



UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES A PARTIR DE
PLATAFORMAS NANOESTRUTURADAS PARA
ELETROANÁLISE DE SUBSTÂNCIA DE IMPORTÂNCIA
MEDICINAL.**

NICHOLAS DEYMISSON DOS SANTOS

Universidade Federal de Alagoas

**Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins
57072-970 - Maceió-AL**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – IQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

NICHOLAS DEYMISSON DOS SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES A PARTIR DE PLATAFORMAS
NANOESTRUTURADAS PARA ELETROANÁLISE DE SUBSTÂNCIA DE
IMPORTÂNCIA MEDICINAL.**

Maceió – AL

2019

NICHOLAS DEYMISSON DOS SANTOS

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES A PARTIR DE PLATAFORMAS
NANOESTRUTURADAS PARA ELETROANÁLISE DE SUBSTÂNCIA DE
IMPORTANCIA MEDICINAL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre em química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marília Oliveira Fonseca Goulart

Coorientador: Prof^o. Dr. Leonardo Vieira da Silva

Maceió - AL

2019

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237d Santos, Nicholas Deymisson dos.

Desenvolvimento de sensores a partir de plataformas nanoestruturadas para eletroanálise de substância de importância medicinal / Nicholas Deymisson dos Santos. – 2019.

199 f. : il. color.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Coorientador: Leonardo Vieira da Silva.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2019.

Bibliografia: f. 84-93.

Anexos: f. 96-99.

1. Capsaicina. 2. Ácido xanturênico. 3. Análise eletroquímica. 4. Eletrodos modificados. 5. Ácido ascórbico. 6. Ácido úrico. 7. Dopamina. I. Título.

CDU: 544.6.076.32



PPGQB

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 dissertação de mestrado de **NICHOLAS DEYMISSON DOS SANTOS**, intitulada: **“Desenvolvimento de sensores a partir de plataformas nanoestruturadas para eletroanálise de substâncias de importância medicinal”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no dia 12 de agosto de 2019, às 14h, no Auditório do Núcleo de Pesquisa Multidisciplinar da Universidade Federal de Alagoas.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart
(Orientadora - PPGQB/IQB/UFAL)

Prof. Dr. Leonardo Vieira da Silva
(Coorientador – IFAL-Maceió)

Prof. Dr. Diógenes Menezes dos Santos
(PPGQB/IQB/UFAL)

Prof. Dra. Jadriane de Almeida Xavier
(IQB/UFAL)

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

Prof. Dra. Andresa Katherine Albuquerque de Almeida
(IQB/UFAL)

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por proporcionar tantas coisas boas em minha vida.

Em especial à minha família, por ter me proporcionado todo apoio, com muito amor e dedicação, minha base para tudo!

Aos meus pais **José Pedro dos Santos** e **Maria Aparecida dos Santos**, que me ensinaram o valor do trabalho honesto e digno, agradeço pela paciência e todo amor durante toda a minha vida;

Ao meu irmão **Denyson Anderson dos Santos**, por toda amizade, apoio e orgulho;

Aos meus avós **Darci Felix de Oliveira**, **Zoraide Quintela de Oliveira** e ao meu tio **Jadson Quintela de Oliveira**, por terem acreditado no meu potencial e nunca terem deixado faltar nada;

Aos meus primos **José Arquimedes dos Santos** e **Edson Rosa**, por terem me proporcionado momentos únicos e inesquecíveis, foram as pessoas que me apresentaram o mundo do estudo;

A minha orientadora, **Prof^a. Dra. Marília O. F. Goulart**, por ter acreditado no meu potencial e ser um exemplo de professora e pessoa;

Ao meu co-orientador **Leonardo Vieira**, pela paciência e aprendizado, além de proporcionar a visão que todo sonho é construído a partir do estudo;

Uma gratidão imensa a **Andresa**, **Dave** e **Heloise**, que me ajudaram de maneira significativa na construção dessa dissertação.

Aos meus amigos do laboratório, **Jadriane**, **Waldomiro**, **Jessika Lane**, **Juliana**, **Edu**, **Orlando**, **Erivaldo**, **Fred**, **Amidou**, **Angladis**, **Leyllane**, **Tauane**, **Mônika**, **Samaysa**, **André Felipe**, **Tamires**, **Carol**, **Anny**, **Felipe**, **Cleylton**, **Kívia**,

Fabiana, Amylly, Jamerson, André, Aldir, dona cida e o jovem, agradeço por todo o companheirismo e ensinamentos, os quais irei levar para o resto da vida;

Aos meus amigos **Elvis Max, Eid Calvacante, Bruno Carlos, Anglandis, Samuel soares, João Victor, Rafael Amorin**, pelos momentos bons e de grande aprendizagem;

aos meus amigos de curso **Ana Iaís, Gleidson, Jerivan, Cris Vieira, Guimarães, Samaysa, Leylane, Breno, Ivis, Jorge e Luis (Pato)**, por toda a ajuda e sorriso durante esta jornada.

A todos os professores do IQB, pelos ensinamentos, os pilares para minha formação.

Não poderia deixar de agradecer à Universidade Federal de Alagoas, ao Instituto de Química e Biotecnologia e ao PPGQB;

Ao CNPq, pela bolsa de mestrado e aos órgãos financiadores: CAPES, CNPq e FAPEAL, pelo apoio ao nosso grupo de pesquisa;

Obrigado, pessoal, por tudo.

Na busca da felicidade e realização pessoal e profissional, o entusiasmo é um grande motivador. Não permita que acontecimentos ou pessoas negativas venham desencorajá-la.”

(Cristina Deutsch)

RESUMO

Esta dissertação apresenta o desenvolvimento de plataformas à base de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e derivados de fenóis: capsaïcina (CAP) e ácido xanturênico (AX), para a determinação de ácido ascórbico (AA), ácido xanturênico (AX), ácido úrico (AU) e dopamina (DA), com avaliação de parâmetros analíticos e cinéticos. As técnicas empregadas para a realização desse trabalho foram voltametria cíclica e cronoamperometria. O trabalho encontra-se dividido em duas etapas. Na primeira, relata-se o desenvolvimento de uma plataforma nanoestruturada baseada em MWCNT e produto eletrogerado por oxidação de capsaïcina (CAP), para determinação de ácido ascórbico (AA), ácido xanturênico (AX) e ácido úrico (AU). Por meio de estudos cronoamperométricos, foi possível obter constantes cinéticas, em relação ao AA; sendo o coeficiente de difusão (D) de $1,23 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e a constante catalítica em relação ao eletrodo modificado (k_{cat}) de $1,45 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; em relação ao AX, os valores obtidos foram obtidos (D) $5,67 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e (k_{cat}) $5,94 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, enquanto, para o ácido úrico, (D) de $3,0 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e (k_{cat}) de $2,10 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. As figuras de mérito analíticas, em relação a AA, AX e AU foram obtidas: faixa linear de 5-75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de 1,95 $\mu\text{mol L}^{-1}$, faixa linear de 10-95 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de 8,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e faixa linear de 5-70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de 1,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Na segunda etapa, descreve-se o desenvolvimento de uma plataforma nanoestruturada baseada em nanotubos de carbono e produto eletrogerado por oxidação de AX para determinação de DA. As constantes cinéticas obtidas foram: D_{DA} de $9,57 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e k_{cat} de $1,14 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. O sensor amperométrico apresentou uma faixa linear de 5-75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de 2,42 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A plataforma com o produto derivado da capsaïcina é pela primeira vez descrita na literatura e ambas as plataformas permitiram a detecção dos analitos em níveis micromolares.

Palavras-chave: capsaïcina, ácido xanturênico, eletroanalítica, eletrodos quimicamente modificados, ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina.

ABSTRACT

This work presents the development of a platform based on multiple-walled carbon nanotubes (MWCNT) and phenols, for the detection and determination of ascorbic acid (AA), xanthurenic acid (AX), uric acid (AU) and dopamine (DA), with evaluation of analytical and kinetic parameters. The techniques used to perform this work were cyclic voltammetry and chronoamperometry. The work is divided in two parts. In the first one, we report the development of a nanostructured platform based on MWCNT and electrochemical oxidation based product from capsaicin (CAP), for determination of ascorbic acid (AA), xanthurenic acid (AX) and uric acid (AU). In the chronoamperometric studies, it was possible to obtain kinetic constants, in relation to AA: diffusion coefficient (D) of $1.23 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ and catalytic constant for the modified electrode (k_{cat}) of $1.45 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; in relation to AX, the values obtained were (D) $5.67 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ and (k_{cat}) $5.94 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ and for uric acid, were (D) $3.0 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e (k_{cat}) de $2.10 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. The analytical parameters, in relation to AA, AX and AU were obtained: linear range of $5\text{-}75 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ and detection limit of $1.95 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, linear range of $10\text{-}95 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ and detection limit of $8.76 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, and linear range of $5\text{-}70 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ and detection limit of $1.56 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ respectively. In the second stage, we describe the development of a nanostructured platform based on MWCNT and oxidized AX for DA determination. The kinetic constants obtained for dopamine were: D_{DA} de $9.57 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ and k_{cat} de $1.14 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. The amperometric sensor presented a linear range of $5\text{-}75 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ and detection limit of $2.42 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. The oxidized capsaicin-based platform was reported for the first time and both were able to detect the analytes at the micromolar level.

