

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

“Preparação, Caracterização e Aplicação de Eletrodos de Nanotubos de Carbono na Determinação de Cr(III), Cr(VI) e flavonoides”.

Camila Bortolato Gomes da Nobrega*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientadora: Lucia Helena Mascaro

*** bolsista CNPQ/ quota orientador**

**São Carlos - SP
2013**

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

N754pc

Nobrega, Camila Bortolato Gomes da.

Preparação, caracterização e aplicação de eletrodos de nanotubos de carbono na determinação de Cr(III), Cr(VI) e flavonoides / Camila Bortolato Gomes da Nobrega. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
88 f.

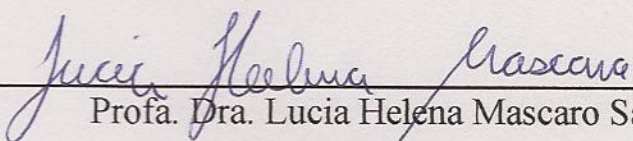
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

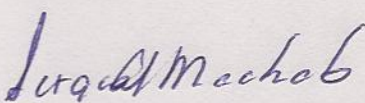
1. Química. 2. Química eletroanalítica. 3. Eletrodos. 4. Nanotubos de carbono. I. Título.

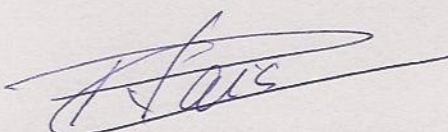
CDD: 540 (20^a)

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

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de Mestrado Acadêmico da candidata Camila Bortolato Gomes da Nobrega, realizada em 30 de janeiro de 2013:


Profª. Dra. Lucia Helena Mascaro Sales


Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado


Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria

DEDICATÓRIA

À minha mãe e minhas três queridas avós.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pois Ele me deu a vida, sabedoria e confiança.

À Profa. Dra. Lucia, pela sua compreensão e paciência ao me orientar e entender as minhas dificuldades.

Ao Prof. Dr. Ernesto pela disposição do laboratório e aos membros da Comissão examinadora pelas discussões e avaliação deste trabalho.

Ao meu companheiro, amado e esposo Renato e à minha antiga e nova família – pai, irmãs, tias, primos, sogra, cunhados e sobrinhos – pois sempre estiveram ao meu lado nos momentos bons e difíceis.

Aos companheiros de laboratório: Paola, Murilo, Adriano, Wania, Manuela, Alex, Aline, Ariane e Luane, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho e amizade.

Ao Departamento e Programa de Pós-Graduação em Química e CNPQ pela oportunidade e bolsa pela realização deste trabalho.

Glossário de Símbolos e Abreviatura

AdSV - Voltametria de Redissolução Adsorptiva
ASV- Voltametria de Redissolução Anódica
C₆₀ - Fulereo
CE- Contra- Eletrodo
CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTAB - cetylramethylammonium
DDMIMPF₆ - Hexafluorofosfato 1-dodecil-3-metilimidazólio
DPASV - Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial
DPCSV - Voltametria Catódica Adsorptiva de Pulso Diferencial
DTPA - Ácido Dietilenotriaminopentaácetico
ER- Eletrodo de Referência
ET – Eletrodo de Trabalho
GCE- Carbono Vítreo Modificado
HMDE - Eletrodo de Mercúrio de Gota Pendente
ICP-AES - Espectrometria de Emissão Atômica
LD - Limite de Detecção
LQ - Limite de Quantificação
MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura
NTCPM - Nanotubo de Carbono de Paredes Multiplas
NTCPS - Nanotubo de Carbono de Parede Simples
NTCPU – Nanotubos de Carbono de Parede Única
NTCs – Nanotubos de Carbono
OMS – Organização Mundial da Saúde
P - Porfirinas
Pc - Ftalocianinas
SWV - Voltametria de Onda Quadrada
VC - Voltametria Cíclica
VPD - Voltametria de Pulso Diferencial

Lista de Tabelas

TABELA 1.1 - Propriedades dos NTCs.....	3
TABELA 1.2- Principais características e exemplos dos grupos dos flavonoides.....	8
TABELA 1.3 - Valores máximos permitidos dos íons cromo em água.	14
TABELA 1.4 - Condições experimentais utilizados para determinação de (+) catequina e rutina.....	17
TABELA 1.5 - Condições experimentais utilizados para determinação de Cr(VI) e Cr(III).	21
TABELA 2.1 - Proporções em massa do óleo mineral Nujol e nanotubos de carbono utilizados para confecção dos eletrodos de trabalho	29
TABELA 3.1 - Parâmetros e intervalos escolhidos para a análise do (+)catequina por VPD.	43
TABELA 3.2- Comparação dos resultados obtidos pela técnica VDP e dados da literatura de (+) catequina.	46
TABELA 3.3 - Parâmetros e intervalos escolhidos para a análise da rutina por VPD.	48
TABELA 3.4- Comparação dos resultados obtidos nas técnicas de DPV e UV-vis da Rutina.....	52
TABELA 3.5 - Comparação dos resultados obtidos na técnica VDP e dados da literatura de (+) catequina.	52
TABELA 3.6 - Resultados obtidos com adição de padrão dos flavonoides em amostras de chás usando técnicas de VPD e UV-vis.....	60
TABELA 3.7 - Resultados obtidos com adição de padrão dos flavonoides em amostras da fruta romã usando técnicas de VPD e UV-vis.	60
TABELA 3.8: Teores dos analitos obtidos por VPD e as concentrações detectadas de (+) catequina e rutina na literatura, por diferentes métodos.	62
TABELA 3.9 - Parâmetros e intervalos escolhido para analise por VPD do Cr(VI).	68

Lista de Figuras

FIGURA 1.1- Representação da estrutura molecular: a) folha de grafeno e b) nanotubos de carbono.....	2
FIGURA 1.2 - Representação esquemática de nanotubos de carbono de paredes múltiplas NTCPM (A) e de parede simples NTCPS (B)	2
FIGURA 1.3 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) de a) NTCPU - apresentam de 1 a 5 nm de diâmetro e b) NTCPM- apresentam de 2,5 a 30 nm de diâmetro.....	3
FIGURA 1.4- Estruturas moleculares dos grupos de flavonoides	7
FIGURA 1.5 - Estrutura molecular da catequina e derivados.	9
FIGURA 1.6 - Mecanismo de oxidação do (+) catequina	9
FIGURA 1.7 - Estrutura molecular da rutina.....	10
FIGURA 1.8 - Mecanismo de oxidação do rutina.....	11
FIGURA 1.9 - A fruta romã (<i>Punica granatum</i> , L.).	12
FIGURA 1.10 - Reações propostas para descrição do comportamento eletroquímico do Cr(VI) na presença do complexante presente no colírio Septonex®	19
FIGURA 2.1 - Foto ilustrativa dos equipamentos utilizados: Potenciostato da Autolab mod. PGSTAT 30 (a) e espectrofotômetro UV-vis de duplo feixe, Cary Win UV (b).	26
FIGURA 2.2 - Foto ilustrativa da célula eletroquímica utilizada: eletrodo de referência, ER (eletrodo de Ag/AgCl em meio de KCl saturado), eletrodo de trabalho, ET (pasta de CNTs) e contra eletrodo, CE (espiral de Pt)	28
FIGURA 3.1 - Micrografia dos eletrodos de NTCs em pó a 60% (m/m) nas escalas de a) 1 μ m, b) 200nm e c) 100nm.....	35
FIGURA 3.2 - Micrografia dos eletrodos de pasta de NTCs com 60% (m/m) em diferentes aumentos.	36
FIGURA 3.3 - Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodo de pasta de NTCs em diferentes proporções, usando uma solução de $K_3[Fe(CN)_6] = 5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $KCl 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$	38
FIGURA 3.4 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes pHs para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	40
FIGURA 3.5 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de 1,0	

$1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato pH 6,0 e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$	41
FIGURA 3.6 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes tempos de pré-polarização para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato pH 6,0 e $v = 20 \text{ mV}$ s^{-1}	42
FIGURA 3.7 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato pH 6,0.	43
FIGURA 3.8 – Voltamogramas de pulso diferencial (a) e curva analítica (b) obtidas para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de (+) catequina, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	45
FIGURA 3.9 - Curvas de absorvância obtidas de (+) catequina em solução de tampão fosfato a pH 6,0, contendo diferentes concentrações.	47
FIGURA 3.10 – Voltamogramas de pulso diferencial (a) e curva analítica (b) obtidas para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de rutina com $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	49
FIGURA 3.11 – Absorvância (a) e curva analítica (b) obtidas para solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de rutina. ..	51
FIGURA 3.12 - Voltamogramas de pulso diferencial (a), e curva analítica (b) obtidas para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de (+) catequina e concentração fixa de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de rutina, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	53
FIGURA 3.13 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de rutina e concentração fixa de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de (+) catequina, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	55
FIGURA 3.14 - Voltamogramas de pulso diferencial (a) e curva da adição de padrão (b) de (+) catequina para amostra de chá verde usando o eletrodo de pasta de NTCs, com $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	57
FIGURA 3.15 - Voltamogramas de pulso diferencial de (+) catequina para amostra de chá branco e preto usando o eletrodo de pasta de NTCs, com v $= 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	58
FIGURA 3.16 - Curva da adição de padrão de (+) catequina em amostras da fruta romã usando o eletrodo de pasta de NTCs em voltametria de pulso diferencial com $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$	59

FIGURA 3.17 - Comparação de teores em mg g^{-1} de (+) catequina em chás verdes e preto de diferentes países apresentados no trabalho de MATSURABA, e RODRIGUEZ-AMAYA ⁽⁵⁴⁾ sendo: (nd) não detectado e (C): (+)catequina.	61
FIGURA 3.18 - Voltamogramas de pulso diferencial obtido com eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$	64
FIGURA 3.19 - Corrente de pico catódica obtidos por VPD vs. concentração dos compostos orgânicos adicionados com $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) na $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$	65
FIGURA 3.20 - Voltamogramas de pulso diferencial obtido com eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl ou KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$	66
FIGURA 3.21 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso. Eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$	67
FIGURA 3.22 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com diferentes tempos de polarização no potencial inicial. Eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$	68
FIGURA 3.23 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$	69
FIGURA 3.24 - Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$,.....	70
FIGURA 3.25 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de $32,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(III) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$	71
FIGURA 3.26 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de Cr(III) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$	72

- FIGURA 3.27 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de Cr(III) + Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$, sendo $[\text{Cr(III)}] = 2[\text{Cr(VI)}]$ 73
- FIGURA 3.28 - Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de Cr(VI) + Cr(III) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$, sendo $[\text{Cr(III)}] = 2[\text{Cr(VI)}]$ 74
- FIGURA 3.29 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de $0,34 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cr(VI) + x de [Cr(III)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$ 76
- FIGURA 3.30 - Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de NTCs em solução $19,2 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) + x de [Cr(III)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$ 76
- FIGURA 3.31 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de $25,2 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(III) + x de [Cr(VI)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$ 77
- FIGURA 3.32 - Curva analítica obtida com eletrodo de NTCs em solução de $0,34 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cr(III) + x de [Cr(VI)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$ 78

Sumário

CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Apresentação	1
1.2 Eletrodos de NTCs	4
1.3 Algumas Considerações sobre os Analitos de Interesse	5
1.3.1 (+) Catequina e Rutina.....	5
1.4.2 Amostras Estudadas dos Compostos Orgânicos.....	11
1.4.3 Cromo	13
1.5 Revisão Bibliográfica sobre Determinação dos Analitos Estudados ..	14
1.5.1 Determinação de Catequina e Rutina	14
1.5.2 Determinação dos Íons Cr(III) e Cr(VI).....	18
1.6 Objetivos do Trabalho	22
CAPÍTULO 2.....	23
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	23
2.1 Reagentes e Soluções	23
2.1.1 Solução Ferricianeto de Potássio	24
2.1.2 Eletrólitos de Suporte	24
2.1.5 Preparo das Amostras Analisadas	25
2.2 Equipamentos	26
2.3 Células e Eletrodos	27
2.3.1 Confeção dos Eletrodos de Pasta de Carbono	28
2.3.2 Caracterização dos Eletrodos Construídos	29
2.4 Otimização das Condições Experimentais para a Técnica de Pulso Diferencial	30
2.5 Obtenções das Curvas Analíticas.....	31

CAPÍTULO 3	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1 Caracterização e Avaliação das Pastas de NTCs	33
3.1.1 Caracterização Microscópica dos NTCs	34
3.1.2 Influência da Composição da Pasta de NTCs na Resposta Eletroquímica dos Eletrodos	37
3.2. Desempenho do Eletrodo de Pasta NTCs na Determinação Compostos Orgânicos	39
3.2.1. Determinação de (+) Catequina	39
3.2.2. Determinação da Rutina	47
3.2.3. Análise da Mistura de (+) Catequina e Rutina	52
3.2.3.1. Variação de Catequina na Presença de Concentração Fixa da Rutina	52
3.2.3.2. Variação de Rutina na Presença de Concentração Fixa de (+) Catequina	54
3.2.4. Determinação de (+) Catequina e Rutina em Amostras de Chás e na fruta Romã	56
3.3. Desempenho do Eletrodo de Pasta NTCs na Determinação Cr(III) e Cr(VI)..	63
3.3.1. Uso do Composto Orgânico na Análise de Cr(VI)	63
3.3.1.1. Otimização das Condições de Análise do Cr (VI)	65
3.3.3 Obtenção da Curva Análítica para o Cr(VI)	69
3.3.3. Uso do Composto Orgânico na Análise de Cr(III)	70
3.3.4. Análise de Cr(VI) na Presença de Cr(III)	73
CAPÍTULO 4	79
4. Conclusões	79
CAPÍTULO 5	81
5. Referencias Bibliográficas	81

RESUMO

Este trabalho tem por objetivo o desenvolvimento do eletrodo de pasta de nanotubos de carbono (NTCs) como sensores eletroquímicos na análise dos flavonoides, (+) catequina e rutina e dos íons Cr(III) e Cr(VI), utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV). Os eletrodos foram confeccionados com 60% m/m de NTCs de múltiplas paredes com diâmetro de 20 a 40 nm e 40% m/m de óleo mineral, nujol. As curvas analíticas para os compostos orgânicos (+)catequina e rutina foram realizadas em solução tampão fosfato pH 6,0 e para o Cr(III) e Cr(VI) o eletrólito foi a mistura de HCl e KCl 0,1 mol L⁻¹ e 0,15 molL⁻¹ de brometo de tetrabutilamonio. A (+)catequina apresentou o limite de detecção (LD) de 5,4 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ e a rutina de 9,37 x 10⁻⁸ mol L⁻¹. A metodologia de adição-padrão foi utilizada para determinar, em amostras de chás de espécie *Camellia sinensis* (preto, verde e branco) e na fruta romã (casca, folha e fruto), o conteúdo total de flavonoides, uma vez que não foi possível separar o sinal analítico das duas espécies orgânicas. Os valores encontrados tanto com a adição de solução padrão de (+)catequina ou rutina estão próximos aos observados na literatura e concordam com os obtidos pela técnica de UV-vis. Da curva analítica para o íon Cr(VI) foi obtido o LD de 1,1x10⁻⁹ mol L⁻¹ e um fator de recuperação (F_{rec}) de 98,1%. Para o Cr(III) não se obteve sinal analítico neste meio, entretanto, para a mistura de Cr(III) e Cr(VI) foi possível obter um F_{rec} de 100,4% em baixas concentrações. O método não permitiu a especiação das diferentes espécies de íons cromo.

ABSTRACT

The objective of this work is the development of a carbon nanotubes past electrode (CNTs) as electrochemical sensors in the analysis of flavonoids, (+) catechin and rutin, and Cr (III) and Cr (VI) ions, by differential pulse voltammetry (DPV). The electrodes were prepared with 60% w/w multiple walls CNTs with diameter of 20 to 40 nm and 40% w/w of mineral oil, nujol. The analytical curves for organic compounds (+) catechin and rutin were performed in phosphate buffer pH 6.0 while those for Cr (III) and Cr (VI) the electrolyte was a mixture of HCl and KCl 0.1 mol L^{-1} and tetrabutylammonium bromide 0.15 mmol L^{-1} . The (+) catechin showed a limit of detection (DL) of $5.4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ and rutin $9.37 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. The standard addition method was used to analyse the samples of tea species *Camellia sinensis* (black, white and green) and pomegranate fruit (bark, leaf and fruit). The total content of flavonoids was determined, since it was not possible separate the analytical signal of the two organic species. The values found with the addition of (+) catechin or rutin standard solutions are close to those reported in the literature and agree with those obtained from UV-vis technique. From analytical curve of the Cr (VI) ion was obtained a DL of $1.1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ and a recovery factor (F_{rec}) of 98.1%. For Cr (III) none analytical signal was obtained in the conditions used in this work. However, for the mixture of Cr (III) and Cr (VI) the total chromium content was determined with a F_{rec} of 100.4%, at low ions concentrations. The method was not able to specialty the different chromium ions species.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação

Materiais eletródicos à base de carbono vem sendo cada vez mais pesquisados por apresentarem uma grande atividade catalítica e elevada área superficial, o que explica a sua sensibilidade. Entre eles têm-se: os fulerenos (C_{60}), grafite, ftalocianinas (Pc), porfirinas (P) e os nanotubos de carbono (NTCs).⁽¹⁾

Basicamente, os NTCs são folhas de grafeno enrolada em forma cilíndrica e foram descobertos por Sumio Iijima em 1991.⁽²⁾

As folhas de grafeno apresentam a estrutura básica de arranjos hexagonais de carbono que originam pequenos cilindros como apresentado na FIGURA 1.1. Eles usualmente têm uma faixa com diâmetro entre 7 a 100 nm e podem ter comprimentos acima de vários centímetros. A constituição básica do retículo do nanotubo são as ligações covalentes $C=C$, como nas camadas de grafite. Portanto, nos nanotubos de carbono se encontra uma hibridização sp^2 .⁽³⁾

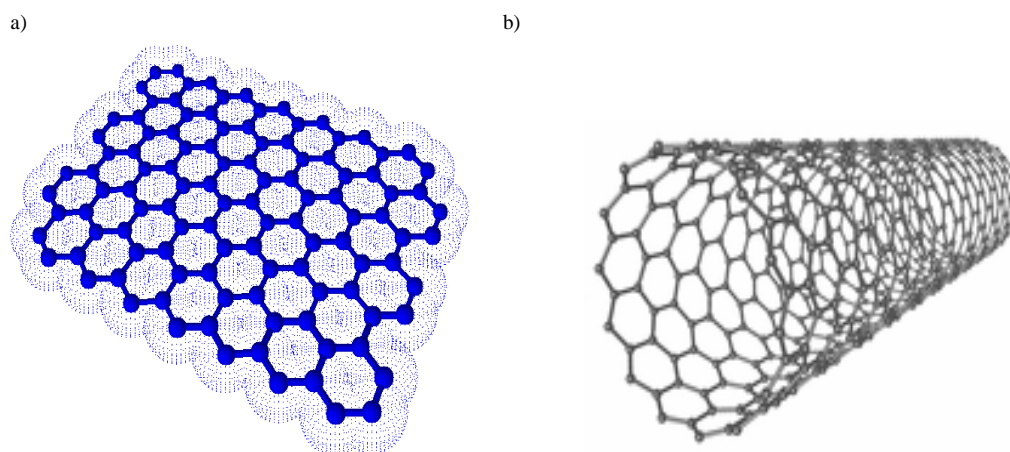


FIGURA 1.1- Representação da estrutura molecular: a) folha de grafeno e b) nanotubos de carbono⁽⁴⁾.

Existem dois tipos de NTCs: os nanotubos de carbono de parede simples ou únicas (NTCPS ou NTCPU) e os nanotubos de carbono de parede múltipla (NTCPM). Os NTCPU podem ser considerados como uma única folha de grafite enrolada sobre si mesma para formar um tubo cilíndrico, já o NTCPM compreendem um conjunto de nanotubos concêntricos, num arranjo que lembra as tradicionais *matrioshkas* - bonecas russas ocas que trazem dentro outras bonecas ocas idênticas (FIGURA 1.2).

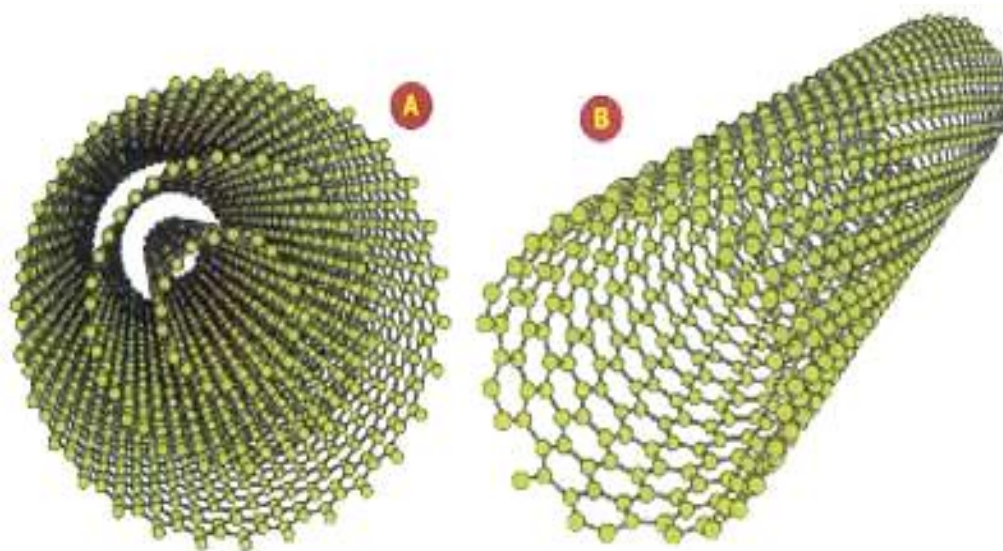


FIGURA 1.2 - Representação esquemática de nanotubos de carbono de paredes múltiplas NTCPM (A) e de parede simples NTCPS (B)⁽⁴⁾

Tanto os NTCPU como os NTCPM apresentam propriedades que dependem dos seguintes fatores: número de camadas concêntricas, ângulos de ligação C-C (maneira de serem enrolados) e o seu diâmetro como apresenta a FIGURA 1.3 e a TABELA 1.1:

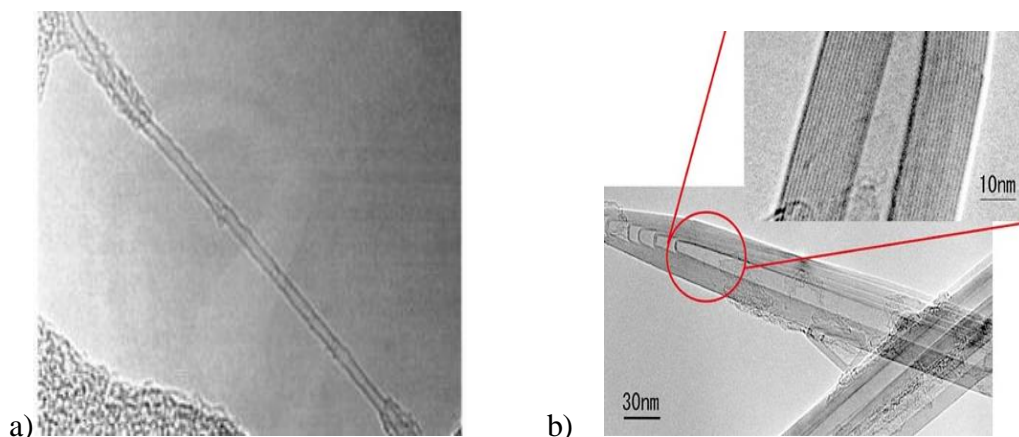


FIGURA 1.3 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) de a) NTCPU - apresentam de 1 a 5 nm de diâmetro e b) NTCPM- apresentam de 2,5 a 30 nm de diâmetro. ⁽⁵⁾

TABELA 1.1 - Propriedades dos NTCs. ⁽⁶⁾

Propriedades	NTCPS	NTCPM
Resistência à Tração (GPa)	50-500	10-60
Módulo de Elasticidade (TPa)	~1	0,3-1
Deformação na fratura (%)	5,8	-
Densidade (g/cm ³)	1,3-1,5	1,8-2,0
Diâmetro típico (nm)	1-5	2,5-20
Condutividade elétrica (S/m)		~10 ⁶
Estabilidade Térmica (°C)		>700 (ao ar)
Área Superficial (m ² /g)		10-20

Existem várias aplicações para os nanotubos de carbono, entre elas: eletrônicas, eletroquímicas^{(7), (8)}, ópticas⁽⁹⁾, nanodispositivos e compósitos eletroativos. Entre as diversas aplicações dos NTCs encontram-se muitas na área de eletroquímica como na obtenção de sensores, de compósitos condutores e como material para armazenamento de hidrogênio.^{(10), (11)}

1.2 Eletrodos de NTCs

Em especial, os eletrodos de NTCs são utilizados principalmente na área de eletroanalítica devido as suas diferentes propriedades, tais como, eletrocatalises, capacidade de imobilizar enzimas, baixo custo, facilidade de modificação da superfície o que possibilita suas aplicações em diversos analitos e em compostos biologicamente importantes⁽¹²⁾. Entre as várias espécies tem-se relatadas na literatura o emprego de NTCs na sua determinação encontram-se peróxido de hidrogênio⁽¹³⁾, ácido úrico⁽¹⁴⁾, ácido ascórbico, adrenalina,⁽¹⁵⁾ catecolaminas⁽¹⁶⁾, NADH, citocromo C, aminoácidos⁽¹⁷⁾, glicose⁽¹⁸⁾, DNA, mRNA^{(19), (20)} pesticidas⁽²¹⁾ e até mesmo células cancerígenas^{(22), (23)}.

