

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

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

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SENSORES
ELETROQUÍMICOS MODIFICADOS COM *MESO*-TETRA-(2-
TIENIL)-PORFIRINATO DE COBRE (II) PARA A
DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA EM AMOSTRAS
BIOLÓGICAS SINTÉTICAS**

Elson Luiz Fava*

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

Orientador: Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho

*** Bolsista CNPq**

SÃO CARLOS

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F272d Fava, Elson Luiz
Desenvolvimento e caracterização de sensores eletroquímicos modificados com meso-tetra-(2-tienil)-porfirinato de cobre (II) para a determinação de dopamina em amostras biológicas sintéticas / Elson Luiz Fava. -- São Carlos : UFSCar, 2016.
71 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2016.

1. Sensores modificados com porfirinas. 2. Porfirinas. 3. Eletropolimerização. 4. Dopamina. I. Título.

Folha de Aprovação

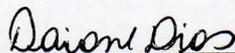
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Elson Luiz Fava, realizada em 26/02/2016:



Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho
UFSCar



Prof. Dr. Edward Ralph Dockal
UFSCar



Profa. Dra. Daiane Dias
FURG

Dedicatória

Esta dissertação é dedicada à um sábio senhor. Sábio não porque ele é um santo, monge ou qualquer outro tipo de figura religiosa que obteve sua sabedoria através de um “dom” ou porque obteve este título por causa de seus feitos miraculosos.

Sábio porque é humano e como tal, erra. Sábio porque pelo simples fato de que mesmo sendo humano e falível, busca em seu íntimo a sua evolução moral e espiritual. Sábio porque ainda insiste em alguns erros (o que é perfeitamente normal para a nossa condição terrena) mas mesmo assim conseguir em sua caminhada perceber alguns destes e corrigi-los.

Sábio por saber ser duro e inflexível, e ao mesmo tempo ser atencioso e solícito. Sábio por muitas vezes que se colocou em segundo plano para que seus próximos tivessem uma sólida formação moral e social.

Sábio porque a vida lhe exigiu responsabilidade cedo demais e por isso teve que tomar atitudes que não foram por muitas vezes coerentes com a sua natureza. Por ter visto o tempo passar sem deixar de lutar um minuto sequer pelos seus pares, ao passo que este mesmo tempo lhe trouxe a maturidade para entender que precisava de uma reforma íntima, de perceber que deveria conduzir sua vida de forma diferente.

Enfim, sábio por conseguir destruir anos de mágoas e ressentimentos em uma única manhã de sábado e agradeço-te principalmente por despertar-me grande admiração e por me dar o maior presente que poderiam ter me dado: a confiança.

Por isso e muito mais, este trabalho, realizado com muito carinho e esforço, é dedicado a você!

Ao Sábio Senhor

"Nunca te permitas o vazio da tristeza inútil na caminhada do bem

Não te fixes nos empecos da senda.

Reflete nas benções recebidas.

Rememora os obstáculos que passaram e pensa nas alegrias que o estudo te concede.

Acordaste cedo para a luta pela sobrevivência e, bastas vezes, acompanhaste os amigos nas tribulações com que se viram defrontados, partilhando-lhes a dor.

O estudo, porém, te estendeu apoio, em todas as crises, trazendo-te amigos outros que te podaram as inquietações e te restituíram as forças dilapidadas para que não desfalecesses.

Oraste nos momentos difíceis, suplicando o amparo da Vida Maior e, através do estudo, braços devotados se te fizeram canais de apoio, sustentando-te os passos ao longo do caminho.

Nunca te rendas à tentação do medo desnecessário e nem te aconselhes com o desalento, de vez que, em tuas áreas de serviço, encontras sempre tudo aquilo de que mais necessitas, a fim de seguir adiante.

Honra os encargos que te honram e, sobretudo, agradece ao estudo tudo aquilo que, um dia, possas ter ou ser de melhor, porquanto é no trabalho do bem aos semelhantes e a ti próprio que terás, em qualquer tempo, o teu mais seguro endereço para o socorro de DEUS."

Emmanuel

Psicografado por Francisco Cândido Xavier

Agradecimentos

Antes de tudo e todos, gostaria de agradecer à Deus, por permitir mais esta breve passagem minha na Terra e por me dar forças para a realização deste trabalho, sem a qual absolutamente nada é possível. Agradeço-Te também pelas provas e expiações atribuídas a mim, para que um dia eu seja digno de poder habitar esferas superiores.

Aos meus pais, Jacson e Vânia pelo amor, carinho e o apoio incondicional, que foi fundamental durante esta árdua caminhada, que começou desde a minha educação inicial até os dias de hoje (e os que virão). Eu imagino que não deve ter sido fácil, pois nunca fui um candidato à canonização, mas saibam que dei o meu melhor para poder retribuir a confiança que em mim foi depositada por vocês.

Aos meus irmãos Elton, Elder, Elison e Luana, que cada um, de sua maneira peculiar, deram-me suporte para toda esta caminhada, fortalecendo o conceito de família. Pelas risadas, pelos momentos passados por todos estes anos de convivência (bons e ruins), pelos exemplos, cumplicidade, enfim, por tudo que vocês representam na minha vida.

Aos meus sobrinhos Guilherme, Sarah, Ana Carolina, Luan, João Atílio, Luiza e Eduarda (à caminho), por serem um dos pilares mais importantes da minha vida. O amor que sinto por todos vocês transcende todas as barreiras que a distância tem imposto, pois cada abraço, brincadeira, ou mesmo a simples presença de vocês nos poucos momentos em que podemos estar juntos é o combustível necessário para encher o meu coração de alegria. Vocês fazem a minha vida mais feliz e completa.

Não seria justo deixar de agradecer aos demais membros da minha família, pelo apoio que sempre me deram, mas como faço parte de uma família numerosa, ficaria impossível agradecer individualmente. Mais injusto seria não enaltecer alguns destes membros que tiveram uma participação importante na

minha vida. A minha prima Clélia, que o termo “prima” já não cabe entre nós, pois somos irmãos, amigos ou algo assim. Sempre esteve presente na minha vida, principalmente nos momentos de extrema dificuldade, nunca esquecendo de mim e sempre demonstrando um enorme carinho, que é extremamente recíproco. Uma pessoa com um enorme potencial que quando colocar o primeiro pé no caminho certo, irá muito longe.

A um casal cujo meu respeito e admiração é muito grande. Meus tios César e Elza, quais faço questão de visitar quando retorno à minha terra natal, que sempre me recebem com muito carinho e que sempre acreditaram em mim. Para as minhas avós Leonilda, que sonha em me ver Doutor (calma vó, este foi só o primeiro passo, mas chego lá!) e Maria Celeste, que foi uma segunda mãe durante a minha infância.

Não posso esquecer dois membros da minha família que são muito importantes, o meu avô Attilio Fava, que sempre me inspirou muita admiração e qual tenho um carinho imenso, por toda a sua trajetória de vida, que não foi fácil, mas que serve como fonte de inspiração. E a minha bisavó Philomena Ladeira Vieira, que é uma pessoa presente na minha vida e pensamentos até hoje, e que o meu amor por ela é maior que as limitações de tempo e espaço. Jamais vou esquecer suas doces palavras e a agradável convivência que tivemos, e principalmente de todo o seu carinho, do seu bisneto que a senhora mesmo chamava de “Xodó”. Ambos já cumpriram suas etapas aqui e já retornaram ao plano espiritual, mas eu espero ansiosamente nosso reencontro.

Ao Waldir Mariano Machado Júnior, talvez a primeira pessoa que realmente acreditou em mim, e me incentivou a dar continuidade aos estudos logo que finalizei a educação básica (pelo menos o que eu considero básico). Um amigo para toda a hora, sempre disposto a ajudar e com um coração sem tamanho e segundo ele, falta-lhe apenas a humildade (risos). Um exemplo de vida, é claro, pois um garoto pobre (muito pobre...) que perdeu o pai aos três anos de idade e

por isso passou por muitas dificuldades na vida, conseguiu estudar, formar-se engenheiro mecânico e é uma das pessoas mais inteligentes que eu conheço.

Ao Paulo Roberto Ellerbrock, um cara que tem o coração maior que ele, uma pessoa que não tem como descrever, agradeço muito pelos anos de amizade e por ser essa pessoa iluminada.

Ao Marcel Fatibello, um irmão que eu conheço faz algumas encarnações, e que insiste em continuar essa caminhada comigo (risos). Essa figura apareceu em um momento difícil na minha vida e rapidamente se tornou um grande amigo que sempre aparece nas horas mais oportunas com sábios conselhos. Tudo isso se estende a sua esposa Carol e ao fruto do amor destes dois, a Lua.

A Família Formigoni, representada por Rubens, Dora, Claudio Marcelo, Patricia, Paulo Henrique, Carolina e Eduardo. Esta linda família que foi meu primeiro contato aqui em São Carlos logo que cheguei, e que sou eternamente grato à solicitude deles, sempre me ajudando e me agradando com seu acolhimento e amizade.

Ao Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho, pela orientação, parceria, pelos cinco anos e pouco de convivência, pela atenção, dedicação, pelas conversas (algumas mais turbulentas) que sempre visaram meu crescimento profissional. Enfim, se hoje sou um pesquisador um pouco (mesmo que extremamente pouco) melhor, devo isso a ele.

Ao Prof. Dr. Kléber Thiago de Oliveira, parceiro desta pesquisa, que sempre esteve presente, que além de ceder o material de partida para esta pesquisa, contribuiu com diversas dicas fundamentais para o andamento e elucidação do trabalho como um todo.

A Msc. Patrícia Betoni Momo, outra grande parceira, que muito contribuiu para a elucidação deste trabalho, uma ótima pesquisadora a qual tive a honra de poder trocar experiências científicas.

Ao Msc. Tiago Almeida Silva, um pesquisador que sempre está disposto a auxiliar todo o grupo de pesquisa em que trabalha. Muitas das sugestões dele foram cruciais para o sucesso deste trabalho. É um dos melhores pesquisadores com quem já trabalhei e tenho a plena certeza que em breve será um pesquisador de referência na área em que atua.

Ao Dr. Vagner Bezerra dos Santos, que foi o “cabra” com quem eu iniciei minha carreira científica e que hoje se tornou um grande amigo meu. Aprendi muito com ele nos três anos em que trabalhamos juntos, e tenho orgulho de ter sido parceiro em diversos trabalhos. General, você é um cara iluminado e sei que você logrará êxito e será um gigante!

A um trio muito especial, que é o Índio (cujo apelido é Anderson Martin), a Marina e a Camila Peverari. São meus grandes amigos dentro desta “selva” científica e que são os responsáveis por tornar os meus dias melhores.

Aos meus colegas do LABBES (Ademar, Barbara, Bruna, Cássio, Cláudia, Fernando (Avaré), Geiser, Gisela, Laís, Luiz (Cyber), e Patrícia), do LABIE (Camila Erbereli, Camila Proença, Ricardo Alexandrino, Tássia e Thaysa) e do GQA (Bolaji, Frederico e Jorge) pelos anos de convivência e bons momentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química da UFSCar por fornecer todo o suporte necessário para o meu bom desenvolvimento acadêmico, em especial para as secretárias Ariane, Cristina e Luciani, pela dedicação, atenção e cordialidade com que sempre fui tratado todas as vezes que necessitei.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Enfim, agradeço a todos que, em algum momento (mesmo que seja breve), tenha sido significativo para que eu pudesse chegar até aqui.

Lista de Abreviaturas e Símbolos

[Co(II)TThP]	Tetra-tienil-porfirinato de cobalto (II)
[Cu(II)P]	Porfirinato de cobre (II)
[Cu(II)TThP]	<i>Meso</i> -tetra-(2-tienil)-porfirinato de cobre (II)
2,4-DNT	2,4-dinitrotolueno
CV	Voltametria cíclica (<i>Cyclic Voltammetry</i>)
DPV	Voltametria de pulso diferencial (<i>Differential pulse voltammetry</i>)
DA	Dopamina
DCM	Diclorometano
EQM	Eletrodos quimicamente modificados
GCE	Eletrodo de carbono vítreo (<i>Glassy Carbon Electrode</i>)
GOD	<i>Glucose oxidase</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
H ₂ P	Porfina
H ₂ TThP	<i>Meso</i> -tetra-(2-tienil)-porfirina
HOMO	Orbital molecular ocupado de mais alta energia (<i>highest occupied molecular orbital</i>)
HPLC-MS	Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LUMO	Orbital molecular desocupado de mais baixa energia (<i>Lowest Unoccupied molecular orbital</i>)
MeOH	Metanol
PTBA	Perclorato de tetrabutilamônio
SAM	Monocamada auto-organizada (<i>Self-assembled monolayers</i>)

SWCNT	Nanotubos de carbono de parede simples (<i>Single-walled carbon nanotubes</i>)
SWV	Voltametria de onda quadrada (<i>Square-wave voltammetry</i>)
TNT	Trinitrotolueno
E_p	Potencial de pico
I_p	Corrente de pico
k^o	Constante de transferência heterogênea de elétrons
n	Número de elétrons
v	Velocidade de varredura
Ψ	Parâmetro cinético da equação de Nicholson

Lista de tabelas

TABELA 4.1. Comparativo entre o desempenho do GCE e poli-[Cu(II)TThP]/GCE para a determinação de DA	55
TABELA 4.2 - Parâmetros experimentais estudados para as técnicas de SWV e DPAV e os respectivos valores selecionados para a determinação de DA	60
TABELA 4.3 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de DA utilizando as técnicas de SWV e DPV	62
TABELA 4.4 - Resultados obtidos para a determinação voltamétrica de DA em amostras biológicas sintéticas de urina e soro humano (n = 3)	64

Lista de figuras

FIGURA 1.1 - Estrutura da porfina.....	1
FIGURA 1.2 - Numeração dos átomos do anel porfirínico segundo a IUPAC....	2
FIGURA 1.3 - Esquema geral da estrutura das tienil porfirinas.....	4
FIGURA 4.1 - Ilustração da proposta de imobilização do [Cu(II)TThP] sobre o eletrodo de ouro.....	20
FIGURA 4.2 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o [Cu(II)TThP]/AuE em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) contendo DA em diferentes concentrações: a = branco, b = 1.0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , c = 2.0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ e d = 3.0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ . $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	21
FIGURA 4.3 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L ⁻¹ /DCM. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	22
FIGURA 4.4 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L ⁻¹ /DCM. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	24
FIGURA 4.5 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em solução de eletrólito suporte PTBA/DCM 0,1 mol L ⁻¹ (preto) e para uma solução de [Cu(II)TThP] 1 mmol L ⁻¹ diluída no eletrólito suporte (vermelho) . $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	25
FIGURA 4.6 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L ⁻¹ /DCM contendo [Cu(II)TThP] 1 mmol L ⁻¹ . $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	26
FIGURA 4.7 - Voltamogramas cíclicos sucessivos (25 ciclos) obtidos para uma solução de [Cu(II)TThP] 1 mmol L ⁻¹ em PTBA0,1 mol L ⁻¹ /DCM utilizando-se o eletrodo de ouro. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	27
FIGURA 4.8 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o poli-[Cu(II)TThP]/AuE em solução de tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) cotendo DA em diferentes concentrações: a) 0,00 (branco), b) 0,05, c) 0,09, d) 0,15, e) 0,20, f) 0,25 e g) 0,29 mmol L ⁻¹ . (B) Curva analítica correspondente.....	28
FIGURA 4.9 - Ilustração da estrutura do [Cu(II)TThP].	30

FIGURA 4.10 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o GCE solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L ⁻¹ /DCM contendo [Cu(II)TThP] 50 μmol L ⁻¹ . $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	31
FIGURA 4.11 - Esquema de reações eletroquímicas de uma metaloporfirina. Adaptado da Ref. 45.....	32
FIGURA 4.12 - Ilustração da estrutura do [Cu(II)P].	33
FIGURA 4.13 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o GCE na em solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L ⁻¹ /DCM contendo [Cu(II)P] 50 μmol L ⁻¹ . $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	34
FIGURA 4.14 - Ilustração da estrutura do H ₂ TThP.....	35
FIGURA 4.15 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o GCE em solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L ⁻¹ /DCM contendo H ₂ TThP 50 μmol L ⁻¹ . $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	36
FIGURA 4.16 - Ilustração da estrutura da porfina (H ₂ P).	37
FIGURA 4.17 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de H ₂ P 1,0 μmol L ⁻¹ preparada em DCM.	38
FIGURA 4.18 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de [Cu(II)P] 1,0 μmol L ⁻¹ em DCM.	39
FIGURA 4.19 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de H ₂ TThP 1,0 μmol L ⁻¹ em DCM.	39
FIGURA 4.20 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de [Cu(II)TThP] 1,0 μmol L ⁻¹ em DCM.	41
FIGURA 4.21 - Proposta de mecanismo de reação para os picos I e II.	42
FIGURA 4.22 - Proposta de mecanismo de reação para os picos III e IV.	43
FIGURA 4.23 - Proposta de mecanismo de reação para os picos V e VI.	43
FIGURA 4.24 - Voltamogramas cíclicos ($n = 20$) obtidos utilizando-se o GCE em solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L ⁻¹ /DCM contendo [Cu(II)TThP] 50 μmol L ⁻¹ para a formação do poli- [Cu(II)TThP]/GCE. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	45

FIGURA 4.25 - Proposta de mecanismo de reação para a formação do poli-[Cu(II)TThP].	46
FIGURA 4.26 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura para o GCE (A), poli-[Cu(II)TThP]/GCE sem limpeza da superfície (B), poli-[Cu(II)TThP]/GCE lavado com metanol (C) e poli-[Cu(II)TThP]/GCE lavado com diclorometano (D).	47
FIGURA 4.27 - Espectros Raman para o [Cu(II)TThP] (vermelho) e o poli-[Cu(II)TThP] (azul).	49
FIGURA 4.28 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de DA $1,76 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ preparada em tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ a diferentes pHs usando o poli-[Cu(II)TThP]/GCE. (B) I_{pa} vs. pH. $v = 50$ mV s ⁻¹	51
FIGURA 4.29 - Relação entre o potencial de pico anódico e pH.	52
FIGURA 4.30 - Reação de eletrooxirredução proposta para a molécula de DA (Adaptado da Ref. 60).	52
FIGURA 4.31 - Voltamogramas cíclicos obtidos na presença de DA 2,41 μ mol L ⁻¹ obtidos com o poli-[Cu(II)TThP]/GCE (vermelho) e GCE (preto) em tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0). $v = 50$ mV s ⁻¹	53
FIGURA 4.32 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o GCE em tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) para diferentes concentrações de DA: a = 3,61 b = 5,97, c = 8,31, d = 10,60, e e = 12,90 μ mol L ⁻¹	54
FIGURA 4.33 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o poli-[Cu(II)TThP]/GCE em tampão fosfato 0,2 mol L ⁻¹ (pH = 7,0) para diferentes concentrações de DA: a = 0,25, b = 0,49, c = 0,73, d = 0,97, e = 1,21, f = 3,61, g = 5,97, h = 8,31, i = 10,60 e j = 12,90 μ mol L ⁻¹	54
FIGURA 4.34 - Curvas analíticas obtidas para DA utilizando-se o GCE (vermelho, FIGURA 4.32) e o poli-[Cu(II)TThP]/GCE (preto, FIGURA 4.33).	55
FIGURA 4.35 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial (10 – 500 mV s ⁻¹) para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE em	

solução de DA $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0). (B) Gráfico com o registro de I_p vs. $v^{1/2}$ para correntes de pico anódica (I_a) e catódica (I_c).....	56
FIGURA 4.36 - Gráfico da relação entre $\log I_a$ vs. $\log v$	57
FIGURA 4.37 - Gráfico de Ψ vs. $26,33 v^{-1/2}$ obtido para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE em solução de DA $3,0 \times \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0)..	59
FIGURA 4.38 - (A) Voltamogramas de SWV obtidos para diferentes concentrações de DA: a = branco b = 0,058, c = 0,113, d = 0,278, e = 0,415, f = 0,685, g = 0,950, h = 1,209, i = 1,465, j = 2,784 e k = 4,091 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (Inserida a curva analítica obtida). (B) Voltamogramas de DPV obtidos para diferentes concentrações de DA: a = branco b = 0,366, c = 0,488, d = 0,725, e = 0,961, f = 1,194 e g = 1,424 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (Inserida a curva analítica obtida).	62

Resumo

DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS MODIFICADOS COM *MESO*-TETRA-(2-TIENIL)-PORFIRINATO DE COBRE (II) PARA A DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA EM

AMOSTRAS BIOLÓGICAS-Neste trabalho foram construídos sensores eletroquímicos de ouro (Au) e de carbono vítreo (GC) modificados com o *meso*-tetra-(2-tienil)-porfirinato de cobre (II) ([Cu(II)TThP]) Para este fim, foram avaliados como eletrodo base os eletrodos de ouro e de carbono vítreo (GCE, do inglês “Glassy Carbon Electrode”) e como procedimentos de modificação os métodos de *drop coating* (para o eletrodo de ouro) e eletropolimerização oxidativa (para ambos eletrodos). Os estudos iniciais baseados na utilização do eletrodo de ouro não forneceram resultados satisfatórios, levando a substituição deste pelo eletrodo de carbono vítreo para os estudos posteriores, assim, a busca pela otimização de um procedimento de modificação adequado resultou na realização de estudos sobre as propriedades eletrônicas e eletroquímicas do complexo [Cu(II)TThP]. Desta forma, realizou-se estudos dos processos de oxirredução deste composto por voltametria cíclica, utilizando-se moléculas com grupos similares para comparação e posterior atribuição dos picos anódicos e catódicos obtidos para o [Cu(II)TThP]. Além disso, realizaram-se ensaios de espectroscopia UV-Visível para os compostos utilizados nos estudos eletroquímicos, a partir dos quais foi possível verificar a contribuição eletrônica do metal complexado, do anel porfirínico e dos grupos tiofeno. Assim, a técnica de eletropolimerização do [Cu(II)TThP] sobre o eletrodo de carbono vítreo foi selecionada para a preparação do sensor eletroquímico baseado no complexo proposto. A eletropolimerização do [Cu(II)TThP] foi realizada utilizando-se a técnica de voltametria cíclica, e a formação das camadas de poli-[Cu(II)TThP] foi monitorada por meio do incremento de corrente observado para os processos redox a cada ciclo subsequente. A formação do filme polimérico sobre o eletrodo de carbono vítreo foi confirmada por meio de estudos de caracterização morfológica, obtendo-se

imagens por microscopia eletrônica de varredura de alta resolução, e estudos de espectroscopia Raman. A partir de estudos de voltametria cíclica conduzidos para dopamina, foi determinada uma elevada constante de transferência heterogênea de elétrons igual a $2,73 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ para o eletrodo de poli-[Cu(II)TThP]/GCE, quando comparado ao eletrodo de carbono vítreo ($3,53 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$), mostrando o bom desempenho eletroquímico do sensor proposto. Em seguida, um método voltamétrico para a determinação de dopamina foi desenvolvido. Utilizando-se a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês “Square-Wave Voltammetry”) sob condições otimizadas, a curva analítica construída para a dopamina foi linear no intervalo de 0,0575 a 4,091 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um limite de detecção de 40,9 nmol L^{-1} . O procedimento voltamétrico proposto foi aplicado com sucesso na determinação de dopamina em amostras biológicas sintéticas (urina e soro humano).

