

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

**“DESENVOLVIMENTO DE ELETRODOS MODIFICADOS COM
POLÍMEROS CONDUTORES E NANOTUBOS DE CARBONO E
APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE ANALITOS DE
INTERESSE FARMACÊUTICO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS E
EM FÁRMACOS”**

Estela de Pieri Troiani*

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

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria

*** bolsista CNPq**

São Carlos - SP
2011

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

T845de

Troiani, Estela de Pieri.

Desenvolvimento de eletrodos modificados com polímeros condutores e nanotubos de carbono e aplicação na determinação de analitos de interesse farmacêutico em amostras biológicas e em fármacos / Estela de Pieri Troiani. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
167p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Química analítica. 2. Eletrodos modificados. 3. Polímeros condutores. 4. Nanotubos de carbono. 5. Métodos eletroanalíticos. 6. Catecolaminas. Título.

CDD: 543 (20^a)

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

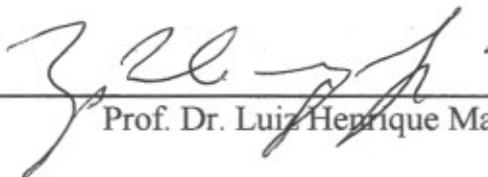
Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado da candidata Estela de Pieri Troiani, realizada em 15 de julho de 2011:



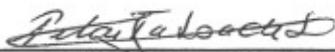
Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria



Profa. Dra. Lucia Codognoto de Oliveira



Prof. Dr. Luiz Henrique Mazo



Profa. Dra. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor



Prof. Dr. Renato Lajarim Carneiro

*Tudo que até hoje se concretizou não seria possível
sem os incentivos e carinhos dos meus pais,
Maria Luiza e Valcir, dos meus irmãos Elcio e Elton e
do meu amado esposo Luciano Gomes.
Não há palavras no mundo capazes de traduzir o meu
agradecimento e o meu amor...
A vocês, eu dedico!!!*

Especial agradecimento,

Aos pequenos: Héctor e João Vitor, que nos contagiam com suas alegrias e ensinamentos inocentes, porém sábios. É muito bom ouvir dessas crianças:

“ — Madiiinhaa...” ou então: “ — Cadê a tia Istéia?”

Aos queridos Carlos e Suely, pelo carinho, preocupação e pelas orações.

À torcida “organizada” e animada das cunhadas, cunhados e co-cunhadas:

Petúnia, Camila, Márcio, Gustavo, Hellen e Lays.

À minha madrinha, Vera, por acompanhar de perto o meu crescimento, dando apoio, carinhos e incentivos.

Aos amigos André e Juliana e seus filhos Matheus e Nathália pela amizade sincera, incentivos e convívio agradável.

À grande família, em especial aos avós Abner Troiano (em nossos corações – 16.03.2011) e Helena, Luiz de Pieri (em nossos corações – 13.07.2011) e Arcídia, pelos carinhos constantes, pelos sábios conselhos, exemplos de experiência.

A DEUS, acima de tudo...

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria pela orientação, amizade, paciência e incentivos dados, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal; e por todos estes anos de convívio agradável;

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho pelos ensinamentos, pela atenção carinhosa, sugestões e amizade;

Ao Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira-Filho pelos ensinamentos de quimiometria e ajuda no desenvolvimento deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Ernesto Chaves Pereira de Souza pelas discussões sobre polímeros condutores;

À Mariele Pedroso pela amizade e apoio – adorei “tricotar” com você!!

Aos “padrinhos mágicos”, Roberta e Roberto, pelo carinho, pelos deliciosos almoços de domingo, pelas ajudas e incentivos;

Ao André Afonso pela amizade, discussões de química e ajudas com a microbalança de cristal de quartzo;

À Quésia Guedes pelas discussões e trabalhos relacionados aos polímeros condutores;

Aos colegas dos grupos LABiE e LABBES, pelo convívio, brincadeiras e pelas contribuições dadas de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho;

Aos professores da banca examinadora da defesa, pela disponibilidade e pelas contribuições dadas ao trabalho;

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Química da UFSCar que contribuíram para a minha formação e realização deste trabalho;

Às meninas da secretaria da Pós-graduação, Ariane, Cristina e Luciane, por me atender sempre com atenção, gentileza e sorrisos.

Aos técnicos, Ademir pela construção das células eletroquímicas e dos eletrodos, e Ricardo e Rorivaldo, do LIEC, pelas medidas de SEM;

A FAPESP, CAPES e CNPq pelo financiamento a este trabalho e pela bolsa concedida.

Obrigada!!!

*“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível,
e de repente você estará fazendo o impossível.”*

(São Francisco de Assis)

“Ontem de manhã quando acordei

Olhei a vida e me espantei

Eu tenho mais de 20 anos

Eu tenho mais de mil perguntas sem respostas.”

(20 Anos Blues, Elis Regina – composição: Vitor Martins e Sueli Costa)

*“Eu não me envergonho de corrigir meus erros e mudar as minhas opiniões,
porque não me envergonho de raciocinar e aprender”*

(Alexandre Herculano)

“Vou perseguir tudo aquilo que DEUS já escolheu pra mim.

Vou persistir, e mesmo nas marcas daquela dor

do que ficou, vou me lembrar.

E realizar o sonho mais lindo que DEUS sonhou.

Em meu lugar estar na espera de um novo que vai chegar

Vou persistir, continuar...”

(Tudo Posso, Pe. Fábio de Melo – composição: Celina Borges)

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

1-AA – 1-aminoantraceno

1-AAQ – 1-aminoantraquinona

1-PAA – Poli(1-aminoantraceno)

1-PAAQ – Poli(1-aminoantraquinona)

1-PAN – Poli(1-aminonaftaleno)

1,5-PDAN – Poli(1,5-diaminonaftaleno)

A – Ampère

AA – Ácido ascórbico

ACN – Acetonitrila

AFM – Atomic Force Microscopy (Microscopia de Força Atômica)

AU – Ácido úrico

BR – Tampão Britton-Robinson

CNT – Carbon nanotube (Nanotubo de Carbono)

CP – Conducting polymer (Polímero Condutor)

CSF – Cerebrospinal Fluid (Fluido Cerebrospinal)

CV – Cyclic Voltammetry (Voltametria Cíclica)

DA – Dopamina

DPV – Differential Potential Voltammetry (Voltametria de Pulso Diferencial)

DQ – Dopaminoquinona

E – Potencial elétrico

FEG-SEM – Field Emission Gun-Scanning Electron Microscopy (Microscopia Eletrônica de Varredura acoplada a um canhão de elétrons)

GCE – Glass Carbon Electrode (Eletrodo de Carbono Vítreo)

HQ – Hidroquinona

I – Corrente

ICP – Intrinsically Conducting Polymer (Polímero Condutor Intrínstico)

ITO – Indium Tin Oxide (Óxido de estanho dopado com índio)

LD – Limite de Detecção

NE – Norepinefrina

PANI – Polianilina

PBS – Phosphate Buffer Solution (Solução Tampão Fosfato)

PTBA – Perclorato de tetrabutílamônio

QCM – Quartz Cristal Microbalance (Microbalança de Cristal de Quartzo)

Q_T – Carga elétrica total

RSD – Relative Standard Deviation (Desvio Padrão Relativo)

SEM – Scanning Electron Microscopy (Microscopia Eletrônica de Varredura)

SWV – Square Wave Voltammetry (Voltametria de Onda Quadrada)

t – Tempo

UV-vis – Ultravioleta-visível

V – Volt

λ – Comprimento de onda

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 – Comparação de alguns eletrodos modificados descritos na literatura para a determinação de AA, DA e AU	32
TABELA 2.1 – Níveis reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial fracionário 2^{12-6}	54
TABELA 2.2 – Matriz do planejamento fatorial fracionário 2^{12-6}	55
TABELA 2.3 – Matriz dos experimentos para o planejamento Doehlert.....	57
TABELA 3.1 – Condições ideais identificadas com o planejamento fatorial fracionário	76
TABELA 3.2 – Estudo de recuperação para AA, DA e AU em amostras sintéticas de urina e fluido cerebrospinal obtidas com eletrodo p-PAACNT (n=3)	82
TABELA 3.3 – Resultados de recuperação obtidos para DA e AU em amostras de urina humana utilizando eletrodo p-PAACNT (n=3).....	82
TABELA 3.4 – Estudos de adição e recuperação de NE em amostras de formulações farmacêuticas obtidos com o eletrodo p-PAA e SWV (n=3).....	87
TABELA 3.5 – Resultados obtidos com o eletrodo de p-PAA e o método espectrofotométrico na determinação de NE em formulações farmacêuticas	88
TABELA 3.6 – Estudo dos parâmetros das técnicas SWV e DPV em solução de DA utilizando o eletrodo p-PAAQ.....	107
TABELA 3.7 – Parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas analíticas para DA, AA e AU	113
TABELA 3.8 – Estudo de recuperação de AA e AU em urina humana obtidas com eletrodo p-PAAQ (n = 3).....	115
TABELA 3.9 – Estudo dos parâmetros das técnicas SWV e DPV em solução de HQ utilizando eletrodo p-PAAQ.....	122

TABELA 3.10 – Estudo de adição e recuperação de HQ em amostras farmacêuticas obtidas com eletrodo p-PAAQ por SWV (n=3)	129
TABELA 4.1 – Comparação dos polímeros condutores estudados em relação à resposta obtida para DA	146

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Comparação da condutividade elétrica ($S\text{ cm}^{-1}$) dos polímeros condutores: PA, PANI, poli(<i>p</i> -fenileno) (PP) e PPY, com alguns materiais ²²	5
FIGURA 1.2 – Representação esquemática da estrutura da banda de valência (BV) e banda de condução (BC) de uma cadeia polimérica contendo polaron e bipolaron ²⁵	6
FIGURA 1.3 – Estruturas químicas dos monômeros (A) 1-AA e (B) 1-AAQ.....	9
FIGURA 1.4 – Estruturas alotrópicas do carbono: (a) diamante, (b) grafite, (c) fulereno e (d) nanotubo de carbono.	12
FIGURA 1.5 – (A) Diagrama de formação de CNT a partir de uma folha de grafeno. (B) Estruturas de CNTs obtidas em diferentes geometrias: (a) <i>zig-zag</i> , (b) <i>armchair</i> e (c) <i>chiral</i> ⁵¹	13
FIGURA 1.6 – Estruturas dos nanotubos de carbono de (A) parede simples e (B) paredes múltiplas.....	14
FIGURA 1.7 – Estrutura química da dopamina.....	19
FIGURA 1.8 – Estrutura química da norepinefrina.....	20
FIGURA 1.9 – Interatividade entre NE, DA e serotonina.....	21
FIGURA 2.1 – Representação esquemática das células eletroquímicas com capacidade volumétrica de (a) 40 mL, (b) 3,0 mL; e (c) célula espectrofotoeletroquímica (4,0 mL) utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho.....	42
FIGURA 3.1 – Imagens de FEG-SEM da superfície dos filmes de PAA eletropolimerizados sobre eletrodos de Pt em soluções preparadas com: (A) 0,01 mol L ⁻¹ 1-AA e 0,1 mol L ⁻¹ PTBA em meio de ACN; (B) 0,01 mol L ⁻¹ 1-AA e 0,1 mol L ⁻¹ LiClO ₄ em ACN.....	62

FIGURA 3.2 – Imagens de AFM da superfície dos filmes de PAA eletropolimerizados sobre eletrodos de Pt em soluções preparadas com: (A) 0,01 mol L⁻¹ 1-AA e 0,1 mol L⁻¹ PTBA em meio de ACN; (B) 0,01 mol L⁻¹ 1-AA e 0,1 mol L⁻¹ LiClO₄ em ACN..... 63

FIGURA 3.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos (A) Pt não modificado e (B e C) Pt modificado com filme PAA em soluções de (—) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (a, b) 1,0 mmol L⁻¹ de K₃Fe(CN)₆ e (c) 1,0 mmol L⁻¹ de [Ru(NH₂)₆]Cl₃ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ obtidos (—) antes e (—) após aplicação do pré-tratamento catódico. $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$ 64

FIGURA 3.4 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodos de PAA polimerizados em diferentes condições: 0,01 mol L⁻¹ 1-AA e (—) 0,1 mol L⁻¹ PTBA, (—) 0,1 mol L⁻¹ LiClO₄, (—) 1,0 mol L⁻¹ HClO₄. Respostas obtidas em solução DA 5,0x10⁻⁴ mol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ 66

FIGURA 3.5 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo PAA em uma solução contendo 1,0 mmol L⁻¹ de AA e diferentes concentrações de DA (a – q): 5,60 – 92,4 μmol L⁻¹ DA em 0,1 mol L⁻¹ PBS. (B) Relação entre as curvas analíticas obtidas (●) somente com DA e outra (●) com DA + 1,0 mmol L⁻¹ de AA. Condições: $v = 0,005 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$ 67

FIGURA 3.6 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial e (B) cíclicos para uma solução de DA 1,0 mmol L⁻¹ em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,5) mostrando o perfil voltamétrico obtidos com os diferentes eletrodos. Condições: potencial condicional de -0,7 V por 3 s, $v = 0,01 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$. (—) eletrodo 1, (—) eletrodo 2, (—) eletrodo 3. 69

FIGURA 3.7 – Voltamogramas de pulso diferencial realizados em solução de DA 1,0 mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,5), utilizando eletrodo (—) PAA e (—) PAACNT. Condições: potencial condicional de -0,7 V por 3 s, $v = 0,01 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$ 70

FIGURA 3.8 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o eletrodo PAACNT: (A) sem a aplicação do pré-tratamento (B) com a aplicação do pré-tratamento de $-0,7$ V por 3 s, em soluções de (—) DA $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, (—) AA $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e (—) somente tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5. Condições: $\nu = 0,01 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$ 71

FIGURA 3.9 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo PAACNT para diferentes concentrações de DA: (a – p) $2,90 - 193 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS. (B) Curva analítica obtida. Condições: $\nu = 0,005 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$ 72

FIGURA 3.10 – Voltamogramas de pulso diferencial realizados em (—) eletrodo PAA, (—) eletrodo p-PAA em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH 7,0 contendo $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU. 73

FIGURA 3.11 – Voltamogramas de pulso diferencial realizados em (—) eletrodo PAACNT e (—) eletrodo p-PAACNT em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU. 74

FIGURA 3.12 – Resposta da superfície de contorno obtida a partir do planejamento Doehlert para (a) concentração monômero vs. a quantidade de CNT, (b) concentração de monômero vs. pH da solução (c) quantidade de CNT vs. pH da solução. 78

FIGURA 3.13 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo p-PAACNT em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo A) $2,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA, $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU e diferentes concentrações de AA (a – i): $0,60 - 3,12 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; B) $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU e diferentes concentrações de DA (a – p): $3,54 - 136 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; C) $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $2,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e diferentes concentrações de AU (a – j): $0,76 - 2,92 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 80

FIGURA 3.14 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo p-PAACNT em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH 7,0 (a) contendo urina humana, e

(b – f) adições sucessivas de DA nas concentrações entre $0,58 - 1,80 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 83

FIGURA 3.15 – (A) Voltamogramas cíclicos e (B) de onda quadrada, obtidos com eletrodo PAA em soluções (- -) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) e $2,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ NE, (—) antes e (—) após a aplicação do pré-tratamento catódico: $-0,7 \text{ V}$ por 3 s . Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$ e $a = 60 \text{ s}$ 85

FIGURA 3.16 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAA para diferentes concentrações de NE no intervalo entre $2,18 - 99,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ NE em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS. (B) curva analítica obtida. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$ e $a = 60 \text{ s}$ 86

FIGURA 3.17 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAA para a determinação de NE em ampolas farmacêuticas: (a) amostra, (b) amostra + $1,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (c) amostra + $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (d) amostra + $3,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NE. A figura inserida corresponde à curva obtida. 88

FIGURA 3.18 – Voltamogramas cíclicos do crescimento do filme de PAAQ sobre eletrodo de Pt. Solução 10 mmol L^{-1} de 1-AAq, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ LiClO_4 em meio de acetonitrila, 10 ciclos e $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$ 91

FIGURA 3.19 – Imagens de SEM com escalas de (A) $100 \text{ } \mu\text{m}$, (B) $40 \text{ } \mu\text{m}$ e (C) $10 \text{ } \mu\text{m}$, obtidas a partir da superfície dos filmes de PAAQ eletropolimerizados sobre eletrodos de Pt em soluções preparadas com 10 mmol L^{-1} 1-AAQ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ LiClO_4 em meio de acetonitrila, aplicando 10 ciclos voltamétricos e $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$ 92

FIGURA 3.20 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de PAAQ em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença e ausência de DA $5,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com aplicação do pré-tratamento catódico. 93

FIGURA 3.21 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial e (B) voltamogramas cíclicos, obtidos com o eletrodo de PAAQ em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na

presença de $5,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de DA, (—) antes e (—) após a aplicação do pré-tratamento catódico. 94

FIGURA 3.22 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de PAAQ em uma solução de DA $5,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) aplicando diferentes potenciais: $-0,1 \text{ V}$, $-0,3 \text{ V}$, $-0,5 \text{ V}$, $-0,7 \text{ V}$, $-0,9 \text{ V}$ e $-1,2 \text{ V}$ por 3 s. (B) Valor da corrente de pico obtida em função do potencial aplicado..... 95

FIGURA 3.23 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de PAAQ em solução de DA $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ aplicando o potencial de $-0,7 \text{ V}$ em diferentes tempos: 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30 e 60 s. (B) Valor da corrente de pico obtida em função do tempo aplicado..... 96

FIGURA 3.24 – (A) Voltamogramas cíclicos da oxidação de $5,46 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DA, utilizando eletrodo p-PAAQ em diferentes velocidades de varredura. (B) Relação entre as correntes anódicas e catódicas com $v^{1/2}$ 97

FIGURA 3.25 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução de DA com eletrodo de p-PAAQ eletropolimerizado em diferentes números de ciclos voltamétricos: 5, 10, 20, 30 e 50 ciclos. Solução de DA $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). (B) Valor da corrente de pico obtida em função do número de ciclos..... 99

FIGURA 3.26 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) com eletrodo de p-PAAQ eletropolimerizados com diferentes números de ciclos voltamétricos: 5, 10, 20, 30 e 50. 100

FIGURA 3.27 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em uma solução de DA $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com o filme p-PAAQ em diferentes concentrações do monômero: 5, 10, 25, e 50 mmol L^{-1} . (B) Variação da corrente de pico em função da concentração do monômero. 101

FIGURA 3.28 – Voltamogramas cíclico obtidos com diferentes eletrólitos suporte: (—) 0,1 mol L ⁻¹ LiClO ₄ e (---) 0,1 mol L ⁻¹ PTBA. Solução de DA 5,6x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em PBS pH 7,0.....	102
FIGURA 3.29 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com diferentes concentrações de LiClO ₄ : 0,05, 0,1 e 0,5 mol L ⁻¹ em solução de DA 5,6x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em PBS pH 7,0. (B) Valor da corrente de pico obtida em função da concentração do eletrólito suporte.	103
FIGURA 3.30 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ na presença de DA 5,0 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em meio de PBS 0,1 mol L ⁻¹ em diferentes valores de pH. (B) Respectivos valores de potencial de pico e corrente de pico em função do pH. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$	104
FIGURA 3.31 – (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ na presença de DA 5,0 x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em meio de solução tampão BR 0,1 mol L ⁻¹ em diferentes valores de pH. (b) Respectivos valores de potencial de pico e corrente de pico em função do pH. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$	105
FIGURA 3.32 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ em intervalo de concentração de DA entre (a – p): 3,56 – 10,4x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ . (B) Região linear da curva analítica obtida para as respectivas concentrações de DA. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$	108
FIGURA 3.33 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodos (—) PAAQ e (---) p-PAAQ, em 0,1 mol L ⁻¹ PBS (pH 7,0) contendo (A) 5,7x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de AA e (B) 5,3x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de AU. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$	109
FIGURA 3.34 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ em intervalo de concentração de (A) 1,15 – 12,3x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ AA e (B) AU 1,50 – 59,7x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ . <i>Inset</i> , respectivas curvas analíticas obtidas.....	110

FIGURA 3.35 – Voltamogramas de onda quadrada realizados em eletrodos (—) PAAQ e (—) p-PAAQ em 0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 7,0) contendo 5,0×10⁻⁴ mol L⁻¹ AA, 3,1×10⁻⁵ mol L⁻¹ DA e 5,4×10⁻⁴ mol L⁻¹ AU..... 111

FIGURA 3.36 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAAQ em 0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 7,0) contendo A) 3,2×10⁻⁵ mol L⁻¹ DA, 6,5×10⁻⁴ mol L⁻¹ AU e diferentes concentrações de AA (a – k): 1,12 – 12,1×10⁻⁴ mol L⁻¹; B) 5,6×10⁻⁴ mol L⁻¹ AA, 5,4×10⁻⁴ mol L⁻¹ AU e diferentes concentrações de DA (a – o): 2,10 – 106×10⁻⁵ mol L⁻¹; C) 5,6×10⁻⁴ mol L⁻¹ AA, 2,8×10⁻⁵ mol L⁻¹ DA e diferentes concentrações de AU (a – l): 3,52 – 41,9×10⁻⁴ mol L⁻¹..... 113

FIGURA 3.37 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em uma solução de DA 5,5×10⁻⁵ mol L⁻¹ com o filme PAAQCNT em diferentes proporções do monômero 1-AAQ e CNT: (—) 1:1 e (—) 3:1 (massa/massa)..... 116

FIGURA 3.38 – Voltamogramas de onda quadrada realizados em eletrodos (—) PAAQCNT e (—) p-PAAQCNT em 0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 7,0) contendo 5,4×10⁻⁴ mol L⁻¹ AA, 3,5×10⁻⁵ mol L⁻¹ DA e 5,3×10⁻⁴ mol L⁻¹ AU. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$ 117

FIGURA 3.39 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAAQCNT em 0,1 mol L⁻¹ de PBS (pH 7,0) contendo 5,5×10⁻⁴ mol L⁻¹ AA, 5,3×10⁻⁴ mol L⁻¹ AU e diferentes concentrações de DA (a – o): 2,18 – 9,75×10⁻⁵ mol L⁻¹. (B) Região linear da curva analítica obtida para as respectivas concentrações de DA..... 118

FIGURA 3.40 – Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos de (—) Pt não modificado e (—) Pt modificado com filme de PAAQ em solução de HQ 5,4×10⁻⁴ mol L⁻¹ em meio de 0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 7,0)..... 120

FIGURA 3.41 – (A) Voltamogramas cíclicos e (B) de onda quadrada, obtidos com o eletrodo de PAAQ em (—) PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e na presença de

HQ $5,4 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ (—) antes e (—) após a aplicação do pré-tratamento catódico.....	121
FIGURA 3.42 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ na presença de HQ $4,34 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ em meio de PBS 0,10 mol L ⁻¹ em diferentes valores de pH. (B) Respective valores de potencial de pico e corrente de pico em função do pH.	123
FIGURA 3.43 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de $5,78 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ HQ em meio de PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0) em diferentes potenciais aplicados no pré-tratamento do eletrodo. (B) Valores de corrente de pico obtidos em função do potencial aplicado.	125
FIGURA 3.44 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de $5,78 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ HQ em meio de PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0), aplicando -0,7 V em diferentes tempos. (B) Valores de corrente de pico obtidos em função do tempo aplicado.	125
FIGURA 3.45 – (A) Voltamogramas cíclicos da oxidação de $4,54 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ HQ, utilizando eletrodo p-PAAQ em diferentes velocidades de varredura. (B) Relação entre as correntes de pico anódicas e catódicas com a velocidade de varredura, $v^{1/2}$	126
FIGURA 3.46 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ em diferentes concentrações de HQ (a – q): $2,97 - 25,5 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ . (B) Curva analítica correspondente.	127
FIGURA 3.47 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo p-PAAQ na determinação de HQ em amostra manipulada de cosmético 4%. (a) amostra, (b) amostra + $3,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ , (c) amostra + $6,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ , (d) amostra + $9,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ , (e) amostra + 12×10^{-5} mol L ⁻¹ . A figura inserida corresponde à respectiva curva analítica.....	128
FIGURA 4.1 – Estruturas químicas dos polímeros condutores polianilina (PANI), poli(1-aminonaftaleno) (1-PAN), poli(1-aminoantraceno) (1-PAA),	

poli(1,5-diaminonaftaleno) (1,5-PDAN) e poli(1-aminoantraquinona) (1-PAAQ)..... 132

FIGURA 4.2 – (A) Voltamogramas cíclicos e (B) variação da frequência para o crescimento do filme de PANI sobre o eletrodo de ouro do cristal de quartzo obtidos a partir de uma solução contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de anilina em meio de $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. (C) Voltamogramas cíclicos obtidos com o filme de PANI em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência do monômero; $\nu = 0,05 \text{ V s}^{-1}$ 134

FIGURA 4.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o cristal de quartzo modificado com PANI em soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS e $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ DA, sem e com a aplicação do pré-tratamento catódico, $\nu = 0,025 \text{ V s}^{-1}$ 136

FIGURA 4.4 – Variação da frequência de oscilação do cristal de quartzo modificado com PANI, obtidos simultaneamente com os voltamogramas cíclicos em soluções (A e B) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS, (C) $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DA, (A) sem e (B e C) com a aplicação do pré-tratamento catódico..... 137

FIGURA 4.5 – Medidas cronoamperométricas obtidas com o cristal quartzo modificado com PAA, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0), aplicando (A) diferentes potenciais: $-0,7$, $-0,9$ e $-1,0$ durante 3 s, e (B) aplicando o potencial de $-0,7 \text{ V}$ por diferentes tempos: 3, 6, 12 e 18 s. Variação da frequência em função do tempo obtidas simultaneamente com as medidas cronoamperométricas para diferentes (C) potenciais e (D) tempos..... 139

FIGURA 4.6 – (A) Medidas cronoamperométricas obtidas com o cristal quartzo modificado com PAA, em solução $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ DA, aplicando o potencial de $-0,7 \text{ V}$ por diferentes tempos. (B) Variação da frequência em função do tempo obtidas simultaneamente com as medidas cronoamperométricas..... 140

FIGURA 4.7 – (A) Medidas cronoamperométricas obtidas com o cristal quartzo modificado com PANI, em solução $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ DA, aplicando o potencial de $-0,7 \text{ V}$ por diferentes tempos. (B) Variação da frequência em função do tempo obtidas simultaneamente com as medidas cronoamperométricas..... 140

FIGURA 4.8 – Voltamogramas cíclicos obtidos em soluções (A) 0,1 mol L ⁻¹ PBS e (B) 8,8x10 ⁻³ mol L ⁻¹ de DA, com eletrodos de ITO modificado com filme de PANI sem e com pré-tratamento catódico, utilizando uma célula espectroeletróquímica.....	142
FIGURA 4.9 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PANI obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de -0,2 a +0,6 V, em solução 0,1 mol L ⁻¹ PBS pH 7,0, realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.	142
FIGURA 4.10 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PANI obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de -0,2 a +0,6 V, em solução 0,1 mol L ⁻¹ PBS (pH 7,0) contendo 7,8 mmol L ⁻¹ de DA, realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.	144
FIGURA 1.11 – Absorbância vs. o potencial de varredura (—) direta e (—) inversa aplicado para três comprimentos de onda selecionados: (A) 420 nm, (B) 600 nm e (C) 800 nm, derivados dos espectros exibidos na Figura 4.10, para solução 0,1 mol L ⁻¹ de PBS (pH 7,0) contendo 7,8 mmol L ⁻¹ de DA, realizados antes da aplicação do pré-tratamento catódico.....	87
FIGURA 1.12 – Absorbância vs. o potencial de varredura (—) direta e (—) inversa aplicado para três comprimentos de onda selecionados: (A) 420 nm, (B) 600 nm e (C) 800 nm, derivados dos espectros exibidos na Figura 4.10, para solução 0,1 mol L ⁻¹ de PBS (pH 7,0) contendo 7,8 mmol L ⁻¹ de DA, realizados durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.....	87
FIGURA 1.13 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PAA obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de -0,1 a +0,6 V, em solução 0,1 mol L ⁻¹ PBS (pH 7,0) realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.....	88

FIGURA 1.14 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PAA obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de $-0,2$ a $+0,6$ V, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $7,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de DA, realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.....88

LISTA DE REAÇÕES

REAÇÃO 1.1 – Mecanismo de polimerização do PAA.....	10
REAÇÃO 1.2 – Mecanismo de redução da quinona.....	16
REAÇÃO 1.3 – Mecanismo de oxidação da dopamina ⁹²	22
REAÇÃO 1.4 – Mecanismo de oxidação do ácido ascórbico.....	23
REAÇÃO 1.5 – Mecanismo de oxidação do ácido úrico.....	25

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE ELETRODOS MODIFICADOS COM POLÍMEROS CONDUTORES E NANOTUBOS DE CARBONO E APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE ANALITOS DE INTERESSE FARMACÊUTICO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS E EM FÁRMACOS. Neste trabalho, são apresentados os estudos realizados com eletrodos modificados com filmes de poli(1-aminoantraceno) (PAA) e poli(1-aminoantraquinona) (PAAQ), bem como filmes compósitos polimerizados a partir da mistura destes polímeros com nanotubos de carbono (CNTs). Tais eletrodos foram utilizados para a determinação de dopamina (DA), ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU) em amostras biológicas reais e sintéticas, além disso, foi realizada a determinação de norepinefrina (NE) e hidroquinona (HQ) em amostras farmacêuticas. Neste contexto, foi avaliada a influência de um pré-tratamento catódico aplicado nos eletrodos modificados verificando-se uma mudança nas propriedades eletroquímicas dos filmes de tal maneira que após o pré-tratamento o eletrodo de PAA apresentou resposta eletrocatalítica para DA enquanto que o eletrodo de PAAQ apresentou um aumento significativo na resposta para DA. Neste trabalho, os filmes de PAA e PAAQ foram eletropolimerizados sobre eletrodos de platina, sendo suas superfícies caracterizadas por técnicas microscópicas. O filme de PAA apresentou resposta para DA somente após o pré-tratamento catódico, que consistiu na aplicação de um potencial de $-0,7$ V durante 3 s antes das medidas voltamétricas. Verificou-se que a união de CNTs, PAA e a aplicação do pré-tratamento catódico apresentou um efeito sinérgico resolvendo a sobreposição dos picos de oxidação de DA, AA e AU em três picos bem definidos. Para o filme de PAAQ, a resposta simultânea de AA, DA e AU, com picos de oxidação bem definidos, foi obtida após aplicação do pré-tratamento catódico, não sendo necessária a incorporação de CNTs na matriz polimérica. Utilizando a voltametria de pulso diferencial, curvas analíticas para AA, DA e AU foram construídas com o

eletrodo PAACNT apresentando limites de detecção de 39,5; 0,29 e 42,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Para o eletrodo PAAQ pré-tratado catodicamente, os limites de detecção obtidos foram de 25,0; 3,05 e 11,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AA, DA e AU, respectivamente. A adição de CNTs ao filme de PAAQ proporcionou um pequeno aumento no limite de detecção para DA contida na mistura ternária AA, DA e AU, com valor de 3,23 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Na sequência foi desenvolvido um procedimento para análise de NE, por meio da técnica de voltametria de onda quadrada (SWV) e utilizando-se um eletrodo modificado com filme de PAA. A curva analítica obtida foi linear no intervalo de concentração entre 2,18 – 99,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 0,58 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Por fim, foi desenvolvido um procedimento para a determinação de HQ utilizando o eletrodo modificado com PAAQ e SWV. Sob condições experimentais otimizadas, uma curva analítica foi construída, sendo apresentado um intervalo de concentração entre 2,97 – $25,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção igual a 2,11 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os métodos propostos foram aplicados em amostras biológicas e farmacêuticas, obtendo-se resultados satisfatórios.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF MODIFIED ELECTRODES WITH CONDUCTING POLYMERS AND CARBON NANOTUBES TO APPLICATION IN THE DETERMINATION OF ANALYTES OF PHARMACEUTICAL INTEREST IN BIOLOGICAL AND DRUGS SAMPLES. In this work is reported the studies carried out modified electrodes with poly(1-aminoanthracene) (PAA) and poly(1-aminoanthraquinone) (PAAQ), and composite films from a mixture of polymers with carbon nanotubes (CNTs). These electrodes were used for determination of dopamine (DA), ascorbic acid (AA) and uric acid (UA) in synthetic and real biological samples; in addition, we performed the determination of norepinephrine (NE) and hydroquinone (HQ) in pharmaceutical samples. In this context, was evaluated the influence of a cathodic pretreatment applied to the modified electrodes by verifying a change in electrochemical properties of the films so that after pretreatment of the PAA electrode showed electrocatalytic response to DA while the PAAQ electrode showed a significant increase in DA response. In this work, PAA and PAAQ films were electropolymerized on platinum electrodes, and their surfaces were characterized by microscopic techniques. PAA film showed DA response only after the cathodic pretreatment, which consisted of applying a potential of -0.7 V for 3 s prior to voltammetric measurements. It was found that the union of CNT, PAA and cathodic pretreatment provided a positive synergy, resolving the overlapping oxidation peaks of DA, AA and UA in three well defined peaks. For the PAAQ film, simultaneous responses of AA, DA and UA, with well-defined oxidation peaks was obtained after application of pretreatment, not requiring the incorporation of CNTs in polymer matrix. Using differential voltammetry, analytical curve for AA, DA and UA were constructed with the composite electrode PAACNT showed detection limits of 39.5, 0.29 e 42.2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. To the cathodically pretreated PAAQ electrode, detection limits obtained were 25.0, 3.05, e 11.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for AA, DA and UA, respectively.

Addition of the CNTs in PAAQ film provided a small increase in DA detection limit in the ternary mixture AA, DA and UA, with a value of $3.23 \mu\text{mol L}^{-1}$. Following a procedure was developed for NE analysis, using the square wave voltammetry technique (SWV) and using modified PAA electrode. The analytical curve was linear over the NE concentration range between $2.18 - 99.6 \mu\text{mol L}^{-1}$, with a detection limit of $0.58 \mu\text{mol L}^{-1}$. Finally, a procedure was developed for the HQ determination using the modified PAAQ electrode and SWV technique. Under optimized experimental conditions, analytical curve was constructed, the HQ concentration obtained range between $2.97 - 25.5 \times 10^{-5} \text{mol L}^{-1}$ and detection limit equal $2.11 \mu\text{mol L}^{-1}$. The proposed methods were applied in biological and pharmaceutical samples, obtaining satisfactory results.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Polímeros condutores intrínsecos	4
1.1.1 Poli(1-aminoantraceno) e poli(1-aminoantraquinona).....	8
1.2 Nanotubos de carbono	11
1.3 Analitos estudados	16
1.3.1 Hidroquinona.....	16
1.3.2 Catecolaminas	17
1.4 Revisão bibliográfica sobre aplicações de eletrodos modificados para determinação de HQ, NE, DA, AA e AU	25
1.4.1 Determinação de HQ.....	26
1.4.2 Determinação de NE	29
1.4.3 Determinação de DA, AA e AU.....	31
1.5 Ferramentas estatísticas	36
1.6 OBJETIVOS	39
2. PARTE EXPERIMENTAL	41
2.1 Instrumentação.....	41
2.1.1 Eletrodos.....	43
2.2 Reagentes e soluções	45
2.2.1 Reagentes.....	45
2.2.2 Soluções.....	46
2.3 Procedimentos experimentais	48
2.3.1 Tratamento químico dos nanotubos de carbono.....	48
2.3.2 Preparação dos eletrodos modificados	49
2.3.3 Caracterização morfológica dos filmes poliméricos	51

2.3.4	Comportamento eletroquímico dos analitos nos eletrodos modificados	52
2.3.5	Estratégias de otimização	53
2.3.6	Análises das amostras e estudos de adição e recuperação	57
2.3.7	Estudo do pré-tratamento catódico.....	58
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
3.1	Estudo da eletropolimerização do filme de PAA e comportamento eletroquímico em $K_3Fe(CN)_6$, $[Ru(NH_2)_6]Cl_3$, DA e AA.....	61
3.1.1	Síntese do filme de PAA	61
3.1.2	Caracterização morfológica dos filmes PAA em diferentes eletrólitos suporte	62
3.1.3	Comportamento Eletroquímico de $K_3Fe(CN)_6$ e $[Ru(NH_2)_6]Cl_3$ em eletrodo modificado com PAA	63
3.1.4	Estudo do comportamento eletroquímico de DA e AA utilizando eletrodo de PAA.....	65
3.2	Estudo do eletrodo compósito PAA e CNT	68
3.2.1	Estudo do comportamento voltamétrico de DA em diferentes eletrodos compósitos.....	68
3.2.2	Determinação de DA, AA e AU utilizando PAACNT e ferramentas quimiométricas.....	72
3.3	Comportamento eletroquímico da Norepinefrina em eletrodo de PAA.	84
3.3.1	Curva analítica para NE	86
3.3.2	Determinação e estudo de adição e recuperação de NE em amostras farmacêuticas	87
3.4	Eletropolimerização do filme PAAQ e comportamento eletroquímico de DA, AA, AU e HQ.....	90
3.4.1	Crescimento do filme PAAQ	90

3.4.2	Caracterização morfológica do filme PAAQ	91
3.4.3	Comportamento eletroquímico de DA utilizando eletrodo de PAAQ 92	
3.4.4	Comportamento eletroquímico de DA, AA e AU obtido com o eletrodo compósito PAAQCNT	115
3.4.5	Estudo do comportamento eletroquímico da hidroquinona utilizando o eletrodo de PAAQ.....	119
4.	INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO CATÓDICO NOS POLÍMEROS CONDUTORES	131
4.1	Resultados de QCM e espectrofotoeletroquímico.....	132
4.1.1	Microbalança de Cristal de Quartzo.....	132
4.1.2	Estudo espectrofotoeletroquímico.....	141
4.2	Considerações gerais sobre os polímeros estudados	146
5.	CONCLUSÕES	149
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	153

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Novos eletrodos surgem rotineiramente na literatura em busca de métodos que conduzam a resultados mais sensíveis, rápidos, exatos, seletivos e reprodutíveis para a determinação de diversos compostos em amostras de interesse farmacêutico, clínico, ambiental e alimentício. Dentre estes novos eletrodos, os mais propostos são os eletrodos quimicamente modificados tendo como objetivo substituir ou melhorar os já existentes, podendo contornar muitos dos problemas apresentados pelos eletrodos tradicionais.

Um dos problemas encontrados nos sistemas eletroquímicos é a sobreposição de picos de muitos compostos que possuem processos de oxidação/redução na mesma região de potencial. Em meio a estes compostos estão a dopamina (DA), ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU), os quais coexistem nos fluidos biológicos.

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos robustos para a determinação de DA, AA e AU ainda é um grande desafio, mesmo a literatura apresentando uma grande quantidade de trabalhos neste tópico. Uma alternativa na busca por melhor sensibilidade e a seletividade para detecção destas espécies envolve a construção de eletrodos modificados. Os polímeros condutores (CPs) têm sido materiais promissores para o desenvolvimento de sensores, devido à grande variedade de polímeros disponíveis que apresentam propriedades químicas e eletroquímicas únicas¹. Além disso, os CPs podem ser facilmente obtidos em diferentes substratos, com a possibilidade de incorporar um grande número de compostos formando filmes compósitos que podem melhorar a resposta eletrocatalítica do sensor. Propriedades como a seletividade, sensibilidade, limite de detecção, tempo de resposta e tempo de vida podem ser amplamente melhorados modificando-se um sensor com CPs e compostos adequados para formarem um compósito²⁻³. No entanto, os sensores eletroquímicos para a DA com base em CPs necessitam, em geral, de espécies

eletroativas incorporadas para alcançar a resposta eletroquímica para DA com boa sensibilidade, seletividade e baixo limite de detecção. A polianilina (PANI) e o polipirrol (PPY), dois dos mais estudados CPs, não apresentam resposta eletroquímicas para a DA. No entanto, a PANI⁴⁻⁷ combinada com metais como Ni, Cu, Au ou nanotubos de carbono foram aplicados na determinação de DA obtendo-se boas respostas e o PPY⁸⁻¹¹ apresentou resposta eletroquímica para a DA somente após o polímero ser previamente superoxidado.

Os nanotubos de carbono (CNTs) têm sido amplamente aplicados em sensores eletroquímicos, devido a sua alta condutividade elétrica, grande área superficial e resistência mecânica¹²⁻¹³. Os CNTs desempenham um papel fundamental na detecção e no comportamento eletroquímico devido à capacidade de promover a rápida transferência de elétrons, por outro lado as propriedades eletrocatalíticas são fortemente dependentes do modo de síntese e funcionalização dos CNTs e do tipo de agente de dispersão utilizados para imobilizar os nanotubos na superfície do eletrodo¹³⁻¹⁵. Até recentemente alguns artigos foram relatados utilizando eletrodos modificados com compósitos formados por CPs e CNTs para a determinação de DA^{8-10, 16-17}, e alguns para a determinação simultânea de AA, DA e AU¹⁰. A maioria deles descreve que a adição de apenas uma pequena quantidade de nanotubos de carbono ao polímero levou a uma melhora considerável em suas propriedades, promovendo uma melhora significativa no desempenho analítico.

Recentemente, em nosso grupo foi desenvolvido um sensor voltamétrico para a determinação de DA em formulações farmacêuticas utilizando um eletrodo de platina modificado com filme de poli(1-aminoantraceno) (PAA)¹⁸⁻¹⁹. Demonstrou-se que após um simples pré-tratamento catódico, o eletrodo de PAA apresentou uma resposta eletrocatalítica para a DA, sem a interferência do AA. Neste contexto, o propósito do presente trabalho foi dar continuidade na pesquisa com polímeros condutores visando o estudo do pré-tratamento catódico, assim como desenvolver eletrodos

compósitos formados a partir de CPs e CNTs para a determinação de DA, AA e AU em amostras biológicas, devido à importância da determinação destas espécies em fluidos biológicos. Outros compostos também foram analisados, como a norepinefrina (NE) e hidroquinona (HQ), cujas quantificações foram realizadas em amostras farmacêuticas. Ademais, a compreensão sobre a influência do pré-tratamento catódico no comportamento dos polímeros condutores é de grande importância para aprimorar o estudo e desenvolvimento dos eletrodos, uma vez que não há relatos na literatura que elucidam tal tratamento. Nesta introdução será apresentada uma breve revisão bibliográfica sobre os CPs, CNTs e os analitos de interesse utilizados para o desenvolvimento deste trabalho, além de algumas aplicações encontradas na literatura relacionadas ao tema; lembrando que um grande número de trabalhos nesta área descreve, frequentemente, novos materiais, novos métodos de fabricação de sensores, aplicações em diferentes amostras, estratégias para melhoria na seletividade e nos limites de detecção, entre outros.

1.1 Polímeros condutores intrínsecos

Os polímeros intrinsecamente condutores (ICPs) também conhecidos como polímeros condutores conjugados, referem-se a uma grande classe de polímeros orgânicos que possuem tanto as propriedades mecânicas e processabilidade dos polímeros convencionais, como também propriedades elétricas e ópticas próprias dos metais¹.

Há mais de 50 anos, os polímeros eram considerados somente como materiais isolantes. No entanto, há pouco tempo, eles também passaram a ser considerados “materiais inteligentes”²⁰, porque alguns destes polímeros são capazes de responder a um determinado estímulo de forma reprodutível e específica. Como exemplo, se o estímulo dado ao polímero for do tipo elétrico, este polímero poderá provocar uma mudança de cor (tais polímeros são

utilizados em dispositivos eletrocromáticos), uma emissão de luz (chamados OLED – *organic light emitting diode*), uma variação do volume ou contração com movimento mecânico (músculos artificiais) e/ou uma reação de oxidação/redução (armazenamento químico de energia para aplicações em baterias)^{1, 20}.

Desde a descoberta, na década de 70, da condutividade do poliacetileno (PA), por Shirakawa, MacDiarmid e Heeger, mostrando que era possível obter e aumentar a condutividade elétrica do PA por exposição a vapores de bromo ou iodo²¹, foi crescente o interesse pelos polímeros em vários grupos de pesquisa no mundo, nas mais diversas áreas, devido a sua capacidade de combinar as propriedades comuns de sistemas poliméricos com as propriedades de materiais metálicos e inorgânicos, tais como a elevada condutividade elétrica. Os valores de condutividade dos ICPs podem ser encontrados desde valores iguais aos dos materiais isolantes até valores de alguns metais, como mostrado na FIGURA 1.1. E, portanto, estes polímeros são muitas vezes referidos como “metais sintéticos”^{1, 20, 22}.

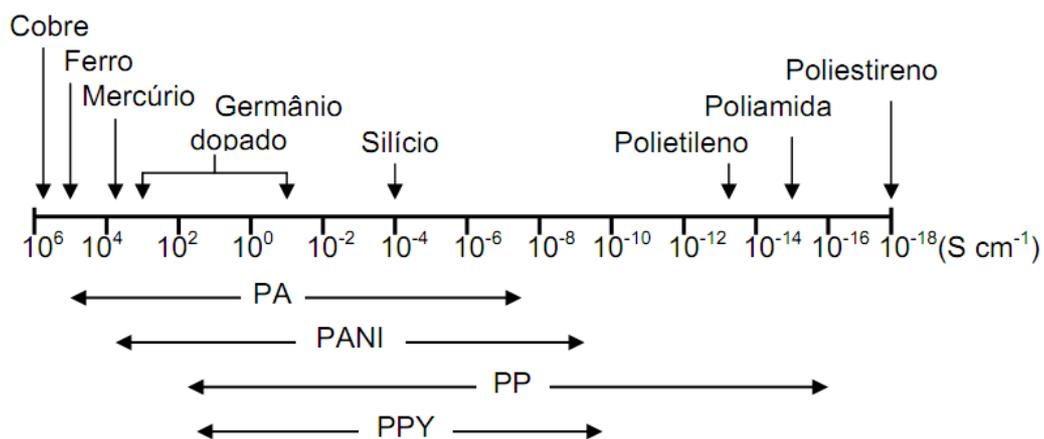


FIGURA 1.1 – Comparação da condutividade elétrica (S cm⁻¹) dos polímeros condutores: PA, PANI, poli(*p*-fenileno) (PP) e PPY, com alguns materiais²².

Nos ICPs os elétrons π conjugados, presentes na cadeia principal, são o motivo pelo qual se encontram suas raras propriedades elétricas como a

elevada condutividade, elevada afinidade eletrônica e baixo potencial de ionização²³⁻²⁴. No entanto, a conjugação, por si só, não é suficiente para produzir uma condutividade considerável, uma vez que também é necessária uma variação parcial de carga, ou seja, uma oxidação do polímero, que pode ser realizada por via química ou eletroquímica.

A explicação mais completa e aceita do fenômeno da condução elétrica nos polímeros condutores aromáticos é proposta pelo modelo de bandas que envolvem a formação dos radicais cátions – os polarons²⁵. Ou seja, quando um elétron é removido do topo da banda de valência de um polímero conjugado, uma vacância ou radical cátion é criado. Contudo, este radical cátion não se deslocaliza completamente pela cadeia, como esperado pela teoria de bandas clássica. Ocorre somente uma deslocalização parcial sobre algumas unidades monoméricas causando uma distorção estrutural local. O nível de energia associado ao radical cátion encontra-se na banda de energia (*band gap*) do material. Este radical cátion, com spin $\frac{1}{2}$, associado à distorção do retículo na presença de um estado eletrônico localizado na banda de energia, recebe o nome de polaron (FIGURA 1.2) uma vez que se estabiliza polarizando o meio ao seu redor²⁵⁻²⁶.

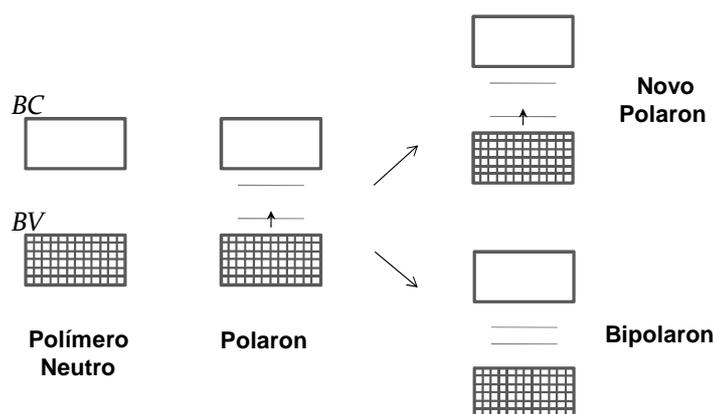


FIGURA 1.2 – Representação esquemática da estrutura da banda de valência (BV) e banda de condução (BC) de uma cadeia polimérica contendo polaron e bipolaron²⁵.

Se um segundo elétron é removido de um polímero já oxidado, duas situações podem ocorrer: este elétron pode ser retirado de um segmento diferente da cadeia polimérica, criando um novo polaron independente, ou o elétron é retirado de um nível polarônico já existente a partir da remoção do elétron desemparelhado, levando à formação de um radical dicátion, que recebe o nome de bipolaron²⁵⁻²⁶. Tanto polarons como bipolarons podem mover-se ao longo da cadeia polimérica por meio de um rearranjo das ligações duplas e simples que ocorrem em um sistema conjugado quando exposto a um campo elétrico²⁶. Os diagramas esquemáticos da estrutura de bandas de um polímero contendo polaron e bipolaron estão representados na FIGURA 1.2.

A síntese dos polímeros condutores, geralmente, é realizada por métodos de polimerização química ou eletroquímica, sendo que cada um apresenta suas vantagens e desvantagens²⁷. O método eletroquímico consiste na aplicação de uma corrente elétrica ou potencial ao eletrodo de trabalho, numa solução contendo o monômero e o eletrólito suporte. Nestas condições a molécula do monômero é oxidada, levando à formação de radicais cátions que posteriormente formam dímeros, os quais sofrem reação de acoplamento químico formando os oligômeros, ocorrendo assim várias etapas, dando origem ao polímero²⁷. Para a construção de eletrodos modificados, a eletropolimerização é altamente desejável, uma vez que permite que o processo de crescimento e dopagem dos filmes ocorra simultaneamente sobre o eletrodo de trabalho. Outra vantagem do método de eletropolimerização é que a morfologia e as propriedades químicas podem ser controladas pela variação do potencial e da corrente aplicados. É um método simples, que não necessita de agentes oxidantes e catalisadores. Além disso, os filmes depositados são facilmente caracterizados por diferentes técnicas tais como microbalança de cristal de quartzo, espectroscópicas como UV-Visível, infravermelho e Raman.

No método químico, um agente oxidante forte é inserido no meio reacional provocando a formação do radical cátion, seguindo a sequência da

reação até a formação do polímero. Em geral, o polímero obtido de uma síntese química é fornecido na forma de pó²⁸. Dentre os métodos apresentados, o método químico é o mais utilizado nas indústrias, devido à obtenção de grandes quantidades do polímero. Porém, após sua obtenção o polímero deve ser purificado, devido apresentar uma possível contaminação por monômeros que não reagiram e ácidos utilizados durante a polimerização²³.

Os ICPs mais conhecidos e utilizados são o politiofeno, polianilina, polipirrol e seus derivados, por apresentarem boas propriedades eletroquímicas, elétricas e ópticas podendo ter diversas aplicações, como sensores e biossensores²⁹⁻³⁰, baterias recarregáveis³¹, diodos emissores de luz³², dispositivos eletrocromáticos, músculos artificiais³³ e outros.

A modificação dos eletrodos com filmes poliméricos, dentre estes os condutores, vem sendo muito utilizado devido, principalmente, à facilidade de se obter filmes estáveis e reproduzíveis sobre a superfície eletródica³⁴. Vários métodos de preparação de superfície sólida quimicamente modificada, suas aplicações e o desenvolvimento destes eletrodos em eletroquímica e eletroanalítica têm sido extensivamente revisados^{24, 27, 35-37}.

1.1.1 Poli(1-aminoantraceno) e poli(1-aminoantraquinona)

O poli(1-aminoantraceno) (PAA) é um ICP formado a partir do monômero 1-aminoantraceno (1-AA). São classificados como aminas aromáticas polinucleares, sua estrutura está representada na FIGURA 1.3-A. Este polímero é pouco explorado nas áreas de eletroanalítica e eletroquímica, sendo encontrados na literatura seis publicações até agora, e destas, três são do nosso Grupo^{18, 38-39}. A maioria dos artigos publicados estão voltados à melhoria de rotas sintéticas, propondo novos mecanismos de síntese⁴⁰⁻⁴². Somente dois deles descrevem à aplicação do PAA como sensor, sendo um relatando o desenvolvimento de um sensor potenciométrico para medidas de pH³⁸, e no

outro o PAA foi utilizado como sensor voltamétrico para determinação de DA em amostras farmacêuticas¹⁸.