Uma das formas de eletrodos de NTCs empregados em eletroanalítica são os eletrodos de pasta de carbono. Eles são importantes devido à facilidade de produção, onde se tem a homogeneização de uma mistura de uma forma alotrópica de carbono em pó na presença de um modificador (óleo). Como exemplos de modificadores já usados e estudados pode-se citar o óleo de silicone, a parafina e óleo mineral^{(21), (24), (25)}. O líquido apropriado é macerado com o carbono, em uma razão de massa adequada. A grande vantagem é que a pasta formada pode ser usada por meses sem a necessidade de preparação de um novo eletrodo. Em todo

caso, os materiais usados para preparar os eletrodos devem ser todos de alta pureza. Este tipo de eletrodo proporciona excelentes limites de detecção em sistemas de análise em fluxo e a renovação da superfície do eletrodo. No caso dos eletrodos de pasta de NTCs tem-se empregado pó de NTCs e nujol ^{(26), (27)}.

Também há a possibilidade do uso de modificadores imobilizados na pasta destes eletrodos com um desempenho analítico substancialmente melhorado, diminuindo o limite de detecção das espécies em análise e/ou aumentando a seletividade para uma determinada substância ⁽²⁸⁾. Citando alguns exemplos têm-se: MnO_2 para peróxido de hidrogênio ⁽²⁹⁾, RuO_2 para aminoácidos ou proteínas ⁽³⁰⁾, uso do Cu_2O para aminoácidos ⁽³¹⁾, ftalocianina de ferro (II) para um herbicida ⁽³²⁾, uso dos óxidos HgO , Bi_2O_3 e Sb_2O_3 para íons $Cd(II)$ e $Pb(II)$ ⁽³³⁾.

Devido às vantagens relatadas acima os eletrodos de pasta de NTCs foram escolhidos para a determinação de flavonoides em amostras de chá e da fruta romã ((+)catequina e rutina) e na análise de metais em água ($Cr(VI)$ e $Cr(III)$) que era o tema de interesse deste trabalho.

1.3 Algumas Considerações sobre os Analitos de Interesse

1.3.1 (+) Catequina e Rutina

Dentro do grupo de compostos fenólicos, que apresentam diversas funções, pode-se destacar os flavonoides, a maior classe entre os fenólicos. Eles são caracterizados pelo esqueleto comum de difenilpropano, $C_6-C_3-C_6$ e apresentam uma estrutura comum contendo 15 carbonos, formando dois anéis aromáticos, sendo ligadas por uma cadeia de três

carbonos. Suas bandas de absorção estão entre 240 a 280 nm e outra de 300 a 390 nm⁽³⁴⁾.

São substâncias que quimicamente têm a capacidade de serem doadoras de elétrons, o que as confere propriedades antioxidantes, sendo também hidro e lipossolúveis. Em plantas jovens, eles agem contra a radiação UV, antioxidantes, inibidores enzimáticos e promovem a resistência de plantas a fatores patogênicos como fungos, insetos e bactérias. São coloridos e responsáveis pelo sabor, odor e coloração de diversos vegetais como flores, frutas e algumas folhas. Alguns desses compostos são utilizados como flavorizantes e corantes de bebidas e alimentos.⁽³⁴⁻³⁵⁾

Alguns estudos apontam suas propriedades farmacológicas significativas e têm mostrado que essas substâncias são importantes como antioxidantes, vasodilatadoras, anti-inflamatórias, estimulante do sistema imunológico, antialérgica, antivirais, antibactericidas, anticancerígenas e cardioprotetoras, além de serem responsáveis pelo combate de radicais livres.

As moléculas liberadas pelo metabolismo do corpo possuem elétrons altamente instáveis e reativos, que podem causar doenças degenerativas de envelhecimento e morte celular. Os radicais livres podem combinar com outras moléculas do corpo e, com isso, serem aniquilados rapidamente, caso a produção deles seja pequena. No caso de uma grande quantidade liberada pelo organismo em diferentes situações, como por exemplo - excesso de exercícios físicos de grande intensidade e duração, exposição ao sol em demasiado, fumar ou ingerir alimentos com muita fritura e refinados, - podem ocorrer danos, como o envelhecimento precoce e doenças como Parkinson, Alzheimer, entre outras⁽³⁵⁾. A FIGURA 1.5, apresenta as estruturas e a TABELA 1.4 mostra as principais características e exemplos dos grupos de flavonoides:

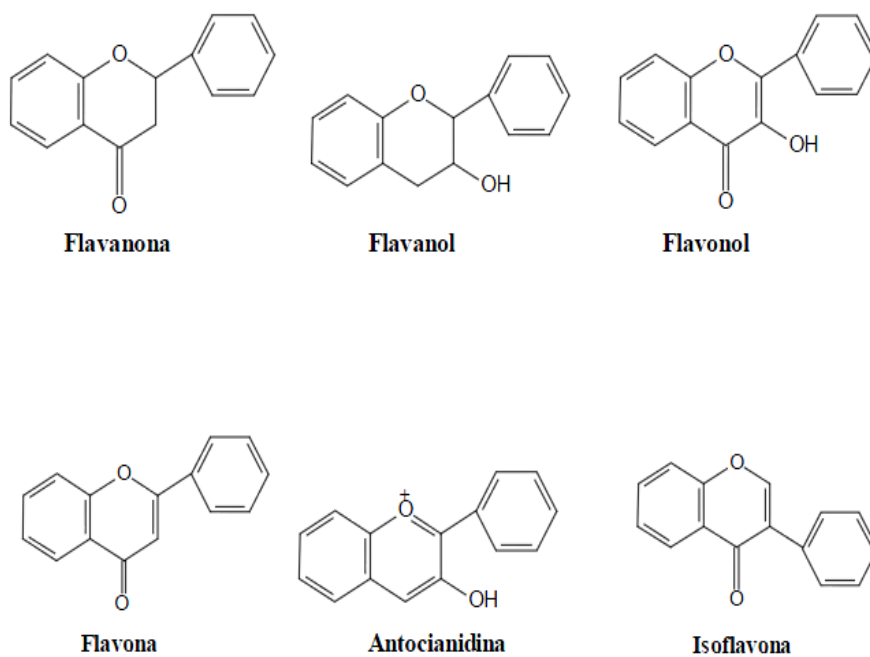


FIGURA 1.4- Estruturas moleculares dos grupos de flavonoides ⁽³⁶⁾

TABELA 1.2- Principais características e exemplos dos grupos dos flavonoides. ⁽³⁴⁾

Grupo	Coloração	Compostos	Fonte
Flavona	Amarelo claro	Apigenina	Casca de maçã, aipo
		Luteolína	Morango, pimenta
		Tricetina	Brócolis
Flavanona	Incolor, amarelo	Hesperidina	Frutas cítricas
		Narigina	Casca de cítricos
Isoflavona	Incolor	Genisteína	Derivados de soja
Flavanol	Incolor	Epicatequina	Vinho, tinto, maçã, cerveja
		Catequina	Chá, vinho, maçã, chocolate, romã
		Galocatequina	Chá
Flavonol	Amarelo claro	Campferol	Aipo, maçã, pêsego, pêra, ameixa
		Miracetina	Casca de frutas, vinho tinto, uva, chá, cebola
		Rutina	Alface, chá, azeitona, cebola, maçã, romã
		Quercetina	Salsa, brócolis, ameixa
Antocianina	Azul, vermelho, violeta, amarelo	Cianidina	Amora, açaí
		Delfinidina	Cereja
		Malvadina	Uva
		Perlagonoidina	Framboesa
		Peonidina	Vinho tinto

Catecóis ou catequinas são os principais representantes do grupo flavanol dos flavonoides. São frequentemente encontrados em chá, vinho tinto, chocolate e maçã. Ele apresenta quatro isômeros, sendo os principais a (+) catequina e a (-) epicatequina (FIGURA 1.6). Como são antioxidantes, anticancerígenos e antimutagênicos, auxiliam também a resistência capilar, estancamento a hemorragia e auxiliam a diminuição da taxa de colesterol. ^(37- 38)

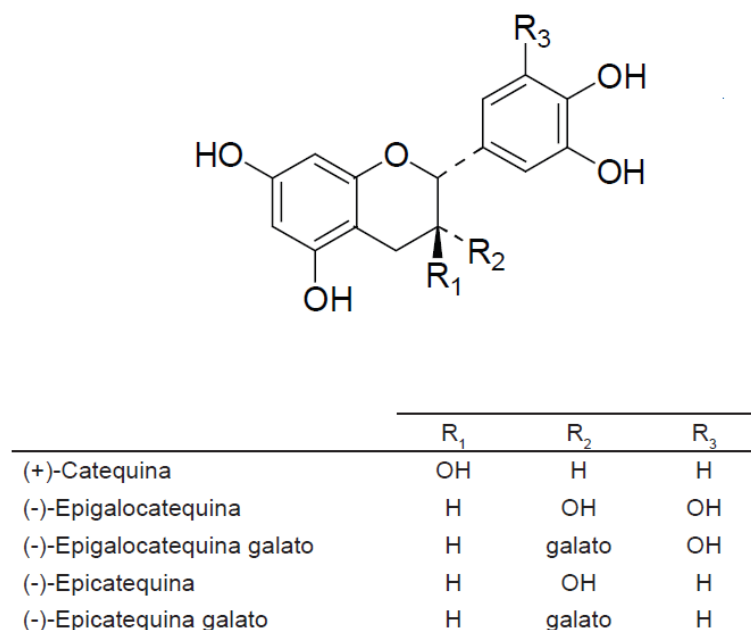


FIGURA 1.5 - Estrutura molecular da catequina e derivados ⁽³⁸⁾.

A (+) catequina (trans-3, 3', 4', 5, 7 pentahidroxi flavonol) apresenta a fórmula molecular C₁₅H₁₄O₆. O mecanismo de oxidação desse flavonoide pode ser observado na FIGURA 1.7, em uma única etapa, ocorre a oxidação 3'4' dihidróxi da molécula da (+) catequina, substituindo o anel B.

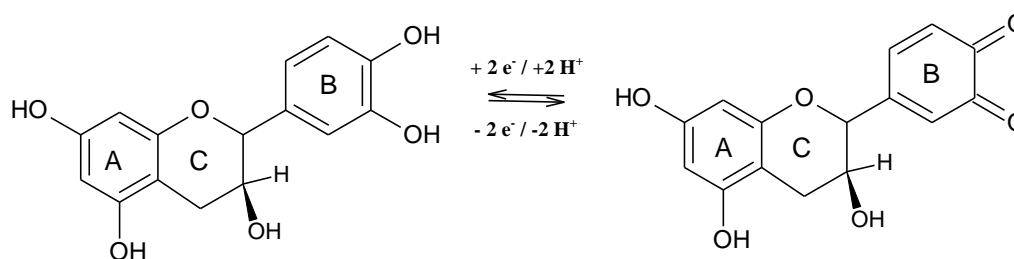


FIGURA 1.6 - Mecanismo de oxidação do (+) catequina ⁽³⁹⁾

A rutina ou a vitamina P (3',4',5,7-tetrahidroxiflavona- 3 B-D-ritinosideo) está no grupo flavonol da classe de flavonoides e sua fórmula molecular é $C_{27}H_{30}O_{15}$, FIGURA 1.8. Ela se destaca pela sua propriedade terapêutica: aumenta a resistência às infecções, portanto é anti-inflamatório – auxilia o aumento da eficácia da vitamina C no sistema imunológico nos animais – previne e cura sangramento de gengivas, age no tratamento de artrite, é anticonvulsivante em ratos e também é anticarcinogênica. ⁽⁴⁰⁾

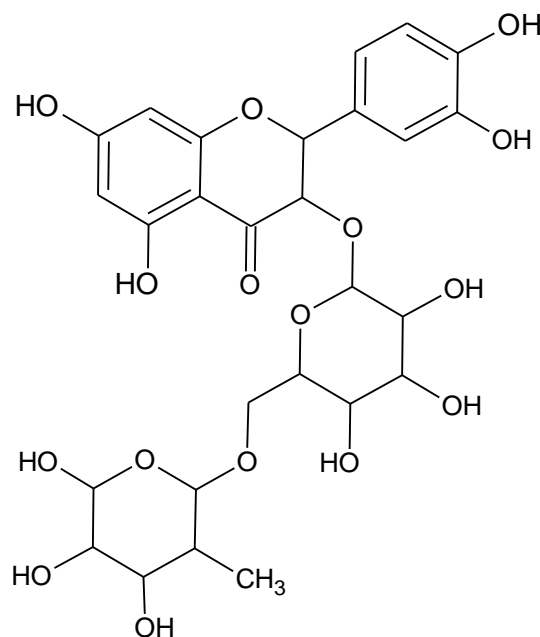


FIGURA 1.7 - Estrutura molecular da rutina ⁽⁴⁰⁾

A última etapa de seu mecanismo também ocorre a oxidação 3'4'dihidroxi do anel B . Pode ser observado o mecanismo de oxidação desse flavonoide na FIGURA 1.9.

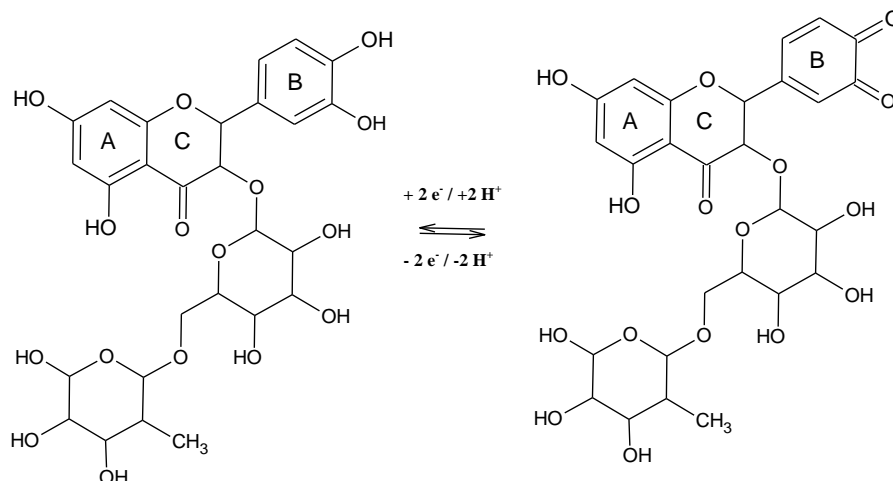


FIGURA 1.8 - Mecanismo de oxidação do rutina⁽²⁶⁾

1.4.2 Amostras Estudadas dos Compostos Orgânicos

As amostras estudadas neste trabalho, para a detecção dos compostos orgânicos, foram os chás de espécie *Camellia sinensis* e a fruta Romã (*Punica granatum*, L.).

A variedade de chás da espécie *Camellia sinensis* é diferenciada pelas suas etapas de produção e isso ocorre de acordo com o tipo e região que estão sendo produzidos. Eles têm principalmente oferecidos alguns benefícios importantes para a saúde demonstrando efeitos antimutagênicos, segundo diversas pesquisas, pela presença de alguns compostos polifenólicos. Como principais exemplos podem ser citados: catequinas, epicatequinas, galocatequinas, epigalocatequinas e epicatequinas^(35-36,38).

No caso da fruta romã, FIGURA 1.10, ela é nativa da região do Oriente Médio. Esta fruta apresenta vitaminas (C e B5, P) e polifenóis

(catequinas, galocatequinas, antocianinas, delphinidina, cianidina, pelargonidina).



FIGURA 1.9 - A fruta romã (*Punica granatum*, L.).

Pesquisas recentes mostram que com seu consumo podem ajudar a reduzir a pressão arterial e é utilizada na prevenção de alguns problemas cardiovasculares. Além da fruta, estudos apontam que suas sementes e a própria casca apresentam também fibras, óleos e micronutrientes, sendo juntamente a fruta, um dos aliados ao combate de células cancerígenas ^(34,36-43).

1.4.3 Cromo ^(5, 44- 46)

O cromo ou crômio apresenta quatro estados de oxidação: (0), (II), (III) e o (VI) e dependendo do seu estado de oxidação, ele é um elemento de traço essencial aos mamíferos, porém, em altas dosagens são tóxicos para os seres vivos. Este elemento é encontrado naturalmente no solo, na poeira e gases de vulcões sendo neste caso, o cromo (III), e, portanto é o íon mais abundante devido a sua estabilidade. Também é muito utilizado no comércio para curtimento de couro e pele.

Este é um elemento químico essencial, sendo participante do metabolismo de lipídios e dos hidratos de carbono, participar da potencialização da ação da insulina, sendo, por isso, denominado de "fator de tolerância à glicose", devido à relação com a atuação da insulina. A ausência de crômio provoca intolerância à glicose e, como consequência, o aparecimento de diversos distúrbios. Sua carência nos seres humanos pode causar ansiedade, fadiga e problemas de crescimento. Em contraposição, seu excesso (em nível de nutriente) pode causar dermatites, úlcera, problemas renais e hepáticos.

O Cr(VI) e o Cr (0) são produzidos em indústrias. O Cr(VI) é o íon encontrado nos compostos cromato (CrO_2^{4-}) e o dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$). ⁽⁵⁷⁾ Apresentando extrema importância em seu uso metalúrgico, como catalisadores e evita corrosão. Como são tóxicos, eles podem contaminar a água potável, quando estão presentes em aterros indústrias. Assim, com facilidade, o cromo atinge o lençol freático de reservatórios ou em rios, que é a fonte do abastecimento de águas das cidades.

Na TABELA 1.5 apresenta-se os valores de máximos de íons cromo em diversas amostras de água segundo a recomendação do Conselho Nacional do Meio Ambiente e da Organização Mundial da Saúde.

TABELA 1.3 - Valores máximos permitidos dos íons cromo em água.

Íon Metálico	Valor máximo de íons cromo	Valor máximo de íons cromo
	OMS ⁽⁴⁷⁾	CONAMA ⁽⁴⁸⁾
		0,05 mg L ⁻¹
Cromo	0,05 mg L ⁻¹ (água de consumo)	(doce e salina)
		1,1 mg L ⁻¹ (salobra)

1.5 Revisão Bibliográfica sobre Determinação dos Analitos Estudados

Um grande número de artigos pode ser encontrado na literatura para a determinação de compostos orgânicos como catequina e rutina e íons metálicos utilizando-se técnicas eletroquímicas. A seguir serão apresentados alguns dos artigos publicados nos últimos anos, a partir dos quais foram avaliadas as melhores condições de trabalho para o desenvolvimento deste estudo.

1.5.1 Determinação de Catequina e Rutina

MEDVIDOVIC - KOSANOIVIC et al. ⁽⁴⁹⁾ realizaram a detecção de flavonóides - (+)catequina, quercetina e rutina - utilizando um eletrodo de carbono vítreo (GCE) em diferentes pHs com as técnicas de voltametria cíclica (VC) , voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (SWV) . O primeiro pico de oxidação em todos os compostos estudados ocorre no grupo do anel B. Os autores concluíram que este processo é reversível e dependente do pH. Os produtos da oxidação de todos os flavonóides investigados (especialmente de

quercetina) foram adsorvidos fortemente na superfície do eletrodo. A sequência de atividade foi: quercetina > (+) catequina > rutina.

Com o uso do eletrodo nanotubos de carbono de parede única modificados com CTAB (brometo de acetatometilamônio) e eletrodos de GCE, YANG et al. ⁽⁵⁰⁾ investigaram a catequina usando as técnicas de CV e VPD e o limite de detecção (LD) foi de $1,12 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.

OLIVEIRA e MASCARO ⁽²⁶⁾ realizaram a determinação de rutina em formulações farmacêuticas com o uso de eletrodos de pasta de nanotubos de carbono. Usando a técnica de VPD obtiveram o LD de $3,39 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Os valores de rutina obtidos mostraram estar de acordo com os resultados do método padrão espectrofotométrico UV-vis e mostraram que o eletrodo de pasta da NTCs a 60% (m / m) era adequado para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas.

O trabalho de WANG et al. ⁽⁵¹⁾ apresentou o uso do eletrodo de nanotubos de carbono e DDMIMPF₆ (1-dodecil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato) para detecção de rutina. O comportamento de rutina em solução tampão de Britton-Robinson a pH 2,09, usando as técnicas VC e SWV, mostrou resultados experimentais que sugerem que o eletrodo exibiu uma atividade eletrocatalítica para a reação redox de rutina. Os parâmetros eletroquímicos de rutina foram calculados com LD de $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o desvio padrão relativo foi de 1,6%. O método foi aplicado com sucesso na determinação de rutina em comprimidos e amostras de urina sem a influência de substâncias coexistentes. Além disso, o eletrodo composto MWNTs/DDMIMPF₆ apresentou a vantagem de preparação simples, renovação de superfície, uma boa reprodutibilidade e estabilidade.

Segundo GUO et al. ⁽⁵²⁾, a oxidação catalítica e detecção de (+)-catequina, (-)-galocatequina, (-)-epicatequina, (-)-epigalocatequina, (-)-galato de epicatequina, (-)-galato de epigalocatequina e (-)-galato de galocatequina em chás comerciais foram apresentados com resultados

satisfatórios em comparação com a análise de espectrometria UV-vis no uso do eletrodo de nanotubos de carbono modificados com a quitosana. A técnica utilizada foi voltametria adsortiva (AdSV) onde ocorre a adsorção do anel benzeno na superfície de NTCs, através de conjugação π - π , pois são sensíveis e seletivamente detectados. As condições de acumulação e efeito do pH sobre a adsorção também foram examinados sendo o limite de detecção de 10 mg L^{-1} . Além disso, o eletrodo usado foi facilmente renovado, aplicando potencial positivo para remoção dos polifenóis adsorvidos.

