

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

CLEYLTON BEZERRA LOPES

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS COM UTILIZAÇÃO
DE NANOTUBOS DE CARBONO E DIFERENTES MEDIADORES NA
DETERMINAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E EPINEFRINA**

Maceió

2014

CLEYLTON BEZERRA LOPES

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS COM UTILIZAÇÃO
DE NANOTUBOS DE CARBONO E DIFERENTES MEDIADORES NA
DETERMINAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E EPINEFRINA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof^a. Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart

Co-orientador: Prof. Dr. Phabyanno Rodrigues Lima

Maceió

2014

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

L864d Lopes, Cleylton Bezerra.

Desenvolvimento de sensores eletroquímicos com utilização de nanotubos de carbono e diferentes mediadores na determinação de peróxido de hidrogênio e epinefrina / Cleylton Bezerra Lopes. – 2014.

106 f. : il.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Coorientador: Phabyanno Rodrigues Lima

Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2014.

Bibliografia: f. 99-106.

1. Nanotubos – Carbono. 2. Óxido – Cobalto. 3. Peróxido – Hidrogênio.
4. Ácido ferúlico. 5. Epinefrina. I. Título.

CDU: 544.6



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA

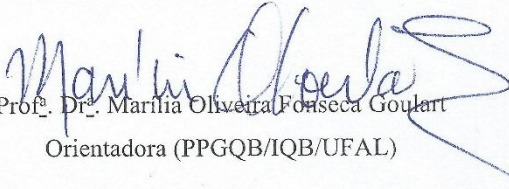



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

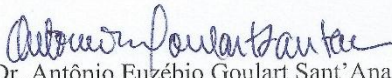
FOLHA DE APROVAÇÃO


Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **Cleylton Bezerra Lopes**, intitulada: **“Desenvolvimento de Sensores Eletroquímicos Utilizando Nanotubos de Carbono e Diferentes Mediadores, na Determinação de Peróxido de Hidrogênio e Epinefrina”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 29 de dezembro de 2014, às 14h, na Sala de Reuniões do IQB/UFAL.


COMISSÃO JULGADORA

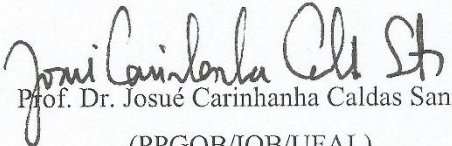

Prof. Dr. Marliá Oliveira Fonseca Goulart
Orientadora (PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Phabyanno Rodrigues Lima
Coorientador (IFAL, Maceió, AL)


Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
(PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Arlan de Assis Gonsalves
(UNIVASF, Petrolina, PE)


Prof. Dr. Francisco de Assis dos Santos Silva
(IFG, Goiás)


Prof. Dr. Josué Carinhonha Caldas Santos
(PPGQB/IQB/UFAL)

DEDICATÓRIA

A DEUS, pelo dom da vida.

A minha família.

Minha mãe (Cleusa), meu pai (Jose Antonio) e meu irmão (Cleyton), pela presença e apoio incondicional em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A prof^ª. Marília Goulart, pela orientação, apoio e confiança;

Ao prof^º. Phabyanno Lima, pela co-orientação, tantos ensinamentos;

Ao prof^º. Lauro Kubota, pelo acolhimento e suporte durante as viagens à UNICAMP;

Aos amigos do Laboratório de Eletroquímica – Lequi, Andrea, Antonio, Camila, Erivaldo, Francisco, Fred, Leonardo e Waldomiro pelo excelente convívio e companheirismo;

A Anny, pelo carinho e apoio em todas as horas;

Aos amigos Aurenívia, Beatriz, Carmen, Claudemárcio, Mikael, Roberta, Tiago e Wilson, pelo apoio e conselhos;

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Química e Biotecnologia, pela contribuição logística;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, pelo empenho e esforço em melhorar o nosso programa;

Ao Instituto Federal de Alagoas, pelo afastamento concedido para finalizar a tese;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES – pela concessão de bolsa de estudos, a qual possibilitou a execução desta tese;

Ao CNPq, FAPEAL E INCT-Bioanalítica pelo apoio concedido ao LEQUI;

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a execução desse trabalho, seja pela ajuda constante ou por uma palavra de amizade.

Muito Obrigado!

CURRICULUM VITAE

Nome: CLEYLTON BEZERRA LOPES

Naturalidade: Porto Calvo-AL

Data de nascimento: 18/08/1986

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Graduação

Química

Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Maceió-AL

Início: 2004/Conclusão: 2008. Local: Maceió-AL

Título da monografia: Aplicação de feromônio no manejo integrado de pragas.

Orientador: Dr. Dennis de Oliveira Imbroisi.

Pós-Graduação

Mestrado em Química e biotecnologia

Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Maceió-AL

Título da Dissertação: Niclosamida: um novo mediador para a eletro-oxidação de NADH.

Orientador: Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Co-Orientador: Dr. Phabyanno Rodrigues Lima.

Início: 2008/Conclusão: 2010. Local: Maceió-AL.

Doutorado em Ciências

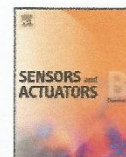
Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Maceió-AL

Título da Tese: Desenvolvimento de sensores eletroquímicos com a utilização de nanotubos de carbono e diferentes mediadores na determinação de peróxido de hidrogênio e epinefrina.

Orientador: Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Co-Orientador: Dr. Phabyanno Rodrigues Lima.

Início: 2010/Conclusão: 2014. Local: Maceió-AL.



Poly-xanthurenic acid modified electrodes: An amperometric sensor for the simultaneous determination of ascorbic and uric acids

Francisco de Assis dos Santos Silva^{a,d}, Cleyton Bezerra Lopes^{a,b,d}, Lauro Tatsuo Kubota^{c,d}, Phabyanno Rodrigues Lima^{a,b,d,**}, Marília Oliveira Fonseca Goulart^{a,d,*}

^a Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970 Maceió, AL, Brazil

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas, IFAL, 57020-600 Maceió, AL, Brazil

^c Instituto de Química, UNICAMP, C. Postal 6154, 13084-971 Campinas, SP, Brazil

^d Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanálítica, UNICAMP, C. Postal 6154, 13084-971 Campinas, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 February 2012

Received in revised form 6 April 2012

Accepted 8 April 2012

Available online 15 April 2012

Keywords:

Xanthurenic acid

MWCNT

Ascorbic acid

Uric acid

Electrocatalysis

Chemically modified electrodes

ABSTRACT

The poly-xanthurenic acid (poly-Xa)/multi-walled carbon nanotube (MWCNT)/glassy carbon modified electrode (poly-Xa/MWCNT/GCE) was successfully applied for the simultaneous determination of ascorbic (AA) and uric (UA) acids. Cyclic voltammetric results show that the modified electrode displays an excellent electrocatalytic activity toward the oxidation of AA at a low potential (0.05 V versus Ag/AgCl) and anodic peak resolution (ΔE_{pa}), close to 300 mV versus Ag/AgCl, in solutions containing AA and UA. Values in the order of $10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ were obtained for the kinetic constant k_{cat} for the catalytic oxidation of AA, upon evaluation by cyclic voltammetry, chronoamperometry and RDE. Furthermore, the sensor provided limits of detection of $0.19 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $0.31 \mu\text{mol L}^{-1}$ for AA and UA, respectively. The sensor was applied for the simultaneous determination of AA and UA in urine samples and the average recoveries for these samples were 99.9 (+2.5)% and 99.9 (+2.6)%, respectively.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Ascorbic (AA) and uric (UA) acids usually coexist in real biological matrices, thus, the development of a selective and sensitive method for their simultaneous determination is highly desirable for analytical and diagnostic applications. AA is a soluble vitamin present in many biological systems and in multivitamin preparations, commonly used as antioxidants [1]. AA has been used for the prevention and treatment of common cold, mental illness, infertility, cancer, AIDS and others [2,3]. Furthermore, often coexisting with AA in biological fluids, such as blood and urine, UA is a primary end product of the purine metabolism and its abnormal level is, normally, indicative of some diseases like gout, hyperpiesia, and Lesch–Nyhan disease [4–7].

Electrochemical determination methods of AA and UA have received much attention because they can be more selective, less expensive and faster. Simultaneous detection of AA and UA

is necessary not only in the field of biomedical chemistry but also for diagnostic and pathological research. However, the direct determination on ordinary (for instance, carbon and metal) electrodes is still difficult, because AA and UA undergo oxidation at an overlapping potential and electrode fouling takes place due to the adsorption of oxidation products [8–10]. To overcome these problems, various modified electrodes have been built and used. Ruthenium oxide-modified electrode could attain the capability for simultaneous determination of AA in the presence of UA [11]. More recently, poly(4-amino-1,1'-azobenzene-3,4'-disulfonic acid)-coated electrode has been described for the selective detection of UA in the presence of AA [12]. Pt–Au hybrid film-modified electrode [13], pyrolytic graphite modified electrode [14], zinc oxide composite film [15], palladium nanoparticle-loaded carbon nanofibers [16], surfactant-induced iron(II) phthalocyanine [17] and 4-nitrophthalonitrile modified carbon paste electrode [18] have been reported for the simultaneous determination of AA and UA. Various voltammetric techniques using electrodes modified by materials such as metal NPs [19,20], carbon nanostructures [21,22] and polymers [23] have been proposed to improve detection of AA in the presence of UA. However, all of the reported modified electrodes have their advantages and limitations, such as, low sensitivity, high detection and quantification limits and poor stability. Thus, it is necessary to have further efforts for the development of

* Corresponding author at: Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970 Maceió, AL, Brazil.

** Corresponding author. Tel.: +55 82 3214 1393; fax: +55 19 3214 1389.

E-mail addresses: phabyanno.lima@ifal.edu.br (P.R. Lima), mofg@qui.ufal.br, mariliaofg@gmail.com (M.O.F. Goulart).

Electrocatalytic activity of activated niclosamide on multi-walled carbon nanotubes glassy carbon electrode toward NADH oxidation

Cleyton Bezerra Lopes^{1,2,5} · Francisco de Assis dos Santos Silva^{3,5} · Phabyanno Rodrigues Lima^{2,5} · Johnnatan Duarte de Freitas² · Jonas dos Santos Sousa² · Lauro Tatsuo Kubota^{4,5} · Marília Oliveira Fonseca Goulart^{1,5}

Received: 16 December 2014 / Revised: 14 April 2015 / Accepted: 16 April 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract A simple and sensitive method for the electrocatalytic detection of dihydronicotinamide adenine dinucleotide (NADH) on an activated niclosamide (activatedNIC)-based modified electrode, prepared on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes (GCE/MWCNT/activatedNIC), was developed. This modified electrode shows efficient electrocatalytic oxidation activity toward NADH, at an applied potential of 0.065 V vs Ag/AgCl, with a kinetic constant, k_{kin} , of $1.15 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, evaluated by chronoamperometry. The sensor presents a linear response range from 10.0 up to 280.0 μM with limits of detection and quantification and sensitivity of 3 μM , 10 μM , and 2.4 nA μM^{-1} , respectively.

Keywords Sensors · Chemically modified electrode · Niclosamide · Mediators · MWCNT · NADH

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s10008-015-2862-3) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Marília Oliveira Fonseca Goulart
mariliaofg@gmail.com

¹ Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus A. C. Simões, Avenida Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro dos Martins, 57072-970, Maceió, AL, Brazil

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas, IFAL, 57020-600 Maceió, AL, Brazil

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, IFG, 76400-000 Uruaçu, GO, Brazil

⁴ Instituto de Química, UNICAMP, C. Postal 6154, 13084-971 Campinas, SP, Brazil

⁵ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica, UNICAMP, 13084-971 Campinas, SP, Brazil

Introduction

The development of fast, sensitive, robust, cost-effective sensors with low detection limits has been a main focus in bioanalytical chemistry [1]. This goal can be achieved through chemically or biologically modified electrodes. The motivation for the modification of electrode surfaces is to achieve control over the properties of the electrode surface and to be able to tailor these to a specific application [2].

The electrochemical oxidation of α -nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) is important in the development of amperometric biosensors that use dehydrogenase-dependent enzymes [1–8]. The redox couple NAD^+/NADH couple plays a key role in biological electron transfer as a two-electron, one-proton redox reagent, being a very important cofactor for more than 350 dehydrogenases. It is the initial electron donor in the mitochondrial electron transport chain [7–12].

As a result, the development of modified electrodes able to oxidize NADH to NAD^+ has attracted a lot of attention because of their potential application in a wide range of biosensors [1–13], in food processing, environmental analysis, and clinical diagnosis [7]. Electrochemical sensors for NADH are particularly attractive because they can provide high sensitivity, low detection limits, and the possibility to be miniaturized [14]. Therewith, it is crucial that NAD(P)H produced during the biocatalytic cycle can be electrochemically regenerated [9, 12].

Direct oxidation of NADH at bare electrodes, such as gold, platinum, and carbon, requires a large overpotential (0.6–0.8 V vs Ag/AgCl) [10, 15], due to the sluggish charge transfer kinetics [11], which results in inevitable interference due to oxidation of other species present in the sample and electrode fouling caused by adsorption of radical intermediates and subsequent polymerization products [4, 16].

RESUMO

Neste trabalho, descreveu-se o desenvolvimento de dois eletrodos quimicamente modificados (EQM). Os dois sistemas foram desenvolvidos utilizando eletrodo de carbono vítreo (ECV) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWNTC). O primeiro sensor foi desenvolvido com MWCTN e filmes de óxidos de cobalto (ECV/MWCNT/Co) para determinação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o segundo sensor com MWCNT e ácido ferúlico (AF) (ECV/MWCNT/AF) para determinação de epinefrina (EP). As técnicas empregadas para a realização deste trabalho foram voltametria cíclica e cronoamperometria, as quais foram utilizadas para avaliar o comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados, obtenção dos parâmetros cinéticos e caracterização analítica dos sistemas. Além disso, os estudos hidrodinâmicos e cronoamperométricos foram realizados com o objetivo de se obter informações sobre o processo de oxidação de H_2O_2 e EP. O dispositivo (ECV/MWCNT/Co) foi construído através da eletrodeposição de óxidos de cobalto na superfície de ECV/MWCNT, apresentou um par redox com $E^{o'} = + 0,175 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, constante de velocidade de transferência heterogênea de elétrons (κ_s) igual a $8,2 \text{ s}^{-1}$. Na quantificação de H_2O_2 , as figuras de mérito foram: faixa linear de resposta igual a $3 - 13344 \mu\text{mol L}^{-1}$, limite de detecção (LD) de $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, limite de quantificação (LQ) de $3 \mu\text{mol L}^{-1}$, sensibilidade de $4,37 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$ e constante catalítica (κ_{obs}) de $1,38 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. O sistema (ECV/MWCNT/AF) foi construído através da ativação de AF sobre o (ECV/MWCNT), com potencial de detecção para epinefrina de $+ 0,200 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Apresentou κ_{obs} de $6,99 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, faixa linear igual a $73 - 1406$, LD, LQ e sensibilidade de $22,28 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $73 \mu\text{mol L}^{-1}$, e $3,69 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$, respectivamente.

Palavras-chave: Nanotubos de Carbono, Óxido de Cobalto, Peróxido de hidrogênio, Ácido ferúlico, Epinefrina.

ABSTRACT

This paper describes the development of two chemically modified electrodes (CME). The two systems were developed using multi-walled carbon nanotubes (MWCNT). The first system was developed on glassy carbon electrodes (GCE) with MWCNT and film of cobalt oxides (GCE/MWCNT/Co) for determination of hydrogen peroxide (H_2O_2) and the second system with MWCNT and ferulic acid (FA) (GCE/MWCNT/FA) for determination of epinephrine (EP). The techniques herein employed were cyclic voltammetry, chronoamperometry, which were used to study the electrochemical behavior of modified electrodes, for obtaining kinetic parameters and for the analytical characterization of systems. In addition, hydrodynamic and chronoamperometric studies were carried out with the aim of obtaining information about the H_2O_2 and EP oxidation process. This device (GCE/MWCNT/Co) was built through the electrodeposition of cobalt oxides on the surface of GCE/MWCNT, and presented a redox pair with $E^0 = + 0.175 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, rate constant of heterogeneous electron transfer (κ_s) equal to 8.2 s^{-1} and the analytical figures of merit for H_2O_2 determination were: linear response range of $3 - 13344 \mu\text{mol L}^{-1}$, limit of detection (LOD) of $0.9 \mu\text{mol L}^{-1}$, limit of quantification (LOQ) of $3 \mu\text{mol L}^{-1}$, sensitivity of $4.37 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$ and catalytic constant (κ_{obs}) of $1,38 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. The system (GCE/MWCNT/FA) was built through the activation of FA on the (GCE/MWCNT), with detection potential for epinephrine of $+ 0.200 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. It presented κ_{obs} of $6.99 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, linear response range of $73 - 1406$, LOD, LOQ and sensitivity of $22.28 \mu\text{mol L}^{-1}$, $73 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $3.69 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$, respectively.

Keywords: Carbon nanotubes, cobalt oxide, hydrogen peroxide, ferulic acid, epinephrine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Modelo esquemático do SWCNT (a) e MWCNT (b)	24
Figura 2	Número de publicações nos anos 2000-2015. Base de dados “ <i>sciencedirect.com</i> ”. Busca: “ <i>sensor</i> ” e “ <i>carbon nanotubes</i> ”.	26
Figura 3	Representação esquemática dos planos basal e bordas do grafite e seus análogos em MWCNT.	26
Figura 4	Representação da funcionalização de NTC com diferentes moléculas.	27
Figura 5	Subunidades estruturais do Ácido Ferúlico.	31
Figura 6	Estrutura química da <i>L</i> -epinefrina.	34
Figura 7	(A) MEV da Shimadzu, (B) Metalizador da Quorum.	38
Figura 8	(A) Potenciostato modelo PGSTAT30 <i>Eco Chemie</i> , (B) EDR da AUTOLAB	38
Figura 9	Modelo esquemático da célula eletroquímica utilizada em todos os experimentos.	39
Figura 10	Voltamogramas cíclicos obtidos para a formação do óxido de cobalto, $\nu = 0,050 \text{ V s}^{-1}$. $E_{\text{inicial}} = -1,0 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = +1,0 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, varredura no sentido anódico. Condições empregadas: solução de sulfato cobalto $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e sulfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.	43
Figura 11	Voltamogramas cíclicos em ECV/MWCNT/Co, em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 0,100 \text{ V s}^{-1}$. $E_{\text{inicial}} = 0,0 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = 0,5 \text{ V}$, varredura no sentido anódico.	44
Figura 12	Voltamogramas cíclicos em ECV/MWCNT/Co, em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes velocidades de varredura ($0,010 - 0,050 \text{ Vs}^{-1}$), $E_{\text{inicial}} = 0,0 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = 0,5 \text{ V}$, varredura no sentido anódico.	46
Figura 13	Dependência da corrente de pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}) em função da velocidade de varredura, em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.	47
Figura 14	(A) Gráfico de Laviron, E_{pa} e E_{pc} vs. $\log \nu$. (B) Ampliação. Condições empregadas: solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.	47

Figura 15	Demonstração do experimento para obtenção do MEV, (A) Superfície do eletrodo com o contato elétrico, (B) Eletrodo na câmara da amostra de MEV, (C) Imagem em alta resolução e (D) Eletrodo na câmara da amostra de MEV.	51
Figura 16	MEV para ECV/MWCNT.	52
Figura 17	MEV para ECV/MWCNT/Co com diferentes ampliações: (A) 13100x, (B) 17900x, (C) 20000x e (D) 60000x.	53
Figura 18	Mapa composicional referente aos elementos Au, Fe, C e Co (A); Co (B).	54
Figura 19	Espectro de EDS correspondente para o ECV/MWCNT/Co.	54
Figura 20	Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/Co, em diferentes concentrações de H ₂ O ₂ (0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 10,0 mM). Velocidade de varredura (v) = 0,005 Vs ⁻¹ . Estudos realizados em solução de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ .	55
Figura 21	Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT, na ausência e na presença de (1,0 e 2,0 mM) de H ₂ O ₂ . Velocidade de varredura (v) = 0,005 Vs ⁻¹ . Estudos realizados em solução de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ .	56
Figura 22	Cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/Co em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , na ausência e presença de H ₂ O ₂ [3,9 - 18,2 mmol L ⁻¹], $E_{inicial} = + 0, 180$ V e $E_{final} = - 0,050$ V vs. Ag/AgCl, respectivamente.	57
Figura 23	Integração dos cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/Co em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , na ausência e na presença de H ₂ O ₂ [3,9 - 18,2 mmol L ⁻¹], $E_{inicial} = + 0,180$ V e $E_{final} = - 0,050$ V vs. Ag/AgCl, respectivamente.	58
Figura 24	Gráfico de I vs. $t^{1/2}$ obtidos a partir dos cronoamperogramas da figura 22 em ECV/MWCNT/Co em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , na presença de H ₂ O ₂ [3,9 - 18,2 mmol L ⁻¹], $E_{inicial} = + 0,180$ V e $E_{final} = - 0,050$ V vs. Ag/AgCl, respectivamente.	59
Figura 25	Dependência de I_{cat}/I_{Lim} vs. $t^{1/2}$ derivado dos cronoamperogramas da Figura 22 em ECV/MWCNT/Co em solução NaOH 0,1 mol L ⁻¹ , na ausência e presença de H ₂ O ₂ [3,9 - 18,2 mmol L ⁻¹], $E_{inicial} = + 0, 180$ V e $E_{final} = - 0,050$ V vs. Ag/AgCl, respectivamente.	60
Figura 26	Dependência de $[(I_{cat}/I_{Lim})$ vs. $t^{1/2}]$ vs. concentração de H ₂ O ₂ derivado dos cronoamperogramas da Figura 22 em ECV/MWCNT/Co em solução NaOH	60

0,1 mol L⁻¹, na ausência e presença de H₂O₂ [3,9 - 18,2 mmol L⁻¹], $E_{\text{inicial}} = +0,180 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = -0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.

- Figura 27** Curvas de polarização obtidas para oxidação eletrocatalítica de H₂O₂ no ECV/MWCNT/Co. Velocidade de rotação: [10,47 - 130,89 rad s⁻¹]. $\nu = 5,0 \text{ mV s}^{-1}$. Estudos realizados em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹ e $\Gamma = 2,80 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$. 61
- Figura 28** Gráfico de Levich para a resposta eletrocatalítica de estado-estacionário para um EDR de ECV/MWCNT/Co em diferentes [H₂O₂]. Estudos realizados em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹ e $\Gamma = 2,80 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$. 62
- Figura 29** Gráficos de Koutecky-Levich dos dados experimentais mostrados na Figura 27. Estudos realizados em NaOH 0,1 mol L⁻¹ 7,0 e $\Gamma = 2,80 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$. 64
- Figura 30** Medidas amperométricas para a eletrooxidação de H₂O₂ no ECV/MWCNT/Co. Condições empregadas: solução NaOH 0,1 mol L⁻¹, $E_{\text{aplicado}} = 0,18 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl e $[\text{H}_2\text{O}_2] = (3 - 13344) \mu\text{mol L}^{-1}$. 65
- Figura 31** Curva analítica, potencial aplicado 0,18 V vs. Ag/AgCl. Condições empregadas: solução NaOH 0,1 mol L⁻¹, $E_{\text{aplicado}} = 0,18 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl e $[\text{H}_2\text{O}_2] = (3 - 13344) \mu\text{mol L}^{-1}$. 65
- Figura 32** Voltamogramas cíclicos obtidos para a formação do ECV/MWCNT/AF, [AF] = 0,4 mmol L⁻¹, $\nu = 0,020 \text{ V s}^{-1}$. $E_{\text{inicial}} = -0,25 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = +0,75 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, varredura no sentido anódico. Condições empregadas: solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5). 70
- Figura 33** Mecanismo proposto para a formação do ECV/MWCNT/AF. 72
- Figura 34** Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/AF, na ausência e na presença de 0,5 mmol L⁻¹ de EP. Velocidade de varredura (ν) = 0,005 Vs⁻¹. Estudos realizados em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, em pH 7,0. 73
- Figura 35** Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT, na ausência e na presença de 0,5 mmol L⁻¹ de EP. Velocidade de varredura (ν) = 0,005 Vs⁻¹. Estudos realizados em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, em pH 7,0. 74
- Figura 36** Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/AF em varias velocidades de varredura (ν): 5 - 15 mV s⁻¹. Estudo realizado em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0 e [EP] = 0,5 mmol L⁻¹. 75

- Figura 37** Variação da corrente de pico anódica I_{pa} vs. $v^{1/2}$ no ECV/MWCNT/AF em 76
solução contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EP. Estudo realizado em solução tampão
fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e $v: 0,005-0,015 \text{ V s}^{-1}$.
- Figura 38** Variação da corrente de pico anódica normalizada $I_{pa}/v^{1/2}$ vs. v no 77
ECV/MWCNT/AF em solução contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EP. Medidas
realizadas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e $v: 0,003-0,011$
 V s^{-1} .
- Figura 39** Modelo proposto para o mecanismo de oxidação eletrocatalítica de 78
epinefrina sobre o ECV/MWCNT/AF.
- Figura 40** Cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/AF em solução tampão 79
fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na ausência e presença de epinefrina [$2,3 \times 10^{-4}$ -
 $10,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$], $E_{inicial} = + 0, 200 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl,
respectivamente.
- Figura 41** Integração dos cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/AF em 80
solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na ausência e presença de
epinefrina [$2,3 \times 10^{-4}$ - $10,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$], $E_{inicial} = + 0, 200 \text{ V}$ e $E_{final} = -$
 $0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.
- Figura 42** Gráfico de I vs. $t^{1/2}$ obtidos a partir dos cronoamperogramas da Figura 40 em 81
ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na
ausência e presença de epinefrina [$2,3 \times 10^{-4}$ - $10,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$], $E_{inicial} =$
 $+ 0, 200 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.
- Figura 43** Gráfico de inclinação ($I_{pa}/t^{1/2}$) versus a concentração de epinefrina obtidos 82
a partir da Figura 40 do ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1$
 mol L^{-1} , pH 7, na ausência e presença de epinefrina [$2,3 \times 10^{-4}$ - $10,7 \times 10^{-4}$
 mol L^{-1}], $E_{inicial} = + 0, 200 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl,
respectivamente.
- Figura 44** Dependência de I_{cat}/I_{Lim} vs. $t^{1/2}$ derivado dos cronoamperogramas da Figura 83
40 em ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na
ausência e presença de EP [$2,3 \times 10^{-4}$ - $10,7 \times 10 \text{ mol L}^{-1}$], $E_{inicial} = + 0, 200$
 V e $E_{final} = - 0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.
- Figura 45** Dependência de $[(I_{cat}/I_{Lim}) \text{ vs. } t^{1/2}]$ vs. concentração de EP derivado dos 83
cronoamperogramas da Figura 40 em ECV/MWCNT/AF em solução
tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na ausência e presença de EP [$2,3 \times 10^{-4}$ - $10,7$

$\times 10 \text{ mol L}^{-1}$], $E_{\text{inicial}} = + 0, 200 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = - 0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.