O poli(1-aminoantraquinona) (PAAQ) é outro ICP que possui poucos artigos publicados. O que difere este polímero do PAA é a presença do grupamento 1,4-benzoquinona na estrutura do seu monômero, como mostrado na FIGURA 1.3-B. Devido a este grupamento ele é considerado como um material multifuncional, podendo apresentar melhores propriedades quando comparado a outros polímeros condutores convencionais⁴³. Nas áreas de eletroanalítica e eletroquímica somente três artigos foram encontrados, sendo que dois deles relatam a polimerização eletroquímica e química⁴³⁻⁴⁴ do PAAQ; e o terceiro artigo descreve a aplicação de micropartículas de PAAQ para a detecção de chumbo em águas de chuva e de torneira⁴⁵.

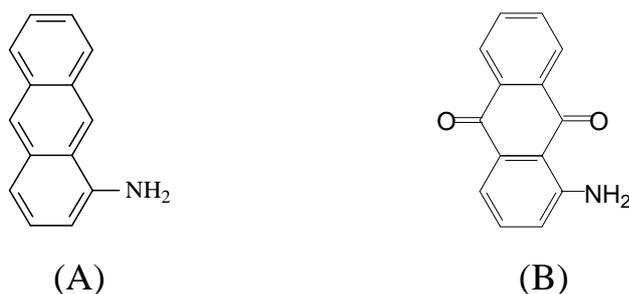
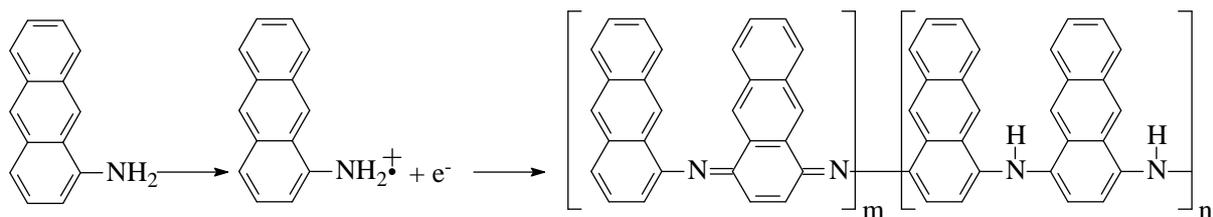


FIGURA 1.3 – Estruturas químicas dos monômeros (A) 1-AA e (B) 1-AAQ.

De acordo com a literatura, os mecanismos de síntese destes dois polímeros ocorrem da mesma maneira (REAÇÃO 1.1), ou seja, de forma preferencial, o radical cátion gerado na oxidação do monômero é completamente consumido em uma rápida reação química. Neste caso, uma provável reação seria a dimerização dos radicais cátions (como acontece com outras aminas), os quais sofrem reação de acoplamento formando os oligômeros^{38, 41}.



REAÇÃO 1.1 – Mecanismo de polimerização do PAA.

1.1.1.1 Aplicações analíticas dos polímeros PAA e PAAQ

FARIA e BULHÕES³⁸ desenvolveram um sensor potenciométrico para a determinação de pH utilizando eletrodos modificados com filmes de PAA. O filme de PAA foi sintetizado eletroquimicamente sobre o eletrodo de platina por voltametria cíclica em um intervalo de potencial entre -0,4 e +0,8 V, com velocidade de varredura de 0,1 V s⁻¹, utilizando uma solução do monômero 1-aminoantraceno com concentrações de 1,0 e 10 mmol L⁻¹ e eletrólitos suporte: perclorato de tetrabutilamônio e perclorato de lítio com concentrações variando entre 0,05 e 0,2 mol L⁻¹, em meio de acetonitrila. Foi analisada a influência de piridina presente na solução de crescimento do filme de PAA, bem como as respostas eletroquímicas obtidas com e sem piridina em solução de acetonitrila contendo o monômero e o eletrólito suporte. Os autores observaram que a presença de piridina no meio promove um aumento na taxa de crescimento do filme por atuar como um acceptor de prótons, apresentando correntes no processo de oxidação duas vezes maiores do que aquelas obtidas no crescimento do filme sem piridina. O melhor resultado para as medidas de pH foi obtido com o eletrodo preparado por voltametria cíclica em solução de acetonitrila contendo 10 mmol L⁻¹ de 1-AA e 0,1 mol L⁻¹ de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA). Este polímero foi obtido no seu estado oxidado e não apresentou interferência aos íons Na⁺, K⁺ e Li⁺, apresentando linearidade de pH na faixa de 0,5 a 13. O eletrodo mostrou-se estável por dois meses, e após este período apresentou uma deterioração na resposta do pH, mas que foi restabelecida após se manter o

eletrodo em solução alcalina. De acordo com os autores, estes eletrodos podem ser facilmente preparados para serem utilizados na determinação de pH em várias aplicações, uma delas biológicas, na qual o uso do eletrodo de membrana de vidro é limitado devido à dificuldade de miniaturização e interferências em meios fortemente alcalinos ou que contenha íons fluoreto.

LI⁴⁵ *et al.* desenvolveram um eletrodo íon seletivo de membrana de cloreto de polivinila utilizando micropartículas de PAAQ como um ionóforo de Pb²⁺. As partículas finas de PAAQ em membrana de PVC apresentaram forte afinidade para os íons Pb²⁺. O Eletrodo de membrana, composta por PAAQ (sal): cloreto de polivinil: dioctilftalato: tetrafenilborato de sódio nas proporções de 1:33:66:1 (% em massa), apresentou o melhor desempenho analítico exibindo uma ampla faixa de concentração de Pb²⁺ no intervalo entre $2,5 \times 10^{-6}$ e 0,1 mol L⁻¹ e um limite de detecção de 776 nmol L⁻¹. A análise de interferentes foi realizada, indicando que o eletrodo proposto apresenta uma excelente seletividade para Pb²⁺ sobre íons de metais pesados, alcalinos e alcalinos terrosos. De acordo com os autores, o eletrodo desenvolvido apresentou um bom desempenho e longa vida útil, bem como baixo custo, podendo ter uma aplicação promissora na determinação de íons Pb²⁺ em águas ambientais como águas de chuva e torneira.

1.2 Nanotubos de carbono

O átomo de carbono pode assumir diferentes formas de hibridização, o que possibilita fazer distintas ligações químicas, podendo até se combinar com ele mesmo para formar diferentes compostos contendo cadeias e anéis apenas de átomos de carbono. Devido à maneira pela qual estes átomos estão organizados no espaço e ligados uns aos outros eles podem originar diferentes materiais com propriedades bem distintas, tais como o diamante,

grafite, fulereno e nanotubos de carbono⁴⁶⁻⁴⁷. Na FIGURA 1.4 estão ilustradas as estruturas destas quatro formas alotrópicas do carbono.

No diamante, cada átomo de carbono está ligado covalentemente a quatro outros, situados nos vértices de um tetraedro. No grafite, os átomos de carbono estão arranjados em camadas e cada carbono se liga a três vizinhos, com os quais formam ligações simples ou duplas, resultando num desenho semelhante a uma colmeia de hexágonos. Sendo que as camadas são mantidas juntas por forças fracas de *van der Waals*. Os fulerenos são constituídos de ligações de átomos de carbono organizadas em superfícies curvas formadas por hexágonos interligados por pentágonos, lembrando uma bola de futebol. Os nanotubos são formados por grafenos, ou seja, por uma rede hexagonal planar de átomos de carbono contendo apenas a espessura de um átomo. Como no grafite, os CNTs também resultam da organização dos átomos de carbonos em folhas, porém cada folha se enrola formando um cilindro⁴⁶⁻⁴⁷.

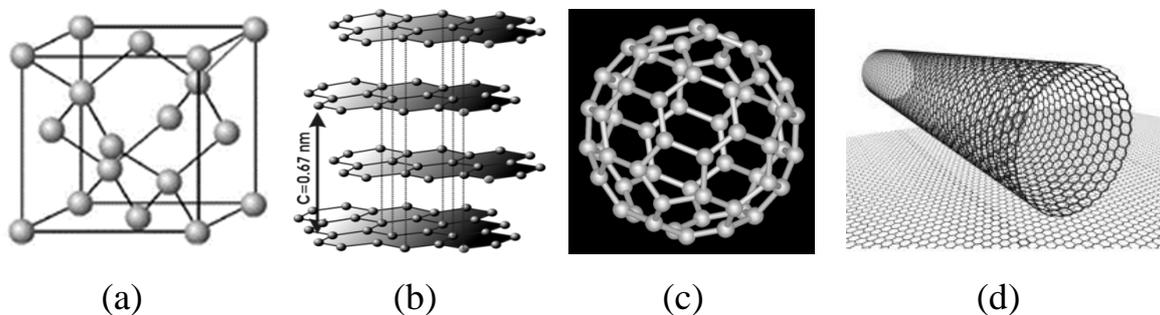


FIGURA 1.4 – Estruturas alotrópicas do carbono: (a) diamante, (b) grafite, (c) fulereno e (d) nanotubo de carbono.

Os nanotubos de carbono, desde seu relato em 1991 por Iijima⁴⁸, têm se mostrado como um interessante composto no desenvolvimento de uma nova geração de materiais, principalmente, na área da nanotecnologia, devido a suas importantes propriedades mecânicas, elétricas, magnéticas e térmicas⁴⁹⁻⁵⁰. Tais propriedades estão diretamente relacionadas à combinação de sua estrutura,

dimensão e morfologia, as quais podem direcionar, dentre outras características, o comportamento metálico ou semicondutor de um CNT.

De acordo com HAMADA e col.⁵¹, dependendo da maneira como a folha de grafeno é enrolada para produzir um nanotubo de carbono de parede simples, obtém-se nanotubos de diferentes helicidades, com distintas simetrias, as quais estão relacionadas ao ângulo e vetor quiral (FIGURA 1.5-A). Assim, em nanotubos com estruturas do tipo *zig-zag* – as ligações químicas entre os átomos formam uma linha sinuosa ao longo da circunferência do tubo, apresentando ligações C–C paralelas ao eixo do tubo, conforme ilustrado na FIGURA 1.5-B(a); nas estruturas tipo *armchair* (FIGURA 1.5-B(b)) – as ligações formam uma linha que lembra o formato de uma poltrona, ou seja, apresentam duas ligações C–C em lados opostos de cada hexágono perpendiculares ao eixo do tubo; e nanotubos tipo *chiral* (FIGURA 1.5-B(c)) – apresentam conformações intermediárias entre as outras duas estruturas. Ainda, de acordo com Hamada e cols., dependendo destas diferenças na maneira como os CNTs são espiralados, eles podem ou não conduzir eletricidade. Neste contexto, nanotubos *armchair* se comportariam como metais, ou seja, conduziriam eletricidade. Nanotubos do tipo *zig-zag* e *chiral* podem ser condutores ou semicondutores dependendo dos valores do índice de Hamada (n,m) relacionados ao ângulo e vetor quiral⁵¹ (FIGURA 1.5-A).

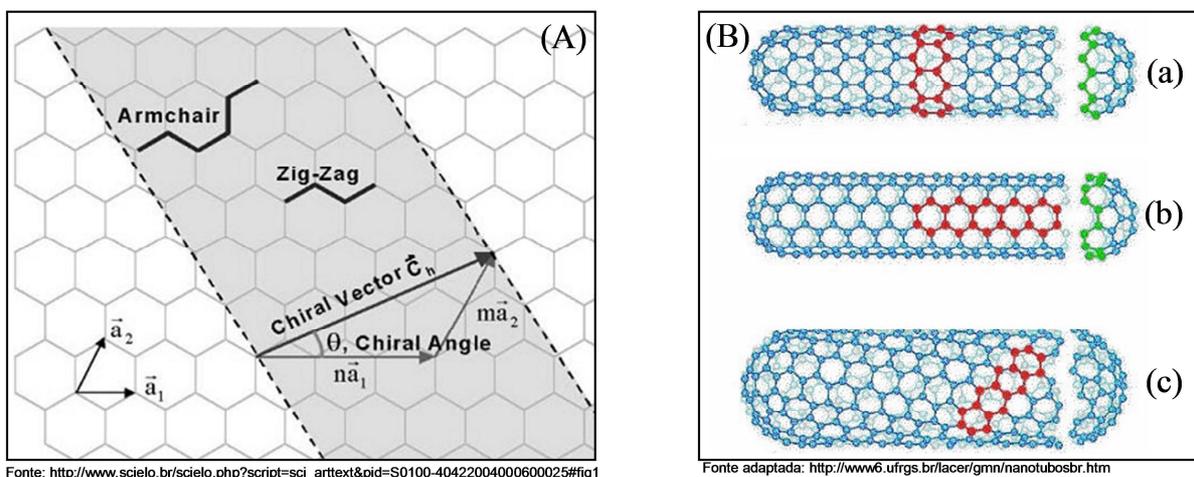
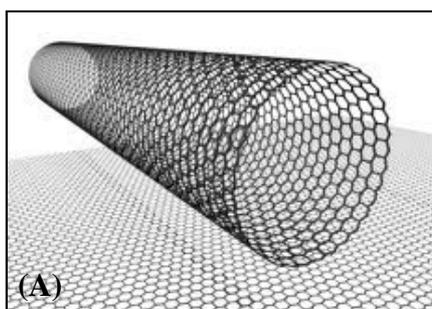
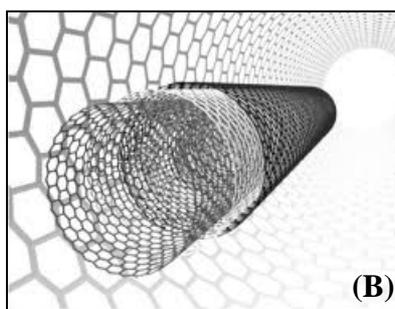


FIGURA 1.5 – (A) Diagrama de formação de CNT a partir de uma folha de grafeno. (B) Estruturas de CNTs obtidas em diferentes geometrias: (a) *zig-zag*, (b) *armchair* e (c) *chiral*⁵¹.

Os métodos de sínteses mais utilizados na obtenção dos CNTs são descarga por arco, ablação por laser e deposição química de vapor (CVD)⁵². Dependendo das condições de síntese, os nanotubos podem ser obtidos com diferentes estruturas, sendo classificados como nanotubos de paredes única ou simples (*SWCNT – single-wall carbon nanotube*), cuja estrutura é constituída por uma única camada de folha de grafeno cilíndrica; e os nanotubos de paredes múltiplas (*MWCNT – multi-walls carbon nanotube*), constituídos de vários cilindros concêntricos de grafenos⁵³⁻⁵⁴, conforme mostrados na FIGURA 1.6. Outras estruturas também podem ser obtidas, entretanto, estas apresentadas são as principais produzidas na maioria dos métodos de síntese.



Fonte: <http://www.scielo.br/img/revistas/qn/v32n7/33f04.gif>



Fonte: <http://www.scielo.br/img/revistas/qn/v32n7/33f05.gif>

FIGURA 1.6 – Estruturas dos nanotubos de carbono de (A) parede simples e (B) paredes múltiplas.

As propriedades elétricas, magnéticas, térmicas e mecânicas fazem dos CNTs materiais atraentes para muitas aplicações como: dispositivos eletrônicos, pontas para microscópio de sonda, membranas para filtração molecular, sensores/biossensores, capacitores de alta potência, células combustível, etc. Existe uma vasta literatura relatando sobre as propriedades e aplicações dos CNTs^{50, 55}. Um aumento considerável no número de aplicações pode ser obtido utilizando nanotubos tratados quimicamente (também chamados de funcionalizados), que consiste na adição de moléculas específicas na superfície dos nanotubos, as quais podem se ligar ou adsorver nas paredes do nanotubo, de modo que elas possam executar alguma função química⁵⁵⁻⁵⁶.

Diferentes formas de tratamento químico destes nanotubos, dentre elas por interações não-covalentes e covalentes, são propostas na literatura⁵⁶. O tratamento químico dos CNTs resulta em propriedades eletrônicas e mecânicas diferentes quando comparados com os nanotubos não tratados quimicamente, elucidando o enorme potencial de aplicação destes materiais.

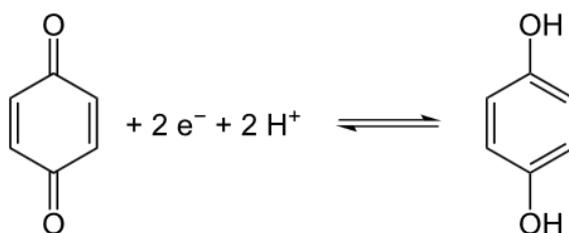
Os nanotubos de carbono possuem muitas aplicações e, dentre elas, está o desenvolvimento de eletrodos modificados utilizados tanto como sensores quanto biossensores^{55, 57-58}. O desenvolvimento de filmes nanocompósitos utilizando nanotubos de carbono e polímeros condutores são de grande interesse devido à possibilidade de obtenção de novos materiais com melhores propriedades para a utilização em sistemas sensores.

Trabalhos utilizando eletrodos nanocompósitos à base de CNTs e CPs como sensores ou biossensores têm sido publicados recentemente e observa-se que a utilização de CNTs tem levado ao desenvolvimento de sistemas sensores com excelente desempenho quando comparados com eletrodos modificados somente com os nanotubos ou somente com os polímeros condutores^{10, 57, 59-63}. Neste sentido, diferentes estratégias são utilizadas no preparo dos nanocompósitos sendo uma das mais utilizadas a eletrodeposição do polímero em meio contendo o CNT disperso. Li *et al.*¹⁰ desenvolveram um eletrodo nanocompósito com PPY e CNTs por meio da eletrodeposição direta de PPY em solução contendo os nanotubos dispersos. Após a síntese, o PPY foi superoxidado e o sistema apresentou respostas para DA, AA e AU em diferentes potenciais e, portanto sem interferência. No entanto, mesmo com a utilização dos CNTs o PPY necessitou ser superoxidado para apresentar resposta para a DA de forma semelhante ao eletrodo de PPY sem CNTs⁶⁴.

1.3 Analitos estudados

1.3.1 Hidroquinona

A hidroquinona é um composto fenólico, que apresenta em sua estrutura química dois grupos hidroxila ligados a um anel benzênico na posição *para*. É solúvel em água e frequentemente encontrado juntamente com seu isômero em amostras ambientais, além disso, encontra-se naturalmente em produtos de origem vegetal, incluindo legumes, grãos, café, frutas, vinhos, etc. O equilíbrio de oxidação/redução da HQ é bem estabelecido na literatura (REAÇÃO 1.2), na qual a hidroquinona é oxidada à quinona (Q) e a redução da quinona reverte esta reação formando hidroquinona novamente⁶⁵.



REAÇÃO 1.2 – Mecanismo de redução da quinona.

Este composto é utilizado em grande quantidade como agente redutor e antioxidante em vários processos industriais e como um princípio ativo para clarear a pele⁶⁶, devido inibir a ação da tirosinase, que converte a tirosina em melanina. A HQ como ação clareadora de pele é muito recomendada pelos dermatologistas por possuir elevada eficiência no tratamento das manchas de pele. No entanto, recomendam-se cuidados, pois ela também pode causar coceira, dermatites e mudança da coloração da pele, se utilizada em tratamentos prolongados em altas concentrações⁶⁷.

Na literatura são relatados diferentes métodos para a determinação de HQ em produtos farmacêuticos, reveladores fotográficos e amostras de águas, por exemplo, eletroforese capilar⁶⁸, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)⁶⁹ e voltametria de pulso diferencial⁷⁰. Entretanto, poucos estudos envolvendo a determinação de HQ em produtos cosméticos terapêuticos ou também conhecidos como cosmecêuticos (expressão utilizada pela indústria cosmética para se referir a produtos cosméticos que possuem propriedades medicinais ou benefícios como medicamento) tem sido desenvolvidos.

1.3.2 Catecolaminas

Catecolaminas é o nome dado à classe de aminas aromáticas que atuam como neurotransmissores e hormônios. São sintetizadas na glândula adrenal, no cérebro e em algumas fibras nervosas simpáticas, sendo derivadas a partir do aminoácido tirosina com a participação de cinco enzimas fundamentais (tirosina hidroxilase, pteridina redutase, dopa descarboxilase, dopamina beta hidroxilase e feniletalonamina *N*-metil transferase)⁷¹⁻⁷². As principais catecolaminas são a dopamina, norepinefrina (ou noradrenalina) e epinefrina (EP) (ou adrenalina)⁷³. Elas também são classificadas como aminas biogênicas, pois são produzidas por ação de organismos vivos além de serem essenciais à vida e sua manutenção. A epinefrina é a única considerada como neurotransmissor e hormônio, pois é segregada pelas glândulas adrenais⁷².

Neurotransmissores⁷⁴ são substâncias químicas produzidas pelos neurônios (células nervosas), por meio das quais elas podem enviar informações a outras células. Podem também estimular a continuidade de um impulso ou efetuar a reação final no órgão ou músculo alvo. Os neurotransmissores agem nas sinapses (onde ocorrem descargas elétricas), que são o ponto de junção do neurônio com outra célula. Estas substâncias atuam no encéfalo, na medula espinhal e nervos periféricos e na junção neuromuscular ou placa motora.

Hormônios⁷⁵ são substâncias químicas segregadas pelo sistema endócrino, que são produzidos em um órgão ou em determinadas células do mesmo e são liberados e transportados diretamente pelo sangue ou por outros fluidos corporais, tendo como função exercer efeitos específicos como uma ação homeostática ou reguladora em outros órgãos ou regiões do corpo. Os hormônios regulam o crescimento, o desenvolvimento, controlam as funções de muitos tecidos, auxiliam as funções reprodutivas, e regulam o metabolismo.

As catecolaminas desempenham várias funções importantes no organismo humano agindo no sistema nervoso periférico, no sistema nervoso central e no sistema cardiovascular, incluindo a regulação das funções cerebrais de memória, humor, movimento, comportamento e as funções autônomas, como regulação da pressão arterial⁷⁶⁻⁷⁸. Níveis anormais das catecolaminas no corpo humano podem estar relacionados a diversas patologias como Mal de Parkinson, esquizofrenia, feocromocitoma, neuroblastoma, déficit de atenção e hiperatividade, nervosismo e ansiedade graves, doenças cardíacas, etc^{72, 77-82}, as quais podem ser diagnosticadas por meio de medidas destes neurotransmissores nos fluidos corporais: cerebrospinal (ou líquido ou fluido cefalorraquidiano), plasma e urina. Entretanto, as medidas dos níveis das catecolaminas nos dois primeiros fluidos apresentam alguns inconvenientes, tais como, a coleta da amostra é altamente invasiva, além de que pode criar um estado de estresse no paciente de forma a influenciar nos níveis das catecolaminas devido à liberação de EP e NE, prejudicando, assim, os resultados dos exames^{74, 83}.

Desta forma, a análise das catecolaminas na urina está cada vez mais sendo utilizada para diagnosticar algumas doenças e alterações psicológicas. Na área de análises clínicas, é muito comum a determinação de catecolaminas livres na urina (*UFCA – Urinary Free Cathecholamines*)^{72, 81, 84}, as quais são realizadas por meio das técnicas de HPLC e espectrofotofluorometria. Nestas análises, prefere-se uma amostra de urina coletada ao longo de 24 horas, pois a secreção das catecolaminas varia durante o

dia em resposta a condições tais como calor, frio, dor, estresse emocional, exercício e etc. De acordo com a literatura⁷², as concentrações das catecolaminas urinárias encontradas em adultos saudáveis podem variar entre 15 – 80 para NE, < 20 para EP e entre 65 – 400 µg/24 h para DA.

1.3.2.1 Dopamina

A dopamina é sintetizada no cérebro por meio da ativação da enzima tirosina hidroxilase, a qual converte o aminoácido tirosina em L-dopa, que por sua vez é descarboxilado para formar a DA⁷². Sua estrutura química está apresentada na FIGURA 1.7. Há muitos anos a DA vem sendo estudada devido ao seu importante papel relacionado às doenças neurodegenerativas e comportamentais, como exemplo, o Mal de Parkinson e a esquizofrenia^{78, 80, 82, 85}. Os neurônios dopaminérgicos juntamente com outros neurotransmissores estão envolvidos em diferentes funções: cognitivas, regulação dos movimentos, funções vitais como respiratória e cardiovascular, comportamento emocional, memória, etc⁷⁸.

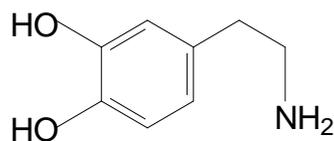


FIGURA 1.7 – Estrutura química da dopamina.

A DA também é comumente empregada em unidades de emergência hospitalar, em situações de gravidade que colocam em risco a vida do paciente, no intuito de recuperar e manter algumas funções que podem estar alteradas. Entre elas podemos citar a regulação da pressão arterial, a melhora da função cardíaca, aumentar a quantidade de urina produzida, entre outras⁷¹. Este medicamento é administrado diluído em soro e aplicado por via intravenosa⁸⁶.

1.3.2.2 Norepinefrina

A norepinefrina é um neurotransmissor, também pertencente à classe das catecolaminas, sintetizada nas fibras nervosas simpáticas tendo como precursora a DA⁷². Juntamente com a serotonina, DA e EP, a NE contribui no estado de humor, ansiedade e sono nos seres humanos^{74, 87}. Sua estrutura química está mostrada na FIGURA 1.8.

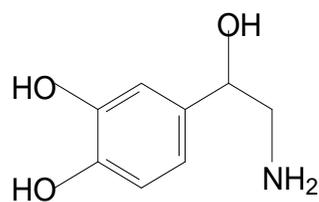
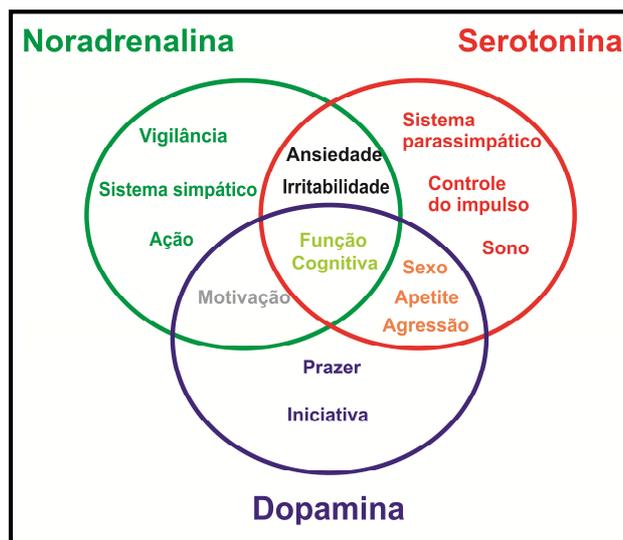


FIGURA 1.8 – Estrutura química da norepinefrina.

A interatividade da NE com a DA e a serotonina estão ilustradas na FIGURA 1.9, na qual são apresentadas as diversas funções que elas exercem. Especificamente, a NE tem uma variedade de funções, mas se destaca por ser responsável pela resposta de defesa do organismo, pode-se dizer que é um neurotransmissor ligado ao sistema de alerta. Além disso, a NE controla os batimentos cardíacos e a pressão arterial, prepara o músculo para agir rapidamente e aumenta a sua contração, e também está associada à depressão^{74, 77, 87}.

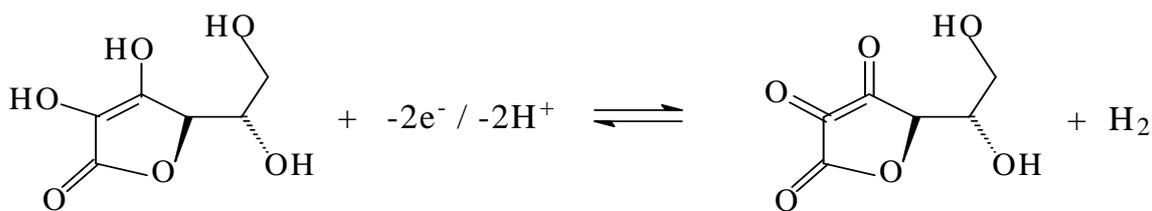


Fonte: <http://www.santalucia.com.br/neurologia/depressao/depressao3-a.jpg>

FIGURA 1.9 – Interatividade entre NE, DA e serotonina.

Em virtude de muitas doenças e até mesmo a dependência química⁸⁸, alcoolismo⁸⁹ e o tabagismo⁹⁰, estarem relacionadas com anormalidades no nível de catecolaminas no cérebro, consideráveis esforços são observados nos estudos destas patologias e comportamentos, e no desenvolvimento de métodos para a determinação das catecolaminas em amostras biológicas que apresentem rapidez, aliada a boa sensibilidade e seletividade. Vários métodos eletroquímicos para a detecção das catecolaminas têm sido propostos na literatura, porém o maior problema encontrado está relacionado com a interferência do AA e do AU, os quais coexistem em grande quantidade com as catecolaminas nos fluidos biológicos⁹¹. Dependendo do eletrodo utilizado, pode-se obter uma sobreposição dos perfis voltamétricos dos processos de oxidação das catecolaminas, AA e AU, contidos no fluido biológico, inviabilizando a determinação.

Os processos de oxidação das catecolaminas, em eletrodos convencionais, são bem conhecidos na literatura⁹², sendo que a DA, NE e EP apresentam comportamentos eletroquímicos semelhantes. Na REAÇÃO 1.3 está representado o mecanismo de oxidação eletroquímica da DA. Esta molécula apresenta um comportamento reversível, a qual se oxida formando a



REAÇÃO 1.4 – Mecanismo de oxidação do ácido ascórbico.

O AA é encontrado em frutas e vegetais e, em quantidades insignificantes no leite. Entre as frutas que possuem maior concentração de AA estão a acerola, o pimentão verde, tomate, frutas cítricas (limão e laranja), goiaba e morangos. Nos vegetais, existe uma concentração menor de AA, entre eles se destacam o agrião, salsa, brócolis, couve-flor, broto de feijão e grãos⁹⁴⁻⁹⁶.

O consumo de AA é muito importante, uma vez que o homem não é capaz de produzi-lo devido a uma mutação no gene que produz uma enzima necessária para a síntese de ascorbato⁹⁷. Portanto, os seres humanos devem adquirir vitamina C a partir da ingestão dos alimentos⁹⁴.

Esta vitamina é considerada um dos mais importantes antioxidantes do meio extracelular, e por ser antioxidante, também é utilizado nas indústrias de alimentos como conservante. No organismo humano, o AA é necessário para a produção e conservação do colágeno, substância que dá estrutura aos músculos, tecidos vasculares, ossos e cartilagens. Contribui para a saúde dos dentes e gengivas e auxilia na absorção do ferro⁹⁴. Na deficiência de AA pode ocorrer o desenvolvimento do escorbuto, doença comum conhecida desde início das navegações^{95, 98}. Entre outras funções importantes do AA no organismo, está o eficiente funcionamento do sistema imunológico que acontece, em parte, graças à presença do AA.

A absorção do AA a partir da dieta é quase completa no organismo humano, sendo rapidamente absorvido pelo intestino⁹⁴. Sua distribuição ocorre igualmente pelas células do organismo, podendo ser encontrado tanto no plasma como nos tecidos. Quando há uma ingestão adequada de AA, a concentração

plasmática deve estar em torno de $3,0 - 6,0 \text{ mmol L}^{-1}$, em pessoas saudáveis⁹⁴. A excreção do AA é basicamente realizada pelo sistema renal, sendo que quantidades ingeridas além das necessidades corporais são excretadas. Quando a ingestão diária é de 1 g de AA, a taxa de excreção urinária é de 400 mg/24 h. Em casos de abstinência, a taxa de excreção diminui para 75 mg/24 h de urina⁹⁷.

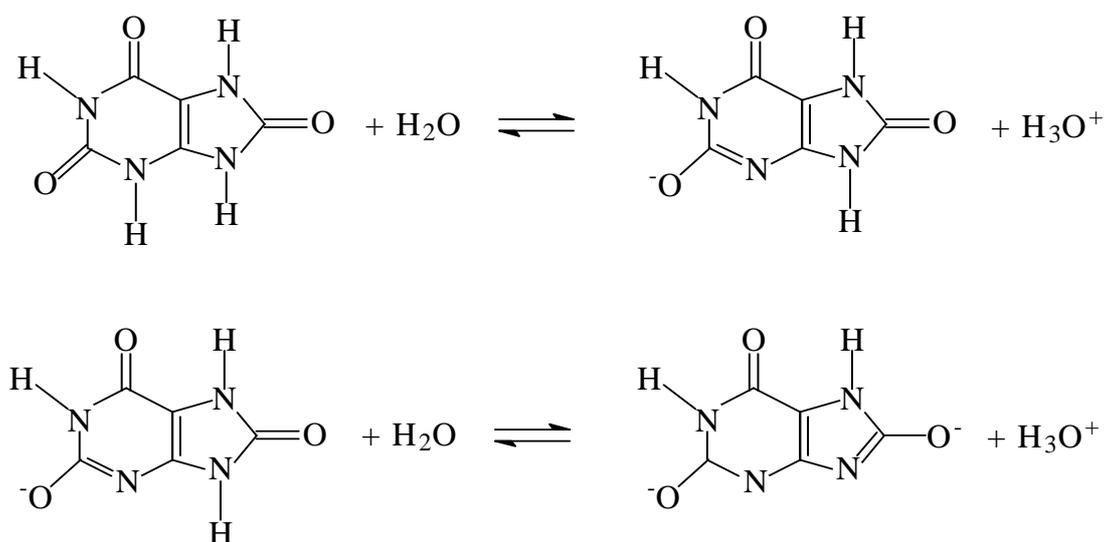
O mecanismo de oxidação do AA está bem estabelecido na literatura e tem sido estudado em diferentes superfícies eletródicas⁹⁹⁻¹⁰⁰. De acordo com o mecanismo proposto na literatura¹⁰¹, o AA sofre oxidação pela transferência de dois elétrons em duas etapas, perdendo um elétron em cada uma delas. Na etapa intermediária, o processo envolve a participação de um ânion radical L-ascorbato (ácido monodeidroascórbico), que sofre reação de hidratação para formar um produto eletroinativo.

1.3.2.3.2 Ácido úrico

O ácido úrico é um ácido fraco pouco solúvel em água (6 mg/100 mL). Ele é o resultado do metabolismo do nitrogênio dentro do corpo humano, sendo o principal produto da reação das purinas (adenina e guanina). Também pode ser encontrado em alguns alimentos, como carnes, crustáceos, cereais, amendoim, alimentos em conserva, etc, contribuindo para o aumento do AU no organismo humano devido à ingestão destes alimentos. Sua fórmula estrutural, bem como o mecanismo de oxidação, estão representados na REAÇÃO 1.5. O excesso de AU no organismo humano pode causar doenças como gota, nefrolitíase, síndrome de Lesch-Nyhan¹⁰²⁻¹⁰³, as quais podem ser diagnosticadas devido às elevadas concentrações de AU na urina (hiperuricosuria) e no sangue (hiperuricemia)¹⁰³.

Este composto é quase totalmente eliminado pela urina, em quantidades diárias que variam entre $1,5 - 4,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em pessoas saudáveis¹⁰⁴⁻¹⁰⁵. A quantificação de AU em amostras de urina e sangue apresenta

importância clínica significativa, uma vez que pode auxiliar no diagnóstico de disfunções no organismo. Os procedimentos mais comumente empregados para a determinação de AU em amostras biológicas são eletroforese capilar, cromatográficos, voltamétricos¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.



REAÇÃO 1.5 – Mecanismo de oxidação do ácido úrico.

1.4 Revisão bibliográfica sobre aplicações de eletrodos modificados para determinação de HQ, NE, DA, AA e AU

Devido às inúmeras razões descritas anteriormente em relação aos analitos apresentados, é de grande importância a determinação destas espécies, e conseqüentemente, diferentes estudos têm sido realizados empregando várias técnicas para detecção e quantificação de DA, AA, AU, NE e HQ em diversas amostras. Neste contexto, para termos uma idéia do que foi e está sendo feito na área de sensores eletroquímicos para a determinação destes compostos, a seguir serão descritos alguns trabalhos que foram publicados envolvendo a aplicação de eletrodos modificados com CPs e CNTs, assim como serão apresentados

trabalhos envolvendo eletrodos modificados com diferentes compostos eletroativos para a determinação de DA, AA, AU, NE e HQ.

1.4.1 Determinação de HQ

Diferentes métodos para a determinação de HQ em distintas amostras são encontrados na literatura utilizando técnicas como HPLC¹⁰⁹, eletroforese capilar⁶⁸ e técnicas voltamétricas^{70, 110-111}. No entanto, aqui serão enfatizados somente os métodos voltamétricos propostos.

Recentemente foi relatado o desenvolvimento de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com nanocompósito contendo grafeno e hexafluorofosfato 1-butil-3-metilimidazólio (BMIMPF₆) por LIU e cols.⁷⁰ para a determinação simultânea de HQ e catecol em solução tampão acetato pH 5,0. Tanto a HQ como o catecol apresentaram, neste eletrodo, comportamento redox quase-reversíveis com picos bem definidos. Além disso, maiores correntes de picos foram obtidas quando comparadas àquela obtida com o eletrodo de GC sem modificação, que foi relacionada à maior área superficial do grafeno e à elevada condutividade iônica do BMIMPF₆. Utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV), uma curva analítica foi obtida para HQ com intervalos lineares de concentração entre 0,5 – 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e limites de detecção de 0,01 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método foi aplicado na determinação simultânea de HQ e catecol em amostra de água de torneira, apresentando recuperações de HQ entre 98,8 e 103%.

BAI e colaboradores¹¹¹ modificaram a superfície de um eletrodo de carbono vítreo com nanocompósito contendo hidróxido Zn-Al (LDH) e poliácido acrílico-MWCNT por meio de interação eletrostática interfacial entre as camadas carregadas positivamente dos nanocristais LDH e os grupos funcionais carregados negativamente na superfície dos MWCNT tratados quimicamente. O sensor foi aplicado na determinação simultânea de catecol e HQ, obtendo uma

boa diferença de potencial de pico de oxidação entre os analitos, permitindo a determinação eletroquímica dos isômeros dihidroxibenzeno com boa sensibilidade. Após otimização, a curva analítica para HQ foi construída, na presença de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de catecol, por meio da técnica de DPV, obtendo um intervalo de concentração linear para HQ entre $20 - 200 \mu\text{mol L}^{-1}$, e limite de detecção de $0,54 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os autores não aplicaram este procedimento para a quantificação dos analitos em amostras.

AHAMMAD *et al.*¹¹² desenvolveram um método para a determinação de HQ e catecol utilizando um GCE modificado com o polímero condutor politionina. Este eletrodo modificado apresentou boas propriedades eletrocatalíticas para a oxidação de ambos os compostos em meio de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato, pH 7,0. A separação dos picos (ΔE_p) redox ciclovoltamétricos da HQ passaram de 262 mV, obtido com eletrodo GC, para 63 mV obtido com o eletrodo modificado com o polímero. Além disso, a separação do potencial de pico foi grande o suficiente para poder determinar HQ e catecol, simultaneamente, por DPV ou CV. Assim, sob condições otimizadas o dispositivo apresentou, faixa linear de concentração e limite de detecção de $1 - 120 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 30 nmol L^{-1} , respectivamente, utilizando a técnica de DPV. O método proposto foi aplicado na quantificação dos compostos em amostras de água de torneira.

São poucos, relativamente, os métodos propostos na literatura para a determinação de HQ utilizando técnicas eletroanalíticas. Dentre elas, a maioria está voltada na determinação deste composto em amostras de águas e reveladores fotográficos. A quantificação de HQ em cosméticos terapêuticos, geralmente, é realizada por métodos cromatográficos, os quais às vezes apresentam algumas desvantagens por ser um método mais lento, que requer etapas de extração ou pré-concentração das amostras, além do maior volume de reagentes que são necessários. Um número pequeno de trabalho foi relatado para

análise de HQ em cosméticos terapêuticos utilizando métodos eletroanalíticos¹¹⁰,
113-114

OLIVEIRA *et al.*¹¹⁵ desenvolveram um método para determinar HQ em cosméticos utilizando um sensor biomimético e voltametria de onda quadrada (SWV). O sensor foi construído utilizando pó de grafite, óleo mineral e um complexo de Cu(II) $[\text{Cu}_2(\text{HL})(\text{OAc})](\text{ClO}_4)_2$ contendo um ligante, *N,N',N'*-[Tris-(2-piridilmetil)]-*N*-(2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil)-1,3-propanodiamina-2-ol, como um catalisador biomimético da catecol oxidase. Sob condições otimizadas, a HQ foi obtida em potencial próximo a $-0,2 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ e a curva analítica foi obtida em meio de solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato (pH 7,5), com concentrações de HQ que variaram entre $0,60 - 25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0,9995$). O limite de detecção¹¹⁶ obtido foi igual a $0,30 \mu\text{mol L}^{-1}$. O procedimento proposto foi aplicado na determinação de HQ em cosméticos, em duas amostras comerciais, obtendo valores de recuperação de HQ entre 94,2 – 103% e comparando o método proposto com o método oficial, foi obtido erro relativo de +0,52% e +0,31% para as diferentes amostras. De acordo com os autores, este biossensor apresentou um tempo de vida de aproximadamente 7 meses, com pelo menos 750 determinações.

SILVA e FARIA¹¹⁴ desenvolveram um sensor para a determinação de HQ em cosméticos, modificando um eletrodo de platina com filme de poli(1,5-diaminonaftaleno). Sob condições otimizadas, o sistema de detecção apresentou potencial de oxidação próximo a $+0,34 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ por meio de medidas de DPV. A faixa linear de concentração de HQ foi obtida entre $0,74 - 6,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0,999$) em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ fosfato (pH 5,0). O limite de detecção obtido foi de $2,41 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Estudos de adição e recuperação de HQ foram realizados em duas amostras comerciais de cosméticos terapêuticos, nos quais foram obtidas recuperações médias iguais a 97,4% e 101% para as amostras industrializadas e manipuladas, respectivamente. O método proposto

foi comparado ao método espectrofotométrico, obtendo-se erros relativos de +4,17% para amostra industrializada e -4,95% para amostra manipulada.

1.4.2 Determinação de NE

Os métodos analíticos utilizados para a determinação de NE são baseados em técnicas cromatográficas, fluorimétricas, espectrofotométricas e voltamétricas, sendo que todas elas possuem suas vantagens e desvantagens^{72, 117-120}. Entre os métodos eletroquímicos o grande objetivo é desenvolver sensores, para a detecção de NE e/ou catecolaminas em amostras biológicas, capazes de possuir uma superfície catalítica o suficiente para separar os picos de oxidação da NE e dos interferentes ácido ascórbico e ácido úrico, além de diminuir os limites de detecção.

MAZLOUM-ARDAKANI *et al.*¹²¹ desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com 3,4-dihidroxibenzaldeído-2,4-dinitrofenilidrazona (DDP) e nanotubos de carbono para a determinação de NE, paracetamol e triptofano. O comportamento voltamétrico dos compostos foi analisado utilizando as técnicas de CV e DPV. Este eletrodo exibiu excelente propriedade eletrocatalítica para a oxidação da NE, em solução aquosa pH 7,0, apresentando um potencial de pico cerca de 215 mV menos positivo do que no eletrodo não modificado. Utilizando a técnica de DPV, a curva analítica contendo somente NE foi obtida em dois intervalos lineares entre 0,10 – 38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 38 – 800 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O limite de detecção encontrado para NE foi igual a 77 nmol L^{-1} . O método proposto foi aplicado na determinação de NE em ampolas farmacêuticas, obtendo resultados satisfatórios.

Em nosso laboratório, um método eletroquímico para a determinação de NE também foi desenvolvido com base em um eletrodo de filme de poli(1,5-diaminonaftaleno) pré-tratado catodicamente¹²⁰. O filme foi eletropolimerizado sobre um eletrodo de platina por CV de maneira fácil e

rápida. O pré-tratamento catódico do eletrodo consistiu na aplicação de um potencial de $-0,7$ V por 3 s (vs. Ag/AgCl) antes de cada medida voltamétrica, o qual fez aumentar a resposta de corrente do pico de oxidação da NE e não apresentou interferência do AA. Por meio da técnica de DPV e, em condições otimizadas, o eletrodo de poli(1,5-diaminonaftaleno) apresentou resposta linear para a NE no intervalo de concentração entre $9,90 - 90,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção¹¹⁶ de $1,82 \mu\text{mol L}^{-1}$. O método proposto foi aplicado com sucesso na determinação de NE em formulações farmacêuticas.

Recentemente, KALIMUTHU e JHON¹²² relataram o desenvolvimento de um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de 2-amino-1,3,4-tiadiazol (p-ATD) para a determinação seletiva de NE, na presença dos interferentes AA e AU, em uma solução fosfato (pH 5,0). Este novo eletrodo resolveu a sobreposição dos picos voltamétricos de AA, NE e AU em três picos distintos bem definidos com diferenças de potenciais de 150 e 130 mV entre AA-NE e NE-AU, respectivamente; apresentando uma excelente seletividade para a NE, mesmo na presença de uma concentração 100 vezes maior de AA e AU. A curva analítica foi obtida por meio da técnica cronoamperométrica em um intervalo linear de concentração de NE entre 40 nmol L^{-1} e $25 \mu\text{mol L}^{-1}$, com coeficiente de correlação de 0,9989 e o limite de detecção estimado foi de $0,17 \text{ nmol L}^{-1}$. O método desenvolvido foi utilizado para determinar NE em amostras de injeção de cloridrato de NE.

Um eletrodo de carbono impresso modificado com ácido poliacrílico e MWCNTs foi construído e utilizado para a determinação simultânea de NE, AU e AA¹²³. O comportamento eletroquímico destes compostos foram analisados por CV e DPV frente ao eletrodo modificado, nos quais foram observados boas separações de potenciais de pico de oxidação da NE, AU e AA em uma mistura ternária. De acordo com os autores, a presença do ácido poliacrílico inibiu a adsorção do AA, devido à repulsão eletrostática. Após otimização, construiu-se curvas analíticas, por meio de DPV, para cada

composto em uma mistura ternária mantendo-se constantes as concentrações das outras duas espécies. Foi verificada uma dependência linear da corrente de pico com a concentração dos analitos nos intervalos entre 0 – 10, 0 – 30 e 100 – 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtendo limites de detecção iguais a 49,8, 0,13 e 0,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AA, NE e AU, respectivamente. Neste trabalho os autores relatam a possibilidade de aplicação do eletrodo em amostras de urina e sangue, entretanto na prática não foram realizadas.

1.4.3 Determinação de DA, AA e AU

Devido à importância da dopamina no diagnóstico de patologias, distúrbios comportamentais e outras funções no organismo humano, o comportamento voltamétrico da DA tem sido estudado extensivamente utilizando vários tipos de sensores, incluindo eletrodos sólidos modificados ou não, como pode ser exemplificado com alguns trabalhos listados na TABELA 1.1. Ademais, a DA muitas vezes é utilizada no desenvolvimento dos sensores como um analito de referência, uma vez que os seus processos de oxidação e redução são bem estabelecidos na literatura. Com isso, um número, que cresce exponencialmente, de trabalhos é publicado rotineiramente, tendo como foco a obtenção de sistemas que apresentem elevada sensibilidade, seletividade, rapidez no tempo de resposta e de análise, baixo custo, menor descarte de resíduos, etc.

TABELA 1.1 – Comparação de alguns eletrodos modificados descritos na literatura para a determinação de AA, DA e AU

Eletrodo	Método	Analito	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostra	Ref.
GCE/PANI-AuNP	DPV	AA	–	–	–	7
		DA	7,0 – 148	3,0		
		AU	29 – 441	20		
GCE/PPyox-SWNTs	DPV	AA	20 – 1000	4,6	–	10
		DA	1,0 – 50	0,38		
		UA	2,0 – 100	0,74		
GCE/p-ATD	DPV	AA	30 – 300	2,0	Urina	124
		DA	5,0 – 50	0,33	–	
		UA	10 – 100	0,19	Urina	
GCE/PCDDA	DPV	AA	5 – 240	1,43	Vitamina C, laranja e limão	125
		DA	5 – 280	0,29	Injeções	
		UA	0,1 – 18	0,016	Urina	
GCE/CoPc-MWCNT	DPV	AA	–	–	–	126
		DA	3,1 – 93,2	0,26		
		AU	–	–		
Gr/(PDDA-[PSS-MWCNTs] ₅)	Cronoamperometria	AA	50 – 1000	0,50	–	127
		DA	50 – 350	0,15		
		AU	50 – 800	0,80		
Au/DNA-PAMAM/MWN T-Chit	DPV	AA	–	–	–	128
		DA	0,20 – 100	0,03		
		AU	0,50 – 100	0,07		
Pt/PMPy/Pd _{nano}	DPV	AA	0,05–1000	7,0	Injeções	129
		DA	0,1 – 10	0,012	Soro	
		AU	0,50 – 20	0,027	Urina	
GCE/CNT-AgHCFNPs	CV	AA	4,0 – 78	0,42	Soro e urina	130
		DA	2,4 – 13	0,14		
		AU	2,0 – 15	0,06		

AuNP = Nanopartículas de Au; PPyox = PPY superoxidado; p-ATD = 2-amino-1,3,4-tiadiazol; PCDDA = poli(3-(5-cloro-2-hidroxifenilazo)-4,5-dihidroxi-naftaleno-2,7-ácido disulfônico)); CoPc = Ftalocianinas de cobalto; Gr = eletrodo grafite; PDDA = poli(cloreto dialildimetilamônio); PSS = sulfonato de poliestireno; PAMAM = poli(amidoamina); Chi = quitosana; Pd_{nano} = nanoclusters de Pd; PMPy = poli(N-metilpyrrol); AgHCFNPs = nano partículas de hexacianoferrato de prata

Com a finalidade de poder resolver a sobreposição dos picos de oxidação dos analitos DA e AA, muitos eletrodos convencionais (ouro, platina, GC) foram modificados com CPs, CNTs e outros compostos eletroativos. No entanto, para alguns eletrodos modificados com CPs, citados na literatura, as respostas para detecção de DA foram obtidas somente após a superoxidação destes polímeros, como é o caso do PPY^{10, 129} ou então, após a incorporação de alguns compostos como partículas metálicas, CNTs, e outros, nas matrizes poliméricas; exemplificados com os filmes de PANI polimerizados eletroquimicamente^{5,7}.

Porém, como mencionado anteriormente, utilizando o eletrodo modificado com filme de poli(1-aminoantraceno)¹⁸⁻¹⁹, foram obtidas boas respostas para a DA, sem a necessidade de superoxidar o filme ou adicionar espécies ativas na matriz polimérica para obter o resultado desejado, sendo necessária somente à aplicação de um pré-tratamento catódico no eletrodo, o qual consistiu da aplicação de um potencial de $-0,7$ V durante um curto intervalo de tempo (3 s) antes das medidas voltamétricas. Este eletrodo foi utilizado para a determinação de DA em formulação farmacêutica, sendo que a DA foi quantificada por DPV apresentando resposta na região linear de concentração entre $5,60 - 92,4 \mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção¹¹⁶ igual a $1,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,9986$). A melhor resposta foi obtida em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 6,5 e, aplicando o pré-tratamento catódico que permitiu obter a separação entre os processos de oxidação da DA e do AA. A análise de DA em formulações farmacêuticas apresentou valores entre 99,7 – 104% para o estudo de adição e recuperação de DA nas amostras, confirmando a viabilidade da determinação com o método proposto. Resultados estes concordantes com o método espectrofotométrico com um erro relativo aceitável, o que sugere a aplicabilidade do método eletroquímico proposto em amostras de formulações farmacêuticas. Estudos foram realizados para averiguar se o pré-tratamento catódico do eletrodo poderia estar pré-concentrando a DA na superfície do

eletrodo, no qual foi comprovado que as respostas obtidas para DA não eram devidas a uma pré-concentração e sim a uma mudança nas propriedades química e estrutural do polímero. É importante ressaltar que este comportamento, além de ser uma propriedade muito significativa ela também nunca havia sido relatada anteriormente por outros pesquisadores para este propósito.

De acordo com OTERO¹³¹⁻¹³², a aplicação do potencial de pré-tratamento pode promover mudanças conformacionais do polímero que altera parâmetros cinéticos bem como as energias de ativação levando a intensas mudanças nas propriedades eletroquímicas do filme. Esta teoria, chamada de modelo *ESCR* (*Electrochemically Stimulated Conformational Relaxation*), foi utilizada para explicar o comportamento dos músculos artificiais desenvolvidos pelo grupo do Prof. Toribio Otero empregando o PPY¹³³. No entanto eles nunca estudaram o comportamento dos polímeros pré-tratados catodicamente frente processos de oxidação ou redução de espécies presentes em solução como realizamos em nosso Grupo.