WANG et al. ⁽⁵³⁾ também realizaram a determinação de catequina em solução tampão fosfato com um eletrodo de carbono vítreo modificado com depósito de poli-ácido aspártico e a técnica de VPD. Este método foi aplicado para a determinação de catequina em amostras de bebidas de chá, tendo o limite de detecção de $7,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e as recuperações foram de 97,1% a 102,7%.

Na determinação de catequina, EL-HADY e EL-MAALI ⁽⁵⁴⁾ usaram solução tampão fosfato/borato e eletrodo modificado de pasta de carbono com beta-ciclodextrina usando as técnicas de SWV e VPD. O método apresentou resultados reprodutíveis e confiáveis. O eletrodo foi aplicado com sucesso para a determinação em amostras de chá comerciais, com intervalo de recuperação aceitável (98-102%). Na TABELA 1.2 encontra-se um resumo das condições experimentais de alguns trabalhos encontrados na literatura sobre a análise de rutina e (+) catequina.

TABELA 1.4 - Condições experimentais utilizados para determinação de (+) catequina e rutina.

Método	Analito	Eletrodo	Eletrólito	L.D	REF
VC / VPD/ SWV	Catequina Rutina, Quercetina	GCE	Tampão CH ₃ COONa/ CH ₃ COOH pH= 4,5 a 5,5	1.0 mmol L ⁻¹	(49)
CV/ VPD	Catequina	NTPU/ CTAB e GCE	Tampão Na ₂ HPO ₄ / NaH ₂ PO ₄ pH=7,0	0,11 nmol L ⁻¹	(50)
VPD	Rutina	NTPM	Tampão Na ₂ HPO ₄ / NaH ₂ PO ₄ pH=5,0	33,9 nmol L ⁻¹	(26)
SWV/ VC	Rutina	MWNTs/DD MIMPF ₆	Tampão C ₆ H ₈ O ₇ / KH ₂ PO ₄ / H ₃ BO ₃ / C ₈ H ₁₂ N ₂ O ₃ / HCl /NaOH pH=2,09	0,01 μmol L ⁻¹	(51)
CSV	Catequina	NTCs /Quitossana	C ₆ H ₈ O ₆ pH =7,0	10 mg L ⁻¹	(52)
VPD	Catequina	GCE / Poli- ácido aspártico	pH=6,8	72 nmol L ⁻¹	(53)
SWV	Catequina	NTCs / Beta- ciclodextrina	Tampão Na ₂ HPO ₄ / NaH ₂ PO ₄ / H ₃ BO ₃ /NaOH pH=7,4	1,35 mg mL ⁻¹	(54)

1.5.2 Determinação dos Íons Cr(III) e Cr(VI)

LUI, et al. ⁽⁵⁵⁾ produziram um eletrodo de carbono vítreo modificado com ouro ($\text{Au}_{\text{nano}}/\text{GCE}$) o qual foi empregado para determinação de traço de Cr(VI). O método utilizado foi voltametria de onda quadrada, tendo como limite de detecção de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo este valor muito menor quando presente um excesso de Cr (III) e se utiliza complexante DTPA (ácido dietilenotriaminopentaácético) ⁽⁵⁶⁻⁵⁹⁾. O método foi aplicado para determinar os níveis de Cr (VI) na água de torneira e água de esgoto.

SVANCARA, et al. ⁽²⁸⁾ apresentaram o uso de um eletrodo modificado de pasta de carbono para a detecção eletroquímica de Cr (VI) usando a técnica voltametria de pulso diferencial. O eletrodo foi modificado usando como complexantes sais de amônio quaternários – sendo um deles presente no colírio Septonex[®] ($\text{R}'\text{R}_3'\text{N}^+$), como apresenta na FIGURA 1.4. Sendo o eletrólito de suporte uma mistura de HCl e NaCl e foi obtido o limite de detecção de $5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de CrO_4^{2-} . Foram selecionados chás para que fossem detectados a presença do íon metálico e comparados os resultados obtidos por ICP-AES. Neste meio não é possível analisar o Cr(III) e quando foi adicionado a solução de Cr(VI) uma solução de iodeto, ocorrendo a redução de Cr(VI) a Cr(III) não pode-se mais detectar o sinal analítico de redução do complexo.

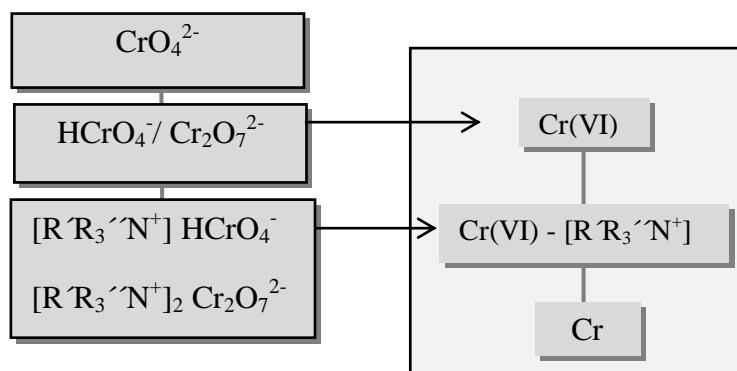


FIGURA 1.10 - Reações propostas para descrição do comportamento eletroquímico do Cr(VI) na presença do complexante presente no colírio Septonex® ⁽²⁸⁾

Os autores GEVORGYAN, et al. ⁽⁵⁶⁾ realizaram a determinação de microgramas de cromo pela técnica de voltametria de redissolução com um eletrodo de pasta de carbono modificado pré-depositando o próprio crômio. Seu procedimento foi aplicado à análise de diferentes amostras de águas e foi possível detectar concentrações de $9,6 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de Cr(VI).

Com o uso de eletrodos de carbono vítreo revestidos com bismuto, LIN, et al. ⁽⁵⁷⁾ realizaram a detecção de vestígios de Cr(VI) na presença de DTPA, usando o método voltametria de onda quadrada. Também foi verificado o efeitos dos interferentes Pb (II), Cd (II), Zn (II), Cu (II), Fe (III), Ni (II), e Co (II) e Cr (III) na presença de 5 nmol L⁻¹ de Cr (VI). O estudo foi realizado em amostras de água de rio.

Com o eletrodo de carbono modificado com filme de poli-L-histidina, BERGAMINI, et al. ⁽⁶⁰⁾ pôde aplicá-lo com sucesso para a determinação de Cr(VI). O trabalho apresentou o limite de detecção de 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ e o eletrodo foi empregado na análise de Cr (VI) em amostras de águas residuais de uma indústria de tingimento de couro.

No caso do trabalho de ZHU, et al. ⁽⁶¹⁾ foi desenvolvido um eletrodo de carbono vítreo sendo pré - eletrodepositado estanho, para a determinação simultânea de Cr(III) e Cd(II) pela técnica de voltametria

anódica de pulso diferencial . O eletrodo exibiu sinais separados e bem definidos para ambos os metais. Os LD foram de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cr (III) e $1,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ para Cd (II), sendo aplicado com sucesso para a determinação dos metais em água da torneira.

Um procedimento analítico para a determinação sequencial de Cu(II), Cr(VI), Tl(I), Pb(II), Sn(II), Sb(III) e Zn(II) pela técnica voltametria de redissolução anódica (ASV) nos alimentos e solos de plantações de cereais foi descrito por LOCATELLI ⁽⁶²⁾. O eletrólito de suporte foi citrato de amónio dibásico com pH 6,2 a 8,3, obtendo-se limites de detecção entre $0,011$ a $0,103 \mu\text{g g}^{-1}$.

Um método sensível para a determinação de Cr(VI) em soluções complexas, tais como o petróleo bruto e suas lamas, foram apresentados por SAFAVI, et al. ⁽⁶³⁾ tendo a redução de Cr (VI) na presença do complexo Cu-adenina. As melhores condições experimentais foram obtidas em pH 7,5, na presença de solução tampão de Britton-Robinson e o LD foi de $2 \mu\text{g L}^{-1}$. O método foi aplicado para a determinação de Cr(VI) na presença de níveis elevados de Cr(III), em diversas amostras reais, tais como petróleo bruto, lamas do tanque de petróleo bruto, água residual e água da torneira.

CHATZITHEODOROU, et al. ⁽⁶⁴⁾ relataram o uso de voltametria de redissolução adsortiva (AdSV) para a determinação traço de cromo com o eletrodo modificado com bismuto. Usando estas condições, o limite de detecção para Cr(III) foi de 100 ng L^{-1} . Finalmente, o método foi aplicado para a determinação de cromo em amostras reais, com resultados satisfatórios.

Na TABELA 1.2 encontra-se um resumo das condições experimentais de alguns trabalhos encontrados na literatura sobre a análise de Cr(VI) e Cr(III).

TABELA 1.5 - Condições experimentais utilizados para determinação de Cr(VI) e Cr(III).

Método	Analito	Eletrodo	Eletrólito	L.D	REF
SWV	Cr ⁶⁺	Au _{nano} /GCE	HNO ₃ /H ₂ SO ₄	0,01 µg L ⁻¹	(55)
DPCSV	Cr ⁶⁺	GCE	HCl/NaCl	0,5 nmol L ⁻¹	(28)
DPASV	Cr ⁶⁺	Cr/ GCE	LiNO ₃	0,4-0,5µg L ⁻¹	(56)
DPCSV	Cr ⁶⁺	Bi/HDME	H ₃ CCOOH / KNO ₃ / NaNO ₃ / DTPA	20 nmol L ⁻¹	(57)
VPD	Cr ⁶⁺	Poli-L- histidina/ SPCE	H ₃ CCOONa/ KCl/ HCl	2,4 µg L ⁻¹	(60)
DPASV	Cr ³⁺ e Cd ²⁺	Sn/ GCE	CH ₃ COOH/ CH ₃ COONa	2,0 e 1,1 µg L ⁻¹	(61)
ASV	Cu ²⁺ , Cr ⁶⁺ , Tl ⁺ , Pb ²⁺ , Sn ²⁺ , Sb ³⁺ , Zn ²⁺	HDME	(NH ₄) ₃ C ₆ H ₅ O ₇	0,011-0,103 µg g ⁻¹	(62)
ASV	Cr ⁶⁺	HDME	H ₃ BO ₃ /H ₃ PO ₄ / CH ₃ COOH / NaOH	2 mg L ⁻¹	(63)
AdSV	Cr ³⁺	Bi/CG	KCl	100 ng L ⁻¹	(64)

1.6 Objetivos do Trabalho

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver, construir e obter a caracterização física e química dos eletrodos de pasta de NTCs e avaliar a sua aplicação como sensores eletroquímicos na determinação de flavonoides em amostras de chá e de romã. Em outra etapa, esses eletrodos foram aplicados em determinações analíticas de interesse ambiental – como Cr(VI) e Cr(III).

CAPÍTULO 2

2. PARTE EXPERIMENTAL

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

2.1 Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados foram de grau analítico (P.A.) e usados sem pré-purificação. A água utilizada no preparo de soluções foi purificada por um sistema de osmose reversa marca Gehaka modelo OS20 LX FARMA.

As soluções tampões e as soluções estoques foram armazenadas na geladeira. Todos os frascos utilizados durante este trabalho, bem como toda a vidraria utilizada no preparo das soluções foram deixados em um banho de HNO_3 na concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ antes de serem utilizados. Este procedimento visa eliminar possíveis contaminações. Antes do uso todos os frascos e vidrarias foram lavados abundantemente com água deionizada.

Foram utilizados no preparo de eletrodos os nanotubos de carbono de paredes múltiplas com pureza em torno de 90%, procedentes de SUN NANOTECH Co Ltda. (Schenzhen, China) com diâmetros que variam de 20 a 40 nm.

2.1.1 Solução Ferricianeto de Potássio

Para a caracterização dos eletrodos de trabalho foi preparada uma solução de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (Merck) e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl (Merck) em 100 mL de água.

2.1.2 Eletrólitos de Suporte

Para os testes eletroquímicos da (+)catequina e rutina e nas análises das amostras de chá e romã foi utilizada uma solução tampão fosfato a pH 6,0, a qual foi obtida pela mistura de 100 ml de fosfato monobásico de potássio (Mallinckrodt) 1 mol L^{-1} com 0,40 g de fosfato de dibásico sódio (Merck).

Para os estudos dos íons Cr(VI) e Cr(III) foi utilizado como eletrólito de suporte um solução contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl (Merck) e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl (Merck). A essa mistura era adicionado $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ brometo de tetrabutilamônio (Aldrich). Alguns experimentos foram também realizados com soluções aquosas de brometo de tetrametilamônio e brometo de tetrapropilamônio em várias concentrações. Foi realizado um estudo com os eletrólitos de NaCl ou KCl na presença de HCl.

2.1.3 Solução Estoque de (+) Catequina e Rutina

Foi preparada uma solução estoque 1 mmol L^{-1} de (+)catequina (Aldrich) pela dissolução do composto orgânico em 10ml de etanol e em seguida transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água purificada.

A solução estoque de rutina (Aldrich) foi preparada repetindo-se o mesmo procedimento da (+) catequina, obtendo uma solução de concentração de 1mmol L^{-1} .

2.1.4 Solução Estoque de Cr(VI) e Cr(III)

Soluções estoque com concentração de 1000 mg L^{-1} de Cr(III), foram preparadas pela diluição de ampolas de “Tritisol” (MERCK) dissolvidos em água purificada, ácido nítrico ($0,5\text{ mol L}^{-1}$) e ácido clorídrico (4,2%), respectivamente. Para solução padrão de Cr(VI), 1000 mg L^{-1} , dissolveu-se $0,239\text{ g}$ de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Merck) em $100,0\text{ mL}$ de água purificada.

2.1.5 Preparo das Amostras Analisadas

As amostras de chás verde, preto e branco da espécie *Camellia sinensis* utilizadas neste trabalho, foram obtidas de amostras comerciais vendidas na forma de sachês. Os sachês eram abertos e misturados e em seguida a amostra era pesada (aproximadamente 1g cada amostra).

Para a análise eletroquímica as amostras eram preparadas dissolvendo $1,0\text{ g}$ das folhas desidratadas em 50 mL de etanol, deixando no aparelho de ultrassom, modelo MAXI Clean 1600 UNIQUE, por 20min . Alíquotas dessas amostras eram adicionadas a célula eletroquímica contendo tampão fosfato pH 6,0 para realização das voltametrias de pulso diferencial. Foi repetido o procedimento de preparação para as diferentes amostras de chá.

Para a fruta romã, a análise foi realizada nas folhas, frutas secas e cascas naturais utilizando-se o mesmo procedimento descrito para as amostras de chá. Também foi retirado o suco da fruta por maceração até

se obter 1,0 g do líquido extraído e repetido o procedimento adicionando 50ml de etanol e levado ao aparelho de ultrassom.

Todas as amostras analisadas foram preparadas em triplicatas partindo-se sempre da mesma matriz.

2.2 Equipamentos

Nas medidas eletroquímicas foi utilizado o equipamento potenciostato/galvonostato da AUTOLAB modelo PGSTAT 30 e controlado pelo software GPES 5.8.

As medidas espectrofotométricas foram feitas em um espectrofotômetro NIR Cary modelo 5G acoplado a um computador e controlado pelo software Cary Win UV tendo uma célula de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

Ambos os equipamentos estão disponíveis no Laboratório de Eletroquímica e Cerâmica da UFSCar. Podendo ser observados na FIGURA 2.1.

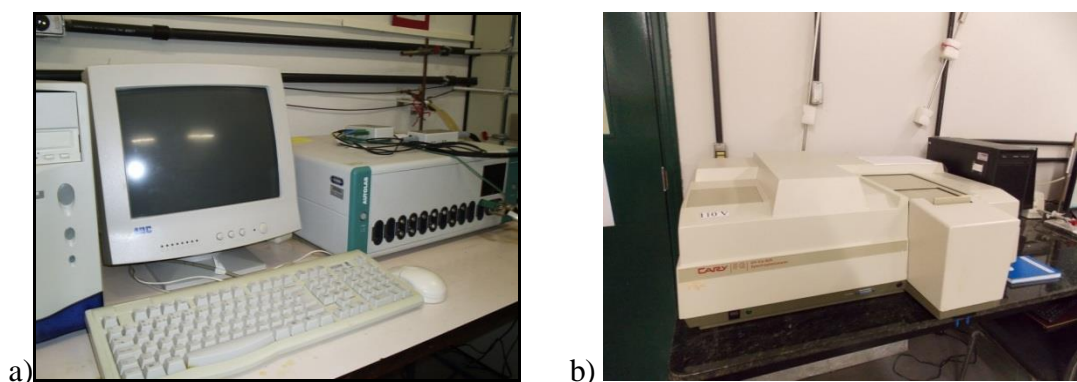


FIGURA 2.1 - Foto ilustrativa dos equipamentos utilizados: Potenciostato da Autolab mod. PGSTAT 30 (a) e espectrofotômetro UV-vis de duplo feixe, Cary Win UV (b).

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

2.3 Células e Eletrodos

Os ensaios foram realizados em uma célula eletroquímica, com tampa de PTFE com quatro entradas. A primeira foi usada para a entrada do borbulhamento de nitrogênio e as outras três entradas para os seguintes eletrodos: pasta de NTCs (eletrodo de trabalho), o eletrodo de Ag/AgCl em meio de KCl saturado (eletrodo de referência) e um espiral de Pt (contra eletrodo), como mostra a FIGURA 2.2:

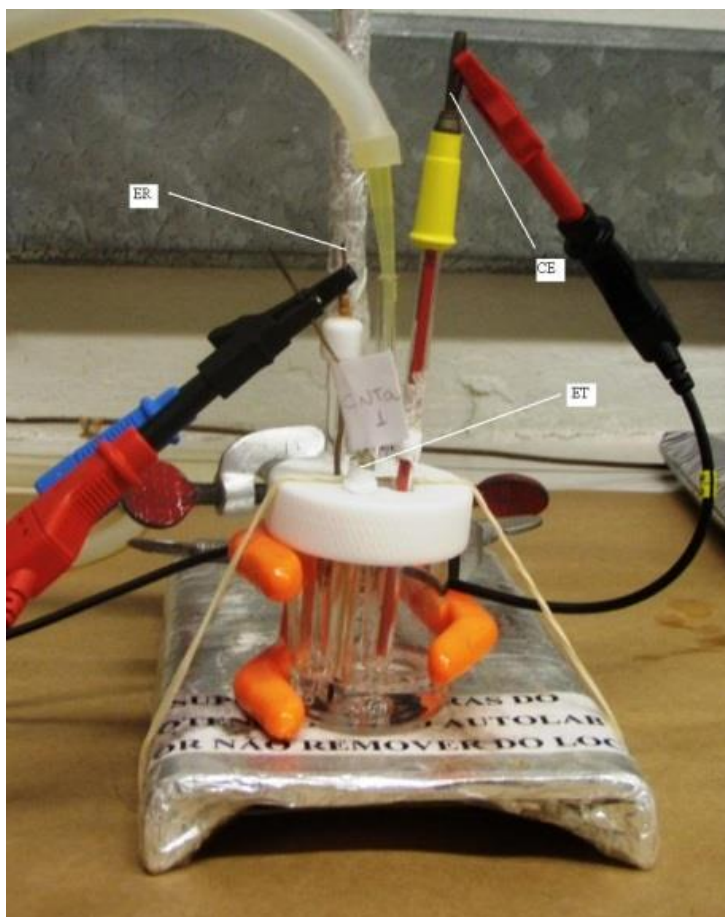


FIGURA 2.2 - Foto ilustrativa da célula eletroquímica utilizada: eletrodo de referência, ER (eletrodo de Ag/AgCl em meio de KCl saturado), eletrodo de trabalho, ET (pasta de CNTs) e contra eletrodo, CE (espiral de Pt) .

2.3.1 Confeção dos Eletrodos de Pasta de Carbono

Os eletrodos de pasta de NTCs foram construídos dentro de um tubo de vidro de diâmetro interno de 1,2 mm e externo de 8 mm. O eletrodo de pasta foi preparado pela mistura de nanotubos de carbono de paredes múltiplas com pureza em torno de 90% com diâmetro de 20 a 40 nm (SUN NANOTECH Co Ltda.) com o óleo mineral Nujol, sendo então homogeneizados com o auxílio de um almofariz e um pistilo de ágata. A mistura foi prensada na ponta do capilar de vidro e o contato elétrico realizado por meio de um fio de latão fixado dentro do capilar com auxílio

de cola de prata. A superfície exposta foi polida antes de serem iniciados os experimentos.

A pasta foi preparada com uma percentagem de 40-70 % de nanotubos de carbono e 60-30 % do óleo mineral Nujol, (conforme a TABELA 2.1).

TABELA 2.1 - Proporções em massa do óleo mineral Nujol e nanotubos de carbono utilizados para confecção dos eletrodos de trabalho

Eletrodo	Composição
1	60% Nujol+ 40% NTCs
2	50% Nujol+ 50% NTCs
3	40% Nujol+ 60% NTCs
4	30% Nujol+ 70% NTCs

2.3.2 Caracterização dos Eletrodos Construídos

A caracterização dos eletrodos foi realizada por voltametria cíclica em uma solução de ferricianeto de potássio $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. Este procedimento visa detectar possíveis erros na construção dos eletrodos como, infiltrações e mau contato elétrico com o fio condutor, além, é claro, de avaliar o seu perfil voltamétrico frente a um par redox bem conhecido na literatura.

2.4 Otimização das Condições Experimentais para a Técnica de Pulso Diferencial

No caso das determinações eletroquímicas realizou-se algumas medidas iniciais para analisar as condições necessárias para aplicação do método proposto como, pH, eletrólito de suporte, velocidade de varredura, amplitude de pulso, tempo de pré-concentração, etc. É importante ressaltar que todas as medidas foram realizadas em triplicatas, a fim de obter um valor médio para a variação de corrente gerada, ou seja, um mínimo de confiabilidade no método utilizado. Além do desvio padrão de cada medida, outros três fatores importantes para assegurar a confiabilidade do método serão avaliados: o limite de detecção (LD), o limite de quantificação (LQ) e o fator de recuperação (F_{rec}), os quais foram determinados segundo BRETT e BRETT⁽⁶⁵⁾ e as normas da IUPAC, segue as equações abaixo:

$$LD = \frac{3.DP}{B} \quad \text{EQUAÇÃO 2.1}$$

onde LD é limite de detecção, DP é o desvio de padrão do branco e B é o coeficiente angular da melhor reta ajustada da curva.

$$LQ = \frac{10.DP}{B} \quad \text{EQUAÇÃO 2.2}$$

onde LQ é limite de quantificação, DP é o desvio de padrão do branco e B é o coeficiente angular da melhor reta ajustada da curva.

$$F_{rec} = \left(\frac{A_r}{A_i} \right) . 100\% \quad \text{EQUAÇÃO 2.3}$$

Sendo que, F_{rec} é o fator de recuperação e os termos A_r e A_i são os valores de unidades do analito recuperadas e introduzidas, respectivamente.

2.5 Obtenções das Curvas Analíticas

A técnica utilizada para obtenção das curvas analíticas foi a voltametria de pulso diferencial (VPD) nas condições previamente otimizadas para cada tipo de amostra. As curvas analíticas foram obtidas por adições sucessivas do analito. A cada série de medidas realizadas foram modificados as soluções nas células e os eletrodos de trabalho.

As curvas analíticas para cada analito, rutina, (+)catequina, Cr(VI) e Cr(III), bem como a mistura destes analitos foram obtidas utilizando o eletrodo de pasta de NTCs a 60% (m/m) e nas condições otimizadas anteriormente para a VPD.