Keywords: capsaicin, xanthurenic acid, electroanalysis, chemically modified electrodes, ascorbic acid, uric acid and dopamine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Comparação entre os processos de oxirredução: A) Transferência de elétrons direta, na superfície do eletrodo, heterogênea; B) Transferência de elétrons mediada. (Red) e (Oxi) representam o analito em seus estados reduzido e oxidado, respectivamente. M_R e M_O representam o mediador nos estados reduzido e oxidado, ambos confinados na superfície do eletrodo. C) Diferentes mecanismos para transferência mediada de elétrons.....	15
Figura 2.	Modelo esquemático dos principais componentes de um sensor eletroquímico.....	18
Figura 3.	Modelo esquemático do SWNTC (A), MWNTC (B).....	21
Figura 4.	Nanotubos de carbono funcionalizados após tratamento ácido.....	22
Figura 5.	Rotas para polimerização de fenóis.....	25
Figura 6.	Estrutura da capsaïcina (CAP).....	38
Figura 7.	(A) triptofol e (B) Formação do ácido xanturênico, através da síntese do triptofano.....	39
Figura 8.	Estrutura do ácido ascórbico (AA).....	40
Figura 9.	Estrutura do Ácido úrico.(AU).....	41
Figura 10.	Mecanismo para formação das catecolaminas.....	42
Figura 11.	Estrutura da dopamina (DA).....	43
Figura 12.	Espectros Raman para (a) MWCNT, (b) MWCNT funcionalizado.....	50
Figura 13.	A) MWCNT COM Tratamento ácido 0 minutos, B) MWCNT sem tratamento, C) MWCNT COM tratamento ácido 180 min, D) MWCNT sem Tratamento 180 min.....	51
Figura 14.	Voltamogramas Cíclicos na faixa de -0,5 a 1,0 V vs. Ag/AgCl para a polimerização e ativação do ECV/MWCNT com capsaïcina (CAP) a 800 μM , em solução tampão fosfato 0,1 M, pH 5,5 e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	52
Figura 15.	Mecanismo apresentando a formação dos produtos gerados através da oxidação de CAP.....	54

Figura 16.	Micrografias de MEV de ECV/MWCNT (A), ECV/MWCNT/CAP (B).....	55
Figura 17.	Voltamogramas Cíclicos de (A) ECV/MWCNT/CAP, (B) ECV/MWCNT e (C) ECV em solução tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, $v = 0,005 \text{ V s}^{-1}$, na presença de AA, AU e AX.....	56
Figura 18.	Voltamogramas Cíclicos em ECV/MWCNT/CAP em várias velocidades de varredura em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 na presença de $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA (A), AX (B) e AU (C).....	58
Figura 19.	Variação da corrente de pico anódico I_{pa} vs. $v^{1/2}$ no ECV/MWCNT/CAP, em solução contendo $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA (A), AX (B) e AU (C). Medidas realizadas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e v 0,003-0,015 V s^{-1}	59
Figura 20.	Variação da corrente de pico anódica normalizada I_{pa}/v vs. v no ECV/MWCNT/CAP em solução contendo $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA (A), AX (B) e AU(C). Medidas realizadas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e v 0,003-0,015 V s^{-1}	60
Figura 21.	Modelo simplificado do mecanismo proposto para o processo de catálise redox de DA sobre a plataforma ECV/MWCNT/CAP.....	61
Figura 22.	Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 na ausência e presença de várias concentrações de AA, $E_{inicial} = + 0,050 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,100 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de I vs. $t^{1/2}$; (D) Gráficos de I_{cat}/I_{lim} vs. $t^{1/2}$; (E) inclinação vs [AA].....	63
Figura 23.	(A) Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 na ausência e presença de várias concentrações de AX, $E_{inicial} = + 0,050 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,100 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de I vs. $t^{1/2}$; (D) Gráficos de I_{cat}/I_{lim} vs. $t^{1/2}$; (E) inclinação vs [AX].....	64
Figura 24.	(A) Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 na ausência e presença de várias concentrações de AX, $E_{inicial} = + 0,050 \text{ V}$ e $E_{final} = - 0,100 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de I vs. $t^{1/2}$; (D) Gráficos de I_{cat}/I_{lim} vs. $t^{1/2}$; (E) inclinação vs [AU].....	65

Figura 25.	(A) Medidas cronoamperométricas para a eletrooxidação de AA no ECV/MWCNT/CAP obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0, E _{aplicado} = +0,0500 V vs. Ag/AgCl; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de AA no ECV/MWCNT/CAP, em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0.....	66
Figura 26.	(A) Medidas cronoamperométricas para a eletrooxidação de AX no ECV/MWCNT/CAP obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0, E _{aplicado} = +0,520 V vs. Ag/AgCl; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de AX em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0.....	68
Figura 27.	A) Medidas cronoamperométricas para a eletrooxidação de AU no ECV/MWCNT/CAP obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0, E _{aplicado} =+0,32 V vs. Ag/AgCl; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de AU, em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0.....	69
Figura 28.	Resposta amperométrica de ECV/MWCNT/CAP, em adições de (1) AA, (2) AU, (3) EP,(4) SE e (5) AX, em tampão fosfato pH 7,0, potencial aplicado de +0,05 V.....	71
Figura 29.	Voltamogramas Cíclicos na faixa de -0,6 a 1,0 V vs. Ag/AgCl para a polimerização e ativação do ECV/MWCNT com ácido xanturenico a 300 μM, em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 5,5 e v = 50 mV s ⁻¹	73
Figura 30.	Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/AX ausência e na presença de Dopamina (DA) v = 5 mV s ⁻¹ , em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0.....	74
Figura 31.	Mecanismo de oxidação da dopamina.....	75
Figura 32.	Voltamogramas Cíclicos de ECV/MWCNT/AX em várias velocidades de varredura em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0 na presença de 200 μmol L ⁻¹ de DA.....	76
Figura 33.	Variação da corrente de pico anódica I _{pa} vs. v ^{1/2} no ECV/MWCNT/AX, em solução contendo 200μmol L ⁻¹ de DA. Medidas realizadas em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0 e v = 0,003-0,015 V s ⁻¹	76
Figura 34.	Variação da corrente de pico anódica normalizada I _{pa} /v vs. v no ECV/MWCNT/AX em solução contendo 200 μmol L ⁻¹ de DA. Medidas	

	realizadas em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0 e v 0,003-0,015 V s ⁻¹	77
Figura 35.	Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/AX em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,0 na ausência e presença de várias concentrações de DA, E _{inicial} = + 0,225 V e E _{final} = - 0.150 V vs. Ag/AgCl; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de <i>I</i> vs. <i>t</i> ^{-1/2} ; (D) Gráficos de <i>I</i> _{cat} / <i>I</i> _{lim} vs. <i>t</i> ^{1/2} ; (E) inclinação vs [DA].....	78
Figura 36.	Medidas cronoamperométricas para a eletrooxidação de DA no ECV/MWCNT/AX obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0 E _{aplicado} = +0,225 V vs. Ag/AgCl.; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de DA no ECV/MWCNT/AX, em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7,0.....	79
Figura 37.	Estruturas de compostos fenólicos utilizados como mediadores redox, após eletropolimerização (TABELA 1).....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela1 -	Fenóis utilizados para geração de polímeros como mediadores redox.....	28
Tabela2 -	componentes do plasma sanguíneo sintético (PSG,PBS 7,4) e urina sintético (PBS 6,0).....	48
Tabela3 -	Potenciais e corrente referentes à oxidação de AA, AU e AX em diferentes plataformas obtidos por voltametria cíclica.....	57
Tabela4 -	Parâmetros eletroquímicos e analíticos de eletrodos modificados para a determinação de AA.....	67
Tabela5 -	Parâmetros eletroquímicos e analíticos de eletrodos modificados para a determinação de AU.....	70
Tabela6 -	Determinação de AA e AU em plasma sintético.....	72
Tabela7 -	Parâmetros eletroquímicos e analíticos de eletrodos modificados para a determinação simultânea de DA.....	80
Tabela8 -	Determinação de DA em amostras farmacêuticas.....	81

LISTA DE SIGLAS E ABREVIÇÕES

- A- Área geométrica do eletrodo
- AA- Ácido ascórbico
- AU- Ácido úrico
- AX- Ácido xanturênico
- b- coeficiente angular
- CAP - capsaïcina
- C_o- Concentração do analito, no seio da solução
- D- Coeficiente de difusão
- DMF – *N,N*-Dimetilformamida
- DA- Dopamina
- E- potencial
- ECV- Eletrodo de Carbono Vítreo
- E_{final}- Potencial final
- E_{inicial}- Potencial Inicial
- EP- Epinefrina
- F- Constante de Faraday
- I- Corrente
- k_{cat}- constante catalítica
- LD- Limite de detecção
- MWCNT- “Multi-walled carbon nanotubes” Nanotubos de carbono de paredes múltiplas
- n- número de elétrons
- NTC- Nanotubos de carbono
- Poli-CAP- polímero de capsaïcina
- R- Coeficiente de correlação
- SE- Serotonina
- T- temperatura
- TE – Transferência de elétrons
- VC- Voltametria Cíclica
- v – Velocidade de varredura de potencial
- σ- Desvio padrão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	Sensores eletroquímicos	18
2.2	Eletrodos modificados	19
2.3	Nanotubos de carbono	20
2.4	Mediadores redox a base de fenóis	23
2.4.1	Capsaicina	38
2.4.2	Ácido xanturênico	38
2.5	A importância das substâncias químicas selecionadas	40
2.5.1	Ácido ascórbico.....	40
2.5.2	Ácido úrico.....	40
2.5.3	Catecolamina.....	41
3	OBJETIVO	44
3.1	Geral.....	44
3.2	Específicos.....	44
4	METODOLOGIA	45
4.1	Reagentes	45
4.1.1	Tratamento dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas(MWCNT).....	45
4.2	Equipamentos e materiais	45
4.3	Limpeza do eletrodo de carbono vítreo (ECV)	46
4.4	Preparação de solução de CAP e XA	46
4.5	Preparação da plataforma de MWCNT	46
4.5.1	Preparação da dispersão de MWCNT.....	46
4.5.2	Modificação do eletrodo de carbono vítreo com MWCNT.....	46
4.6	Modificação do eletrodo carbono vítreo com MWCNT e CAP	47

4.7	Modificação do eletrodo carbono vítreo com MWCNT e AX.....	47
4.8	Determinação da área ativa do EQM.....	47
4.9	Análises de amostra real e testes de interferências.....	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO (PARTE 1).....	50
5.1	Espectroscopia Raman para MWCNT.....	51
5.2	Dispersão do MWCNT em DMF.....	51
5.3	Processo de Polimerização de CAP em ECV/MWCNT.....	51
5.4	Atividade eletrocatalítica de ECV/MWCNT/CAP frente ao ácido ascórbico, ácido úrico e ácido xanturênico.....	55
5.5	Estudos Cronoamperométricos.....	55
5.6	Detecção Amperométrica.....	61
5.7.1	Ácido ascórbico.....	66
5.7.2	Ácido xanturênico.....	68
5.7.3	Ácido úrico.....	69
5.8	Teste interferência.....	71
5.9	Análises de amostras reais e testes de recuperação.....	72
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO (PARTE 2).....	73
6.1	Processo de Polimerização de AX em ECV/MWCNT.....	73
6.2	Atividade Eletrocatalítica de ECV/MWCNT/AX frente a DA.....	74
6.3	Estudos Cronoamperométricos.....	78
6.4	Detecção Amperométrica	79
6.4.1	Dopamina.....	79
6.5	Análises de amostra real.....	81
7	CONCLUSÃO.....	82
8	PERSPECTIVAS.....	83
9	REFERÊNCIAS.....	84