- Figura 46** Curvas de polarização obtidas para oxidação eletrocatalítica de EP no 84
ECV/MWCNT/AF. Velocidade de rotação: $[10,47 - 104,70 \text{ rad s}^{-1}]$. $v = 5,0$
 mV s^{-1} . Estudos realizados em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH
7,0 e $\Gamma = 3,35 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$.
- Figura 47** Gráfico de Levich para a resposta eletrocatalítica de estado-estacionário para 85
um EDR de ECV/MWCNT/AF em diferentes $[\text{EP}]$. Estudos realizados em
solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,0 e $\Gamma = 3,35 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$.
- Figura 48** Gráficos de Koutecky-Levich dos dados experimentais mostrados na Figura 87
46. Estudos realizados em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,0 e
 $\Gamma = 3,35 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$.
- Figura 49** Medidas amperométricas para a eletrooxidação de EP no 88
ECV/MWCNT/AF. Condições empregadas: solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol}$
 L^{-1} , $E_{\text{aplicado}} = 0,200 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl e $[\text{EP}] = (73 - 1406) \mu\text{mol L}^{-1}$.
- Figura 50** Curva analítica, potencial aplicado $0,200 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl. 89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Parâmetros eletroquímicos e cinéticos de alguns eletrodos modificados.	49
Tabela 2	Sensores e condições experimentais e parâmetros analíticos para a determinação de H ₂ O ₂ .	67
Tabela 3	Sensores e condições experimentais e parâmetros analíticos para a determinação de EP.	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DPR	Desvio padrão relativo
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
EDR	Eletrodo de disco rotatório
EPC	Eletrodo de pasta de carbono
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
HOPG	Grafite pirolítico altamente ordenado
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MWCNT	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas
NTC	Nanotubos de carbono
SWCNT	Nanotubos de carbono de paredes simples

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Coeficiente de transferência de elétrons
A	Área geométrica do eletrodo
Ag/AgCl	Eletrodo de prata cloreto de prata
B	Coeficiente angular
C_o	Concentração do analito
ΔE_p	Separação de potencial de pico
D	Coeficiente de difusão
E	Potencial
n	Número de elétrons
E°	Potencial formal
E_λ	Potencial de inversão
$E_{inicial}$	Potencial inicial
E_{final}	Potencial final
E_p	Potencial de pico
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
F	Constante de Faraday
I	Corrente
κ_{obs}	Constante de velocidade da reação
n	Número total de elétrons
Q	Carga
R	Constante universal dos gases
R	Coeficiente de correlação
σ	Desvio padrão
T	Temperatura
t	Tempo
v	Velocidade de varredura de potencial

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE SÍMBOLOS

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	SENSORES ELETROQUÍMICOS	21
1.2	ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS	22
1.3	NANOTUBOS DE CARBONO	23
1.3.1	Funcionalização com nanomateriais metálicos	28
1.3.2	Funcionalização com substâncias orgânicas	29
1.3.2.1	Ácido ferúlico	30
1.4	ANALITOS EM INVESTIGAÇÃO	31
1.4.1	Peróxido de hidrogênio	31
1.4.1.1	EQM para determinação de H ₂ O ₂	32
1.4.2	Epinefrina	33
1.4.2.1	EQM para determinação de EP	34
1.5	JUSTIFICATIVA DO TRABALHO	35
2	OBJETIVOS GERAIS	36
2.1	Objetivos específicos	36
3	EXPERIMENTAL	37
3.1	REAGENTES E SOLUÇÕES	37

3.2	EQUIPAMENTOS E MATERIAIS	37
3.3	METODOLOGIA	39
3.3.1	Limpeza do eletrodo de carbono vítreo	39
3.3.2	Preparo das soluções de H ₂ O ₂ , EP	39
3.3.3	Modificação do ECV com MWCNT	40
3.3.3.1	Modificação do ECV/MWCNT com óxido de cobalto	40
3.3.3.2	Modificação do ECV/MWCNT com ácido ferúlico (AF)	41
3.3.4	Determinação da área ativa (A)	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1	SENSOR AMPEROMÉTRICO BASEADO EM NANOTUBOS DE CARBONO E ÓXIDO DE COBALTO PARA DETECÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	42
4.1.1	Caracterização do eletrodo modificado	42
4.1.2	A oxidação eletrocatalítica do H ₂ O ₂ pelo ECV/MWCNT/Co	55
4.1.3	Estudos cronoamperométricos	57
4.1.4	Estudos com eletrodo de disco rotatório	61
4.1.5	Estudos de caracterização analítica do sensor para H ₂ O ₂	64
4.1.6	Estabilidade do ECV/MWCNT/Co	66
4.1.7	Considerações gerais	69
4.2	SENSOR AMPEROMÉTRICO BASEADO EM NANOTUBOS DE CARBONO E ÁCIDO FERÚLICO PARA DETECÇÃO DE EPINEFRINA	70
4.2.1	Preparo da plataforma ECV/MWCNT/AF	70
4.2.2	A oxidação eletrocatalítica de EP pelo ECV/MWCNT/AF	73
4.2.3	Estudos cronoamperométricos	78
4,2,4	Estudos com eletrodo de disco rotatório	84

4.2.5	Estudos de caracterização analítica do sensor para EP	87
4.2.6	Considerações gerais	92
5	CONCLUSÕES	93
6	PERSPECTIVAS	94
	REFERÊNCIAS	95

1 INTRODUÇÃO

1.1 SENSORES ELETROQUÍMICOS

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos consiste em uma das áreas de maior e mais rápido crescimento dentro da Química Analítica, principalmente devido aos novos desafios impostos para análises de amostras complexas, seja de origem biológica ou ambiental, o qual tem levado a uma crescente busca por sensores com melhores características, tais como precisão, rapidez na resposta, alta sensibilidade, seletividade e estabilidade (WANG, 2000; PITANGA, 2009; WONG, 2010).

Os sensores eletroquímicos fazem uso de um eletrodo como dispositivo transdutor de sinal e baseiam-se em processos de transferência de carga (processos faradaicos), ou em fenômenos de migração de cargas (processos não faradaicos) (BARD e FAULKNER, 2001). Os transdutores são componentes físico-químicos do sensor que traduzem o evento de reconhecimento químico em um sinal quantificável e passível de ser processado, amplificado, armazenado e analisado (RIBEIRO, 2013).

Apesar da grande versatilidade e perspectivas apresentadas pelos sensores eletroquímicos, a utilidade de um eletrodo é muitas vezes limitada devido a passivação gradual de sua superfície, em consequência principalmente da adsorção dos produtos da própria reação de óxido-redução utilizada na detecção, ou ainda, dos sub-produtos destas reações que podem se polimerizar e se depositar sobre a superfície dos respectivos eletrodos (ROSATTO, 2001; FREIRE, 2003).

A sensibilidade de muitos analitos importantes pode ser prejudicada em função da cinética, excessivamente lenta, de transferência de elétrons entre estas espécies e o material que constitui o eletrodo. Outra limitação é a dificuldade de discriminar entre compostos alvos que possuam característica redox similares (WANG, 1991).

Uma área que oferece grande potencial para minimizar os problemas acima descritos, e conseqüentemente permite aumentar a aplicabilidade e eficiência dos sensores eletroquímicos, é a que compreende os chamados eletrodos quimicamente modificados (EQM) (WANG, 1991; CORRÊA, 2013). A habilidade para controlar e manipular deliberadamente as propriedades das superfícies dos eletrodos pode proporcionar uma variedade de efeitos atrativos, levando a superfícies com características que podem contornar efetivamente muitos

dos problemas apresentados pelos sensores eletroquímicos tradicionais (FREIRE, 2003; MOASSANHA, 2011).

Neste contexto, podemos destacar a utilização de biossensores, que utilizam um elemento biológico de reconhecimento com alta seletividade. Podem ser utilizados, em sua construção, enzimas imobilizadas, anticorpos, tecidos vegetais ou animais, e micro-organismos, em contato superficial com um transdutor (JANEGITZ, 2012).

A seleção do material para o eletrodo base, cuja superfície sofre modificação, é um aspecto muito importante na preparação de um EQM. Este substrato deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e ser adequado para o método de imobilização selecionado (BERNARDELLI, 2009). Entre os materiais convencionais podemos citar ouro, platina, carbono, carbono vítreo, fibras de carbono e pasta de carbono (PEREIRA, 2002; WONG, 2010).

Além destes, diversos materiais vêm sendo explorados para configurações de novas interfaces nanoestruturadas fundamentadas em nanotubos de carbono (NTC), o qual tem ganhado notoriedade pelas inovações obtidas, particularmente, no segmento de desenvolvimento de sensores eletroquímicos, agregando ótimo desempenho destes dispositivos para finalidades práticas (LOPES, 2010).

Uma das razões para escolha de nanotubos de carbono (NTC) visando o desenvolvimento de dispositivos nanoestruturados diz respeito à possibilidade de imobilização de substâncias com grupos funcionais variados, os quais apresentam comportamento eletroquímico com ótimas características (ZENG, 2002).

1.2 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS

O termo “eletrodo quimicamente modificado” (EQM) foi utilizado inicialmente por Murray e colaboradores, na década de 70, para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas convenientemente imobilizadas na superfície desses dispositivos (PEREIRA, 2002). Um EQM consiste de um eletrodo base (substrato) e uma camada do modificador químico (CORRÊA, 2013).

A crescente necessidade de identificação e quantificação de analitos de forma rápida, seletiva e em reduzidas quantidades de amostras, ajudaram o desenvolvimento dos EQM. Eles têm como objetivo, pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução, sendo, portanto, uma forma de adaptar e controlar sua reatividade e/ou seletividade, para obtenção de resposta adequada para vários propósitos e aplicações (BERNARDELLI,

2009). Além dessas características, pode-se destacar a simplicidade de construção e degradação mínima do analito (LOPES, 2010).

Deve-se ressaltar, também, que o bom desempenho do sensor dependerá de vários fatores, como a eficiente imobilização do reagente, considerando suas características mecânicas e químicas (tais como: aderência ao suporte, fácil manuseio, tempo de preparo, estabilidade ao ambiente e durabilidade). Além disso, os EQM originam frequentemente sinais de corrente mais elevado do que na ausência do modificador. Às vezes, ao colocar o eletrodo modificado numa solução contendo apenas o eletrólito de suporte, observam-se as características das espécies imobilizadas (VENDRAMET, 2004).

Atualmente, com o desenvolvimento de novos métodos eletroanalíticos e a descoberta de novos materiais na construção de sensores, um intenso trabalho tem sido desenvolvido na investigação da eletroquímica do material de suporte e também de agentes modificadores.

A utilização dos EQMs é uma área em desenvolvimento e a cada dia são descritos novos métodos de preparação. A seguir, são apresentadas de forma sucinta características dos nanotubos de carbono utilizado como material de suporte para o desenvolvimento de sensores.

1.3 NANOTUBOS DE CARBONO

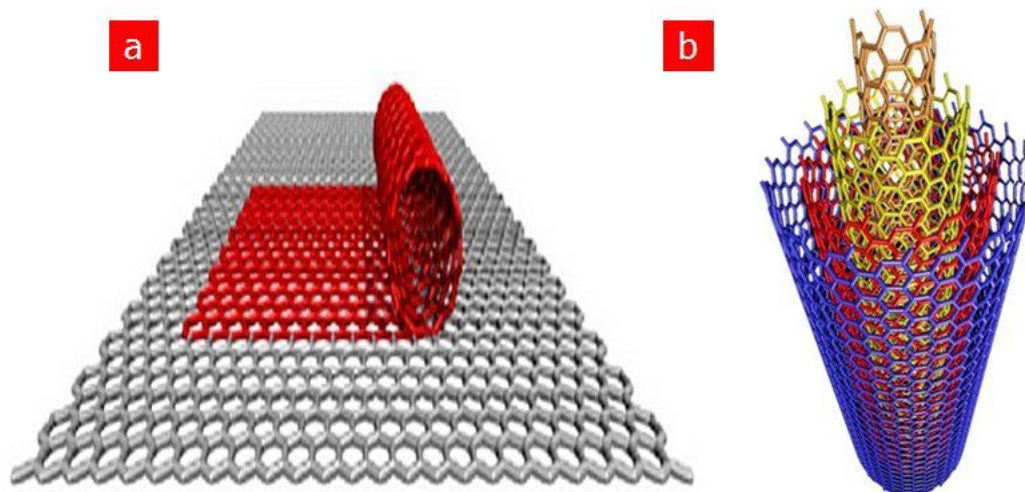
Desde sua descoberta por Sumio Iijima (IIJIMA, 1991), estes novos materiais de carbono nanoestruturados vêm despertando grande atenção pela comunidade científica e se tornando rapidamente uma atividade de pesquisa global, devido a sua elevada área superficial específica e excelentes propriedades elétricas, mecânicas e ópticas. É bem conhecido que as propriedades (elétricas ou ópticas) dos nanotubos de carbono (NTC) são muito sensíveis e podem ser afetadas pela exposição a biomoléculas e isso levou à investigação de vários grupos de pesquisas para utilização deste material em sensores (YANG, 2014).

Os NTC podem ser definidos como fios em escala molecular, sendo divididos em nanotubos de carbono de parede única (SWCNT, do inglês *single-wall carbon nanotubes*) com diâmetros de 0,75 a 3 nm e comprimento de 1 a 50 nm, e os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT, do inglês *multi-wall carbon nanotubes*) de diâmetro de 2 a 30 nm dependendo do número de camadas na parede dos nanotubos, distância entre as camadas de aproximadamente 0,42 nm (KRIVENKO, 2005).

Assim, os SWCNTs possuem uma nanoestrutura cilíndrica formada de uma única folha de grafeno enrolada na forma de um tubo. Por outro lado, os MWCNT são formados por várias

camadas de cilindros de grafite que são concêntricamente alinhadas, de forma similar a um tronco de árvore, como observado na Figura 1.

Figura 1 - Modelo esquemático do SWCNT (a) e MWCNT (b).



Fonte: Yang et al. (2014).

A elevada relação superfície/volume dos NTC faz com que seja possível obter detecções ultra-rápidas de diferentes espécies em baixas concentrações. Assim, os sensores modificados com NTC são reconhecidos como a base de construção da próxima geração em sistemas ultra-sensíveis.

Os MWCNTs são produzidos com baixo custo, e comparando com a maior parte dos sensores disponíveis comercialmente, baseados normalmente em óxidos metálicos, silício e outros materiais, os sensores baseados em NTC apresentam as seguintes vantagens:

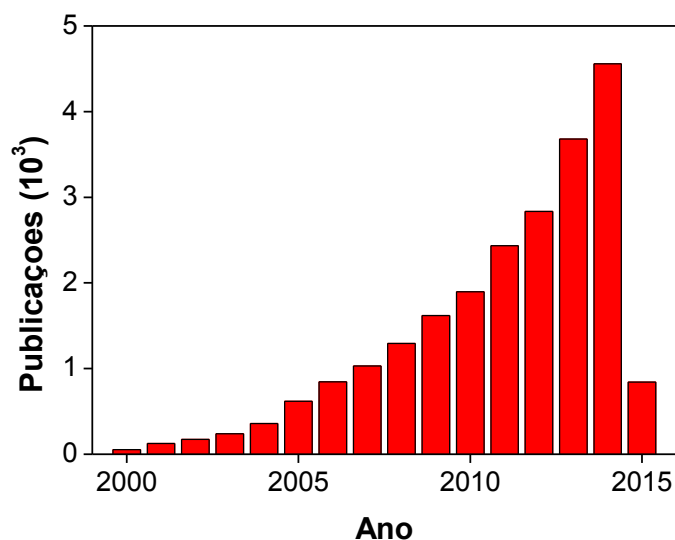
- i) Alta condutividade elétrica, e conseqüente diminuição da resistência à transferência de carga (MINNIKANTI, 2009);
- ii) Excelente estabilidade química e maior tempo de vida;
- iii) Amplo potencial de aplicação como componentes eletrônicos moleculares (KRIVENKO, 2005);
- iv) Possibilidade de funcionalização nos NTC tratados, devido à presença de grupos carboxílicos (XIA, 2009);
- v) Alta sensibilidade, devido à sua grande área superficial;
- vi) Possibilidade de imobilizar enzimas, de modo a manter uma elevada atividade biológica;
- vii) Tempo de resposta rápido, pois os NTCs têm uma notável capacidade para mediar rapidamente a cinética de transferência de elétrons;
- viii) Menor potencial de reação redox e menores efeitos de incrustação da superfície;

Estas características têm estimulado o aumento do interesse em pesquisas sobre as aplicações dos nanotubos de carbono como componentes para sensores. Estes novos materiais permitem a imobilização de mediadores tanto de origem biológica, inorgânica ou orgânica, apresentando comportamento eletroquímico com ótimas características, como alta estabilidade, item imprescindível para o desempenho de sensores químicos a base destes materiais, garantindo, portanto, viabilidade operacional e confiabilidade dos resultados durante as análises (SOTIROPOULOU, 2003).

Os NTC podem doar ou receber elétrons em uma ampla janela de potencial, de 1,0 V a 1,2 V vs. Ag/AgCl, em solução tampão fosfato (GLIGOR, 2009; GHALKHANI, 2010), viabilizando seu emprego também como mediadores em reações de transferência de elétrons. Assim, se o componente é inorgânico ou orgânico, como por exemplo, enzima, coenzima, DNA, anticorpos, metaloporfirinas podem ser imobilizados diretamente nos NTC, e desta forma a transdução e mediação podem ser alcançadas ao mesmo tempo, caracterizando sua versatilidade.

Os NTC continuam sendo um tema atual e de interesse da comunidade científica. Yang *et al.*, (2014) fizeram um levantamento e observaram que as características dos NTC estimularam o aumento do interesse em pesquisas sobre aplicações de NTC como componentes em biossensores. Com base nesse trabalho, foi realizado um levantamento no site “*sciencedirect.com*” utilizando como busca as palavras “*sensor*” e “*carbon nanotubes*”. A Figura 2 mostra o número de publicações referentes à pesquisa realizada, a partir do ano 2000. Observa-se claramente que estudos de sensores baseados em NTC apresentaram um crescimento exponencial nos últimos anos, e a tendência é que esse número de publicações continue em crescimento. Para 2015, já se tem 841 artigos registrados.

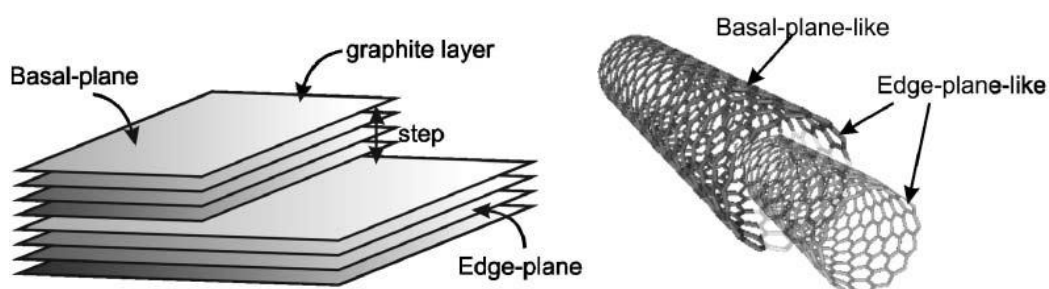
Figura 2 - Número de publicações nos anos 2000-2015. Base de dados “*sciencedirect.com*”. Busca: “*sensor*” e “*carbon nanotubes*”.



Fonte: Autor, 2014.

NTC funcionalizados tem suas características melhoradas, como maior número de arestas, atividade superficial, grande eficiência catalítica e maior número de grupos funcionais (YANG, 2014). Assim, algumas das propriedades dos NTC têm sido relacionadas às do grafite pirolítico altamente ordenado (HOPG), Figura 3. As extremidades abertas dos NTC têm sido relacionadas com o plano “edge” do HOPG, e as paredes do tubo devem apresentar propriedades similares às do plano basal, que apresenta uma cinética de transferência de elétrons lenta enquanto os sítios localizados nas bordas favorecem o processo redox (SANTHIAGO, 2010).

Figura 3 - Representação esquemática dos planos basal e bordas do grafite e seus análogos em MWCNT.

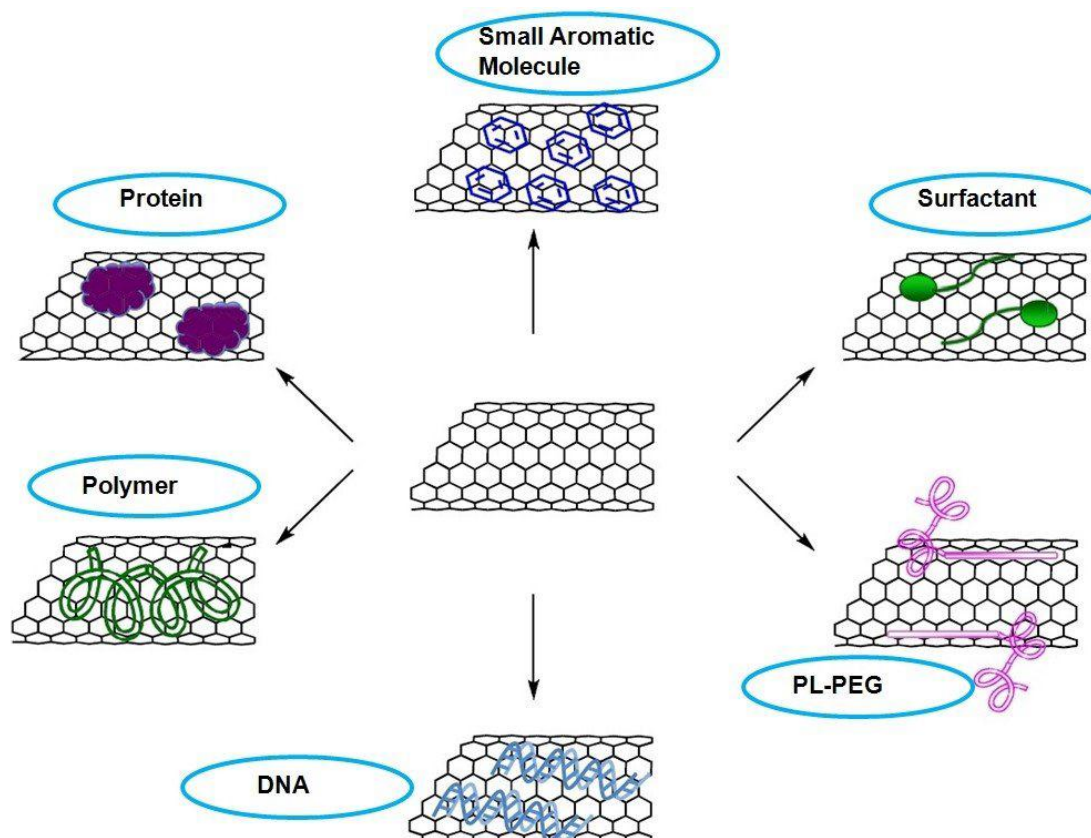


Fonte: Adaptado de ADAN et al., 2007.

A estrutura dos NTC os torna muito estáveis devido a sua grande energia de atração inter-tubos, e assim são praticamente insolúveis na maioria dos solventes. Neste contexto, um grande desafio em se trabalhar com NTC é sua solubilidade. Uma das alternativas para superar este problema é a funcionalização dos NTC com outros materiais, tais como polímeros, proteínas, DNA, enzimas (Figura 4), para melhorar sua dispersão e compatibilidade com as amostras e espécies biológicas-alvo. Assim, estas estratégias levam ao aumento na eficiência no reconhecimento molecular do analito.

Na Figura 4 é apresentada, de forma simples, a funcionalização de NTC com diferentes materiais (proteínas, moléculas aromáticas, surfactantes, polímeros, DNA e fosfolípido de polietilenoglicol (PL-PEG), entre outros.

Figura 4 - Representação da funcionalização de NTC com diferentes moléculas.



Fonte: Adaptado de Yang et al., 2014.

A pesquisa em direção à nanociência têm sido intensa nos últimos anos, especialmente em relação às suas aplicações científicas e tecnológicas. Além disso, existe um esforço considerável para a utilização de nanomateriais na eletroquímica, devido às suas propriedades físico-químicas e eletroquímicas únicas.

Diferentes tipos de materiais nanoestruturados, incluindo metais nobres, nanotubos de carbono, óxidos e compósitos têm sido utilizados em eletroquímica, eletrocatalise e células combustíveis, por exemplo (RAZMI, 2010).

1.3.1 Funcionalização com nanomateriais metálicos

A aplicação de nanomateriais ou partículas de óxidos metálicos surgiu como uma alternativa atrativa nos últimos anos, uma vez que as propriedades físicas e químicas são diferentes, com uma série de pesquisas bem sucedidas e um importante progresso foi observado após trabalhar com esses materiais (CHEN, 2013).

A preparação de nanoestruturas de óxidos metálicos empregando Co, Fe, Ni e Cu têm atraído considerável atenção devido a relatos de suas aplicações em eletrocatalise. Materiais a base de cobalto, em particular, têm sido amplamente usados para o sistema de armazenamento de energia, filmes eletrocromicos e catálise heterogênea, principalmente devido à sua excelente atividade eletrocatalítica para vários compostos (TIAN, 2010).

Eletrodos quimicamente modificados com óxidos são preparados principalmente por deposição eletroquímica porque levam a filmes uniformes, alto grau de aderência, elevado grau de pureza e menor tamanho das partículas e curto tempo de formação (RAZMI, 2010). Além disso, as características do filme podem ser facilmente determinadas por meio dos parâmetros que afetam o processo de eletrodeposição, tais como: concentração de metais, o número de ciclo de varredura de potencial, solvente e eletrólito de suporte (ARVINTE, 2010).

A utilização de um nano-híbrido foi relatado por Silva *et al.*, (2013). Neste trabalho foi desenvolvido um híbrido formado de MWCNT e nanobastões de ouro para oxidação de cisteína (CYS). Os autores observaram o efeito sinérgico causado pela construção do nano-híbrido. O sensor apresentou excelente potencial de detecção de 0,00 V vs. Ag/AgCl, faixa linear de resposta 5-200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, limite de detecção 8,25 nmol L^{-1} e sensibilidade de 120 $\text{nA L } \mu\text{mol}^{-1}$. Além disso, os analitos ácido úrico (AU), nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH) e N-acetilcisteína (NAC) não mostraram interferir na determinação de CYS no sensor proposto.

Os óxidos mistos surgem como uma alternativa para alterar a atividade eletrocatalítica de óxidos simples. Estes são utilizados para melhorar as propriedades do eletrodo por meio de efeitos sinérgicos que surgem a partir da interação dos componentes. Óxidos mistos são envolvidos em aplicações analíticas devido ao equilíbrio entre estabilidade, vida útil e baixo custo (ARVINTE, 2010).

A atividade electrocatalítica de materiais de óxidos metálicos pode ser melhorada pela presença de materiais de carbono, que contribuem para o aumento da área superficial específica e facilitam a transferência de elétrons.

Os filmes de óxido de cobalto já foram utilizados para detectar diferentes moléculas como, glicose, cisteína, propilamina, hidroquinona e metanol (TIAN, 2010). Tian *et al.* (2010) modificaram o eletrodo com filmes de cobalto para melhorar o desempenho do sensor para oxidação de Ácido Ascórbico (AA). Os autores relatam uma excelente performance para determinação de AA e com rápida resposta. Foram obtidos resultados satisfatórios em seletividade, estabilidade e repetibilidade, para determinação de AA em sucos de laranja, morango e uva. Sob condições otimizadas (solução tampão, pH 8,0), o dispositivo apresentou potencial de detecção, faixa linear de resposta e limite de detecção de 0,400 V *vs.* Ag/AgCl, 30-100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Chen *et al.*, (2013) desenvolveram um sensor amperométrico com sistema de injeção em fluxo à base de nanofolhas de óxido de cobalto para detecção electrocatalítica de NADH. Os autores utilizaram técnicas de caracterização de superfície para comprovar as estruturas em nanofolhas. Assim, sob condições otimizadas (solução tampão, pH 6,0), o sensor apresentou potencial de detecção, faixa linear de resposta e limite de detecção de 0,100 V *vs.* Ag/AgCl, 10-100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 4,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O sensor se apresentou seletivo quando comparado à interferentes comuns, tais como dopamina, ácido úrico, epinefrina, serotonina, histamina e 4-acetaminofenol.

A utilização dos nanomateriais em electrocatálise já é bem descrita na literatura, como alguns exemplos citados acima, entretanto, as moléculas orgânicas apresentam grupos com funcionalidades que chamam bastante atenção para seu emprego na construção de dispositivos, e alguns trabalhos já foram relatados nesse sentido. A seguir, são apresentados trabalhos com a utilização de substâncias orgânicas, particularmente o ácido ferúlico.

