^{-1}$ . **d)** Relações lineares de  $I_p$  vs.  $(v^{1/2})$  para os eletrodos (**●**) GCE, (**■**) CB-CTS:ECH/GCE e (**▲**) DES-CB-CTS:ECH/GCE. DES 1:2 ChCl/glicerol ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

#### 4.5 Determinação da constante heterogênea de transferência de elétrons ( $k^0$ )

Na investigação do efeito da incorporação do DES ao filme de CB em CTS reticulado foi então empregado os analitos ACP e DCF. O principal parâmetro a ser considerado é a constante heterogênea de transferência de elétrons ( $k^0$ ), sendo a mesma determinada para cada um dos analitos, empregando-se os eletrodos de carbono vítreo (GCE), CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE e, o modelo cinético mais adequado considerando o processo de

oxidação de cada analito nestes estudos (reversível ou irreversível), que foi constatado experimentalmente.

A técnica de voltametria cíclica foi utilizada nesta etapa, aplicando-se uma ampla faixa de velocidades de varredura do potencial mais adequado nos processos de transferência de elétrons dos analitos selecionados. Todos os experimentos de voltametria cíclica foram conduzidos em solução tampão fosfato (PB) 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0) como eletrólito suporte. Os eletrodos foram modificados com o DES 1:2 ChCl/glicerol (5 mg mL<sup>-1</sup>).

Para o ACP, os voltamogramas cíclicos foram registrados em solução de PB 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0) contendo o ACP na concentração de  $5,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. A velocidade de varredura de potencial foi na faixa de 10 – 100 mV s<sup>-1</sup>. Os voltamogramas obtidos nas condições descritas para os eletrodos GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE são apresentados na **FIGURA 10 (a – c)**. A molécula de ACP apresentou um processo redox classificado como *quasi-reversível* e, assim, o modelo cinético teórico que melhor se aproxima para o cálculo de  $k^0$  é método proposto por Nicholson<sup>89</sup>. Neste método  $k^0$  é obtido empregando-se a **EQUAÇÃO 2**.

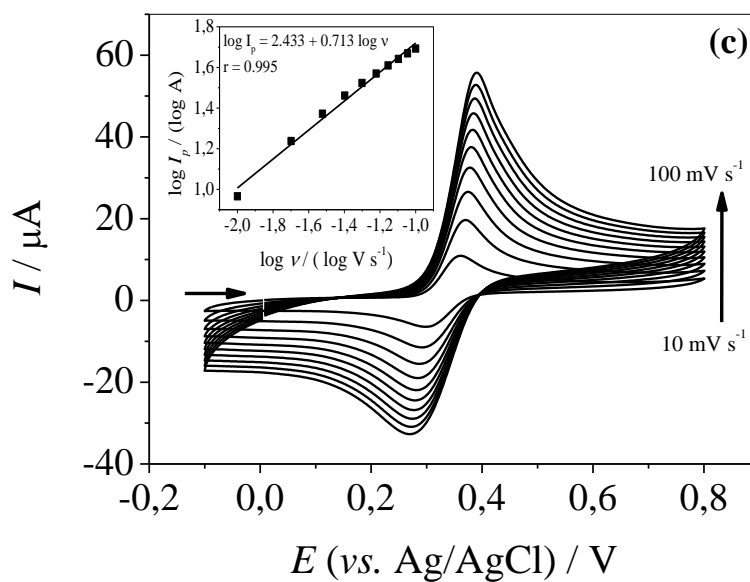
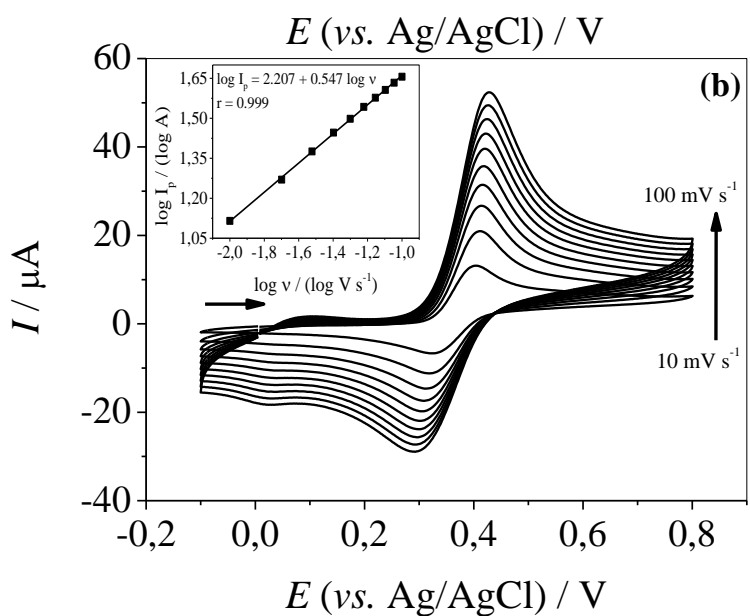
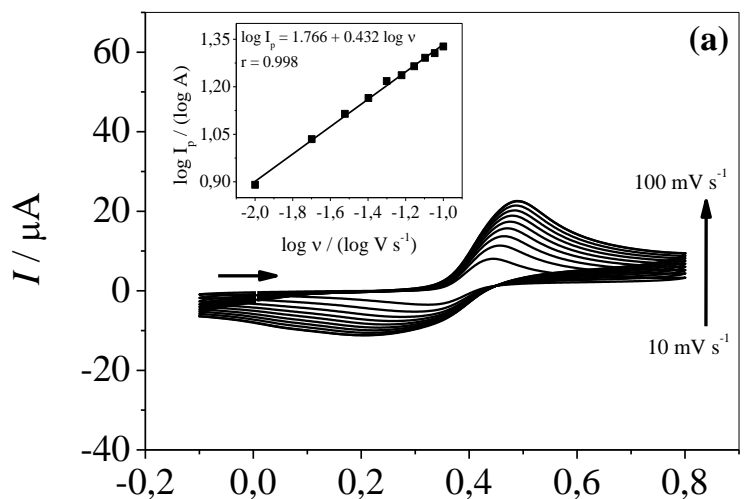
$$\psi = k^0 [\pi D n F / (RT)]^{-1/2} \nu^{1/2} \quad \text{EQUAÇÃO 2}$$

sendo  $\psi$  um parâmetro cinético e os demais termos já foram definidos anteriormente. Os valores de  $\psi$  encontram-se tabelados para valores de  $\Delta E_p$  a 298,15 K para processos de eletrodo envolvendo um elétron<sup>89</sup> ou aplicando-se diretamente as **EQUAÇÕES 3 e 4**, propostas por Lavagnini *et. al.*<sup>90</sup> que relacionam  $\psi$  e o valor de  $\Delta E_p$  para cada velocidade de varredura do potencial aplicado. Na **EQUAÇÃO 4**, foi atribuído o valor de 0,5 para o coeficiente de transferência de carga ( $\beta$ ), sendo os demais termos definidos anteriormente.

$$\psi = \frac{(-0,6288 + 0,0021 n \Delta E_p)}{(1 - 0,017 n \Delta E_p)} \quad \text{EQUAÇÃO 3}$$

$$\psi = 2,18 [\beta / \pi]^{1/2} \exp[(\beta^2 F) / RT) n \Delta E_p] \quad \text{EQUAÇÃO 4}$$

O uso destas equações depende do valor de  $\Delta E_p$  determinado em cada velocidade de varredura do potencial. A **EQUAÇÃO 3** é aplicada para valores de  $n \times \Delta E_p < 200$  mV, e a **EQUAÇÃO 4** quando o produto  $n \times \Delta E_p \geq 200$  mV. Dessa forma, cada equação foi aplicada para o cálculo de  $\psi$  em função dos valores do produto  $n \times \Delta E_p$ . Para a determinação do valor de  $k^0$  é necessário construir o gráfico de  $\psi$  em função de  $10,37 \nu^{-1/2}$ , sendo 10,37 equivalente ao termo  $[\pi D n F / (RT)]^{-1/2}$  da **EQUAÇÃO 2**, considerando  $D^{91} = 3,8 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ . A partir da relação linear entre  $\psi$  e  $10,37 \nu^{-1/2}$  o valor de  $k^0$  é determinado diretamente pelo valor do coeficiente angular. Aplicando-se o método matemático supramencionado, os valores de  $k^0$  obtidos foram de  $1,51 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ ,  $2,06 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$  e  $4,49 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ , para os eletrodos de carbono vítreo, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE, respectivamente (ver **TABELA 8**).

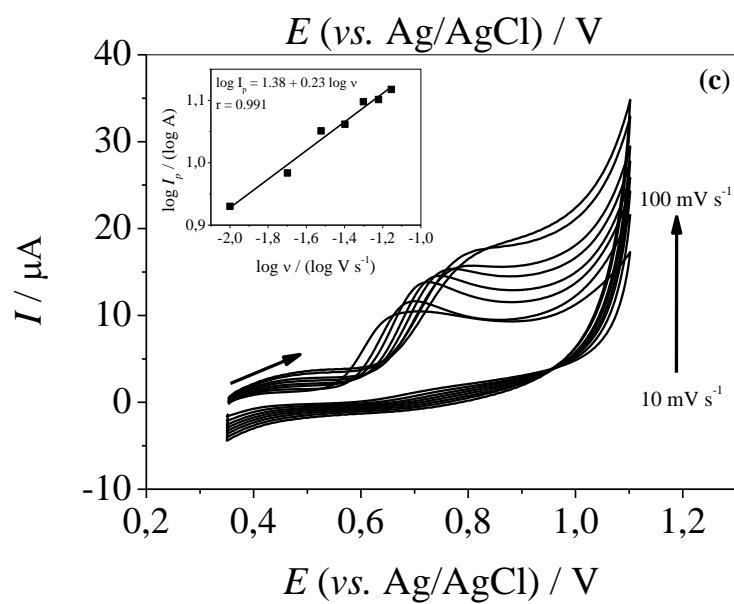
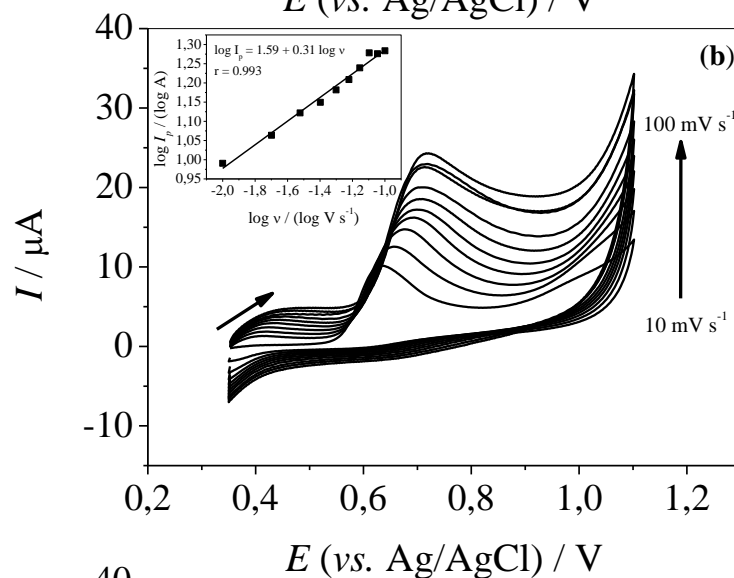
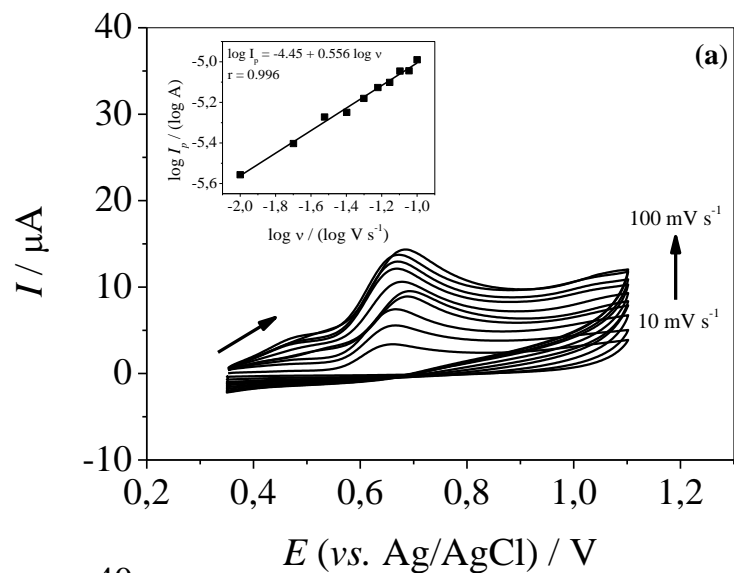


**FIGURA 10** – Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE, (b) CB-CTS:ECH/GCE e (c) DES-CB-CTS:ECH/GCE em PB 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0) e [ACP] = 5,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>. Parâmetros:  $\nu$ : 10 – 100 mV s<sup>-1</sup>. Inserido: curvas log  $I_p$  vs. log  $\nu$  correspondentes. DES 1:2 ChCl/glicerol (5 mg mL<sup>-1</sup>).

Os mesmos experimentos de voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura de potencial foram conduzidos utilizando-se o DCF como sonda eletroquímica. Os voltamogramas obtidos nesta etapa para os eletrodos GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE são apresentados na **FIGURA 11 (a – c)**. Como a molécula de DCF apresentou um processo redox irreversível, empregou-se o método proposto por Nicholson e Shain<sup>92</sup>. De acordo com este método, existe uma relação logarítmica neperiana entre a corrente de pico com a diferença entre o potencial de pico ( $E_p$ ) e o potencial padrão formal ( $E^{0'}$ ) para processos irreversíveis controlados por difusão, **EQUAÇÃO 5**:

$$\ln I_p = \ln(0,227 n F A C k^0) + \left( \frac{\alpha n F}{RT} \right) (E_p - E^{0'}) \quad \text{EQUAÇÃO 5}$$

sendo C a concentração da espécie eletroativa ([DCF] = 5,0 × 10<sup>-7</sup> mol cm<sup>-3</sup>),  $\alpha$  o coeficiente de transferência de carga, ao qual foi atribuído o valor de 0,5, e os outros termos já foram introduzidos anteriormente. Empregando-se a **EQUAÇÃO 5**,  $k^0$  pode ser determinado a partir do coeficiente linear do gráfico de  $\ln I_p$  vs. ( $E_p - E^{0'}$ ). O valor de  $E^{0'}$  foi determinado a cada corrente calculada como sendo  $I = 0,82 I_p$  para as diferentes velocidades de varredura de potencial, considerando os três eletrodos em estudo, sendo os valores médios determinados iguais a (0,60 ± 0,01) V, (0,63 ± 0,02) V e (0,68 ± 0,04) V para o GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE, respectivamente. Aplicando-se o método descrito, os valores de  $k^0$  obtidos foram de 1,93 × 10<sup>-3</sup> cm s<sup>-1</sup>, 4,84 × 10<sup>-3</sup> cm s<sup>-1</sup> e 6,82 × 10<sup>-3</sup> cm s<sup>-1</sup> para o GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE, respectivamente (ver **TABELA 8**).



