

Universidade Federal de São Carlos  
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia  
Departamento de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

**Nanotubos de carbono no desenvolvimento  
de sensores eletroquímicos**

FERNANDO CRUZ DE MORAES\*

Tese apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de  
DOUTOR EM CIÊNCIAS, área de  
concentração: FÍSICO-QUÍMICA

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Helena Mascaro

\*Bolsista CNPq

**São Carlos – SP**

**2010**

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

M827nc

Moraes, Fernando Cruz de.

Nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores eletroquímicos / Fernando Cruz de Moraes. -- São Carlos : UFSCar, 2010.

126 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

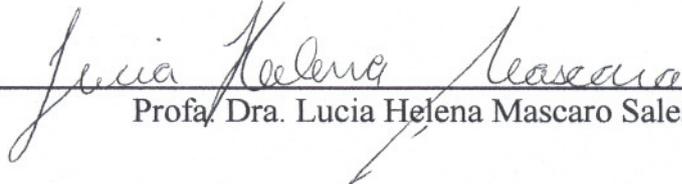
1. Química. 2. Nanotubos de carbono. 3. Sensores eletroquímicos. 4. Pesticidas. 5. Catecolaminas. 6. Ftalocianina de cobalto. I. Título.

CDD: 540 (20<sup>a</sup>)

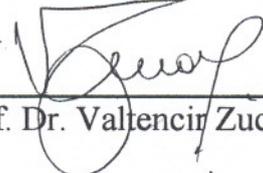
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
*Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia*  
*Departamento de Química*  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**Curso de Doutorado**

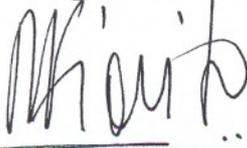
---

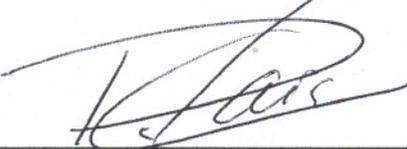
*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado do candidato **Fernando Cruz de Moraes**, realizada em 27 de agosto de 2010:*

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Lucia Helena Mascaro Sales

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Mauro Bertotti

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Valtencir Zucolotto

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Pablo Alejandro Fiorito

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria

## AGRADECIMENTOS

*Primeiramente agradeço a Deus por ter me abençoado nesta jornada com força, coragem, persistência e equilíbrio para concluir este trabalho*

*À Profa. Dra. Lúcia Helena Mascaro pelas oportunidades, orientação, incentivo, amizade e confiança durante todo decorrer do trabalho, além de estar sempre disponível às minhas necessidades.*

*Ao Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado pela oportunidade, orientação durante todo decorrer do trabalho, contribuindo para o meu aprendizado e crescimento profissional, além da confiança e amizade.*

*Ao Prof. Dr. Christopher Brett pelo aprendizado e pela oportunidade de estagiar na Universidade de Coimbra.*

*Aos professores membros da banca pela presença e correções sugeridas.*

*Aos órgãos de financiamento: CNPq e CNPq-SWE (Processo 2011494/2008-6).*

*À minha querida esposa Ivana Cesarino, pelo amor, compreensão, paciência e carinho, além do incentivo e das discussões científicas que muito me ajudou durante o desenvolvimento deste trabalho.*

*À todos que contribuíram de forma direta para a realização deste trabalho, em especial o Dr. Murilo F. Cabral, Dra. Sônia S. T. Tanimoto, Prof. Dr. Giancarlo R. Salazar-Banda e Diego L. C. Golinelli.*

*Aos amigos do GMEME (Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos) do IQSC/USP.*

*À toda minha família, em especial à minha mãe Sylvia e meu irmão André.*

*À família que me acolheu: Sr. Jerônimo, D. Ivani, João e Vivian e a todos meus cunhados e cunhadas.*

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x

### CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação.....	1
1.2 Nanotubos de carbono.....	3
1.3 Ftalocianinas.....	9
1.4 Catecolaminas.....	14
1.4.1 Dopamina.....	15
1.4.2 Adrenalina.....	18
1.5 Defensivos agrícolas.....	20
1.5.1 4-Nitrofenol.....	22
1.5.2 Carbaril.....	24
1.5.3 Glifosato.....	28

### CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

2.1 Objetivos.....	33
--------------------	----

### CAPÍTULO 3 – EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções.....	35
3.2 Funcionalização dos CNTs.....	36
3.3 Preparação das suspensões de MWCNT e MWCNT/CoPc.....	36
3.4 Preparação dos eletrodos.....	37
3.4.1 Eletrodos filmes.....	37
3.4.2 Eletrodos compósitos.....	37
3.5 Eletrodos.....	38
3.5.1 Eletrodos de referência.....	38
3.5.2 Eletrodo auxiliar.....	39
3.5.3 Eletrodos de trabalho.....	39

3.6 Célula eletroquímica.....	39
3.7 Métodos.....	39
3.7.1 Caracterização morfológica e estrutural dos CNTs funcionalizados.....	39
3.7.2 Caracterização eletroquímica dos CNTs antes após a etapa de funcionalização.....	40
3.7.3 Técnicas eletroquímica de análise.....	41
3.7.4 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	41

## CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito da funcionalização química dos nanotubos de carbono.....	43
4.1.1 Caracterização morfológica e estrutural dos CNTs.....	43
4.1.2 Caracterização eletroquímica da etapa de funcionalização.....	46
4.1.3 Considerações gerais.....	50
4.2 Determinação de 4-nitrofenol em águas naturais utilizando sensor a base de filmes de nanotubos de carbono de paredes múltiplas.....	51
4.2.1 Estudo do comportamento eletroquímico do 4-NP.....	51
4.2.2 Efeito eletrocatalítico do eletrodo de GC/MWCNT.....	55
4.2.3 Otimização dos parâmetros eletroanalíticos.....	56
4.2.4 Curva analítica e análise de amostra.....	59
4.2.5 Utilização da cromatografia HPCL como método comparativo.....	61
4.2.6 Considerações gerais.....	61
4.3 Determinação eletroquímica direta de carbaril utilizando eletrodo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas/ftalocianina de cobalto.....	63
4.3.1. Análise morfológica da superfície dos eletrodos modificados.....	63
4.3.2. Eletro-oxidação do carbaril.....	64
4.3.3 Espectroscopia de impedância eletroquímica.....	66
4.3.4 Estudos da otimização dos parâmetros eletroanalíticos.....	68
4.3.5 Curva analítica e análise de carbaril em amostra de águas naturais.....	71
4.3.6 Considerações gerais.....	74
4.4 Determinação eletroquímica do herbicida glifosato utilizando um sensor a base nanotubos de carbono modificados com ftalocianina de cobre.....	75

4.4.1	<i>Estudo da resposta e do comportamento eletroquímico do glifosato.....</i>	75
4.4.2	<i>Estudo adsorção de glifosato na superfície do eletrodo de GC/MWCNT/CuPc.....</i>	78
4.4.3	<i>Otimização dos parâmetros experimentais.....</i>	81
4.4.4	<i>Curva analítica para glifosato.....</i>	84
4.4.5	<i>Considerações gerais.....</i>	85
4.5	<i>Determinação seletiva de dopamina na presença de excesso de ácido ascórbico utilizando sensor de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianina de cobalto.....</i>	86
4.5.1	<i>Comportamento eletrocatalítico do eletrodo de GC/MWCNT/CoPc na eletro-oxidação de dopamina.....</i>	86
4.5.2	<i>Mecanismo de oxidação da dopamina na superfície do eletrodo de GC/MWCNT/CoPc.....</i>	89
4.5.3	<i>Estudo da interferência do ácido ascórbico.....</i>	91
4.5.4	<i>Otimização dos parâmetros da técnica de DPV.....</i>	94
4.5.5	<i>Curva analítica para DA em meio contendo excesso de AA.....</i>	95
4.5.6	<i>Considerações gerais.....</i>	96
4.6	<i>Determinação de epinefrina em urina utilizando um eletrodo compósito de parafina e nanotubos de carbono de paredes múltiplas modificados com ftalocianina de cobalto.....</i>	97
4.6.1	<i>Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo compósito Parafina/MWCNT/CoPc frente ao processo de oxidação da epinefrina.....</i>	97
4.6.2	<i>Otimizações dos parâmetros para a resposta eletroquímica da EP sobre o eletrodo compósito Parafina/MWCNT/CoPc.....</i>	102
4.6.3	<i>Estudo da interferência do ácido úrico.....</i>	105
4.6.4	<i>Curva analítica.....</i>	106
4.6.5	<i>análise de amostra de EP em urina humana.....</i>	108
4.6.6	<i>Considerações gerais.....</i>	109
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES.....		112
CAPÍTULO 6– REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		115

## LISTA DE ABREVIATURAS

4-NP - 4-Nitrofenol

AA - Ácido ascórbico

Ag/AgCl - Eletrodo de prata/cloreto de prata

BDD - Diamante dopado com boro

CNTs - Nanotubos de carbono

CoPc - Ftalocianina de cobalto

*CPE* - Elemento constante de fase

CuPc - Ftalocianina de cobre

DA - Dopamina

DMF - Dimetilformamida

DPV - Voltametria de pulso diferencial

ECS - Eletrodo de calomelano saturado

EIS - Espectroscopia de impedância eletroquímica

EP - Epinefrina

$E_{pa}$  - Potencial de pico anódico

$E_{pc}$  - Potencial de pico catódico

FEG-SEM - Microscopia eletrônica de varredura acoplada a um canhão de elétrons

FTIR – Infravermelho com transformada de Fourier

GC - Carbono vítreo

Gli - Glifosato

$I_{pa}$  - Corrente de pico anódica

$I_{pc}$  - Corrente de pico catódica

$K_3[Fe(CN)_6]$  - Hexacianoferrato de potássio

$k_{app}$  - Constante aparente de velocidade

*LD* - Limite de detecção

LSV - Voltametria de varredura linear

MPc - Ftalocianinas metálicas

MWCNT - Nanotubos de carbono de paredes múltiplas

PBS - Solução tampão fosfato

$R_{ct}$  - Resistência de transferência de carga

$R_s$  - Resistência da solução

$RSD$  – Desvio padrão relativo

SWV - Voltametria de onda quadrada

TEM - Microscopia de transmissão eletrônica

UA - Ácido úrico

UFCA - Urinary Free Catecholamine

VC - Voltametria cíclica

$Z_w$  - Impedância de Warburg

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho.....	35
Tabela 2. Sumário dos parâmetros de EIS estimados para os eletrodos, em 0,5 mol L <sup>-1</sup> de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> contendo 5,0 mmol L <sup>-1</sup> de K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ].....	49
Tabela 3. Otimizações dos parâmetros da técnica de SWV para a oxidação de 4-NP sobre o eletrodo de GC/MWCNT.....	57
Tabela 4. Sumário dos parâmetros de EIS estimados para os eletrodos, para a oxidação do carbaril.....	67
Tabela 5. Determinação de carbaril em amostra de água de rio (cada valor é a média de 3 determinações).....	73
Tabela 6. Sumário dos parâmetros de EIS estimados para os eletrodos, para a oxidação de DA.....	88
Tabela 7. Determinação de EP em amostras de urina humana.....	109

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama e microscopias dos diferentes tipos de CNTs.....	4
Figura 2 – (A) Diagrama da formação de nanotubos de carbono a partir de uma folha de grafeno e (B) Geometrias dos CNTs: (a) <i>armchair</i> , (b) <i>zig-zag</i> , (c) <i>chiral</i> .....	5
Figura 3 – Estrutura de uma metaloftalocinaina (MPc).....	10
Figura 4. Mecanismo de transformação das catecolaminas no organismo.....	14
Figura 5. Estruturas moleculares e mecanismos de oxidação eletroquímica para a dopamina e ácido ascórbico.....	16
Figura 6. Redução eletroquímica do 4-NP formando hidroxilamina.....	22
Figura 7. Oxidação eletroquímica do 4-NP formando <i>p</i> -benzoquinona.....	23
Figura 8. Mecanismo de oxidação eletroquímica do carbaril.....	27
Figura 9. Fórmula estrutural do glifosato.....	29
Figura 10. Esquema do eletrodo compósito Parafina/MWCMT/CoPc.....	38
Figura 11. Microscopia FEG-SEM: (a) CNTs não funcionalizados e (b) CNTs funcionalizados.....	43
Figura 12. Microscopia TEM: (a) CNTs não funcionalizados e (b) CNTs funcionalizados.....	44
Figura 13. Espectros de FTIR para os CNTs não funcionalizados (—) e CNTs funcionalizados (—).....	45
Figura 14. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos: GC (—), GC/MWCNT não funcionalizado (—) e GC/MWCNT funcionalizado (—), em meio 0,1 mol L <sup>-1</sup> de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> contendo 5,0 mol L <sup>-1</sup> de K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ], com velocidade de varredura de potencial de 50 mV s <sup>-1</sup> .....	46
Figura 15. Diagramas de Nyquist para os eletrodos: GC (■), CNTs não funcionalizado (●) e CNTs funcionalizados (▲), na presença de 5,0 mmol L <sup>-1</sup> de K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]. Detalhe: circuito de Randles modificado.....	48
Figura 16. Voltamogramas cíclicos obtidos para 1,0 mmol L <sup>-1</sup> de 4-NP em meio de PBS (pH = 6,0), com os seguintes potenciais de inversão: (a) -0,3; (b) -0,4; (c) -0,5; (d) -0,6; (e) -0,7; (f) -0,8; (g)-0,9; (h) -1,0 e (i) -1,1 V.....	51

- Figura 17. Voltamogramas cíclicos sucessivos na presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP em meio de PBS (pH = 6,0). (—) PBS na ausência de 4-NP, (—) primeiro ciclo e (—) nove sucessivos ciclos.....52
- Figura 18. Espectros de UV/Vis para uma solução contendo  $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-NP: antes da eletrólise (—) e após uma hora de eletrólise, em potencial fixo de  $-1,0 \text{ V}$  (—). Detalhe: ampliação da região da banda de absorção do 4-NP.....53
- Figura 19. Mecanismo eletroquímico do 4-NP na superfície do eletrodo de GC/MWCNT.....54
- Figura 20. Voltametria de varredura linear para os eletrodos de GC (—), BDD (—) e GC/MWCNT (—) em PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,0) contendo de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP, com  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .....56
- Figura 21. Gráfico da relação linear entre a variação de pH vs.  $E_{pa}$  (●) e pH vs.  $I_{pa}$  (●), em um meio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP.....57
- Figura 22. Efeito da frequência nos voltamogramas de SWV: Frequências: (a) 10; (b) 20; (b) 30; (d) 40; (e) 50; (f) 75 e (g) 100 Hz. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a raiz quadrada da frequência.....58
- Figura 23. Voltamogramas de SWV para o eletrodo de GC/MWCNT, com os valores otimizados mostrados na Tabela 3. As concentrações de 4-NP em  $\mu\text{mol L}^{-1}$  são: (a) 1,0; (b) 5,0; (c) 10,0; (d) 15,0; (e) 20,0; (f) 25,0 e (g) 30,0. Detalhe: dependência linear dependence do pico de corrente com a concentração de 4-NP.....60
- Figura 24 – Micrografias de FEG-SEM para os filmes: (A) MWCNT e (B) MWCNT/CoPc.....63
- Figura 25. Voltamogramas de SWV para os eletrodos: GC (—), GC/MWCNT (—) e GC/MWCNT/CoPc (—) em solução tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril, com frequência de 20 Hz, amplitude de 100 mV e salto de potencial de 2 mV.....65
- Figura 26. Componentes da corrente da SWV para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc: total (—); direta (—) e reversa (—).....66
- Figura 27. Espectros no plano complexo para os eletrodos de GC (Δ), GC/MWCNT (□) e GC/MWCNT/CoPc (○), em solução de tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril.....67
- Figura 28. Efeito do potencial de pré-tratamento no pico de oxidação do carbaril em solução tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril.....69

Figura 29. (A) Voltamogramas de SWV para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc em em solução eletrolítica tampão com força iônica de $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH, contendo $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de carbaril. (B) Gráfico de $E_{pa}$ em função do pH (■) e $I_{pa}$ em função do pH (●).....	70
Figura 30. Mecanismo eletroquímico para a reação de oxidação de carbaril.....	70
Figura 31. Curva analítica utilizando SWV com o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc com os parâmetros otimizados para as seguintes concentrações de carbaril em $\mu\text{mol L}^{-1}$ : (a) 0,33; (b) 0,66; (c) 1,33, (d) 1,99; (e) 2,66, (f) 3,33; (g) 3,99; (h) 4,66; (i) 5,33; (j) 5,99 e (k) 6,62. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a concentração de carbaril.....	72
Figura 32. Voltamogramas de DPV, em PBS (pH 7,5) para os eletrodos: GC/MWCNT na ausência (—) e na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Gli (—) e GC/MWCNT/CuPc na ausência (▲) e presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Gli (▲). Os parâmetros de DPV foram amplitude de 100 mV e step de potencial de 2mV.....	76
Figura 33. Gráfico da relação linear entre a variação de pH vs. $E_{pa}$ (■) e pH vs. $I_{pa}$ (●), em meio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Gli.....	77
Figura 34. Esquema do equilíbrio e constante de dissociação ácida do glifosato.....	78
Figura 35. Dependência linear da velocidade de varredura com a $I_{pa}$ .....	79
Figura 36. Espectros no plano complexo para os eletrodos de GC/MWCNT/CuPc, nas seguintes situações: a) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,5) (△); b) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,5) contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Gli (■) e c) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PBS (pH 7,5) após dez sucessivos voltamogramas cíclicos em solução contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Gli (○)....	80
Figura 37. Relação entre a concentração de CuPc na suspensão de MWCNT e o pico de corrente de oxidação de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de Gli, em meio PBS pH 7,5.....	82
Figura 38. Estudo da amplitude de pulso na técnica de DPV para o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc, em solução tampão fosfato $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7.5) contendo $1.0 \text{ mmol L}^{-1}$ de glifosato, com amplitude de pulso variando no intervalo de 10 a 100 mV.....	83
Figura 39. Curva analítica utilizando DPV com eletrodo de GC/MWCNT/CuPc com os parâmetros otimizados para as seguintes concentrações de glifosato em $\mu\text{mol L}^{-1}$ : (a) 0,83; (b) 1,66; (c) 3,32, (d) 4,97; (e) 6,62, (f) 8,26 e (g) 9,90. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a concentração de glifosato.....	84
Figura 40. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos de GC (—), GC/MWCNT (—) e GC/MWCNT/CoPc (—), em PBS $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4.0) contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de dopamina, com velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ .....	87

- Figura 41. Espectros no plano complexo para os eletrodos de GC (■), GC/MWCNT (●) e GC/MWCNT/CoPc (△), em PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 4.0) contendo 1.0 mmol L<sup>-1</sup> de DA. Detalhe mostra a ampliação do espectro.....88
- Figura 42. Efeito do pH no  $E_{pa}$  (■) e  $I_{pa}$  (●) para a oxidação de dopamina sobre o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de dopamina.....90
- Figura 43. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc em solução 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de dopamina, nas seguintes velocidades de varredura: 5; 10; 25; 50; 75 e 100 mV s<sup>-1</sup>. Detalhe: relação linear entre  $I_{pa}$  e a velocidade de varredura.....91
- Figura 44. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos de GC (—), GC/MWCNT (—) e GC/MWCNT/CoPc (—), em 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS (pH 4.0) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de DA e 2,0 mmol L<sup>-1</sup> de AA, com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>.....92
- Figura 45. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc: (a) 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de DA + 2,0 mmol L<sup>-1</sup> de AA e (b) 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de DA + 100,0 mmol L<sup>-1</sup> de AA. Os símbolos correspondem aos processo de deconvolução dos voltamogramas para o AA (●) e para a DA (●).....93
- Figura 46. Voltamogramas de DPV para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em 0,2 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 4,0) contendo 0,1 mol L<sup>-1</sup> de AA. As concentrações de DA em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ : (a) 3,1; (b) 13,5; (c) 32,5; (d) 50,5; (e) 62,5 e (f) 90,3. Detalhe: Resposta total dos voltamogramas contendo AA e as adições de DA.....95
- Figura 47. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo composto de Parafina/MWCNT/CoPc na ausência de EP (—) e na presença de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de EP (○), com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>. Voltamogramas cíclicos com 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de EP (—) nas seguintes velocidades de varredura: 10; 20; 30; 40; 75 e 100 mV s<sup>-1</sup>. Detalhe: Relação linear entre  $I_{pa}$  e a velocidade de varredura.....98
- Figura 48. Voltamogramas de DPV para os eletrodos compostos: Parafina/Grafite (—), Parafina/MWCNT (—) e Parafina/MWCNT/CoPc (—) em 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS (pH 6,0) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de EP, amplitude de 100 mV e salto de potencial de 2 mV.....99
- Figura 49. Mecanismo e oxidação da epinefrina na superfície do MWCNT/CoPc....100
- Figura 50. Gráfico da relação linear entre a variação de pH vs.  $E_{pa}$  (■) e pH vs.  $I_{pa}$  (●), em meio 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> EP.....101
- Figura 51. Efeito da composição do eletrodo no pico de oxidação da EP, em 0,2 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 6,0) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de EP, com amplitude de pulso de 100 mV e salto de potencial de 2mV. (A) Proporção ( $m/m$ ) de MWCNT e parafina. (B) Proporção ( $m/m$ ) de MWCNT e CoPc, com teor de parafina fixo em 40 %.....103

Figura 52. Microscopias do tipo FEG-SEM para o eletrodo compósito de Parafina/MWCNT/CoPc: (A) magnitude de 10000x e (B) magnitude de 80000x.....104

Figura 53. Voltamogramas de DPV para o eletrodo compósito de Parafina/MWCNT/CoPc, em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de UA e foram adicionadas as seguintes concentrações de EP: (a)  $1,0 \times 10^{-5}$ , (b)  $5,0 \times 10^{-5}$ , (c)  $1,0 \times 10^{-4}$  e (d)  $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  .....106

Figura 54. Curva analítica utilizando DPV com eletrodo compósito Parafina/MWCNT/CoPc com os parâmetros otimizados para as seguintes concentrações de epinefrina em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ : (a) 1,33; (b) 1,99; (c) 2,66; (d) 3,33; (e) 3,99 e (f) 5,50. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a concentração de epinefrina.....107

Figura 55. Voltamogramas de DPV para o eletrodo compósito de Parafina/MWCNT/CoPc: PBS na ausência de urina humana (—), PBS contendo urina humana (○) e adições consecutivas de padrão de EP (—) nas seguintes concentrações: 100, 150, 200 e 250  $\text{nmol L}^{-1}$ . Detalhe: ampliação da região de eletro-oxidação da EP.....108

## RESUMO

### **Nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores eletroquímicos**

Os nanotubos de carbono (CNTs) têm despertado um grande interesse na área de eletroanálise, pois estes materiais possuem importantes características, como a alta velocidade na transferência de carga, alta área superficial e a presença de grupos funcionais que fazem com que os sensores baseados em CNTs sejam atrativos para serem modificados com diversos tipos de espécies. As ftalocianinas metálicas (MPc) são conhecidas como excelentes mediadores redox e podem ser eletrostaticamente adsorvidas sobre os CNTs, onde o sistema MPc-CNT apresenta efeito sinérgico e altamente eletrocatalítico. Desta forma, o objetivo deste trabalho é caracterizar as propriedades eletrocatalíticas dos CNTs, em relação à etapa de funcionalização destes em meio oxidante e desenvolver sensores eletroquímicos com CNTs modificados com MPc para a determinação de substâncias de interesse ambiental e medicinal. Os CNTs foram funcionalizados em meio oxidante (mistura 1:3 HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). A análise microestrutural foi antes e após a etapa de funcionalização foi realizada utilizando as técnicas de FTIR e as microscopias do tipo FEG-SEM e TEM, nas quais foram observados que a etapa de funcionalização diminui o diâmetro dos tubos, desbloqueia os planos de borda e aumenta a população de grupos funcionais. As características eletrocatalíticas dos CNTs foram analisadas pela voltametria cíclica e pela espectroscopia de impedância eletroquímica, nas quais estas análises demonstraram que os CNTs funcionalizados diminuíram tanto o potencial de oxidação do par redox [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-/3-</sup>, quanto a resistência de transferência eletrônica, além de aumento nas correntes de oxidação e redução e melhoria na reversibilidade do sistema. Foram desenvolvidos métodos para a detecção dos defensivos agrícolas 4-nitrofenol (4-NP), carbaril e glifosato (Gli) em águas naturais. Para cada defensivo agrícola foi utilizado um sensor específico de CNTs e ftalocianinas metálicas. Substâncias medicinais (catecolaminas) também foram avaliadas e os sensores desenvolvidos foram baseados em CNTs modificados com ftalocianina de cobalto. Os sensores eletroquímicos propostos mostraram-se altamente eletrocatalíticos e sensíveis na determinação dos defensivos agrícolas das catecolaminas. A metodologia proposta comparada com os métodos oficiais de análise e foi observado que os sensores atingem os limites mínimos necessários de detecção, demonstrando que sensores eletroquímicos baseados em CNTs tornam-se uma alternativa no desenvolvimento de metodologias altamente sensíveis, rápidas e de baixo custo.

## ABSTRACT

### **Carbon nanotubes on development of electrochemical sensors**

Carbon nanotubes (CNTs) have attracted great interest in electroanalysis. This material shows important properties as high charge transfer rate, high surface area and the presence of functional groups that make the sensors based on CNTs are attractive to be modified with several species. Metallic phthalocyanines (MPc) are well recognized for their excellent electrocatalytic properties and can be electrostatically adsorbed onto CNTs, where the CNT-MPc system shows a synergic and electrocatalytic effect. Thus, this work aims to characterize the electrocatalytic properties of CNTs, after a functionalization step of CNTs in an oxidizing media. Another objective is the development of electrochemical sensors based in functionalized CNTs modified with metallic phthalocyanines for the determination of environmental and medicinal substances. The CNTs were functionalized in oxidizing media (mixture 1:3 HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). The micro-structural analysis was characterized by FTIR and the FEG-SEM and TEM microscopy, in which was observed that the functionalization step decreases the diameter of the tubes, unlocks the edge plans and increases the density of functional groups. The electrochemical characteristics of CNTs were examined by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, in which these tests showed that the functionalized CNTs shift for more negative values the oxidation potential of redox couple [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-/3-</sup>, as the electron transfer resistance, increase in oxidation and reduction current besides the improvement in the reversibility of the system. An electrochemical methodology were developed for the detection of pesticides 4-nitrophenol (4-NP), carbaryl, and glyphosate (Gly) in natural waters. For each pesticide used a specific sensor was constructed based on CNTs and metallic phthalocyanines. Medicinal substances (catecholamines) were also evaluated and developed sensors based on CNTs modified with cobalt phthalocyanine were developed. The proposed electrochemical sensors presented highly electrocatalytic and sensitive in the determination of pesticides and catecholamines. The proposed methodology were compared with the official methods of analysis and noted that the sensors yielded the detection limits required, demonstrating that electrochemical sensors based on CNTs become an alternative for the development of highly sensitive, rapid and low cost methodologies.

# Capítulo 1 - Introdução

---

## 1.1 Apresentação

Métodos de análise consistem na utilização de técnicas analíticas com a finalidade de separar, identificar ou quantificar substâncias de interesse. Nos dias atuais, todas as substâncias de interesse ambiental, medicinal ou que possua grande impacto econômico possuem um protocolo de análise. Esses métodos padrões de análise, bem como os níveis máximos e mínimos estabelecidos para essas substâncias em determinadas amostras são determinados por legislações específicas de um país, conglomerados de países ou por agências mundialmente reconhecidas como: a Farmacopeia Europeia e Americana, OMS (Organização Mundial de Saúde), IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), USEPA (United States Environmental Protection Agency), EEA (European Environmental Agency). No Brasil, os principais órgãos de legislação são a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente).

Os métodos oficiais de análise das substâncias estudadas neste trabalho, como as catecolaminas (dopamina e adrenalina) e os defensivos agrícolas (4-nitrofenol, carbaril e glifosato) são determinados por métodos cromatográficos.

Dopamina<sup>1</sup> e adrenalina<sup>2</sup> possuem protocolos oficiais de análise que utilizam a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (HPLC-UVvis). Com relação aos defensivos agrícolas, as normas determinadas pela USEPA para a análise desses contaminantes em águas são as seguintes: para o 4-nitrofenol<sup>3</sup>, a técnica oficial de análise é a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-MS); para o carbaril<sup>4</sup> é (HPLC-UVvis) e para o glifosato<sup>5</sup>, o protocolo de análise é HPLC com detecção por fluorescência.

As técnicas cromatográficas possuem alta sensibilidade e seletividade na determinação das substâncias mencionadas anteriormente. Contudo, apresentam algumas limitações, como a necessidade de várias etapas de pré-tratamento (preparação de amostra, extração, *clean up*, derivatizações da amostra em meio

ácido ou alcalino). Essas etapas têm como objetivo obter um extrato final totalmente compatível com a técnica. Na cromatografia líquida, normalmente, são geradas altas quantidades de resíduos contendo solventes orgânicos, que além de serem tóxicos, tornam o procedimento mais complicado e caro. Outro ponto a salientar é que a cromatografia não permite a análise em campo, direta e *in situ*. Nesse contexto, o uso das técnicas eletroanalíticas aparece como uma alternativa aos métodos oficiais de análise.

Métodos eletroquímicos têm como vantagem baixo custo, alta sensibilidade, facilidade de operação, potencialidade de miniaturização e automação. Permitem a construção de dispositivos simples, portáteis e possibilitam o monitoramento rápido de substâncias diretamente no campo e *in situ*.

Entretanto, alguns pontos têm de ser levados em conta no desenvolvimento de uma metodologia eletroquímica de monitoramento. A construção do sensor deve ser feita de modo que esse possua maior sensibilidade, seletividade, robustez, etc. Para isso, nas etapas de construção, a escolha do transdutor é de suma importância, pois esse deve possuir, principalmente, condutividade elétrica adequada e servir de suporte para possíveis modificações ou imobilizações de substâncias.

Dentre os transdutores mais utilizados podem ser destacados os eletrodos metálicos como ouro<sup>6</sup> e platina<sup>7</sup> e os eletrodos à base de carbono como o diamante dopado com boro (BDD)<sup>8</sup>, carbono pirolítico altamente ordenado (HOPG)<sup>9</sup>, carbono vítreo (GC)<sup>10</sup> e os compósitos à base de carbono, como a pasta de carbono<sup>11</sup>, o grafite epóxi<sup>12</sup>, dentre outros.

Outro item relevante na área de desenvolvimento e construção de sensores eletroquímicos é a utilização de modificadores, cuja principal finalidade é propiciar um aumento na sensibilidade e na seletividade do sensor. A busca de novos materiais para modificação de sensores é alvo de diversos grupos de pesquisa em todo mundo. Dentre os materiais mais estudados e utilizados, atualmente, encontram-se os filmes e compósitos à base de nanotubos de

carbono (CNTs). As propriedades e diversas aplicações dos CNTs serão discutidas a seguir, bem como a utilização de mediadores redox, como as ftalocianinas metálicas no desenvolvimento de sistemas sinérgicos, onde a principal finalidade é aumentar a sensibilidade dos sensores.

## 1.2 Nanotubos de carbono

Desde sua descoberta, em 1991<sup>13</sup>, os nanotubos de carbono (CNTs) têm despertado um grande interesse em diferentes aplicações, devido às suas características próprias como propriedades eletrônicas, grande resistência mecânica e suas propriedades químicas<sup>14</sup>. Com uma força de tensão cem vezes maior que a do aço, excelente condutividade térmica e elétrica, os CNTs, hoje em dia, são um dos componentes mais usados no desenvolvimento da nanotecnologia e vêm sendo alvo da pesquisa para vários grupos de pesquisas e em diversos ramos da indústria de alta tecnologia em todo o mundo.

Os CNTs são formados por arranjos hexagonais de carbono dispostos em folhas de grafeno, que são enroladas em formato cilíndrico com diâmetro na ordem de nanômetros e comprimento que varia de nanômetros a centímetros. Esses cilindros são fechados como uma espécie de abóboda de carbono<sup>14</sup>, a qual é o resultado da inclusão de pentágonos na estrutura hexagonal da parede de grafeno durante o processo de síntese.

Os CNTs podem ser sintetizados por diversos métodos: a síntese catalítica que utiliza metais de transição sobre suportes de sílica, alumina e zeólitas<sup>15</sup>, a decomposição de monóxido de carbono em altas pressões e altas temperaturas<sup>16</sup>, a erosão a laser<sup>17</sup>, o método de pirólise em arco voltaico<sup>18</sup> e o método mais utilizado que é o da deposição por vapor químico (CVD). Esses processos apresentam o problema de produzir, paralelamente, o carbono amorfo, além da presença inevitável de partículas metálicas oriundas dos catalisadores. No entanto, a síntese catalítica e a CVD possibilitam um maior controle das variáveis de síntese quando comparadas aos demais processos listados

anteriormente. Com a otimização das condições de síntese, o método CVD apresenta alta eficiência na obtenção de grandes quantidades de nanotubos de boa qualidade e com baixo teor de impurezas<sup>19</sup>.

Do ponto de vista estrutural, há dois tipos de CNTs que a maioria dos métodos de síntese produz: os nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT) cuja sigla deriva do inglês *Single-Walled Carbon Nanotubes*, que podem ser considerados como uma única folha de grafeno enrolada sobre si mesma para formar um tubo cilíndrico e os nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT), do inglês *Multi-Walled Carbon Nanotubes*, que compreendem um conjunto de três ou mais nanotubos concêntricos enrolados sobre si, como mostrados na Figura 1.

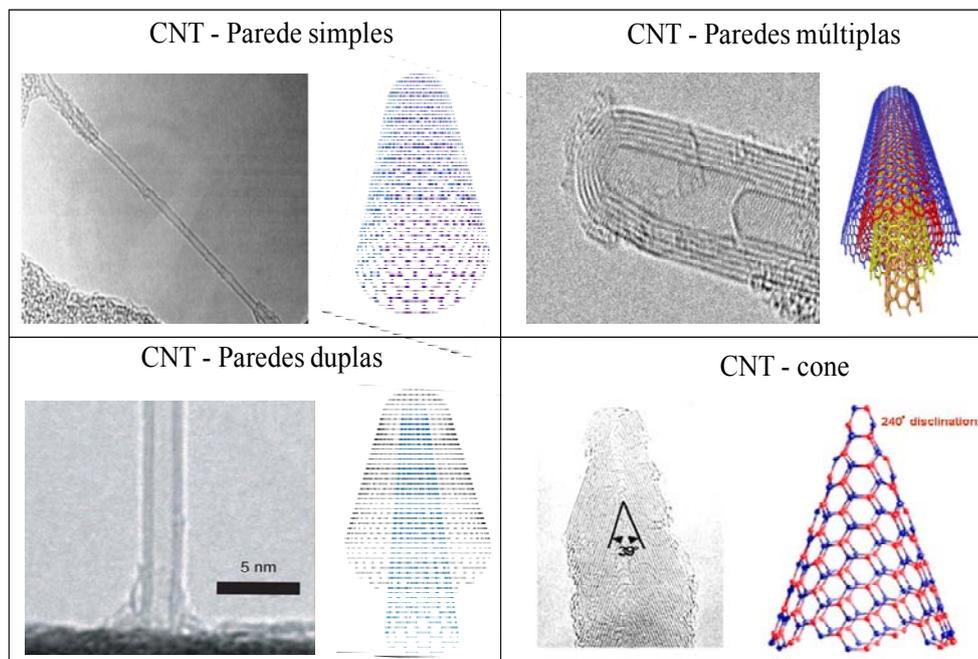


Figura 1 – Diagrama e microscopias dos diferentes tipos de CNTs.

Entretanto, outros tipos de CNTs podem ser sintetizados tais como: nanotubos de carbono de paredes duplas, nanotubos de carbono alinhados, nanotubos de carbono em formato de cone (cup-stack), dentre outros. A formação dessas estruturas é simplesmente devido a variações das condições de síntese.

Os nanotubos podem ser utilizados como materiais em diferentes áreas tecnológicas e seu uso como material para o desenvolvimento de sensores tem adquirido importância fundamental. Contudo, a utilização de CNTs como material para o desenvolvimento de sensores na área de eletroanálise é devido a duas de suas principais propriedades: a alta área superficial, o que permite uma amplificação no sinal analítico e a segunda propriedade pronunciada é a eletrocatalise. A propriedade eletrocatalítica vem do fato dos CNTs possuírem um mecanismo de transporte de elétrons que pode variar desde o tipo semicondutor até o tipo metálico, dependendo do seu diâmetro e ângulo *chiral*, também chamado ângulo de helicidade ( $\varphi$ ). Esses dois parâmetros resultam dos chamados índices de Hamada ( $n,m$ )<sup>20</sup>.

Um CNT é produzido a partir de uma folha de grafeno enrolada de tal forma que coincidam dois sítios cristalograficamente equivalentes de sua rede hexagonal. O vetor  $C$  chamado *chiral*, que define a posição relativa dos dois sítios é definido mediante dois números inteiros ( $n,m$ ) e pelos vetores unitários da rede hexagonal  $a_1$  e  $a_2$  ( $C = na_1 + ma_2$ ) como mostrado na Figura 2A.

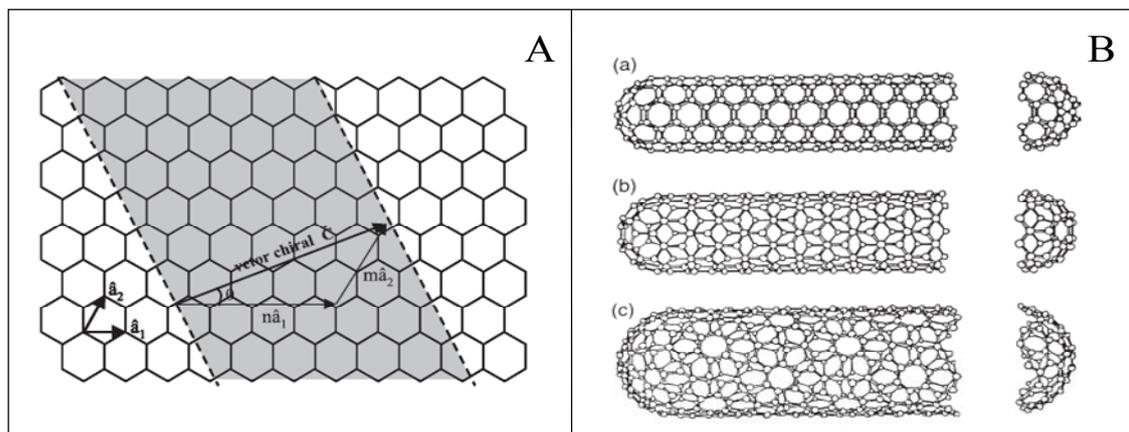


Figura 2 – (A) Diagrama da formação de nanotubos de carbono a partir de uma folha de grafeno e (B) Geometrias dos CNTs: (a) *armchair*, (b) *zig-zag*, (c) *chiral*.

Dependendo dos valores relativos do par ( $n, m$ ), os CNTs podem ser: *armchair* ( $n = m$ ), *zig-zag* ( $n, m = 0$ ), ou *chiral* ( $n \neq m \neq 0$ ) e estão definidos

pelo ângulo de helicidade  $\varphi$ . Se  $\varphi$  varia de 0 a  $30^\circ$  podem ser gerados tubos partindo do tipo *zig-zag* até o *armchair* como limites, passando pelos tubos *chiral*. As três variedades de CNTs são ilustradas na Figura 2B. Em função dos índices de Hamada (n,m), um nanotubo é metálico quando n-m é múltiplo de 3; em caso contrário, é semicondutor. Todos os nanotubos do tipo *armchair* são metálicos, enquanto que os *zig-zag* e *chiral* podem ser metálicos ou semicondutores<sup>19</sup>.

Alguns estudos relataram o funcionamento do transporte eletrônico nos CNTs. Em 2002, Baughman *et al.*<sup>21</sup> descreveram que o transporte eletrônico nos CNTs ocorre de forma balística, isto é, sem espalhamento no decorrer do comprimento do tubo, o que possibilita a condução de correntes através de grandes extensões dos CNTs, sem a necessidade de aquecimento.