Inicialmente, 10 mL do eletrólito de suporte foi adicionado à célula eletroquímica e adições sucessivas da solução estoque do analito foram feitas com auxílio de micropipetas (Eppendorff) de volume regulável. A partir dos voltamogramas de pulso diferencial medidos em cada adição, determinou-se a corrente de pico e uma curva analítica de corrente em função da concentração do analito foi obtida.

2.6 Determinação de (+) Catequina e Rutina em Amostras de Chás e Romã

Para determinação de catequina e rutina em amostras de chás e na fruta de romã foram realizadas curvas de adição padrão usando a técnica VPD.

As medidas de VPD foram realizadas adicionando-se 50 μ l do analito a 10 mL da solução tampão fosfato a pH 6,0. Após a adição do

analito e obtenção do voltamograma, foram realizados três adições de solução padrão de (+) catequina, ou de rutina.

A partir de três voltamogramas de pulso diferencial para cada adição de solução padrão, obteve-se a média das correntes de pico obtidos. Assim, obteve-se um gráfico de concentração do analito em função da média das correntes de pico (i_{pa}). Alcançando a equação da reta, obteve-se as concentrações dos analitos nas amostras de chá e da fruta romã.

Para comparação de resultados obtidos pela técnica de VPD também foi realizada a análise das mesmas amostras utilizando a técnica espectrofotometria de UV-vis através do método de adição padrão. Nestas análises foram realizadas adições das amostras a uma cubeta contendo 3,0 mL de tampão fosfato a pH 6,0. Após esta etapa foram realizadas três adições sucessivas da solução padrão de (+) catequina ou rutina.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão abordados todos os resultados experimentais tais como: caracterização dos NTCs e dos eletrodos de pasta de NTCs, otimização das condições de análise dos flavonoides por DPV, quantificação dos compostos orgânicos em diferentes amostras de chá e análise dos íons cromo. Também serão apresentadas algumas experiências que não levaram a resultados positivos para as análises propostas neste trabalho.

3.1 Caracterização e Avaliação das Pastas de NTCs

Os nanotubos de carbono podem ter diferentes características, como discutido na introdução desta dissertação, e a resposta eletroquímica deste material é dependente destas características. Desse modo, procurou-se fazer uma caracterização física dos NTCs na forma de pó e dos eletrodos de pasta de NTCs, antes de iniciar as medidas eletroanalíticas.

Considerando que o modo de preparo do material eletródico é um parâmetro crítico na obtenção de resposta voltamétrica, decidiu-se avaliar a resposta de diferentes proporções de pastas de NTCs e Nujol e, para isso, foi estudado o comportamento eletroquímico destas pastas na presença do par redox ferro/ ferricianeto como no trabalho de MORAES et al. ⁽⁶⁷⁾.

3.1.1 Caracterização Microscópica dos NTCs

Inicialmente foram realizadas medidas MEV-FEG dos NTCs como recebidos para avaliar o diâmetro e comprimento deste material. Na FIGURA 3.1 são apresentadas as micrografias dos NTCs dispersos em acetona em diferentes ampliações. É possível observar que o diâmetro dos tubos varia entre 20 e 30 nm e têm comprimento de alguns micrometros, como especificado pelo fabricante. Nesta figura também pode-se observar a uniformidade do material que é praticamente todo na forma de tubos o que indica que provavelmente há pouco carbono amorfo.

A pasta de NTCs preparadas segundo descrito no item 2.3.1 também foi caracterizada por MEV após o preparo dos eletrodos. Para tanto, foi realizado um corte na parte inferior do eletrodo de cerca de 5 mm e colado no suporte de alumínio para a análise micrográfica. As imagens obtidas são apresentadas na FIGURA 3.2.

As imagens da FIGURA 3.2 mostram uma uniformidade do material e que os NTCs estão homogeneamente distribuídos o que demonstra uma boa preparação do eletrodo de pasta. Em um maior aumento é possível observar que a estrutura dos NTCs não foi danificada no processo de maceração e ainda que o diâmetro médio dos tubos aumentou e isto sugere que a superfície do NTCs foram remanejadas com a presença do aglutinante utilizado (Nujol).

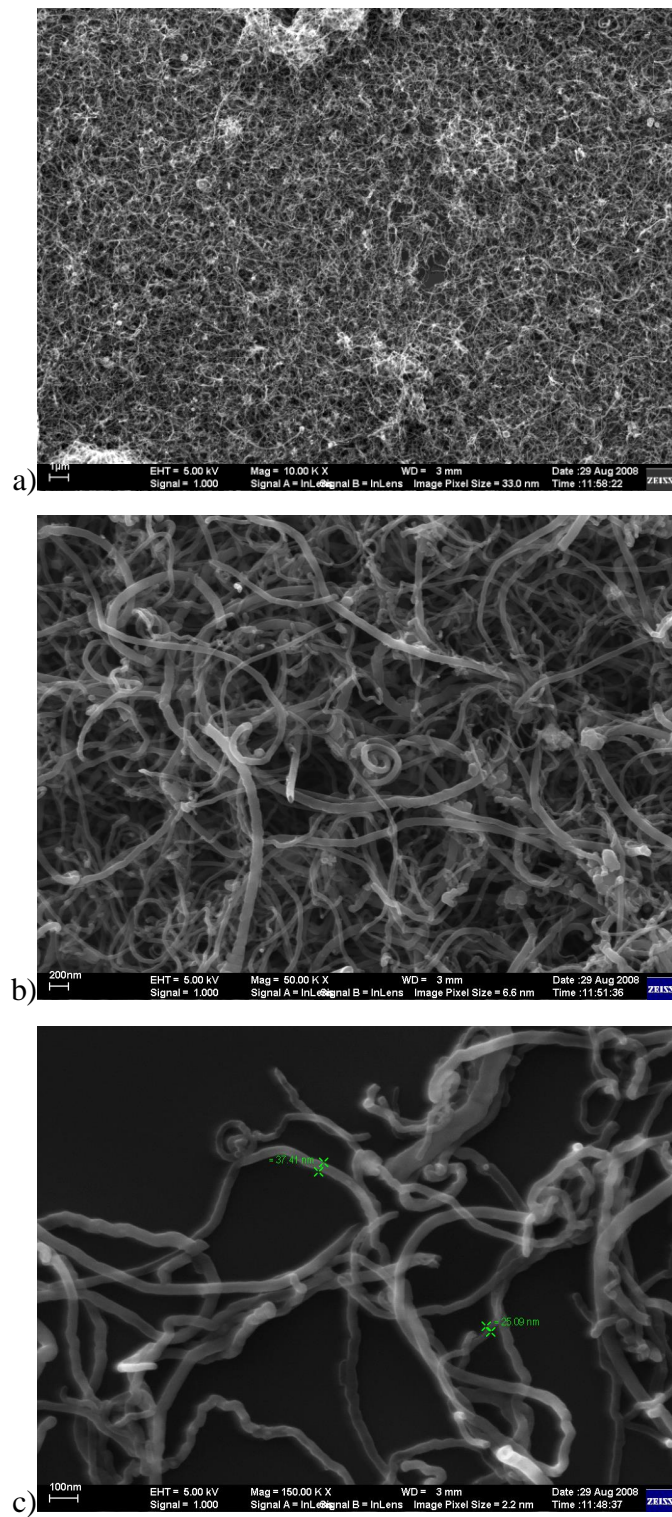


FIGURA 3.1 - Micrografia dos eletrodos de NTCs em pó a 60% (m/m) nas escalas de a) 1 μm , b) 200nm e c) 100nm

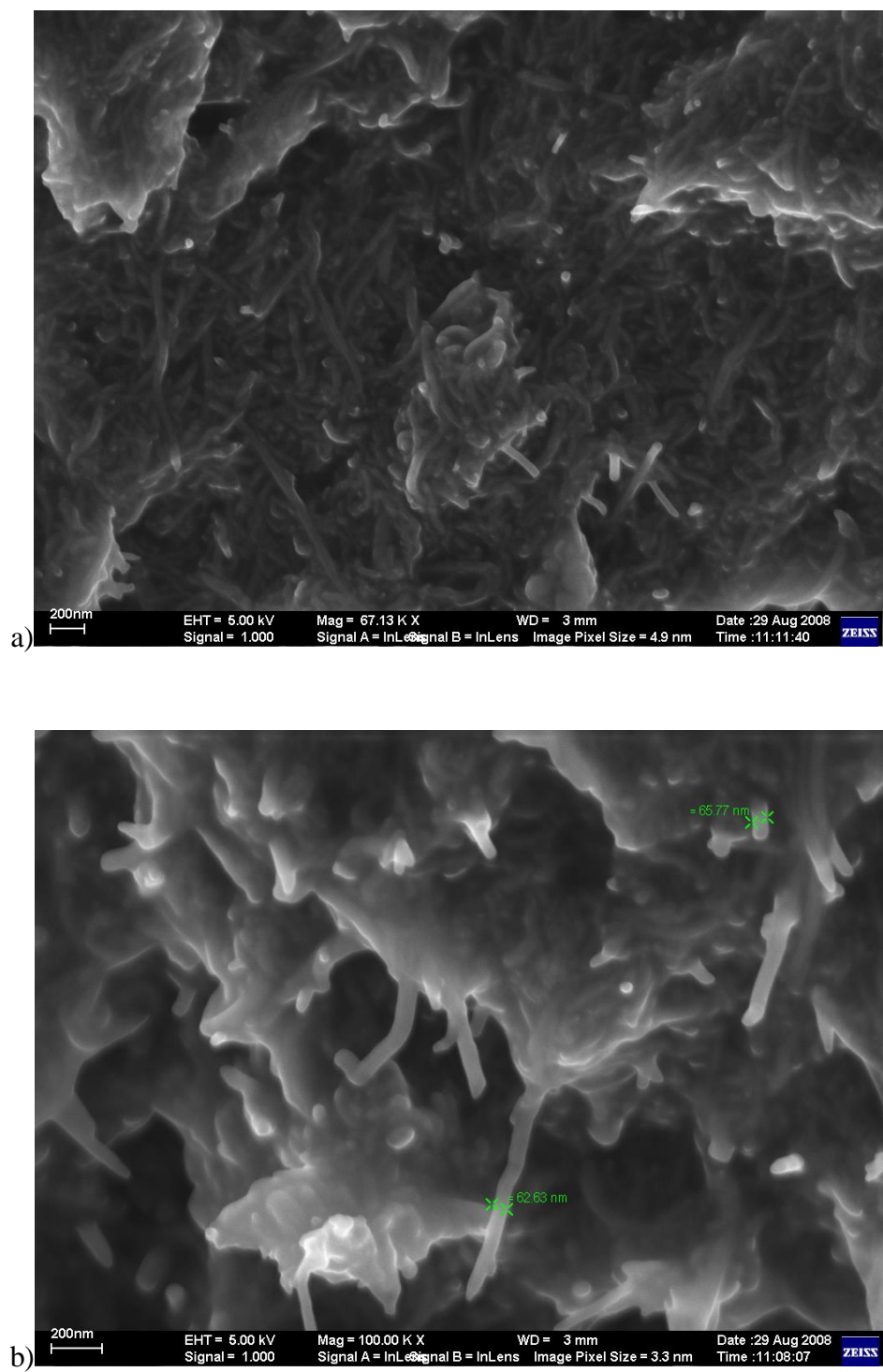


FIGURA 3.2 - Micrografia dos eletrodos de pasta de NTCs com 60% (m/m) em diferentes aumentos.

3.1.2 Influência da Composição da Pasta de NTCs na Resposta Eletroquímica dos Eletrodos

A composição da pasta de carbono é um fator importante na resposta eletroquímica e, portanto, na aplicação deste tipo de sensor. Desse modo, foram preparados eletrodos de pasta de NTCs com diferentes composições e avaliado o comportamento voltamétrico para o par redox ferri/ferrocianeto de potássio. Nestes experimentos foram utilizadas as composições de 0 a 70% m/m de NTCs e 60 a 30% de nujol, tendo sido avaliado quatro diferentes eletrodos. Outras composições não foram estudadas porque não foi possível preparar a pasta com uma resistência mecânica adequada.

Os eletrodos de pasta de NTCs preparados em diferentes composições foram avaliados por voltametria cíclica em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e as curvas obtidas estão representadas na FIGURA 3.3. A reação ferro/ferri neste estudo foi usada apenas para comparação entre a diferentes composições de pastas de NTCs.

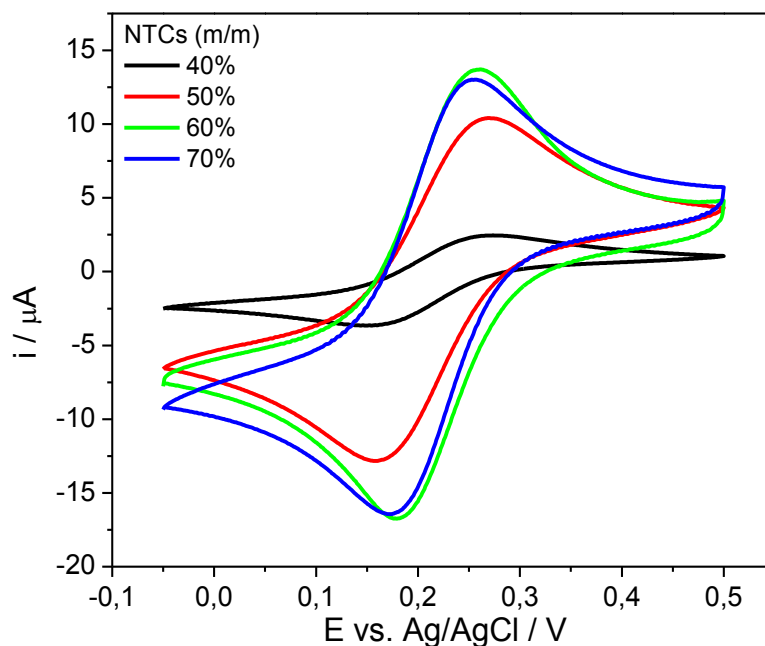


FIGURA 3.3 - Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodo de pasta de NTCs em diferentes proporções, usando uma solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] = 5 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

Observa-se na FIGURA 3.3 que para todas as composições avaliadas, os eletrodos de pasta de NTCs têm um comportamento típico do par redox ferro/ferri. Uma maior corrente de pico e uma menor separação entre os potenciais do pico catódico e anódico foram observados para os eletrodos com 60 e 70 % m/m de NTCs.

Estes parâmetros são importantes para a aplicação destes eletrodos em reações redox, por exemplo, pois melhora a sensibilidade e indica que a reação de transferência de carga é mais rápida. Como não houve diferença significativa entre estas duas composições, a de 60% m/m de NTCs foi escolhida por ter melhor trabalhabilidade e resistência mecânica ao polimento.

3.2. Desempenho do Eletrodo de Pasta NTCs na Determinação Compostos Orgânicos

3.2.1. Determinação de (+) Catequina

O eletrodo de pasta NTCs 60% (m/m) foi testado empregando a técnica de Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) para investigar a oxidação do composto orgânico (+) catequina. Antes das análises, foi realizado a otimização das condições experimentais, tais como: pH do tampão fosfato, amplitude de pulso (A), velocidade de varredura e tempo de pré-polarização.

Na FIGURA 3.4 são apresentadas as curvas obtidas em diferentes pHs com $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de (+) catequina na solução tampão fosfato, na amplitude de pulso de 100 mV e velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} . É possível observar um pico de oxidação que varia com o pH, tanto em intensidade quanto no seu potencial. Este processo pode estar associado à oxidação de 3'4' dihidróxi substituído no anel B como dado na FIGURA 1.7. Neste eletrólito a corrente de pico para a oxidação de (+) catequina é maior em pH 6,0, sendo possível concluir que ocorre uma oxidação do composto orgânico, sendo portanto este escolhido para os demais experimentos.

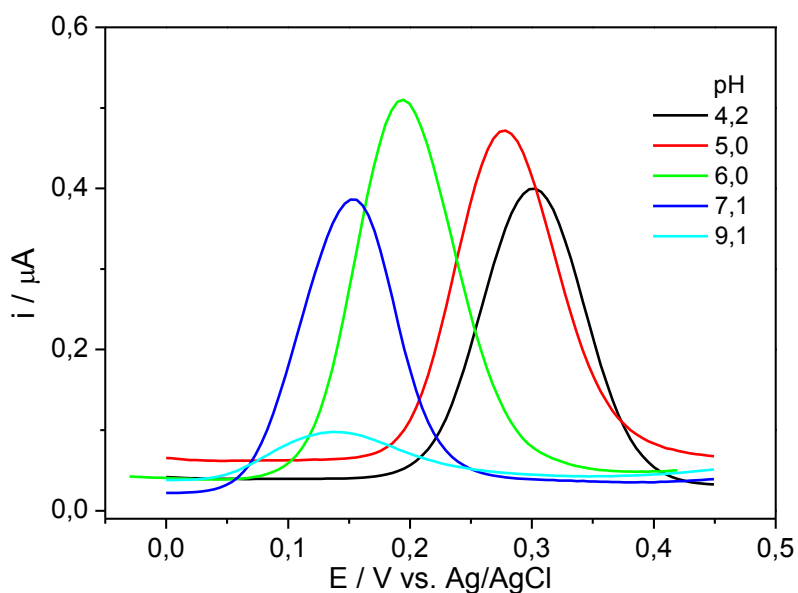


FIGURA 3.4 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes pHs para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

O efeito da amplitude de pulso (A) sobre a resposta do eletrodo foi avaliado utilizando uma solução com $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de (+) catequina na solução tampão fosfato pH 6,0, variando as amplitudes de pulso de 10 a 100 mV, na velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} . As curvas obtidas são apresentadas na FIGURA 3.5. Observa-se para todas as amplitudes estudadas que o pico de oxidação da catequina se desloca para valores menos positivos quando se aumenta a amplitude de pulso. Como na amplitude de pulso de 100 mV tem-se uma maior sensibilidade, aliada a um perfil voltamétrico melhor definido e um menor potencial de oxidação, esta foi escolhida para a realização de todas as análises realizadas posteriormente.

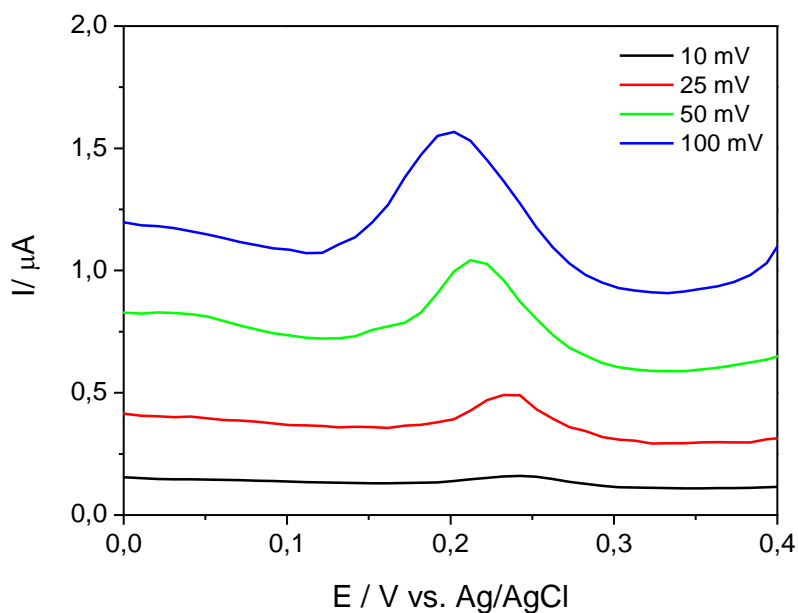


FIGURA 3.5 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato pH 6,0 e $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Também foi estudada a influência do tempo de pré - polarização do eletrodo, no potencial inicial de 100mV, na forma e na corrente de pico obtida nas curvas de VPD. As curvas obtidas são dadas na FIGURA 3.6 e conclui-se que não há um influencia significativa do tempo de pré - concentração na resposta do eletrodo e o tempo de 20 s, apenas para estabilizar a corrente inicial, foi escolhido para as análises posteriores:

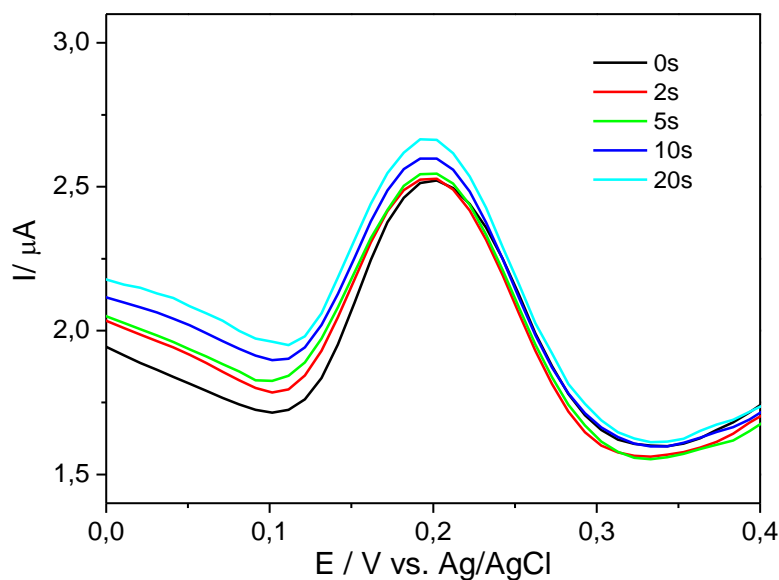


FIGURA 3.6 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes tempos de pré-polarização para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato pH 6,0 e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Também desenvolveu-se um estudo variando-se a velocidade de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} a fim de avaliar o efeito deste parâmetro sobre a resposta do eletrodo de pasta de NTCs, como mostra a FIGURA 3.7. Devido a fortes distorções observadas nos picos de correntes para velocidades de varredura superiores a 50 mV s^{-1} , optou-se por utilizar a velocidade de 20 mV s^{-1} nos demais experimentos.

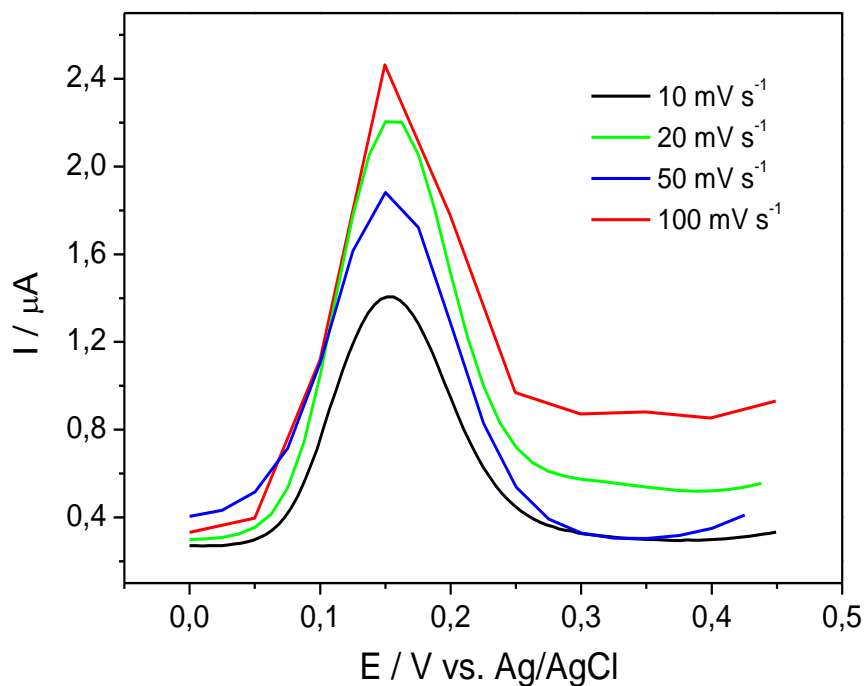


FIGURA 3.7 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes velocidades de varredura para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de (+) catequina em tampão fosfato pH 6,0.