Abstract

DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL SENSORS MODIFIED WITH COOPER (II) *MESO*-TETRA-(2-THIENYL)-PORPHIRINATE FOR DETERMINATION OF DOPAMINE IN BIOLOGICAL SAMPLES – In this work, was built gold (Au) and glassy carbon (GC) electrochemical sensors modified with cooper (II) *meso*-tetra-(2-thienyl)-porphyrinate ([Cu(II)TThP]) and the GC modified electrode was applied for dopamine determination. For this, they where evaluated the gold electrode and glassy carbon electrode as substract and for electrode modification, was studied the drop coating (for gold electrode) and oxidative electropolymerization (for both electrodes) procedures. Studies based on the use of gold electrode did not obtain satisfactory results, however, the search for the optimization of an appropriate modification procedure led to studies on the electronic properties and electrochemical of [Cu(II)TThP]. Thus, studies were made of the redox processes of this compound by cyclic voltammetry, using molecules with similar groups for comparison and subsequent allocation of anodic and cathodic peak obtained for [Cu(II)TThP]. In addition, it performed tests by spectrophotometry UV-Visible for the compounds used in the electrochemical assay, thus knowing the electronic contribution of the complexed metal of the porphyrin ring and thiophene groups. Thus, electropolymerization of [Cu(II)TThP] on the glassy carbon electrode was carried out using the technique of cyclic voltammetry, monitoring the formation of layers of poly-[Cu(II)TThP] using the observed current increment done every cycle. The formation of the polymer film on the glassy carbon electrode was confirmed by morphological characterization studies, obtaining images by electron microscopy high resolution scan and Raman spectroscopy. From Cyclic voltammetry studies conducted to dopamine, one constant high heterogeneous electron transfer was diagnosed ($2.73 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$) for the poli-[Cu(II)TThP] electrode, where compared with glassy carbon electrode ($3.53 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$) showing good electrochemical performance

of the proposed sensor. Then, volumetric methods for the determination of dopamine was developed. Using the square wave voltammetry technique (SWV) under optimized conditions, the analytical curves for dopamine was linear in the range of 0.0575 to 4.091 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with a 40.9 nmol L^{-1} for limit of detection. The proposed voltammetric procedure was efficiently applied to determine dopamine synthetic biological samples (urine and human serum).

Sumário

1 - INTRODUÇÃO	1
1.1 - Porfirinas.....	1
1.1.1 - Nomenclatura.....	2
1.1.2 - Características das porfirinas.....	3
1.1.3 - Tienil porfirinas	3
1.2 - Eletrodos quimicamente modificados	5
1.2.1 - Camadas auto-organizadas	5
1.2.2 - Polímeros condutores	6
1.3 - Aplicação de tienil porfirinas em eletroanalítica.....	7
1.4 - Dopamina.....	8
2 - OBJETIVOS	10
2.1 - Objetivo geral	10
2.2 - Objetivos específicos.....	10
3 - PARTE EXPERIMENTAL	11
3.1 - Reagentes e soluções	11
3.2 - Instrumentação.....	11
3.3 - Síntese e caracterização do [Cu(II)TThP]	12
3.3.1 - Síntese do [Cu(II)TThP].....	12
3.3.2 – Caracterização do [Cu(II)TThP].....	13
3.3.2.1 – Caracterização eletroquímica.....	13
3.3.2.2 – Caracterização espectrofotométrica	14
3.4 - Modificação dos eletrodos.....	14
3.4.1 – <i>Drop coating</i>	14
3.4.2 – Eletropolimerização oxidativa	15
3.5 - Caracterização do eletrodo poli-[Cu(II)TThP]/GCE.....	16
3.5.1 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	16
3.5.2 – Espectroscopia Raman	16
3.6 - Procedimentos analíticos	17

3.6.1 - Preparação das amostras biológicas sintéticas	17
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 - Modificação de um eletrodo de ouro com [Cu(II)TThP].....	19
4.2 - Modificação de um eletrodo de ouro com poli-[Cu(II)TThP]	22
4.3 – Modificação de um eletrodo de carbono vítreo com poli-[Cu(II)TThP]29	
4.3.1 – Caracterização eletroquímica.....	29
4.3.1.1 – [Cu(II)TThP].....	30
4.3.1.2 – [Cu(II)P].....	32
4.3.1.3 – H ₂ TThP.....	35
4.3.2 – Caracterização por espectrofotometria UV-Vis.....	36
4.3.3 - Proposta para os mecanismos redox do [Cu(II)TThP].....	42
4.3.4 - Eletropolimerização do [Cu(II)TThP] sobre GCE	44
4.3.5 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	46
4.3.6 – Espectroscopia Raman	48
4.4 - Desempenho analítico do poli-[Cu(II)TThP]/GCE para determinação de dopamina	50
4.4.1 - Estudo do efeito da concentração hidrogeniônica.....	50
4.4.2 - Comparação entre o GCE e o poli-[Cu(II)TThP]/GCE.....	52
4.4.3 - Estudo da cinética de transferência de elétrons para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE.....	56
4.5 - Determinação voltamétrica de dopamina utilizando o poli-[Cu(II)TThP]/GCE.....	59
4.5.1 - Determinação de DA por voltametria de onda quadrada e de pulso diferencial.....	59
4.5.2 - Estudos da repetibilidade.....	62
4.5.3 - Determinação de dopamina em amostras biológicas sintéticas	63
5 - CONCLUSÕES	65
6 - REFERÊNCIAS.....	68

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Porfirinas

As porfirinas são uma classe de compostos macrocíclicos presentes em sistemas biológicos que desempenham um importante papel no metabolismo de diversos seres vivos. O nome porfirina deriva do grego “*porphus*”, que significa púrpura, a coloração típica da porfina. A porfirina de base livre que é a estrutura mais simples desta classe de compostos¹, é ilustrada na FIGURA 1.1.

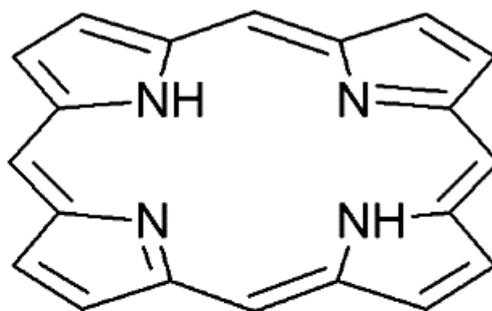


FIGURA 1.1 - Estrutura da porfina.

As porfirinas são macromoléculas policíclicas constituídas por quatro anéis pirrólicos ligados entre si através de pontes *meso*-metino (pontes de um carbono), apresentando uma geometria planar com 11 ligações duplas alternadas em sua estrutura, conferindo a esta classe de compostos uma alta estabilidade. A classificação destes compostos varia de acordo com o arranjo e a natureza das cadeias ligadas à estrutura porfirínica.

A primeira proposta correta acerca da estrutura da porfirina foi descrita por Küster² em 1912, ao realizar estudos sobre a cisão oxidativa de maleimidias. Esta proposta foi prontamente refutada pela comunidade científica, principalmente por pesquisadores mais conceituados da época, como Willstätter e Fischer.

Ironicamente, mais tarde, estes dois pesquisadores foram laureados com o Prêmio Nobel de Química, Willstätter, em 1915 devido aos estudos de pigmentos vegetais, principalmente, a clorofila³ e Fischer pela síntese e elucidação estrutural da hemina (ferro protoporfirina IX – pigmento responsável pela coloração vermelha do sangue), e suas relações com a clorofila⁴ em 1930.

As metaloporfirinas desempenham um papel importante na atividade biológica, cujas funções são diversificadas, incluindo o transporte e armazenamento de oxigênio na hemoglobina e mioglobina, a transferência eletrônica nos citocromos e biocatálise (catalase, peroxidase, etc.)⁵.

1.1.1 - Nomenclatura

Segundo recomendação da IUPAC⁶ (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), todos os átomos do anel porfirínico seguem uma numeração conforme ilustrado na FIGURA 1.2. Desta forma, as posições 5, 10, 15 e 20 correspondem aos átomos de carbono metilênicos sendo denominadas posições α ou *meso*. As posições 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 e 18 são as posições correspondentes aos átomos de carbono do anel pirrólico que não estão ligados diretamente aos carbonos de posição *meso*, estas posições são chamadas de β ^{7,8}.

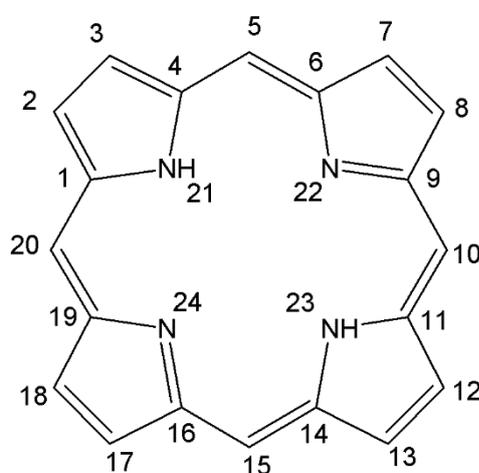


FIGURA 1.2 - Numeração dos átomos do anel porfirínico segundo a IUPAC⁶.

Quando a porfirina é tetrassubstituída na posição *meso*, e todos os grupos substituintes são iguais, pode-se usar o prefixo *tetrakis*. Quando a porfirina está coordenada a um cátion metálico, esta é denominada metaloporfirina, e quando os átomos de nitrogênio nas posições 21 e 23 estão ligados ao átomo de hidrogênio, a porfirina é denominada de base livre.

1.1.2 - Características das porfirinas

O anel porfirínico é um ligante tetradentado, que contém cavidade disponível para coordenar-se com espécies metálicas com diâmetro máximo de 3,7 Å, formando complexos de alta estabilidade. Íons metálicos como o Cu (II), Ni (II) e Co (II) possuem baixa afinidade para receber ligantes adicionais (quando já complexados à porfirina), porém, metaloporfirinas como o Mg (II), Zn (II) ou Cd (II) são facilmente coordenados por um ou mais ligantes adicionais, formando complexos com geometria piramidal de base quadrada⁹.

As metaloporfirinas são excelentes complexantes e catalisadores e, tem aumentado o interesse de sua aplicação no desenvolvimento de métodos analíticos diversos⁶. Além disso, estudos envolvendo as porfirinas têm sido explorados na área médica, devido às suas características diferenciadas como grande afinidade por células tumorais, atividade fotodinâmica e intensa absorção em comprimento de onda em torno de 600 nm, região a qual os tecidos biológicos absorvem luz¹⁰.

1.1.3 - Tienil porfirinas

Tienil porfirinas constituem uma classe de porfirinas que contém um ou mais grupos tiofeno (substituído ou não) ligados nas posições *meso* ou β do anel porfirínico (FIGURA 1.3).

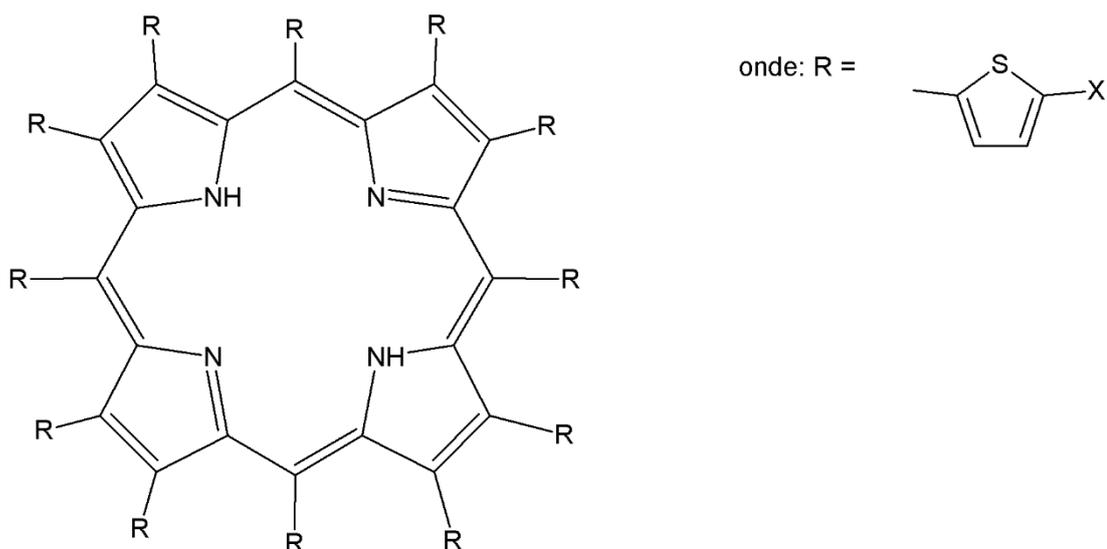


FIGURA 1.3 - Esquema geral da estrutura das tienil porfirinas.

As propriedades do anel porfirínico são facilmente moduladas ao anexar grupos radicais ligantes à sua estrutura e também variando-se o centro metálico coordenado. Algumas propriedades que podem ser exemplificadas são o aumento da polarizabilidade da molécula, sua reatividade ou mesmo suas propriedades redox¹¹.

O acoplamento de grupos tiofeno ao anel porfirínico é uma proposta atrativa, tendo em vista as conhecidas propriedades eletrônicas e eletroquímicas destes compostos isoladamente^{7,12}. Desta forma, as tienil porfirinas têm sido exploradas em diversos segmentos, tais como estudos de transferência eletrônica¹³, eletrocatalise¹⁴, células fotovoltaicas¹⁵ entre outros.

As tienil porfirinas apresentam uma estrutura *quasi*-planar dos grupos tiofeno em relação ao anel porfirínico¹⁶ e, desta forma, estes grupos contribuem com o sistema π da molécula como um todo. Esta conformação espacial da molécula permite a formação de um filme ultrafino *quasi*-bidimensional¹⁷.

Devidos a todas as propriedades mencionadas, as tienil porfirinas têm atraído interesse na área de eletroanalítica no desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos.

1.2 - Eletrodos quimicamente modificados

Usualmente, a modificação da superfície de um eletrodo é realizada quando uma função eletroquímica é dificultada ou impossível de ser realizada utilizando um sensor convencional, conferindo ao sensor modificado características como aumento de sensibilidade, seletividade, estabilidade química e eletroquímica, ou mesmo aumento da janela de potencial de trabalho¹⁸.

Eletrodos quimicamente modificados (EQM) são sensores condutores ou semicondutores recobertos com materiais moleculares, multi moleculares, iônicos ou filmes poliméricos com o objetivo de alterar as propriedades (ópticas, eletroquímicas, etc.) do substrato base¹⁹. Idealmente, as propriedades das camadas ou filmes podem conferir uma função específica ao sensor. Para isso, utilizam-se técnicas de caracterização da superfície em nível molecular para melhor compreensão das interfaces modificadas. Estas técnicas não só fornecem informações acerca da função do modificador como também permite um refinamento da estratégia de modificação para melhorar ainda mais o seu desempenho²⁰.

Os EQMs podem ser classificados de acordo com o método de fixação entre a película e o substrato e a composição desta película. Neste trabalho, serão abordados os EQMs dos tipos camadas auto-organizadas e filmes poliméricos condutivos.

1.2.1 - Camadas auto-organizadas

Sensores modificados do tipo camadas auto-organizadas são formados por meio de um modificador com um grupo funcional específico que possua afinidade química com o substrato utilizado, fixando o modificador por adsorção química. Estas camadas monomoleculares, preparadas por adsorção química são conhecidas como monocamadas auto-organizadas (“SAMs”, do

inglês *Self Assembled Monolayers*). Estas camadas podem ser utilizadas diretamente para conferir uma função a um eletrodo, bem como servir de substrato para arquiteturas mais complexas. O grupo funcional é responsável pela maior parte da energia de auto-organização, enquanto a cadeia influencia fortemente as propriedades interfaciais do sensor. Eletrodos modificados com SAMs são usualmente fabricados por imersão do substrato em uma solução diluída do precursor por um tempo determinado, e depois lavado com o solvente puro¹⁸.

Muitos compostos com grupos funcionais contendo enxofre sofrem adsorção química em substratos metálicos, e um número grande de trabalhos tem sido descritos na literatura utilizando-se de SAMs para modificação de eletrodos metálicos^{21,22}. Tióis e dissulfetos adsorvem-se espontaneamente em substratos de ouro, e também em outros metais (prata, platina, cobre e mercúrio), porém, o substrato de ouro é normalmente mais utilizado por ser relativamente mais inerte. Apesar das SAMs serem capazes de formar uma densa camada sobre o substrato, muitas variações sutis, principalmente durante os estágios iniciais de formação, podem causar variações na estrutura microscópica do filme, e estas variações podem alterar significativamente as propriedades do sensor^{23,24}.

A principal limitação das SAMs é a necessidade de um grupo funcional específico para a organização da camada sobre o substrato²⁵. Apesar disso, as SAMs têm sido uma forma fácil para ligar uma grande variedade de funcionalizações no substrato, e por isso são exploradas na fabricação de sensores eletroquímicos, pois estas funcionalidades apresentadas pelas SAMs podem modular facilmente a seletividade do sensor para um analito de interesse^{26,27}.

1.2.2 - Polímeros condutores

Polímeros condutores constituem uma classe especial de materiais poliméricos caracterizados por possuir propriedades estruturais (como ligações π altamente conjugadas) que facilitam a condução de elétrons através das bandas

eletrônicas deslocalizadas. O mecanismo de transferência eletrônica ocorre através do movimento dos elétrons entre os estados de energia sobrepostos e desocupados²⁸. A condutividade intrínseca destes materiais orgânicos (geralmente compostos simplesmente de carbono e hidrogênio e heteroátomos como enxofre e nitrogênio) e suas propriedades surgem exclusivamente da conjugação π de sua estrutura.

Apesar de existirem diversas formas de obtenção de sensores modificados com polímeros condutores, o procedimento mais utilizado é a eletropolimerização²⁹. Uma das vantagens da modificação de um eletrodo por eletropolimerização é a de produzir um filme diretamente no substrato utilizado.

1.3 - Aplicação de tienil porfirinas em eletroanalítica

Como mencionado na seção 1.1.3, devido às propriedades eletrônicas apresentadas pelas tienil porfirinas, a sua utilização vem despertando interesse em diversas áreas de pesquisa, inclusive na fabricação de sensores eletroquímicos e biossensores.

Para a detecção dos explosivos 2,4-dinitrotolueno (2,4-DNT), trinitrotolueno (TNT) e trinitrofenil-N-ciclotrimetilenotrinitramina (Tetril), desenvolveu-se um sensor baseado em um filme de poli-(H₂TThP)³⁰. O polímero foi depositado em um eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês “Glassy Carbon Electrode”) por voltametria cíclica (CV, do inglês “Cyclic Voltammetry”) a partir de uma solução do monômero. Com este sensor modificado, obteve-se um limite de detecção de 8 ppb para o 2,4-DNT, 9 ppb para o TNT e 96 ppb para o Tetril utilizando-se a técnica de voltametria de pulso diferencial.

Vélez *et al.*³¹ construíram um sensor modificado com poli-[Co(II)TThP] para a eletrooxidação de sulfitos em soluções aquosas. Neste trabalho foi relatada a estabilidade do sensor que manteve sua atividade depois de vários dias de sua utilização. Empregando-se a técnica amperométrica foi obtida

uma curva analítica linear no intervalo de concentração de sulfito de $1,0 \times 10^{-7}$ a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Esta mesma tienil porfirina foi utilizada na obtenção de um biossensor por Chen *et al*³². Para isto, foi eletropolimerizado o poli-[Co(II)TThP] sobre o GCE e, em seguida, foi depositado sobre a superfície do eletrodo modificado 10 μL de uma dispersão contendo nanotubos de carbono com paredes simples (SWCNTs, do inglês “Single-Walled Carbon Nanotubes”), Nafion e a enzima glicose oxidase (GOD). O biossensor pCoTTP-SWNTs-Nafion-GOD/GCE foi utilizado para a determinação de glicose, sendo monitorado a redução eletroquímica do oxigênio (o O_2 oxida a glicose a ácido glicônico e peróxido de hidrogênio catalisada pela *glicose oxidase*), obtendo-se uma sensibilidade de $16,57 \text{ mA mol L}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ e um limite de detecção de $5,33 \mu\text{mol L}^{-1}$ pela técnica de amperometria.

1.4 - Dopamina

A dopamina é um neurotransmissor da família das catecolaminas, que desempenha um importante papel no sistema nervoso central, sendo um dos responsáveis por diversas funções, entre elas o controle de movimentos, a cognição, memória, regulação das funções renais, hormonais e cardiovasculares³³.

O nível de dopamina³⁴ considerado normal no sangue encontra-se na faixa de $0,1$ a $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo que uma concentração fora deste intervalo de concentração é um indicativo de distúrbios funcionais do cérebro, como déficit de atenção, transtornos de humor ou hiperatividade, ou mesmo pode indicar doenças neurodegenerativas, como o mal de Parkinson e esquizofrenia³⁵.

Diversos métodos são utilizados para a determinação de dopamina, tais como cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas (HPLC-MS, do inglês “*High Performance Liquid*

Chromatography coupled to Mass Spectrometry”³⁶, eletroforese capilar³⁷, espectrofotometria³⁸, entre outros.

A utilização de métodos eletroquímicos para a determinação de dopamina mostra-se como uma alternativa interessante, por se tratar de métodos de detecção rápida, de relativa simplicidade operacional, além da possibilidade de miniaturização do sistema, sendo possível uma menor geração de resíduos, o que não é possível utilizando-se os métodos convencionais de análise. Neste campo, foi desenvolvido, por exemplo, um sensor para a determinação de dopamina³⁹ baseado na modificação de um eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono e o complexo $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+}$ utilizando a técnica de amperometria, obtendo-se uma faixa linear de concentração de 5 a 453 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de 1,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Wang *et al.*⁴⁰ determinaram dopamina empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com um compósito contendo óxido de grafeno e L-tirosina, obtendo-se uma curva analítica num intervalo de concentração deste analito de 1 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e um limite de detecção de 0,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral

O presente trabalho de mestrado teve como objetivo geral o desenvolvimento, caracterização e aplicação de um novo sensor eletroquímico baseado na modificação de um eletrodo base (*eg.* Au e GC) com a porfirina tetra-(2-tienil)-porfirinato de cobre (II) ([Cu(II)TThP] para o desenvolvimento de um procedimento voltamétrico para a determinação de dopamina em amostras biológicas.

2.2 - Objetivos específicos

- Modificar um eletrodo de ouro com o [Cu(II)TThP] pelos métodos de *drop coating* e eletropolimerização para a determinação de dopamina;
- Investigar as propriedades eletrônicas e eletroquímicas do [Cu(II)TThP] para elucidação dos processos de oxirredução e polimerização desta porfirina;
- Desenvolver um procedimento para a construção um eletrodo de carbono vítreo modificado com poli-[Cu(II)TThP];
- Desenvolver e aplicar ,um procedimento voltamétrico para a detecção de dopamina em amostras biológicas sintéticas utilizando-se o poli-[Cu(II)TThP]/GCE como sensor eletroquímico.

3 - PARTE EXPERIMENTAL

3.1 - Reagentes e soluções

Padrão de cloridrato de dopamina (DA) foi adquirido da Sigma-Aldrich (grau de pureza > 99,9%), e perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) foi adquirido da Acros (grau de pureza > 99%). Diclorometano (DCM) de grau HPLC foi adquirido da Panreac e o *meso*-tetra(2-tienil)-porfirinato de cobre (II) – [Cu(II)TThP] – foi sintetizado no Laboratório de Síntese Bio-Orgânica, coordenado pelo Prof. Dr. Kléber Thiago de Oliveira. Todos os demais reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (resistividade > 18,0 MΩ cm) obtida em um sistema Millipore Milli-Q (Billerica, EUA).