1.3.2 Funcionalização com Substâncias Orgânicas

A utilização de moléculas orgânicas na construção da arquitetura molecular dos sensores electroquímicos tem sido relatada na literatura para determinação de diversos analitos. Entre esses compostos, podem ser citado nitrocomposto (LOPES, 2010), fenazina (SALIMI, 2011), quinona (SILVA, 2012), ftalocianina (ZUO, 2012), polímero (KUL, 2013) e quitosana (SHIEH, 2015), entre outros. A busca por novas moléculas com grupos funcionais estratégicos

tem sido uma forma de aproximar a química orgânica e a eletroquímica, dentro deste contexto, foi possível trabalhar com o ácido ferúlico, como apresentado a seguir.

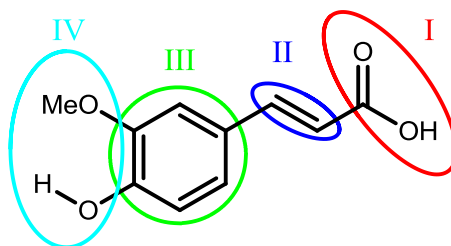
1.3.2.1 Ácido Ferúlico

Ácido ferúlico, ácido-4-hidroxi-3-metoxicinâmico (AF), Figura 5, é um composto fenólico muito encontrado no tecido de plantas. Sua estrutura foi determinada em 1886 por Hlasiwetz Barthalém, quando o isolou de uma planta do gênero *Ferula foetida*. Este ácido é um constituinte bioativo de muitos alimentos, tais como, grãos, frutas cítricas, banana, brócolis, entre outras. Apresenta propriedade antioxidante, consequência de seu núcleo fenólico. Desta forma, AF pode ser benéfico no tratamento e/ou prevenção de distúrbios ligados ao estresse oxidativo, como doença de Alzheimer, diabetes, câncer, hipertensão e aterosclerose (SILVA, 2011; LIU, 2014).

Em consequência das importantes atividades biológicas observadas para o AF, alguns estudos podem ser direcionados tanto para investigação das propriedades supracitadas quanto para sua determinação/quantificação (MARTÍN, 2012). Em trabalho recente, Liu *et al.*, (2014) desenvolveram um eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido para determinar AF em *A. sinensis* e amostra biológica. Neste trabalho, os autores caracterizaram a morfologia utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia Raman. O óxido de grafeno reduzido foi eletrodepositado na superfície do eletrodo de carbono vítreo utilizando o método potenciostático. Em condições otimizadas, obteve-se uma faixa linear de resposta de $8,49 \times 10^{-8} - 3,89 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $2,06 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

A utilização do AF com nanotubos de carbono já foi estudada por nosso grupo de pesquisa (SILVA, 2011). Neste trabalho, o sensor foi utilizado para detecção de NADH. Foi possível determinar a constante catalítica utilizando duas técnicas distintas, a cronoamperometria e o eletrodo de disco rotatório (EDR). Recentemente, o óxido de grafeno reduzido com AF foi relatado (HAN, 2014), para a determinação de dopamina na presença de ácido ascórbico.

Figura 5 - Subunidades estruturais do Ácido Ferúlico.



Fonte: Autor, 2014.

O AF possui uma estrutura química relativamente simples, isto viabiliza o uso como um bom candidato a mediador, o AF possui subunidades estruturais químicas estratégicas (Figura 5). Estas subunidades podem desempenhar papéis fundamentais na confecção de um eletrodo quimicamente modificado:

- I) O grupo carboxila é fundamental, pois permite a introdução de enzimas;
- II) A dupla ligação permite a conjugação entre a parte aromática e a carboxila ajudando a estabilizar espécies transientes formadas, o que é importante, pois diminui o sobrepotencial de oxirredução, além disso, possui a capacidade de inicializar estruturas semelhantes às ligninas;
- III) O anel aromático, altamente conjugado pode estabilizar radicais e cátions formados, possibilitar ainda a formação de polímeros e conferir alta estabilidade;
- IV) A hidroxila fenólica localizada na posição *para*, portanto conjugada com II e I, pode perder elétrons de forma relativamente fácil, para constituir um possível par redox; relação *orto* a metoxila, que após hidrólise forma uma *orto* quinona (SILVA, 2011).

1.4 ANALITOS EM INVESTIGAÇÃO

1.4.1 Peróxido de Hidrogênio

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um dos oxidantes mais versáteis que existe. Está presente em inúmeras reações biológicas como produto de várias oxidases, e é um parâmetro importante na quantificação de processos biológicos. O peróxido de hidrogênio é também importante nas áreas de alimentos, medicamentos, monitoramento de processos, dentre outros (LI, 2010; QIN, 2011).

O H_2O_2 é uma das principais espécies reativas de oxigênio nos organismos vivos. O H_2O_2 presente em células vivas pode levar a danos nas células e desenvolvimento de câncer. O H_2O_2 também desempenha um papel significativo no branqueamento de têxteis e papel, esterilização e no tratamento de minerais e de vários produtos (YIN, 2011). Em altas

concentrações, provoca irritação nos olhos e na pele e afeta a saúde humana (LIN, 2010), além disso, muitas reações enzimáticas geram H_2O_2 como um produto final, de modo que a sua concentração pode ser utilizado como um indicador do progresso de um processo bioquímico (ZHAO, 2009).

O H_2O_2 pode ser determinado por volumetria, espectrofotometria, fluorimetria, quimiluminescência, algumas vezes com o emprego de fibra óptica, cromatografia e métodos eletroquímicos. Com exceção dos métodos eletroquímicos, os métodos citados, em sua maioria são vulneráveis a espécies interferentes, apresentam morosidade no tocante ao preparo de amostra e geralmente requerem o uso de reagentes de preços elevados (MATTOS, 2003).

A determinação de resíduos de H_2O_2 e o estudo de seus mecanismos reacionais são de grande importância em aplicações químicas, biológicas e clínicas, bem como na indústria de alimentos. Assim, diversos procedimentos de modificações químicas e eletroquímicas nas superfícies dos eletrodos de trabalho têm sido pesquisados, alguns EQM são mostrados a seguir para uma melhor compreensão do estado da arte para determinação de H_2O_2 .

1.4.1.1 O EQM para determinação de H_2O_2

A capacidade de manipular a arquitetura molecular da matriz do eletrodo e sua superfície, em particular, tem conduzido a uma ampla extensão de aplicações analíticas dos EQM e criado poderosas oportunidades para o campo da eletroanálise (PERCY, 2005; LIMA, 2009). Neste sentido, muitos pesquisadores têm utilizado vários compostos para modificar superfícies de eletrodos de diferentes maneiras, os quais apresentam atividade catalítica para a oxidação de H_2O_2 , composto de nosso interesse, permitindo a diminuição dos altos potenciais de oxidação dos mesmos.

Assim, Guzmán *et al.* (2009) desenvolveram um sensor amperométrico a base nanotubos de carbono e compósito de Dopamina-Pt para detecção eletrocatalítica de H_2O_2 . Os autores verificaram que a presença do compósito protegeu o eletrodo da passivação, demonstrando efeito eletrocatalítico frente à H_2O_2 . Assim, sob condições otimizadas (H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}) o dispositivo apresentou potencial de detecção, faixa linear de resposta, limite de detecção e quantificação de -0,4 V *vs.* NHE, 0-5000 $\mu\text{mol } L^{-1}$, 344,1 $\mu\text{mol } L^{-1}$ e 1147,2 $\mu\text{mol } L^{-1}$, respectivamente.

Li *et al.* (2010), visando o desenvolvimento de novos dispositivos com melhor desempenho, modificaram o eletrodo com nanopartículas de ouro e óxido de manganês. Os autores observaram um efeito sinérgico da modificação, o qual apresentou propriedade

eletrocatalítica frente à oxidação de H_2O_2 . Sob condições otimizadas (solução tampão, pH 7,28), o dispositivo apresentou potencial de detecção, faixa linear de resposta e limite de detecção de 0,65 V vs. Ag/AgCl, 78-836 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 0,0468 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Yin *et al.* (2011) também desenvolveram um sensor amperométrico a base de hidróxidos duplos lamelares (LDH), cobalto/alumínio para detecção eletrocatalítica de H_2O_2 . Os autores verificaram que a utilização de LDH melhorou a estabilidade do sensor. Assim, sob condições otimizadas (solução NaOH 0,1 mol L^{-1}), o dispositivo apresentou potencial de detecção, faixa linear de resposta e sensibilidade de 0,49 V vs. Ag/AgCl, 0,2-674 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,09761 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$, respectivamente.

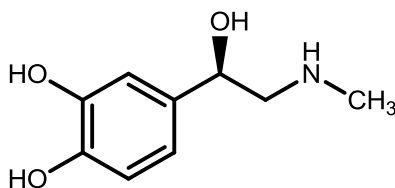
Wang *et al.* (2013) desenvolveram um sensor a base de um eletrodo modificado com microesferas de óxido de cobre com detecção amperométrica de H_2O_2 . As microesferas foram sintetizadas em única etapa em microondas, seu diâmetro foi determinado na faixa de 2,5-4 μm . Sob condições otimizadas (solução NaOH 0,1 mol L^{-1}), o sistema de detecção apresentou potencial de detecção, faixa linear, limite de detecção (LD) e sensibilidade de 0,7 V vs. Ag/AgCl, 10-200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 0,125 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,1392 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$, respectivamente.

1.4.2 Epinefrina

A Epinefrina (EP) ou adrenalina (Figura 6) é um hormônio secretado pela glândula suprarrenal, 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, no cérebro, a EP funciona como um neurotransmissor. Fora do sistema nervoso, EP é liberada principalmente pela medula adrenal e pelo sistema nervoso periférico, servindo de mediador químico para a transmissão de impulsos nervosos (MOTTA, 2011; THOMAS, 2014).

Os níveis de concentração de EP são intimamente relacionados com muitos fenômenos da vida, e muitas doenças estão relacionadas com as variações da concentração de EP no organismo, como: bronquite asmática, infarto do miocárdio, diabetes, hipertensão arterial, glaucoma e Parkinson. (MORAES, 2010). Portanto, a detecção e quantificação de EP pode nos ajudar a entender as condições e os efeitos no sistema nervoso, o que é de grande importância para as ciências da vida. (LUO, 2012).

Figura 6 - Estrutura química da *L*-epinefrina.



Fonte: Autor, 2014.

1.4.2.1 EQM para determinação de EP

Ozeoemena *et al.*, (2008), utilizaram um eletrodo de ouro modificado com nanotubos de carbono de paredes simples, cisteamina e ftalocianina de cobalto para detecção de EP. Aplicando um potencial de $0,2 \text{ V s}^{-1}$ vs. Ag/AgCl, em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 7,0, obtiveram faixa linear de $12,2\text{-}130 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, LD de $6 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e sensibilidade de $9,4 \text{ }\mu\text{A L mmol}^{-1}$.

Sivanesan *et al.*, (2008), utilizaram também um eletrodo de ouro, e filmes moleculares auto-organizados de ftalocianina de níquel para determinar EP. Obtiveram um LD de $0,05 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, porém o potencial de detecção aplicado $0,55 \text{ V s}^{-1}$ vs. Ag/AgCl, em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 7,0, não foi seletivo, além disso apresentou uma faixa linear muito estreita de $0,05\text{-}0,5 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$.

Para contornar alguns problemas como faixa linear estreita, Beitollahi *et al.*, (2008), construíram um sensor a base de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes duplas e o complexo de 2,2`-[1,2-dietanobis(etanonitrila)]-bis-hidroquinona para detectar EP. Os autores relataram um aumento na faixa linear de resposta $0,7\text{-}1200 \text{ }\mu\text{mol}^{-1}$, os analitos ácido glutâmico, glicina, acetoaminofenol e NADH não apresentaram interferência, além disso, o dispositivo foi utilizado para determinar EP em soro de sangue humano.

Um eletrodo de pasta de carbono, nanotubos de carbono e surfactante foi relatado por Thomas *et al.*, (2014) para determinar EP. Neste trabalho, foi aplicado um potencial de $0,2 \text{ V s}^{-1}$ vs. SCE, em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 7,0. Os autores relataram excelente sensibilidade de $610 \text{ }\mu\text{A L mmol}^{-1}$ e LD $0,045 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, porém a faixa linear é muito pequena $0,1\text{-}1 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$.

Como pode ser observado, existe na literatura uma ampla variedade de agentes modificadores, com diferentes métodos de imobilização, o que possibilita a construção de novos tipos de configurações de eletrodos modificados para EP.

1.5 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

Baseado nos aspectos apresentados até o presente momento, esta introdução teve como objetivo enfatizar de forma não exaustiva a importância dos estudos de vários dispositivos em diferentes suportes para detecção e quantificação de Peróxido de Hidrogênio e Epinefrina, buscando mostrar, principalmente, seus desempenhos analíticos.

Por outro lado, alguns desses trabalhos discutidos ao longo desta introdução ainda persistem em apresentar uma série de limitações como baixa sensibilidade, instabilidade da fase sensora ou pequenas constantes de velocidade, entre outros. Por essa razão, há uma busca contínua por novas interfaces que possibilitem melhores desempenhos, justificando, portanto, a utilização de novos materiais na construção de sensores eletroquímicos.

Com o intuito de contornar tais problemas, o presente trabalho apresenta o emprego de duas diferentes modificações para configuração da fase sensora para oxidação eletroquímica dos analitos selecionados. Assim, o óxido de cobalto foi utilizado para peróxido de hidrogênio, e o ácido ferúlico para epinefrina. Assim, os sistemas são discutidos a seguir.

2 OBJETIVOS GERAIS

Os objetivos deste trabalho de tese foram desenvolver e caracterizar sensores amperométricos baseados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas e seus modificadores, na perspectiva de obter melhor desempenho em termos de ganho de potencial aplicado, de aumento da estabilidade, de sensibilidade e da faixa de resposta para detecção eletroquímica dos analitos selecionados.

2.1 Objetivos específicos

Desenvolver um sensor amperométrico utilizando nanotubos de carbono e óxido de cobalto para determinação de peróxido de hidrogênio;

Desenvolver um sensor amperométrico utilizando nanotubos de carbono e ácido ferúlico para a determinação de epinefrina;

Caracterizar os eletrodos quimicamente modificados;

Investigar o comportamento eletroquímico dos sensores propostos na ausência dos analitos;

Calcular os parâmetros cinéticos na ausência dos analitos;

Investigar o comportamento eletrocatalítico frente a H_2O_2 e a EP;

Calcular as constantes catalíticas;

Obter curvas analíticas e determinar seus parâmetros, tais como LD, LQ, sensibilidade e faixa linear de resposta;

Otimizar as condições experimentais;

Comparar os dados obtidos com outros sensores publicados na literatura.

3 EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os seguintes reagentes foram adquiridos de Sigma-Aldrich e utilizados sem qualquer tratamento prévio:

Ácido clorídrico (HCl);

Epinefrina (EP);

Fosfato de sódio monobásico monoidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$);

Fosfato de sódio dibásico diidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);

Hidróxido de sódio (NaOH);

Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT);

N,N-dimetilformamida (DMF);

Peróxido de hidrogênio (H_2O_2);

Sulfato de cobalto heptahidratado ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$);

Sulfato de sódio (Na_2SO_4).

As soluções foram preparadas usando água purificada em um sistema Milli-Q Millipore e os valores das soluções tampão foram ajustadas com um pHmetro.

3.2 EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

As micrografias foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Shimadzu VEGA3 com detectores de elétrons secundários (SE) e retroespalhados (BSE) (Figura 7A). O eletrodo foi metalizado com ouro utilizando um sistema de revestimento (Quorum Technologies LTD, shford, modelo Q150R) (Figura 7B).

Figura 7 - (A) MEV da Shimadzu, (B) Metalizador da Quorum.



Fonte: (A) <http://www.shimadzu.com.br/analitica/produtos/surface/sem/catalogos/vega.pdf>

(B) <http://www.quorumtech.com/q150r-rotary-pumped-sputter-coater-carbon-coater.html>.

Um potenciostato modelo PGSTAT30 Eco Chemie da AUTOLAB (Utrecht, The Netherlands), interfaceado a um microcomputador (software: NOVA 1.10), foi empregado para as medidas eletroquímicas (Figura 8A). Além disso, nos estudos amperométricos para obtenção da curva analítica foi empregado um eletrodo de disco rotatório (EDR) (Figura 8B), com uma velocidade de rotação otimizada (100 rpm).

Figura 8 – (A) Potenciostato modelo PGSTAT30 *Eco Chemie*, (B) EDR da AUTOLAB.

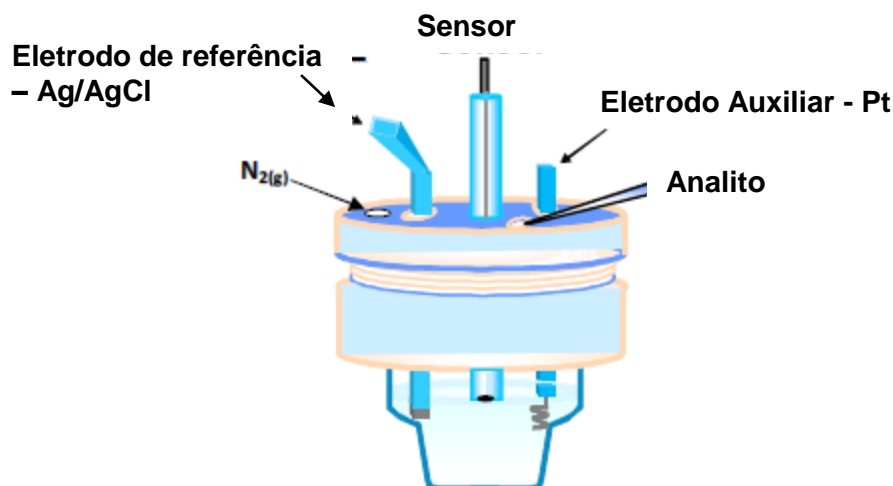


Fonte: Lopes, 2010.

Uma célula eletroquímica com três eletrodos foi usada, sendo o eletrodo de referência um Ag/AgCl (KCl saturado), um fio de platina como eletrodo auxiliar e um eletrodo de carbono vítreo (Metrohm®; $\phi = 0,3$ mm) com a superfície modificada ou não como eletrodo de trabalho. Estes foram usados para todas as medidas (Figura 9).

As medidas foram realizadas usando 5,0 mL de solução (tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0 ou NaOH 0,1 mol L⁻¹). A eliminação de oxigênio dissolvido foi feita pelo borbulhamento de um fluxo de nitrogênio, nas soluções durante 10 min antes das análises.

Figura 9 - Modelo esquemático da célula eletroquímica utilizada em todos os experimentos.



Fonte: Autor, 2014.

3.3 MÉTODOLOGIA

3.3.1 Limpeza do eletrodo de carbono vítreo

O ECV foi polido em alumina ($\phi = 0,1; 0,3$ e $1,0 \mu\text{m}$), lavado com água milli-Q, levado ao ultrassom por 30 s em etanol e lavado novamente com água destilada. A limpeza do eletrodo foi verificada por voltametria cíclica, utilizando uma sonda eletroquímica bem conhecida, o ferrocianeto de potássio, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1 mmol L⁻¹ em KCl 0,05 mol L⁻¹, um sistema reversível, em potenciais adequados. Em seguida, o ECV foi lavado com água milli-Q e seco à temperatura ambiente (SILVA, 2012).

3.3.2 Preparo das soluções de H₂O₂ e EP

Solução de H₂O₂ – em um eppendorf, foi adicionado o volume de 11,2 μL de H₂O₂ (30%, m/m) e adicionado 1,0 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Esta solução estoque de concentração 0,1 mol L⁻¹ foi preparada, e por diluição, os volumes foram calculados para as respectivas

concentrações desejadas para o volume de 5 mL da célula eletroquímica. Esta solução foi preparada antes das análises e utilizada no mesmo dia.

Solução de EP - em um eppendorf, foi pesada uma massa em mg e adicionado um volume de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 para se obter uma solução estoque de 10 mM. Utilizando a solução estoque, por diluição, os volumes foram calculados para as correspondentes concentrações desejadas para o volume de 5 mL da célula eletroquímica. Esta solução foi preparada antes das análises e utilizada no mesmo dia.

3.3.3 Modificação do ECV com MWCNT

Em um eppendorf, foi pesado 1,0 mg de MWCNT e adicionado 1,0 mL de DMF. Esta dispersão ficou sob agitação no ultrassom, por 2 h. Alíquotas de $1 \mu\text{L}$ da dispersão de MWCNT foram depositadas na superfície do ECV. Essa foi seca em estufa a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 min entre cada adição das alíquotas. Esta dispersão foi preparada antes das análises e pôde ser armazenada em temperatura ambiente e utilizada em outros experimentos por até três meses.

3.3.3.1 Modificação do ECV/MWCNT com óxido de cobalto

O ECV após aplicação de $6 \mu\text{L}$ da dispersão de MWCNT foi imerso numa solução de Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. A modificação ocorreu por meio da voltametria cíclica na faixa de potencial entre -1,0 a 1,0 V *vs.* Ag/AgCl, $v = 0,050 \text{ Vs}^{-1}$, 20 ciclos, no sentido anódico. Após esse procedimento, o eletrodo foi removido da solução, lavado com água milli-Q e colocado em uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para iniciar os experimentos (TIAN, 2010).

3.3.3.2 Modificação do ECV/MWCNT com ácido ferúlico (AF)

O ECV após aplicação de $4 \mu\text{L}$ da dispersão de MWCNT foi imerso numa solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,5 e $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ de AF foi adicionado. A modificação ocorreu por meio da voltametria cíclica na faixa de potencial entre -0,25 a 0,75 V *vs.* Ag/AgCl, $v = 0,020 \text{ Vs}^{-1}$, 10 ciclos, no sentido anódico. Após esse procedimento, o eletrodo foi removido da solução, lavado com água milli-Q e colocado em uma nova solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 para iniciar os experimentos (SILVA, 2011).

3.3.4 Determinação da área ativa (A)

A área ativa dos sensores foi calculada, utilizando ferricianeto de potássio como sonda eletroquímica e a equação de Randles-Sevcik (Equação 1):

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

Sendo D e C_o o coeficiente de difusão e concentração do ferricianeto de potássio no seio da solução, respectivamente. Experimentos de voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura foram realizados nos sensores em uma solução de $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

A partir das inclinações de I_p vs. $v^{1/2}$ e utilizando $D = 7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, $n = 1$ (SILVA, 2012), a área ativa foi calculada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SENSOR AMPEROMÉTRICO BASEADO EM NANOTUBOS DE CARBONO E ÓXIDO DE COBALTO PARA DETECÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

4.1.1 Caracterização do eletrodo modificado

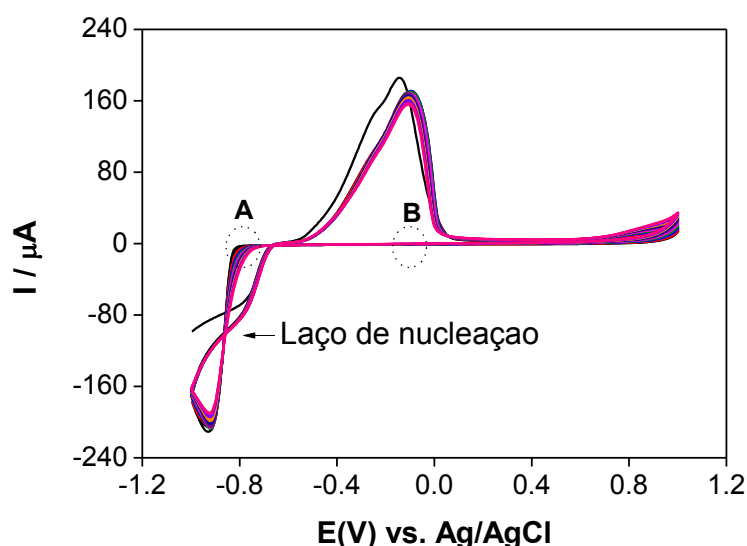
Inicialmente, vários estudos foram realizados com o intuito de verificar as propriedades eletroquímicas do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e óxido de cobalto (ECV/MWCNT/Co). Através de voltametria cíclica foi possível caracterizar eletrodos modificados pela obtenção de informações sobre as reações de oxidação/redução nos eletrodos. Assim, o óxido de cobalto foi formado na superfície do ECV modificado com nanotubos de carbono, aplicando-se uma faixa de potencial -1,0 a +1,0 V vs. Ag/AgCl (0,1 mol L⁻¹) para eletrodeposição, em sulfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ e sulfato de cobalto 0,01 mol L⁻¹, em velocidade de varredura de potencial de 0,05 V s⁻¹ (Figura 10).

A eletrodeposição das partículas de óxido de cobalto ocorreu diretamente sobre a superfície do ECV/MWCNT por meio de varreduras sucessivas de potencial, Figura 10. De acordo com a metodologia descrita por Tian *et al.*, (2010), foi bem descrito que a eletrodeposição permite a obtenção de filmes uniformes, podendo ser utilizados substratos de qualquer formato e com controle da espessura e quantidade de material depositado (BENEDETTI 2011).

A partir da Figura 10, é possível verificar um perfil voltamétrico característico do processo de eletrodeposição do óxido de cobalto como pode ser observado na literatura científica. Após varreduras sucessivas de potencial, no sentido anódico, observa-se um pico de oxidação na faixa de potencial entre -0,6 V a 0,0 V vs. Ag/AgCl. Este pico corresponde à dissolução da camada de cobalto depositada, o qual pode ser relacionado à oxidação das espécies formadas na faixa de potencial entre -0,6 V e -1,0 V vs. Ag/AgCl. Este pico é correspondente à reação $\text{Co}^{+2} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Co}_{(\text{s})}$ (SALIMI, 2007). Além disso, nos voltamogramas cíclicos, há presença de um laço de nucleação, isto ocorre sempre que o material a ser depositado for de natureza diferente daquele do substrato. O laço de nucleação aparece quando a corrente elétrica dispara em um valor mais alto, em módulo, (região A) do que aquele esperado para eletrodos de trabalho de mesma natureza do íon a ser reduzido (região B), corroborado por outros trabalhos reportados na literatura científica (SALIMI, 2007; STENGER, 2008; RAZMI, 2010).

Alguns trabalhos relatam estratégias de modificações semelhantes utilizando óxido de cobre (STENGER, 2008), óxido de manganês (BENEDETTI, 2011), folhas de prata (QIN, 2011) e óxido de cobalto (RAZMI, 2010). Stenger (2008) obteve filmes finos de óxido de cobre pela eletrodeposição potenciostática de solução eletrolítica contendo CuSO_4 , ácido láctico e NaOH , caracterizando por difração de raio X (DRX) e espectroscopia Raman que o material depositado é óxido de cobre do tipo I, CuO_2 .

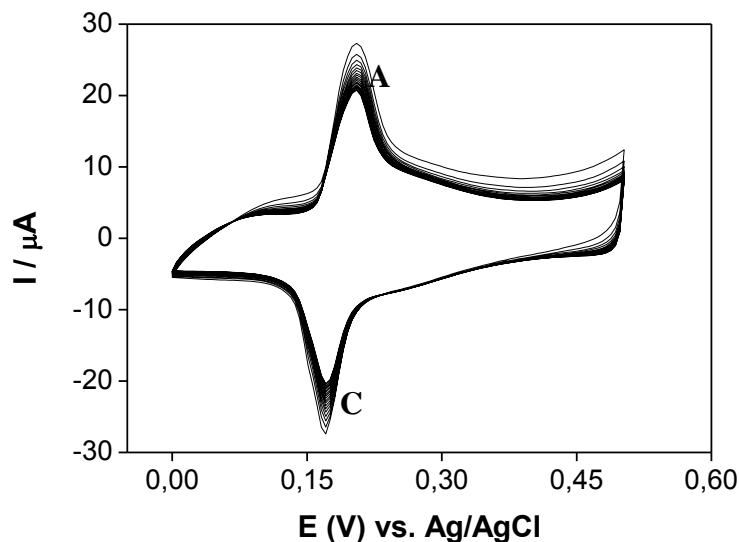
Figura 10 - Voltamogramas cíclicos obtidos para a formação do óxido de cobalto, $\nu = 0,050 \text{ V s}^{-1}$. $E_{\text{inicial}} = -1,0 \text{ V}$, $E_{\lambda} = +1,0 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl , varredura no sentido anódico. Condições empregadas: solução de sulfato cobalto $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e sulfato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2014.