Devido ao excelente resultado obtido com o filme de PAA após a aplicação do pré-tratamento catódico, outros polímeros condutores foram estudados em nosso Grupo com o intuito de comparar suas respostas frente à aplicação deste pré-tratamento. Neste contexto, estudos foram realizados utilizando eletrodos modificados eletroquimicamente com filmes de poli(1-aminonaftaleno)¹¹⁴, poli(1,5-diaminonaftaleno)¹¹⁴ e polianilina¹³⁴ para a determinação de DA, os quais serão descritos a seguir.

SILVA e FARIA¹¹⁴ desenvolveram sensores para detecção de DA modificando a superfície de eletrodos de platina com filmes de poli(1-aminonaftaleno) (1-PAN) e poli(1,5-diaminonaftaleno) (1,5-PDAN). O eletrodo de 1-PAN apresentou resposta para DA somente após a aplicação do potencial de $-0,7$ V por 3 s, enquanto que para o eletrodo de 1,5-PDAN não houve a necessidade de aplicar este pré-tratamento para obter a resposta, porém foi observado um aumento considerável no valor da corrente de pico, demonstrando

o efeito electrocatalítico frente à oxidação da DA. O comportamento voltamétrico da DA foi verificado utilizando as técnicas de CV e DPV. Sob condições otimizadas e por meio da técnica de DPV, os eletrodos 1-PAN e 1,5-PDAN apresentaram intervalos lineares de concentração de DA entre 9,90 – 122 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 19,6 – 99,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limites de detecção¹¹⁶ iguais a 4,22 e 4,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os eletrodos desenvolvidos foram aplicados na determinação de DA em amostras farmacêuticas obtendo resultados satisfatórios.

Em outro trabalho desenvolvido pelo Grupo foi proposto um método para determinação de DA utilizando um eletrodo de platina modificado com PANI¹³⁴. Neste trabalho também foram verificadas alterações na propriedade electrocatalítica do filme após a aplicação do mesmo pré-tratamento catódico no eletrodo (-0,7 V por 3 s), de tal maneira que o eletrodo passou a apresentar resposta electroquímica para DA; o que nunca havia sido relatado para filmes de PANI eletropolimerizados. Após otimização das condições experimentais, o eletrodo modificado foi utilizado na construção da curva analítica por meio de voltamogramas de pulso diferencial. Em meio de solução tampão fosfato pH 6,5, foi obtido um intervalo de concentração para DA entre 22,2 – 323 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de 18,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método proposto foi aplicado na determinação de DA em amostras farmacêuticas obtendo-se bons resultados.

Como pode ser observado, a aplicação do pré-tratamento catódico é de fundamental importância no desenvolvimento dos eletrodos descritos acima, sendo, portanto, um parâmetro relevante a ser estudado para auxiliar no entendimento do comportamento electroquímico dos polímeros.

1.5 Ferramentas estatísticas

As ferramentas estatísticas vêm sendo muito utilizadas como estratégias eficientes para aprimorar processos, planejar experimentos, extrair informações de um banco de dados e auxiliar na tomada de decisão quando existem vários critérios a serem considerados¹³⁵.

Com o objetivo de se obter ótimos resultados no desenvolvimento de métodos analíticos, otimizações são realizadas com as diferentes variáveis que constituem tal método. O processo de otimização mais utilizado no desenvolvimento de metodologias analíticas é a otimização univariada. Neste método, o comportamento de cada variável que afeta o processo é estudado individualmente, ou seja, uma variável é estudada enquanto as outras variáveis permanecem fixas. Este tipo de otimização oferece como principal vantagem a fácil interpretação dos dados obtidos, principalmente por se tratar de gráficos bidimensionais, relacionando a resposta de interesse com a variável que está sendo otimizada. Entretanto, as interações entre as variáveis não são consideradas durante os experimentos desenvolvidos e o número de experimentos aumenta consideravelmente com o aumento do número de variáveis^{116, 135}. O outro método que vem sendo aplicado, nos últimos anos, na área de química é a otimização multivariada, ou seja, neste método as variáveis envolvidas no processo são estudadas simultaneamente. Apresenta como vantagens a diminuição, relativa, do número de experimentos e, conseqüentemente, menor consumo dos reagentes, possibilitando a visualização de interações entre as variáveis¹³⁶.

Os procedimentos para a otimização multivariada baseiam-se em técnicas estatísticas de planejamento e análise, nas quais, geralmente, implicam em duas etapas: uma é a investigação preliminar, na qual se utiliza um planejamento fatorial, realizado para saber se certas variáveis influenciam ou não na resposta de interesse. E na etapa seguinte, pode ser aplicado um

planejamento tal qual proporcione uma metodologia de superfície de resposta¹³⁷, na qual são calculados os valores ótimos obtidos a partir de uma função matemática entre a resposta e as variáveis significantes do processo¹³⁸⁻¹³⁹.

O planejamento fatorial é aplicado para analisar as influências de todas as variáveis experimentais e os efeitos de interação entre elas sobre a resposta analítica. Neste planejamento, quando completo, o número de experimentos se realizados em dois níveis é calculado como $n = 2^k$, sendo que k é o número de variáveis. O planejamento fatorial completo, geralmente, é aplicado em situações em que as variáveis mais importantes são identificadas, mas o impacto das mesmas na resposta é desconhecido. Se o número de variáveis for grande e se deseja identificar as variáveis mais importantes de um experimento, o mais indicado é utilizar um planejamento fatorial fracionário, no qual se calcula o número de experimentos como $n = 2^{k-y}$ ¹³⁵⁻¹³⁶.

Após realizar uma triagem utilizando o planejamento fracionário para conhecer as variáveis mais significativas, uma etapa de otimização propriamente dita deve ser realizada. Neste contexto, o planejamento Doehlert pode ser aplicado para auxiliar no desenvolvimento de metodologias analíticas. Este planejamento foi proposto por David Doehlert em 1970¹⁴⁰, é considerada uma alternativa prática, econômica e eficiente quando comparado a outras matrizes de segunda ordem. A principal vantagem do planejamento Doehlert em relação a outros planejamentos é que se exigem poucos pontos experimentais para sua aplicação. O número de experimentos realizados em um planejamento Doehlert é dado pela expressão $n = k^2 + k + 1 + PC$, sendo k o número de variáveis e PC o número de pontos centrais. Além disso, neste planejamento, as variáveis possuem quantidades de níveis diferentes, por exemplo, para $k = 3$, têm-se variáveis com sete, cinco e três níveis, o que possibilita utilizar um maior número de níveis para uma variável mais crítica^{137-138, 140}, enquanto que o planejamento fatorial deve conter o mesmo número de níveis para todas as variáveis.

No estudo de sistemas com mais de uma resposta é possível propor equações matemáticas correlacionando as variáveis e as respostas de forma que os dados possam ser visualizados em poucas dimensões. Independente do planejamento utilizado, a ferramenta estatística Análise de Componentes Principais (*PCA – Principal Component Analysis*) pode ser utilizada para ajudar a visualizar um número grande de dados¹³⁵. A união destas ferramentas quimiométricas, planejamento de experimentos e PCA, possibilita otimizar um procedimento, em função de muitas variáveis e respostas, obtendo-se mais informações e menor tempo de trabalho do que se utilizasse uma otimização univariada.

1.6 OBJETIVOS

Os objetivos do trabalho descrito nesta tese foram desenvolver eletrodos modificados com os polímeros condutores poli(1-aminoantraceno) e poli(1-aminoantraquinona), bem como desenvolver eletrodos compósitos modificados com os polímeros condutores e nanotubos de carbono e comparar a resposta destes sistemas utilizando a dopamina como analito de referência. Além disso, estudar a influência do pré-tratamento catódico na resposta eletroquímica para os diferentes analitos e estudar a aplicabilidade dos eletrodos modificados na determinação de dopamina, ácido ascórbico e ácido úrico em amostras sintéticas e reais de fluidos biológicos, assim como na determinação de norepinefrina e hidroquinona em amostras farmacêuticas.

PARTE EXPERIMENTAL

2. PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo são descritos os equipamentos e reagentes utilizados neste trabalho, assim como os procedimentos experimentais empregados.

2.1 Instrumentação

Para a eletropolimerização dos filmes e para as medidas voltamétricas empregadas nas determinações dos analitos foram utilizados potenciostatos/galvanostatos EG&G PARC modelo 273A e AUTOLAB modelo 128N. Duas células eletroquímicas convencionais de compartimento único foram utilizadas, as quais se diferenciavam apenas na capacidade volumétrica. Sendo uma contendo um volume máximo de 40 mL, a qual era utilizada para as análises voltamétricas dos analitos, com soluções que variavam entre 8,0 e 10 mL, e a outra célula, com um volume máximo de 3,0 mL, que era utilizada nas sínteses dos filmes compósitos utilizando volumes até 2,0 mL. Estas células foram confeccionadas em vidro de borossilicato e equipadas com tampas de politetrafluoretileno contendo orifícios para o posicionamento dos eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, bem como para a entrada de gases, como ilustradas na FIGURA 2.1.

As morfologias das superfícies dos filmes obtidos foram caracterizadas por medidas microscópicas, utilizando um microscópio de força atômica (AFM, Digital Instruments, modelo Nanoscope III equipment), um microscópio eletrônico de varredura (SEM, Zeiss, DSM-940 A) e um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução (FEG-SEM, Zeiss, modelo Supra 35).

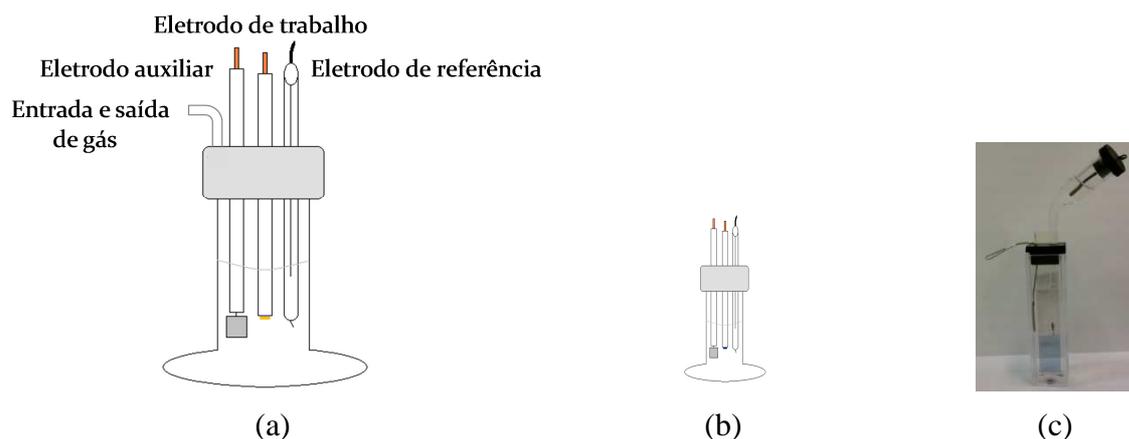


FIGURA 2.1 – Representação esquemática das células eletroquímicas com capacidade volumétrica de (a) 40 mL, (b) 3,0 mL; e (c) célula espectrofotoeletróquímica (4,0 mL) utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho.

Para efeito de comparação com os resultados eletroquímicos, algumas amostras farmacêuticas foram submetidas às análises espectrofotométricas. Para tanto, os experimentos foram realizados em um espectrofotômetro Hewlett Packard, modelo HP 8452A, provido de uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,00 cm e volume total de 4,0 mL, acoplado a um microcomputador.

Uma microbalança de cristal de quartzo (QCM, Stanford Research Systems, modelo QCM 200 – 5 MHz) foi utilizada para estudar a influência do pré-tratamento catódico sobre os filmes de PAA e PANI. As medidas foram realizadas utilizando a QCM acoplada ao potenciostato AUTOLAB-128N interfaceados pelos programas QCM200 Data Acquisition Software e GPES, respectivamente.

Um espectrofotômetro UV-Visível de fibra óptica da Ocean Optics, modelo USB4000 UV-Vis foi utilizado para as análises espectrofotoeletróquímicas dos filmes de PAA e PANI. Neste caso, a célula espectrofotoeletróquímica utilizada foi adaptada a partir de uma cubeta de acrílico equipada com uma tampa contendo os orifícios para o posicionamento

dos eletrodos de trabalho transparentes consistindo de uma lâmina de vidro recoberta com filme de óxido de estanho dopado com índio (ITO), referência (Ag/AgCl, KCl 3,0 mol L⁻¹) e eletrodo auxiliar (fio de Pt), conforme mostrados na FIGURA 2.1-c.

As medidas da acidez das soluções preparadas foram realizadas utilizando-se um eletrodo de vidro combinado e um pHmetro Digimed, modelo DM 20.

2.1.1 Eletrodos

2.1.1.1 Eletrodos de trabalho

Os substratos utilizados para o desenvolvimento dos eletrodos modificados foram: tarugos de platina, eletrodo de vidro condutor para as análises espectrofotoeletróquímicas e um cristal de quartzo recoberto com ouro para as análises de QCM.

O eletrodo de disco de platina foi construído embutindo-se um tarugo de platina em vidro tendo área exposta de 0,031 cm² e um fio de cobre foi utilizado para o contato elétrico. Antes do crescimento dos filmes, os eletrodos eram submetidos a uma limpeza e condicionamento, no qual consistia de um tratamento superficial com lixas de granulações de 600, 1200 e 2000, seguidos de um polimento realizado com suspensões de alumina com granulometrias de 1,0 µm e 0,3 µm em uma politriz até se obter uma superfície espelhada. Na sequência, era lavado com água destilada abundantemente e colocados em banho ultrassônico para a retirada de possíveis partículas de alumina sobre o substrato, estes foram submetidos a uma limpeza eletroquímica, em meio de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ por meio da técnica de voltametria cíclica, utilizando velocidade de varredura de 0,05 V s⁻¹ entre os potenciais de -0,2 V e +1,2 V vs. Ag/AgCl, até se obter o

perfil voltamétrico característico da platina. Após este procedimento, a síntese eletroquímica dos filmes poliméricos era realizada.

O eletrodo de vidro condutor, ITO, foi utilizado como substrato para a deposição dos filmes de PAA e PANI para análises por UV-Vis. Antes da polimerização dos filmes sobre o eletrodo de ITO (Donnelly, 20 Ω .cm, área exposta de 1,0 cm^2), este era lavado com solução de Extran[®] a 4% (m/V) e lavado com água destilada em abundância. Imersos em éter de petróleo e acetona, enxaguado novamente com água e seguido da secagem em estufa numa temperatura de aproximadamente 60 °C.

Os cristais de quartzo, utilizados nos experimentos, eram recobertos com um filme fino de ouro em ambas as faces, com corte AT e frequência fundamental de 5 MHz. Estes cristais foram inicialmente limpos, antes da polimerização dos filmes, utilizando solução “piranha” recém preparada composta de uma mistura de H_2SO_4 concentrado e H_2O_2 30% na proporção 7:3, respectivamente. Em seguida, os cristais foram lavados com água destilada e secos com jato de gás nitrogênio.

2.1.1.2 Eletrodos de referência

Para as análises em soluções aquosas, foi utilizado um eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L^{-1}). E utilizou-se um eletrodo de quase-referência nas medidas eletroquímicas realizadas em meio de acetonitrila, o qual consistia de um fio de prata inserido em um capilar de Luggin contendo a mesma solução do eletrólito suporte utilizado na síntese dos filmes.

2.1.1.3 Eletrodos auxiliar

O eletrodo auxiliar utilizado nas medidas voltamétricas foi uma placa de platina com área de 0,25 cm^2 . E para as medidas

espectrofoteleletróquímicas, o eletrodo auxiliar utilizado possuía o mesmo formato, porém com dimensões menores.

2.2 Reagentes e soluções

2.2.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico (PA), e usados sem purificação adicional, com exceção da anilina que foi previamente destilada. A seguir são apresentadas as suas procedências e percentagem de pureza. A água utilizada para o preparo das soluções foi destilada e purificada em sistema Milli-Q da Millipore[®], com resistividade próxima a 18,2 MΩ.cm e o gás nitrogênio utilizado durante as medidas eletroquímicas foi do tipo gás especial adquirido da White Martins S.A.

Procedência e pureza dos reagentes utilizados nos experimentos:

- 1-aminoantraceno – C₁₄H₁₁N (Aldrich, 90,0%)
- 1-aminoantraquinona – C₁₄H₉NO₂ (Aldrich, 97,0%)
- Anilina – C₆H₅NH₂ (Aldrich, 99,5%)
- Acetonitrila – CH₃CN (Synth, 99,9%)
- Ácido acético – C₂H₄O₂ (Merck, 96,0%)
- Ácido bórico – H₃BO₃ (Dinâmica, 99,5%)
- Ácido ascórbico – C₆H₈O₆ (Sigma, 90,0%)
- Ácido clorídrico – HCl (Merck, 37,0%)
- Ácido fosfórico – H₃PO₄ (Dinâmica, 85,0%)
- Ácido sulfúrico – H₂SO₄ (Dinâmica, 98,1%)
- Ácido úrico – C₅H₄N₄O₃ (Sigma, 99,0%)
- Bicarbonato de sódio – NaHCO₃ (Merck, 99,5%)
- Bitartarato de norepinefrina – C₈H₁₁NO₃.C₄H₆O₆ (Aldrich, 99,0%)

- Cloreto de cálcio – $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck, 99,0%)
- Cloreto de potássio – KCl (Mallinckrodt, 99,6%)
- Cloreto de sódio – NaCl (Synth, 99,9%)
- Cloreto de hexaminorutenio – $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ (Aldrich, 98,0%)
- Cloridrato de dopamina – $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$ (Sigma, 99,0%)
- Creatinina – $\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$ (Fluka, 99,0%)
- Ferricianeto de potássio – $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Fluka, 98,0%)
- Glicose – $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (Synth, 99,0%)
- Hidroquinona – $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ (Fluka, 99,0%)
- Hidróxido de sódio – NaOH (Synth, 97,0%)
- Dihidrogenofosfato de sódio – NaH_2PO_4 (Mallinckrodt, 99,6%)
- Monohidrogenofosfato de sódio – $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (J.T. Baker, 98,0%)
- Nanotubos de carbono de paredes múltiplas – (Sigma-Aldrich, 95,0%)
- Perclorato de lítio – LiClO_4 (Aldrich, 95,0%)
- Perclorato de tetrabutilamônio – $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NClO}_4$ (Fluka, 98,0%)
- Peróxido de Hidrogênio – H_2O_2 (Synth, 30,0%)
- Uréia – $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ (Sigma, 99,5%)

2.2.2 Soluções

Para o estudo da síntese eletroquímica dos filmes PAA e PAAQ foram preparadas soluções utilizando quantidades apropriadas do monômero 1-AA ou 1-AAQ nos diferentes eletrólitos suporte: PTBA e LiClO_4 , ambos em acetonitrila e HClO_4 em meio aquoso. As concentrações das soluções utilizadas foram estabelecidas de acordo com os estudos descritos nas próximas seções. Soluções $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ferricianeto de potássio em meio de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas.

Uma solução tampão fosfato (PBS) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se quantidades adequadas de Na_2HPO_4 e NaH_2PO_4 em água destilada. Foram preparadas soluções com valores de pH entre 5,82 – 8,02. A solução tampão Britton–Robinson (BR) foi preparada a partir dos ácidos: acético ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$), fosfórico ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) e bórico ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) e do perclorato de sódio ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$). O valor do pH desejado em cada experimento foi ajustado pela adição de uma solução de hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Foram preparadas soluções com valores de pH entre 3,08 – 10,0. Os valores de pH de todas as soluções tampão foram devidamente padronizados e ajustados diariamente com o auxílio de um pHmetro.

As soluções estoque padrão dos analitos DA, NA, HQ, AA e AU foram preparadas minutos antes das medidas, com concentrações de 1,0 a $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$, pela solubilização da massa correspondente em água destilada para DA, NA, HQ e AA. Enquanto que para o AU a massa correspondente foi solubilizada em uma pequena quantidade de hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com posterior diluição em água destilada. A partir destas soluções, com diluições adequadas, foram preparadas as demais soluções utilizadas neste trabalho. Estas soluções foram mantidas em frascos âmbar.

Fluido cerebrospinal sintético (CSF) – O CSF foi preparado com os principais compostos encontrados no fluido cerebrospinal. Desta forma misturou-se 2,15 g de NaCl, 0,075 g de KCl, 0,082 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,23 g de glucose, 0,44 g de NaHCO_3 e 0,02 g de uréia em um balão de 250 mL (pH 7,4)¹⁴¹. A solução era preparada imediatamente antes de ser utilizada.

Urina sintética – Assim como o CSF, a urina sintética foi preparada pela mistura de 2,925 g de NaCl, 1,60 g de KCl, 1,10 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2,25 g de Na_2SO_4 , 1,40 g de KH_2PO_4 , 1,00 g de NH_4Cl , 25,0 g de uréia e 1,10 g de creatinina em um balão de 1000 mL (pH 6,0)¹⁴². A solução era utilizada logo após o seu preparo.

Urina humana – As amostras de urina foram coletadas de voluntários saudáveis, filtradas e utilizadas imediatamente após a coleta.

Bitartarato de norepinefrina – As amostras de NE foram adquiridas no comércio local (São Carlos – SP) em forma de soluções injetáveis, valor nominal de 1,0 mg/mL de NE base. Uma alíquota adequada de cada amostra foi diluída em eletrólito suporte adicionando-a diretamente na célula eletroquímica para a análise, sem tratamento prévio.

Hidroquinona – As amostras em forma de gel de HQ foram adquiridas no comércio local (São Carlos – SP). Estas amostras especificavam quantidades de HQ iguais a 4% e 2%, respectivamente. Uma massa de 0,1898 g de amostra foi transferida para um frasco de 2,0 mL, dissolvidas em água e sonicadas por 2 min para a completa dissolução. Na sequência, alíquotas da amostra foram adicionadas na célula eletroquímica contendo a solução eletrolítica.

2.3 Procedimentos experimentais

2.3.1 Tratamento químico dos nanotubos de carbono

Os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (diâmetro: 40 – 60 nm, comprimento: 5 – 15 mm) foram tratados quimicamente por meio de uma mistura ácida para purificação e ativação da superfície. Para tanto, 0,01 g de CNT foram adicionados em 5,0 mL de uma solução contendo H₂SO₄/HNO₃ concentrados, na proporção 3:2 v/v, e agitados durante 12 h. Então o CNT foi filtrado utilizando papel de filtro e lavado várias vezes com água destilada até que a solução do filtrado se tornasse neutra. Os CNTs obtidos foram então secos em estufa a 80° C por 6 h.

2.3.2 Preparação dos eletrodos modificados

2.3.2.1 Eletrodos modificados com filmes poliméricos

Após a etapa de limpeza dos substratos, a polimerização eletroquímica dos filmes de PAA e PAAQ foi realizada por cronoamperometria ou voltametria cíclica. Antes do crescimento dos filmes, borbulhou-se $N_{2(g)}$ na solução por 5 min e após o crescimento dos filmes os eletrodos modificados foram lavados com água e mantidos a seco.

Para a polimerização do filme de PAA foi utilizada uma solução contendo 10 mmol L^{-1} do monômero 1-AA e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ do eletrólito suporte (PTBA ou LiClO_4) em meio de acetonitrila, a qual foi aplicada um intervalo de potencial de $+0,1$ a $+0,7 \text{ V}$ ao eletrodo de platina, com velocidade de varredura igual a $0,1 \text{ V s}^{-1}$ e 30 ciclos voltamétricos, de acordo com estudos relatados anteriormente¹⁹.

O filme de PAAQ foi obtido, eletroquimicamente, sobre os eletrodos de platina utilizando uma solução contendo o monômero 1-AAQ e o eletrólito suporte (PTBA ou LiClO_4) em meio de acetonitrila. O eletrodo foi polarizado continuamente, por meio da técnica de voltametria cíclica, entre os potenciais de $-0,1$ e $+1,3 \text{ V}$, com velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$. Os parâmetros experimentais para a eletropolimerização dos filmes de PAAQ, tais como concentração do monômero, concentração do eletrólito suporte, número de ciclos foram avaliados, os quais serão apresentados no Capítulo 4.

Para a polimerização do filme de PANI, sobre os substratos ITO e cristal de quartzo, foi utilizada uma solução contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de anilina em meio de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A síntese foi realizada por CV, em um intervalo de potencial entre $-0,2$ e $+1,4 \text{ V}$, com velocidade de $0,05 \text{ V s}^{-1}$ e aplicando 10 ciclos voltamétricos. Após a eletropolimerização, o eletrodo foi lavado com água e ciclado em $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ entre $-0,2 \text{ V}$ e $+1,0 \text{ V}$, em velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$ ³⁴. Anilina utilizada nas sínteses era previamente

purificada por destilação a baixa pressão e mantida a 4 °C em frasco âmbar antes do uso.

2.3.2.2 Eletrodos compósitos modificados com PAA e CNT

Estudos preliminares foram realizados para a síntese do filme compósito PAA e CNT a fim de se obter a melhor condição de polimerização destes filmes. Neste estudo, três diferentes estratégias para a modificação dos eletrodos de platina foram realizadas e comparadas frente à resposta de oxidação da DA. A seguir são descritas tais modificações:

Eletrodo 1) 1,0 mg de CNT tratados quimicamente foram dispersos em 1,0 mL de dimetilformamida, com o auxílio de um ultrassom, por 1 h. Em seguida 3,0 µL desta dispersão foi gotejada sobre o eletrodo de Pt e deixado em temperatura ambiente até secar completamente. Na sequência, realizou-se a eletropolimerização do filme de PAA sobre este eletrodo recoberto com CNT, utilizando uma solução contendo 0,01 mol L⁻¹ do monômero 1-AA e 0,1 mol L⁻¹ PTBA, em meio de acetonitrila, aplicando 30 ciclos voltamétricos, num intervalo de potencial entre +0,1 V e +0,8 V.

Eletrodo 2) o outro modo de deposição foi realizada eletroquimicamente com uma solução contendo o monômero e os CNTs dispersos, no qual 1,0 mg de CNT tratado foi disperso em 1,0 mL de acetonitrila durante 1 h em ultrassom. A esta suspensão foi adicionado 1,89 mg do monômero 1-AA e 34 mg de PTBA. Após agitação para completa solubilização, fez-se a eletropolimerização do compósito por voltametria cíclica, num intervalo de potencial entre +0,1 V e +0,8 V e aplicando 30 ciclos.

Eletrodo 3) Por último, o eletrodo 3 foi modificado nas mesmas condições que o eletrodo 2, citadas acima. Porém, a eletropolimerização do compósito foi realizada por meio da técnica de cronoamperometria, aplicando-se um potencial de +0,7 V durante 60 s.

A partir dos resultados obtidos com este estudo preliminar, os eletrodos modificados com o compósito PAA e CNT foram eletropolimerizados sobre os eletrodos, por cronoamperometria, em uma suspensão contendo quantidades em massa do monômero 1-AA e CNT tratados quimicamente e eletrólito suporte (PTBA ou LiClO_4) em meio de acetonitrila. As condições de síntese como as proporções em massa de CNT e do monômero foram variadas e otimizadas com o auxílio de ferramentas quimiométricas, de acordo com os parâmetros estudados e apresentados na TABELA 2.1 do planejamento fatorial.

2.3.2.3 Eletrodos compósitos modificados com PAAQ e CNT

Para a modificação dos eletrodos de platina com o compósito PAAQ e CNT, um estudo preliminar foi realizado mantendo-se constantes a concentração do monômero 1-AAQ em $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e do eletrólito suporte $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$, e variou-se a quantidade de CNT utilizada na síntese dos filmes. As proporções em massa utilizadas do monômero e dos nanotubos foram iguais a 1:1, 1:3 e 3:1 (1-AAQ : CNT). Os resultados foram comparados em relação às respostas obtidas com a oxidação da DA. A síntese eletroquímica foi realizada por meio da técnica de CV, realizando 10 ciclos com velocidade de $0,1 \text{ V s}^{-1}$, em um intervalo de potencial entre 0,0 e +1,5 V.

2.3.3 Caracterização morfológica dos filmes poliméricos

As análises de microscopia eletrônica de varredura (FEG-SEM) e microscopia de força atômica (AFM) foram realizadas com os filmes de PAA e PAAQ obtidos sobre substratos compostos de uma placa de silício recoberta com platina, sendo que a eletropolimerização dos filmes foi realizada nas mesmas condições citadas anteriormente. Estes substratos, em formas de placas, com áreas de $0,45$ e $0,50 \text{ cm}^2$, foram limpos com acetona, acetonitrila e água

destilada, imediatamente antes das eletropolimerizações, e secas em fluxo de gás nitrogênio. A caracterização do filme obtida por AFM foi conduzida pelo modo do tipo contato intermitente.

2.3.4 Comportamento eletroquímico dos analitos nos eletrodos modificados

O comportamento voltamétrico dos analitos $K_3Fe(CN)_6$, $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$, DA, AA, AU, NA e HQ foram analisados utilizando os eletrodos modificados e aplicando as técnicas de CV, DPV e SWV. Para melhor desempenho do método proposto, os parâmetros experimentais que influenciam na sensibilidade, estabilidade e resposta dos eletrodos modificados foram analisados, bem como os parâmetros operacionais, como velocidade de varredura, amplitude de pulso, frequência, também foram otimizados.

Ademais, foi verificada a influência do pré-tratamento catódico aplicado nestes eletrodos na ausência e presença dos analitos, utilizando as técnicas ciclovolamétricas e de pulso. O pré-tratamento catódico, relatado anteriormente¹⁸⁻¹⁹, consistiu na aplicação de um potencial durante um certo tempo, realizado antes das medidas voltamétricas.

Os diferentes parâmetros experimentais para a obtenção do melhor desempenho do sensor PAACNT foram otimizados com o auxílio das ferramentas quimiométricas: planejamento fatorial fracionário e planejamento Dohertlet. Neste estudo foram variados ao mesmo tempo os parâmetros da síntese do filme e os parâmetros para a determinação simultânea de AA, DA e AU, conforme descrito a seguir.

Para o sensor PAAQ, os parâmetros experimentais foram otimizados de forma univariada, na qual se investigou as condições de síntese do filme, tais como o número de ciclos da eletropolimerização, a concentração do monômero, o eletrólito suporte utilizado na síntese, concentração do eletrólito

suporte; e a condições experimentais para análises de DA e HQ, tais como: pré-tratamento catódico, solução tampão, pH da solução e interferentes.

Depois de otimizadas as condições, construiu-se as curvas analíticas para cada composto e os limites de detecção foram obtidos a partir dos cálculos: $3\sigma/b$, sendo que σ é o desvio padrão de dez medidas do branco e b é o valor da inclinação da reta, conforme recomendado pela IUPAC¹⁴³.

2.3.5 Estratégias de otimização

O processo de otimização para a construção do eletrodo PAACNT foi realizado utilizando um planejamento fatorial fracionário em dois níveis contendo 12 variáveis e um planejamento Doehlert envolvendo três variáveis. No planejamento fatorial fracionário 2^{12-6} obteve-se um total de 64 experimentos. Nestes experimentos, tanto as variáveis de síntese do polímero como as variáveis para a determinação de DA na presença dos interferentes AA e AU foram exploradas ao mesmo tempo. As variáveis estudadas para a síntese do filme foram: concentração do monômero, quantidade de CNT, tipo de eletrólito suporte, a concentração do eletrólito suporte, potencial de polimerização e tempo de polimerização. Para a determinação simultânea de AA, DA e AU as variáveis estudadas foram: tipo de eletrólito suporte (solução tampão), pH da solução, potencial do pré-tratamento catódico, tempo de pré-tratamento catódico, interferentes AA e AU.

O estudo foi realizado por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial, na qual a concentração de DA foi fixada em $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e todos os parâmetros da DPV foram fixados em $\nu = 0,01 \text{ V s}^{-1}$, $a = 0,05 \text{ V}$ e $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$. Os níveis normalizados selecionados, bem como os valores para cada variável estão resumidos na TABELA 2.1 e TABELA 2.2.

As respostas avaliadas nesta etapa do planejamento foram obtidas a partir dos voltamogramas, relacionadas com os parâmetros de pico para o AA,

DA e AU, tais como: números de picos, altura, largura e potenciais de pico. Informações significativas sobre estas variáveis foram avaliadas por meio da ferramenta PCA, sendo os dados da PCA auto-escalados para dar a mesma importância a todas as variáveis. Com base nos resultados obtidos, foram selecionadas as condições ideais para a determinação simultânea de AA, DA e AU.

TABELA 2.1 – Níveis reais e codificados das variáveis do planejamento fatorial fracionário 2^{12-6}

Variáveis	- 1	+ 1
<i>Variáveis para a síntese do filme</i>		
Concentração monômero	$5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	$15 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
Proporção monômero: CNT	1:1 (m/m)	1:3 (m/m)
Eletrólito suporte	PTBA	LiClO ₄
Concentração do eletrólito suporte	$0,1 \text{ mol L}^{-1}$	$0,5 \text{ mol L}^{-1}$
Potencial de polimerização	0,5 V	0,8 V
Tempo de polimerização	60 s	180 s
<i>Variáveis para determinação simultânea de DA, AA e AU</i>		
Eletrólito suporte	PBS	BR
pH	5,0	7,0
Potencial pré-tratamento catódico	Desligado	-0,7 V
Tempo pré-tratamento catódico	3 s	6 s
AA	Ausente	$1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
AU	Ausente	$1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

TABELA 2.2 – Matriz do planejamento fatorial fracionário 2^{12-6}

Ordem	Exp	Síntese do polímero						Determinação da dopamina					
		Variáveis						Variáveis					
		1	2	3	4	5	6	12345	12346	23456	13456	12456	123456
	[monomero]	[nanotubo]	eletrolitos	[eletrolito]	pot.	tempo	eletrolito	pH	poten	tempo	Ac Asc	Ac Urico	
1	62	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1
2	25	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1
3	10	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1
4	26	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1
5	9	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1
6	16	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1
7	23	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1
8	20	1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1
9	17	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	-1
10	45	-1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	1	-1	-1
11	49	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1
12	34	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1
13	57	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1
14	39	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	-1
15	11	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1
16	54	1	-1	1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	1
17	50	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1
18	7	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1
19	36	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1
20	5	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1
21	41	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1
22	52	1	1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	1
23	8	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1
24	12	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1
25	42	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	1	-1
26	19	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1
27	58	1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	1
28	55	-1	1	1	-1	1	1	1	1	-1	1	1	1
29	2	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1
30	27	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1
31	32	1	1	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1
32	30	1	-1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1
33	31	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	1
34	22	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1
35	18	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1
36	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1
37	35	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1
38	4	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1
39	40	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	1	1
40	33	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1
41	61	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	1	1
42	38	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1
43	46	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1
44	15	-1	1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1
45	53	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1
46	59	-1	1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	-1	1
47	21	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1
48	13	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1
49	43	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1
50	6	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1
51	56	1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
52	63	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1
53	24	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1	1
54	47	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1
55	64	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56	51	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	-1
57	44	1	1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	1
58	14	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	-1
59	28	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	1
60	29	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	1	1	-1	-1
61	37	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1
62	60	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1
63	48	1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1
64	3	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1

Em seguida, um planejamento Doehlert foi realizado e as variáveis concentração do monômero, quantidade de CNT e pH da solução foram otimizadas utilizando um maior número de níveis, conforme TABELA 2.3. A escolha do intervalo e o número de níveis para cada variável estudada no planejamento Doehlert foi baseado no grau de importância de cada um de acordo com os resultados obtidos no planejamento fatorial fracionário. Experimentos em triplicata no ponto central foram realizados para permitir estimativas de variância experimental. Deve-se notar que os experimentos realizados em ambos os planejamentos foram realizados aleatoriamente para evitar erros sistemáticos. Todos os dados experimentais foram processados utilizando os programas de computador Pirouette[®] 4.0, rev.2 (Infometrix, Bothell, EUA) e Microsoft Office Excel[®]. Depois de definir os melhores parâmetros para a síntese e resposta eletroquímica para a DA, AA e AU, as curvas de calibração foram construídas pela variação da concentração de DA e mantendo constantes as concentrações de AA e AU em $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Tanto a inclinação das curvas como a maior proporção das alturas de pico obtida entre a razão DA/AA e DA/AU foram avaliados nesta etapa do planejamento e o modelo pode ser representado por superfícies de resposta.

TABELA 2.3 – Matriz dos experimentos para o planejamento Doehlert

<i>Experimento</i>	<i>Conc. monômero</i> ($10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$)	<i>Proporção</i> <i>CNT (%)</i>	<i>pH</i>
1	31 (0)	50 (1)	6,0 (0)
2	61 (0,866)	37,5 (0,5)	6,0 (0)
3	41 (0,289)	37,5 (0,5)	7,0 (0,817)
4	31 (0)	0 (-1)	6,0 (0)
5	1 (-0,866)	12,5 (-0,5)	6,0 (0)
6	21 (-0,289)	12,5 (-0,5)	5,0 (-0,817)
7	1 (-0,866)	37,5 (0,5)	6,0 (0)
8	21 (-0,289)	37,5 (0,5)	5,0 (-0,817)
9	61 (0,866)	12,5 (-0,5)	6,0 (0)
10	51 (0,577)	25 (0)	5,0 (-0,817)
11	41 (0,289)	12,5 (-0,5)	7,0 (0,817)
12	11 (-0,577)	25 (0)	7,0 (0,817)
13	31 (0)	25 (0)	6,0 (0)
14	31 (0)	25 (0)	6,0 (0)
15	31 (0)	25 (0)	6,0 (0)
16	31 (0)	0 (-1)	6,0 (0)
17	31 (0)	50 (1)	6,0 (0)

Valores em parênteses codificados.

2.3.6 Análises das amostras e estudos de adição e recuperação

A concentração dos analitos estudados foi determinada por meio do método de adição de padrão utilizando amostras biológicas e farmacêuticas. Para cada experimento, alíquotas apropriadas das amostras foram adicionadas à célula eletroquímica contendo a solução eletrolítica, seguida por adições sucessivas do analito. As amostras não passaram por nenhum tratamento prévio.

Estudos de adição e recuperação foram realizados com diferentes amostras, nas mesmas condições experimentais otimizadas para a construção das curvas analíticas.

2.3.7 Estudo do pré-tratamento catódico

2.3.7.1 Medidas espectrofotoeletróquímicas e de microbalança de cristal de quartzo

As medidas espectroeletróquímicas foram realizadas em uma cubeta de acrílico por meio da inserção de um eletrodo de vidro ITO modificado com filmes de PAA e PANI, posicionados perpendicularmente ao feixe óptico. O fio de platina e o eletrodo de Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$), utilizados como eletrodos auxiliar e referência, respectivamente, foram posicionados de forma que não atrapalhasse a passagem da luz, e esta posição foi mantida em todos os experimentos. Para a referência das medidas ou o “branco” foi utilizado um eletrodo de vidro ITO sem o polímero.

Os experimentos para cada filme polimérico (PAA e PANI) foram realizados utilizando a CV em conjunto com a espectrofotometria, em soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato pH 7,0 e outra contendo DA $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Estes experimentos foram realizados sem e com a aplicação do pré-tratamento catódico de $-0,7 \text{ V}$ por 3 s.

A técnica de QCM, medindo-se a variação de frequência em função do tempo, em conjunto com as técnicas voltamétrica e cronoamperométrica, foram utilizadas para monitorar a aplicação do pré-tratamento catódico nos eletrodos modificados com filmes poliméricos. Para tanto, foram utilizados cristais de quartzo modificados com filmes de PANI e PAA. Foram realizadas medidas em soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,0) e $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em meio de PBS, aplicando diferentes potenciais e tempos do pré-tratamento catódico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos com a polimerização eletroquímica dos filmes de PAA e PAAQ sobre eletrodos de platina, bem como os resultados obtidos com os eletrodos compósitos. E suas aplicações na determinação de DA, AA e AU em amostras sintéticas e reais de fluidos biológicos e na determinação de NE e HQ em amostras farmacêuticas. No geral, estes estudos consistiram em fases distintas, sendo que na primeira delas, foram realizados estudos da eletropolimerização dos filmes de PAA em diferentes eletrólitos suporte e sua utilização no estudo do comportamento voltamétrico de $K_3Fe(CN)_6$, $[Ru(NH_2)_6]Cl_3$, DA e AA. Este comportamento também foi avaliado frente à aplicação de um pré-tratamento catódico. Além disso, análises da morfologia dos filmes serão apresentadas por FEG-SEM e AFM. A segunda fase consistiu de estudos sobre a eletropolimerização do filme de PAA juntamente com nanotubos de carbono, formando um filme compósito, seguido da otimização deste procedimento realizado com o auxílio de ferramentas quimiométricas para a determinação de DA, AA e AU em amostras biológicas. Em uma terceira fase, foi utilizado o filme de PAA otimizado para a determinação de NE e sua aplicação em amostras farmacêuticas. E por fim, na quarta etapa, foi estudada a eletropolimerização do filme de PAAQ, sendo sua morfologia verificada por SEM. Na sequência, foi analisado o comportamento eletroquímico dos analitos DA, AA, AU e HQ, e após uma otimização univariada, o eletrodo modificado com PAAQ foi aplicado na quantificação dos analitos citados em amostras biológicas e farmacêuticas. Além disso, uma comparação foi realizada entre os eletrodos modificados com PAAQ e PAAQCNT em soluções de DA.

3.1 Estudo da eletropolimerização do filme de PAA e comportamento eletroquímico em $K_3Fe(CN)_6$, $[Ru(NH_2)_6]Cl_3$, DA e AA

3.1.1 Síntese do filme de PAA

O filme de PAA foi obtido, eletroquimicamente, sobre o eletrodo de platina por voltametria cíclica num intervalo de potencial de +0,1 a +0,7 V utilizando uma solução contendo $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ do monômero 1-AA e diferentes eletrólitos suporte: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $LiClO_4$, em meio de acetonitrila¹⁴⁴ de forma que obtivesse valores de cargas totais (Q_T) semelhantes. Foi aplicada uma velocidade de varredura igual a $0,1 \text{ V s}^{-1}$ e realizados 30 ciclos voltamétricos. De acordo com os voltamogramas obtidos, os filmes apresentaram comportamento eletroquímico semelhante àqueles mencionados em trabalhos anteriores¹⁹, com o surgimento de um pico de oxidação apresentando elevada resposta de corrente referente à oxidação do monômero e, subsequentes voltamogramas com respostas de corrente de menores intensidades, proporcionando a formação de radicais cátions que posteriormente formam dímeros, os quais sofrem reação de acoplamento químico formando os oligômeros³⁸. As sínteses realizadas com ambos os eletrólitos suporte proporcionaram filmes com boa aderência sobre os eletrodos de platina com coloração amarelada e $Q_T = 1,42 \text{ mC}$ e $1,36 \text{ mC}$ para os filmes PAA sintetizados com PTBA e $LiClO_4$, respectivamente; demonstrando que são um meio adequado para o eletrossíntese de filmes de PAA com boa qualidade.

3.1.2 Caracterização morfológica dos filmes PAA em diferentes eletrólitos suporte

Na FIGURA 3.1 são apresentadas as micrografias dos filmes de PAA eletropolimerizados em placas de silício recobertas com platina, obtidas por FEG-SEM. A análise da morfologia foi realizada em filmes recém polimerizados, em diferentes eletrólitos suporte: PTBA (FIGURA 3.1-A) e LiClO_4 (FIGURA 3.1-B). Foi observado que os filmes resultantes do processo eletroquímico são bastante aderentes, apresentando uma estrutura homogênea e plana em toda sua extensão, conforme ilustrados nas figuras. Como pode ser notada, a superfície do filme de PAA obtida com o eletrólito suporte PTBA apresenta-se mais plana quando comparada à superfície do filme de PAA eletropolimerizado com LiClO_4 , no qual se observa um crescimento do filme em forma de grãos.

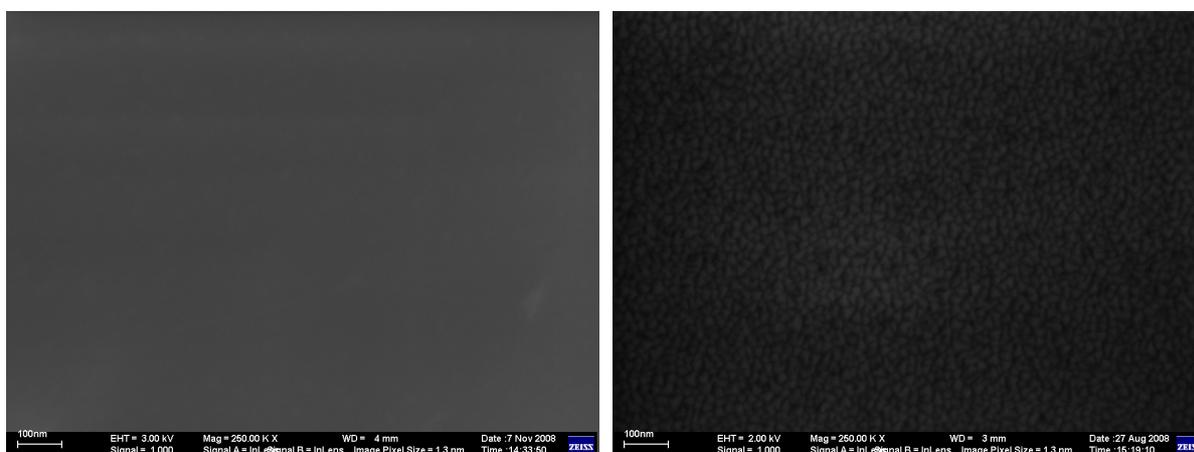


FIGURA 3.1 – Imagens de FEG-SEM da superfície dos filmes de PAA eletropolimerizados sobre eletrodos de Pt em soluções preparadas com: (A) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ 1-AA e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PTBA em meio de ACN; (B) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ 1-AA e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ LiClO_4 em ACN.

No entanto, na caracterização dos filmes utilizando a técnica de AFM (FIGURA 3.2), pôde-se verificar pelas imagens adquiridas que a morfologia de ambos os filmes, obtidos com os diferentes eletrólitos suportes, apresentaram estruturas de grãos coalescidos com alturas máximas em torno de

20 nm indicando que são filmes nanoestruturados. A retenção de água sobre a lâmina durante o processo de deposição ou a evaporação do solvente após a deposição do filme podem ter conduzido a uma secagem irregular dos filmes de PAA-PTBA gerando bolhas e em alguns casos o descolamento do filme, como pode ser visto na imagem obtida por AFM (FIGURA 3.2-A) um surgimento de glóbulos maiores.

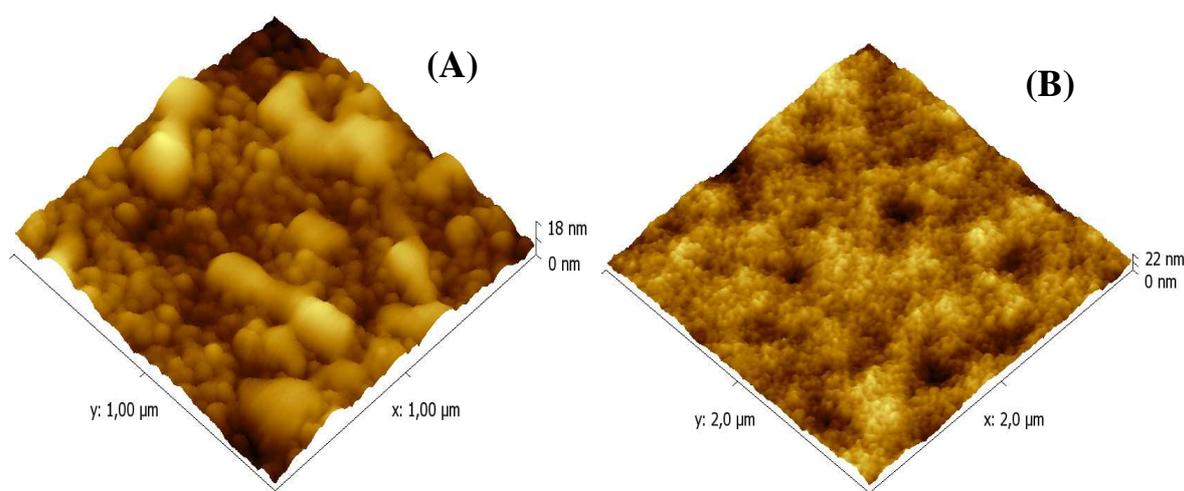


FIGURA 3.2 – Imagens de AFM da superfície dos filmes de PAA eletropolimerizados sobre eletrodos de Pt em soluções preparadas com: (A) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ 1-AA e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PTBA em meio de ACN; (B) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ 1-AA e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ LiClO_4 em ACN.

3.1.3 Comportamento Eletroquímico de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ e $[\text{Ru}(\text{NH}_2)_6]\text{Cl}_3$ em eletrodo modificado com PAA

Os compostos ferricianeto de potássio e cloreto de hexaminorutênio tendem a apresentar pares de oxidação/redução reversíveis bem conhecidos, sendo, portanto, utilizados como parâmetros no estudo da caracterização eletroquímica de eletrodos modificados. Assim, o comportamento voltamétrico de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ e $[\text{Ru}(\text{NH}_2)_6]\text{Cl}_3$ foi analisado, por meio da técnica de voltametria cíclica, utilizando o eletrodo modificado com filme de PAA e comparados com a resposta obtida com um eletrodo de platina não modificado. Neste estudo

foram utilizadas soluções de KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 1,0 mmol L⁻¹ de K₃Fe(CN)₆ e outra contendo 1,0 mmol L⁻¹ [Ru(NH₂)₆]Cl₃. Os voltamogramas obtidos estão mostrados na FIGURA 3.3.

O perfil voltamétrico do par redox [Fe(CN)₆]³⁻ / [Fe(CN)₆]⁴⁻ sobre eletrodo de platina não modificado apresentou um processo reversível com picos de oxidação em torno de +0,22 V e redução próximo a +0,18 V (FIGURA 3.3-A). No entanto, quando se utilizou o eletrodo modificado com o filme de PAA em soluções de K₃Fe(CN)₆ e [Ru(NH₂)₆]Cl₃, os comportamentos voltamétricos dos pares [Fe(CN)₆]³⁻ / [Fe(CN)₆]⁴⁻ e [Ru(NH₂)₆]Cl₃³⁺ / [Ru(NH₂)₆]Cl₃²⁺ não apresentaram processos redox característicos, conforme podem ser vistos nas FIGURA 3.3-B e FIGURA 3.3-C, respectivamente. Nestas figuras são mostrados os voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo PAA em soluções de KCl 0,1 mol L⁻¹ e soluções de 1,0 mmol L⁻¹ K₃Fe(CN)₆ ou [Ru(NH₂)₆]Cl₃ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹. Também foi verificado nestas soluções o comportamento voltamétrico destes compostos em eletrodos de PAA após a aplicação do pré-tratamento catódico de -0,7 V por 3 s. Os voltamogramas obtidos estão ilustrados com linhas de cores azuis, nos quais pôde ser concluído que, ainda assim, estes compostos não são eletroativos na superfície do eletrodo modificado com PAA.

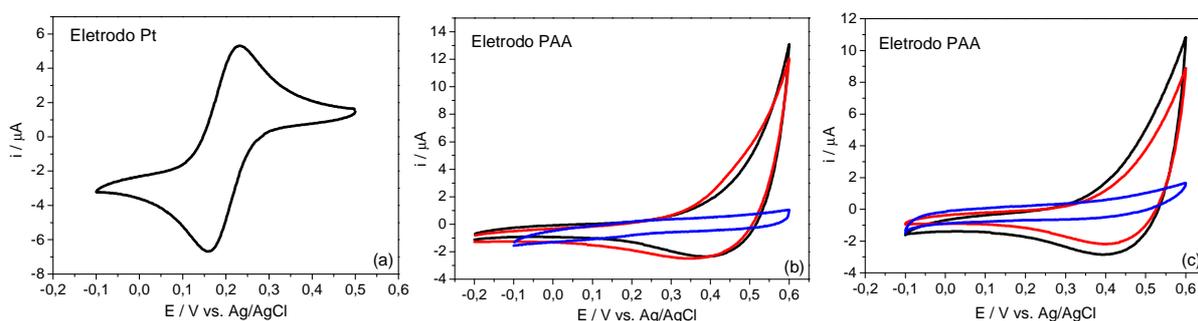


FIGURA 3.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodos (A) Pt não modificado e (B e C) Pt modificado com filme PAA em soluções de (—) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (a, b) 1,0 mmol L⁻¹ de K₃Fe(CN)₆ e (c) 1,0 mmol L⁻¹ de [Ru(NH₂)₆]Cl₃ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ obtidos (—) antes e (—) após aplicação do pré-tratamento catódico. $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

3.1.4 Estudo do comportamento eletroquímico de DA e AA utilizando eletrodo de PAA

Neste estudo foram utilizados os analitos DA e AA, devido apresentarem pares redox com comportamentos muito bem estabelecidos, para avaliar o comportamento voltamétrico frente ao eletrodo modificado com PAA. De acordo com resultados relatados em trabalhos anteriores¹⁸⁻¹⁹, e como já mencionados anteriormente, os processos de oxidação e redução da DA foram detectados somente após a aplicação de um pré-tratamento catódico sobre o eletrodo modificado com filme de PAA. Desta forma, foi possível distinguir claramente os processos catódicos e anódicos para a DA, enquanto que o AA teve seus processos eletroquímicos suprimidos pelo filme polimérico.