3.2 - Instrumentação

Para as análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi utilizado um Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL6330. Os espectros Raman foram coletados em um Espectroscópio Raman portátil iRaman BWS415, com laser vermelho (comprimento de onda de excitação de 785 nm).

Um pHmetro modelo Orion EA 94 equipado com um eletrodo de vidro e um eletrodo de referência externo Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) foi usado na determinação do pH das soluções.

Os ensaios eletroquímicos foram realizados utilizando um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT-12 (Eco Chemie, Holanda) controlado pelo software GPES 4.9. Uma célula eletroquímica tradicional de três eletrodos de compartimento único (15 mL) foi empregada, utilizando como eletrodos de trabalho os eletrodos de ouro e de carbono vítreo (GCE), um eletrodo

de referência de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e uma folha de platina como contra-eletrodo.

Um espectrofotômetro Shimadzu UV-2550 foi utilizado para a realização dos ensaios de caracterização espectrofotométrica.

3.3 - Síntese e caracterização do [Cu(II)TThP]

3.3.1- Síntese do [Cu(II)TThP]

O procedimento de síntese do [Cu(II)TThP] foi baseado em duas etapas, primeiro a síntese da *meso*-tetra(2-tienil)-porfirina (H₂TThP) e, em seguida, a coordenação do Cu²⁺ à esta molécula. Cada uma destas etapas são apresentadas em detalhes a seguir.

- **Primeira etapa: Síntese do H₂TThP**

Dissolveram-se 0,347 mL de pirrol (5 mmol), 0,467 mL de 2-tiofenocarboxaldeído (5 mmol) e 0,347 g de NH₂OH·HCl (5 mmol) em 25 mL de monoclorobenzeno anidro. Esta mistura reacional foi mantida sob agitação constante por um período de 24 horas à temperatura ambiente.

Em seguida, adicionaram-se 20 mL de nitrobenzeno e a mistura foi aquecida a 130 °C por 2 horas. Em sequência, o monoclorobenzeno e o nitrobenzeno foram retirados da mistura reacional empregando-se uma destilação a vácuo. O produto obtido a partir desta reação foi precipitado com adição de dimetilsulfóxido (DMSO) e metanol (MeOH) e, em seguida, filtrado.

O precipitado obtido foi purificado por recristalização utilizando-se uma mistura de CHCl₃/MeOH em uma razão volumétrica 1:2 (v:v). Esse processo foi repetido cinco vezes, obtendo-se, assim, o H₂TThP na forma de um sólido

púrpura. O rendimento desta reação foi de 36%, obtendo-se 0,2907 g (0,455 mmol) da porfirina.

- **Segunda etapa: Síntese do [Cu(II)TThP]**

Dissolveram-se 0,101 g de H₂TThP (0,158 mmol) e 1,0 g de Cu(OAc)₂.H₂O (5 mmol) em 10 mL de dimetilformamida (DMF). A mistura foi mantida sob refluxo por um período de 3 h.

O produto obtido nesta etapa foi purificado por recristalização, utilizando 60 mL de MeOH e 90 mL de água destilada. O sólido obtido foi filtrado e, em seguida, lavado com MeOH gelado. O rendimento desta síntese foi de 92%, obtendo-se 0,102 g de [Cu(II)TThP] (0,145 mmol).

3.3.2 - Caracterização do [Cu(II)TThP]

3.3.2.1 - Caracterização eletroquímica

Os ensaios de caracterização eletroquímica de todos os complexos envolvidos neste trabalho foram realizados por voltametria cíclica (CV). Foram preparadas soluções de [Cu(II)TThP], [Cu(II)P] (porfirinato de cobre (II)) e H₂TThP em eletrólito suporte PTBA (0,1 μmol L⁻¹)/DCM, ambas com concentração de 50 μmol L⁻¹.

Uma alíquota de 10 mL da solução do complexo foi transferida para uma célula eletroquímica acoplada com os eletrodos de referência (Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹), o contra-eletródo de platina e o GCE. Em seguida, a solução foi submetida a um fluxo de N₂ por 10 minutos para a completa desoxigenação da solução. Em seguida, foi realizada a caracterização do complexo por CV em uma janela de potencial de trabalho de 0 a +1,5 V e velocidade de varredura de 50 mV

s⁻¹. Durante as medidas de CV, foi mantido o fluxo de N₂ no *headspace* da célula eletroquímica.

3.3.2.2 - Caracterização espectrofotométrica

Os ensaios de caracterização espectrofotométrica dos complexos ([Cu(II)TThP], [Cu(II)P] e H₂TThP) foram realizados utilizando-se uma solução de cada um dos compostos em DCM com concentração de 1,0 μmol L⁻¹.

Foram utilizadas duas cubetas de quartzo neste ensaio, uma delas foi preenchida com DCM para a medida do branco e a outra com a solução contendo o complexo a ser analisado.

As medidas espectrofotométricas foram feitas no intervalo de comprimento de onda de 300 a 800 nm para todos os compostos estudados.

3.4 - Modificação dos eletrodos

Para a obtenção dos eletrodos modificados, foram avaliados dois procedimentos: *drop coating* para o eletrodo de ouro e eletropolimerização oxidativa, utilizada para o eletrodo de ouro e o GCE.

3.4.1 - *Drop coating*

Inicialmente, realizou-se o procedimento de limpeza do eletrodo de ouro. Este eletrodo foi polido em um disco confeccionado com veludo contendo alumina com partículas de 0,5 μm com o auxílio de uma politriz. Em seguida, o eletrodo foi submerso em um béquer contendo isopropanol e submetido a um banho ultrassônico por 5 minutos e, posteriormente, lavado com água ultrapura. O eletrodo foi submetido novamente ao banho ultrassônico, submerso em um béquer contendo água ultrapura por 5 minutos.

Realizou-se, então, sucessivas ciclagens de potencial para este eletrodo em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Este procedimento foi realizado para a remoção de impurezas remanescentes na superfície do eletrodo, sendo que o número de ciclos de potenciais aplicados foi de 75.

Em seguida, preparou-se uma solução de $[\text{Cu(II)TThP}]$ $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ em DCM e uma alíquota de $8 \mu\text{L}$ desta solução foi depositada sobre o eletrodo de ouro previamente limpo. Após a modificação, aguardou-se um período de 60 minutos para realização dos ensaios voltamétricos utilizando este eletrodo.

3.4.2 - Eletropolimerização oxidativa

Este procedimento foi adotado para a modificação do eletrodo de ouro e GCE. Preparou-se uma solução do eletrólito suporte PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em DCM. Em seguida, utilizando-se eletrólito suporte, preparou-se uma solução de $[\text{Cu(II)TThP}]$ $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Transferiu-se uma alíquota de 10 mL desta solução para uma célula eletroquímica contendo o eletrodo de referência, o contra eletrodo e o eletrodo de trabalho (Au ou GCE).

Logo após, foi realizada a desoxigenação da solução contida na célula eletroquímica empregando-se um fluxo de N_2 por 10 minutos, e este fluxo foi mantido no *headspace* da célula eletroquímica durante o processo de eletropolimerização.

A formação do polímero sobre a superfície do eletrodo de trabalho foi realizada utilizando-se CV e 20 ciclos de potencial na janela de potencial de 0 a $+1,5 \text{ V}$ e uma velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

3.5 - Caracterização do eletrodo poli-[Cu(II)TThP]/GCE

Os estudos de caracterização do eletrodo de carbono vítreo modificado com o poli-[Cu(II)TThP] foram realizados empregando-se as técnicas de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia Raman.

3.5.1 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de MEV foram obtidas empregando-se substratos de carbono vítreo modificados com o filme de poli-[Cu(II)TThP] obtido por eletropolimerização, conforme procedimento descrito no item 3.4.2. Quatro amostras (A, B, C e D) foram submetidas à análise morfológica por MEV. A amostra “A”, foi o substrato de carbono vítreo sem qualquer tipo de modificação, e as demais amostras referem-se aos substratos de carbono vítreo modificados com o poli-[Cu(II)TThP] submetidas à limpeza utilizando diferentes solventes.

Sendo assim, a amostra “B” não recebeu nenhum tipo de limpeza em sua superfície, a amostra “C” foi lavada com metanol e a amostra “D” foi lavada com DCM.

3.5.2 - Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram obtidos empregando-se substratos de carbono vítreo sem nenhuma modificação e modificado com o filme de poli-[Cu(II)TThP] obtido por eletropolimerização ou modificado com uma alíquota de uma solução de [Cu(II)TThP] (monômero). Para o espectro do monômero, foi preparada uma solução de [Cu(II)TThP] $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ em DCM, e uma alíquota de $8 \text{ }\mu\text{L}$ desta solução foi depositada sobre o substrato de carbono vítreo. Após a evaporação do solvente, o procedimento foi repetido.

Para obtenção do espectro Raman para o poli-[Cu(II)TThP], preparou-se o substrato modificado com este polímero de acordo com o procedimento descrito na seção 3.4.2, seguido da limpeza do substrato modificado utilizando-se DCM como solvente.

3.6 - Procedimentos analíticos

Inicialmente, realizou-se estudos para a identificação do melhor eletrólito suporte (composição e pH) para a resposta voltamétrica da dopamina (DA) por CV. Em seguida, as técnicas voltamétricas de Voltametria de Onda Quadrada (SWV, do inglês “Square-Wave Voltammetry”) e de Pulso Diferencial (DPV, do inglês “Differential Pulse Voltammetry”) foram avaliadas para determinação da DA, após a otimização dos parâmetros experimentais de cada técnica. Uma vez selecionadas as condições ótimas de trabalho, construiu-se as respectivas curvas analíticas para cada técnica voltamétrica. Desta forma, a partir das curvas analíticas obtidas, estimaram-se os parâmetros de desempenho analítico, tais como faixa linear de concentrações, sensibilidade (coeficiente angular da curva analítica) e limite de detecção, e selecionou-se a técnica que forneceu os melhores resultados para a continuidade dos estudos analíticos.

Verificou-se a precisão do procedimento voltamétrico a partir de estudos de repetibilidade intra-dia ($n = 10$) e inter-dias ($n = 3$). O procedimento voltamétrico desenvolvido foi empregado na análise da DA em amostras biológicas sintéticas com a adição de uma concentração conhecida do analito. Nas seções seguintes são descritos os procedimentos adotados para preparação das amostras supracitadas.

3.6.1 - Preparação das amostras biológicas sintéticas

Para investigar a potencialidade do procedimento voltamétrico desenvolvido para a determinação de DA em amostras biológicas reais de urina e

soro humano, substitutos sintéticos para tais amostras foram preparados contendo diversas substâncias concomitantes presentes em amostras reais, seguindo procedimentos pré-estabelecidos na literatura^{41,42}.

Para preparação da amostra de urina sintética, 0,73 g de NaCl, 0,40 g de KCl, 0,28 g de CaCl₂.2H₂O, 0,56 g de Na₂SO₄, 0,35 g de KH₂PO₄, 0,25 g de NH₄Cl e 6,25 g de ureia foram dissolvidos em água em um balão volumétrico de 250 mL. No caso da amostra de soro humano 3,0 g de NaCl, 0,16 g de NaHCO₃, 3,5 mg de triptofano, 2,3 mg de glicina, 3,2 mg de serina, 3,7 mg de tirosina, 6,6 mg de fenilalanina, 9,1 mg de lisina, 6,3 mg de histidina, 29,0 mg de ácido aspártico, 9,1 mg de alanina e 10,0 mg de arginina foram dissolvidos em água em um balão volumétrico de 250 mL. As amostras foram, em seguida, fortificadas com concentrações conhecidas de DA, e analisadas diretamente pelos respectivos métodos voltamétricos.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Modificação de um eletrodo de ouro com [Cu(II)TThP]

A modificação do eletrodo de ouro foi realizada, inicialmente, pelo método de *drop coating* e, para tanto, uma solução de [Cu(II)TThP] $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ foi depositada diretamente sobre a superfície do eletrodo de ouro. Esta técnica foi selecionada levando-se em consideração a possibilidade da ocorrência de interações entre os átomos de enxofre presentes no anel tiofênico do complexo e os átomos de ouro do eletrodo utilizado. Este tipo de interação é amplamente explorado na formação de monocamadas auto-organizadas (SAMs), que são obtidas através de interações espontâneas entre o substrato e o grupo funcional do modificador. Usualmente, os eletrodos modificados com SAMs são obtidos através da imersão do substrato na solução diluída do modificador por um determinado intervalo de tempo, seguido da lavagem da superfície do eletrodo com o solvente puro e secagem⁴³. Desta forma, as SAMs podem ser obtidas através de uma grande variedade de tiocompostos, que podem ser funcionalizados, conferindo assim uma função específica ao eletrodo ou mesmo servir como base para arquiteturas de eletrodos mais complexas^{43,44}.

A estratégia de modificação do eletrodo, então, baseou-se na formação de monocamadas auto-organizadas de [Cu(II)TThP], imobilizando-o através das ligações entre o enxofre do tiofeno com os átomos de ouro do eletrodo de ouro, conforme ilustrado na FIGURA 4.1.

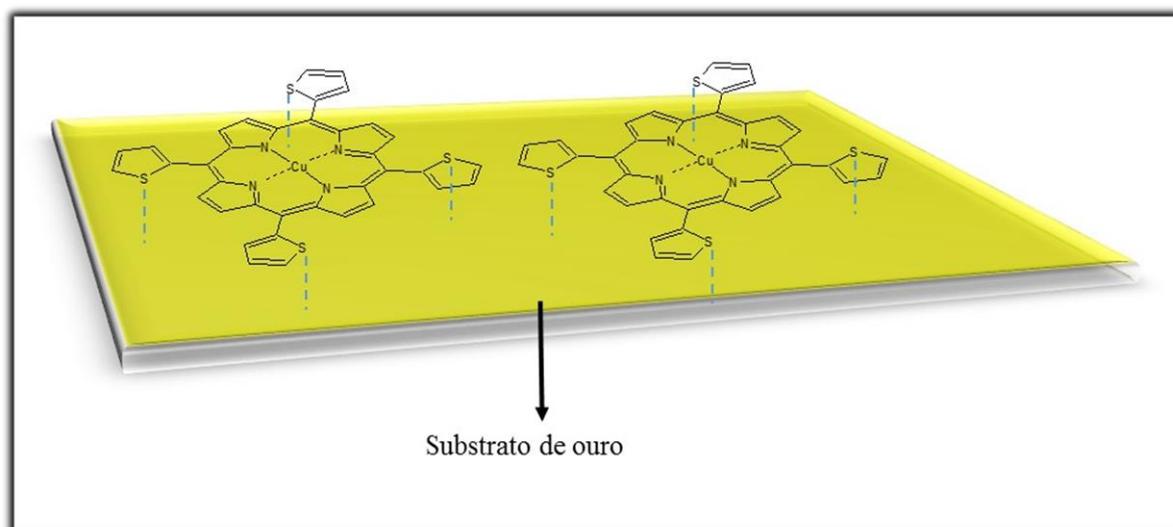


FIGURA 4.1 - Ilustração da proposta de imobilização do [Cu(II)TThP] sobre o eletrodo de ouro.

Desta forma, o desempenho do eletrodo modificado ([Cu(II)TThP]/AuE) foi avaliado empregando-se voltametria cíclica (CV) para diferentes concentrações de DA, utilizando como eletrólito suporte uma solução de tampão fosfato ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$) em $\text{pH} = 7,0$.

Os voltamogramas cíclicos obtidos para a solução do branco (apenas eletrólito suporte) e para as soluções de DA são apresentados na FIGURA 4.2. Analisando-se o voltamograma cíclico obtido para o eletrólito suporte (branco, voltamograma (a) da FIGURA 4.2, observou-se um pico anódico no potencial próximo a 0 V , e três catódicos em $+0,15$, $-0,15$ e $-0,30 \text{ V}$, respectivamente. Os sinais apresentados neste estudo referem-se aos processos de oxidação e redução do modificador, uma vez que na janela de potencial de trabalho utilizada, o eletrólito suporte não sofre qualquer alteração.

Em seguida, estudou-se o efeito da adição de DA utilizando o [Cu(II)TThP]/AuE, voltamogramas (b-d) da FIGURA 4.2. Observou-se um incremento da corrente de pico anódica na mesma região de potencial onde foi observado o pico anódico do [Cu(II)TThP]/AuE. Em contrapartida, houve uma diminuição dos picos catódicos apresentados no branco após cada adição de DA.

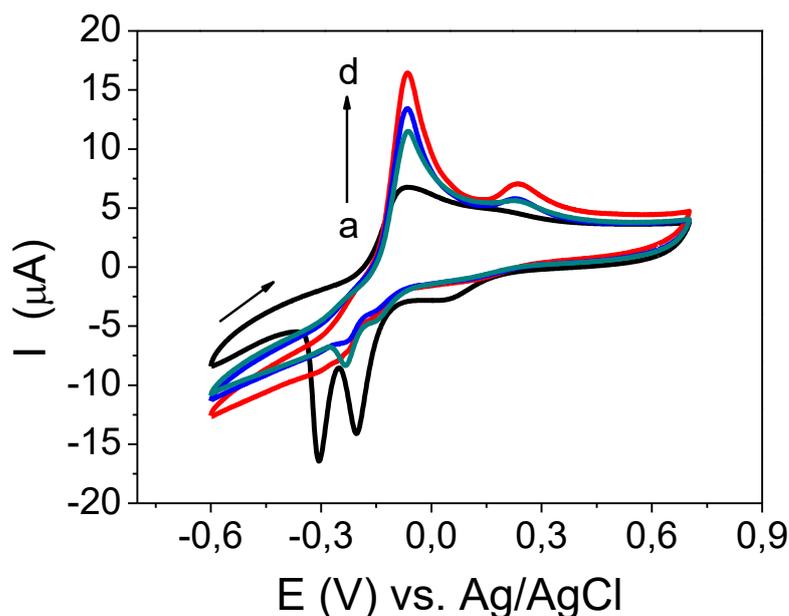


FIGURA 4.2 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o [Cu(II)TThP]/AuE em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) contendo DA em diferentes concentrações: **a** = branco, **b** = $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, **c** = $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e **d** = $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Avaliando-se os resultados obtidos pelos estudos iniciais com a DA por CV e utilizando-se o [Cu(II)TThP]/AuE, notou-se a necessidade da realização de estudos dos processos de oxirredução do complexo para o entendimento dos sinais do modificador, verificados em eletrólito suporte, bem como o efeito destes processos na determinação de dopamina. Além disso, outras estratégias alternativas para a obtenção de um sensor baseado na modificação com a porfirina [Cu(II)TThP] tiveram de ser adotadas, de forma a possibilitar a determinação de DA em um potencial de trabalho no qual não ocorresse nenhum processo de oxiredução do eletrodo modificado, e assim eliminar esta interferência. Como alternativas, foi investigada a possibilidade de promover a polimerização do complexo via eletroquímica sobre o substrato de ouro, e também com a utilização de um segundo tipo de eletrodo/substrato, que foi o eletrodo de carbono vítreo (GCE). Todos os resultados destes estudos são apresentados e discutidos em detalhes nas seções subsequentes.

4.2 - Modificação de um eletrodo de ouro com poli-[Cu(II)TThP]

Uma das alternativas à modificação do eletrodo de ouro via *drop coating* estudadas neste trabalho foi a polimerização do [Cu(II)TThP] sobre o eletrodo de ouro. Para isto, estudou-se o comportamento do eletrodo base quando este foi submetido ao processo de eletropolimerização, bem como do solvente utilizado para este fim.

Inicialmente, realizou-se estudos para verificar o comportamento do eletrólito suporte (PTBA 0,1 mol L⁻¹ em DCM) utilizado para promover a eletropolimerização do [Cu(II)TThP]. Na FIGURA 4.3 é mostrado o voltamograma cíclico obtido para o AuE em solução de PTBA 0,1 mol L⁻¹ preparada em DCM na região de potenciais negativos de -1,8 a 0 V.

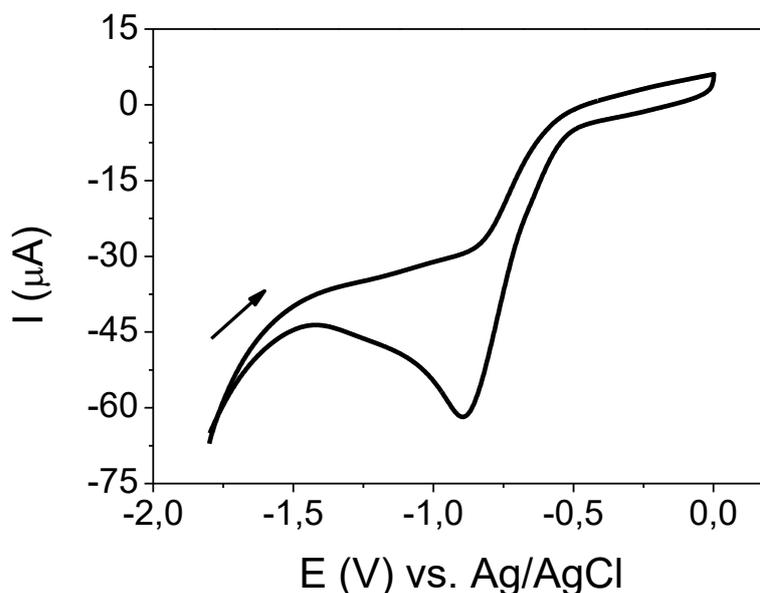


FIGURA 4.3 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L⁻¹/DCM. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Como pode ser visto na FIGURA 4.3, o voltamograma cíclico do eletrólito suporte nesta janela de potenciais apresentou um pico catódico no potencial de -0,85 V, atribuído à redução do solvente utilizado, o DCM. A redução deste solvente pode dar origem a haletos de alquila ou mesmo

hidrocarbonetos, variando de acordo com a natureza do eletrodo de trabalho utilizado⁴⁵. Por exemplo, o produto majoritário da redução do DCM utilizando um eletrodo de platina é o metano, mas no caso do ouro, nenhuma informação foi encontrada na literatura. O pico catódico observado pode referir-se ao primeiro estágio da redução do DCM. Esta eletrorredução se dá envolvendo a clivagem de uma ligação carbono-cloro. Outra hipótese para este fenômeno, é a formação do ânion radical $\text{CH}_2\text{Cl}^\cdot$, que pode dar origem ao dicloroetano ao reagir com outra molécula de diclorometano^{45,46}.

Desta forma, evidencia a impossibilidade de realizar os estudos propostos em uma janela de potencial negativo de trabalho, pois além de ocorrer a redução do solvente, um dos produtos desta reação é o ânion cloreto, que pode formar na superfície do eletrodo uma camada de $[\text{AuCl}_4]^-$, alterando as propriedades do sensor⁴⁷.

Em seguida, foi realizado o mesmo procedimento para a janela de potencial de trabalho entre $-0,4$ e $+1,8$ V, cujo voltamograma cíclico obtido é apresentado na FIGURA 4.4. Como pode ser verificado, durante a varredura anódica de potenciais um pico anódico no potencial de $\approx 1,7$ V foi observado, e, após a inversão da varredura de potenciais, um pico catódico no potencial de $\approx 1,2$ V foi registrado, referentes ao processo de oxirredução da superfície do eletrodo de ouro no eletrólito suporte utilizado.