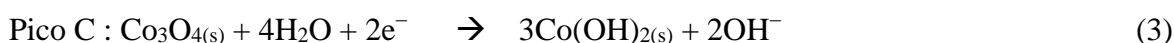
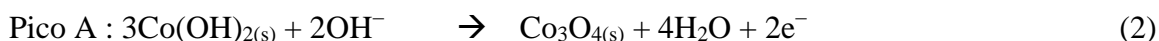
A Figura 11 mostra voltamogramas do ECV/MWCNT/Co em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Na faixa de potencial estudada ($0,0 \text{ V}$ à $+0,5 \text{ V}$) é possível observar um par redox reversível com potencial formal [$E^{0'} = (E_{\text{pa}} + E_{\text{pc}})/2$] de $+0,175 \text{ V}$. Um pico é observado em $0,19 \text{ V}$ durante a varredura anódica e um pico é observado em $0,16 \text{ V}$ durante a varredura catódica, correspondentes à oxidação e redução do óxido de cobalto ($\text{Co(II)/Co}_3\text{O}_4$), respectivamente. No entanto, a caracterização do par redox supracitado ainda não está definida, uma vez que diferentes espécies de óxidos, tais como Co_3O_4 , CoO , Co_2O_3 , CoOOH e CoO_2 , podem ser formadas com várias estruturas cristalográficas, o que resulta num comportamento eletroquímico complexo (COWLING, 1969; RAZMI, 2010; SALIMI, 2007).

Figura 11 - Voltamogramas cíclicos em ECV/MWCNT/Co, em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, $\nu = 0,100 \text{ V s}^{-1}$. $E_{\text{inicial}} = 0,0 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = 0,5 \text{ V}$, varredura no sentido anódico.



Fonte: Autor, 2014.

Assim, tendo como referencial o trabalho de Tian *et al.* (2010), o pico anódico pode ser atribuído à reação de oxidação de Co(II)/Co₃O₄, e o pico catódico corresponde à redução do óxido do cobalto gerado, como sugerido pelo mecanismo abaixo, equações 2 e 3, respectivamente (BURKE, 1982; SPATARU, 2003; RAZMI, 2010; TIAN, 2010):



Uma vez que o hidróxido participa do processo eletroquímico, a resposta redox depende do pH. Materiais à base de cobalto, quando utilizados como catalisadores heterogêneos, mostram boa estabilidade química e eletroatividade apenas em condições alcalinas (TIAN, 2010).

Após o processo de modificação, uma faixa de potencial foi selecionada de 0,0 a 0,5 V vs. Ag/AgCl, usando as mesmas condições do processo de ativação e assim, as características cinéticas do ECV/MWCNT/Co foram estudadas a partir do uso da voltametria cíclica. Os valores de “cobertura aparente de superfície” (Γ) do ECV/MWCNT/Co, dado em mol cm⁻², foram obtidos integrando a carga (Q) do pico anódico (BARD e FAULKNER, 2001):

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \quad (4)$$

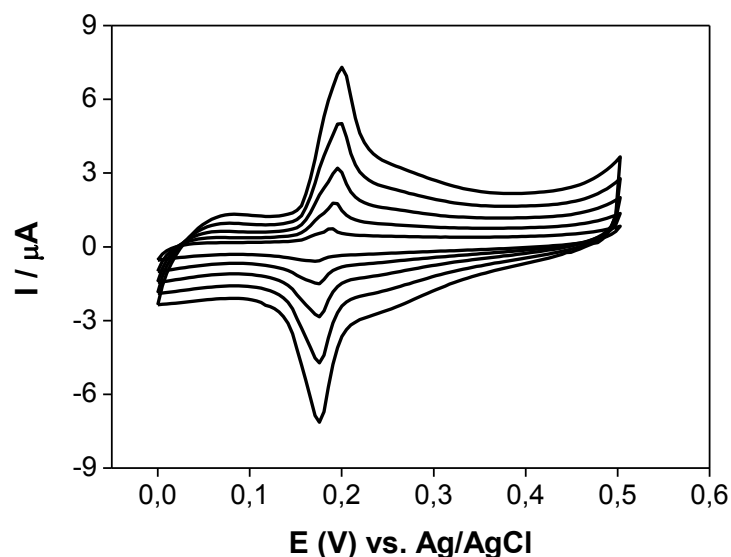
Sendo A a área geométrica, n o número de elétrons envolvidos na transferência de carga por molécula ($n = 2$) e F a constante de Faraday.

A partir dos voltamogramas cíclicos, Q foi calculado e apresentou um valor de $2,47 \times 10^{-6}$ C, após a correção da linha de base. Assim, o Γ foi calculado e apresentou um valor de $2,80 \times 10^{-11}$ mol cm^{-2} ($v = 100$ mVs^{-1}). Este valor está em concordância com os valores reportados recentemente na literatura (SALIMI, 2007; RAZMI, 2010).

O sucesso do processo eletrocatalítico frente à detecção de H_2O_2 depende fundamentalmente da eficiência do material eletrodepositado na superfície do eletrodo. Assim, para garantir que a etapa limitante da reação química acoplada não seja a velocidade de formação dos estados de transição das espécies oxidada e reduzida, faz-se necessário o estudo prévio para calcular o valor da constante de velocidade de transferência heterogênea de elétrons (κ_s), justificando, portanto, os estudos a seguir.

Após o processo de modificação, uma faixa de potencial foi selecionada usando as mesmas condições do processo de ativação e assim, as características cinéticas do ECV/MWCNT/Co foram estudadas a partir do uso da voltametria cíclica, como pode ser observado na Figura 12.

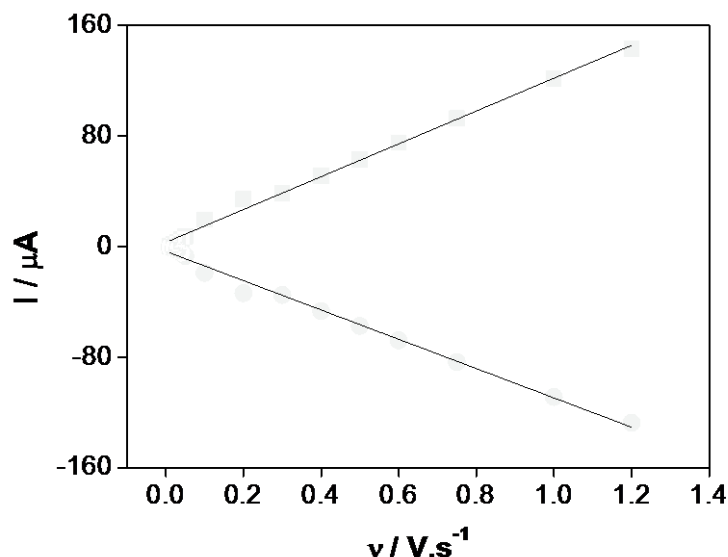
Figura 12 - Voltamogramas cíclicos em ECV/MWCNT/Co, em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, em diferentes velocidades de varredura (0,010 - 0,050 V s⁻¹), E_{inicial} = 0,0 V e E_λ = 0,5 V, varredura no sentido anódico.



Fonte: Autor, 2014.

Os voltamogramas cíclicos representativos obtidos para o ECV/MWCNT/Co são mostrados na Figura 12 para várias velocidades de varredura de potencial (0,005 - 0,050 V s⁻¹), entretanto, o experimento foi realizado até a velocidade de varredura de potencial igual a 1200 mV s⁻¹. A observação de picos voltamétricos persistentes e bem definidos, com uma relação linear entre as correntes de pico e a velocidade de varredura de potencial indica que o processo redox exibe características de espécies confinadas na plataforma nanoestruturada à base de nanotubos de carbono (LOPES, 2010) (Figura 13).

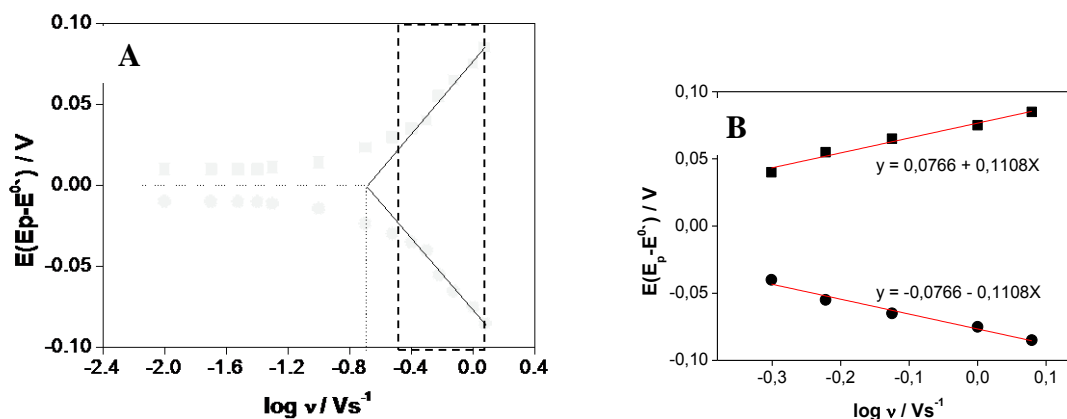
Figura 13 - Dependência da corrente de pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}) em função da velocidade de varredura, em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹.



Fonte: Autor, 2014.

O potencial formal [$E^0 = (E_{pa} + E_{pc})/2$] é praticamente independente da velocidade de varredura de potencial, sugerindo uma transferência de carga rápida na faixa de velocidade de varredura estudada 10-500 mV s⁻¹, como observado na Figura 14A.

Figura 14 - (A) Gráfico de Laviron, E_{pa} e E_{pc} vs. $\log v$. (B) Ampliação. Condições empregadas: solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹.



Fonte: Autor, 2014.

Por outro lado, para velocidades de varredura de potencial acima de 500 mV s⁻¹, a separação dos picos começa a aumentar, indicando uma limitação de cinética de transferência

de carga (Figura 14B). A partir das expressões gerais derivadas por Laviron (LAVIRON, 1979), foi possível calcular o κ_s para as respostas voltamétricas de varredura de potencial para o caso de espécies eletroativas confinadas na superfície eletródica (LAVIRON, 1979).

$$E_{pa} = E^0 + A \ln \left[\frac{1-\alpha}{m} \right] \quad (5)$$

$$E_{pc} = E^0 + B \ln \left[\frac{\alpha}{m} \right] \quad (6)$$

Para $E_{pa} - E_{pc} = \Delta E_p > 200/n$ mV:

$$\log \kappa_s = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log \alpha - \log \left(\frac{RT}{nFv} \right) - \frac{\alpha(1-\alpha)nF\Delta E_p}{2,3RT} \quad (7)$$

Sendo a $A = RT/(1 - \alpha)nF$, $B = RT/\alpha nF$ e $m = (RT/F) (\kappa_s / n\alpha)$. A partir dessas expressões e considerando $n = 2e^-$ (BURKE, 1982; SPATARU, 2003; RAZMI, 2010; TIAN, 2010), foi possível determinar o coeficiente de transferência de carga (α), pela medida da variação do potencial de pico com a velocidade de varredura de potencial (v), bem como a constante de velocidade de transferência de carga (κ_s) para a transferência de elétrons entre o eletrodo e a camada eletrogerada *in situ*.

Assim, a partir do gráfico de $E_p = f(\log v)$, verificam-se duas linhas retas com inclinações iguais a $-2,3 RT/\alpha nF$ e $2,3RT/(1-\alpha)nF$ para os picos catódico e anódico, respectivamente. Para velocidades de varredura acima de 500 mV s^{-1} , os valores de $\Delta E = (E_p - E^{0'})$ foram proporcionais ao logaritmo da velocidade de varredura como indicado por Laviron. Os gráficos são mostrados na Figura 14. Usando o gráfico e a expressão simplificada, Equação 8, os valores de α e κ_s foram 0,5 e $8,2 \text{ s}^{-1}$, respectivamente. O κ_s foi calculado a partir dos valores de v_a e v_b sendo $E_p - E^{0'} = 0$ (LAVIRON, 1979):

$$\kappa_s = \frac{\alpha n F v_c}{RT} = \frac{(1-\alpha) n F v_a}{RT} \quad (8)$$

O valor obtido para κ_s foi maior do que aqueles observados em alguns trabalhos reportados na literatura, exceto (SALIMI, 2011), além disso, os resultados obtidos para α e n estão em concordância com os apresentados na literatura e listados na Tabela 1. Estes resultados, indicam uma alta habilidade do óxido de cobalto em promover a transferência de

elétrons na superfície do eletrodo modificado com nanotubos de carbono. Uma simples comparação com os sistemas formados por óxidos de cobalto observa-se que a constante obtida neste trabalho é maior que esses sistemas citados, justificando então a necessidade da utilização dos NTC na construção do sensor.

Tabela 1: Parâmetros eletroquímicos e cinéticos de alguns eletrodos modificados.

Referência	Eletrodo	α	n	$\kappa_s(\text{s}^{-1})$
Salimi <i>et al.</i> , 2007	ECV/Óxido de cobalto	0,3		1
Razmi <i>et al.</i> 2010	ECV/Óxido de cobalto	0,74	1	0,26
Salimi <i>et al.</i> 2011	ECV/SWCNT/Complexo de Mn	0,42	1	48,84
Yin <i>et al.</i> 2011	ECV/(Co/Al)	0,55	2	3,59
Este trabalho	ECV/MWCNT/Co	0,5	2	8,2

Fonte: Autor, 2014.

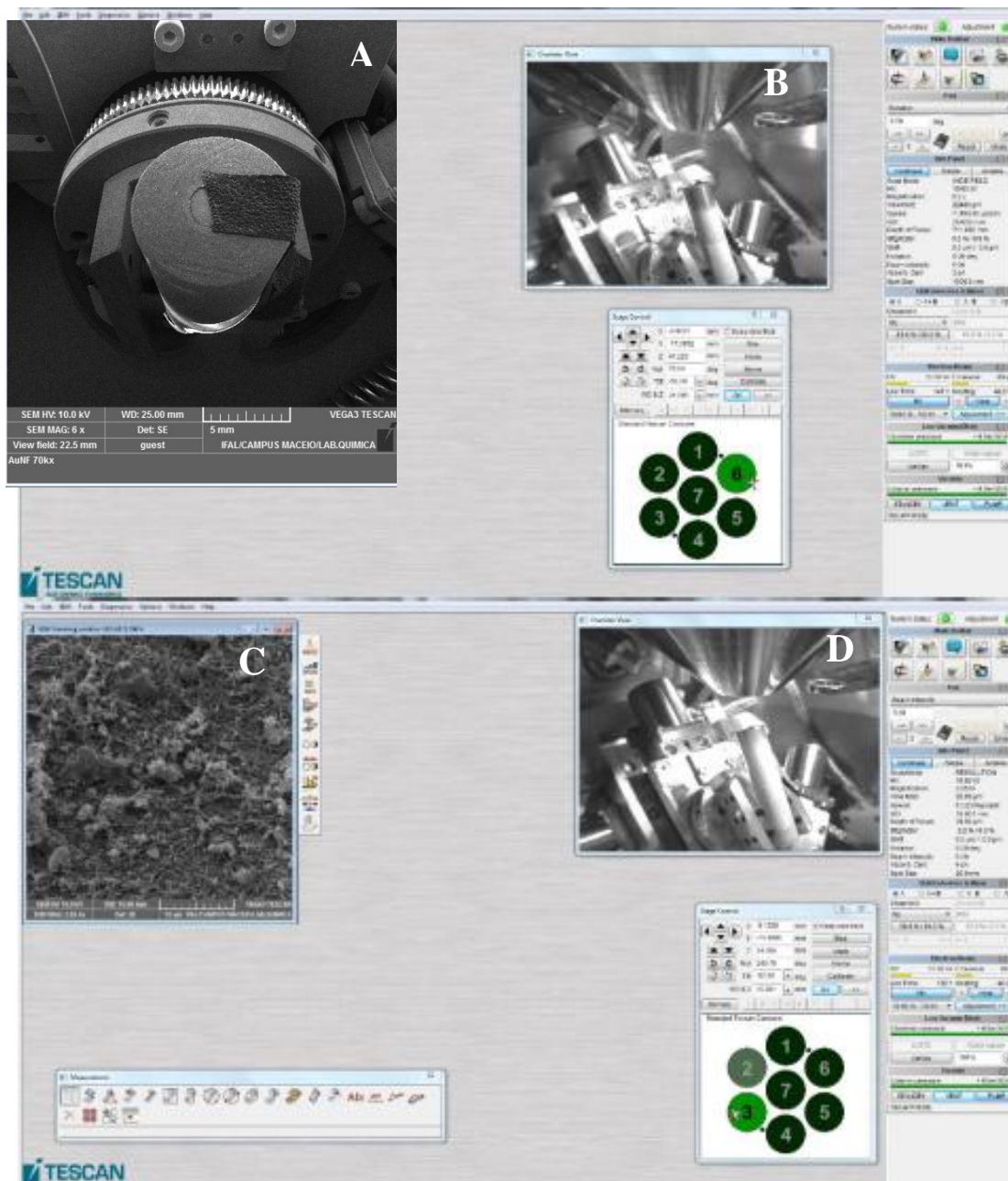
Para diagnosticar de forma detalhada o processo de eletrodeposição do óxido de cobalto sobre a superfície do eletrodo modificado com MWCNT, optou-se pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para os estudos de caracterização morfológica.

Várias imagens encontradas na literatura são obtidas após o processo de dispersão e seguido de deposição dos nanotubos de carbono sobre o porta-amosta, não refletindo, portando, as plataformas desenvolvidas, que de fato serão utilizadas durante os experimentos de detecção e quantificação do analito alvo.

Por outro lado, para contornar alguns problemas encontrados na literatura com relação à obtenção das imagens de superfície dos eletrodos modificados, particularmente neste trabalho todas as imagens foram obtidas diretamente da superfície do eletrodo modificado após o processo de eletrodeposição do óxido de cobalto sobre o MWCNT como pode ser verificado na Figura 15. A partir da Figura 15B, verifica-se uma imagem obtida da câmera instalada dentro do MEV, observa-se ainda a estratégia utilizada para conseguir obter as imagens, como por exemplo, a rotação e inclinação do porta-amostra em relação ao feixe de elétrons, bem

como a aproximação da superfície em relação à distância de trabalho, Figura 15D. Na Figura 15A e 15C observa-se a imagem eletrônica obtida da superfície do eletrodo com contato elétrico da base com a superfície através de fita condutora e a imagem em alta resolução da modificação utilizando o detector de elétrons secundários (SE), respectivamente.

Figura 15 – Demonstração do experimento para obtenção do MEV, (A) Superfície do eletrodo com o contato elétrico, (B) Eletrodo na câmara da amostra de MEV, (C) Imagem em alta resolução e (D) Eletrodo na câmara da amostra de MEV.

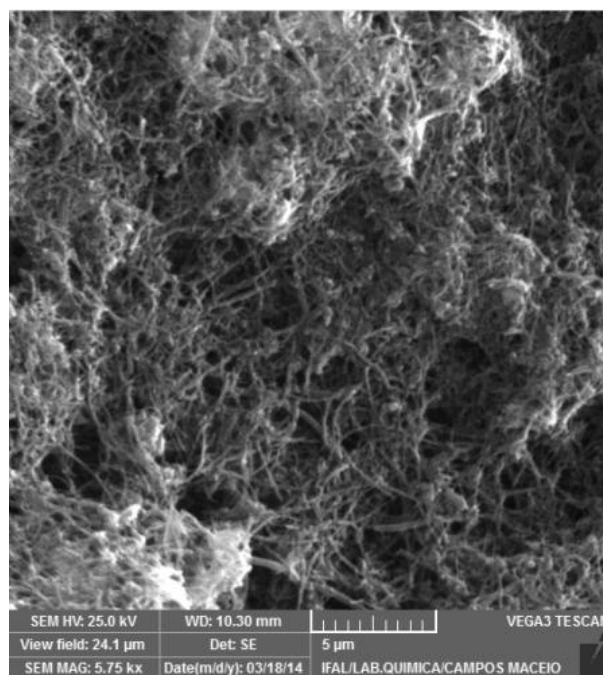


Fonte: Autor, 2014.

A caracterização superficial do eletrodo modificado (ECV/MWCNT/Co e ECV/MWCNT) foi realizada através da técnica de MEV. A Figura 16 mostra imagem de MEV para o ECV/MWCNT, é possível notar que os nanotubos de carbono estão distribuídos sobre a superfície do eletrodo de forma homogênea, observa-se também algumas aglomerações decorrentes do processo de modificação do eletrodo. Além disso, podemos deduzir que os

nanotubos serviram de base para a eletrodeposição dos óxidos, neste caso em particular, uma matriz nanométrica estável, o que é de fundamental importância para garantir o sucesso no processo de detecção de H_2O_2 .

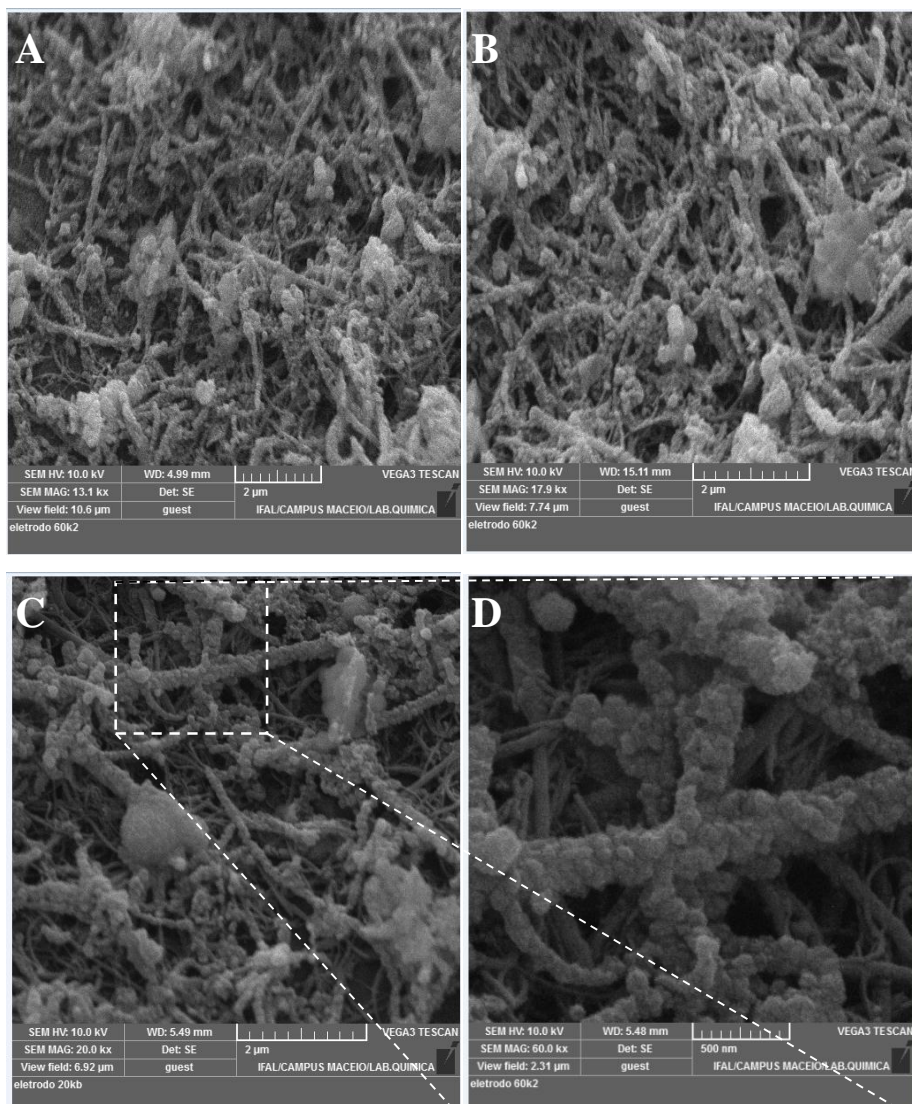
Figura 16 - MEV para ECV/MWCNT.



Fonte: Autor, 2014.

Para investigar a formação das partículas de óxido de cobalto, algumas imagens foram realizadas utilizando a técnica de MEV. A Figura 17 mostra imagens de MEV para o ECV/MWCNT/Co com diferentes ampliações. É possível notar que a formação do óxido ocorreu sobre toda a extensão dos NTC (Fig. 17A e 17B), a distribuição do óxido de forma mais homogênea possível beneficia sua utilização na aplicação do dispositivo. A Figura 17C mostra uma ampliação de 20000x, nesta imagem é possível identificar a modificação em alguns tubos individualmente. A Figura 17D mostra uma ampliação de 60000x, nesta figura foi selecionado uma região para estimar o tamanho das partículas de óxido de cobalto depositada, e foi observado um tamanho médio que varia de 50 a 200 nm, distribuídos sobre a superfície do eletrodo modificado com MWCNT.

Figura 17 - MEV para ECV/MWCNT/Co com diferentes ampliações: (A) 13100x, (B) 17900x, (C) 20000x e (D) 60000x.

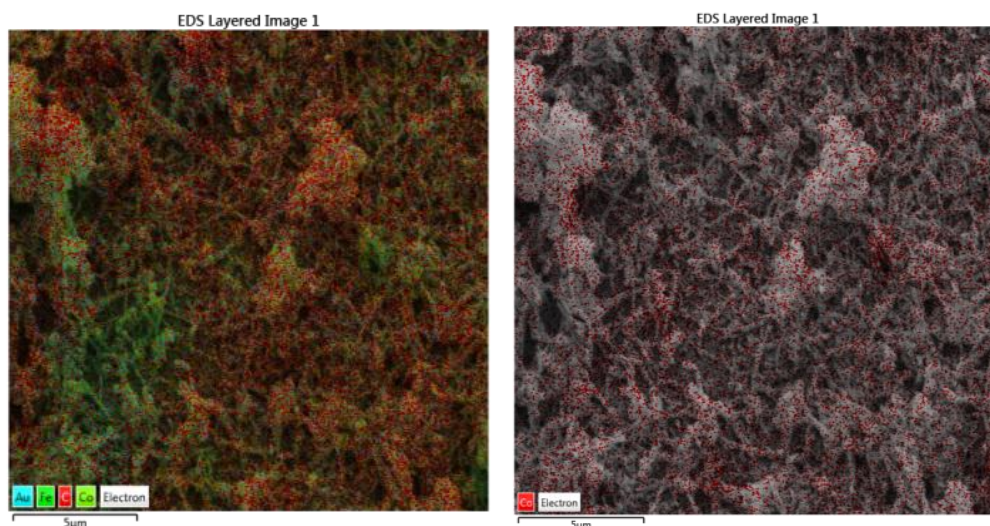


Fonte: Autor, 2014.

Para caracterizar a superfície em relação a composição, foi utilizada a técnica de espectroscopia de energia dispersiva (EDS). A análise por EDS é uma ferramenta muito importante do MEV para a caracterização de materiais metálicos e semicondutores, pois permite ao pesquisador identificar a composição de sua amostra, mesmo que qualitativamente, em pontos específicos da imagem (DEDAVID, 2007).

A Figura 18 mostra um mapa composicional para o ECV/MWCNT/Co, onde é possível observar a presença dos elementos Au, Fe, C e Co (Fig. 18A) e somente Co (Fig. 18B). A Figura 18B deixa claro que a distribuição do cobalto no eletrodo modificado se mostrou homogênea, corroborando assim com as informações obtidas através das imagens de MEV.