A TABELA 3.1 apresenta os parâmetros e os valores escolhidos para serem obtidas as curvas analíticas da (+) catequina.

TABELA 3.1 - Parâmetros e intervalos escolhidos para a análise do (+)catequina por VPD.

Parâmetros	Intervalo	Valor escolhido
pH	4,2-9,1	6,0
A / mV	10-100	100
v / mV s ⁻¹	5-100	20
t _d / s	0-20	20

Para observar a repetibilidade da resposta do eletrodo em VPD, foi realizado um estudo no qual se mediram as correntes de pico para solução de (+) catequina $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 6,0, em dez replicatas. Os resultados obtidos apresentaram $0,53 \mu\text{A}$ e desvio padrão de $0,008 \mu\text{A}$. Com base nestes resultados, conclui-se que o eletrodo de pasta de NTCs apresenta repetibilidade adequada para a quantificação de (+) catequina por DPV.

Após otimização das condições experimentais da VPD na presença de (+) catequina, foi obtida uma curva analítica para o sistema, adicionando diferentes concentrações de catequina em tampão fosfato pH 6,0. Na FIGURA 3.8 são apresentadas as curvas de VPD e a curva analítica referente à corrente máxima do pico de oxidação vs. concentração de (+) catequina.

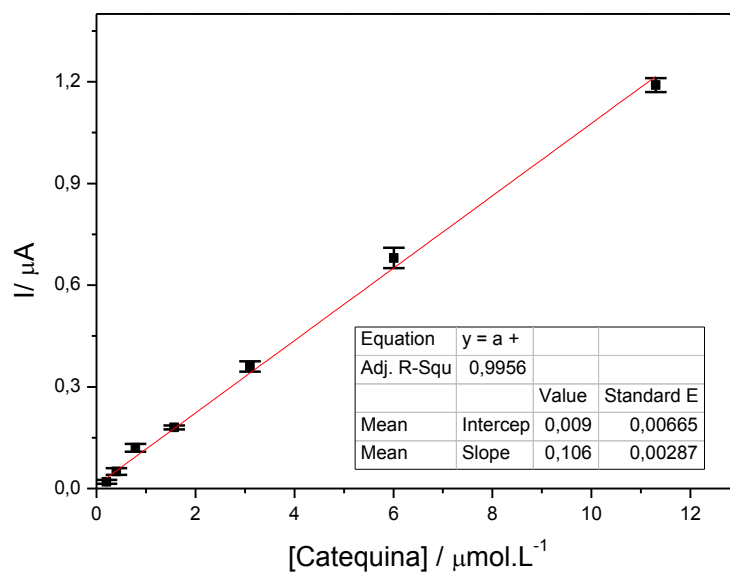
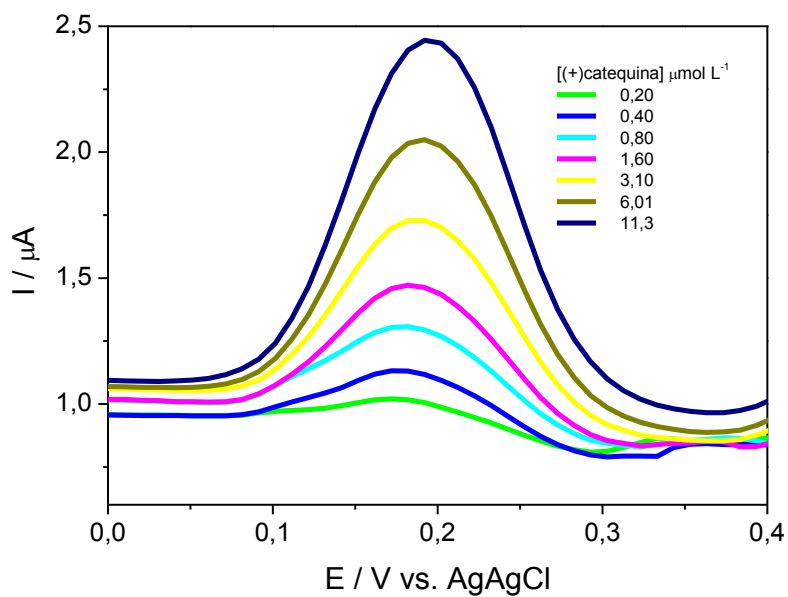


FIGURA 3.8 – Voltamogramas de pulso diferencial (a) e curva analítica (b) obtidas para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de (+) catequina, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

Na FIGURA 3.8 observa-se que há uma relação linear entre a corrente e pico e a concentração (+) catequina e a reta obtida obedece a equação $I/A = 0,9 \times 10^{-8} [(+) \text{ catequina}] \text{ mol L}^{-1} + 0,106 (A/ \text{ mol L}^{-1})$, com $R^2 = 0,996$ ($n=7$) no intervalo de concentração da (+) catequina de 0,20 a 11,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O LD e LQ foram de 5,4 e 17,3 $\times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente e o fator de recuperação foi de $95,2 \pm 5,7\%$. O valor de LD obtido juntamente com os dados da literatura são apresentados na TABELA 3.2, onde se observa que o valor obtido neste trabalho está entre os mais baixos observados na literatura.

TABELA 3.2- Comparação dos resultados obtidos pela técnica VPD e dados da literatura de (+) catequina.

	VPD	Literatura ^(49-50, 52-54)
LD	5,4 $\times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	1,1 $\times 10^{-8}$ - 1,0 $\times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

Considerando que o método padrão para a determinação de flavonoides nas amostras de chá é o de espectrofotometria de UV-vis, procurou-se obter uma curva analítica por este método nas mesmas condições experimentais da VPD. A FIGURA 3.9 apresenta os resultados obtidos onde se vê um pico de absorção em 275 nm, o qual não apresenta uma boa correlação entre os valores de absorbância e a concentração da (+) catequina para o intervalo estudado. Os valores de absorbância só começam a ter um valor significativo acima 3,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, abaixo deste valor a sensibilidade é baixa e a linha de base é difícil de definir. Desse modo, não foi possível obter uma curva analítica neste caso.

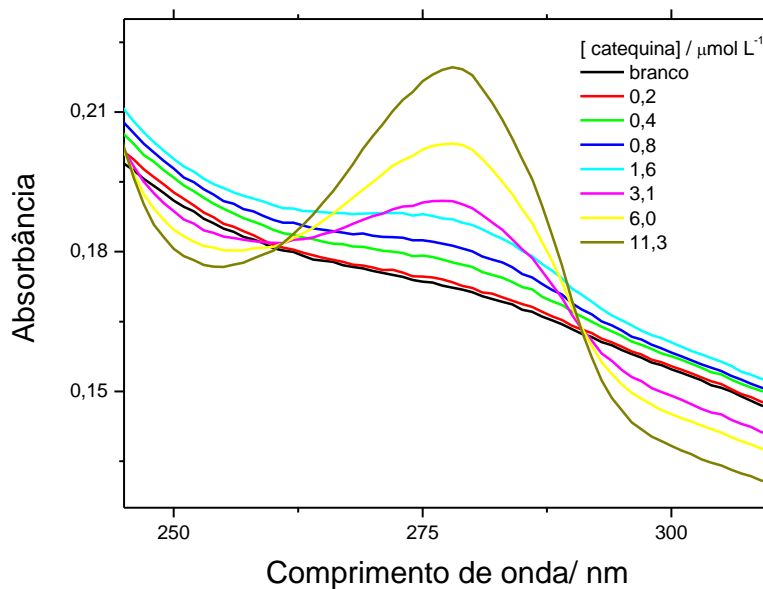


FIGURA 3.9 - Curvas de absorvância obtidas de (+) catequina em solução de tampão fosfato a pH 6,0, contendo diferentes concentrações.

3.2.2. Determinação da Rutina

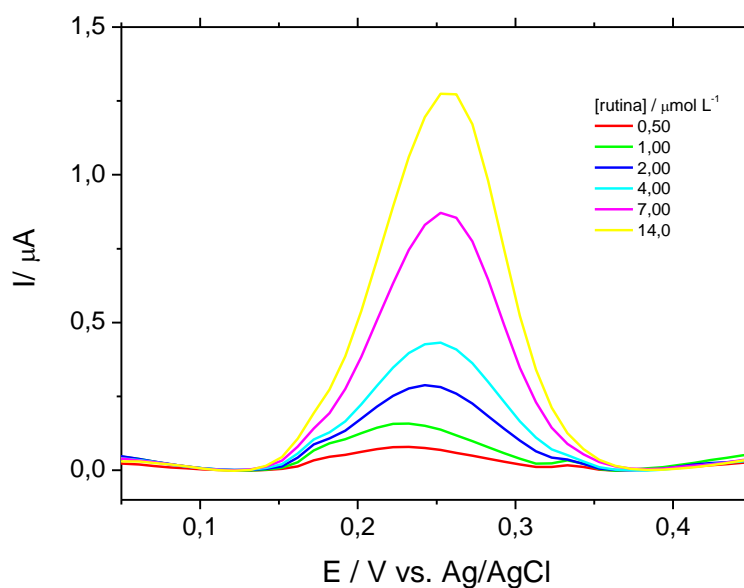
O eletrodo de pasta NTCs 60% (m/m) foi testado empregando a técnica de VPD para investigar a oxidação da rutina. Os mesmos experimentos anteriores para otimização das análises da (+) catequina foram realizados também para a rutina e a TABELA 3.3 tem um resumo dos parâmetros estudados e os valores escolhidos .

TABELA 3.3 - Parâmetros e intervalos escolhidos para a análise da rutina por VPD.

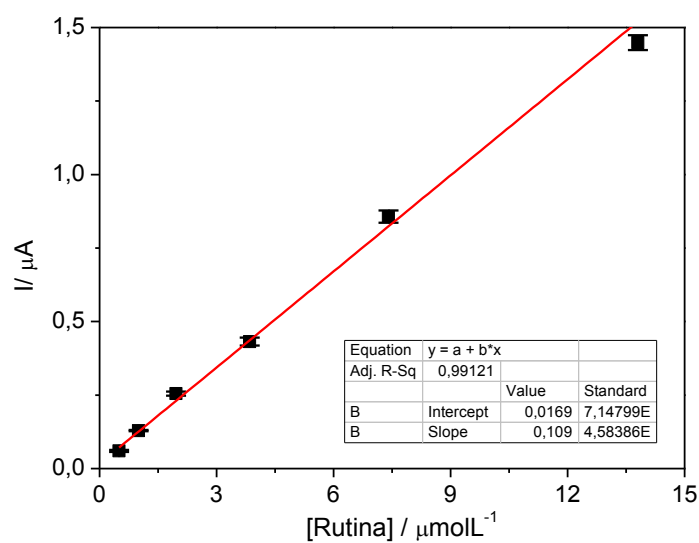
Parâmetros	Intervalo	Valor escolhido
pH	4,2 - 9,1	6,0
A /mV	5-100	100
v / mV s ⁻¹	5-100	20
t _d / s	0-20	20

O mesmo procedimento adotada para a (+) catequina foi adotado para avaliar a repetibilidade do eletrodo frente a rutina e a conclusão foi que este apresentava uma boa repetibilidade e poderia ser empregado para a quantificação de rutina por VPD.

Após otimizar as condições experimentais da rutina, foi efetivado uma curva analítica para o sistema, adicionando diferentes concentrações de rutina em tampão fosfato pH 6,0. A FIGURA 3.10 apresenta os resultados obtidos e observa-se uma que há uma relação linear entre a corrente e pico e a concentração rutina e a reta obtida obedece a equação $I/A = 1,7 \times 10^{-8} [\text{rutina}] \text{ mol L}^{-1} + 0,109 (\text{A/ mol L}^{-1})$, com $R^2 = 0,991$ ($n=6$) no intervalo de concentração da rutina de 0,20 a 11,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com LD de $9,37 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. O LD e LQ foram de 4,7 e 15,6 $\times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente e, o fator de recuperação foi de $101,3 \pm 4,8\%$. O valor de LD foi comparado com os dados da literatura e o valor obtido neste trabalho está entre os mais baixos observados na literatura^(26,49,51).



a)



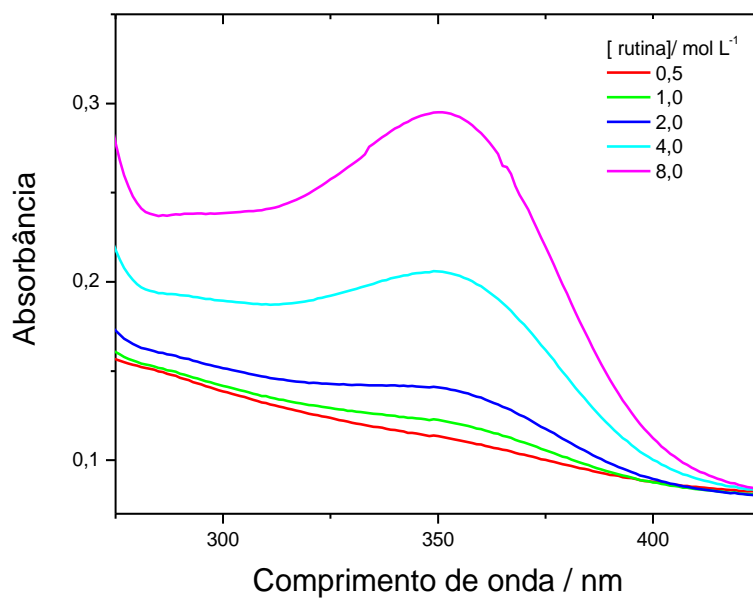
b)

FIGURA 3.10 – Voltamogramas de pulso diferencial (a) e curva analítica (b) obtidas para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de rutina com $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

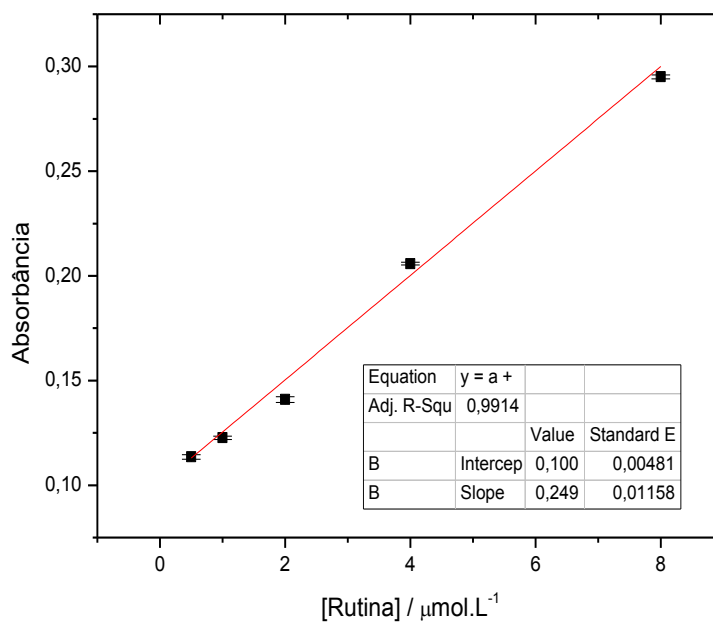
Como para (+) catequina, também foi realizada uma curva analítica para a rutina nas mesmas condições experimentais da FIGURA 3.10 no espectrômetro de absorção UV-vis. A FIGURA 3.11 apresenta os resultados obtidos e pode-se observar neste caso dois picos de absorção, em

250 e 350 nm, característicos da rutina⁽⁶⁴⁾. Neste caso, uma variação mais significativa da absorbância foi observada o que permitiu a obtenção de uma curva analítica a partir dos dados de absorbância em 350 nm, que obedeceu a equação $Abs = 0,10 + 0,249 (abs/\mu mol L^{-1})$ com $R^2 = 0,991$.

A TABELA 3.4 apresenta uma comparação dos resultados obtidos pelas duas técnicas realizadas e conclui-se que pela técnica de VPD se tem um menor LD para a rutina e os valores obtidos pelas duas técnicas estão dentro do intervalo de valores observados na literatura como mostra a TABELA 3.5.



a)



b)

FIGURA 3.11 – Absorbância (a) e curva analítica (b) obtidas para solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de rutina.

TABELA 3.4- Comparação dos resultados obtidos nas técnicas de DPV e UV-vis da Rutina.

	VPD	UV-Vis
Equação	$I/A = 0,17 \times 10^{-8} + 0,11$ (A/ mol L ⁻¹)	Abs = 0,10 + 0,25 (abs/ μmol L ⁻¹)
R	0,991	0,991
LD	$9,37 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹	$3,12 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹
LQ	$31,23 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹	$10,318 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹

TABELA 3.5 - Comparação dos resultados obtidos na técnica VDP e dados da literatura de (+) catequina.

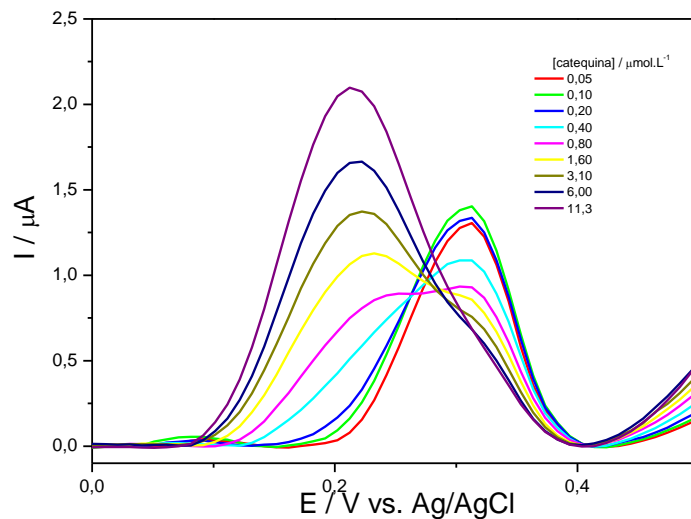
	VPD	Literatura ^(26,49,51)
LD	$9,37 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹	$3,39 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹ - $1,09 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹

3.2.3. Análise da Mistura de (+) Catequina e Rutina

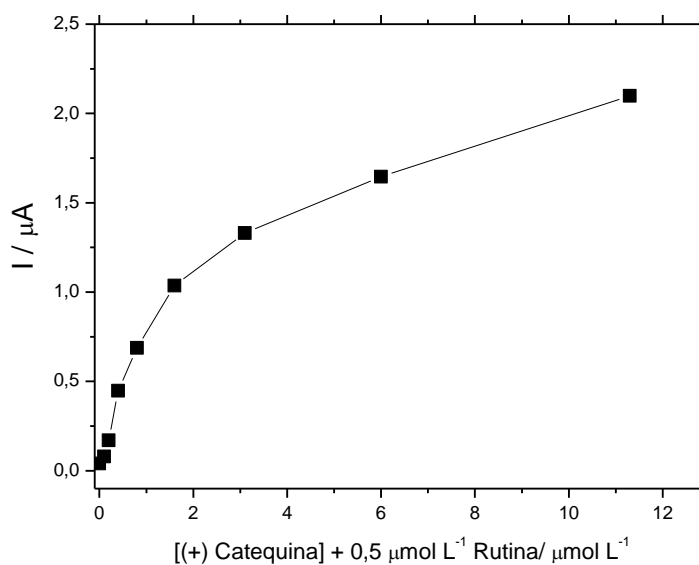
3.2.3.1. Variação de Catequina na Presença de Concentração Fixa da Rutina

Com o objetivo de verificar se o eletrodo de pasta de NTCs teria seletividade para identificar e quantificar (+) catequina na presença de rutina, alguns experimentos foram realizados para a mistura dos dois compostos orgânicos. Foram adicionados diferentes concentrações de (+) catequina em presença de tampão fosfato pH 6,0 e 0,5 μmol L⁻¹ de rutina. A FIGURA 3.12 apresenta os voltamogramas obtidos sendo possível

observar dois picos anódicos em 0,20 e 0,30 V, característicos da oxidação da (+) catequina e da rutina, respectivamente.



a)



b)

FIGURA 3.12 - Voltamogramas de pulso diferencial (a), e curva analítica (b) obtidas para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de (+) catequina e concentração fixa de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de rutina, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

Na FIGURA 3.12 observa-se que a corrente de pico referente à oxidação da rutina não varia, como era esperado, uma vez que sua concentração é fixa e em concentrações elevadas de catequina, não mede-se mais a rutina. A corrente referente à oxidação da catequina aumenta com a concentração, mas um pico bem definido só pode ser observado a partir $0,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, ou seja, quando a concentração é maior que a da rutina. A representação da curva analítica apresentou duas regiões, sendo uma inicial com maior sensibilidade e uma segunda com baixa sensibilidade.

Na primeira região da curva analítica a variação da corrente é mais significativa devido à influência da rutina. A segunda região onde a concentração da rutina é baixa em relação à (+) catequina apresenta praticamente um comportamento linear. Por estes resultados, pode-se concluir que é possível detectar seletivamente (+) catequina na presença de rutina, mas a quantificação só seria possível se a concentração da primeira for muito maior que a da segunda.

3.2.3.2. Variação de Rutina na Presença de Concentração Fixa de (+) Catequina

O mesmo procedimento anterior foi realizado: agora, mantendo a concentração de (+) catequina fixa e variando a de rutina. A FIGURA 3.13 apresenta os resultados obtidos e neste caso, o comportamento é distinto do anterior e não se têm os dois picos bem definidos e separados. Também não se observou uma corrente de pico constante referente a (+) catequina. Pode-se concluir que não é possível detectar seletivamente a rutina na presença de (+) catequina utilizando eletrodos de pasta de NTCs, pois ocorre a interferência e sobreposição dos picos de oxidação.