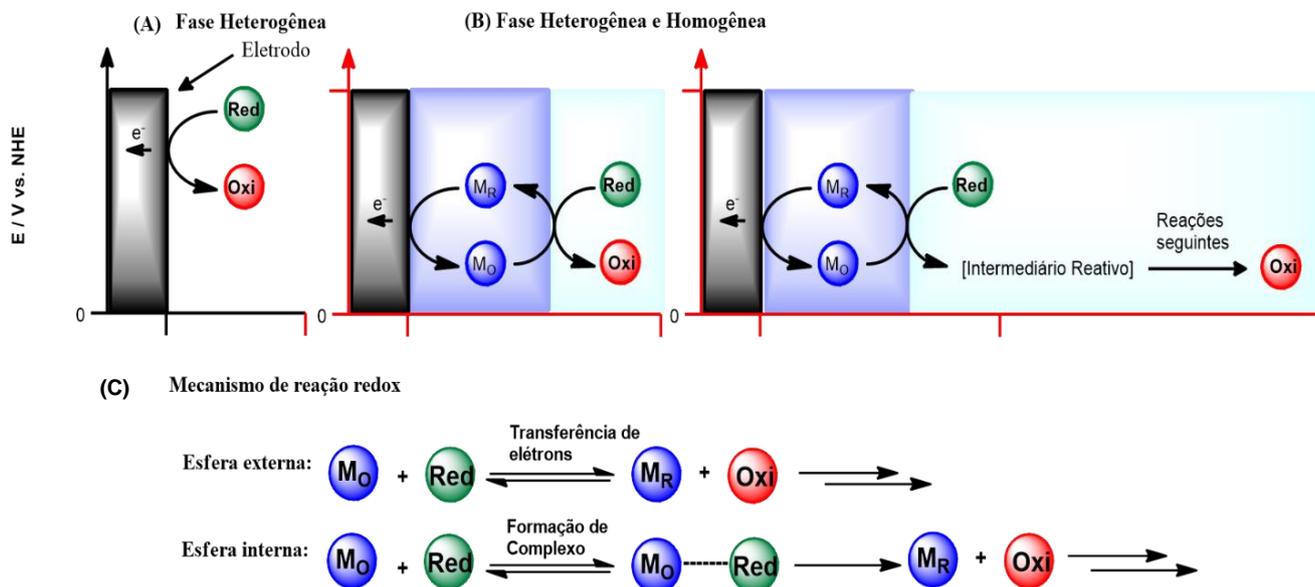
1. INTRODUÇÃO GERAL

Os sensores eletroquímicos têm uma vasta aplicação para determinação analítica de biomoléculas e seus metabólitos, tanto *in vitro* como *in vivo* (LABIB et al, 2016). Desta forma, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos é de suma importância para análises, devido a várias características, como alta sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade, robustez, fácil operação e interpretação, tempo rápido de resposta, possibilidade de miniaturização, portabilidade e estabilidade, permitindo análises *in situ*, em situações *point of care* (dispositivos locais), em células e em diferentes e complexos meios biológicos e ambientais (CIUCU, 2014; LABIB, 2016).

Nos sensores eletroquímicos, o mecanismo fundamental é a transferência de elétrons (TE), sob influência de um gradiente de potencial. A TE pode ocorrer em fase homogênea (em solução) ou fase heterogênea, ou seja, na superfície do eletrodo, ou em outras interfaces (SILVA, 2018)

A Figura 1 ilustra os processos de TE. A TE ocorre em solução ou na superfície de um eletrodo. Existem conversões diretas, onde a TE ocorre diretamente entre o eletrodo e a substância eletroativa (Figura 1A). Já, as conversões eletroquímicas indiretas são formas híbridas das conversões diretas e do processo redox homogêneo em solução. A reação direta pode ser substituída por uma reação redox, que ocorre entre uma espécie ativada eletroquimicamente (mediador) no eletrodo e o substrato, em solução (FRANCKE et al., 2014) (Figura 1B). As condições são escolhidas de modo que o mediador sofra oxidação ou redução no eletrodo, com subsequente TE homogênea com o analito de interesse, como é mostrado na Figura 1B. Há possibilidade de catálise redox, mesmo quando o mediador não é regenerado diretamente, mas pode sofrer alterações estruturais (Figura 1C).

Figura 1- Comparação entre os processos de oxirredução: A) Transferência de elétrons direta, na superfície do eletrodo, heterogênea; B) Transferência de elétrons mediada. (Red) e (Oxi) representam o analito em seus estados reduzido e oxidado, respectivamente. M_R e M_O representam o mediador nos estados reduzido e oxidado, ambos confinados na superfície do eletrodo. C) Diferentes mecanismos para transferência mediada de elétrons.



Fonte: SILVA et al., 2018.

Na Figura 1C, podem ser observados dois tipos de transferência de elétrons: no primeiro caso, ocorre a transferência em esfera externa entre o material de partida (Red ou Oxi) e o mediador (M_R ou M_O), sem ligação química entre eles. No segundo caso, em esfera interna, ocorre a formação de ligação entre a forma ativa do mediador (no caso M_O) e o substrato (Red), com a consequente TE, gerando M_R e Oxi.

Entre os mediadores redox, os fenóis ocupam posição de destaque, conforme descrito na revisão da literatura recentemente publicada pelo grupo de Eletroquímica e Estresse Oxidativo (LEEO) da UFAL (SILVA et al., 2018).

A eletropolimerização *in situ* de fenóis e derivados, na superfície do eletrodo apresenta diversas vantagens, tais como, a produção de compósitos uniformes reprodutíveis, que permitem uma relação sinal-ruído mais elevada e alta sensibilidade. Vários exemplos são relatados na literatura, tais como: ácido poli-xanturênico (SILVA et al., 2010, 2012), em nanotubos de carbono, poliacaféico, em eletrodo de carbono vítreo (MOGHADDAM et al., 2007; REN; LUO; LI, 2006b), ácido ferúlico (SILVA et al., 2017), naringenina (MÜLAZIMOĞLU, 2012), entre outros, que levaram ao desenvolvimento de sensores eletroquímicos aplicáveis em eletroanálise (SILVA, 2017).

Diante das vantagens apresentadas por sensores à base de nanotubos de carbono e mediadores fenólicos como reprodutibilidade, baixo limite de detecção e quantificação, alta sensibilidade e seletividade, este trabalho descreve a preparação e aplicação de plataformas para fins analíticos, baseadas em nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) e possíveis polímeros eletrogerados a partir da oxidação da capsaicina (CAP) e do ácido xanturênico (AX), para a determinação de compostos relevantes do ponto de vista biológico. Os MWCNTs foram selecionados devido à sua versatilidade, alta área de superfície eletroativa, baixa resistência à transferência de carga, possibilidade de funcionalização e capacidade de evitar o bloqueio da superfície do eletrodo, possível polímero gerado.

Entre os analitos, foram escolhidos: dopamina (DA), ácido xanturênico (AX), ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU).

A dopamina é da classe das catecolaminas, atua como neurotransmissor, é carregada positivamente em pH 7,0 e está amplamente presente no sistema nervoso central. Possui valores de $pK_{a1}=9,44$ e $pK_{a2}=12,80$. Ela desempenha um papel importante nos processos que envolvem aprendizagem. Os baixos níveis de DA têm sido relacionados a várias doenças neurológicas, incluindo depressão, doença de Parkinson e esquizofrenia (LABIB; SARGENT; KELLEY, 2016; PEASTON; WEINKOVE, 2004; ROBINSON et al., 2003, FERAPONTOVA, 2017).

O segundo analito, o ácido xanturênico (AX), tem sido amplamente estudado por estar presente no sangue do mosquito vetor da febre amarela (*Aedes aegypti*) e em mosquitos anofelinos transmissores da malária. Estudos demonstram que o AX tem uma grande relevância na maturação do gametócito e do plasmódio (BILLKER et al, 2004). Além disso, tem se mostrado um composto bioativo relevante. Possui três constantes de dissociação: $pK_{a1}=2,5$, $pK_{a2}=7,5$ e $pK_{a3}=11,5$.

O terceiro analito, ácido ascórbico (AA), atua sob condições fisiológicas, como doador de elétrons, o que permite reação com radicais biologicamente relevantes e outros oxidantes, tais como, o ânion superóxido, oxigênio singlete, etc. Além disso, pode regenerar a vitamina E (α -tocoferol). A vitamina C também atua como um cofator para enzimas envolvidas na biossíntese de colágeno e carnitina, além de participar na conversão do neurotransmissor dopamina para

norepinefrina e no metabolismo da tirosina (COSTA, 2016). Possui valores de $pK_{a1}=4,09$ e $pK_{a2}=11,8$.

O quarto analito, é o ácido úrico, que está entre as substâncias naturalmente produzidas pelo organismo. Ele surge como resultado da quebra de nucleotídeos de purina por ação da enzima xantina oxidase. Possui valores de $pK_{a1} = 5,4$ e $pK_{a2} = 10,3$, daí, em meio fisiológico, existe na forma de urato monoînico. O nível acima de $450 \mu\text{M}$ de AU, pode gerar a hiperuricemia, que acarreta uma variedade de problemas de saúde, sendo um dos principais deles, a gota. Os níveis elevados de ácido úrico levam à formação de pequenos cristais de urato de sódio, com formato semelhante a agulhas, que se depositam principalmente nas articulações (POLETTTO, J. et al. 2011).

Esta dissertação visa preparar, caracterizar e aplicar sensores baseados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e possíveis polímeros eletrogerados da oxidação da (CAP) e (AX), para a determinação de compostos biologicamente relevantes, como dopamina, ácido ascórbico, ácido úrico e ácido xanturênico, via oxidação. Uma das razões para estudar estas plataformas é a versatilidade destes compostos capazes de gerar um possível polímero da oxidação de um fenol, que apresentam, entre outros, grupos hidroxilas, capazes de serem ativados *in situ* para sistemas redox quinonóides reversíveis (QRS), sendo o radical fenoxila, o intermediário chave no caminho da reação de polimerização.