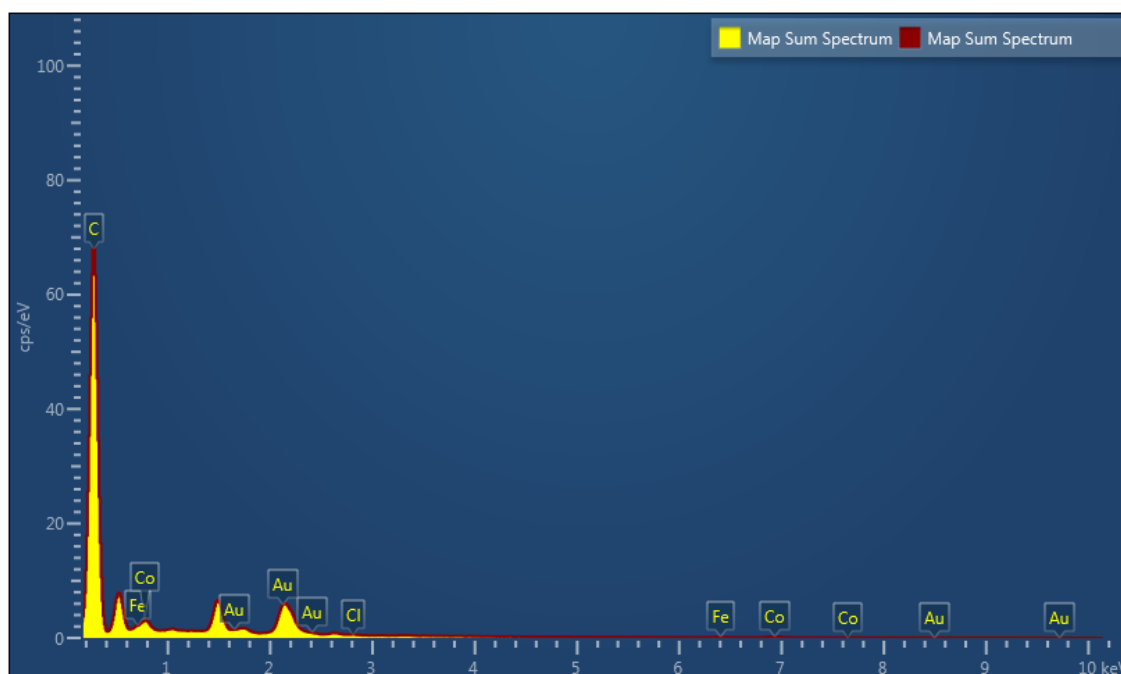
Figura 18 – Mapa composicional referente aos elementos Au, Fe, C e Co (A); Co (B).



Fonte: Autor, 2014.

A interpretação dos espectros é facilitada por uma base de dados que contém, para cada elemento, as energias e a intensidade das raiais que as produziu (DEDAVID, 2007). Assim, na Figura 19 é possível observar a presença de C, Co, Au, Fe no ECV/MWCNT/Co.

Figura 19 – Espectro de EDS correspondente para o ECV/MWCNT/Co.



Fonte: Autor, 2014.

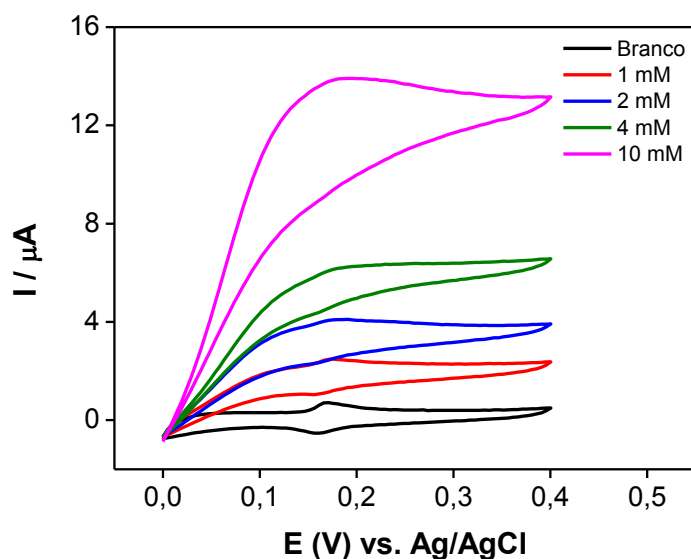
A configuração do ECV/MWCNT/Co sugere uma habilidade eletrocatalítica para oxidação de H_2O_2 . Neste sentido, para diagnosticar melhor o sistema e explorar sua aplicação

na detecção de H_2O_2 , alguns ensaios foram realizados e os resultados são apresentados a seguir. Assim, o ECV/MWCNT/Co foi utilizado nos experimentos seguintes.

4.1.2 A oxidação eletrocatalítica do H_2O_2 pelo ECV/MWCNT/Co

Para verificar a atividade eletrocatalítica do ECV/MWCNT/Co na presença de H_2O_2 , alguns ensaios foram realizados. Assim, a Figura 20 mostra os voltamogramas cíclicos para um ECV/MWCNT/Co em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, usando uma varredura no sentido anódico, com $E_{\text{inicial}} = 0,0 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = 0,4 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, na ausência e na presença de H_2O_2 .

Figura 20 - Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/Co, em diferentes concentrações de H_2O_2 (0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 10,0 mM). Velocidade de varredura (v) = $0,005 \text{ V s}^{-1}$. Estudos realizados em solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



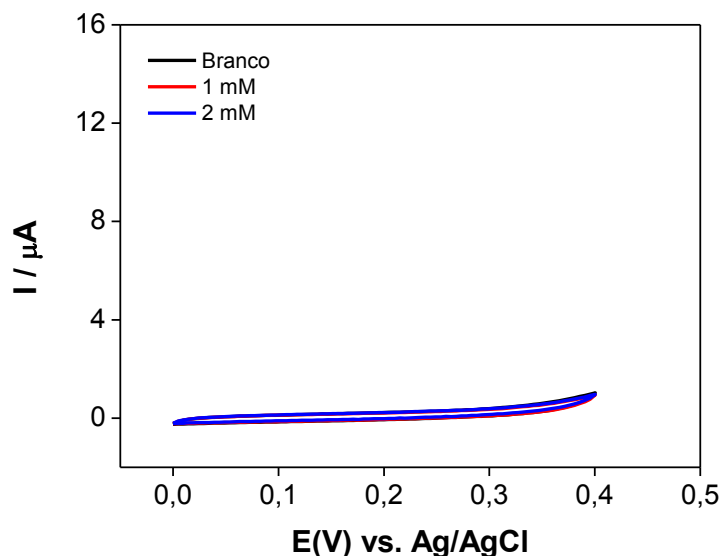
Fonte: Autor, 2014.

Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/Co são mostrados na Figura 20, após a adição de diferentes concentrações de H_2O_2 à solução, ocorre um aumento significativo na corrente de pico anódica, enquanto que a corrente de pico catódica praticamente desaparece, na presença de altas concentrações de H_2O_2 , indicando, portanto, uma eletrocatalise bastante eficiente.

Para uma análise comparativa dos dados, voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT são apresentados na Figura 21, na ausência e na presença de diferentes

concentrações de H_2O_2 . Nestes voltamogramas, não há evidência de picos, indicando que a oxidação direta de H_2O_2 ocorre fora desses limites ($E_{pa} > 0,4 \text{ V vs. Ag/AgCl}$).

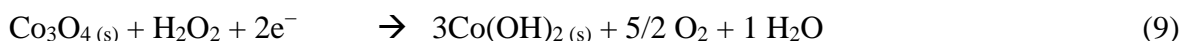
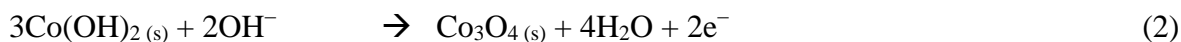
Figura 21 - Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT, na ausência e na presença de (1,0 e 2,0 mM) de H_2O_2 . Velocidade de varredura (v) = $0,005 \text{ Vs}^{-1}$. Estudos realizados em solução de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2014.

Além disso, se for levada em consideração a faixa de potencial selecionada para efeito de comparação, o ganho de potencial para a oxidação eletrocatalítica de H_2O_2 foi de aproximadamente $300 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$ em relação às plataformas não modificadas, ratificando, portanto, a eficiência do sistema formado por MWCNT e óxido de cobalto, o que pode aumentar as propriedades eletrocatalíticas do sensor (ZHAO, 2009).

Como já mencionado, a formação do óxido de cobalto é um processo complexo, e envolve a formação de vários óxidos. De acordo com os experimentos realizados, e a literatura recente que envolve a formação de óxidos (SALIMI, 2007; TIAN, 2010; CHEN, 2013), é possível então propor um mecanismo com a sequência de reações para a oxidação de peróxido de hidrogênio em ECV/MWCNT/Co, segundo as equações:



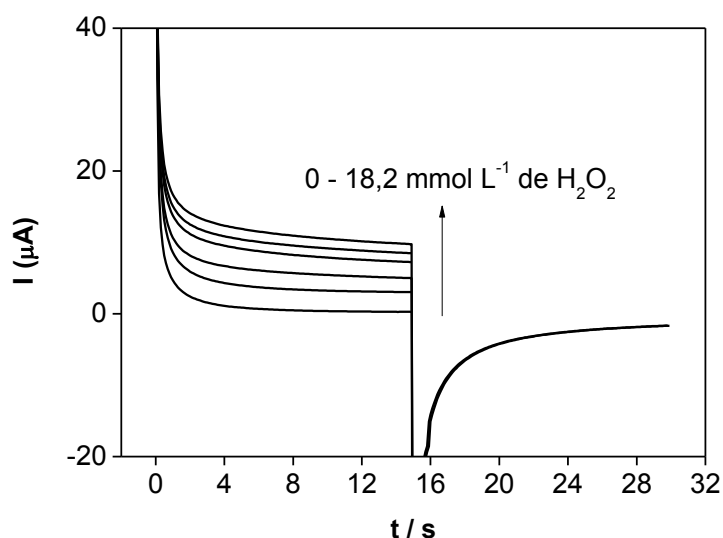
Uma vez que se comprovou a eficiência catalítica do ECV/MWCNT/Co para oxidação de H_2O_2 , alguns ensaios foram realizados com o intuito de se obter a constante catalítica, assim foram realizados estudos cronoamperométricos e hidrodinâmicos.

4.1.3 Estudos cronoamperométricos

A cronoamperometria de duplo salto de potencial e outros métodos eletroquímicos foram empregados para investigação de processos eletroquímicos e determinar a constante catalítica. A Figura 22 mostra as curvas corrente-tempo em ECV/MWCNT/Co obtidas com $E_{\text{inicial}} = +180 \text{ mV}$ e $E_{\text{final}} = -50 \text{ mV}$ *versus* Ag/AgCl para varias concentrações de H_2O_2 . Como pode ser observado, não há corrente catódica líquida correspondente à redução do H_2O_2 .

Além disso, os cronoamperogramas de duplo salto de potencial direto e reverso para o ECV/MWCNT/Co na ausência de H_2O_2 mostraram-se praticamente simétricos com um consumo de carga igual para redução e oxidação. Por outro lado, na presença de diferentes concentrações de H_2O_2 , os valores de corrente anódica associada com os amperogramas diretos são significativamente maiores do que aqueles observados para o processo reverso (Figura 22).

Figura 22 - Cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/Co em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na ausência e presença de H_2O_2 [$3,9 - 18,2 \text{ mmol L}^{-1}$], $E_{\text{inicial}} = +0,180 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = -0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.

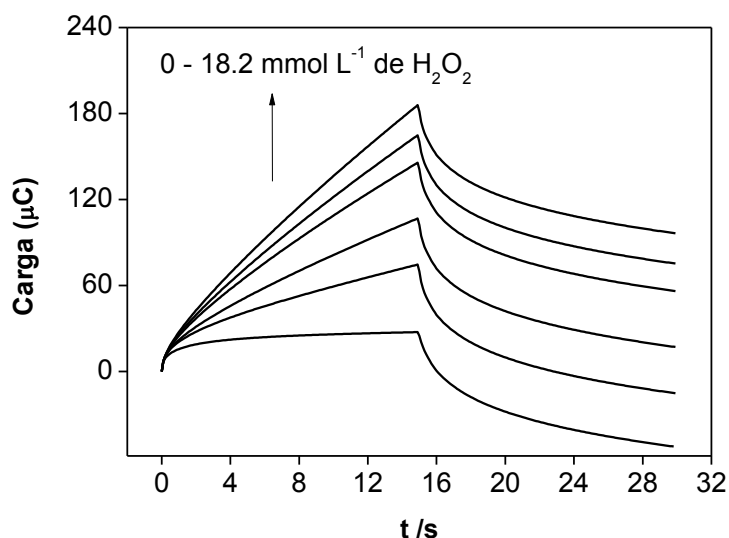


Fonte: Autor, 2014.

A partir da integração dos cronoamperogramas foi possível visualizar melhor a carga tanto do processo catódico quanto anódico. Nestes, ocorreu um aumento significativo da carga

do referido processo anódico e uma diminuição no processo catódico (Figura 23), indicando, portanto, que a espécie oxidada está sendo consumido pela etapa química acoplada ao processo eletroquímico.

Figura 23 - Integração dos cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/Co em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹, na ausência e na presença de H₂O₂ [3,9 - 18,2 mmol L⁻¹], $E_{inicial} = +0,180$ V e $E_{final} = -0,050$ V vs. Ag/AgCl, respectivamente.



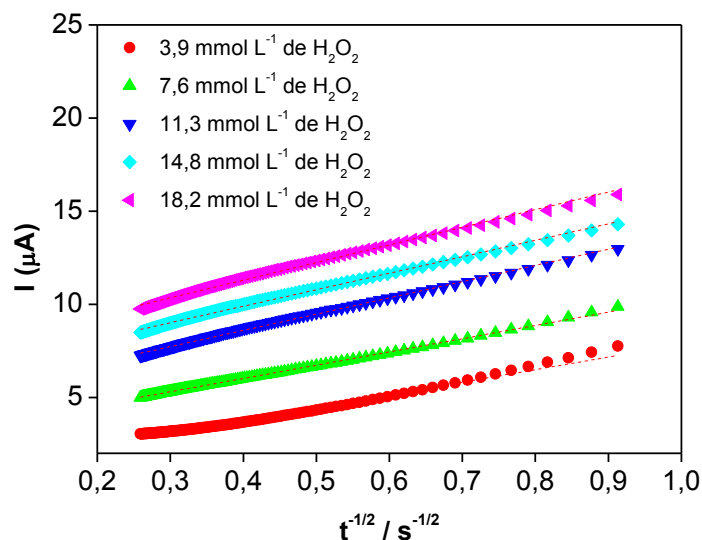
Fonte: Autor, 2014.

Para um material eletroativo com coeficiente de difusão D , a corrente correspondente à reação química (sob controle difusional) é descrita pela equação de Cottrel (BARD e FAULKNER, 2001):

$$I = nFAD^{1/2}C_s\pi^{-1/2}t^{-1/2} \quad (10)$$

Sendo D e C_s o coeficiente de difusão (cm² s⁻¹) e a concentração no seio da solução de H₂O₂ (mol cm⁻³), respectivamente. A Figura 24 mostra os gráficos de I versus $t^{-1/2}$ com o melhor ajuste linear para diferentes concentrações de H₂O₂, observa-se uma relação linear entre a corrente catalítica e a raiz quadrada do tempo, segundo a Equação 10, o qual indica que a corrente observada deve ser controlada pela difusão de H₂O₂ em solução.

Figura 24 - Gráfico de I vs. $t^{1/2}$ obtidos a partir dos cronoamperogramas da Figura 22 em ECV/MWCNT/Co em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na presença de H_2O_2 [3,9 - $18,2 \text{ mmol L}^{-1}$], $E_{\text{inicial}} = +0,180 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = -0,050 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, respectivamente.



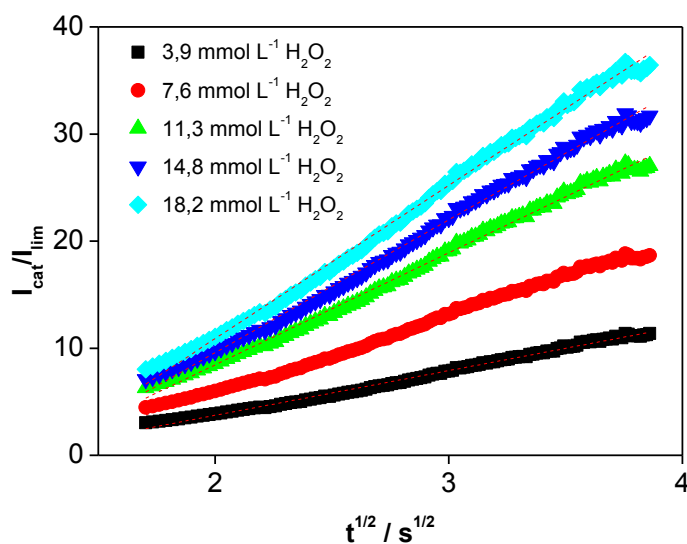
Fonte: Autor, 2014.

A cronoamperometria foi utilizada para determinar a constante de velocidade (κ_{obs}) para a reação química entre o H_2O_2 e os sítios redox confinados na superfície do eletrodo modificado, com base no método descrito na literatura (GALLUS, 1976):

$$\frac{I_{\text{cat}}}{I_{\text{Lim}}} = \pi^{1/2} (\kappa_{\text{obs}} C_s t)^{1/2} \quad (11)$$

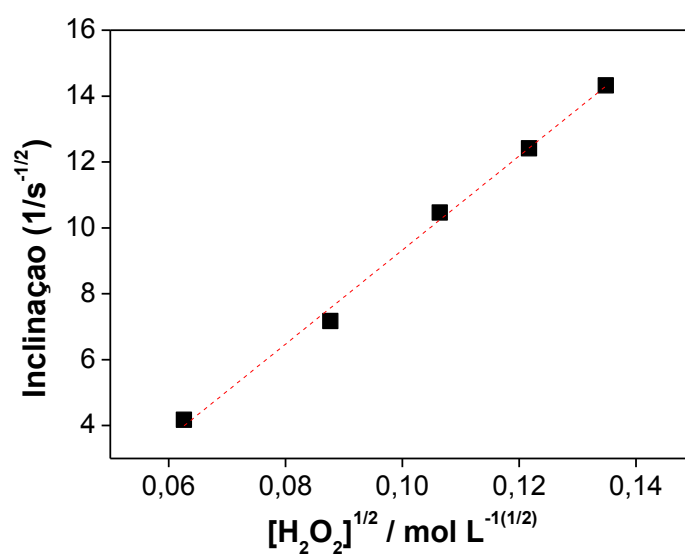
A Figura 25 mostra o gráfico, construído a partir dos cronoamperogramas do ECV/MWCNT/Co, na ausência e presença de H_2O_2 [3,9 – $18,2 \text{ mmol L}^{-1}$]. Uma relação linear surge entre $(I_{\text{cat}}/I_{\text{Lim}})$ e a raiz quadrada do tempo, de acordo com a Equação 11. Assim, a partir das inclinações do gráfico $I_{\text{cat}}/I_{\text{Lim}}$ versus $t^{1/2}$ (Figura 25), foi possível obter um novo gráfico. A Figura 26 mostra uma relação linear entre as inclinações e a concentração de H_2O_2 . Assim, usando o novo coeficiente angular da Figura 26 e a Equação 11, foi possível calcular de forma simples o valor de κ_{obs} para uma faixa de concentração de H_2O_2 . O valor calculado para κ_{obs} nessa faixa de concentração foi $6,50 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Figura 25 - Dependência de I_{cat}/I_{Lim} vs. $t^{1/2}$ derivado dos cronoamperogramas da Figura 22 em ECV/MWCNT/Co em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na ausência e presença de H_2O_2 [3,9 - 18,2 mmol L^{-1}], $E_{inicial} = +0,180 \text{ V}$ e $E_{final} = -0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.



Fonte: Autor, 2014.

Figura 26 - Dependência de $[(I_{cat}/I_{Lim}) \text{ vs. } t^{1/2}]$ vs. concentração de H_2O_2 derivado dos cronoamperogramas da Figura 22 em ECV/MWCNT/Co em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na ausência e presença de H_2O_2 [3,9 - 18,2 mmol L^{-1}], $E_{inicial} = +0,180 \text{ V}$ e $E_{final} = -0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.



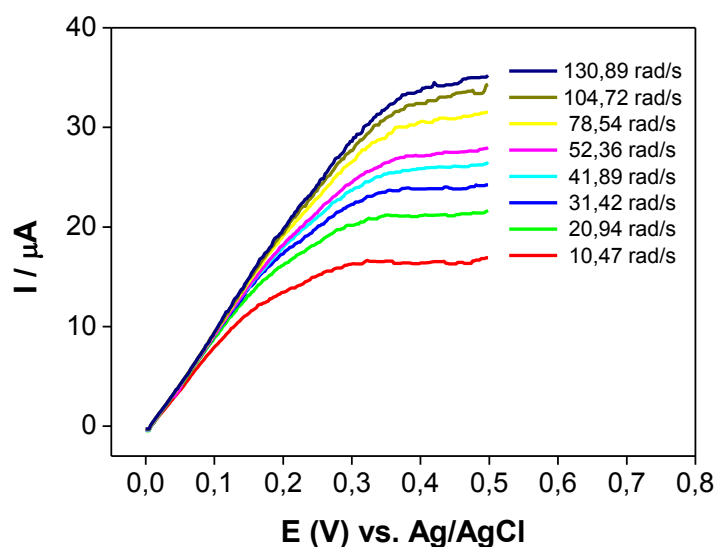
Fonte: Autor, 2014.

A cronoamperometria é uma técnica estacionária para se obter a constante catalítica, assim, utilizando então estudos com eletrodo de disco rotatório, uma técnica dinâmica, foi possível calcular também a constante catalítica, com base nos estudos realizados a seguir.

4.1.4 Estudos com eletrodo de disco rotatório

Para uma melhor avaliação quantitativa do comportamento electrocatalítico da oxidação de H_2O_2 no ECV/MWCNT/Co, e com o objetivo de calcular a constante catalítica, medidas cinéticas foram realizadas em diferentes concentrações de H_2O_2 com diferentes velocidades de rotação ω (rad s^{-1}) em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH e uma velocidade de varredura fixa de 5 mV s^{-1} (Figura 27 e 28).

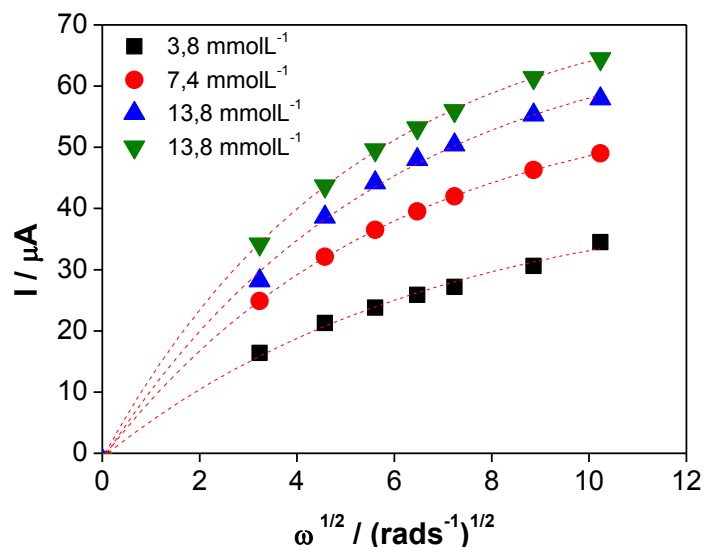
Figura 27 - Curvas de polarização obtidas para oxidação electrocatalítica de H_2O_2 no ECV/MWCNT/Co. Velocidade de rotação: $[10,47 - 130,89 \text{ rad s}^{-1}]$. $v = 5,0 \text{ mV s}^{-1}$. Estudos realizados em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\Gamma = 2,80 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$.



Fonte: Autor, 2014.

A Figura 28 mostra os gráficos de Levich obtidos para o ECV/MWCNT/Co para quatro diferentes concentrações de H_2O_2 , $[3,8 - 13,8] \text{ mmol L}^{-1}$, em solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A corrente de oxidação para o H_2O_2 no eletrodo modificado pode ser limitada pelo transporte de massa do H_2O_2 para a superfície do eletrodo e/ou pela cinética da reação.

Figura 28 - Gráfico de Levich para a resposta electrocatalítica de estado-estacionário para um EDR de ECV/MWCNT/Co em diferentes concentrações de H₂O₂. Estudos realizados em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹ e $\Gamma = 2,80 \times 10^{-11}$ mol cm⁻².



Fonte: Autor, 2014.

A partir da Figura 28, fica evidente que há limitação cinética na reação global. Para o eletrodo de disco rotatório, a corrente limitada pelo transporte de massa ($I_{d(L)}$) depende da velocidade de rotação, ω , e da concentração de H₂O₂ no seio da solução $[\text{H}_2\text{O}_2]^*$, de acordo com a equação de Levich (BARD e FAULKNER, 2001) (Equação 12):

$$I_{d(L)} = 0,620nFA[\text{H}_2\text{O}_2]^*D^{2/3}\nu^{-1/6}\omega^{1/2} \quad (12)$$

Sendo n o número de elétrons, F a constante de Faraday, ν a viscosidade cinemática, e D o coeficiente de difusão. Os valores de D e ν de $1,53 \times 10^{-6}$ cm² s⁻¹ e $0,01$ cm² s⁻¹ (PATRA, 2009), respectivamente, foram empregados.

Para uma reação electrocatalítica, a corrente limitada cineticamente (I_{kin}) é dada geralmente pela seguinte expressão (Equação 13):

$$I_{kin} = nFA\kappa\Gamma^*[\text{H}_2\text{O}_2]^* \quad (13)$$

Sendo Γ^* a cobertura total do ECV/MWCNT/Co. Uma dependência linear da corrente catalítica na $\omega^{1/2}$ é esperada a partir da equação de Levich. O desvio observado a partir da

equação de Levich (Figura 28) pode ser o resultado da etapa limitada quimicamente. Assim, a expressão geral para a corrente global, I , é dada por (Equação 14):

$$I^{-1} = I_{d(L)}^{-1} + I_{kin}^{-1} \quad (14)$$

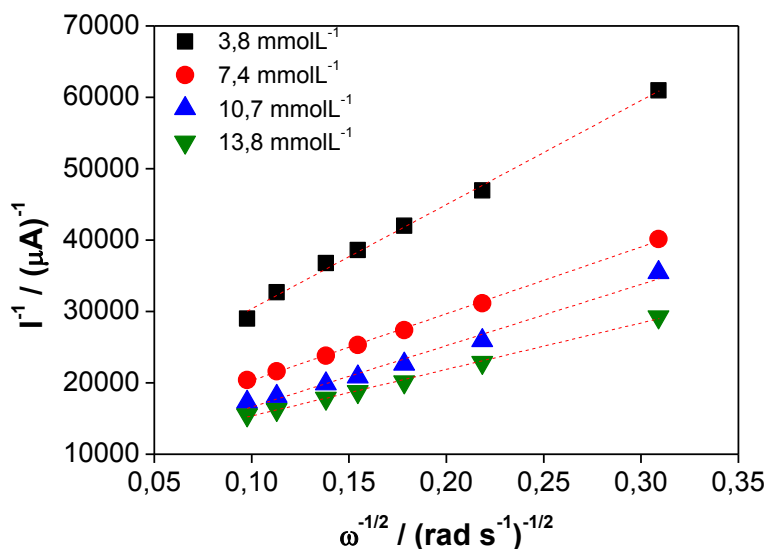
Fazendo a inversão da equação 14, tem-se a conhecida Equação 15 de Koutecky-Levich, muito utilizada em reações catalíticas empregando eletrodos contendo mediadores de elétrons. Esta equação foi empregada na obtenção da Figura 29, variando a concentração de $[H_2O_2]^*$:

$$\frac{1}{I} = \frac{1}{nFA\kappa_{obs}\Gamma^*[H_2O_2]^*} + \frac{1}{0,620nFA\nu^{-1/6}D^{2/3}[H_2O_2]^*\omega^{1/2}} \quad (15)$$

Pela inclinação da curva, foi possível obter o número de elétrons (n) envolvidos na reação, o qual apresentou um valor próximo a dois elétrons, corroborando com alguns trabalhos reportados na literatura baseados na oxidação catalítica de H_2O_2 (TIAN, 2010, RAZMI, 2010).