**FIGURA 11** – Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE, (b) CB-CTS:ECH/GCE e (c) DES-CB-CTS:ECH/GCE em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) e  $[\text{DCF}] = 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Parâmetros:  $v$ :  $10 - 100 \text{ mV s}^{-1}$ . Inserido: curvas  $\log I_p$  vs.  $\log v$  correspondentes. DES 1:2 ChCl/glicerol ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

**TABELA 8** – Comparação dos valores de  $k^0$  determinados para ACP e DCF empregando os eletrodos GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE

Eletrodo	$k^0 (\times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1})$	
	ACP	DCF
GCE	1,51	1,93
CB-CTS:ECH/GCE	2,06	4,84
DES-CB-CTS:ECH/GCE	4,49	6,82

A partir da análise dos resultados apresentados na **TABELA 8** tem-se que a incorporação do DES à modificação de CB em filme de CTS reticulada aumentou os valores da constante heterogênea de transferência de elétrons significativamente quando comparado ao GCE sem modificação e ao eletrodo modificado apenas com CB em filme de CTS. Considerando o analito ACP, a incorporação do DES à base de 1:2 (mol/mol) ChCl/glicerol levou a um ganho na cinética de transferência de elétrons de aproximadamente 300% em relação ao GCE sem modificação, e de 220% comparado ao eletrodo modificado com CB. Para o DCF, esse ganho foi em torno de 350% e 140%, comparado ao GCE sem modificação e ao eletrodo modificado com CB, respectivamente. Em cinética química, o aumento do valor da constante de velocidade indica que a energia do estado de transição diminuiu, favorecendo a formação dos produtos. Nos próximos estudos (composição e concentração do DES, seção 4.6) será observado o aumento da corrente de pico ao incorporar o DES à modificação, sendo este ganho de corrente justificado pelo aumento no valor de  $k^0$  calculado anteriormente.

## 4.6 Efeito do tipo e concentração do DES

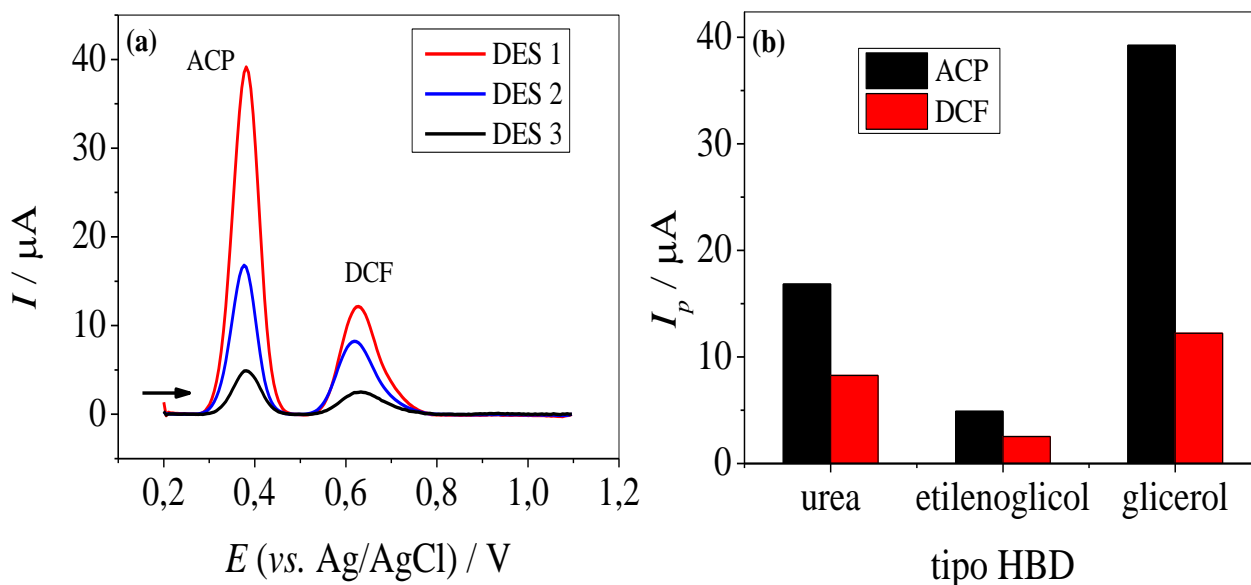
De forma a otimizar a resposta eletroquímica e, obter o melhor desempenho analítico do sensor proposto, os efeitos da composição do DES e de sua concentração foram investigados. As quantidades dos outros modificadores foram descritas em seção anterior (seção 3.4). Em estudos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa, concentrações de CTS a 1,0 % (m/v) e ECH a 0,25 % (m/v) apresentaram as melhores condições experimentais para a formação de um filme de CTS reticulada sobre a superfície do GCE utilizando nanomateriais carbonáceos, que proporcionaram a formação de um filme homogêneo, estável e com menor corrente capacitiva<sup>64</sup>. Neste contexto, a ECH é um composto organoclorado com a presença de um agrupamento epóxido, que forma ligações covalentes com os grupos hidroxila da CTS melhorando a adesão do filme à superfície.

O tipo do DES foi avaliado em função do HBD e mantida fixa a molécula do HBA, neste caso o ChCl. Os DES estudados neste trabalho foram selecionados em função da grande disponibilidade do ChCl e dos HBDs investigados e, do grande número de estudos utilizando os mesmos DES que foram aplicados neste trabalho<sup>93-97</sup>, além de apresentarem valores de condutividade iônica satisfatórias para aplicação em processos eletroquímicos (ver **TABELA 5**). Foram utilizados os seguintes DES: 1:2 ChCl/glicerol (DES 1), 1:2 ChCl/ureia (DES 2) e 1:2 ChCl/etilenoglicol (DES 3). As três misturas eutéicas foram preparadas em razão molar 1:2, sendo 1 HBA: 2HBD. Para este estudo, as dispersões foram preparadas utilizando os DES em concentração fixa de 5,0 mg mL<sup>-1</sup>.

A influência do tipo do DES foi avaliada empregando-se a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *differential pulse voltammetry*) utilizando-se os eletrodos modificados DES-CB-CTS:ECH/GCE e os DES (1),



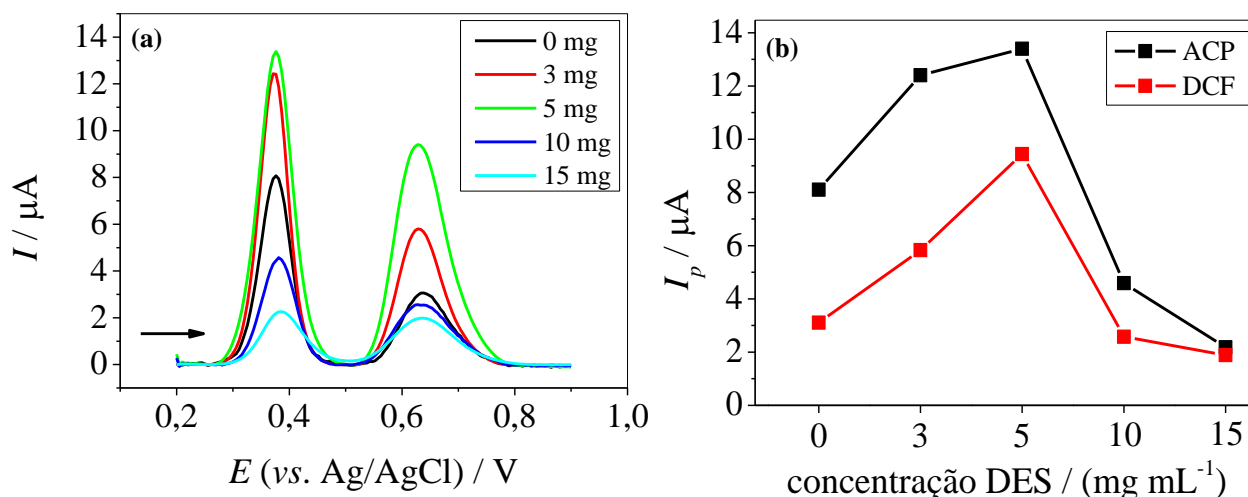
(2) e (3) para uma solução contendo ACP e DCF a  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0). Os voltamogramas registrados são apresentados na **FIGURA 12 (a)**. Na **FIGURA 12 (b)** tem-se as correntes de pico anódicas obtidas para os três DES avaliados nesta etapa do trabalho.



**FIGURA 12** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução de ACP e DCF  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) utilizando o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE variando o tipo de DES utilizado na fabricação do eletrodo (DES 1: 1:2 ChCl/glicerol; DES 2: 1:2 ChCl/ureia; DES 3; 1:2 ChCl/etilenoglicol). *Parâmetros:*  $step = 5 \text{ mV}$ ,  $a = 25 \text{ mV}$ ,  $t = 50 \text{ ms}$  (b) Correntes de pico registradas para cada analito em função do tipo de HBD.

Considerando-se as condutividades determinadas e apresentadas na **TABELA 5**, além do valor de viscosidade reportado na literatura (DES 1:2 mol/mol ChCl/glicerol  $259 \text{ cP}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ <sup>98</sup>) é possível indicar que a transferência de carga foi facilitada na superfície do eletrodo modificado com o DES 1:2 (mol/mol) ChCl/glicerol. O maior valor de condutividade para este DES, combinado à sua viscosidade moderada, podem facilitar a difusão das espécies no filme, resultando assim, em um aumento do sinal analítico como observado na **FIGURA 12 (a)**. Assim, o DES composto por ChCl e glicerol (DES 1) foi selecionado para os estudos posteriores.

Em seguida foi avaliada a influência da concentração do DES 1(1:2 mol/mol ChCl/glicerol) no desempenho analítico do sensor. Dessa forma, cinco concentrações do DES na dispersão foram estudadas, a saber: 0; 3,0; 5,0; 10 e 15 mg mL<sup>-1</sup>, sendo as respostas analíticas e o gráfico de tendência da corrente de pico em função da concentração de DES apresentadas na **FIGURA 13 (a – b)**. A influência da concentração foi avaliada empregando-se a técnica de voltametria de pulso diferencial. Para os dois analitos, ACP e DCF, observa-se o aumento do sinal da corrente de pico em função da concentração de DES incorporada ao filme, atingindo o máximo em 5 mg mL<sup>-1</sup>. Para o ACP, o sinal de corrente aumentou de 8,1 µA a 13 µA quando utilizado 0 e 5 mg mL<sup>-1</sup> de DES, respectivamente, decrescendo para as concentrações de 10 e 15 mg mL<sup>-1</sup>. Para o DCF, um comportamento similar foi observado. Entre 0 e 5 mg mL<sup>-1</sup> de DES foram registradas correntes de pico igual a 3,1 µA e 9,4 µA, com queda quando concentrações maiores de DES foram incorporadas. Nos dois casos, portanto, foi observada queda do sinal analítico em concentrações acima de 10 mg mL<sup>-1</sup> o que pode ser atribuído ao bloqueamento das nanopartículas de CB pelo DES, diminuindo a sensibilidade analítica do sensor<sup>99</sup>. Essa conclusão pode ser suportada em função das micrografias apresentadas anteriormente, onde observa-se o recobrimento das partículas de CB pelo DES. Considerando os resultados apresentados e discutidos acima, a concentração de 5,0 mg mL<sup>-1</sup> do DES 1 (1:2 mol/mol ChCl/glicerol) foi selecionada para dar continuidade aos estudos.

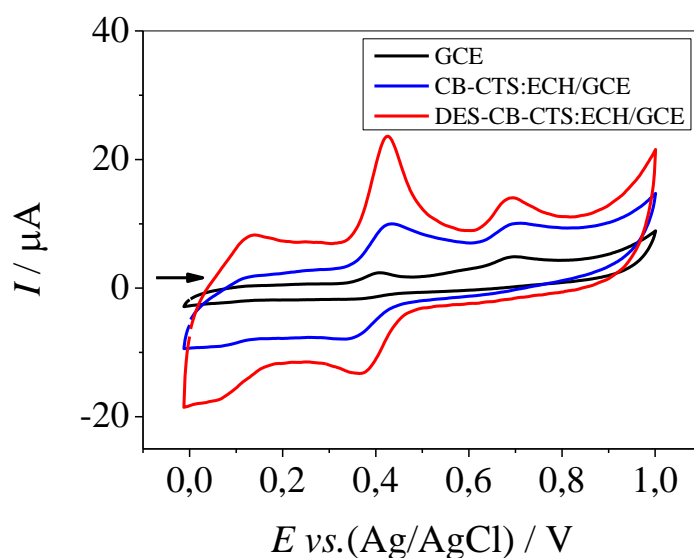


**FIGURA 13** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução ACP e DCF  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) utilizando os eletrodos DES-CB-CTS:ECH/GCE variando a concentração de DES  $1 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  presente no filme. *Parâmetros DPV*: step = 5 mV, a = 25 mV, t = 50 ms. (b) Correntes de pico registradas para cada analito em função da concentração de DES.