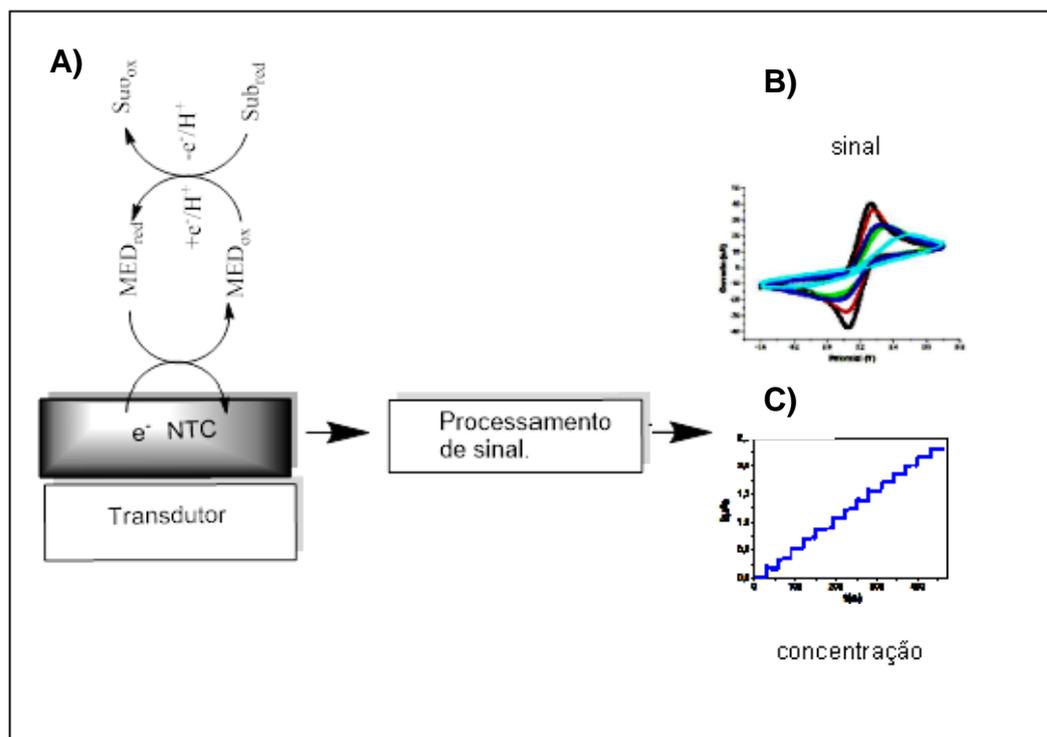
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sensores eletroquímicos

Os sensores eletroquímicos vêm adquirindo uma grande relevância na química analítica, principalmente devido aos novos desafios impostos para análises de amostras complexas, sejam de origem biológica, mineral ou ambiental, o que tem levado a uma crescente busca por sensores com melhores características, tais como, precisão, rapidez na resposta e alta estabilidade (PITANGA, 2009)

A Figura 2 representa sensores eletroquímicos constituídos por um transdutor de sinal e baseiam-se em processos de transferência de carga (faradaicos) (LOWINSOWN, 2016; CIUCU, 2014). A Figura 2 é composta do transdutor (A), que é o eletrodo quimicamente modificado, com nanotubos de carbono e um mediador redox (MED). O sinal representa uma *probe* eletroquímica (B), normalmente ferricianeto de potássio, utilizada para analisar cada fase da preparação do eletrodo modificado e o cronoamperograma (C), sinal analítico utilizado para obtenção das figuras de mérito.

Figura 2- Modelo esquemático dos principais componentes de um sensor eletroquímico, A) transdutor, B) representação de uma *probe* eletroquímica e C) sinal utilizado para obtenção das figuras de mérito.



As análises qualitativas, utiliza-se a voltametria cíclica (VC), que é uma técnica de varredura reversa de potencial, em que se submete o eletrodo a uma aplicação de uma rampa de potencial que varia continuamente com o tempo, em uma velocidade conhecida. Ao atingir o potencial final, reverte-se a varredura ao valor inicial ou outro escolhido, em uma mesma velocidade (BRETT et al., 1996; BARD et al., 2001). Com esta perturbação, obtêm-se como resposta, perfis voltamétricos característicos de processos redox reversíveis, quase reversíveis ou irreversíveis (BRETT et al., 1996), sendo uma das técnicas amplamente empregadas para a obtenção de informações rápidas acerca de certos analitos (BRETT et al., 1996). A VC pode auxiliar na elucidação de mecanismos eletródicos, na obtenção de parâmetros cinéticos, como a velocidade de transferência de carga para formação do ânion radical nitro e seu tempo de meia-vida (SQUELLA et al., 1996; NÚÑEZ- VERGARA et al., 2001), na análise da reatividade das espécies eletrogeradas (BRETT et al., 1996), bem como na identificação de espécies presentes em solução, em conjunto com outros métodos (PAULA et al., 2009).

Por sua vez a cronoamperometria é uma técnica quantitativa, que consiste na medida da magnitude do sinal elétrico (corrente em função do tempo). Como o próprio nome sugere, determina a corrente que flui através do eletrodo de trabalho em função do tempo, em um potencial constante. Esse fluxo de corrente é correlacionado com o gradiente de concentração das espécies oxidadas ou reduzidas na superfície do eletrodo de trabalho e é regida pela equação de Cottrell (FERREIRA, 2008).

Para uma melhor compreensão do tópico, faz-se breve revisão sobre eletrodos modificados. Visto a sua sinergia na superfície do eletrodo na utilização de mediadores.

2.2 Eletrodos modificados

Os eletrodos quimicamente modificados possuem vantagens distintas, em relação aos eletrodos convencionais, devido ao aumento de seletividade, sensibilidade, estabilidade química e eletroquímica, bem como uma maior janela de potencial e resistência à adsorção de interferentes, juntamente com estudos fundamentais já realizados para a compreensão dos processos interfaciais.

Contudo o desempenho do sensor dependerá de alguns fatores, como a eficiência de imobilizar o reagente, considerando as características mecânicas e químicas como aderência ao suporte, fácil manipulação, tempo de preparo e a estabilidade ao ambiente. Além disso, os eletrodos quimicamente modificados podem apresentar sinais de corrente mais elevadas do que na ausência do modificador (VENDRAMET, 2014).

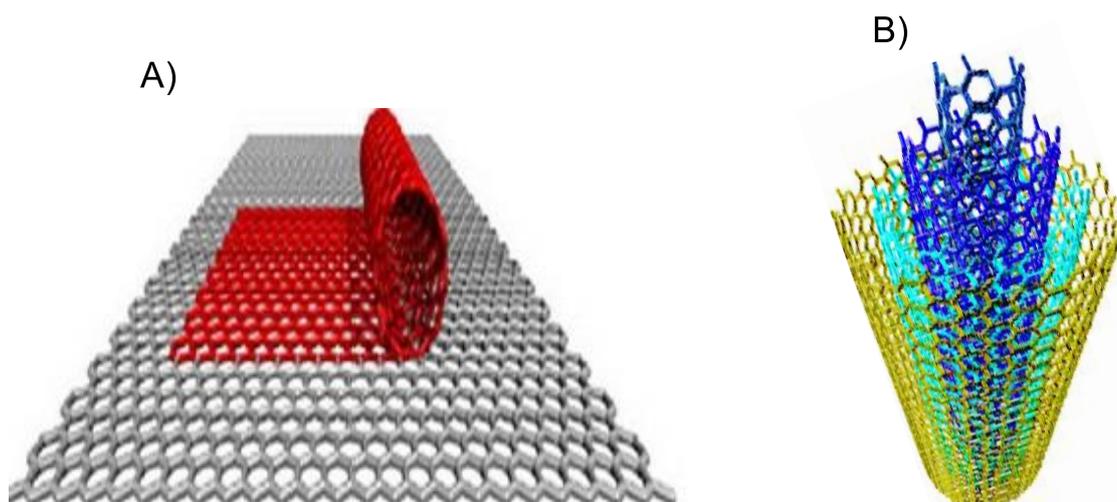
Os primeiros trabalhos envolvendo a preparação de eletrodos com a superfície modificada surgiram na década de 70, usando olefinas em eletrodos de platina (EDWARDS et al., 2007; LANE et al., 1973). Após os primeiros registros, o interesse é cada vez maior pelo desenvolvimento de novas plataformas.

2.3 Nanotubos de carbono

Eletrodos à base de carbono têm sido utilizados devido à sua rápida cinética na transferência de elétrons e biocompatibilidade. Dessa forma os nanotubos de carbono (NTC) foram incorporados em sensores eletroquímicos (SILVA, 2012). A literatura apresenta uma série de trabalhos com a utilização de plataformas modificadas com NTC para fins eletroanalíticos.

Estes nanomateriais são compostos por folhas de grafeno enrolados na forma de um cilindro fechado, com estruturas hexagonais ligadas entre si com hibridização sp^2 e dimensões nanométricas formando uma cavidade interna oca. Os NTC são estruturas químicas altamente rígidas e resistentes a tensões mecânicas. Nesse sentido, possuem uma boa estabilidade química e mecânica, bem como propriedades eletrocatalíticas elevadas e interessantes para o emprego nos eletrodos (ZARBIN, OLIVEIRA, 2013; WONG, 2010). Além disso, desempenham simultaneamente as funções de condutores, tanto de calor como de eletricidade; dependendo da direção de seu enrolamento podem ser divididos em dois grandes grupos; os de paredes simples, compostos pelo enrolamento de uma única folha de grafeno (SWCNT, single walled carbon nanotubes) e os de paredes múltiplas (MWCNT, multi walled carbon nanotubes) (Figura 3) (BELIN et al., 2005).

Figura 3 - Modelo esquemático de nanotubos de carbono de paredes simples (A), nanotubos de carbono de paredes múltiplas (B).



Fonte: Adaptado de LOPES, 2014.

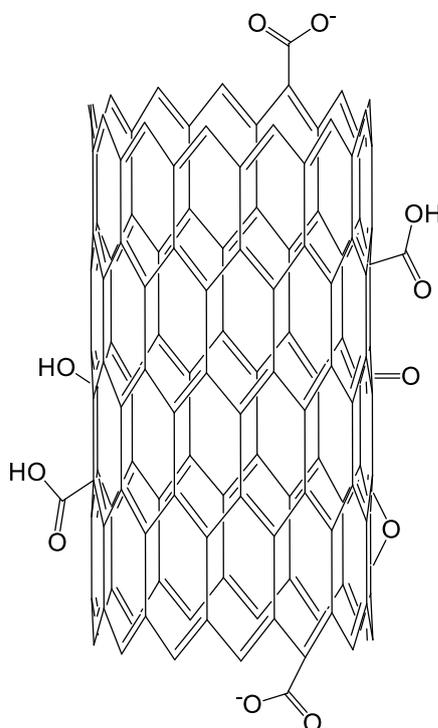
Atualmente, os NTC são utilizados como dispositivos emissores de elétrons, em armazenagem de energia (capacitores), em sensores eletroquímicos (MOKHTAR et al, 2012). A utilização de NTC, em sensores eletroquímicos permite obter maior área superficial, amplificando o sinal analítico e algumas vezes até originando eletrocatalise (diminuição da energia de ativação na transferências de eletrons) (MORAES, 2010; HU, HU, 2009).

Em geral, os NTCs são constituídos basicamente de carbono puro, mas este contém algumas impurezas, tais como nanopartículas metálicas provenientes dos catalisadores, carbono amorfo, nanopartículas grafiticas, fulerenos e outras formas de materiais carbonosos não tubulares. Além da grande quantidade de impureza encontrada nos NTCs, estas nanoestruturas apresentam problemas adicionais em sua manipulação química, devido à sua baixa dispersabilidade em água, matrizes poliméricas e solventes orgânicos. Raramente, os NTC são encontrados na forma de tubos isolados em condições experimentais, pois eles tendem a se agregar em largos feixes ou cordas devido às fortes interações de van der Waals, decorrentes de sua alta energia superficial (BACHILO et al., 2002).