Após verificar estas condições, decidiu-se dar sequência nos estudos utilizando o filme de PAA, iniciando pelo estudo do eletrólito suporte utilizado para a síntese do filme de PAA, no qual se obteve diferentes filmes, mas com valores iguais e/ou próximos dos valores das cargas totais. Neste experimento foi utilizada uma concentração fixa do monômero 1-AA igual a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e variaram-se os eletrólitos suporte utilizados na síntese: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PTBA, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ LiClO_4 e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ HClO_4 . A comparação dos eletrodos modificados de diferentes formas foi realizada por meio das técnicas de CV e de DPV frente à melhor resposta obtida em solução de DA.

Na FIGURA 3.4 são mostrados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos com os eletrodos sintetizados com PTBA, LiClO_4 , e HClO_4 em solução de DA $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. O eletrodo cuja polimerização foi realizada utilizando LiClO_4 como eletrólito suporte, apresentou um aumento significativo na resposta de corrente para DA quando comparado às respostas obtidas com os filmes sintetizados com os outros dois eletrólitos. Este comportamento provavelmente pode estar relacionado à diferença na morfologia dos filmes poliméricos obtidos, como mostrados e mencionados na seção 4.2.2 e aos

diferentes tamanhos dos contra-íons que podem entrar e sair da cadeia polimérica. Os voltamogramas apresentados evidenciam, portanto, a elevada sensibilidade do eletrodo sintetizado com 1-AA e LiClO_4 na determinação de DA comparado aos outros eletrodos. Além disso, foi verificada uma baixa dissolução do monômero em meio de HClO_4 , na concentração utilizada, que possivelmente levou a uma polimerização do filme inadequada.

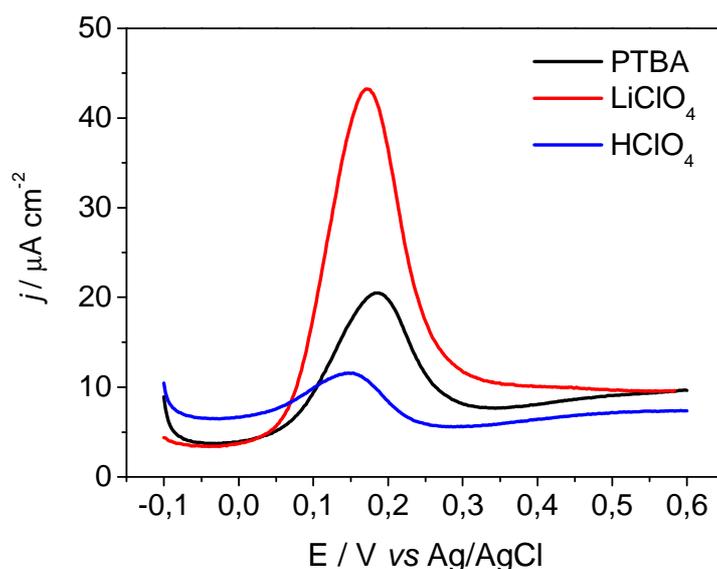


FIGURA 3.4 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodos de PAA polymerizados em diferentes condições: $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ 1-AA e (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PTBA, (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ LiClO_4 , (—) $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ HClO_4 . Respostas obtidas em solução DA $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Utilizando o eletrodo de PAA juntamente com a técnica de voltametria de pulso diferencial, com os parâmetros experimentais otimizados, obteve-se curvas analíticas pelas adições de alíquotas de solução padrão de DA em uma solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0 contida na célula eletroquímica e outra curva com adições de alíquotas de solução padrão de DA em uma solução de tampão fosfato contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AA.

Por meio dos voltamogramas, mediu a variação da corrente de pico e as curvas analíticas de corrente em função da concentração de DA foram determinadas. Antes de cada medida foi feita a desaeração da solução com

nitrogênio e foi aplicado o pré-tratamento catódico de $-0,7$ V por 3 s. Na FIGURA 3.5-A são apresentados os voltamogramas obtidos com o eletrodo de PAA, em um intervalo de concentração para a DA entre $5,60$ e $92,4 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Na FIGURA 3.5-B são mostradas as respectivas curvas analíticas para DA obtidas na ausência e presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AA. De acordo com os resultados, observou-se um aumento das intensidades de corrente de pico com o aumento da concentração de DA, apresentando um coeficiente angular de $0,9986$, e nenhuma interferência do AA. Os limites de detecção obtidos utilizando o eletrodo de PAA foram iguais a $1,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ para solução contendo somente DA e $3,48 \mu\text{mol L}^{-1}$ para a solução contendo DA na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AA.

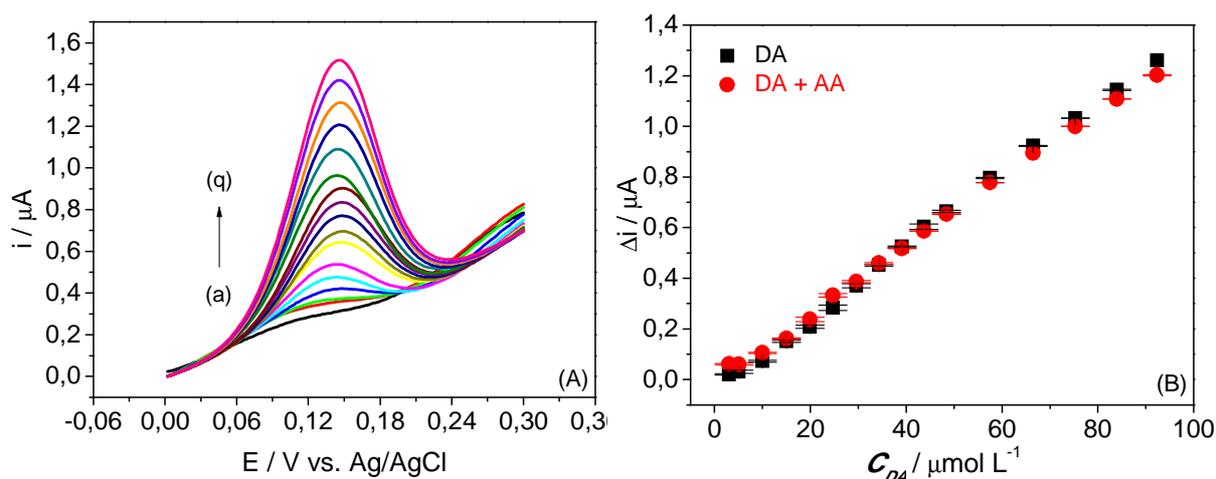


FIGURA 3.5 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo PAA em uma solução contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AA e diferentes concentrações de DA (a – q): $5,60 - 92,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ DA em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS. (B) Relação entre as curvas analíticas obtidas (●) somente com DA e outra (●) com DA + $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AA. Condições: $v = 0,005 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$.

3.2 Estudo do eletrodo compósito PAA e CNT

Com a finalidade de melhorar os limites de detecção e o intervalo de concentração para a DA, decidiu-se avaliar a influência dos CNTs na síntese dos filmes formando um compósito para avaliar a aplicação destes eletrodos modificados na determinação de DA em amostras biológicas.

O desenvolvimento de filmes nanocompósitos utilizando CNTs e CPs são de grande interesse devido à possibilidade de obtenção de novos materiais com melhores propriedades para a utilização em sistemas sensores. Neste contexto, testes preliminares foram realizados nesta parte do trabalho com o objetivo de desenvolver filmes compósitos sobre eletrodos de Pt utilizando o polímero condutor PAA e nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

3.2.1 Estudo do comportamento voltamétrico de DA em diferentes eletrodos compósitos

Experimentos iniciais em soluções de DA foram realizados com eletrodos compósitos modificados de diferentes formas utilizando o monômero 1-AA e CNTs. Neste estudo foram comparadas as respostas voltamétricas de DA obtidas com três eletrodos diferentes: (i) o *eletrodo 1*, modificado eletropolimerizando-se o filme de PAA sobre um eletrodo de Pt recoberto com um filme de CNT; (ii) o *eletrodo 2* foi modificado eletropolimerizando uma suspensão contendo o monômero 1-AA e CNT, por voltametria cíclica; (iii) no *eletrodo 3* foi realizada a eletropolimerização por cronoamperometria utilizando um eletrodo modificado nas mesmas condições que o *eletrodo 2*.

Na FIGURA 3.6 são mostrados os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial obtidos com os três eletrodos, em uma solução PBS pH 6,5 contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de DA. Observa-se nestes voltamogramas picos bem definidos para os processos de oxidação e redução da DA obtidos com os três

eletrodos modificados. Além disso, foi possível evidenciar que tanto a resposta de DA obtida por CV como por DPV apresentaram maiores valores de corrente quando obtidas utilizando o *eletrodo 3*, o qual apresentou um aumento aproximado de 5 e 20 vezes comparado aos *eletrodos 1 e 2*, respectivamente. Todos os resultados foram obtidos após a aplicação do pré-tratamento catódico.

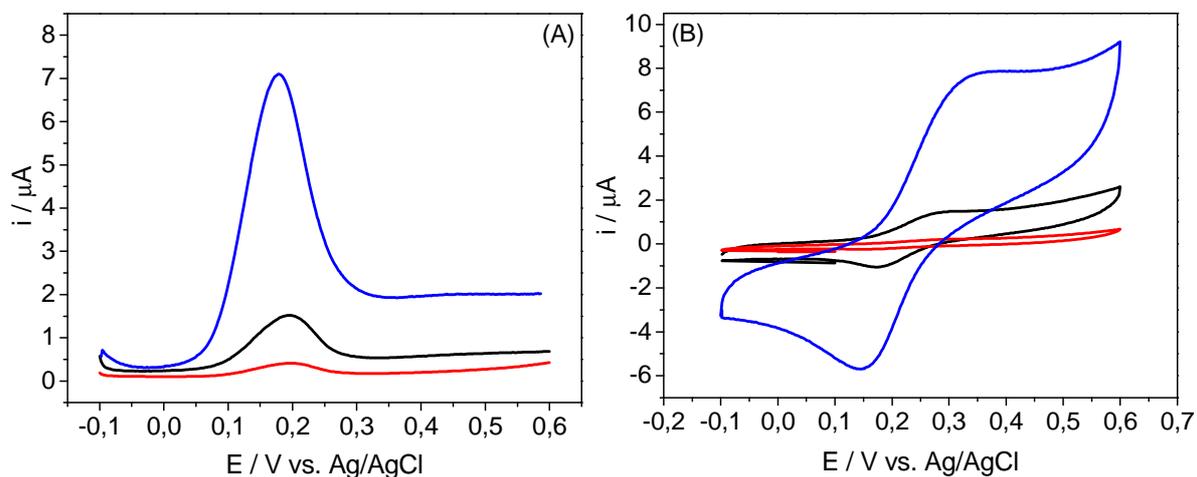


FIGURA 3.6 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial e (B) cíclicos para uma solução de DA $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,5) mostrando o perfil voltamétrico obtidos com os diferentes eletrodos. Condições: potencial condicional de $-0,7 \text{ V}$ por 3 s , $\nu = 0,01 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$. (—) eletrodo 1, (—) eletrodo 2, (—) eletrodo 3.

Comparações foram, então, realizadas entre as respostas voltamétricas obtidas para DA com os eletrodos eletropolimerizados por cronoamperometria (*eletrodo 3*) na presença e ausência de CNT, sendo polimerizados sobre eletrodos de platina eletroquimicamente com uma solução contendo o monômero 1-AA e os CNT dispersos, como descritos na parte experimental. As respostas da solução de DA $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ obtidas com os eletrodos PAA e PAACNT, após a aplicação do potencial de $-0,7 \text{ V}$ por 3 s são mostradas na FIGURA 3.7. Observa-se para ambos os eletrodos que os voltamogramas obtidos para DA apresentaram picos de oxidação próximos a $0,2 \text{ V}$. No entanto, pode-se verificar uma diferença significativa nos valores de correntes de pico obtidos entre estes eletrodos, sendo que o eletrodo PAACNT apresentou maior variação do valor de corrente para o processo de oxidação da

DA quando comparado à resposta obtida com o eletrodo contendo somente o filme de PAA. O aumento da intensidade da corrente de pico observado pode ser atribuído tanto a um aumento da área superficial do eletrodo quanto a uma diminuição na resistência do filme devido à presença dos CNTs. Desta forma, nos estudos subsequentes foram utilizados eletrodos compósitos contendo PAA e CNTs eletropolimerizados por meio da técnica de cronoamperometria.

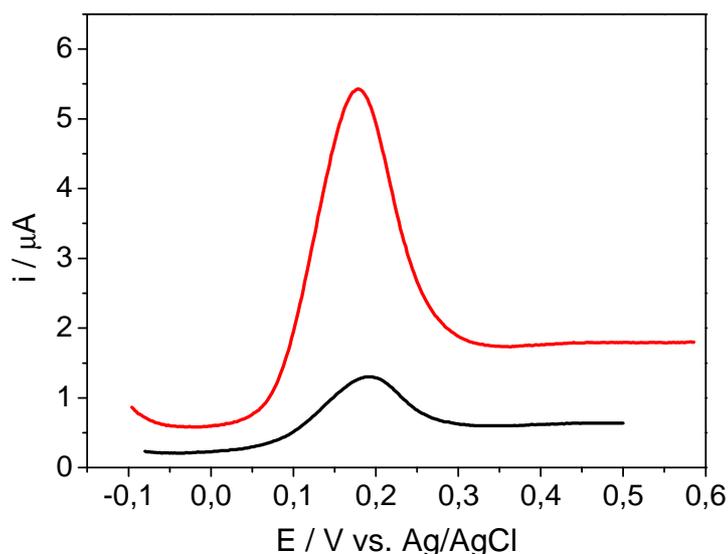


FIGURA 3.7 – Voltamogramas de pulso diferencial realizados em solução de DA 1,0 mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,5), utilizando eletrodo (—) PAA e (—) PAACNT. Condições: potencial condicional de -0,7 V por 3 s, $\nu = 0,01 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$.

3.2.1.1 Efeito do pré-tratamento catódico sobre o eletrodo PAACNT

Com o objetivo de obter uma melhora na resposta eletroquímica do eletrodo para a determinação do analito de interesse, optou-se por realizar o pré-tratamento no eletrodo modificado com o compósito, aplicando um potencial de -0,7 V durante 3 s antes de cada medida. Assim, o comportamento eletroquímico de DA e AA utilizando o eletrodo de PAACNT foi avaliado com e sem a aplicação do pré-tratamento catódico. Na FIGURA 3.8 estão representadas as respostas para a DA e AA obtidas com o eletrodo compósito, no qual pôde ser verificado um aumento na magnitude de corrente para DA após

a aplicação do pré-tratamento quando comparada à resposta obtida sem a aplicação do pré-tratamento. Além do aumento na intensidade da resposta de corrente, pode ser observado ainda na FIGURA 3.8-B que o eletrodo composto apresentou um perfil de pico mais definido para o AA e um deslocamento do potencial de pico para valores mais negativos de potenciais (próximo a 0,05 V), facilitando, portanto uma detecção simultânea das duas espécies.

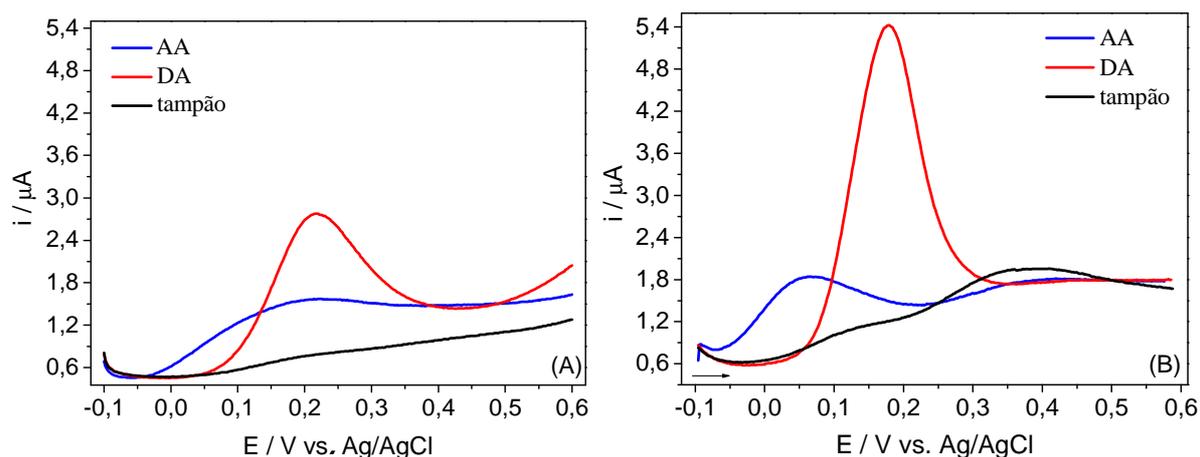


FIGURA 3.8 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com o eletrodo PAACNT: (A) sem a aplicação do pré-tratamento (B) com a aplicação do pré-tratamento de $-0,7$ V por 3 s, em soluções de (—) DA $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, (—) AA $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e (—) somente tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,5. Condições: $\nu = 0,01 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$.

Com a finalidade de se analisar a dependência da corrente de pico com a concentração da DA, medidas de DPV foram realizadas utilizando o eletrodo composto PAACNT e adicionando alíquotas de solução padrão de DA em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contida na célula eletroquímica. A curva analítica foi obtida com um intervalo de concentração entre $2,90 - 193 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, conforme FIGURA 3.9. O sistema apresentou resposta linear no intervalo de concentração estudado, obedecendo à equação: $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,058 + 0,017 * C_{DA} (\text{mol L}^{-1})$, com $r = 0,9966$. O limite de detecção encontrado foi igual a $0,31 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

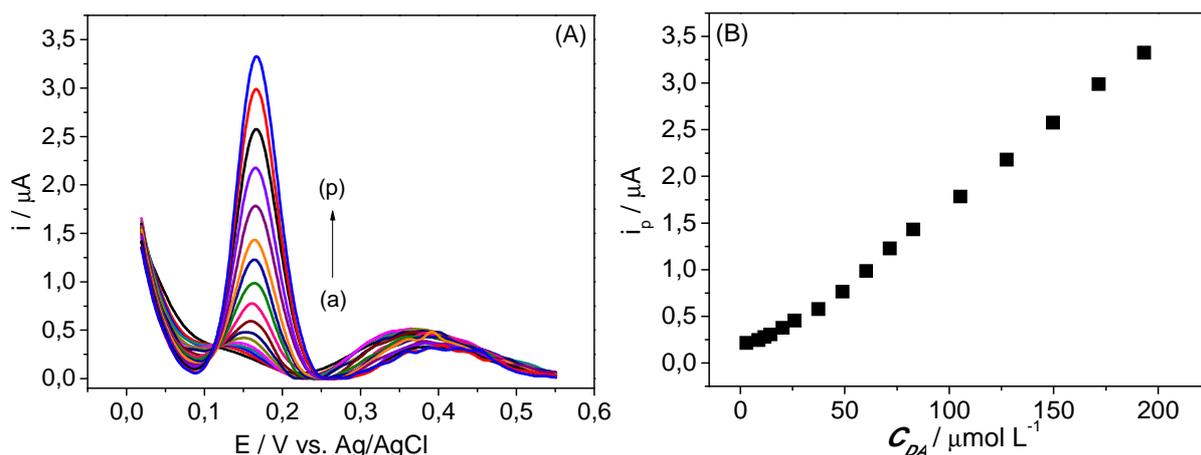


FIGURA 3.9 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo PAACNT para diferentes concentrações de DA: (a – p) 2,90 – 193 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em 0,1 mol L^{-1} PBS. (B) Curva analítica obtida. Condições: $v = 0,005 \text{ V s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,002 \text{ V}$ e $a = 0,05 \text{ V}$.

Uma vez que os testes apresentaram bons resultados, o passo seguinte foi então estudar com mais detalhes quais condições ótimas seriam necessárias para a determinação simultânea de DA, AA e AU com o intuito de aplicá-la em amostras biológicas. Deste modo, foi proposta uma análise multivariada dos parâmetros experimentais com o auxílio de ferramentas quimiométricas para a determinação de DA na presença dos interferentes AA e AU como discutido na próxima seção.

3.2.2 Determinação de DA, AA e AU utilizando PAACNT e ferramentas quimiométricas

3.2.2.1 Estudo do comportamento eletroquímico da mistura DA, AA e AU utilizando eletrodos de PAA e PAACNT

Os comportamentos voltamétricos de uma mistura ternária contendo AA, DA e AU utilizando diferentes eletrodos modificados, incluindo eletrodo de Pt modificado com PAA (designado como PAA), eletrodo modificado com PAA e CNT (PAACNT), e ambos os eletrodos pré-tratados

catodicamente (designados como p-PAA e p-PAACNT) foram analisados por meio da técnica de voltametria de pulso diferencial. Nas FIGURA 3.10 e FIGURA 3.11 estão apresentados os voltamogramas obtidos em um intervalo de potencial entre $-0,2$ V e $+0,8$ V com os diferentes eletrodos, inseridos em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU. As linhas em preto correspondem aos voltamogramas obtidos antes da aplicação do pré-tratamento catódico e as linhas em vermelho correspondem aos voltamogramas obtidos após a aplicação do pré-tratamento catódico.

Verifica-se, na FIGURA 3.10, que o voltamograma obtido com o eletrodo PAA não apresentou picos de oxidação para qualquer um dos analitos estudados, conforme mencionado anteriormente. Entretanto, após a aplicação do pré-tratamento no eletrodo PAA (designado p-PAA), um pico bem definido próximo a $+0,16$ V foi observado, o qual estaria relacionado à oxidação da DA sem resposta para o AA e AU.

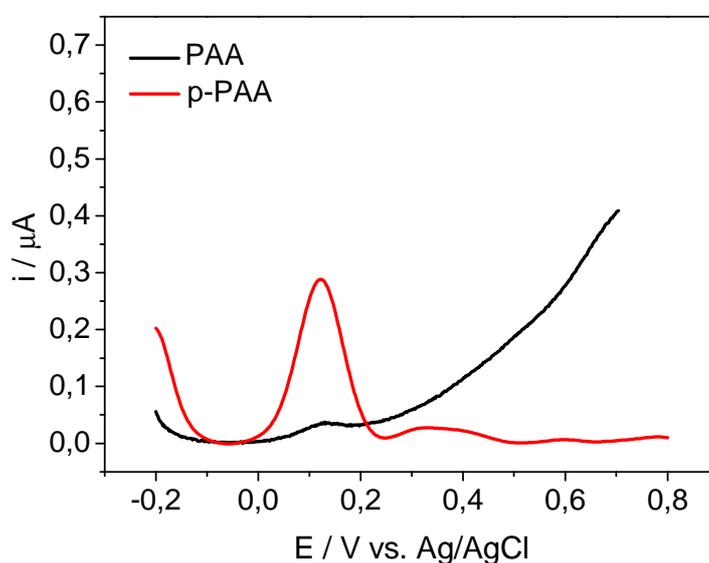


FIGURA 3.10 – Voltamogramas de pulso diferencial realizados em (—) eletrodo PAA, (—) eletrodo p-PAA em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH 7,0 contendo $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU.

Utilizando os eletrodos compósitos PAACNT e p-PAACNT em uma solução contendo a mistura DA, AA e AU nas mesmas concentrações, foi

possível observar dois picos de oxidação bem definidos obtidos com o eletrodo PAACNT e após a aplicação do pré-tratamento catódico (p-PAANTC) foi verificado quatro picos bem definidos com boa separação entre eles e elevadas magnitudes de corrente, como pode ser vistos na FIGURA 3.11. A modificação do eletrodo de platina com o filme compósito e aplicação do pré-tratamento catódico mostrou um efeito significativo sobre as respostas voltamétricas, resolvendo a sobreposição dos picos em quatro picos com potenciais em torno de $-0,039$, $+0,180$, $+0,351$ e $+0,576$ V, referentes às oxidações do AA, DA, AU e do polímero, respectivamente.

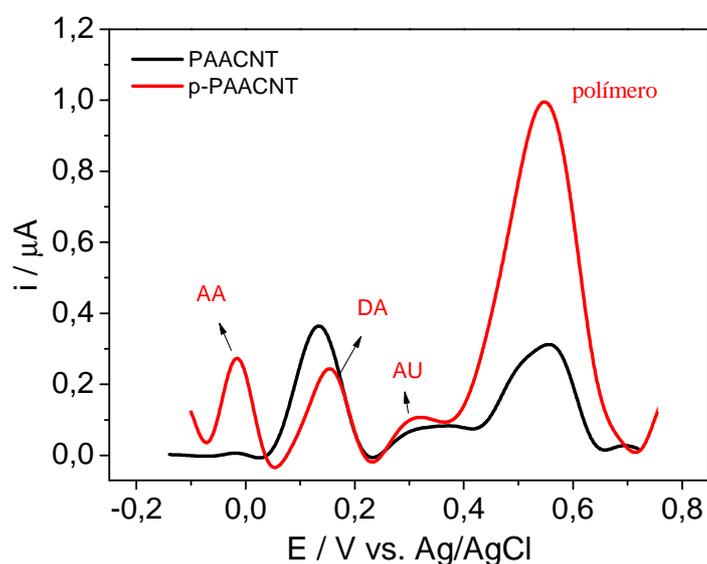


FIGURA 3.11 – Voltamogramas de pulso diferencial realizados em (—) eletrodo PAACNT e (—) eletrodo p-PAACNT em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU.

As curvas de DPV apresentaram uma boa separação dos potenciais de picos o que permite a determinação seletiva de AA, DA e AU na presença das outras duas espécies ou a determinação simultânea destes compostos em uma mistura. A atividade eletrocatalítica do eletrodo modificado, além do aumento da área da superfície do eletrodo desempenhou um papel fundamental na melhora da resposta voltamétrica para DA, AA e AU. Sendo que a adição de uma pequena quantidade de CNT ao PAA apresentou uma melhora significativa

nas propriedades eletrocatalíticas e eletrônicas do filme levando a uma sinergia positiva para a oxidação dos analitos estudados.

3.2.2.2 Otimização dos parâmetros para a determinação de DA na presença dos interferentes AA e AU, utilizando ferramentas quimiométricas

3.2.2.2.1 Planejamento fatorial fracionário

A aplicação do eletrodo compósito PAACNT para a determinação de DA na presença dos interferentes AA e AU envolve o estudo de importantes variáveis que podem afetar potencialmente o desempenho analítico do eletrodo. De forma a encontrar as melhores condições para a determinação simultânea, foram estudados os efeitos das variáveis para a síntese do filme de PAACNT e os efeitos das variáveis para a determinação dos analitos, ao mesmo tempo, utilizando um planejamento fatorial fracionário 2^{12-6} , conforme TABELA 2.1. Dos 64 experimentos previamente definidos a partir do planejamento fatorial fracionário (TABELA 2.2), informações significativas sobre as variáveis foram obtidas com 34 experimentos por meio da ferramenta PCA. A PCA foi avaliada com uma matriz de dados formada por 34 linhas (experimentos) e 18 colunas sendo 12 variáveis do planejamento fatorial fracionário mais 6 variáveis que são os parâmetros de pico obtidos como números de picos (1, 2 ou 3), a corrente e potenciais de pico bem como a separação dos picos. Os dados da PCA foram auto-escalados para dar a mesma importância a todas as variáveis. Vários experimentos foram realizados em duplicata, em dias subsequentes, e em alguns deles não foi possível calcular os parâmetros de pico acima relatados. Quando a PCA foi analisada, uma separação esperada de acordo com o número de picos observados foi notada. Analisando-se uma combinação de dados concluiu-se que o número de pico igual a 3, referentes ao AA, DA e AU, é caracterizada por

altos níveis de: eletrólito suporte da síntese, concentração de eletrólito suporte, potencial de polimerização, potencial do pré-tratamento catódico, concentrações AA e AU e pelos baixos níveis de: tempo de polimerização, eletrólito suporte (tampão) e tempo de pré-tratamento catódico.

Com base nos resultados obtidos, foram selecionadas as condições ideais para a determinação simultânea de AA, DA e AU conforme demonstrado na TABELA 3.1. Por outro lado, não foi possível obter uma conclusão clara sobre três variáveis: concentração do monômero, quantidade de CNT e pH da solução de determinação. Neste caso, um planejamento Doehlert foi realizado e estas três variáveis foram otimizadas utilizando um maior número de níveis.

TABELA 3.1 – Condições ideais identificadas com o planejamento fatorial fracionário

<i>Variáveis</i>	<i>Condições ideais</i>
Eletrólito suporte	LiClO ₄
Concentração eletrólito suporte	0,5 mol L ⁻¹
Potencial de polimerização	0,8 V
Tempo de polimerização	60 s
Eletrólito suporte (tampão)	PBS
Potencial pré-tratamento catódico	-0,7 V
Tempo pré-tratamento catódico	3 s
AA	1,0×10 ⁻³ mol L ⁻¹
AU	1,0×10 ⁻³ mol L ⁻¹

3.2.2.2.2 Planejamento Doehlert

É esperado que as variáveis concentração do monômero, quantidade de CNT e pH da solução possuam importante influência sobre a resposta do eletrodo p-PAACNT para DA, AA e AU. Com isto, estas variáveis foram

analisadas utilizando planejamento Doehlert para identificar os valores ideais destes três parâmetros e assim obter uma condição ótima de trabalho para a determinação simultânea dos analitos. A série de experimentos relacionados na TABELA 2.3 foi realizada em ordem aleatória, com condições ideais obtidas anteriormente no planejamento fatorial fracionário (ver TABELA 3.1). Para cada condição mostrada na TABELA 2.3, uma curva analítica para a dopamina foi construída mantendo constantes as concentrações de AA e AU em $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Tendo em conta a inclinação da curva analítica e a razão obtida entre as magnitudes das correntes de pico entre DA/AA e DA/AU, um modelo empírico foi avaliado por meio da análise de variância (ANOVA). O melhor modelo foi encontrado usando a razão DA/AA e um coeficiente de determinação igual a $0,7818^{135}$ foi obtido. Com a finalidade de interpretar estes resultados, gráficos de contorno foram construídos em função da concentração do monômero, da quantidade de CNT e do pH da solução, como mostrados na FIGURA 3.12. De acordo com os resultados, verificou-se que a concentração do monômero na faixa estudada não é significativa para a obtenção de uma melhor resposta para a DA. Por outro lado, a variação no pH da solução e a quantidade de CNT exibiu uma influência significativa na resposta voltamétrica para a DA. Assim, é necessário uma quantidade mínima de CNT e um valor de pH elevado para obter os três picos característicos para AA, DA e AU.

Em suma, as condições experimentais ótimas, em que um máximo das razões DA/AA e DA/AU foi encontrado utilizando o planejamento fatorial fracionário e planejamento Doehlert foram: concentração de monômero de $11 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, razão monômero e CNT de 3:1 (m/m), respectivamente, pH igual a 7,0 e as demais condições que estão listadas na TABELA 3.1.

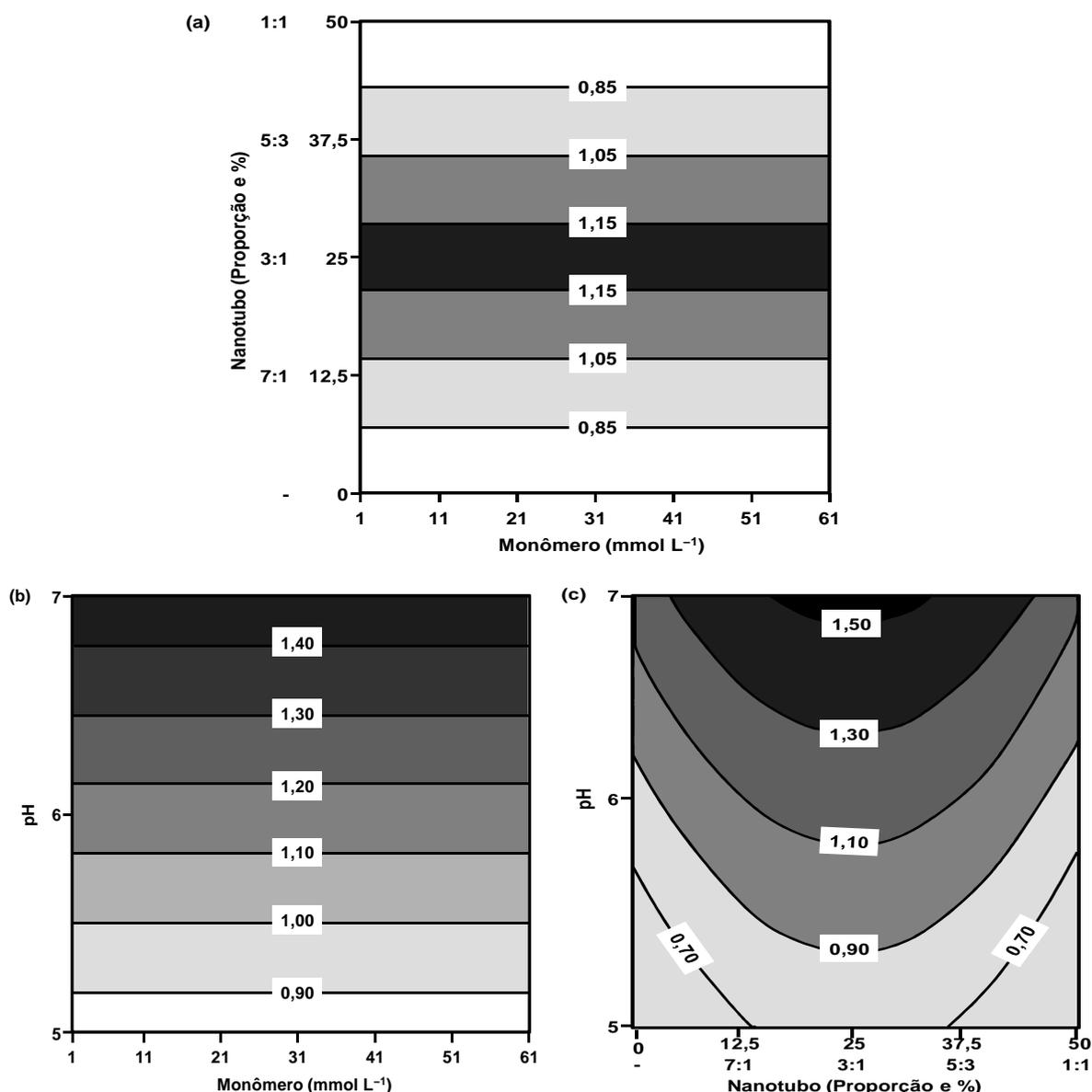
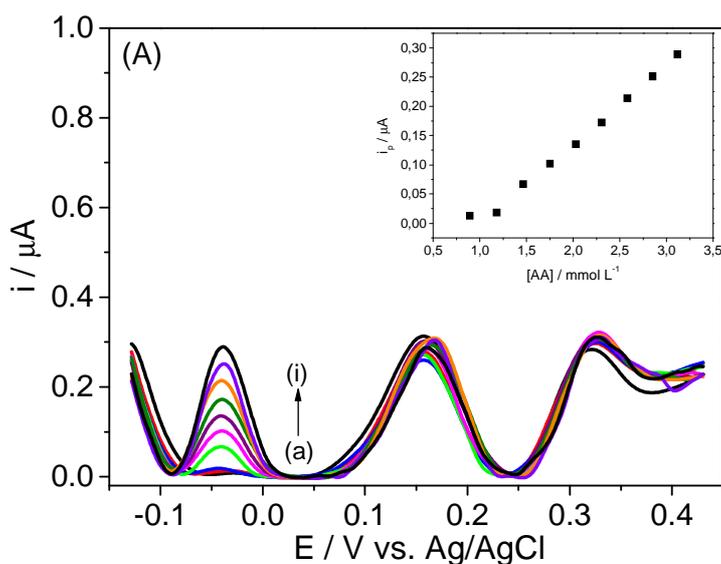


FIGURA 3.12 – Resposta da superfície de contorno obtida a partir do planejamento Doehlert para (a) concentração monômero vs. a quantidade de CNT, (b) concentração de monômero vs. pH da solução (c) quantidade de CNT vs. pH da solução.

3.2.2.3 Curvas analíticas para AA, DA e AU

Uma vez definidas as melhores condições de síntese e resposta analítica para determinação simultânea de AA, DA e AU, o eletrodo p-PAACNT foi preparado e avaliado. Neste contexto, três experimentos foram realizados sob condições ótimas. Em cada experimento, a concentração de um analito foi aumentada continuamente com adições sucessivas da solução padrão,

enquanto as concentrações das duas outras espécies foram mantidas constantes. Os resultados são mostrados na Fig. 4.13. As correntes de pico para cada analito aumentou linearmente com o aumento da sua respectiva concentração. Para o AA, a corrente de pico aumentou em função da concentração na faixa entre $0,60 - 3,12 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (FIGURA 3.13-A). A equação de regressão linear é expressa como $i_p(\mu\text{A}) = -0,12 + 129 * C_{AA} (\text{mol L}^{-1})$ com $r = 0,9958$ (inserida na FIGURA 3.13-A). Nenhuma mudança óbvia nas correntes de pico de DA e AU foi observada enquanto a concentração de AA foi variada. Para a DA, a dependência da corrente de pico com a concentração de DA foi linear no intervalo entre $3,54 - 136 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com $r = 0,9989$ (FIGURA 3.13-B). A equação de regressão linear é expressa como $i_p(\mu\text{A}) = -0,04 + 1,25 \times 10^4 * C_{DA} (\text{mol L}^{-1})$. E por último, a corrente de pico do AU aumentou linearmente ao longo de um intervalo de concentrações entre $0,76 - 2,92 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com equação igual a $i_p(\mu\text{A}) = -0,05 + 65,9 * C_{AU} (\text{mol L}^{-1})$ e $r = 0,9956$, conforme FIGURA 3.13-C. Os limites de detecção obtidos para AA, DA e AU foram iguais a $3,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $2,90 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $4,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.



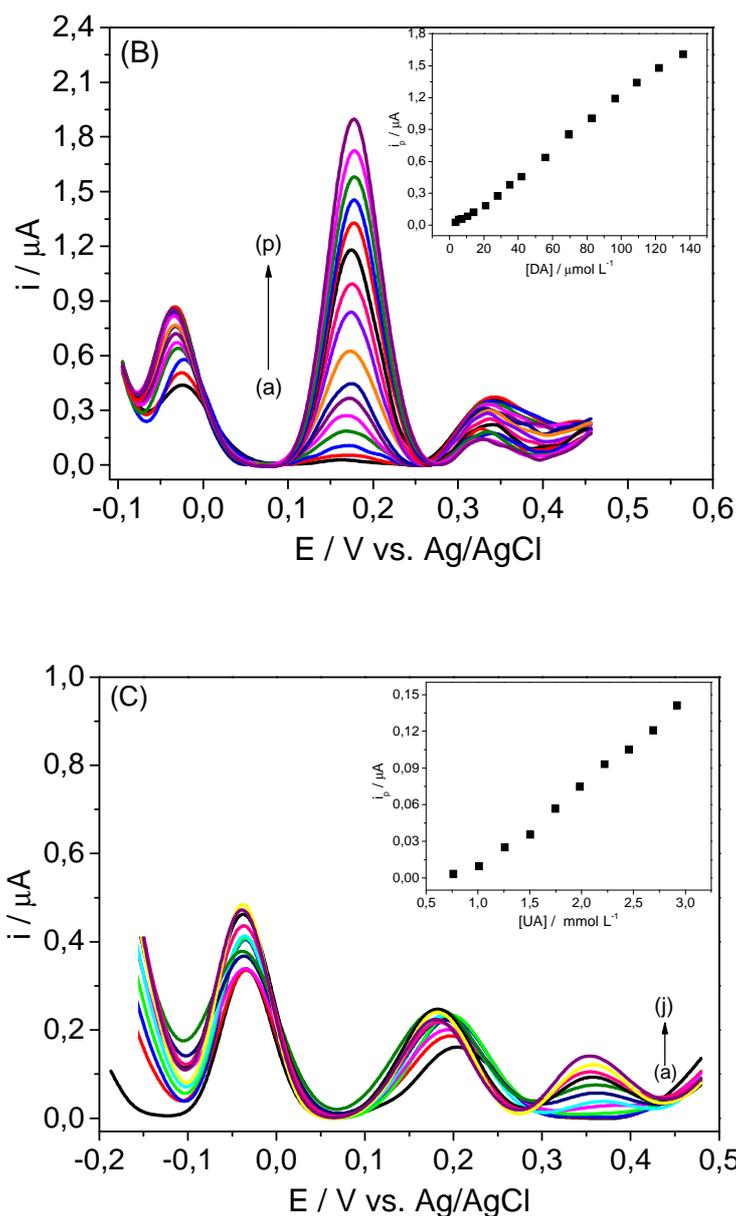


FIGURA 3.13 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo p-PAACNT em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo A) $2,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA, $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU e diferentes concentrações de AA (a – i): $0,60 - 3,12 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; B) $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU e diferentes concentrações de DA (a – p): $3,54 - 136 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; C) $1,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $2,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e diferentes concentrações de AU (a – j): $0,76 - 2,92 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A fim de analisar a repetibilidade do eletrodo de p-PAACNT, uma série de medidas consecutivas foi realizada em uma solução contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ AU. Os eletrodos pré-tratados catodicamente apresentaram uma boa repetibilidade, com desvio padrão

relativo (RSD) de 2,64%, 4,63% e 12,5% para AA, DA e AU, respectivamente, obtidas para dez medidas.

3.2.2.4 Estudo de adição e recuperação de DA, AA e AU em amostras biológicas e determinação de AU em urina humana

O processo de adição e recuperação foi realizado para avaliar a influência dos componentes da matriz das amostras sintéticas de urina e fluido cerebrospinal e das amostras de urina humana na determinação de DA, AA e AU. As determinações foram realizadas pelo método de adição de padrão nas mesmas condições experimentais da curva analítica e os resultados estão apresentados na TABELA 3.2 e TABELA 3.3. Como pode ser observado, o eletrodo p-PAACNT apresentou bons valores de recuperação para os diferentes analitos e amostras, com um menor valor de 84,5% para o AU e maior valor de 107% para o AA, ambos em amostra sintética de CSF. Na amostra de urina humana (TABELA 3.3) os valores das recuperações médias encontrados foram iguais a 98,3% para DA e 100% para o AU. Enquanto que para a urina sintética foram encontradas recuperações médias de 98,4 e 96,0% para DA e AU, respectivamente.

Estes valores indicam que os analitos avaliados com o eletrodo p-PAACNT não sofrem interferências de outras espécies presentes nas amostras dos fluidos biológicos utilizados nos experimentos aqui descritos. A determinação dos compostos em amostras sintéticas e reais, com uma boa faixa linear e excelente recuperação mostram a boa aplicabilidade prática do eletrodo compósito p-PAACNT nestas análises.

TABELA 3.2 – Estudo de recuperação para AA, DA e AU em amostras sintéticas de urina e fluido cerebrospinal obtidas com eletrodo p-PAACNT (n=3)

Amostra	Adicionado			Encontrado			Recuperado %		
	AA (10^{-3} mol L $^{-1}$)	DA (10^{-5} mol L $^{-1}$)	AU (10^{-3} mol L $^{-1}$)	AA (10^{-3} mol L $^{-1}$)	DA (10^{-5} mol L $^{-1}$)	AU (10^{-3} mol L $^{-1}$)	AA	DA	AU
<i>Urina</i>	0,89	0,47	0,52	$0,87 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,09$	$0,44 \pm 0,03$	97,6	94,2	84,6
	1,35	0,95	0,79	$1,20 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,04$	$0,77 \pm 0,04$	89,2	100	97,5
	1,77	1,90	1,05	$1,78 \pm 0,02$	$1,91 \pm 0,07$	$1,12 \pm 0,04$	101	101	106
<i>CSF</i>	0,89	0,12	0,52	$0,81 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,03$	91,6	86,2	84,5
	1,35	0,24	0,79	$1,30 \pm 0,03$	$0,24 \pm 0,01$	$0,75 \pm 0,07$	96,3	98,3	94,8
	1,77	0,37	1,05	$1,90 \pm 0,11$	$0,37 \pm 0,02$	$1,12 \pm 0,04$	107	101	106

TABELA 3.3 – Resultados de recuperação obtidos para DA e AU em amostras de urina humana utilizando eletrodo p-PAACNT (n=3)

Analito	Adicionado	Encontrado	Recuperado (%)
<i>DA</i> (10^{-5} mol L $^{-1}$)	0,58	$0,54 \pm 0,01$	93,0
	0,87	$0,89 \pm 0,02$	102
	1,17	$1,17 \pm 0,01$	100
<i>AU</i> (10^{-3} mol L $^{-1}$)	0,47	$0,47 \pm 0,00$	101
	0,70	$0,70 \pm 0,02$	100
	0,93	$0,93 \pm 0,01$	100

O método proposto foi aplicado na quantificação de AU em amostras de urina humana de voluntários sadios. Foi verificado que nestas amostras não continham quantidades detectáveis de DA utilizando este método, conforme pode ser observado na FIGURA 3.14, na qual estão representados os voltamogramas obtidos em uma amostra de urina humana diluída em PBS (proporção 1:50), com sucessivas adições de DA. Entretanto, em análises

rotineiras de laboratórios clínicos, nos quais quantificam os níveis de catecolaminas por meio de exames de urina 24 h o método pode ser aplicado. Nestes exames, elevadas concentrações de DA podem ser encontradas na urina, uma vez que o exame é realizado com amostras de urina colhidas durante um período de 24 horas e, portanto, a concentração de DA na amostra tende a ser elevada uma vez que a sua quantidade varia durante o dia^{72, 74}. Então, o desempenho do procedimento analítico foi aplicado na determinação de AU em urina humana, utilizando o método de adição de padrão, no qual foi encontrada uma concentração de AU igual a $1,38 \text{ mmol L}^{-1}$ ($2,32 \text{ mg/mL}$); que é compatível aos níveis de referência para pessoas saudáveis, tabelados pelos laboratórios de análises clínicas¹⁰⁴⁻¹⁰⁵.

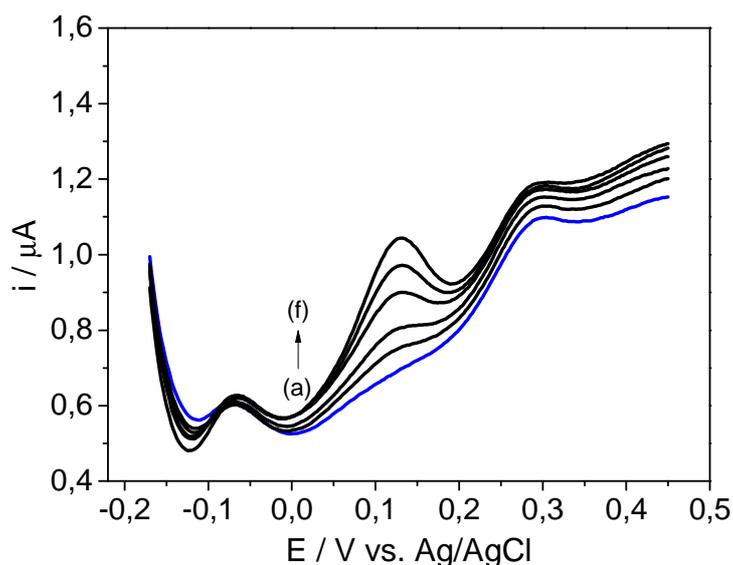


FIGURA 3.14 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo p-PAACNT em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH 7,0 (a) contendo urina humana, e (b – f) adições sucessivas de DA nas concentrações entre $0,58 - 1,80 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Em suma, neste estudo realizado com o eletrodo PAACNT para a determinação de DA na presença dos interferentes AA e AU, o procedimento se mostrou simples, rápido e eficiente podendo ser aplicado nas análises de amostras biológicas. Não sendo necessárias as etapas de preparo de amostras, as quais são indispensáveis na maioria das metodologias analíticas. O método proposto apresentou resultados satisfatórios nos estudos de recuperação sem a

interferência das matrizes analisadas. A união de CNTs, PAA e aplicação do pré-tratamento catódico levaram a uma sinergia positiva, resolvendo o pico sobreposto em três picos bem definidos para o AA, DA e AU. As ferramentas quimiométricas auxiliaram na obtenção das condições ótimas com um menor tempo de execução dos experimentos e menor consumo de reagentes. Comparando os resultados obtidos com o eletrodo p-PAACNT aos outros métodos eletroanalíticos reportados na literatura e citados anteriormente neste trabalho, pôde-se constatar a boa eficiência do método proposto, com limites de detecção comparáveis aos valores obtidos nos trabalhos citados na literatura ou até melhores.

3.3 Comportamento eletroquímico da Norepinefrina em eletrodo de PAA

Nesta etapa do trabalho será apresentada a utilização do eletrodo modificado com filme de PAA, para estudar o comportamento voltamétrico da NE, avaliar a influência do pré-tratamento catódico e aplicar este eletrodo na determinação de NE em formulações farmacêuticas. As otimizações de todos os parâmetros experimentais aplicadas para a determinação de NE foram as mesmas obtidas para a DA.

A princípio, foram realizados experimentos de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada para verificar a possibilidade de aplicação do eletrodo de PAA na determinação de NE. Os experimentos foram realizados em uma solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) na ausência e presença de $2,19 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ NE. Na FIGURA 3.15 encontram-se os voltamogramas cíclicos e de onda quadrada obtidos antes e após a aplicação do pré-tratamento catódico. Foi verificado nos voltamogramas cíclicos que os processos de oxidação e redução da NE neste eletrodo ocorreram nos potenciais de pico próximos a +0,18 e +0,15 V, respectivamente. De acordo com resultados obtidos, foi notado que o

comportamento eletroquímico da NE no eletrodo modificado com o filme de PAA apresentou um caráter mais reversível ($\Delta E_p = 0,05$ V) quando comparado ao eletrodo de platina não modificado ($\Delta E_p = 0,1$ V, resultados não apresentados aqui).

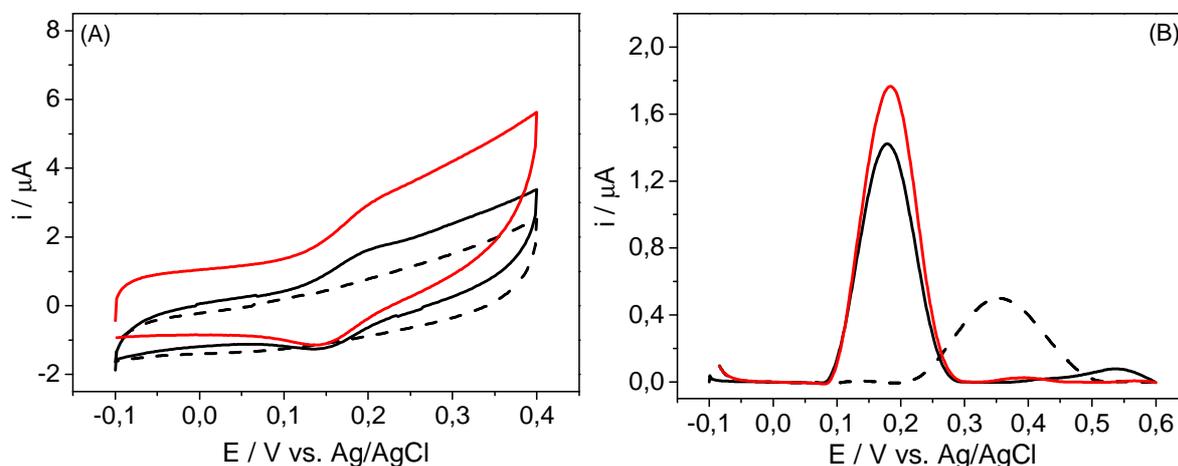


FIGURA 3.15 – (A) Voltamogramas cíclicos e (B) de onda quadrada, obtidos com eletrodo PAA em soluções (- -) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) e $2,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ NE, (—) antes e (—) após a aplicação do pré-tratamento catódico: $-0,7$ V por 3 s. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,001$ V e $a = 60$ s.