#### 4.7 Perfil eletroquímico das moléculas de ACP e DCF

Após a seleção e otimização do tipo e da concentração do DES na modificação, o comportamento eletroquímico dos analitos ACP e DCF foi avaliado por meio da técnica de voltametria cíclica empregando-se o GCE e os eletrodos modificados CB-CTS:ECH/GCE e DES-CTS:ECH/GCE em solução PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) e, concentração dos analitos de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Neste estudo, foi utilizada uma dispersão de CB com o DES à base de glicerol em concentração de  $5 \text{ mg mL}^{-1}$ . Na **FIGURA 14** são mostrados os voltamogramas cíclicos obtidos em velocidade de varredura de potencial de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  na faixa de potencial de  $-0,1 \text{ V}$  a  $+1,1 \text{ V}$  nas condições supramencionadas. Em todos os casos, o sentido da varredura de potencial deu-se início no sentido positivo, sendo observado um pico de oxidação em potencial em  $+0,4 \text{ V}$  para o ACP e outro processo de oxidação em potencial de  $+0,7 \text{ V}$  para o DCF. Quando o sentido da varredura de potencial foi invertido, foi observado apenas um pico de redução em

potencial igual a +0,3 V para a molécula de ACP. Uma comparação das correntes de picos anódicas para DCF e ACF obtidas empregando-se o eletrodo DES-CTS:ECH/GCE com àquelas obtidas empregando-se os eletrodos sem modificação (GCE) e CB-CTS:ECH/GCE, foram observados aumentos do sinal analítico de 10 e 2,4 vezes respectivamente para o ACP e de 2,9 e 1,4 vezes respectivamente para DCF.



**FIGURA 14** – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando GCE, CB-CTS:ECH/GCE e DES-CB-CTS:ECH/GCE para concentração de ACP e DCF de  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> em solução tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0). *Parâmetros:*  $v = 50$  mV s<sup>-1</sup>.

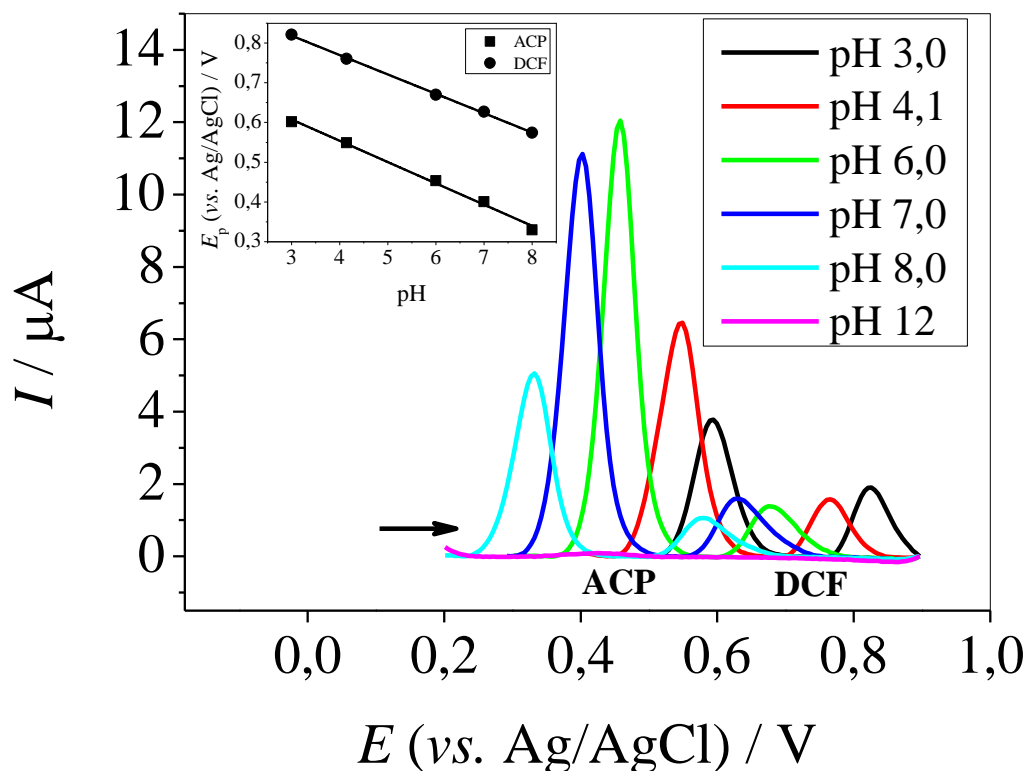
O eletrodo modificado com o DES 1:2 (mol/mol) ChCl/glicerol proporcionou um aumento do sinal analítico (magnitude de corrente) para os dois analitos, além dos aumentos da sensibilidade e detectabilidade (menores limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ)) (ver 4.10), como também maior constante de (ou, melhor cinética de) transferência de elétrons (ver **TABELA 8**, seção 4.5).

O DES imobilizado no filme de quitosana pré-concentra cada um dos analitos, aumentando assim o desempenho analítico do método eletroquímico

proposto, como será discutido nesta dissertação. Está hipótese foi confirmada, agitando-se uma solução contendo os analitos na etapa de pré-concentração. Em seguida, o eletrodo foi retirado da solução de amostra, enxaguado com solução do eletrólito suporte, sendo transferido para uma célula eletroquímica contendo apenas o eletrólito suporte. A obtenção de voltamogramas similares àqueles obtidos anteriormente e, mostrados na **FIGURA 14** corroboraram com a hipótese supramencionada. O nosso grupo de pesquisa empregou o DES 1:2 (mol/mol) brometo de tetrabutilamônio/ácido octanóico na microextração dos corantes alimentícios vermelho 40 e tartrazina mostrando a eficiência e as vantagens do emprego de DES em substituição aos solventes orgânicos de alta toxicidade<sup>100</sup>, além dos efeitos de pré-concentração dos analitos na matriz eutética. Esse conceito foi estendido para a aplicação do DES imobilizados na superfície do eletrodo.

#### **4.8 Efeito da concentração hidrogeniônica (pH)**

Em trabalhos envolvendo processos eletroquímicos é importante considerar a influência da concentração hidrogeniônica (pH) do eletrólito suporte. Desta forma, foi avaliado o efeito da variação do pH do eletrólito suporte frente às reações de eletrooxidação das moléculas de ACP e DCF. A partir do estudo da variação do pH é possível obter informações do processo redox ocorrendo em solução. Foram utilizadas neste trabalho soluções tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> com pH variando de 3,0 a 12. A técnica selecionada nesta etapa foi a voltametria de pulso diferencial. Os voltamogramas obtidos em cada condição de pH estudada são apresentados na **FIGURA 15**. Em solução tampão fosfato em valor de pH igual a 12 não foi obtido sinal analítico mensurável, provavelmente devido à baixa concentração hidrogeniônica ( $\approx 10^{-12}$  mol L<sup>-1</sup>), uma vez que as reações redox envolvendo esses analitos são dependentes da concentração de H<sup>+</sup> (ver **FIGURA 16** e **FIGURA 17**). Assim, este valor de pH foi desconsiderado neste estudo.



**FIGURA 15** – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes pHs (3,0 – 12) contendo  $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ACP e DCF. *Parâmetros da técnica de DPV:* step = 5 mV,  $a = 25 \text{ mV}$  e  $t = 50 \text{ ms}$ . Inserido: curva de  $E_p$  vs. pH para (■) ACP e (●) DCF.

As moléculas de ACP e DCF apresentam valores de  $pK_a$  relativamente distantes, 9,4 e 4,0<sup>101</sup>, respectivamente. Com isso, a forma química que a molécula estará presente em determinado valor de pH poderá influenciar no sinal analítico e, assim, no desempenho do eletrodo modificado em desenvolvimento. Analisando-se as magnitudes de correntes obtidas mostradas na **FIGURA 15**, observa-se que não houve efeito significativo no sinal analítico para o DCF. Por outro lado, as correntes registradas para o ACP sofreram variações mais pronunciadas quando se alterou o pH da solução. A seleção da melhor concentração hidrogeniônica (pH) da solução de trabalho levou-se em consideração as respostas analíticas para os dois analitos. No pH 7,0 foi observado

um ligeiro aumento de corrente para o DCF, sendo que neste pH, a corrente registrada para o ACP foi ligeiramente menor que a corrente obtida em pH igual a 6,0. Assim, selecionou-se o pH igual a 7,0 para a continuação do trabalho.

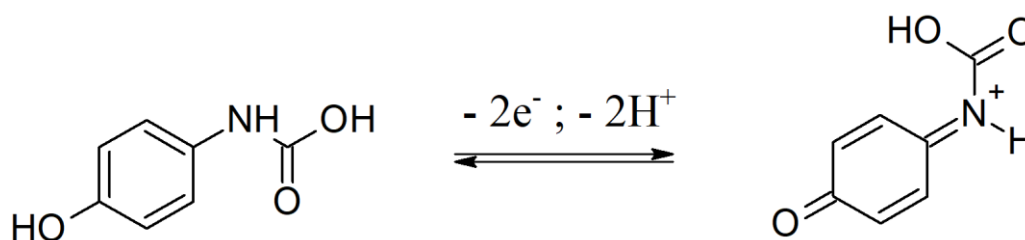
O potencial de pico ( $E_p$ ) em função da variação do pH da solução também pode oferecer informações sobre o mecanismo de oxidação-redução da espécie eletroativa. Para isso, avaliou-se a linearidade entre  $E_p$  em função da concentração hidrogeniônica (pH) do meio.

O ACP apresentou uma relação linear entre  $E_p$  e pH, na faixa de pH estudada, seguindo a equação linear (**EQUAÇÃO 6**):

$$\text{ACP: } E_p = 0,768 - 0,053\text{pH}; r^2 = 0,994$$

**EQUAÇÃO 6**

O coeficiente angular da reta entre  $E_p$  e pH foi igual a  $-0,053 \text{ V pH}^{-1}$ , um valor próximo do coeficiente Nernstiano teórico de  $-0,0592 \text{ V pH}^{-1}$  para processos redox que envolvem o mesmo número de prótons e elétrons. Esta relação está de acordo com o processo redox para a molécula de ACP apresentado na literatura<sup>102,103</sup>, envolvendo dois prótons e dois elétrons (**FIGURA 16**).



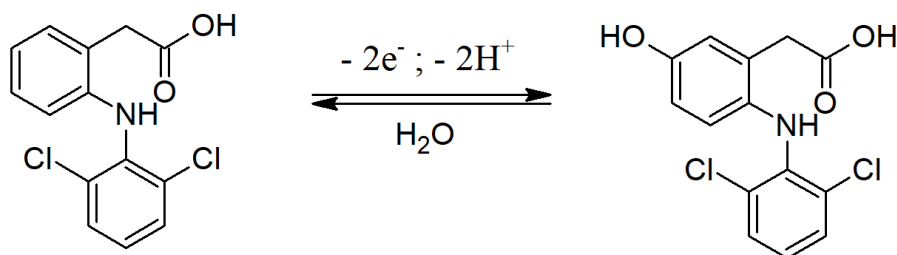
**FIGURA 16** – Reação de oxidação proposta para a molécula de ACP.

O DCF também apresentou uma relação linear entre  $E_p$  e o pH, seguindo a equação linear (**EQUAÇÃO 7**):

DCF:  $E_p = 0,965 - 0,049\text{pH}$ ;  $r^2 = 0,999$

**EQUAÇÃO 7**

O valor do coeficiente angular neste caso ( $-0,049 \text{ V pH}^{-1}$ ) também se aproximou do valor Nernstiano teórico ( $-0,0592 \text{ V pH}^{-1}$ ). Este comportamento está de acordo com a reação de oxidação proposta na **FIGURA 17**, já reportado na literatura<sup>104</sup>, envolvendo dois prótons e dois elétrons.



**FIGURA 17** – Reação de oxidação proposta para a molécula de DCF.

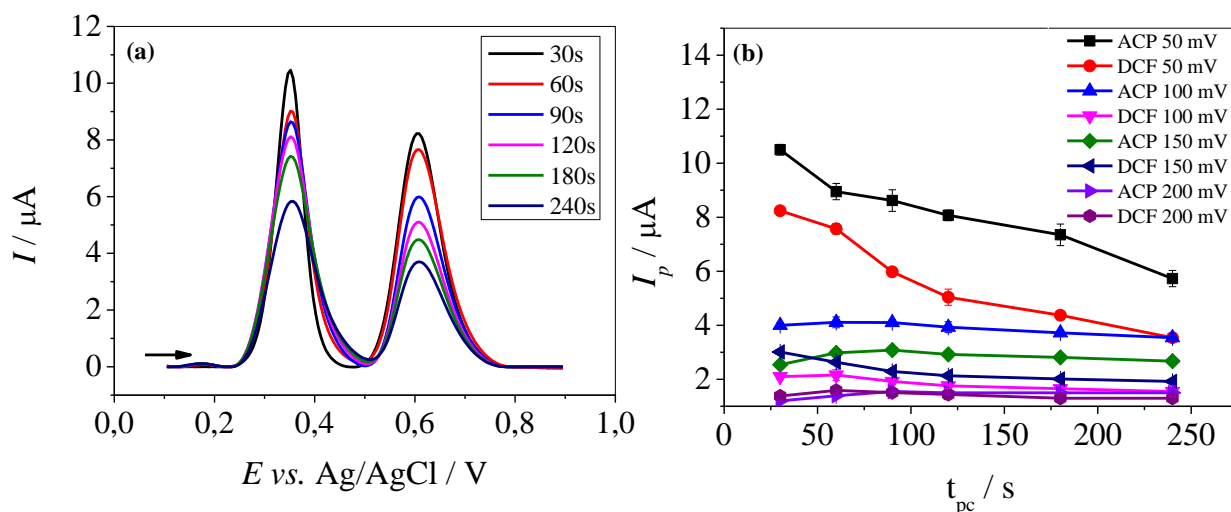
#### 4.9 Estudos de pré-acumulação e otimização dos parâmetros da técnica de DPV

A partir dos resultados obtidos nos estudos anteriores, observou-se a tendência de adsorção dos analitos no filme sobre a superfície do eletrodo. Sendo assim, empregou-se a técnica de voltametria adsortiva de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdASV, do inglês *differential pulse adsorptive anodic stripping voltammetry*) para a determinação dos analitos. Nesse sentido, inicialmente avaliou-se o efeito da aplicação de um potencial de pré-concentração ( $E_{pc}$ ) no sinal analítico de cada analito investigado buscando otimizar as respostas eletroquímicas.