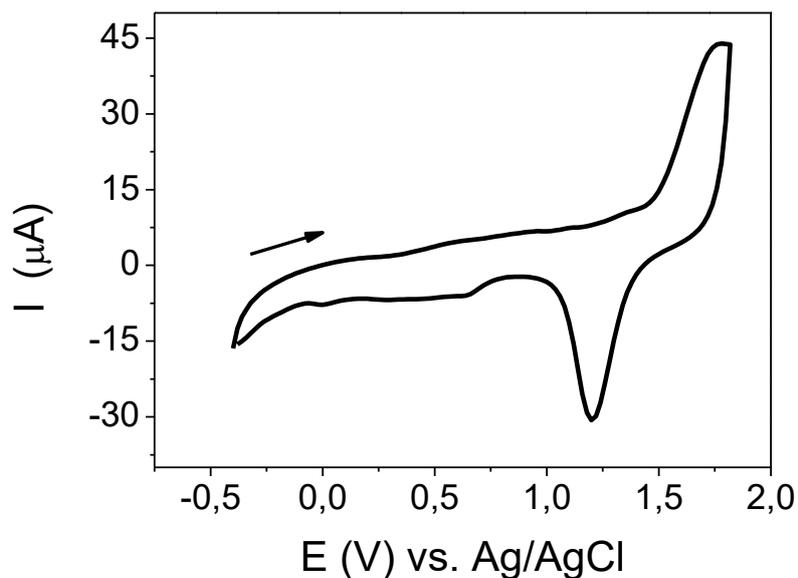


FIGURA 4.4 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em solução de eletrólito suporte PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ /DCM. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Uma vez verificado os processos de oxiredução devido ao eletrólito suporte ou eletrodo de ouro não modificado, partiu-se para avaliação dos processos de oxiredução do modificador de interesse, o [Cu(II)TThP]. Portanto, realizou-se o mesmo ensaio de CV anterior, mas agora para uma solução de [Cu(II)TThP] 1 mmol L^{-1} preparada no eletrólito suporte PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ /DCM. O voltamograma cíclico obtido é apresentado na FIGURA. 4.5.

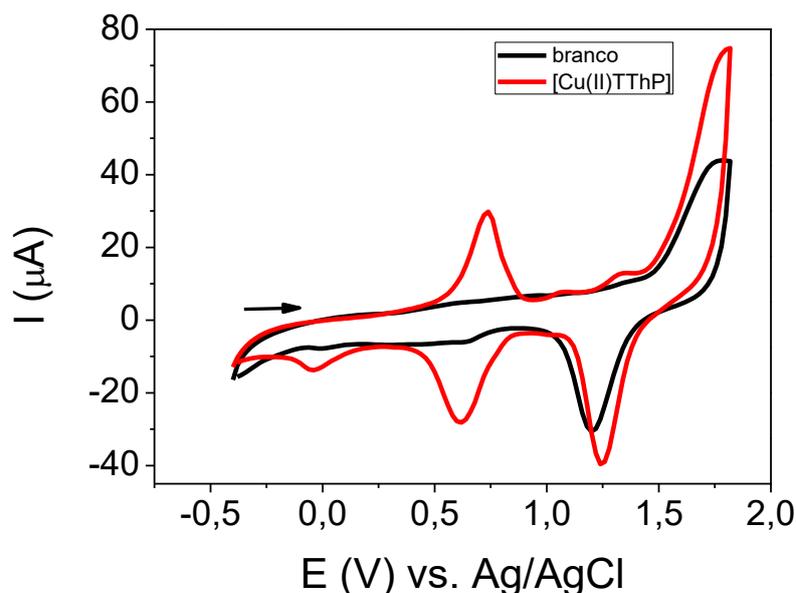


FIGURA 4.5 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em solução de eletrólito suporte PTBA/DCM $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (preto) e para uma solução de $[\text{Cu(II)TThP}] 1 \text{ mmol L}^{-1}$ diluída no eletrólito suporte (vermelho). $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Com base nos voltamogramas cíclicos da FIGURA 4.5, a primeira observação foi a de que os possíveis picos voltamétricos referentes aos processos de oxirredução do $[\text{Cu(II)TThP}]$ na região de potencial de $+1,25$ a $+1,8 \text{ V}$ foram suprimidos devido à elevada intensidade das correntes de pico de oxirredução do eletrodo de ouro. Uma vez, então, que se utilizando o eletrodo de ouro estes possíveis processos redox do modificador não poderiam ser acessados, para a continuidade dos estudos para a modificação do eletrodo de ouro, optou-se por trabalhar com uma janela de potenciais menor, com o limite máximo de potencial positivo de $+1,6 \text{ V}$. Desta forma, minimizou-se o efeito dos processos de oxirredução do substrato de ouro na análise, podendo-se trabalhar apenas com os processos faradáicos devido à porfirina em estudo, como mostrado na FIGURA 4.6.

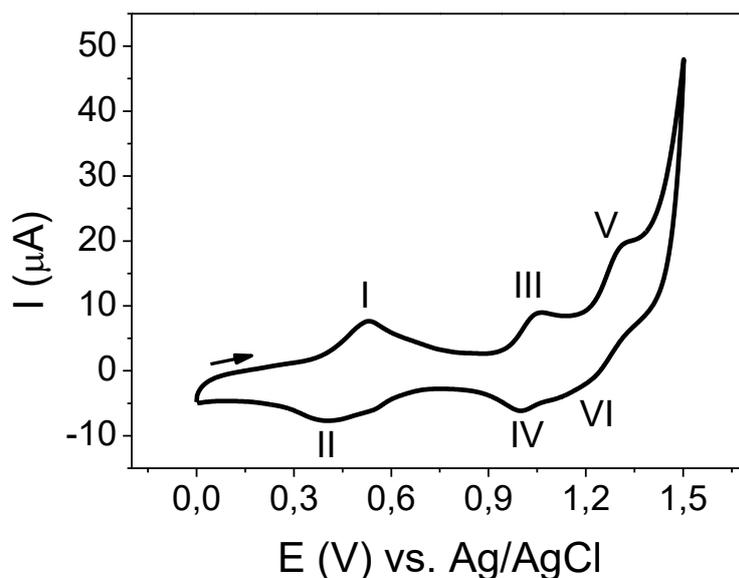


FIGURA 4.6 - Voltamograma cíclico obtido utilizando-se o eletrodo de ouro em solução de eletrólito suporte PTBA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$)/DCM contendo $[\text{Cu(II)TThP}]$ 1 mmol L^{-1} . $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Como pode ser visto no voltamograma cíclico obtido na região de potencial utilizada, três processos de oxidação e três processos de redução da molécula de $[\text{Cu(II)TThP}]$ foram observados, sendo os picos de oxidação e redução classificados de I a VI.

Os picos I e II no voltamograma cíclico da FIGURA 4.6 correspondem ao processo de oxirredução Cu(II)/Cu(I) no anel porfirínico, respectivamente. Os picos III e IV referem-se à oxidação do anel porfirínico da molécula (pico III) e sua respectiva redução (pico IV)^{46,48}. Ocorre ainda, a oxidação e redução dos grupos tiofeno (picos V e VI)¹¹. Os processos de oxidação-redução do complexo $[\text{Cu(II)TThP}]$ serão discutidos e elucidados posteriormente neste trabalho, na seção de caracterização eletroquímica e espectrofotométrica (3.3.2).

Segundo Boyle *et al.*¹¹ e Yausa *et al.*⁴⁹, a polimerização de tienilporfirinas ocorre por ligações entre os grupos tiofeno ligados ao macrociclo da porfirina. Isto ocorre devido à oxidação dos grupos tiofeno, formando cátions radicais, que se ligam entre si no processo de polimerização. Neste contexto, a

etapa de desoxigenação da solução de [Cu(II)TThP] antes do procedimento de eletropolimerização é de fundamental importância, pois a formação de cátions radicais na presença de oxigênio dão origem à grupos funcionais oxigenados⁵⁰, principalmente nos grupos tiofeno do complexo, impedindo a formação do polímero sobre o eletrodo.

O monitoramento da formação do filme polimérico sobre o eletrodo de ouro se deu pela observação do aumento ou diminuição da corrente de pico de cada processo redox verificado anteriormente para o [Cu(II)TThP] a cada ciclo voltamétrico posterior¹⁸, conforme ilustrado na FIGURA 4.7.

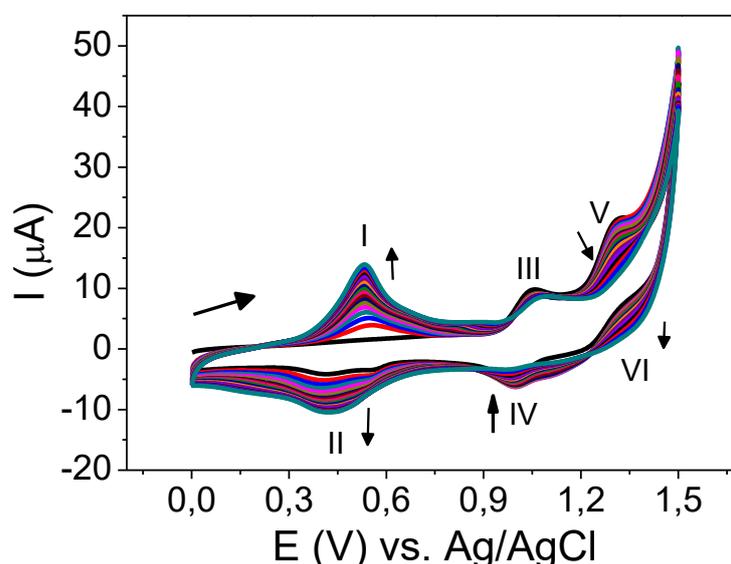


FIGURA 4.7 - Voltamogramas cíclicos sucessivos (25 ciclos) obtidos para uma solução de [Cu(II)TThP] 1 mmol L^{-1} em PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ /DCM utilizando-se o eletrodo de ouro. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Observou-se um aumento na corrente dos picos I, II e VI a cada ciclo de varredura de potencial realizado, sendo observado diminuição da magnitude de corrente para os demais picos.

O desempenho do sensor poli-[Cu(II)TThP]/AuE obtido foi monitorado por CV, na presença de DA em diferentes concentrações, como ilustrado na FIGURA 4.8

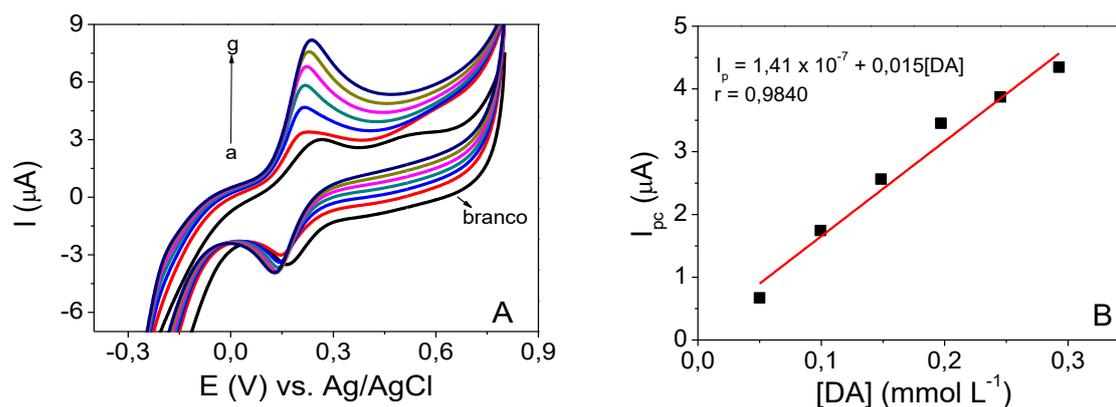


FIGURA 4.8 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o poli-[Cu(II)TThP]/AuE em solução de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) cotendo DA em diferentes concentrações: a) 0,00 (branco), b) 0,05, c) 0,09, d) 0,15, e) 0,20, f) 0,25 e g) 0,29 mmol L^{-1} . (B) Curva analítica correspondente.

A exemplo da modificação por *drop coating*, o voltamograma cíclico obtido ao se utilizar o poli-[Cu(II)TThP]/AuE apenas em eletrólito suporte (isto é, sem a presença de DA), também foi observado um par de processos anódico e catódico do modificador, de elevada intensidade. Os potenciais de pico anódico e catódico para DA ocorreram na mesma região observada para os processos do modificador (poli-[Cu(II)TThP]), mais uma vez, podendo dificultar a determinação de DA utilizando técnicas voltamétricas pulsadas e o poli-[Cu(II)TThP]/AuE como sensor eletroquímico.

Assim, uma segunda alternativa abordada foi à troca do eletrodo base. Isto se deu pela modificação de um eletrodo de carbono vítreo via eletropolimerização oxidativa e, além disso, estudos de caracterização da molécula de [Cu(II)TThP] foram realizadas com o objetivo de elucidar os mecanismos das reações de oxirredução e polimerização da molécula, bem como suas propriedades eletrônicas.

4.3 - Modificação de um eletrodo de carbono vítreo com poli-[Cu(II)TThP]

A modificação do eletrodo de carbono vítreo (GCE) com o poli-[Cu(II)TThP] foi realizada como uma alternativa aos métodos utilizando o eletrodo de ouro. O procedimento de *drop coating* não foi realizado utilizando o GCE, pois o propósito deste método foi imobilizar o modificador explorando as ligações tipo Au-S.

Sendo assim, realizou-se ensaios de caracterização eletroquímica do [Cu(II)TThP] sobre o GCE e espectrofotométrica do mesmo, para a obtenção de informações importantes à respeito do complexo para o decorrer do trabalho.

4.3.1 - Caracterização eletroquímica

Os sítios de transferência eletrônica das porfirinas geralmente são atribuídos com base em dados espectroscópicos ou critérios eletroquímicos, porém, alternativamente, podem ser atribuídos através da comparação entre sistemas químicos e eletroquímicos conhecidos⁴⁸.

O procedimento de caracterização eletroquímica do [Cu(II)TThP] utilizando como substrato o GCE foi realizado como descrito no item 3.3.2, para a atribuição dos picos referentes aos processos de oxirredução da molécula. Assim, foi atribuído os picos obtidos por CV do [Cu(II)TThP] utilizando as moléculas [Cu(II)P] e H₂TThP como modelos comparativos.

Para os ensaios de caracterização eletroquímica e eletropolimerização para a modificação do eletrodo, foi utilizado o mesmo solvente e eletrólito suporte. Para isto, foi feito um levantamento na literatura para a opção mais pertinente ao trabalho.

O DCM foi selecionado como o solvente devido à sua facilidade para purificação. Além disso, a sua utilização permite se trabalhar em uma ampla

janela de potencial. Devido à estas características e pelo fato de um grande número de porfirinas apresentarem boa solubilidade em DCM, este solvente têm sido utilizado em diversos trabalhos⁴⁸.

A maioria dos estudos eletroquímicos em meios não aquosos envolvendo porfirinas utilizam como eletrólito suporte sais de tetra-alkil-amônio. A seleção do eletrólito suporte envolve fatores como o custo, a facilidade de purificação e possível coordenação axial do contra-ânion. O PTBA é um composto que apresenta estas características e, além disso, apresenta alta solubilidade em DCM, sendo assim selecionado para os estudos^{48,51}.

4.3.1.1 - [Cu(II)TThP]

Com as otimizações dos parâmetros operacionais bem estabelecidas (janela de potencial de trabalho, desoxigenação da solução, solvente e eletrólito suporte, etc.), realizou-se ensaios de CV para auxiliar a elucidação dos processos de oxirredução do [Cu(II)TThP] (FIGURA 4.9).

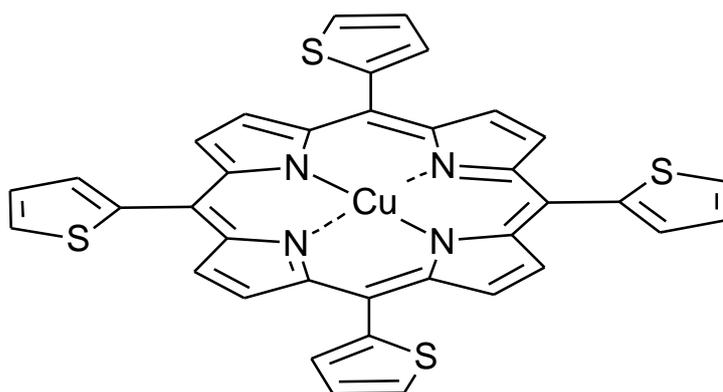


FIGURA 4.9 - Ilustração da estrutura do [Cu(II)TThP].

Na FIGURA 4.10, encontra-se o voltamograma cíclico obtido para uma solução de [Cu(II)TThP] 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando-se como eletrodo de

trabalho o GCE, sendo observado três processos de oxirredução (I e II, III e IV e V e VI).

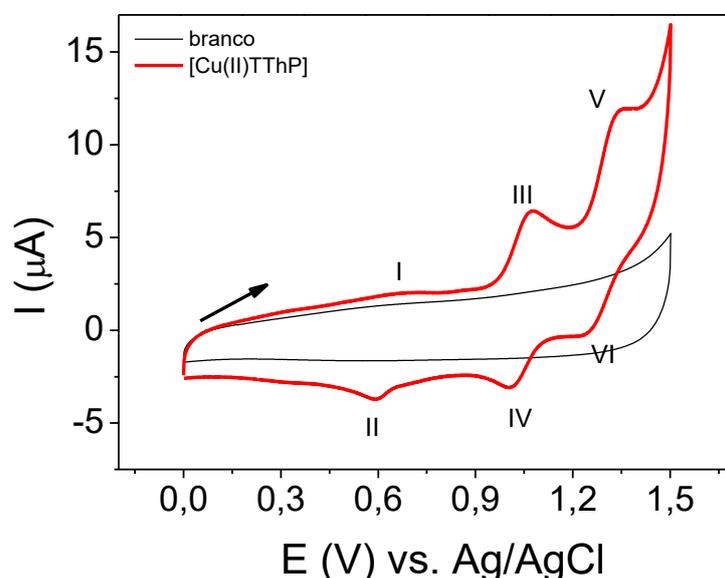


FIGURA 4.10 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o GCE solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L⁻¹/DCM contendo [Cu(II)TThP] 50 µmol L⁻¹. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Os picos obtidos neste estudo foram numerados de I a VI, e esta classificação foi mantida para os estudos envolvendo os compostos utilizados como referência, sendo que a numeração atribuída corresponde ao processo de oxidação ou redução que ocorre na molécula estudada.

A etapa inicial do processo de atribuição dos picos obtidos por CV do [Cu(II)TThP], foi realizada levando-se em consideração os trabalhos realizados de caracterização eletroquímica de moléculas similares na literatura^{11, 51, 52}.

Desta forma, os processos de oxirredução representados no voltamograma cíclico para o [Cu(II)TThP] na janela de potencial e eletrólito suporte estudados podem ser inicialmente atribuídos como:

- **Pico I e II** → Processo redox Cu (II)/Cu (I).
- **Pico III e IV** → Processo de oxidação dos grupos tiofeno.

- **Pico V e VI** → Processo redox do macrociclo porfirínico.

Nos ensaios posteriores de caracterização foi investigada/confirmada esta atribuição para os picos dos processos de oxirredução do [Cu(II)TThP], bem como apresentada propostas de mecanismo referentes aos processos redox mencionados.

4.3.1.2 - [Cu(II)P]

Os potenciais redox de uma dada porfirina podem variar substancialmente, dependendo de fatores como a natureza do macrociclo, o tipo e número de grupos substituintes e a espécie metálica coordenada.

As reações de oxirredução que podem ocorrer eletroquimicamente em uma metaloporfirina não-substituída estão ilustradas na FIGURA 4.11.

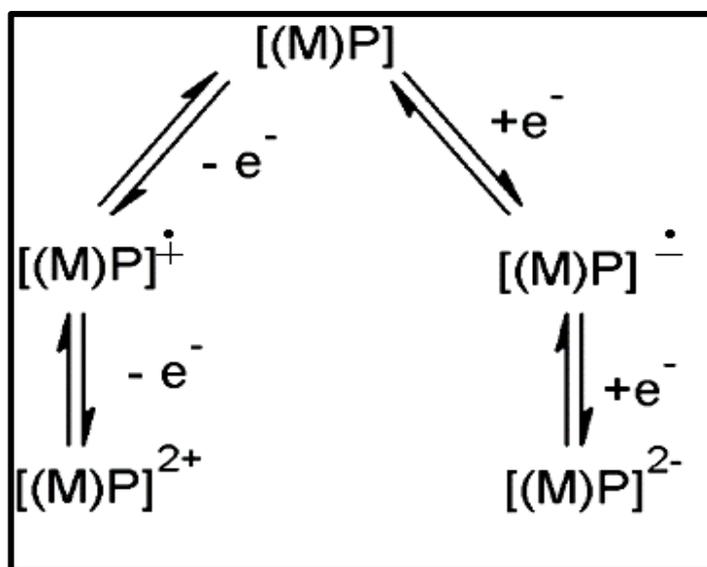


FIGURA 4.11 - Esquema de reações eletroquímicas de uma metaloporfirina. Adaptado da Ref. ⁴⁸.

Os processos eletroquímicos que podem ocorrer no macrociclo porfirínico resumem-se em duas etapas de oxidação e duas etapas de redução. Na

janela de potencial utilizado neste trabalho, podem ocorrer um ou dois processos de oxidação do [Cu(II)P] (FIGURA 4.12), formando um cátion radical na primeira etapa e um dicátion na segunda.

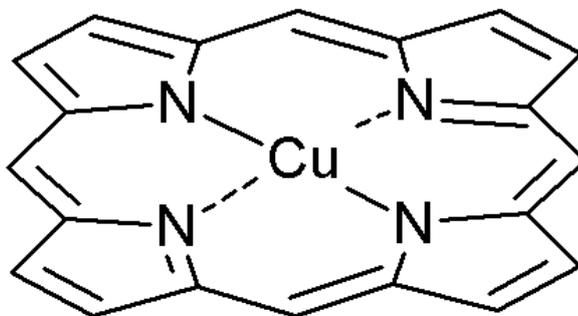


FIGURA 4.12 - Ilustração da estrutura do [Cu(II)P].

Desta forma, realizou-se o ensaio de caracterização eletroquímica do [Cu(II)P] por CV, sendo que a atribuição foi feita por a comparação dos picos obtidos nesta etapa com os que foram apresentados para a caracterização do [Cu(II)TThP], conforme FIGURA 4.13.