Em 2007, Masheter *et al.*<sup>22</sup> demonstraram que o transporte eletrônico nos CNTs pode ocorrer de forma balística no plano basal. Entretanto, o aumento da velocidade no transporte eletrônico é devido à presença de grupos funcionais dispostos nos CNTs. Esses grupos estão localizados principalmente nos planos de borda, que surgem nos CNTs via tratamento em meio oxidante. Esses planos de borda encontram-se, principalmente, em defeitos presentes no corpo do tubo além das extremidades, chamada de “boca do tubo”. Dessa forma, tanto a condução balística, quanto a presença de planos de borda fornecem a esses materiais a capacidade de mediar a transferência de elétrons em reações com espécies em solução<sup>23</sup>.

Assim, os CNTs atendem as principais características de um material no desenvolvimento de sensores eletroquímicos que podem ser descritas como: alta velocidade na transferência de elétrons, alta área superficial e a presença de grupos funcionais que fazem com que os sensores baseados em CNTs sejam atrativos para serem modificados com diversos tipos de espécies. A literatura possui vários exemplos de diferentes tipos de sensores de CNTs modificados com enzimas, material genético, complexos metálicos, polímeros condutores, nanopartículas metálicas, etc. Alguns exemplos são mostrados a seguir.

Yan *et al.*<sup>24</sup> desenvolveram um genossensor no qual um eletrodo de carbono vítreo (GC) foi recoberto com um filme de MWCNT modificado com ssDNA (DNA com uma única hélice) para a detecção do antibiótico daunorubicina. O sensor foi feito dispersando MWCNT em uma solução contendo ss-DNA e foi observada uma interação entre os nucleotídeos aromáticos da molécula de DNA com os grupos carboxílicos presentes nos CNTs. O sensor GC/MWCNT/ss-DNA mostrou-se eficiente na detecção do antibiótico.

Utilizando novamente o sistema CNTs e DNA, Berti *et al.*<sup>25</sup> utilizaram um sensor feito a partir de um filme fino de nanotubos de carbono alinhados para a detecção de resíduos de DNA. Nesse trabalho foram descritas as caracterizações morfológica e eletroquímica da formação dos CNTs-alinhados. O sensor demonstrou excelente interação com as bases nitrogenadas adenina e guanina, sendo promissor na confecção de genossensores.

Filmes de CNTs podem ser eficientes na eletropolimerização de polímeros condutores como polianilina e polipirrol. Manisankar *et al.*<sup>26</sup> descreveram a construção e a caracterização de eletrodos de carbono vítreo recoberto com um filme de MWCNT, em que filmes de polianilina e/ou polipirrol foram eletropolimerizados para a detecção dos pesticidas isoproturon, dicofol e voltage. Os limites de detecção encontrados para os pesticidas, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT/PAni, foram de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  para o isoproturon,  $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$  para o voltage e  $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$  para o dicofol. Esses valores de LD são bem abaixo em relação aos descritos em literatura para estes pesticidas, quando se utiliza a detecção eletroquímica e demonstra a conveniência em se utilizar CNTs modificados com polímeros condutores no desenvolvimento de sensores.

Shahrokhian *et al.*<sup>27</sup> construíram um eletrodo de pasta de CNTs modificado com o complexo cobalto-Salophen (CoSal) para a determinação eletroquímica de triptofano. A oxidação eletrocatalítica do triptofano foi investigada sobre a superfície do eletrodo de MWCNT/CoSal usando voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. O eletrodo foi capaz de

diferenciar completamente a resposta voltamétrica do triptofano de espécies potencialmente interferentes como o ácido ascórbico e a cisteína. O limite de detecção calculado para o triptofano foi de  $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . A reprodutibilidade da resposta do eletrodo, com base em seis medições durante um mês, foi de 2,2%, mostrando a robustez do eletrodo.

A incorporação de nanopartículas metálicas nos CNTs apresenta grande interesse no desenvolvimento de novos materiais para a construção de eletrodos em diversas áreas da eletroquímica, tais como: armazenamento de energia, catalisadores e sensores eletroquímicos.

Na área de sensores, um exemplo pode ser visto no trabalho descrito por Zhang *et al.*<sup>28</sup>. Neste trabalho, foi utilizado um eletrodo de ouro recoberto com uma camada auto-organizada de cistamina. Sobre essa camada foi adicionado um filme de MWCNT modificado com nanopartículas de ouro (AuNP). Os grupos amínicos da cistamina ligavam-se covalentemente aos grupos carboxílicos dos CNTs, promovendo uma alta estabilidade do sensor. A propriedade eletrocatalítica era proveniente da sinergia dos CNTs com as AuNP. Esse sensor foi utilizado na detecção de salsolinol e ácido úrico na presença de grande quantidade de ácido ascórbico. Os limites de detecção encontrados foram de  $3,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para o salsolinol e  $1,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  para o ácido úrico.

Vários artigos publicados têm demonstrado que os CNTs promovem reações de transferência eletrônica em baixos sobrepotenciais<sup>29,30</sup>. Essa vantagem tem inspirado uma crescente quantidade de pesquisa que acoplam os sensores baseados em CNTs com enzimas.

A *glicose oxidase* é uma das enzimas mais estudadas em associação com os CNTs. Assim, Wang & Musameh<sup>31</sup> propuseram a imobilização da *glicose oxidase* sobre MWCNT com a utilização do polímero condutor polipirrol. O nanobiossensor composto por PPy/MWCNT/GOx (polipirrol/nanotubos de carbono/*glicose oxidase*) mostrou-se efetivo para a determinação de glicose em um intervalo de concentração entre 0 e  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com uma sensibilidade de  $2,33 \text{ nA}/\mu\text{mol L}^{-1}$ , com um limite de detecção de  $0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$  e tempo de

resposta de 15 segundos. O biossensor não mostrou qualquer atividade para interferentes como o ácido úrico ou o ácido ascórbico, adicionados até uma concentração de  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$

Lim *et al.*<sup>32</sup> utilizaram um biossensor de glicose construído pela eletrodeposição de nanopartículas de paládio com a posterior imobilização da *glicose oxidase* solubilizada em uma solução de nafion sobre os nanotubos de carbono. Nesse caso, o paládio serviu como um eficiente eletrodo de trabalho para a oxidação e redução do  $\text{H}_2\text{O}_2$  liberado no processo enzimático. Os autores ainda utilizaram uma cobertura extra de nafion para evitar a ação de interferentes como os ácidos úrico e ascórbico. O nanobiossensor desenvolvido mostrou uma resposta linear até  $12 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de glicose e um limite de detecção de  $0,15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Em todos os casos apresentados anteriormente, fica evidente a eficiência desses sensores eletroquímicos baseados em CNTs, pois podem ser confeccionados em diversas formas (compósitos, filmes, blendas, etc), apresentam alta sensibilidade, possibilitam a imobilização de diversos tipos de modificadores e exibem propriedades eletrocatalíticas, que não são tão evidentes em outros materiais à base de carbono como os eletrodos de diamante dopado com boro, carbono vítreo, pirolítico e o pó de grafite.

### 1.3 Ftalocianinas

A descoberta das ftalocianinas ocorreu, acidentalmente, em 1907, por Brawn & Tcherniac<sup>33</sup>, sendo um subproduto da síntese da *o*-cianobenzamida. Em 1927, pesquisadores suíços sintetizaram, acidentalmente, a ftalocianina de cobre, nafto-ftalocianina de cobre e a octometil-ftalocianina de cobre em uma tentativa de converter a *o*-dibromobenzeno em ftalonitrila. Eles observaram a enorme estabilidade desses complexos e a possível utilização como pigmentos<sup>34</sup>.

Por volta de 25% de todos os pigmentos orgânicos artificiais são derivados de ftalocianinas. Corantes de ftalocianina de cobre (CuPc) possuem

ampla utilização em diversas áreas de na indústria têxtil (corantes direto para o algodão) e na indústria do papel. Esses tipos de complexos também são comumente utilizados na fabricação de mídias de alta velocidade do tipo CD-R<sup>35</sup>.

Outras aplicações das ftalocianinas metálicas podem ser vistas no uso de catalisadores para reação redox, na área de redução de oxigênio e na produção de edulcorantes de fluxo de gás para a remoção de sulfeto de hidrogênio. Complexos de ftalocianina são excelentes doadores de elétrons e foram estudados no desenvolvimento de transistores orgânicos de efeito de campo<sup>36</sup>.

Quanto à sua estrutura, a ftalocianina (Pc) apresenta um sistema em anel de quatro unidades isoindol ligado por átomos de nitrogênio, aza, como pode ser visto na Figura 3.

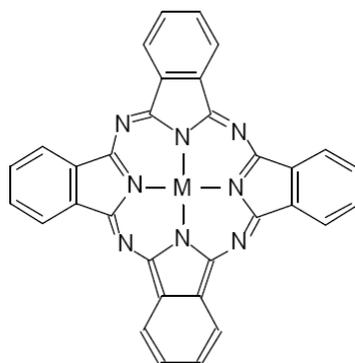


Figura 3 – Estrutura de uma metaloftalocinaina (MPc).

As MPc neutras são insolúveis em solventes polares. Tal solubilidade pode ser aumentada através de substituições nos anéis benzênicos, em que se utilizam substituintes que apresentam caráter polar. A substituição de grupos polares como o grupo sulfônico aumenta a solubilidade em solventes polares. A substituição dos átomos de hidrogênio dos anéis aromáticos ou sulfonação no anel da ftalocianina resulta na obtenção de ftalocianinas tetrassulfonadas (TsPc), aumentando, significativamente, a sua solubilidade em solventes polares como água e outros<sup>37</sup>.

As ftalocianinas de Co (II), Cu (II) e Fe (II) e outras ftalocianinas de metais de transição são conhecidas há muito tempo como catalisadores

homogêneos e heterogêneos para uma grande variedade de reações químicas. O macrociclo funciona como catalisador redox no qual o estado de oxidação do complexo metálico varia durante o ciclo catalítico<sup>38,39</sup>. Contudo, os complexos de MPc são reconhecidos por sua excelente atividade eletrocatalítica em muitas reações, que são altamente dependentes do átomo metálico central.

Geralmente, estes complexos metálicos são estáveis, até em reações redox, e apresentam estruturas similares às porfirinas de origem natural, as quais têm funções características em muitos sistemas biológicos tais como a clorofila, a hemoglobina, o citocromo e várias enzimas do tipo *oxidases*<sup>40,41</sup>. Assim, as ftalocianinas podem ser reconhecidas como moléculas biomiméticas, que podem substituir convenientemente proteínas naturais, atuando como o centro ativo de moléculas enzimáticas, com a mesma seletividade e sensibilidade<sup>42</sup>.

Nesse contexto, a utilização destas moléculas no desenvolvimento de sensores apresenta-se como um grande campo de pesquisa a ser explorado, porque estes complexos podem facilitar a transferência eletrônica entre o substrato e a superfície do eletrodo, sem a presença de um escudo protéico, como nas enzimas, o que geraria um aumento capacitivo na resposta do sensor. Assim, diversos trabalhos relatam o uso de ftalocianinas metálicas no desenvolvimento de sensores, como pode ser visto nos exemplos a seguir.

Sotomayor *et al.*<sup>43</sup> desenvolveram um biossensor amperométrico “sem enzima” para a detecção de compostos fenólicos. Neste trabalho foi desenvolvido um eletrodo de pasta de carbono modificado com CuPc e histidina, com a finalidade de substituir a enzima *dopamina-β-monooxigenase*, que catalisa a hidroxilação de compostos fenólicos como a dopamina. O sensor, em condições hidrodinâmicas, apresentou uma resposta linear em um intervalo de concentração de catecol de 30 e 250  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com tempo de resposta de três segundos e o tempo de vida do sensor durou aproximadamente cinquenta dias. Em condições estáticas, o sensor apresentou uma resposta linear em um intervalo de concentração de catecol 40 e 250  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O eletrodo biomimético

também foi utilizado na detecção de outros compostos fenólicos como: dopamina, guaiacol, serotonina e fenol.

Em outro trabalho, Shahrokhian *et al.*<sup>44</sup> descreveram a utilização de um eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de ferro para a determinação eletroquímica de adrenalina. A resposta eletroquímica do eletrodo proposto em soluções padrões de adrenalina, ácido úrico e ácido ascórbico foi investigada utilizando voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. Os resultados mostraram uma eficiente atividade eletrocatalítica do eletrodo na eletrooxidação da adrenalina conduzindo a uma melhoria na reversibilidade da resposta do eletrodo. Uma curva analítica foi feita utilizando a técnica de DPV em meio de tampão acetato pH 4,0 e observou-se uma região linear de 1 a 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de adrenalina com limite de detecção calculado em 0,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

Com a finalidade de melhorar a sensibilidade dos sensores, as ftalocianinas metálicas estão sendo utilizadas como modificadores de eletrodos baseados em CNTs. É conhecido que os complexos MPc amino-substituídos podem ser covalentemente ligados aos CNTs (via formação de amida)<sup>45</sup>, enquanto as MPc não substituídas são adsorvidas sobre os CNTs por meio de interações do tipo eletrostáticas. Foi observado que o sistema MPc-CNTs possui efeito sinérgico, que soma o alto poder mediador e catalítico das ftalocianinas, sem perder nenhuma das propriedades eletrônicas dos nanotubos de carbono. Desta forma, alguns trabalhos são relatados mostrando a eficiência deste sistema, como nos exemplos a seguir.

Geraldo *et al.*<sup>46</sup> reportaram a eletro-oxidação de hidrazina catalisada por SWCNT modificado com ftalocianina de cobalto. Este sistema apresentou um aumento na atividade catalítica do processo oxidativo da hidrazina, sem que ocorresse qualquer mudança do mecanismo da reação. O eletrodo híbrido desenvolvido foi testado em condições hidrodinâmicas, mostrando dois diferentes processos de oxidação, sugerindo a presença de dois diferentes tipos de centros ativos na superfície do eletrodo. A espectroscopia de impedância eletroquímica na presença do par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+/4+}$  revelou que o eletrodo de

GC/SWCNT/CoPc diminui a resistência de transferência eletrônica, confirmando o efeito sinérgico do compósito.

Zhu *et al.*<sup>47</sup> desenvolveram um genossensor eletroquímico para a detecção do genótipo de DNA do vírus *Avian Influenza* sem a presença de marcadores sequenciais de DNA. Primeiramente, um eletrodo de carbono vítreo foi modificado com filme de MWCNT/CoPc e sobre este filme foi depositado dendrímeros de PAMAM (poliamidoamina). Então, sondas de DNA foram imobilizadas sobre os dendrímeros atuando como agente de acoplamento. Os eventos de hibridização foram monitorados utilizando DPV, baseados na oxidação da base guanina sem a presença de marcadores específicos. As diferenças nos sinais de oxidação da guanina na presença e na ausência das bases nitrogenadas do vírus *Avian Influenza* foram analisadas e o sensor apresentou limites de detecção de  $1,0 \text{ pg mL}^{-1}$ .

Utilizando o sistema MPc-CNTs, Siswana *et al.*<sup>48</sup> descreveram a utilização de eletrodos CNTs modificados com tetra-aminofalocianina de cobalto (CoTAPc) para a detecção do herbicida asulan. Nesse trabalho, o complexo CoTAPc foi eletropolimerizado sobre a superfície de MWCNT abrasivamente imobilizado sobre eletrodo de carbono pirolítico (HOPG). O sensor demonstrou excelente comportamento eletrocatalítico no processo de oxidação do herbicida aumentando em seis vezes o pico de corrente e deslocando (para valores mais negativos) em 120 mV o potencial de oxidação quando comparado ao eletrodo de HOPG sem modificação. A detecção cronoamperométrica do asulan foi realizada em PBS pH 7,0 em potencial fixo de trabalho de 0,65 V (*vs.* Ag/AgCl) e apresentou limite de detecção de  $1,15 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com tempo de resposta de dois segundos.

Com base nos exemplos mencionados acima, fica evidente a vantagem de se utilizar os CNTs e as MPc no desenvolvimento de sensores. Características como alta área superficial, eletrocatalise, fácil preparação, facilidade de imobilização de outros modificadores (enzimas, organelas, sondas de DNA, nanopartículas metálicas, polímeros condutores, etc) e a possibilidade de

miniaturização tornam este sistema sinérgico importantíssimo na utilização de sensores eletroquímicos.

## 1.4 Catecolaminas

As catecolaminas são neurotransmissores presentes no sistema nervoso simpático e são sintetizadas pela glândula adrenal. O nome catecolamina é devido à presença do grupo catecol nas moléculas e todas as catecolaminas presentes em nosso corpo são derivadas do aminoácido tirosina<sup>49</sup>. Este aminoácido é obtido pelo corpo humano via ingestão direta de proteínas na alimentação, ou via hidroxilação da fenilalanina (presente no organismo) feita pela enzima *fenilalanina hidroxilase*. Assim, para a produção das outras catecolaminas, a tirosina é enviada para os neurônios secretores de catecolaminas e sofre uma série de derivações enzimáticas que vai convertendo o precursor (tirosina) em L-dopa, dopamina, noradrenalina e adrenalina<sup>50</sup> sucessivamente, como mostrado no mecanismo da Figura 4.

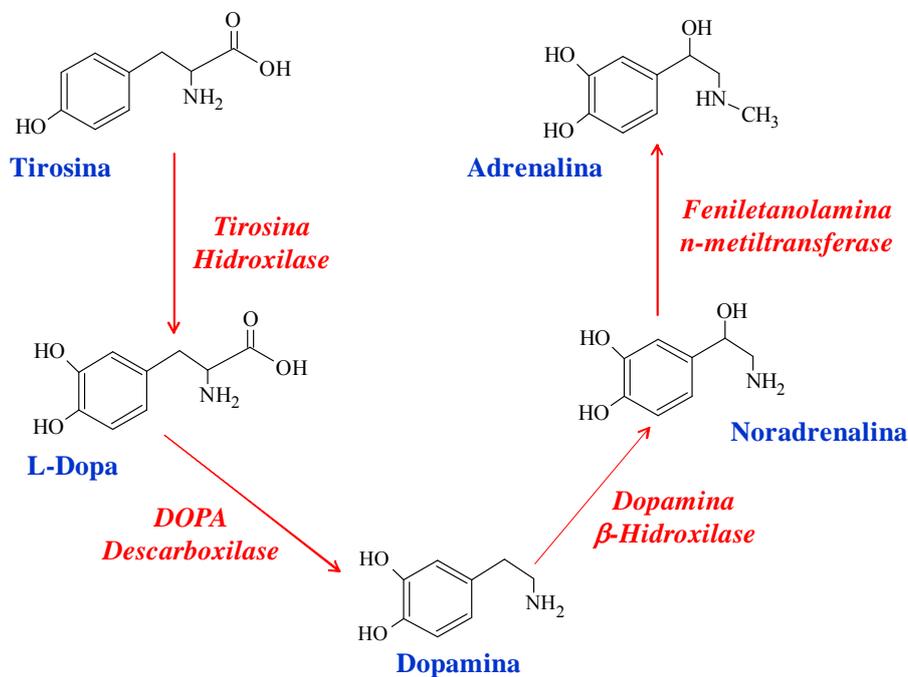


Figura 4. Mecanismo de transformação das catecolaminas no organismo.

As catecolaminas podem ser secretadas no organismo em resposta a qualquer forma de estresse, atuando diretamente na frequência cardíaca e respiratória, pressão arterial, força muscular e agilidade mental. Em situações de estresse, as catecolaminas podem ser liberadas na corrente sanguínea com a finalidade de reduzir a quantidade de sangue que vai para a pele, transferindo o fluxo sanguíneo para órgãos importantes como coração, cérebro, fígado e rins<sup>51</sup>.

A dosagem das catecolaminas no organismo pode ser indício de uma série de doenças. Altas concentrações podem indicar trauma no sistema nervoso central, danos no tronco cerebral, tumores neuroendócrino medular<sup>52</sup>, diabetes e hipertensão arterial. Baixas concentrações de catecolaminas podem acarretar em sérias doenças neurológicas, déficit de aprendizado e de memória, dificuldade no controle da pressão arterial, mal de Parkinson e esquizofrenia. Dessa forma, o desenvolvimento de métodos analíticos para o controle dos teores de catecolaminas em fluidos biológicos torna-se muito importante. Nesse trabalho, serão analisadas as catecolaminas: dopamina e adrenalina.

### **1.4.1 Dopamina**

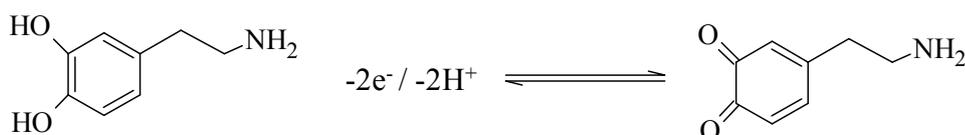
Dopamina (DA) desempenha um papel importante no sistema nervoso central e possui propriedades regulatórias das funções renais, hormonais e cardiovasculares<sup>53</sup>. É provado que a análise de DA tem sido uma ferramenta muito eficaz para verificar distúrbios no funcionamento do cérebro, como déficit de aprendizagem, má formação da memória e também em processos patológicos como a esquizofrenia e a doença de Parkinson<sup>54</sup>.

A associação da DA com diversos problemas do sistema neurológico evidencia a grande importância do desenvolvimento de novos métodos analíticos para sua detecção, em baixas concentrações, nos seres humanos. Dessa forma, diversos métodos são descritos em literatura para a determinação de DA em diferentes fluidos corporais, utilizando diferentes sistemas de detecção, tais como os métodos: amperométricos<sup>55</sup>, detecção por fluorescência<sup>56</sup>,

espectrofotométricos<sup>57</sup>, cromatográficos<sup>58</sup>, etc. Dentre estes, os métodos eletroquímicos apresentam-se como uma das técnicas mais favoráveis para a determinação de DA por causa de seu baixo custo, alta sensibilidade e de fácil operação.

No entanto, um grande problema com a determinação eletroquímica de DA é a interferência de ácido ascórbico (AA) que é encontrado em fluídos extracelulares, no sistema nervoso central, em concentrações mais elevadas do que a DA. Nesses fluídos, a concentração basal de DA pode variar de 0,01 a 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , enquanto a concentração de AA está em torno de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Além disso, dependendo da natureza do eletrodo, o ácido ascórbico pode ser oxidado na mesma região de potencial da DA, possuindo assim um mecanismo de oxidação<sup>59</sup> muito semelhante para ambos, como representado na Figura 5.

**Dopamina – pKa = 8,87**



**Ácido ascórbico – pKa = 4,10**

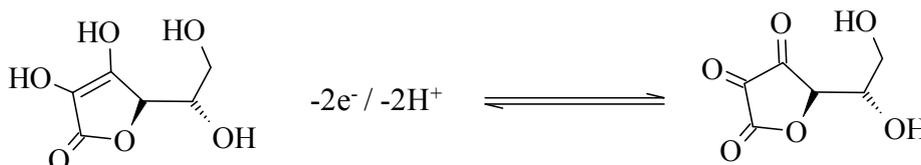


Figura 5. Estruturas moleculares e mecanismos de oxidação eletroquímica para a dopamina e ácido ascórbico.

Como resultado, é observado uma sobreposição dos perfis voltamétricos dos processos de oxidação da DA e do AA<sup>60</sup>. Além disso, dependendo do eletrodo de trabalho, é necessário um alto valor positivo de potencial para que ocorram os processos de oxidação, possibilitando que outras espécies interfiram na detecção eletroquímica. Portanto, o desenvolvimento de superfícies

catalíticas que maximizam e individualizam a resposta eletroquímica da DA na presença de AA tem sido um objeto em várias pesquisas, como pode ser visto nos exemplos a seguir.

Yogeswaran *et al.*<sup>61</sup> desenvolveram um eletrodo de filme compósito de MWCNT e poli-vermelho neutro (PNR) eletropolimerizado sobre eletrodo de GC. Esse eletrodo exibiu uma excelente propriedade eletrocatalítica que conseguiu individualizar as respostas eletroquímicas de uma mistura bioquímica contendo ácido ascórbico (AA), ácido úrico (UA) e dopamina (DA), em solução aquosa pH 4,0. O comportamento eletroquímico dos neurotransmissores, frente ao eletrodo proposto, foi avaliado por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial e mostrou uma separação de 170 mV nos potenciais de oxidação do par AA-DA e 150 mV para DA-UA. Utilizando a técnica de DPV, foi medida a sensibilidade do eletrodo filme compósito para a mistura (AA, UA e DA) com valores de calculados em 0,028 para AA; 0,146 para DA e 0,084  $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$  para UA.

Ragupathy *et al.*<sup>62</sup> descreveram a utilização de um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de MWCNT incorporado a uma rede de sílica (sílica-NW), produzido por sol-gel e sobre esse filme foram eletrodepositadas nanopartículas de ouro (AuNPS). O sensor apresentou alta sensibilidade e seletividade para o AA na presença de DA, com separação nos processos de oxidação de 260 mV. Efetiva propriedade eletrocatalítica, excelente resolução dos picos e capacidade de determinação independente de DA na presença de AA revelam que o sensor GC/MWCNT/sílica-NW/AuNPS é adequado para individualizar e determinar DA e AA.

Kumar *et al.*<sup>63</sup> demonstraram a detecção de DA na presença de excesso de AA utilizando um eletrodo de GC modificado por um filme do polímero condutor poli(3,4-etilenodioxitiofeno) (PEDOT). Estudos de voltametria cíclica apresentaram uma oxidação catalítica da DA e do AA sobre o eletrodo de GC/PEDOT, o que propiciou uma separação de 200 mV nos processos de oxidação da DA e do AA. É especulado que o filme catiônico de PEDOT

interage com o ânion ascorbato, resultando em uma pré-concentração do ascorbato em valores menos anódicos. A técnica de SWV foi utilizada para a detecção de DA em níveis de concentração abaixo de  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , em um meio contendo AA em concentração 1000 vezes maior. Assim, o eletrodo modificado com PEDOT exibiu uma resposta estável e sensível para a detecção de na presença de excesso de AA.

### 1.4.2 Adrenalina

Adrenalina ou epinefrina (EP) é um hormônio secretado pela glândula suprarrenal que foi isolado pela primeira vez, em 1901, por Takamine & Aldrich e fora sintetizado, em 1904, por Stolz & Dalkin<sup>64</sup>. A EP existe como um cátion orgânico nos tecidos do sistema nervoso central dos mamíferos e possui um modo de ação em nosso corpo que está diretamente relacionado a condições externas como estresse físico ou psicológico.

Nessas situações a EP é secretada na corrente sanguínea aumentando a frequência dos batimentos cardíacos e a pressão arterial. Também eleva o nível de açúcar no sangue (hiperglicemia) ou "queima" gorduras contidas nas células adiposas com a finalidade de gerar energia. Outro ponto é que a EP pode funcionar minimizando o fluxo sanguíneo nos vasos periféricos e no sistema intestinal, enquanto maximiza o fluxo sanguíneo para os músculos voluntários nas pernas e nos braços. Isso faz com que o corpo esteja preparado para qualquer reação. Como por exemplo, fugir ou reagir agressivamente.

Entretanto, muitas doenças estão relacionadas com as variações da concentração de EP no organismo, como: bronquite asmática, infarto do miocárdio, diabetes, hipertensão arterial<sup>65,66</sup>, além de tumores neuroendócrinos como os feocromocitomas e neuroblastomas<sup>67</sup>. A grande parte da EP secretada no organismo aparece na urina na forma de metabólitos, 3% aparece na forma de ácido vanilmandélico e uma pequena quantidade é excretada na forma não metabolizada na urina<sup>68</sup>, conhecida como epinefrina livre na urina.

Na área de análise clínicas, a determinação de catecolaminas livres na urina (UFCA), sigla que deriva do inglês (*Urinary Free Cathecholamines*), é uma técnica muito utilizada para o diagnóstico de uma série de doenças. Especificamente, a epinefrina encontrada livre na urina, serve como teste para os tumores neuroendócrinos<sup>67</sup>, fornece informações adicionais a respeito das doenças circulatórias. Este teste (UFCA) tem sido cada vez mais utilizado para avaliar os efeitos da exposição ao estresse ocupacional<sup>69</sup>.

Os métodos analíticos utilizados para a determinação de EP, livre em urina, são baseados em técnicas cromatográficas<sup>70,71</sup>. A determinação de EP utilizando métodos eletroquímicos possui todas as vantagens já descritas anteriormente. No entanto, um grande problema na determinação eletroquímica de EP em urina é a interferência do ácido úrico (UA). O UA oxida-se na mesma região de potencial da EP, o que pode causar uma sobreposição dos perfis voltamétricos. Desta forma, o grande objetivo do desenvolvimento de métodos eletroquímicos para a detecção de EP em urina é o de obter uma superfície catalítica o suficiente para diminuir os limites de detecção e individualizar os picos de oxidação da EP e do UA, como pode ser exemplificado nos trabalhos a seguir.

Zare & Nasirizadeh<sup>72</sup> desenvolveram um eletrodo de GC modificado com filme de MWCNT e sobre esse filme foi eletrodepositado hematoxilina (HM). O eletrodo GC/MWCNT-HM mostrou uma excelente atividade eletrocatalítica para a oxidação da adrenalina, com uma diminuição do sobrepotencial de oxidação em 395 mV, quando comparado ao eletrodo de GC. Utilizando a técnica de DPV, obtiveram-se curvas analíticas com faixa linear variando de 0,2 – 78,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 78,3–319,7  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com limite de detecção calculado em  $2,4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ . Esse eletrodo modificado foi eficaz, não só na detecção individual de AA, EP, e UA, mas também na determinação simultânea de cada componente numa mistura. O eletrodo de GC/MWCNT-HM foi aplicado na determinação de EP em amostras de injeções de EP e de UA e em uma amostra de urina humana, com resultados satisfatórios.

Beitollahi *et al.*<sup>73</sup> mostraram a eletro-oxidação de epinefrina (EP), ácido úrico (UA) e ácido fólico (FA) e suas misturas sobre um eletrodo de pasta de CNTs modificados com 2,2-[1,2-etanodilbis(nitriloetilidino)]-bis-hidroquinona. Esse eletrodo modificado mostrou-se eficiente na separação dos picos de oxidação da mistura ternária EP, UA e FA, utilizando a voltametria cíclica com velocidade de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup>. Os picos de corrente foram linearmente dependentes com as concentrações de EP, UA e FA e para epinefrina foi observado um intervalo linear de 0,7 a 1200 µmol L<sup>-1</sup>, com limite de detecção de 0,216 µmol L<sup>-1</sup>. O eletrodo modificado apresentou boa sensibilidade, seletividade e estabilidade e foi empregado na determinação dos ácidos úrico, fólico e epinefrina em amostras reais de urina.

Li & Lin<sup>74</sup> fabricaram um biossensor por deposição eletroquímica de nano-clusters de ouro sobre um filme ultrafino de polipirrol oxidado (PPyox), formando um compósito nano-Au/PPyox sobre um eletrodo de GC. O eletrodo nano-Au/PPyox/GC apresentou grande atividade eletrocatalítica na oxidação de epinefrina (EP), ácido úrico (UA) e ácido ascórbico (AA), com total resolução nos picos de oxidação dos compostos estudados. Os picos de corrente foram obtidos por DPV e aumentaram linearmente com as concentrações de EP e UA num intervalo linear de 3,0×10<sup>-7</sup> a 2,1×10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> e 5,0×10<sup>-8</sup> a 2,8×10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> respectivamente. O limite de detecção calculado para EP foi de 3,0×10<sup>-8</sup> mol L<sup>-1</sup>. Os resultados mostraram que o eletrodo modificado consegue determinar EP e UA concomitantemente em amostras contendo alto teor de AA. O sensor apresentou excelente sensibilidade, seletividade e estabilidade e foi aplicado na determinação de EP em amostras farmacêuticas e urina com resultados satisfatórios.

## 1.5 Defensivos agrícolas

Com o contínuo aumento da população mundial, a crescente demanda por alimentos induz a busca por meios de produção mais eficientes. Nas

plantações, as pragas (animais, insetos, fungos ou mesmo plantas) constituem uma ameaça, pois diminuem a qualidade e a quantidade dos alimentos produzidos. Assim, para atender a necessidade cada vez maior da produção, essas pragas são intensamente combatidas com os defensivos agrícolas, também conhecidos como agrotóxicos ou pesticidas.

Segundo a IUPAC<sup>75</sup>, o termo pesticida, defensivo agrícola ou agrotóxico é uma substância ou mistura de substâncias que podem prevenir qualquer praga que interfira na produção, processamento, armazenamento, estocagem de alimentos, produtos agrícolas ou produtos derivados da madeira.

Os agrotóxicos ou defensivos agrícolas são divididos em diferentes classes, como pesticidas, herbicidas, inseticidas, fungicidas, acaricidas, etc. Inicialmente, os compostos organoclorados (como o BHC – benzeno hexaclorado) foram extensivamente utilizados como defensivos agrícolas. Contudo, esses compostos são altamente tóxicos, além disso, são muito persistentes no meio ambiente, o que gerou bioacumulação de BHC e seus derivados em solos, mananciais e lençóis freáticos. Desse modo, os compostos hexaclorados foram proibidos e substituídos por outras classes de agrotóxicos, como: organofosforados (paration e fenitrothion), piretróides (deltametrina e cipermetrina) e os carbamatos (carbaril, metomil e carbofuran). Os organofosforados e carbamatos possuem persistência muito menor no meio ambiente, porém são muito mais tóxicos que os organoclorados. Estudos indicam que a exposição a pesticidas está associada, em longo prazo, com vários problemas de saúde como distúrbios respiratórios, problemas de memória, afecções cutâneas, câncer, dentre outros<sup>76</sup>.

Assim, para se produzir cada vez mais alimentos, se faz necessário o uso cada vez maior de defensivos agrícolas, o que torna um risco inerente à saúde humana e ao meio ambiente. O monitoramento destas substâncias passa a ser muito importante. Neste trabalho, são propostas metodologias eletroanalíticas para o monitoramento, em amostras de águas naturais, dos defensivos: 4-nitrofenol, carbaril e glifosato

### 1.5.1 4-Nitrofenol

A análise de fenóis e fenóis substituídos em efluentes ou em águas naturais é uma importante ferramenta para o controle ambiental. Esses compostos têm efeito altamente tóxico em animais, plantas e seres humanos. Fenóis são gerados a partir de poluentes presentes nos processos da indústria petrolífera, farmacêutica, de papel, plásticos e agrotóxicos<sup>77</sup>.

Em particular, o 4-nitrofenol (4-NP) apresenta alto impacto ambiental devido tanto à sua toxicidade, quanto à persistência no meio ambiente. A origem de sua contaminação é proveniente de contaminantes da indústria química e de práticas agrícolas<sup>78</sup>. Além disso, o 4-NP está envolvido na maioria das vias de degradação de pesticidas organofosforados como fenitrothion, metilparation. Essas substâncias são decompostas pela luz ou micro-organismos no ambiente produzindo o 4-NP, quer como um intermediário ou como um produto final da reação<sup>79</sup>. Como consequência, o 4-NP é citado, na lista de poluentes ambientais, pela USEPA, que estabeleceu um limite máximo permitido de  $0,22 \mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-NP, em efluentes<sup>3</sup>.

O 4-NP geralmente é quantificado utilizando técnicas cromatográficas, como a cromatografia gasosa<sup>80</sup>, a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massa (HPLC-MS)<sup>81</sup> e a eletroforese capilar<sup>82</sup>. Métodos eletroquímicos para a determinação de 4-NP são baseados em duas vias: oxidação ou redução eletroquímica. Na primeira, a determinação é feita a partir da redução do 4-NP formando a hidroxilamina, em uma reação que envolve 4 elétrons, como mostrado na Figura 6.

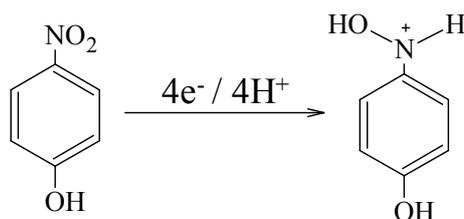


Figura 6. Redução eletroquímica do 4-NP formando hidroxilamina.

Utilizando a idéia da redução eletroquímica do 4-NP, Lawrence *et al.*<sup>83</sup> descreveram a caracterização eletroquímica de um arranjo de microeletrodos de diamante dopado com boro (BDD-MEA), para a detecção de 4-NP em água. A resposta voltamétrica do eletrodo apresentou um processo sigmoideal, na região de redução do 4-NP (-1,0 V *vs.* ECS). A determinação direta de 4-NP foi realizada utilizando a voltametria de varredura linear, e a curva analítica apresentou uma região linear de 1,8 a 9,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

Da mesma forma, utilizando como sinal analítico a corrente gerada no processo de redução do 4-NP, Cordero-Rando *et al.*<sup>84</sup> determinaram 4-NP utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com zeólita. A redução eletroquímica do 4-NP ocorreu em -1,0 V em tampão BR pH 3,5. Uma curva analítica foi obtida, utilizando a técnica de DPV, e apresentou uma região linear de 0,2 a 10  $\text{mg L}^{-1}$ , com limite de detecção de 0,04  $\text{mg L}^{-1}$ . Esse eletrodo foi aplicado na determinação de 4-NP em amostras de águas marinhas da bacia de Cádiz e apresentou resultados satisfatórios.

A outra via eletroquímica para a detecção direta de 4-NP é a oxidação do grupo fenol, transformando o produto em *p*-benzoquinona, como mostrado na Figura 7.

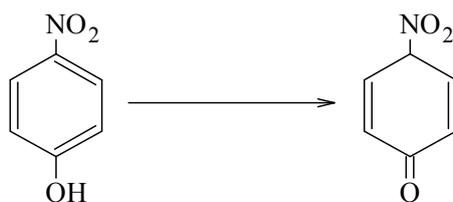


Figura 7. Oxidação eletroquímica do 4-NP formando *p*-benzoquinona.

Nesse caminho, Pedrosa *et al.*<sup>85</sup> determinaram 4-NP, via oxidação, sobre um eletrodo de BDD, processo que ocorre em +1,0 V *vs.* Ag/AgCl. A técnica de análise foi a voltametria de onda quadrada (SWV) em meio de tampão BR. A partir das correntes de oxidação do 4-NP, foram obtidas curvas analíticas, nas quais foram observadas uma região linear de 9,4 a 53,1  $\mu\text{g L}^{-1}$ , com limite de

detecção de  $2,8 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esse sistema foi utilizado na determinação de 4-NP em água de rio e apresentou uma porcentagem de recuperação de 95%.

Na mesma linha, Garbellini *et al.*<sup>86</sup> utilizaram o eletrodo de BDD para a detecção de 4-NP, via oxidação eletroquímica ( $E_{pa} = +1,0 \text{ V}$ ). Entretanto, foi proposta uma metodologia utilizando sonda de ultrassom, com a finalidade de diminuir o limite de detecção do 4-NP, ou seja, a sonovoltametria acoplada à técnica de SWV. Foram observadas melhorias significativas na sensibilidade analítica devido à limpeza da superfície eletródica e ao aumento no transporte de espécies ao eletrodo proporcionado pelo ultrassom. O limite de detecção calculado foi de  $2,57 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Contudo, tanto nos processos de redução ou de oxidação eletroquímica do 4-NP nos diferentes materiais citados acima, foram observados altos valores de potencial redox do 4-NP, tanto na varredura anódica, quanto na varredura catódica. Esses altos valores de potencial na análise do 4-NP podem estar sujeitos à interferência de muitas substâncias, que estão usualmente presentes em matrizes ambientais. Nesse contexto, a utilização de materiais com características eletrocatalíticas, como os CNTs, torna-se uma alternativa interessante para o desenvolvimento de sensores.

### 1.5.2 Carbaril

Carbamato é uma das classes de pesticidas mais utilizadas mundialmente, devido à sua alta atividade inseticida e a baixa persistência no solo<sup>87</sup>. Carbaril (1-naftil metilcarbamato) é um pesticida de amplo espectro utilizado para controlar mais de cem espécies de insetos e também é usado como moluscicida e acaricida.