Foi avaliada a aplicação de  $E_{pc}$  (50, 100, 150 e 200 mV) em função do tempo de pré-concentração ( $t_{pc}$ ) de 30; 60; 90; 120; 180 e 240 s. Analisando-se as correntes de pico registradas em função do  $E_{pc}$  aplicado e do tempo de aplicação do potencial (**FIGURA 18 (b)**) observou-se que aplicação do potencial



de 50 mV por 30 s apresentou o melhor resultado. A aplicação de potenciais maiores pode levar à oxidação das moléculas alvo, diminuindo assim o sinal analítico. Já em relação ao tempo de pré-acumulação, com a aplicação de potencial por tempos muito longos pode ocorrer saturação da superfície do eletrodo de trabalho, causando variação significativa da intensidade de corrente registrada. Nos estudos aplicando  $E_{pc} = 50$  mV não ocorreu estabilização do sinal analítico, podendo ser um indicativo que nesta condição a saturação da superfície do eletrodo de trabalho ocorre em tempos de pré-concentração maiores que 240 s. Assim, para a continuação do trabalho e a aplicação analítica do eletrodo proposto selecionou-se o  $t_{pc} = 30$  s e aplicação de  $E_{pc} = 50$  mV. Os voltamogramas obtidos nestas condições são apresentados na **FIGURA 18 (a)**.



**FIGURA 18** – (a) Voltamogramas de pulso diferencial empregando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE aplicando  $E_{pc} = 50$  mV em diferentes  $t_{pc}$  (30 – 240 s).  $[ACP] = [DCF] = 1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Eletrólito suporte: solução tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0). *Parâmetros*: step = 5 mV,  $a = 25$  mV;  $t = 50$  ms. (b) Correntes de pico anódica registradas em função do potencial de pré-concentração aplicado e do tempo de pré-concentração para ACP e DCF.

De forma a otimizar a determinação analítica de ACP e DCF, foram estudados os parâmetros operacionais da técnica de voltametria de pulso diferencial, a saber: amplitude, tempo de modulação e *step*. A faixa de valores

para cada parâmetro estudada e o respectivo valor selecionado encontram-se organizados na **TABELA 9**. Durante a otimização do parâmetro *step* teve-se o cuidado de acompanhar a velocidade de varredura resultante, atingindo-se o valor máximo de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , obtido quando o valor do *step* é igual a 5 mV.

**TABELA 9** – Parâmetros estudados na voltametria de pulso diferencial (DPAdASV) e os valores selecionados para a determinação simultânea de ACP e DCF

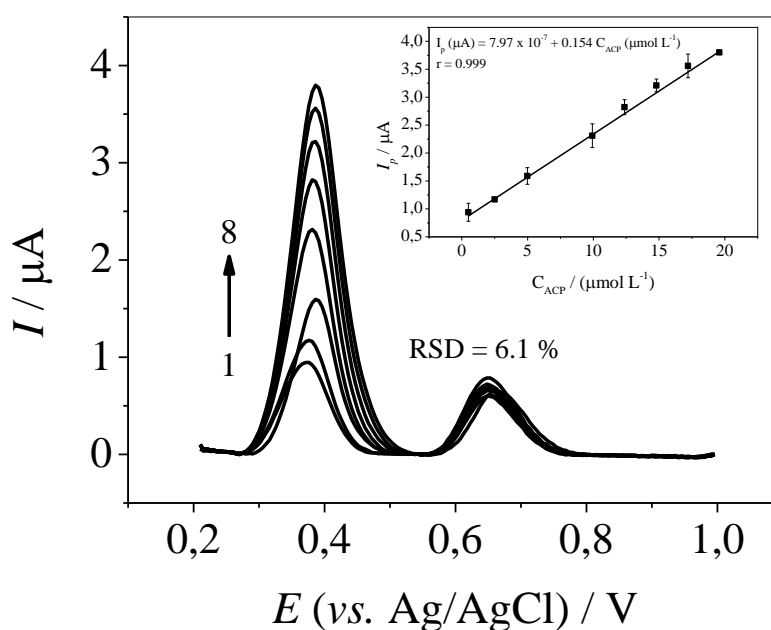
<b>Parâmetro</b>	<b>Faixa estudada</b>	<b>Valor selecionado</b>
<b>Amplitude (<i>a</i>)</b>	10 – 100 mV	40 mV
<b>Tempo de modulação (<i>t</i>)</b>	10 -100 ms	20 ms
<b><i>Step</i></b>	1 – 5 mV	5 mV

#### **4.10 Aplicação analítica do eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE**

Em complemento as investigações dos eletrodos de CG modificados com filme contendo DES, nesta etapa do trabalho apresentar-se-ão as aplicações destes eletrodos na determinação de ACP e DCF utilizando-se a DPAdASV, nas condições experimentais otimizadas anteriormente. De forma a avaliar possíveis interferências na determinação de um dos analitos na presença do outro, inicialmente as curvas analíticas foram construídas mantendo-se a concentração de um dos analitos fixa e variando a concentração do outro. A existência ou não de interferência durante as medidas eletroquímicas foi avaliada a partir dos valores de desvio padrão relativo (RSD, do inglês *relative standard deviation*) para as correntes de pico registradas em relação ao analito com concentração fixa durante o experimento.

A curva analítica para o paracetamol foi construída mantendo-se a concentração de DCF constante ( $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ). Neste estudo, os voltamogramas DPAdAS foram registrados variando-se a concentração de ACP,

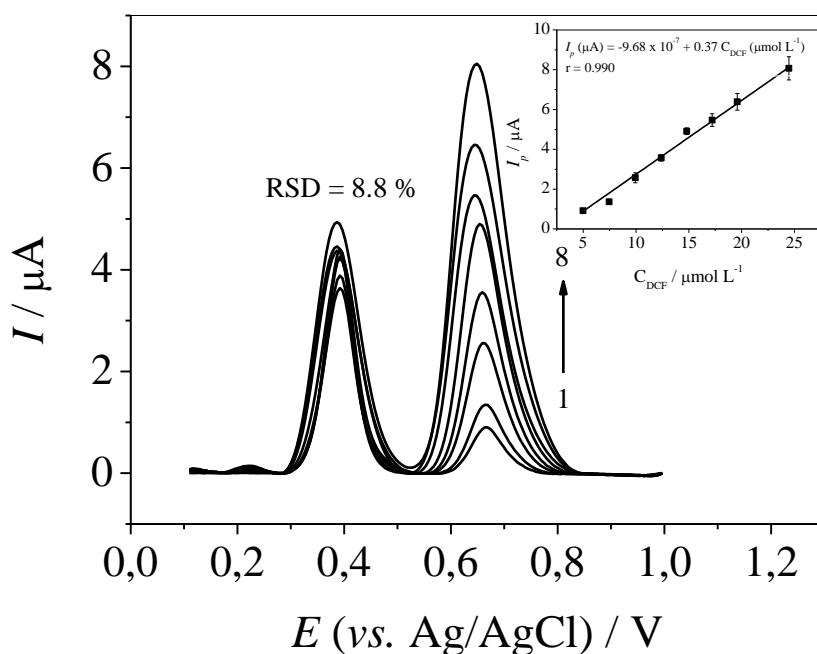
sendo obtida uma faixa linear entre  $5,0 \times 10^{-7}$  e  $2,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, como mostrado na **FIGURA 19**. Neste intervalo de concentração, foi obtido excelente coeficiente de correlação ( $r = 0,999$ ). Também a partir da **FIGURA 19**, observa-se que a corrente de pico anódica para o ACP aumentou linearmente com a sua concentração de acordo com a relação linear:  $I_p (\mu\text{A}) = -7,97 \times 10^{-7} + 0,154 C_{\text{ACP}} (\mu\text{mol L}^{-1})$ . Os sinais analíticos para o DCF apresentaram um RDS = 6,1 %, indicando que a determinação de DCF não é afetada pela presença de diferentes concentrações de ACP no meio ou vice-versa.



**FIGURA 19** – Voltamogramas adsortivos de redissolução anódica (DPAdASV) obtidos utilizando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE para várias concentrações de ACP (1 – 8:  $0,5 - 20 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>) a uma concentração fixa de DCF ( $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>). Eletrólito suporte: solução tampão fosfato  $0,2$  mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0). Parâmetros:  $E_{pc} = 50$  mV,  $t_{pc} = 30$  s, step = 5 mV;  $a = 40$  mV;  $t = 20$  ms. Inserido: curva analítica correspondente.

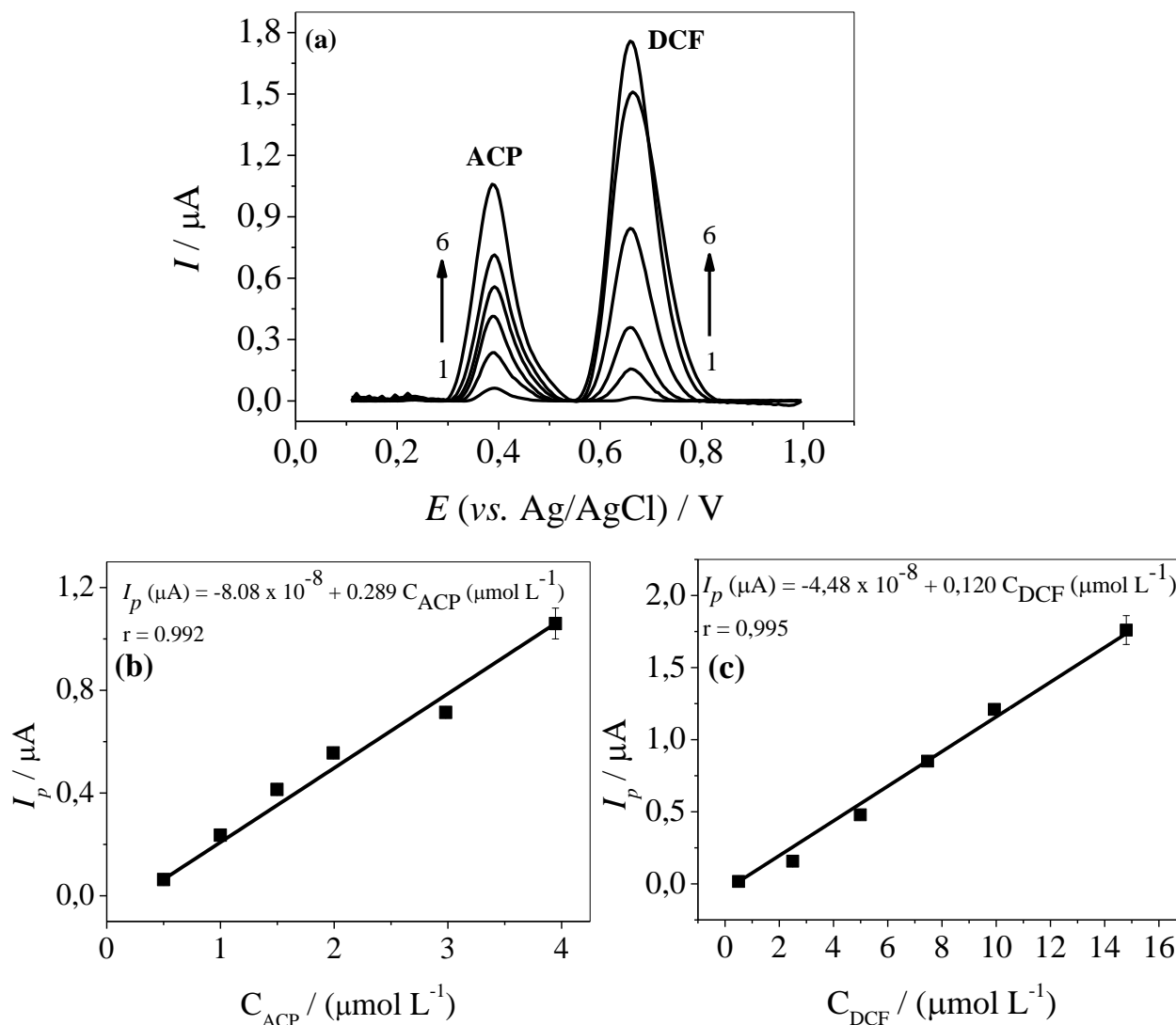
A mesma metodologia foi aplicada para a construção da curva analítica para o DCF. Neste caso, manteve-se a concentração de ACP fixa em  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Os voltamogramas adsortivos de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdASV) foram obtidos na faixa de concentração de DCF de  $5,0 \times$

$10^{-6}$  a  $2,4 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Na **FIGURA 20** são apresentados os voltamogramas obtidos nas condições descritas e, observa-se que a corrente de pico anódica para o DCF aumentou linearmente com a sua concentração de acordo com a relação linear:  $I_p$  (μA) =  $-9,68 \times 10^{-7} + 0,37 C_{DCF}$  (μmol L<sup>-1</sup>) ( $r = 0,999$ ). Os sinais analíticos referentes ao ACP apresentaram um RDS = 8,8 %.



**FIGURA 20** – Voltamogramas adsorptivos de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdSV) obtidos utilizando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE para várias concentrações de DCF (1 – 8: 5 – 24  $\times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>) a uma concentração fixa de ACP (1,0  $\times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>). Eletrólito suporte: solução tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0). *Parâmetros:*  $E_{pc} = 50$  mV,  $t_{pc} = 30$  s, step = 5 mV;  $a = 40$  mV;  $t = 20$  ms. Inserido: curva analítica correspondente.

Em seguida, foram construídas curvas analíticas com a variação simultânea da concentração do ACP e do DCF utilizando DPAdSV. Na **FIGURA 21 (a)** tem-se os voltamogramas obtidos, e as correspondentes curvas analíticas obtidas (**FIGURA 21 (b – c)**).