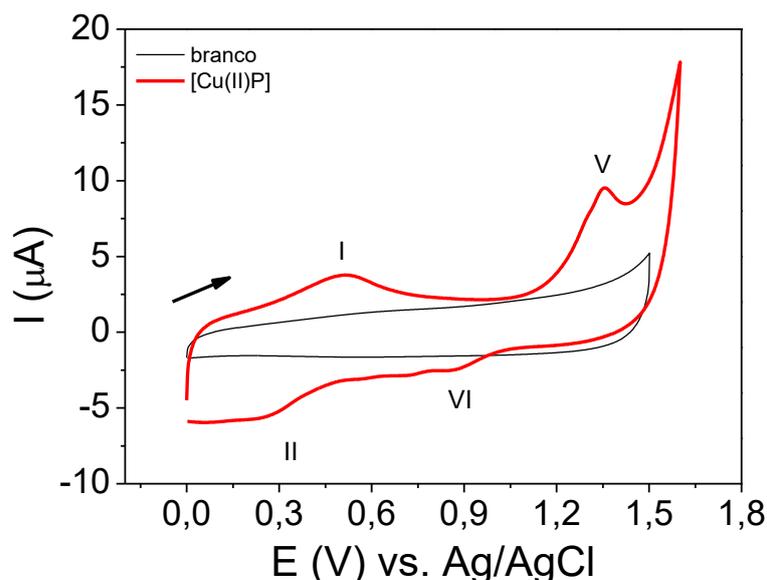


FIGURA 4.13 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o GCE na em solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L⁻¹/DCM contendo [Cu(II)P] 50 µmol L⁻¹. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

No voltamograma cíclico apresentado na FIGURA 4.13, observou-se dois picos anódicos na varredura anódica e dois picos catódicos de menor intensidade na varredura inversa associando-os, inicialmente, a dois pares redox.

Para este experimento, esperava-se se obter sinais analíticos referentes apenas a processos de oxirredução do metal coordenado e do macrociclo porfirínico, e também um deslocamento de potencial para estes picos, uma vez que a presença de grupos substituintes no complexo pode alterar os processos de oxirredução da molécula.

Assim, os picos I e II foram associados ao processo redox $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$, e os picos V e VI, foram atribuídos à primeira etapa de oxirredução do macrociclo porfirínico. Analisando-se a menor intensidade de corrente para o pico VI, observou-se que o processo não é totalmente reversível. Isto ocorre uma vez que durante a primeira etapa de oxidação há geração de cátions radicais (FIGURA 4.11), que se ligam entre si formando dímeros⁴⁸, e assim uma parte dos produtos de oxidação da molécula não tornam a se reduzirem.

4.3.1.3 - H₂TThP

Com os ensaios anteriores, foi possível confirmar a atribuição dos processos redox equivalentes aos grupos tiofeno (picos III e IV). De forma a confirmar a atribuição dos picos I e II como sendo devido ao processo redox da espécie metálica, avaliou-se o comportamento eletroquímico de uma porfirina contendo os grupos tiofenos, porém sem uma espécie metálica coordenado na sua estrutura (FIGURA 4.14).

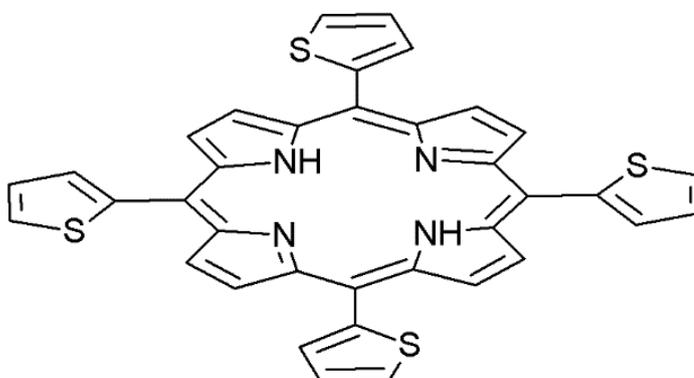


FIGURA 4.14 - Ilustração da estrutura do H₂TThP.

O voltamograma cíclico obtido para a solução eletrolítica contendo a porfirina não metalada (H₂TThP) é apresentado na FIGURA 4.15. Verificou-se então a ausência dos picos I e II, que estavam presentes nos voltamogramas cíclicos das moléculas [Cu(II)TThP] e [Cu(II)P]. Uma vez que a espécie H₂TThP não possui o metal Cu²⁺ coordenado à sua estrutura, confirma-se a hipótese de que os picos I e II referem-se ao processo de oxirredução do par Cu²⁺/Cu⁺. Além do mais, os picos referentes aos processos de oxirredução dos grupos tiofeno (III e IV) e do anel porfirínico (V e VI) foram identificados no voltamograma cíclico da H₂TThP, ocorrendo um deslocamento dos potenciais de pico.

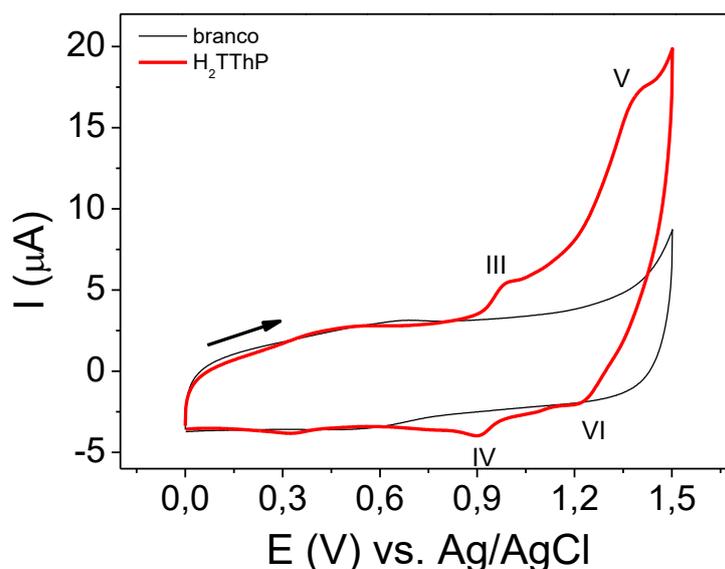


FIGURA 4.15 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o GCE em solução de eletrólito suporte PTBA 0,1 mol L⁻¹/DCM contendo H₂TThP 50 µmol L⁻¹. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

4.3.2 - Caracterização por espectrofotometria UV-Vis

É conhecido que as porfirinas possuem um sistema π altamente conjugado, conferindo a esta classe de compostos uma coloração intensa. Os espectros de UV-Vis para as porfirinas são, em geral, caracterizados por duas regiões distintas, uma próxima à região do ultra-violeta e outra na região do visível. As absorções são devido a transições eletrônicas entre dois orbitais HOMO (orbital molecular ocupado de mais alta energia) e dois orbitais LUMO (orbital molecular não-ocupado de mais baixa energia). O modelo de “quatro orbitais” é amplamente utilizado para a explicação dos espectros de absorção das porfirinas, aplicado pela primeira vez por Gouterman⁵³, definindo que os orbitais HOMO foram calculados como orbitais a_{1u} e a_{2u} , enquanto os orbitais LUMO foram calculados como um conjunto de orbitais e_g degenerados. As transições entre estes orbitais dão origem a dois estados excitados, criando um estado de energia mais elevado com maior força de oscilação, originando a banda Soret e um estado de energia mais baixo, com menor força de oscilação, que dá origem

às bandas Q. Em suma, um espectro típico de uma porfirina consiste em duas regiões: a primeira corresponde às transições do estado fundamental para o segundo estado excitado ($S_0 \rightarrow S_2$), com absorção de maior intensidade (banda Soret). Esta absorção pode ocorrer na faixa entre 380 a 500 nm, dependendo se a porfirina é β ou *meso*-substituída, ou mesmo da natureza do grupo substituinte. E a segunda região corresponde a fracas transições do estado fundamental para o primeiro estado excitado ($S_0 \rightarrow S_1$), com absorções entre 500 e 750 nm (bandas Q). Além disso, quando o macrociclo porfirínico está coordenado a um cátion metálico, ocorre um aumento na simetria da molécula, reduzindo o número de bandas Q apresentadas no espectro⁵⁴.

Para explorar as propriedades eletrônicas do [Cu(II)TThP] realizou-se estudos de espectrofotometria por UV-Vis para esta molécula, comparando o espectro obtido com os espectros coletados para outras porfirinas contendo grupos similares (H_2P , [Cu(II)P] e H_2TThP), e desta forma compreender os efeitos dos grupos substituintes e Cu^{2+} coordenado ao anel porfirínico sobre as propriedades do complexo.

Para iniciar este estudo, selecionou-se a H_2P , chamada de porfina (FIGURA 4.16), por ser a molécula “base”, a qual não sofresse qualquer dos efeitos supracitados (grupos substituintes e metal coordenado). Esta molécula representa a forma mais simples da classe das porfirinas.

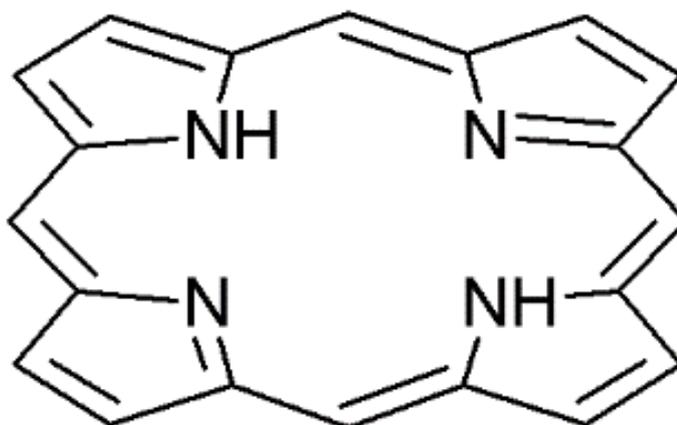


FIGURA 4.16 - Ilustração da estrutura da porfina (H_2P).

O espectro obtido para a molécula de H₂P (FIGURA 4.17) apresentou as características esperadas para este tipo de molécula, com cinco bandas de absorção (a banda Soret entre 380 e 500 nm e quatro bandas Q entre 500 e 700 nm) previstas pelo modelo de Gouterman⁵³, indicando que os efeitos eletrônicos apresentados referem-se apenas a transições influenciadas pelo anel porfirínico.

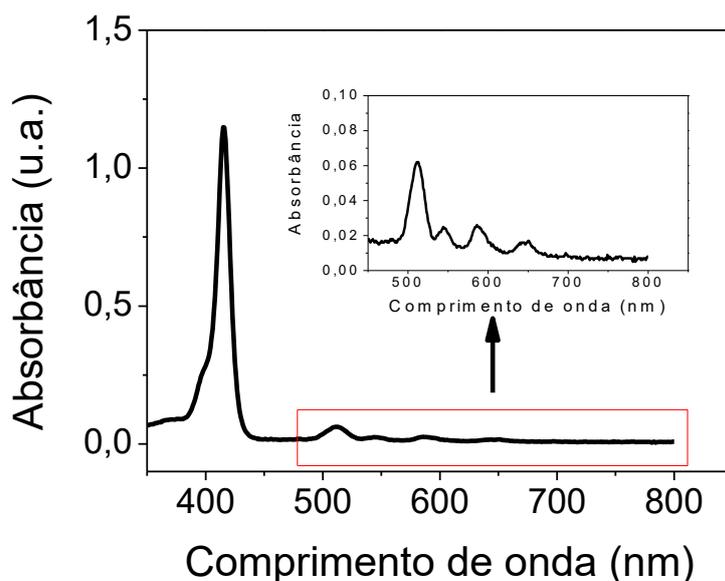


FIGURA 4.17 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de H₂P 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ preparada em DCM.

Para estudar o efeito do cátion metálico, utilizou-se uma solução do complexo [Cu(II)P] (FIGURA 4.12). O espectro obtido para este composto (FIGURA 4.18) revelou que houve um pequeno aumento na intensidade para a banda Soret. O íon Cu²⁺ recebe os pares de elétrons do nitrogênio do anel pirrólico enquanto os elétrons do metal são doados à porfirina, contribuindo com o sistema π da molécula (retrodoação π).

Quando o íon metálico é coordenado à porfirina, ocorre um aumento na simetria da molécula (D_{2h} para a porfirina de base livre e D_{4h} para a porfirina coordenada). No espectro, isso é evidenciado através da diminuição do número de bandas Q, de quatro para duas, no qual é um efeito tipicamente observado para metaloporfirinas⁵².

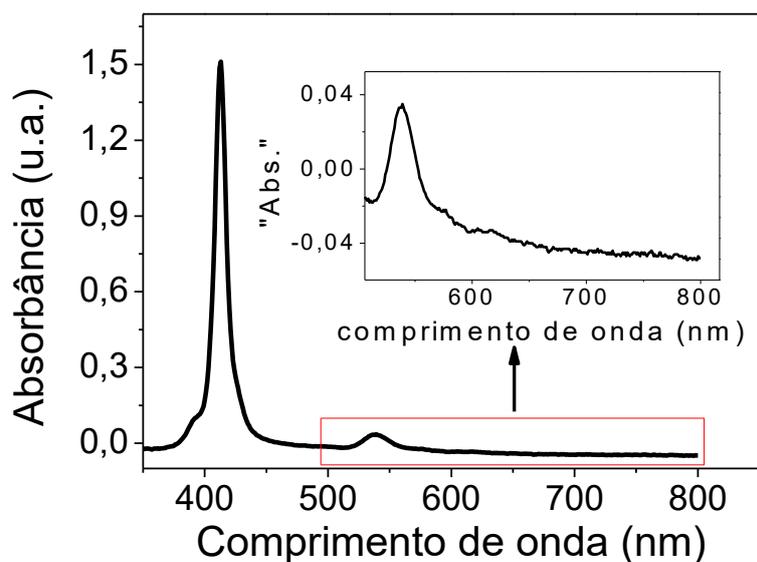


FIGURA 4.18 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de [Cu(II)P] $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em DCM.

Em seguida, a investigação do efeito dos grupos tiofeno sobre as propriedades eletrônicas da molécula foi investigada. A molécula selecionada foi a H₂TThP (FIGURA 4.14), por não sofrer influência do íon Cu²⁺ em suas propriedades eletrônicas.

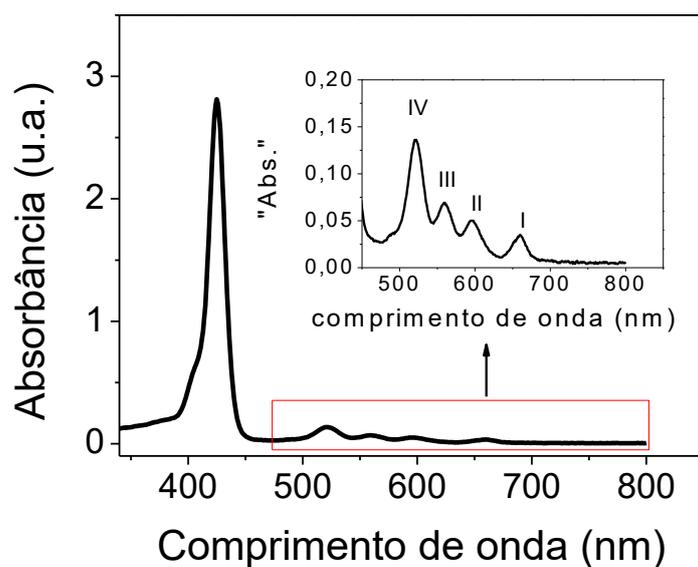


FIGURA 4.19 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de H₂TThP $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em DCM.

A intensidade relativa das bandas Q em uma porfirina de base livre se dá pelo tipo do grupo substituinte e pela posição que estes se encontram ligados ao anel porfirínico, classificando as porfirinas como *etio*, *rhodo*, *oxo-rhodo* e *phyllo*⁵⁵. Quando a ordem de intensidade das bandas Q são $IV > III > II > I$, os espectros são chamados de espectros do tipo *etio*, que ocorre em porfirinas com seis ou mais grupos substituintes sem elétrons π (grupos alquil, por exemplo). Os espectros do tipo *rhodo*, onde a ordem das intensidades das bandas Q são $III > IV > II > I$, ocorrem quando existem grupos substituintes com elétrons π (como grupos carbonila e vinila) ligados diretamente nas posições β do anel porfirínico. Quando estes grupos se encontram ligados nas posições β de unidades pirrólicas opostas, obtém-se um espectro do tipo *oxo-rhodo*, cuja ordem de intensidade das bandas Q segue $III > II > IV > I$. Quando a porfirina é *meso*-substituída, o espectro obtido é do tipo *phyllo*, cuja ordem de intensidade das bandas Q é $IV > II > III > I$.

O espectro obtido a partir de uma solução de H₂TThP (FIGURA 4.19) indica ser do tipo *phyllo*, ou seja, confirmando que a porfirina utilizada está substituída na posição *meso* da porfirina. Observa-se também um grande aumento na intensidade da banda Soret em relação às porfirinas não substituídas, evidenciando a contribuição direta dos grupos tiofenos no sistema π da molécula, indicando assim a orientação planar destes grupos em relação ao anel porfirínico.

Com as informações obtidas sobre as contribuições do íon metálico e dos grupos substituintes tipo tiofeno, foi possível interpretar o espectro obtido para o complexo [Cu(II)TThP] (FIGURA 4.20).

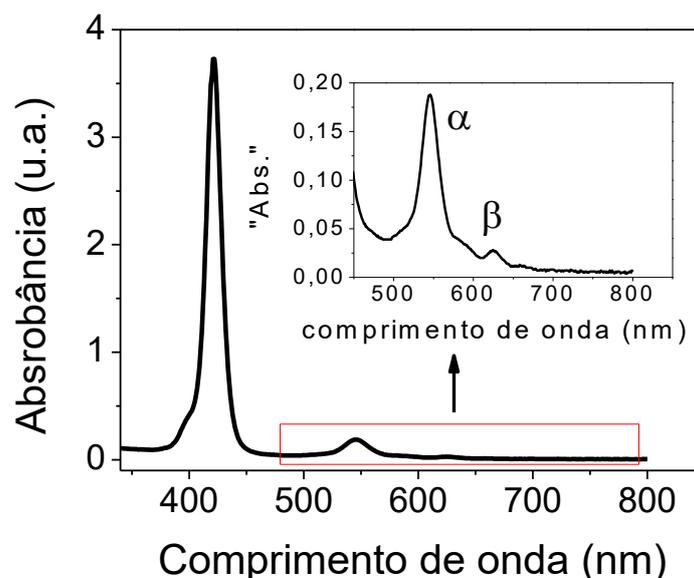


FIGURA 4.20 - Espectro de UV-Vis obtido para uma solução de [Cu(II)TThP] $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em DCM.

Como pode ser observado no espectro apresentado na FIGURA 4.20, para o complexo [Cu(II)TThP], houve um aumento da intensidade de absorção representada pela banda Soret, indicando que os três componentes (anel porfirínico, íon metálico e grupos substituintes) contribuem para o sistema π da molécula. O Cu^{2+} coordenado à molécula exerce um efeito retirador de elétrons e, sendo assim, concentra a densidade eletrônica do sistema π para a parte central da molécula, aumentando a energia disponível para a transição eletrônica⁵⁴. Este efeito é muito importante para o desenvolvimento do trabalho e será abordado apropriadamente na proposta de mecanismos redox para a eletropolimerização.

A intensidade relativa das bandas Q em metaloporfirinas são um indicativo de estabilidade da mesma. Por isso as bandas Q foram denominadas como α e β . Quando o espectro de uma metaloporfirina apresenta a relação entre as bandas Q $\alpha > \beta$, indica-se que o complexo formado possui estabilidade e uma geometria quadrado planar. No caso em que $\beta > \alpha$, o complexo formado é instável e o metal coordenado pode ser facilmente substituído por prótons, restituindo a porfirina de base livre¹.

4.3.3 - Proposta para os mecanismos redox do [Cu(II)TThP]

Com base nas informações obtidas nos estudos de caracterização eletroquímica e espectrofotométrica do complexo [Cu(II)TThP] (itens 4.3.1 e 4.3.2), propõe-se os mecanismos das reações de oxirredução desta molécula. As propostas seguem a numeração dos picos obtidos para o voltamograma cíclico do [Cu(II)TThP] (FIGURA 4.10).

- **Picos I e II**

Através dos ensaios eletroquímicos realizados para as porfirinas estudadas, confirmou-se que o processo de oxirredução do íon metálico coordenado é equivalente aos picos I e II. Por comparação, verificou-se a presença destes picos para os compostos [Cu(II)TThP] e [Cu(II)P] e a sua ausência no H₂TThP. Então, o pico I ilustra o processo de oxidação de Cu (I) a Cu (II), enquanto o pico II indica o processo reverso, ou seja, a redução de Cu (II) a Cu (I). Essas reações redox encontram-se esquematizadas na FIGURA 4.21.

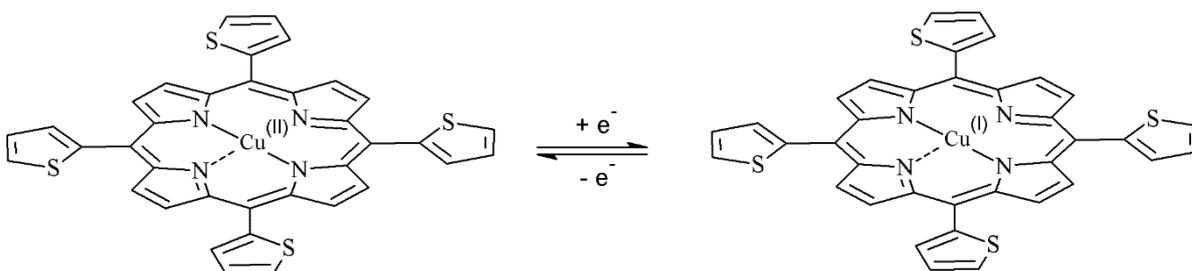


FIGURA 4.21 - Proposta de mecanismo de reação para os picos I e II.

- **Picos III e IV**

Compostos derivados de tiofenos são muito conhecidos na literatura por sua facilidade em formar polímeros^{56,57}. A primeira etapa para a formação deste tipo de polímero é a oxidação do grupo tiofeno, cujo mecanismo desta etapa

de reação é a formação de um cátion radical⁴⁶. Os picos III e IV, então, representam a oxirredução dos quatro grupos tiofeno simultaneamente (FIGURA 4.22), formando cátions radicais relativamente estáveis⁵⁸. Esta reação tem grande importância no que se refere à modificação do eletrodo, pois a etapa de formação de um cátion radical no tiofeno é a precursora da formação do filme polimérico via eletropolimerização, que será abordado adiante.

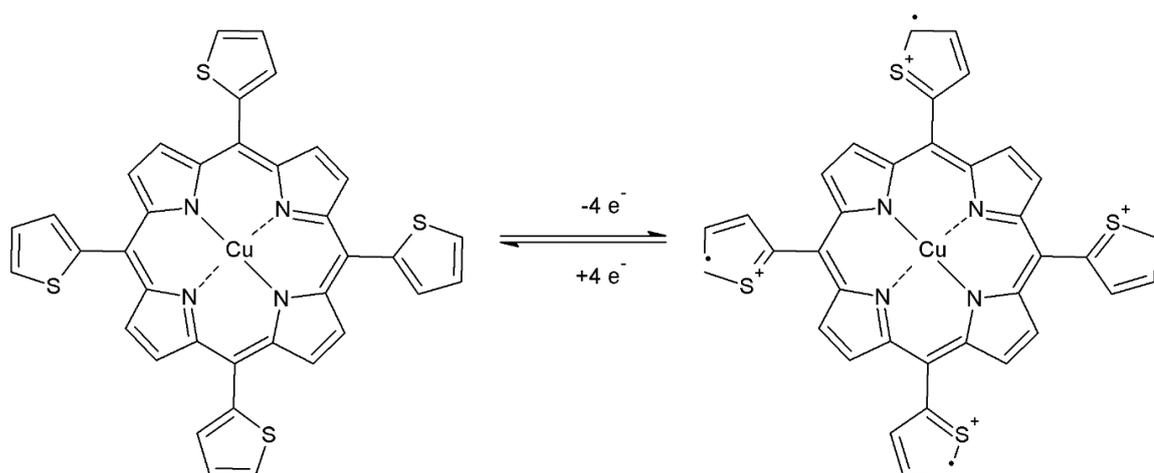


FIGURA 4.22 - Proposta de mecanismo de reação para os picos III e IV.