O carbaril é principalmente utilizado como defensivo agrícola em gramados, plantas ornamentais, árvores, silvicultura e até mesmo em animais<sup>88</sup>. No Brasil, segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)<sup>89</sup>, o carbaril é aplicado a quatorze culturas como: frutas (tomate, banana, maçã e

pêssego), legumes (batata, pepino e cebola) e hortaliças (couve e repolho). Considerado um pesticida de curta duração no ambiente, o modo de ação do carbaril em vertebrados e insetos é baseado na inibição da atividade da enzima *acetilcolinesterase* (AChE), que, no organismo, hidrolisa o neurotransmissor acetilcolina, que é o responsável pela transmissão de impulsos nervosos<sup>90</sup>.

O uso indiscriminado de carbaril pode causar a sua bioacumulação em alimentos, água de rios e lagos ou lençóis freáticos, com subsequente bioconcentração através de toda cadeia alimentar. Nos seres humanos, a exposição ocupacional aguda e/ou crônica foi observada causando a inibição da atividade da enzima *colinesterase* no sangue, o que acarretou sérios efeitos neurológicos, náuseas, vômitos, coma, insuficiência respiratória e morte<sup>76</sup>.

Os limites máximos de resíduos (MRL) de pesticidas nos alimentos, água e amostras vegetais são regulados por agências governamentais na maioria dos países. Entretanto, a IUPAC<sup>91</sup> relata que os MRL de carbaril em diferentes amostras de águas (residuais, potável, de superfície, marinha, manancial e de poço), que são determinados por diferentes agências governamentais, podem variar de 50,0 a 0,1  $\mu\text{L}^{-1}$ . Assim, a determinação sensível e rápida desses compostos é de suma importância para a proteção ambiental e para a saúde humana.

A maioria dos métodos analíticos empregados para a determinação de carbaril é baseada em técnicas cromatográficas que utilizam diferentes sistemas de detecção<sup>92,93</sup>. Métodos eletroquímicos utilizados para a detecção do carbaril são baseados na detecção indireta, via inibição da enzima *acetilcolinesterase* (AChE), ou por hidrólise do carbaril em meio alcalino, no qual o produto da hidrólise é detectado. Os métodos diretos ocorrem pela oxidação eletroquímica do carbaril na superfície do eletrodo.

A utilização de biossensores modificados com a enzima AChE baseia-se na inibição da enzima na presença do pesticida, ou seja, a enzima AChE, imobilizada no eletrodo, reage com o substrato acetilcolina, produzindo tiocolina mais íons acetato. Com a aplicação de um determinado valor de

potencial, a tiocolina se dimeriza formando uma espécie eletroativa, ditio-*bis*-colina, que pode ser detectada. Quando o biossensor entra em contato com o carbaril, este inibe a atividade da enzima AChE em transformar o substrato em tiocolina, o que leva a diminuição da corrente de oxidação da ditio-*bis*-colina. Dessa forma, o pesticida pode ser detectado indiretamente.

Neste contexto, diversos biossensores à base da enzima AChE são utilizados na detecção de carbamatos<sup>94,95</sup>. Um exemplo é o descrito por Pedrosa *et al.*<sup>96</sup> que desenvolveram um biossensor amperométrico por meio da imobilização da enzima AChE sobre um eletrodo de ouro modificado com camadas auto-organizadas (SAM) de tióis. Experimentos de voltametria cíclica realizados com o biossensor SAM-AChE em soluções de tampão fosfato (pH = 7,2), contendo acetiltiocolina, confirmou a formação de ditio-*bis*-colina e sua oxidação eletroquímica em um potencial de +0,28 V *vs.* Ag/AgCl. Uma metodologia indireta envolvendo o efeito da inibição do paration e do carbaril sobre a reação enzimática foi desenvolvida e utilizada para medir os pesticidas em águas naturais e amostras de alimentos, sem a necessidade de etapas pré-tratamento ou pré-concentração. O biossensor apresentou limite de detecção de 9,0 µg L<sup>-1</sup>.

Outro método indireto para a determinação de carbaril baseia-se na hidrólise alcalina do pesticida, formando produtos fenólicos, como o 1-naftol, que pode ser facilmente oxidado a baixos potenciais<sup>97</sup>. Assim, Guiberteau *et al.*<sup>98</sup> propuseram um método utilizando a técnica de DPV para a determinação dos carbamatos: carbaril e carbofuran, baseado no pico de oxidação anódica dos produtos da hidrólise alcalina (formação de derivados fenólicos). O método apresentou um intervalo linear de concentração, que variou de 5,0 x 10<sup>-7</sup> a 1,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de carbaril e 5,0 x 10<sup>-7</sup> a 5,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de carbofuran. O método foi aplicado para a determinação destes pesticidas em formulações e, com o auxílio da ferramenta quimiométrica, PLS-1, o método foi aplicado na determinação destes carbamatos em água de rio e apresentou resultados satisfatórios.

No entanto, a utilização de métodos indiretos possui alguns inconvenientes. No caso dos biossensores, a utilização de enzimas como modificadores de eletrodos necessitam de cuidados especiais em relação ao pH, à temperatura, à atividade enzimática, ao potencial útil de trabalho, ao tempo e às condições de armazenamento, o que torna esses sistemas com diversas variáveis para se otimizar, além do fato de serem menos robustos. O método que utiliza a derivatização alcalina tem como principal inconveniente a necessidade de etapas prévias à análise, o que acarreta em gasto com tempo. Dessa forma, o desenvolvimento de uma metodologia que detecte diretamente o carbaril seria de grande importância.

Então, Rao *et al.*<sup>99</sup> relataram a oxidação direta do carbaril sobre eletrodo de BDD, em um potencial de +1,45 V *vs.* Ag/AgCl. Essa oxidação, da molécula de carbaril é proveniente da oxidação do grupo amida da cadeia lateral da molécula de carbaril<sup>100</sup>, como pode ser visto no mecanismo da Figura 8.

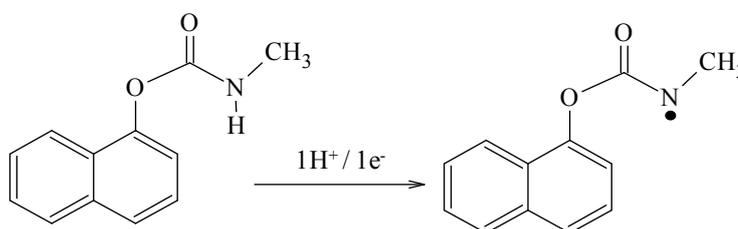


Figura 8. Mecanismo de oxidação eletroquímica do carbaril.

Seguindo essa metodologia, Codognoto *et al.*<sup>101</sup> utilizaram a técnica de SWV para a oxidação eletroquímica do carbaril sobre a superfície do eletrodo de BDD, sem etapas prévias de extração, pré-concentração ou derivatização alcalina. O eletrodo apresentou um limite de detecção de 8,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  e foi utilizado para a detecção de carbaril em amostras de água de rio.

Contudo, a viabilidade deste método torna-se complicada, pelo fato de se necessitar de um alto valor de potencial de trabalho (aproximadamente +1,4 V), o que pode acarretar possíveis interferências. Deste modo, a utilização de

materiais mais eletrocatalíticos que consigam diminuir este valor de potencial torna-se muito interessantes, como é o caso dos CNTs.

### 1.5.3 Glifosato

O glifosato (N-fosfometil glicina) é um herbicida de amplo espectro, sistêmico e não seletivo, utilizado, amplamente, em todo mundo, na eliminação de ervas daninhas, rizomas e tubérculos. Sua utilização foi descrita inicialmente por Baird em 1971 e foi introduzido comercialmente em 1973<sup>102</sup>. O Brasil, desde os anos 70, destaca-se como um dos dez maiores consumidores mundiais de defensivos agrícolas, mas o único dado relativo à extensão com que são usados no país refere-se às linhas de comercialização, destacando-se a grande utilização de herbicidas, principalmente nas culturas de soja, milho, cana-de-açúcar, café e arroz<sup>103</sup>.

O modo de ação do herbicida glifosato consiste na alteração de diferentes processos bioquímicos vitais nas plantas, como a biossíntese de aminoácidos, de proteínas e de ácidos nucleicos<sup>104</sup>. O herbicida é absorvido pelo tecido vivo e transportado via floema, através da planta para raízes e rizomas, e sua ação inibe enzimas específicas como a *enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintase* (EPSP), suspendendo a síntese de aminoácidos aromáticos<sup>105</sup>. As plantas tratadas com glifosato morrem lentamente, em poucos dias ou semanas e, devido ao transporte por todo o sistema, nenhuma parte da planta sobrevive.

A toxicidade do glifosato em seres humanos é muito baixa e não são relatados casos de doenças relacionadas à exposição ao glifosato<sup>106</sup>. O uso indiscriminado desse herbicida causa alto impacto ambiental com comprovada bioacumulação em fontes de água. A poluição ambiental gerada pelo glifosato está diretamente relacionada às propriedades físico-químicas de sua molécula. Esta é considerada pequena, altamente polar, muito solúvel em água e por ter alta afinidade em se complexar com metais de transição formando quelatos, e isso ocorre devido à presença de grupos funcionais, como mostrado na Figura 9.

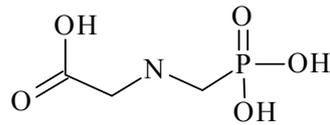


Figura 9. Fórmula estrutural do glifosato.

O grupo fosfonato R-PO(OH)<sub>2</sub> do composto tem a habilidade de formar complexos fortes com metais. Todos os processos de adsorção, de fotodegradação e de biodegradação dos fosfonatos são modificados pela presença de íons metálicos, devido à formação de complexos solúveis e não solúveis<sup>107</sup>.

Além do grupo fosfonato, o herbicida possui outros dois grupos funcionais (amino e carboxilato) que podem se coordenar fortemente com íons metálicos, especialmente com os de metais de transição, em pH próximo da neutralidade, em que os grupos carboxilato e fosfonato estão desprotonados<sup>108</sup>.

Segundo Sprankle *et al.*<sup>109</sup>, o glifosato apresenta uma seqüência de equilíbrios, com as seguintes constantes de dissociação ácida (pKa): < 2,0; 2,6; 5,6 e 10,6. Em pH abaixo de 2,0, o glifosato apresenta carga líquida positiva, o que contribui para sua adsorção à argila e matéria orgânica do solo, que possui carga negativa. Em pH acima de 2,6, o glifosato tem carga zero e o número de cargas negativas aumenta com o aumento do pH. Em pH acima de 12, praticamente todo o glifosato está na forma trianiônica.

Contudo, as habilidades do glifosato em se adsorver em argilas, matéria orgânica, como ácidos húmicos, e seu uso indiscriminado justificam a preocupação em controlar os níveis do herbicida em amostras ambientais. Desta forma, os principais órgãos legisladores determinaram os limites máximos de resíduos (MRL) do glifosato em amostras de água e vegetais<sup>110</sup>. O MRL de glifosato em água potável determinado pelos Estados Unidos<sup>111</sup> é de 70 µg L<sup>-1</sup>. Na União Europeia<sup>112</sup> este valor é de 0,1 µg L<sup>-1</sup>. No Brasil, a ANVISA determina que os níveis de glifosato encontrados em diversas culturas como o

algodão, soja, milho, cana de açúcar, citros, trigo, etc, podem variar desde 0,05 a 20 mg kg<sup>-1</sup>, dependendo da cultura<sup>113</sup>.

A maioria dos métodos analíticos empregados na determinação de glifosato é baseada em técnicas cromatográficas, utilizando diferentes sistemas de detecção<sup>114,115</sup>. Entretanto, como a molécula de glifosato não apresenta eletroatividade, são observados em literatura que os métodos eletroquímicos mais utilizados para a determinação de glifosato são indiretos. Desta forma, podem ser vistos a seguir alguns exemplos que caracterizam estes métodos indiretos.

No primeiro exemplo, Teófilo *et al.*<sup>116</sup> descreveram a determinação de glifosato via hidrólise, em meio contendo ácido nitroso, do grupo amino presente na molécula do glifosato. Esse processo de hidrólise transforma o grupo nitro em um grupo do tipo N-nitroso, que pode ser facilmente reduzido e assim detectado eletroquimicamente. Então, utilizando um eletrodo de gota de mercúrio e a técnica de SWV, o glifosato foi determinado em uma faixa operacional de concentração de 0,050 a 100,0 µg mL<sup>-1</sup> com limite de detecção e quantificação calculados em 0,025 e 0,080 µg mL<sup>-1</sup> respectivamente.

Em outro exemplo de detecção eletroquímica de glifosato, Songa *et al.*<sup>117</sup> relataram o uso de um biossensor amperométrico construído a partir da eletropolimerização do poli(2,5-dimetoxianilina) (PDMA) dopado com poli(ácido 4-estirenosulfônico) (PSS) depositados sobre um eletrodo de ouro. Sobre esse filme polimérico foi eletrostaticamente depositada a enzima *peroxidase* (HRP). A enzima HRP, imobilizada na superfície do eletrodo, catalisa a redução do peróxido de hidrogênio. A corrente de redução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é inibida na presença de glifosato e este sistema foi utilizado para detectar glifosato com um limite de detecção de 0,16 µg L<sup>-1</sup>.

Entretanto, o método eletroquímico mais utilizado para a detecção de glifosato baseia-se na teoria da formação de complexos solúveis e eletroativos do glifosato com metais de transição. Desta forma, um exemplo claro desta aplicação pode ser visto na metodologia descrita a seguir.

Garcia & Rollemberg<sup>118</sup> relataram que os grupos funcionais (amino, carboxílico e/ou fosfonato) da molécula de glifosato, coordenam-se com íons  $\text{Cu}^{2+}$ , formando o complexo solúvel *glifosato-Cu<sup>2+</sup>*. Essa forte interação coordenada ocorre em soluções, cujo pH está próximo à neutralidade. Esse complexo solúvel formado possui eletroatividade e pode ser eletroquimicamente detectado. Para isto, foi utilizado um eletrodo de cobre metálico, o qual foi submetido a um processo de hidrólise alcalina, com a finalidade de dispor íons  $\text{Cu}^{+2}$  na superfície do eletrodo. Usando esse eletrodo na presença de glifosato em pH 7,3, foi observado um processo de oxidação em -180 mV, que fora atribuído à oxidação do complexo *glifosato-Cu<sup>2+</sup>*. Assim, utilizando a técnica de DPV, o glifosato foi determinado indiretamente, com limite de detecção de  $59,6 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Portanto, a determinação eletroquímica de glifosato, obrigatoriamente, tem de ser de forma indireta. Contudo, os métodos apresentados, anteriormente, necessitam de algumas etapas prévias como a hidrólise do analito, ou a utilização de enzimas (não seletivas) ou mesmo a etapa de pré-tratamento da superfície do eletrodo, como a hidrólise alcalina do eletrodo de cobre metálico. Esses procedimentos requerem um grande tempo de preparação e nem sempre atingem a sensibilidade esperada. Dessa forma, a utilização de um sistema que possua íons  $\text{Cu}^{2+}$  disponíveis, como a molécula de ftalocianina de cobre, que pode ser convenientemente imobilizada sobre materiais extremamente condutores e eletrocatalíticos, como os CNTs. Esse sistema torna-se uma excelente alternativa para a detecção eletroquímica do herbicida glifosato.

## **Capítulo 2 - Objetivos**

---

O principal objetivo deste trabalho de tese foi funcionalizar, caracterizar e utilizar os nanotubos de carbono de paredes múltiplas com ou sem modificação de ftalocianinas metálicas, no desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a determinação de substâncias de interesse ambiental e medicinal

Os objetivos específicos foram:

- Funcionalizar os CNTs em meio oxidante ácido.
- Caracterizar a morfologia e o aparecimento de grupos funcionais nos CNTs após a etapa de funcionalização.
- Avaliar as propriedades eletrocatalíticas geradas nos CNTs, a partir da etapa de funcionalização.
- Desenvolver eletrodos modificados com filmes ou compósitos de CNTs funcionalizados, com ou sem modificação de ftalocianina de cobalto e ftalocianina de cobre, para detecção eletroquímica dos defensivos agrícolas (4-nitrofenol, carbaril e glifosato) e das catecolaminas (dopamina e adrenalina).

## **Capítulo 3 - Experimental**

---

### 3.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados neste trabalho foram de pureza analítica. Na Tabela 1 encontram-se listados os reagentes utilizados, a procedência e a pureza.

Tabela 1 – Reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho

Reagentes	Procedência	Pureza
Acetato de sódio	JT Baker	99,0 %
Fosfato de sódio dibásico	JT Baker	99,6 %
Fosfato de sódio monobásico	JT Baker	98,0 %
Acetonitrila	JT Baker	PA
Dimetilformamida	JT Baker	PA
MWCNT (diam. = 100 – 150 nm e comp. 1-5 $\mu\text{m}$ )	Sigma-Aldrich	95 %
Ftalocianina de cobalto	Sigma-Aldrich	PA
Ftalocianina de cobre	Sigma-Aldrich	PA
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	JT Baker	99,4 %
4-nitrofenol	Sigma-Aldrich	PA
Carbaril	Sigma-Aldrich	PA
Glifosato	Sigma-Aldrich	PA
Dopamina	Sigma-Aldrich	PA
Adrenalina	Sigma-Aldrich	PA
Reagentes	Procedência	% ( $\frac{\text{m}}{\text{m}}$ )
Ácido sulfúrico	Merck	96,4 %
Ácido nítrico	Merck	65,0 %
Ácido acético	Merck	96,0 %
Ácido fosfórico	Merck	85,0 %

Todas as soluções foram preparadas com água purificada em um sistema Millipore Milli-Q (resistividade  $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ).

Para a etapa de funcionalização dos CNTs foi utilizada uma solução sulfonítrica concentrada ( $3\text{H}_2\text{SO}_4 : 1\text{HNO}_3$ ). Para as medidas eletroquímicas foram preparadas as seguintes soluções eletrolíticas:  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão acetato e  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão fosfato (PBS) em diferentes pHs. Foram preparadas soluções estoque de concentração  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , 4-nitrofenol, glifosato, dopamina e adrenalina. A solução estoque de carbaril foi preparada diariamente, em meio de acetonitrila. As demais soluções utilizadas foram obtidas pela diluição das soluções estoques correspondentes.

### **3.2 Funcionalização do CNTs**

O método de funcionalização consistiu em misturar 100 mg de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) com 250 mL de uma solução concentrada de sulfonítrica ( $3\text{H}_2\text{SO}_4 : 1\text{HNO}_3$ ). Essa mistura foi agitada por 12 horas e posteriormente foi realizado o processo de filtração dos MWCNTs, lavagem com água ultrapura e secagem em estufa a vácuo por 12 horas a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ .

### **3.3 Preparação das suspensões de MWCNT e MWCNT/MPc**

A modificação dos MWCNTs com ftalocianinas metálicas (MPc) foi feita a partir da mistura de: 1,0 mg de MWCNT funcionalizado e 1,0 mg de ftalocianinas de cobalto (CoPc) ou ftalocianina de cobre (CuPc), utilizando 1,0 mL de dimetilformamida (DMF) como solvente. Essas misturas foram submetidas a trinta minutos de banho de ultrassom até a formação de uma suspensão homogênea.

### 3.4 Preparação dos eletrodos

Neste trabalho foram utilizados sensores preparados a partir de eletrodos de carbono vítreo (GC) recobertos com filmes de MWCNTs com ou sem modificação de CoPc ou CuPc e eletrodos compósitos à base de parafina, MWCNT e CoPc.

#### 3.4.1 Eletrodos filmes

Inicialmente foi realizada uma etapa de limpeza e condicionamento do eletrodo de disco de GC ( $\phi = 3,0$  mm). A limpeza consistiu em polimento do eletrodo em suspensão de alumina  $0,5 \mu\text{m}$ , seguido de banho de ultrassom em etanol por cinco minutos e em água ultrapura por cinco minutos. O eletrodo GC polido e limpo foi imerso em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{pH} = 7,0$ , foi aplicado um potencial de  $+1,5$  V por sessenta segundos, seguido por aplicação de um potencial  $-1,55$  V vs. Ag/AgCl por sessenta segundos. Finalmente, foram feitos ciclo voltamogramas entre os potenciais de  $-1,0$  V e  $+1,0$  V vs. Ag/AgCl, com velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$  até obter um voltamograma cíclico reproduzível.

Após a etapa de limpeza e condicionamento do eletrodo de GC,  $10 \mu\text{L}$  das suspensões (MWCNT, MWCNT/CoPc e MWCNT/CuPc) foram gotejadas sobre a superfície do eletrodo de GC. Foi realizada secagem à temperatura ambiente os sensores GC/MWCNT, GC/MWCNT/CoPc e GC/MWCNT/CuPc foram preparados.

#### 3.4.2 Eletrodos compósitos

A preparação dos eletrodos compósitos consistiu na mistura de quantidades em massa de parafina sólida, MWCNT e CoPc. Como em  $55^\circ\text{C}$  a parafina sólida se liquefaz, a mistura foi homogeneizada por vinte minutos sob temperatura constante de  $60^\circ\text{C}$ . A mistura homogênea líquida foi inserida na

extremidade de uma seringa de insulina ( $\phi = 4,0$  mm) e uma haste de cobre foi utilizada como contato elétrico. A espessura de material inserido no tubo foi de aproximadamente 3,0 mm. O esquema do eletrodo composto pode ser visualizado na Figura 10.

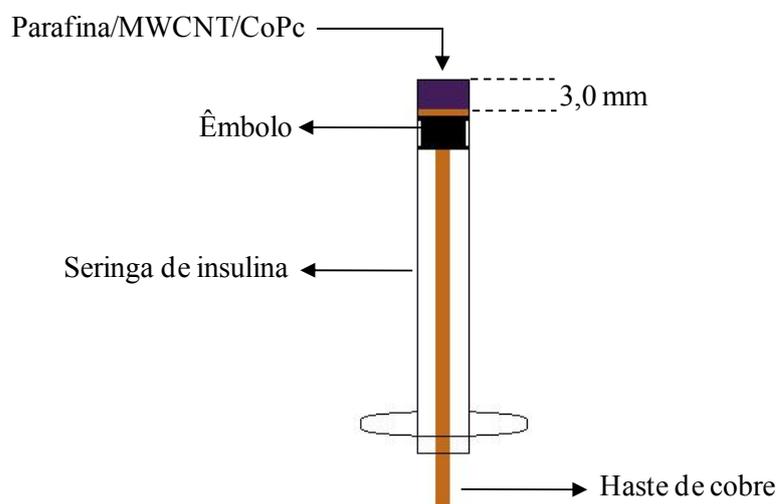


Figura 10. Esquema do eletrodo composto Parafina/MWCMT/CoPc.

O composto foi mantido à temperatura ambiente até solidificação. A superfície do eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc foi polida em papel sulfite e o eletrodo foi lavado com água ultrapura. Antes da realização dos experimentos, o eletrodo foi submetido a um banho de ultrassom em água ultrapura por cinco minutos. A título de comparação, eletrodos de Parafina/MWCNT e Parafina/Grafite foram construídos utilizando o mesmo método descrito acima.

### 3.5 Eletrodos

#### 3.5.1 Eletrodos de referência

As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando como eletrodo de referência: Ag/AgCl/KCl  $3,0 \text{ mol L}^{-1}$  ou eletrodo de calomelano saturado (ECS).

### 3.5.2 Eletrodo auxiliar

O eletrodo auxiliar empregado nas medidas voltamétricas foi um fio de platina de 1,0 cm de comprimento, soldado a um fio de cobre para contato elétrico. O conjunto foi fixado em um tubo de vidro ( $\phi = 5$  mm) e foi preenchido com resina epóxi (Silaex).

### 3.5.3 Eletrodos de trabalho

Foram utilizados como eletrodos trabalhos os eletrodos de GC recobertos com filmes de MWCNT com ou sem modificação de ftalocianina de cobre ou cobalto e os eletros compósito de Parafina/MWCNT/CoPc. Os eletrodos foram preparados conforme descrito na seção 3.3.

## 3.6 Célula eletroquímica

Todas as medidas foram realizadas em uma célula de vidro com capacidade total de 20,0 mL possuindo entrada para três eletrodos, com borbulhamento e saída de gás.

## 3.7 Métodos

### 3.7.1 Caracterização morfológica e estrutural dos CNTs funcionalizados

Com o objetivo de visualizar nos CNTs o desbloqueio dos planos de borda, diminuição do diâmetro e comprimento dos tubos e fraturas no corpo dos tubos, foram realizadas análises de microscopia dos MWCNTs antes e após a etapa de funcionalização.

As técnicas de microscopia utilizadas foram: Microscopia eletrônica de varredura acoplada a um canhão de elétrons (FEG-SEM), no qual foi utilizado um microscópio FEG-Zeiss modelo Supra 35VP (Zeiss), equipado com detector

secundário de elétrons de alta definição operando a 6,0 kV e resolução de 3,8 nm. As amostras foram preparadas a partir do gotejamento de suspensão de CNTs (funcionalizados) e CNTs (não funcionalizados) sobre uma placa de carbono vítreo. Os filmes foram secos durante a noite. Outra análise morfológica utilizada foi a microscopia de transmissão eletrônica (TEM), no qual foi utilizado um microscópio STEM VG-603 (East Grinstead), com correção Cs e 300 kV. Quantidades de pó de CNTs (funcionalizados) e CNTs (não funcionalizados) foram dispersos em isopropanol anidro e a dispersão foi gotejada em uma rede de cobre.

O aparecimento de grupos funcionais na superfície dos CNTs foi observado a partir de espectros de infravermelho (FTIR) obtidos em um espectrômetro Nicolet 5SXC e os difratogramas de raios X foram registrados em um difratômetro Rigaku Rotaflex modelo RU200B em 50 kV e 100 mA, utilizando uma onda de radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1.542 \text{ \AA}$ ).

### *3.7.2 Caracterização eletroquímica dos CNTs antes e após a etapa de funcionalização*

Para a caracterização eletroquímica dos CNTs (funcionalizados e não funcionalizados) foram realizados experimentos de voltametria cíclica (VC) e a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Para isso, utilizou-se um potenciostato/gavanostato Autolab tipo PGSTAT 30 (Eco Chemie), gerenciado pelo software GPES 4.9 e pelo software FRA2 (Eco Chemie).

Os espectros de EIS foram obtidos em um intervalo de frequência com variação de 100 kHz a 40 mHz, com amplitude de 10 mV e com 10 pontos por década de frequência. Os espectros de EIS foram analisados com o software de simulação Zplot View (Scribner Associates).

Os experimentos de VC e de EIS foram realizados utilizando os eletrodos: GC, GC modificado com filme de CNTs (funcionalizados e não

funcionalizados). As medidas foram realizadas na presença do eletrólito suporte  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$  contendo  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ .

### 3.7.3 Técnicas eletroquímicas de análise

Todas as análises deste trabalho foram realizadas utilizando as técnicas voltamétricas de pulso. A técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) foi utilizada nas determinações eletroquímicas de dopamina, adrenalina e glifosato e a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV) foi utilizada nas determinações de 4-nitrofenol e carbaril.

### 3.7.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi utilizada como método comparativo, para a determinação de 4-NP em água de lago. Os experimentos foram realizados utilizando a técnica de HPLC-UV em condições isocráticas. O equipamento utilizado foi um cromatógrafo líquido modelo SCL-10Avp (Shimadzu), equipado com uma bomba LC-10ATVP (Shimadzu) e detector espectrofotométrico UV-vis modelo SDP-10AVP (Shimadzu). A coluna cromatográfica utilizada foi a STRODS – II PEEKLC– 18 (250 x 4,6 mm e tamanho de partícula de  $5,0 \mu\text{m}$ ) da empresa Shinwa Chemical Industries. A fase móvel foi a mistura (90/10) acetonitrila : água (1 % de ácido acético glacial), com vazão de  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ . O volume de injeção foi de  $20 \mu\text{L}$ . O comprimento de onda utilizado para as análises quantitativas foi de 310 nm.

## **Capítulo 4 – Resultados e Discussão**

---

## 4.1 Efeito da funcionalização química dos nanotubos de carbono

A principal finalidade da etapa funcionalização química dos CNTs é desbloquear os planos de borda, criar defeitos no corpo dos tubos, diminuir tanto do comprimento, quanto do diâmetro dos tubos e favorecer o aparecimento de grupos funcionais, principalmente, grupos carboxilados que se ancoram nos planos de borda e defeitos dos CNTs. Esta nanoestruturação e funcionalização dos CNTs podem manifestar um caráter mais eletrocatalítico e condutor nos CNTs. Esses efeitos serão analisados a partir dos resultados a seguir.

### 4.1.1 Caracterização morfológica e estrutural dos CNTs.

Na Figura 11 são mostradas as imagens da microscopia FEG-SEM, em que, pode ser observado que os CNTs não funcionalizados (Figura 11a) apresentam tubos de diversos comprimentos e diâmetros e estão dispersos de forma não homogênea. Os diâmetros de alguns nanotubos podem alcançar até 250 nm, o que é um valor considerado bastante elevado para estes tipos de estruturas. Nesses tubos, é observada a presença de uma capa protetora que está recobrendo o nanotubo e tampando os planos de borda.

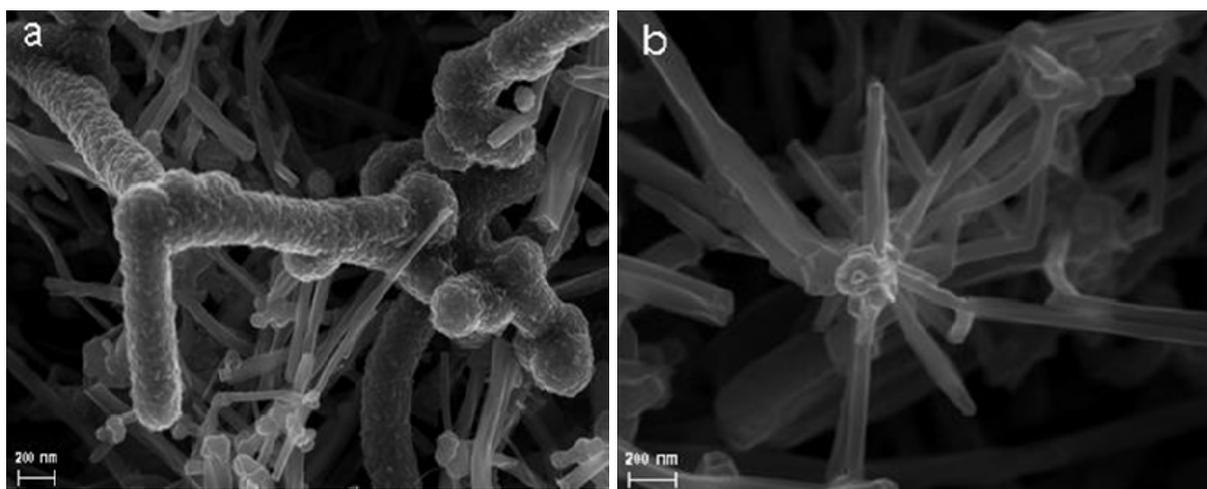


Figura 11. Microscopia FEG-SEM: (a) CNTs não funcionalizados e (b) CNTs funcionalizados.

Após a etapa de funcionalização dos nanotubos de carbono (Figura 11b), podem ser observadas significativas modificações, tais como: a remoção das capas protetoras, ou seja, o desbloqueio dos planos de borda, a diminuição tanto do comprimento, quanto do diâmetro dos tubos acarretando em uma melhor homogeneização da amostra.

Com a utilização da microscopia TEM, esta exposição dos planos de borda pode ser melhor visualizadas. A Figura 12 mostra imagens de TEM dos CNTs antes e após a funcionalização. Na Figura 12a, cuja imagem é dos CNTs não funcionalizados, fica evidente que os tubos estão totalmente fechados. Entretanto, na Figura 12b, a funcionalização desbloqueia totalmente a extremidade do tubo. Estas observações estão em concordância com diversos trabalhos descritos em literatura<sup>119,120</sup> que demonstraram a eficiência da etapa de funcionalização em meio oxidante.

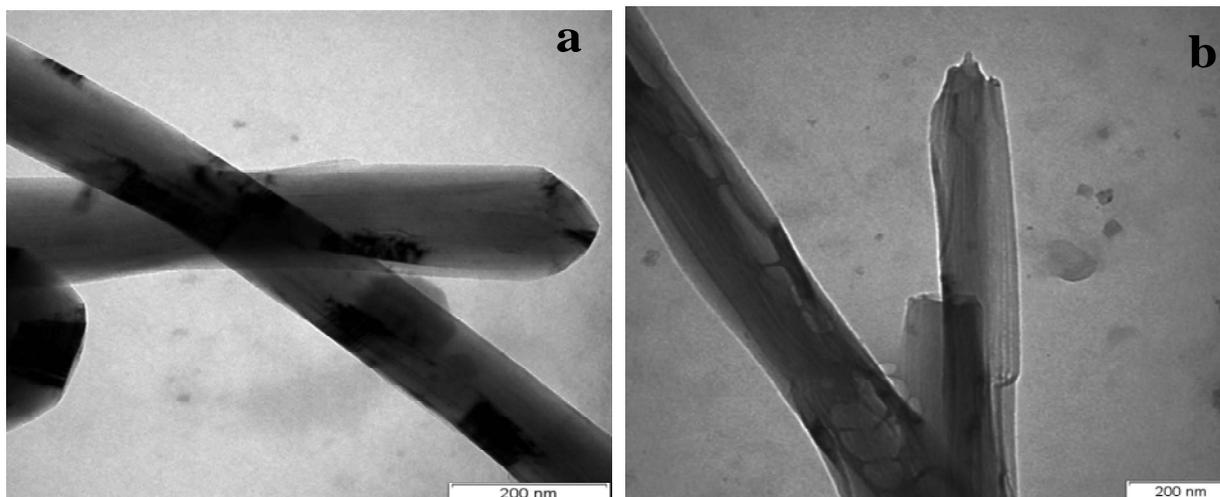


Figura 12. Microscopia TEM: (a) CNTs não funcionalizados e (b) CNTs funcionalizados.

O tratamento em meio oxidante, como a solução de sulfonítrica, funcionaliza a superfície do carbono com o ancoramento de grupos funcionais como: hidroxila (-OH), carboxilas (-COOH) e carbonilas (-C=O)<sup>121</sup>. Na Figura

13 são apresentados espectros típicos de FTIR para os CNTs não funcionalizados (—) e funcionalizados (—).

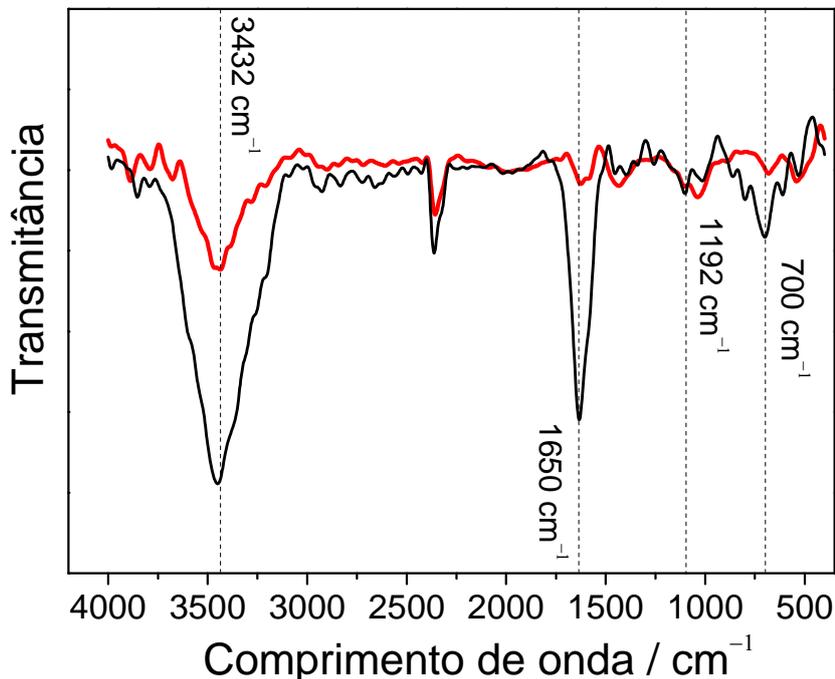


Figura 13. Espectros de FTIR para os CNTs não funcionalizados (—) e CNTs funcionalizados (—).

Na Figura 13 o pico em  $3432\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento do grupo hidroxila presente nas duas amostras de CNTs. As pequenas oscilações que aparecem em torno de  $2900\text{ cm}^{-1}$  são características do estiramento do grupo  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ , que aparece nos CNTs funcionalizados, sendo um indicativo das fraturas nas laterais dos tubos<sup>122</sup>.

O pico em  $1650\text{ cm}^{-1}$  é atribuído a deformações dos grupos carboxílicos ( $-\text{COOH}$ ), que possui uma magnitude muito maior para o CNTs funcionalizados, quando comparado ao CNTs não funcionalizados. Outros processos importantes, que aparecem depois da etapa de funcionalização, podem ainda ser observados, como por exemplo: o pico na região de  $1400\text{ cm}^{-1}$  que é atribuído a deformações da hidroxila do grupo carboxílico ( $-\text{COOH}$ ), as oscilações do grupo  $-\text{C}-\text{O}$  que aparecem em  $1192\text{ cm}^{-1}$  e o processo que aparece em  $700\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser atribuído a formação de grupos do tipo éter

(-C-O-C-). O aparecimento ou aumento da intensidade dos grupos funcionais, que se ancoram tanto nas paredes, bem como nas bordas dos CNTs é devido estritamente à etapa de funcionalização em meio ácido oxidante e estas afirmações estão de acordo com os relatos encontrados em literatura<sup>122,123</sup>.

#### 4.1.2 Caracterização eletroquímica da etapa de funcionalização

O comportamento eletroquímico dos CNTs, frente à etapa de funcionalização, foi caracterizado por estudos ciclo voltamétricos utilizando o eletrodo de carbono vítreo (GC), o eletrodo de GC modificado com filme de CNTs não funcionalizados e o eletrodo de GC modificado com filme de CNTs funcionalizados. O experimento foi realizado em meio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  contendo  $5,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , com velocidade de varredura de potencial de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . A Figura 14 mostra os voltamogramas cíclicos para o eletrodo de GC (—), eletrodo de GC/MWCNT não funcionalizado (—) e eletrodo de GC/MWCNT funcionalizado (—).

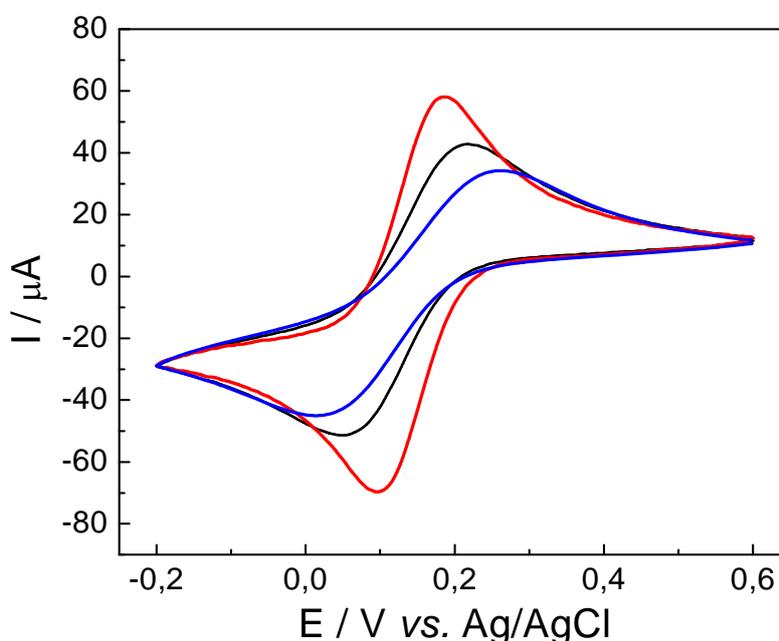


Figura 14. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos: GC (—), GC/MWCNT não funcionalizado (—) e GC/MWCNT funcionalizado (—), em meio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  contendo  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , com velocidade de varredura de potencial de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Comparando o eletrodo de GC/MWCNT não funcionalizado com o eletrodo de GC pode ser observado que a reversibilidade do par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  é muito menor para o eletrodo de GC/MWCNT não funcionalizado ( $\Delta E = 169$  mV). No entanto, a reversibilidade para o eletrodo de GC é bem menor ( $\Delta E = 253$  mV). Mesmo sem funcionalizar, os CNTs já apresentam algumas características eletrocatalíticas quando comparados ao carbono vítreo, como o deslocamento de 50 mV para valores mais negativos de potencial de oxidação do  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ . Essa oxidação no eletrodo de GC/MWCNTs não funcionalizado ocorre em +222 mV e no eletrodo de CG em +272 mV. Foram observados também significativos aumentos nas correntes de pico anódicas ( $I_{pa}$ ), bem como nas correntes de pico catódicas ( $I_{pc}$ ).