**FIGURA 21** – (a) Voltamogramas adsortivos de redissolução anódica por pulso diferencial (DPAdASV) obtidos em PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) contendo diferentes concentrações de ACP e DCF, sendo construídas as respectivas curvas analíticas para os analitos ACP e DCF (**FIGURA 21 (b – c)**). As curvas analíticas apresentaram linearidade ( $r > 0,990$ ) na faixa de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $3,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para ACP e  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  para DCF, de acordo com a **EQUAÇÃO 8** e **EQUAÇÃO 9**, respectivamente.

$$I_p (\mu\text{A}) = -8,08 \times 10^{-8} + 0,289 C_{\text{ACP}} (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad \text{EQUAÇÃO 8}$$

$$I_p (\mu\text{A}) = -4,48 \times 10^{-8} + 0,120 C_{\text{DCF}} (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad \text{EQUAÇÃO 9}$$

O desempenho analítico do método foi também avaliado calculando-se os limites de detecção ( $\text{LOD} = 3 \times \sigma/m$ ), sendo  $\sigma$  o desvio padrão de 10 medidas do branco e,  $m$  o coeficiente angular da curva analítica. O limite de

detecção calculado para o ACP foi de  $2,7 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  e  $5,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para o DCF. A faixa linear de concentração para cada analito e os respectivos limites de detecção são apresentados na **TABELA 10**.

**TABELA 10** – Parâmetros analíticos obtidos para ACP e DCF

<b>Parâmetros analíticos</b>	<b>ACP</b>	<b>DCF</b>
<b>Faixa linear (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	0,5 – 3,9	0,5 – 15
<b>Sensibilidade (<math>\mu\text{A L mol}^{-1}</math>)</b>	0,289	0,120
<b>Coefficiente de correlação (r)</b>	0,992	0,995
<b>Limite de detecção (<math>\text{mol L}^{-1}</math>)<sup>a</sup></b>	$2,7 \times 10^{-8}$	$5,2 \times 10^{-8}$

<sup>a</sup> LOD =  $3 \times \sigma/m$ .

O desempenho analítico do método voltamétrico proposto utilizando o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE para a determinação simultânea de ACP e DCF foi comparado com outros métodos reportados na literatura e apresentados na **TABELA 11**. A faixa linear e os LODs obtidos para o ACP e DCF utilizando o eletrodo proposto e DPAdASV foram bem similares aos reportados na literatura empregando eletrodos modificados à base de nanopartículas de ouro<sup>106</sup> ou grafeno funcionalizado<sup>80</sup>, por exemplo. É de interesse, em eletroanalítica, o desenvolvimento de materiais de eletrodo que possam fornecer bom desempenho analítico e que, também, sejam de baixo custo. Nesse sentido, o eletrodo proposto neste trabalho além de apresentar desempenho analítico comparável ao de outros eletrodos e métodos descritos na literatura, emprega o uso de CB, um nanomaterial de baixíssimo custo, e dos DES, que são alternativas sustentáveis, de baixo custo e fácil preparação.

**TABELA 11** – Métodos voltamétricos reportados para a determinação de ACP e DCF

Eletrodo	Técnica	ACP		DCF		Ref.
		Faixa Linear (mol L <sup>-1</sup> )	LOD (mol L <sup>-1</sup> )	Faixa Linear (mol L <sup>-1</sup> )	LOD (mol L <sup>-1</sup> )	
<b>Diacereína/MCPE</b>	DPV	$2,0 \times 10^{-4} - 5,0 \times 10^{-4}$	$2,4 \times 10^{-6}$	$2,0 \times 10^{-4} - 5,0 \times 10^{-4}$	N.R. <sup>a</sup>	105
<b>CTBA – CPE</b>	LSV	$2,0 \times 10^{-6} - 9,0 \times 10^{-6}$	$7,6 \times 10^{-8}$	$6,0 \times 10^{-7} - 5,0 \times 10^{-6}$	$7,3 \times 10^{-7}$	106
<b>AuNPs-Gr-PAG/GCE</b>	LSV	$5,0 \times 10^{-7} - 5,0 \times 10^{-5}$	$4,0 \times 10^{-8}$	$5,0 \times 10^{-7} - 5,0 \times 10^{-5}$	$8,0 \times 10^{-8}$	107
<b>PDDA-Gr/GCE</b>	DPV	$3,0 \times 10^{-6} - 2,0 \times 10^{-4}$	$2,2 \times 10^{-7}$	$1,0 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-4}$	$6,1 \times 10^{-7}$	78
<b>SPCE/MWCNT-COOH</b>	DPAdSV	$5,0 \times 10^{-9} - 5,0 \times 10^{-6}$	$1,4 \times 10^{-9}$	$1,0 \times 10^{-10} - 2,0 \times 10^{-8}$	$3,0 \times 10^{-11}$	108
<b>DES-CB-CTS:ECH/GCE</b>	DPAdSV	$5,0 \times 10^{-7} - 3,9 \times 10^{-6}$	$2,7 \times 10^{-8}$	$5,0 \times 10^{-7} - 1,5 \times 10^{-5}$	$5,2 \times 10^{-8}$	Este trabalho

Diacereína/MCPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado com diacereína; CTBA - CPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado com brometo de cetiltrimetilamonio; AuNPs-Gr-PAG/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro, grafeno e poli(L-arginina); PDDA-Gr/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com grafeno funcionalizado em poli(cloreto de dialildietilamônio); SPCE/MWCNT-COOH: Eletrodo impresso de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizado com grupos carboxila; <sup>a</sup> Não reportado.

#### **4.11 Estudo da repetibilidade intra e inter-dias e efeito de possíveis interferentes**

O estudo da repetibilidade inter-dias e intra-dia foram realizados utilizando solução PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0), o método voltamétrico proposto e o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE. A repetibilidade intra-dia foi determinada a partir de medidas sucessivas ( $n = 10$ ) em solução contendo ACP e DCF em concentração igual a  $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , sendo então calculados os RSDs. Os RSDs obtidos para ACP e DCF foram 2,5 % e 3,6 %, respectivamente. Também foram realizadas medições sucessivas ( $n = 10$ ) utilizando um nível maior de concentração, a saber:  $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Neste caso, os RSDs obtidos foram de 4,8 % para ACP e 5,1 % para DCF. A repetibilidade inter-dias foi determinada por meio de medidas realizadas em dias diferentes ( $n = 5$ ), utilizando solução PB  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) e concentrações de ACP e DCF igual a  $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Os RSDs obtidos foram de 4,3 % para ACP e 3,7 % para DCF. Foi avaliada a repetibilidade inter-dias utilizando um nível maior de concentração para ambos analitos, sendo igual a  $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Os RSDs obtidos foram de 4,9 % para ACP e 5,3 % para DCF.

Os resultados obtidos nos estudos de repetibilidade intra-dia e inter-dias foram satisfatórios, com RSDs menores do que 6,0 % considerando os dois analitos e os dois níveis de concentração avaliados. Estes resultados indicam excelente precisão do método proposto utilizando o eletrodo modificado com DES.

A análise de possíveis interferentes foi realizada utilizando alguns dos incipientes mais comumente encontrados em formulações farmacêuticas contendo ACP e DCF, a saber: amido, celulose monocristalina, estearato de magnésio, dióxido de silício, lactose monoidratada, povidona e croscarmelose sódica. Neste estudo, utilizou-se solução tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0) como eletrólito suporte contendo ACP  $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e DCF  $3,1 \times 10^{-5} \text{ mol}$



L<sup>-1</sup>. O efeito destes possíveis interferentes foi avaliado a partir do erro percentual quando comparados os sinais analíticos entre as medidas realizadas sem e com a presença do interferente. Os erros percentuais obtidos para cada um dos interferentes avaliados são apresentados na **TABELA 12**.

**TABELA 12** – Estudo dos interferentes em potencial na determinação voltamétrica de ACP e DCF em tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0) utilizando um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE

Possíveis interferentes	Erro (%) <sup>a</sup>	
	ACP	DCF
<b>Amido</b>	-0,7	-0,3
<b>Celulose monocristalina</b>	+2,6	+2,4
<b>Estearato de magnésio</b>	-3,9	+3,0
<b>Dióxido de silício</b>	+1,1	+2,7
<b>Lactose monoidratada</b>	+4,1	-1,4
<b>Povidona</b>	+3,8	-0,8
<b>Croscarmelose sódica</b>	-1,9	+3,3

<sup>a</sup> Erro (%) = [(Sinal analito<sub>presença</sub> – Sinal analito<sub>ausência</sub>) / Sinal analito<sub>ausência</sub>] × 100 %.

#### 4.12 Determinação simultânea de ACP e DCF em formulações farmacêuticas

Em seguida, o método voltamétrico proposto e utilizando o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE foi aplicado na determinação de ACP e DCF em quatro formulações farmacêuticas comerciais. Para determinar a concentração de ACP e DCF nestas formulações foi utilizado o método de interpolação nas respectivas curvas analíticas de cada um dos analitos. Na **TABELA 13** são mostrados os resultados obtidos da determinação de ACP e DCF em amostras farmacêuticas comerciais empregando o método proposto e o método cromatográfico comparativo (HPLC/UV-Vis).

**TABELA 13** – Resultados obtidos para a determinação simultânea de ACP e DCF em produtos farmacêuticos utilizando o método proposto (técnica de DPV e um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE) e um método cromatográfico comparativo (HPLC/UV-Vis)

<b>Analito</b>	<b>Valor declarado (mg)</b>	<b>Método comparativo<sup>a</sup> (mg)</b>	<b>Método proposto<sup>a</sup> (mg)</b>	<b>Erro<sup>b</sup> (%)</b>	<b>Erro<sup>c</sup> (%)</b>
<b>Paracetamol</b>	300	(300,0±0,1)	(302±1)	+0,67	+0,67
		(299,5±0,1)	(316±1)	+5,33	+5,68
		(319,2±0,1)	(302±3)	+0,67	-5,33
		(317,8±0,1)	(316±1)	+5,33	-0,57
<b>Diclofenaco</b>	50	(50,3±0,1)	(50,1±0,4)	+0,20	-0,40
		(53,8±0,1)	(53,4±0,3)	+6,8	-0,74
		(51,2±0,1)	(51,7±0,5)	+3,4	+0,98
		(50,5±0,1)	(51,1±0,4)	+2,8	+1,19

<sup>a</sup> n = 3; <sup>b</sup> Erro =  $([\text{Método proposto} - \text{Valor declarado}]/\text{Valor declarado}) \times 100$ ;

<sup>c</sup> Erro =  $([\text{Método proposto} - \text{Método comparativo}]/\text{Método comparativo}) \times 100$ .

Os resultados mostrados na **TABELA 13** apresentam erros relativos (método proposto/valor declarado e método proposto/método comparativo) menores do que  $\pm 6,0\%$ . Entretanto, apenas os valores calculados de erro relativo não são suficientes para inferir semelhança ou diferença entre os valores, do ponto de vista estatístico. Nesse sentido, foi aplicado o teste t de Student, que é amplamente utilizado para identificar a existência ou não de uma diferença significativa na precisão entre um conjunto de dados e outro conjunto obtido por um método de referência.

Se o valor de t calculado ( $t_c$ ) for menor do que o valor de t tabelado ( $t_t$ ), significa que não existe diferença estatística significativa, entre os dois conjuntos, dentro de um intervalo de confiança de 95 %.

Os resultados apresentados na **TABELA 13** foram submetidos ao teste t de Student. Em um intervalo de confiança de 95 %, o valor de t experimental para ACP e DCF foi calculado, sendo 0,96 e 0,65 respectivamente. Para  $N - 1$  graus de liberdade,  $t_t = 3,18$ . Como  $t_c < t_t$ , para os dois casos, então os resultados obtidos aplicando os dois métodos fornecem resultados estatisticamente semelhantes. Esse resultado comprova a exatidão do método voltamétrico proposto.

#### **4.13 Determinação simultânea de ACP e DCF em amostras de fluídos biológicos sintético e comercial**

A determinação simultânea de ACP e DCF em amostras de fluídos biológicos (urina sintética e soro bovino comercial) foi realizada utilizando o método voltamétrico proposto e o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE, e um método cromatográfico comparativo (HPLC/UV-Vis). As amostras de urina sintética e soro bovino foram fortificadas com duas concentrações diferentes e conhecidas de ACP e DCF. A partir da farmacologia cinética desses fármacos, contidas nas bulas dos correspondentes fármacos, foi possível identificar que entre 1 – 4% do ACP é excretado na urina de forma inalterada e, que, menos de 1% de DCF é excretado inalterado. Essas informações direcionaram a determinação de ACP e DCF em fluídos biológicos. Os resultados apresentados na **TABELA 14** de porcentagem de recuperação variando de 92,6 a 102 % indicam que não houve efeitos de matriz significativos para as amostras analisadas utilizando o método proposto e o eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE.

**TABELA 14** – Resultados obtidos para a determinação simultânea de ACP e DCF em amostras de fluídos biológicos utilizando o método proposto (técnica de DPV e um eletrodo DES-CB-CTS:ECH/GCE) e um método cromatográfico comparativo (HPLC/UV-Vis)

Analito	Amostra	Add (mol L <sup>-1</sup> )	Método	Método proposto	Recuperação, (%)	Erro <sup>c</sup> (%)
			comparativo (mol L <sup>-1</sup> ) Encontrado <sup>a</sup>	(mol L <sup>-1</sup> ) Encontrado <sup>a</sup>		
ACP	Urina	$2,7 \times 10^{-7}$	$(2,7 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^{-7}$	92,6	-7,4
	Sintética	$5,5 \times 10^{-7}$	$(5,2 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(5,6 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	101	+7,7
	Soro	$5,5 \times 10^{-7}$	$(5,4 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(5,5 \pm 0,3) \times 10^{-7}$	99,7	+1,8
	bovino	$1,1 \times 10^{-6}$	$(1,1 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	$(1,1 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	99,3	0
DCF	Urina	$2,7 \times 10^{-7}$	$(2,8 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(2,6 \pm 0,4) \times 10^{-7}$	98,5	-7,1
	sintética	$5,5 \times 10^{-7}$	$(5,8 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(5,6 \pm 0,2) \times 10^{-7}$	102	-3,4
	Soro	$5,5 \times 10^{-7}$	$(5,3 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(5,4 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	98,2	+1,9
	bovino	$1,1 \times 10^{-6}$	$(1,1 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	$(1,0 \pm 0,3) \times 10^{-6}$	94,5	-9,1

<sup>a</sup> n = 3; <sup>b</sup> Rec (Recuperação) = [Encontrado/Add] × 100; <sup>c</sup> Erro = [(Método proposto – Método comparativo)/Método comparativo] × 100.

## CAPÍTULO 5

### 5. Conclusões e perspectivas futuras

No presente trabalho de mestrado foi proposta a construção de uma nova arquitetura de sensor eletroquímico a partir da modificação da superfície de um GCE empregando CB, CTS reticulada com ECH e a incorporação de DES.