- **Picos V e VI**

Na janela de potencial estudada, ocorreu ainda a oxirredução do anel porfirínico, como ilustrado na FIGURA 4.23. Esta reação está definida nos estudos eletroquímicos como os picos V e VI, ocorrendo a cisão (quebra) da dupla ligação de uma unidade pirrolídica formando um cátion radical⁴⁸.

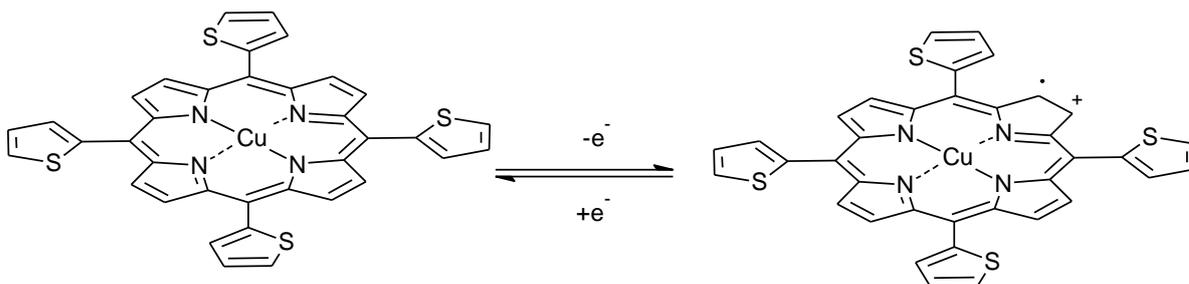


FIGURA 4.23 - Proposta de mecanismo de reação para os picos V e VI.

4.3.4 - Eletropolimerização do [Cu(II)TThP] sobre GCE

Embora os polímeros condutores possam ser obtidos através de diversos métodos, a eletropolimerização é compreendida como a forma mais conveniente de construção de um sensor baseado na modificação com este tipo de polímero¹⁸. O procedimento de polimerização é realizado por meio de uma reação eletroquímica na superfície de um eletrodo que resulta na imobilização do filme polimérico formado sobre este.

No mecanismo de eletropolimerização, é bem estabelecido que a primeira etapa deste processo consiste na oxidação do monômero neutro à um cátion radical. Para isto, é necessária a utilização de um solvente e eletrólito suporte adequado e que o cátion radical reaja mais rápido possível com outra unidade monomérica do que com outros nucleófilos presentes na solução⁴⁶.

Neste trabalho, estudou-se as propriedades eletroquímicas e eletrônicas do [Cu(II)TThP], obtendo-se informações que auxiliaram na compreensão dos mecanismos de polimerização do complexo sobre o substrato de carbono vítreo. A técnica utilizada para este fim foi a CV, utilizando-se a janela de potencial de trabalho adequada para a oxidação do monômero seguido da formação do filme polimérico.

A polimerização ocorreu eletroquimicamente sobre o GCE, e ao ser submetido aos 20 ciclos de potencial, observou-se um incremento na corrente de pico para os processos de oxirredução do [Cu(II)TThP] a cada ciclo realizado (FIGURA 4.24), sendo que este aumento se refere a deposição adicional de uma camada do filme polimérico sobre o eletrodo a cada ciclo de potencial⁵⁹. Em procedimentos de eletropolimerização utilizando a CV, pode-se observar o aumento ou decréscimo na intensidade da corrente de pico a cada ciclo, dependendo da natureza de transferência eletrônica do polímero em questão^{59,60}.

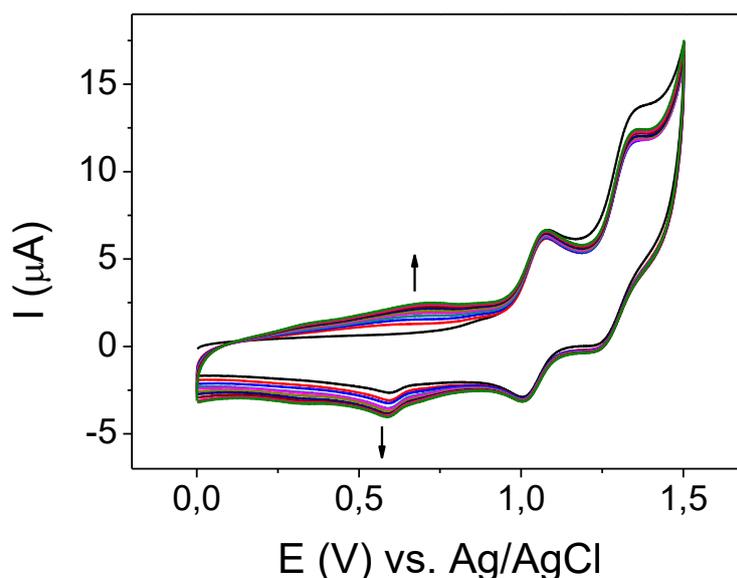


FIGURA 4.24 - Voltamogramas cíclicos ($n = 20$) obtidos utilizando-se o GCE em solução de eletrólito suporte PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ /DCM contendo $[\text{Cu(II)TThP}] 50 \mu\text{mol L}^{-1}$ para a formação do poli- $[\text{Cu(II)TThP}]/\text{GCE}$. $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A contribuição eletrônica do íon metálico para a formação do polímero é evidente ao compreender que o Cu^{2+} coordenado à porfirina possui caráter retirador de elétrons, concentrando a nuvem eletrônica π no centro do complexo (item 4.3.1). Em decorrência deste efeito, as extremidades da molécula (neste caso os grupos tiofeno) ficam eletrodeficientes, podendo facilitar a cisão das duplas ligações dos grupos tiofenos, favorecendo a formação dos cátions radicais e sucessivamente a formação do polímero.

O mecanismo de formação do polímero sobre o GCE foi então proposto (FIGURA 4.25), levando-se em consideração as informações obtidas nas etapas de caracterização eletroquímica e espectrofotométrica do $[\text{Cu(II)TThP}]$.

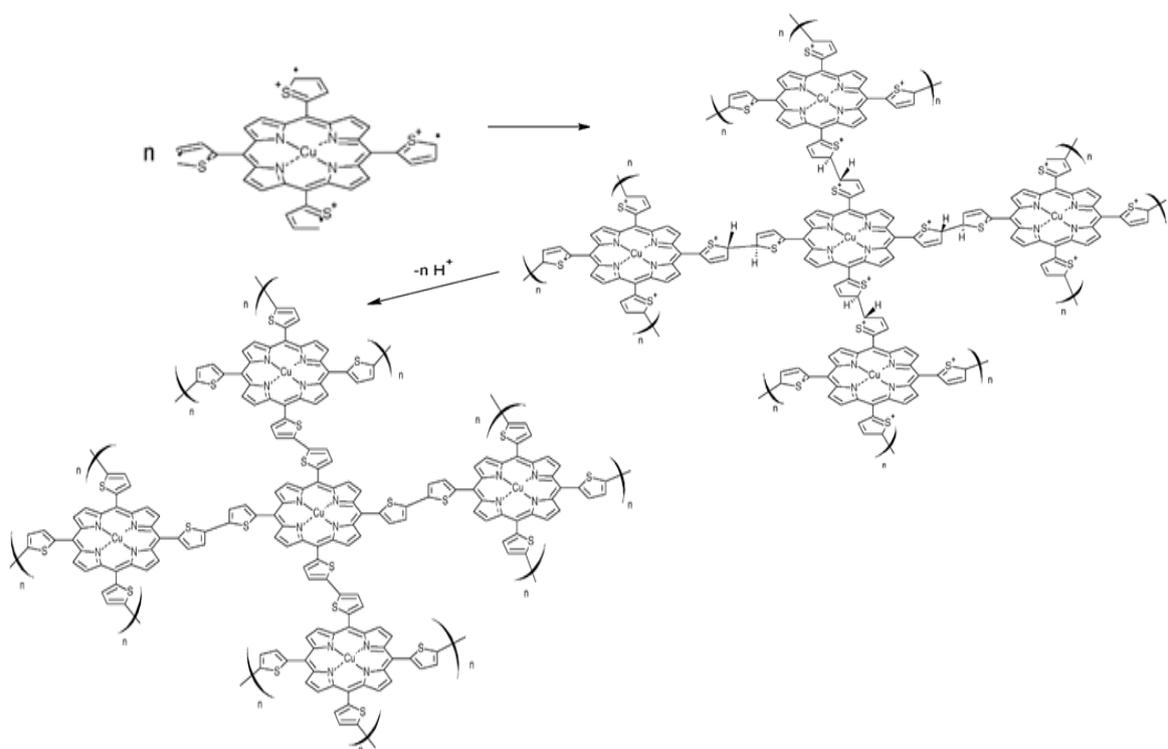


FIGURA 4.25 - Proposta de mecanismo de reação para a formação do poli-[Cu(II)TThP].

A primeira etapa do processo de polimerização consiste na oxidação dos grupos tiofeno da molécula, conforme descrito no item 4.3.3, formando cátions radicais. Em seguida, ocorre o acoplamento entre os cátions radicais formados, dando origem a oligômeros de [Cu(II)TThP] carregados positivamente, e para atingir-se a eletroneutralidade, ocorre a eliminação de prótons nas ligações tiofeno-tiofeno. Sendo assim, sucessivas etapas como a descrita ocorrem, para a formação do poli-[Cu(II)TThP].

4.3.5 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O eletrodo modificado (poli-[Cu(II)TThP]/GCE) foi submetido à análise morfológica utilizando-se a técnica de MEV. Além de verificar a morfologia do filme, investigou-se também o efeito da limpeza do eletrodo modificado mediante dois tipos de solventes (FIGURA 4.26). A necessidade de

limpeza da superfície do eletrodo se dá devido à agregação de monômeros durante o processo de eletropolimerização³¹. Os solventes na etapa de limpeza foram o MeOH e o DCM.

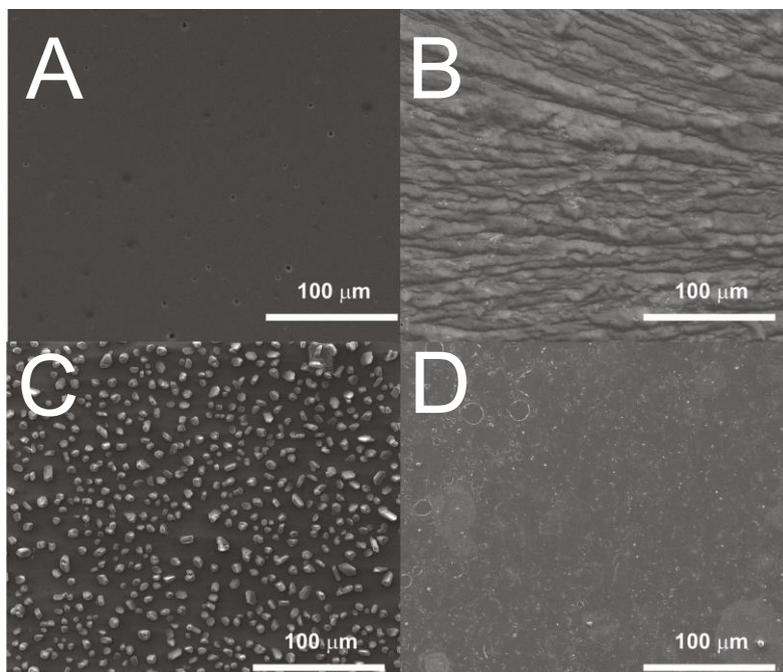


FIGURA 4.26 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura para o GCE (A), poli-[Cu(II)TThP]/GCE sem limpeza da superfície (B), poli-[Cu(II)TThP]/GCE lavado com metanol (C) e poli-[Cu(II)TThP]/GCE lavado com diclorometano (D).

Observando-se as imagens obtidas, nota-se que após o processo de eletropolimerização, há uma grande quantidade de monômero sobre o substrato, tornando a superfície irregular (FIGURA 4.26 B).

Realizou-se então, o procedimento de limpeza da superfície do eletrodo utilizando o MeOH (FIGURA 4.26C). Inicialmente notou-se que grande parte da camada observada anteriormente foi removida, porém este solvente não dissolveu os cristais de [Cu(II)TThP] agregados ao substrato. O procedimento de limpeza do eletrodo modificado utilizando o DCM (FIGURA 4.26D) mostrou-se mais eficiente, removendo totalmente o monômero do substrato, porém não solubilizando o filme formado. Sendo assim, o procedimento utilizando o DCM

foi então incorporado ao processo de modificação do eletrodo, uma vez que as imagens ilustraram a formação de uma película homogênea do polímero sobre o GCE.

4.3.6 - Espectroscopia Raman

A técnica de espectroscopia Raman foi utilizada neste trabalho para avaliar-se a formação do filme de poli-[Cu(II)TThP] sobre o GCE através da correlação de alguns picos obtidos nos espectros com as ligações tiofeno-tiofeno, confirmando assim a formação do polímero.

Esta é uma técnica muito útil para a obtenção de informações químicas e estruturais de uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, baseando-se na incidência de uma radiação de laser monocromático sobre a amostra, ocorrendo um espalhamento da radiação em todas as direções. Uma parte desta radiação espalhada é inelástica (frequência diferente da radiação incidente). Esta diferença de energia entre a radiação incidida e espalhada corresponde à energia vibracional dos átomos na região estudada, permitindo assim definir como estes átomos estão ligados⁶¹.

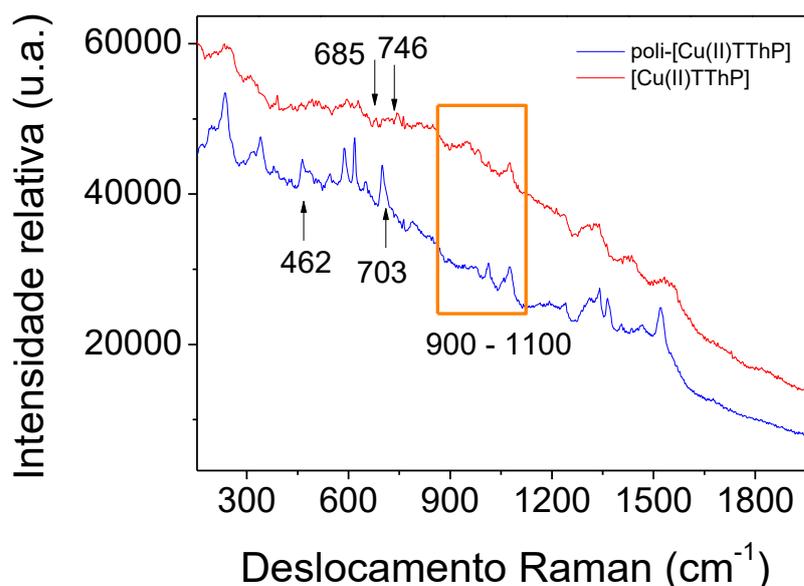


FIGURA 4.27 - Espectros Raman para o [Cu(II)TThP] (**vermelho**) e o poli-[Cu(II)TThP] (**azul**).

Espectros Raman foram obtidos para o monômero e comparados com os obtidos para o poli-[Cu(II)TThP] (FIGURA 4.27) e algumas regiões destes espectros foram selecionadas para a atribuição das ligações químicas formadas comparando os deslocamentos obtidos com a literatura especializada nesta técnica⁶¹.

A região do espectro compreendida entre 900 e 1100 cm^{-1} corresponde ao estiramento do anel porfirínico, e comparando os dois espectros observa-se um aumento na intensidade relativa referente ao poli-[Cu(II)TThP]. O monômero apresenta um baixo espalhamento Raman, principalmente devido ao cobre central presente na estrutura resultando em um espectro Raman com pouca resolução de picos. Enquanto que a amostra polimerizada apresenta uma extensa nuvem π devido à contribuição de cada unidade monomérica, aumentando a polarizabilidade da amostra. Esse efeito se reflete no incremento do número de fótons espalhados e, portanto, um aumento da intensidade do sinal obtido.

Os deslocamentos observados em 685 e 746 cm^{-1} no espectro do monômero, foram atribuídos a estiramentos C-H de tiofenos monossustituídos para fora do plano, enquanto o deslocamento em 703 cm^{-1} no espectro do poli-

[Cu(II)TThP] é atribuído a estiramentos C-H de tiofenos dissubstituídos para fora do plano. O deslocamento neste mesmo espectro em 462 cm^{-1} refere-se à deformação dos grupos tiofeno dissubstituídos para fora do plano. Com estes dados obtidos, pode-se confirmar a formação do filme polimérico através da ligação entre os grupos tiofeno do [Cu(II)TThP].

4.4 - Desempenho analítico do poli-[Cu(II)TThP]/GCE para determinação de dopamina

Com a otimização do processo de construção do poli-[Cu(II)TThP]/GCE finalizada, iniciou-se a investigação do desempenho analítico deste sensor para a determinação voltamétrica de dopamina.

4.4.1 - Estudo do efeito da concentração hidrogeniônica

O eletrólito suporte escolhido para este trabalho foi o tampão fosfato com força iônica de $0,2\text{ mol L}^{-1}$, cuja faixa de pH foi estudada no intervalo de pH entre 2,0 e 8,0. Os voltamogramas cíclicos obtidos para cada condição de pH (FIGURA 4.28) demonstraram que o pH influenciou diretamente no potencial de oxirredução da DA. O processo de oxidação da DA apresentou aumento na magnitude de corrente em função do pH até 7,0, e apresentou um decréscimo na intensidade de corrente em $\text{pH} = 8,0$. Assim, o tampão fosfato $0,2\text{ mol L}^{-1}$ com $\text{pH} = 7,0$ foi selecionado para os estudos posteriores.

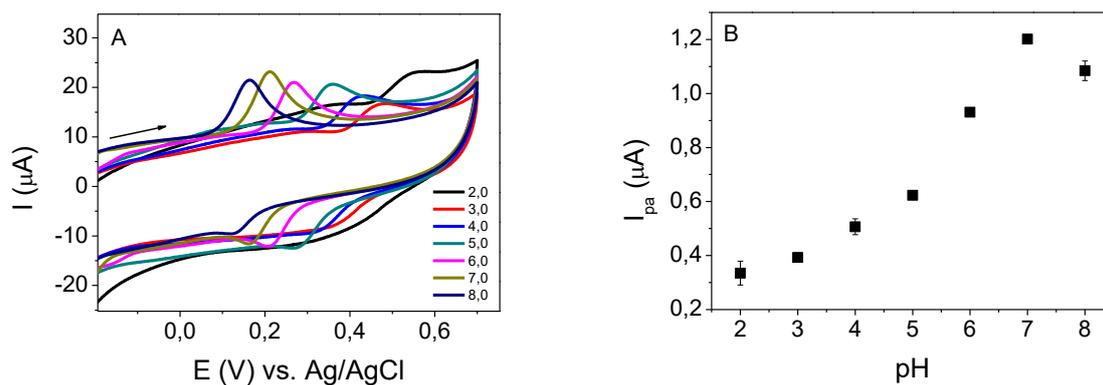


FIGURA 4.28 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de DA $1,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$) preparada em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ a diferentes pHs usando o poli-[Cu(II)TThP]/GCE. (B) I_{pa} vs. pH. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Na FIGURA 4.29 encontra-se um gráfico do potencial de pico de oxidação (E_p) versus pH na faixa de 2,0 a 8,0. Uma relação linear entre E_p e pH foi obtida nesta faixa de pH, seguindo a Eq. 1:

$$E_p = 0,067 - 0,065\text{pH} , r = 0,997 \quad (1)$$

A equação de Nernst ⁶² (Eq. 2) foi utilizada para a determinação do valor teórico da razão entre o número de prótons e elétrons envolvidos na reação, onde m representa o número de elétrons e n o número de prótons.

$$E_p = E^0 - 2,303 \left(\frac{mRT}{nF} \right) \text{pH} \quad (2)$$

O coeficiente angular da Eq. 1 (0,065 V/pH) foi próximo ao valor teórico de 0,059 V/pH (Eq. 2), indicando que a razão entre o número de elétrons e de prótons envolvidos na etapa determinante da reação é 1, ou seja, igual número de prótons e elétrons estão envolvidos da reação de eletrooxidação da DA.

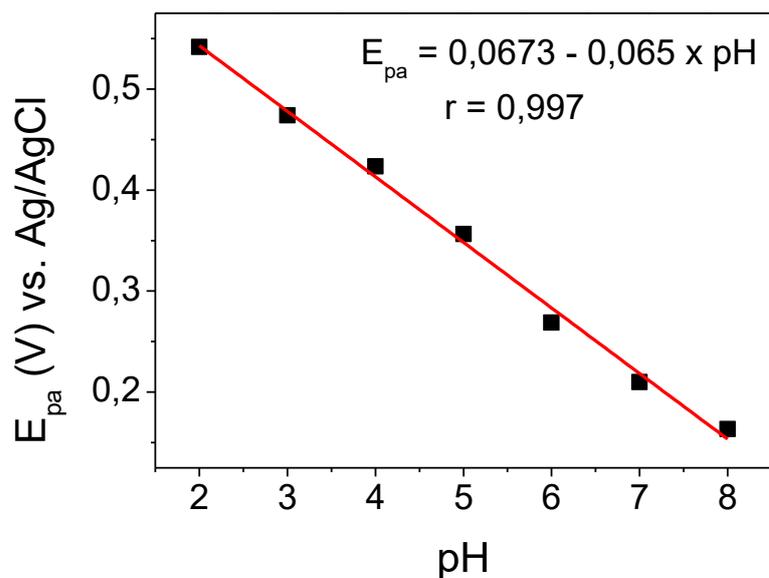


FIGURA 4.29 - Relação entre o potencial de pico anódico e pH.

Esta observação suporta a reação de eletrooxidação que tem sido proposta para a DA⁶³, envolvendo a oxidação de dois grupos hidroxilas (2 elétrons e 2 prótons)⁶³⁻⁶⁵, como mostrado na FIGURA 4.30.

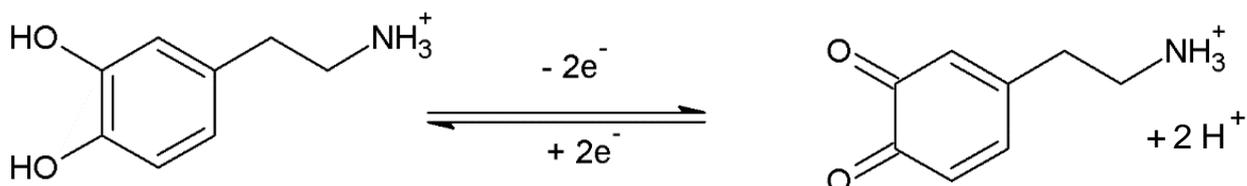


FIGURA 4.30 - Reação de eletrooxidação proposta para a molécula de DA (Adaptado da Ref. ⁶³).

4.4.2 - Comparação entre o GCE e o poli-[Cu(II)TThP]/GCE

Um dos procedimentos utilizados para a avaliação do desempenho do poli-[Cu(II)TThP]/GCE foi um estudo comparativo deste sensor em relação ao desempenho do GCE não modificado por voltametria cíclica utilizando uma solução de DA 2,41 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (FIGURA 4.31).