Para eliminar essas impurezas é necessário um trabalho muito cuidadoso. Na literatura, há diversas abordagens para o tratamento dos NTCs. Os tratamentos mais relatados utilizam ácido nítrico (HNO_3) ou uma mistura de HNO_3 e ácido sulfúrico (H_2SO_4) (CASTRO et al., 2017).

O tratamento ácido causa modificação na morfologia dos NTCs. Esse processo facilita a abertura da extremidade dos nanotubos e gera produtos oxidados em suas paredes, tais como ácidos carboxílicos, epóxidos e outros (WANG et al, 2009; CHEN et al, 2012), A abertura das extremidades facilita a passagem de corrente elétrica e a funcionalização gera sítios energeticamente favoráveis à deposição de partículas ou moléculas orgânicas (ANDERSON, 2010). O método de tratamento ácido usando ultrassom, aquecimento moderado e agitação mecânica pode ser aplicado com sucesso para uma efetiva funcionalização de MWCNTs com alto rendimento (CASTRO et al., 2017).

Figura 4 - Nanotubos de carbono funcionalizados, após tratamento ácido.



Fonte: adaptado, MATOS, C. 2011.

As nanoestruturas oferecem uma relação área/volume elevada e própria para imobilizar marcadores e elementos de reconhecimento biológico, amplificando o sinal analítico e melhorando a sensibilidade (D'ORAZIO, 2011; KOCHIUS et al., 2012; SILVA, 2017).

O uso de eletrodos quimicamente modificados (EQMs) é uma área em permanente expansão, e novas metodologias são propostas para melhorar a eficiência destes eletrodos. No entanto, apesar das grandes vantagens apresentadas acima, os nanotubos não suprem todas as necessidades em uma área tão crescente e promissora como a eletroanalítica, que a cada dia, tem

maiores desafios analítico-ambientais e analítico-biológicos, que requerem altas precisão e exatidão, tendo de lidar com o crescente número de analitos de interesse.

2.4 Mediadores redox derivados de fenóis

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos químicos constituídos por um grupo funcional hidroxila (-OH) ligado a um anel aromático. São compostos orgânicos muito versáteis e importantes na indústria química, além de apresentar relevantes propriedades farmacológicas, tais como: anti-inflamatória, antibacteriana, anticonvulsivante, antitumoral e antioxidante (RAPPOPORT, 2003; SILVA, 2017).

Na eletrooxidação do fenol e seus derivados, são gerados radicais fenoxila, que podem ser oxidados e acoplados, formando compostos oligoméricos ou poliméricos com diferentes funções orgânicas, especialmente éteres e quinonas (EŽERSKIS; JUSYS, 2001).

Durante o processo de eletrooxidação de compostos fenólicos, vários trabalhos relatam a diminuição na corrente devido à formação de um filme polimérico na superfície do eletrodo. Este filme pode promover a passivação do eletrodo, principalmente interferindo na transferência de elétrons que ocorre na interface eletrodo/solução, com a diminuição de sítios ativos e aumento de sobrepotencial para conduzir o processo redox (FERREIRA et al., 2006). A passivação poderá ser evitada com a introdução de nanotubos de carbono, na superfície do eletrodo.

A utilização de fenóis na construção de plataformas moleculares dos sensores eletroquímicos tem sido relatada para a determinação de diversos analitos, As razões para se investigar os fenóis referem-se à versatilidade dos compostos, muitas vezes, polifuncionais, com atenção especial ao grupo hidroxila: (i) que facilita o processo de transferência de elétrons; (ii) pode ser ativado eletroquimicamente *in situ*, por meio da oxidação irreversível da hidroxila fenólica. A quinona resultante pode ser reduzida reversivelmente à correspondente hidroquinona, formando, portanto, um par redox na superfície eletródica, por meio de um processo redox de $2e^-/2H^+$. Esse par redox é um bom candidato a mediador, por ser reversível, e transferir/receber um/dois elétrons. A

liberação de prótons no processo de oxidação é um fator também a ser considerado (SILVA, 2017).

Para a preparação do mediador redox, é necessário investigar vários parâmetros, tais como, o efeito do pH, natureza e concentração dos tampões, influência do oxigênio, faixa de potencial a ser trabalhada, número de ciclos em voltametria cíclica, medida da cobertura da superfície, concentração do mediador redox, tipo de modificador e seu pré-tratamento, técnica de imobilização e caracterização da superfície modificada por diferentes técnicas. Para a reação entre o mediador redox e o analito é necessário conhecer:

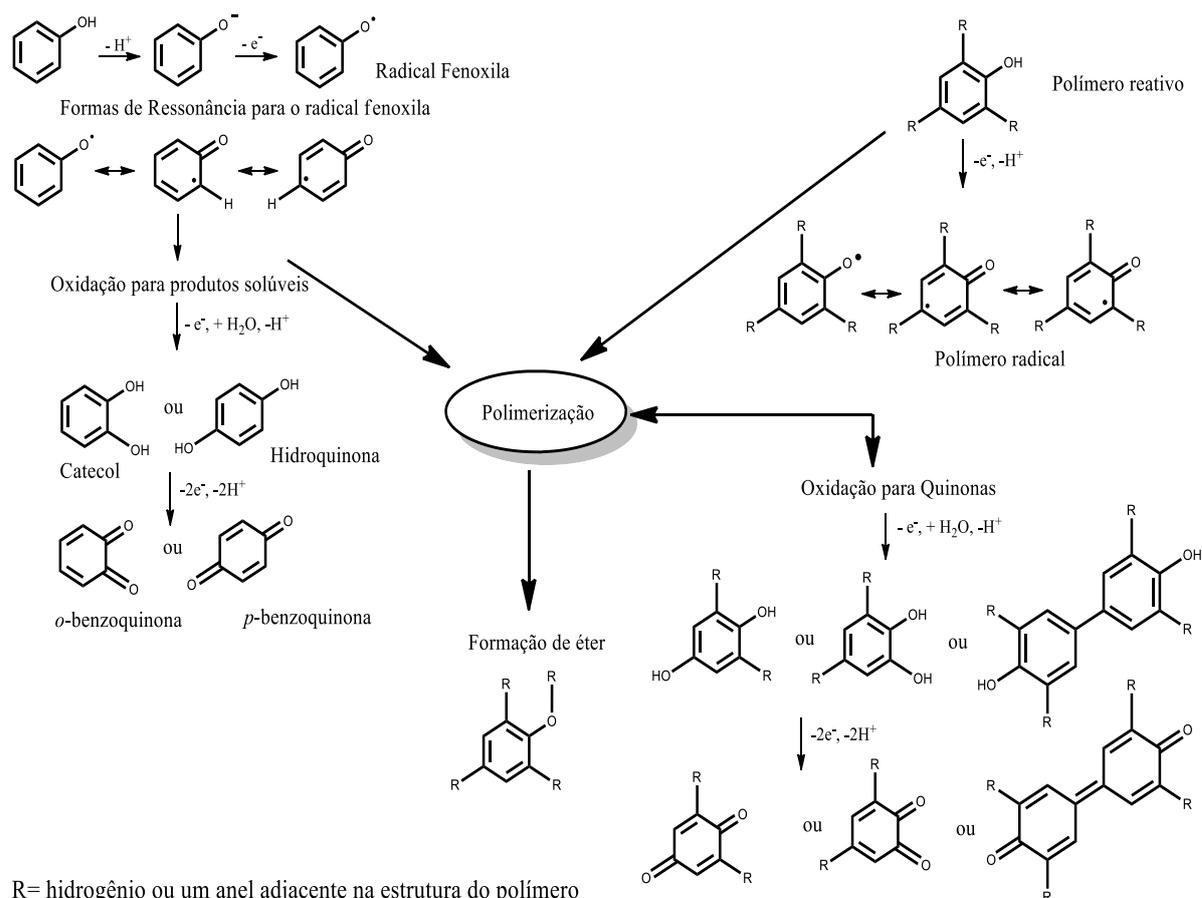
- 1) O número de elétrons transferidos;
- 2) Parâmetros termodinâmicos;
- 3) Cinética de transferência de carga e constantes cinéticas aparentes;
- 4) Parâmetros analíticos juntamente com análises de interferência e aplicação em amostras reais;
- 5) Definição dos mecanismos eletroquímicos de mediação.

Segundo (CASSIDY, VOS e DOHERTY, 1998), os eletrodos revestidos com polímeros levam a uma cobertura de superfície mais elevada e conseqüentemente aumentam a quantidade de material eletroativo ligado à superfície.

Segundo Abreu e colaboradores (2002), a oxidação de fenóis pode formar polímeros não eletroativos aderentes à superfície eletródica, com conseqüente passivação, entretanto SILVA et al., (2010) demonstraram que a oxidação de fenóis pode formar dímeros/polímeros fortemente adsorvidos na superfície, mas na presença de nanotubos de carbono, não ocorre o bloqueio da superfície.

Um aumento na concentração do composto fenólico propicia a formação de uma grande quantidade de radicais fenoxila, os quais estão envolvidos no processo de eletropolimerização como observado na Figura 5.

Figura 5- Rotas para polimerização de fenóis



Fonte: Adaptado de EZERSKIS e JUSYS, 2001.

De acordo com a literatura, vários compostos fenólicos podem ser usados como mediadores redox em diferentes plataformas, agentes modificadores e métodos de imobilização, o que possibilita a construção de novas plataformas para vários analitos de relevância biológica. Os principais obstáculos em comparar os sensores baseados em compostos fenólicos consistem nas diferentes condições de análises, tais como: pH, natureza do tampão, eletrodos, modificadores, técnicas eletroquímicas, analitos, entre outros. Entretanto, uma grande limitação apresentada está relacionada à ausência de informações estruturais acerca dos produtos eletrogerados da oxidação dos compostos fenólicos apresentados. Isso se deve, principalmente, à dificuldade em realizar ensaios espectroscópicos com as plataformas modificadas nas quais estes produtos estão incorporados.

A Tabela 1 apresenta uma variedade de trabalhos publicados com compostos fenólicos como mediadores redox, sendo que, nesta dissertação, dar-se-á ênfase aos trabalhos já publicados pelo nosso grupo.

SILVA e colaboradores (2010) desenvolveram um sensor inovador e altamente sensível, baseado em um material eletroativo, eletrogerado *in situ* a partir da oxidação do ácido xanturênico em um eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com MWCNT (ECV/MWCNT). A superfície do eletrodo modificado é recoberta por filme eletroativo e o par redox eletrogerado corresponde a um processo de transferência de elétrons quase-reversível (ECV/MWCNT/poli-AX). A sinergia entre poli-AX e MWCNT conferiu alta sensibilidade e seletividade para a detecção de NADH, com um potencial aplicado de 0,1 V vs. Ag/AgCl. A constante cinética, k_{cat} , para a oxidação eletrocatalítica de NADH foi avaliada por diferentes técnicas eletroquímicas, cronoamperometria e voltametria, utilizando eletrodo de disco rotatório (EDR), no qual foram obtidos valores próximos de $10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$. Este sensor apresentou limite de detecção de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$, em faixa de 0,5 a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (SILVA et al., 2010).