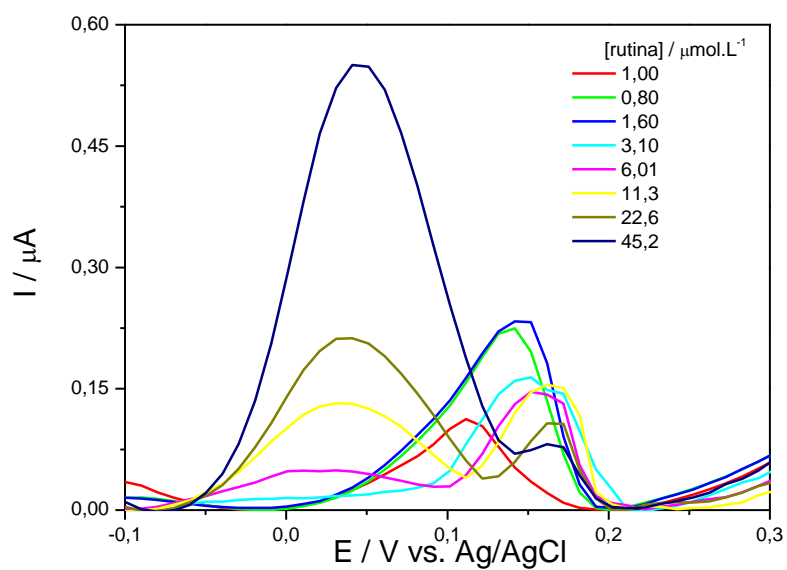


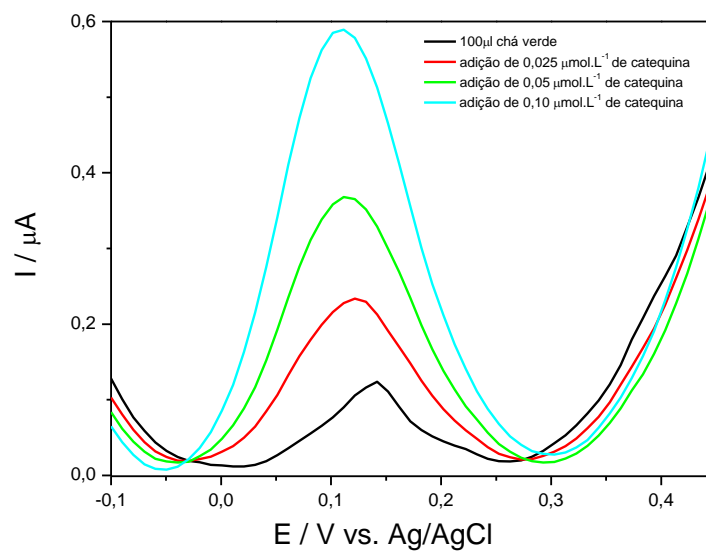
FIGURA 3.13 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de tampão fosfato pH 6,0, contendo diferentes concentrações de rutina e concentração fixa de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de (+) catequina, $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

3.2.4. Determinação de (+) Catequina e Rutina em Amostras de Chás e na fruta Romã

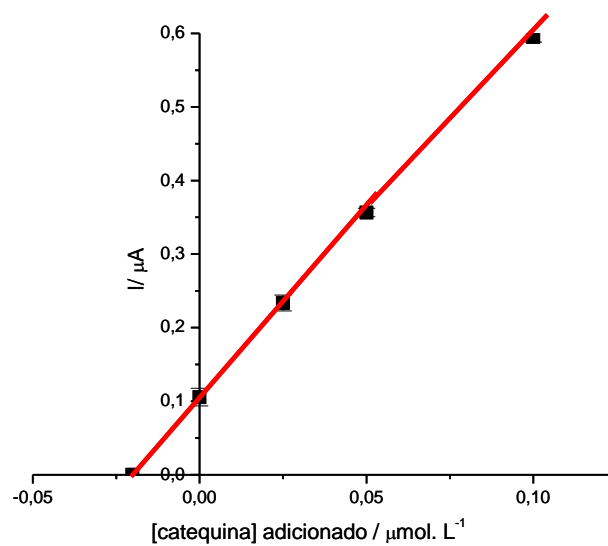
Após os estudos descritos acima e vendo a viabilidade de se utilizar os eletrodos de pasta de NTCs na análise de rutina ou (+) catequina pela técnica de VPD, este método foi utilizado na determinação destas espécies em diferentes amostras de chás verde, preto e branco e na fruta romã. Para isto foi utilizado o método de adição padrão tanto de rutina como (+) catequina. Como estas amostras contêm diferentes espécies de flavonoides, conforme descrito na introdução desta dissertação, foi utilizado tanto na adição de (+) catequina como rutina. Com esse procedimento, espera-se quantificar o conteúdo e flavonóides total e analisar a diferença nos conteúdos analisados adicionando padrões diferentes.

Nestas análises foram utilizadas as condições previamente otimizadas para a VPD e foram realizadas três adições sucessivas da solução estoque de (+) catequina em solução tampão fosfato pH 6,0 contendo a amostra de chá preparado conforme descrito na parte experimental. Para a rutina também foram realizadas três adições sucessivas de rutina em solução tampão fosfato pH 6,0. A curva de adição padrão foi obtida em triplicata.

Na FIGURAS 3.14 e 3.15 são apresentados as curvas obtidas para as amostra de chás e, FIGURA 3.16 estão apresentados as curvas analíticas da fruta romã, todas com a adição de solução padrão de catequina. Esse método foi realizado do mesmo modo em todas as amostras dos analitos com a adição de solução padrão de rutina.



a)



b)

FIGURA 3.14 - Voltamogramas de pulso diferencial (a) e curva da adição de padrão (b) de (+) catequina para amostra de chá verde usando o eletrodo de pasta de NTCs, com $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

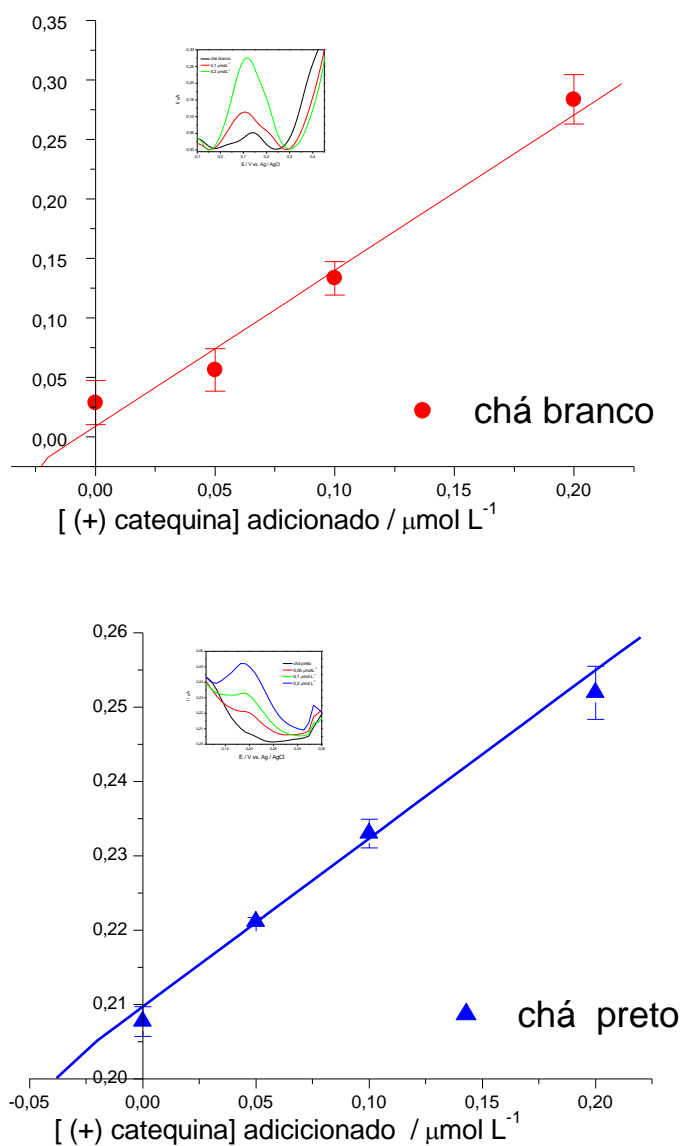


FIGURA 3.15 - Voltamogramas de pulso diferencial de (+) catequina para amostra de chá branco e preto usando o eletrodo de pasta de NTCs, com $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

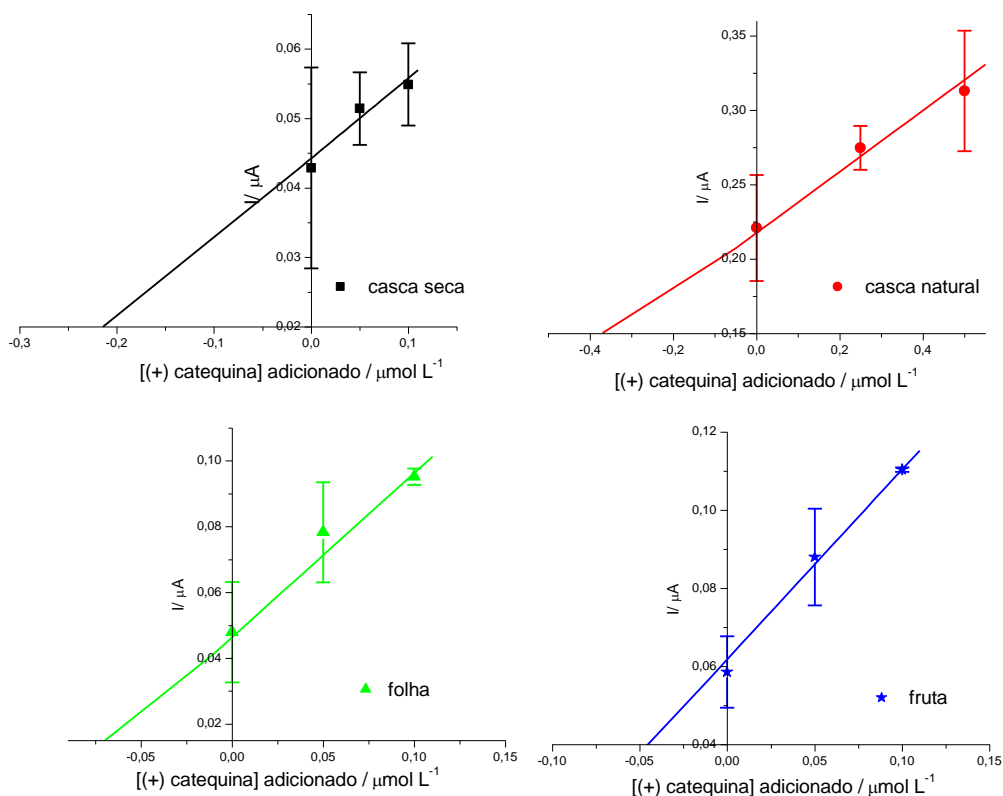


FIGURA 3.16 - Curva da adição de padrão de (+) catequina em amostras da fruta romã usando o eletrodo de pasta de NTCs em voltametria de pulso diferencial com $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 100 \text{ mV}$.

Esses métodos foram repetidos para todas as demais amostras de tipos de chá, sendo para cada amostra feita a medida em triplicata e comparado com os dados obtidos por UV-vis para rotina, pois apenas este composto pode ser analisado por UV-vis e os resultados são apresentados nas TABELAS 3.6 e 3.7.

TABELA 3.6 - Resultados obtidos com adição de padrão dos flavonoides em amostras de chás usando técnicas de VPD e UV-vis.

Métodos	UV- visível	VPD		F _{rec}
Chás	[Rutina]/ μmol L ⁻¹	[(+) Catequina]/ μmol L ⁻¹	[Rutina]/ μmol L ⁻¹	[Rutina]/ %
verde	77,1 ± 4,9	40,4 ± 2,1	71,8 ± 5,3	93,1
preto	17,8 ± 1,1	21,2 ± 1,9	17,5 ± 2,5	98,3
branco	45,0 ± 2,0	190,8 ± 5,8	44,8 ± 3,2	99,6

TABELA 3.7 - Resultados obtidos com adição de padrão dos flavonoides em amostras da fruta romã usando técnicas de VPD e UV-vis.

Métodos	UV- visível	VPD		F _{rec}
Chás de Romã	[Rutina]/ μmol L ⁻¹	[(+) Catequina]/ μmol L ⁻¹	[Rutina]/ μmol L ⁻¹	[Rutina]/ %
Casca seca	42,4 ± 1,2	50,2 ± 3,4	43,7 ± 2,1	103,1
Casca Natural	12,2 ± 0,7	21,3 ± 1,6	11,4 ± 1,1	93,4
Fruta	174,1 ± 2,2	24,2 ± 1,5	174,8 ± 3,5	100,4
Folha	36,7 ± 1,7	15,8 ± 0,9	43,3 ± 2,2	118,0

Os valores obtidos por VPD apresentam serem similares aos valores obtidos pelo UV-vis. Esses valores estão de acordo com encontrados nos trabalho de MATSURABA e RODRIGUEZ-AMAYA⁽³⁶⁾, FIGURA 3.17.

Referência	Amostra	C*
Em mg/g folha seca		
Presente estudo	2 marcas, chá verde	0,8-2,8
	4 marcas, chá preto	nd
DALLUGE <i>et al.</i> , 1998 [5]	3 amostras, chá verde	0,6
DING <i>et al.</i> , 1999 [7]	3 tipos de chá verde	3,5-5,6
GOTO <i>et al.</i> , 1996 [11]	2 tipos, 2 classes de chá verde	
KHOKHAR & MANUS-	7 marcas, chá verde	nd-1,3
DOTTIR, 2002 [16]	12 marcas, chá preto	nd-1,7
LIN <i>et al.</i> , 1998 [19]	15 marcas, chá verde, chinês	0,1-0,5
	13 marcas, chá verde, japonês	nd-0,3
PRICE & SPITZER, 1993 [23]	8 marcas de chá verde	
SHAO <i>et al.</i> , 1995 [26]	2 amostras, chá verde	66-69
	2 amostras, chá preto	25-30

FIGURA 3.17 - Comparação de teores em mg g⁻¹ de (+) catequina em chás verdes e preto de diferentes países apresentados no trabalho de MATSURABA, e RODRIGUEZ-AMAYA, sendo: (nd) não detectado e (C): (+)catequina.

Para a fruta romã foi observado os maiores valores na folha da fruta *in natura*. Os resultados da rotina estão de acordo com os de UV-vis e apenas foi encontrado no trabalho de PASCUAL - TEREZA, *et al* ⁽⁶⁸⁾.

Na TABELA 3.8 são apresentados os resultados obtidos e os valores observados em alguns trabalhos da literatura.

TABELA 3.8: Teores dos analitos obtidos por VPD e as concentrações detectadas de (+) catequina e rutina na literatura, por diferentes métodos.

Compostos Analitos	VDP (mg g ⁻¹)		Literatura ⁽⁶⁹⁾ (mg g ⁻¹)		VDP (mg g ⁻¹)	Literatura ⁽⁶⁸⁾ (mg L ⁻¹)
	chá verde	chá preto	chá verde	chá preto	fruta	Fruta
(+) catequina	0,587	2,772	nd-69	nd-30	0.352	4
rutina	2,192	1,371	5,5- 6,9	0,8	5.336	-

Como conclusão tem-se que valor obtido pela análise por adição de padrão vai depender de qual padrão for adicionado. Então é necessário cuidado para se utilizar os eletrodos de pasta de NTCs e a técnica de VPD para analisar o conteúdo total de flavonoides em diferentes amostras. Para as espécies de chá ou na diferentes partes da fruta romã aqui avaliadas foi possível aplicar o método proposto, todavia, esse método não tem seletividade para analisar qual a espécie de flavonoide presente.

3.3. Desempenho do Eletrodo de Pasta NTCs na Determinação Cr(III) e Cr(VI)

Um segundo estudo de interesse desta dissertação para aplicação dos eletrodos de pasta de NTCs refere-se determinação de Cr(VI) e Cr(III) devido ao interesse do ponto e vista ambiental destas espécies.

Para dar início a esta parte da pesquisa, baseou-se no trabalho de SVANCARA et al.⁽²⁸⁾. O artigo apresenta o uso do composto ativo do colírio Septonex[®] - sais de amônio quaternário e brometo - este composto ativo proporciona a formação de um complexo do íon HCrO_4^- ou $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ o que impede que ocorra a redução do íon Cr(VI). A determinação da espécie é realizada pelo processo de adsorção e redução do complexo. No trabalho de SVANCARA et al.⁽²⁸⁾, o método foi utilizado apenas para Cr(VI) e neste trabalho vamos testar o método para as duas espécies de cromo.

Nos tópicos seguintes serão descritos os estudos realizados visando a determinação das espécies de Cr(VI) e Cr(III) utilizando os eletrodos de pasta de NTCs e a técnica de Voltametria de Pulso Diferencial em diferentes eletrólitos e com o uso de compostos orgânicos como proposto por SVANCARA et al.⁽²⁸⁾

3.3.1. Uso do Composto Orgânico na Análise de Cr(VI)

No estudo inicial foram testados três diferentes compostos orgânicos, brometo de tetrametilamônio, brometo de tetrapropilamônio e brometo de tetrabutylamônio usando como modelo o trabalho de SVANCARA et al., onde foram utilizados sais de amônio quaternário e brometo como composto ativo⁽²⁸⁾. Estes testes foram realizados por VPD em uma solução contendo $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ Cr(VI) e o eletrólito de suporte com $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl. Diferentes volumes de

uma solução estoque contendo 1 mmol L^{-1} destes compostos foram adicionados de modo a avaliar a formação do complexo.

Na FIGURA 3.18 são apresentados os voltamogramas de VDP para o Cr(VI) com e sem adição do brometo de tetrabutilamônio. Nesta figura pode-se observar um pico de redução em $0,2 \text{ V}$ que apresenta uma corrente bem maior na presença do composto orgânico. Este pico refere-se a redução do complexo $[\text{R-N}^+]\text{HCrO}_4^-$, como descrito na literatura ⁽²⁸⁾. Para os demais compostos orgânicos um comportamento similar foi observado.

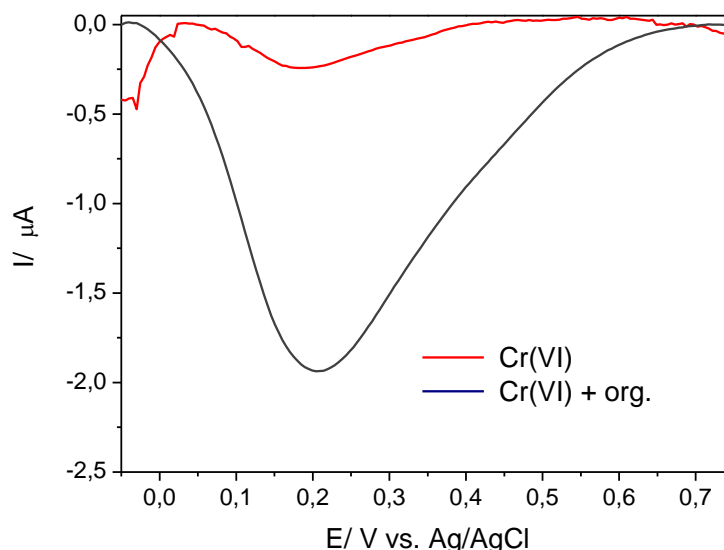


FIGURA 3.18 - Voltamogramas de pulso diferencial obtido com eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $\nu = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

Na FIGURA 3.19 está representada a variação da corrente de pico para o Cr(VI) na presença dos três diferentes compostos orgânicos. O composto brometo de tetrabutilamônio se destacou na concentração $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ na presença de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) na $\nu = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$. Esta concentração foi escolhida nos estudos posteriores. O brometo de tetrametilamônio e o brometo de tetrapropilamônio apresentaram uma corrente bem menor e não houve influência da concentração adicionada,

indicando que provavelmente neste caso não ocorreu a complexação com o Cr(VI), sendo descartada a pesquisa na presença destes compostos.

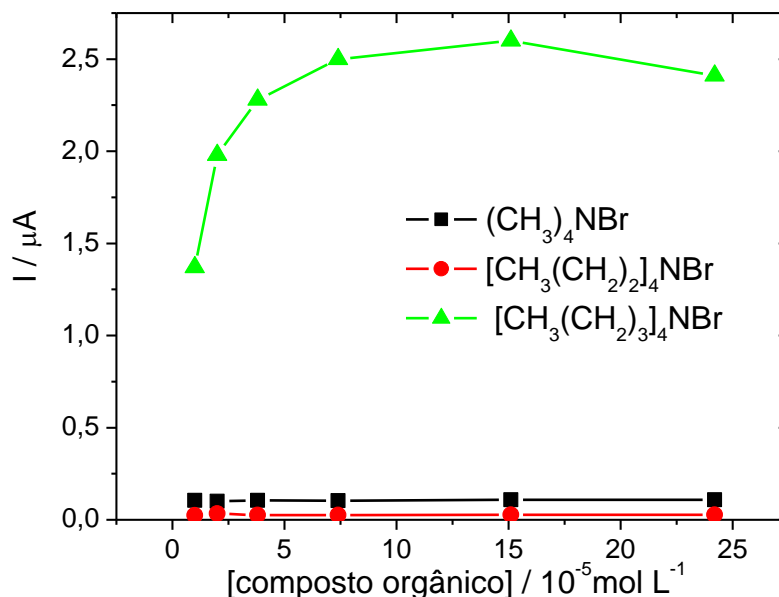


FIGURA 3.19 - Corrente de pico catódica obtidos por VPD vs. concentração dos compostos orgânicos adicionados com $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) na $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

3.3.1.1. Otimização das Condições de Análise do Cr (VI)

Como eletrólito suporte a ser utilizado seria uma mistura de HCl com um sal de cloreto, avaliou-se se havia alguma mudança em utilizar KCl ou NaCl. Na FIGURA 3.20 são apresentados os voltamogramas obtidos para o $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em na mistura de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl ou KCl com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl como eletrólito de suporte na presença de $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de brometo de tetrabutilamônio, $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$. As de corrente foram maiores com o uso de solução de KCl, sendo esta escolhida para os estudos posteriores.

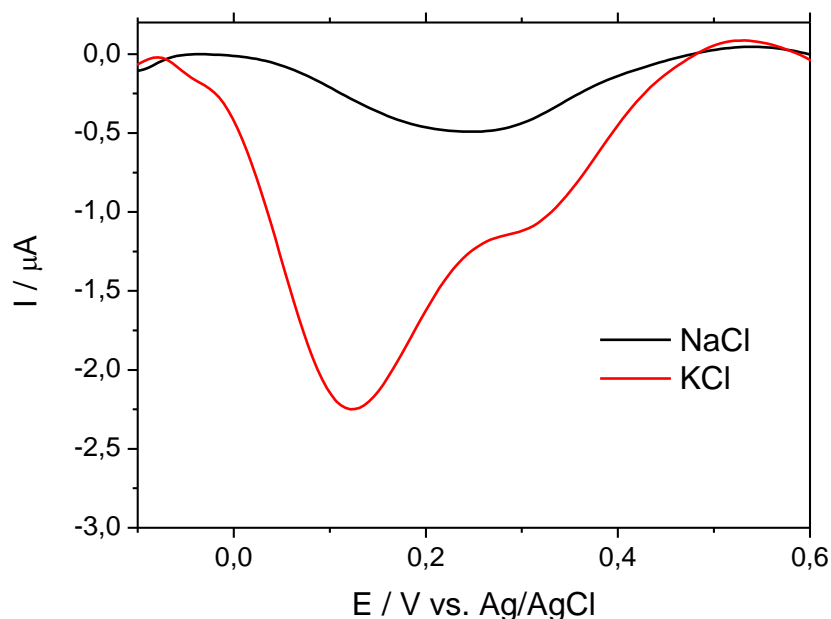


FIGURA 3.20 - Voltamogramas de pulso diferencial obtido com eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl ou KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

Definido o eletrólito de suporte, a concentração e o composto orgânico a ser utilizado, iniciou-se a otimização dos parâmetros para a realização das medidas de VPD, utilizando uma solução contendo $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ Cr (VI), $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$ na mistura de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl. O intervalo de potencial foi de -0,2 a 0,8 V na velocidade de varredura de 5 mVs^{-1} .

Inicialmente, foi avaliada a amplitude de pulso nos valores de 5, 10, 25 e 50 mV. Os voltamogramas obtidos são apresentados na FIGURA 3.21, onde pode-se observar que os melhores resultados são obtidos para uma amplitude de 50 mV:

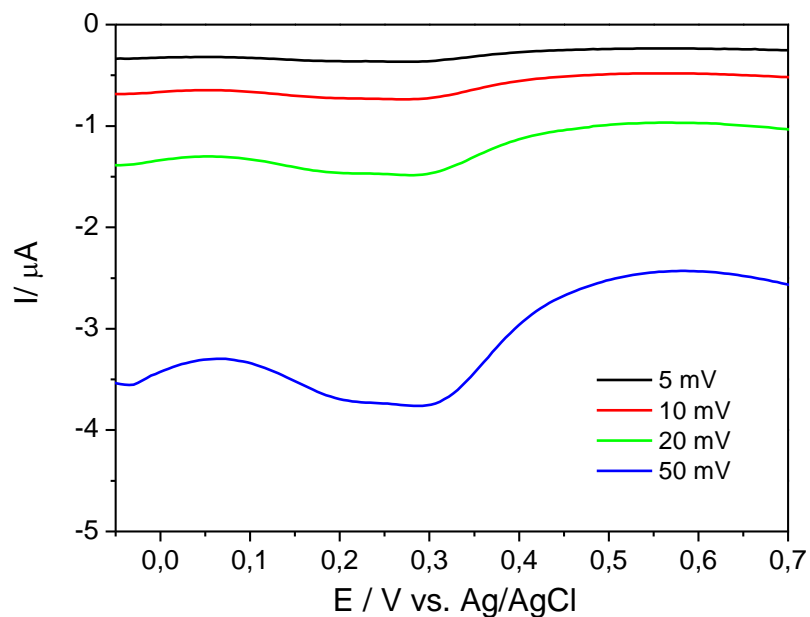


FIGURA 3.21 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos em diferentes amplitudes de pulso. Eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$.