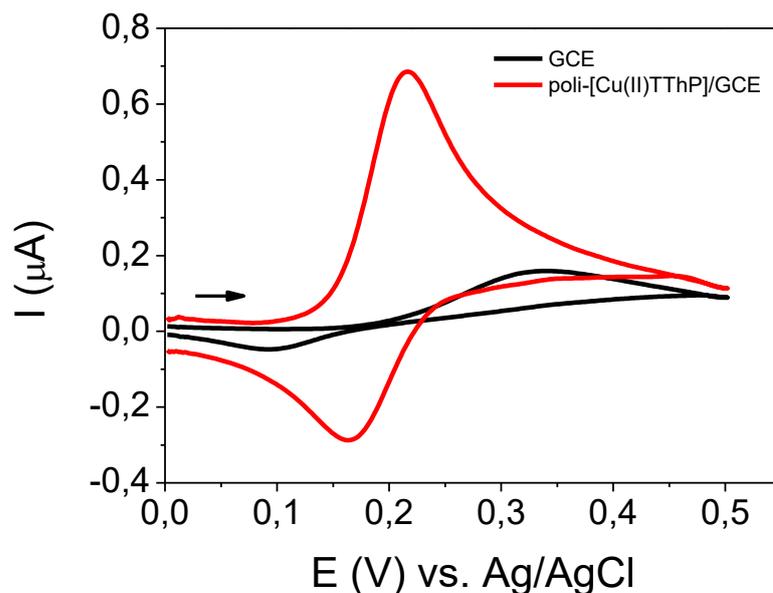


FIGURA 4.31 - Voltamogramas cíclicos obtidos na presença de DA $2,41 \mu\text{mol L}^{-1}$ obtidos com o poli-[Cu(II)TThP]/GCE (**vermelho**) e GCE (**preto**) em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$). $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Analisando-se os voltamogramas cíclicos obtidos, pode-se observar que a modificação do eletrodo proporcionou um aumento de corrente de pico anódica de 6,5 vezes em relação à obtida empregando-se o GCE para a determinação de DA. Além disso, o ΔE_p obtido neste estudo para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE foi de 55 mV, e para o GCE, o ΔE_p obtido foi de 240 mV, indicando também que o eletrodo modificado apresentou um efeito eletrocatalítico na oxirredução da DA.

Avaliou-se também, o desempenho dos eletrodos (GCE e poli-[Cu(II)TThP]/GCE) frente a adições sucessivas de soluções de DA por CV, corroborando o melhor desempenho analítico utilizando o poli-[Cu(II)TThP]/GCE para a determinação de DA (FIGURA 4.32 e FIGURA 4.33).

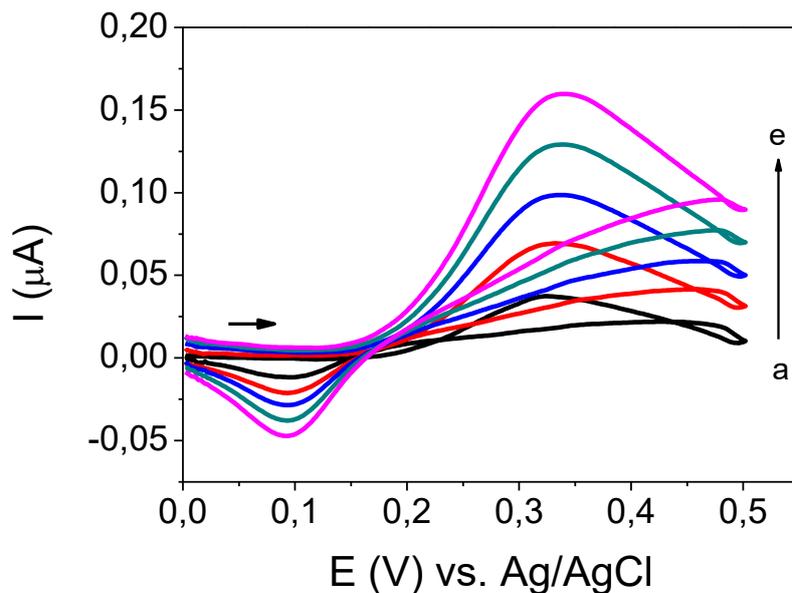


FIGURA 4.32 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o GCE em tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 7,0) para diferentes concentrações de DA: a = 3,61 b = 5,97, c = 8,31, d = 10,60, e e = 12,90 μmol L⁻¹.

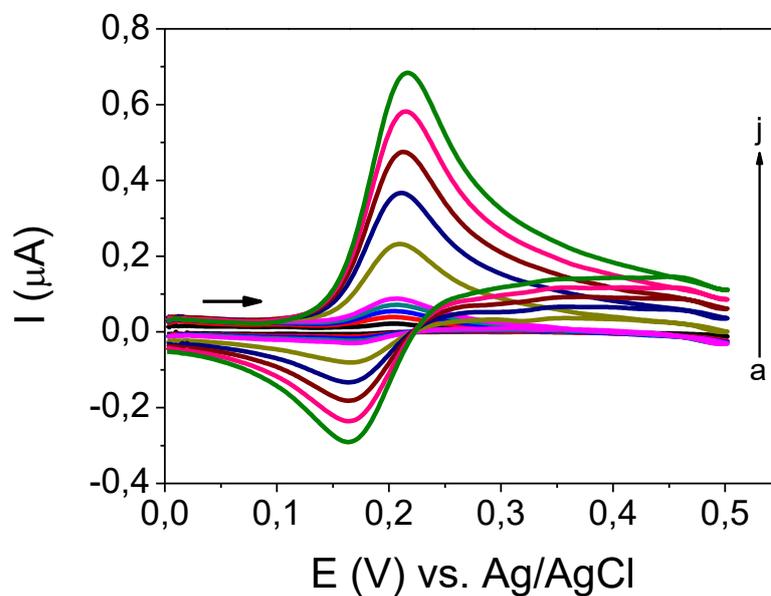


FIGURA 4.33 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o poli-[Cu(II)TThP]/GCE em tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ (pH = 7,0) para diferentes concentrações de DA: a = 0,25, b = 0,49, c = 0,73, d = 0,97, e = 1,21, f = 3,61, g = 5,97, h = 8,31, i = 10,60 e j = 12,90 μmol L⁻¹.

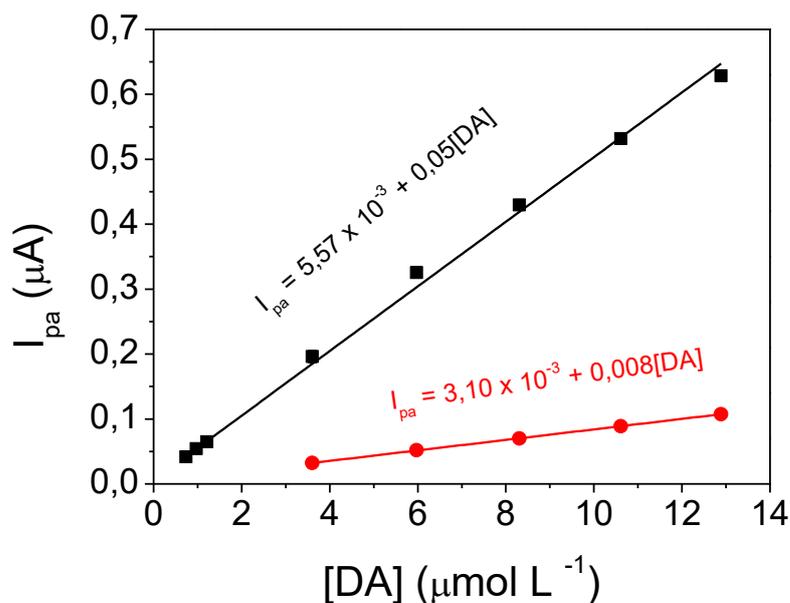


FIGURA 4.34 - Curvas analíticas obtidas para DA utilizando-se o GCE (**vermelho**, FIGURA 4.32) e o poli-[Cu(II)TThP]/GCE (**preto**, FIGURA 4.33).

Conforme pode ser observado nos estudos de CV para a determinação de DA utilizando-se o poli-[Cu(II)TThP]/GCE (TABELA 4.1) obteve-se uma maior sensibilidade e uma faixa linear de concentrações mais ampla, além de apresentar menor limite de detecção. Sendo assim, confirmou-se que a modificação do GCE com o poli-[Cu(II)TThP] conferiu a este eletrodo um melhor desempenho analítico para a determinação de DA.

TABELA 4.1. Comparativo entre o desempenho do GCE e poli-[Cu(II)TThP]/GCE para a determinação de DA

Parâmetro analítico	GCE	poli-[Cu(II)TThP]/GCE
Faixa linear (μmol L ⁻¹)	3,61 a 12,90	0,25 a 12,90
Sensibilidade (A mol ⁻¹ L)	0,008	0,050
LOD (μmol L ⁻¹)	0,16	0,044

4.4.3 - Estudo da cinética de transferência de elétrons para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE

Para a determinação da área eletroativa do poli-[Cu(II)TThP]/GCE, foram realizados experimentos de voltametria cíclica conduzidos a diferentes velocidades de varredura de potencial ($10 - 500 \text{ mV s}^{-1}$), para uma solução de DA $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ preparada em tampão fosfato ($\text{pH} = 7,0$) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos registrados, bem como os gráficos de corrente de pico anódica (I_a) e catódica (I_c) versus a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) encontram-se nas FIGURA 4.35.(A, B).

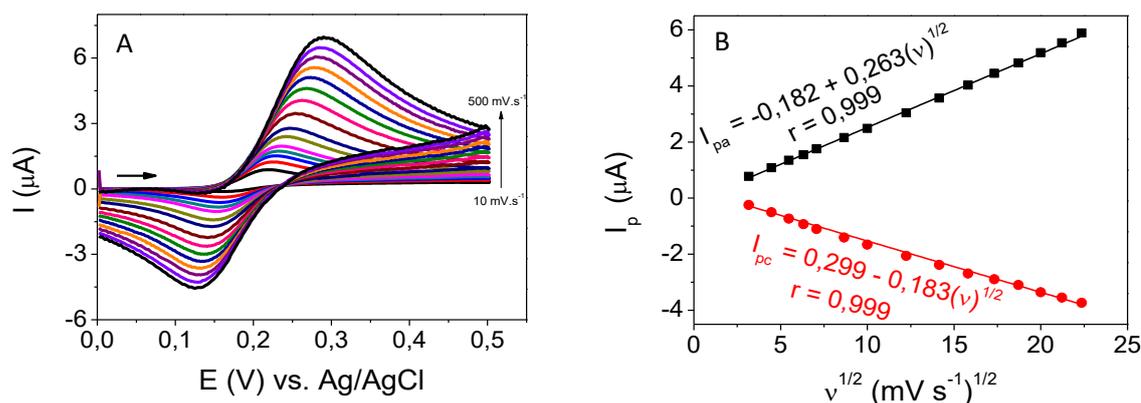


FIGURA 4.35 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura de potencial ($10 - 500 \text{ mV s}^{-1}$) para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE em solução de DA $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$). (B) Gráfico com o registro de I_p vs. $v^{1/2}$ para correntes de pico anódica (I_a) e catódica (I_c).

Verificou-se que com o aumento da velocidade de varredura de potencial, as correntes de pico anódica e catódica variaram linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando que o processo de transporte de massa foi controlado por difusão. Outra forma utilizada para a confirmação de que o processo de oxirredução da DA foi totalmente controlado pela difusão^{66,67},

foi construir um gráfico de $\log I_a$ vs. $\log v$ (FIGURA 4.36), sendo obtido um coeficiente angular de 0,52, que é próximo ao valor teórico de 0,5.

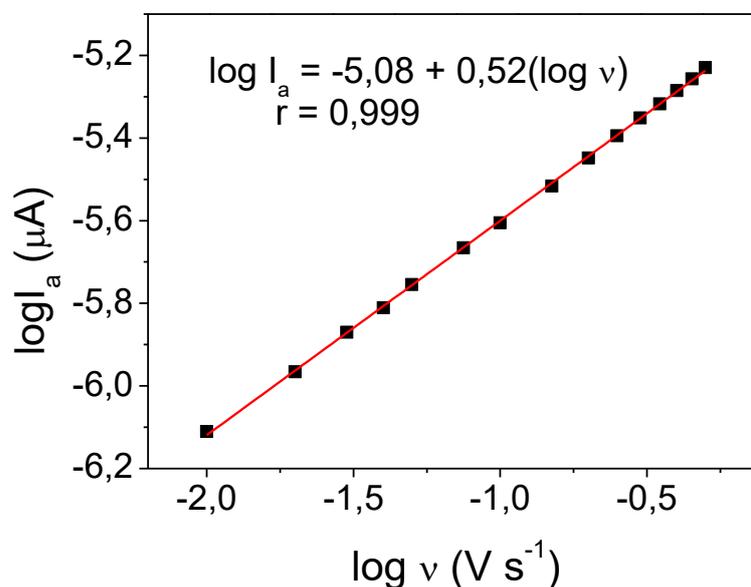


FIGURA 4.36 - Gráfico da relação entre $\log I_a$ vs. $\log v$.

Tendo em vista o interesse em elucidar de forma mais detalhada o potencial de aplicação eletroquímica do sensor proposto neste trabalho, seguiu-se para o cálculo da constante de transferência heterogênea de elétrons para a DA sobre o poli-[Cu(II)TThP]/GCE. Para tanto, os voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura de potencial (FIGURA 4.35(A)) forneceram as informações necessárias para o cumprimento deste objetivo. Analisando-se os voltamogramas da FIGURA 4.35(A) verifica-se que com o aumento da velocidade de varredura, os potenciais de pico anódico foram deslocados para valores mais positivos enquanto os potenciais de pico catódico deslocaram-se para potenciais no sentido negativos, resultando em um aumento da separação dos potenciais de pico anódico e catódico (ΔE_p).

Para o cálculo da constante de transferência heterogênea de elétrons (k^o) para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE foi utilizado o método de NICHOLSON⁶⁸, amplamente aplicado no cálculo destas constantes de transferência de elétrons

para sistemas quase-reversíveis controlados por difusão. Neste método, o valor de k^o foi obtido empregando-se a Eq. 3:

$$\Psi = k^o[\pi D n v F / (RT)]^{-1/2} \quad (3)$$

sendo Ψ um parâmetro cinético e os demais termos possuem seus significados usuais. Os valores de Ψ foram calculados utilizando-se a Eq. 4, proposta por LAVAGNINI et al.⁶⁹, que relaciona Ψ aos valores de ΔE_p equivalentes a cada velocidade de varredura:

$$\Psi = (-0,6288 + 0,0021n\Delta E_p)/(1 - 0,017n\Delta E_p) \quad (4)$$

A partir dos valores calculados de Ψ , um gráfico de Ψ versus $26,33 v^{-1/2}$ foi obtido (FIGURA 4.37), a partir do qual k^o pôde ser determinado. O fator 26,33 corresponde ao termo $[\pi D n F / (RT)]^{-1/2}$ da Equação de Nicholson, calculado considerando-se $D = 7,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ⁷⁰, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$, $R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ e $T = 298,15 \text{ K}$. A equação da reta obtida para o gráfico de Ψ versus $26,33 v^{-1/2}$ foi (Eq. 5):

$$\Psi = 0,00273(26,33 v^{-1/2}) - 0,915; r = 0,998 \quad (5)$$

Como o termo $[\pi D n F / (RT)]^{-1/2}$ já foi contabilizado, o coeficiente angular da equação da reta (Eq. 4) fornece diretamente o valor de k^o , sendo, portanto, igual a $2,73 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$. O mesmo procedimento foi adotado para a determinação do valor de k^o utilizando o GCE e o valor obtido foi de $3,53 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$, um valor 7,7 vezes menor que o obtido para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE.

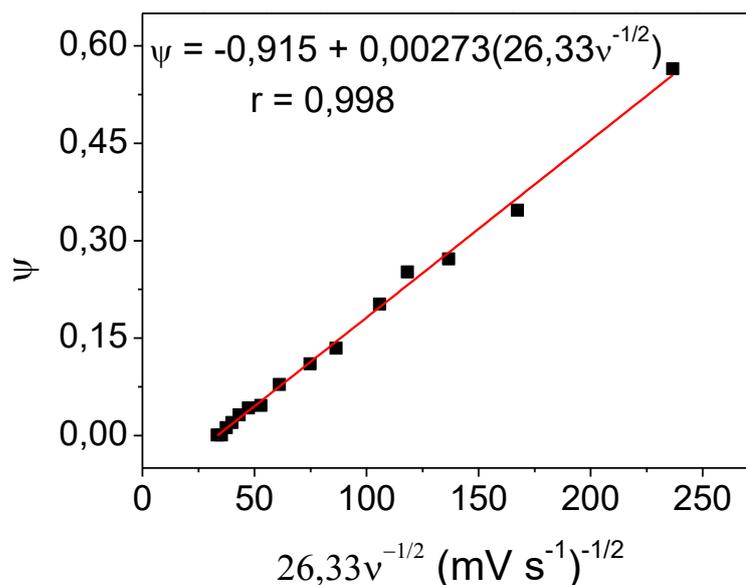


FIGURA 4.37 - Gráfico de Ψ vs. $26,33 v^{-1/2}$ obtido para o poli-[Cu(II)TThP]/GCE em solução de DA $3,0 \times \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0).

4.5 - Determinação voltamétrica de dopamina utilizando o poli-[Cu(II)TThP]/GCE

Tendo como base o bom desempenho eletroquímico demonstrado pelo poli-[Cu(II)TThP]/GCE através dos estudos apresentados na seção anterior, investigou-se, em seguida, a utilidade deste novo material de eletrodo como sensor eletroquímico para a determinação da DA. Procedimentos eletroanalíticos foram desenvolvidos para a determinação voltamétrica da DA em amostras biológicas sintéticas, e os resultados obtidos são apresentados nas próximas subseções.

4.5.1 - Determinação de DA por voltametria de onda quadrada e de pulso diferencial

Para o desenvolvimento do procedimento voltamétrico para determinação de DA utilizando o poli-[Cu(II)TThP]/GCE, foram avaliadas as

técnicas de Voltametria de Onda Quadrada (SWV, do inglês “Square-Wave Voltammetry”) e de Pulso Diferencial (DPV, do inglês “Differential Pulse Voltammetry”). Em um primeiro momento, os parâmetros experimentais de cada técnica foram otimizados utilizando uma solução de DA $5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ preparada em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0). A TABELA 4.2 reúne os intervalos em que cada parâmetro foi estudado e os respectivos valores selecionados. Os valores selecionados para cada parâmetro foram obtidos tendo em conta a condição na qual a maior magnitude de corrente anódica foi registrada e com menor contribuição da corrente de fundo.

TABELA 4.2 - Parâmetros experimentais estudados para as técnicas de SWV e DPV e os respectivos valores selecionados para a determinação de DA

Técnica	Parâmetro	Intervalo	Selecionado
SWV	Frequência (Hz)	10 a 100	80
	Amplitude (mV)	5 a 100	90
	Incremento (mV)	1 a 10	1
	Veloc. de varredura* (mV s^{-1})	2,5 a 10	5
DPV	Amplitude (mV)	10 a 100	90
	Tempo de modulação (ms)	1 a 10	5

*Velocidade de varredura de potencial.

Após a otimização dos parâmetros experimentais, foi avaliado o desempenho analítico de cada técnica voltamétrica para a determinação de DA. Sendo assim, foram construídas as respectivas curvas analíticas empregando-se diferentes concentrações de DA, obtidas a partir de sucessivas adições de pequenas alíquotas de soluções estoque desta catecolamina no eletrólito suporte.

Nas FIGURA 4.38 (A) e (B) são mostrados os voltamogramas de SWV e DPV registrados para diferentes níveis de concentração de DA, e o inserto nas FIGURAs as respectivas curvas analíticas. Os parâmetros analíticos obtidos para a determinação de DA empregando-se as técnicas de SWV e DPV são apresentados na TABELA 4.3. Os limites de detecção (LD) de cada técnica foram calculados com base na Eq. 5:

$$LD = 3 \times s / m \quad (5)$$

Sendo s é o desvio-padrão de 10 medidas do branco (apenas eletrólito suporte) e m é o valor do coeficiente angular da curva analítica (sensibilidade).

A partir da TABELA 4.3 verifica-se que a técnica voltamétrica que apresentou o melhor desempenho analítico para a determinação da DA foi a SWV, pois, o emprego desta técnica permitiu a determinação da DA em uma faixa linear de concentrações mais ampla, em concentrações mais baixas e com melhor correlação, sendo obtido um valor de LD significativamente menor. Desta forma, nos estudos posteriores envolvendo a quantificação da DA foi utilizada a técnica de SWV.

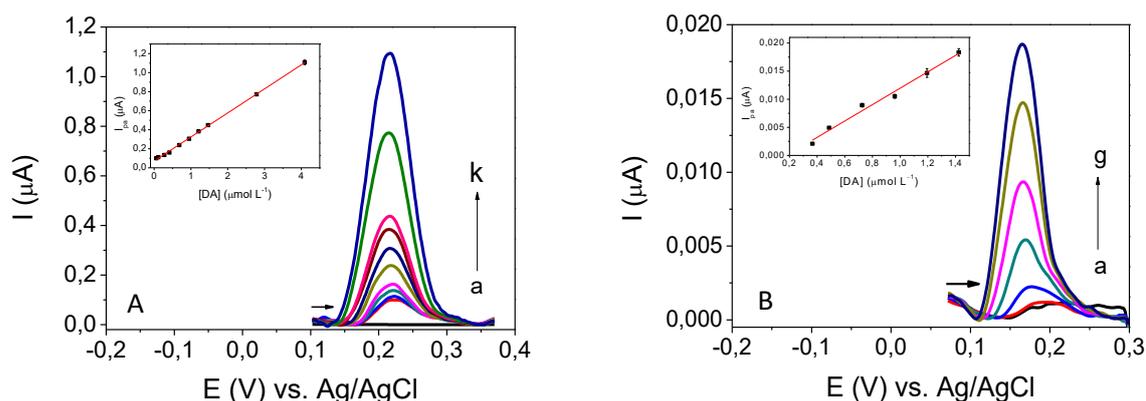


FIGURA 4.38 - (A) Voltamogramas de SWV obtidos para diferentes concentrações de DA em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$): a = branco b = 0,058, c = 0,113, d = 0,278, e = 0,415, f = 0,685, g = 0,950, h = 1,209, i = 1,465, j = 2,784 e k = 4,091 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (Inserida a curva analítica obtida). (B) Voltamogramas de DPV obtidos para diferentes concentrações de DA: a = branco b = 0,366, c = 0,488, d = 0,725, e = 0,961, f = 1,194 e g = 1,424 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (Inserida a curva analítica obtida).