Foi verificado, ainda, que o eletrodo PAA não necessitou do pré-tratamento catódico para obter a resposta da NE. Mesmo assim, a influência do potencial aplicado no eletrodo de PAA foi avaliada. Na FIGURA 3.15 são apresentados os voltamogramas cíclicos para NE obtidos com o eletrodo de PAA antes e após aplicação do pré-tratamento catódico, no qual foi aplicado o potencial de $-0,7$ V por 3 s. Os voltamogramas cíclicos e de onda quadrada obtidos para NE com o eletrodo pré-tratado catodicamente (p-PAA) apresentaram um pequeno aumento na magnitude das correntes, porém não foram observadas diferenças significativas conforme foi observado anteriormente com a resposta para DA neste mesmo eletrodo. Este comportamento pode ser explicado provavelmente pela presença de mais um grupamento hidroxila na estrutura da molécula de NE comparada à molécula de DA, que pode ter favorecido os processos de oxidação/redução da NE na

superfície deste eletrodo. Mesmo não apresentando diferenças significativas entre os voltamogramas obtidos antes e após a aplicação do potencial de $-0,7$ V, a importância de aplicar este pré-tratamento na determinação de NE é devido ao aumento de 15,2%, na intensidade da corrente de pico que foi obtido; e, portanto, será mantido nos próximos experimentos apresentados.

3.3.1 Curva analítica para NE

A dependência da corrente de pico com a concentração da espécie eletroativa NE foi verificada por meio de medidas de voltametria de onda quadrada, no intervalo de potenciais entre $-0,1$ a $+0,6$ V, adicionando alíquotas de solução padrão de NE em uma solução eletrolítica $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contida na célula eletroquímica. Os voltamogramas estão ilustrados na FIGURA 3.16. A curva analítica foi obtida com um intervalo de concentração entre $2,18 - 99,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. O sistema apresentou resposta linear no intervalo de concentração estudado, obedecendo à equação: $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,002 + 0,004 * C_{NE}$ (mol L^{-1}), com limite de detecção de $0,58 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e coeficiente de correlação linear igual a 0,9988.

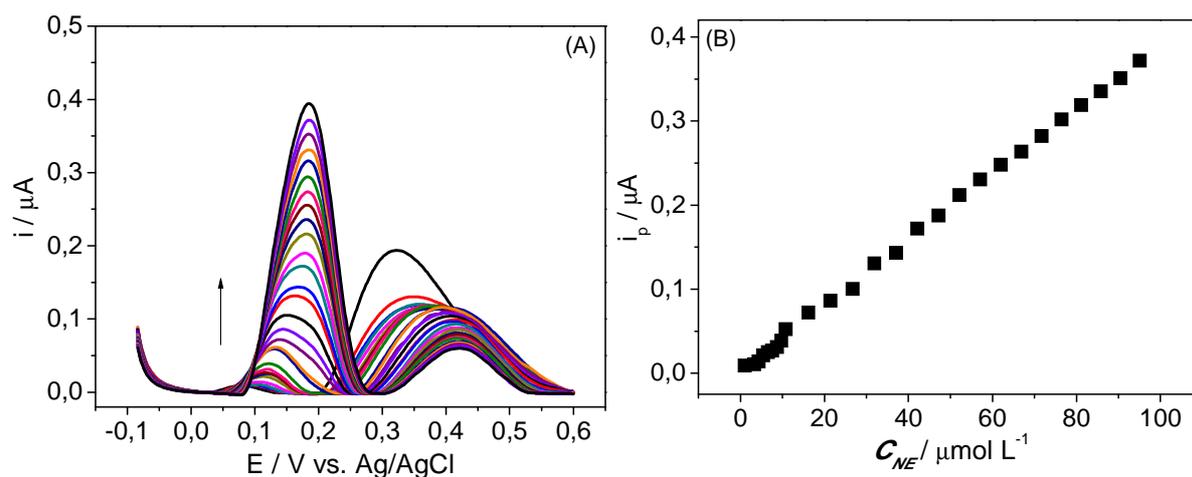


FIGURA 3.16 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAA para diferentes concentrações de NE no intervalo entre $2,18 - 99,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ NE em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS. (B) curva analítica obtida. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$ e $a = 60 \text{ s}$.

O estudo da repetibilidade foi realizado em solução de $6,63 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ NE em tampão fosfato pH 7,0 e com a técnica SWV. Foram realizadas dez voltametrias sucessivas, obtendo-se RSD igual a 3,76%.

3.3.2 Determinação e estudo de adição e recuperação de NE em amostras farmacêuticas

A influência de possíveis interferentes existentes na matriz da amostra analisada com o procedimento proposto foi avaliada por meio do estudo de adição e recuperação de NE em amostras farmacêuticas. Para este estudo, as amostras foram utilizadas sem tratamento prévio, sendo as soluções preparadas a partir das amostras líquidas injetáveis por meio de diluições simples em solução tampão fosfato pH 7,0. O medicamento utilizado apresentava valor nominal de 1,0 mg de bitartarato de NE base por mililitro de solução. Esta concentração foi, então, comparada ao valor determinado experimentalmente.

Na TABELA 3.4 estão apresentados os resultados obtidos no estudo de adição e recuperação de NE encontradas no medicamento. De acordo com estes resultados, a recuperação de NE apresentou um valor médio de 101%, indicando que não há interferência significativa da matriz da amostra na determinação de NE utilizando o eletrodo desenvolvido.

TABELA 3.4 – Estudos de adição e recuperação de NE em amostras de formulações farmacêuticas obtidos com o eletrodo p-PAA e SWV (n=3)

<i>Amostra</i>	<i>Adicionado</i> (10^{-5} mol L ⁻¹)	<i>Encontrado</i> (10^{-5} mol L ⁻¹)	<i>Recuperação</i> (%)
	2,17	2,26 ± 0,02	104
A	3,25	3,31 ± 0,01	101
	4,33	4,23 ± 0,01	97,7

a = média ± desvio padrão

O procedimento desenvolvido para a análise de NE foi testado em amostras injetáveis de ampolas farmacêuticas comerciais, utilizando o método de adição de padrão e empregando a técnica de SWV. Na FIGURA 3.17 são mostrados os voltamogramas obtidos na determinação de NE com o eletrodo de p-PAA. Os resultados eletroquímicos obtidos com o método proposto foram comparados utilizando o método espectrofotométrico recomendado pela Farmacopéia Espanhola¹⁴⁵, os quais estão reunidos na TABELA 3.5.

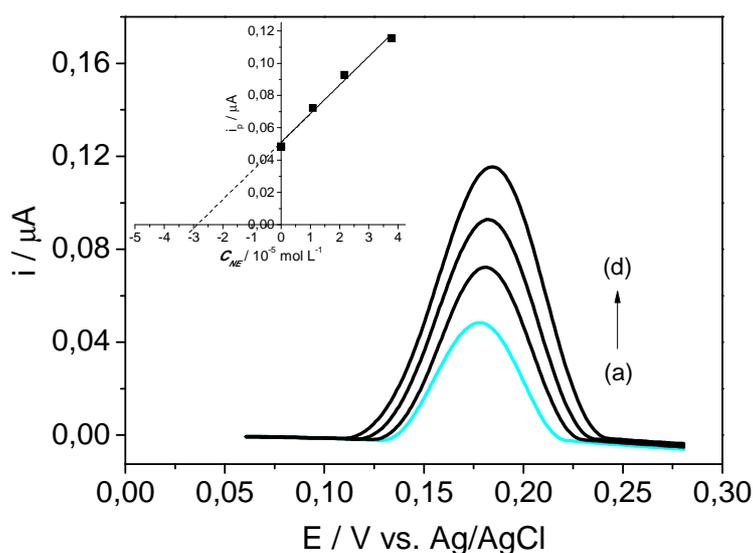


FIGURA 3.17 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAA para a determinação de NE em ampolas farmacêuticas: (a) amostra, (b) amostra + $1,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (c) amostra + $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (d) amostra + $3,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NE. A figura inserida corresponde à curva obtida.

TABELA 3.5 – Resultados obtidos com o eletrodo de p-PAA e o método espectrofotométrico na determinação de NE em formulações farmacêuticas

<i>Norepinefrina / mg mL⁻¹</i>				
Valor rotulado	espectrofotométrico ^a	voltamétrico ^a	Er ^b (%)	Er ^c (%)
1,00	$0,99 \pm 0,01$	$1,02 \pm 0,03$	3,03	2,00

a = média ± desvio padrão (n=3); b = método voltam. vs. espect.; c = método volt. vs. valor rotulado

$t_{\text{crit}} = 2,92$ a 95% confiança ; $t_{\text{exp}} = 1,34$

Os valores encontrados, por meio do método espectrofotométrico e o método proposto, bem como aqueles encontrados nos rótulos das ampolas comerciais estão bem próximos entre si. Além disso, os valores dos erros calculados apresentaram diferenças relativas satisfatórias. Aplicou-se o teste t pareado¹¹⁶ com o objetivo de comparar os resultados obtidos pelos dois métodos, obtendo-se valores de $t_{\text{exp}} = 1,34$ e $t_{\text{crítico}} = 2,92$ para um nível de confiança de 95%. Como o valor de t_{exp} é menor que o valor de $t_{\text{crítico}}$ concluiu-se que os resultados obtidos na determinação de NE pelo método proposto e espectrofotométrico não apresentaram diferenças significativas, para um nível de confiança de 95%.

Enfim, o método voltamétrico proposto para a determinação de NE é simples, sensível e rápido. Os resultados foram satisfatórios, possibilitando o emprego deste sensor para a quantificação de NE em formulações farmacêuticas, sendo uma alternativa aos métodos oficiais que necessitam de um tratamento prévio das amostras ou que apresentam um elevado custo e gasto de reagentes.

3.4 Eletropolimerização do filme PAAQ e comportamento eletroquímico de DA, AA, AU e HQ

Nesta seção será apresentada a síntese do filme de PAAQ sobre eletrodo de platina bem como as imagens da morfologia dos filmes adquiridas por SEM, além dos resultados obtidos com este eletrodo modificado em soluções de DA, AA, AU e HQ. Para obter o melhor desempenho do eletrodo de PAAQ foi realizada uma otimização univariada, na qual foram estudados os parâmetros experimentais tais como a concentração do monômero, a concentração do eletrólito suporte, o pré-tratamento catódico, o pH da solução e os parâmetros das técnicas de DPV e SWV. Além disso, serão apresentados os resultados obtidos com a aplicação do procedimento analítico desenvolvido no estudo de adição e recuperação dos analitos em amostras biológicas e farmacêuticas.

3.4.1 Crescimento do filme PAAQ

A polimerização do filme de PAAQ foi realizada a partir de uma solução contendo $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de 1-AAQ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiClO_4 em meio de acetonitrila, aplicando 10 ciclos voltamétricos e velocidade de $0,1 \text{ V s}^{-1}$. Na FIGURA 3.18 são apresentados os voltamogramas obtidos durante a eletropolimerização do filme sobre o eletrodo de platina, no qual foi aplicado um intervalo de potencial de $-0,1$ e $+1,3 \text{ V}$. Foi obtido um filme homogêneo e aderente à superfície do eletrodo com coloração cinza escuro.

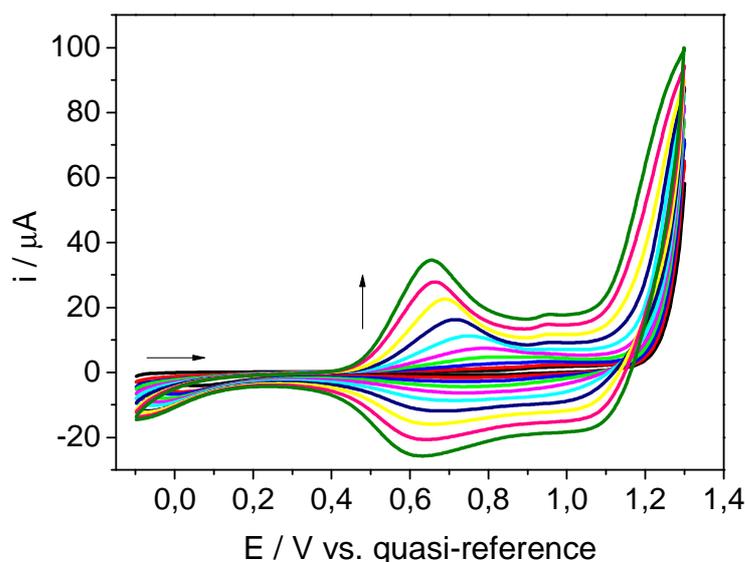


FIGURA 3.18 – Voltamogramas cíclicos do crescimento do filme de PAAQ sobre eletrodo de Pt. Solução 10 mmol L^{-1} de 1-AAq, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ LiClO_4 em meio de acetonitrila, 10 ciclos e $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Durante o processo de polimerização, um pico anódico irreversível próximo a $+1,15 \text{ V}$ correspondendo à oxidação do monômero foi observado. Segundo a literatura⁴⁴, este pico pode ser atribuído à oxidação do grupo amino a um radical cátion com subsequente formação de dicátions. Dois pequenos picos foram observados durante a varredura reversa, nos potenciais próximos a $+0,65$ e $+1,12 \text{ V}$ registrados a partir do quinto ciclo voltamétrico, os quais foram aumentando nos ciclos subsequentes. Por fim, picos catódico e anódico foram observados em $+0,65 \text{ V}$ e $+0,62 \text{ V}$, respectivamente, após ciclagem contínua, sendo que os valores das correntes de picos foram aumentadas, relacionadas ao crescimento do polímero na superfície do eletrodo de platina.

3.4.2 Caracterização morfológica do filme PAAQ

A morfologia dos filmes de PAAQ foi examinada pela técnica microscópica SEM. A análise da morfologia foi realizada em filmes eletropolimerizados em placas de silício recobertas com platina, nas mesmas condições descritas na seção anterior. Na FIGURA 3.19 são ilustradas as

micrografias obtidas em diferentes escalas. Pôde-se observar uma estrutura uniforme em toda sua extensão apresentando ramificações (FIGURA 3.19-A e FIGURA 3.19-B). De acordo com a literatura, na qual os autores estudaram recentemente a síntese química do PAAQ⁴³, é relatado que a morfologia do filme apresenta formações de nanofibrilas, similar a imagem ilustrada na FIGURA 3.19-C.

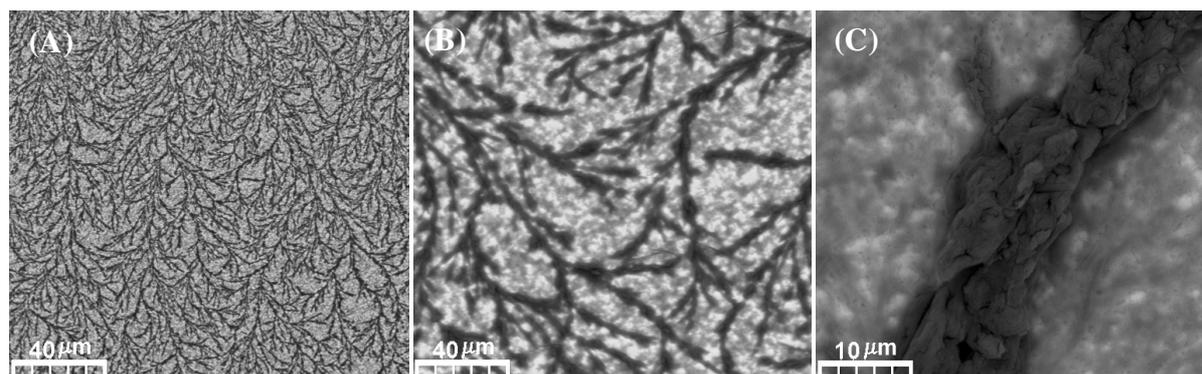


FIGURA 3.19 – Imagens de SEM com escalas de (A) 100 μm, (B) 40 μm e (C) 10 μm, obtidas a partir da superfície dos filmes de PAAQ eletropolimerizados sobre eletrodos de Pt em soluções preparadas com 10 mmol L⁻¹ 1-AAQ e 0,1 mol L⁻¹ LiClO₄ em meio de acetonitrila, aplicando 10 ciclos voltamétricos e $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

3.4.3 Comportamento eletroquímico de DA utilizando eletrodo de PAAQ

Inicialmente, com o intuito de averiguar o comportamento eletroquímico da DA utilizando o eletrodo de Pt modificado com filme de PAAQ, experimentos voltamétricos foram realizados em meio de tampão fosfato na região entre -0,1 a +0,6 V. Os perfis voltamétricos na ausência e presença de DA foram registrados por CV, conforme mostrados na FIGURA 3.20. Foi possível observar picos de oxidação e redução em potenciais próximos de +0,25 V e +0,09 V, respectivamente, e atribuídos aos processos redox da DA⁹². Notou-se que o pico de oxidação da DA deslocou para valores mais positivos quando comparado à resposta de DA obtida com o eletrodo de platina não modificado (+0,20 V, resultados não mostrados aqui) e o valor da corrente de pico permaneceu praticamente a mesma. No entanto, o objetivo de se modificar o

eletrodo de Pt com um filme polimérico é poder resolver a sobreposição dos picos de DA e AA em dois picos bem definidos.

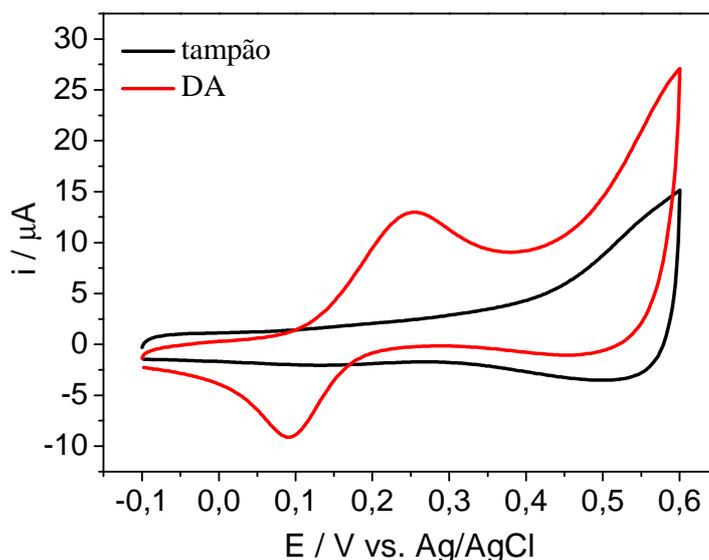


FIGURA 3.20 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de PAAQ em PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) na presença e ausência de DA 5,6x10⁻⁵ mol L⁻¹, com aplicação do pré-tratamento catódico.

3.4.3.1 Efeito do pré-tratamento catódico

Mesmo o filme de PAAQ apresentando boa resposta para DA sem a necessidade de aplicar o pré-tratamento catódico no eletrodo, ainda assim a influência do pré-tratamento catódico foi verificada, aplicando um potencial de -0,7 V por 3 s antes de cada medida voltamétrica. Na FIGURA 3.21 estão ilustrados os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial obtidos antes e após a aplicação do pré-tratamento catódico no eletrodo, contido em uma solução de 5,6x10⁻⁵ mol L⁻¹ de DA em meio de 0,1 mol L⁻¹ PBS (pH 7,0). Foi observado nos voltamogramas obtidos com ambas as técnicas um aumento no valor da corrente de pico de oxidação da DA. Entretanto, nos voltamogramas de pulso diferencial, o eletrodo PAAQ pré-tratado catodicamente (designado p-PAAQ) apresentou um aumento maior que duas vezes na resposta de corrente de pico para DA quando comparado à resposta de corrente obtida sem a aplicação do pré-tratamento.

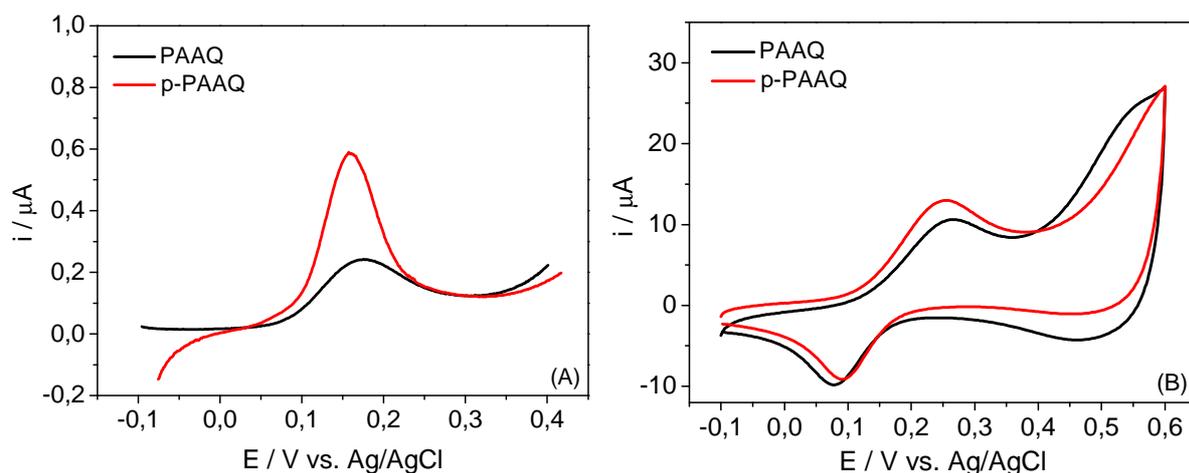


FIGURA 3.21 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial e (B) voltamogramas cíclicos, obtidos com o eletrodo de PAAQ em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) na presença de $5,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de DA, (—) antes e (—) após a aplicação do pré-tratamento catódico.

Este comportamento difere um pouco do comportamento observado anteriormente utilizando o eletrodo p-PAA para DA, nos quais os resultados demonstraram que o pré-tratamento catódico alterou a propriedade electrocatalítica do filme de tal maneira que o eletrodo começou a apresentar resposta electroquímica para a DA. O comportamento voltamétrico da DA observado em eletrodo modificado com filme de PAAQ pode ser explicado devido à presença de dois grupos funcionais cetônicos em posições oposta presentes na molécula do monômero, o que aumentaria o número de sítios ativos, facilitando os processos de oxidação/redução da DA no meio estudado.

3.4.3.1.1 Estudo do efeito do pré-tratamento catódico na resposta electroquímica de DA em eletrodo de PAAQ

O pré-tratamento do eletrodo foi escolhido a partir de estudos realizados por SWV com o eletrodo de PAAQ em solução de $5,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de DA. Neste experimento foi variado tanto o potencial como o tempo de aplicação do pré-tratamento, nos quais foram aplicados os seguintes potenciais: $-0,1 \text{ V}$, $-0,3 \text{ V}$, $-0,5 \text{ V}$, $-0,7 \text{ V}$, $-0,9 \text{ V}$ e $-1,2 \text{ V}$, sendo que para cada potencial

manteve-se fixo um tempo de 3 s. Na FIGURA 3.22 são mostrados os voltamogramas obtidos e os respectivos valores de corrente de pico em função do potencial aplicado. Pode ser observada, que a melhor resposta para DA foi obtida quando se utilizou um potencial de $-0,9$ V e em potenciais acima deste valor houve uma diminuição da magnitude de corrente de pico e o surgimento de um segundo pico próximo a $+0,3$ V que pode estar relacionado à mudança do grupo quinona do polímero para hidroquinona. Além disso, em potenciais acima de $-0,9$ V foi verificado uma instabilidade nas respostas que pode estar associada a uma possível modificação química no polímero.

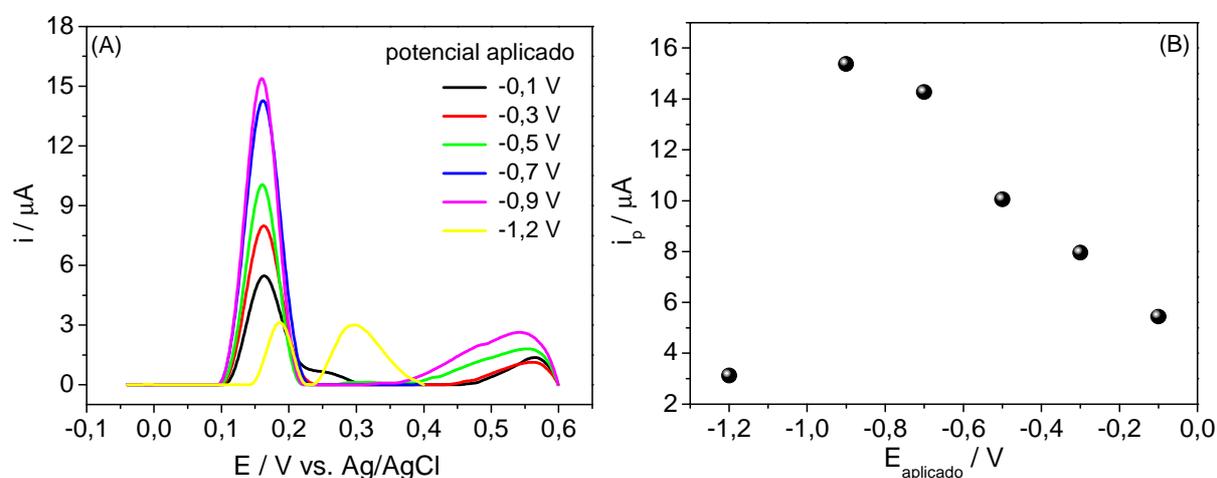


FIGURA 3.22 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de PAAQ em uma solução de DA $5,4 \times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$ em meio de PBS $0,1$ mol L $^{-1}$ (pH 7,0) aplicando diferentes potenciais: $-0,1$ V, $-0,3$ V, $-0,5$ V, $-0,7$ V, $-0,9$ V e $-1,2$ V por 3 s. (B) Valor da corrente de pico obtida em função do potencial aplicado.

Foi verificado ainda, nos voltamogramas cíclicos obtidos com este estudo (não mostrados aqui), que os sistemas redox da DA apresentaram processos mais reversíveis quando aplicado os potenciais de $-0,7$ V e $-0,9$ V no eletrodo de PAAQ, comparado aos outros três potenciais aplicados. As diferenças de potenciais (ΔE_p) dos picos anódicos e catódicos obtidos com o pré-tratamento foram iguais a $0,269$ V para os potenciais aplicados de $-0,7$ V e $-0,9$ V, e $\Delta E_p = 0,347$ V para os potenciais $-0,1$ V, $-0,3$ V e $-0,5$ V. Sugerindo,

assim, que este filme apresenta propriedades eletrocatalíticas quando aplicado o pré-tratamento catódico.

A influência do tempo de aplicação do potencial do pré-tratamento também foi avaliada. Neste estudo foi aplicado um potencial constante de $-0,7$ V e variou-se o tempo de aplicação em 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30 e 60 s. A FIGURA 3.23 ilustra os voltamogramas obtidos, e conforme pode ser observado, a melhor resposta de corrente foi obtida com a aplicação do potencial em um tempo igual a 3 s. Foi verificado também que o pré-tratamento não é um efeito de pré-concentração do analito na superfície do filme, conforme mostrado na FIGURA 3.23-B que ocorreu uma queda nos valores de corrente com o aumento do tempo de potencial aplicado.

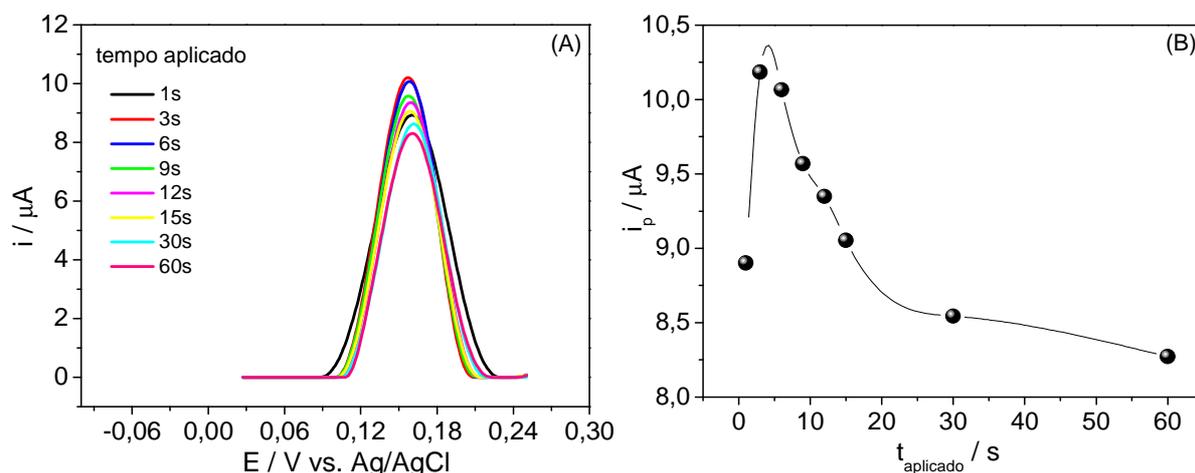


FIGURA 3.23 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de PAAQ em solução de DA $5,0 \times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$ em meio de PBS 0,1 mol L $^{-1}$ aplicando o potencial de $-0,7$ V em diferentes tempos: 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30 e 60 s. (B) Valor da corrente de pico obtida em função do tempo aplicado.

3.4.3.2 Variação da velocidade de varredura

Foi analisado o efeito da variação da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica do eletrodo p-PAAQ na presença de DA com concentração de $5,46 \times 10^{-4}$ mol L $^{-1}$ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L $^{-1}$ (pH 7,0). O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar o processo de

oxidação da DA, no qual se variou a velocidade de varredura no intervalo entre 0,01 e 0,2 V s^{-1} . Os resultados obtidos estão apresentados na FIGURA 3.24, sendo verificado por meio dos voltamogramas cíclicos um aumento dos valores nas correntes de pico de oxidação e redução com o aumento da velocidade de varredura, bem como os potenciais de picos deslocaram-se para regiões mais positivas e negativas conforme os processos de oxidação e redução, respectivamente, que possivelmente está relacionado com a taxa de transferência eletrônica entre o polímero e o eletrodo, a qual pode diminuir com o aumento da velocidade.

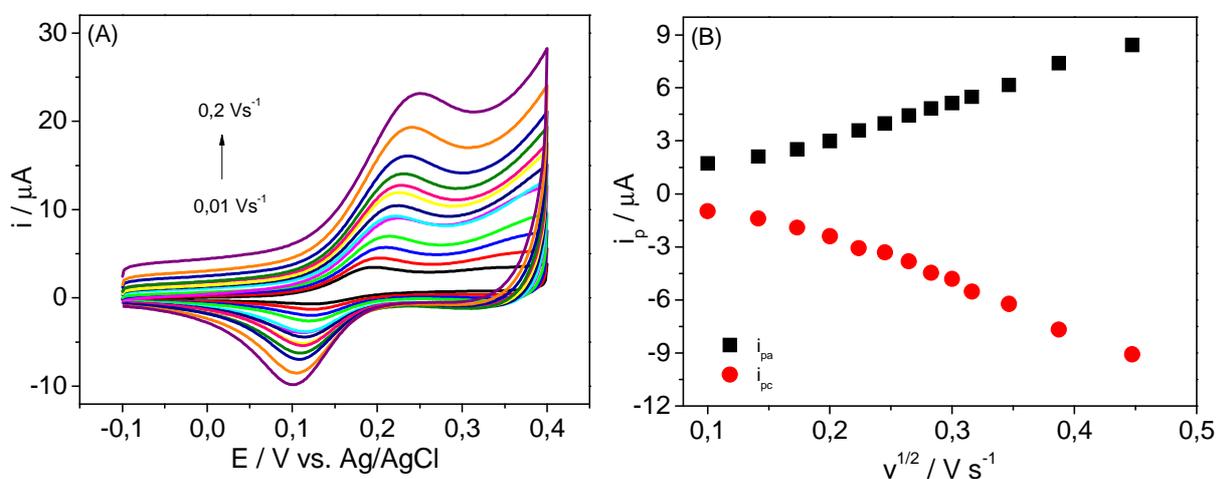


FIGURA 3.24 – (A) Voltamogramas cíclicos da oxidação de $5,46 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DA, utilizando eletrodo p-PAAQ em diferentes velocidades de varredura. (B) Relação entre as correntes anódicas e catódicas com $v^{1/2}$.

A partir dos valores de correntes de pico obtidos dos voltamogramas cíclicos apresentados na FIGURA 3.24-A, foi construído um gráfico de corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura, exibido na FIGURA 3.24-B. E, como podem ser observadas, as correntes de pico de oxidação variou linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, sugerindo um processo que pode ser controlado pela difusão¹⁴⁶. Entretanto, é importante ressaltar que os fenômenos que envolvem o transporte do material eletroativo em polímeros condutores diferem daqueles envolvidos nos eletrodos sólidos não modificados, pois os processos de oxi-

redução nestes polímeros são resultantes de processos de entrada e saída de íons na interface entre a matriz polimérica e a solução e movimentos de íons no polímero em si¹⁴⁷.

3.4.3.3 Influência das condições de síntese do eletrodo de PAAQ na resposta para DA

Para estabelecer as melhores condições de análise na determinação de DA, os parâmetros experimentais da síntese do filme de PAAQ foram otimizados tais como: a concentração do monômero, tipo de eletrólitos suporte, concentração do eletrólito suporte e o número de ciclos polimerizados. A melhor condição foi definida a qual levou a uma resposta de corrente de pico máxima e com bom perfil de pico para DA. Para isto, uma série de experimentos voltamétricos foi realizada nas condições acima referidas e os resultados são apresentados a seguir.

3.4.3.3.1 Efeito do número de ciclos

Inicialmente, foi estudado o número de ciclos voltamétricos aplicados na eletropolimerização do filme de PAAQ a fim de averiguar a aderência e espessura do filme, bem como a melhor resposta eletroquímica frente à oxidação de DA. Neste estudo, o número de ciclos foi variado em 5, 10, 20, 30 e 50, enquanto que foram mantidos constantes outros parâmetros, tais como a concentração do monômero 1-AAQ igual a 10 mmol L^{-1} , concentração do eletrólito suporte (LiClO_4) de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, intervalo de potencial de varredura entre $-0,1$ e $+1,3 \text{ V}$ e velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$. Após a formação dos filmes poliméricos sobre a superfície do eletrodo de platina realizaram-se as medidas voltamétricas em uma solução $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de DA, e os resultados obtidos estão ilustrados na FIGURA 3.25. Entre os ensaios realizados observou-se maior intensidade de corrente de pico de oxidação de DA quando a síntese foi

realizada com 10 ciclos voltamétricos ($Q_T = 1,48 \text{ mC}$), como pode ser verificada na Figura 4.25-B.

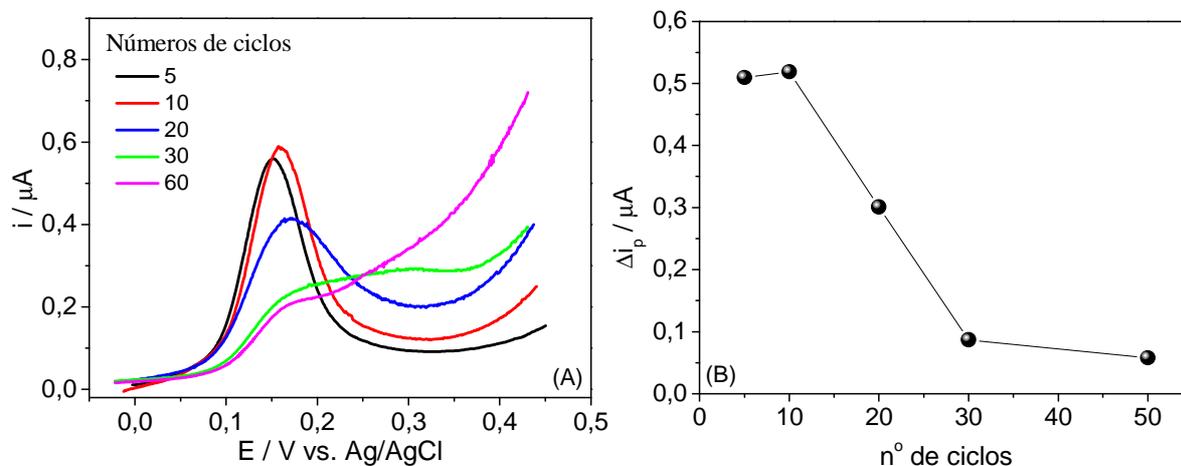


FIGURA 3.25 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução de DA com eletrodo de p-PAAQ eletropolimerizado em diferentes números de ciclos voltamétricos: 5, 10, 20, 30 e 50 ciclos. Solução de DA $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0). (B) Valor da corrente de pico obtida em função do número de ciclos.

Durante a análise do número de ciclos aplicados para a síntese do filme, foi observado que as respostas voltamétricas em tampão fosfato na ausência de DA, obtidas com os eletrodos eletropolimerizados a partir de 20 ciclos, apresentavam picos bem definidos entre os potenciais +0,1 e +0,2 V após a aplicação do pré-tratamento catódico no eletrodo. Na FIGURA 3.26 estão ilustradas os voltamogramas obtidos em soluções $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,0), com os eletrodos polimerizados com: 5, 10, 20, 30 e 50 ciclos.

O comportamento observado nos filmes obtidos com números de ciclos maiores que 20 pode estar ocorrendo devido ao espessamento do filme que pode levar a mudanças nas propriedades do filme de PAAQ. De acordo com os resultados obtidos em solução de DA e em tampão fosfato, as melhores respostas foram obtidas com o eletrodo modificado com 10 ciclos, no qual apresentou boa resposta para DA e nenhuma resposta para o tampão fosfato, que poderia interferir nas análises. Os estudos subsequentes foram, então, realizados com filmes de PAAQ eletrodepositados com 10 ciclos voltamétricos.

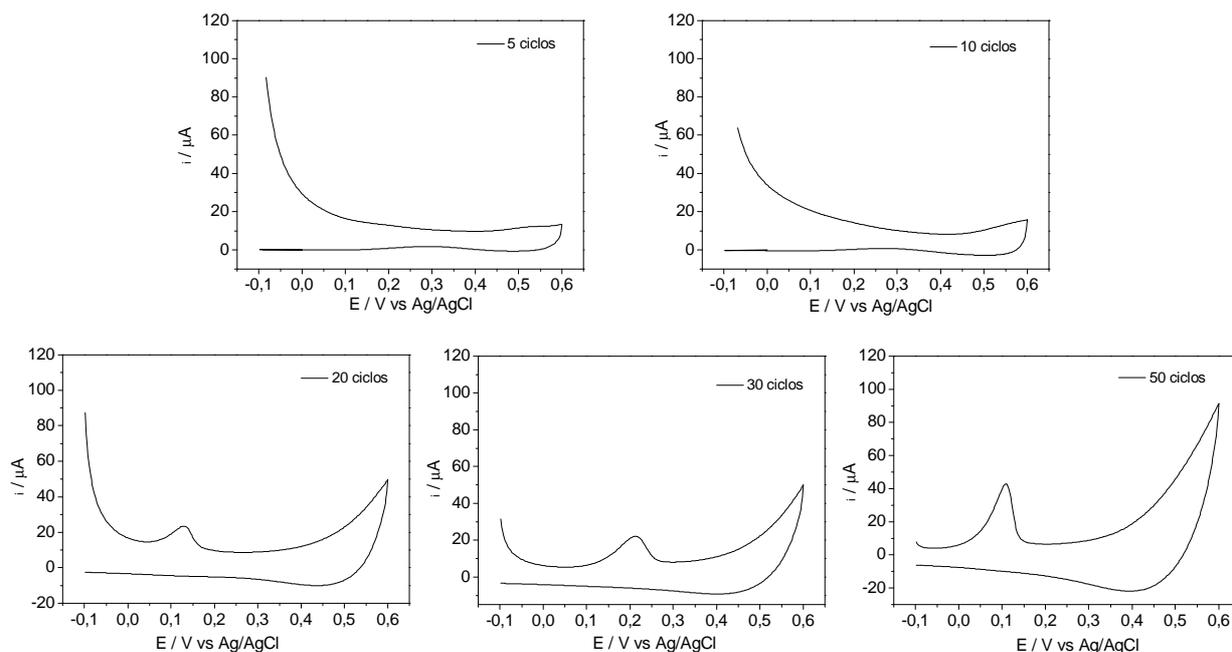


FIGURA 3.26 – Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) com eletrodo de p-PAAQ eletropolimerizados com diferentes números de ciclos voltamétricos: 5, 10, 20, 30 e 50.

3.4.3.3.2 Efeito da concentração do monômero

Para avaliar o efeito da concentração do monômero 1-AAQ foram mantidos constantes alguns parâmetros da polimerização eletroquímica, como: $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$, número de ciclos igual a 10 e concentração de LiClO_4 de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Sendo assim, a concentração do monômero foi variada em 1, 5, 10, 25 e 50 mmol L^{-1} , e para efeito de comparação os resultados foram avaliados frente às respostas voltamétricas da oxidação da DA em meio de PBS. Na FIGURA 3.27 são apresentados os voltamogramas de pulso diferencial para DA obtidos com o filme p-PAAQ em diferentes concentrações do monômero, assim como o gráfico da relação de corrente de pico com a concentração do monômero.

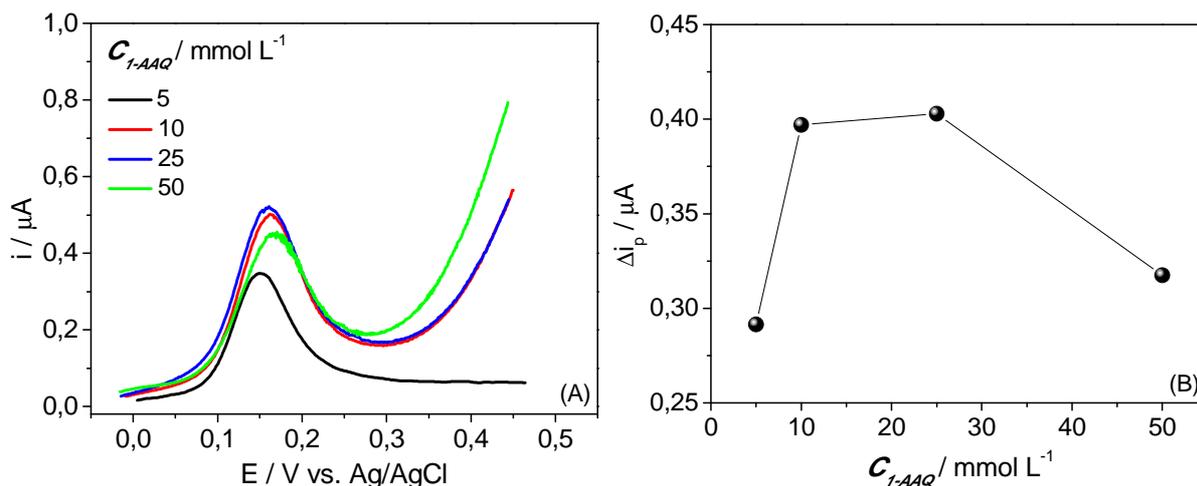


FIGURA 3.27 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em uma solução de DA $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com o filme p-PAAQ em diferentes concentrações do monômero: 5, 10, 25, e 50 mmol L^{-1} . (B) Variação da corrente de pico em função da concentração do monômero.

Utilizando a menor concentração do monômero ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$), não foi possível obter um filme sobre o eletrodo e, por isso, sua resposta não está representada na figura. Neste experimento foram observados maiores valores de corrente de pico para DA com os eletrodos preparados com 10 e 25 mmol L^{-1} do monômero. Entretanto, optou-se por utilizar a concentração de 10 mmol L^{-1} para as sínteses dos filmes devido ao melhor perfil voltamétrico obtido na CV e ao menor consumo de reagente.

3.4.3.3 Efeito do eletrólito suporte

Para finalizar, experimentos com a DA foram realizados utilizando o eletrodo p-PAAQ polimerizados com diferentes eletrólitos suporte: PTBA e LiClO_4 . Para tanto, mantiveram-se constantes a concentração do monômero em 10 mmol L^{-1} , a concentração do eletrólito suporte em 0,1 mol L^{-1} , o número de ciclos igual a 10, velocidade de varredura de 0,1 V s^{-1} e variou-se o tipo de eletrólito: LiClO_4 e PTBA. Os voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de DA utilizando eletrodos modificados com os diferentes eletrólitos suporte estão representados na FIGURA 3.28.

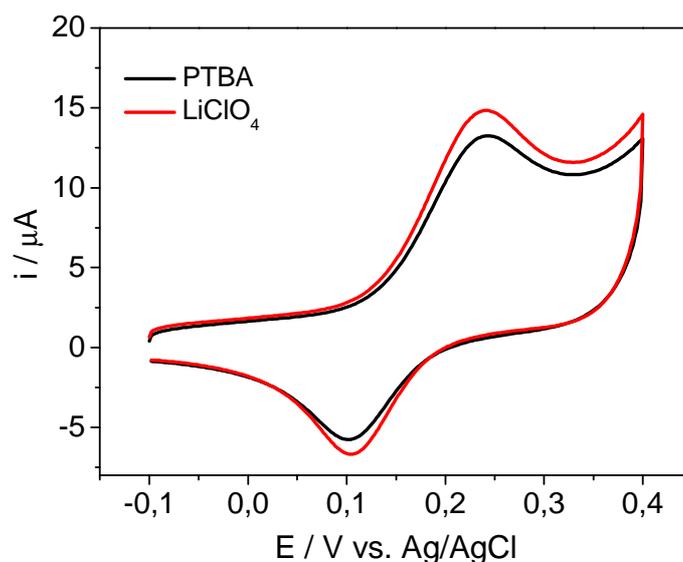


FIGURA 3.28 – Voltamogramas cíclico obtidos com diferentes eletrólitos suporte: (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$ e (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ PTBA}$. Solução de DA $5,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em PBS pH 7,0.

Pôde ser observado nos resultados obtidos tanto com a técnica de CV como DPV que os voltamogramas não apresentaram diferenças significativas nos processos de oxidação e redução da DA, porém um pequeno aumento na intensidade das correntes de picos foi detectado quando utilizado o eletrólito LiClO_4 na síntese do filme de PAAQ.

Desta forma, selecionou o LiClO_4 como eletrólito suporte utilizado para a síntese do filme de PAAQ e fez-se o estudo da sua concentração, fixando os mesmos parâmetros mencionados acima, enquanto que a concentração do LiClO_4 foi variada em $0,01$, $0,05$, $0,1$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas de pulso diferencial e cíclicos obtidos para as diferentes concentrações do eletrólito em solução de DA em meio de PBS (pH 7,0) estão ilustrados na FIGURA 3.29. A concentração $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ foi descartada porque nestas condições o filme não recobriu a superfície toda do eletrodo de platina. De acordo com os resultados, a concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi a que apresentou maior valor de corrente e melhor perfil voltamétrico, sendo escolhida para os estudos subsequentes.

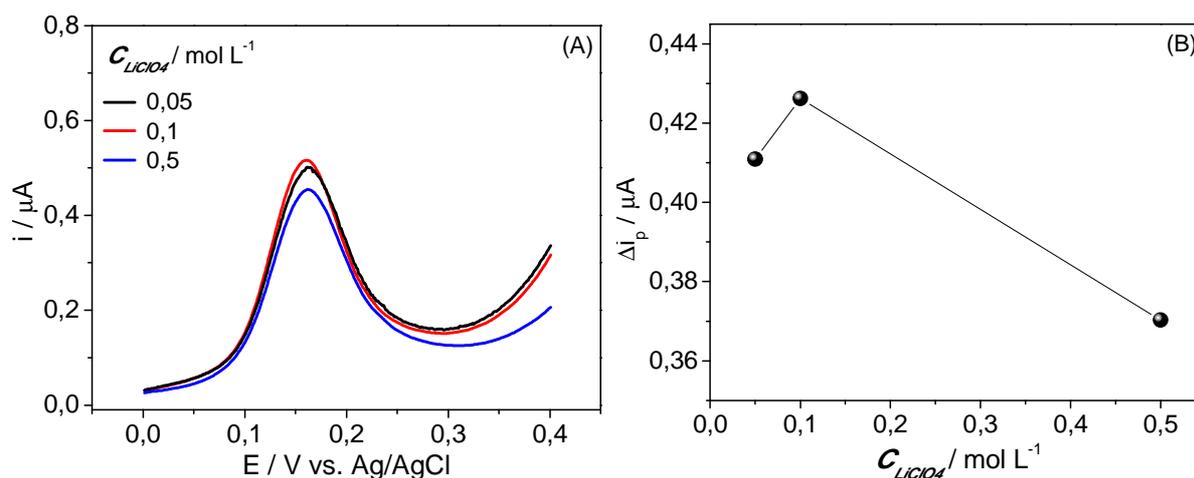


FIGURA 3.29 – (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com diferentes concentrações de LiClO_4 : 0,05, 0,1 e 0,5 mol L^{-1} em solução de DA $5,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em PBS pH 7,0. (B) Valor da corrente de pico obtida em função da concentração do eletrólito suporte.

Portanto, para a obtenção das melhores respostas para DA é necessário que o filme de PAAQ seja eletropolimerizado nas seguintes condições: concentração do monômero de 10 mmol L^{-1} , concentração do eletrólito suporte LiClO_4 igual a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e número de ciclos para a eletropolimerização do filme igual a 10; as quais foram aplicadas nos experimentos subsequentes.

3.4.3.4 Estudo do efeito do meio e do pH

O estudo da influência do eletrólito suporte na resposta eletroquímica de DA foi realizado por meio da técnica de SWV em solução de DA $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando-se como eletrólitos suporte PBS e tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Como o pH da solução tem uma influência significativa sobre a oxidação do analito no eletrodo, afetando tanto o potencial como a corrente de pico, os valores de pH das soluções de PBS e BR foram analisados variando o pH entre 5,8 – 8,0 e 3,0 – 10, respectivamente.

Na FIGURA 3.30 são mostrados os voltamogramas obtidos em solução de DA em meio de PBS 0,1 mol L⁻¹ nos diferentes valores de pH. Observa-se que em meio de PBS que o eletrodo de p-PAAQ apresentou resposta para DA em todos os valores de pH estudados. À medida que o pH do meio foi aumentado, um deslocamento do potencial de pico para valores mais baixos foi verificado, indicando que a transferência eletrônica é dependente do pH do meio. O potencial de pico de oxidação da DA apresentou uma variação linear com o aumento do pH exibindo uma equação de regressão linear do $E_p(\text{V}) = 0,50 - 0,048 \text{ pH}$ (FIGURA 3.30-B). A corrente máxima em meio de PBS foi obtida com pH igual a 7,0, o qual foi selecionado como o pH ótimo para a determinação de DA utilizando eletrodo PAAQ.

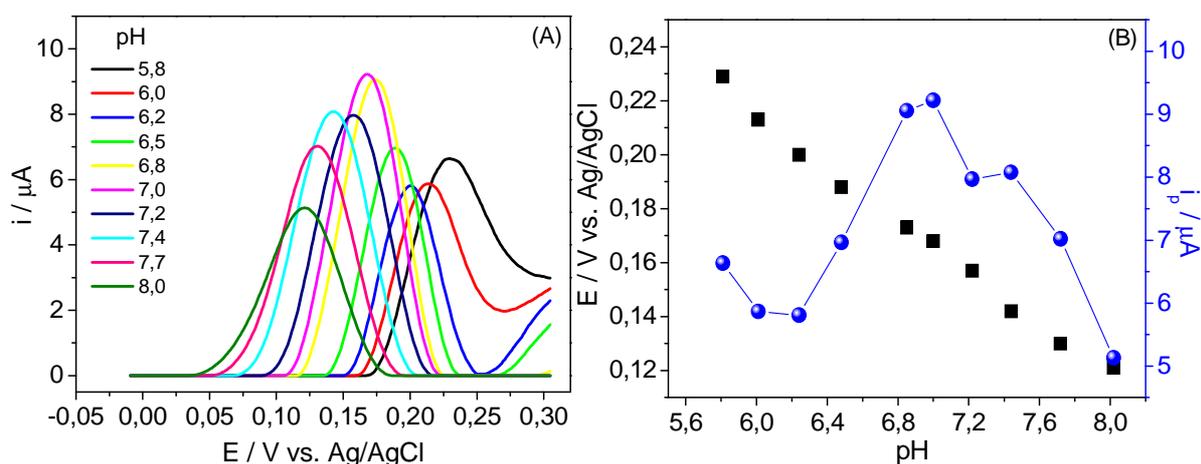


FIGURA 3.30 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ na presença de DA $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH. (B) Respective valores de potencial de pico e corrente de pico em função do pH. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$.

O valor da inclinação obtida de 0,048 por unidade de pH sugere que a relação entre o número de prótons e elétrons envolvidos na reação de DA não é unitária. Uma vez que, tanto a oxidação da dopamina quanto o par quinona/hidroquinona presente na cadeia polimérica podem variar com o pH, isto pode ter levado a um valor de inclinação diferente de 0,059/pH. Além disso, não se pode relacionar a inclinação obtida com a equação de Nernst, uma vez que esta é aplicada somente para reações reversíveis.