Através do intercepto do gráfico de Koutecky-Levich (Figura 29) foi possível também avaliar a constante de velocidade da reação catalítica, κ_{obs} , conhecendo-se então o valor de Γ ($2,80 \times 10^{-11}$; Pag. 45), a qual apresentou um valor médio de $1,38 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ na faixa de concentração de 3,8-13,8 mmol L^{-1} de H_2O_2 . Este valor está diferente do obtido pelos dados cronoamperométricos ($6,50 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$; Pag. 59), o qual é maior quando comparado a valores reportados na literatura por outros eletrodos modificados (SALIMI, 2011; PEÑA, 2011).

Figura 29 - Gráficos de Koutecky-Levich dos dados experimentais mostrados na Figura 27. Estudos realizados em NaOH 0,1 mol L⁻¹ 7,0 e $\Gamma = 2,80 \times 10^{-11}$ mol cm⁻².



Fonte: Autor, 2014.

O sistema ECV/MWCNT/Co se mostrou eficiente da detecção de H₂O₂, sendo possível calcular sua constante catalítica utilizando duas técnicas distintas, assim alguns experimentos foram realizados para determinar seus parâmetros analíticos.

4.1.5 Estudos de caracterização analítica do sensor para H₂O₂

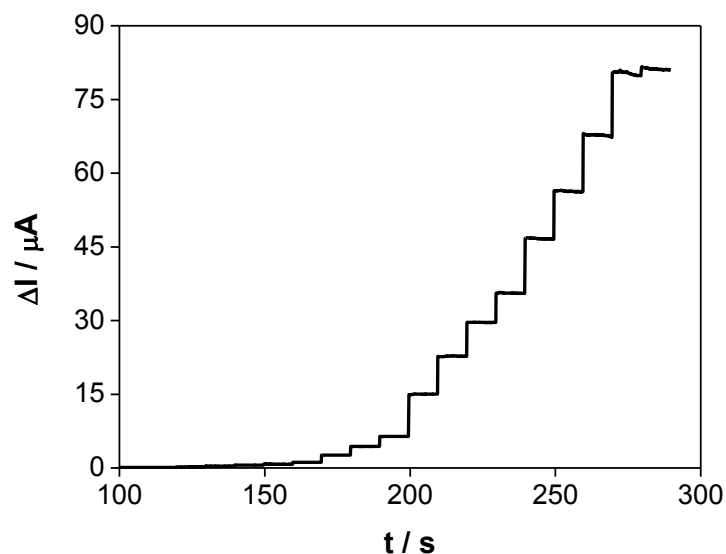
As características do ECV/MWCNT/Co foram verificadas por experimentos amperométricos. Nas medidas amperométricas, um estudo inicial foi realizado com intuito de determinar o melhor potencial para aplicar no eletrodo para a oxidação de H₂O₂. Assim, o potencial aplicado foi escolhido baseado nas medidas das intensidades da corrente catalítica nas condições otimizadas e uma maior corrente foi verificada em um potencial aplicado de 0,18 V vs. Ag/AgCl.

Para se obter uma curva analítica para o sensor desenvolvido, amperogramas para oxidação de H₂O₂ foram obtidos em diferentes concentrações, em solução NaOH 0,1 mol L⁻¹. Assim, o sensor proposto mostrou uma faixa de resposta de 3 a 13344 μmol L⁻¹ (Figura 31), que pode ser expressa de acordo com a Equação seguinte:

$$\Delta I(\mu\text{A}) = 0,6172(0,3466) + 0,0043(7,1810 \times 10^{-5})[\text{H}_2\text{O}_2]/\mu\text{mol L}^{-1} \quad (16)$$

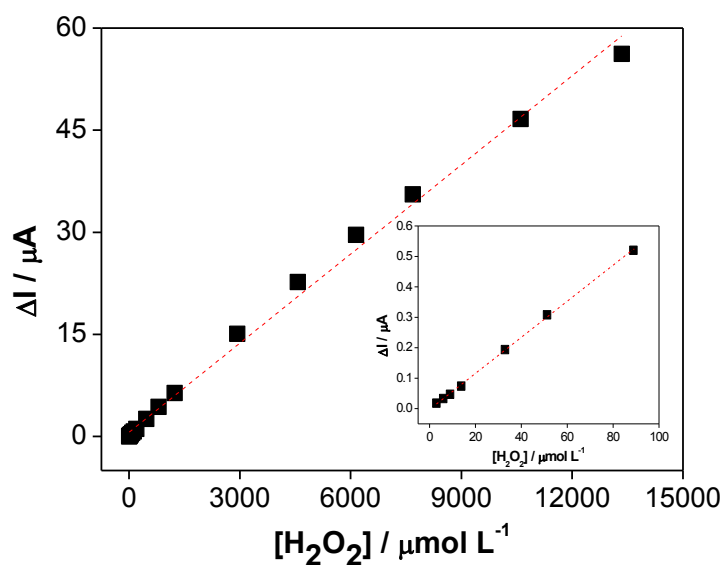
com um coeficiente de correlação de 0,9954 (para $n = 18$) com limite de detecção e faixa linear melhores em relação a vários trabalhos reportados recentemente na literatura (Tabela 2).

Figura 30 - Medidas amperométricas para a eletrooxidação de H_2O_2 no ECV/MWCNT/Co. Condições empregadas: solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $E_{\text{aplicado}} = 0,18 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = (3 - 13344) \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2014.

Figura 31 - Curva analítica, potencial aplicado $0,18 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Condições empregadas: solução NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $E_{\text{aplicado}} = 0,18 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = (3 - 13344) \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2014.

A sensibilidade de $4,37 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$ pode ser atribuída à eficiência na transferência eletrônica entre o ECV/MWCNT/Co e o H_2O_2 . O limite de detecção (LD) de $0,9 \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}^{-1}$ foi determinado, usando uma razão $3\sigma/b$ e o limite de quantificação (LQ) de $3 \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}^{-1}$ usando $10\sigma/b$, sendo σ o DPR do valor médio para 10 amperogramas do banco e b o coeficiente angular da curva analítica (Figura 31), determinado de acordo com as recomendações da IUPAC (Analytical Methods Committee, 1987).

A Tabela 2 (Pag. 67) lista alguns trabalhos reportados na literatura, com o propósito de comparação envolvendo eletrodos quimicamente modificados para a determinação de H_2O_2 . A partir da Tabela 2, podemos observar que o presente trabalho apresenta potencial de oxidação relativamente menor do que alguns trabalhos, nas mesmas condições empregadas, atribuído a eficiente modificação ratificada pelas análises de MEV (YIN, 2011, WANG, 2013). Além disso, apresenta menor LD em relação à (GUSMAN, 2009; LI, 2010; CHEN, 2011; CHEN, 2012), menor LQ (WANG, 2013), e ampla FL (LIN, 2010; LI, 2010; HUA, 2011; WANG, 2013).

Uma comparação desse sensor com trabalhos publicados na literatura demonstram que o mesmo se mostrou eficiente na detecção de H_2O_2 , além disso, apresenta alguns parâmetros analíticos melhores que alguns trabalhos, podemos observar esses valores na Tabela 2.

4.1.6 Estabilidade do ECV/MWCNT/Co

Após o processo de modificação do eletrodo com óxidos de cobalto, a estabilidade do par redox foi checada através de voltamogramas cíclicos sucessivos na ausência da amostra. A variação da corrente de pico depois de estabilizada foi avaliada, com o DPR. Assim, após 50 ciclos foi observado um DPR menor do que 5%, sugerindo uma boa estabilidade, provavelmente devido às interações π - π dos NTC com a superfície do eletrodo, e o eficiente processo de modificação.

Tabela 2. Sensores e condições experimentais e parâmetros analíticos para a determinação de H₂O₂.

Sensor	E_P (V)	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\text{nA L } \mu\text{mol}^{-1}$)	Referência
Eletrodo modificado com MWCNT/Pt/DA	-0,4 vs. NHE	0-5000	344,1	1147,2		Guzmán <i>et al.</i> , 2009
Eletrodo modificado com AgNPs/ZnONRs	-0,55 vs. Ag/AgCl	8-983	0,9		228,1	Lin <i>et al.</i> , 2010
Eletrodo de SePt	0,0 vs. Ag/AgCl	10-15000	3,1		2,8	Li <i>et al.</i> , 2010
Eletrodo modificado com MnO ₂ -AuNP	0,65 vs. Ag/AgCl	78-836	0,0468		38,2a	Li <i>et al.</i> ; 2010
Eletrodo modificado com SWCNT e complexo de Mn	-0,3 vs. Ag/AgCl	1-1500	0,2		103,8	SALIMI <i>et al.</i> , 2011
Eletrodo modificado com AgNPs/ATP		10-21530	2,4			Chen <i>et al.</i> , 2011
Eletrodo modificado com HRP/Pan/MWCNT/Au		86-10000			194,9	Hua <i>et al.</i> , 2011a
Eletrodo de ouro modificado com MWCNT-PBI	-0,5 vs. Ag/AgCl	1,56-2500	0,98		182,0	Hua <i>et al.</i> , 2011b

Eletrodo modificado com LDH Co/Al	0,49 vs. Ag/AgCl	0,2-674			97,61	Yin <i>et al.</i> , 2011
Eletrodo modificado com K7[H ₄ PW ₁₈ O ₆₂].18H ₂ O	-0,4 vs. Ag/AgCl	500-90000	0,5			Ammam <i>et al.</i> , 2012
Eletrodo modificado com Pt/Ir/MWCNT	0,25 vs. Ag/AgCl	2,5-72.5	1,2		32,3	Chen <i>et al.</i> , 2012
Eletrodo modificado com Pt/Pd/MWCNT	0,25 vs. Ag/AgCl	2,5-125	2,5		228,1	Chen <i>et al.</i> , 2012
Eletrodo modificado com microesferas de CuO	0,7 vs. Ag/AgCl	10-200	0,125	10	139,2	Wang <i>et al.</i> , 2013
Eletrodo modificado com Óxidos de Cobalto	0,18 vs. Ag/AgCl	3-13344	0,9	3	4,37	Este trabalho

a - Área geométrica não informada ($\text{nA } \mu\text{mol L}^{-1} \text{cm}^{-2}$). DA – Dopamina; HRP - Peroxidase; LDH – Hidróxidos duplos lamelares; MnO₂ – Óxido de manganês; NHE – Eletrodo normal de Hidrogênio; NP – Nanopartículas; MWCNT – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas; Pan – polianilina; PBI - Imina de Polibenzimidazol; ZnONRs – Nanobastões de óxido de Zinco.

4.1.7 Considerações gerais

Neste trabalho, um sensor eletroquímico foi construído modificando-se um eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e filme de óxido de cobalto. O eletrodo apresentou boa estabilidade, comprovando uma boa modificação, esses resultados foram confirmados pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura, que demonstraram uma modificação eficiente por toda a extensão dos nanotubos de carbono. Resultados de voltametria cíclica mostraram picos bem definidos. Através dos gráficos de Laviron, foi possível determinar sua constante de velocidade de transferência heterogênea de elétrons (κ_s), a qual se apresentou maior que alguns trabalhos publicados. Foi possível também determinar a constante catalítica (κ_{obs}) através de duas técnicas, a cronoamperometria e o EDR, as quais se mostraram comparáveis às já publicadas, além disso, foi possível determinar os parâmetros analíticos, os quais se apresentaram excelentes. O uso de nanotubos de carbono e óxidos metálicos se apresenta como uma boa alternativa na construção de sensores.

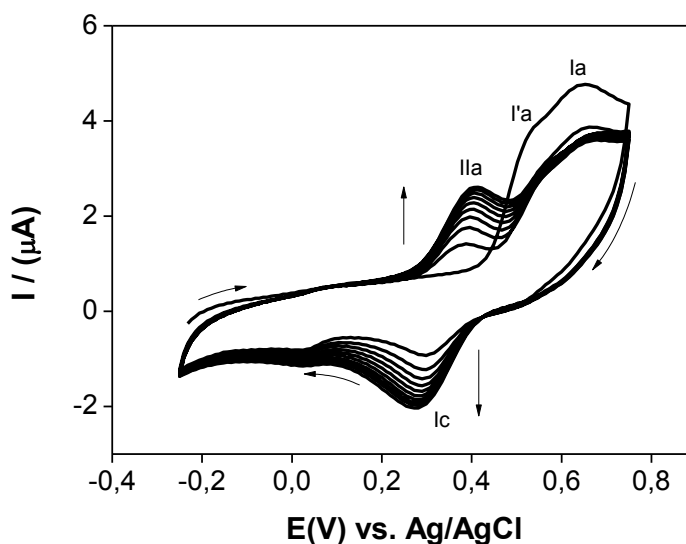
4.2 SENSOR AMPEROMÉTRICO BASEADO EM NANOTUBOS DE CARBONO E ÁCIDO FERÚLICO PARA DETECÇÃO DE EPINEFRINA (EP)

4.2.1 Preparo da plataforma ECV/MWCNT/AF

Estudos iniciais foram realizados por Silva (2011), neste trabalho, o ECV/MWCNT/AF foi utilizado para a eletrooxidação de NADH. O autor otimizou os parâmetros de ativação, bem como pode calcular a constante de velocidade de transferência heterogênea de elétrons (κ_s) e a cobertura aparente de superfície (Γ), obtendo os seguintes valores $25,2 \text{ s}^{-1}$ e $3,35 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$, respectivamente.

O ácido ferúlico foi oxidado em superfície do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono (ECV/MWCNT), aplicando uma faixa de potencial para eletrodeposição de $-0,25$ a $+0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5) e velocidade de varredura de potencial (ν) de $0,020 \text{ V s}^{-1}$ (Figura 32).

Figura 32 - Voltamogramas cíclicos obtidos para a formação do ECV/MWCNT/AF, $[\text{AF}] = 0,4 \text{ mmol L}^{-1}$, $\nu = 0,020 \text{ V s}^{-1}$. $E_{\text{inicial}} = -0,25 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = +0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, varredura no sentido anódico. Condições empregadas: solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,5).



Fonte: Autor, 2014.

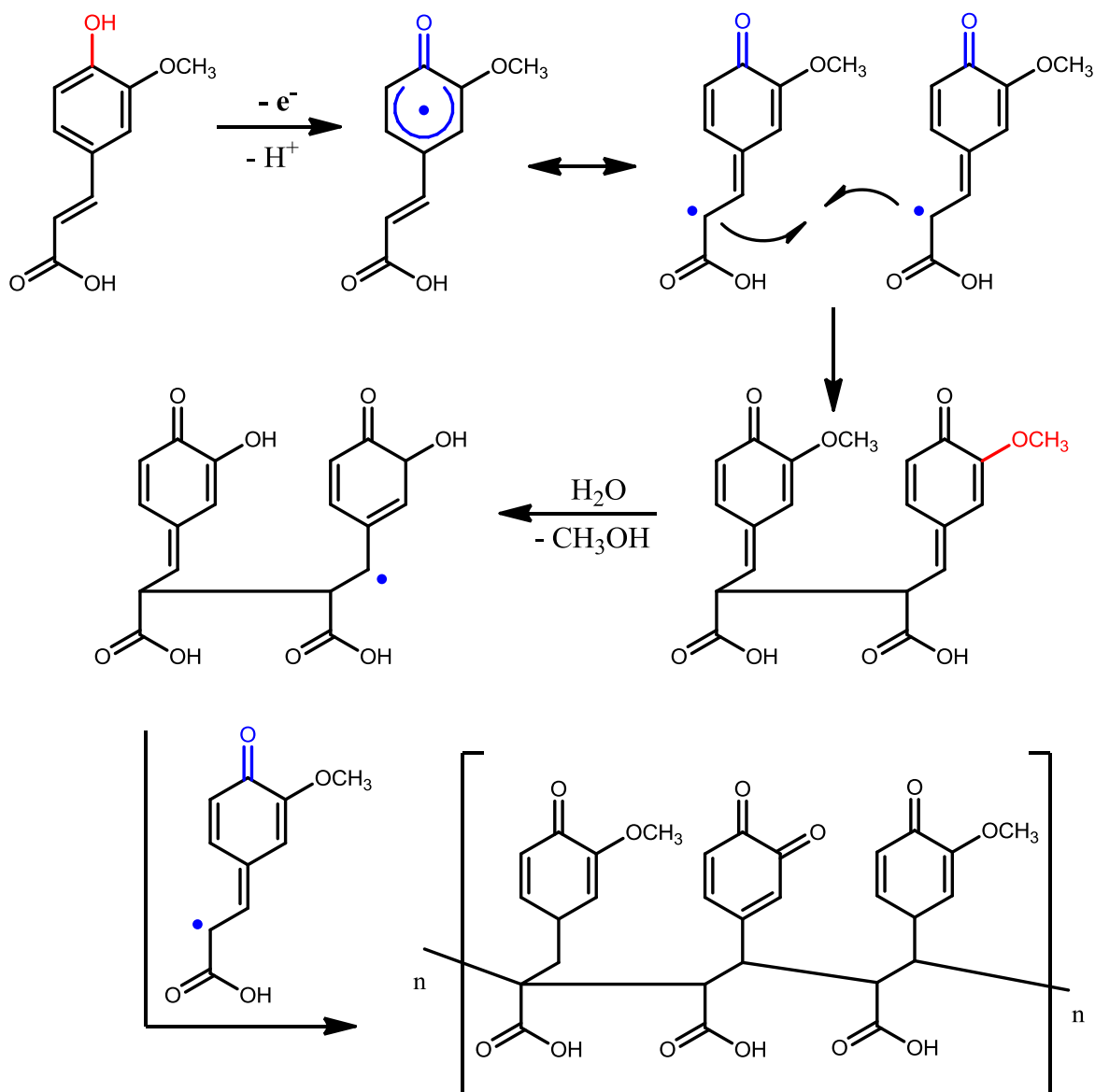
Como observado na Figura 32, a eletrodeposição do AF em plataforma de ECV/MWCNT apresentou, em primeira varredura de potencial, um ombro anódico em 0,53

V (I'a), um pico de maior intensidade de corrente em 0,64 V (Ia) e uma onda de redução na varredura reversa em 0,29 V (Ic), relacionado a estes. A partir da segunda varredura, observa-se um segundo pico anódico em 0,38 V (IIa), que tem sua intensidade de corrente aumentada em ciclos sucessivos, comportamento também observado para o correlato pico Ic, caracterizando assim um sistema redox bem definido (IIa/Ic). Este mesmo perfil foi observado depois de finalizado o processo de eletrodeposição, quando o eletrodo é transferido e imerso numa nova solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7), para realização dos experimentos posteriores.

Desta forma, considerando o trabalho de Zheng *et al* (2009), as similaridades estruturais entre o AF e a curcumina, e outros estudos (HOTTA, 2002; ARAKAWA, 2004; PETRUCCI, 2007; MOGHADDAM, 2007), o perfil eletroquímico relatado para eletrodeposição do AF em ECV/MWCNT pode ser racionalizado como representado na Figura 33.

Nesse processo, o ombro I'a e pico Ia (Figura 32), referem-se à oxidação do AF inicialmente com perda de um elétron e um próton, levando a formação de uma espécie radicalar, que é estabilizada por ressonância no anel aromático. Este radical pode ser estabilizado também pela dupla ligação conjugada ao anel. O radical formado na posição *beta*, pode então reagir com outro radical na posição *beta*, gerando um dímero, este dímero sofre uma hidrólise e com a saída de metanol, forma-se um derivado semi-quinona. O derivado semi-quinona sofre ataque de um radical na posição *alfa*, formando espécies do tipo “*alfa-beta*” em relação ao anel aromático, semelhantes às ligninas (Figura 32).

Figura 33 - Mecanismo proposto para a formação do ECV/MWCNT/AF.



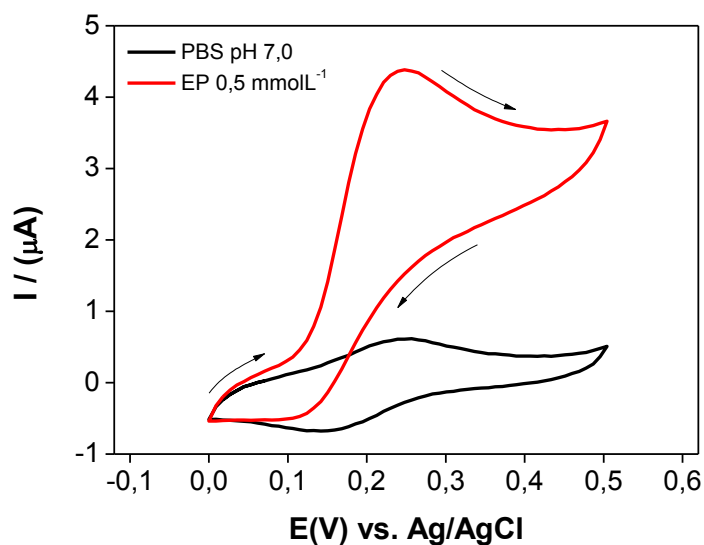
Fonte: Autor, 2014.

A atividade electrocatalítica do sensor de ECV/MWCNT/AF foi averiguada para determinação de epinefrina, utilizando-se como técnicas electroquímicas, a cronoamperometria e o eletrodo de disco rotatório para a obtenção da constante catalítica, e a amperometria para determinação de dados analíticos, como exposto a seguir.

4.2.2 A oxidação eletrocatalítica de EP pelo ECV/MWCNT/AF

A atividade eletrocatalítica para a oxidação de EP em ECV/MWCNT/AF foi inicialmente investigada por meio da voltametria cíclica. Assim, voltamogramas cíclicos foram realizados em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7), na ausência e presença de EP $0,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ com $E_{\text{inicial}} = 0,0 \text{ V}$ e $E_{\lambda} = 0,5 \text{ V}$ (Figura 34). Na ausência de EP, o par redox de picos bem definidos do sensor ECV/MWCNT/AF pode ser observado. Após a adição de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, houve um aumento na corrente de pico anódica, ao passo que a corrente catódica não foi observada na varredura reversa. Este comportamento é consistente com um forte efeito eletrocatalítico. O potencial de pico catalítico é observado em $0,21 \text{ V versus Ag/AgCl}$.

Figura 34 - Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/AF, na ausência e na presença de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EP. Velocidade de varredura (v) = $0,005 \text{ Vs}^{-1}$. Estudos realizados em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 7,0.

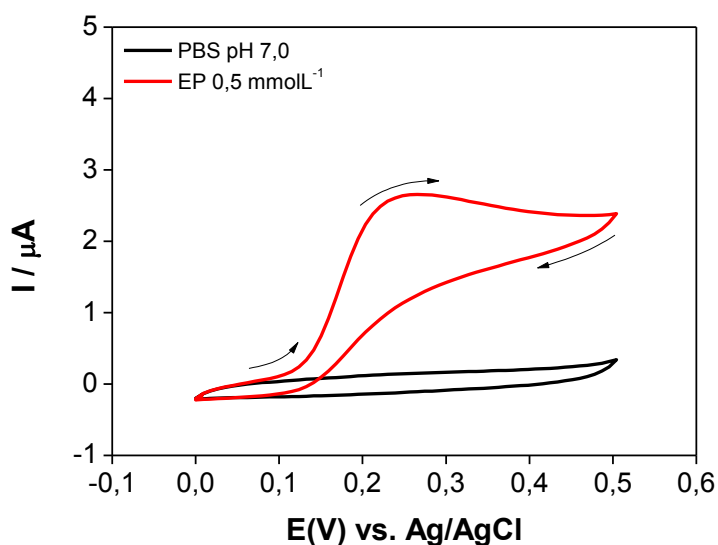


Fonte: Autor, 2014.

Para fins de comparação, é possível fazer uma análise da atividade eletrocatalítica para EP, utilizando o ECV/MWCNT. Sob as mesmas condições experimentais, voltamogramas cíclicos foram realizados na ausência e na presença de EP. Na Figura 35, na ausência, não se observa qualquer par redox característico, apenas a corrente capacitiva decorrente da modificação com NTC. Após a adição de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EP observa-se um

pico de oxidação em 0,25 V vs. Ag/AgCl. Sendo assim, uma diminuição do sobrepotencial e um aumento da corrente de pico são alcançados com o ECV/MWCNT/AF, justificando sua utilização na detecção de EP.

Figura 35 - Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT, na ausência e na presença de 0,5 mmol L⁻¹ de EP. Velocidade de varredura (v) = 0,005 Vs⁻¹. Estudos realizados em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, em pH 7,0.



Fonte: Autor, 2014.

Estudos mais detalhados a respeito da corrente de pico de oxidação de EP na superfície do ECV/MWCNT/AF foram realizados primeiramente por voltametria cíclica em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH=7,0). Assim, de acordo com o modelo teórico de Andrieux e Savèant (1978), a corrente de pico catalítica I_{pa} depende da velocidade de varredura de potencial v como verificado na Equação 17 seguinte:

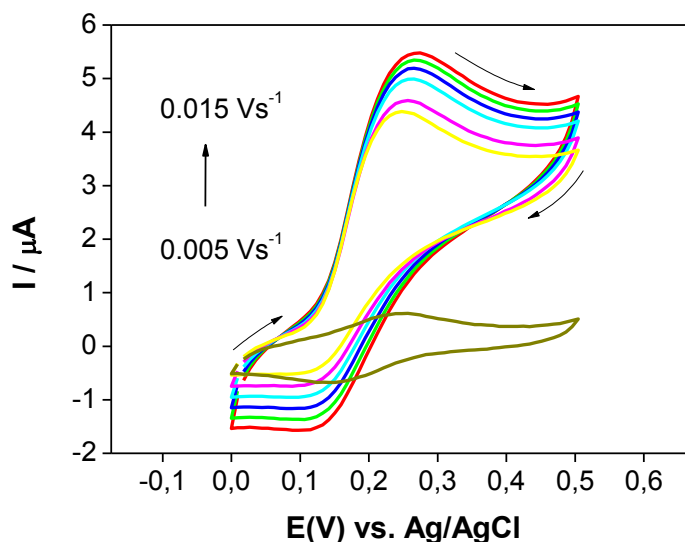
$$I_{pa} = 0,496FAC_sD_o^{1/2} \left(\frac{Fv}{RT} \right)^{1/2} \quad (17)$$

sendo o C_s a concentração do substrato, D_o representa o coeficiente de difusão do substrato, F a constante de Faraday e R e T são as constante dos gases e temperatura Kelvin, respectivamente.

Além disso, um sistema catalítico se comporta como um sistema totalmente irreversível eletroquimicamente controlado por difusão para grandes valores de parâmetros cinéticos (ex. grandes valores de k), que representa a constante da velocidade da reação (ANDRIEUX, 1978).

Como observado na Figura 36, o pico de oxidação catalítico desloca gradualmente para potenciais mais positivos com o aumento da velocidade de varredura, sugerindo uma limitação cinética na reação entre os grupos eletroativos e a EP.

Figura 36 - Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/AF em varias velocidades de varredura (ν): 5 – 15 mV s^{-1} . Estudo realizado em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} em pH 7,0 e $[\text{EP}] = 0,5 \text{ mmol L}^{-1}$.



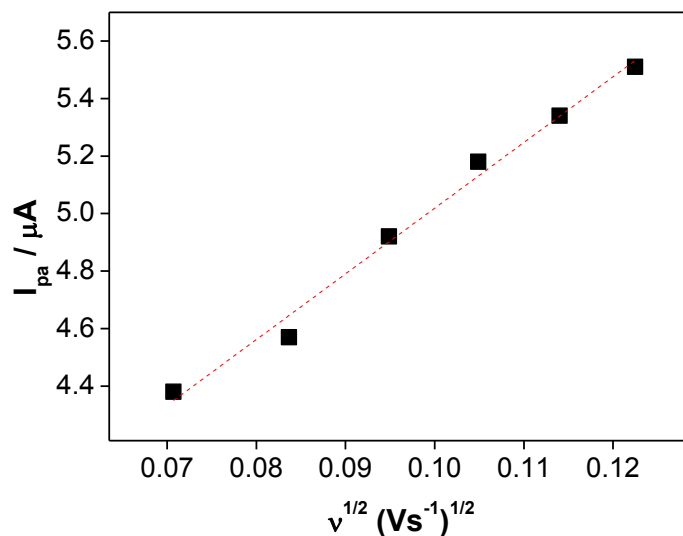
Fonte: Autor, 2014.