TABELA 4.3 - Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de DA em tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$) utilizando as técnicas de SWV e DPV

Parâmetro	Técnica	
	SWV	DPV
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,0575 a 4,091	0,366 a 1,424
Sensibilidade ($\text{A mol}^{-1} \text{L}$)	0,255	0,015
Coeficiente de correlação (r)	0,999	0,992
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,0409	0,174

4.5.2 - Estudos da repetibilidade

A repetibilidade intra- e inter-dias do procedimento voltamétrico foi investigada. Para a repetibilidade intra-dia, 10 medidas sucessivas para duas soluções de DA de concentrações diferentes ($5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) foram realizadas em um mesmo dia. Foram obtidos valores de desvio-padrão relativo (RSD, do inglês “Relative Standard Deviation”) de 3,4% e 2,9% para as medidas de corrente de pico anódica para as soluções de DA $5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e

$2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Para o estudo da repetibilidade inter-dias, foram comparados os valores de corrente de pico anódica registrados durante 3 dias para soluções de DA com as mesmas concentrações utilizadas no estudo de repetibilidade intra-dia. Fazendo-se isto, valores de RSD iguais a 4,2% e 2,8% foram obtidos. Assim, pode-se concluir que o procedimento analítico proposto utilizando o poli-[Cu(II)TThP]/GCE e a técnica de SWV exibiu boa precisão das medidas.

4.5.3 - Determinação de dopamina em amostras biológicas sintéticas

O método voltamétrico proposto foi empregado para a determinação de DA em duas amostras biológicas sintéticas: urina e soro humano. Três concentrações de DA, $0,32 \mu\text{mol L}^{-1}$, $0,63 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $3,16 \mu\text{mol L}^{-1}$, foram adicionadas a estas amostras e determinadas em termos de porcentagem de recuperação da concentração de dopagem. Os resultados obtidos encontram-se na TABELA 4.4. Como pode ser observado, porcentagens de recuperação satisfatórias na faixa de 95,3% a 108% foram obtidas, sendo um indicativo da potencialidade do procedimento proposto para a determinação de DA em amostras biológicas de fluidos humanos.

TABELA 4.4 - Resultados obtidos para a determinação voltamétrica de DA em amostras biológicas sintéticas de urina e soro humano (n = 3)

Amostra	DA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Recuperação* (%)
	Quantidade adicionada	Quantidade encontrada	
Urina sintética	0,32	$0,34 \pm 0,02$	108
	0,63	$0,68 \pm 0,01$	107
	3,16	$3,09 \pm 0,04$	97,7
Soro humano sintético	0,32	$0,30 \pm 0,01$	95,3
	0,63	$0,65 \pm 0,01$	102
	3,16	$3,34 \pm 0,03$	106

*Recuperação (%) = $([\text{DA}]_{\text{encontrado}}/[\text{DA}]_{\text{adicionado}}) \times 100$.

5 - CONCLUSÕES

Tendo em vista a proposta deste trabalho, que foi a construção de um sensor eletroquímico modificado com [Cu(II)TThP] para a determinação de DA utilizando-se das propriedades eletrônicas do modificador, realizou-se três procedimentos de modificação.

A primeira foi a modificação do eletrodo de ouro por *drop coating*, e observou-se, ao utilizar este sensor modificado em CV, sinais de grande intensidade no estudo do eletrólito suporte (branco), e ao adicionar alíquotas de solução estoque de DA verificou-se que os sinais analíticos eram coincidentes com os obtidos no branco para a varredura anódica e diminuía sua intensidade a cada adição de DA na varredura catódica, dificultando a continuidade do trabalho utilizando este sensor. A partir disso, a estratégia da eletropolimerização da tienil porfirina sobre o eletrodo de ouro foi adotada. O sensor poli-[Cu(II)TThP]/AuE foi então submetido aos mesmos ensaios de desempenho por CV e novamente foram observados sinais analíticos referentes ao modificador coincidentes com os sinais da DA.

A partir destes resultados, dois aspectos importantes foram abordados para obter-se sucesso na proposta de trabalho: a substituição do eletrodo base e estudos de caracterização eletroquímica e espectrofotométrica do modificador proposto.

A investigação das propriedades eletrônicas e eletroquímicas para o [Cu(II)TThP] foram de fundamental importância, pois deram um subsídio fundamental para o estudo de formação de um filme sobre o eletrodo, que foi a elucidação do mecanismo de polimerização do monômero. Foi possível entender as contribuições eletrônicas dos substituintes e do íon metálico na molécula fornecendo dados que fomentaram a hipótese da localização da nuvem eletrônica na região central da molécula, cujo efeito facilita o processo de eletro-oxidação desta molécula e posterior eletropolimerização. Com estas informações

associadas aos resultados obtidos na atribuição dos picos de oxirredução do [Cu(II)TThP] nos ensaios de caracterização eletroquímica, elaborou-se a proposta do mecanismo de formação do poli-[Cu(II)TThP], que consiste na formação de cátions radicais durante a primeira etapa na formação do polímero. O cátion radical é extremamente sensível ao oxigênio dissolvido na solução, sendo assim, incorporou-se a etapa de desoxigenação da solução para evitar a formação de grupos oxigenados ao invés de ligações tiofeno-tiofeno.

Com isto bem estabelecido, o sensor foi morfológicamente caracterizado, e analisando as imagens de MEV, observou-se a necessidade de ser incorporar mais uma etapa na preparação do sensor, que consistiu na limpeza da superfície do eletrodo modificado com DCM para a remoção dos monômeros sobre o poli-[Cu(II)TThP]/GCE. A formação deste polímero foi confirmada empregando-se a espectrometria Raman que indicou a formação de ligações entre os grupos tiofeno, evidenciando o sucesso do procedimento.

O poli-[Cu(II)TThP] foi caracterizado eletroquimicamente utilizando-se a voltametria cíclica e a DA como sonda eletroquímica e analito alvo, e um excelente desempenho eletroquímico foi observado para este material, configurando-se como uma interessante opção como material de eletrodo para aplicações diversas. Além disso, uma elevada constante de transferência heterogênea de elétrons foi obtida para o sensor modificado quando comparado ao GCE, o que significa que este material apresenta uma rápida promoção da transferência de elétrons, desejado para a diminuição dos sobrepotenciais de trabalho e melhoria da seletividade dos métodos eletroanalíticos.

Baseando-se no bom desempenho eletroquímico do poli-[Cu(II)TThP]/GCE, este material foi empregado no desenvolvimento de um método voltamétrico para a determinação de dopamina em amostras biológicas sintéticas.

Utilizando-se a técnica voltamétrica de SWV, a curva analítica construída para a DA foi linear no intervalo de 0,0575 a 4,091 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com um

limite de detecção de $0,0409 \mu\text{mol L}^{-1}$. Registrando-se os sinais de corrente de pico durante o mesmo dia (repetibilidade intra-dia), e durante três dias (repetibilidade inter-dias), foi comprovada a estabilidade de resposta do poli-[Cu(II)TThP]/GCE por um número significativo de medidas sucessivas. Por fim, os analitos alvo foram quantificados com sucesso em amostras biológicas sintéticas.

Os resultados apresentados nesta dissertação demonstraram a potencialidade do uso do poli-[Cu(II)TThP]/GCE para aplicações como sensor eletroquímico. Este material pode ainda ser utilizado para inúmeros estudos futuros, incluindo o seu uso em dispersões com diversos tipos de materiais de carbono (CNTs, grafeno, Carbon Black, etc.) para preparação de eletrodos modificados para a determinação de diferentes analitos de interesse em diversos tipos de matrizes.

6 - REFERÊNCIAS

1. WOHRLE, D. "The colours of life. An introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds. By L. R. Milgrom, Oxford university press, Oxford 1997, vi, 225 pp., softcover, £49.50, ISBN 019-855380-3". *Advanced Materials*, **9** (15): 1191, 1997.
2. KÜSTER, W. "Beitrage zur Kenntnis des Bilirubins und Hämins". *Hoppe Seyler's Z. Physiol Chem*, **82**: 463, 1912.
3. WILLSTÄTTER, R. & STOLL, A. " Untersuchungen über chlorophyll". *Methoden und ergebnisse*: 424, 1913.
4. FISCHER, H., *Über das Urinporphyrin. I. Mitteilung*, in *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie*. 1915. p. 34.
5. ANNINO, J.S., *Química clinica: principios e metodos* 1978, Manole. p.
6. NOMENCLATURE, D.O.C.; PURE, S.R.I.U.O.; CHEMISTRY, A.; NIC, M.; JIRAT, J. & KOSATA, B., *IUPAC goldbook* 2006, IUPAC. p.
7. SMITH, K.M., *Porphyrins and Metalloporphyrins: A New Edition Based on the Original Volume by J. E. Falk* 1975, Elsevier. p.
8. DOLPHIN, D., *The Porphyrins VI: Structure and Synthesis* 2012, Elsevier Science. p.
9. BIESAGA, M.; PYRZYŃSKA, K. & TROJANOWICZ, M. "Porphyrins in analytical chemistry. A review". *Talanta*, **51** (2): 209, 2000.
10. SIMPLICIO, F.I.; MAIONCHI, F. & HIOKA, N. "Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos". *Química Nova*, **25**: 801, 2002.
11. BOYLE, N.M.; ROCHFORD, J. & PRYCE, M.T. "Thienyl—Appended porphyrins: Synthesis, photophysical and electrochemical properties, and their applications". *Coordination Chemistry Reviews*, **254** (1–2): 77, 2010.
12. FERRARIS, J.P. & NEWTON, M.D. "Electrochemical and optical properties of thiophene-alkylheteroaromatic copolymers". *Polymer*, **33** (2): 391, 1992.
13. OSWALD, F.; SHAFIQUIL ISLAM, D.M.; EL-KHOULY, M.E.; ARAKI, Y.; CABALLERO, R.; DE LA CRUZ, P.; ITO, O. & LANGA, F. "Photoinduced electron transfer of zinc porphyrin-oligo(thienylenevinylene)-fullerene[60] triads; thienylenevinylenes as efficient molecular wires". *Physical Chemistry Chemical Physics*, **16** (6): 2443, 2014.
14. CHEN, W.; AKHIGBE, J.; BRÜCKNER, C.; LI, C.M. & LEI, Y. "Electrocatalytic Four-Electron Reduction of Dioxygen by Electrochemically Deposited Poly{[meso-tetrakis(2-thienyl)porphyrinato]cobalt(II)}". *The Journal of Physical Chemistry C*, **114** (18): 8633, 2010.
15. AMBRE, R.; CHEN, K.-B.; YAO, C.-F.; LUO, L.; DIAU, E.W.-G. & HUNG, C.-H. "Effects of Porphyrinic meso-Substituents on the Photovoltaic Performance of Dye-Sensitized Solar Cells: Number and Position of p-Carboxyphenyl and Thienyl Groups on Zinc Porphyrins". *The Journal of Physical Chemistry C*, **116** (22): 11907, 2012.
16. BRUCKNER, C.; FOSS, P.C.D.; SULLIVAN, J.O.; PELTO, R.; ZELLER, M.; BIRGE, R.R. & CRUNDWELL, G. "Origin of the bathochromically shifted optical spectra of meso-tetrathien-2[prime or minute]- and 3[prime or minute]-ylporphyrins as compared to meso-tetraphenylporphyrin". *Physical Chemistry Chemical Physics*, **8** (20): 2402, 2006.
17. MARUYAMA, H.; SEGAWA, H.; SOTODA, S.; SATO, T.; KOSAI, N.; SAGISAKA, S.; SHIMIDZU, T. & TANAKA, K. "Electrochemical construction of ultrathin film composed of quasi two-dimensional porphyrin polymers". *Synthetic Metals*, **96** (2): 141, 1998.
18. ZOSKI, C.G., *Handbook of Electrochemistry* 2007, Elsevier. p.

19. KUTNER, W.; WANG, J.; L'HER, M. & BUCK, R.P., *Analytical aspects of chemically modified electrodes: Classification, critical evaluation and recommendations (IUPAC Recommendations 1998)*, in *Pure and Applied Chemistry*. 1998. p. 1301.
20. MURRAY, R.W., *Molecular design of electrode surfaces* 1992, Wiley. p.
21. BARD, A.J. & RUBINSTEIN, I., *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances* 2003, Taylor & Francis. p.
22. LOVE, J.C.; ESTROFF, L.A.; KRIEBEL, J.K.; NUZZO, R.G. & WHITESIDES, G.M. "Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology". *Chemical Reviews*, **105** (4): 1103, 2005.
23. BYLOOS, M.; AL-MAZNAI, H. & MORIN, M. "Phase Transitions of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers at an Electrified Gold Surface". *The Journal of Physical Chemistry B*, **105** (25): 5900, 2001.
24. H. TEUSCHER, J.; J. YEAGER, L.; YOO, H.; E. CHADWICK, J. & L. GARRELL, C.R. "Phase transitions in thin alkane films and alkanethiolate monolayers on gold detected with a thickness shear mode device". *Faraday Discussions*, **107** (0): 399, 1997.
25. ZHONG, C.-J. & PORTER, M.D. "Designing Interfaces at the Molecular Level". *Analytical Chemistry*, **67** (23): 709A, 1995.
26. FLINK, S.; VAN VEGGEL, F.C.J.M. & REINHOUDT, D.N. "Self-assembled Monolayers on Gold for Applications in Chemical Sensing". *Sensors Update*, **8** (1): 3, 2000.
27. FRANK, S. "Self-assembled monolayers: from 'simple' model systems to biofunctionalized interfaces". *Journal of Physics: Condensed Matter*, **16** (28): R881, 2004.
28. NALWA, H.S., *Handbook of Organic Conductive Molecules and Polymers, Conductive Polymers: Transport, Photophysics and Applications* 1997, Wiley. p.
29. VIDAL, J.-C.; GARCIA-RUIZ, E. & CASTILLO, J.-R. "Recent Advances in Electropolymerized Conducting Polymers in Amperometric Biosensors". *Microchim. Acta*, **143** (2-3): 93, 2003.
30. CHEN, W.; WANG, Y.; BRÜCKNER, C.; LI, C.M. & LEI, Y. "Poly[meso-tetrakis(2-thienyl)porphyrin] for the sensitive electrochemical detection of explosives". *Sensors and Actuators B: Chemical*, **147** (1): 191, 2010.
31. VELEZ, J.H.; MUENA, J.P.; AGUIRRE, M.J.; RAMIREZ, G. & HERRERA, F. "Electrochemical Oxidation of Sulfite in Aqueous Solution by Glassy Carbon Electrode Modified with Polymeric Co(II) Meso-Tetrakis (2-Thienyl)Porphyrin". *Int. J. Electrochem. Sci.*, **7** (4): 3167, 2012.
32. CHEN, W.; DING, Y.; AKHIGBE, J.; BRÜCKNER, C.; LI, C.M. & LEI, Y. "Enhanced electrochemical oxygen reduction-based glucose sensing using glucose oxidase on nanodendritic poly[meso-tetrakis(2-thienyl)porphyrinato]cobalt(II)-SWNTs composite electrodes". *Biosensors and Bioelectronics*, **26** (2): 504, 2010.
33. WIGHTMAN, R.M.; MAY, L.J. & MICHAEL, A.C. "Detection of Dopamine Dynamics in the Brain". *Analytical Chemistry*, **60** (13): 769A, 1988.
34. DA SILVA, R.P.; LIMA, A.W.O. & SERRANO, S.H.P. "Simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid using a pyrolytic graphite electrode modified into dopamine solution". *Analytica Chimica Acta*, **612** (1): 89, 2008.
35. SPOOREN, A.; RONDOU, P.; DEBOWSKA, K.; LINTERMANS, B.; VERMEULEN, L.; SAMYN, B.; SKIETERSKA, K.; DEBYSER, G.; DEVREESE, B.; VANHOENACKER, P.; WOJDA, U.; HAEGEMAN, G. & VAN CRAENENBROECK, K. "Resistance of the dopamine D4 receptor to agonist-induced internalization and degradation". *Cellular Signalling*, **22** (4): 600, 2010.
36. ZHANG, D.; WU, L.; CHOW, D.S.L.; TAM, V.H. & RIOS, D.R. "Quantitative determination of dopamine in human plasma by a highly sensitive LC-MS/MS assay: Application in preterm neonates". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **117**: 227, 2016.

37. DONG, Y.; CHEN, H.; CHEN, Y.; HUI, Y.; CHEN, X. & HU, Z. "Separation and determination of epinephrine and dopamine in traditional Chinese medicines by micellar electrokinetic capillary chromatography with laser induced fluorescence detection". *Journal of Separation Science*, **29** (13): 2049, 2006.
38. SASTRY, C.S.P.; RAO, K.E. & PRASAD, U.V. "Spectrophotometric determination of some phenols with sodium metaperiodate and aminophenols". *Talanta*, **29** (11, Supplement 1): 917, 1982.
39. YANG, L.; LI, X.; XIONG, Y.; LIU, X.; LI, X.; WANG, M.; YAN, S.; ALSHAHRANI, L.A.M.; LIU, P. & ZHANG, C. "The fabrication of a Co (II) complex and multi-walled carbon nanotubes modified glass carbon electrode, and its application for the determination of dopamine". *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **731**: 14, 2014.
40. WANG, X.; ZHANG, F.; XIA, J.; WANG, Z.; BI, S.; XIA, L.; LI, Y.; XIA, Y. & XIA, L. "Modification of electrode surface with covalently functionalized graphene oxide by l-tyrosine for determination of dopamine". *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **738**: 203, 2015.
41. LAUBE, N.; MOHR, B. & HESSE, A. "Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines". *Journal of Crystal Growth*, **233** (1–2): 367, 2001.
42. PARHAM, H. & ZARGAR, B. "Determination of isosorbide dinitrate in arterial plasma, synthetic serum and pharmaceutical formulations by linear sweep voltammetry on a gold electrode". *Talanta*, **55** (2): 255, 2001.
43. EDWARDS, G.A.; BERGREN, A.J. & PORTER, M.D., 8 - *Chemically Modified Electrodes*, in *Handbook of Electrochemistry*, ZOSKI, C.G., Editor. 2007, Elsevier: Amsterdam. p. 295.
44. SMITH, R.K.; LEWIS, P.A. & WEISS, P.S. "Patterning self-assembled monolayers". *Progress in Surface Science*, **75** (1–2): 1, 2004.
45. KOTSINARIS, A.; KYRIACOU, G. & LAMBROU, C.H. "Electrochemical reduction of dichloromethane to higher hydrocarbons". *Journal of Applied Electrochemistry*, **28** (6): 613, 1998.
46. FRY, A.J., *Synthetic Organic Electrochemistry* 1989, Wiley. p.
47. ZOLFAGHARI, A.; CONWAY, B.E. & JERKIEWICZ, G. "Elucidation of the effects of competitive adsorption of Cl⁻ and Br⁻ ions on the initial stages of Pt surface oxidation by means of electrochemical nanogravimetry". *Electrochimica Acta*, **47** (8): 1173, 2002.
48. KADISH, K.M.; SMITH, K.M. & GUILARD, R., *The Porphyrin Handbook: Electron transfer* 2000, Academic Press. p.
49. YUASA, M.; OYAIZU, K.; YAMAGUCHI, A.; ISHIKAWA, M.; EGUCHI, K.; KOBAYASHI, T.; TOYODA, Y. & TSUTSUI, S. "Structure and redox properties of electropolymerized film obtained from iron meso-tetrakis(3-thienyl)porphyrin". *Polymers for Advanced Technologies*, **16** (8): 616, 2005.
50. THIEMANN, T.; WALTON, D.J.; BRETT, A.O.; INIESTA, J.; MARKEN, F. & LIA, Y.-Q. "The chemistry of thiophene S-oxides and related compounds". *Eurasian Conference on Heterocyclic Chemistry*, (ix): 96, 2009.
51. KADISH, K.M.; SMITH, K.M. & GUILARD, R., *The Porphyrin Handbook: Database of redox potentials and binding constants* 1999, Academic Press. p.
52. ROCHFORD, J.; BOTCHWAY, S.; MCGARVEY, J.J.; ROONEY, A.D. & PRYCE, M.T. "Photophysical and Electrochemical Properties of meso-Substituted Thien-2-yl Zn(II) Porphyrins". *The Journal of Physical Chemistry A*, **112** (46): 11611, 2008.
53. GOUTERMAN, M. "Spectra of porphyrins". *Journal of Molecular Spectroscopy*, **6**: 138, 1961.
54. ZHENG, W.; SHAN, N.; YU, L. & WANG, X. "UV-visible, fluorescence and EPR properties of porphyrins and metalloporphyrins". *Dyes and Pigments*, **77** (1): 153, 2008.

55. PRINS, L.J.; REINHOUDT, D.N. & TIMMERMAN, P. "Noncovalent Synthesis Using Hydrogen Bonding". *Angewandte Chemie International Edition*, **40** (13): 2382, 2001.
56. YAGCI, Y.; JOCKUSCH, S. & TURRO, N.J. "Mechanism of Photoinduced Step Polymerization of Thiophene by Onium Salts: Reactions of Phenyliodonium and Diphenylsulfonium Radical Cations with Thiophene". *Macromolecules*, **40** (13): 4481, 2007.
57. RONCALI, J. "Conjugated poly(thiophenes): synthesis, functionalization, and applications". *Chemical Reviews*, **92** (4): 711, 1992.
58. LI, C.; BAI, H. & SHI, G. "Conducting polymer nanomaterials: electrosynthesis and applications". *Chemical Society Reviews*, **38** (8): 2397, 2009.
59. SHARMA, H.S. & PARK, S.-M. "Electrochemistry of Conductive Polymers: XXIX. Polyfluorene Growth in Dichloromethane and Acetonitrile: A Comparative Study". *Journal of The Electrochemical Society*, **151** (2): E61, 2004.
60. SADKI, S.; SCHOTTLAND, P.; BRODIE, N. & SABOURAUD, G. "The mechanisms of pyrrole electropolymerization". *Chemical Society Reviews*, **29** (5): 283, 2000.
61. SOCRATES, G., *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts* 2004, Wiley. p.
62. ARDILA, J.A.; OLIVEIRA, G.G.; MEDEIROS, R.A. & FATIBELLO-FILHO, O. "Square-wave adsorptive stripping voltammetric determination of nanomolar levels of bezafibrate using a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes within a dihexadecyl hydrogen phosphate film". *Analyst*, **139** (7): 1762, 2014.
63. VATRÁL, J.; BOČA, R. & LINERT, W. "Oxidation properties of dopamine at and near physiological conditions". *Monatsh Chem*, **146** (11): 1799, 2015.
64. DOGAN-TOPAL, B.; USLU, B. & OZKAN, S.A. "Investigation of electrochemical behavior of lipid lowering agent atorvastatin calcium in aqueous media and its determination from pharmaceutical dosage forms and biological fluids using boron-doped diamond and glassy carbon electrodes". *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, **10** (7): 571, 2007.
65. ABBAR, J.C. & NANDIBEWOOR, S.T. "Voltammetric oxidation and determination of atorvastatin based on the enhancement effect of cetyltrimethyl ammonium bromide at a carbon paste electrode". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **106** (0): 158, 2013.
66. BRETT, C.M.A. & BRETT, A.M.O., *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications* 1993, Oxford Science Publications: Oxford. p.
67. BARD, A.J. & FAULKNER, L.R., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications* 2001, John Wiley & Sons Inc: New York. p.
68. NICHOLSON, R.S. "Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics". *Analytical Chemistry*, **37** (11): 1351, 1965.
69. LAVAGNINI, I.; ANTIOCHIA, R. & MAGNO, F. "An Extended Method for the Practical Evaluation of the Standard Rate Constant from Cyclic Voltammetric Data". *Electroanalysis*, **16** (6): 505, 2004.
70. FIGUEIREDO-FILHO, L.C.S.; SILVA, T.A.; VICENTINI, F.C. & FATIBELLO-FILHO, O. "Simultaneous voltammetric determination of dopamine and epinephrine in human body fluid samples using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon nanotubes within a dihexadecylphosphate film". *Analyst*, **139** (11): 2842, 2014.