Nesse sentido, foram pré-selecionados três DES de interesse para compor a modificação proposta. Os DES sintetizados neste trabalho foram caracterizados empregando-se a espectroscopia na região do infravermelho, o que permitiu constatar a existência de interações intermoleculares entre os precursores nas misturas eutéticas, e medidas de condutividade.

Do ponto de vista eletroquímico e morfológico, teve-se como foco as alterações provocadas pela incorporação do DES a uma modificação já amplamente estudada (CB em filme de CTS reticulada). Após estudos de composição e concentração do DES na modificação, foi selecionado o DES 1:2 (mol/mol) ChCl/glicerol em concentração de  $5 \text{ mg mL}^{-1}$ . Combinando os resultados obtidos a partir das técnicas de MEV, EIS, voltametria cíclica e dos experimentos de pré-concentração foi possível observar que ocorreram alterações morfológicas, por meio do recobrimento das partículas de CB pelo DES incorporado, além de maior aglomeração das partículas do nanomaterial aplicado; diminuição da resistência de transferência de carga contribuindo para o aumento da  $k^0$ ; e que, o DES aplicado como um agente modificador, atuou na pré-concentração dos analitos no filme do eletrodo de GCE. O conjunto das propriedades morfológicas e eletroquímicas obtidas resultaram no aumento significativo do sinal analítico e da cinética de transferência de carga para os dois analitos.

A aplicação analítica do eletrodo proposto foi explorada para a determinação de ACP e DCF. Em condições experimentais otimizadas, a técnica de DPAdASV proveu uma faixa linear de resposta de  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $3,9 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> para ACP e  $5,0 \times 10^{-7}$  a  $1,5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para DCF, e limites de detecção iguais a  $2,7 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> e  $5,2 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Através de estudos de repetibilidade e efeito de possíveis interferentes, constatou-se que o método proposto apresenta boa precisão e seletividade.

A exatidão do método desenvolvido e, em essência, a efetividade do uso de DES como agentes modificadores de superfícies eletródicas foi avaliada na determinação simultânea de ACP e DCF em amostras farmacêuticas comerciais e fluídos biológicos (urina sintética e soro bovino). Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos empregando um método cromatográfico comparativo.

O trabalho apresentado nesta dissertação de mestrado é passível de desdobramentos e, assim, ampliar a aplicação dos DES em eletroquímica/eletroanalítica. Quando imobilizados em superfícies eletródicas, os DES promovem aumento do sinal analítico e, em muitos casos, um aumento da sensibilidade do método, quando comparado a outros métodos reportados. Além disso, também pode ser explorada a imobilização de materiais biológicos em DES para a confecção de biossensores. Por fim, duas frentes ainda pouco exploradas são a funcionalização de (nano)materiais em solventes eutéticos profundos, objetivando-se construir sensores eletroquímicos cada vez mais eficientes e a determinação *in situ* de analitos de interesse em DES, após procedimento de (micro)extração dos mesmos.

## CAPÍTULO 6

### 6. REFERÊNCIAS

1. WALDEN, P. "Molecular weights and electrical conductivity of several fused salts". *Bull. Acad. Imper. Sci.(St. Petersburg)*, **1800**, 1914.
2. HURLEY, F.H. & WIER JR, T.P. "The electrodeposition of aluminum from nonaqueous solutions at room temperature". *Journal of the Electrochemical Society*, **98** (5): 207, 1951.
3. EARLE, M.J. & SEDDON, K.R. "Ionic liquids. Green solvents for the future". *Pure and applied chemistry*, **72** (7): 1391, 2000.
4. RÍOS-LOMBARDÍA, N.; RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ, M.J.; MORÍS, F.; KOURIST, R.; COMINO, N.; LÓPEZ-GALLEGO, F.; GONZÁLEZ-SABÍN, J. & GARCÍA-ÁLVAREZ, J. "DESIGN of sustainable one-pot chemoenzymatic organic transformations in deep eutectic solvents for the synthesis of 1,2-disubstituted aromatic olefins". *Frontiers in Chemistry*, **8**: 139, 2020.
5. HANDY, S. & LAVENDER, K. "Organic synthesis in deep eutectic solvents: Paal–Knorr reactions". *Tetrahedron Letters*, **54** (33): 4377, 2013.
6. DATTA, S.; JO, C.; DE VOLDER, M. & TORRENTE-MURCIANO, L. "Morphological control of nanostructured V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> by deep eutectic solvents". *ACS Applied Materials & Interfaces*, **12** (160): 18803, 2020.
7. KUHN, B.L.; PAVEGLIO, G.C.; SILVESTRI, S.; MULLER, E.I.; ENDERS, M.S.P.; MARTINS, M.A.P.; ZANATTA, N.; BONACORSO, H.G.; RADKE, C. & FRIZZO, C.P. "TiO<sub>2</sub> nanoparticles coated with deep eutectic solvents: characterization and effect on photodegradation of organic dyes". *New Journal of Chemistry*, **43** (3): 1415, 2019.
8. WEI, D. & IVASKA, A. "Applications of ionic liquids in electrochemical sensors". *Analytica Chimica Acta*, **607** (2): 126, 2008.
9. KAZEMIABNAVI, S.; ZHANG, Z.; THORNTON, K. & BANERJEE, S. "Electrochemical stability window of imidazolium-based ionic liquids as electrolytes for lithium batteries". *The Journal of Physical Chemistry B*, **120** (25): 5691, 2016.
10. PAUL, A.; MUTHUKUMAR, S. & PRASAD, S. "Review—room-temperature ionic liquids for electrochemical application with special focus on gas sensors". *Journal of The Electrochemical Society*, **167** (3): 037511, 2020.
11. WEI, Y.; LI, X.; SUN, X.; MA, H.; ZHANG, Y. & WEI, Q. "Dual-responsive electrochemical immunosensor for prostate specific antigen detection based on Au-CoS/graphene and CeO<sub>2</sub>/ionic liquids doped with carboxymethyl chitosan complex". *Biosensors and Bioelectronics*, **94**: 141, 2017.
12. HUANG, J.-F.; CHEN, P.-Y.; SUN, I.-W. & WANG, S.-P. "NMR Evidence of hydrogen bond in 1-ethyl-3-methylimidazolium-tetrafluoroborate room temperature ionic liquid". *Spectroscopy Letters*, **34** (5): 591, 2001.

13. VEKARIYA, R.L. "A review of ionic liquids: Applications towards catalytic organic transformations". *Journal of Molecular Liquids*, **227**: 44, 2017.
14. ANASTAS, P.T. & WARNER, J.C. "Principles of green chemistry". *Green chemistry: Theory and practice*: 29, 1998.
15. THUY PHAM, T.P.; CHO, C.-W. & YUN, Y.-S. "Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review". *Water Research*, **44** (2): 352, 2010.
16. ROMERO, A.; SANTOS, A.; TOJO, J. & RODRIGUEZ, A. "Toxicity and biodegradability of imidazolium ionic liquids". *Journal of Hazardous Materials*, **151** (1): 268, 2008.
17. ZHEKENOV, T.; TOKSANBAYEV, N.; KAZAKBAYEVA, Z.; SHAH, D. & MJALLI, F.S. "Formation of type III Deep Eutectic Solvents and effect of water on their intermolecular interactions". *Fluid Phase Equilibria*, **441**: 43, 2017.
18. ABBOTT, A.P.; CAPPER, G.; DAVIES, D.L.; MUNRO, H.L.; RASHEED, R.K. & TAMBYRAJAH, V. "Preparation of novel, moisture-stable, Lewis-acidic ionic liquids containing quaternary ammonium salts with functional side chains". *Chemical Communications*, **19**: 2010, 2001.
19. SMITH, E.L.; ABBOTT, A.P. & RYDER, K.S. "Deep Eutectic Solvents (DESs) and their applications". *Chemical Reviews*, **114** (21): 11060, 2014.
20. WANG, H.; LIU, S.; ZHAO, Y.; WANG, J. & YU, Z. "Insights into the hydrogen bond interactions in deep eutectic solvents composed of choline chloride and polyols". *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **7** (8): 7760, 2019.
21. STEFANOVIC, R.; LUDWIG, M.; WEBBER, G.B.; ATKIN, R. & PAGE, A.J. "Nanostructure, hydrogen bonding and rheology in choline chloride deep eutectic solvents as a function of the hydrogen bond donor". *Physical Chemistry Chemical Physics*, **19** (4): 3297, 2017.
22. ZHANG, Q.; VIGIER, K.D.O.; ROYER, S. & JÉRÔME, F. "Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications". *Chemical Society Reviews*, **41** (21): 7108, 2012.
23. LIU, Y.; FRIESEN, J.B.; MCALPINE, J.B.; LANKIN, D.C.; CHEN, S.-N. & PAULI, G.F. "Natural deep eutectic solvents: properties, applications, and perspectives". *Journal of natural products*, **81** (3): 679, 2018.
24. GURKAN, B.; SQUIRE, H. & PENTZER, E. "Metal-free deep eutectic solvents: preparation, physical properties, and significance". *The Journal of Physical Chemistry Letters*, **10** (24): 7956, 2019.
25. ALTUNAY, N.; ELIK, A. & GÜRKAN, R. "Preparation and application of alcohol based deep eutectic solvents for extraction of curcumin in food samples prior to its spectrophotometric determination". *Food Chemistry*, **310**: 125933, 2020.
26. ABBOTT, A.P.; BOOTHBY, D.; CAPPER, G.; DAVIES, D.L. & RASHEED, R.K. "Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids". *Journal of the American Chemical Society*, **126** (29): 9142, 2004.



27. GUTIÉRREZ, M.A.C.; FERRER, M.A.L.; MATEO, C.R. & DEL MONTE, F. "Freeze-drying of aqueous solutions of deep eutectic solvents: a suitable approach to deep eutectic suspensions of self-assembled structures". *Langmuir*, **25** (10): 5509, 2009.
28. MAMAJANOV, I.; ENGELHART, A.E.; BEAN, H.D. & HUD, N.V. "DNA and RNA in anhydrous media: Duplex, triplex, and G-quadruplex secondary structures in a deep eutectic solvent". *Angewandte Chemie International Edition*, **49** (36): 6310, 2010.
29. BAHADORI, L.; CHAKRABARTI, M.H.; MANAN, N.S.A.; HASHIM, M.A.; MJALLI, F.S.; ALNASHEF, I.M. & BRANDON, N. "The effect of temperature on kinetics and diffusion coefficients of metallocene derivatives in polyol-based deep eutectic solvents". *PloS one*, **10** (12): 0144235, 2015.
30. VAN OSCH, D.J.; ZUBEIR, L.F.; VAN DEN BRUINHORST, A.; ROCHA, M.A. & KROON, M.C. "Hydrophobic deep eutectic solvents as water-immiscible extractants". *Green Chemistry*, **17** (9): 4518, 2015.
31. DWAMENA, A.K. "Recent advances in hydrophobic deep eutectic solvents for extraction". *Separations*, **6** (1): 9, 2019.
32. YOUSEFI, S.M.; SHEMIRANI, F. & GHORBANIAN, S.A. "Hydrophobic deep eutectic solvents in developing microextraction methods based on solidification of floating drop: application to the trace HPLC/FLD determination of PAHs". *Chromatographia*, **81** (8): 1201, 2018.
33. RAJABI, M.; GHASSAB, N.; HEMMATI, M. & ASGHARI, A. "Emulsification microextraction of amphetamine and methamphetamine in complex matrices using an up-to-date generation of eco-friendly and relatively hydrophobic deep eutectic solvent". *Journal of Chromatography A*, **1576**: 1, 2018.
34. ZHU, S.; ZHOU, J.; JIA, H. & ZHANG, H. "Liquid–liquid microextraction of synthetic pigments in beverages using a hydrophobic deep eutectic solvent". *Food chemistry*, **243**: 351, 2018.
35. MAKOŚ, P.; PRZYJAZNY, A. & BOCZKAJ, G. "Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples". *Journal of Chromatography A*, **1570**: 28, 2018.
36. SAFAVI, A.; AHMADI, R. & RAMEZANI, A.M. "Vortex-assisted liquid-liquid microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvent for determination of malondialdehyde and formaldehyde by HPLC-UV approach". *Microchemical Journal*, **143**: 166, 2018.
37. TERESHATOV, E.; BOLTOEVA, M.Y. & FOLDEN, C. "First evidence of metal transfer into hydrophobic deep eutectic and low-transition-temperature mixtures: indium extraction from hydrochloric and oxalic acids". *Green Chemistry*, **18** (17): 4616, 2016.
38. VAN OSCH, D.J.; PARMENTIER, D.; DIETZ, C.H.; VAN DEN BRUINHORST, A.; TUINIER, R. & KROON, M.C. "Removal of alkali and

- transition metal ions from water with hydrophobic deep eutectic solvents". *Chemical Communications*, **52** (80): 11987, 2016.
39. ABBOTT, A.P.; CAPPER, G.; DAVIES, D.L.; MCKENZIE, K.J. & OBI, S.U. "Solubility of metal oxides in deep eutectic solvents based on choline chloride". *Journal of Chemical & Engineering Data*, **51** (4): 1280, 2006.
40. ESPINO-LÓPEZ, I.E.; ROMERO-ROMO, M.; DE OCA-YEMHA, M.G.M.; MORALES-GIL, P.; RAMÍREZ-SILVA, M.T.; MOSTANY, J. & PALOMAR-PARDAVÉ, M. "Palladium nanoparticles electrodeposition onto glassy carbon from a deep eutectic solvent at 298 K and their catalytic performance toward formic acid oxidation". *Journal of The Electrochemical Society*, **166** (1): D3205, 2018.
41. BERNASCONI, R.; PANZERI, G.; FIRTIN, G.; KAHYAOGU, B.; NOBILI, L. & MAGAGNIN, L. "Electrodeposition of ZnNi alloys from choline chloride/ethylene glycol deep eutectic solvent and pure ethylene glycol for corrosion protection". *The Journal of Physical Chemistry B*, **124** (47): 10739, 2020.
42. ZHANG, J.; GU, C.; YAN, W.; TU, J. & DING, X. "Fabrication and corrosion property of conversion films on magnesium alloy from deep eutectic solvent". *Surface and Coatings Technology*, **344**: 702, 2018.
43. MILLER, M.A.; WAINRIGHT, J.S. & SAVINELL, R.F. "Iron electrodeposition in a deep eutectic solvent for flow batteries". *Journal of The Electrochemical Society*, **164** (4): A796, 2017.
44. SKOPEK, M.A.; MOHAMOUD, M.A.; RYDER, K.S. & HILLMAN, A.R. "Nanogravimetric observation of unexpected ion exchange characteristics for polypyrrole film p-doping in a deep eutectic ionic liquid". *Chemical communications*, **8**: 935, 2009.
45. FERNANDES, P.M.; CAMPIÑA, J.M.; PEREIRA, N.M.; PEREIRA, C.M. & SILVA, F. "Biodegradable deep-eutectic mixtures as electrolytes for the electrochemical synthesis of conducting polymers". *Journal of Applied Electrochemistry*, **42** (12): 997, 2012.
46. LIU, Y.; WANG, Y.; DAI, Q. & ZHOU, Y. "Magnetic deep eutectic solvents molecularly imprinted polymers for the selective recognition and separation of protein". *Analytica chimica acta*, **936**: 168, 2016.
47. TANG, W. & ROW, K.H. "Fabrication of water-compatible molecularly imprinted resin in a hydrophilic deep eutectic solvent for the determination and purification of quinolones in wastewaters". *Polymers*, **11** (5): 871, 2019.
48. ZHENG, Y.; YE, L.; YAN, L. & GAO, Y. "The electrochemical behavior and determination of quercetin in choline chloride/urea deep eutectic solvent electrolyte based on abrasively immobilized multi-wall carbon nanotubes modified electrode". *Int. J. Electrochem. Sci*, **9**: 238, 2014.
49. GAO, J.; XIONG, H.; GAO, Y.; ZHANG, J.; YANG, H. & MA, X. "The electrochemical analysis of cadmium in choline chloride/urea deep eutectic solvent electrolyte at carbon nanotubes modified electrode". *Int. J. Electrochem. Sci*, **11**: 6306, 2016.