Assim, um gráfico da corrente catalítica I_{pa} versus a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($\nu^{1/2}$) na faixa de velocidade de 0,003 a 0,011 V s^{-1} foi construído e resultou numa dependência linear (Figura 37), expressa pela seguinte equação:

$$I_{pa}(\mu\text{A}) = 2,7339(0,1155) + 22,8515(1,1556) \nu^{1/2} (\text{V s}^{-1})^{1/2} \quad (18)$$

Desta forma, esta dependência linear sugere que o processo seja controlado por difusão na faixa de velocidade de varredura de potencial estudada.

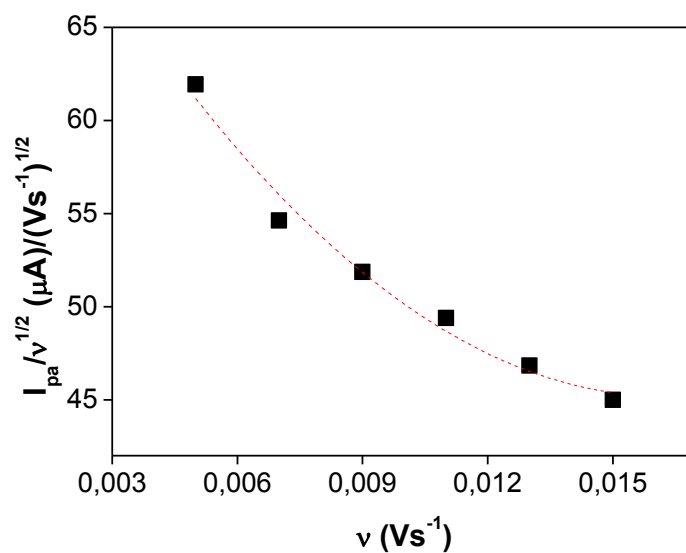
Figura 37 - Variação da corrente de pico anódica I_{pa} vs. $v^{1/2}$ no ECV/MWCNT/AF em solução contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EP. Estudo realizado em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e $v:0,005\text{-}0,015 \text{ V s}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2014.

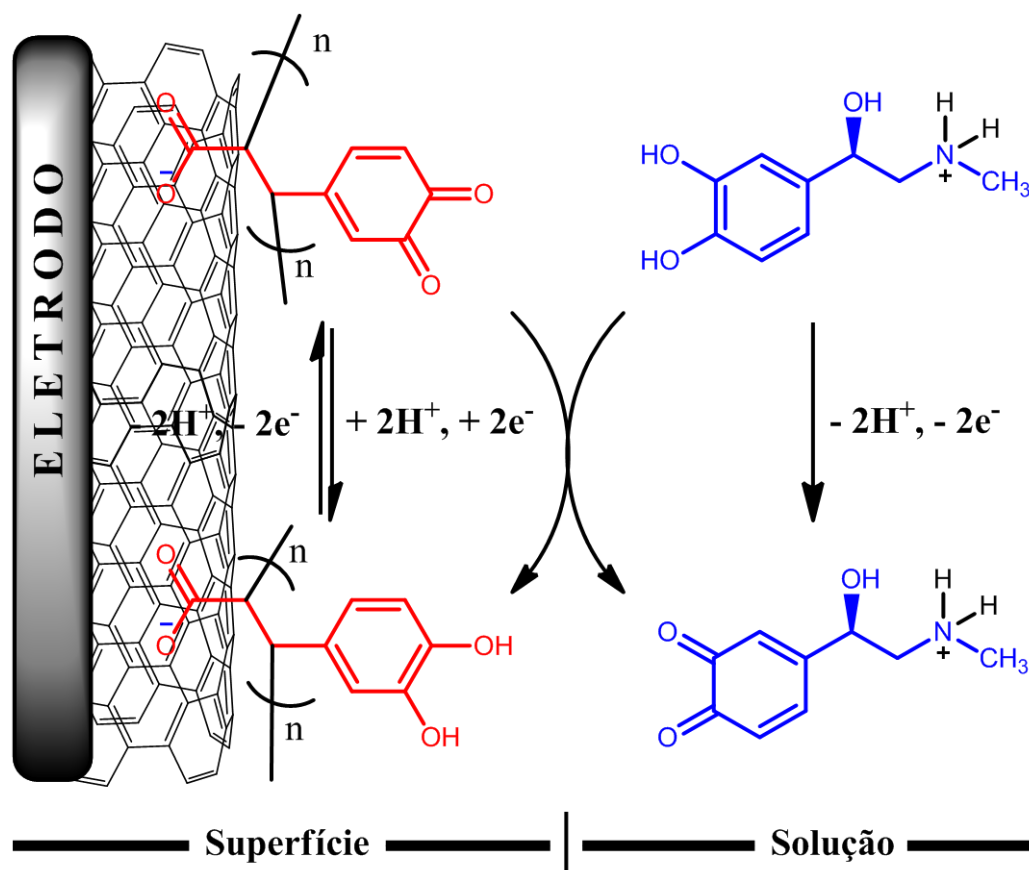
Para ratificar que o processo de oxidação eletrocatalítica entre a EP e o ECV/MWCNT/AF de fato apresenta uma etapa química acoplada, foram realizados os ensaios eletroquímicos. A análise do gráfico da corrente de pico normalizada ($I_{pa}/v^{1/2}$) *versus* a velocidade de varredura de potencial (Figura 38) permite observar que para baixa velocidade de varredura de potencial a eficiência catalítica é maior, quando a velocidade aumenta a eficiência diminui, característico de um típico processo eletroquímico-químico catalítico (EC_{cat}) (BARD e FAULKNER, 2001), corroborando, portanto, o mecanismo proposto como observado na Figura 39.

Figura 38 - Variação da corrente de pico anódica normalizada $I_{pa}/v^{1/2}$ vs. v no ECV/MWCNT/AF em solução contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EP. Medidas realizadas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e v : 0,003-0,011 V s^{-1} .



Fonte: Autor, 2014.

Figura 39 - Modelo proposto para o mecanismo de oxidação eletrocatalítica de epinefrina sobre o ECV/MWCNT/AF.



Fonte: Autor, 2014.

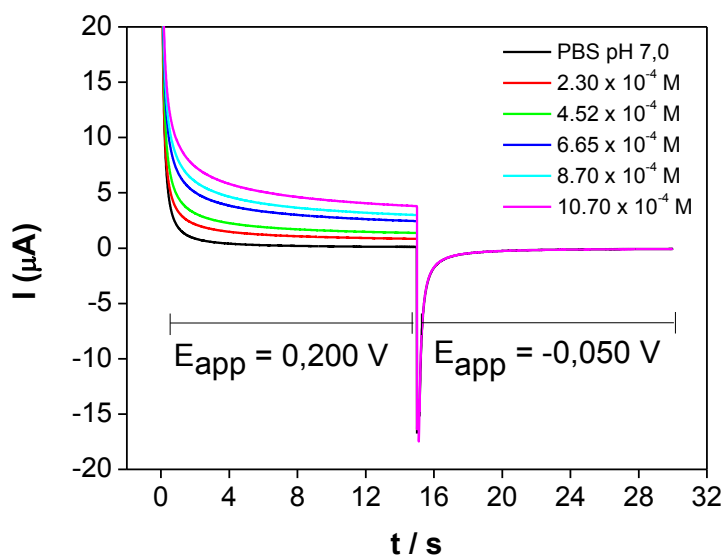
Assim, uma vez confirmado o processo eletrocatalítico para EP utilizando o sensor de ECV/MWCNT/AF, a cronoamperometria e o eletrodo de disco rotatório foram utilizados para determinar a constante catalítica.

4.2.3 Estudos Cronoamperométricos

A cronoamperometria de duplo salto de potencial foi utilizada para determinar a constante catalítica. Assim, a Figura 40 mostra as curvas corrente-tempo em ECV/MWCNT/AF obtidas com $E_{\text{inicial}} = +200 \text{ mV}$ e $E_{\text{final}} = -50 \text{ mV}$ versus Ag/AgCl para várias concentrações de EP. Como pode ser observado, não há corrente catódica líquida correspondente à redução de EP. Além disso, os cronoamperogramas de duplo salto de potencial direto e reverso para o ECV/MWCNT/AF, na ausência de EP mostraram-se praticamente simétricos com um consumo de carga igual para redução e oxidação. Por outro

lado, na presença de diferentes concentrações de EP, os valores de corrente anódica aumenta com o aumento da concentração de EP.

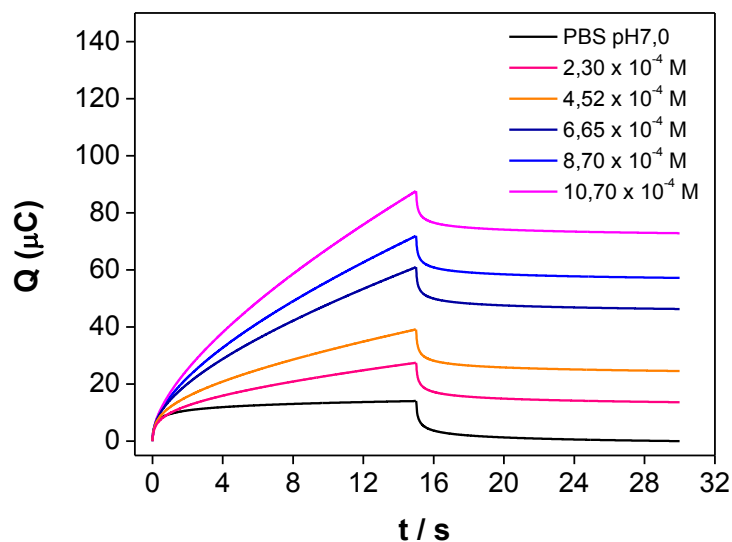
Figura 40 - Cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na ausência e presença de EP [$2,3 \times 10^{-4}$ - $10,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$], $E_{\text{inicial}} = +0,200 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = -0,050 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, respectivamente.



Fonte: Autor, 2014.

A partir da integração dos cronoamperogramas é possível visualizar melhor a carga tanto do processo catódico quanto anódico. Nestes há um aumento significativo da carga do referido processo anódico e uma diminuição no processo catódico (Figura 41), indicando, portanto, que a espécie oxidada está sendo consumido pela etapa química acoplada ao processo eletroquímico.

Figura 41 - Integração dos cronoamperogramas obtidos no ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7, na ausência e presença de EP [2,3 x 10⁻⁴ - 10,7 x 10⁻⁴ mol L⁻¹], $E_{inicial} = + 0, 200$ V e $E_{final} = - 0,050$ V vs. Ag/AgCl, respectivamente.



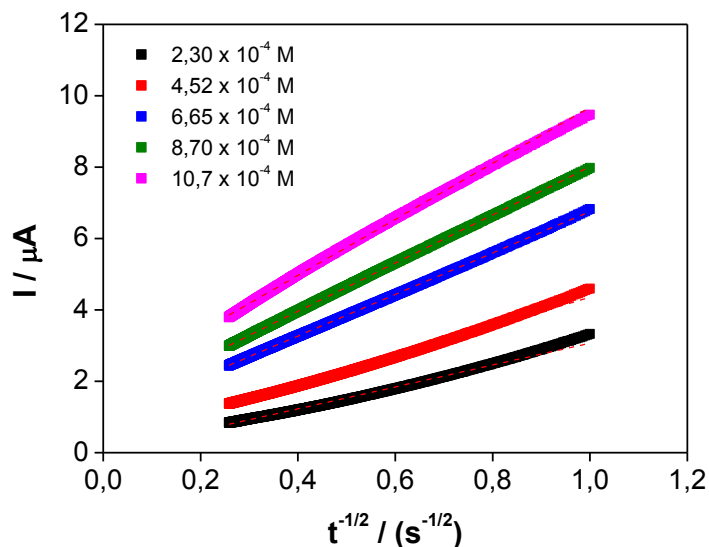
Fonte: Autor, 2014.

A partir dos dados cronoamperometria foi obtido o coeficiente de difusão da epinefrina em solução. Para um material eletroativo com coeficiente de difusão D , a corrente correspondente à reação química (sob controle difusional) é descrita pela equação de Cottrel (Equação 10; Pag. 58) (BARD e FAULKNER, 2001):

$$I = nFAD^{1/2}C_s\pi^{-1/2}t^{-1/2} \quad (10)$$

Sendo D e C_s o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) e a concentração no seio da solução de epinefrina (mol cm^{-3}), respectivamente. A Figura 42 mostra os gráficos de I versus $t^{-1/2}$ com o melhor ajuste linear para diferentes concentrações de EP, o qual indica que a corrente observada deve ser controlada pela difusão de epinefrina em solução.

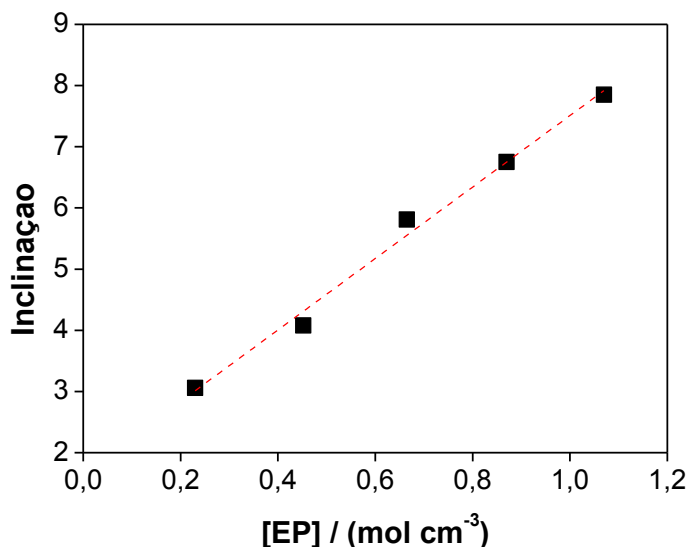
Figura 42 - Gráfico de I vs. $t^{1/2}$ obtidos a partir dos cronoamperogramas da Figura 40 em ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na ausência e presença de epinefrina [$2,3 \times 10^{-4} - 10,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$], $E_{\text{inicial}} = + 0,200 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = - 0,050 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, respectivamente.



Fonte: Autor, 2014.

Um gráfico a partir das inclinações obtidas das linhas retas *versus* a concentração de EP foi construído (Figura 43), e surgiu uma nova dependência linear. A partir da inclinação deste novo gráfico e usando a equação de Cottrel (Equação 10, Pag. 58), um coeficiente de difusão de $2,37 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para a epinefrina foi obtido. Este valor está próximo aos valores reportados na literatura (THOMAS, 2014).

Figura 43 - Gráfico de inclinação ($I_{pa}/t^{-1/2}$) *versus* a concentração de epinefrina obtidos a partir da Figura 40 do ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na ausência e presença de EP [$2,3 \times 10^{-4} - 10,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$], $E_{\text{inicial}} = +0,200 \text{ V}$ e $E_{\text{final}} = -0,050 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, respectivamente.



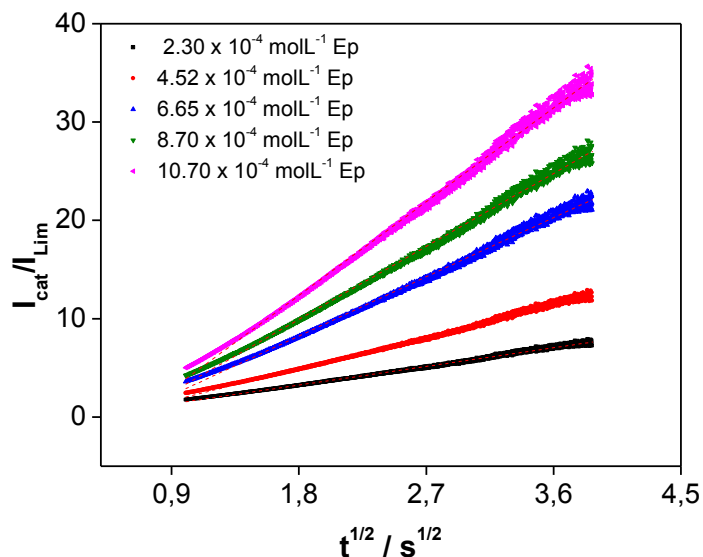
Fonte: Autor, 2014.

A cronoamperometria foi utilizada também para determinar a constante de velocidade, κ_{obs} , para a reação química entre a EP e os sítios redox confinados na superfície do eletrodo modificado, com base no método descrito na literatura (Equação 11; Pag. 59) (GALLUS, 1976):

$$\frac{I_{\text{cat}}}{I_{\text{Lim}}} = \pi^{1/2} (\kappa_{\text{obs}} C_s t)^{1/2} \quad (11)$$

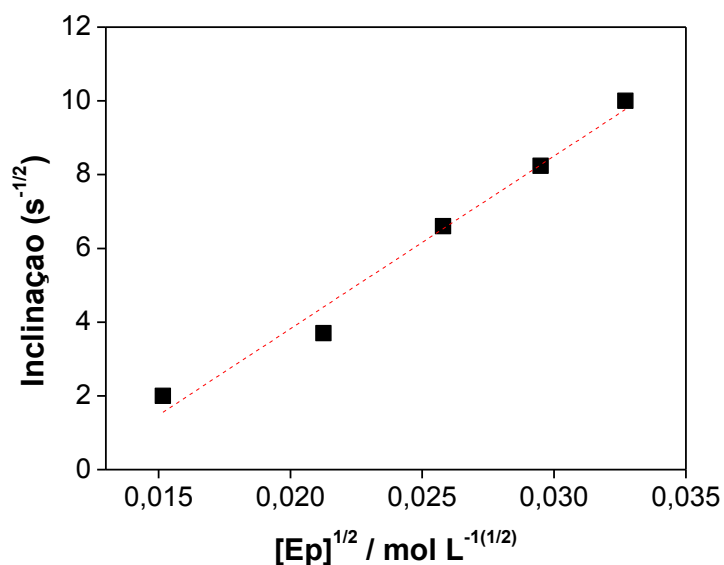
A Figura 44 mostra o gráfico, construído a partir dos cronoamperogramas do ECV/MWCNT/AF, na ausência e presença de EP [$2,30 \times 10^{-4} - 10,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$]. Uma relação linear é observada entre $(I_{\text{cat}}/I_{\text{Lim}})$ e a raiz quadrada do tempo, de acordo com a Equação 11. Assim, a partir das inclinações do gráfico $I_{\text{cat}}/I_{\text{Lim}}$ *versus* $t^{1/2}$ (Figura 44), foi possível obter um novo gráfico. A Figura 45 mostra uma relação linear entre as inclinações e a concentração de EP. Assim, utilizando o novo coeficiente angular da Figura 45 e a Equação 11, foi possível calcular κ_{obs} para uma dada concentração de EP. O valor calculado para κ_{obs} nessa faixa de concentração foi $6,9967 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Figura 44 - Dependência de I_{cat}/I_{Lim} vs. $t^{1/2}$ derivado dos cronoamperogramas da Figura 40 em ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, na ausência e presença de EP [$2,3 \times 10^{-4} - 10,7 \times 10 \text{ mol L}^{-1}$], $E_{inicial} = + 0, 200 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.



Fonte: Autor, 2014.

Figura 45 - Dependência de $[(I_{cat}/I_{Lim}) \text{ vs. } t^{1/2}]$ vs. concentração de EP derivado dos cronoamperogramas da Figura 40 em ECV/MWCNT/AF em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na ausência e presença de EP [$2,3 \times 10^{-4} - 10,7 \times 10 \text{ mol L}^{-1}$], $E_{inicial} = + 0, 200 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,050 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, respectivamente.



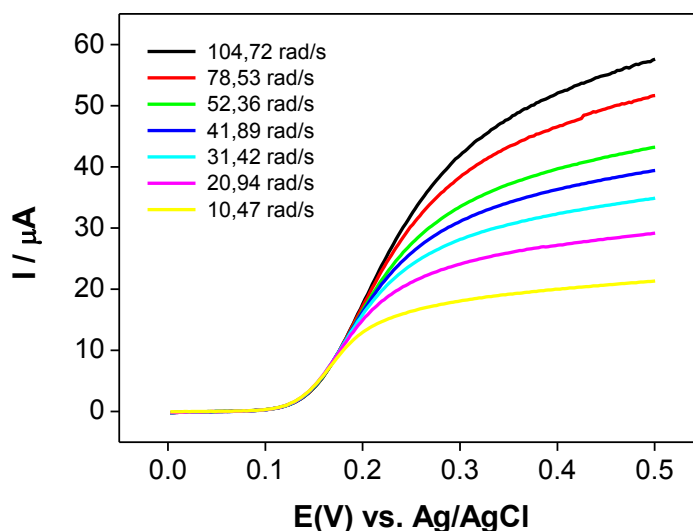
Fonte: Autor, 2014.

A constante catalítica foi calculada pela cronoamperometria, assim buscando compreender melhor o processo catalítico, utilizou-se o EDR para se obter κ_{obs} utilizando outra técnica, assim foram realizados os estudos a seguir.

4.2.4 Estudos com eletrodo de disco rotatório

Para uma avaliação quantitativa do comportamento eletrocatalítico da oxidação de EP no ECV/MWCNT/AF, medidas cinéticas foram realizadas em diferentes concentrações de EP em diferentes velocidades de rotação ω (rad s^{-1}) em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7$) e uma velocidade de varredura fixa de 5 mV s^{-1} (Figura 46 e 47).

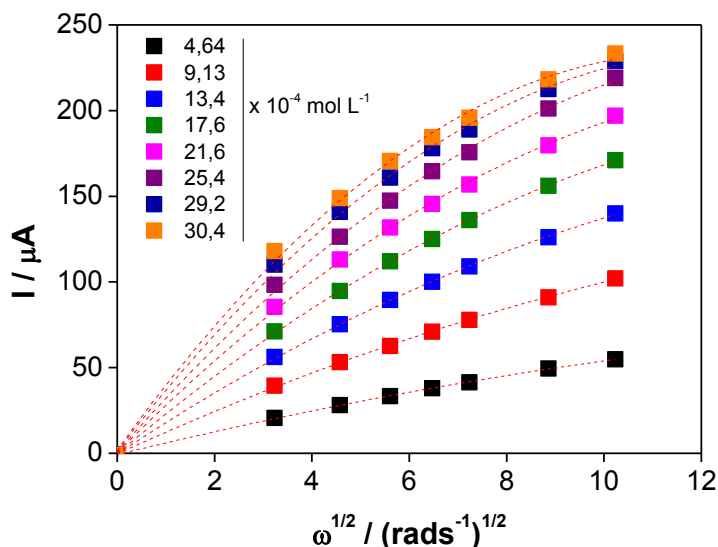
Figura 46 - Curvas de polarização obtidas para oxidação eletrocatalítica de EP no ECV/MWCNT/AF. Velocidade de rotação: $[10,47 - 104,70 \text{ rad s}^{-1}]$. $v = 5,0 \text{ mV s}^{-1}$. Estudos realizados em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{pH} 7,0$ e $\Gamma = 3,35 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$.



Fonte: Autor, 2014.

A Figura 47 mostra os gráficos de Levich obtidos para o ECV/MWCNT/AF para oito diferentes concentrações de EP, $[0,464 - 3,04] \text{ mmol L}^{-1}$, tampão fosfato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} 7,0$). A corrente de oxidação para o EP no eletrodo modificado pode ser limitada pelo transporte de massa do EP para a superfície do eletrodo e/ou pela cinética da reação.

Figura 47 - Gráfico de Levich para a resposta eletrocatalítica de estado-estacionário para um EDR de ECV/MWCNT/AF em diferentes [EP]. Estudos realizados em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0 e $\Gamma = 3,35 \times 10^{-10}$ mol cm⁻².



Fonte: Autor, 2014.

A partir da Figura 47, fica evidente que há limitação cinética na reação global. Para o eletrodo de disco rotatório, a corrente limitada pelo transporte de massa ($I_{d(L)}$) depende da velocidade de rotação, ω , e da concentração de EP no seio da solução $[EP]^*$, de acordo com a equação de Levich (BARD e FAULKNER, 2001) (Equação 19):

$$I_{d(L)} = 0,620nFA[EP]^*D^{2/3}\nu^{-1/6}\omega^{1/2} \quad (19)$$

Sendo n o número de elétrons, F a constante de Faraday, ν a viscosidade cinemática, e D o coeficiente de difusão. Os valores de D e ν de $2,37 \times 10^{-7}$ cm² s⁻¹, obtido nos estudos cronoamperométricos e discutidos anteriormente e 0,01 cm² s⁻¹, (PATRA, 2009), respectivamente, foram empregados.

Para uma reação eletrocatalítica, a corrente limitada cineticamente (I_{kin}) é dada geralmente pela seguinte expressão (Equação 20):

$$I_{kin} = nFA\kappa\Gamma^*[EP]^* \quad (20)$$

Sendo Γ^* a cobertura total do ECV/MWCNT/AF. Uma dependência linear da corrente catalítica na $\omega^{1/2}$ é esperada a partir da equação de Levich. O desvio observado a partir da equação de Levich (Figura 47) pode ser o resultado da etapa limitada quimicamente. Assim, a expressão geral para a corrente global, I , é dada por (Equação 14):

$$I^{-1} = I_{d(L)}^{-1} + I_{kin}^{-1} \quad (14)$$

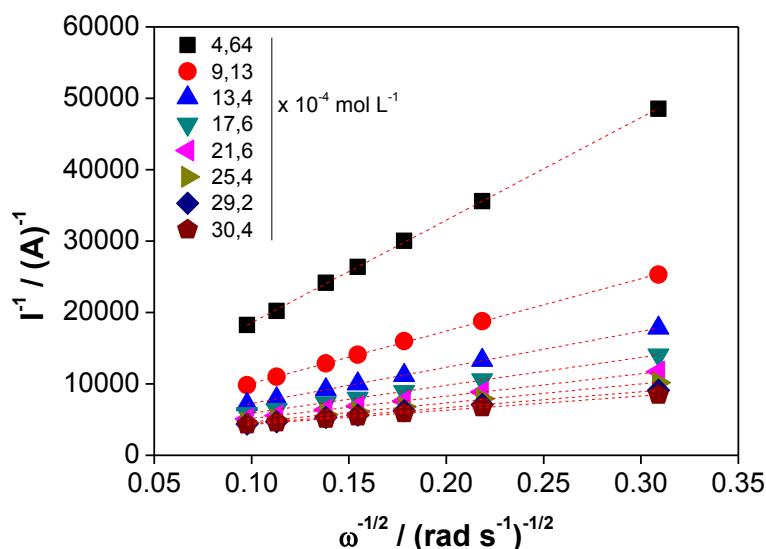
Fazendo a inversão da equação 14, tem-se a conhecida Equação 21 de Koutecky-Levich, muito utilizada em reações catalíticas empregando eletrodos contendo mediadores de elétrons. Esta equação foi empregada na obtenção da Figura 48, variando a concentração de [EP]*:

$$\frac{1}{I} = \frac{1}{nFA\kappa_{obs}\Gamma^*[EP]^*} + \frac{1}{0,620nFA\nu^{-1/6}D^{2/3}[EP]^*\omega^{1/2}} \quad (21)$$

Pela inclinação da curva, é possível obter o número de elétrons (n) envolvidos na reação, o qual apresentou um valor próximo a dois elétrons, corroborando com alguns trabalhos reportados na literatura baseados na oxidação catalítica de EP (WU, 2013; THOMAS, 2014).

Através do intercepto do gráfico de Koutecky-Levich (Figura 48) é possível também avaliar a constante de velocidade da reação catalítica, κ_{obs} , conhecendo-se então o valor de $\Gamma(3,35 \times 10^{-10})$, a qual apresentou um valor médio de $3,98 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ na faixa de concentração de 0,464-3,04 mmol L⁻¹ de EP. Este valor está próximo ao obtido pelos dados cronoamperométricos ($6,99 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$; Pag. 82), o qual é maior quando comparado a valores reportados na literatura por outros eletrodos modificados (BEITOLLAHI, 2008).