O eletrodo de GC/MWCNT funcionalizado apresentou um  $\Delta E = 77$  mV para o par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , mostrando que a etapa de funcionalização melhora a reversibilidade do sistema. O potencial de pico de oxidação ( $E_{pa}$ ) foi de +180 mV, ou seja, o eletrodo de GC/MWCNT funcionalizado apresentou um deslocamento de potencial de 42 mV para valores mais negativos, quando comparado o eletrodo de GC/MWCNT não funcionalizado. O eletrodo de GC/MWCNT funcionalizado também apresentou um aumento de 37% na  $I_{pa}$  em relação ao eletrodo construído com filme de CNTs não funcionalizados. Foi observado também um aumento de 72% na  $I_{pa}$ , quando comparado ao eletrodo de GC.

A partir dos estudos de voltametria cíclica, utilizando um par redox com comportamento bem estabelecido, foi possível evidenciar que a etapa de funcionalização melhorou o caráter eletrocatalítico e condutor dos CNTs. Estas características foram observadas devido à melhoria da reversibilidade do sistema, ao deslocamento do potencial de oxidação para valores mais negativos e aos significativos aumentos nas correntes de oxidação e redução.

Esse mesmo comportamento eletrocatalítico dos CNTs funcionalizados foi observado nos estudos de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS).

Os experimentos de EIS foram utilizados com a finalidade de se obter os valores da resistência de transferência de cargas, para a reação de oxidação do par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , nas superfícies dos eletrodos estudados. Os espectros de EIS foram analisados sob condição de potencial fixo, ou seja, eletrodo de GC ( $E_{\text{pa}} = +270$  mV), eletrodo de GC/MWCNT não funcionalizado ( $E_{\text{pa}} = +222$  mV) e eletrodo de GC/MWCNT funcionalizado ( $E_{\text{pa}} = +180$  mV). Os espectros de impedância são mostrados na Figura 15, na forma de diagramas de Nyquist, no qual o plano complexo consiste na formação de um semicírculo, em altas e médias frequências e uma reta, em baixas frequências, sugerindo um controle cinético e difusional respectivamente.

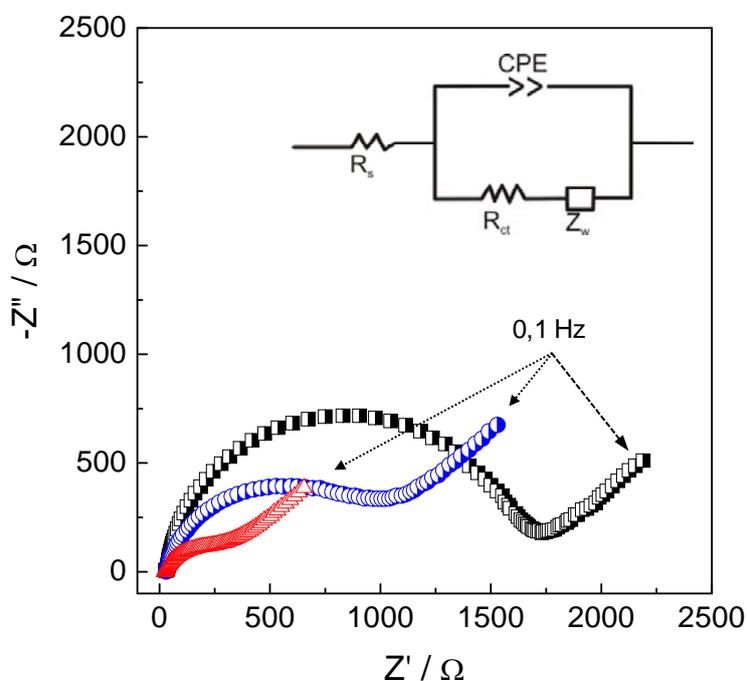


Figura 15. Diagramas de Nyquist para os eletrodos: GC (■), CNTs não funcionalizado (●) e CNTs funcionalizados (▲), na presença de  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ . Detalhe: circuito de Randles modificado.

Para análise quantitativa dos resultados desses experimentos foi utilizado um circuito de Randles modificado (detalhe da Figura 15), que consiste na resistência da solução  $R_s$ , ligada em série com uma combinação em paralelo de um elemento de fase constante  $CPE$  (usado para representar um capacitor não

ideal) e uma resistência de transferência de carga  $R_{ct}$ , no qual, esse sistema está ligada em série com uma impedância de Warburg  $Z_w$  (domínio difusional do sistema).

Foi observado, que o eletrodo de GC/MWCNT funcionalizado apresentou o menor tamanho de semicírculo, indicando o menor valor de resistência de transferência de carga  $R_{ct}$ . A diminuição de  $R_{ct}$  pode se atribuída à etapa de funcionalização dos CNTs, que gerou nanoestruturação e aumento da área de planos de borda disponíveis, que são as regiões mais eletroativas dos CNTs, devido à alta população de grupos funcionais. A Tabela 2 dispõe os valores de  $R_{ct}$  calculados para todos os sistemas estudados. Estes valores foram obtidos a partir dos ajustes dos espectros, utilizando o programa de simulação Zplot view.

Tabela 2. Sumário dos parâmetros de EIS estimados para os eletrodos, em 0,5 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> contendo 5,0 mmol L<sup>-1</sup> de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>].

Eletrodos	$R_s/\Omega$	$CPE/\mu F\ cm^{-2}\ s^{\alpha-1}$	$\alpha$	$R_{ct}/\Omega$	$k_{app}/cm\ s^{-1}$
GC	32	5,36	0,897	1562	$3,41 \times 10^{-6}$
GC/CNTs não funcionalizados	31	7,25	0,869	709	$7,05 \times 10^{-5}$
GC/CNTs funcionalizado	31	40,8	0,764	254	$2,09 \times 10^{-4}$

Como esperado, os valores de  $R_s$  são muito similares para os três eletrodos. O crescente aumento, tanto nos valores de  $CPE$ , como no parâmetro  $\alpha$ , está relacionado com o aumento da área superficial do eletrodo. A etapa de funcionalização promoveu um aumento da área superficial dos CNTs, o que refletiu diretamente no aumento da área e na rugosidade do eletrodo<sup>124</sup>.

O termo  $k_{app}$  é a constante aparente de velocidade, que foi calculada a partir da seguinte equação<sup>125</sup>.

$$k_{app} = \frac{RT}{F^2 R_{ct} C}$$

A partir da equação,  $C$  é a concentração ( $\text{mol cm}^{-3}$ ) de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ,  $R_{ct}$  é a resistência de transferência de carga,  $R$  (constante física dos gases),  $T$  (temperatura) e  $F$  (constante de Faraday). Como apresentado na Tabela 2, o eletrodo de GC/MWCNT funcionalizado apresentou o maior valor na constante aparente de velocidade, ou seja, as propriedades eletrocatalíticas que surgiram após a etapa de funcionalização fez com os CNTs diminuíssem a resistência de transferência de carga, acelerando a velocidade da reação redox. Esse aumento no valor de  $k_{app}$  está em concordância com os experimentos de voltametria cíclica, que mostraram que o eletrodo construído com filme de CNTs funcionalizados melhora a reversibilidade, aumenta  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  e desloca para valores mais negativos o potencial de oxidação do  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ .

#### 4.1.3 Considerações gerais

A funcionalização ácida dos nanotubos de carbono evidenciou uma melhora significativa nas propriedades eletrocatalíticas dos CNTs. Essa melhora foi devida a quebra dos tubos, tornando-os com menor comprimento e menor diâmetro, desbloqueio das extremidades e, conseqüentemente, um aumento na densidade populacional de grupos funcionais nos planos de borda. Essas modificações estruturais, aliadas ao ancoramento dos grupos funcionais carboxilas, hidroxilas, éteres, dentre outros, melhoraram acentuadamente o desempenho eletrocatalítico e condutor dos CNTs. Outro ponto é o fato dos CNTs funcionalizados permitirem a incorporação de diversos tipos de moléculas, que pode melhorar o desempenho dos sensores construídos com esses materiais.

## 4.2 Determinação de 4-nitrofenol em águas naturais utilizando sensor a base de filmes de nanotubos de carbono de paredes múltiplas<sup>126</sup>

Esta parte descreve o desenvolvimento, a caracterização eletroquímica e a utilização de um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de CNTs para a determinação de 4-NP em amostras de águas naturais.

### 4.2.1 Estudo do comportamento eletroquímico do 4-NP

O estudo do comportamento eletroquímico do 4-NP foi avaliado utilizando a técnica de voltametria cíclica, com eletrodo de GC/MWCNT. Os experimentos de VC foram realizados em meio de 0,2 mol L<sup>-1</sup> de PBS contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de 4-NP e velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>. A Figura 16 mostra nove voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes potenciais de inversão que variaram de -0,30 até -1,0 V.

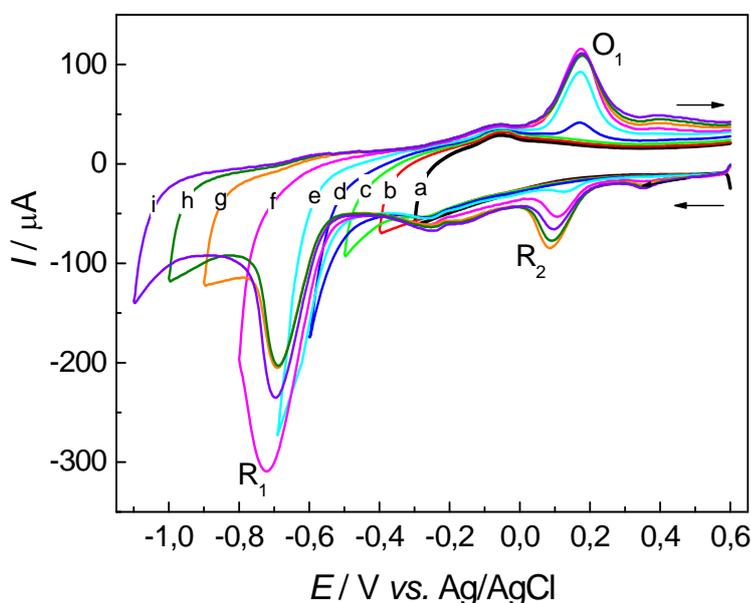


Figura 16. Voltamogramas cíclicos obtidos para 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de 4-NP em meio de PBS (pH = 6,0), com os seguintes potenciais de inversão: (a) -0,3; (b) -0,4; (c) -0,5; (d) -0,6; (e) -0,7; (f) -0,8; (g) -0,9; (h) -1,0 e (i) -1,1 V.

Nos voltamogramas cíclicos foi observado um pico de redução bem definido ( $R_1$ ) em  $-0,70$  V. Esse processo é associado à redução do grupo nitro, envolvendo 4 elétrons<sup>83</sup>. Outros dois processos, bem definidos ( $O_1$  e  $R_2$ ), aparecem em  $+0,18$  V e  $-0,15$  V respectivamente. Esses processos só aparecem quando o potencial de inversão atinge valores mais negativos do que  $-0,60$  V. Desta forma, este experimento teve como finalidade mostrar que o aparecimento do par redox ( $O_1$  e  $R_2$ ) é dependente da espécie formada no processo de redução  $R_1$ .

A confirmação dessa dependência foi realizada, por meio de um experimento que consistiu em dez voltamogramas cíclicos sucessivos, como apresentado na Figura 17.

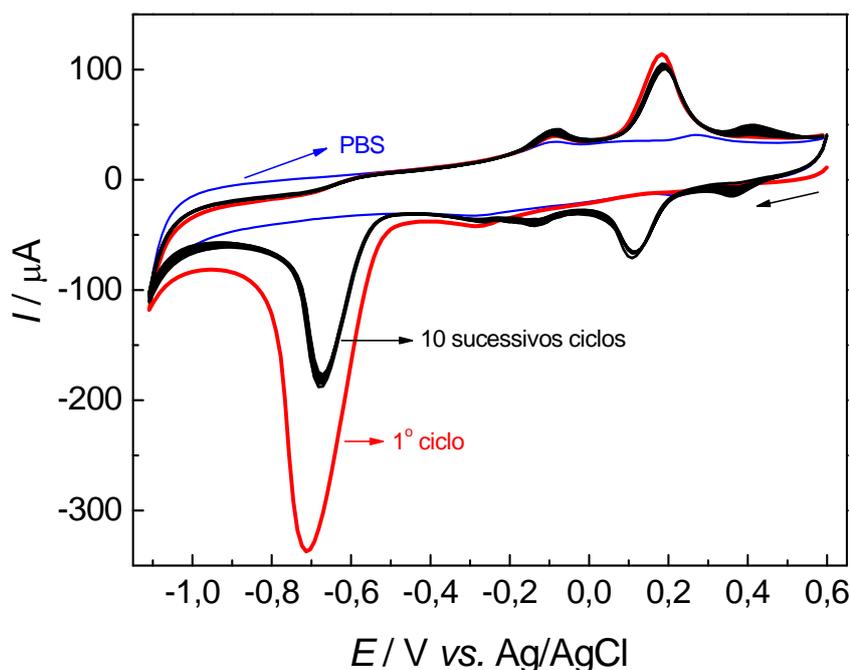


Figura 17. Voltamogramas cíclicos sucessivos na presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP em meio de PBS ( $\text{pH} = 6,0$ ). (—) PBS na ausência de 4-NP, (—) primeiro ciclo e (—) nove sucessivos ciclos.

Os resultados indicaram que pico de redução  $R_1$ , no primeiro ciclo, diminuiu pela metade a partir segundo ciclo e permaneceu constante nos subsequentes ciclos. Devido à dependência do pico  $O_1$  em relação ao pico  $R_1$ , o

processo de oxidação  $O_1$  já aparece na varredura positiva do primeiro ciclo. Só a partir do segundo ciclo é que vai aparecer o processo  $R_2$ . Isto demonstra que, o processo  $R_1$  forma o pico de oxidação  $O_1$ , no qual, este se reduz formando um par redox e reversível  $O_1/R_2$ .

Com base apenas nessas informações não foi possível determinar um mecanismo redox do 4-NP na superfície do eletrodo. Assim, foi realizado um experimento de eletrólise, sob condição de potencial controlado, com o acompanhamento da técnica de espectrofotometria UV-vis.

O experimento de eletrólise foi realizado utilizando o eletrodo de GC/MWCNT, em um potencial fixo de -1,1 V, por uma hora e em uma solução contendo  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-NP. Os espectros de UV/vis foram coletados antes e depois da eletrólise, os quais são apresentados na Figura 18.

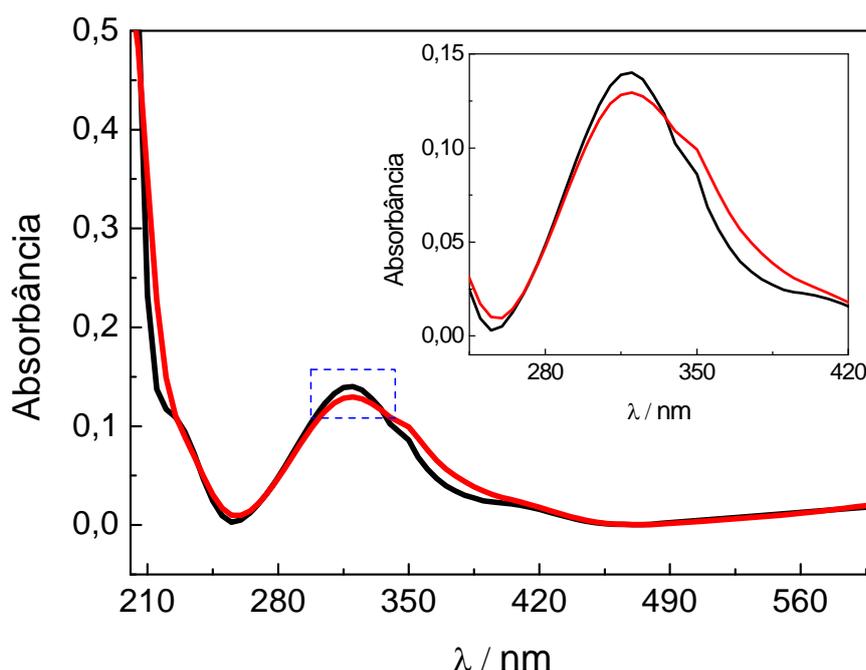


Figura 18. Espectros de UV/Vis para uma solução contendo  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-NP: antes da eletrólise (—) e após uma hora de eletrólise, em potencial fixo de -1,0 V (—). Detalhe: ampliação da região da banda de absorção do 4-NP.

Utilizando a lei de Lambert-Beer, a concentração de 4-NP foi calculada após a eletrólise, em um comprimento de onda de 320 nm, sendo esse o processo

máximo de absorção do 4-NP. Esse resultado está em concordância com o trabalho reportado por Tian *et al.*<sup>127</sup>. A partir da carga observada na eletrólise e com a diferença de concentração encontrada pela espectrofotometria UV/vis, a lei de Faraday foi aplicada e foi possível determinar 4,1 elétrons transferidos no processo de redução, confirmando que a redução do grupo nitro da molécula de 4-NP forma a espécie hidroxilamina em uma reação que envolve 4 prótons e 4 elétrons<sup>83</sup>.

Considerando o comportamento do 4-NP apresentado nas Figuras 16 e 17 e tendo como base o estudo de eletrólise, um mecanismo de reação eletroquímica para 4-NP foi proposto, como mostrado na Figura 19.

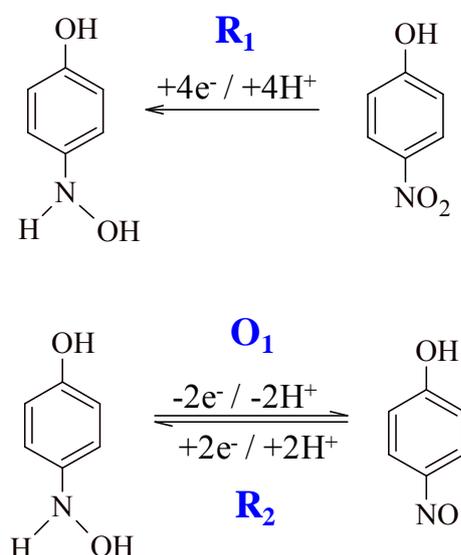


Figura 19. Mecanismo eletroquímico do 4-NP na superfície do eletrodo de GC/MWCNT.

O pico R<sub>1</sub> é o resultado da redução eletroquímica do 4-NP (envolvendo 4H<sup>+</sup>/4e<sup>-</sup>) formando a espécie hidroxilamina, que por sua vez se oxida em uma reação envolvendo 2H<sup>+</sup>/2e<sup>-</sup>, formando o processo O<sub>1</sub>. O pico O<sub>1</sub> se reduz de forma reversível, formando o processo R<sub>2</sub>. Entretanto, a significativa diminuição da corrente de pico do processo R<sub>1</sub>, no segundo ciclo (Figura 17) é devido à adsorção da espécie hidroxilamina na superfície do eletrodo.

O mecanismo proposto na Figura 19 é diferente do trabalho relatado por Honeychurch & Hart<sup>128</sup>, no qual foi descrito a oxidação do 4-NP sobre a

superfície do eletrodo de GC. Nesse trabalho, o par redox  $O_1/R_2$  foi atribuído ao processo de oxidação do grupo fenol, formando quinona e sua subsequente redução. Contudo, o mecanismo proposto nesse trabalho sugeriu que, inicialmente, o grupo nitro se reduz a hidroxilamina e essa espécie se adsorve na superfície do eletrodo. Posteriormente, a hidroxilamina se oxida formando o equilíbrio  $O_1/R_2$ . Esse mecanismo é suportado pelo trabalho realizado por Zen *et al.*<sup>129</sup> que utilizou um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de nafion para a eletro-oxidação do pesticida paration. Foi demonstrado que a reação eletroquímica ocorreu exclusivamente no sítio nitrogenado da molécula.

#### 4.2.2 Efeito eletrocatalítico do eletrodo de GC/MWCNT

O efeito eletrocatalítico do filme de MWCNT, na eletro-oxidação de 4-NP foi avaliado utilizando a técnica de voltametria de varredura linear (LSV). Os eletrodos estudados foram: GC, GC/MWCNT e BDD. Os experimentos de LSV foram realizados com uma velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , em uma solução eletrolítica de  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP. Antes de cada varredura de potencial, o eletrodo foi mantido polarizado em  $-1,1 \text{ V}$  por 10 s.

Foi observado na Figura 20, que a oxidação do 4-NP sobre os eletrodos de GC e de BDD ocorreu no mesmo valor de potencial, i.e.  $+1,0 \text{ V}$ . Também pode ser visto que, embora os perfis voltamétricos sejam todos corrigidos pela área geométrica dos eletrodos, a corrente de oxidação obtida para o eletrodo de GC/MWCNT é muito maior do que o valor de corrente obtido para o eletrodo de BDD, que por sua vez, também é maior que a corrente observada para o eletrodo de GC sem modificação. No entanto, a informação mais importante obtida é a presença de um pico de oxidação, bem definido, em aproximadamente  $+0,25 \text{ V}$ , sobre o eletrodo de GC/MWCNT. Esse processo está associado com a oxidação da espécie hidroxilamina formada na superfície do eletrodo durante a polarização inicial em  $-1,1 \text{ V}$ . A ausência do pico de oxidação, da hidroxilamina, nas outras superfícies estudadas (GC e BDD), está associada às baixas

características adsorptivas destas superfícies, quando comparada a superfície dos CNTs.

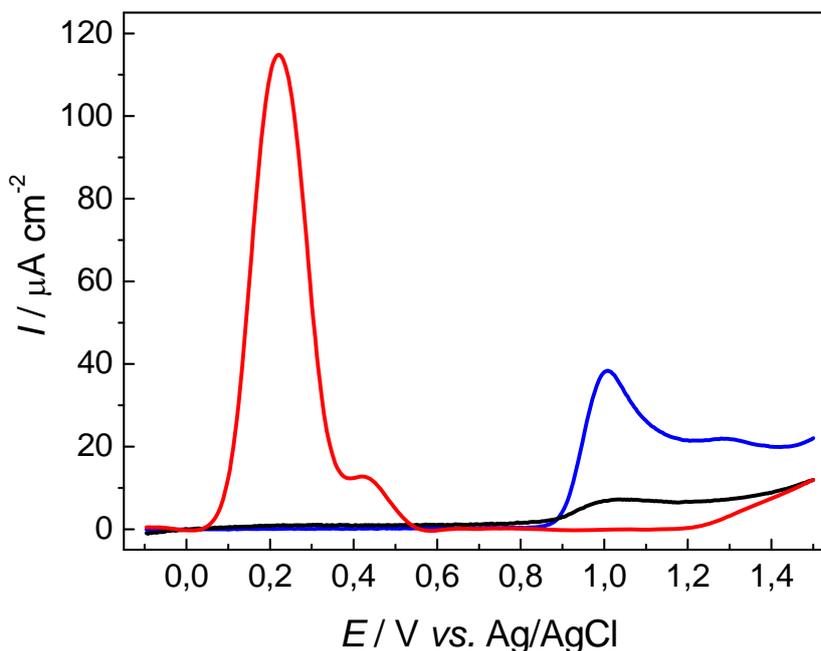


Figura 20. Voltametria de varredura linear para os eletrodos de GC (—), BDD (—) e GC/MWCNT (—) em PBS 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,0) contendo de 1.0 mmol L<sup>-1</sup> de 4-NP, com  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .

A utilização do processo em +0,25 V, para detectar 4-NP, pode minimizar alguns efeitos de interferência, quando comparados aos altos valores de potencial de oxidação observados para os eletrodos de GC e de BDD. É evidente, que esse processo de formação hidroxilamina não ocorre na superfície dos eletrodos de GC e do BDD, pois nenhum processo foi observado nos voltamogramas desses eletrodos. Neste sentido, as propriedades eletrocatalíticas dos CNTs tornam o sistema GC/MWCNT promissor na detecção de 4-NP em amostras ambientais.

#### 4.2.3 Otimização dos parâmetros eletroanalíticos

Com a finalidade de maximizar o sinal analítico da técnica de SWV e melhorar as condições experimentais, a melhor resposta para o eletrodo de GC/MWCNT foi avaliada em relação ao pH, frequência, salto de potenciais e a

amplitude de pulso. Essas medidas foram realizadas em solução  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP. A Tabela 3 resume o intervalo empregado para cada variável investigada e as melhores condições encontradas.

Tabela 3. Otimizações dos parâmetros da técnica de SWV para a oxidação de 4-NP sobre o eletrodo de GC/MWCNT

Parâmetros estudados	Intervalo	Valor ótimo
pH	3,0 – 9,0	6,0
Frequência / Hz	10 – 100	100
Amplitude de pulso / mV	10 – 100	50
Salto de potencial / mV	1 – 10	2

O efeito do pH sobre o potencial de pico ( $E_{pa}$ ) e da corrente de pico ( $I_{pa}$ ) de oxidação do 4-NP foi examinado em um eletrólito composto por PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP, com o pH ajustado entre 3,0 e 9,0, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT, como mostrado na Figura 21.

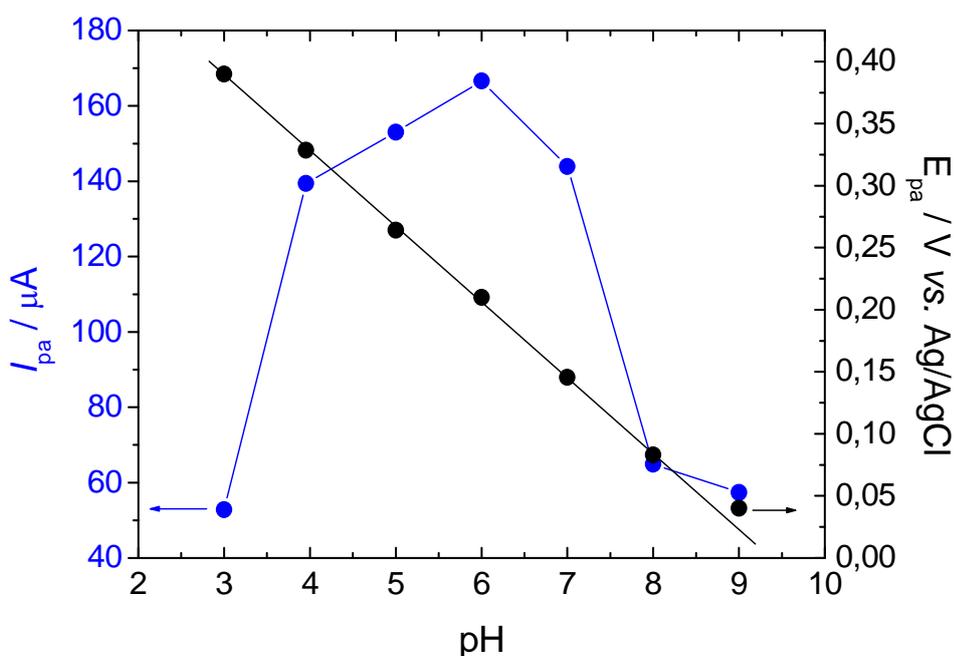


Figura 21. Gráfico da relação linear entre a variação de pH vs.  $E_{pa}$  (●) e pH vs.  $I_{pa}$  (●), em um meio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP.

Na Figura 21 foi observado que o aumento nos valores do pH promoveu uma mudança no  $E_{pa}$  para valores menos positivos, em uma relação linear, cuja inclinação é, aproximadamente,  $50 \text{ mV dec}^{-1}$ . Esse resultado mostra que o processo é dependente da concentração hidrogenionica do meio e a etapa de transferência de elétrons é precedida por uma protonação, com número igual de prótons e elétrons envolvidos na oxidação do 4-NP. Por outro lado, a dependência de pH *vs.*  $I_{pa}$  revelou que o pico de corrente tem um valor máximo de pH 6,0 diminuindo em ambas as direções, tanto para maiores, quanto para menores valores de pH. Por este motivo, todas os experimentos posteriores usando o eletrodo de GC/MWCNT foram realizados em pH 6,0.

Foram realizados estudos das variações de freqüências, da técnica de voltametria de onda quadrada (SWV), na qual, as freqüências foram variadas de 10 a 100 Hz, com a amplitude de potencial fixa em 50 mV e o salto de potencial fixo em 2 mV. O meio eletrolítico foi composto por  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de 4-NP. Os resultados obtidos para esse estudo são apresentados na Figura 22.

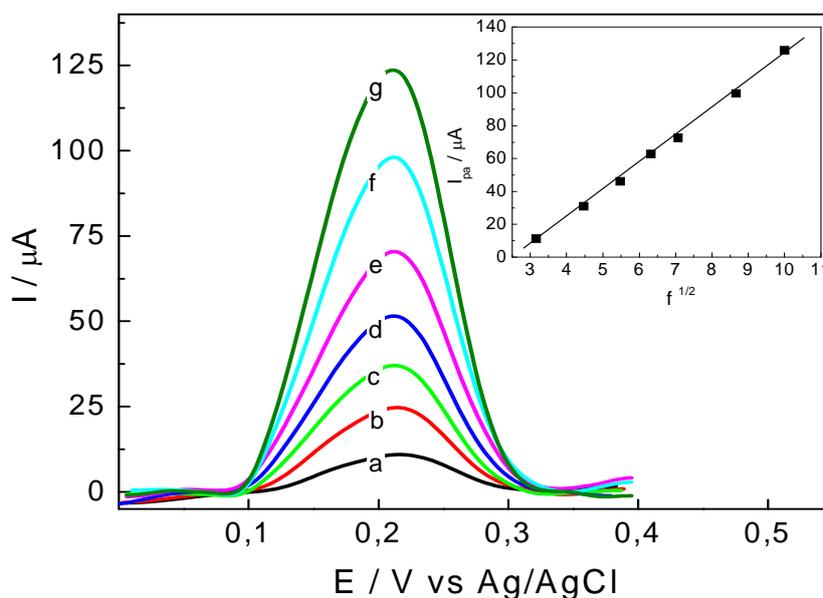


Figura 22. Efeito da freqüência nos voltamogramas de SWV na detecção de 4-NP: Freqüências: (a) 10; (b) 20; (b) 30; (d) 40; (e) 50; (f) 75 e (g) 100 Hz. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a raiz quadrada da freqüência.

Na Figura 22 é mostrada claramente a influência da frequência sobre os perfis de SWV, para a oxidação de 4-NP, sobre o eletrodo de CG/MWCNT. A relação entre o  $I_{pa}$  e a raiz quadrada da frequência foi linear em todo o intervalo estudado (detalhe da Figura 22). Como  $I_{pa}$  vs.  $f^{1/2}$  é uma relação linear, em geral, esta relação pode ser associada a um processo controlado pelo transporte de massa, neste caso por difusão linear semi-infinita. Como a frequência de 100 Hz apresentou o valor máximo de corrente, esta foi utilizada como frequência ótima.

Outros parâmetros como amplitude de potencial e salto de potencial foram avaliados, sob as mesmas condições experimentais apresentadas anteriormente. As medidas de SWV foram feitas com diferentes amplitudes na faixa de 10 a 100 mV e a melhor resposta para a amplitude no processo de oxidação do 4-NP foi de 50 mV. Finalmente, o salto de potencial foi avaliado em um intervalo de 1 - 10 mV e acima de 2 mV não foi observada qualquer influência na variação da corrente de pico. Desta forma o valor de salto de potencial de 2 mV foi escolhido.

#### 4.2.4 Curva analítica e análise de amostra

Após a otimização dos parâmetros experimentais, uma curva analítica para o 4-NP foi obtida. A curva analítica mostrada na Figura 23 apresentou uma resposta linear no intervalo 1,0 - 35,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , que pode ser expressa segundo a equação abaixo, com um coeficiente de correlação de 0,9946 (para  $n = 7$ ):

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = 1,12 \pm 0,30 (\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}) + 0,56 \pm 0,06[4\text{-NP}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

O limite de detecção ( $LD$ ) calculado foi de 0,12  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (16,42  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e foi determinado usando a relação  $3\sigma/\text{coeficiente angular}$ , de acordo com as recomendações da IUPAC, onde  $\sigma$  é o desvio padrão dos valores médios de 10 voltamogramas do branco.

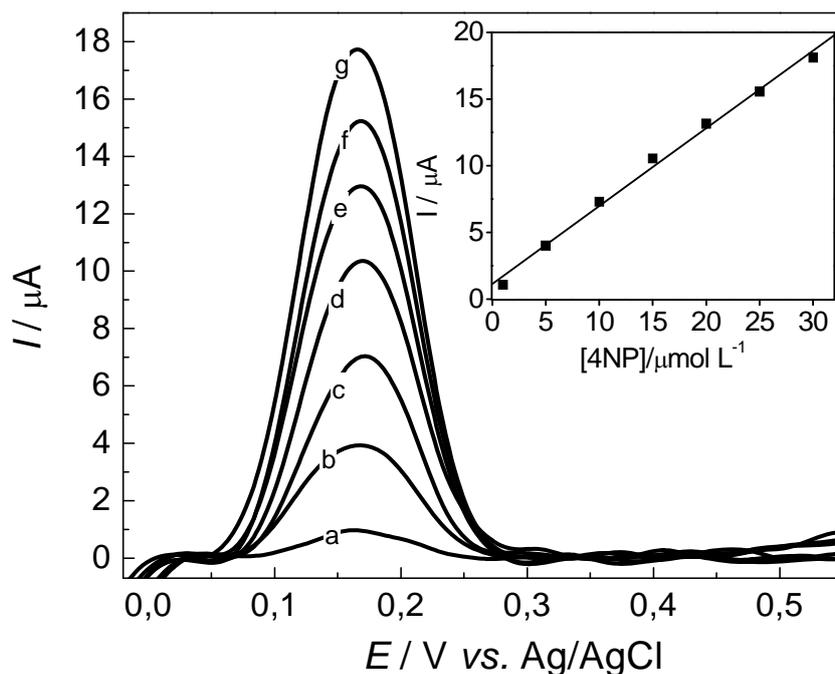


Figura 23. Voltamogramas de SWV para o eletrodo de GC/MWCNT, com os valores otimizados mostrados na Tabela 3. As concentrações de 4-NP em  $\mu\text{mol L}^{-1}$  são: (a) 1,0; (b) 5,0; (c) 10,0; (d) 15,0; (e) 20,0; (f) 25,0 e (g) 30,0. Detalhe: dependência linear dependence do pico de corrente com a concentração de 4-NP.

O próximo passo no desenvolvimento desse método eletroanalítico foi avaliar a influência dos componentes da matriz de uma amostra de água natural na determinação 4-NP. Para isso, um processo de adição e recuperação foi realizado. Uma amostra da água natural, poluída e com alto teor de moléculas orgânicas, foi coletada em um lago localizado em São Carlos (SP) em Janeiro/2008, o lago possui as coordenadas: 21°, 59', 08" sul - 47°, 52', 58" oeste. Posteriormente, essa amostra foi tamponada com 0,2 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 6,0) e foi artificialmente fortificada com 5,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-NP. Os sinais voltamétricos de onda quadrada obtidos após sucessivas adições de 4-NP foi representado em relação as concentrações adicionadas de 4-NP e a relação linear pode ser representada por:

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = 3,64 \pm 0,30 (\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}) + 0,69 \pm 0,07 [4\text{-NP}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

O método de adição e recuperação apresentou um valor médio de 96.5 % para cada amostra, confirmando que o eletrodo de GC/MWCNT é sensível para a determinação de 4-NP em amostras de águas naturais

#### 4.2.5 Utilização da cromatografia HPLC como método comparativo

Com a finalidade de validação do método proposto, curvas analíticas foram construídas utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção UV/vis. Para isso, oito soluções diferentes de 4-NP, que variaram de 1 - 35  $\mu\text{mol L}^{-1}$  foram preparadas em meio 0,2 mol  $\text{L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0). Alíquotas dessas soluções foram injetadas no cromatógrafo, com comprimento de onda fixo em 310 nm. As alíquotas de 4-NP apresentaram picos com tempo de retenção de 2,6 minutos.

O LD obtido pelo método HPLC/UV-vis foi calculado utilizando análise estatística<sup>130</sup> e apresentou valor de 54,9 nmol  $\text{L}^{-1}$  (7,64  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Os experimentos de adição e recuperação foram realizados utilizando várias concentrações (1 - 35  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) de padrão de 4-NP, preparadas com a água de lago coletada em São Carlos, com descrito na seção anterior. O valor de 90,6 % (média para 5 amostras) foi recuperado. Comparando este valor com o recuperado pelo método proposto demonstra-se que o sensor GC/MWCNT é viável para a detecção de 4-NP em amostras de águas naturais.

#### 4.2.6 Considerações gerais

Nesse estudo, a determinação eletroquímica de 4-NP foi realizada com sucesso por um processo indireto, que usa a oxidação da hidroxilamina produzida pela redução de 4-NP em um estado adsorvido na superfície do eletrodo. Este intermediário pode ser oxidado em baixo potencial, portanto, envolvendo pequenos valores de erros associados com o efeito de matriz. O

método produziu valores de *LD* inferiores aos necessários para o controle ambiental, determinado pela USEPA, no caso de água de lago

### 4.3 Determinação eletroquímica direta de carbaril utilizando eletrodo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas/ftalocianina de cobalto<sup>131</sup>

A detecção eletroquímica direta de carbaril, em baixo valor de potencial, com a finalidade de minimizar efeito de interferentes é um grande desafio na área de eletroanálise. Este estudo descreve o desenvolvimento, caracterização eletroquímica e utilização de um eletrodo de carbono vítreo (GC) modificado com filme de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e ftalocianina de cobalto (CoPc), para a detecção de carbaril em amostras de água de rio.

#### 4.3.1. Análise morfológica da superfície dos eletrodos modificados

A morfologia dos eletrodos modificados foi examinada pela técnica microscópica FEG-SEM. A Figura 24 mostra imagens típicas dos filmes de MWCNT e MWCNT/CoPc depositados sobre o eletrodo de GC.

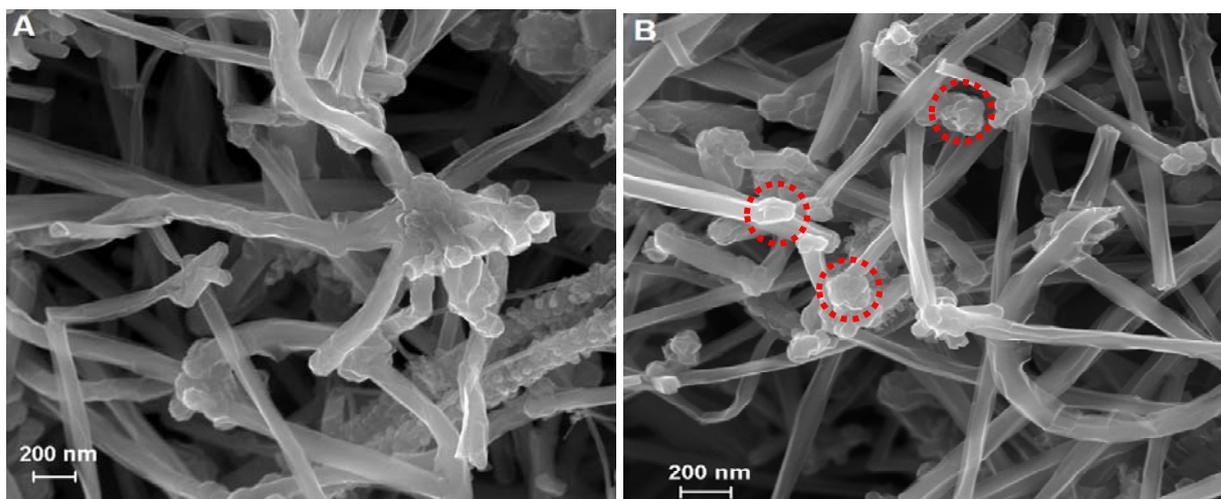


Figura 24 – Micrografias de FEG-SEM para os filmes: (A) MWCNT e (B) MWCNT/CoPc.