Esta mesma plataforma foi utilizada para detecção simultânea de ácidos ascórbico e úrico. Por meio da técnica de voltametria cíclica, Silva observou catálise redox e a sinergia entre plataforma ECV/MWCNT/poli-AX na oxidação de AA, não se evidenciando catálise em relação à AU. A diferença entre os picos anódicos (E_{paAA} vs. E_{paAU}), foram de aproximadamente 300 mV vs. Ag/AgCl, em soluções contendo AA e AU. Valores de cerca $10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ foram obtidos para a constante cinética k_{cat} para a oxidação catalítica de AA. O sensor forneceu limites de detecção de $0,19 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,31 \mu\text{mol L}^{-1}$ para AA e AU, respectivamente. Além disso, o sensor proposto apresentou ótimos valores de recuperação em análises de AA e AU em amostras de urina (SILVA et al., 2012).

SILVA e colaboradores (2016) desenvolveram uma plataforma à base de MWCNT, funcionalizando com um possível polímero eletrogerado a partir da oxidação do ácido vanílico, formando um sistema quinona/hidroquinona, o qual foi utilizado como sensor para a determinação simultânea de ácido ascórbico (AA), dopamina (DA) e ácido úrico (AU). O sensor amperométrico apresentou os seguintes valores para a determinação simultânea de AA, DA e AU: para AA, uma faixa linear de $5\text{-}120 \mu\text{mol L}^{-1}$, limite de detecção de $3,5 \mu\text{mol L}^{-1}$; para DA, linear de $5\text{-}120 \mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$; e para AU, faixa linear de $5\text{-}120 \mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. A plataforma proposta apresentou-se com eficiência para a determinação simultânea de AA, DA e AU (SILVA et al., 2016).

SILVA (2017) propôs-se a desenvolver uma plataforma à base de MWCNT, funcionalizando com um possível polímero eletrogerado da oxidação do ácido ferúlico, formando um sistema quase-reversível quinona/hidroquinona. A plataforma modificada aplicada para a determinação em separado de NADH, epinefrina (EP) e dopamina (DA), apresentou-se como uma plataforma versátil. As técnicas de voltametria cíclica e cronoamperometria foram empregadas para investigar a oxidação eletrocatalítica de NADH, EP e DA no eletrodo modificado. As curvas analíticas obtidas para NADH, EP e DA apresentaram faixas lineares de 59 -1560, 73 -1406 e 5 -120 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os limites de detecção foram 17,7; 22,2 e 2,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para NADH, EP e DA.

Diante do apresentado, existe interesse crescente por novas interfaces que possibilitem melhor desempenho, justificando, portanto, o emprego de novos mediadores.

Neste trabalho foram utilizados os compostos fenólicos: capsaïcina e ácido xanturênico oxidados, como mediadores redox, para análise de ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina e ácido xanturênico.

Tabela 1. Fenóis utilizados e geração de mediadores redox, por oxidação.

Mediador	Analitos	Plataforma, imobilização, E_{redox} (mV) vs. Ag/AgCl/Cl	Técnica, pH, potencial aplicado (V) vs. Ag/AgCl/Cl ⁻	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	sensibilidade ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Constante de velocidade de 2a. ordem ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	Refs.	
Fenol	Hidrazina	ECV/HQ@p-MWCNT +295 mV	Amp., 7.0 0.300	100-1000				SUNDARAM, 2012	
<i>o</i> -Cresol	Hidrazina	ECV/HQ@p-MWCNT +295 mV	Amp., 7.0 0.300	100-1000				SUNDARAM, 2012	
<i>p</i> -Cresol	Hidrazina	ECV/HQ@p-MWCNT +295 mV	Amp., 7.0 0.300	100-1000				SUNDARAM, 2012	
<i>m</i> -Cresol	Hidrazina	ECV/HQ@p-MWCNT +295 mV	Amp., 7.0 0.300	100-1000				SUNDARAM, 2012	
CAT	2,3-DHB	NADH	ECV/2,3-DHB +150 mV	CV, 7.0 -0.200 vs. ECS	20-800		10.0	PARIENTE, 1996	
	3,4-DHB	NADH	3,4-DHB: Di-hidroxibenzaldeído -100 mV vs. ECS	VC, 6.5 0.250 vs. ECS	6-60	1900		PRIETO- SIMÓN, 2004	
	DA	AD	ECV/MWCNT/DA 35 mV e 305 mV vs. ECS	VPD, 5.0	2.0-13.2 13.2-46.3		0.62		ZARE, 2016
		AA	ECV/MWCNT/DA 35 mV e 305 mV vs. ECS (80 and 350 mV)	VPD, 5.0	4.9-90.9 90.9-565.2		1.5		ZARE, 2016
	UA	Pdop@GR-MWCNT	VPD, 7.0	20.0-320.0		15.0		WANG, 2016	

DA	Cloreto	ECV/PDA@ERGO	VC, 7.2 -0.100 – 0.600 vs, ECS	9.9–215.2	0.0071	0.044		KUMAR, 2017
	H ₂ O ₂	GO/PDA/Cu NPs	Amp., 7.2 -0.400	5 - 12000	0.010	1.4		LIU, 2017
	Hidroquino- na	ECV/MWCNTs/PDA/AuNPs	VPD, 6.0	0.1 - 10		0.035		WANG, 2016
	Catecol	ECV/MWCNTs/PDA/AuNPs	VPD, 6.0	0.1 - 10		0.047		WANG, 2016
	QU	ECV/Pt-PDA@SiO ₂	VOQ 6.0 -0.1 +0.8 vs, SCE	0.05–0.383	6.47	0.016		MANOKARAN,2 015
	Guanina	SPCE/PDA	Amp., 7.0 +0,400	100 - 10000	90.5*	15.8	6.0 x 10 ⁴	KOMYANG, 2016
	DA	AuE/filme dopamina +220 mV	VC, 7.0 -0,600 +0.500 vs, ESC	1.0 - 600		0.50		LUCZAK, 2008
L-DOPA	AA	ECV/MWCNT/DOPA	VC, 5.0 0.00 +0.500	4.9 - 90.9		1.5		ZARE, 2016
	AD	ECV/MWCNT/DOPA	VC, 5.0 -0.200 +0.500	2.0 - 13.2		0.62		ZARE, 2016
MTBD	NADH	E@Au/MTBD	Amp., 7.2	80-150	172.75*	0.50		DEY, 2010
MIBD	NADH	E@Au/MIBD	Amp. 7.2	80-150	172.75*	0.50		DEY, 2010
EU	L-Cis	ECV /poli-EU	VC -0.200 vs, ECS					OKUMURA, 2008

	EU	DA	PtE/poli-EU	VPD, 7.4		0.0079	0.1		CIZZEWSKI, 1999	
		NADH	NPAu/PE filmes-ITO	VC, 7.4, -0.200 – +0.400					MILCZARCK, 2012	
		HomoCis	ECV/poli-EU	VC, 1.0 -0.200 – +0.800 vs, ECS					OKUMURA, 2008	
		GSH	ECV/poli-EU	VC, 1.0 -0.200 – +0.800 vs, ECS					OKUMURA, 2008	
	MVP	NADH	ECV/MWCNT/pMVP +57 mV	Amp., 7.4 +0.250 vs, ECS	1.0 - 70	0.055	0.29	2.62 x10 ⁴	CÔRREA, 2011	
	NDGA	Nitrito	ECV/poli-NDGA-co-DABB +280 mV	CV, 1.0 -0.300 – +0.900				0.3	MILCZARCK, 2007	
		Iodato	ECV/PANI-NDGA +520 mV	Amp., 1.8 0.000	1 - 100	4.0 x10 ⁻³	0.05		MILCZARCK, 2008	
		NADH	EAu/PANI-NDGA +520 mV	VC, 7.0 -0.300 +0.500 vs, ECS					MILCZARCK, 2009	
	BA	VA	AA	ECV/MWCNT/poli-AV	Amp., 7.0 0.100, 0.225 e 0.325	5-120	6.25 x10 ⁻²	3.5		SILVA, 2016
			DA	ECV /MWCNT/poli-AV	Amp., 7.0 0.100, 0.225 e 0.325	5-120	4.8 x10 ⁻²	4.5		SILVA, 2016
AU			ECV /MWCNT/poli-AV	Amp., 7.0	5-120	8.0 x10 ⁻²	1.5		SILVA, 2016	

				0.100, 0.225 e 0.325					
	GA	Polifenóis	ECV/MWCNT/poli-AG	VWS, 2.6	4.97-33.8		3.22	2.75×10^4	ABDEL-HAMID, 2016
		DA	ECV/poli-AG +445.5 mV	VPD, 7.4	5-100		3.6		SANG, 2010
	SA	L- Cis	GCE/SA@CL-08 +29.5 mV	Amp., 6.5 0.040	100-1000	5.4×10^{-3}	0.639		SUNDAM, 2017
	EA	Hidrazina	ECV/MWCNT@EA +20 mV	VC., 7.0 +0.150	500-9000	2.28×10^{-2}			KUMAR, 2016
CA	FA	NADH	ECV/MWCNT/poli-AF +204 mV	Amp., 7.0 +0.200	59.1-1560	6.73×10^{-3}	17.73	5.56×10^3	SILVA, 2017
		EP	ECV/MWCNT/poli-AF +204 mV	Amp., 7.0 +0.200	73-1406	3.69×10^{-3}	22.28	6.99×10^3	SILVA, 2017
		DA	ECV/MWCNT/poli-AF +204 mV	Amp., 7.0 +0.200	5.0-120	3.72×10^{-2}	2.20	1.15×10^4	SILVA, 2017
		DA	ECV /ERGO-AF	Amp., 6.0 +0.300	0.6-1000	96.25*	0.19		HAN, 2014
	CFA	AA	ECV /poli-CAF	VC, 6.64 -0.500 →+0.600	20-1200		9.0		LI, 2007