Na FIGURA 3.31 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de DA em meio de solução tampão BR 0,10 mol L⁻¹ no intervalo de pH entre 3,0 e 10. Neste meio o eletrodo de p-PAAQ apresentou boa resposta eletroquímica para DA na maioria dos valores de pH estudados. A influência do pH sobre o potencial de pico referente à oxidação da DA foi verificada (FIGURA 3.31-B) e observou-se que houve uma relação linear entre o potencial de pico do analito e o pH na faixa de pH entre 5,1 a 10. O coeficiente angular obtido nesta faixa de pH correspondeu a 0,046 V por unidade de pH. Conforme mostrado na FIGURA 3.31, a intensidade da corrente de pico aumenta com o aumento do pH na faixa entre 3,0 a 6,0 e diminui bruscamente em valores de pH maiores que 6,0. Foi verificado que o maior valor de corrente obtido foi em pH 6,0 utilizando o tampão BR.

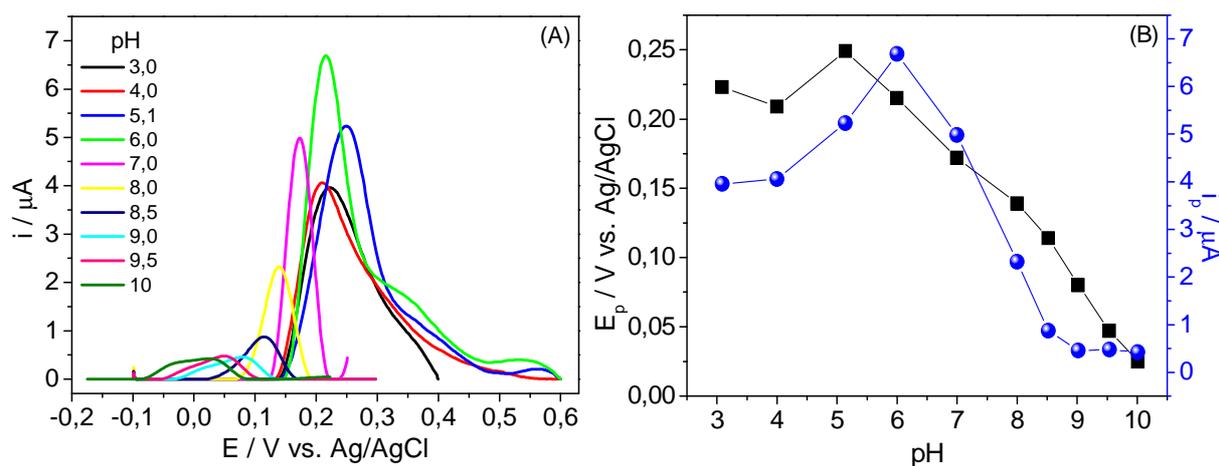


FIGURA 3.31 – (a) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ na presença de DA $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em meio de solução tampão BR 0,1 mol L⁻¹ em diferentes valores de pH. (b) Respective valores de potencial de pico e corrente de pico em função do pH. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$.

Neste tampão a influência do par Q/HQ mostrou ser maior quanto mais ácido for o meio, como pode ser observado nos voltamogramas obtidos em valores de pH de 3,0 a 6,0 o aparecimento de ombros junto aos picos de oxidação da DA. Comparando-se os dois eletrólitos utilizados para a oxidação da DA com eletrodo p-PAAQ, foi observado que em meio contendo PBS o pico

de oxidação da DA apresentou maior valor de corrente (9,22 μA , pH 7,0) quando comparado ao valor de corrente obtido em meio de tampão BR (6,68 μA , pH 6,0), além de perfis voltamétricos mais bem definidos. Sendo assim, o tampão PBS pH 7,0 foi escolhido como eletrólito suporte para os demais estudos.

3.4.3.5 Otimização dos parâmetros das técnicas DPV e SWV para determinação de DA utilizando o eletrodo PAAQ

A otimização dos parâmetros das técnicas de DPV e SWV foram estudados com a finalidade de desenvolver um procedimento analítico para determinação de DA empregando o eletrodo p-PAAQ. Neste contexto, foram analisados os parâmetros experimentais: frequência de aplicação de pulso de potencial (f), amplitude de pulso de potencial (a) e incremento de varredura de potencial (ΔE_s), quando utilizada a técnica de SWV e, para a técnica de DPV foram otimizados: a velocidade de varredura (v), a amplitude de pulso (a) e o tempo de duração do pulso (t). Estas medidas foram realizadas em solução de PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo 5,46x10⁻⁴ mol L⁻¹ de DA. O intervalo estudado para cada parâmetro das técnicas de DPV e SWV, assim como as melhores condições encontradas estão reunidas na TABELA 3.6. Comparando-se as duas técnicas de pulso, com todos os parâmetros otimizados, pôde-se constatar uma melhor resposta para o pico de oxidação da DA com maior valor de corrente de pico quando se aplica a SWV. Por esta razão, a técnica de SWV foi utilizada na elaboração da curva analítica e nas análises das amostras que serão mostradas a seguir.

TABELA 3.6 – Estudo dos parâmetros das técnicas SWV e DPV em solução de DA utilizando o eletrodo p-PAAQ

<i>Parâmetros</i>	<i>Faixa estudada</i>	<i>Valor escolhido</i>
<i>Técnica SWV</i>		
Frequência (s ⁻¹)	8 – 100	10
Amplitude de pulso (s)	10 – 90	60
Incremento de varredura (mV)	0,5 – 5	1
<i>Técnica DPV</i>		
Velocidade (mV s ⁻¹)	5 – 100	5
Amplitude (mV)	1 – 100	2
Tempo duração pulso (ms)	2 – 40	6

3.4.3.6 Curva analítica para DA

Após as etapas de otimização, alíquotas de uma solução estoque de DA foram adicionadas à solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) contida na célula eletroquímica, com o intuito de determinar a relação linear entre os sinais da corrente voltamétrica e a concentração do analito. A partir dos resultados obtidos, foi possível estabelecer uma curva analítica para o pico de oxidação da DA na faixa de concentração entre 3,56 – 10,4x10⁻⁵ mol L⁻¹. Antes de cada medida foi feita a desaeração da solução com nitrogênio e foi aplicado o pré-tratamento catódico de -0,9 V por 3 s. Na FIGURA 3.32 são apresentados os voltamogramas e a curva analítica obtida com este estudo. Foi observado, um aumento linear das intensidades de corrente de pico com o aumento da concentração de DA, sendo que a equação de regressão correspondente à faixa linear de concentração para a DA foi igual a $i_p(\mu\text{A}) = -1,63 + 0,047 \cdot C_{DA}$ (mol L⁻¹), com $r = 0,9977$. O limite de detecção obtido foi igual a 6,75 μmol L⁻¹.

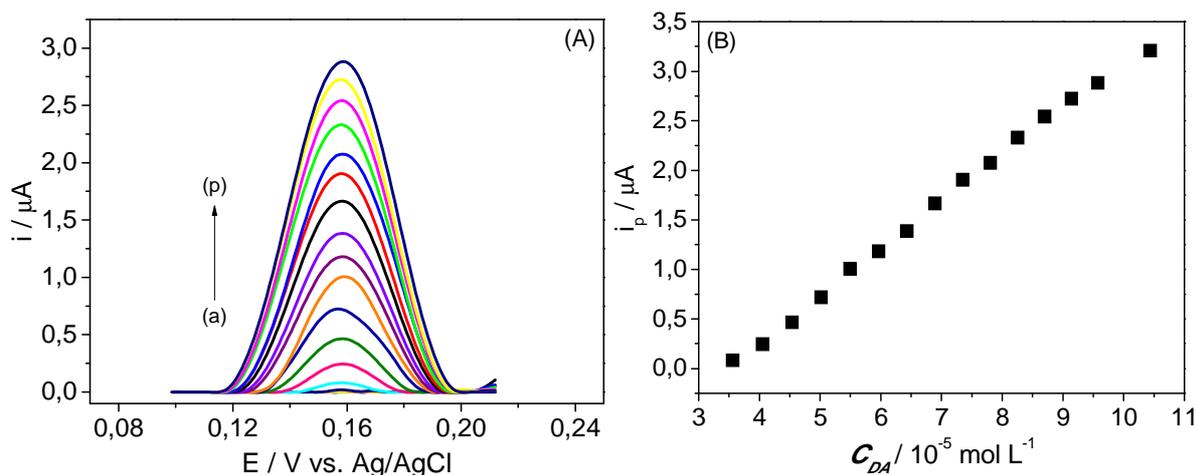


FIGURA 3.32 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ em intervalo de concentração de DA entre (a – p): $3,56 - 10,4 \times 10^{-5} mol L^{-1}$. (B) Região linear da curva analítica obtida para as respectivas concentrações de DA. Parâmetros: $f = 10 s^{-1}$, $a = 60 s$ e $\Delta E_i = 0,001 V$.

A repetibilidade do eletrodo de p-PAAQ foi avaliada pela variação das respostas das correntes de pico para dez medidas sucessivas de DA $0,14 mmol L^{-1}$. O p-PAAQ exibiu boa repetibilidade, com desvio padrão relativo de 4,42%. O eletrodo modificado com o filme PAAQ apresentou estabilidade muito satisfatória. Nenhuma alteração significativa foi observada após o sensor ter sido submetido às condições de análise por SWV, durante um dia inteiro de experimentos.

3.4.3.6.1 Estudos dos interferentes ácido ascórbico e ácido úrico

A interferência do AA e do AU é um grande problema para a detecção eletroquímica de DA em amostras biológicas, devido estes compostos sofrerem oxidação em potenciais próximos ao da DA na maioria dos eletrodos sólidos convencionais. Desta forma, foram realizados experimentos de SWV a fim de avaliar as respostas eletroquímicas do AA e AU com o eletrodo de PAAQ. As análises foram feitas separadamente para cada analito em meio de solução tampão fosfato pH 7,0 e aplicando as mesmas condições otimizadas para a DA.

Na FIGURA 3.33 são mostrados os voltamogramas obtidos antes e após a aplicação do pré-tratamento catódico no eletrodo em soluções de $5,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA (FIGURA 3.33-A) e de $5,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AU (FIGURA 3.33-B). As linhas de cores pretas dos voltamogramas foram obtidas com o eletrodo PAAQ (antes da aplicação do pré-tratamento) e as linhas com cores azuis foram obtidas com o eletrodo p-PAAQ (após a aplicação do pré-tratamento catódico).

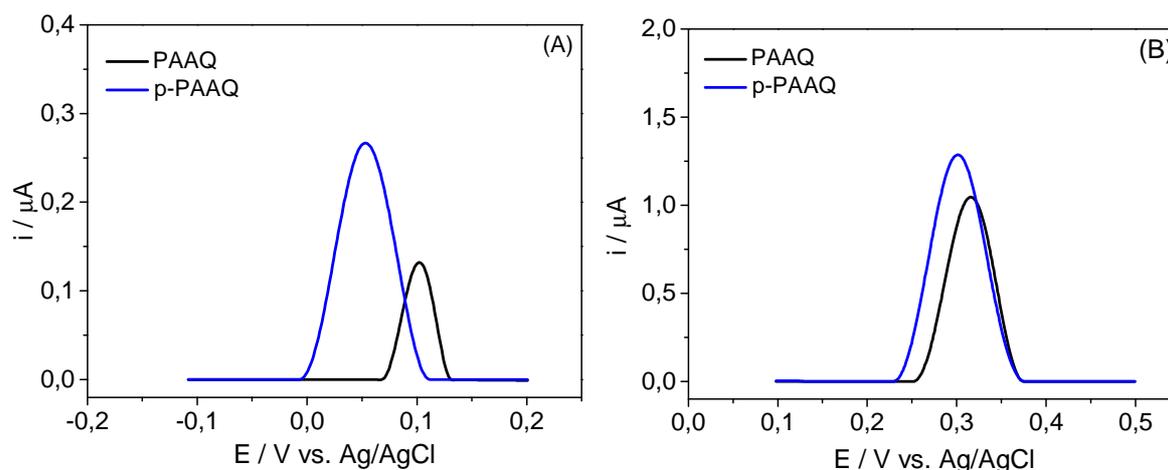


FIGURA 3.33 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodos (—) PAAQ e (—) p-PAAQ, em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo (A) $5,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AA e (B) $5,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de AU. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$.

Pela análise da FIGURA 3.33, pôde-se observar que o eletrodo modificado com PAAQ apresentou boa resposta para os analitos AA e AU, com picos de oxidação próximos a $+0,105 \text{ V}$ e $+0,320 \text{ V}$, respectivamente. Diferentemente do eletrodo de PAA, que não apresentou respostas para tais analitos. Além disso, após a aplicação do pré-tratamento catódico no eletrodo de PAAQ, foi verificado um aumento dos valores de corrente e um deslocamento dos potenciais de picos tanto para o AA como para o AU. Indicando que este filme possui propriedades eletrocatalíticas. No caso da resposta do AA, tanto o aumento da corrente como o deslocamento do potencial de pico foram bastante significativos, permitindo a possibilidade de análise simultânea de DA e AA sem sobreposição dos picos.

Curvas analíticas para AA e AU

Curvas analíticas para AA e AU foram construídas, separadamente, no intervalo de concentração entre $1,15 - 12,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para o AA, e $1,50 - 59,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para o AU, conforme mostradas nas FIGURA 3.34-A e FIGURA 3.34-B, respectivamente. Os limites de detecção obtidos foram de $2,27 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,05 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para o AA e AU, respectivamente. As respectivas curvas analíticas estão inseridas na FIGURA 3.34, nas quais foram obtidas coeficientes de correlação de 0,9987 para o AA e 0,9853 para o AU.

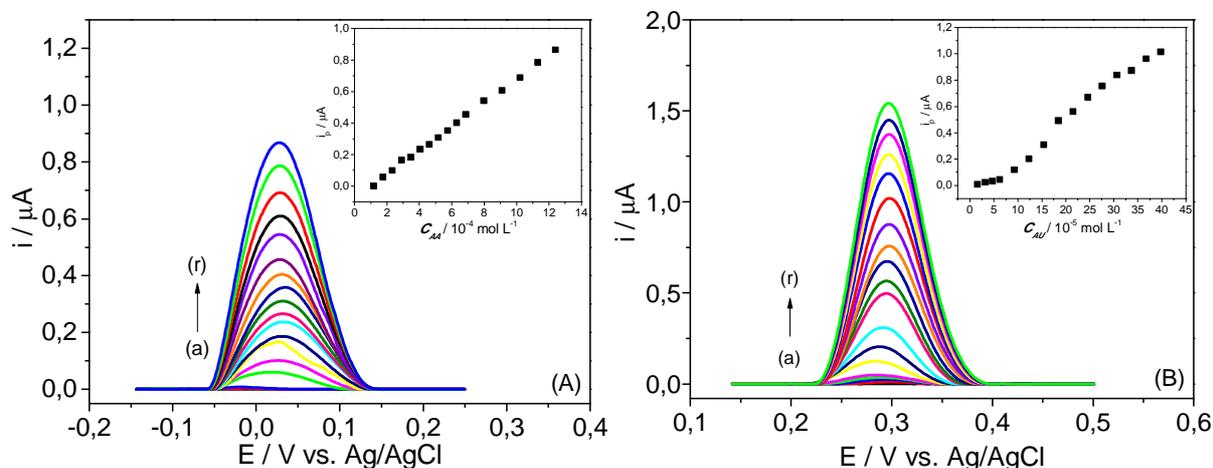


FIGURA 3.34 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ em intervalo de concentração de (A) $1,15 - 12,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA e (B) AU $1,50 - 59,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Inset, respectivas curvas analíticas obtidas.

3.4.3.7 Comportamento eletroquímico da mistura AA, DA e AU obtido com eletrodo de PAAQ

A fim de encontrar o melhor método utilizando o eletrodo modificado com filme de PAAQ para a determinação simultânea de DA, AA e AU em amostras biológicas, um experimento foi realizado empregando a SWV e o eletrodo de PAAQ em uma solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo a mistura de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $3,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $5,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AU. Os resultados obtidos estão ilustrados na FIGURA 3.35, nos quais foram obtidos

voltamogramas antes e após a aplicação do pré-tratamento catódico, representados com linhas de cores preta e vermelha, respectivamente.

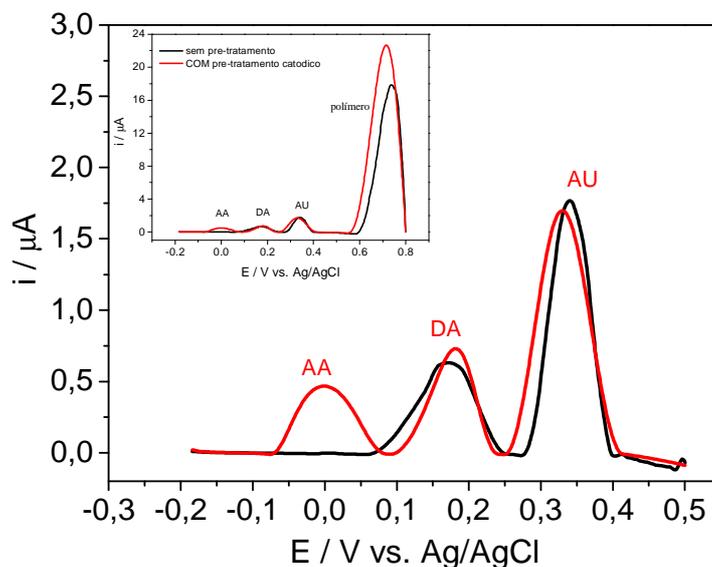


FIGURA 3.35 – Voltamogramas de onda quadrada realizados em eletrodos (—) PAAQ e (—) p-PAAQ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $3,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $5,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AU.

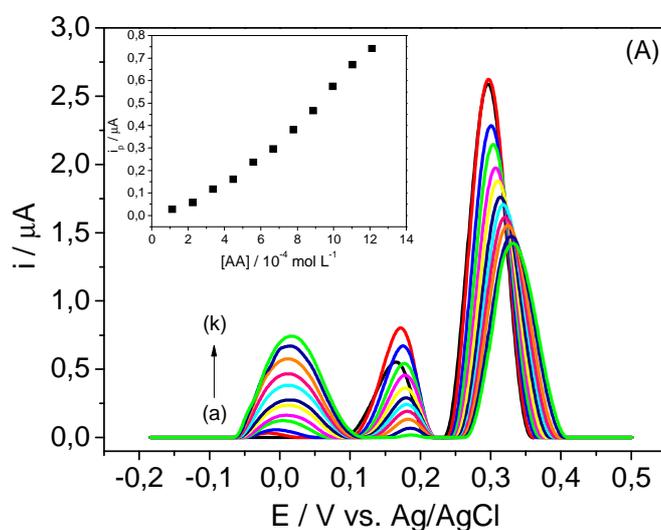
Pode ser observado que o voltamograma obtido antes da aplicação do pré-tratamento (designado PAAQ) apresentou dois picos em torno de +0,17 e +0,34 V relacionados aos picos sobrepostos de AA e DA, e o segundo pico à oxidação do AU. No gráfico inserido na FIGURA 3.35 são mostrados os picos característicos do polímero além dos picos de oxidação dos três analitos estudados. Assim, os potenciais de pico para a DA e AA são indistinguíveis no eletrodo PAAQ (sem aplicação do pré-tratamento), não sendo possível obter informações para estes dois analitos.

Entretanto, após a aplicação do pré-tratamento (designado p-PAAQ), o pico voltamétrico sobreposto foi resolvido e, portanto, três picos bem definidos próximos a 0,00, +0,18 e +0,32 V foram registrados, correspondentes às oxidações do AA, DA e AU, respectivamente. Também pode ser observado no gráfico inserido na FIGURA 3.35, os picos referentes ao polímero com potenciais próximos de +0,7 V, o qual apresentou um maior valor de corrente e um pequeno deslocamento no potencial de pico para valores mais negativos

quando utilizado o eletrodo p-PAAQ. Foram registradas boas separações de picos entre os analitos, as quais foram grandes o suficiente para poder determinar AA, DA e AU individualmente e/ou simultaneamente nas amostras.

3.4.3.8 Curvas analíticas para AA, DA e AU

A influência da concentração dos analitos nas respostas de corrente da mistura AA, DA e AU com o eletrodo de p-PAAQ foi estudada. Os processos de oxidação da DA, AA e AU foram analisados, por meio da técnica de SWV, variando a concentração de um analito enquanto que os outros dois foram mantidos constantes. Os voltamogramas obtidos são mostrados na FIGURA 3.36. As correntes de pico para cada analito aumentou linearmente com o aumento da sua respectiva concentração, no entanto os valores das correntes de picos dos outros dois analitos variaram com o analito adicionado. Os parâmetros analíticos para a análise simultânea de AA, DA e AU, obtidos a partir dos gráficos apresentados na FIGURA 3.36, estão listados na TABELA 3.7. De acordo com resultados experimentais descritos, pôde-se verificar que os picos de oxidação para o AA, DA e AU obtidos com o eletrodo p-PAAQ apresentaram boa separação. Sendo, portanto, possível determinar um dos analitos na presença dos outros dois.



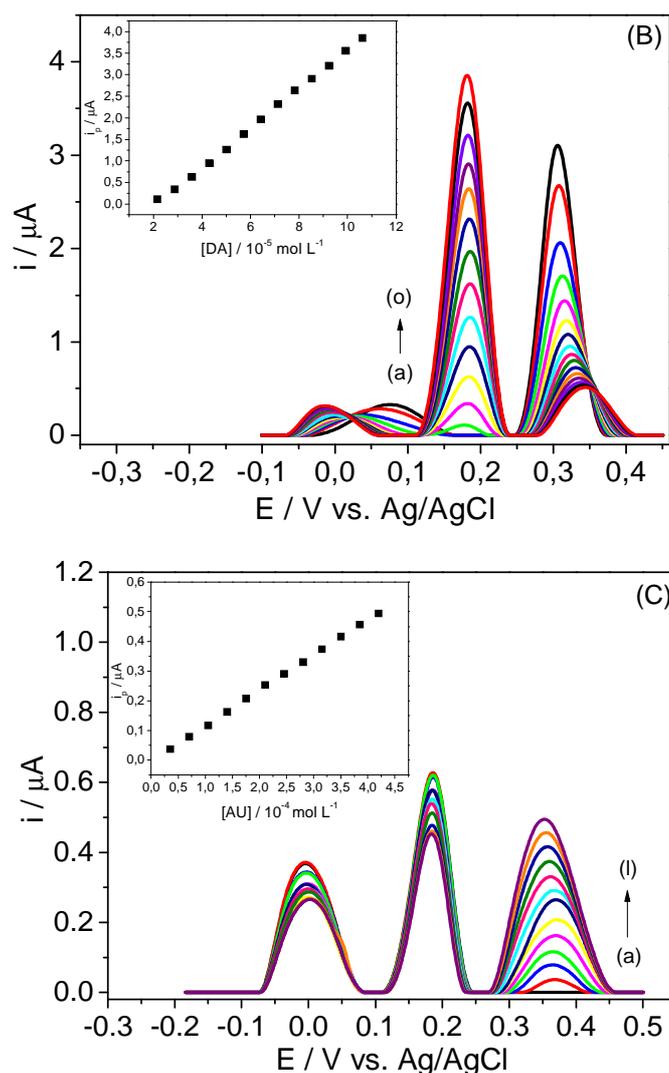


FIGURA 3.36 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAAQ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo A) $3,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA, $6,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AU e diferentes concentrações de AA (a – k): $1,12 - 12,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; B) $5,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AU e diferentes concentrações de DA (a – o): $2,10 - 106 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; C) $5,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $2,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e diferentes concentrações de AU (a – l): $3,52 - 41,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

TABELA 3.7 – Parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas analíticas para DA, AA e AU

<i>Analito</i>	<i>Intervalo linear (mmol L⁻¹)</i>	<i>Equação regressão linear (I: μA, C: mmol L⁻¹)</i>	<i>Coefficiente correlação (r)</i>	<i>LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)</i>
AA	0,11 – 1,2	$I = -0,11 + 0,67 C$	0,9778	25,0
DA	0,021 – 0,11	$I = -0,005 + 0,12 C$	0,9989	3,05
AU	0,35 – 4,2	$I = -0,95 + 45 C$	0,9996	11,5

A repetibilidade da resposta do eletrodo foi conferida por meio dos cálculos dos desvios padrões relativos, feitos a partir de dez análises sucessivas para uma solução 0,1 mol L⁻¹ tampão fosfato (pH 7,0) contendo 5,3×10⁻⁴ mol L⁻¹ de AA, 5,0×10⁻⁵ mol L⁻¹ de DA e 5,3×10⁻⁴ mol L⁻¹ de AU. As medidas foram realizadas utilizando a técnica de SWV e aplicando o pré-tratamento catódico antes de cada medida. Os RSD obtidos foram iguais a 2,74%, 4,42% e 2,98% para o AA, DA e AU, respectivamente.

3.4.3.8.1 Estudo de adição e recuperação de AA e AU em amostra biológica

O método proposto foi utilizado no estudo de adição e recuperação para avaliar a influência dos componentes da matriz da amostra de urina humana na determinação de AA e AU. As determinações foram realizadas pelo método de adição de padrão nas mesmas condições experimentais definidas anteriormente e os resultados estão apresentados na TABELA 3.8. Como pode ser observado, o eletrodo p-PAAQ apresentou bons valores de recuperação para os diferentes analitos, com uma porcentagem média de recuperação de 86,4% para a AU e 98,0% para o AA. Estes valores indicam que os analitos estudados com o eletrodo p-PAAQ não sofrem interferências de outras espécies presentes na amostra de urina utilizada neste experimento, mostrando a boa aplicabilidade do eletrodo p-PAAQ.

TABELA 3.8 – Estudo de recuperação de AA e AU em urina humana obtidas com eletrodo p-PAAQ (n = 3)

<i>Analito</i>	<i>Adicionado</i> ($10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$)	<i>Encontrado</i> ^a ($10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$)	<i>Recuperado</i> (%)
AA	2,80	2,66 ± 0,01	94,8
	4,19	4,28 ± 0,03	102
	6,95	6,75 ± 0,01	97,1
AU	1,17	0,91 ± 0,02	77,8
	1,75	1,43 ± 0,08	81,4
	2,33	2,33 ± 0,01	100

a - Resultados expressos com a média ± S.D.

3.4.4 Comportamento eletroquímico de DA, AA e AU obtido com o eletrodo compósito PAAQCNT

Com a finalidade de melhorar o limite de detecção obtido para a DA, o eletrodo PAAQ foi modificado adicionando-se nanotubos de carbono de paredes múltiplas na sua síntese. A síntese foi realizada conforme descrito anteriormente. A princípio foi estudada a influência da quantidade de CNT utilizado na síntese do filme compósito. Alguns parâmetros da polimerização eletroquímica foram mantidos constantes, como a concentração do monômero 1-AAQ em 10 mmol L^{-1} , a concentração do eletrólito suporte (LiClO_4) igual a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a velocidade de varredura em $0,1 \text{ V s}^{-1}$, intervalo de potencial de varredura entre 0,0 e +1,5 V e número de ciclos igual a 10. Sendo assim, a proporção massa/massa do monômero e CNT foi de 3:1, 1:1 e 1:3, respectivamente. Para tanto, na comparação dos resultados levou-se em conta às respostas voltamétricas da oxidação da DA em meio de PBS. Os voltamogramas obtidos estão apresentados na FIGURA 3.387.

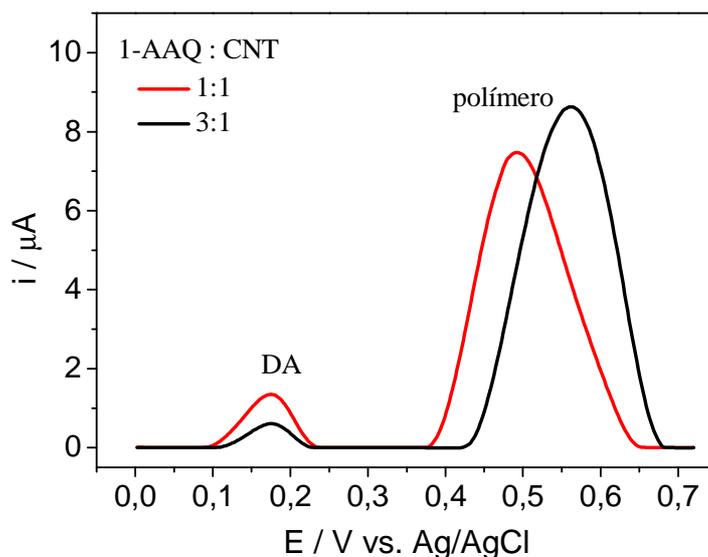


FIGURA 3.37 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em uma solução de DA $5,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com o filme PAAQCNT em diferentes proporções do monômero 1-AAQ e CNT: (—) 1:1 e (—) 3:1 (massa/massa).

Neste experimento foi observado maior valor de corrente de pico para DA obtida com o eletrodo preparado na proporção 1:1, ou seja, quantidades iguais em massa do monômero e do CNT. Na proporção 1:3 (monômero:CNT) não foi possível polimerizar o composto sobre o eletrodo de platina nas condições citadas acima. Portanto, a proporção 1:1 foi escolhida para a polimerização do composto.

O novo eletrodo, então designado como PAAQCNT, foi analisado utilizando uma solução contendo a mistura ternária DA, AA e AU. Os experimentos foram conduzidos por meio da técnica de SWV, nas mesmas condições experimentais otimizadas anteriormente para o eletrodo PAAQ, e fazendo-se o uso ou não da aplicação do pré-tratamento catódico. Na FIGURA 3.38 são mostrados os voltamogramas obtidos em cada etapa das adições dos diferentes analitos; registrados antes e após o pré-tratamento catódico.

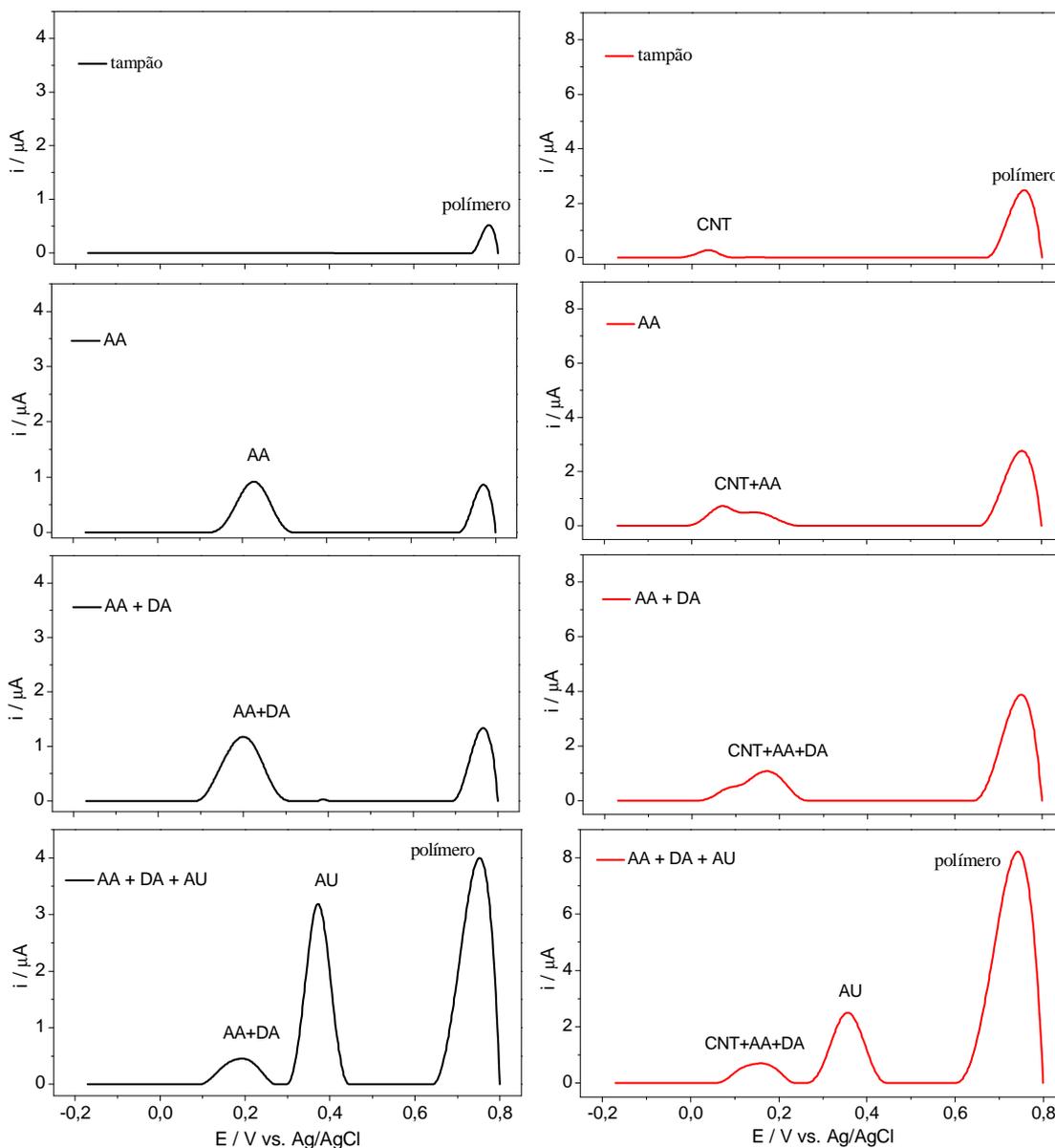


FIGURA 3.38 – Voltamogramas de onda quadrada realizados em eletrodos (—) PAAQCNT e (—) p-PAAQCNT em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $5,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ DA e $5,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AU. Parâmetros: $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ s}$ e $\Delta E_i = 0,001 \text{ V}$.

De acordo com os resultados, foi verificado que o eletrodo PAAQCNT apresentou comportamento eletroquímico semelhante ao eletrodo PAAQ, ou seja, ele não conseguiu resolver a sobreposição dos picos AA e DA nas concentrações utilizadas. Entretanto, o eletrodo p-PAAQCNT respondeu de forma diferente, ou seja, após a aplicação do pré-tratamento catódico em solução contendo somente o tampão fosfato foi observado um pico próximo a $+0,05 \text{ V}$

que possivelmente refere-se ao comportamento voltamétrico do nanotubo de carbono neste meio.

Para conseguir a separação dos picos DA e AA, foi necessário adicionar uma maior quantidade da concentração de DA, fazendo com que o objetivo inicial não fosse alcançado, ou seja, melhorar o limite de detecção. Uma possível explicação pode estar relacionada à presença dos grupamentos cetônicos presente na cadeia polimérica do PAAQ que pode ter desfavorecido as reações da DA e do AA, uma vez que este grupamento pode ter mais afinidade aos CNTs, diminuindo o número de sítios ativos tanto do polímero como do CNT que reagiriam com os analitos estudados.

Uma curva analítica para DA foi construída na presença de AA e AU utilizando o eletrodo de p-PAAQCNT, na qual a concentração da DA foi aumentada continuamente com adições sucessivas da solução padrão, enquanto as concentrações do AA e AU foram mantidas constantes. Os resultados são mostrados na FIGURA 3.389. A corrente de pico da DA aumentou em função da concentração na faixa entre $2,18 - 9,75 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A equação de regressão linear é expressa como $i_p(\mu\text{A}) = -0,81 + 0,04 * C_{DA} (\text{mol L}^{-1})$ com $r = 0,9875$, inserida na figura. O limite de detecção obtido foi igual a $3,23 \mu\text{mol L}^{-1}$.

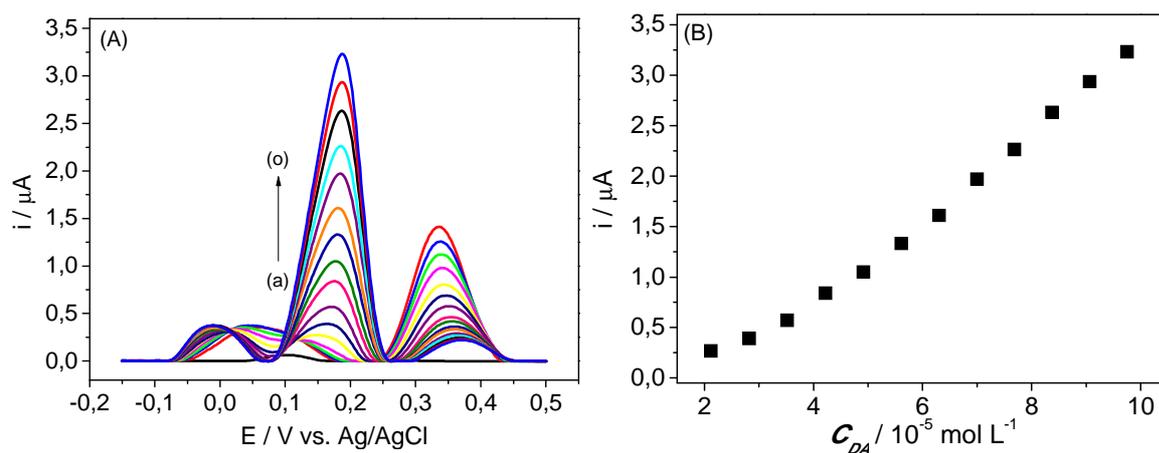


FIGURA 3.39 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com eletrodo p-PAAQCNT em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,0) contendo $5,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AA, $5,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ AU e diferentes concentrações de DA (a – o): $2,18 - 9,75 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Região linear da curva analítica obtida para as respectivas concentrações de DA.

Como pôde ser verificado, o eletrodo p-PAAQ apresentou melhores resultados para a detecção de DA, AA e AU em relação ao eletrodo compósito p-PAAQCNT preparado nas condições citadas acima. A aplicação do pré-tratamento catódico ao eletrodo modificado com o filme permitiu obter a separação entre os processos de oxidação de DA, AA e AU resolvendo a sobreposição dos picos em três picos bem definidos, sem a necessidade de adicionar nanotubos de carbono ao filme.

Medidas de SWV indicaram que o filme p-PAAQ apresenta propriedades eletrocatalíticas, uma vez que além do aumento dos valores de corrente de pico também ocorreu o deslocamento do potencial de pico dos analitos para potenciais de varredura mais baixos, mostrando que o pré-tratamento catódico é uma poderosa ferramenta para melhorar as propriedades dos polímeros. O método proposto, utilizando o eletrodo p-PAAQ, apresentou bons resultados de recuperações de AU e AA em amostras de urina.

3.4.5 Estudo do comportamento eletroquímico da hidroquinona utilizando o eletrodo de PAAQ

O eletrodo modificado com filme de PAAQ foi analisado por meio das técnicas de CV e SWV em uma solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $5,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de HQ. As mesmas condições de síntese do filme PAAQ otimizadas para a determinação de DA foram utilizadas para o estudo do comportamento da HQ com o eletrodo PAAQ, ou seja, o filme foi eletropolimerizado sobre eletrodo de platina por CV, aplicando dez ciclos voltamétricos com velocidade de $0,1 \text{ V s}^{-1}$, em uma solução contendo 10 mmol L^{-1} do monômero 1-AAQ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiClO_4 em meio de acetonitrila.

O comportamento eletroquímico da HQ obtido com o eletrodo de PAAQ foi comparado ao comportamento obtido com o eletrodo de platina não modificado (FIGURA 3.40). No eletrodo não modificado o voltamograma

cíclico para HQ apresentou reação quase-reversível, observada na maioria dos eletrodos sólidos¹⁴⁸. No eletrodo de Pt utilizado neste experimento, foram registrados picos anódico e catódico em torno de +0,3 e -0,07 V. Enquanto que para o eletrodo PAAQ, foram observados três picos bem definidos, sendo dois de oxidação e um de redução em +0,25 V (O₁), +0,45 V (O₂) e -0,1 V (R₁), respectivamente. Os processos O₁/R₁ são referentes à oxidação/redução da HQ para a quinona¹⁴⁸. O segundo processo, O₂ irreversível, foi associado ao par redox Q/HQ presente no polímero.

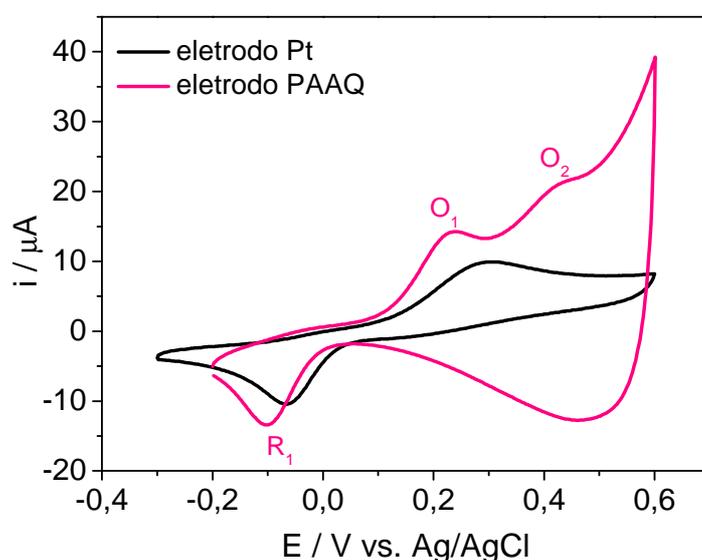


FIGURA 3.40 – Voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos de (—) Pt não modificado e (—) Pt modificado com filme de PAAQ em solução de HQ $5,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0).

Na FIGURA 3.41 são mostrados os voltamogramas obtidos para HQ com o filme PAAQ registrados antes e após a aplicação do pré-tratamento catódico. Pode ser verificada a importância da aplicação do pré-tratamento catódico, o qual provocou um aumento de quase seis vezes no valor da corrente de pico e um deslocamento do potencial de pico para valores mais negativos de varredura, como pode ser observado nos voltamogramas de onda quadrada ilustrados na FIGURA 3.41-B. Este comportamento também pode ser verificado nos voltamogramas cíclicos, porém em menores proporções; que estaria

relacionado à reação catalítica entre o filme de PAAQ e a HQ, o que possivelmente pode alterar a taxa de transferência de elétrons na interface.

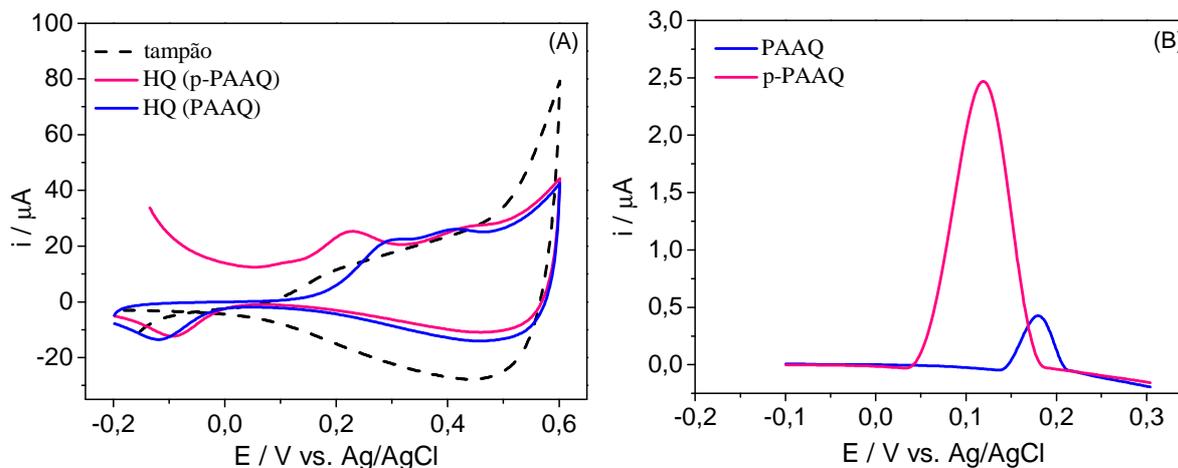


FIGURA 3.41 – (A) Voltamogramas cíclicos e (B) de onda quadrada, obtidos com o eletrodo de PAAQ em (- -) PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) e na presença de HQ 5,4x10⁻⁴ mol L⁻¹ (—) antes e (—) após a aplicação do pré-tratamento catódico.

3.4.5.1 Otimização dos parâmetros das técnicas DPV e SWV para determinação de HQ utilizando o eletrodo p-PAAQ

Os parâmetros experimentais das técnicas de DPV e SWV foram estudados e otimizados com a finalidade de desenvolver um procedimento analítico para determinação de HQ empregando o eletrodo p-PAAQ. Para estes experimentos foram analisados os parâmetros da técnica de SWV tais como descritos anteriormente: f , a ΔE_s . Para a técnica de DPV foram otimizados: v , a e t . Estas medidas foram realizadas em solução de PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo 4,54x10⁻⁴ mol L⁻¹ de HQ. O intervalo estudado para cada parâmetro das técnicas de DPV e SWV, assim como as melhores condições encontradas estão listados na TABELA 3.9. Comparando-se as duas técnicas de pulso, com todos os parâmetros otimizados, pôde-se constatar uma melhor resposta para HQ, apresentando maior valor de corrente de pico quando se aplica a SWV e, portanto, esta técnica foi utilizada para a construção da curva analítica e para a aplicação do eletrodo em amostras farmacêuticas.

TABELA 3.9 – Estudo dos parâmetros das técnicas SWV e DPV em solução de HQ utilizando eletrodo p-PAAQ

<i>Parâmetros</i>	<i>Faixa estudada</i>	<i>Valor escolhido</i>
<i>Técnica SWV</i>		
Frequência (s ⁻¹)	8 – 100	10
Amplitude de pulso (s)	10 – 90	60
Incremento de varredura (mV)	0,5 – 5	2
<i>Técnica DPV</i>		
Velocidade (mV s ⁻¹)	5 – 50	10
Amplitude (mV)	1 – 100	80
Incremento de varredura (ms)	2 – 60	50

3.4.5.2 Estudo do efeito do meio e do pH

Os eletrólitos suporte PBS e BR foram utilizados para estudar a influência do meio na resposta eletroquímica de HQ. Para isto foi utilizado uma solução de $4,34 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ HQ e empregado a técnica de SWV. Os valores de pH dos eletrólitos PBS e BR foram estudados em intervalos entre 5,8 – 8,0 e 3,0 – 10, respectivamente.

Na FIGURA 3.42 são mostrados os voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de HQ em meio de PBS 0,1 mol L⁻¹ nos diferentes valores de pH e as respectivas curvas de pH em função do potencial e da corrente de pico de oxidação da HQ. Foi observado um deslocamento do potencial de pico para valores mais baixos à medida que o pH do meio aumentou, e uma boa relação linear no intervalo de pH entre 6,4 – 8,0, exibindo uma relação linear de acordo com a equação E_p (V) = 0,84 – 0,099 pH ($r = 0,9870$), conforme mostrado na FIGURA 3.42-B. De acordo com os resultados obtidos, este processo indica que a transferência eletrônica é dependente do pH do meio. De acordo com a literatura, o mecanismo de oxidação/redução do par

quinona/hidroquinona é complexo e varia muito com o pH da solução¹⁴⁹. Neste experimento, além do processo redox do composto HQ analisado, também ocorre as reações do par Q/HQ presentes na cadeia polimérica; e como mencionado anteriormente, a equação de Nernst é aplicada somente para reações reversíveis.

Como pode ser observado nos voltamogramas, a corrente máxima foi obtida com pH igual a 8,0, porém acima de pH 7,7 a solução de HQ apresentou coloração amarelada indicando o aumento da velocidade de oxidação da HQ com valores de pH mais elevados. Deste modo, o pH 6,8 foi selecionado para a determinação de HQ utilizando o eletrodo p-PAAQ.

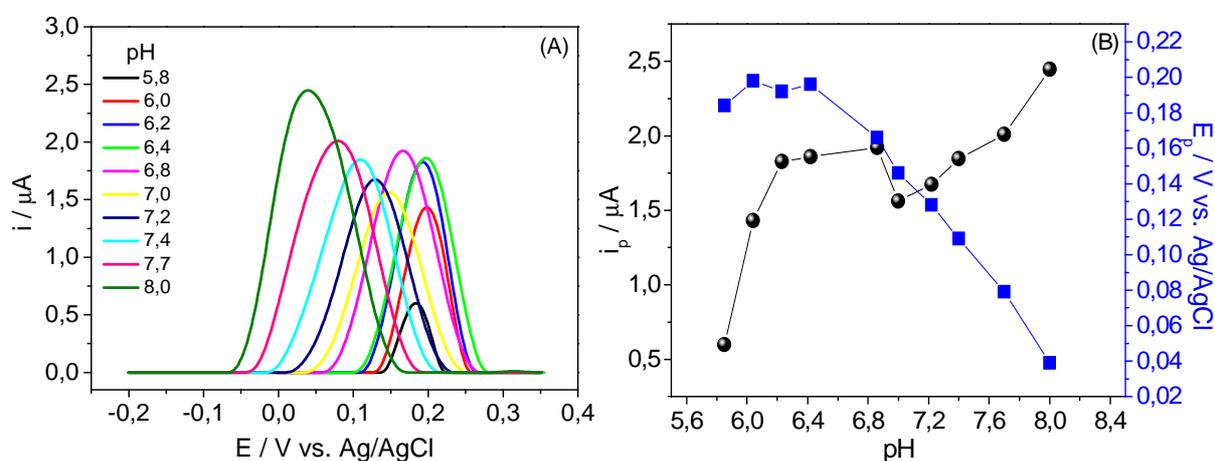


FIGURA 3.42 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ na presença de HQ $4,34 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de PBS $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH. (B) Respective valores de potencial de pico e corrente de pico em função do pH.

Foi verificado o comportamento eletroquímico da HQ em meio de solução tampão BR $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, no qual foi variado o valor do pH no intervalo entre 3,0 e 10, utilizando o eletrodo de p-PAAQ. As análises foram realizadas por meio das técnicas de CV e SWV. Neste meio o eletrodo de p-PAAQ não apresentou boa resposta eletroquímica para HQ na maioria dos valores de pH estudados, devido a sobreposição dos picos do polímero e da HQ. Além disso, em valores de pH mais elevados a HQ se oxidava rapidamente, sendo possível observar uma ligeira mudança da cor da solução. Portanto, o tampão BR foi

descartado dos estudos e o tampão PBS pH 6,8 foi selecionado como eletrólito suporte para os demais estudos.

3.4.5.3 Estudo do efeito do pré-tratamento catódico na resposta eletroquímica do eletrodo PAAQ em solução de HQ

Como foi verificada anteriormente a importância do pré-tratamento catódico sobre a resposta de HQ obtida com o filme PAAQ, a influência do pré-tratamento foi estudada variando tanto o potencial como o tempo de aplicação deste pré-tratamento. Para a realização deste experimento manteve-se constante o tempo igual a 3 s enquanto que os potenciais aplicados foram de $-0,1$ V, $-0,3$ V, $-0,5$ V, $-0,7$ V, $-0,9$ V e $-1,2$ V. Na FIGURA 3.43 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o pico da HQ e do polímero, bem como os valores de corrente de pico da HQ em função do potencial aplicado. Pode ser observado que a dependência do potencial aplicado versus a corrente de pico revelou que a corrente atinge um valor máximo de $2,25 \mu\text{A}$ quando se aplica um potencial de $-0,7$ V, diminuindo em ambas as direções tanto para maiores quanto para menores valores do potencial aplicado.

Em seguida, a influência do tempo de aplicação do potencial de pré-tratamento foi avaliada. Neste estudo foi aplicado um potencial de $-0,7$ V e variou-se o tempo de aplicação em 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30 e 60 s. A FIGURA 3.44 ilustra os voltamogramas obtidos, e conforme se pode observar, a melhor resposta de corrente foi obtida com a aplicação do potencial em um tempo igual a 1 s; em tempos maiores houve uma queda nos valores de corrente. Por este motivo, todos os experimentos subsequentes foram realizados aplicando um potencial de $-0,7$ V durante 1 s antes das medidas voltamétricas.