Foi observado que os filmes de MWCNT funcionalizado e MWCNT/CoPc estão uniformemente distribuídos sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. A Figura 24A mostra que o MWCNT possui diâmetro médio dos tubos de 80 nm. Na Figura 24B pode-se constatar que para o filme de MWCNT/CoPc, a ftalocianina de cobalto, preferencialmente, adsorve sobre as extremidades do tubos (destaque da Figura 24B). Esta afirmação foi constatada por meio da técnica de microanálise. Nos pontos destacados foi possível identificar a presença de átomos de cobalto, nos aglomerados, e desta forma, pode se intuir que estes aglomerados são compostos por conjuntos de moléculas de CoPc adsorvidas. Este processo de adsorção está de acordo com o fato das ftalocianinas se ligarem eletrostaticamente nos planos e borda dos CNTs<sup>45</sup>.

#### 4.3.2. Eletro-oxidação do carbaril

O estudo da eletro-oxidação de carbaril foi realizado utilizando SWV, em um intervalo de potencial de +0,5 a +1,45 V, em solução de tampão acetato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 4,0) contendo 1,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de carbaril. A Figura 25 mostra os voltamogramas de onda quadrada para os três tipos de eletrodos e foi observado, que no intervalo de potencial estudado, existe apenas um processo de oxidação.

No eletrodo de GC/MWCNT, a oxidação de carbaril ocorre em +1,29 V e apresenta um deslocamento de 0,31 V para valores de potencial menos positivos, quando comparado ao eletrodo de GC, mostrando o efeito eletrocatalítico dos CNTs. Além disso, a oxidação catalítica de carbaril sobre a superfície contendo MWCNT aumentou em 3,3 vezes a corrente de pico, em comparação com o eletrodo de GC. Este aumento pode estar relacionado à elevada área superficial dos nanotubos de carbono.

Para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, o potencial de oxidação do carbaril diminui 0,18 V em relação ao eletrodo de GC/MWCNT, com um fator extra de 1,5 vezes no aumento na corrente de pico. Assim, as propriedades

eletrocatalíticas dos nanotubos de carbono adicionadas ao excelente poder mediador eletrônico da ftalocianina de cobalto tornou o sistema com efeito sinérgico. Assim, o eletrodo GC/MWCNT/CoPc apresenta-se como um promissor sistema para a detecção eletroquímica direta de carbaril.

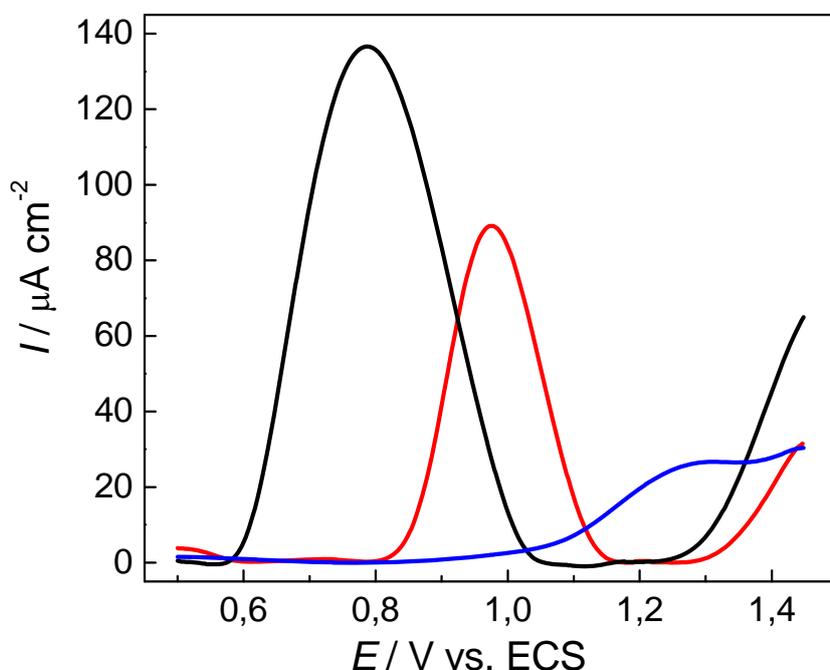


Figura 25. Voltamogramas de SWV para os eletrodos: GC (—), GC/MWCNT (—) e GC/MWCNT/CoPc (—) em solução tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril, com frequência de 20 Hz, amplitude de 100 mV e salto de potencial de 2 mV.

Com a finalidade de verificar a reversibilidade do comportamento eletroquímico do carbaril, foi realizado um voltamograma de SWV, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em solução tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril. Os parâmetros de SWV utilizados foram: frequência de 20 Hz, amplitude de 100 mV e salto de potencial de 2 mV. Na Figura 26 são apresentadas as componentes totais, diretas e reversas das correntes, na técnica de SWV, para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc. Esse estudo mostrou que o processo eletroquímico de oxidação do carbaril é um

processo irreversível, pelo fato da ausência de processo na componente reversa, na varredura de SWV.

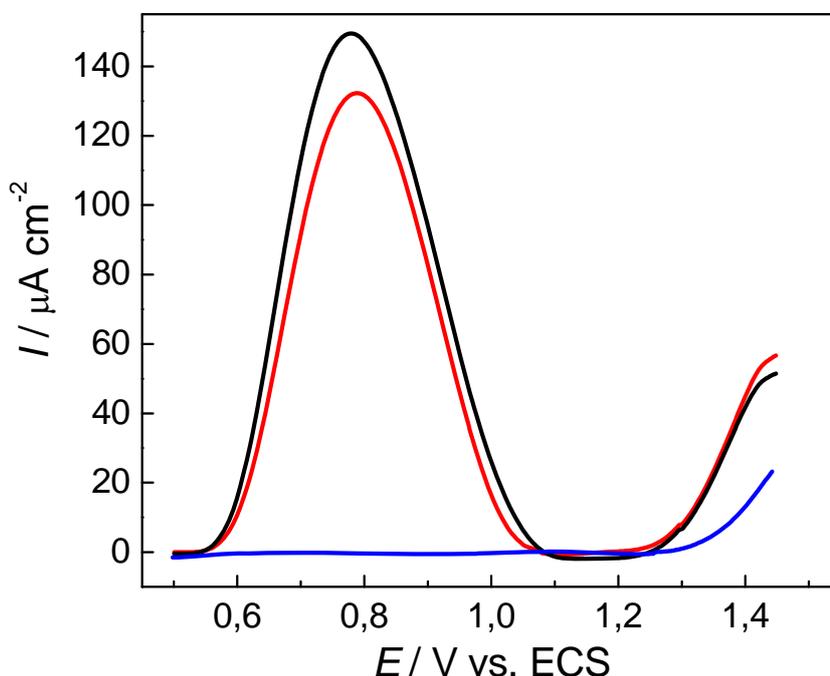


Figura 26. Componentes da corrente da SWV para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc: total (—); direta (—) e reversa (—).

#### 4.3.3 Espectroscopia de impedância eletroquímica

Os experimentos de EIS permitem obter importante informações dos eletrodos como a resistências do material, a resistência de transferência eletrônica, a capacitância do filme, etc. Neste estudo a caracterização por EIS dos eletrodos foram realizadas no potencial de pico anódico para a oxidação do carbaril. Os valores de potencial aplicado para os eletrodos forma: GC +1,25 V, GC/MWCNT +0,92 V e GC/MWCNT/CoPc +0,75 V. Na Figura 27 são mostrados os espectros, no plano complexo, para a reação de oxidação do carbaril. Os espectros apresentaram semicírculos em altas e médias frequências e uma reta, com inclinação de aproximadamente  $45^\circ$ , em baixas frequências, que corresponde aos processos controlados por difusão.

Os espectros foram modelados utilizando o circuito de Randles modificado que consiste na resistência da célula  $R_s$  em série com uma combinação de um elemento constante fase  $CPE$  (considerado como uma capacitância não ideal  $C$ , com fator exponencial  $\alpha$ , onde  $\alpha = 1$  representa uma superfície perfeitamente lisa e homogênea). Esse sistema está em paralelo com a combinação em série da resistência de transferência de carga  $R_{ct}$  e a impedância Warburg  $Z_w$  (domínio do controle de transportes de massa, resultante da difusão de carbaril para a superfície do eletrodo)

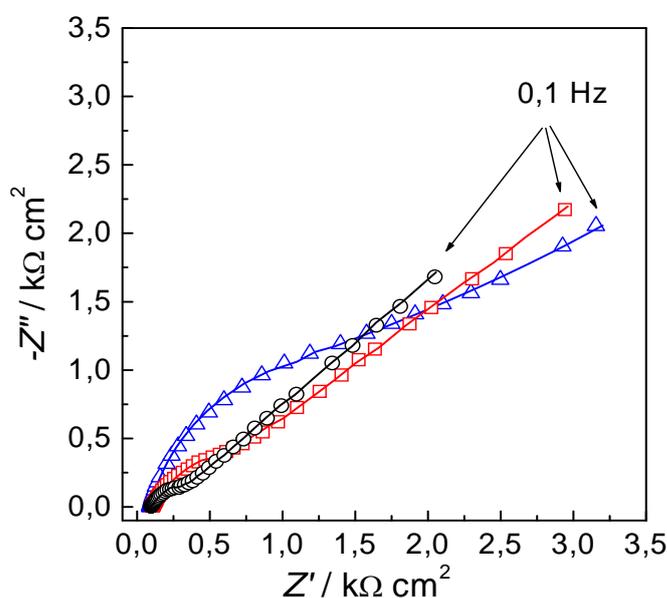


Figura 27. Espectros no plano complexo para os eletrodos de GC ( $\Delta$ ), GC/MWCNT ( $\square$ ) e GC/MWCNT/CoPc ( $\circ$ ), em solução de tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4.0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril.

Os valores dos parâmetros obtidos a partir da técnica de EIS foram calculados por meio do ajuste feito pelo circuito de Randles e estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Sumário dos parâmetros de EIS estimados para os eletrodos, para a oxidação do carbaril.

Eletrodos	$R_s/\Omega \text{ cm}^2$	$C/\mu\text{F cm}^{-2} \text{ s}^{\alpha-1}$	$R_{ct}/\Omega \text{ cm}^2$	$k_{app}/\text{cm s}^{-1}$
GC	97	7,80	2720	$1,95 \times 10^{-5}$
GC/MWCNT	103	35,4	1050	$5,04 \times 10^{-5}$
GC/MWCNT/CoPc	94	65,2	420	$1,26 \times 10^{-4}$

Não foram observadas variações nos valores de  $R_s$  para os diferentes eletrodos<sup>132</sup>. Os valores de capacitância aumentaram para os eletrodos de GC/MWCNT/CoPc e GC/MWCNT, quando comparados com eletrodos de GC, provavelmente, esse aumento está relacionado com o aumento da área superficial do eletrodo. As constantes aparentes de velocidade ( $k_{app}$ ) foram calculadas, como descrito na seção 4.1.2 (pagina49).

Tal como indicado pela grande diminuição dos valores  $R_{ct}$  (Tabela 4), o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc exibiu um rápido processo de transferência eletrônica para a oxidação carbaril, em comparação aos outros eletrodos investigados. A constante aparente de velocidade ( $k_{app}$ ), determinada a partir dos espectros de impedância, apresentou uma ordem crescente à medida que a superfície do GC foi modificada, por CNTs e CNTs/CoPc. Isso mostra novamente o sinergismo entre os CNTs e a CoPc para a oxidação do carbaril.

#### 4.3.4 Estudos da otimização dos parâmetros eletroanalíticos

Com a finalidade de maximizar o sinal analítico, foram otimizados os efeitos dos parâmetros experimentais tais como: potencial e tempo de pré-tratamento, pH, amplitude de pulso, frequência e salto de potencial para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, utilizando solução tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril.

Em geral, a detecção eletroquímica de pesticidas é acompanhada por forte adsorção do pesticida ou seus produtos de oxidação sobre a superfície do

eletrodo e conseqüentemente a diminuição do sinal analítico<sup>133</sup>. Um pré-tratamento foi imposto ao eletrodo para limpar sua superfície e a influência do potencial de condicionamento aplicado, após cada varredura, foi investigado. Os seguintes valores de potenciais de pré-tratamento aplicados foram: -1,0; -0,75; -0,50; -0,25; 0,0; e +0,25 V e os resultados são mostrados na Figura 28.

Houve completa recuperação da resposta inicial obtida entre -1,0 V e -0,5 V. Em valores de potencial de condicionamento mais positivos, como +0,25 V, a corrente de pico ( $I_{pa}$ ) obtida durante o experimento diminuiu por volta de 30%. Deste modo, -0,50 V foi escolhido como o potencial de pré-tratamento em estudos posteriores.

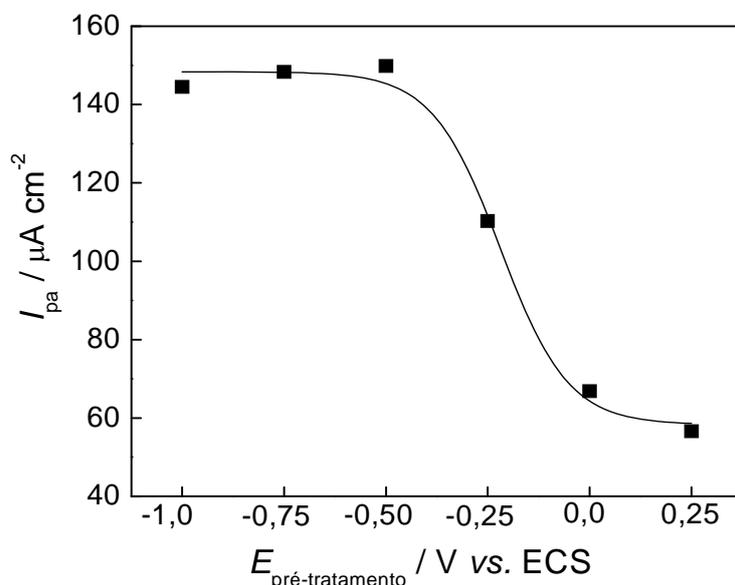


Figura 28. Efeito do potencial de pré-tratamento no pico de oxidação do carbaril em solução tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de carbaril.

A influência do tempo no pré-tratamento também foi avaliada, onde variou-se o tempo de 10 a 60 s e neste intervalo não foi observada diferença significativa na  $I_{pa}$ . Assim, o tempo de 10 s foi escolhido como o tempo de pré-tratamento.

A dependência da oxidação eletroquímica de carbaril sobre o pH foi estudada por SWV, na faixa de pH variando de 3,0 até 9,0, com  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de carbaril. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 29.

Na Figura 29A são mostrados os voltamogramas SWV, para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em diferentes valores de pH e a Figura 29B mostra a dependência da corrente de pico anódica ( $I_{pa}$ ) e potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) como função do pH.

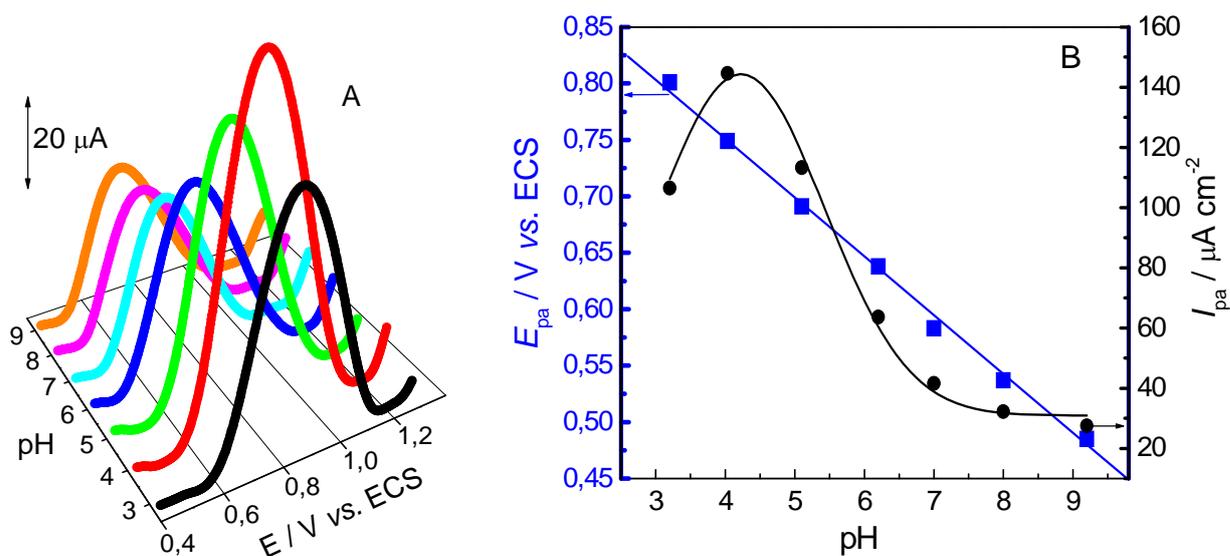


Figura 29. (A) Voltamogramas de SWV para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc em em solução eletrolítica tampão com força iônica de 0.1 mol L<sup>-1</sup> em diferentes valores de pH, contendo  $1.0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de carbaril. (B) Gráfico de  $E_{pa}$  em função do pH (■) e  $I_{pa}$  em função do pH (●).

A variação de  $E_{pa}$  com pH fornece informações sobre o processo de oxidação do carbaril, como ilustrado no esquema da Figura 30.

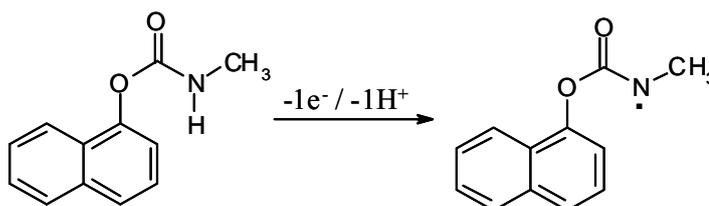


Figura 30. Mecanismo eletroquímico para a reação de oxidação de carbaril.

O aumento do pH provocou um deslocamento no pico de potencial para valores menos positivos, no qual o coeficiente angular da curva  $E_{pa}$  vs. pH foi de 53 mV por unidades de pH. A largura do pico de meia onda para a oxidação de carbaril é cerca de 90 mV, sugerindo o envolvimento de um elétron na reação de transferência eletrônica. Assim, foi evidenciado que o mesmo número de prótons e elétrons estão envolvidos no processo de oxidação carbaril.

A curva de  $I_{pa}$  vs. pH mostrou que o pico de corrente tem um valor máximo em pH 4,0 diminuindo, acentuadamente, tanto para valores mais elevados de pH, quanto para os mais baixos. Por esta razão, todas os seguintes experimentos usando o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc foram realizados em pH 4,0.

A influência dos parâmetros da técnica de SWV foi investigada. Primeiro, a amplitude de pulso foi variada num intervalo de 10 a 100 mV. A frequência foi fixada em 50 Hz e o salto de potencial em 2mV. Foi observado que a  $I_{pa}$  aumentou com o aumento da amplitude e nenhuma deformação significativa foi observada, mesmo para amplitudes acima de 50 mV. Desta forma, a amplitude de 100 mV foi escolhida como valor ótimo.

Na voltametria de onda quadrada, a relação do salto de potencial junto com a frequência determina a velocidade de varredura efetiva. A frequência foi variada em um intervalo de 10 - 100 Hz. O aumento na resposta eletroquímica do carbaril aumentou com a frequência até um valor de 20 Hz. Para valores acima de 20 Hz foi observada uma grande deformação no perfil voltamétrico em conjunto com a diminuição do pico de corrente.

Fixando a amplitude em 100 mV e a frequência em 20 Hz, o efeito do incremento do salto de potencial foi estudado em um intervalo de 1 a 10 mV. Para valores maiores que 2 mV foi verificado deformação no perfil voltamétrico e diminuição na altura do pico de oxidação do carbaril. Desta forma, uma frequência de 20 Hz e um salto de potencial de 2 mV foram escolhidos o que corresponde a uma velocidade efetiva de varredura de 40 mV s<sup>-1</sup>.

#### 4.3.5 Curva analítica e análise de carbaril em amostra de águas naturais

Com a finalidade de se obter uma curva analítica para o carbaril, experimentos de SWV foram realizados em triplicata, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, com os parâmetros experimentais otimizados. A curva analítica mostrada na Figura 31 apresentou uma resposta linear no intervalo 0,33 - 6,61  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e pode ser representada pela seguinte equação:

$$I_{pa} (\mu\text{A cm}^{-2}) = 0,68 \pm 0,22 (\mu\text{A cm}^{-2}/\mu\text{mol L}^{-1}) + 6,71 \pm 0,09 [\text{Carbaril}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

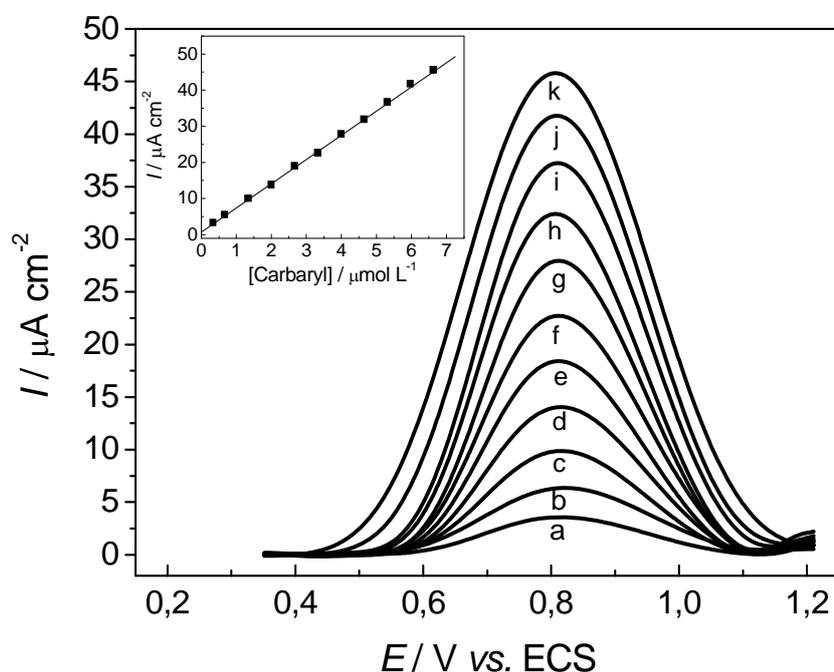


Figura 31. Curva analítica utilizando SWV com o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc com os parâmetros otimizados para as seguintes concentrações de carbaril em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ : (a) 0,33; (b) 0,66; (c) 1,33, (d) 1,99; (e) 2,66, (f) 3,33; (g) 3,99; (h) 4,66; (i) 5,33; (j) 5,99 e (k) 6,62. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a concentração de carbaril.

A curva apresentou um coeficiente de correlação de 0,9991, para  $n = 11$ . O limite de detecção  $LD$  calculado de  $5,46 \pm 0,02 \text{ nmol L}^{-1}$  ( $1,09 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ ), foi determinado por meio da razão  $3\sigma/\text{slope}$ , onde  $\sigma$  é o desvio padrão do valor

médio de 10 voltamogramas do branco e slope é o coeficiente angular da reta. Esta relação foi determinada de acordo com as recomendações da IUPAC<sup>134</sup>.

O método proposto foi aplicado para a análise do pesticida em águas fluviais, fortificadas com carbaril, no qual, foi utilizado o método de adição padrão, a fim de eliminar quaisquer efeitos matriz. A precisão e exatidão foram determinadas após a adição de  $1,66 \mu\text{mol L}^{-1}$  de carbaril nas amostras. Para esse efeito, amostras de água poluída com um elevado teor de componentes orgânicos foram recolhidas em um rio nas proximidades de Coimbra, Portugal. Os percentuais de recuperações com os desvios padrões são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Determinação de carbaril em amostra de água de rio (cada valor é a média de três determinações).

	Adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Encontrado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Recuperado (%)	Erro (%)
Amostra 1	1,66	1,53	91,9	-3,18
Amostra 2	1,66	1,55	93,4	+3,27
Amostra 3	1,66	1,62	97,6	+1,20

Os valores observados mostraram que o processo de adição e recuperação, utilizando o método proposto, foi adequado para a determinação quantitativa de carbaril e que o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc mostrou-se eficiente para essa determinação. O procedimento é simples, rápido e apresentou limites de detecção em torno de  $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Uma comparação dos resultados obtidos para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, com outros métodos eletroanalíticos, foi realizada. Na determinação direta de carbaril, descrita por Codognoto *et al.*<sup>101</sup>, foi encontrado um limite de detecção,  $40,7 \text{ nmol L}^{-1}$  ( $8,2 \mu\text{g L}^{-1}$ ), com sensibilidade de  $3,07 \mu\text{A} \mu\text{mol L}^{-1}$ . Para o método que usa a análise indireta de carbaril, via hidrólise em meio básico<sup>135</sup>, o limite de detecção encontrado foi de  $3,7 \mu\text{mol L}^{-1}$

(74,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Assim, um menor limite de detecção utilizando os experimentos de SWV e uma maior sensibilidade foram observados para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc. Essas características podem ser atribuídas à baixa resistência do filme de MWCNT/CoPc na transferência eletrônica.

Métodos amperométricos que utilizam biosensores enzimáticos para detectar carbaril também apresentaram altos limites de detecção, 20  $\text{nmol L}^{-1}$  (4,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e 50  $\text{nmol L}^{-1}$  (10  $\mu\text{g L}^{-1}$ )<sup>94,96</sup>, quando comparados com o método proposto. No entanto, para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc foi observado uma alta sensibilidade, boa reprodutibilidade e simples instrumentação. Esse método pode ser facilmente aplicado para a determinação de outros pesticidas eletroativos em amostras de água.

#### 4.3.6 Considerações gerais

O procedimento proposto para a detecção de carbaril em águas naturais, não precisou de etapas de preparo de amostra como separações, limpeza, derivatizações, que são indispensáveis para um grande número de metodologias analíticas. O efeito do envenenamento da superfície eletródica, que ocorre por meio da adsorção do pesticida ou dos seus produtos de oxidação foi facilmente solucionado, aplicando um potencial de condicionamento em -0,5 V durante 10 s. As propriedades eletrocatalíticas dos CNTs, adicionadas ao excelente poder mediador redox da CoPc, diminuíram o potencial de oxidação do carbaril, quando comparado ao eletrodo de GC.

O método atingiu valores de *LD* abaixo dos requeridos pelas agências governamentais europeias, no caso de água rio. A aplicação da metodologia analítica em amostras de águas contaminadas, contendo matéria orgânica foi satisfatória e demonstrou que o sensor eletroquímico desenvolvido pode ser usado para analisar e monitorar carbaril diretamente em amostras de água.

#### 4.4 Determinação eletroquímica do herbicida glifosato utilizando um sensor a base de nanotubos de carbono modificados com ftalocianina de cobre<sup>136</sup>

A determinação eletroquímica do herbicida glifosato é baseada em uma reação do herbicida com íons cobre formando um complexo solúvel e eletroativo. Este estudo descreve o desenvolvimento, a caracterização eletroquímica e a utilização de um eletrodo de carbono vítreo (GC) modificado com filme de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT). Os CNTs serviram como suporte para a imobilização de ftalocianina de cobre (CuPc), para a detecção do herbicida glifosato.

##### 4.4.1 Estudo da resposta e do comportamento eletroquímico do glifosato

O estudo da resposta eletroquímica do herbicida glifosato (Gli) foi realizado utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV), com intervalo de potencial de -0,5 a +0,5 V, com amplitude de potencial de 100 mV, salto de potencial de 2 mV e velocidade de varredura efetiva de 10 mV s<sup>-1</sup>. Os experimentos foram realizados em solução tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,5) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli. A Figura 32 mostra os voltamogramas de DPV para os eletrodos de GC/MWCNT e GC/MWCNT/CuPc. Foi observado que no intervalo de potencial estudado existe apenas um processo de oxidação.

Para o eletrodo de GC/MWCNT foi observado um processo de oxidação em -70 mV, tanto na presença, quanto na ausência de Gli. Esse processo pode ser atribuído à oxidação de grupos funcionais, do tipo carbonila ou carboxila, presente nos CNTs<sup>137</sup>, sendo esta uma característica dos perfis voltamétricos dos CNTs funcionalizados. A resposta de DPV para o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc na ausência de Gli revelou um processo de oxidação em -50 mV.

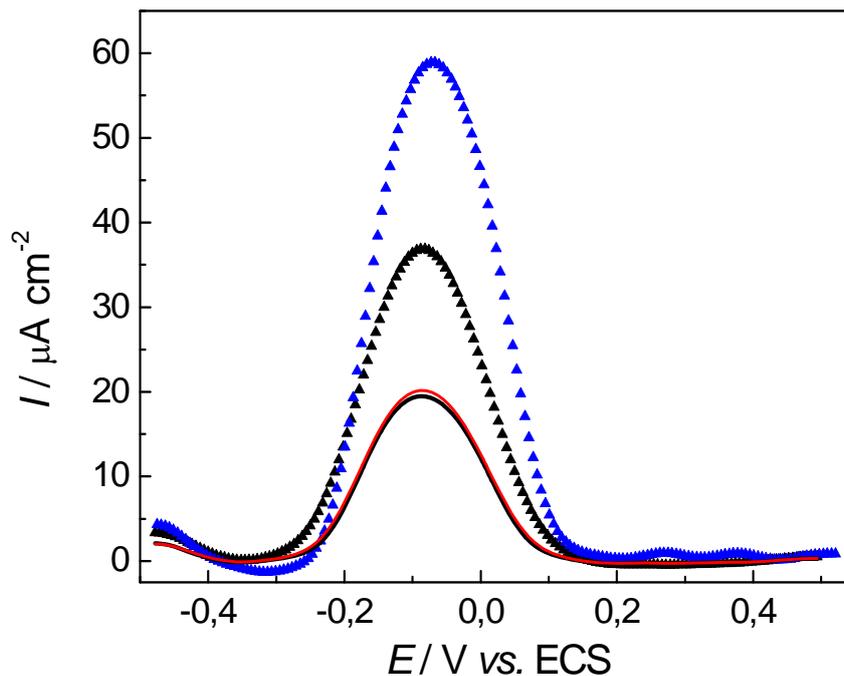


Figura 32. Voltamogramas de DPV, em PBS (pH 7,5) para os eletrodos: GC/MWCNT na ausência (■) e na presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de Gli (■) e GC/MWCNT/CuPc na ausência (▲) e presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de Gli (▲). Os parâmetros de DPV foram amplitude de 100 mV e step de potencial de 2mV.

Entretanto, além da oxidação da superfície dos CNTs funcionalizados, De Wael *et al.*<sup>138</sup> reportaram que a ocorrência do processo anódico em -50 mV pode ser atribuído a oxidação dos íons Cu(I) para Cu(II) presentes no anel da ftalocianina. Estes autores mostraram que a corrente de pico aumentou com o aumento do número de ciclos e este aumento refere-se à oxidação dos íons Cu(I), a partir da varredura de potenciais.

Com a adição de Gli ao eletrólito foi observado um significativo aumento na corrente de pico do processo de oxidação em -50 mV. Esse aumento é devido à interação entre a molécula do glifosato e o íon cobre presente no centro metálico na molécula de ftalocianina. Este comportamento está de acordo com a discussão feita por Coutinho & Mazo<sup>139</sup> que demonstraram a forte interação entre a molécula de Gli e íons Cu(II), formando um complexo estável e eletroativo (Gli-Cu<sup>2+</sup>). Assim, o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc conseguiu de

forma indireta responder à adições de Gli e mostrou-se um promissor sistema para a detecção eletroquímica do herbicida glifosato.

A avaliação da dependência do pH com o pico de corrente ( $I_{pa}$ ) e o pico de potencial de oxidação ( $E_{pa}$ ) do complexo Gli-Cu<sup>2+</sup>, foi realizada por DPV. Utilizou-se o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc, em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de PBS (com valores de pH variando de 6,0 a 9,0) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 33.

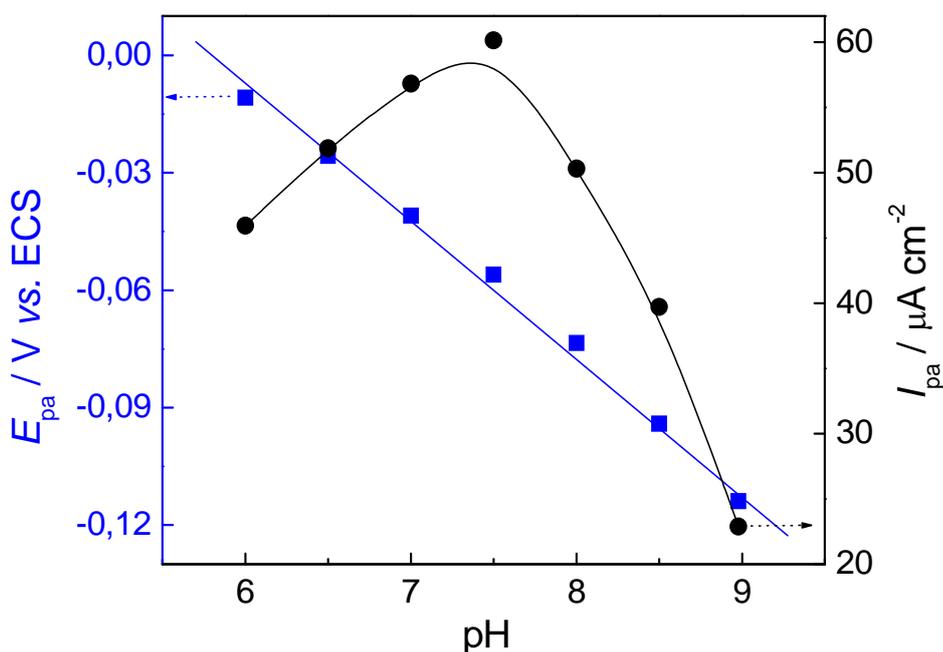


Figura 33. Gráfico da relação linear entre a variação de pH vs.  $E_{pa}$  (■) e pH vs.  $I_{pa}$  (●), em meio 0,1 mol L<sup>-1</sup> PBS contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli.

A variação de  $E_{pa}$  com pH demonstrou que o aumento no pH causa um deslocamento para valores mais negativos no potencial de pico. Esta relação linear apresentou uma inclinação de 32 mV por unidade de pH. Esse valor sugere o envolvimento de dois elétrons para cada próton na reação de transferência eletrônica, entre os íons cobre presentes no eletrodo de GC/MWCNT/CuPc e a molécula de glifosato.

O gráfico de pH vs  $I_{pa}$  apresentou um valor máximo em pH 7,5, o qual diminui, acentuadamente, tanto para maiores, quanto para menores valores de

pH. Sprankle *et al.*<sup>109</sup> relata que o Gli apresenta a sequência de constantes de dissociação ácida (pKa): 2,0; 2,6; 5,6 e 10,6. Em pH 7,5 os grupos funcionais, presentes na molécula de Gli, carboxilato e fosfonato encontram-se desprotonados, como mostrado na Figura 34.

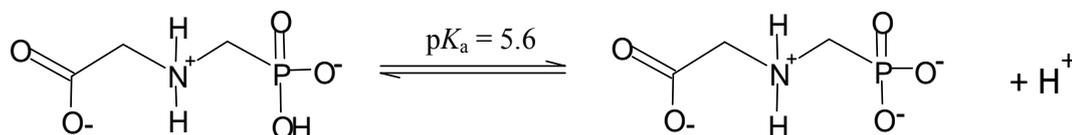


Figura 34. Esquema do equilíbrio e constante de dissociação ácida do glifosato.

Estes grupos funcionais desprotonados coordenam-se fortemente com metais de transição<sup>108</sup>, estabilizando a espécie Cu(I). Em pH 7,5 o pico de corrente de oxidação apresenta a maior resposta. Por esta razão, todos os seguintes experimentos, usando o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc, foram realizados em pH 7,5.

#### 4.4.2 Estudo de adsorção de glifosato na superfície do eletrodo de GC/MWCNT/CuPc

Com a finalidade de se evidenciar o tipo de transporte de massa envolvido no processo de oxidação do glifosato, foi realizado um estudo de variação da velocidade de varredura, utilizando a técnica de LSV. As velocidades de varredura foram variadas em um intervalo de 10 - 100 mV s<sup>-1</sup>, em 0,1 mol L<sup>-1</sup> PBS (pH = 7,5) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli. A Figura 35 mostra a variação da corrente de pico anódica  $I_{pa}$  como função da velocidade de varredura.

A corrente do pico de oxidação do complexo Gli-Cu<sup>2+</sup> aumentou linearmente com o aumento da velocidade de varredura. A relação linear, entre a  $I_{pa}$  e a velocidade de varredura, é descrita pela equação:  $I_{pa}$  (μ A) = 0,121 + 0,125v (mV s<sup>-1</sup>), com  $r = 0,9992$ . Este sistema permite intuir que o processo eletroquímico é controlado pela adsorção de espécies.

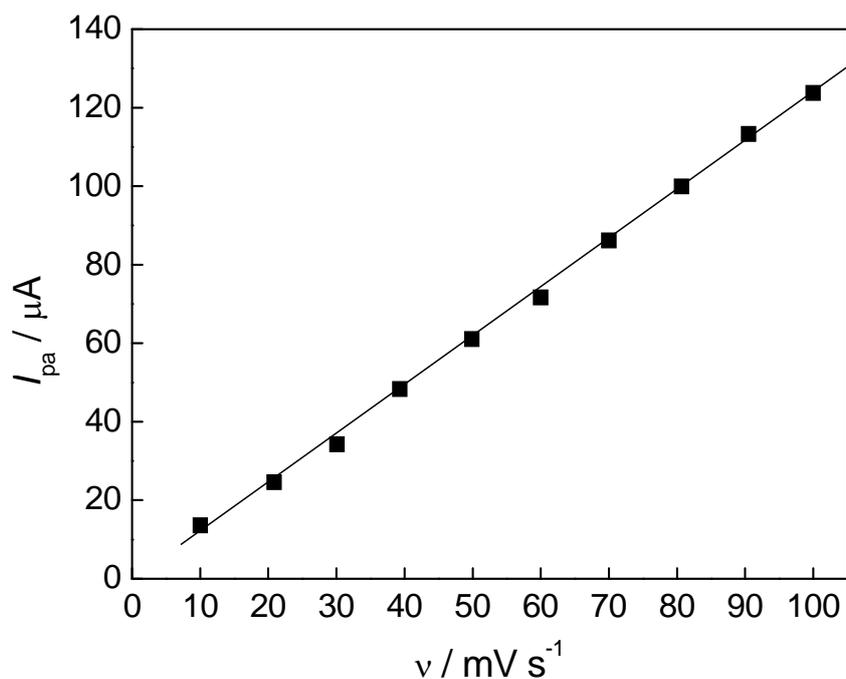


Figura 35. Dependência linear da velocidade de varredura com a  $I_{pa}$ .

Experimentos de EIS foram realizados com a finalidade de confirmar a possibilidade de adsorção de Gli na superfície do eletrodo. Espectros de EIS foram coletados em três situações: (a)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7,5), (b)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7,5) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de Gli e (c)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 7,5) depois que o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc foi submetido a dez voltamogramas cíclicos sucessivos, em um intervalo de  $-0,5$  a  $+0,5 \text{ V}$ , em solução contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de Gli. Os espectros de EIS foram realizados em condição de potencial fixo ( $-50 \text{ mV}$ ), que é o pico de oxidação do complexo Gli-Cu<sup>2+</sup>.