	CFA	AA	ECV /poli-CAF +250 mV	VC, 7,7 -0.600 →+0.600	0.20-1000		7.0		REN, 2006
		AU	ECV /poli-CAF +600 mV	VC, 7.7 -0.600 →+0.600	5-300		0.60		REN, 2006
		DA	ECV/poli-CFA	VC, 6.64 -0.500 →+0.600	1-40		0.40		LI, 2007
		EP	ECV/poli-CAF +260 mV	VC, 7.0 -0.600 – +0.600	2-80		0.20		REN, 2006
		GSH	ECV/NC-poli-CAF	VC, 7.0 -0.100 – +0.600	1000-50000		0.50		LEE, 2014
		NADH	EPC/CNT/CAF +200 mV	Amp., 7.0	3-60	1.20×10^{-2}	1.6		ZANARDI, 2015
		NADH	ECV/poli-CAF +200 mV	VC, 7.0 -0.250 – +0.500				3.0×10^3	ZARE, 2000
	ACL	NADH	ECV/CLA +270 mV	Amp., 6.0 +0.300	1-120	2.5×10^{-2}	0.2	1.7×10^3	SALIN, 2005
		NADH	ECV/CLA ~+240 mV	VC, 7.0 -0.250 – +0.500	0.1 – 1 mM			2.1×10^3	ZARE, 1999
	CUR	Hidrazine	ECV/MWCNT/CUR +200 mV	Amp., 8.0 +0.140 vs, ECS	2-44	2.3×10^{-2}	1.4	6.26×10^3	ZHENG, 2009
AP		ECV/poli-CUR	LSV, 8.0, +0.200	0.99–230.7	3.03×10^{-1}	0.1		DEVADAS, 2014	
FLA	NAR	Cu ⁺²	ECV/poli-NAR	VPD, 5.0	1×10^{-6} -1.0		1.0×10^{-6}		MULAZIMOGL, 2012
	LUT	Cu ⁺²	ECV/Poli-LUT	VWS, 5.0	1×10^{-5} -1.0		6.0×10^{-6}		OZTEKIN, 2011

	KAE	Cu ²⁺	ECV/Poli-KAE	VWS, 5.0	1x10 ⁻⁵ -1.0		3.0x10 ⁻⁶		OZTENKIN, 2011
	QU	Hidrazina	ECV/pristine-MWCNT@QU +200 mV	Amp., 7.0 +0.300	5-3000	1.57x10 ⁻²	1.36x10 ⁻¹		BARATHIN, 2007
		AU	ECV/QU +210 mV	VPD, 7.0	1-50		1.0		HE, 2007
		CiSH	ECV/NG/NPAg/QU +216 mV	VPD, 7.0	0.9-12.4		0.28		ZARE, 2016
	F	NADH	ECV /F	VC, 5.0 0.000 – +0.500	10-1600		0.06		GOLABI, 2005
			ECV /F	Amp., 5.0 +0.320			2.4		
		AA	ECV /F	VC., 6.0 0.000 – +0.500	90-6200		0.05		GOLABI, 2005
			ECV /F	Amp., 7.0 +0.300			1.8		
	CATH	NADH	ECV /CATH/PEDOT +200 mV	Amp., 7.0 +0.350	10-100	0.019			VASANTHO, 2006
	IPH	NADH	EPC-FZr/IPH	Amp., 6.0				6.2 x 10 ⁴	DICU, 2003
	AX	NADH	ECV /MWCNT/poli-AX +15 mV	Amp., 7.0 +0.100	0.50 – 10.0	2.2	0.10	7.72 x 10 ⁴	SILVA, 2016
		AA	ECV /MWCNT/poli-AX +15 mV	Amp., 7.0 0.050 and 0.350	25 - 325	0.36	0.19	2.3 x 10 ⁶	SILVA, 2012

AX	AA	ECV /MWCNT/poli-XA	Amp., 7.0 +0.350	1 - 1520	160.2*	0.1		LIN, 2012
	AU	ECV /MWCNT/poli-XA +15 mV	Amp., 7.0 0.050 and 0.350	25 - 325	0.31	0.31		SILVA, 2012
	NADH	ECV MWCNT/FAD/poli-AX- 440 mV and -70 Mv	Amp., 7.0 +0.150	5-170	155	1.0		LIN, 2013
	H ₂ O ₂	ECV /MWCNT/FAD/poli-AX	Amp., 7.0 -0.300	100-2900	60	100		LIN, 2013
	AA	ECV /MWCNT/poli-AX +72 mV	VPD	10 - 2.300	145.8*	10.0		LIN, 2015
	DA	ECV /MWCNT/poli-AX	VPD	5 - 165	2036.8*	1.0		LIN, 2015
	AU	ECV/MWCNT/Poli-AX	VPD	5 - 1650	338.6*	5.0		LIN, 2013
	dGTP	EPC /rTLMoS ₂ /poli-AX	VPD, 7.0	0.1 - 10		1.6		WANG, 2016
	BPA	EPC/rTLMoS ₂ /poli-AX	VPD, 7.0	0.1 - 10		0.037		WANG, 2016
	TNT	EPC /rTLMoS ₂ /poli-AX	VPD, 4.0	0.1 - 10		0.037		WANG, 2016
	Guanina	ERGNO/poli-AX	VPD, 7.0			0.032		YANG, 2014
	Adenina	ERGNO/poli-AX	VPD, 7.0			0.15		YANG, 2014
	Guanina	ERGNO/poli-AX	VPD, 7.0			0.4		YANG, 2014
	Adenina	ERGNO/poli-AX	VPD, 7.0			0.6		YANG, 2014[
	Guanina	EPC /MoS ₂ -poli-AX	VPD, 7.0	0.5 – 10		170		YANG, 2015
	Adenina	EPC/MoS ₂ -poli-AX	VPD, 7.0	0.5 - 10		300		YANG, 2015
DNA	EPC/RGO/FePt/poli-AX	EIS, 7.0	1.0×10 ⁻⁹ - 1.0×10 ⁻³			2.1 x 10 ⁻¹⁰	ZHANG, 2015	

	DNA	PXA/MoS ₂ /EPC	EIS, 7.0	1.0×10^{-10} - 1.0×10^{-4}		1.8×10^{-11}		HANG, 2018
DHB a partir de SER	NADH	ECV/Nf-CNT	VC, 7.2 -0.400 – +0.200	0.5–400	0.011	0.1		RAJ, 2006
p- Chloranil	Benzocaina	MWCNT/BPPGE	VC, 1.0 0.300 – +0.900 vs.ECS			4.3		KACHOOSANGI 2008
	Lidocaina	MWCNT/BPPGE	VC, 1.0 0.300 – +0.900 vs, ECS			7.2		KACHOOSANGI 2008
NGB/PPy	AA	PtE/NGB/PPy	Amp. 4.5 0.750	240–25000	7.38	110	4400	MOHADESI, 2007
2NO	DA	PIGE/P2NO-filme	VPD, 7.0 -0.600 – +0.800 vs, ECS	0.6-250		0.13		MANIKANDAN, 2017
PCV	Hidrazina	GCE/PCV	VC, 7.5 -0.220 – +0.580			4.2		GOLABI, 2001
	NADH	GCE/PCV-filme	VC, 7.0 -0.250 – +0.500		3.775	1.03	1.3×10^3	GOLABI, 2001
	NADH	ECV /PCV-filme	VC, 7.0 -0.150 – +0.550			1.03		GOLABI, 2002
TCA	L- CiS	AuE/EOCA-HDT	Amp., 7.2 +0.300 vs. ECS	0.12- 34.6	5.2×10^{-3}	0.060		XU, 2017
BCG	AU	ECV /BCG	VPD	0.5-200	0.807	0.167		OUYANG, 2015

		DA	ECV /BCG	VPD	0.05-10	31.6	0.017		OUYANG, 2015
		AA	ECV /BCG	VPD	0.5-1000	0.170	0.167		OUYANG, 2015
	PDA	H ₂ O ₂	PDA@GNPs/PPP/SPE	Amp., 7.4 +0,200	500-20000		0,55	9,15x10 ⁴	KANYONG et al., 2018
	PDA	Glucose	GOx/PDA@GNPs/PPP/SPE	VPD	1-800	0,51	0,25		KANYONG et al., 2018
	PDA	Glucose	grafite/PDA/GOx	Amp..6,0 +0,31	2500-10000	243	22000		ALMEIDA et al., 2018
	PDA	ABTS	Grafite/PDA/Lac	Amp..4.,6 +0,4	1-10	152000	21,9		ALMEIDA et al.,2018
	PDA	Cl	PDA@ERGO/CV	Amp..7,2 +0,15	9.9 - 215.2	0.0071	0,044		KUMAR et al., 2017
	PDA	AP	EPG/PDQCM	VPD	2.5–107.5 107,5-450		0,5		SHAHBAKHSH, 2017
	PDA	Ph	EPG/PDQCM	VPD	2,5-107,5		0,6		SHAHBAKHSH, 2017
	PDA	NP	EPG/PDQCM	VPD	2,5-130		0,8		SHAHBAKHSH, 2017
	PDA	DA	ECV/PDA-MWCNTs	VPD	0,6-60	0,5022	20x10 ⁻³		SHAHBAKHSH, 2018
	PDA	AC	ECV/PDA-MWCNTs	VPD	0,4-40	0,7541	30x10 ⁻³		SHAHBAKHSH, 2018
	PDA	XN	ECV/PDA-MWCNTs	VPD	0,4-70	0,3335	50x10 ⁻³		SHAHBAKHSH, 2018

	AF	ASP	ECPS*/poli(CAF-ASP)	VPD	0.05-10	12.067	0.0076		ANH, 2019
--	----	-----	---------------------	-----	---------	--------	--------	--	-----------