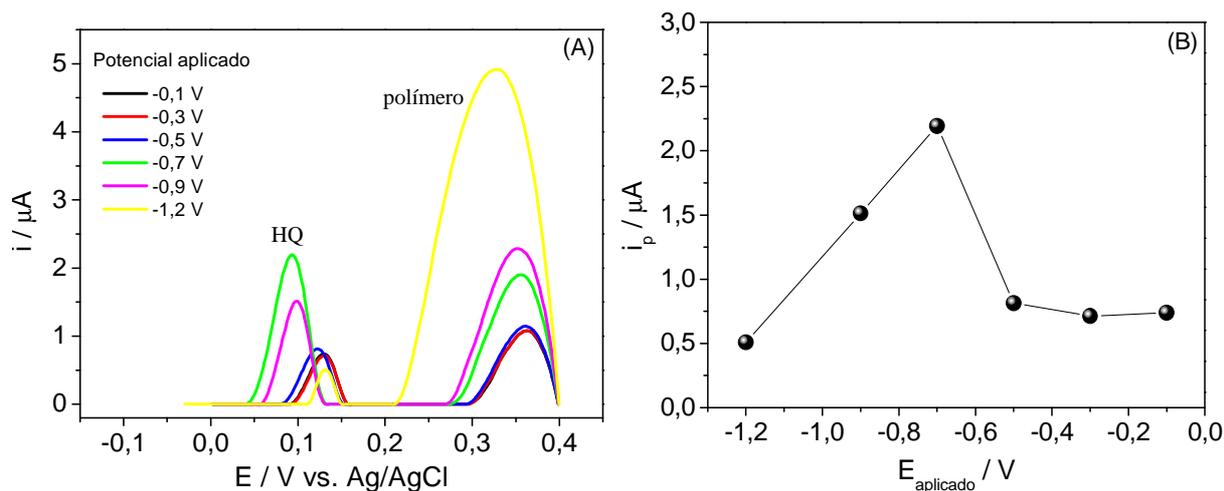


FIGURA 3.43 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de $5,78 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} HQ em meio de PBS 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) em diferentes potenciais aplicados no pré-tratamento do eletrodo. (B) Valores de corrente de pico obtidos em função do potencial aplicado.

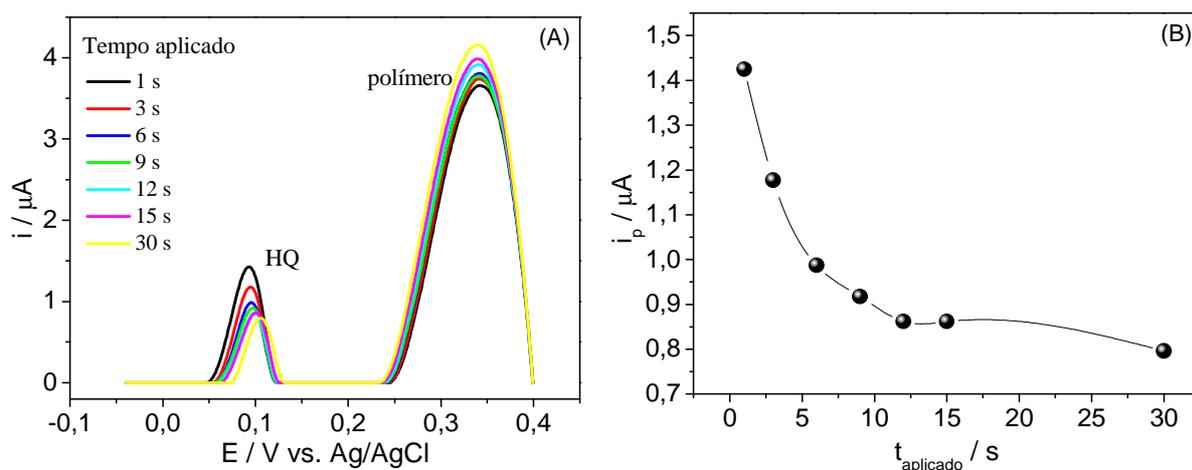


FIGURA 3.44 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos em solução de $5,78 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} HQ em meio de PBS 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0), aplicando -0,7 V em diferentes tempos. (B) Valores de corrente de pico obtidos em função do tempo aplicado.

3.4.5.4 Variação da velocidade de varredura

Foi analisado o efeito da variação da velocidade de varredura na resposta de voltametria cíclica da HQ utilizando o eletrodo p-PAAQ. Para tanto, utilizou-se uma solução de HQ com concentração de $4,54 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} em meio tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} . O experimento foi realizado variando a velocidade

de varredura no intervalo entre 0,01 e 0,2 V s^{-1} . Os resultados obtidos estão apresentados na FIGURA 3.45, na qual pode ser observado nos voltamogramas cíclicos o aumento da velocidade de varredura com o aumento dos valores nas correntes de oxidação e redução, bem como os potenciais de pico deslocaram-se para regiões mais positivas e negativas conforme os processos de oxidação e redução, respectivamente. A partir dos valores de correntes de pico obtidos dos voltamogramas cíclicos apresentados na FIGURA 3.45, foi construído um gráfico de corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), conforme exibido na FIGURA 3.45-B. E, como podem ser observadas, as correntes de pico de oxidação variou linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, sugerindo um processo que pode ser controlado por difusão¹⁴⁶. Como mencionado anteriormente, é importante ressaltar que os fenômenos que envolvem o transporte do material eletroativo em polímeros condutores diferem daqueles envolvidos nos eletrodos sólidos não modificados¹⁴⁷.

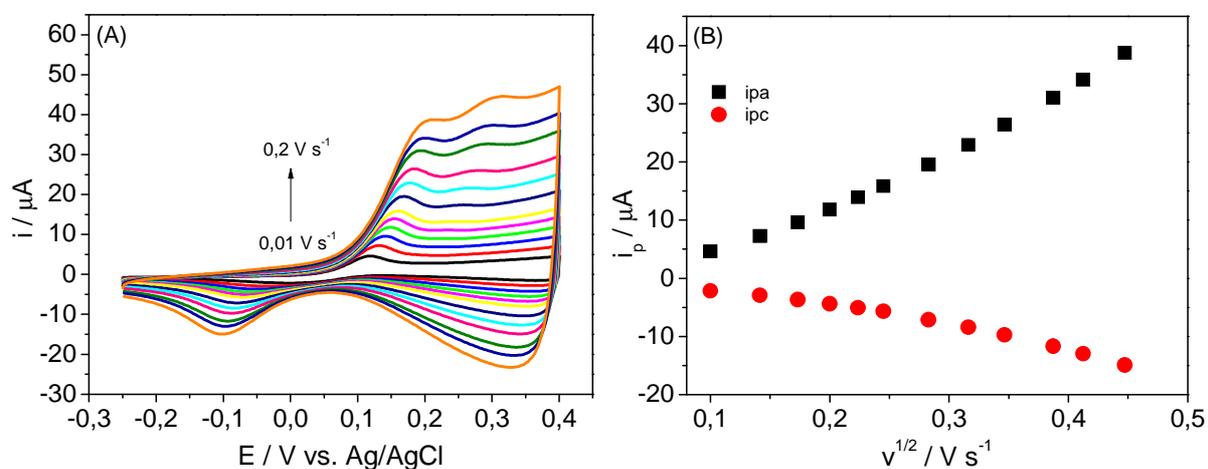


FIGURA 3.45 – (A) Voltamogramas cíclicos da oxidação de $4,54 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ HQ, utilizando eletrodo p-PAAQ em diferentes velocidades de varredura. (B) Relação entre as correntes de pico anódicas e catódicas com a velocidade de varredura, $v^{1/2}$.

3.4.5.5 Curva analítica para HQ

Utilizando a técnica de SWV, sob condições experimentais otimizadas, construiu-se uma curva analítica com o eletrodo p-PAAQ adicionando alíquotas de HQ padrão em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,8). Por meio dos voltamogramas, mediu-se a variação dos valores de corrente de pico e uma curva analítica de corrente em função da concentração de HQ foi determinada. Antes das medidas borbulhou-se nitrogênio na solução por cerca de 10 minutos e foi aplicado o potencial de $-0,7 \text{ V}$ por 1 s antes de cada medida. Na FIGURA 3.46-A são apresentados os voltamogramas obtidos no intervalo de concentração de HQ entre $2,97$ e $25,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e a curva analítica resultante (FIGURA 3.46-B). De acordo com os resultados, foi observado um aumento das intensidades de corrente de pico com o aumento da concentração de HQ, que pode ser expressa segundo à equação: $I_p(\mu\text{A}) = -0,09 + 0,002 \cdot C_{HQ} (\text{mol L}^{-1})$, com um coeficiente de correlação de $0,9896$. O limite de detecção obtido foi de $2,11 \mu\text{mol L}^{-1}$. Nos voltamogramas são apresentados tanto o pico para a oxidação da HQ (potencial próximo a $+0,13 \text{ V}$) como o pico do polímero ($+0,47 \text{ V}$), sendo observado que sua corrente de pico aumentou linearmente com o aumento da concentração de HQ.

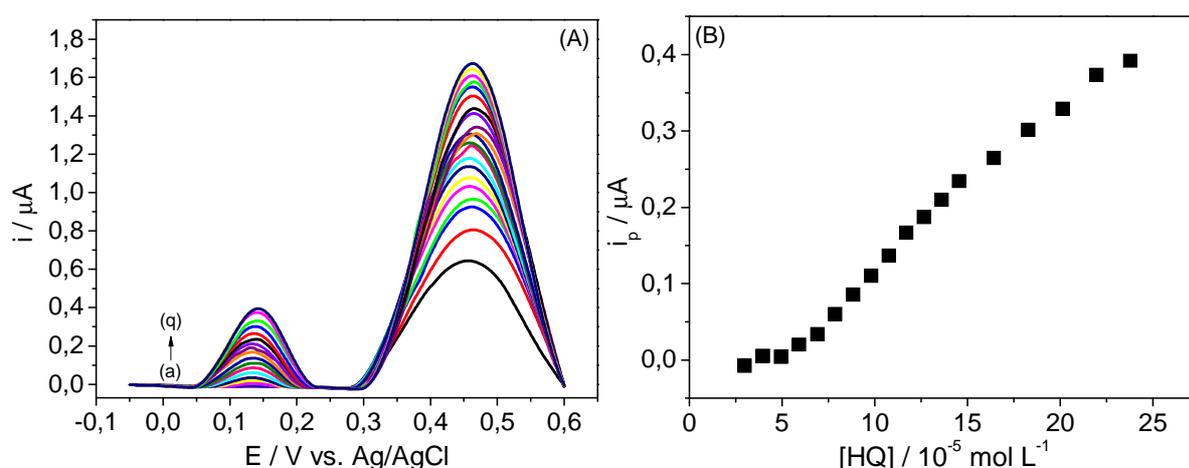


FIGURA 3.46 – (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo de p-PAAQ em diferentes concentrações de HQ (a – q): $2,97 - 25,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Curva analítica correspondente.

A repetibilidade da resposta do eletrodo p-PAAQ foi avaliada por CV, medindo-se as correntes de pico obtidas para uma solução de HQ $5,78 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, para dez determinações sucessivas. Todas as determinações foram realizadas com o mesmo eletrodo, não sendo necessário renovar eletroquimicamente a superfície do mesmo. De acordo com os resultados o eletrodo apresentou uma repetibilidade adequada para a determinação de HQ, obtendo RSD de 2,74%.

3.4.5.6 Determinação de HQ em amostras comerciais e estudo de adição e recuperação

A determinação de HQ em amostras farmacêuticas foi realizada pelo método de adição de padrão, por meio da técnica de SWV. O cosmético terapêutico utilizado especificava 40 mg de HQ por gramas de creme. Esta concentração foi, então, comparada ao valor determinado experimentalmente, o qual foi encontrado valor igual a 37,9 mg g⁻¹. A FIGURA 3.47 mostra os voltamogramas obtidos para a determinação de HQ em amostra de cosmético obtida em farmácia de manipulação.

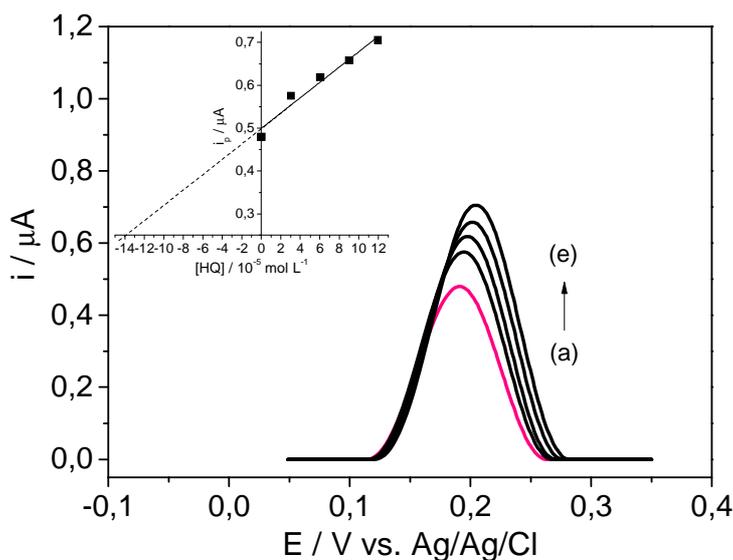


FIGURA 3.47 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o eletrodo p-PAAQ na determinação de HQ em amostra manipulada de cosmético 4%. (a) amostra, (b) amostra + $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (c) amostra + $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (d) amostra + $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (e) amostra + 12×10^{-5} mol L⁻¹. A figura inserida corresponde à respectiva curva analítica.

Foi avaliada a influência dos componentes da matriz das amostras na determinação de HQ em cosméticos géis, por meio de estudos de adição e recuperação utilizando o eletrodo p-PAAQ. As amostras não passaram por nenhum tratamento prévio, ou seja, as soluções foram preparadas a partir dos cosméticos por meio de diluição simples em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,8). Na TABELA 3.10 são relatados os valores das recuperações obtidos para três diferentes amostras, as quais foram adquiridas em drogarias – amostra industrializada contendo 4% de HQ, e em farmácias de manipulação – amostras manipuladas contendo 4% e outra contendo 2% de HQ.

TABELA 3.10 – Estudo de adição e recuperação de HQ em amostras farmacêuticas obtidas com eletrodo p-PAAQ por SWV (n=3)

<i>Amostras</i>	<i>Adicionado</i> <i>(10⁻⁵ mol L⁻¹)</i>	<i>Encontrado^a</i> <i>(10⁻⁵ mol L⁻¹)</i>	<i>Recuperação</i> <i>(%)</i>
	6,00	6,70 ± 0,08	111
<i>Industrializada (4%)</i>	12,0	11,6 ± 0,03	96,7
	17,8	17,8 ± 0,01	99,8
	6,04	6,61 ± 0,03	109
<i>Manipulada (4%)</i>	9,02	8,82 ± 0,04	97,8
	11,9	11,5 ± 0,01	96,6
	6,00	5,60 ± 0,11	93,3
<i>Manipulada (2%)</i>	12,0	12,0 ± 0,01	100
	17,8	17,9 ± 0,02	101

a - Resultados expressos com a média ± S.D

De acordo com os resultados, recuperações médias de HQ de 103%, 101% e 98,1%, foram obtidas para as amostras industrializada 4%, manipulada

4% e manipulada 2%, respectivamente. Estes resultados confirmaram a boa aplicabilidade do eletrodo p-PAAQ sem a interferência das matrizes e, a quantidade de HQ adicionada e recuperada obtida pelo método voltamétrico proposto apresentou-se coerente com as informações dos fabricantes.

Em suma, a utilização do eletrodo p-PAAQ mostrou-se como um método simples, rápido e eficiente para a quantificação de HQ em cosméticos terapêuticos. Não sendo necessárias as etapas de preparo de amostras, as quais são indispensáveis na maioria das metodologias analíticas. A propriedade eletrocatalítica, obtida com a aplicação do pré-tratamento catódico, permitiu uma melhora da resposta voltamétrica da HQ aumentando significativamente a resposta de corrente de pico em seis vezes e diminuindo o potencial de pico de oxidação da HQ em 61 mV. O método proposto atingiu bom valor de limite de detecção, suficiente para quantificar HQ em amostras farmacêuticas, e sua aplicação em amostras comerciais apresentou resultados satisfatórios sem a interferência da matriz. Sendo, portanto, um método alternativo para análises de HQ em cosméticos utilizados para o clareamento de pele.

4. INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO CATÓDICO NOS POLÍMEROS CONDUTORES

A influência do pré-tratamento catódico no comportamento dos polímeros condutores estudados neste trabalho mostrou-se de grande importância para a aplicação dos eletrodos uma vez que parâmetros como seletividade e sensibilidade são diretamente dependentes deste pré-tratamento. Este efeito foi inicialmente observado durante o desenvolvimento do trabalho de mestrado. Com o objetivo de exploração nas aplicações analíticas utilizando polímeros condutores e devido à dificuldade experimental de se comprovar diretamente as modificações que podiam estar ocorrendo na cadeia polimérica, decidiu-se dar continuidade ao trabalho estudando outros polímeros buscando-se melhores propriedades analíticas bem como compreender como o pré-tratamento influencia a resposta eletroquímica destes polímeros.

Como mencionado, estudos realizados mostraram que o eletrodo de PAA apresentou excelentes respostas para DA sem a interferência do AA, após a aplicação do pré-tratamento catódico¹⁸⁻¹⁹, o que direcionou a escolha dos monômeros a serem estudados. Neste sentido, a proposta foi desenvolver eletrodos modificados com derivados do antraceno e naftaleno, como o 1-aminoantraceno, 1-aminoantraquinona, 1-aminonaftaleno e 1,5-diaminonaftaleno e comparar a resposta destes sistemas utilizando a DA como analito de referência. Além disso, avaliou-se também a polianilina como uma forma de abranger os compostos com um, dois e três anéis aromáticos, como mostrados na FIGURA 4.1.

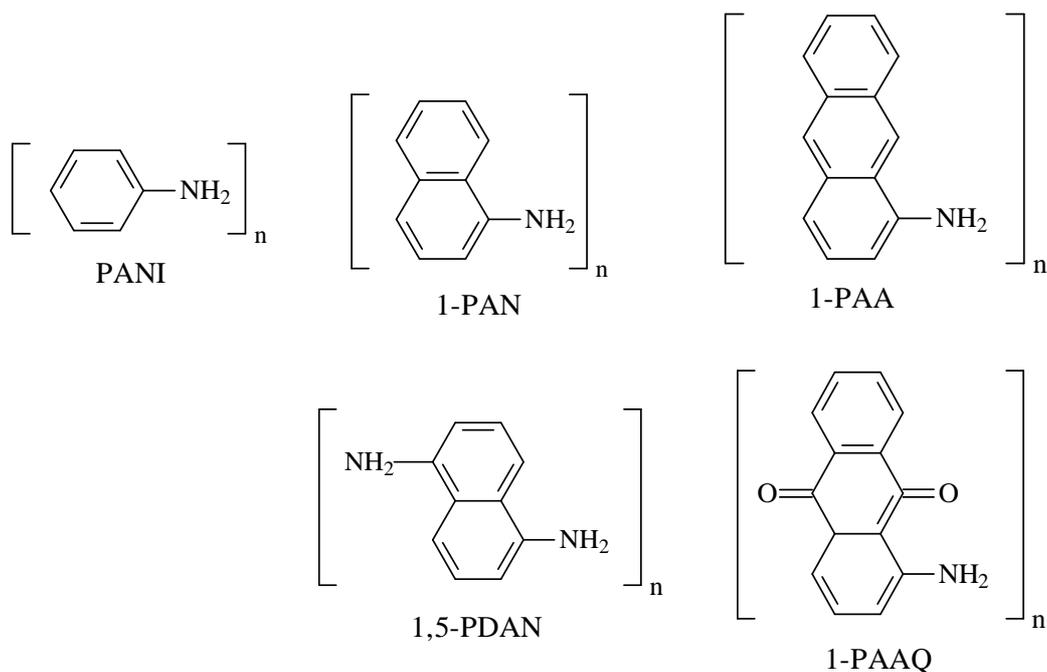


FIGURA 4.1 – Estruturas químicas dos polímeros condutores polianilina (PANI), poli(1-aminonaftaleno) (1-PAN), poli(1-aminoantraceno) (1-PAA), poli(1,5-diaminonaftaleno) (1,5-PDAN) e poli(1-aminoantraquinona) (1-PAAQ).

Assim, será discutido neste item o estudo do pré-tratamento catódico realizado nos filmes de PAA e PANI por meio das técnicas espectrofotoeletróquímica e microbalança de cristal de quartzo. E uma discussão abrangente referente aos resultados voltamétricos obtidos com os polímeros PAA e PAAQ (relatados aqui), 1-PAN, 1,5-PDAN e PANI, os quais fazem parte de trabalhos realizados no nosso grupo de pesquisa.

4.1 Resultados de QCM e espectrofotoeletróquímico

4.1.1 Microbalança de Cristal de Quartzo

A técnica de QCM têm sido amplamente utilizada para investigar as propriedades de filmes finos, auxiliando na compreensão de alguns fenômenos que ocorrem na interface eletrodo/solução. Como é bem descrito na literatura, seu funcionamento baseia-se nas propriedades piezelétricas de um cristal de

quartzo, por meio do monitoramento da frequência ressonante de um cristal quando uma massa é depositada sobre este cristal ou, quando se varia o meio no qual o cristal se encontra^{39, 150}. Um acompanhamento eletroquímico pode ser realizado, acoplando a técnica de QCM a este sistema, de forma que se torna possível o monitoramento de alguns processos que envolvam variação de massa. Deste modo, a aplicação do pré-tratamento catódico nos eletrodos modificados com filmes poliméricos foi monitorada por meio da técnica de QCM, medindo-se a variação de frequência em função do tempo, em conjunto com as técnicas voltamétrica e cronoamperométrica, com o intuito de averiguar se a resposta obtida com este pré-tratamento era resultado de uma possível pré-concentração de DA na superfície do filme. Para tanto, foram utilizados cristais de quartzo modificados com filmes de PANI e PAA.

4.1.1.1 Síntese eletroquímica do filme de PANI sobre cristais de quartzo

Os filmes de PANI foram eletropolimerizados sobre cristais de quartzo recobertos com ouro. Na FIGURA 4.2-A estão representados os voltamogramas obtidos registrados durante o crescimento do filme de PANI polimerizados a partir de uma solução aquosa de 0,1 mol L⁻¹ de anilina em H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹. Esta síntese foi realizada por meio da técnica de CV, realizando-se cinco ciclos em um intervalo de potencial entre -0,2 e +1,4 V, com velocidade de varredura de 0,05 V s⁻¹. De acordo com os voltamogramas obtidos foi observado no primeiro ciclo, realizado em direção a potenciais mais positivos, um pico anódico irreversível em torno de +1,25 V correspondente à oxidação da anilina. Nos ciclos subsequentes, este pico desaparece e há o surgimento de três picos anódico e catódicos, nos quais são observados o aumento da intensidade de corrente a cada ciclo sucessivo, indicando o crescimento do polímero. O par redox em torno de +0,20 V indica a transição da forma reduzida do sal leucoesmeraldina para a forma de sal esmeraldina. O pico próximo a +0,85 V é atribuído à oxidação adicional na forma pernigranilina. E o

pico intermediário, em torno de +0,60 V, é atribuído a reações redox da p-benzoquinona. Todos estes processos foram concordantes com a literatura¹⁵¹⁻¹⁵². Após a síntese, um filme homogêneo de cor verde clara foi observado sobre o eletrodo.

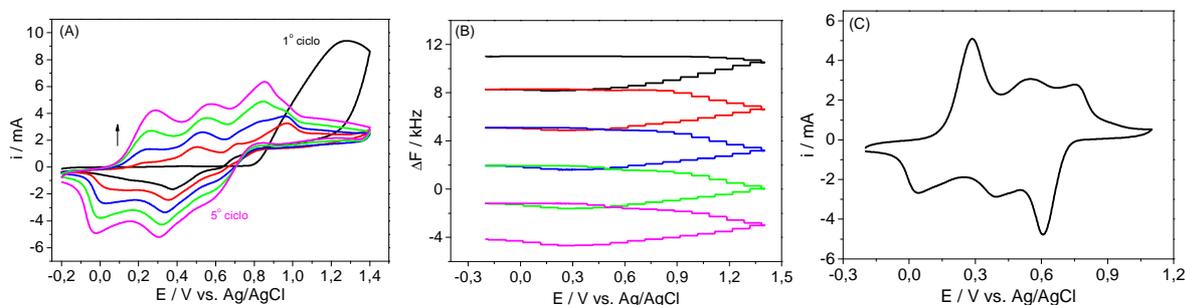


FIGURA 4.2 – (A) Voltamogramas cíclicos e (B) variação da frequência para o crescimento do filme de PANI sobre o eletrodo de ouro do cristal de quartzo obtidos a partir de uma solução contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de anilina em meio de $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. (C) Voltamogramas cíclicos obtidos com o filme de PANI em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência do monômero; $\nu = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

As variação de frequência de oscilação do cristal obtidas simultaneamente com os voltamogramas cíclicos, durante o crescimento do filme de PANI, estão apresentadas na FIGURA 4.2-B. De acordo com a equação de Sauerbrey¹⁵⁰, a frequência é proporcional à massa depositada sobre o cristal. Com o aumento do número de ciclos, pode-se, portanto, observar o crescimento do filme de PANI sobre o eletrodo pela diminuição da variação da frequência do cristal, conforme ilustrado na FIGURA 4.2.

Na FIGURA 4.2-C estão representados os voltamogramas referentes ao comportamento eletroquímico do filme de PANI em solução $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, sendo observado três pares de picos redox, os quais estão em concordância com os resultados descritos na literatura^{23, 151}. O primeiro par redox (cerca de +0,2 V / 0,0 V) corresponde à reação entre leucoesmeraldina e esmeraldina. O segundo processo (+0,55 V e +0,40 V) está relacionado a produtos de degradação do filme, como a formação do par quinona/hidroquinona. E o terceiro par redox (+0,7 V / +0,6 V) corresponde ao

segundo processo de oxidação do polímero, no qual ocorre a interconversão do estado esmeraldina para a pernigranilina^{23, 151}.

4.1.1.2 Estudo do pré-tratamento catódico aplicado nos filmes de PANI e PAA

A influência do pré-tratamento catódico aplicado nos filmes de PANI foi monitorada por meio da variação da frequência com o tempo, utilizando da técnica de QCM, simultaneamente, com as medidas de cronoamperometria e CV. A princípio, foram realizadas medidas voltamétricas em soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,0) e $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DA em meio de PBS, utilizando eletrodos de PANI.

Na FIGURA 4.3 estão representados os voltamogramas cíclicos obtidos com o cristal de quartzo modificado com o filme de PANI em soluções de DA e PBS com e sem a aplicação do pré-tratamento catódico. Como pode ser observado, após a realização do pré-tratamento catódico, o eletrodo de PANI apresentou processos de oxidação e redução para DA, com picos em torno de +0,44 V e +0,12 V, respectivamente; conforme resultados obtidos com o filme de PANI eletropolimerizado sobre platina¹³⁴. Os voltamogramas obtidos neste trabalho apresentam-se um pouco distorcidos referentes aos voltamogramas obtidos em filme de PANI depositados sobre eletrodo de platina, com deslocamento dos potenciais de picos, devido à diferença entre os substratos utilizados: platina e cristal de quartzo recoberto com ouro.

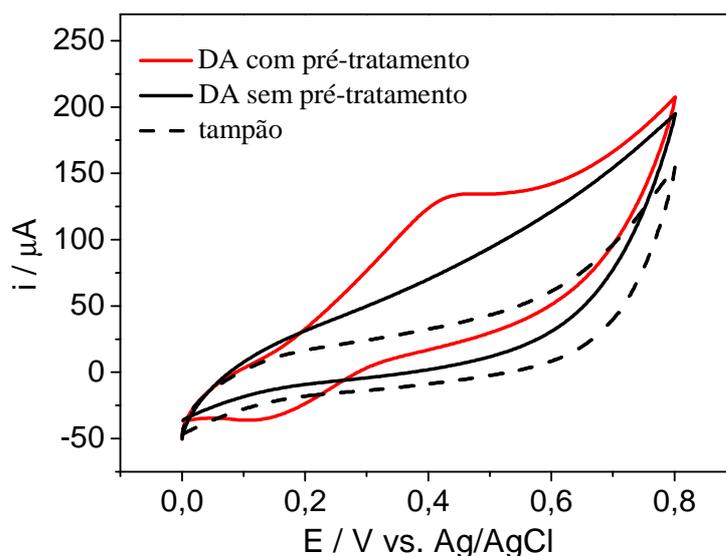


FIGURA 4.3 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o cristal de quartzo modificado com PANI em soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS e $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ DA, sem e com a aplicação do pré-tratamento catódico, $\nu = 0,025 \text{ V s}^{-1}$.

Concomitantemente, foram monitoradas as medidas de frequência em função dos ciclos voltamétricos aplicados, as quais estão ilustradas na FIGURA 4.4. Na figura são mostrados a variação da frequência obtida para cinco ciclos voltamétricos, realizados em solução tampão fosfato pH 7,0 (FIGURA 4.4-A e FIGURA 4.4-B) e solução de DA (FIGURA 4.4-C), sendo que as medidas realizadas sem e com a aplicação do pré-tratamento estão representadas pelas FIGURAS 4.4-A e 4.4-B e C, respectivamente.

De acordo com os resultados obtidos, não foram observadas variações significativas nos valores de frequências de oscilação do cristal que pudesse nos sugerir que está ocorrendo uma pré-concentração do analito na superfície do filme. A diferença que se observa nas linhas representadas com cores pretas nos gráficos de frequência são consequências do “efeito de memória”, característica comum encontradas na maioria dos polímeros condutores, os quais apresentam a primeiro meio ciclo voltamétrico sempre diferente dos demais¹⁵³.

Resultados semelhantes obtidos com a variação da frequência de oscilação do cristal utilizando o filme de PANI também foram observados com o

filme de PAA polymerizados sobre cristal de quartzo não sendo observada nenhuma variação.

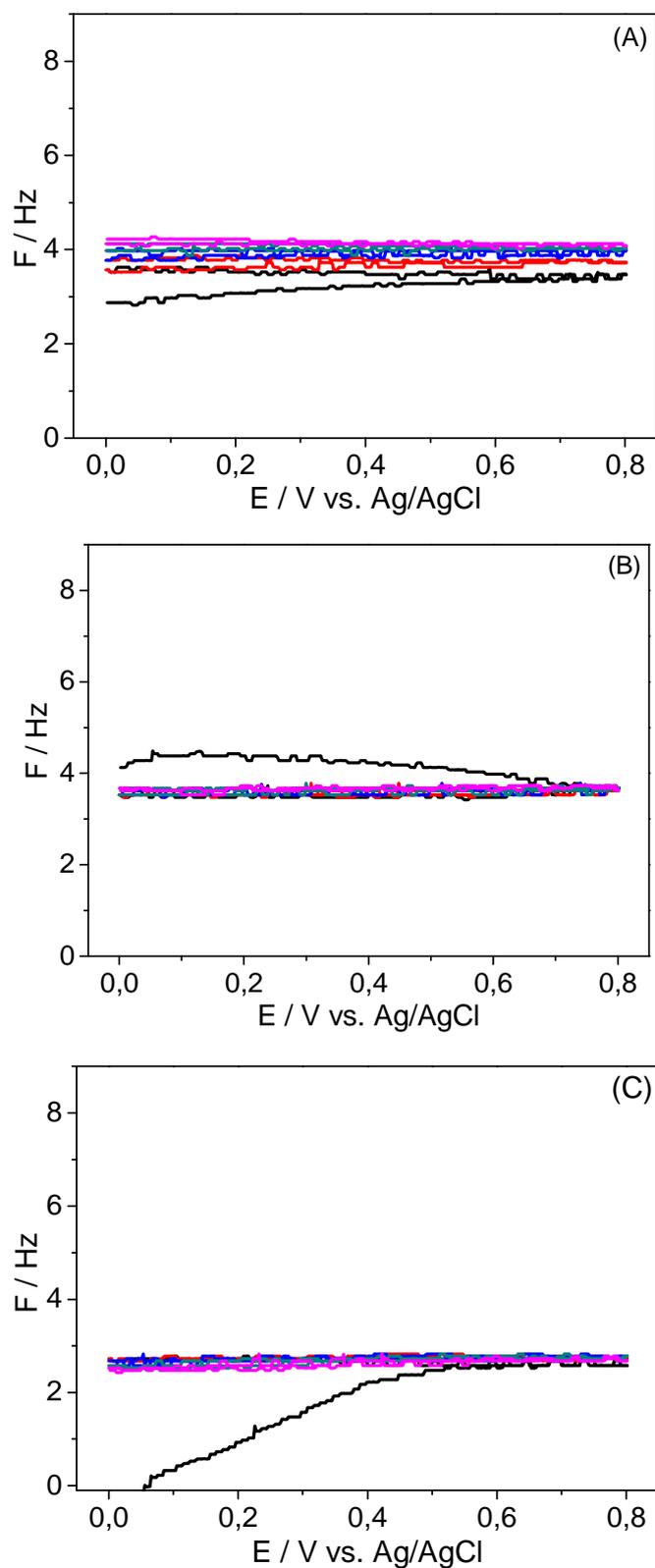


FIGURA 4.4 – Variação da frequência de oscilação do cristal de quartzo modificado com PANI, obtidos simultaneamente com os voltamogramas cíclicos em soluções (A e B) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS, (C) $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de DA, (A) sem e (B e C) com a aplicação do pré-tratamento catódico.

Estas observações são consistentes com as medidas realizadas por técnicas voltamétricas^{19, 134}, nas quais estudos foram realizados para verificar se o pré-tratamento pudesse provocar um efeito de pré-concentração da DA na superfície do eletrodo. Para tanto, o pré-tratamento foi realizado em uma solução contendo somente PBS, em seguida foi adicionada a DA a esta solução e medidas voltamétricas foram realizadas, de forma que o pré-tratamento catódico foi aplicado na ausência de DA. Os resultados obtidos tanto com o filme de PANI como o filme de PAA foram similares àqueles nos quais o pré-tratamento era realizado na solução na presença de DA, indicando, portanto, que o pré-tratamento catódico não estaria levando a uma pré-concentração da DA na superfície do eletrodo.

A técnica cronoamperométrica foi utilizada acoplada à QCM para verificar a variação da frequência ressonante do cristal modificado com PAA e PANI em diferentes tempos e potenciais do pré-tratamento catódico aplicados nos eletrodos. As medidas de cronoamperométricas foram iniciadas com potencial de circuito aberto e seguidas pela aplicação de diferentes potenciais: $-0,7\text{ V}$, $-0,9\text{ V}$ e $-1,0\text{ V}$, durante 3 s (FIGURA 4.5-A) ou aplicando um potencial fixo de $-0,7\text{ V}$ e variando o tempo de aplicação de $3, 6, 12$ e 18 s (FIGURA 4.5-C) em solução tampão fosfato, utilizando o eletrodo de PAA. Simultaneamente foi monitorada a variação da frequência de oscilação do cristal, as quais estão representadas pelas FIGURA 4.5-B e FIGURA 4.5-D, respectivamente.

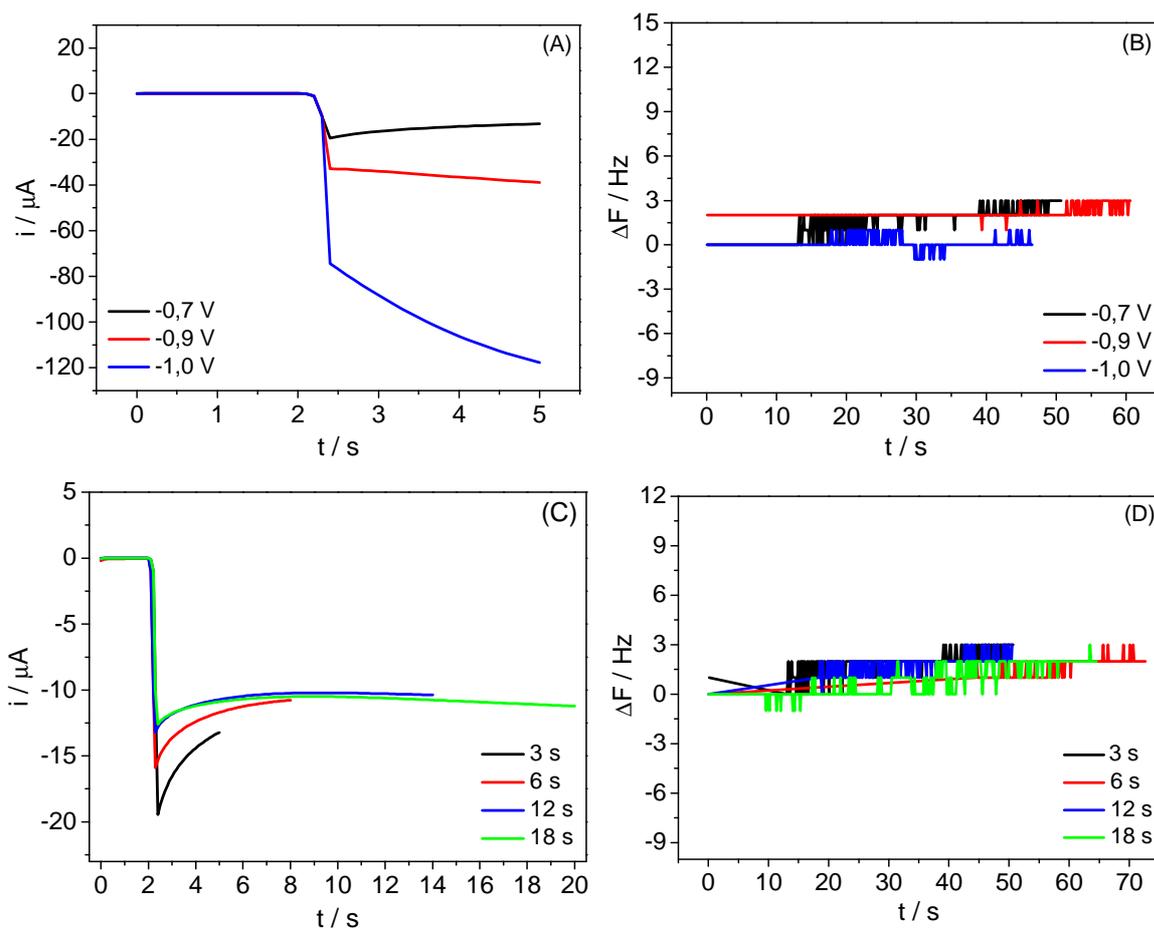


FIGURA 4.5 – Medidas cronoamperométricas obtidas com o cristal quartzo modificado com PAA, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0), aplicando (A) diferentes potenciais: $-0,7$, $-0,9$ e $-1,0$ durante 3 s, e (B) aplicando o potencial de $-0,7 \text{ V}$ por diferentes tempos: 3, 6, 12 e 18 s. Variação da frequência em função do tempo obtidas simultaneamente com as medidas cronoamperométricas para diferentes (C) potenciais e (D) tempos.

Conforme pode ser verificada nas FIGURA 4.5-B e FIGURA 4.5-D, as respostas de frequência de oscilação do cristal de PAA não apresentaram variações significativas que correspondessem a algum tipo de perturbação no cristal com a aplicação do pré-tratamento catódico. Este comportamento também foi verificado quando utilizado uma solução de DA, conforme mostrado na FIGURA 4.6 a seguir, e quando utilizado o filme de PANI, como mostrado na FIGURA 4.7

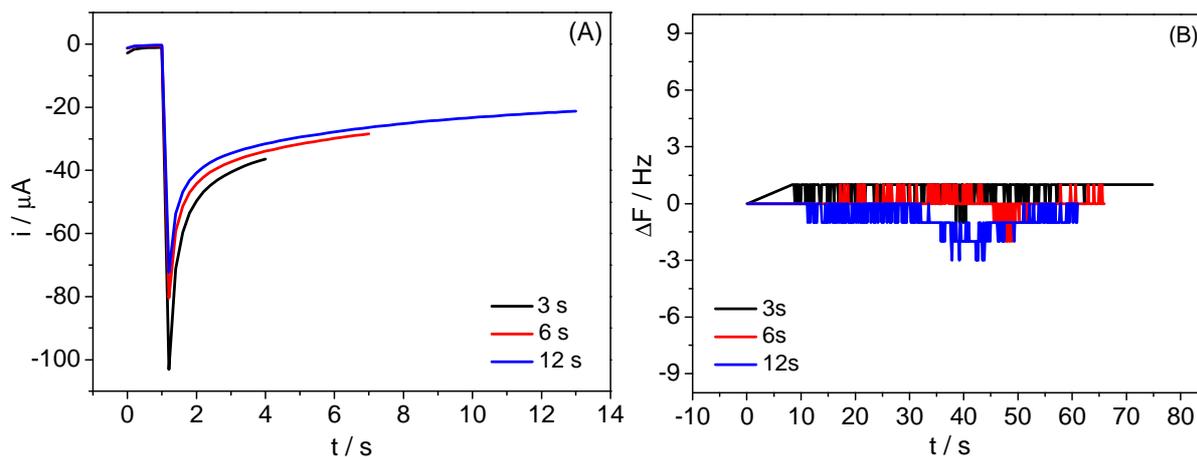


FIGURA 4.6 – (A) Medidas cronoamperométricas obtidas com o cristal quartzo modificado com PAA, em solução $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ DA, aplicando o potencial de $-0,7 \text{ V}$ por diferentes tempos. (B) Variação da frequência em função do tempo obtidas simultaneamente com as medidas cronoamperométricas.

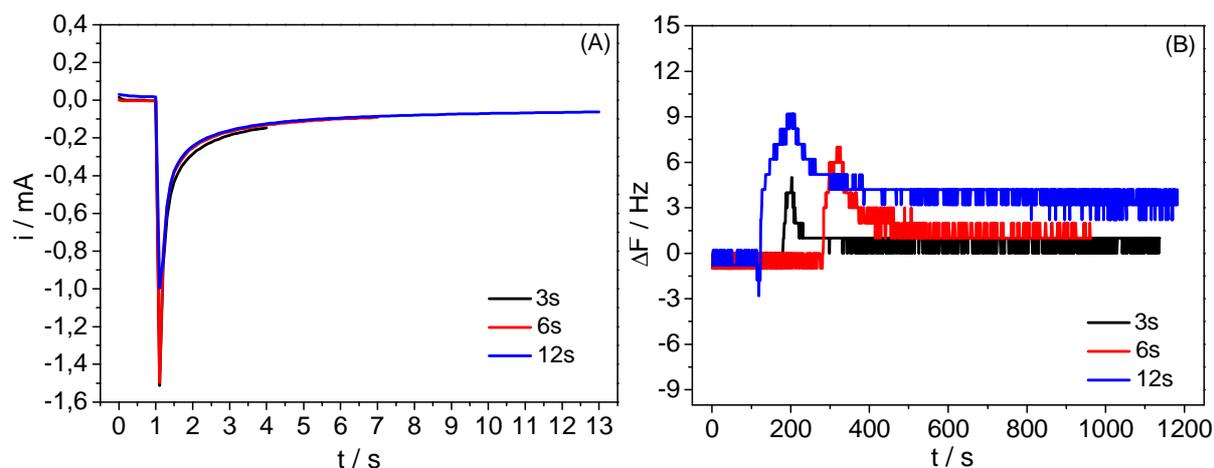


FIGURA 4.7 – (A) Medidas cronoamperométricas obtidas com o cristal quartzo modificado com PANI, em solução $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ DA, aplicando o potencial de $-0,7 \text{ V}$ por diferentes tempos. (B) Variação da frequência em função do tempo obtidas simultaneamente com as medidas cronoamperométricas.

Em suma, a técnica de QCM mostrou que não há variação de massa na superfície dos cristais durante os processos de oxidação e redução da DA e durante a aplicação do pré-tratamento catódico nos filmes de PAA e PANI.

4.1.2 Estudo espectrofotoeletróquímico

O uso de técnicas espectroscópicas acopladas a sistemas eletroquímicos pode permitir identificar mudanças nas propriedades do polímero durante os processos redox. Quando ocorre a transição de um estado de oxidação para o outro em um CP, a sua coloração pode mudar drasticamente, dependendo do polímero, e portanto, reflete em seus espectros UV-Vis.

4.1.2.1 Análises espectrofotoeletróquímica dos filmes de PANI e PAA

Os experimentos para cada filme polimérico (PAA e PANI) foram realizados utilizando a técnica ciclovoltagemétrica em conjunto com a espectrofotométrica, em soluções de 0,1 mol L⁻¹ tampão fosfato pH 7,0 e outra contendo DA 8,8x10⁻³ mol L⁻¹. Estes experimentos foram realizados sem e com a aplicação do pré-tratamento catódico de -0,7 V por 3 s, com a finalidade de identificar possíveis mudanças nos filmes.

Na FIGURA 4.8 estão apresentando os voltamogramas obtidos em soluções tampão fosfato (FIGURA 4.8-A) e solução de DA (FIGURA 4.8-B) com o filme de PANI polimerizado sobre o eletrodo de vidro condutor ITO. Estes resultados foram obtidos com e sem a aplicação do pré-tratamento catódico e utilizando a célula espectrofotométrica. O comportamento voltamétrico observado foi semelhante ao comportamento obtido com o filme de PANI eletropolimerizado sobre os eletrodos de cristal de quartzo e de platina¹³⁴, ou seja, o eletrodo de ITO modificado com PANI apresentou resposta para DA somente após a aplicação do pré-tratamento catódico.

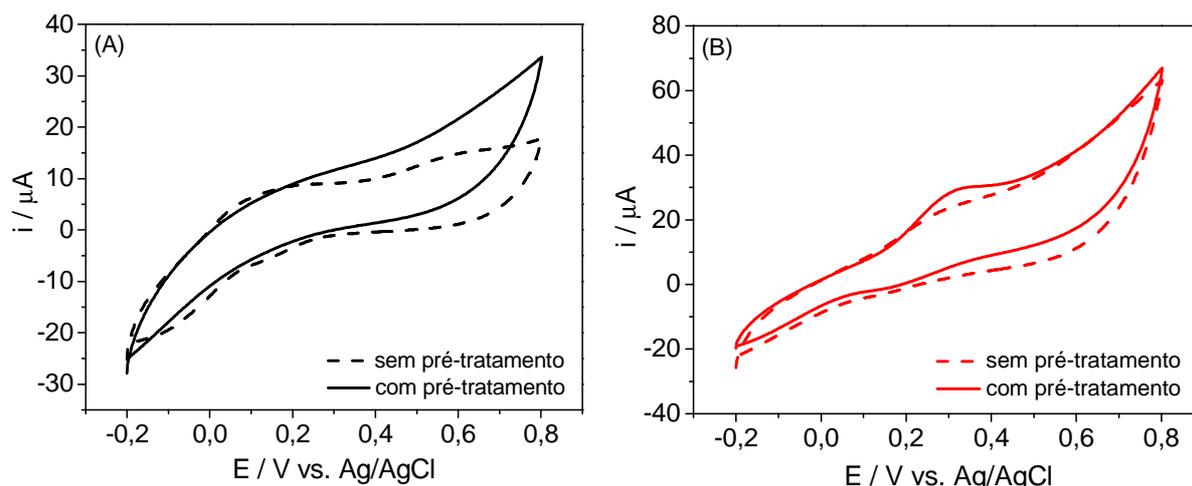


FIGURA 4.8 – Voltamogramas cíclicos obtidos em soluções (A) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS e (B) $8,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de DA, com eletrodos de ITO modificado com filme de PANI sem e com pré-tratamento catódico, utilizando uma célula espectroeletroquímica.

A FIGURA 4.9 mostra os espectros UV-Vis obtidos, simultaneamente com os voltamogramas cíclicos em intervalos entre $-0,2 \text{ V}$ e $+0,6 \text{ V}$, com eletrodo de vidro ITO modificado com PANI em meio de solução tampão fosfato, antes (FIGURA 4.9-A), durante e após (FIGURA 4.9-B) a aplicação do potencial de $-0,7 \text{ V}$ por 3 s .

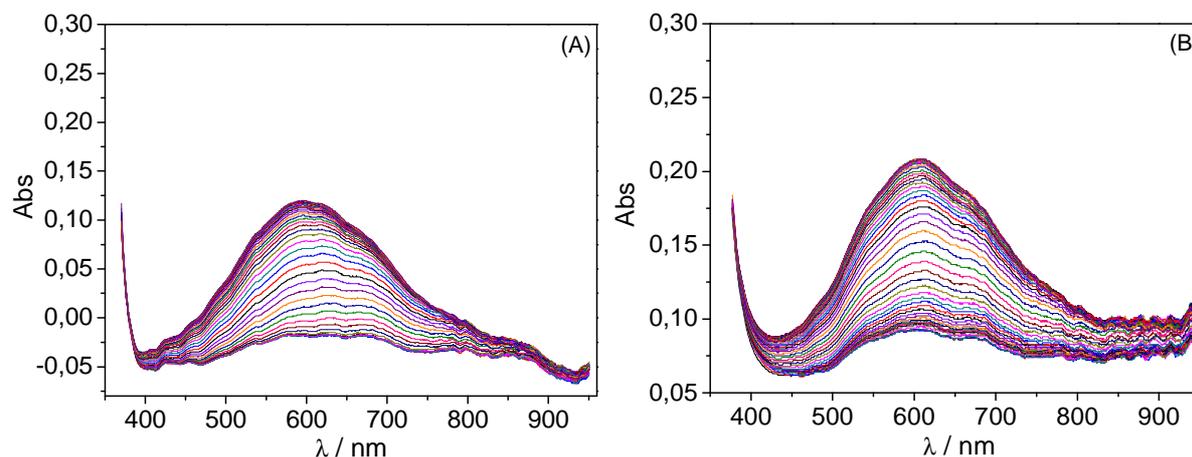


FIGURA 4.9 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PANI obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de $-0,2$ a $+0,6 \text{ V}$, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS pH $7,0$, realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.

Na Figura 4.10 são apresentados os espectros UV-Vis obtidos, durante a realização dos voltamogramas cíclicos, com eletrodo de vidro ITO

modificado com PANI em meio de solução de DA, antes (FIGURA 4.10-A), durante e após (FIGURA 4.10-B) a aplicação do potencial de $-0,7$ V por 3 s. Observa-se pelas Figuras 4.9 e 4.10 que os espectros têm comportamentos semelhantes com exceção do espectro da PANI em meio contendo DA e com aplicação do pré-tratamento. Para todos os casos há um aumento nos valores de absorvância durante a varredura na direção de potenciais mais positivos. Na Figura 4.11 e 4.12 são apresentados os valores de absorvância obtidos da Figura 4.10 em função do potencial para três comprimentos de ondas no caso 420 nm, 600nm e 800 nm. Pode-se observar que para a PANI sem pré-tratamento durante a varredura direta há um aumento na absorvância iniciando próximo a 0,0 V e atingindo um patamar próximo a 0,6 V e para PANI pré-tratada o aumento na absorvância inicia-se próximo a 0,4 – 0,6 V e continua a aumentar mesmo durante a varredura inversa. Uma vez que o pico de oxidação para DA ocorre próximo a 0,3 V e que nesta região a PANI pré-tratada não apresenta variação apreciável na absorvância possivelmente ela atua permitindo a transferência eletrônica que leva à oxidação da DA sem que ocorra mudanças no polímero. Já para PANI sem pré-tratamento a transferência de elétrons não é facilitada não ocorrendo a oxidação da DA e sim há a oxidação do polímero uma vez que observa-se a variação nas propriedades da PANI que leva a uma variação na absorvância.

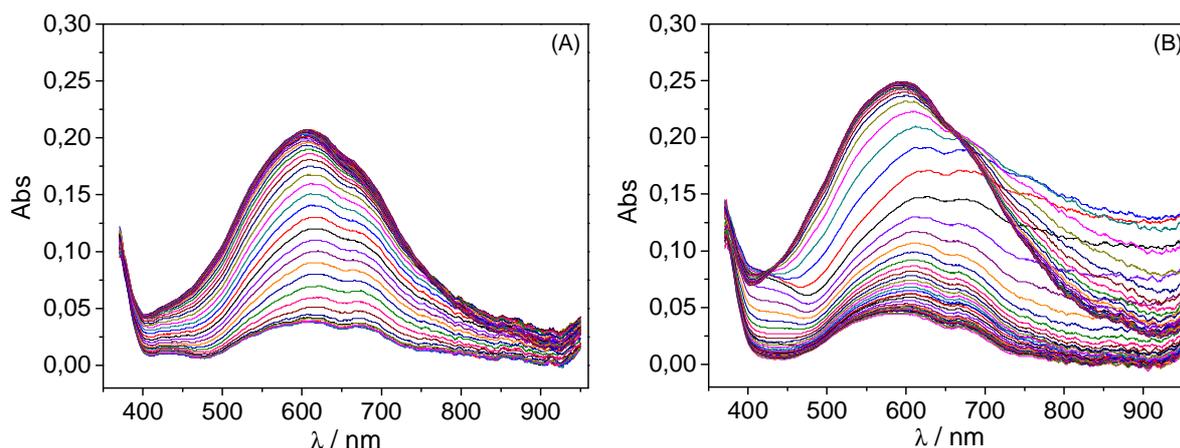


FIGURA 4.10 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PANI obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de $-0,2$ a $+0,6$ V, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $7,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de DA, realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.