Na Figura 36 são apresentados os espectros, no plano complexo, para o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc, nas três situações. Um circuito equivalente composto por uma resistência da solução ( $R_s$ ) ligado em série, com uma combinação de um elemento constante fase (CPE) e uma resistência de transferência de carga ( $R_{ct}$ ), foi usado para ajustar os espectros.

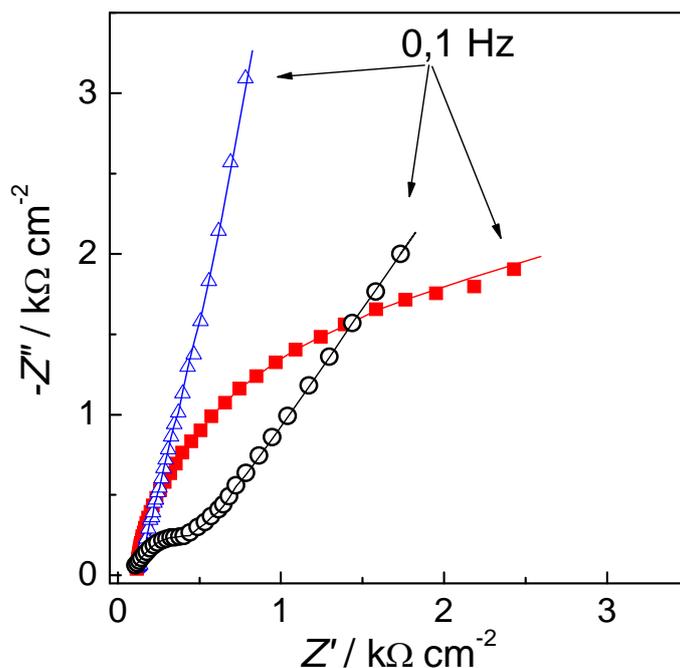


Figura 36. Espectros no plano complexo para os eletrodos de GC/MWCNT/CuPc, nas seguintes situações: a) 0,1 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 7,5) ( $\Delta$ ); b) 0,1 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 7,5) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli ( $\blacksquare$ ) e c) 0,1 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 7,5) após dez sucessivos voltamogramas cíclicos em solução contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli ( $\circ$ ).

O espectro para 0,1 mol L<sup>-1</sup> de PBS (*situação a*), apresentou-se no formato de uma linha reta ascendente. Este tipo de formato é característico de um capacitor não ideal. Esta situação é atribuída ao carregamento da dupla camada elétrica em superfícies não homogêneas<sup>140</sup>. Neste caso, a componente  $R_{ct}$  foi retirada do circuito equivalente de ajuste. Assim, os valores obtidos para  $CPE$  e  $\alpha$ , a partir dos ajustes foram:  $CPE = 1,55 \mu F cm^{-2} s^{\alpha-1}$  e  $\alpha = 0,85$ .

Com a adição de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli ao eletrólito, o espectro de EIS (*situação b*) apresentou um semicírculo em região de alta para médias frequências, sendo esta região característica de reações de transferência de carga. Foi observada também, em região de baixas frequências, uma linha reta ascendente com inclinação de 45°, que corresponde ao controle difusional da reação. Os valores calculados para a  $R_{ct}$  foi de 0,68 kΩ cm<sup>-2</sup>, para o  $CPE$  2,72 1,55  $\mu F cm^{-2} s^{\alpha-1}$  e para o parâmetro  $\alpha$  o valor calculado foi de 0,82.

Após dez voltamogramas cíclicos na presença de Gli, o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc foi imerso em uma solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS e um espectro de EIS foi realizado (*situação c*). Os valores obtidos para este espectro foram:  $10 \text{ } \mu\text{F cm}^{-2} \text{ s}^{\alpha-1}$  para o *CPE*, 0,85 para o parâmetro  $\alpha$  e  $4,75 \text{ k}\Omega \text{ cm}^{-2}$  para  $R_{ct}$ . O aumento nos valores de *CPE* e  $R_{ct}$  pode ser atribuído a saturação dos sítios ativos das ftalocianinas, causado pela reação de complexação com moléculas de Gli. Outro ponto a salientar é o formato do espectro coletado na *situação a* apresentar significativas diferenças em relação ao espectro da *situação c*. Isto evidencia que a superfície do eletrodo se modificou, por causa da adsorção do Gli na superfície do eletrodo de GC/MWCNT/CuPc. Desta forma, os experimentos de EIS estão em concordância com o estudo de variação da velocidade de varredura, confirmando um processo adsortivo na superfície do eletrodo.

#### 4.4.3 Otimização dos parâmetros experimentais

Com a finalidade de maximizar o sinal analítico, efeitos dos parâmetros experimentais como a composição do filme, a amplitude pulso e salto de potenciais foram estudados, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc.

A influência da quantidade de CuPc na composição do eletrodo foi avaliada utilizando a técnica de DPV, com amplitude de pulso de 100 mV e salto de potencial de 2 mV, em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH = 7,5) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de glifosato. Para isso, os eletrodos de GC foram recobertos com filmes de diferentes proporções de MWCNT e CuPc. Os filmes foram preparados conforme descrito na seção 3.3.1. Para este estudo, a quantidade em massa de MWCNT foi mantida constante em 1,0 mg e o volume de DMF também foi mantido constante em 1,0 mL. Entretanto, as quantidades em massa de CuPc foram variadas nos seguintes valores: 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 1,25; 1,50; 1,75 e 2,0 mg de CuPc, por mL de suspensão. Os resultados são mostrados na Figura 37.

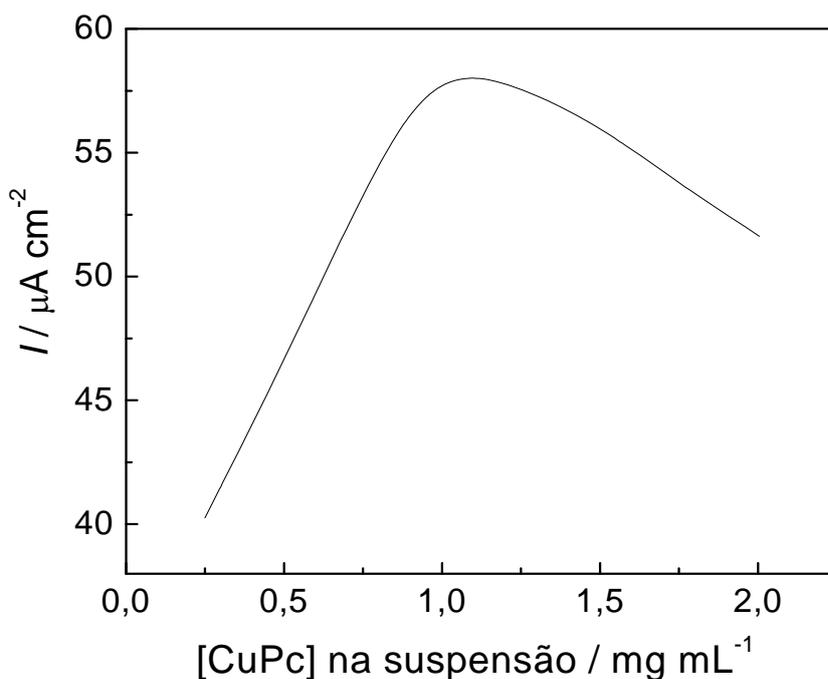


Figura 37. Relação entre a concentração de CuPc na suspensão de MWCNT e o pico de corrente de oxidação de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de Gli, em meio PBS pH 7,5.

Foi observado que a corrente aumentou à medida que o teor de CuPc aumentou, até o valor de 1,0 mg. Isso se deve à maior concentração de íons cobre disponíveis para se complexar com a molécula de Gli. Contudo, para valores acima de 1,0 mg observou-se uma diminuição na corrente de pico, isto é possível pelo fato do filme tornar-se menos estável, ou seja, desgrudam com maior facilidade da superfície do eletrodo de GC, pois os complexos de ftalocianina não conseguem se adsorver bem sobre esta superfície. Desta forma, é necessária a presença de agentes ancorantes, neste caso os nanotubos de carbono, que possuem boa adsorção sobre o carbono vítreo<sup>126,131</sup>. Assim, com a diminuição da concentração de MWCNT no filme observou-se uma perda de estabilidade e, conseqüentemente, diminuição na resposta analítica. Desta forma, a melhor proporção da suspensão foi 1,0 mg de MWCNT, 1,0 mg de CuPc e 1,0 mL de DMF, como solvente.

Os parâmetros da técnica de DPV, como a influência da amplitude de pulso de potencial e o incremento do salto de potencial foi avaliada para o eletrodo de

GC/MWCNT/CuPc, em uma solução de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH = 7,5) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de glifosato. A Figura 38 mostra os voltamogramas de pulso diferencial com a amplitude de pulso variando de 10 à 100 mV.

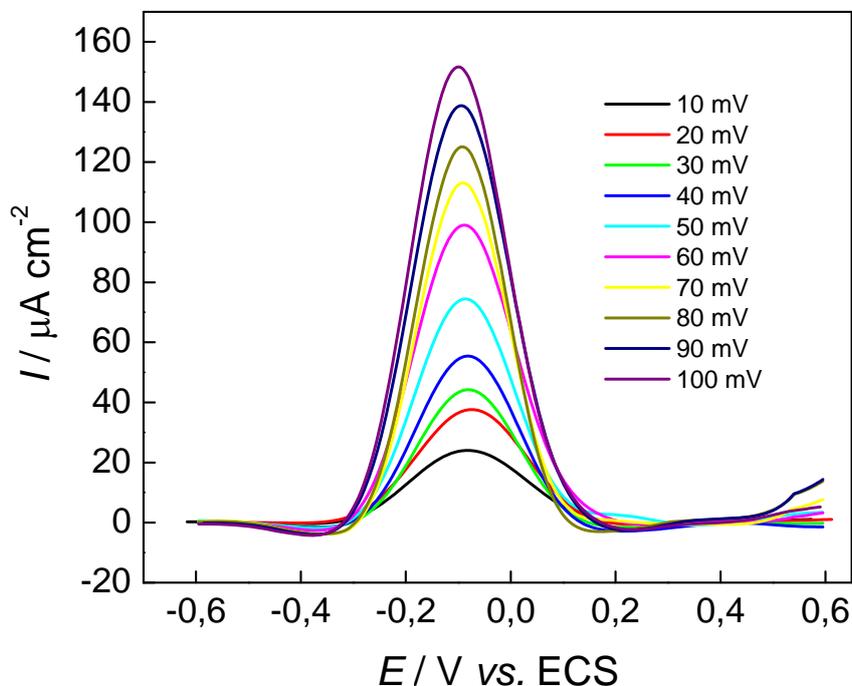


Figura 38. Estudo da amplitude de pulso na técnica de DPV para o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc, em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,5) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de glifosato, com amplitude de pulso variando no intervalo de 10 a 100 mV.

Foi observado que a  $I_{\text{pa}}$  aumentou com o aumento da amplitude, sem ocorrer uma significativa deformação no perfil voltamétrico, mesmo para amplitudes acima de 50 mV. Desta forma, a amplitude de 100 mV foi escolhida com valor ótimo. Fixando a amplitude em 100 mV, o efeito do incremento do salto de potencial foi estudado em um intervalo de 1 - 10 mV. Para valores maiores que 2 mV foi verificado deformação no perfil voltamétrico e diminuição na altura do pico de oxidação do Gli. Desta forma, o salto de potencial de 2 mV foi escolhido.

#### 4.4.4 Curva analítica para glifosato

Os experimentos de DPV foram realizados em triplicata, utilizando os parâmetros experimentais otimizados, com a finalidade de se obter uma curva analítica para o Gli, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc. A curva analítica mostrada na Figura 39 apresentou uma resposta linear no intervalo 0,83 – 9,90  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , de acordo com a seguinte equação:

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,54 \pm 0,05 (\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}) + 6,14 \pm 0,09 [\text{Glifosato}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

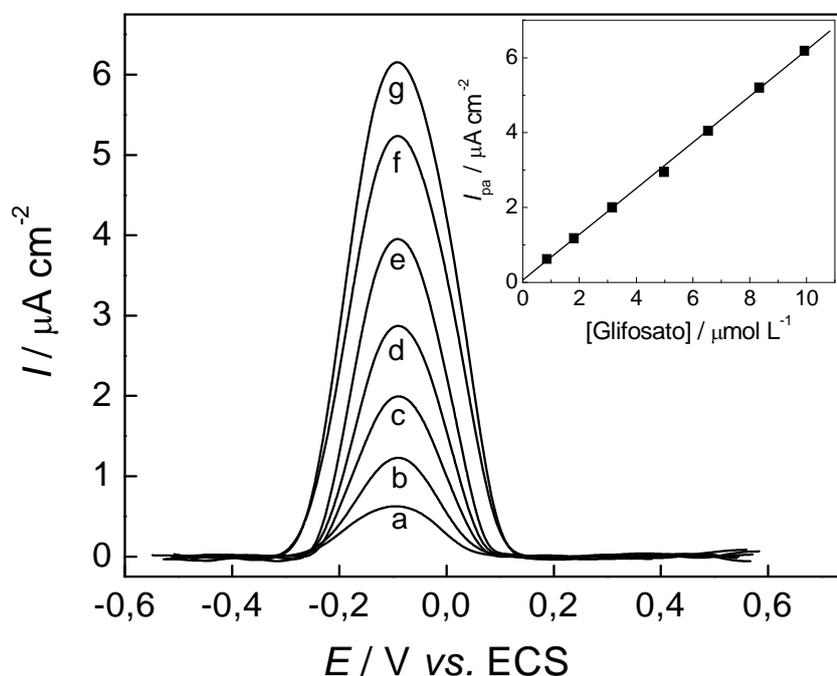


Figura 39. Curva analítica utilizando DPV com eletrodo de GC/MWCNT/CuPc com os parâmetros otimizados para as seguintes concentrações de glifosato em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ : (a) 0,83; (b) 1,66; (c) 3,32, (d) 4,97; (e) 6,62, (f) 8,26 e (g) 9,90. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a concentração de glifosato.

O coeficiente de correlação foi de 0,9994 para  $n = 7$ . O limite de detecção  $LD$  calculado foi de  $12,2 \text{ nmol L}^{-1}$  ( $2,02 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e foi determinado por meio da razão  $3\sigma/\text{slope}$ , onde  $\sigma$  é o desvio padrão do valor médio de dez voltamogramas

do branco e o *slope* é o coeficiente angular da reta e esta relação foi determinada de acordo com as recomendações da IUPAC<sup>134</sup>.

Comparando os resultados obtidos para o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc com métodos eletroanalíticos, que utilizam eletrodos de cobre metálico para determinar Gli, foi observado que estes métodos possuem limite de detecção mais alto:  $30,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $5,07 \text{ mg L}^{-1}$ )<sup>141</sup> e  $0,35 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $59 \mu\text{g L}^{-1}$ )<sup>118</sup>. Assim, a fácil preparação, boa sensibilidade e reprodutibilidade do eletrodo de GC/MWCNT/CuPc torna este sistema um promissor dispositivo para a detecção de herbicidas e pesticidas em amostras ambientais.

#### 4.4.5 Considerações gerais

A utilização do eletrodo de CuPc mostrou-se interessante na determinação do herbicida glifosato. Esta metodologia proposta, em que visa à formação de um complexo solúvel e eletroativo, entre os íons cobre presentes na superfície do eletrodo e a molécula de glifosato, mostrou-se mais sensível e mais rápida quando comparada aos métodos eletroquímicos relatados. O eletrodo de GC/MWCNT/CuPc não necessitou de etapas de pré-tratamento de sua superfície, como no caso dos métodos que utilizam eletrodos de cobre metálico. Não precisou de etapa de derivatização, para métodos que determinam o herbicida por meio do seu produto de hidrólise em meio ácido.

Os limites de detecção foram bem abaixo dos métodos relatados e o eletrodo de GC/MWCNT/CuPc apresentou boa reprodutibilidade, sensibilidade, fácil preparação e pode ser uma boa alternativa para análise de herbicidas e pesticidas em amostras ambientais.

#### **4.5 Detecção seletiva de dopamina na presença de excesso de ácido ascórbico utilizando sensor de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianina de cobalto<sup>142</sup>**

O grande problema na detecção eletroquímica de dopamina (DA) é a interferência do ácido ascórbico (AA). Dependendo da natureza do sensor e do meio eletrolítico, o AA pode se oxidar no mesmo potencial de oxidação da DA causando uma sobreposição de sinais e inviabilizando a detecção. Assim, neste trabalho é proposto o desenvolvimento, a caracterização eletroquímica e a aplicação de um sensor à base de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e ftalocianina de cobalto (CoPc), cuja principal finalidade é a de individualizar os processos de oxidação da DA e do AA.

##### *4.5.1 Comportamento eletrocatalítico do eletrodo de GC/MWCNT/CoPc na eletro-oxidação de dopamina*

O estudo do comportamento eletroquímico da dopamina (DA) foi realizado utilizando a voltametria cíclica, em um intervalo de potencial de -0,3 a +0,8 V, com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>, em solução de tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 4,0) contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de DA. A Figura 40 mostra os voltamogramas cíclicos para os eletrodos de carbono vítreo (GC), carbono vítreo modificado com filme de MWCNT (GC/MWCNT) e carbono vítreo modificado com MWCNT e CoPc (GC/MWCNT/CoPc).

Sobre a superfície do eletrodo de GC/MWCNT a dopamina apresentou um potencial de oxidação de +390 mV, ou seja, um deslocamento de 170 mV para valores mais negativos de potencial, quando comparado ao eletrodo de GC. Outro ponto é que o filme de MWCNT melhorou a reversibilidade do sistema ( $\Delta E_p = 100$  mV) e aumentou a corrente de pico de oxidação ( $I_{pa}$ ) em 26 % em relação ao eletrodo de GC.

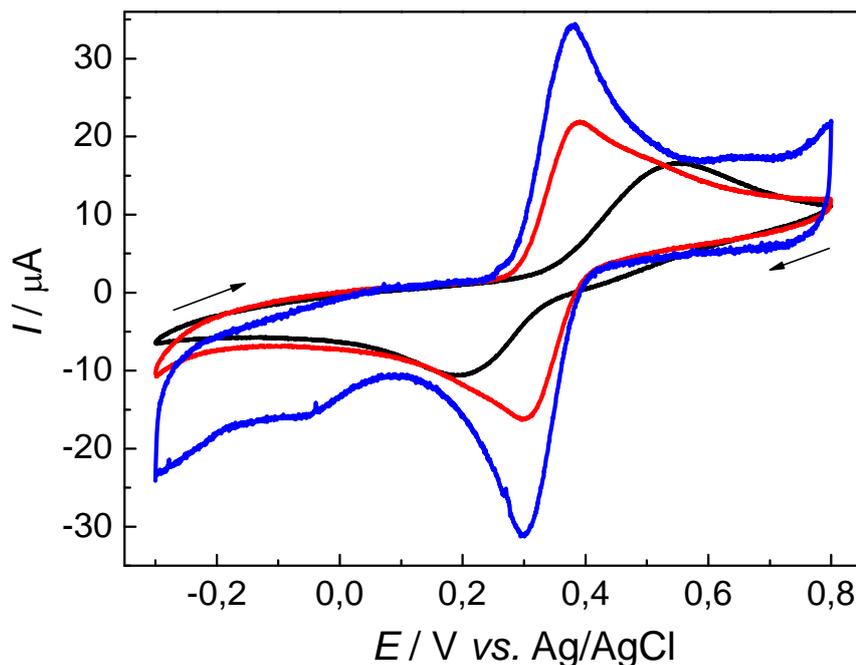


Figura 40. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos de GC (—), GC/MWCNT (—) e GC/MWCNT/CoPc (—), em PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4.0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de dopamina, com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Sobre a superfície do eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, a oxidação da DA ocorreu no mesmo valor de potencial observado para o eletrodo de GC/MWCNT. Contudo, foi observado um aumento de 65 % no valor de  $I_{pa}$  em relação ao eletrodo de GC/MWCNT. Este aumento é devido ao efeito sinérgico causado pela presença da ftalocianina de cobalto no eletrodo, que conseguiu acelerar a reação de oxidação da DA, na superfície do eletrodo, além do aumento da área eletroativa do eletrodo.

O efeito eletrocatalítico apresentado no eletrodo de GC/MWCNT/CoPc foi avaliado pela espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Os espectros de EIS foram realizados no potencial de pico anódico, para a oxidação da DA, para os eletrodos: GC  $+0,55 \text{ V}$ , GC/MWCNT  $+0,39 \text{ V}$  e GC/MWCNT/CoPc  $+0,39 \text{ V}$ . A Figura 41 apresenta os espectros, no plano complexo, para a reação de oxidação da DA, e apresentam semi-círculos em

altas e médias frequências e uma reta com inclinação de aproximadamente  $45^\circ$  em baixas frequências, que corresponde à processos controlados por difusão.

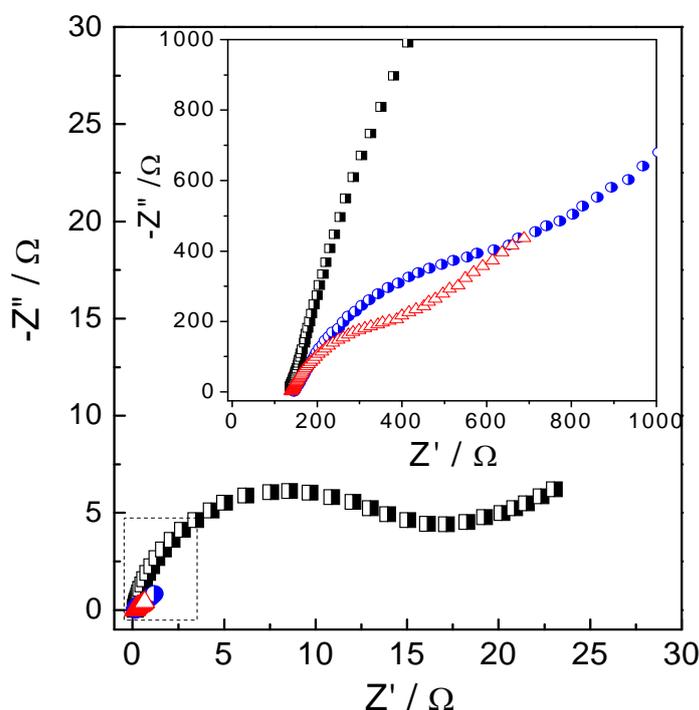


Figura 41. Espectros no plano complexo para os eletrodos de GC (■), GC/MWCNT (●) e GC/MWCNT/CoPc (△), em PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4.0) contendo  $1.0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA. Detalhe mostra a ampliação do espectro.

Os espectros foram modelados utilizando o circuito de Randles modificado, como descrito na página 48. Os valores dos parâmetros da técnica de EIS, obtidos por meio de ajustes, utilizando o circuito de Randles, são listados na Tabela 6.

Tabela 6. Sumário dos parâmetros de EIS estimados para os eletrodos, para a oxidação de DA.

Eletrodos	$R_s/\Omega \text{ cm}^2$	$C/\mu\text{F cm}^{-2} \text{ s}^{\alpha-1}$	$R_{ct}/\Omega \text{ cm}^2$	$k_{app}/\text{cm s}^{-1}$
GC	128	2,10	16461	$1,60 \times 10^{-6}$
GC/MWCNT	150	20,0	550	$4,40 \times 10^{-4}$
GC/MWCNT/CoPc	135	30,0	450	$5,50 \times 10^{-4}$

Os valores de  $R_s$  são muito semelhantes para os diferentes eletrodos. Os valores de capacitância aumentaram para os eletrodos de GC/MWCNT/CoPc e GC/MWCNT, quando comparados com eletrodos de GC, provavelmente, esse aumento está relacionado com o aumento da área superficial do eletrodo.

Tal como indicado pela diminuição dos valores  $R_{ct}$  (Tabela 6), o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc exibiu um rápido processo de transferência eletrônica, para a oxidação da DA, em comparação aos outros eletrodos investigados. A constante aparente de velocidade ( $k_{app}$ ) determinada a partir dos espectros de impedância, para os eletrodos de GC/MWCNT/CoPc, GC/MWCNT e para GC, foram  $5,50 \times 10^{-4}$ ;  $4,40 \times 10^{-4}$  e  $1,60 \times 10^{-6}$   $\text{cm s}^{-1}$ , respectivamente.

Desta forma, a associação das propriedades eletrocatalíticas dos nanotubos de carbono aliadas ao poder mediador redox da CoPc faz com que o sistema MWCNT/CoPc seja um promissor método para a determinação de dopamina.

#### 4.5.2 Mecanismo de oxidação da dopamina na superfície do eletrodo de GC/MWCNT/CoPc

Uma proposta de mecanismo de oxidação eletroquímica da dopamina sobre o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, foi realizada a partir do estudo da dependência do potencial de oxidação ( $E_{pa}$ ) da dopamina, em função da variação do pH. Os experimentos foram realizados utilizando a técnica de DPV, com valores de pH variando de 3,0 até 9,0 contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA. A Figura 42 mostra a dependência da corrente de pico anódica ( $I_{pa}$ ) e potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) como função do pH.

A variação de  $E_{pa}$  com pH demonstrou que, um aumento no pH causa um deslocamento para valores mais negativos no potencial de pico. Esta relação linear apresentou uma inclinação de 60 mV por unidade de pH. A inclinação sugeriu o envolvimento do mesmo número de prótons e de elétrons na reação de eletro-oxidação da DA, como no trabalho relatado por Hawley *et al.*<sup>143</sup>.

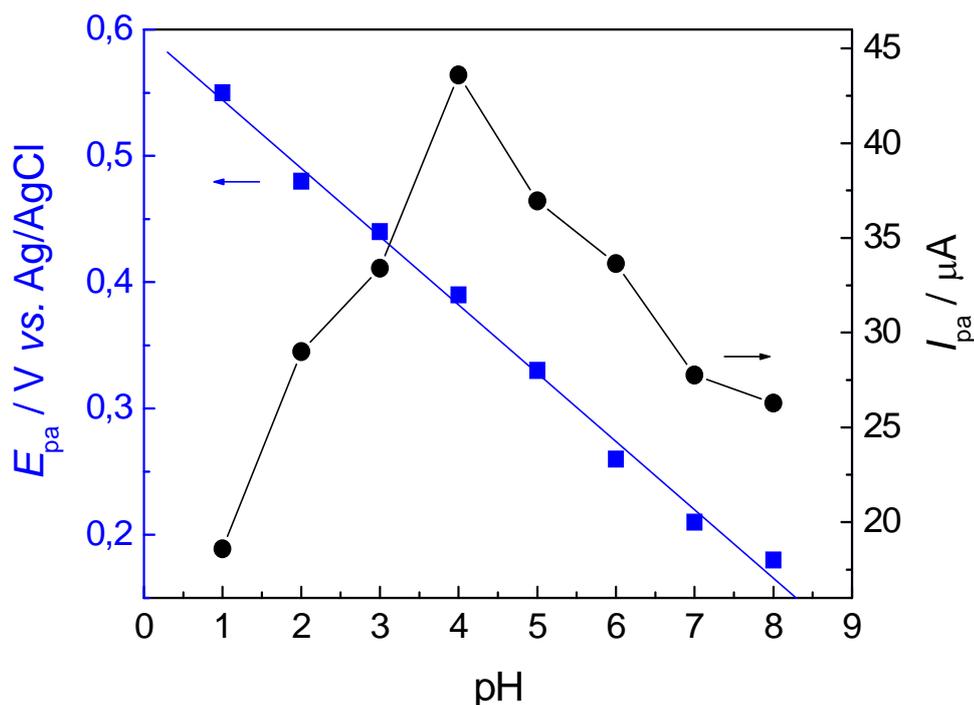


Figura 42. Efeito do pH no  $E_{pa}$  (■) e  $I_{pa}$  (●) para a oxidação de dopamina sobre o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em PBS  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de dopamina.

A curva de  $I_{pa}$  vs. pH mostrou que o pico de corrente tem um valor máximo em pH 4,0, diminuindo, acentuadamente, tanto para valores mais elevados de pH, quanto para os mais baixos. Esse comportamento pode ser atribuído a interação entre o grupo catecol presente na molécula de DA, que interage com o centro metálico presente na ftalocianina, como na proposta descrita por Kienzl *et al.*<sup>144</sup>. Por esta razão, todos os seguintes experimentos, usando o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, foram realizados em pH 4,0.

Com a finalidade de se evidenciar o tipo de transporte de massa envolvido no processo de oxidação da dopamina foi realizado um estudo de variação da velocidade de varredura, utilizando a técnica de VC. As velocidades de varredura foram variadas em um intervalo de  $5 - 100 \text{ mV s}^{-1}$ , em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS (pH = 4,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA. A Figura 43 mostram os voltamogramas, em diferentes velocidades de varredura e a variação da corrente de pico anódica  $I_{pa}$  como função da velocidade de varredura.

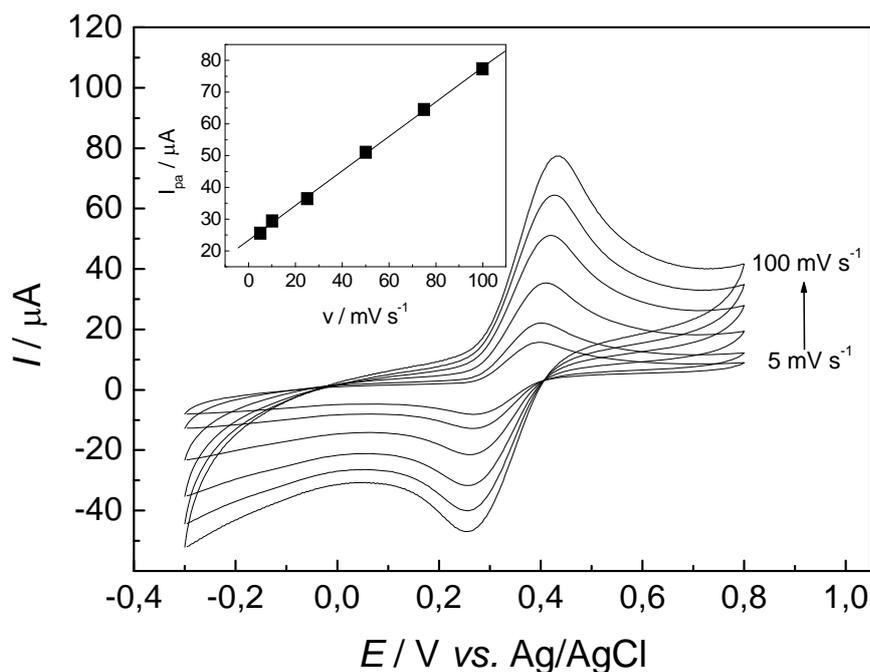


Figura 43. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc em solução  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de dopamina, nas seguintes velocidades de varredura: 5; 10; 25; 50; 75 e  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Detalhe: relação linear entre  $I_{pa}$  e a velocidade de varredura.

A corrente do pico de oxidação da dopamina aumentou linearmente com o aumento da velocidade de varredura. A relação linear entre a  $I_{pa}$  e a velocidade de varredura foi descrita pela equação:  $I_{pa} (\mu\text{A}) = 17,69 + 0,62v (\text{mV s}^{-1})$ , com  $r = 0,9953$ . Esse sistema permite intuir que o processo eletroquímico é controlado pela adsorção de espécies.

#### 4.5.3 Estudo da interferência do ácido ascórbico

O estudo da interferência do ácido ascórbico (AA) na resposta eletroquímica da dopamina (DA) foi avaliado utilizando a técnica de VC, com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Utilizou-se os eletrodos de GC, GC/MWCNT e GC/MWCNT/CoPc, em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 4,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA e  $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA, como mostrado na Figura 44.

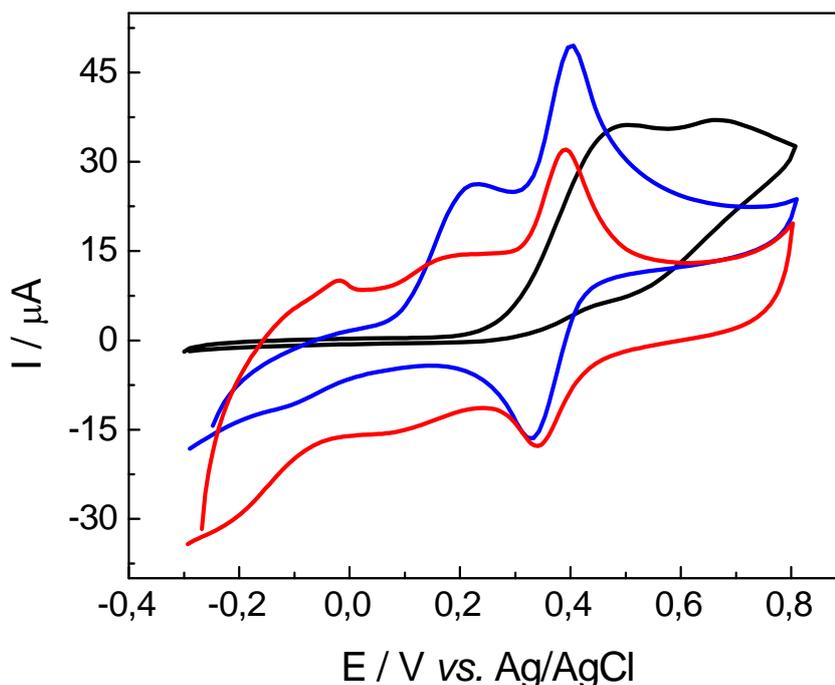


Figura 44. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos de GC (—), GC/MWCNT (—) e GC/MWCNT/CoPc (—), em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS (pH 4.0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA e  $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA, com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$

No voltamograma cíclico para o eletrodo de GC (—) foram observados dois processos sobrepostos, que são atribuídos à oxidação do AA ( $E_{pa} = +500 \text{ mV}$ ) e à oxidação da DA ( $E_{pa} = +675 \text{ mV}$ ). É notório que sobre a superfície do eletrodo de GC, o AA interfere no pico de oxidação da DA, pois desloca  $E_{pa}$  da DA para valores mais positivos, além de causar uma sobreposição nos picos de oxidação. Em contrapartida, com o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc (—) é possível observar uma completa distinção entre os processos de oxidação do AA ( $E_{pa} = +220 \text{ mV}$ ) e da DA ( $E_{pa} = +395 \text{ mV}$ ), sem que exista sobreposição ou inibição nas correntes de oxidação. O mesmo comportamento pode ser visto para o eletrodo de GC/MWCNT (—), na ausência de CoPc. Entretanto, foi observado uma diminuição tanto na  $I_{pa}$  quanto na  $I_{pc}$ , devido à ausência da propriedade mediadora redox da CoPc, como descrito na seção 4.5.1.

Com a finalidade de avaliar o efeito da concentração de AA na resposta eletroquímica da DA, foram registrados voltamogramas cíclicos, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em meio em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS (pH 4.0), em duas situações: (a)  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA +  $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA e (b)  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA +  $100,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA, como apresentado na Figura 45.

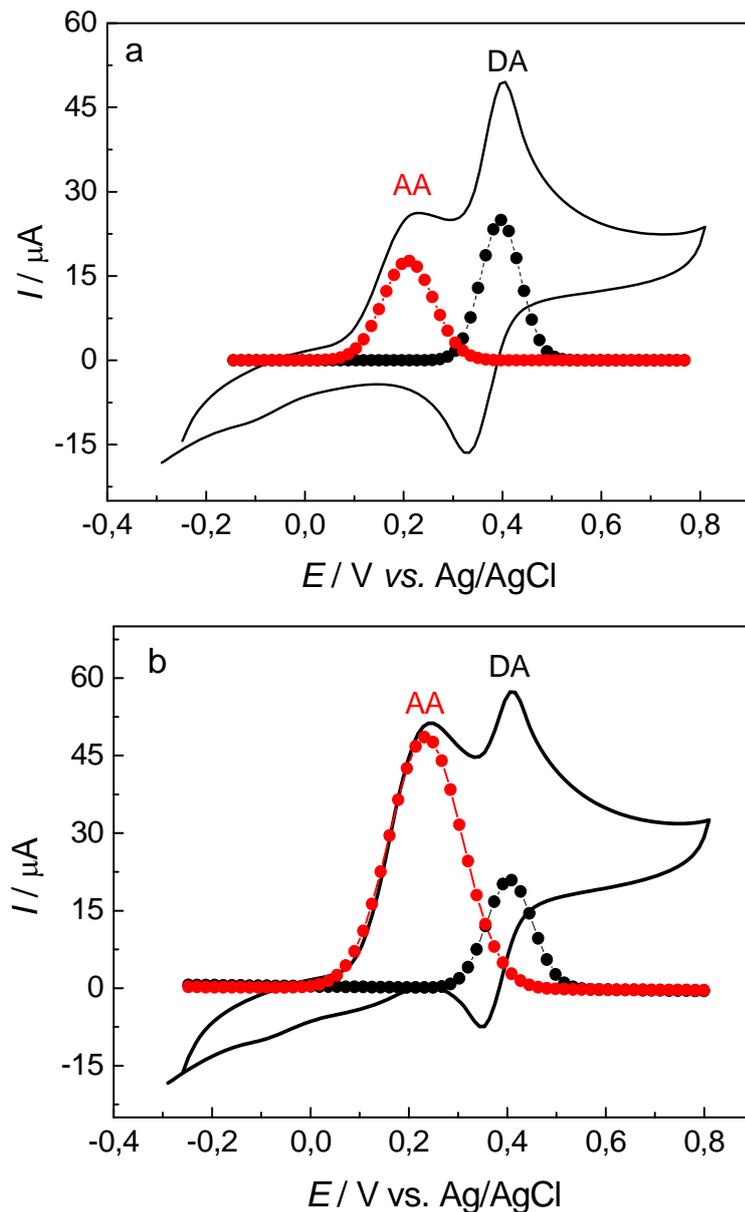


Figura 45. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc: (a)  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA +  $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA e (b)  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA +  $100,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA. Os símbolos correspondem aos processo de deconvolução dos voltamogramas para o AA (●) e para a DA (●).

Os voltamogramas apresentados na Figura 45 mostram que o pico de oxidação da DA não sofreu sobreposição do processo de oxidação do AA, nas duas condições estudadas:  $2[DA] = [AA]$  e  $100[DA] = [AA]$ . Para melhor visualização dessa separação dos processos de oxidação do AA e da DA, foi aplicada uma metodologia de processamento matemático, que permite a separação das componentes da corrente gerada em cada processo. Para fazer isso, foi utilizado o processo de deconvolução não linear<sup>145</sup>, aplicado nos dados experimentais. Nos voltamogramas da Figura 45, que apresentam dois picos oxidação, foi utilizado um ajuste com gaussianas de grau cinco. Os cálculos dos mínimos quadrados, a partir das gaussianas foram capazes de deconvoluir a curva em duas componentes diferentes (●) AA e (●) DA, na qual a soma destas componentes reproduz as respostas voltamétricas dos processos de oxidação do AA e da DA. Este estudo mostrou que o AA, independente da concentração, não interferiu na determinação de DA.

#### 4.5.4 Otimização dos parâmetros da técnica de DPV

Os parâmetros da técnica de DPV, como a influência da amplitude de pulso de potencial e o incremento do passo de potencial foi avaliada para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em uma solução de tampão fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH = 4,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de DA.

Foi observado que a  $I_{pa}$  aumentou com o aumento da amplitude, sem que ocorresse uma significativa deformação no perfil voltamétrico, mesmo para amplitudes acima de 50 mV. Desta forma, a amplitude de 100 mV foi escolhida com valor ótimo. Fixando a amplitude em 100 mV, o efeito do incremento do salto de potencial foi estudado em um intervalo de 1 a 10 mV. Para valores maiores que 2 mV foi verificado deformação no perfil voltamétrico e diminuição na altura do pico de oxidação da DA. Desta forma, o salto de potencial de 2 mV foi escolhido.