Também foi estudado o tempo de pré-concentração no potencial inicial de 50 mV e observou-se que a corrente variava levemente com este tempo, como mostra a FIGURA 3.22, indicando que a formação e adsorção do complexo é rápida. Foi escolhido o tempo de duração de 120s para os estudos posteriores, devido a necessidade de um tempo maior para que ocorra a redução do Cr(III):

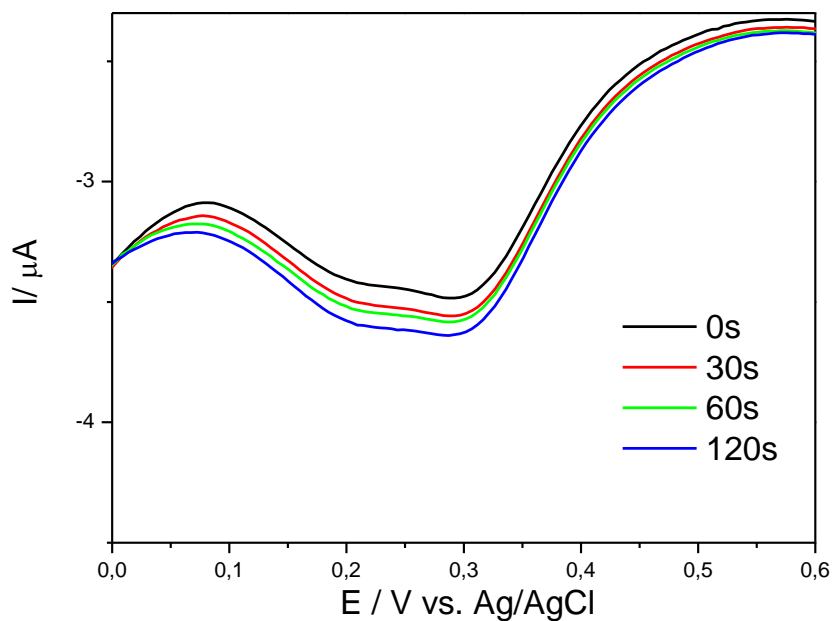


FIGURA 3.22 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com diferentes tempos de polarização no potencial inicial. Eletrodo de NTCs em solução de $16,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

Os resultados dos parâmetros otimizados estão apresentados na TABELA 3.9.

TABELA 3.9 - Parâmetros e intervalos escolhido para análise por VPD do Cr(VI).

Parâmetros	Escolhidos
Eletrólito de Suporte	HCl + KCl ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$ $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$
E_d / mV	800
t_d / s	120
A / mV	50

3.3.3 Obtenção da Curva Análítica para o Cr(VI)

A partir dos dados conseguidos anteriormente, foram realizadas medidas na faixa de 16,6 a 149,4 nmol L⁻¹ dos íons de Cr(VI) na presença de mistura de KCl e HCl e com 0,15 mmol L⁻¹ de [CH₃(CH₂)₃]₄NBr. Na FIGURA 3.23 são apresentados os voltamogramas obtidos. Observa-se que a corrente de redução aumenta com a concentração de Cr(VI) e depois não mais varia indicando que a superfície do eletrodo foi saturada. O pico de redução do branco corresponde à redução do composto orgânico adsorvido sobre os eletrodos de NTCs.

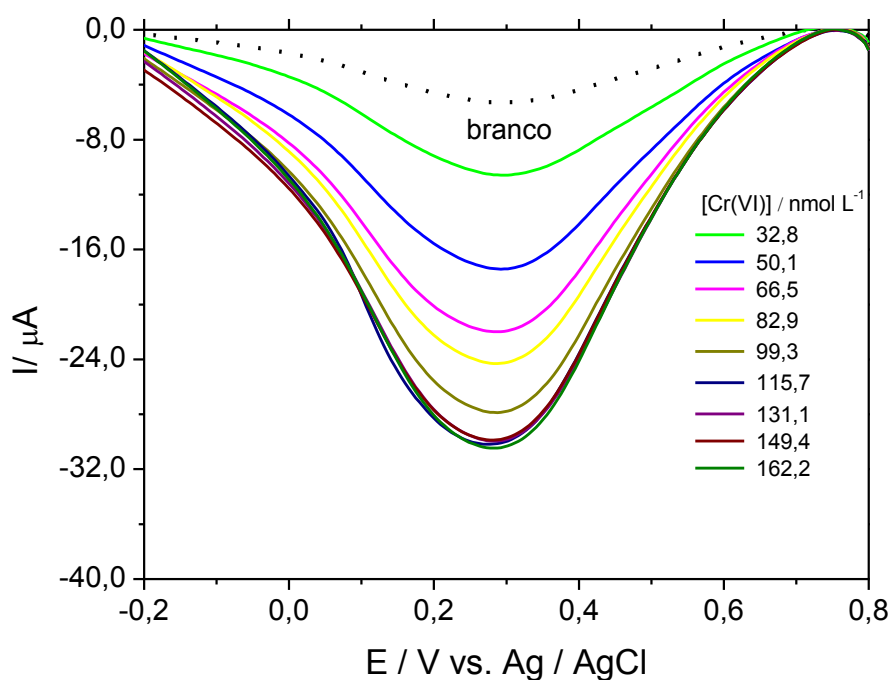


FIGURA 3.23 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de Cr(VI) em 0,10 mol L⁻¹ de HCl + 0,10 mol L⁻¹ de KCl e 0,15 mmol L⁻¹ de [CH₃(CH₂)₃]₄NBr, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

Uma curva analítica foi obtida a partir das VPD, descontando-se a corrente do branco, a qual é apresentada na FIGURA 3.24. Esta curva na região linear obedece a equação $I \text{ (A)} = 0,061 - 0,193 \mu\text{A/mol L}^{-1}$ com $R^2 = 0,992$ e $n = 8$ na faixa de concentração de 16,6 a 149,4 nmol L⁻¹ tendo

LD de $1,1 \text{ nmol L}^{-1}$ e o LQ de $3,3 \text{ nmol L}^{-1}$, o qual é menor do que observado por SVANCARA et al.⁽²⁸⁾ e por outros autores^(42,45,46, 48). O fator de recuperação foi de $98,7 \pm 1,2\%$ o que indica que o método pode ser aplicado.

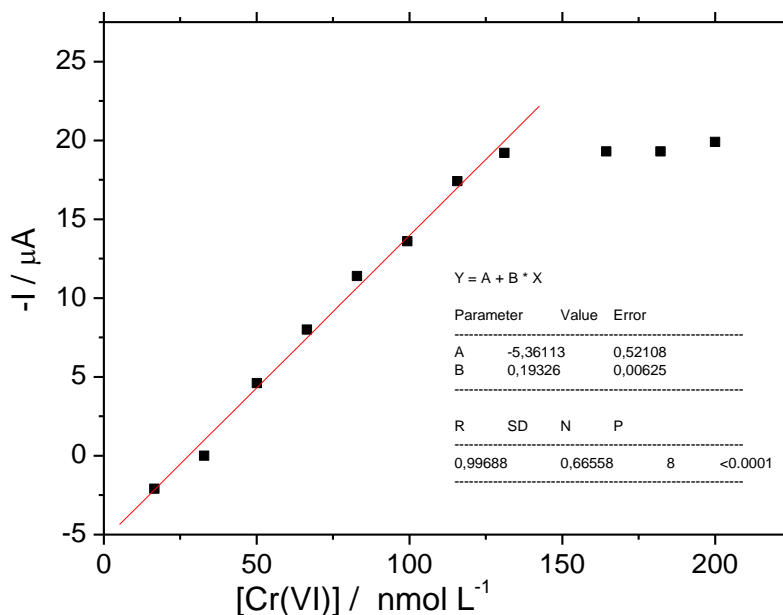


FIGURA 3.24 - Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de Cr(VI) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$,

3.3.3. Uso do Composto Orgânico na Análise de Cr(III)

Os experimentos descritos anteriormente para o Cr(VI) também foram realizados para o íon Cr(III) com o objetivo de se avaliar a possibilidade de determinação simultânea destas duas espécies. Desse modo inicialmente foi avaliada a resposta do Cr(III), por VPD, na presença e ausência do brometo de tetrabutilamônio e os voltamogramas obtidos são apresentados na FIGURA 3.25. As condições experimentais foram aquelas otimizadas para o Cr(VI) e apresentadas na TABELA 3.8.

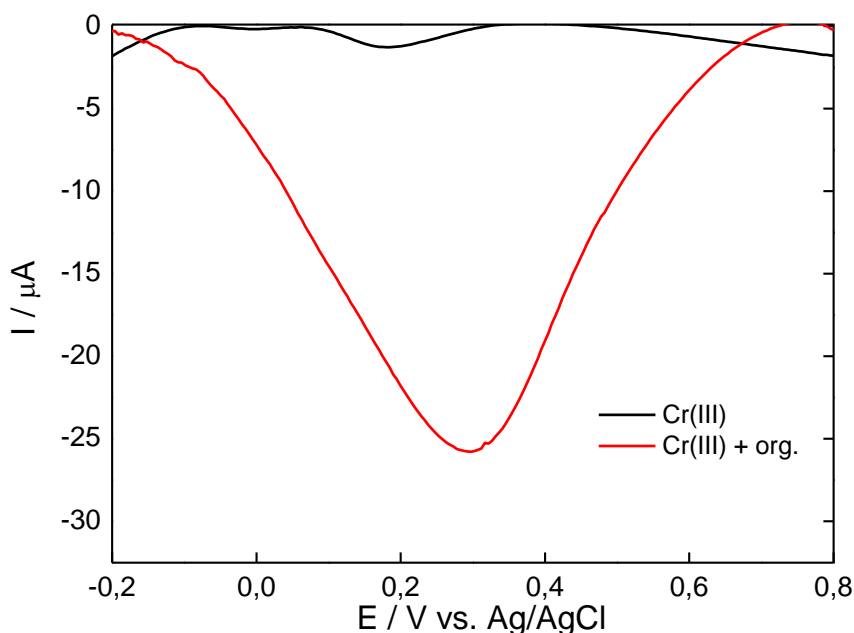


FIGURA 3.25 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de $32,6 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(III) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

O comportamento do Cr(III) na presença do brometo de tetrabutilamônio foi muito similar a do Cr(VI) sendo observado um pico de redução em $0,3 \text{ V}$ que aumenta sua corrente com a adição do composto orgânico. Este comportamento não foi analisado no artigo de SVANCARA et al (2004)⁽²⁸⁾.

Dessa forma o passo seguinte foi obter a curva analítica para o Cr(III) e na FIGURA 3.26 apresenta-se os voltamogramas obtidos a 5 mV s^{-1} variando-se a concentração de Cr(III) de $7,00$ a $100,0 \text{ nmol L}^{-1}$ em meio de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de brometo de tetrabutilamônio.

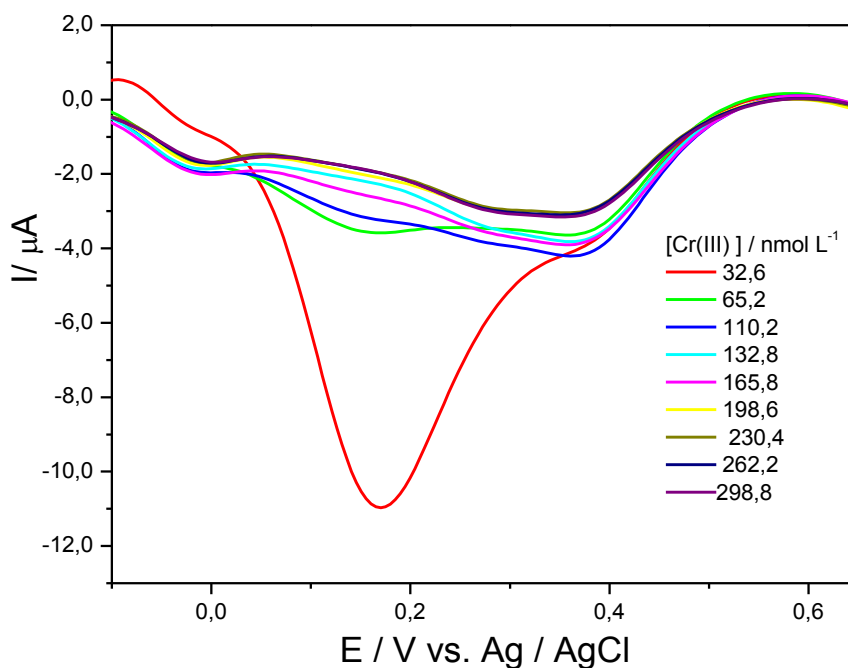


FIGURA 3.26 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de Cr(III) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

No caso do Cr (III) - FIGURA 3.26 - houve um decréscimo acentuado da corrente até um valor constante à medida que aumenta a concentração, mostrando que o eletrodo não responde a esta espécie. O pico de redução observado pode ser devido a presença de Cr(VI) na solução de Cr(III). Dessa forma, observou-se que seria necessário avaliar como seria a resposta do Cr(VI) na presença de Cr(III) no meio e nas condições escolhidas para a análise por VPD.

3.3.4. Análise de Cr(VI) na Presença de Cr(III)

Foi realizado um estudo para o Cr(VI) na presença de Cr(III), sendo as duas espécies adicionadas ao eletrólito de suporte na mesma concentração. Na FIGURA 3.28 são apresentados os voltamogramas obtidos para a faixa de concentração 33,2 a 298,8 nmol L⁻¹. Observa-se nesta figura um único de redução, cuja corrente aumenta com a concentração das espécies de cromo. Para estes voltamogramas foi feita a curva analítica a qual está representada na FIGURA 3.29.

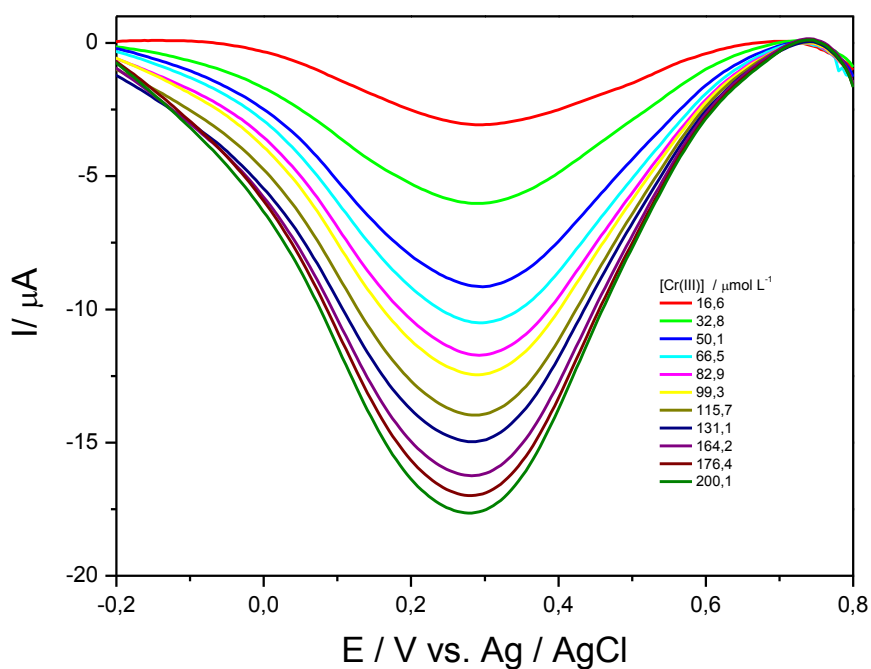


FIGURA 3.27 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de Cr(III) + Cr(VI) em 0,10 mol L⁻¹ de HCl + 0,10 mol L⁻¹ de KCl e 0,15 mmol L⁻¹ de [CH₃(CH₂)₃]₄NBr, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$, sendo $[\text{Cr(III)}] = 2[\text{Cr(VI)}]$.

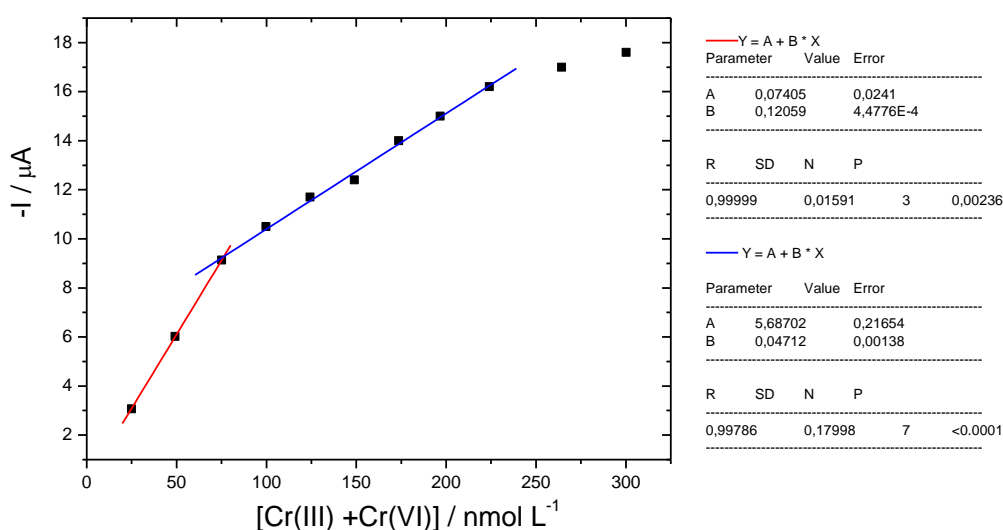


FIGURA 3.28 - Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de NTCs em solução de Cr(VI) + Cr(III) em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$, sendo $[\text{Cr(III)}] = 2[\text{Cr(VI)}]$.

Na FIGURA 3.28 foram obtidas duas retas, sendo a primeira (até 50 nmol L^{-1} , com maior sensibilidade e a segunda com menor sensibilidade, apresenta um comportamento linear até 200 nmol L^{-1} . O fator de recuperação para a primeira reta, de menor concentração, foi de $98,1 \pm 0,8 \%$ quando se considera a concentração total de íon Cr. Deste modo, pode-se dizer que nesta região pode ser determinado às duas espécies de cromo conjuntamente, mas não se pode determinar a concentração de cada espécie separadamente. O fator de recuperação para a segunda curva analítica foi de $294 \pm 13\%$ indicando que esta não pode ser utilizada para a determinação de íons cromo na amostra, ou ainda, que em maiores concentrações o Cr(III) interfere na determinação de Cr(VI) quando usado o método proposto na presente pesquisa. Para concentrações superiores a 200 nmol L^{-1} há uma tendência a saturação do eletrodo como já observado para o Cr(VI).

Os resultados mostraram que diferente do observado por SVANCARA et al. ⁽²⁸⁾ o Cr(III) não interfere na análise de Cr(VI), desde

que a mistura esteja em baixas concentrações. Também pode-se concluir que o método permite a determinação do conteúdo total de íons Cr (Cr(III) + Cr(VI)) em baixas concentrações.

A partir dos resultados da mistura dos íons cromo, foram também analisados a adição de diferentes concentrações de Cr(III) em uma solução contendo uma concentração fixa de 25,1 nmol L⁻¹ de Cr(VI), FIGURA 3.29. Ocorreu um acréscimo acentuado da corrente à medida que foi acrescentado o Cr(III), apresentando uma sensibilidade na variação de 50,2 a 314,2 nmol L⁻¹. A resposta da curva analítica - FIGURA 3.30 - teve um comportamento semelhante ao da FIGURA 3.28, mas a primeira reta foi estendida até a concentração de 170 nmol L⁻¹, e o fator de recuperação para esta região foi de 100,4 ± 2,3 % quando se considera a concentração de Cr(III) + Cr(VI). Em altas concentrações a sensibilidade diminui parece haver uma tendência a saturação da superfície do eletrodo. . Os resultados mostram que o Cr(III) pode ter uma boa resposta por este método na presença de baixas concentrações de Cr(VI). Uma suposição que poderia ser feita neste caso é que a presença do Cr(VI) poderia favorecer a formação do complexo do composto orgânico com Cr(III), formando um complexo misto que se adsorve na superfície e pode ser então reduzido.

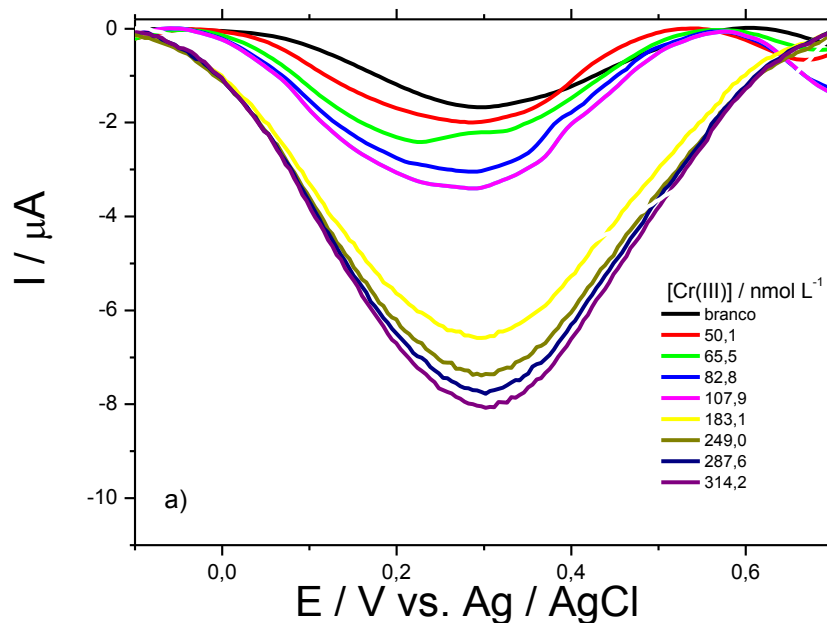


FIGURA 3.29 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de $0,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cr(VI) + x de [Cr(III)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

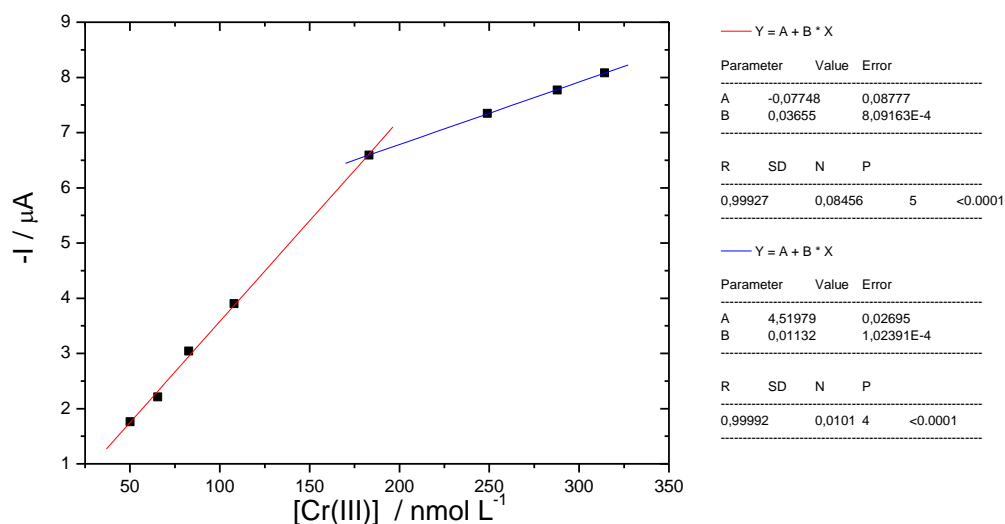


FIGURA 3.30 - Curva analítica obtida para o eletrodo de pasta de NTCs em solução $19,2 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(VI) + x de [Cr(III)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

Na FIGURA 3.31 são apresentados os voltamogramas de pulso diferencial e na FIGURA 3.32 a curva analítica para o caso contrário, onde foi mantida a concentração de Cr(III) em $25,2 \text{ nmol L}^{-1}$ e adicionando o Cr(VI). Pode-se observar nesta figura que ocorreu um acréscimo acentuado da corrente nas primeiras adições de Cr(VI), mas depois houve uma tendência a estabilizar a corrente, indicando saturação da superfície do eletrodo como já havia ocorrido anteriormente. Se for considerado apenas os três primeiros pontos é possível obter uma reta que tem um fator de recuperação de $104,2 \pm 3,4 \%$. Estes resultados mostram que o Cr(III) tem uma influencia significativa sobre a análise do Cr(VI) como já tinha sido observado anteriormente.