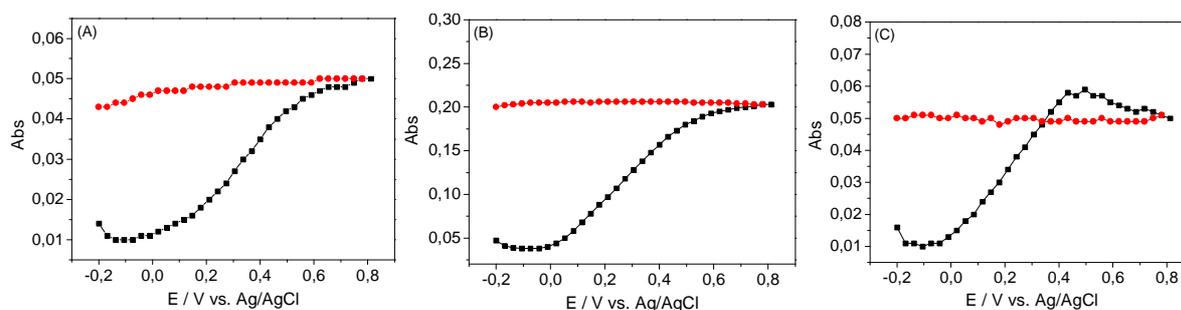


FIGURA 4.11 – Absorbância vs. o potencial de varredura (—) direta e (—) inversa aplicado para três comprimentos de onda selecionados: (A) 420 nm, (B) 600 nm e (C) 800 nm, derivados dos espectros exibidos na Figura 4.10, para solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,0) contendo $7,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de DA, realizados antes da aplicação do pré-tratamento catódico.

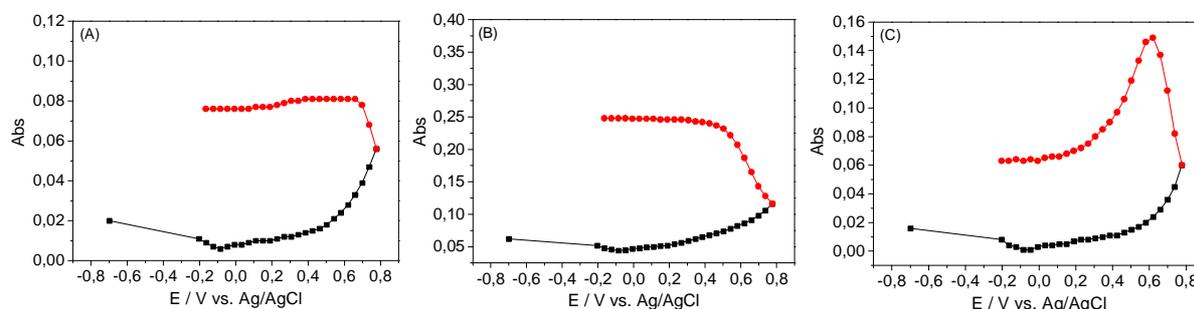


FIGURA 4.12 – Absorbância vs. o potencial de varredura (—) direta e (—) inversa aplicado para três comprimentos de onda selecionados: (A) 420 nm, (B) 600 nm e (C) 800 nm, derivados dos espectros exibidos na Figura 4.10, para solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,0) contendo $7,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de DA, realizados durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.

Para o PAA conforme se observa nas Figuras 4.13 e 4.14 não há diferenças significativas entre os diferentes estudos realizados semelhantes aos da PANI não permitindo obter maiores informações dos espectros obtidos.

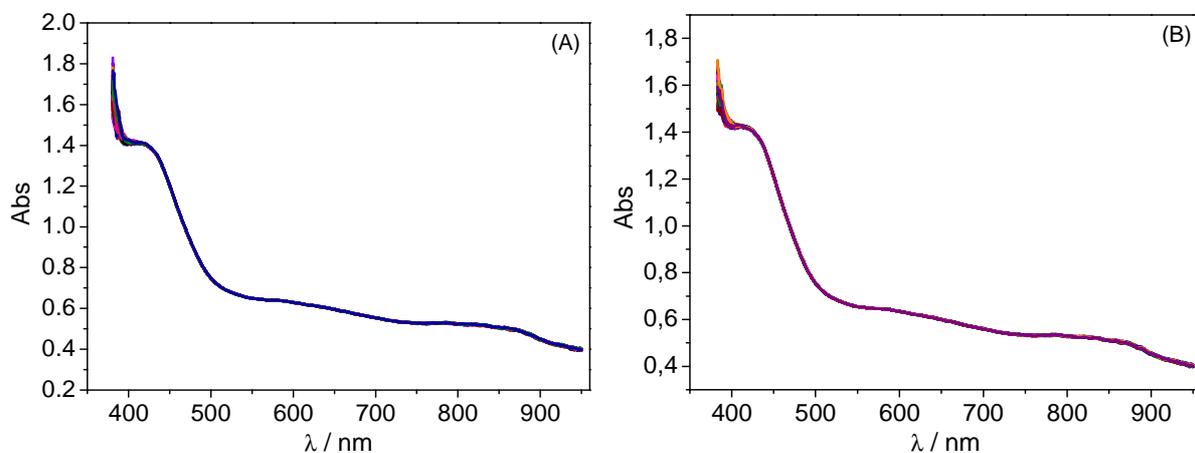


FIGURA 4.13 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PAA obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de $-0,1$ a $+0,6$ V, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.

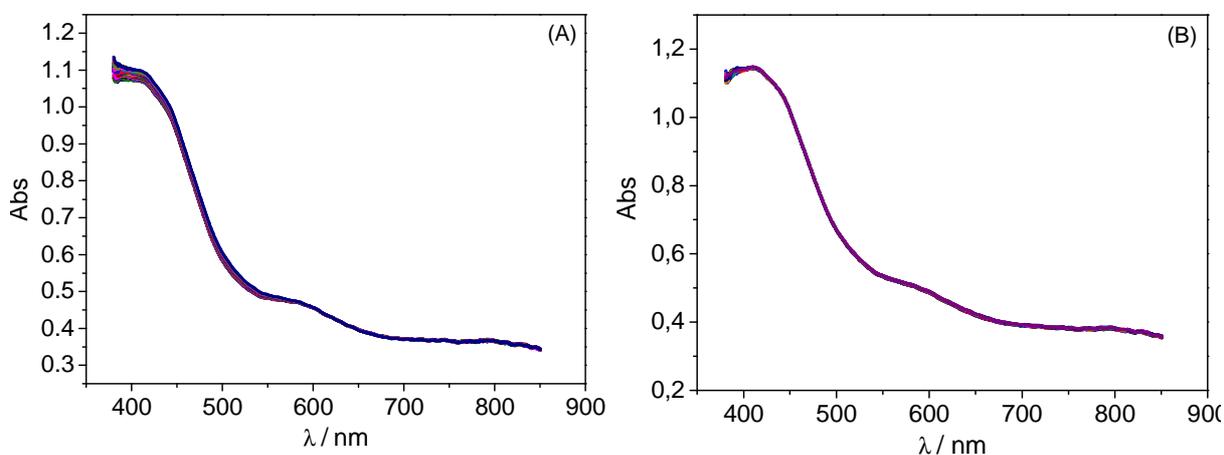


FIGURA 4.14 – Espectros UV-Vis dos eletrodos de ITO modificado com PAA obtidos em diferentes valores de potenciais de varredura, variando de $-0,2$ a $+0,6$ V, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS (pH 7,0) contendo $7,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de DA, realizados (A) antes, (B) durante e após a aplicação do pré-tratamento catódico.

4.2 Considerações gerais sobre os polímeros estudados

Com o objetivo de procurar compreender melhor o comportamento dos filmes poliméricos PANI, 1-PAN, 1,5-PDAN, 1-PAA e 1-PAAQ frente ao pré-tratamento catódico aplicado, os cinco polímeros condutores foram estudados no Grupo, como mencionado anteriormente, todos tendo a DA como analito de referência. Algumas características obtidas com estes filmes referentes às respostas para DA estão listadas na TABELA 4.1. Nela estão descritas se o filme precisou ou não da aplicação do pré-tratamento catódico para obter a resposta para a DA, a faixa linear de concentração de DA obtida na construção da curva analítica, o limite de detecção estimado, se apresentou resposta para o ácido ascórbico e os grupos funcionais que estão ligados nos anéis aromáticos desses polímeros.

TABELA 4.1 – Comparação dos polímeros condutores estudados em relação à resposta obtida para DA

<i>Polímero condutor</i>	<i>Pré-tratamento catódico*</i>	<i>Faixa linear ($10^{-5} \text{ molL}^{-1}$)</i>	<i>LD (μmolL^{-1})</i>	<i>Resposta para AA</i>	<i>Substituintes no anel aromático</i>
<i>PANI</i>	Sim	2,22 – 32,3	18,0	Não	(–NH ₂)
<i>1-PAN</i>	Sim	0,99 – 12,2	4,22	Não	(–NH ₂)
<i>1,5-PDAN</i>	Não	1,96 – 10,7	4,25	Não	2(–NH ₂)
<i>1-PAA</i>	Sim	0,20 – 9,24	1,27	Não	(–NH ₂)
<i>1-PAAQ</i>	Não	2,57 – 9,58	6,75	Sim	(–NH ₂) e 2(–C=O)

*necessária a aplicação do pré-tratamento catódico para o surgimento do pico de oxidação da DA.

Como pode ser observada, a aplicação do pré-tratamento catódico foi necessária para a obtenção da resposta para DA para os polímeros PANI, 1-PAN e 1-PAA. Enquanto que para os outros dois polímeros, 1,5-PDAN e 1-PAAQ, o pré-tratamento realizado apenas melhorou a resposta já obtida. Estes dois últimos polímeros possuem os grupamentos a mais, –NH₂ e –C=O, e que podem auxiliar a transferência de elétrons promovendo resposta para DA mesmo

sem a aplicação do pré-tratamento catódico. Entretanto, foi verificado também que com a presença destes grupamentos na cadeia polimérica, os eletrodos apresentaram limites de detecções maiores 4,25 e 6,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para 1,5-PDAN e 1-PAAQ, respectivamente, iniciando a detecção de DA em concentrações mais elevadas (primeiro ponto da curva).

Com relação ao número de anéis aromáticos dos polímeros, verificou-se que o aumento do número de anéis levou a uma melhora no limite de detecção para DA, ou seja, obteve-se limites de detecção com valores mais baixos, com os polímeros na seguinte ordem: 1-PAA < 1-PAN < PANI (3, 2 e 1 anel, respectivamente). Para finalizar, somente o polímero condutor 1-PAAQ apresentou resposta para o ácido ascórbico, a qual pode estar relacionada aos grupos cetônicos existentes nas moléculas do monômero, promovendo a reação entre eles.

Com os estudos realizados com os diferentes polímeros ressalta-se que em todos eles a aplicação do pré-tratamento catódico foi fundamental para se obter bons resultados, sendo uma informação nova dentro da área de pesquisa de polímeros condutores. Com a sua aplicação não foi necessário superoxidar o filme ou então incorporar espécies ativas na matriz polimérica para obter a resposta para DA. Este pré-tratamento catódico proporcionou um aumento significativo nas propriedades eletrocatalíticas, devido a possíveis mudanças conformacionais do polímero que podem mudar as propriedades termodinâmicas dos polímeros ¹³¹⁻¹³².

CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados neste trabalho foi possível verificar a potencialidade dos eletrodos modificados com filmes de PAA e PAAQ, bem como dos eletrodos compósitos apresentados por meio do desenvolvimento de métodos voltamétricos para a quantificação de DA, NE, AA, AU e HQ em amostras biológicas e farmacêuticas.

As superfícies dos eletrodos foram modificadas de forma simples e rápida, proporcionando desenvolver sensores com boas propriedades analíticas. Os filmes apresentaram diferentes morfologias das superfícies, com estruturas compactas e planas, no caso dos filmes de PAA, e ramificadas observadas nos filmes de PAAQ, as quais auxiliam para obtenção de diferentes propriedades e comportamentos eletroquímicos.

A incorporação dos CNTs ao filme de PAA e a aplicação do pré-tratamento catódico permitiu diminuir os limites de detecção para DA, além de resolver a sobreposição dos picos de AA, DA e AU em três picos bem definidos. Para o filme de PAAQ, o pré-tratamento catódico foi suficiente para obter uma boa separação dos picos de oxidação de DA, AA e AU.

Por meio de medidas voltamétricas foi possível verificar as propriedades eletrocatalíticas dos filmes poliméricos, proporcionadas pelo pré-tratamento catódico, sendo observado tanto o aumento dos valores de corrente de pico como o deslocamento do potencial de pico de oxidação dos analitos estudados para potenciais de varredura mais baixos, mostrando que o pré-tratamento catódico é uma poderosa ferramenta para melhorar as propriedades dos polímeros condutores.

O eletrodo modificado com filme compósito PAACNT associado à voltametria de pulso diferencial mostrou desempenho favorável para a determinação de DA, AA e AU em amostras sintéticas e reais de urina e fluido cerebrospinal. Os limites de detecção obtidos para DA, AA e AU iguais a 0,29

μmolL^{-1} , $3,95 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, e $4,22 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, respectivamente, são adequados para analisar estes compostos em amostras de urina 24 h. Neste experimento, as ferramentas quimiométricas foram de grande importância para chegar às condições ótimas da metodologia com um menor tempo de execução dos experimentos e menor consumo de reagentes.

Comparando-se os dois eletrodos desenvolvidos, PAACNT e PAAQCNT para a aplicação na determinação de DA, AA e AU, foram verificadas melhores respostas, como intervalo linear de concentração e limite de detecção, obtidas com o eletrodo compósito PAACNT. Entretanto, não se pode concluir que este seria o melhor procedimento desenvolvido, pois as técnicas voltamétricas utilizadas não foram as mesmas e, portanto, não podem ser comparadas.

O método proposto para a determinação de NE, utilizando o eletrodo de PAA em conjunto com a voltametria de onda quadrada, apresentou resultados satisfatórios, possibilitando o uso deste sensor para a quantificação de NE em formulações farmacêuticas. A curva analítica foi obtida em um intervalo de concentração entre $2,18 - 99,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $0,58 \mu\text{mol L}^{-1}$. No estudo de adição e recuperação, foi obtida recuperação média de 101%, indicando que não houve interferência significativa da matriz da amostra na determinação de NE.

A utilização do sensor desenvolvido a base de PAAQ mostrou-se eficiente na determinação de HQ em amostras comerciais industrializadas e manipuladas de cosméticos terapêuticos. A curva analítica foi obtida em um intervalo de concentração entre $2,97 - 25,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $2,11 \mu\text{mol L}^{-1}$. No estudo de adição e recuperação, foram obtidas recuperações médias de 103%, 101% e 98,1% para os diferentes cosméticos analisados, indicando que não houve interferência significativa da matriz da amostra na determinação de HQ. Resultados promissores foram obtidos com o sensor de PAAQ na análise individual e simultânea de DA, AA e AU por meio

da técnica de SWV, sendo possível quantificar AU em amostra de urina humana na presença de DA e AA sem interferência.

De forma geral, os procedimentos desenvolvidos apresentaram-se simples, rápido e eficiente podendo ser aplicado nas análises de amostras biológicas e farmacêuticas, dispensando qualquer tipo de pré-tratamento laborioso e o uso de grandes quantidades de reagentes. Para todos os analitos, os métodos propostos apresentaram resultados satisfatórios nos estudos de recuperação sem a interferência das matrizes analisadas, não sendo necessárias as etapas de preparo de amostras, as quais são indispensáveis na maioria das metodologias. E, portanto, os eletrodos desenvolvidos podem ser uma alternativa de detecção rápida com baixo custo, podendo ser descartável e com a menor manipulação das amostras.

Além disso, é importante ressaltar que foram obtidos resultados inéditos, nesta tese e no Grupo, com os polímeros 1-PAA, 1-PAAQ, PANI, 1-PAN e 1,5-PDAN frente à aplicação do pré-tratamento catódico e acredita-se que tenham contribuído para o avanço das pesquisas na área. Os eletrodos pré-tratados catodicamente apresentaram resposta voltamétrica ou uma grande melhora na resposta para os analitos estudados, obtidas devido a mudanças significativas nas propriedades eletroquímicas dos polímeros. Pode-se verificar que o pré-tratamento catódico não é um efeito de pré-concentração do analito e sim, uma mudança nas propriedades químicas e conformacionais dos polímeros condutores estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INZELT, G., *Conducting Polymers: A New Era in Electrochemistry*. 1 ed. Vol. 1. 2008: Springer.
2. BALAMURUGAN, A. & CHEN, S.M. "Poly(3,4-ethylenedioxythiophene-co-(5-amino-2-naphthalenesulfonic acid)) (PEDOT-PANS) film modified glassy carbon electrode for selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid". *Anal. Chim. Acta.* **596**(1): 92, 2007.
3. LAKSHMI, D.; BOSSI, A.; WHITCOMBE, M.J.; CHIANELLA, I.; FOWLER, S.A.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKA, E.V. & PILETSKY, S.A. "Electrochemical Sensor for Catechol and Dopamine Based on a Catalytic Molecularly Imprinted Polymer-Conducting Polymer Hybrid Recognition Element". *Anal. Chem.* **81**(9): 3576, 2009.
4. ZHANG, Y.; LIN, L.; FENG, Z.; ZHOU, J. & LIN, Z. "Fabrication of a PANI/Au nanocomposite modified nanoelectrode for sensitive dopamine nanosensor design". *Electrochim. Acta.* **55**(1): 265, 2009.
5. KONG, L.R.; LU, X.F.; JIN, E.; JIANG, S.; BIAN, X.J.; ZHANG, W.J. & WANG, C. "Constructing magnetic polyaniline/metal hybrid nanostructures using polyaniline/Fe₃O₄ composite hollow spheres as supports". *J. Solid State Chem.* **182**(8): 2081, 2009.
6. YAN, W.; FENG, X.M.; CHEN, X.J.; LI, X.H. & ZHU, J.J. "A selective dopamine biosensor based on AgCl@polyaniline core-shell nanocomposites". *Bioelectrochemistry.* **72**(1): 21, 2008.
7. STOYANOVA, A.; IVANOV, S.; TSAKOVA, V. & BUND, A. "Au nanoparticle-polyaniline nanocomposite layers obtained through layer-by-layer adsorption for the simultaneous determination of dopamine and uric acid". *Electrochim. Acta.* **56**(10): 3693, 2011.
8. WEN, J.X.; ZHOU, L.; JIN, L.T.; CAO, X.N. & YE, B.C. "Overoxidized polypyrrole/multi-walled carbon nanotubes composite modified electrode for in vivo liquid chromatography-electrochemical detection of dopamine". *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **877**(20-21): 1793, 2009.
9. TU, X.M.; XIE, Q.J.; JIANG, S.Y. & YAO, S.Z. "Electrochemical quartz crystal impedance study on the overoxidation of polypyrrole-carbon nanotubes composite film for amperometric detection of dopamine". *Biosens. Bioelectron.* **22**(12): 2819, 2007.

10. LI, Y.; WANG, P.; WANG, L. & LIN, X. "Overoxidized polypyrrole film directed single-walled carbon nanotubes immobilization on glassy carbon electrode and its sensing applications". *Biosens. Bioelectron.* **22**(12): 3120, 2007.
11. KANG, T.F.; SHEN, G.L. & YU, R.Q. "Permeability of neurotransmitters at overoxidized polypyrrole-film-coated glassy carbon electrodes". *Talanta.* **43**(11): 2007, 1996.
12. JI, X.; KADARA, R.O.; KRUSMA, J.; CHEN, Q. & BANK, C.E. "Understanding the physicoelectrochemical properties of carbon nanotubes: current state of the art". *Electroanalysis.* **22**(1): 7, 2010.
13. QIAN, H.; GREENHALGH, E.S.; SHAFFER, M.S.P. & BISMARCK, A. "Carbon nanotube-based hierarchical composites: a review". *J. Mat. Chem.* **20**(23): 4729, 2010.
14. AGÜÍ, L.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P. & PINGARRÓN, J.M. "Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry: A review". *Anal. Chim. Acta.* **622**(1-2): 11, 2008.
15. BOSE, S.; KHARE, R.A. & MOLDENAERS, P. "Assessing the strengths and weaknesses of various types of pre-treatments of carbon nanotubes on the properties of polymer/carbon nanotubes composites: A critical review". *Polymer.* **51**: 975, 2010.
16. YIN, T.J.; WEI, W.Z. & ZENG, J.X. "Selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid by use of glassy-carbon electrodes modified with both polyaniline film and multi-walled carbon nanotubes with incorporated beta-cyclodextrin". *Anal. Bioanal. Chem.* **386**(7-8): 2087, 2006.
17. ALI, S.R.; MA, Y.F.; PARAJULI, R.R.; BALOGUN, Y.; LAI, W.Y.C. & HE, H.X. "A nonoxidative sensor based on a self-doped polyaniline/carbon nanotube composite for sensitive and selective detection of the neurotransmitter dopamine". *Anal. Chem.* **79**(6): 2583, 2007.
18. TROIANI, E.P. & FARIA, R.C. "The influence of the cathodic pretreatment on the electrochemical detection of dopamine by poly(1-aminoanthracene) modified electrode". *Electroanalysis*, 2010.
19. TROIANI, E.P., *Desenvolvimento de Eletrodo Modificado com Filme de Poli(1-aminoantraceno) para Determinação de Dopamina em Formulação Farmacêutica*, in *Programa de Pós-Graduação em Química*. 2007, Universidade Federal de São Carlos: São Carlos - SP. p. 99.

20. WALLACE, G.G.; SPINKS, G.M.; KANE-MAGUIRE, L.A.P. & TEASDALE, P.R., *Conductive Electroactive Polymers: Intelligent Polymer Systems*. 3 ed, ed. GROUP, T.F. 2009.
21. SHIRAKAWA, H.; LOUIS, E.J.; MACDIARMID, A.G.; CHIANG, C.K. & HEEGER, A.J. "Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of poly(acetylene), (CH)_x". *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **16**: 578, 1977.
22. MAIA, D.J.; DE PAOLI, M.A.; ALVES, O.L.; ZARBIN, A.J.G. & DAS NEVES, S. "Conductive polymer synthesis in solid host matrices". *Quim. Nova.* **23**(2): 204, 2000.
23. MATTOSO, L.H.C. "Polyanilines: Synthesis, structure and properties". *Quim. Nova.* **19**(4): 388, 1996.
24. PRON, A. & RANNOU, P. "Processible conjugated polymers: from organic semiconductors to organic metals and superconductors". *Prog. Polym. Sci.* **27**(1): 135, 2002.
25. BREDAS, J.L. & STREET, G.B. "Polarons, bipolarons, and solitons in conducting polymers". *Acc. Chem. Res.* **18**(10): 309, 1985.
26. KANATZIDIS, M.G. "Conductive polymers". *Chem. Eng. News.* **68**(49): 36, 1990.
27. VIDAL, J.C.; GARCIA-RUIZ, E. & CASTILLO, J.R. "Recent advances in electropolymerized conducting polymers in amperometric biosensors". *Microchim. Acta.* **143**(2-3): 93, 2003.
28. FREUND, M.S. & DEORE, B.A., *Self-Doped Conducting Polymers*. 1 ed. 2007: John Wiley & Sons Ltd.
29. GERARD, M.; CHAUBEY, A. & MALHOTRA, B.D. "Application of conducting polymers to biosensors". *Biosens. Bioelectron.* **17**(5): 345, 2002.
30. COSNIER, S. "Biomolecule immobilization on electrode surfaces by entrapment or attachment to electrochemically polymerized films. A review". *Biosens. Bioelectron.* **14**(5): 443, 1999.
31. SCROSATI, B. "Conducting polymers: advanced materials for new design, rechargeable lithium batteries.". *Polym. Int.* **7**(1): 50, 1998.
32. HEEGER, A.J. "Light emission from semiconducting polymers: Light-emitting diodes, light-emitting electrochemical cells, lasers and white light for the future.". *Solid State Commun.* **11**(107): 673, 1998.

33. OTERO, T.F.; ANGULO, E.; RODRIGUEZ, J. & SANTAMARIA, C. "Electrochemomechanical properties from a bilayer-polypyrrole nonconducting and flexible material artificial muscle". *J. Electroanal. Chem.* **341**(1-2): 369, 1992.
34. FUNGARO, D.A. & BRETT, C.M.A. "Perfluorinated and sulfonated polymers modified electrodes: Applications to environmental analysis". *Quim. Nova.* **23**(6): 805, 2000.
35. SCHULTZE, J.W. & KARABULUT, H. "Application potential of conducting polymers". *Electrochim. Acta.* **50**(7-8): 1739, 2005.
36. PEREIRA, A.C.; SANTOS, A.D. & KUBOTA, L.T. "Trends in amperometric electrodes modification for electroanalytical applications". *Quim. Nova.* **25**(6A): 1012, 2002.
37. VOLF, R.; KRAL, V.; HRDLICKA, J.; SHISHKANOVA, T.V.; BRONCOVA, G.; KRONDAK, M.; GROTSCHELOVA, S.; ST'ASTNY, M.; KROULIK, J.; VALIK, M.; MATEJKA, P. & VOLKA, K. "Preparation, characterization and analytical application of electropolymerized films". *Solid State Ionics.* **154**: 57, 2002.
38. FARIA, R.C. & BULHÕES, L.O.S. "Hydrogen ion selective electrode based on poly(1-aminoanthracene) film". *Anal. Chim. Acta.* **377**(1): 21, 1998.
39. FARIA, R.C. & BULHÕES, L.O.S. "Synthesis and electrochemical response of poly-(1-aminoanthracene) films". *Electrochim. Acta.* **44**(10): 1597, 1999.
40. YANG, H.J.; FAN, F.R.F.; YAU, S.L. & BARD, A.J. "The use of a scanning tunneling microscope to estimate film thickness and conductivity of an electrochemically produced poly-1-aminoanthracene film". *J. Electrochem. Soc.* **139**(8): 2182, 1992.
41. MOON, D.K.; OSAKADA, K.; MARUYAMA, T.; KUBOTA, K. & YAMAMOTO, T. "Synthesis of poly(1-aminonaphthalene) and poly(1-aminoanthracene) by chemical oxidative polymerization and characterization of the polymers". *Macromolecules.* **26**(25): 6992, 1993.
42. AMADO, F.D.R.; SILVEIRA, C.C.; RODRIGUES, L.F.; FERREIRA, C.A. & MENEGUZZI, A. "Preparation of Polyaminonaphthalenes and Polyaminoanthracenes by Electrochemical Synthesis". *Polimeros-Ciencia E Tecnologia.* **18**(3): 244, 2008.

43. LI, X.-G.; LI, H.; HUANG, M.-R. & MOLONEY, M.G. "Synthesis and Multifunctionality of Self-Stabilized Poly(aminoanthraquinone) Nanofibrils". *J. Phys. Chem., C*. **115**(19): 9486, 2011.
44. BADAWY, W.A.; ISMAIL, K.M. & MEDANY, S.A.S. "Optimization of the electropolymerization of 1-amino-9,10-anthraquinone conducting films from aqueous media". *Electrochim. Acta*. **51**(28): 6353, 2006.
45. LI, X.-G.; MA, X.-L. & HUANG, M.-R. "Lead(II) ion-selective electrode based on polyaminoanthraquinone particles with intrinsic conductivity". *Talanta*. **78**(2): 498, 2009.
46. RAO, C.N.R.; SESHADRI, R.; GOVINDARAJ, A. & SEN, R. "Fullerenes, nanotubes, onions and related carbon structures". *Mat. Sci. Eng., B*. **15**(6): 209, 1995.
47. HOHEISEL, T.N.; SCHRETTL, S.; SZILLUWEIT, R. & FRAUENRATH, H. "Nanostructured Carbonaceous Materials from Molecular Precursors". *Angewandte Chemie International Edition*. **49**(37): 6496, 2010.
48. IJIMA, S. "Helical microtubules of graphitic carbon". *Nature*. **354**(6348): 56, 1991.
49. MERKOÇI, A.; PUMERA, M.; LLOPIS, X.; PÉREZ, B.; DEL VALLE, M. & ALEGRET, S. "New materials for electrochemical sensing VI: Carbon nanotubes". *Trends Anal. Chem.* **24**(9): 826, 2005.
50. VAIRAVAPANDIAN, D.; VICHCHULADA, P. & LAY, M.D. "Preparation and modification of carbon nanotubes: Review of recent advances and applications in catalysis and sensing". *Anal. Chim. Acta*. **626**(2): 119, 2008.
51. HAMADA, N.; SAWADA, S. & OSHIYAMA, A. "New one-dimensional conductors graphitic microtubules". *Phys. Rev. Lett.* **68**: 1579, 1992.
52. YING, L.S.; BIN MOHD SALLEH, M.A.; B. MOHAMED YUSOFF, H.; ABDUL RASHID, S.B. & B. ABD. RAZAK, J. "Continuous production of carbon nanotubes - A review". *J. Ind. Eng. Chem.* **In Press, Corrected Proof**,
53. COLLINS, P.G. & AVOURIS, P., *Chapter 3 The electronic properties of carbon nanotubes*, in *Contemporary Concepts of Condensed Matter Science*, SAITO, S. and ZETTL, A., Editors. 2008, Elsevier. p. 49.
54. DUCLAUX, L. "Review of the doping of carbon nanotubes (multiwalled and single-walled)". *Carbon*. **40**(10): 1751, 2002.

55. VASHIST, S.K.; ZHENG, D.; AL-RUBEAAAN, K.; LUONG, J.H.T. & SHEU, F.-S. "Advances in carbon nanotube based electrochemical sensors for bioanalytical applications". *Biotechnol. Adv.* **29**(2): 169,
56. FILHO, A.G.D.S. & FAGAN, S.B. "Funcionalização de nanotubos de carbono". *Quím. Nova.* **30**(7): 1695, 2007.
57. COSNIER, S. "Recent advances in biological sensors based on electrogenerated polymers: A review". *Anal. Lett.* **40**(7): 1260, 2007.
58. ZHANG, P.; WU, F.H.; ZHAO, G.C. & WEI, X.W. "Selective response of dopamine in the presence of ascorbic acid at multi-walled carbon nanotube modified gold electrode". *Bioelectrochemistry.* **67**(1): 109, 2005.
59. WANG, J. "Carbon-nanotube based electrochemical biosensors: A review". *Electroanalysis.* **17**(1): 7, 2005.
60. KUM, M.C.; JOSHI, K.A.; CHEN, W.; MYUNG, N.V. & MULCHANDANI, A. "Biomolecules-carbon nanotubes doped conducting polymer nanocomposites and their sensor application". *Talanta.* **74**(3): 370, 2007.
61. CALLEGARI, A.; COSNIER, S.; MARCACCIO, M.; PAOLUCCI, D.; PAOLUCCI, F.; GEORGAKILAS, V.; TAGMATARCHIS, N.; VAZQUEZ, E. & PRATO, M. "Functionalised single wall carbon nanotubes/polypyrrole composites for the preparation of amperometric glucose biosensors". *J. Mat. Chem.* **14**(5): 807, 2004.
62. CHENG, G.F.; ZHAO, J.; TU, Y.H.; HE, P.A. & FANG, Y.H. "A sensitive DNA electrochemical biosensor based on magnetite with a glassy carbon electrode modified by multi-walled carbon nanotubes in polypyrrole". *Anal. Chim. Acta.* **533**(1): 11, 2005.
63. SLJUKIC, B.; BANKS, C.E.; SALTER, C.; CROSSLEY, A. & COMPTON, R.G. "Electrochemically polymerised composites of multi-walled carbon nanotubes and poly(vinylferrocene) and their use as modified electrodes: Application to glucose sensing". *Analyst.* **131**(5): 670, 2006.
64. WANG, J.; MUSAMEH, M. & LIN, Y. "Solubilization of Carbon Nanotubes by Nafion toward the Preparation of Amperometric Biosensors". *J. Am. Chem. Soc.* **125**(9): 2408, 2003.
65. VIEIRA, I.D.C.; FATIBELLO-FILHO, O. & ANGNES, L. "Zucchini crude extract-palladium-modified carbon paste electrode for the

- determination of hydroquinone in photographic developers". *Anal. Chim. Acta.* **398**(2-3): 145, 1999.
66. POET, T.S.; CARLTON, B.D.; DEYO, J.A. & HINDERLITER, P.M. "Hydroquinone PBPK model refinement and application to dermal exposure". *Food Chem. Toxicol.* **48**(11): 3085, 2010.
 67. FONSECA, A. & PRISTA, L.N., *Manual de terapêutica dermatológica e cosmetologia*. 1993, São Paulo - SP: Roca.
 68. LIN, Y.-H.; YANG, Y.-H. & WU, S.-M. "Experimental design and capillary electrophoresis for simultaneous analysis of arbutin, kojic acid and hydroquinone in cosmetics". *J. Pharm. Biom. Anal.* **44**(1): 279, 2007.
 69. WITTIG, J.; WITTEMER, S. & VEIT, M. "Validated method for the determination of hydroquinone in human urine by high-performance liquid chromatography-coulometric-array detection". *J. Chromatogr. B: Biom. Sci. Appl.* **761**(1): 125, 2001.
 70. LIU, Z.; WANG, Z.; CAO, Y.; JING, Y. & LIU, Y. "High sensitive simultaneous determination of hydroquinone and catechol based on graphene/BMIMPF₆ nanocomposite modified electrode". *Sens. Actuators B*, 2011.
 71. SILVA, P. & RESENDE, A., *Farmacologia*. 5 ed. 1998, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 241.
 72. PEASTON, R.T. & WEINKOVE, C. "Measurement of catecholamines and their metabolites". *Annals Clin. Biochem.* **41**: 17, 2004.
 73. TSUNODA, M. "Recent advances in methods for the analysis of catecholamines and their metabolites". *Anal. Bioanal. Chem.* **386**(3): 506, 2006.
 74. MARC, D.T.; AILTS, J.W.; CAMPEAU, D.C.A.; BULL, M.J. & OLSON, K.L. "Neurotransmitters excreted in the urine as biomarkers of nervous system activity: Validity and clinical applicability". *Neurosc. & Biobehav. Rev.* **35**(3): 635, 2011.
 75. POIAN, A.T.D. & ALVES, P.C.D.C., *Hormônios e metabolismo: integração e correlações clínicas*, ed. ATHENEU, E. 2006, São Paulo: Editora Atheneu.
 76. SABBIONI, C.; SARACINO, M.A.; MANDRIOLI, R.; PINZAUTI, S.; FURLANETTO, S.; GERRA, G. & RAGGI, M.A. "Simultaneous liquid chromatographic analysis of catecholamines and 4-hydroxy-3-methoxyphenylethylene glycol in human plasma - Comparison of

- amperometric and coulometric detection". *J. Chromatogr., A.* **1032**(1-2): 65, 2004.
77. FRIEDMAN, J.I.; ADLER, D.N. & DAVIS, K.L. "The role of norepinephrine in the pathophysiology of cognitive disorders: Potential applications to the treatment of cognitive dysfunction in schizophrenia and Alzheimer's disease". *Biol. Psychiatry.* **46**(9): 1243, 1999.
 78. OAK, J.N.; OLDENHOF, J. & VAN TOL, H.H.M. "The dopamine D-4 receptor: one decade of research". *Eur. J. Pharm.* **405**(1-3): 303, 2000.
 79. PEASTON, R.T.; LENNARD, T.W.J. & LAI, L.C. "Overnight excretion of urinary catecholamines and metabolites in the detection of pheochromocytoma". *J. Clin. Endocrin. Met.* **81**(4): 1378, 1996.
 80. PEIXINHO, A.; AZEVEDO, A.L. & SIMÕES, R.M., *Alterações neuropsiquiátricas da doença de Parkinson in Revista do Serviço de Psiquiatria do Hospital Fernando Fonseca, PsiLogos.*
 81. SOUZA, M.C.P.; RUMPLER, W.V.; DOUGLASS, L.W. & HOWE, J.C. "Urinary catecholamine excretion in men and women: Between- and within-subject variation". *J. Nutrit. Biochem.* **9**(7): 396, 1998.
 82. CARLSSON, A.; HANSSON, L.O.; WATERS, N. & CARLSSON, M.L. "Neurotransmitter aberrations in schizophrenia: New perspectives and therapeutic implications". *Life Sci.* **61**(2): 75, 1997.
 83. OLSZEWER, E., *Neurotransmissores em medicina.* 2 ed. 2008: Editora Icone. 200.
 84. PUSSARD, E.; GUIGUENO, N. & NEVEUX, M. "Reference values for urinary excretion of catecholamines during childhood". *Immuno-Analyse & Biologie Specialisee.* **24**(5-6): 289, 2009.
 85. HURLEY, M.J. & JENNER, P. "What has been learnt from study of dopamine receptors in Parkinson's disease?". *Pharm. Therap.* **111**(3): 715, 2006.
 86. "Dicionário de Especialidades Farmacêuticas". *J. Bras. Med.* (28): 856, 1999.
 87. GOLDSTEIN, D.S. "Catecholamines 101". *Clin. Auton. Res.* **20**(6): 331, 2010.
 88. HEIEN, M.; KHAN, A.S.; ARIANSEN, J.L.; CHEER, J.F.; PHILLIPS, P.E.M.; WASSUM, K.M. & WIGHTMAN, R.M. "Real-time measurement of dopamine fluctuations after cocaine in the brain of

- behaving rats". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **102**(29): 10023, 2005.
89. ZALESKI, M.; MORATO, G.S.; SILVA, V.A.D. & LEMOS, T. "Aspectos neurofarmacológicos do uso crônico e da Síndrome de Abstinência do Alcool". *Revista Brasileira de Psiquiatria*. **26**: 40, 2004.
 90. WARD, K.D.; GARVEY, A.J.; BLISS, R.E.; SPARROW, D.; YOUNG, J.B. & LANDSBERG, L. "Changes in urinary catecholamine excretion after smoking cessation". *Pharm. Biochem. Behav.* **40**(4): 937, 1991.
 91. SELVARAJU, T. & RAMARAJ, R. "Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and serotonin at poly(phenosafranine) modified electrode". *Electrochem. Commun.* **5**(8): 667, 2003.
 92. YUANXI, S.; BAOXIAN, Y.; YU, W.; XIAORONG, T. & XINGYAO, Z. "Study on the determination of neurotransmitters using poly(neutral red) coated carbon fiber microelectrodes". *Microchem. J.* **58**: 182, 1998.
 93. TUR'YAN, Y.I. & KOHEN, R. "Formal redox potentials of the dehydro-l-ascorbic acid/l-ascorbic acid system". *J. Electroanal. Chem.* **380**(1-2): 273, 1995.
 94. RUMSEY, S.C. & LEVINE, M. "Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans". *J. Nutrit. Biochem.* **9**(3): 116, 1998.
 95. FIORUCCI, A.R.; SOARES, M.H.F.B. & CAVALHEIRO, É.T.G. "A importância da vitamina C na sociedade através dos tempos". *Quím. Nova na Escola*. **17**, 2003.
 96. OLIVEIRA, A.C.D.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H. & TREVISAN, M.T.S. "Fontes vegetais naturais de antioxidantes". *Quim. Nova*. **32**: 689, 2009.
 97. VASQUES, C.I., *Determinação da dose de segurança de ácido ascórbico utilizada no tratamento da obstrução de cateter venoso central totalmente implantado*, in *Departamento de Enfermagem Geral e Especializada*. 2010, Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Riberão Preto: Riberão Preto - SP. p. 103.
 98. HUGHES, R.E. "The Rise and Fall of the Antiscorbutics - Some Notes on the Traditional Cures for Land Scurvy". *Medical History*. **34**(1): 52, 1990.
 99. TANG, Y.J. & WU, M.J. "A quick method for the simultaneous determination of ascorbic acid and sorbic acid in fruit juices by capillary zone electrophoresis". *Talanta*. **65**(3): 794, 2005.

100. XI, L.; REN, D.; LUO, J. & ZHU, Y. "Electrochemical analysis of ascorbic acid using copper nanoparticles/polyaniline modified glassy carbon electrode". *J. Electroanal. Chem.* **650**(1): 127, 2010.
101. RUEDA, M.; ALDAZ, A. & SANCHEZ-BURGOS, F. "Oxidation of L-ascorbic acid on a gold electrode". *Electrochim. Acta.* **23**(5): 419, 1978.
102. PEREZ-RUIZ, F. & LIOTE, F. "Lowering serum uric acid levels: What is the optimal target for improving clinical outcomes in gout?". *Arthritis & Rheumatism-Arthritis Care & Research.* **57**(7): 1324, 2007.
103. TISLER, A.; PIERRATOS, A.; HONEY, J.D.; BULL, S.B.; ROSIVALL, L. & LOGAN, A.G. "High urinary excretion of uric acid combined with high excretion of calcium links kidney stone disease to familial hypertension". *Nephrol. Dial. Transplant.* **17**(2): 253, 2002.
104. CAMERON, M.A. & SAKHAEI, K. "Uric Acid Nephrolithiasis". *Urol. Clin. of North America.* **34**(3): 335, 2007.
105. SYNERMED, *Método IR enzimático (Uricase Azure D2) para determinação do Ácido Úrico*, <http://www.synermed.com.br/Pdfs/Downloads/Bulas/AcidoUrico.pdf>.
106. CHEN, Z.F. & ZU, Y.B. "Simultaneous detection of ascorbic acid and uric acid using a fluorosurfactant-modified platinum electrode". *J. Electroanal. Chem.* **603**(2): 281, 2007.
107. GUAN, Y.Q.; WU, T.; YE, J.N. & KU "Determination of uric acid and p-aminohippuric acid in human saliva and urine using capillary electrophoresis with electrochemical detection - Potential application in fast diagnosis of renal disease". *J. Chromatogr., B: Anal. Techn. Biom. Life Sci.* **821**(2): 229, 2005.
108. ZHAO, S.; WANG, J.; YE, F. & LIU, Y.-M. "Determination of uric acid in human urine and serum by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection". *Anal. Biochem.* **378**(2): 127, 2008.
109. GAO, W. & LEGIDO-QUIGLEY, C. "Fast and sensitive high performance liquid chromatography analysis of cosmetic creams for hydroquinone, phenol and six preservatives". *J. Chromatogr., A.* **In Press, Corrected Proof**,
110. RUEDA, M.E.; SARABIA, L.A.; HERRERO, A. & ORTIZ, M.C. "Optimisation of a flow injection system with electrochemical detection using the desirability function: Application to the determination of hydroquinone in cosmetics". *Anal. Chim. Acta.* **479**(2): 173, 2003.

111. BAI, P.; FAN, G. & LI, F. "Novel Zn-Al layered double hydroxide/carbon nanotube nanocomposite for electrochemical determination of catechol and hydroquinone". *Mat. Lett.* **65**(15-16): 2330, 2011.
112. AHAMMAD, A.J.S.; RAHMAN, M.M.; XU, G.-R.; KIM, S. & LEE, J.-J. "Highly sensitive and simultaneous determination of hydroquinone and catechol at poly(thionine) modified glassy carbon electrode". *Electrochim. Acta.* **56**(14): 5266, 2011.
113. CRUZ VIEIRA, I. & FATIBELLO-FILHO, O. "Biosensor based on paraffin/graphite modified with sweet potato tissue for the determination of hydroquinone in cosmetic cream in organic phase". *Talanta.* **52**(4): 681, 2000.
114. SILVA, Q.G.D., *Desenvolvimento de Eletrodos Modificados com Poli-1-aminonaftaleno e Poli-1,5-diaminonaftaleno e Aplicação na Determinação de Analitos de Interesse Farmacêutico*, in *Programa de Pós-Graduação em Química*. 2010, Universidade Federal de São Carlos: São Carlos - SP. p. 150.
115. OLIVEIRA, I.R.W.Z.D.; OSÓRIO, R.E.-H.M.D.B.; NEVES, A. & VIEIRA, I.C. "Biomimetic sensor based on a novel copper complex for the determination of hydroquinone in cosmetics". *Sens. Actuators, B.* **122**(1): 89, 2007.
116. MILLER, J.N. & MILLER, J.C., *Statistics and chemometrics for analytical chemistry* 5ed. 2005: Pearson Education Limited. 285.
117. ZHANG, W.; XIE, Y.F.; GU, J.; AI, S.Y.; WANG, J.; YAMAMOTO, K. & JIN, L.T. "Liquid chromatography with amperometric detection at a nano crystalline Ce-doped lead dioxide film modified electrode for determination of (R)-Salsolinol, (R)-N-methylsalsolinol and monoamine neurotransmitters in Parkinsonian patients' cerebrospinal fluid". *Analyst.* **129**(3): 229, 2004.
118. MERCOLINI, L.; GERRA, G.; CONSORTI, M.; SOMAINI, L. & RAGGI, M.A. "Fast analysis of catecholamine metabolites MHPG and VMA in human plasma by HPLC with fluorescence detection and a novel SPE procedure". *Talanta.* **78**(1): 150, 2009.
119. LUNDBERG, U.; HOLMBERG, L. & FRANKENHAEUSER, M. "Urinary catecholamines: Comparison between HPLC with electrochemical detection and fluorophotometric assay". *Pharm. Biochem. Behav.* **31**(2): 287, 1988.

120. GUEDES DA SILVA, Q.; BARBOSA, N.; TROIANI, E.P. & FARIA, R. "Electrochemical determination of norepinephrine on cathodically pretreated poly(1,5-diaminonaphthalene) modified electrode". *Electroanalysis*. **23**(6): 1359, 2011.
121. MAZLOUM-ARDAKANI, M.; BEITOLLAHI, H.; AMINI, M.K.; MIRKHALAF, F. & MIRJALILI, B.-F. "A highly sensitive nanostructure-based electrochemical sensor for electrocatalytic determination of norepinephrine in the presence of acetaminophen and tryptophan". *Biosens. Bioelectron*. **26**(5): 2102, 2011.
122. KALIMUTHU, P. & ABRAHAM JOHN, S. "Selective determination of norepinephrine in the presence of ascorbic and uric acids using an ultrathin polymer film modified electrode". *Electrochim. Acta*. **56**(5): 2428, 2011.
123. HUANG, S.-H.; LIAO, H.-H. & CHEN, D.-H. "Simultaneous determination of norepinephrine, uric acid, and ascorbic acid at a screen printed carbon electrode modified with polyacrylic acid-coated multi-wall carbon nanotubes". *Biosens. Bioelectron*. **25**(10): 2351, 2010.
124. KALIMUTHU, P. & JOHN, S.A. "Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, uric acid and xanthine using a nanostructured polymer film modified electrode". *Talanta*. **80**(5): 1686, 2010.
125. ENSAFI, A.A.; TAEI, M. & KHAYAMIAN, T. "A differential pulse voltammetric method for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using poly (3-(5-chloro-2-hydroxyphenylazo)-4,5-dihydroxynaphthalene-2,7-disulfonic acid) film modified glassy carbon electrode". *J. Electroanal. Chem*. **633**(1): 212, 2009.
126. CRUZ MORAES, F.; CABRAL, M.F.; MACHADO, S.A.S. & MASCARO, L.H. "Electrocatalytic Behavior of Glassy Carbon Electrodes Modified with Multiwalled Carbon Nanotubes and Cobalt Phthalocyanine for Selective Analysis of Dopamine in Presence of Ascorbic Acid". *Electroanalysis*. **20**(8): 851, 2008.
127. MANJUNATHA, R.; SURESH, G.S.; MELO, J.S.; D'SOUZA, S.F. & VENKATESHA, T.V. "Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using polystyrene sulfonate wrapped multiwalled carbon nanotubes bound to graphite electrode through layer-by-layer technique". *Sens. Actuators, B*. **145**(2): 643, 2010.
128. LIU, X.; PENG, Y.; QU, X.; AI, S.; HAN, R. & ZHU, X. "Multi-walled carbon nanotube-chitosan/poly(amidoamine)/DNA nanocomposite modified gold electrode for determination of dopamine and uric acid

- under coexistence of ascorbic acid". *J. Electroanal. Chem.* **654**(1-2): 72, 2011.
129. ATTA, N.F.; EL-KADY, M.F. & GALAL, A. "Simultaneous determination of catecholamines, uric acid and ascorbic acid at physiological levels using poly(N-methylpyrrole)/Pd-nanoclusters sensor". *Anal. Biochem.* **400**(1): 78, 2010.
 130. NOROOZIFAR, M.; KHORASANI-MOTLAGH, M. & TAHERI, A. "Preparation of silver hexacyanoferrate nanoparticles and its application for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid". *Talanta.* **80**(5): 1657, 2010.
 131. OTERO, T.F. & GARCÍA DE OTAZO, J.M. "Polypyrrole oxidation: Kinetic coefficients, activation energy and conformational energy". *Synt. Met.* **159**(7-8): 681, 2009.
 132. OTERO, T.F. & SANTOS, F. "Polythiophene oxidation: Rate coefficients, activation energy and conformational energies". *Electrochim. Acta.* **53**(7): 3166, 2008.
 133. OTERO, T.F. & BOYANO, I. "Characterization of polypyrrole degradation by the conformational relaxation model". *Electrochim. Acta.* **51**(28): 6238, 2006.
 134. BARBOSA, N.V., *Desenvolvimento de Eletrodo Modificado com Filme de Polianilina e Estudo da Viabilidade da Aplicação Analítica para Catecolaminas*, in *Programa de Pós-Graduação em Química*. 2010, Universidade Federal de São Carlos: São Carlos - SP. p. 86.
 135. BRUNS, R.E.; SCARMINIO, I.S. & BARROS NETO, B., *Statistical design - chemometrics* 1ed. 2006, Amsterdam: Elsevier B. V.
 136. LAVINE, B. & WORKMAN, J. "Chemometrics". *Anal. Chem.* **82**(12): 4699, 2010.
 137. SANTOS, W.N.L.D.; SANTOS, C.M.C. & FERREIRA, S.L.C. "Application of three-variables Doehlert matrix for optimisation of an on-line pre-concentration system for zinc determination in natural water samples by flame atomic absorption spectrometry". *Microchem. J.* **75**: 211, 2003.
 138. FERREIRA, S.L.C.; DOS SANTOS, W.N.L.; QUINTELLA, C.M.; NETO, B.B. & BOSQUE-SENDRA, J.A. "Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry - review". *Talanta.* **63**(4): 1061, 2004.

139. TARLEY, C.R.T.; SILVEIRA, G.; DOS SANTOS, W.N.L.; MATOS, G.D.; DA SILVA, E.G.P.; BEZERRA, M.A.; MIRO, M. & FERREIRA, S.L.C. "Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology". *Microchem. J.* **92**(1): 58, 2009.
140. DOEHLERT, D.H. "Uniform shell designs". *Appl. Statist. Sci.* **19**: 231, 1970.
141. TOLEDO, R.A.D., *Estudo eletroquímico e desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas para a determinação de antidepressivos tricíclicos e neurotransmissores in Instituto de Química de São Carlos.* 2006, Universidade de São Paulo: São Carlos - SP. p. 172.
142. LAUBE, N.; MOHR, B. & HESSE, A. "Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines". *J. Crystal Growth.* **233**(1-2): 367, 2001.
143. MILLER, J.C. & MILLER, J.N., *Statistics for Analytical Chemistry.* third ed. Ellis Horwood 1993, New York, London: Prentice Hall. 256.
144. FARIA, R.C. & BULHOES, L.O.S. "Synthesis and electrochemical response of poly-(1-aminoanthracene) films". *Electrochim. Acta.* **44**(10): 1597, 1999.
145. *Real Farmacopea Española.* 3 ed. 1997.
146. GOSSER JUNIOR, D.K., *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms.* 1993: VCH. 98.
147. GIROTTO, E.M. & DE PAOLI, M.-A. "Transporte de massa em polímeros intrinsecamente condutores: importância, técnicas e modelos teóricos". *Quim. Nova.* **22**: 358, 1999.
148. GHANEM, M.A. "Electrocatalytic activity and simultaneous determination of catechol and hydroquinone at mesoporous platinum electrode". *Electrochem. Commun.* **9**(10): 2501, 2007.
149. LAVIRON, E. "Electrochemical reactions with protonations at equilibrium: Part XII. The 2 e⁻, 2 H⁺ homogeneous isotopic electron exchange reaction (nine-member square scheme)". *J. Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.* **169**(1-2): 29, 1984.
150. BUND, A. & SCHWITZGEBEL, G. "Signal oscillations of a piezoelectric quartz crystal in liquids caused by compressional waves". *Anal. Chim. Acta.* **364**: 189, 1998.

151. SYED, A.A. & DINESAN, M.K. "Review: Polyaniline-A novel polymeric material". *Talanta*. **38**(8): 815, 1991.
152. DE ALBUQUERQUE, J.E.; MATTOSO, L.H.C.; FARIA, R.M.; MASTERS, J.G. & MACDIARMID, A.G. "Study of the interconversion of polyaniline oxidation states by optical absorption spectroscopy". *Synt. Met.* **146**(1): 1, 2004.
153. ODIN, C. & NECHTSCHHEIN, M. "Memory effect in conducting polymers: Electrochemical and ESR studies on polyaniline". *Synt. Met.* **43**(1-2): 2943, 1991.