#### 4.5.5 Curva analítica para DA em meio contendo excesso de AA

Os experimentos de DPV, com os parâmetros experimentais otimizados, foram realizados em triplicata, utilizando o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em 0,2 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 4,0) contendo 0,1 mol L<sup>-1</sup> de AA. A curva analítica mostrada na Figura 46 apresentou uma resposta linear no intervalo 3,1 - 90,3 μmol L<sup>-1</sup>, de acordo com a seguinte equação:

$$I_{pa} (\mu A) = 3,1 \pm 0,3 (\mu A / \mu mol L^{-1}) + 4,1 \pm 0,1 [DA] (\mu mol L^{-1})$$

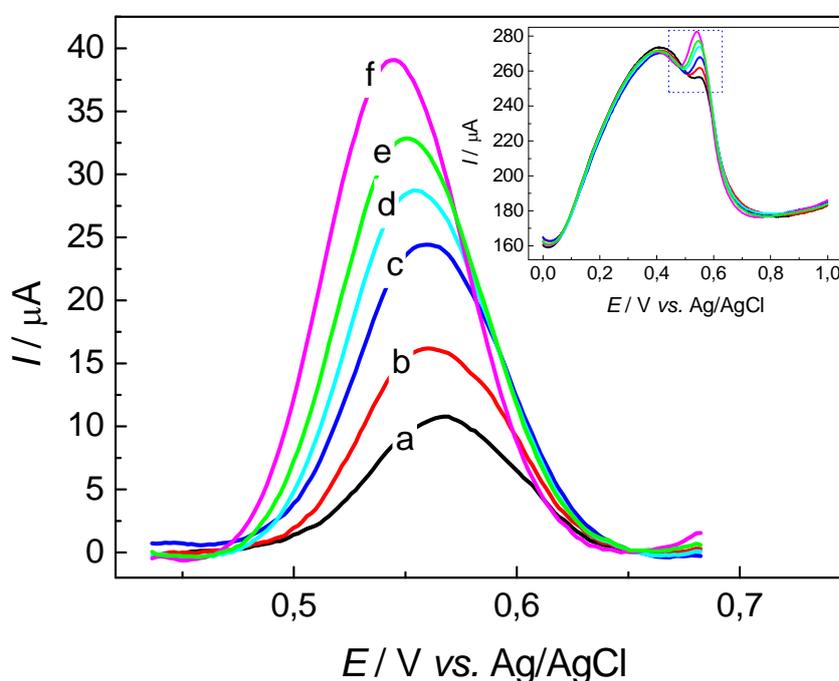


Figura 46. Voltamogramas de DPV para o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc, em 0,2 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 4,0) contendo 0,1 mol L<sup>-1</sup> de AA. As concentrações de DA em μmol L<sup>-1</sup>: (a) 3,1; (b) 13,5; (c) 32,5; (d) 50,5; (e) 62,5 e (f) 90,3. Detalhe: Resposta total dos voltamogramas contendo AA e as adições de DA.

O coeficiente de correlação foi de 0,9997 para n = 6. A repetibilidade para o eletrodo de GC/MWNT/CoPc foi medida em dez diferentes experimentos e o coeficiente de variação determinado foi de 2,3 %. A reprodutibilidade também foi testada em dez experimentos, em diferentes dias e o coeficiente de variação

observado foi de 3,1 %. O limite de detecção  $LD$  calculado foi de  $2,56 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> e foi determinado por meio da razão  $3\sigma/slope$ , onde  $\sigma$  é o desvio padrão do valor médio de 10 voltamogramas do branco e  $slope$  é o coeficiente angular da reta e esta relação foi determinada de acordo com as recomendações da IUPAC<sup>134</sup>.

#### 4.5.6 Considerações gerais

As propriedades eletrocatalíticas dos CNTs adicionadas ao excelente poder mediador redox da CoPc deslocou o potencial de oxidação da dopamina, quando comparado ao eletrodo de GC. Foi observado que a DA adsorve sobre a superfície do eletrodo, via interação com átomos de cobalto, presentes no centro metálico da molécula de ftalocianina. Esta interação permite que o eletrodo de GC/MWCNT/CoPc seja capaz de separar os processos de oxidação da DA e do AA, com uma diferença de 175 mV, mesmo em elevada concentração de AA. O eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNT/CoPc mostrou-se eficiente na quantificação de dopamina e o efeito sinérgico do sistema CNTs/CoPc melhorou, significativamente, a seletividade e a sensibilidade do método, indicando que este sensor é promissor para aplicações em eletroanalítica.

## 4.6 Determinação de epinefrina em urina utilizando um eletrodo composto de parafina e nanotubos de carbono de paredes múltiplas modificados com ftalocianina de cobalto<sup>146</sup>

A determinação de epinefrina (EP) livre em urina é considerada teste sensível e específico para a presença de tumores cerebrais como feocromocitoma e neuroblastomas. Além de poder obter informações adicionais sobre doenças cardíacas e circulatórias. Este estudo descreve o desenvolvimento, a caracterização eletroquímica e a utilização de um eletrodo composto de parafina, nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e ftalocianina de cobalto (CoPc), para a detecção de EP em amostras de urina humana.

### 4.6.1 Estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc frente ao processo de oxidação da epinefrina

O primeiro experimento utilizado, com a finalidade de estudar o comportamento eletroquímico do eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc, foi realizado utilizando a técnica de voltametria cíclica. Esse estudo foi realizado em meio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP, em que foi avaliado a variação do processo de oxidação da EP em função da velocidade de varredura, as quais foram variadas em um intervalo de  $10 - 100 \text{ mV s}^{-1}$ , conforme apresentado na Figura 47.

Na resposta voltamétrica, do eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc, na ausência de EP (—), não foi observado nenhum processo eletroquímico. Na presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP, usando como parâmetro o voltamograma com velocidade de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  (○), foi observado um par de processos redox bem definido, cuja diferença entre  $E_{pa}$  e  $E_{pc}$  foi calculada em  $95 \text{ mV}$ . Esse comportamento quase-reversível é atribuído ao controle de transferência eletrônica, da reação da EP na superfície do eletrodo.

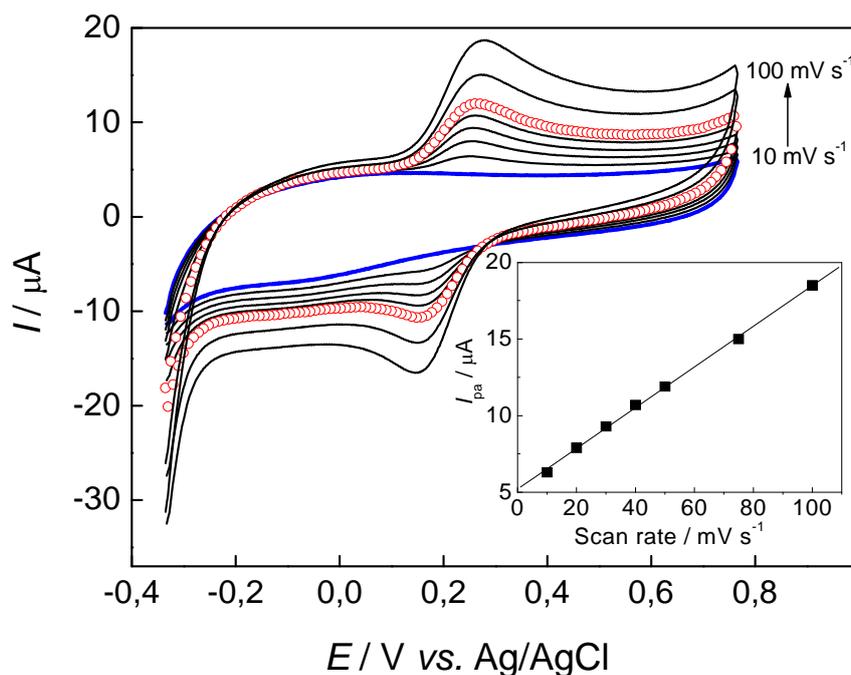


Figura 47. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo composto de Parafina/MWCNT/CoPc na ausência de EP (—) e na presença de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP (○), com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Voltamogramas cíclicos com  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP (—) nas seguintes velocidades de varredura: 10; 20; 30; 40; 75 e  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Detalhe: Relação linear entre  $I_{pa}$  e a velocidade de varredura.

Esse fato está de acordo com a dependência linear entre  $I_{pa}$  e a velocidade de varredura, sugerindo um processo controlado por adsorção de espécies na superfície do eletrodo modificado. A equação linear, encontrada para este processo foi:  $I_{pa} (\mu\text{A}) = 5,38 + 0,13 \nu (\text{mV s}^{-1})$  ( $r = 0,9991$ ).

O efeito eletrocatalítico do eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc, na reação de eletro-oxidação de EP, foi estudado utilizando a técnica de DPV, com amplitude de pulso de  $100 \text{ mV}$ , salto de potencial de  $2 \text{ mV}$  e velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ . A resposta eletroquímica, da eletro-oxidação de EP, foi comparada com os eletrodos compostos de Parafina/MWCNT e Parafina/Grafite, em meio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP, como apresentado na Figura 48.

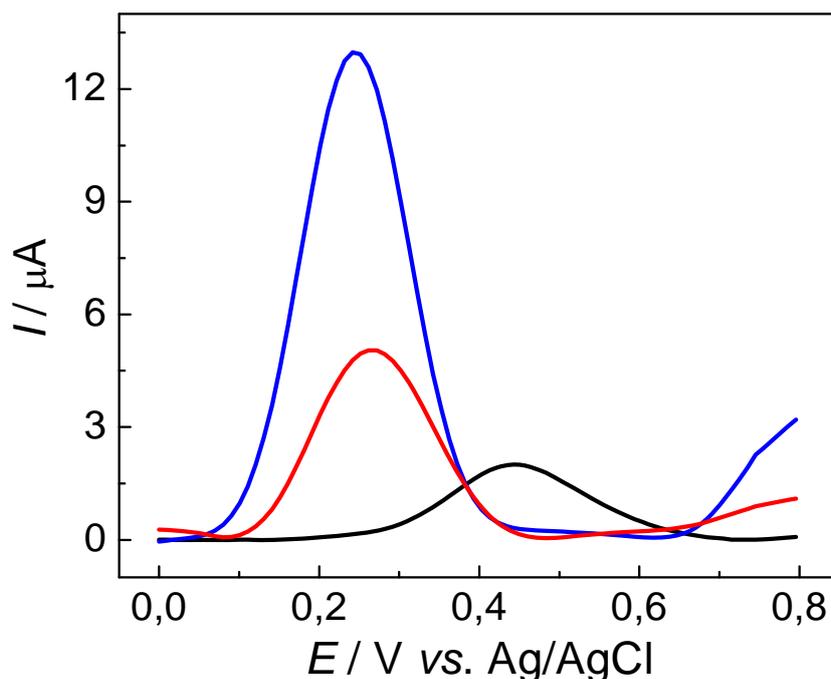


Figura 48. Voltamogramas de DPV para os eletrodos compósitos: Parafina/Grafite (—), Parafina/MWCNT (—) e Parafina/MWCNT/CoPc (—) em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP, amplitude de 100 mV e salto de potencial de 2 mV.

Sobre a superfície do eletrodo compósito Parafina/MWCNT (—) a epinefrina apresentou um potencial de oxidação de +240 mV, ou seja, um deslocamento de 200 mV para valores mais negativos de potencial, quando comparado ao eletrodo compósito Parafina/Grafite (—) ( $E_{\text{pa}} = +400 \text{ mV}$ ). Outro ponto é que o eletrodo compósito, contendo MWCNT, aumentou a corrente de pico de oxidação ( $I_{\text{pa}}$ ) em 250 %, em relação ao eletrodo contendo grafite.

Sobre a superfície do eletrodo compósito Parafina/MWCNT/CoPc (—), a eletro-oxidação de EP ocorreu no mesmo valor de potencial observado para o eletrodo de Parafina/MWCNT. Contudo, foi observado um aumento de 245 % no valor de  $I_{\text{pa}}$  em relação ao eletrodo não modificado com CoPc. Esse aumento é diretamente relacionado ao efeito sinérgico causado pela presença da ftalocianina de cobalto no eletrodo, que conseguiu acelerar a reação de oxidação

de EP na superfície do eletrodo, além da alta interação adsortiva entre a EP e a CoPc, como pode ser visualizado no mecanismo ilustrativo da Figura 49.

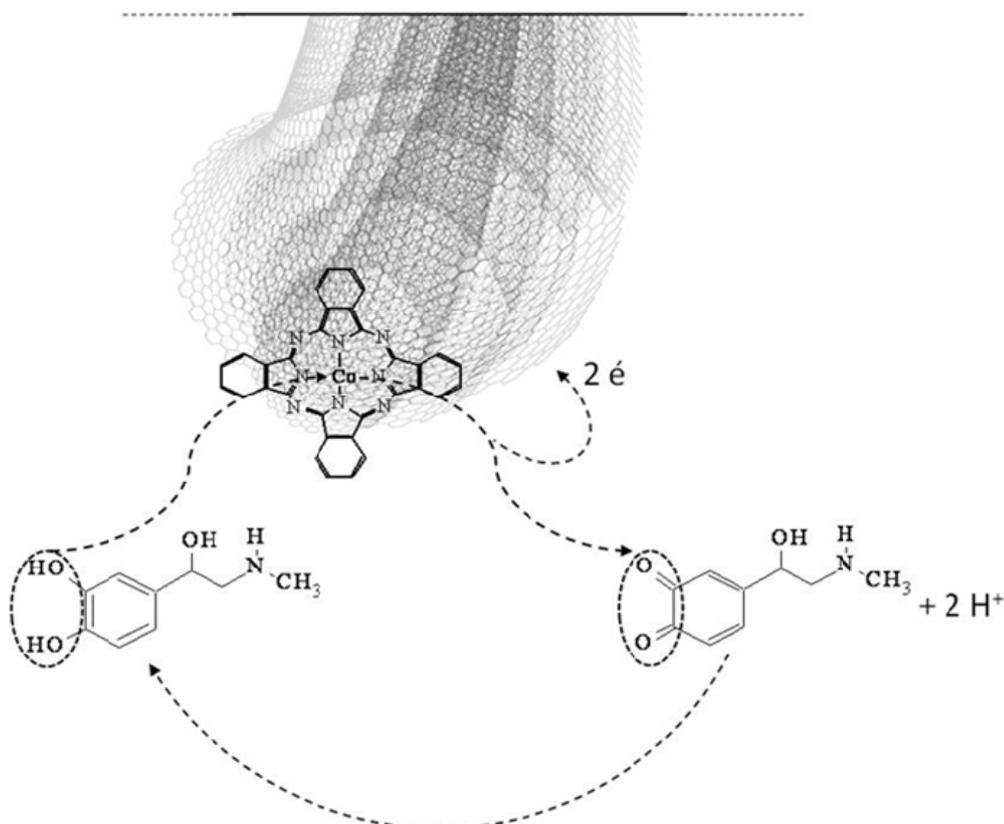


Figura 49. Mecanismo e oxidação da epinefrina na superfície do MWCNT/CoPc.

Um comportamento similar foi observado no trabalho relatado por Moraes *et al.*<sup>142</sup>, no qual, dois átomos de oxigênio do grupo catecol, presente na molécula de dopamina, se adsorve, preferencialmente, no átomo de cobalto do anel da ftalocianina. Esse comportamento está de acordo com as observações previamente descritas por Kienzl *et al.*<sup>144</sup>. Nesse trabalho foi relatado que o metabolismo da dopamina, no ambiente fisiológico, está intrinsecamente ligado as altas interações das catecolaminas com metais de transição presentes nos centros ativos das enzimas.

Assim, o uso de CoPc como modificadores de eletrodos, para a detecção de catecolaminas, torna-se uma área muito interessante, pois as ftalocianinas

metálicas podem atuar de forma biomimética, substituindo, convenientemente, os centros ativos de moléculas enzimáticas<sup>42</sup>. Desta forma, a associação das propriedades electrocatalíticas dos CNTs, o forte poder mediador e a capacidade biomimética da CoPc transformam o sistema MWCNT/CoPc, em um promissor método para a detecção de EP.

Com a finalidade de confirmar o mecanismo de eletro-oxidação de EP, sobre a superfície do eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc, foi realizado um estudo da dependência do pH com o potencial de oxidação eletroquímica da EP. Os experimentos foram realizados utilizando a técnica de DPV, com valores de pH variando de 3,0 até 9,0 contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de EP. A Figura 50 apresenta a dependência da corrente de pico anódica ( $I_{pa}$ ) e potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) como função do pH.

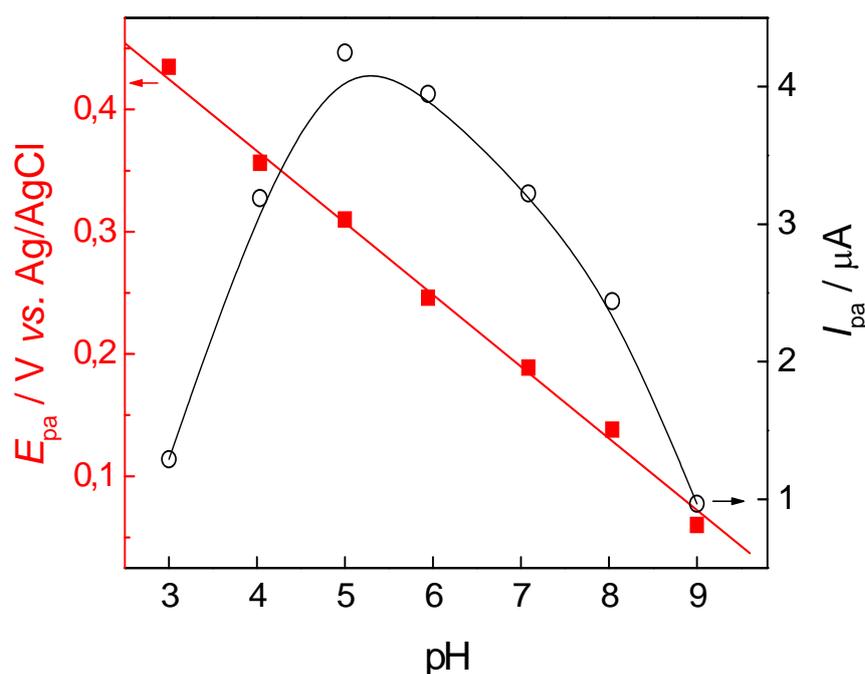


Figura 50. Gráfico da relação linear entre a variação de pH vs.  $E_{pa}$  (■) e pH vs.  $I_{pa}$  (●), em meio 0,2 mol L<sup>-1</sup> PBS contendo 1,0 mmol L<sup>-1</sup> EP.

A variação de  $E_{pa}$  com pH demonstrou que um aumento no pH causa um deslocamento para valores mais negativos no potencial de pico. Esta relação linear apresentou uma inclinação de 58,3 mV por unidade de pH. A inclinação

sugeriu o envolvimento do mesmo número de prótons e de elétrons na reação de eletro-oxidação da EP, como no trabalho desenvolvido por Hawley *et al.*<sup>143</sup>, que explica que a eletro-oxidação de catecolaminas é acompanhada pela transferência de números iguais de prótons e elétrons.

A curva de  $I_{pa}$  vs. pH mostrou que o pico de corrente tem um valor máximo em pH 5,0, diminuindo, acentuadamente, tanto para valores mais elevados de pH, quanto para os mais baixos. Entretanto, no ambiente fisiológico, o valor do pH da urina, para indivíduos saudáveis, é próximo a 6,0. Analisando o gráfico de  $I_{pa}$  vs. pH, não foram observadas diferenças significativas entre as magnitudes das correntes geradas em pH 5,0 e pH 6,0. Desta forma, o pH 6,0 foi selecionado para os subseqüentes experimentos.

#### 4.6.2 Otimizações dos parâmetros para a resposta eletroquímica da EP sobre o eletrodo compósito Parafina/MWCNT/CoPc

Para maximizar o sinal da técnica de DPV, os efeitos das condições experimentais (composição do eletrodo, amplitude de pulso e salto de potencial) foram estudados, utilizando o eletrodo compósito Parafina/MWCNT/CoPc, em meio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP

O efeito da composição do eletrodo foi estudado. Primeiramente, os compósitos foram construídos sem a presença de CoPc, com a finalidade de evidenciar o efeito da fase isolante (parafina) na resposta do eletrodo. Para isso, foram misturadas porcentagens em massa de MWCNT com parafina, nas proporções de 55, 60, 65, 70, 75 e 80 % ( $m/m$ ), em relação à massa de parafina. Esses eletrodos foram avaliados por DPV, em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP, com amplitude de pulso de 100 mV e salto de potencial de 2mV.

Na Figura 51A foi observado que o pico de oxidação da EP aumentou até o valor de 60 % MWCNT e 40 % ( $m/m$ ) de parafina. Nos valores acima de 40 % de parafina foi observado um acentuado decaimento no pico de corrente, devido

ao aumento da fase isolante e, conseqüentemente, o aumento da resistência elétrica.

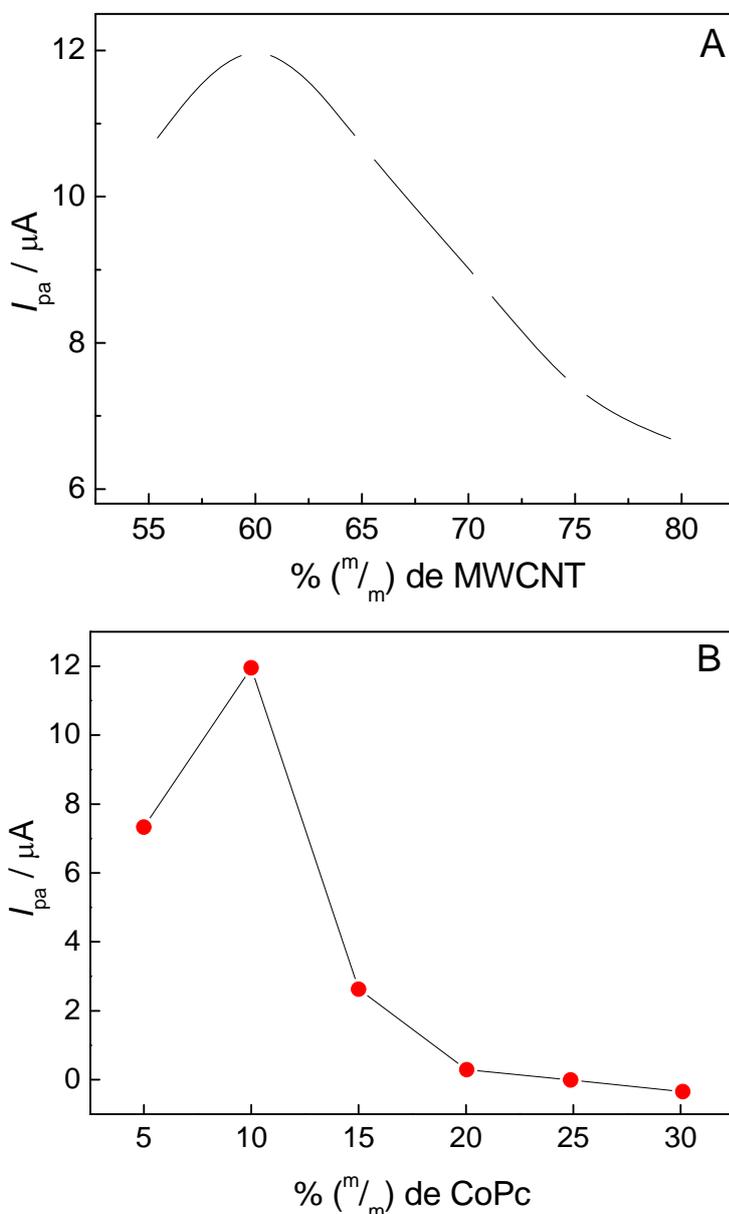


Figura 51. Efeito da composição do eletrodo no pico de oxidação da EP, em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP, com amplitude de pulso de 100 mV e salto de potencial de 2mV. (A) Proporção ( $m/m$ ) de MWCNT e parafina. (B) Proporção ( $m/m$ ) de MWCNT e CoPc, com teor de parafina fixo em 40 %.

O efeito da quantidade de modificador (CoPc) também foi avaliado. Para isso, a quantidade da fase isolante foi mantida constante em 40 % e quantidades da fase condutora (MWCNT) foram substituídas por CoPc, cujas quantidades de

CoPc, no compósito, foram variadas entre 5 – 30 % ( $m/m$ ). Na Figura 51B foi observado que os valores de corrente de aumentaram até 10 % de CoPc. Para valores acima de 10 % foi observado uma diminuição na  $I_{pa}$ , que novamente, pode ser atribuída ao aumento da resistência elétrica do sistema. Assim, a melhor composição encontrada para o eletrodo foi de 40 % parafina, 50 % MWCNT e 10 % CoPc.

De forma ilustrativa, a morfologia do compósito foi examinada, por meio da microscopia FEG-SEM, como apresentado na Figura 52.

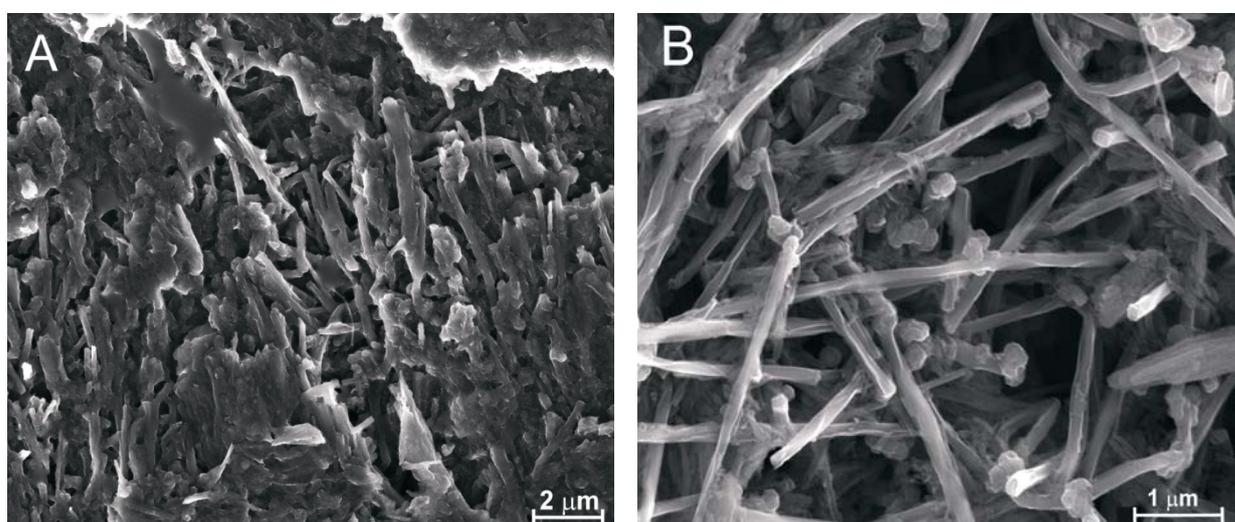


Figura 52. Microscopias do tipo FEG-SEM para o eletrodo compósito de Parafina/MWCNT/CoPc: (A) magnitude de 10000x e (B) magnitude de 80000x.

Na Figura 52A pode ser observado que os MWCNTs estão distribuídos de forma homogênea e o compósito apresenta uma estrutura do tipo 3D. A Figura 52B mostrou que os aglomerados de moléculas de CoPc estão eletrostaticamente adsorvidas, sobre os planos de borda, dos tubos. Esse fato está de acordo com as observações relatadas por Moraes *et al.*<sup>131</sup>.

A influência dos parâmetros de DPV foi avaliada. Primeiramente, a amplitude de pulso foi estudada em um intervalo de 10 – 100 mV, com salto de potencial fixo em 2 mV. Foi observado que a  $I_{pa}$  aumentou com o aumento da

amplitude, sem que ocorresse uma significativa deformação no perfil voltamétrico, mesmo para amplitudes acima de 50 mV. Desta forma, a amplitude de 100 mV foi escolhida com valor ótimo. Fixando a amplitude em 100 mV, o efeito do incremento do salto de potencial foi estudado em um intervalo de 1 a 10 mV. Para valores maiores que 2 mV foi verificado deformação no perfil voltamétrico e diminuição na altura do pico de oxidação da EP. Desta forma, o salto de potencial de 2 mV foi escolhido.

#### 4.6.3 Estudo da interferência do ácido úrico

Como mencionado na página 19, a interferência do ácido úrico (UA) é um dos maiores problemas a ser resolvido na determinação eletroquímica de epinefrina. Na urina humana, a concentração de UA é muito maior que a concentração de EP livre, ou seja, na forma não metabolizada. Nesse sentido, a significativa interferência do UA na eletro-oxidação de EP, utilizando o eletrodo compósito de Parafina/MWCNT/CoPc, foi avaliada.

Os experimentos foram realizados utilizando a técnica de DPV, com amplitude de pulso de 100 mV e salto de potencial de 2 mV, em meio eletrolítico de 0,2 mol L<sup>-1</sup> de PBS (pH 6,0) contendo 1,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de UA e foram adicionadas as seguintes concentrações de EP: (a) 1,0 x 10<sup>-5</sup>, (b) 5,0 x 10<sup>-5</sup>, (c) 1,0 x 10<sup>-4</sup> e (d) 5,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>.

A Figura 53 mostrou que, mesmo a concentração de EP sendo dez vezes menor que a concentração de UA, não foi observada nenhuma sobreposição nos processos de oxidação do UA e da EP, uma vez que o eletrodo proposto conseguiu separar os picos de oxidação tanto do UA, quanto da EP. O sensor proposto se mostrou adequado para ser usado na determinação eletroquímica de EP em urina humana, sem que o UA interfira na medida eletroquímica.

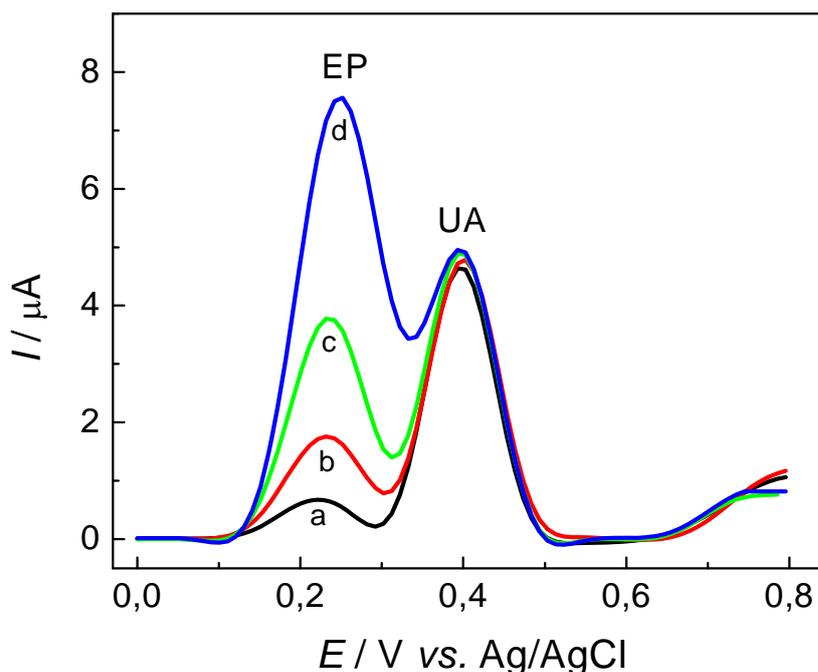


Figura 53. Voltamogramas de DPV para o eletrodo composto de Parafina/MWCNT/CoPc, em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de UA e foram adicionadas as seguintes concentrações de EP: (a)  $1,0 \times 10^{-5}$ , (b)  $5,0 \times 10^{-5}$ , (c)  $1,0 \times 10^{-4}$  e (d)  $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

#### 4.6.4 Curva analítica

Experimento de DPV foram realizados utilizando os parâmetros experimentais descritos anteriormente, com a finalidade de se obter uma curva analítica para a epinefrina, utilizando o eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc. Todas as medidas foram feitas em triplicata e as figuras de mérito foram calculadas a partir dos valores médios obtidos. A curva analítica mostrada na Figura 54 apresentou uma resposta linear no intervalo de  $1,33 - 5,50 \text{ μmol L}^{-1}$  e pode ser representada pela seguinte equação:

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = 6,29 \pm 0,17 (\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}) + 5,92 \pm 0,12 [\text{EP}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

O coeficiente de correlação foi de 0,9995, para  $n = 6$ . O limite de detecção LD calculado foi de  $15,6 \text{ nmol L}^{-1}$  ( $2,86 \text{ μg L}^{-1}$ ) e foi determinado por meio da

razão  $3\sigma/slope$ , onde  $\sigma$  é o desvio padrão do valor médio de dez voltamogramas do branco e o  $slope$  é o coeficiente angular da reta e esta relação foi determinada de acordo com as recomendações da IUPAC<sup>134</sup>.

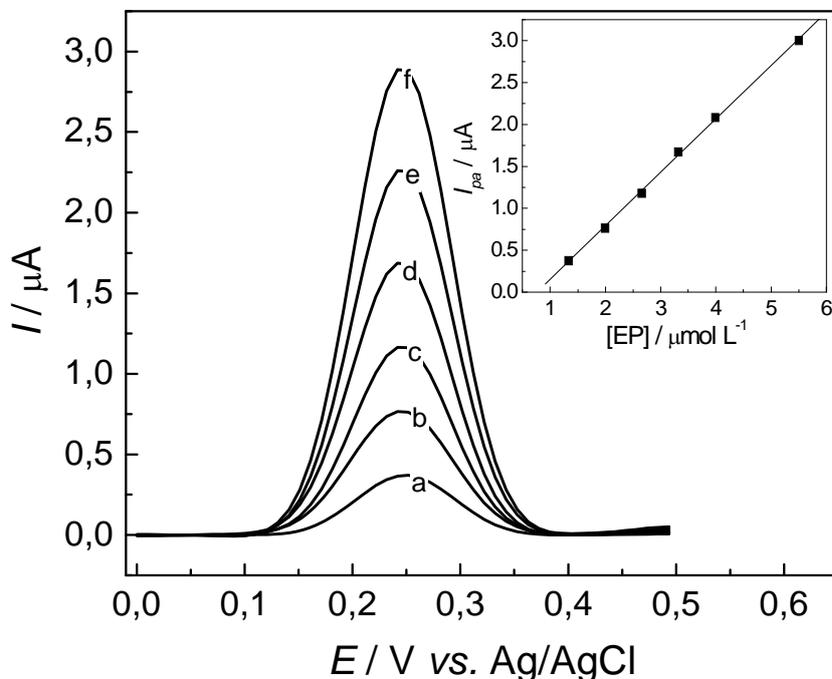


Figura 54. Curva analítica utilizando DPV com eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc com os parâmetros otimizados para as seguintes concentrações de epinefrina em  $\mu mol L^{-1}$ : (a) 1,33; (b) 1,99; (c) 2,66; (d) 3,33; (e) 3,99 e (f) 5,50. Detalhe: dependência linear do pico de corrente com a concentração de epinefrina.

A reprodutibilidade do eletrodo composto Parafina/MWCNT/CoPc foi medida em dez experimentos, em diferentes dias, no qual, para cada experimento foi construído um eletrodo novo. Antes de cada experimento, o eletrodo composto recém construído, foi polido usando papel sulfite e lavado com água ultrapura. Então, sete voltamogramas de DPV foram realizados em  $0,2 mol L^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 mmol L^{-1}$  de EP. O desvio padrão relativo ( $RSD$ ) foi calculado em 3,1 %.

Testes de repetibilidade foram realizados com o eletrodo compósito Parafina/MWCNT/CoPc. Sete voltamogramas de DPV foram coletados em meio em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0) contendo  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EP. O eletrodo foi polido, lavado e repetiu-se esse experimento dez vezes. O *RSD* calculado, para o estudo de repetibilidade, foi de 1,7%. O tempo de vida para o sensor proposto foi de pelo menos 1000 determinações.

#### 4.6.5 análise de amostra de EP em urina humana

Com a finalidade de simular o teste UFCA, o eletrodo compósito de Parafina/MWCNT/CoPc foi utilizado na determinação de EP em urina humana (sem etapa de pré-tratamento). A amostra foi diluída (proporção 1 : 10) em  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  de PBS (pH 6,0), para minimização do efeito de matiz. Os voltamogramas de DPV são mostrados na Figura 55.

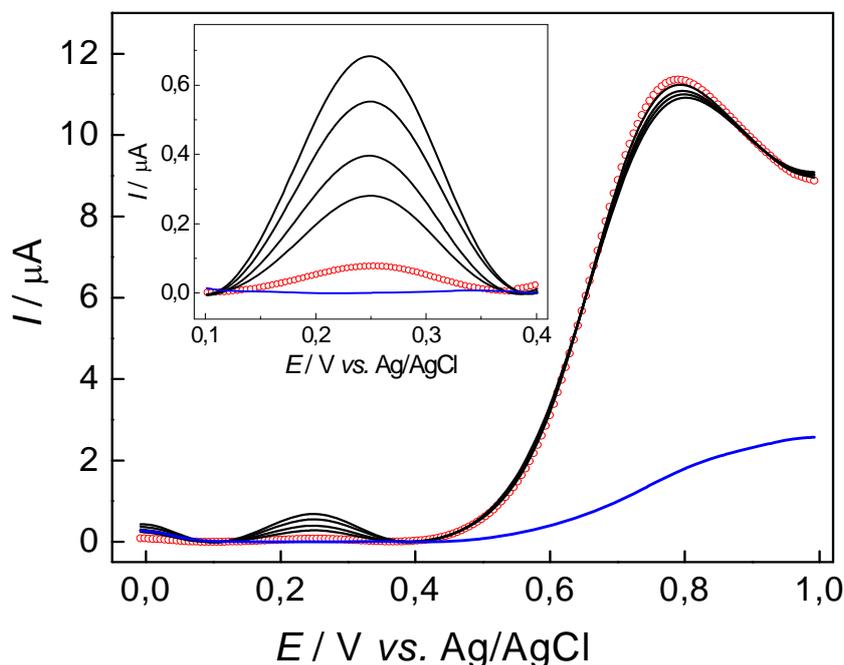


Figura 55. Voltamogramas de DPV para o eletrodo compósito de Parafina/MWCNT/CoPc: PBS na ausência de urina humana (—), PBS contendo urina humana (○) e adições consecutivas de padrão de EP (—) nas seguintes concentrações: 100, 150, 200 e  $250 \text{ nmol L}^{-1}$ . Detalhe: ampliação da região de eletro-oxidação da EP.

Na resposta voltamétrica do eletrodo, na presença de urina humana (○), foi observado um pico de corrente em +250 mV, que corresponde à eletro-oxidação da EP e um processo em valores de potencial acima de +600 mV, que pode ser atribuído a espécies eletroativas presente na matriz da amostra. Nos voltamogramas de DPV, para as consecutivas adições de padrão de EP (—), foi observado que os picos de corrente aumentaram linearmente com as adições de EP. Utilizando o método de adição e recuperação foi possível calcular a concentração de epinefrina contida nas amostras. A Tabela 7 apresenta os resultados das medidas de adição de padrão de EP, para duas amostras de urina humana, coletadas em diferentes dias.

Tabela 7. Determinação de EP em amostras de urina humana

	EP detectada	EP adicionada	EP recuperada	Recuperação	RSD
Amostra 1	45,5 nmol L <sup>-1</sup>	100 nmol L <sup>-1</sup>	95,7 nmol L <sup>-1</sup>	95,7 %	2,54 %
Amostra 2	56,8 nmol L <sup>-1</sup>	150 nmol L <sup>-1</sup>	147,1 nmol L <sup>-1</sup>	98,1 %	1,35 %

Os valores de recuperação observados, para as concentrações de EP adicionadas, variaram entre 95,8 e 98,1 %, com pequenos valores nos desvios padrões relativos (2,54 e 1,35 %). Os valores de epinefrina, detectados nas amostras de urina humana, encontram-se em níveis aceitáveis para um indivíduo saudável. Em indivíduos saudáveis, o máximo de concentração aceitável é 70,0 nmol L<sup>-1</sup>, para adrenalina livre encontrada em urina<sup>71</sup>. Valores de EP livre, maiores que o nível aceitável, é indicativo de doenças como a hipertensão arterial, diabetes e até mesmo tumores cerebrais<sup>66,67</sup>.