Figura 48 - Gráficos de Koutecky-Levich dos dados experimentais mostrados na Figura 46. Estudos realizados em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0 e $\Gamma = 3,35 \times 10^{-10}$ mol cm⁻².



Fonte: Autor, 2014.

O sensor ECV/MWCNT/Co se mostrou eficiente da detecção de EP, sua constante catalítica foi calculada através de duas técnicas distintas, assim alguns experimentos foram realizados para determinar seus parâmetros analíticos.

4.2.5 Estudos de caracterização analítica do sensor para EP

As características do ECV/MWCNT/AF foram verificadas por experimentos amperométricos. Através da voltametria cíclica foi observada a intensidade de corrente catalítica para a seleção do melhor potencial, levando em conta o menor potencial possível para garantir maior seletividade, e também observando a intensidade de corrente para contemplar a sensibilidade. Assim, o potencial aplicado foi escolhido baseado nas medidas de intensidade da corrente catalítica nas condições otimizadas e uma maior corrente foi verificada em um potencial aplicado de 0,200 V vs. Ag/AgCl.

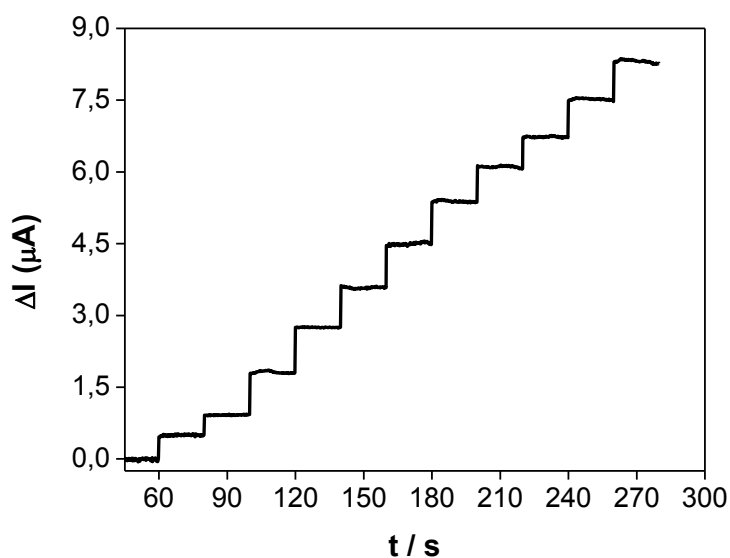
Para se obter uma curva analítica para o sensor desenvolvido, amperogramas para oxidação de EP foram obtidos em diferentes concentrações, em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 7,0), segundo metodologia descrita por Thoma *et al.* (2014).

O sensor proposto mostrou uma faixa de resposta de 73 a 1406 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 50), que pode ser expressa de acordo com a Equação seguinte:

$$\Delta I(\mu\text{A}) = 0,4792(0,1533) + 0,0036(1,9812 \times 10^{-4}) [\text{EP}]/\mu\text{mol L}^{-1} \quad (22)$$

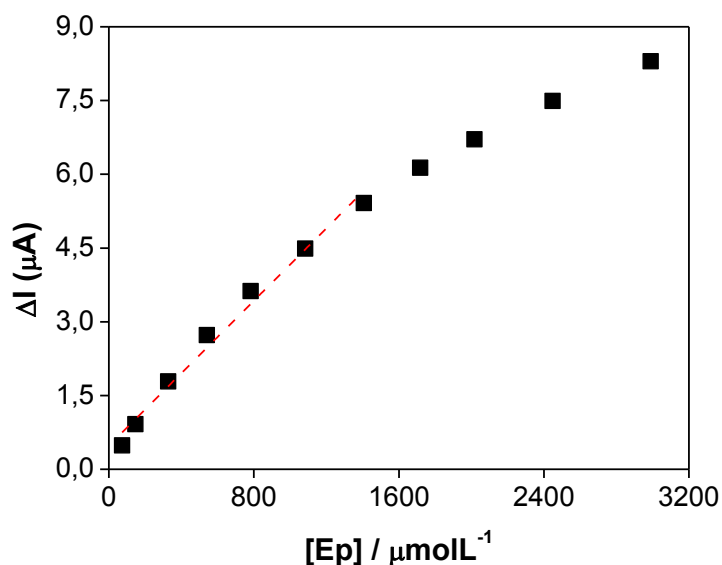
com um coeficiente de correlação de 0,9829 ($n = 7$) com potencial aplicado e faixa linear melhores em relação a vários trabalhos reportados recentemente na literatura (Tabela 3).

Figura 49 - Medidas amperométricas para a eletrooxidação de EP no ECV/MWCNT/AF. Condições empregadas: solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , $E_{\text{aplicado}} = 0,200 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ e $[\text{EP}] = (73 - 1406) \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2014.

Figura 50 - Curva analítica, potencial aplicado 0,200 V vs. Ag/AgCl.



Fonte: Autor, 2014.

A sensibilidade de $3,69 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$ pode ser atribuída à eficiência na transferência de elétrons entre o ECV/MWCNT/AF e a EP. O limite de detecção (LD) de $22,28 \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}^{-1}$ foi determinado, usando uma razão $3\sigma/b$ e o limite de quantificação (LQ) de $73 \mu\text{mol}^{-1} \text{ L}^{-1}$ usando $10\sigma/b$, sendo σ o PDR do valor médio para 10 amperogramas do branco e b o coeficiente angular da curva analítica (Figura 50), determinado de acordo com as recomendações da IUPAC (Analytical Methods Committee, 1987).

A Tabela 3 (Pag. 90) lista alguns trabalhos reportados na literatura, com o propósito de comparação envolvendo eletrodos quimicamente modificados para a determinação de EP. A partir da Tabela 3, podemos observar que o presente trabalho apresenta potencial de oxidação relativamente menor do que alguns trabalhos, nas mesmas condições empregadas, atribuído a estabilidade formada durante a modificação dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas com ácido ferúlico (WANG, 2006; BEITOLLAHI, 2008; SIVANESAN, 2008). Além disso, apresenta ampla FL (OZOEMENA, 2008; THOMAS, 2014) e sensibilidade semelhante (OZOEMENA, 2008).

Uma comparação desse sensor com trabalhos publicados na literatura demonstram que o mesmo se mostrou eficiente na detecção de EP, além disso, apresenta alguns parâmetros analíticos melhores que alguns trabalhos, podemos observar esses valores na Tabela 3.

Tabela 3. Sensores e condições experimentais e parâmetros analíticos para a determinação de EP.

Sensor	E_P (V)	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\text{nA L } \mu\text{mol}^{-1}$)	Referência
E Au/DTT/DDT		0,1-1	0,06	326,1	Wang <i>et al.</i> , 2006
E Au/Cys/SWCNT/CoTAPc	0,2 vs. Ag/AgCl	12,2-130	6	9,4	Ozoemena <i>et al.</i> , 2008
EPC/DWCNT/EBNBH	0,265 vs. Ag/AgCl	0,7-1200	0,216	28,9	Beitollahi <i>et al.</i> , 2008
E Au/4 α -Ni ^{II} TAPc/SAMF	0,55 vs. Ag/AgCl	0,05-0,5	0,05		Sivanesan <i>et al.</i> , 2008
ECV/poli(aurina)	-0,22 vs. SCE	2-600	0,3	173,5	Wang <i>et al.</i> , 2009
ECV/Nafion/OMC	0,1 vs. SCE	0,5-200	0,2	72,72	Luo <i>et al.</i> , 2012
ITO/MIP/MWCNT/PIL	0,25 vs. SCE	0,2-670	0,06	210,8	Wu <i>et al.</i> , 2013
EPC/MWCNT/SDS	215 vs. SCE	0,1-1	0,045	610	Thomas <i>et al.</i> , 2014
ECV/MWCNT/AF	0,2 vs. Ag/AgCl	73-1406	22,28	3,69	Este trabalho

AF – Ácido ferúlico; Cys – Cisteamina; DTT - Treo-1,4-dimercapto-2,3-butanediol; DDT - Dodecil Mercaptana; DWCNT - Nanotubos de carbono de paredes duplas; EAU - Eletrodo de ouro; EBNBH - 2,2`-[1,2-dietanobis(etanonitrila)]-bis-hidroquinona; EPC – Eletrodo de pasta de carbono; ITO – Óxido de Índio dopado com Estanho; MIP – Polímero de impressão molecular; OMC – Carbono mesoporoso ordenado; PIL – Líquido iônico polimerizado; SAMF – Filmes monomoleculares auto-organizados; SDS – Dodecil sulfato de sódio; SWCNT – Nanotubos de carbono de paredes simples; TAPc – Tetra-aminofalocianina.

4.2.6 Considerações gerais

A utilização do ECV/MWCNT/AF se mostrou interessante na determinação de EP. A metodologia utilizada sugere a formação de espécies mais estáveis, ligninas do ácido ferúlico. Foi possível determinar constante catalítica (κ_{obs}) utilizando a cronoamperometria e o EDR, e propor um mecanismo para o processo catalítico. Utilizando EDR foi possível construir uma curva analítica para EP e determinar seus parâmetros analíticos, os quais se apresentam comparáveis aos da literatura atual. A utilização do AF e MWCNT na construção de sensores apresentou boa reprodutibilidade, fácil preparação e pode ser uma boa alternativa para análise em formulações farmacêuticas ou outras matrizes biológicas.

5 CONCLUSÕES

Foram desenvolvidos com sucesso sensores eletroquímicos utilizando diferentes modificadores. Foram utilizados com nanotubos de carbono, óxido de cobalto para determinar peróxido de hidrogênio, ácido ferúlico para epinefrina.

A utilização de óxidos surge como uma alternativa para se obter importantes características num sensor eletroquímico. Foi possível caracterizar a morfologia do ECV/MWCNT/Co através da técnica de MEV, que possibilitou identificar o processo de funcionalização da plataforma. Além disso, através da voltametria cíclica, o sistema apresentou um par redox bem definido. Apresentou uma faixa linear de resposta de 3-13344 $\mu\text{mol L}^{-1}$, limite de detecção de 0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e quantificação 3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sensibilidade de 4,37 nA μmol^{-1} . Constante de velocidade de transferência heterogênea de elétrons (κ_s) de 8,2 s^{-1} e constante catalítica de $1,38 \times 10^4 \text{ L mol s}^{-1}$.

O uso de ácidos fenólicos capazes de se polimerizar sobre os nanotubos de carbono, formando estruturas mais estáveis, tem sido muito utilizado como uma solução à passivação que ocorre na oxidação de fenóis. A incorporação de ácido ferúlico na superfície dos nanotubos de carbono melhorou o desempenho do sensor, diminuindo o potencial de oxidação da Epinefrina. Ainda, apresentou limites de detecção e quantificação e sensibilidade de 22,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 73 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 3,69 nA $\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$, respectivamente, aplicando um potencial de 0,2 V vs. Ag/AgCl.

A busca por sistemas formados por novos materiais e novas moléculas para aplicações em eletroanálise têm sido uma alternativa para contornar alguns problemas enfrentados, principalmente no tocante a estabilidade dos sensores. Assim, os sistemas desenvolvidos nesta tese apresentaram avanços com a diminuição do potencial aplicado, aumento da estabilidade e das constantes catalíticas. Essas características são essenciais para a construção de um sistema quando pensamos em aplicações práticas, o que abre oportunidades para aplicação dos mesmos em amostras reais complexas e também na construção de novos dispositivos, com base neste trabalho.

6 PERSPECTIVAS

Pretende-se dar continuidades aos estudos reportados no que tange ao esclarecimento dos processos de ativação das espécies na superfície do eletrodo.

Realizar a caracterização morfológica utilizando a técnica de MEV para o sensor com AF.

Utilizar os sensores desenvolvidos em matrizes biológicas e outros analitos, realizando o estudo de possíveis interferentes.

Tentar imobilizar diferentes mediadores em matrizes tais como, grafeno e nanotubos de carbono, entre outras, visando o aumento da estabilidade do mesmo para posterior aplicação em fluidos biológicos.

Estudar novos sistemas para detecção de H_2O_2 e Ep visando o desenvolvimento de sensores, e ainda miniaturizar e tornar portáteis os sistemas desenvolvidos.

REFERÊNCIAS

AMMAM, Malika; EASTON E. Bradley. Novel organic–inorganic hybrid material based on tris(2,2'-bipyridyl)dichlororuthenium(II) hexahydrate and Dawson-type tungstophosphate $K_7[H_4PW_{18}O_{62}] \cdot 18H_2O$ as a bifunctional hydrogen peroxide electrocatalyst for biosensors. *Sensors and Actuators B* 161 (2012) 520-527.

ANDRIEUX, C. P.; . SAVEANT, J. M.. Heterogeneous (chemically modified electrodes, polymer Electrodes) vs. Homogeneous catalysis of electrochemical Reactions. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 93 (1978) 163-168.

ARAKAWA, Ryuichi *et al.*. Product analysis of caffeic acid oxidation by on-line electrochemistry/electrospray ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass. Spectrometry* 15 (2004) 1228-1236.

ARVINTE, Adina *et al.*. Electrocatalytic oxidation and determination of insulin at CNT-nickel–cobalt oxide modified electrode. *Sensors and Actuators B* 150 (2010) 756-763.

BARD, A. J.; FALKNER, L.. *Electrochemical methods – Fundamental and Applications*, 2nd, ed. Wiley, New York, 2001.

BEITOLLAHI, Hadi *et al.*. Novel 2,2'-[1,2-ethanediylbis(nitriloethylidyne)]-bis-hydroquinone double-wall carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of epinephrine, uric acid and folic acid. *Biosensors and Bioelectronics* 24 (2008) 362-368.

BENEDETTI, Tânia M.. (2011) TESE: Caracterização eletroquímica de filmes nanoestruturados de óxido de manganês e de vanádio em líquidos iônicos: aplicação em baterias e supercapacitores. São Paulo-SP.

BERNARDELLI, Jossy K. B.. (2009) Dissertação: Preparo e caracterização de eletrodos compósitos a base de carbono, bismuto e poliuretano para determinação de metais. Paraná-PR.

BURKE, L.D. *et al.*. Formation of hydrous oxide films on cobalt under potential cyclinic conditions. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 132 (1982) 247-261.

CHEN, Chi-hao *et al.*. Amperometric determination of NADH with Co_3O_4 nanosheet modified electrode. *Biosensors and Bioelectronics* 42 (2013) 379-384.

CHEN, Kuan-Jung. Bimetallic PtM (M = Pd, Ir) nanoparticle decorated multi-walled carbon nanotubes enzyme-free, mediator-less amperometric sensor for H₂O₂. *Biosensors and Bioelectronics* 33 (2012) 120-127.

CORRÊA, Gláucia T.. (2013) Dissertação: Determinação eletroanalítica do herbicida paraquat em soluções aquosas sobre eletrodos modificados com o sistema quitosana-NiTsPc. São Luís-MA.

COWLING, R. D.; RIDDIFORD.. The anodic behaviour of cobalt in alkaline solutions. *Electrochimica Acta* 14 (1969) 981-989.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G.. Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras – materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. EDIPUCRS, Porto Alegre, 2007.

FREIRE, R. S.; PESSOA, C. A.; KUBOTA, L. T.. Emprego de monocamadas autoorganizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. *Química Nova* 26 (2003) 381-389.

GALLUS, Z.. *Fundamentals of Electrochemical Analysis*, Ellis Horwood Press, New York, 313, 1976.

GHALKHANI, M.; SHAHROKHIAN, S.. Application of carbon nanoparticle/chitosan modified electrode for the square wave adsorptive anodic stripping voltammetric determination of Niclosamide. *Electrochemistry Communications* 12 (2010) 66-69.

GLIGOR, D. *et al.* Poly-phenothiazine derivative-modified glassy carbon electrode for NADH electrocatalytic oxidation. *Electrochimica Acta* 54 (2009) 3124–3128.

GUZMÁN, C. *et al.* Hydrogen peroxide sensor based on modified vitreous carbon with multiwall carbon nanotubes and composites of Pt nanoparticles–dopamine. *Electrochimica Acta* 54 (2009) 1728–1732.

HAN, Qing. Enhanced hydrogen peroxide sensing by incorporating manganese dioxide nanowire with silver nanoparticles. *Electrochemistry Communications* 38 (2014) 110–113.

HOTTA, Hiroki *et al.* Mechanistic study of the oxidation of caffeic acid by digital simulation of cyclic voltammograms. *Analytical biochemistry*, 303 (2002) 66-72.

HUA, Mu-Ya *et al.*. A hydrogen peroxide sensor based on a horseradish peroxidase/polyaniline/carboxy-functionalized multiwalled carbon nanotubes modified gold electrode. *Electrochimica Acta* 56 (2011a) 9488-9495.

HUA, Mu-Yi *et al.*. A novel polybenzimidazole-modified gold electrode for the analytical determination of hydrogen peroxide. *Talanta* 85 (2011b) 631–637.

IJIMA1991. IJIMA, S.. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354 (1991) 56-58.

IUPAC1987. Analytical Methods Committee. *Analyst* 112 (1987) 199-204.

JANEGITZ, Bruno C.. (2012) TESE: desenvolvimento de biossensores utilizando nanotubos de carbono e nanopartículas de ouro. São Carlos-SP.

KRIVENKO, G. *et al.*. Peculiarities of the electrochemical behavior of modified electrodes containing single-wall carbon nanotubes. *Electrochemistry Communications* 7 (2005) 199-204.

KUL, Dilek. *et al.*. A novel amperometric sensor for ascorbic acid based on poly(NileblueA) and functionalized multi-walled carbon nanotubes modified electrodes. *Talanta* 111 (2013) 76-84.

LAVIRON, E. 1979. general expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *J. Electroanal. Chem.*, 101 (1979) 19-28.

LI, Yali *et al.*. Gold nanoparticles mediate the assembly of manganese dioxide nanoparticles for H₂O₂ amperometric sensing. *Electrochimica Acta* 55 (2010) 5123–5128.

LIMA, P. R.. (2009) Tese: Eletrodo Modificado à Base de 4-Nitroftalonitrila: Sensor Amperométrico para Quantificação de Alguns Antioxidantes de Relevância Biológica. Campinas-SP.

LIN, Chia-Yu *et al.*. Electrode modified with a composite film of ZnO nanorods and Ag nanoparticles as a sensor for hydrogen peroxide. *Talanta* 82 (2010) 340-347.

LIN, Kuo-Chiang *et al.*. Performing enzyme-free H₂O₂ biosensor and simultaneous determination for AA, DA, and UA by MWCNT–PEDOT film. *Biosensors and Bioelectronics* 26 (2010) 608–614.

LIU, Linjie *et al.*. Electrochemically reduced graphene oxide-based electrochemical sensor for the sensitive determination of ferulic acid in *A. sinensis* and biological samples. *Materials Science and Engineering C* 42 (2014) 227-233.

LOPES, Cleylton B.. (2010) Dissertação: Niclosamida: Um novo mediador para a Eletro-oxidação de NADH. Maceió-AL.

LUO, Liqiang *et al.*. Simultaneous determination of epinephrine and uric acid at ordered mesoporous carbon modified glassy carbon electrode. *Anal. Methods* 4 (2012) 2417-2422.

PERCY, Marzal, C.. (2005) TESE: Desenvolvimento de um eletrodo amperométrico para a determinação de glutatona em eritrócitos. Campinas-SP.

PETRUCCI, Rita *et al.*. A spectroelectrochemical and chemical study on oxidation of hydroxycinnamic acids in protic medium. *Electrochimica acta*, 52 (2007) 2461-2470.

MINNIKANTI, S., SKEATH, P., PEIXOTO, N.. Electrochemical characterization of multi-walled carbon nanotube coated electrodes for biological applications. *Carbon* 47 (2009) 884-893.

MOASSANHA, Rosana. (2011) Dissertação: Preparação, caracterização e estudos eletroquímicos de eletrodos modificados com diferentes monocamadas auto-organizadas. Ponta Grossa-PR;

MOGHADDAM, Abdolmajid B. *et al.*. Electrochemical behavior of caffeic acid at single-walled carbon nanotubes:graphite-based electrode. *Biophysical chemistry* 128 (2007) 30-37.

MORAES, Fernando C.. (2010) TESE: Nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. São Carlos-SP.

OZOEMENA, Kenneth I. *et al.*. Influence of solution pH on the electron transport of the self-assembled nanoarrays of single-walled carbon nanotube-cobalt tetra-aminophthalocyanine on gold electrodes: Electrocatalytic detection of epinephrine. *Electrochimica Acta* 53 (2008) 2844-2851.

PATRA, S.; MUNICHANDRAIAH, N.. Electrochemical reduction of hydrogen peroxide on stainless steel. *J. Chem. Sci.* (121) 675-683.

PEÑA, Roselyn C. *et al.*. Studies on the Electrocatalytic Reduction of Hydrogen Peroxide on a Glassy Carbon Electrode Modified With a Ruthenium Oxide Hexacyanoferrate Film. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6 (2011) 394-403.

PEREIRA, Arnaldo C. *et al.*. Tendências em modificações de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. *Química nova* 25 (2002) 1012-1021.

PITANGA, Angelo F. (2009) Dissertação: Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de cetoconazol em formulações farmacêuticas utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com hemina. São Cristovão-SE.

QIN, Xia *et al.*. Synthesis of dendritic silver nanostructures and their application in hydrogen peroxide electroreduction. *Electrochimica Acta* 56 (2011) 3170-3174.

RAZMI, Habib e HABIBI, Esmail. Amperometric detection of acetaminophen by an electrochemical sensor based on cobalt oxide nanoparticles in a flow injection system. *Electrochimica Acta* 55 (2010) 8731-8737.

RIBEIRO, José A. O. (2013) TESE: Caracterização e Otimização de Sensores Eletroquímicos para Aminas Biogénicas. Porto-Protugal.

ROSATTO, Simone S. *et al.*. Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental. *Quim. Nova* 24 (2001) 77-86.

SALIMI, Abdolla *et al.*. A novel non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on single walled carbon nanotubes–manganese complex modified glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta* 56 (2011) 3387–3394.

SALIMI, Abdollah *et al.*. Nanomolar detection of hydrogen peroxide on glassy carbon electrode modified with electrodeposited cobalt oxide nanoparticles. *Analytica Chimica Acta* 594 (2007) 24-31.

SANTHIAGO, M. (2010) Dissertação: Construção de plataformas nanoestruturadas para detecção de Cys e NADH. Campinas-SP.

SHIEH, Yeon-Tarng. JIANG, Huei-Fang. Graphene oxide-assisted dispersion of carbon nanotubes in sulfonated chitosan-modified electrode for selective detections of dopamine, uric acid, and ascorbic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 736 (2015) 132-138.

SILVA Francisco A. S. *et al.*. A very low potential electrochemical detection of L-cysteine based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes/gold nanorods. *Biosensors and Bioelectronics* 50 (2013) 202-209.

SILVA, Francisco A. S. *et al.*. Poly-xanthurenic acid as an efficient mediator for the electrocatalytic oxidation of NADH. *Electrochemistry Communications* 12 (2010) 450-454.

SILVA, Francisco A. S.. (2013) TESE : Desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados para eletroanálise de antioxidantes de importância biológica. Maceió-AL.

SILVA, Francisco A. S.. Poly-xanthurenic acid modified electrodes: An amperometric sensor for the simultaneous determination of ascorbic and uric acids. *Sensors and Actuators B* 168 (2012) 289– 296.

SILVA, Wilson C.. (2011) Dissertação: Sensor amperometrico a base de nanotubos de carbono e ácido ferúlico para a detecção eletrocatalítica de NADH. Maceió-AL.

SIVANESAN, Arumugam. Selective Electrochemical Epinephrine Sensor Using Self-Assembled Monomolecular Film of 1,8,15,22-Tetraaminophthalocyanatonickel(II) on Gold Electrode. *Electroanalysis* 20 (2008) 2340-2346.

SOTIROPOULOU, S. *et al.*. Novel carbon materials in biosensor systems. *Biosensors and Bioelectronics* 18 (2003) 211-215.

SPATARU, Nicole *et al.*. Electrochemical Behavior of Cobalt Oxide Films Deposited at Conductive Diamond Electrodes. *Journal of The Electrochemical Society* 150 (7) 337-341.

STENGER, Vagner. (2008) Dissertação: Rugosidade Superficial de Camadas Eletrodepositadas de Óxido de Cobre. Florianópolis-SC.

SUNI, I. I.. Impedance methods for electrochemical sensors using nanomaterials. *Trends in Analytical Chemistry* 7 (2008) 604-611.

THOMAS, Tony *et al.*. Pristine multi-walled carbon nanotubes/SDS modified carbon paste electrode as an amperometric sensor for epinephrine. *Talanta* 125 (2014) 352-360;

TIAN, Li *et al.*. Electrochemical study on cobalt film modified glassy carbon electrode and its application. *Eletrochimica Acta* 55 (2010) 3083-3088.

VENDRAMET, Zilda B.. (2004) TESE: Eletrodos modificados e não modificados na determinação de compostos sulfurados - um estudo comparativo. Santa Maria-RS.

WANG, Fengxian. 2013. Rapid microwave-assisted synthesis of ball-in-ball CuO microspheres and its application as a H₂O₂ sensor. *Materials Letters* 92 (2013) 96-99.

WANG, J.. *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2000.

WANG, J.. Modified electrodes for electrochemical sensors. *Electroanalysis* 3 (1991) 255-259.

WANG, R *et al.*. Simultaneous voltammetric measurement of ascorbic acid, epinephrine and uric acid at a glassy carbon electrode modified with caffeic acid. *Biosensors and Bioelectronics* 21 (2006) 1086-1092.

WANG, Yang; Chen, Zhan-Zhan. A novel poly(taurine) modified glassy carbon electrode for the simultaneous determination of epinephrine and dopamine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 74 (2009) 322-327.

WONG, Ademar. (2010) Dissertação: Desenvolvimento de sensor biomimético para determinação de captopril em amostras de interesse ambiental, biológico e farmacêutico. Araraquara-SP.

WU, Ying *et al.*. Sensing epinephrine with an ITO electrode modified with an imprinted chitosan film containing multi-walled carbon nanotubes and a polymerized ionic liquid. *Microchim Acta* (2013) 180:1325-1332.

XIA, W. *et al.*. A highly efficient gas-phase route for the oxygen functionalization of carbon nanotubes based on nitric acid vapor. *Carbon* 47 (2009) 919-922.

YANG, N. *et al.*. Carbon nanotube based biosensors. *Sensors and Actuators B* (2014) Accepted Manuscript.

YANG, Zhousheng *et al.*. Amperometric sensors based on Ni/Al and Co/Al layered double hydroxides modified electrode and their application for hydrogen peroxide detection. *Biosensors and Bioelectronics* 26 (2011) 1970-1974.

YIN, Zhaojing *et al.*. Amperometric sensors based on Ni/Al and Co/Al layered double hydroxides modified electrode and their application for hydrogen peroxide detection. *Biosensors and Bioelectronics* 26 (2011) 1970-1974.

ZENG B.; DING, X.; ZHAO, F.. Voltammetric Response of Glutathione and 3-Mercaptopropionic Acid Self-Assembled Monolayer Modified Gold Electrodes to Cu(II). *Electroanalysis* 14 (2002) 651-656.

ZHANG, Xin *et al.*. An electrochemical biosensor for ascorbic acid based on carbon-supported PdNi nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics* 44 (2013) 183-190.

ZHAO, W. *et al.*. A novel nonenzymatic hydrogen peroxide sensor based on multi-wall carbon nanotube/silver nanoparticle nanohybrids modified gold electrode. *Talanta* 80 (2009) 1029-1033.

ZHENG, Li; SONG, Jun-Feng. Curcumin multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode and its electrocatalytic activity towards oxidation of hydrazine. *Sensors and Actuators B* 135 (2009) 650-655.

ZUO, Xia *et al.*. An electrochemical biosensor for determination of ascorbic acid by cobalt (II) phthalocyanine–multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B* 161 (2012) 1074-1079.