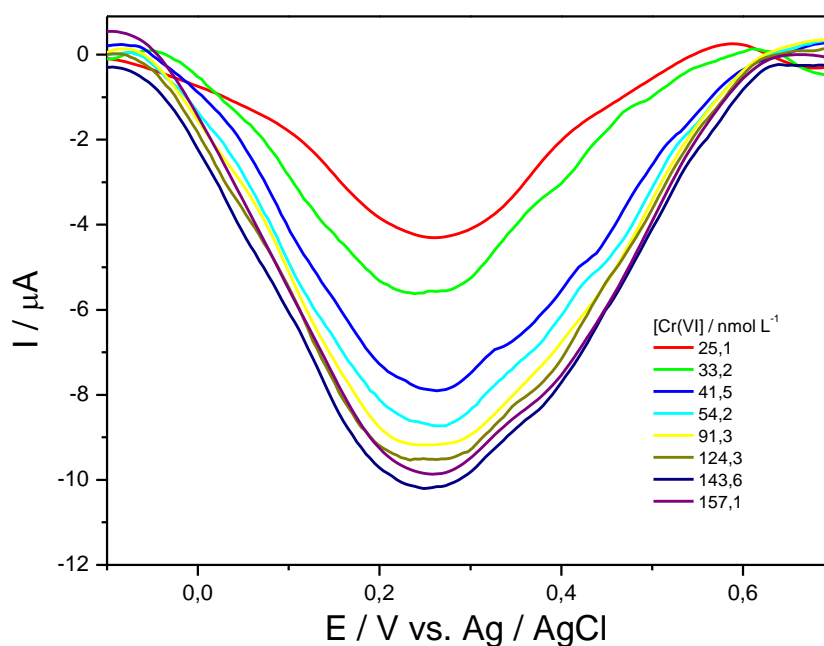


FIGURA 3.31 - Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de NTCs em solução de $25,2 \text{ nmol L}^{-1}$ de Cr(III) + x de [Cr(VI)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

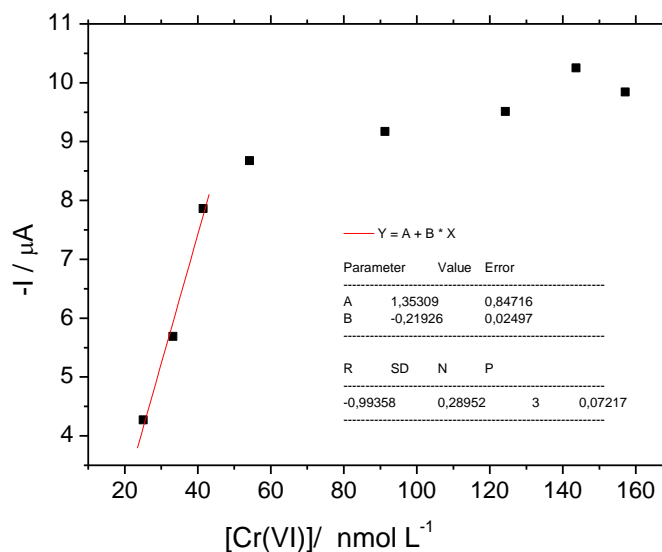


FIGURA 3.32 - Curva analítica obtida com eletrodo de NTCs em solução de $0,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cr(III) + x de [Cr(VI)] em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NBr}$, $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$ e $A = 50 \text{ mV}$.

Os experimentos mostram que utilizando eletrodos de pasta de NTCs e VPD é possível determinar a concentração total de cromo para baixas concentrações, entretanto, não é possível fazer a especificação de Cr(III) e Cr(VI).

Outros inúmeros procedimentos foram tentados para especificar Cr(VI) e Cr(III) como era o objetivo do projeto, mas infelizmente todas as tentativas foram frustradas. Entre os diversos procedimentos tem-se: utilização de peróxido de hidrogênio como agente oxidante, modificação da superfície dos eletrodos de pasta de NTCs com mercúrio e bismuto ⁽³³⁾, bem como no uso de DTPA ^(40-44,70,71) mas não foram obtidos qualquer resultados satisfatórios.

CAPÍTULO 4

4. Conclusões

Os eletrodos de pasta de nanotubos de carbono puderam ser preparados e caracterizados com as técnicas propostas e foi possível observar que o método de preparo do eletrodo não danificou a estrutura dos NTCs.

A técnica voltametria de pulso diferencial e o uso do eletrodo de pasta de NTCs permitiu a obtenção de curvas analíticas para a (+)catequina/ rutina, mas não para a mistura das duas espécies.

Foi possível obter dois picos de oxidação separados para a rutina e (+)catequina apenas na condição em que a concentração de rutina era fixa e bem menor do que a de (+)catequina, o que compromete o uso deste método na identificação dos flavonoides presentes nas amostras estudadas, permitindo apenas a análise do conteúdo total de flavonoides. Este resultado frustrou a expectativa de que este eletrodo pudesse ser viável para identificação de alguns flavonoides em amostras de alimentos.

O conteúdo determinado de flavonoides em amostras de chá verde, preto e branco bem como na fruta, folha e casca da romã foram dentro dos valores esperados, entretanto, foram distintos quando a adição de padrão era a (+) catequina ou a rutina. Este resultado mostra que o uso de sensores eletroquímicos para a determinação de espécies fenólicas pode ser dependente do método utilizado e deve ser analisado com cuidado.

Os íons Cr(VI) apresentaram respostas na presença do composto orgânico brometo de tetrabutylamônio, entretanto, o Cr(III) não foi eletroativo neste meio. Entretanto, diferente do reportado na literatura, a mistura de Cr(III) e Cr(VI) em baixas concentrações apresentou um sinal analítico bastante satisfatório neste meio e com o uso do eletrodos de pasta de NTCs, levando a um fator de recuperação para o conteúdo total de

cromo da ordem de 100,1 %. Esse resultado foi promissor, pois o sistema proposto apresentou um melhor desempenho do que outros citados na literatura, mas novamente o resultado foi aquém do esperado no objetivo deste trabalho, não sendo possível fazer a especificação das espécies de íons cromo, nem aplicar o método em uma amostra real.

Pode-se dizer que os objetivos deste trabalho foram atingidos apenas parcialmente, mas que alguma contribuição foi dada pelo trabalho quando se determinou flavonoides em amostras como a romã, para o qual praticamente não se tem dados na literatura.

Quanto ao uso dos NTCs como sensores eletroquímicos pode-se concluir que apesar de se ter um grande número de trabalhos descrevendo as vantagens deste material, não será para todo e qualquer sistema que ele irá ser realmente vantajoso.

CAPÍTULO 5

5. Referencias Bibliográficas

1. HERBEST, M. H.; MACEDO, M. I. F.; ROCCO, A. M. "Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendência e perspectivas de uma área multidisciplinar". *Química Nova*, 27(6): 986-992, 2004.
2. IJIMA, S. "Helical microtubules of graphitic carbon". *S. Nature*, 354: 56-58, 1991.
3. AJAYAN, P.M. "Nanotubes from carbon". *Chem. Rev.*, 99: 1787-1800, 1999.
4. BORGES, H. K. Utilização de Esponja de Lã de Aço Comercial como Catalisador para a Síntese de Nanotubos de Carbono. Curitiba : UFPA, 2007, 138p., dissertação mestrado.
5. MERTZ, W. "Chromium in human nutrition: a review". *J. Nutr.*, 123(4): 626-633, 1993.
6. SAHOO, N. G.; RANA, S.; CHO, J. W.; LI, L.; CHAN, S. H. "Polymer nanocomposites based on functionalized carbon nanotubes". *Prog. Polym. Sci.* 35: 837–867, 2010.
7. BARISCI, J. N.; WALLACE, G. G.; MACFARLANE, D. R.; BAUGHMAN, R. H. "Investigation of ionic liquids as electrolytes for carbon nanotube electrodes". *Electrochemistry Communications*, 6(1): 22-276, 2004.
8. LAU, K. K. S.; BICO, J.; TEO, K. B. K.; CHHOWALLA. M.; AMARATUNGA, G. A. J.; MILNE, W. I.; MCKINLEY, G. H.; GLEASON, K. K. " Superhydrophobic carbon nanotube forest". *Nano Letters*, 3 (12): 1701-1705, 2003.
9. KRESTININ, A. V.; RAESKII, A. V.; KISELEV, N. A.; ZVEREVA, G. I.; ZHIGALINA, O. N.; KOLESOVA, O. I. "Optical activity effect in crystalline structures of purified single-wall carbon nanotubes". *Chemical Physics Letters*, 381(5): 529-536, 2003.

10. LEE, C.J.; PARK, J.; KANG, S.Y.; LEE, J.H. "Growth and field electron emission of vertically aligned multiwalled carbon nanotubes". *Chem. Phys. Lett*, 326: 175-180, 2000.
11. LEE, N. S.; CHUNG, D. S.; HAN, I. T.; KANG, J. H. "Application of carbon nanotubes to field emission displays". *Diamond and Related Materials*, 10 (2): 265-270, 2001.
12. FANG, Z.; HUANG, J.; LIE, P.; XIAO, Z.; OUYANG, C.; WU, Q.; WU, Y.; LIU, G.; ZENG, L. "Lateral Flow Nucleic Acid Biosensor for Cu²⁺ detection in Aqueous Solution with High Sensitivity and Selectivity". *Chem Com.*, 46 (47): 9043-9045, 2010.
13. DILLON, A.C.; JONES, K.M.; BEKKEDHAL, T.A.; KING, C.H.; BETHUNE, D.S.; HEBEN, M. J. "Storage of hydrogen in single-walled carbon nanotubes". *Nature*, 386: 377- 379, 1997.
14. LAWRENCE, N.S.; DEO, R.P.; WANG, G. J. "Electrochemical determination of hydrogen sulfide at carbon nanotube modified electrodes." *Anal. Chim. Acta*, 517: 131-137, 2004.
15. MORAES, F. C.; GOLINELLI, D. L. C.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S. "Determination of epinephrine in urine using multi-walled carbon nanotube modified with cobalt phthalocyanine in a paraffin composite electrode." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 148 (2) : 492-497, 2010.
16. WANG, J.; LI, M.; SHI, Z.; LI, N.; GU, Z. "Electrocatalytic oxidation of norepinephrine at a glassy carbon electrode modified with single-wall carbon nanotubes". *Electroanal.*, 14 (23): 1609–1613, 2002.
17. CUI, X.; LIU, G; LIN, Y. "Biosensors Based on Carbon Nanotubes/Nickel Hexacyanoferrate/Glucose Oxidase Nanocomposites". *Nanomedicine*, 1(2): 130-135, 2005.
18. CAI, C.; CHEN, J. "Direct electron transfer of glucose oxidase promoted by carbon nanotubes". *Anal. Bioch.*, 1 (332): 75–83, 2004.
19. SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; WANG, J. "Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: A review on the occasion of the 50-years jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis". *Electroanalysis*, 21 (1): 7 – 28, 2008.

20. MAO, X.; LIU, G.; WANG, S.; LIN, Y.; ZHANG, A.; ZHANG, L.; MA, Y. "Ultrasensitive electrochemical detection of mRNA using branched DNA amplifiers". *Electrochemistry Communications*, 10(12): 1847-1850, 2008.
21. LIU, G.; LIN, Y. "Biosensor Based on Self-Assembling Acetylcholinesterase on carbon Nanotubes for Flow Injection/Amperometric Detection of Organophosphate Pesticides and Nerve Agents". *Anal. Chem.*, 78(3): 835-843, 1996.
22. GUO, D.; ZHENG, D.; MO, G.; YE, J. "Adsorptive Stripping Voltammetric Detection of Tea Polyphenols at Multiwalled Carbon Nanotubes-Chitosan Composite Electrode". *Electroanalysis*, 21 (6): 762–766, 2009.
23. LIU, G.; MAO, X.; PHILIPS, J. A.; XU, H.; TAN, W.; ZENG, L. "Aptamer–Nanoparticle Strip Biosensor for Sensitive Detection of Cancer Cells". *Analytical Chemistry*, 81(24): 10013-10018, 2009.
24. ZENG, Q.; MAO, X.; XU, H.; WANG, S.; LIU, G. "Quantitative Immunochromatographic Strip Biosensor for the Detection of Carcinoembryonic Antigen Tumor Biomarker in Human Plasma". *American Journal of Biomedical Sciences*, 1(1): 1 – 11, 2009.
25. LIU, G.; LIN, Y. "Sequential injection/electrochemical immunoassay for quantifying the pesticide metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. *Electrochemistry communication*". *Electrochemistry Communications*, 7: 1463–1470, 2005.
26. OLIVEIRA, A. C.; MASCARO, L. H. "Characterization of Carbon Nanotubes Paste Electrode and its Application as Rutin Sensor" . *Current Analytical Chemistry*, 7 (2): 101-109, 2011.
27. ZIDOI, L. Avaliação do desempenho de diferentes tipos de nanotubos de carbono na determinação de íon metálicos e ácido mefenâmico. Departamento de Química, UFSCar. 2008, p.77, dissertação mestrado.
28. SVANCARA, I.; FORET, P.; VYTRAS, K. "A study on the determination of chromium as chromate at a carbon paste electrode modified with surfactants". *Talanta*, 64(4): 844-852, 2004.

29. WANG, J.; RIVAS, G.; CAI, X.; CHICHARRO, M.; FARIAS, P. A. M.; PALECEK, E. "Trace measurements of insulin by potentiometric stripping analysis at carbon paste electrodes". *Electroanalysis*, 8 (10): 902–906, 1996.
30. WANG, J. *Analytical Electrochemistry*. 3. New York : Wiley, 2006. p. 272.
31. DONG, S.; ZHANG, S.; CHI, L.; P., HE; WANG, Q.; FANG, Y. "Electrochemical behaviors of amino acids at multiwall carbon nanotubes and Cu₂O modified carbon paste electrode". *Anal. Biochem.*, 381(2): 199-204, 2008.
32. SISWANA, M.; OZOEMENA, K. I.; NYOKONG, T. "Electrocatalytic behaviour of carbon paste electrode modified with iron (II) phthalocyanine (FePc) nanoparticles towards the detection of amitrole". *Talanta*, 69(5): 1136-1142, 2006.
33. VYTRAS, K.; SVANCARA, I.; METELKA, I. "Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry". *J. Serb. Chem. Soc.*, 10 (74): 1021-1033, 2009.
34. POMPEU, D. R. Adsorção de três famílias de compostos fenólicos em resinas sintéticas macroporosas. Engenharia Química, UFPA. 2007. p. 73, dissertação de mestrado.
35. MANFREDINI, V.; MARTINS, V. D.; BENFATO, M. da S." Chá verde: Benefícios para a saúde humana. *Infarma*, 16 (9-10): 68-70, 2004.
36. LIMA, J. D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W. da S.; SILVA, R. B. "Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas". *Ciência Rural*, 39 (4): 1258-1266, 2009.
37. WU, C.; LIN, J.; HSIE, W.; YEN, G. "Low- Density- Lipoprotein (LDL) - Bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose in vitro". *J. Agric. Food Chem.*, 57(11): 5058-5064, 2009.
38. MATSURABA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. " Teores de catequina e teaflavinas em chás comercializados no Brasil". *Ciê. Tecnol. Aliment.*, 26(2): 401-407, 2006.

39. WU, J.; WANG, H.; FU, L.; CHEN, Z.; JIANG, J.; SHEN, G.; YU, R. "Detection of catechin based on its electrochemical autoxidation". *Talanta*, 65: 511-517, 2005.
40. BECHO, J. de M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. de O. "Rutina: estrutura, metabolismo e potencial farmacológico". *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais*, 1(1): 21 - 25, 2009.
41. JARDINI, F. A.; FILHO, J. M. "Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e e sementes da romã (*Punica granatum*, L.)". *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43 (1): 139-147 , 2007.
42. CHUBERTA, S. Y.; LANDSKYB, E. P.; I., NEEMAN. "Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids" . *J. Ethnopharmacol*, 66(1): 11–17, 1999.
43. MANICA, I. *Frutas Nativas e Exóticas 4. Romã*. Porto Alegre, RS, Cinco Continentes. 90p., 2007.
44. ANDERSON, R. A. "Chromium metabolism and its role in disease processes in man." *Clin. Physiol. Biochem.*, 4(1): 31-41, 1986.
45. ZIMER, A. M. Desenvolvimento de uma metodologia para determinação de Cu, Cr e As utilizando microeletrodos. UFSCar, 2005. dissertação de mestrado.
46. LEE, J. D. *Química Inorgânica não tão concisa*. Edgar Blucher LTDA, 5, 1999. 527p.
47. OMS. *Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: Incorporationg 1st and 2nd addenda*. Geneva : World Health Organization, Vol. 1, 515 p., 2008.
48. CONAMA. *Resoluções CONAMA*. s.l., Brasil/ Brasília : Conama, 2008. 928 p. Resolução nº 397/08.

49. MEDVIDOVIC- KOSANOIVIC, M.; SERUGA, M.; JAKOBEK, L.; CROAT, I. N. "Electrochemical and Antioxidant Properties of (+)-Catechin, Quercetin and Rutin". *Chem. Acta* , 83 (2): 197-207, 2010.
50. YANG, L.; TANG, C.; XIONG, H.; ZHANG, X.; WANG, S. "Electrochemical properties of catechin at a single-walled carbon nanotubes–cetyltrimethylammonium bromide modified electrode". *Bioelectrochemistry* , 75(2):158-162, 2009.
51. WANG, X; CHENG, C; DONG, R; HAO, J. "Sensitive voltammetric determination of rutin at a carbon nanotubes-ionic liquid composite electrode". *Journal of Solid State Electrochemistry*, 16 (8): 2815 – 2821, 2012.
52. GUO, D.; ZHENG, D.; MO, G.; YE, J. "Adsorptive Stripping Voltammetric Detection of Tea Polyphenols at Multiwalled Carbon Nanotubes-Chitosan Composite Electrode". *Electroanalysis* , 21 (6): 762–766, 2009.
53. WANG, X.; LI, J. ; FAN, Y. "Fast detection of catechin in tea beverage using a poly-aspartic acid film based sensor". *Microchim Acta*, 169 (1): 173-179, 2010.
54. EL-HADY, D.; EL- MAALI, N. "Selective square wave voltammetric determination of (+)-catechin in commercial tea samples using beta-cyclodextrin modified carbon paste electrode". *Microchim Acta*, 161, 2008.
55. LUI, B.; LU, L.; WANG, M.; ZI, Y. "A study of nanostructured gold modified glassy carbon electrode for the determination of trace Cr(VI)". *J. Chem. Sci.*, 120 (5): 493–498, 2008.
56. GEVORGYAN, A. M.; VAKHNENKO, S. V.; ARTYKOV, A. "Determination of Chromium in Natural Water by Stripping Voltammetry". *Journal of Analytical Chemistry*, 59 (4): 371, 2004.
57. LIN, L.; LAWRENCE, N. S.; THONGNGAMDEE, S.; WANG, J.; LIN, Y. "Catalytic adsorptive stripping determination of trace chromium (VI) at the bismuth film electrode". *Talanta*, 65(1): 144-148, 2005.

58. BÁS, B. "Refreshable mercury film silver based electrode for determination of chromium(VI) using catalytic adsorptive stripping voltammetry". *Analytica Chimica Acta*, 570(2): 195-201, 2006.
59. BENTO, F. R. Utilização de técnica eletroquímicas para a determinação de Cu, Cr e As em madeiras de eucalipto preservada com produtos hidrossolúveis. UFSCar. 2004, p. 117, dissertação de mestrado.
60. BERGAMINI, M. F.; dos SANTOS, D. P.; ZANONI, M.V. B. "Development of a voltammetric sensor for chromium(VI) determination in wastewater sample". *Sensors and Actuators*, 23 (2): 902–908, 2007.
61. ZHU, W. W.; LI, N. B.; LOU, H. Q. "Simultaneous determination of chromium(III) and cadmium(II) by differential pulse anodic stripping voltammetry on a stannum film electrode". *Talanta*, 2(5): 1733-1737, 2007.
62. LOCATELLI, C. "Voltammetric methods for the simultaneous determination of trace metals in foods, plant tissues and soils." *J. Sci. Food Agric.*, 87: 305–312 , 2007.
63. SAFAVI, A.; MALEKI, N.; SHAHBAAZI, H. R. "Indirect determination of hexavalent chromium ion in complex matrices by adsorptive stripping voltammetry at a mercury electrode". *Talanta*, 68(4): 1113-1119, 2006.
64. CHATZITHEODOROU,E.; ECONOMOU,A.; VOULGAROPOULOS, A. "Trace Determination of Chromium by Square-Wave Adsorptive Stripping Voltammetry on Bismuth Film Electrodes". *Electroanalysis*, 16 (21): 1743–1822, 2004.
65. BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. *Eletroquímica : princípios, métodos e aplicações*. Oxford University Press,1993.471p.

66. MORAES, F. C.; CABRAL, M. F.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S. "The electrochemical effect of acid functionalisation of carbon nanotubes to be used in sensors development". *Surface Science*, 605 (3,4): 435-440, 2011.
67. PASCUAL - TEREZA, S.; SANTOS - BUELGA, C.; RIVAS - GONZALO, J. C. "Quantitative Analysis of Flavan-3-ols in Spanish Foodstuffs and Beverages". *J. Agric. Food Chem.* 48: 5331-5337, 2000.
68. MALAGUTTI, A. R.; ZUIN, V. G.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. "Determination of Rutin in Green Tea Infusions Using Square-Wave Voltammetry with a RigidCarbon-Polyurethane Composite Electrode". *Electroanalysis* 18(10):,1028 – 1034, 2006.
69. KODAMA, D. H.; GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. "Flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity: comparison between commercial green tea preparations". *Ciênc. Tecnol. Aliment*30(4): 1077-1082, 2010 .
70. ENSAFI, R. H.; HAJIAN, R. "Determination of rutin in pharmaceutical compounds and tea using cathodic adsorptive stripping voltammetry". *Electroanalysis*, 18(6): 579 – 585, 2006.
71. GOLIMOWSKI, J.; NÜRBERG, H.W. "Trace determination of chromium in various water types by absorption differential pulse voltammetry". *Anal. Chem.*, 322: 315–332, 1985.