50. XU, Q.; ZHAO, T.; WEI, L.; ZHANG, C. & ZHOU, X. "Electrochemical characteristics and transport properties of Fe (II)/Fe (III) redox couple in a non-aqueous reline deep eutectic solvent". *Electrochimica Acta*, **154**: 462, 2015.
51. NKUKU, C.A. & LESUER, R.J. "Electrochemistry in deep eutectic solvents". *The Journal of Physical Chemistry B*, **111** (46): 13271, 2007.
52. CARIATI, L.S.S. & BUORO, R.M. "Evaluation of ionic natural deep eutectic solvents (NADES) modified binders towards the chemical properties of carbon paste electrodes". *Electrochemistry Communications*, **109**: 106605, 2019.
53. FABRY, F.; FLAMANT, G. & FULCHERI, L. "Carbon black processing by thermal plasma. Analysis of the particle formation mechanism". *Chemical Engineering Science*, **56** (6): 2123, 2001.
54. LONG, C.M.; NASCARELLA, M.A. & VALBERG, P.A. "Carbon black vs. black carbon and other airborne materials containing elemental carbon: Physical and chemical distinctions". *Environmental Pollution*, **181**: 271, 2013.
55. 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 and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **395**: 105, 2012.
56. SILVA, T.A.; MORAES, F.C.; JANEGITZ, B.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Electrochemical biosensors based on nanostructured carbon black: a review". *Journal of Nanomaterials*, **2017** 2017.
57. RINAUDO, M. "Chitin and chitosan: properties and applications". *Progress in polymer science*, **31** (7): 603, 2006.
58. AZEVEDO, V.; CHAVES, S.; BEZERRA, D.; LIA FOOK, M. & COSTA, A. "Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais". *Revista eletrônica de Materiais e processos*, **2** (3): 27, 2007.
59. KUMAR, M.N.R. "A review of chitin and chitosan applications". *Reactive and functional polymers*, **46** (1): 1, 2000.
60. VICENTINI, F.C.; SILVA, T.A.; PELLATIERI, A.; JANEGITZ, B.C.; FATIBELLO-FILHO, O. & FARIA, R.C. "Pb (II) determination in natural water using a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan". *Microchemical Journal*, **116**: 191, 2014.
61. JANEGITZ, B.C.; FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; SOUZA, S.P.; PEREIRA-FILHO, E.R. & FATIBELLO-FILHO, O. "Development of a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan for cadmium (II) and mercury (II) determination". *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **660** (1): 209, 2011.
62. JANEGITZ, B.C.; MARCOLINO-JUNIOR, L.H.; CAMPANA-FILHO, S.P.; FARIA, R.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Anodic stripping voltammetric determination of copper (II) using a functionalized carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan". *Sensors and Actuators B: Chemical*, **142** (1): 260, 2009.
63. SHEPHERD, R.; READER, S. & FALSHAW, A. "Chitosan functional properties". *Glycoconjugate journal*, **14** (4): 535, 1997.

64. WONG, A.; RAZZINO, C.A.; SILVA, T.A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Square-wave voltammetric determination of clindamycin using a glassy carbon electrode modified with graphene oxide and gold nanoparticles within a crosslinked chitosan film". *Sensors and Actuators B: Chemical*, **231**: 183, 2016.
65. BACCARIN, M.; SANTOS, F.A.; VICENTINI, F.C.; ZUCOLOTTO, V.; JANEGITZ, B.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide/carbon black/chitosan composite for the simultaneous determination of dopamine and paracetamol concentrations in urine samples". *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **799**: 436, 2017.
66. YIN, H.; ZHANG, Q.; ZHOU, Y.; MA, Q.; ZHU, L. & AI, S. "Electrochemical behavior of catechol, resorcinol and hydroquinone at graphene–chitosan composite film modified glassy carbon electrode and their simultaneous determination in water samples". *Electrochimica Acta*, **56** (6): 2748, 2011.
67. PAULIUKAITE, R.; GHICA, M.E.; FATIBELLO-FILHO, O. & BRETT, C.M. "Comparative study of different cross-linking agents for the immobilization of functionalized carbon nanotubes within a chitosan film supported on a graphite– epoxy composite electrode". *Analytical chemistry*, **81** (13): 5364, 2009.
68. JAMES, L.; SULLIVAN, J.E. & ROBERTS, D. "The proper use of acetaminophen". *Paediatrics & Child Health*, **16** (9): 544, 2011.
69. LARSON, A.M.; POLSON, J.; FONTANA, R.J.; DAVERN, T.J.; LALANI, E.; HYNAN, L.S.; REISCH, J.S.; SCHIØDT, F.V.; OSTAPOWICZ, G. & SHAKIL, A.O. "Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study". *Hepatology*, **42** (6): 1364, 2005.
70. GELLER, M.; KRYMCHANTOWSKI, A.V.; STEINBRUCH, M.; KARIN, S. & RIBEIRO, M. "Utilização do diclofenaco na prática clínica: revisão das evidências terapêuticas e ações farmacológicas". *Rev Bras Clin Med*, **10** (1): 29, 2012.
71. BOELSTERLI, U.A. "Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idiosyncratic drug toxicity". *Toxicology and Applied Pharmacology*, **192** (3): 307, 2003.
72. NAIR, B. & TAYLOR-GJEVRE, R. "A review of topical diclofenac use in musculoskeletal disease". *Pharmaceuticals*, **3** (6): 1892, 2010.
73. WU, Y.; WU, Y.; LV, X.; LEI, W.; DING, Y.; CHEN, C.; LV, J.; FENG, S.; CHEN, S.-M. & HAO, Q. "A sensitive sensing platform for acetaminophen based on palladium and multi-walled carbon nanotube composites and electrochemical detection mechanism". *Materials Chemistry and Physics*, **239**: 121977, 2020.
74. WANG, H.; WANG, S.; LIU, Y.; FU, Y.; WU, P. & ZHOU, G. "Degradation of diclofenac by Fe(II)-activated bisulfite: Kinetics, mechanism and transformation products". *Chemosphere*, **237**: 124518, 2019.
75. MU, R.; AO, Y.; WU, T.; WANG, C. & WANG, P. "Synthesis of novel ternary heterogeneous anatase-TiO<sub>2</sub> (B) biphasic nanowires/Bi<sub>4</sub>O<sub>5</sub>I<sub>2</sub> composite

- photocatalysts for the highly efficient degradation of acetaminophen under visible light irradiation". *Journal of Hazardous Materials*, **382**: 121083, 2020.
76. ZHANG, L.; LIU, Y. & FU, Y. "Degradation kinetics and mechanism of diclofenac by UV/peracetic acid". *RSC Advances*, **10** (17): 9907, 2020.
77. 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". *Journal of Crystal Growth*, **233** (1-2): 367, 2001.
78. OKOTH, O.K.; YAN, K.; LIU, L. & ZHANG, J. "Simultaneous electrochemical determination of paracetamol and diclofenac based on poly (diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene". *Electroanalysis*, **28** (1): 76, 2016.
79. DELGADO-MELLADO, N.; LARRIBA, M.; NAVARRO, P.; RIGUAL, V.; AYUSO, M.; GARCÍA, J. & RODRÍGUEZ, F. "Thermal stability of choline chloride deep eutectic solvents by TGA/FTIR-ATR analysis". *Journal of Molecular Liquids*, **260**: 37, 2018.
80. YUE, D.; JIA, Y.; YAO, Y.; SUN, J. & JING, Y. "Structure and electrochemical behavior of ionic liquid analogue based on choline chloride and urea". *Electrochimica Acta*, **65**: 30, 2012.
81. BADAWI, H.M. & FÖRNER, W. "Analysis of the infrared and Raman spectra of phenylacetic acid and mandelic (2-hydroxy-2-phenylacetic) acid". *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **78** (3): 1162, 2011.
82. LI, G.; ZHU, T. & LEI, Y. "Choline chloride-based deep eutectic solvents as additives for optimizing chromatographic behavior of caffeic acid". *Korean Journal of Chemical Engineering*, **32** (10): 2103, 2015.
83. HAYYAN, M.; ABO-HAMAD, A.; ALSAADI, M.A. & HASHIM, M.A. "Functionalization of graphene using deep eutectic solvents". *Nanoscale Research Letters*, **10** (1): 324, 2015.
84. TANG, B.; ZHANG, H. & ROW, K.H. "Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples". *Journal of Separation Science*, **38** (6): 1053, 2015.
85. CRUZ, H.; JORDÃO, N. & BRANCO, L.C. "Deep eutectic solvents (DESs) as low-cost and green electrolytes for electrochromic devices". *Green Chemistry*, **19** (7): 1653, 2017.
86. AGOSTINHO, S.M.; VILLAMIL, R.F.; AGOSTINHO NETO, A. & ARANHA, H. "The supporting electrolyte and its multiple functions on electrode processes". *Química Nova*, **27** (5): 813, 2004.
87. ÁLVAREZ-BUSTAMANTE, R.; NEGRÓN-SILVA, G.; ABREU-QUIJANO, M.; HERRERA-HERNÁNDEZ, H.; ROMERO-ROMO, M.; CUÁN, A. & PALOMAR-PARDAVÉ, M. "Electrochemical study of 2-mercaptoimidazole as a novel corrosion inhibitor for steels". *Electrochimica Acta*, **54** (23): 5393, 2009.
88. BARD, A.J. & FAULKNER, L.R. "Fundamentals and applications". *Electrochemical Methods*, **2** (482): 580, 2001.