#### 4.6.6 Considerações gerais

As propriedades eletrocatalíticas dos CNTs aliadas ao excelente poder mediador redox da CoPc diminuíram o potencial de oxidação da EP, quando comparado aos outros eletrodos estudados. O eletrodo composto de

Parafina/MWCNT/CoPc mostrou-se seletivo, em relação à interferência do ácido úrico e apresentou boa sensibilidade na determinação de epinefrina com baixo limites de detecção. A facilidade de renovação da superfície tornou o método mais rápido, pois não foi gasto tempo com o preparo de novos eletrodos, além de demonstrar baixos coeficientes de variação para repetibilidade e reprodutibilidade. O sensor proposto mostrou-se eficiente na detecção de EP em urina humana, pois não foi observada a interferência dos constituintes da matriz e as amostras não necessitaram de qualquer etapa de pré-tratamento prévio.

## **Capítulo 5 - Conclusões**

---

Tendo como base as considerações gerais, apresentadas no Capítulo 4, foi possível fazer uma conclusão geral da utilização do desenvolvimento, caracterização e da aplicação de nanotubos de carbono em sensores eletroquímicos.

A etapa de funcionalização dos CNTs, em meio oxidante, mostrou-se imprescindível, para que as propriedades eletrocatalíticas dos CNTs sejam pronunciadas.

As análises de microscopias, FEG-SEM e TEM, demonstraram que a etapa de funcionalização atua diminuindo as tanto o comprimento, quanto o diâmetro dos CNTs, promoveu o aparecimento de defeitos, no corpo dos tubos e desbloqueou os planos de borda. A análise de FTIR mostrou que o tratamento em meio oxidante promoveu o aparecimento de grupos funcionais (carboxilatos, hidroxilas, carbonilas, etc), cuja principal importância é a de melhorar a velocidade de transferência eletrônica e permitir a incorporação de modificadores.

Por meio da caracterização voltamétrica, foi possível observar que os CNTs funcionalizados diminuíram os potenciais de oxidação, aumentaram as correntes de pico anódicas e catódicas e melhoram a reversibilidade do par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , evidenciando o efeito eletrocatalítico dos CNTs funcionalizados.

O efeito eletrocatalítico foi confirmado por experimentos de espectroscopia de impedância eletroquímica, na qual foi evidenciado que os eletrodos construídos com CNTs funcionalizados diminuíram a resistência de transferência eletrônica e conseqüentemente, aumentaram a constante aparente de velocidade da reação redox.

A utilização de sensores eletroquímicos, à base de CNTs e CNTs modificados com ftalocianinas metálicas, mostrou-se eficiente na determinação dos contaminantes ambientais: 4-nitrofenol, carbaril e glifosato, pois apresentou as propriedades eletrocatalíticas dos CNTs e o alto poder mediador redox das

ftalocianinas metálicas. Os métodos eletroanalíticos propostos atingiram os limites máximos permitidos pelas principais agências mundiais ambientais.

A utilização de sensores baseados em filmes de MWCNT/CoPc, conseguiu individualizar os processos de oxidação da dopamina e do ácido ascórbico. O método apresentou boa sensibilidade na determinação de dopamina em altas concentrações de ácido ascórbico.

O sensor compósito Parafina/MWCNT/CoPc mostrou-se robusto, de fácil preparação, seletivo e altamente sensível na determinação de epinefrina livre em urina humana, sem que houvesse interferência do ácido úrico, além das amostras não necessitarem de qualquer etapa de pré-tratamento.

A utilização de sensores a base de CNTs com ou sem modificação de ftalocianinas metálicas apresenta-se como uma metodologia sensível, de baixo custo e serve como uma alternativa aos métodos oficiais de análise.

## **Capítulo 6 – Referências Bibliográficas**

---

1. Council of Europe Supplement 2000. *The European Pharmacopeia*, 3<sup>a</sup> ed. Strasburg, Council of Europe, 2000. p. 631-632
2. *The United States Pharmacopeia*, 16<sup>a</sup> ed. Rockville. The United States Pharmacopeia Conventions INC. 1985. p. 376.
3. *The United States Environmental Protection Agency (US-EPA)*:  
<http://www.epa.gov/waterscience/methods/method/organics/604.pdf> - acesso em março de 2010.
4. *The United States Environmental Protection Agency (US-EPA)*:  
<http://www.epa.gov/waterscience/methods/method/organics/632.pdf> - acesso em março de 2010.
5. *The United States Environmental Protection Agency (US-EPA)*:  
<http://www.epa.gov/waterscience/methods/method/organics/547.pdf> - acesso em março de 2010.
6. SCHUBERT, K.; GOEBEL, G. & LISDAT F. “Bilirubin oxidase bound to multi-walled carbon nanotube-modified gold”. *Electrochim. Acta.*, **54**: 3033, 2009.
7. LIU, C.; SCHRLAU M. G. & BAU, H. H. “Single bead-based electrochemical biosensor”. *Biosens. and Bioelectr.*, **25**: 809, 2009.
8. STRADIOTTO, N. R.; TOGHILL, K. E.; XIAO, L.; MOSHAR, A. & COMPTON R. G. “The fabrication and characterization of a nickel nanoparticle modified boron doped diamond electrode for electrocatalysis of primary alcohol oxidation”. *Electroanalysis*, **21**: 2627, 2009.
9. BRETT, A. M. O. & CHIORCEA, A. M. “Atomic force microscopy of DNA immobilized onto a highly oriented pyrolytic graphite electrode surface”. *Langmuir*, **19**: 3830, 2003.
10. GHORBANI-BIDKORBEH, F.; SHAHROKHIAN, S.; MOHAMMADI, A. & DINARVAND, R. “Electrochemical determination of naltrexone on the surface of glassy carbon electrode modified with Nafion-doped carbon nanoparticles: Application to determinations in pharmaceutical and clinical preparations”. *J. Electroanal. Chem.*, **638**: 212, 2010.
11. HELI, H.; ZARGHAN, M.; JABBARI, A. & PARSAEI, A. “Electrocatalytic oxidation of the antiviral drug acyclovir on a copper nanoparticles-modified carbon paste electrode”. *J Solid State Electrochem.*, **14**: 787, 2010.
12. PAULIUKAITE, R.; GHICA, M. E.; FATIBELLO-FILHO, O. & BRETT, C. M. A. “Comparative study of different cross-linking agents for the immobilization of functionalized carbon nanotubes within a chitosan film supported on a graphite–epoxy composite electrode”. *Anal. Chem.*, **81**: 5364, 2009.
13. IJIMA, S. “Helical microtubules of graphitic carbon”. *Nature*, **354**: 56, 1991.

14. MERKOÇI, A.; PUMERA, M.; LLOPIS, X.; PÉREZ; B.; DEL VALLE, M. & ALEGRET, S. “New materials for electrochemical sensing VI: Carbon nanotubes”. *Trac-Trends Anal. Chem.*, **24**: 826, 2005.
15. IVANOV, V.; NAGY, J. B.; LAMBIN, PH.; LUCAS, A.; ZHANG, X. B.; ZHANG, X. F.; BERNAERTS, D.; VAN TENDELOO, G.; AMELINCKX, S. & VAN LANDUYT, J. “The study of carbon nanotubules produced by catalytic method”. *Chem. Phys. Lett.*, **223**: 329, 1994.
16. CHIANG, I. W.; BRINSON, B. E.; HUANG, A. Y.; WILLIS, P. A.; BRONIKOWSKI, M. J.; MARGRAVE, J. L.; SMALLEY, R. E. & HAUGE, R. H. “Purification and characterization of single-wall carbon nanotubes (SWNTs) obtained from the gas-phase decomposition of CO (HiPco process)”. *J. Phys. Chem. B*, **105**: 8297, 2001.
17. THESS, A.; LEE, R.; NIKOLAEV, P.; DAÍ, P.; PETIT, P.; ROBERT, J.; XU, C.; LEE, Y. H.; KIM, S. G.; RINZLER, A. G.; COLBERT, D. T.; SCUSERIA, G. E.; TOMANEK, D.; FISHER, J. E. & SMALLEY, R. E. “Crystalline ropes of metallic carbon nanotubes”. *Science*, **273**: 483, 1996.
18. PUNBUSAYAKUL, N.; TALAPATRA, S.; CI, L.; SURAREUNGCHAI, W. & AJAYAN, P.M. “Double-walled carbon nanotube electrodes for electrochemical sensing”. *Electrochem. and Solid-State Lett.*, **10**: 13, 2007.
19. HERBST, M. H.; MACÊDO, M. I. F. & ROCCO, A. M. “Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar”. *Quim. Nova*, **27**: 986, 2004.
20. HAMADA, N.; SAWADA, S. & OSHIYAMA, A. “New one-dimensional conductors graphitic microtubules”. *Phys. Rev. Lett.*, **68**: 1579, 1992.
21. BAUGHMAN, R. H.; ZAKHIDOV, A. A. & DE HEER, W. A.; “Carbon nanotubes - the route toward applications”. *Science*, **297**: 787, 2002.
22. MASHETER, A. T.; ABIMAN, P.; WILDGOOSE, G. G.; WONG, E.; XIAO, L.; REES, N. V.; TAYLOR, R.; ATTARD, G. A.; GARY, A.; BARON, R.; CROSSLEY, A.; JONES, J. H. & COMPTON, R. G. “Investigating the reactive sites and the anomalously large changes in surface pKa values of chemically modified carbon nanotubes of different morphologies”. *J. Mater. Chem.*, **17**: 2616, 2007.
23. HIURA, H.; EBBESEN, T.W. & TANIGAKI, K. “Opening and purification of carbon nanotubes in high yields”. *Advanced Mater.*, **7**: 275, 1995.
24. YAN, W.; SHEN, X. C.; ZHANG, Z. L.; CHEN, C. & PANG, D. W. “Electrochemical behavior of daunorubicin at DNA-MWCNT bioconjugates modified glassy carbon electrodes”. *Anal. Lett.*, **38**: 2579, 2005.
25. BERTI F., LOZZI, L.; PALCHETTI, I.; SANTUCCI, S. & MARRAZZA, G. “Aligned carbon nanotube thin films for DNA electrochemical sensing”. *Electrochim. Acta*, **54**: 5035, 2009.

- 
26. MANISANKAR, P.; P. ABIRAMA-SUNDARI L.; SASIKUMAR, R.; & PALANIAPPAN, S. P. “Electroanalysis of some common pesticides using conducting polymer/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode”. *Talanta*, **76**: 1022, 2008.
27. SHAHROKHIAN, S. & FOTOUHI, L. “Carbon paste electrode incorporating multi-walled carbon nanotube/cobalt salophen for sensitive voltammetric determination of tryptophan”. *Sensors and Actuators B*, **123**: 942 2007.
28. ZHANG S.; XU, M. & ZHANGA, Y. “Nanoparticles/functionalized multi-walled carbon nanotubes composite film modified electrode”. *Electroanalysis*, **21**: 2607, 2009.
29. MUSAMEH, M.; WANG, J.; MERKOÇI, A. & LIN, Y. “Low-potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes”. *Electrochem. Commun.*, **4**: 743, 2002.
30. LAWRENCE, N. S.; DEO, R. P. & WANG, J. “Comparison of the electrochemical reactivity of electrodes modified with carbon nanotubes from different sources”. *Electroanalysis*, **17**: 65, 2005.
31. WANG, J. & MUSAMEH, M. “Carbon-nanotubes doped polypyrrole glucose biosensor”. *Anal. Chim. Acta*, **539**: 209, 2005.
32. LIM, S. H.; WEI, J.; LIN, J.; LI, Q. & YOU, J. K. “A glucose biosensor based on electrodeposition of palladium nanoparticles and glucose oxidase onto Nafion-solubilized carbon nanotube electrode”. *Biosensors and Bioelectronics*, **20**: 2341, 2005.
33. BRAUN, A. & TCHERNIAC, J. “The products of the action of acet-anhydride on phthalamide”. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **40**: 2709, 1907.
34. DE DIESBACH, H. & VON DER WEID, E. “Some salt complexes of o-dinitriles with copper and pyridine”. *Helvetica Chim. Acta*, **10**: 886, 1927.
35. LÖBBERT, G. *Phthalocyanines in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim, Wiley-VCH, 2002.
36. CHAIDOGIANNOS, G.; PETRAKI, F.; GLEZOS, N.; KENNOU, S. & NESPUREK, S. “Low voltage operating OFETs based on solution-processed metal phthalocyanines”. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, **96**: 763, 2009.
37. COSTAMAGNA, J.; FERRAUDI, G.; MATSUHIRO, B.; CAMPOS-VALLETTE, M.; CANALES, J.; VILLAGRÁN, M.; VARGAS, J. & AGUIRRE, M. J. “Complexes of macrocycles with pendant arms as models for biological molecules”. *Coordination Chemistry Reviews*, **196**: 125, 2000.
38. ZAGAL J.; SEM, R. K. & YEAGER, E. “Oxygen reduction by co(ii) tetrasulfonatephthalocyanine irreversibly adsorbed on a stress-annealed pyrolytic-graphite electrode surface”. *J. Electroanal. Chem.*, **83**, 207, 1977.

39. DE WAEL, K.; PEETERS, K.; BOGAERT, D.; BUSCHOP, H.; VINCZE, L. & ADRIAENS, A. "Electrochemical and spectroscopic characterization of a gold electrode modified with 3,4',4'',4''' copper(II) tetrasulphonated phthalocyanine". *J. Electroanal. Chem.*, **603**: 212, 2007.
40. SKOROBOGATY A. & SMITH, T. D. "Autoxidation of thiols catalyzed by cobalt(II) tetrasulfophthalocyanine absorbed on an ion-exchange resin". *J. Mol. Catal.*, **16**: 131, 1982.
41. HOWE, L. & ZHANG, J. Z. "The effect of biological substrates on the ultrafast excited-state dynamics of zinc phthalocyanine tetrasulfonate in solution". *Photochem. Photobiol.*, **67**: 90, 1998.
42. BRESLOW, R. "Biomimetic control of chemical selectivity". *Acc. Chem. Res.*, **13**: 170, 1980.
43. SOTOMAYOR, M. P. T.; TANAKA, A. A. & KUBOTA, L. T. "Development of an enzymeless biosensor for the determination of phenolic compounds". *Anal. Chim. Acta*, **455**: 215, 2002.
44. SHAHROKHIAN, S.; GHALKHANI, M. & AMINI, M. K. "Application of carbon-paste electrode modified with iron phthalocyanine for voltammetric determination of epinephrine in the presence of ascorbic acid and uric acid". *Sensors and Actuators B*, **137**: 669, 2009.
45. DE LA TORRE, G.; BLAU, W. & TORRES, T. "A survey on the functionalization of single-walled nanotubes. The chemical attachment of phthalocyanine moieties". *Nanotechnology*, **14**: 765, 2003.
46. GERALDO, D. A.; TOGO, C. A.; LIMSON, J. & NYOKONG, T. "Electrooxidation of hydrazine catalyzed by non covalently functionalized single-walled carbon nanotubes with CoPc". *Electrochim. Acta*, **53**: 8051, 2008.
47. ZHU, X.; AI, S.; CHEN, Q.; YIN, H. & XU, J. "Label-free electrochemical detection of Avian Influenza Virus genotype utilizing multi-walled carbon nanotubes–cobalt phthalocyanine–PAMAM nanocomposite modified glassy carbon electrode". *Electrochem. Commun.*, **11**: 1543, 2009.
48. SISWANA, M. P.; OZOEMENA, K. I. & NYOKONG, T. "Electrocatalysis of asulam on cobalt phthalocyanine modified multi-walled carbon nanotubes immobilized on a basal plane pyrolytic graphite electrode". *Electrochim. Acta*, **52**: 14, 2006.
49. DALE, P.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A. S.; MCNAMARA, J. O. & WHITE, L. E. *Neuroscience*, 4<sup>a</sup> ed, Sunderland, Sinauer Associates, (2008). p.137.
50. JOH, T. H. & HWANG, O. "Dopamine beta-hydroxylase: biochemistry and molecular biology". *Annals of the New York Academy of Sciences*, **493**: 342, 1987.
51. HOFFMAN, B. B. *Catecholamines – Encyclopedia of Endocrine Diseases, Four Volume-Set*, Amsterdam, Academic Press, 2004. p 480.

52. LIMA, J. G.; BANDEIRA, F.; BANDEIRA, C. H.; PAULA, M.; NÓBREGA, M. L. C.; COSTA, S. O. & NÓBREGA, L. H. C. “Mínimas alterações hormonais em paciente com grande feocromocitoma”. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, **50**: 145, 2006.
53. WIGHTMAN, R. M.; AMATORE, C.; ENGSTROM, R. C.; HALE, P. D.; KRISTENSEN, E. W.; KUBR, W. G. & MAY, L. J. “Real-time characterization of dopamine overflow and uptake in the rat striatum”. *Neuroscience*, **25**: 513, 1988.
54. BOULLIN, D. J.; ADAMS, C. B. T. & MOHAN, J. “Reversal of cerebral arterial spasm with dopamine”. *Neuropathol. App. Neurobiol.*, **2**: 491, 1976.
55. LI, M. R.; DENG, C. Y.; CHEN, C.; PENG, L. M.; NING, G. H.; XIE, Q. J. & YAO, S. Z. “An amperometric hydrogen peroxide biosensor based on a hemoglobin-immobilized dopamine-oxidation polymer/Prussian blue/Au electrode”. *Electroanalysis*, **18**: 2210, 2006.
56. SHOU, M. S.; FERRARIO, C. R.; SCHULTZ, K. N.; ROBINSON, T. E. & KENNEDY R. T. “Monitoring dopamine in vivo by microdialysis sampling and on-line CE-laser-induced fluorescence”. *Anal. Chem.*, **78**: 6717, 2006.
57. MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A.; KHALAFI, L. & MOHAMMADNEJAD M. “Spectrophotometric determination of catecholamines based on their oxidation reaction followed by coupling with 4-aminobenzoic acid”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **17**: 1259, 2006.
58. LI, N.; GUO, J. Z.; LIU, B.; YU, Y. Q.; CUI, H.; MAO, L. Q. & LIN, Y. Q. Determination of monoamine neurotransmitters and their metabolites in a mouse brain microdialysate by coupling high-performance liquid chromatography with gold nanoparticle-initiated chemiluminescence”. *Anal. Chim. Acta*, **645**: 48, 2009.
59. YUAN, S.; CHEN, W. & HU, S. “Fabrication of TiO<sub>2</sub> nanoparticles/surfactant polymer complex film on glassy carbon electrode and its application to sensing trace dopamine”. *Mater. Sci. Eng. C*, **25**: 479, 2005.
60. PACHLA, L. A.; REYNOLDS, D. L. & KISSINGER, P. T. “Analytical methods for determining ascorbic-acid in biological samples, food-products, and pharmaceuticals”. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**: 1, 1985.
61. YOGESWARAN, U. & CHEN, S. M. “Separation and concentration effect of *f*-MWCNTs on electrocatalytic responses of ascorbic acid, dopamine and uric acid at *f*-MWCNTs incorporated with poly (neutral red) composite films”. *Electrochim. Acta*, **52**: 5985, 2007.
62. RAGUPATHY, D.; GOPALAN, A. I. & LEE, K. P. “Electrocatalytic oxidation and determination of ascorbic acid in the presence of dopamine at multi-walled carbon nanotube-silica network-gold nanoparticles based nanohybrid modified electrode, *Sensors and Actuators B*, **143**: 696, 2010.

63. KUMAR, S. S.; MATHIYARASU, J.; PHANI, K. L. N. & YEGNARAMAN, V. "Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid on poly (3,4-ethylenedioxythiophene) modified glassy carbon electrode". *J. Solid State Electrochem.*, **10**: 905, 2006.
64. GREENE, R. *Las hormonas del organismo humano. Introducción a la Endocrinología*, Madrid, Ed. S.A. Guadarrama, 1950, cap. 5.
65. SOROURADDIN, M. H.; MANZOORI, J. L.; KARGARZADEH, E & SHABANI, A. M. H. "Spectrophotometric determination of some catecholamine drugs using sodium bismuthate". *J. Pharm. Biom. Anal.*, **18**: 877, 1998.
66. WISSER, H. & KNOLL, E. "Enzymatic methods of creatinine determination". *Internist*, **28**: 123, 1987.
67. BRAVO, E. L. & GIFFORD, R. W. "Current concepts - pheochromocytoma - diagnosis, localization and management". *New England Journal of Medicine*, **311**: 1298, 1984.
68. WILLIAM, F. G. *Manual de fisiología médica. El manual moderna*. 7ª ed., Mexico D.F., McGraw Hill-Interamericana, 1980, cap. 13.
69. FRANKENHAEUSER, M. "Behavior and circulating catecholamines". *Brain Res.*, **31**: 241, 1971.
70. HANSEN A. M.; GARDE, A. H.; CHRISTENSEN, J. M.; ELLER, N. H. & NETTERSTROM, B. "Reference Intervals and Variation for Urinary Epinephrine, Norepinephrine and Cortisol in Healthy Men and Women in Denmark". *Clin. Chem. Lab. Med.*, **39**: 842, 2001.
71. IDRIS, I. R.; HILL, R.; SANDS, K. A. & THOMSON, G. A. "Retrospective analysis of abnormal 24-h urinary free catecholamine concentration in screening for phaeochromocytoma". *Ann. Clin. Biochem.*, **40**: 283, 2003.
72. ZARE, H. R. & NASIRIZADEH, N. "Simultaneous determination of ascorbic acid, adrenaline and uric acid at a hematoxylin multi-wall carbon nanotube modified glassy carbon electrode". *Sensors and Actuators B*, **143**: 666, 2010.
73. BEITOLLAHI, H.; ARDAKANI, M. M.; GANJIPOUR, B. & NAEIMI, H. "Novel 2,2-[1,2-ethanediybis(nitriloethylidyne)]-bis-hydroquinone double-wall carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of epinephrine, uric acid and folic acid". *Biosensors and Bioelectronics*, **24**: 362, 2008.
74. LI, J. & LIN, X. Q. "Electrodeposition of gold nanoclusters on overoxidized polypyrrole film modified glassy carbon electrode and its application for the simultaneous determination of epinephrine and uric acid under coexistence of ascorbic acid". *Anal. Chim. Acta*, **596**: 222, 2007.
75. STEPHENSON, G. R.; FERRIS, I. G.; HOLLAND, P. T. & NORDBERG, M. "Glossary of terms relating to pesticides". *IUPAC, Chemistry and Environmental Division*, 1, 2005

76. KHALAF, K. D.; MORALES-RUBIO, A. & DE LA GUARDIA, M. “Simple and rapid flow-injection spectrophotometric determination of carbaryl after liquid-liquid extraction”. *Anal. Chim. Acta*, **280**: 231, 1993.
77. FRENZEL, W.; OLEKSY-FRENZEL, J. & MÖRLEN, J. “Spectrophotometric determination of phenolic compounds by flow-injection analysis”. *Anal. Chim. Acta*, **261**: 253, 1992.
78. CHRISTOPHERSEN, M. J. & CARDWELL, T. J. “Determination of total phenols in waters and wastewaters using flow injection with electrochemical detection: An alternative to the standard colorimetric procedure”. *Anal. Chim. Acta*, **323**: 39 1996.
79. PATNAIK, P. & KHOURY, J. N. “Reaction of phenol with nitrite ion pathways of formation of nitrophenols in environmental waters”. *Water Res.* **38**: 206, 2004.
80. WANG, S. P. & CHEN, H. J. “Separation and determination of nitrobenzenes by micellar electrokinetic chromatography and high-performance liquid chromatography”. *J. Chromatogr. A*, **973**: 439, 2002.
81. WISSIACK, R. & ROSENBERG, E. “Universal screening method for the determination of US Environmental Protection Agency phenols at the lower ng l(-1) level in water samples by on-line solid-phase extraction-high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry within a single run”. *J. Chromatogr. A*, **963**: 149, 2002.
82. ONG, C. P.; NG, C. L. ; CHONG, N. C.; LEE, H. K. & LI, S. F. Y. “Retention of eleven priority phenols using micellar electrokinetic chromatography”. *J. Chromatogr. A*, **516**: 263, 1990.
83. LAWRENCE, N. S.; PAGELS, M.; MEREDITH, A.; JONES, T. G. J.; HALL, C. E.; PICKLES, C. S. J.; GODFRIED, H. P., BANKS, C. E.; COMPTON, R. G. & JIANG, L. “Electroanalytical applications of boron-doped diamond microelectrode arrays”. *Talanta*, **69**: 829, 2006.
84. CORDERO-RANDO, M. D.; BAREA-ZAMORA, M.; BARBERA-SALVADOR, J. M. NARANJO-RODRÍGUEZ, I.; MUÑOZ-LEYVA J. A. & DE CISNEROS. J. L. H. “Electrochemical Study of 4-Nitrophenol at a Modified Carbon Paste Electrode”. *Mikrochim. Acta*, **132**: 7 1999.
85. PEDROSA, V. A.; CODOGNOTO, L., MACHADO, S. A. S. & AVACA, L. A. “Is the boron-doped diamond electrode a suitable substitute for mercury in pesticide analyses? A comparative study of 4-nitrophenol quantification in pure and natural waters”. *J. Electroanal. Chem.*, **573**: 11, 2004.
86. GARBELLINI, G.S.; SALAZAR-BANDA, G.R. & AVACA, L. A. “Sonovoltammetric determination of 4-nitrophenol on diamond electrodes”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **18**: 1095, 2007.
87. MORA, A.; COMEJO, J.; REVILLA, E. & HERMOSIN, M. C. “Persistence and degradation of carbofuran in Spanish soil suspensions”. *Chemosphere*, **32**: 1585, 1996.

88. PEREZ-LOPEZ, J. A., ZAPARDIEL, A., BERMEJO, E., ARAUZO, E. & HERNANDEZ L. “Electrochemical determination of carbaryl oxidation in natural-water and soil samples”. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **350**: 620, 1994.
89. MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)*: <http://www.anvisa.gov.br> - acesso em março de 2010.
90. OKAZAKI, S.; NAKAGAWA, H.; FUKUDA, K.; ASAKURA, S.; KIUCHI, H.; SHIGEMORI, T. & TAKAHASHI, S. “Re-activation of an amperometric organophosphate pesticide biosensor by 2-pyridinealdoxime methochloride”. *Sens. Actuators B*, **66**: 131, 2000.
91. HAMILTON, D. J.; AMBRUS, Á.; DIETERLE, R. M.; FELSOT, A. S.; HARRIS, C. A.; HOLLAND, P. T.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; LINDERS, J.; UNSWORTH, J. & WONG, S. S. “Regulatory limits for pesticide residues in water”. *Pure Appl. Chem.*, **75**: 1123, 2003.
92. SARAJI, M. & ESTEKI, N. “Analysis of carbamate pesticides in water samples using single-drop micro extraction and gas chromatography-mass spectrometry”. *Anal. Bioanal. Chem.*, **391**: 1091, 2008.
93. JIMÉNEZ, J. J.; BERNAL, J. L.; DEL NOZAL, M. J. & RIVERA, J.M. “Determination of pesticide residues in waters from small loughs by solid-phase extraction and combined use of gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection and high-performance liquid chromatography with diode array detection”. *J. Chromatogr. A*, **778**: 289, 1997.
94. CAI, J. & DU D. “A disposable sensor based on immobilization of acetylcholinesterase to multiwall carbon nanotube modified screen-printed electrode for determination of carbaril”. *J. Appl. Electrochem.*, **38**: 1217, 2008.
95. YIN, H.S.; AI, S. Y.; XU, J.; SHI, W. J. & ZHU, L. S. “Amperometric biosensor based on immobilized acetylcholinesterase on gold nanoparticles and silk fibroin modified platinum electrode for detection of methyl paraoxon, carbofuran and phoxim”. *J. Electroanal. Chem.*, **637**: 21, 2009.
96. PEDROSA, V. A.; CAETANO, J.; MACHADO, S. A. S. & BERTOTTI, M. “Determination of parathion and carbaryl pesticides in water and food samples using a self assembled monolayer/acetylcholinesterase electrochemical biosensor”. *Sensors*, **8**: 4600, 2008.
97. OLEK, M.; BLANCHARD, F. & SUDRAUD, G. “Application de la détection électrochimique au dosage des résidus de quelques insecticides carbamates par chromatographie liquide haute performance”. *J. Chromat.*, **325**: 239, 1985.
98. GUIBERTEAU, A.; DIAZ, T. G.; SALINAS, F. & ORTIZ, J. M. “Indirect voltammetric determination of carbaryl and carbofuran using partial least squares calibration”. *Anal. Chim. Acta*, **305**: 219, 1995.

99. RAO, T. N.; LOO, B. H.; SARADA, B. V.; TERASHIMA, C. & FUJISHIMA, A. “Electrochemical detection of carbamate pesticides at conductive diamond electrodes”. *Anal. Chem.*, **74**: 1578, 2002.
100. GARRIDO, E. M.; LIMA, J. L. F. C.; DELERUE-MATOS, C.; BORGES, F.; SILVA, A. M. S. & BRETT, A. M. O. “Electrochemical oxidation of propanil and related *N*-substituted amides”. *Anal. Chim. Acta*, **434**: 35, 2001.
101. CODOGNOTO, L.; TANIMOTO, S. T.; PEDROSA, V. A.; SUFFREDINI, H. B.; MACHADO, S. A. S. & AVACA, L. A. “Electroanalytical determination of carbaryl in natural waters on boron doped diamond electrode”. *Electroanalysis*, **18**: 253, 2006.
102. CARLISLE, S. M. & TREVORS, J. T. “Glyphosate in the environment”. *Water Air Soil Pollut.*, **39**: 409, 1988.
103. HOLLAND, P. T. “Pesticides report 36. Glossary of terms relating to pesticides”. *Pure Appl. Chem.*, **62**: 1167, 1996
104. GLASS, R. L. “Metal complex formation by glyphosate”. *J. Agric. Food Chem.*, **32**: 1249, 1984.
105. HOAGLAND, R. E. & DUKE, S. O. “Biochemical effects of glyphosate [N-(phosphonomethyl)glycine]”. *ACS Symposium Series*, **181**: 175, 1982.
106. *The United States Environmental Protection Agency (US-EPA)*:  
<http://www.epa.gov/iris/subst/0057.htm> - acesso em março de 2010.
107. BARJA, B. C.; HERSZAGE, J. & AFONSO, M. S.; “Iron(III)-phosphonate complexes”. *Polyhedron*, **20**: 1821, 2001
108. SUBRAMANIAM, V. & HOGGARD, P. E. “Metal-complexes of glyphosate”. *J. Agric. Food Chem.*, **36**: 1326, 1988.
109. SPRANKLE, P.; MEGGITT, W. F. & PENNER, D. “Adsorption, mobility, and microbial degradation of glyphosate in soil”. *Weed Sci.*, **23**: 229, 1975
110. COX, C. “Glyphosate Factsheet”. *J. Pesticide Reform*, **108**: 3, 2000.
111. *The United States Environmental Protection Agency (US-EPA)*:  
<http://www.epa.gov/safewater/dwh/c-soc/glyphosa.html>. acesso em março de 2010.
112. EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY, *EEC Council Directive*, **OJ L 330**: 32, 1998.
113. MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)*:  
<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B19554-1-0%5D.PDF> – acesso em março de 2010
114. ZELENKOVA, N. F. & VINOKUROVA, N. G. “Determination of glyphosate and its biodegradation products by chromatographic methods”. *J. Anal. Chem.*, **63**: 871, 2008.

115. HANKE, I.; SINGER, H. & HOLLENDER, J. “Ultratrace-level determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and glufosinate in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: performance tuning of derivatization, enrichment and detection”. *Anal. Bioanal. Chem.*, **391**: 2265, 2008.
116. TEÓFILO, R. F.; REIS, E. L.; REIS, C.; DA SILVA, G. A. & KUBOTA, L. T. “Experimental design employed to square wave voltammetry response optimization for the glyphosate determination”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **15**: 865, 2004.
117. SONGA, E. A.; WARYO, T.; JAHED, N.; BAKER, P. G. L.; KGAREBE, B. V. & IWUOHA, E. I. “Electrochemical nanobiosensor for glyphosate herbicide and its metabolite”. *Electroanalysis*, **21**: 671, 2009.
118. GARCIA, A. F. & ROLLEMBERG, M. C. “Determinação voltamétrica do herbicida glifosato em águas naturais utilizando eletrodo de cobre”. *Quim. Nova*, **30**: 592, 2007.
119. PEDROSA, V. A.; PALIWAL, S.; BALASUBRAMANIAN, S.; NEPAL, D.; DAVIS, V. A.; WILD, J.; RAMANCULOV, E. & SIMONIAN, A. “Enhanced stability of enzyme organophosphate hydrolase interfaced on the carbon nanotubes”. *Colloid Surface B*, **77**: 69, 2010.
120. BANERJEE, S. & WONG, S. S. “Structural characterization, optical properties, and improved solubility of carbon nanotubes functionalized with Wilkinson's catalyst”. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**: 8940, 2002.
121. PARTHASARATHY, R.; LIN, X. & JAEGER, H. M. “Electronic transport in metal nanocrystal arrays: The effect of structural disorder on scaling behavior”. *Phys. Rev. Lett.*, **87**: 186807, 2001.
122. GOYANES, S.; RUBIOLO, G. R.; SALAZAR, A.; JIMENO, A.; CORCUERA, M. A. & MONDRAGON, I. “Carboxylation treatment of multi-walled carbon nanotubes monitored by infrared and ultraviolet spectroscopies and scanning probe microscopy”. *Diamond Relat. Mater.*, **16**: 412, 2007.
123. ZHANG, J.; ZOU, H.; QING, Q.; YANG, Y.; LI, Q.; LIU, Z.; GUO, X. & DU, Z. “Effect of chemical oxidation on the structure of single-walled carbon nanotubes”. *J. Phys. Chem. B*, **107**: 3712, 2003.
124. ÁLVAREZ-BUSTAMANTE, R.; NEGRÓN-SILVA, G.; ABREU-QUIJANO, M.; HERRERA-HERNÁNDEZ, H.; ROMERO-ROMO, M.; CUÁN, A. & PALOMAR-PARDAVÉ, M. “Electrochemical study of 2-mercaptoimidazole as a novel corrosion inhibitor for steels”. *Electrochim. Acta*, **54**: 5393, 2009.
125. SABATINI, E. & RUBINSTEIN, I. “Organized self-assembling monolayers on electrodes .2. monolayer-based ultramicroelectrodes for the study of very rapid electrode kinetics”. *J. Phys. Chem.*, **91**: 6663, 1987.
126. MORAES, F. C.; TANIMOTO, S. T.; SALAZAR-BANDA, G. R.; MACHADO, S. A. S. & MASCARO, L. H. “A new indirect electroanalytical method to monitor the contamination of natural waters with 4-nitrophenol using multiwall carbon nanotubes”. *Electroanalysis*, **21**: 1091, 2009.

127. TIAN, M.; BAKOVIC, L. & CHEN, A. “Kinetics of the electrochemical oxidation of 2-nitrophenol and 4-nitrophenol studied by in situ UV spectroscopy and chemometrics”. *Electrochim. Acta*, **52**: 6517, 2007.
128. HONEYCHURCH, K. C. & HART, J. P. “Voltammetric behaviour of p-nitrophenol and its trace determination in human urine by liquid chromatography with a dual reductive mode electrochemical detection system”. *Electroanalysis*, **19**: 2176, 2007.
129. ZEN, J. M.; JOU, J. J. & KUMAR, A. S. “A sensitive voltammetric method for the determination of parathion insecticide”. *Anal. Chim. Acta*, **396**: 39, 1999.
130. FARRANT, T. J. *Practical statistics for the analytical scientist*, The Royal Society of Chemistry, Teddington, 1997, p. 27.
131. MORAES, F. C.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S. & BRETT, C. M. A. “Direct electrochemical determination of carbaryl using a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine modified electrode”. *Talanta*, **79**: 1406, 2009.
132. YANG, L. & LI, Y. “AFM and impedance spectroscopy characterization of the immobilization of antibodies on indium–tin oxide electrode through self-assembled monolayer of epoxysilane and their capture of *Escherichia coli* O157:H7”. *Biosens. Bioelectron.*, **20**: 1407, 2005.
133. EL BAKOURI, H.; PALACIOS-SANTANDER, J. M.; CUBILLANA-AGUILERA, L.; OUASSINI, A.; NARANJO-RODRÍGUEZ, I. & DE CISNEROS, J. L. H. H. “Electrochemical analysis of endosulfan using a C18-modified carbon-paste electrode”. *Chemosphere*, **60**: 1565, 2005.
134. ANALYTICAL METHODS COMMITTEE. “Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit”. *Analyst*, **112**: 199, 1987.
135. CABANILLAS, A. G.; DIAZ, T. G.; SALINAS, F.; ORTIZ, J. M. & KAUFFMANN, J. M. “Differential pulse voltammetric determination of fenobucarb at the glassy carbon electrode, after its alkaline hydrolysis to a phenolic product”. *Electroanalysis*, **9**: 952, 1997.
136. MORAES, F. C.; MASCARO, L. H.; MACHADO, S. A. S. & BRETT, C. M. A. “Direct electrochemical determination of glyphosate at copper phthalocyanine/multiwalled carbon nanotube film electrodes”. *Electroanalysis*, **22**: 1586, 2010.
137. THOROGOOD, C. A.; WILDGOOSE, G. G.; CROSSLEY, A.; JACOBS, R. M. J.; JONES, J. H.; COMPTON, R. G. “Differentiating between ortho- and para-quinone surface groups on graphite, glassy carbon, and carbon nanotubes using organic and inorganic voltammetric and x-ray photoelectron Spectroscopy labels”. *Chem. Mater.*, **19**: 4964, 2007.
138. DE WAEL, K.; PEETERS, K.; BOGAERT, D.; BUSCHOP, H.; VINCZE, L. & ADRIAENS, A. “Electrochemical and spectroscopic characterization of a gold electrode modified with 3,4',4'' copper(II) tetrasulphonated phthalocyanine”. *J. Electroanal. Chem.*, **603**: 212, 2007.

- 
139. COUTINHO, C. F. B. & MAZO, L. H. “Metallic complexes with glyphosate: a review”. *Quim. Nova*, **25**: 1038, 2005.
140. PELL, W. G.; ZOLFAGHARI, A. & CONWAY, B. E. “Capacitance of the double-layer at polycrystalline Pt electrodes bearing a surface-oxide film”. *J. Electroanal. Chem.*, **532**: 13, 2002.
141. SIERRA, E. V.; MÉNDEZ, M. A.; SARRIA V. M. & CORTÉS, M. T. “Electrooxidation of glyphosate on nickel and copper electrodes”. *Quim. Nova*, **31**: 220, 2008.
142. MORAES, F. C.; CABRAL, M. F.; MACHADO, S. A. S. & MASCARO, L. H. “Electrocatalytic behavior of glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and cobalt phthalocyanine for selective analysis of dopamine in presence of ascorbic acid”. *Electroanalysis*, **20**: 851, 2008.
143. HAWLEY, M. D.; TATAWAWADI, S. V.; PIEKARSKI, S. & ADAMS, R.N. “Electrochemical studies of oxidation pathways of catecholamines”. *J. Am. Chem. Soc.*, **89**: 447, 1967.
144. KIENZL, E.; PUCHINGER, L.; JELLINGER, K.; LINERT, W.; STACHELBERGER, H. & JAMESON, R.F. “The role of transition metals in the pathogenesis of Parkinson's disease” *J. Neurolog. Sci.*, **134**: 69, 1995.
145. PEDROSA, V. A.; MACHADO, S. A. S. & AVACA, L. A. “Application of a deconvolutive procedure to analyze several chlorophenol species in natural waters by square-wave voltammetry on the boron-doped diamond electrode”. *Anal. Lett.*, **39**: 1955, 2006.
146. MORAES, F. C.; GOLINELLI, D. L. C.; MASCARO, L. H. & MACHADO, S. A. S. “Determination of epinephrine in urine using multi-walled carbon nanotube modified with cobalt phthalocyanine in a paraffin composite electrode”. *Sensors and Actuators B*, **148**: 492, 2010.