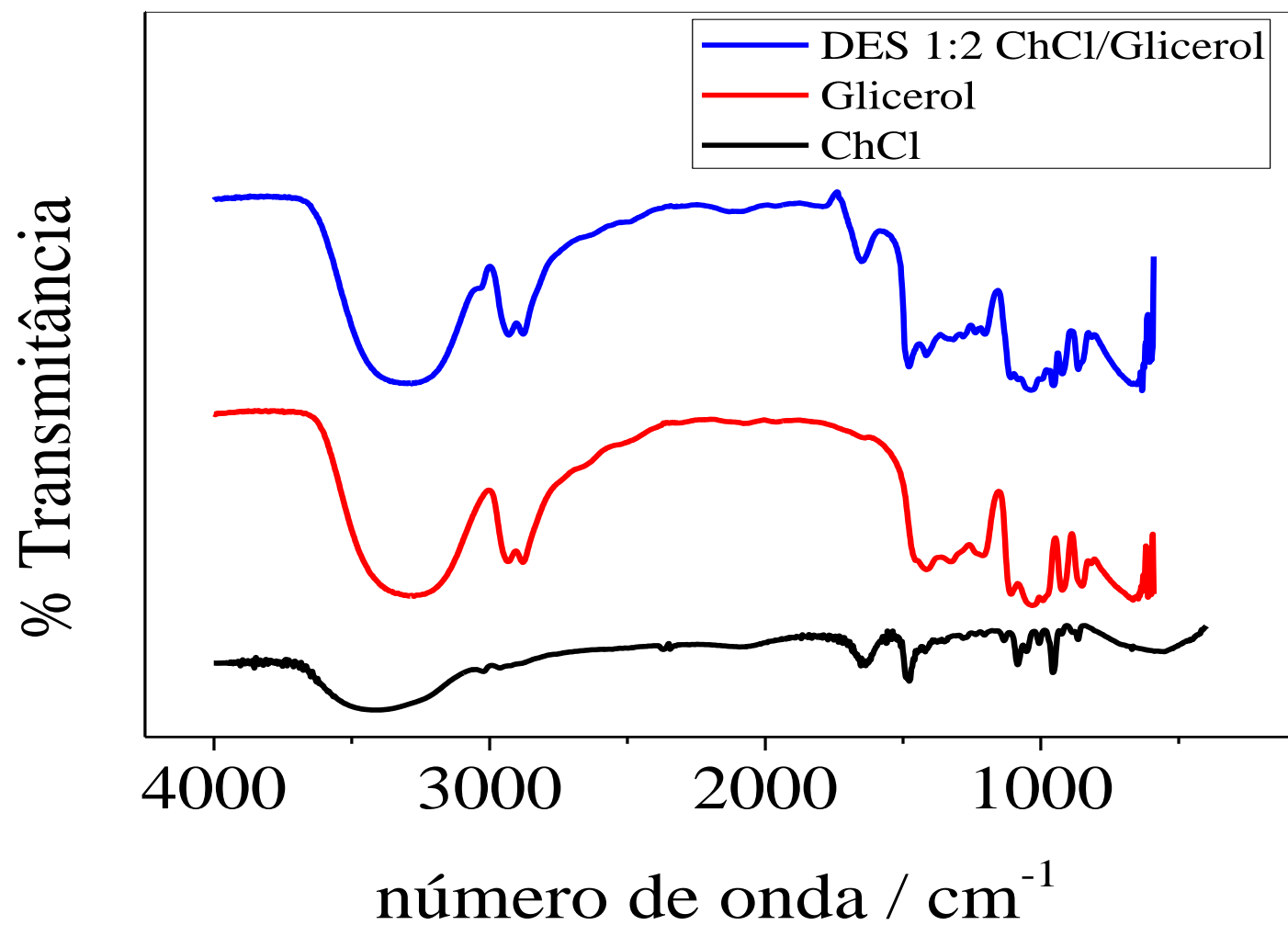
89. NICHOLSON, R.S. "Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics". *Analytical chemistry*, **37** (11): 1351, 1965.
90. LAVAGNINI, I.; ANTIOCHIA, R. & MAGNO, F. "An extended method for the practical evaluation of the standard rate constant from cyclic voltammetric data". *Electroanalysis*, **16** (6): 505, 2004.
91. WANG, C.; LI, C.; WANG, F. & WANG, C. "Covalent modification of glassy carbon electrode with l-cysteine for the determination of acetaminophen". *Microchimica Acta*, **155** (3): 365, 2006.
92. NICHOLSON, R.S. & SHAIN, I. "Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems". *Analytical chemistry*, **36** (4): 706, 1964.
93. LERON, R.B.; WONG, D.S.H. & LI, M.-H. "Densities of a deep eutectic solvent based on choline chloride and glycerol and its aqueous mixtures at elevated pressures". *Fluid Phase Equilibria*, **335**: 32, 2012.
94. MORRISON, H.G.; SUN, C.C. & NEERVANNAN, S. "Characterization of thermal behavior of deep eutectic solvents and their potential as drug solubilization vehicles". *International Journal of Pharmaceutics*, **378** (1): 136, 2009.
95. POPESCU, A.-M.; CONSTANTIN, V.; COJOCARU, A. & OLTEANU, M. "Electrochemical behaviour of copper (II) chloride in choline chloride-urea deep eutectic solvent". *Rev. Chim.(Bucharest)*, **62** (2): 206, 2011.
96. HARIFI-MOOD, A.R. & BUCHNER, R. "Density, viscosity, and conductivity of choline chloride+ethylene glycol as a deep eutectic solvent and its binary mixtures with dimethyl sulfoxide". *Journal of Molecular Liquids*, **225**: 689, 2017.
97. LERON, R.B.; SORIANO, A.N. & LI, M.-H. "Densities and refractive indices of the deep eutectic solvents (choline chloride+ethylene glycol or glycerol) and their aqueous mixtures at the temperature ranging from 298.15 to 333.15K". *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **43** (4): 551, 2012.
98. TANG, B. & ROW, K.H. "Recent developments in deep eutectic solvents in chemical sciences". *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, **144** (10): 1427, 2013.
99. SILVA, T.A.; WONG, A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Electrochemical sensor based on ionic liquid and carbon black for voltammetric determination of Allura red colorant at nanomolar levels in soft drink powders". *Talanta*, **209**: 120588, 2020.
100. PITON, G.R.; AUGUSTO, K.K.; DANIEL JR, A.S. & FATIBELLO-FILHO, O. "Spectrophotometric determination of allura red and tartrazine in food products using hydrophobic deep eutectic solvents as an environmentally sustainable micro-extractor". *J. Braz. Chem. Soc.*, **32** (3): 564, 2021.

101. O'CONNOR, K.M. & CORRIGAN, O.I. "Preparation and characterisation of a range of diclofenac salts". *International journal of pharmaceutics*, **226** (1-2): 163, 2001.
102. TEFERA, M.; GETO, A.; TESSEMA, M. & ADMASSIE, S. "Simultaneous determination of caffeine and paracetamol by square wave voltammetry at poly (4-amino-3-hydroxynaphthalene sulfonic acid)-modified glassy carbon electrode". *Food chemistry*, **210**: 156, 2016.
103. BUI, M.-P.N.; LI, C.A.; HAN, K.N.; PHAM, X.-H. & SEONG, G.H. "Determination of acetaminophen by electrochemical co-deposition of glutamic acid and gold nanoparticles". *Sensors and Actuators B: Chemical*, **174**: 318, 2012.
104. AFKHAMI, A.; BAHIRAEI, A. & MADRAKIAN, T. "Gold nanoparticle/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a sensitive voltammetric sensor for the determination of diclofenac sodium". *Materials Science and Engineering: C*, **59**: 168, 2016.
105. SATHISHA, A. & SWAMY, B.E.K. "Simultaneous Electrochemical Determination of Paracetamol, Dopamine and Diclofenac at Diacerein Modified Carbon paste Electrode: A Voltammetric Study". *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*, **10** (11): 1437, 2018.
106. GUZMÁN-HERNÁNDEZ, D.; CID-CERÓN, M.; ROMERO-ROMO, M.; RAMÍREZ-SILVA, M.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M.; CORONA-AVENDAÑO, S. & PALOMAR-PARDAVÉ, M. "Taking advantage of CTAB micelles for the simultaneous electrochemical quantification of diclofenac and acetaminophen in aqueous media". *RSC advances*, **7** (64): 40401, 2017.
107. AFSHAR, E. & JALALI, F. "Sensitive simultaneous determination of paracetamol and diclofenac based on au nanoparticles-functionalized graphene/poly (L-arginine) glassy carbon electrode". *Journal of the Chilean Chemical Society*, **61** (1): 2846, 2016.
108. SASAL, A.; TYSZCZUK-ROTKO, K.; WÓJCIAK, M.; SOWA, I. & KURYŁO, M. "Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation". *Materials*, **13** (14): 3091, 2020.

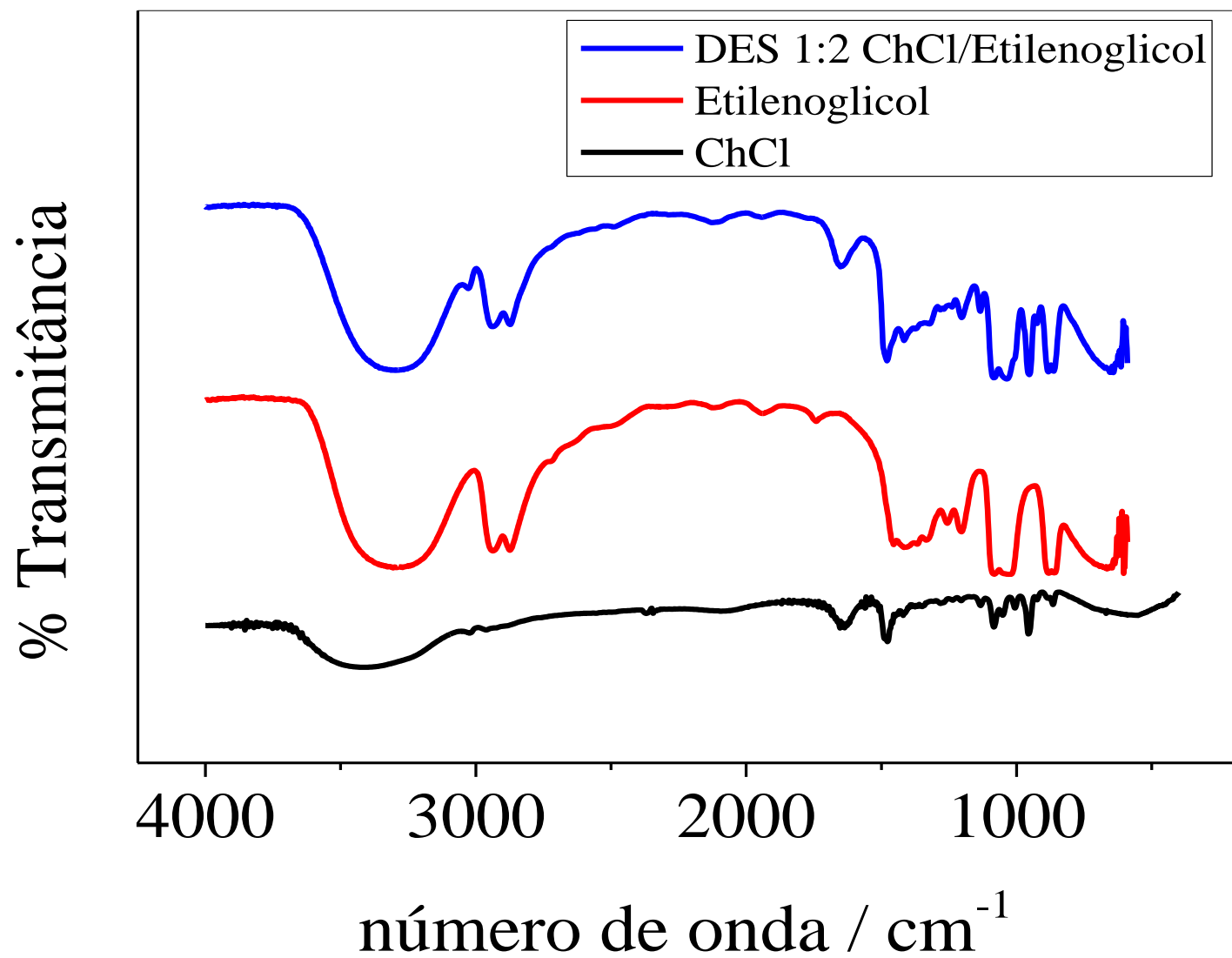




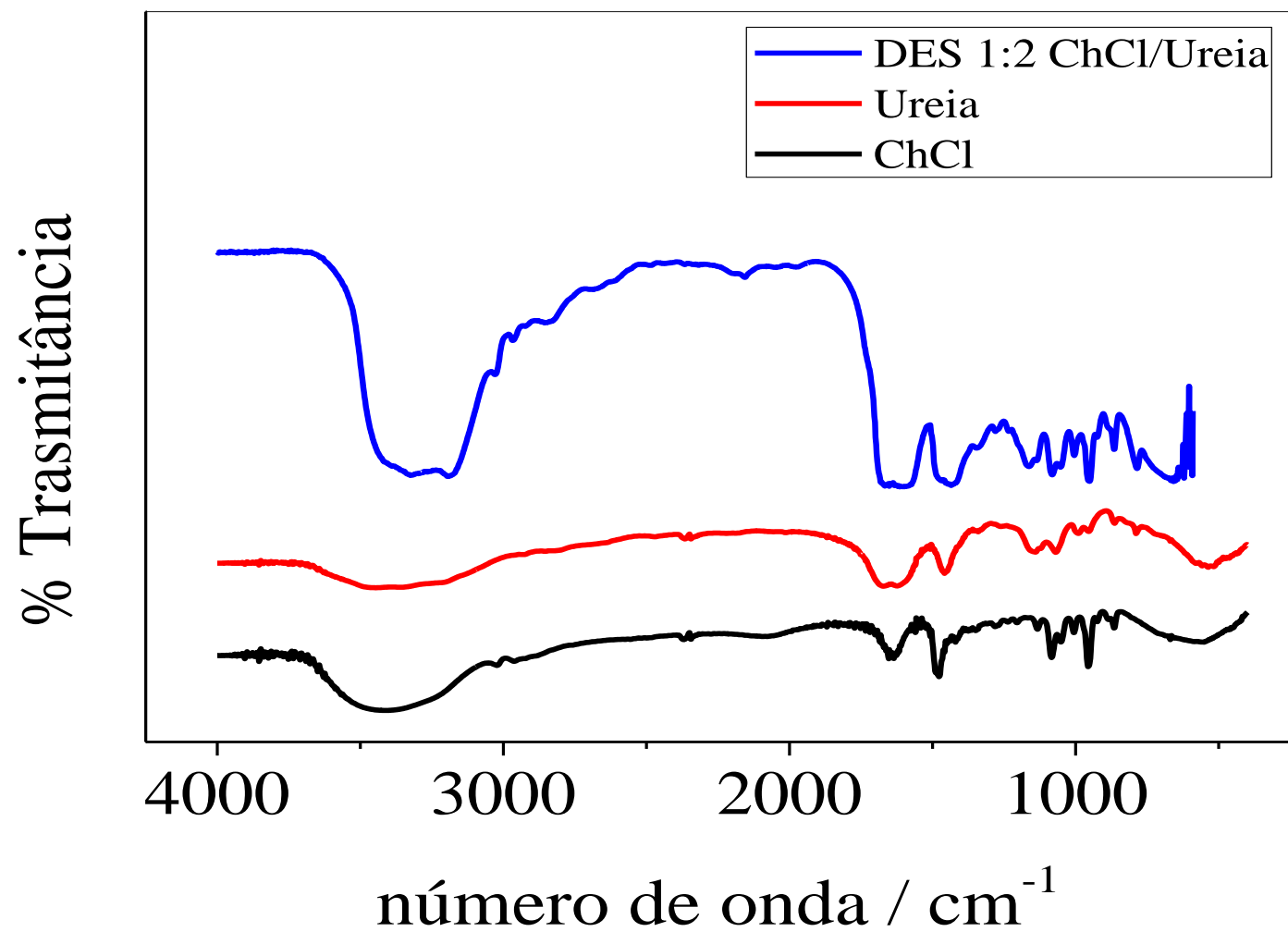
## APÊNDICE 1



APÊNDICE A1 1 – Espectros na região do infra-vermelho para o DES 1:2 (mol/mol) ChCl/glicerol e os precursores glicerol e ChCl.



APÊNDICE A1. 2 – Espectros na região do infra-vermelho para o DES 1:2(mol/mol) ChCl/etilenoglicol e os precursores etilenoglicol e ChCl.



APÊNDICE A1. 3 – Espectros na região do infra-vermelho para o DES 1:2 (mol/mol) ChCl/ureia e os precursores ureia e ChCl.