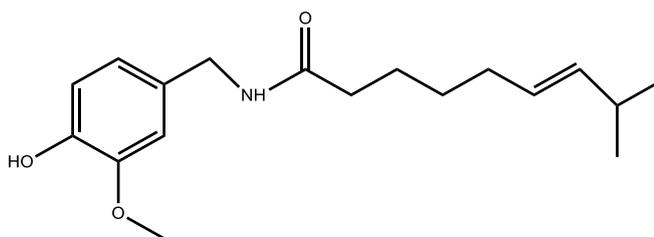
AA: ácido ascórbico; AD: adrenalina; AC: paracetamol; XN: xantina; ADH: álcool desidrogenase; Amp.: amperometria; AS@CL-08: carbono negro (CL-08) funcionalizado com ácido Siríngico (AS); AuE: eletrodo Au; BCG: bromocresol Verde; BPA: bisfenol A; ECC: eletrodo cerâmico de carbono; ACF: ácido cafeico; ACL: ácido clorogênico; CUR: curcumina; VC: Voltametria Cíclica; DA: dopamina; DABB: 4,4'-diaminobenzila; dGTP: 2'-desoxiguanosina-5'- trifosfato trissódico; DHB: 5,5'-di-hidroxi-4,4'-bitriptamina; 2,3-DHB: 2,3-di-hidroxibenzaldeído; 3,4-DHB: 3,4-di-hidroxibenzaldeído; VPD: voltametria de Pulso Diferencial; EA: ácido elágico; EI: aprisionamento / incorporação; EIS: Espectroscopia de Impedância Eletroquímica; CATEO: catecol tiolado eletro-oxidado; EP: epinefrina; REOG: redução eletroquímica de óxido de grafeno; EU: eugenol; E@Au: Eletrodo Au Policristalino; AF: Ácido Ferúlico; F: Fisetina; AG: ácido gálico; ECG: eletrodo de carbono vítreo; HDT: 1,6-Hexanodiol ; HQ@p-MWCNT: Hidroquinona imobilizada em Nanotubos de Carbono de paredes multiplas; HomoCis: Homocisteína; IPH: Indofenol; KAE: Kaempferol ; VSL: Voltametria de Varredura Linear; LUT: Luteolina; MIBD: 4-(2-mercapto-imidazol-1-il)-benzeno-1,2-diol; MWCNT: Nanotubos de carbono de paredes múltiplas; MVP: 2-metoxi-4-vinilfenol; NADH: Dinucleótido de nicotinamida e adenina; NAR: Naringenina; NC: Compósito de Nanocarbono; NDGA: ácido nordihidroguaiarético; IF: Indofenol ;NPAG: nanopartículas de prata; NG: nanofolhas de grafeno; NGB / PPI: Polipirrol dopado com Naftol Verde B; 2NO: Laranja-2-Naftol; PANI: Polianilina; FZr-ECP: Fosfato de zircônio no eletrodo de pasta de carbono; PCV: Pirocatecol Violeta; PDA: polidopamina; PEDOT: EtP: eletrodo de platina; PaX-ERGNO: poli (ácido xanturênico, AX)-óxido de grafeno reduzido; poli-TIR: Poli-tirosina; poli-AV: poli- ácido vanílico; QU: Quercetina; AS: Ácido Sírico; ECPS: eletrodo de carbono modificado com tela impressa; EPS: eletrodo impresso em tela; pMVP: Poli-2-metoxi-4-vinilfenol; EPt: eletrodo de platina; VOQ: Voltametria de Onda Quadrada; SWCNT: Nanotubos de carbono de paredes simples; rTLMoS2-PXa / EPC: eletrodo de pasta de carbono tratado com camada fina de bissulfureto de molibdênio Nanofolhas de poli- (ácido xanturênico); CAT: catecol tiolado; TNT: 2,4,6-trinitrotolueno; TIR: tirosina; AU: Ácido Úrico; AV: ácido vanílico; AX: ácido xanturênico; AP: 4-amino- fenol; Ph: fenol; NP; 4-nitro fenol; PDQCM: poli (dopamina quinona-cromo (III)) – microesferas; ASP: aspartano; ECPS: eletrodo de carbono impresso

Adaptado : SILVA, 2018.

2.4.1 Capsaicina

A capsaicina (*trans*-8-metil-*N*-vanilil-6-nonenamida) (CAP) (Figura 6), é um composto fenólico natural, extraído de frutos de plantas pertencentes ao gênero *Capsicum*, popularmente conhecidas como pimentas, que estão em diversos pratos pelo mundo como forma alimentícia, e para o ser humano tem relevância biológica importante como um potente antioxidante não enzimático no combate às espécies reativas de oxigênio (EROs) que estão diretamente ligadas ao estresse oxidativo. A capsaicina ajuda no ciclo catalítico, evita a formação de radicais superóxido, hidroxila e entre outros tipos de radicais, e influencia diretamente no combate ao estresse oxidativo, que está relacionado aos danos celulares, proteicos e lipídicos. Entre os danos celulares, podemos citar o câncer gerado pelo acúmulo de mutações e outros danos oxidativos nas células. Soma-se ainda o declínio da atividade antioxidante e do sistema imune, o que compromete o combate às células mutadas (HEGEDUS, 2000). A capsaicina tem sido muito utilizada no combate ao efeito do colesterol e na obesidade, no tratamento da neuralgia pós-hepática e hipersensibilidade química gastrointestinal (KACHOOSANGI et al., 2008).

Figura 6- Estrutura da capsaicina



Fonte: Autor, 2019

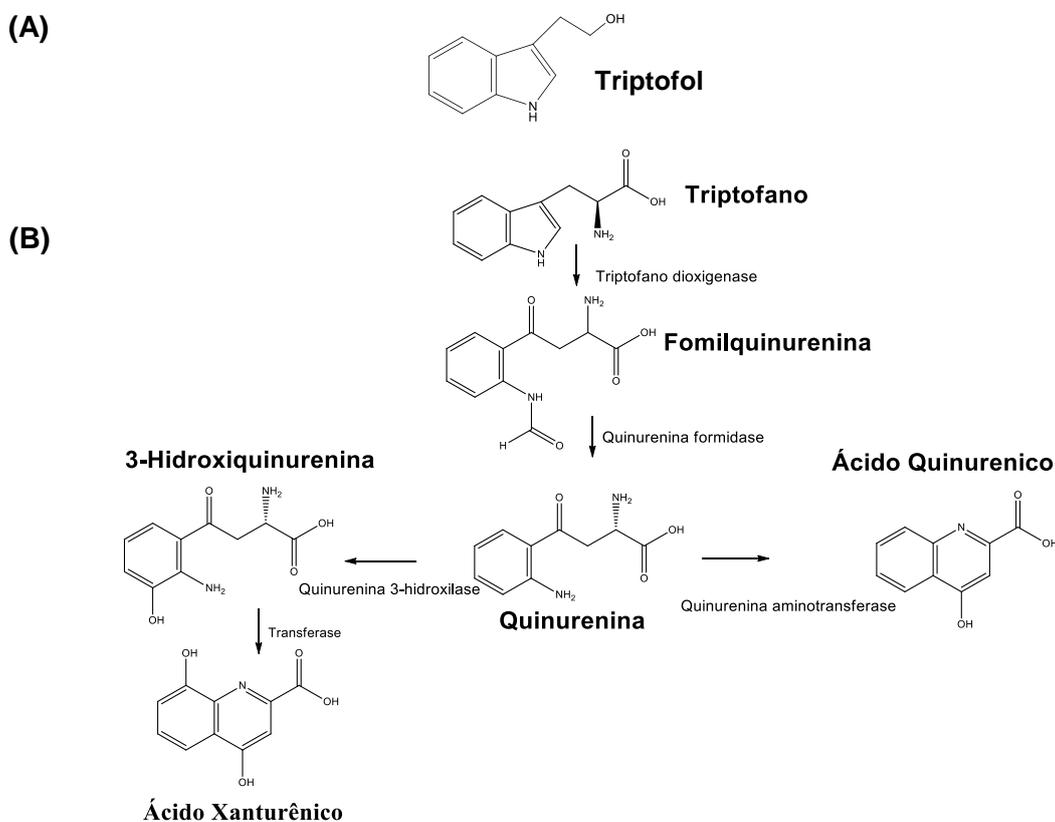
2.4.2 Ácido xanturênico

O ácido xanturênico na figura 7, é um produto natural do metabolismo do triptofano e tem sido motivo de uma série de investigações, devido ao seu impacto na função cerebral por interação com receptores metabotrópicos de glutamato e outros. É conhecido há algum tempo como um potente quelante de íon ferroso.

O ácido xanturênico (Figura 7) foi identificado em extratos de cabeça, nas fezes e em glândulas salivares do mosquito *Anopheles stephensi*. Nas glândulas salivares sua concentração diminui durante o repasto indicando que ele é secretado junto com a saliva e, provavelmente ingerido com o sangue. Esta é a explicação corrente na literatura para a presença desta molécula no intestino dos mosquitos (OKECH B e cols. 2006). O AX está presente em grandes quantidades nas larvas de *Aedes*. Sua concentração aumenta ao longo do estágio larval e decai bruscamente quando o inseto passa para a fase de pupa.

O triptofol é encontrado no vinho tinto, este é de grande interesse biológico, pois possui propriedades antioxidantes, anticarcinogênicas, cardiopreventivas e antimicrobiana (COVAS et al., 2003). Altas concentração de triptofol no vinho tinto acarreta no aumento de triptofano, este que é precursor do ácido xanturênico (Figura 7), que tem sido foco de pesquisas multidisciplinares ainda em andamento com objetivo de investigar sua função biológica, buscando compreender a correlação entre o metabolismo do triptofano e a fisiologia do cérebro (FORINO, 2018).

Figura 7- (A) triptofol e (B) Formação do ácido xanturênico, através da síntese do triptofano.



Fonte: adaptado, SANTOS, 2014.

Em estudos recentes de triptofano e oito de seus metabólitos, com base em estudos cinéticos, foi previsto que os ácidos xanturênico e quinurênico foram os melhores sequestradores de radicais, inclusive 12 vezes mais eficiente que o TROLOX, na captura de hidroperóxidos (PÉREZ-GONZÁLEZ et al., 2015).

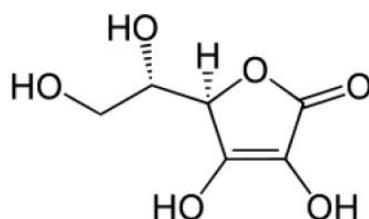
2.5 A importância dos analitos selecionados

2.5.1 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico (AA) (Figura 8), a vitamina C, também atua como um cofator para enzimas envolvidas na biossíntese de colágeno e carnitina, participa na conversão do neurotransmissor dopamina para norepinefrina e no metabolismo da tirosina (FERIN, 2013). Mas também pode ser um medicamento para o escorbuto, intoxicação por drogas, doença hepática, reações alérgicas e aterosclerose (CHOUKAIRI, et al., 2015).

A deficiência de vitamina C no organismo, durante a gravidez, poderá afetar a memória e impedir o desenvolvimento normal do bebê. Estes investigadores confirmaram ainda que, após a ocorrência destes danos, estes não poderão ser reparados mesmo que se dê um suplemento de vitamina C ao bebê, a partir do nascimento (HANSEN et al., 2014). Note-se que as grávidas mais sujeitas a terem esta carência vitamínica são aquelas que pertencem a um nível socioeconómico menos privilegiado e, conseqüentemente, têm uma alimentação pobre e desequilibrada.

Figura 8- Estrutura da ácido ascórbico



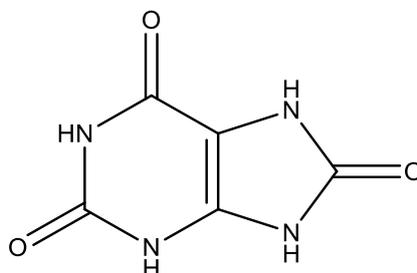
Fonte: Autor, 2019.

2.5.2 Ácido úrico

O ácido úrico (AU) (Figura 9) é de suma importância, pois é uma biomolécula derivada do metabolismo das purinas e quando é encontrado em quantidades elevadas no soro e urina e pode fornecer algumas informações sobre algumas doenças (VULCU et al. 2013). Para uma pessoa saudável, a quantidade de AU é de 240-520 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A taxa de uratos no organismo humano é de 68 mg L^{-1} , a qual encontra-se no seu limite de solubilidade na temperatura normal do corpo. O urato de sódio é solúvel a 37°C, mas pode se depositar, provocando inflamações nas articulações periféricas, joelhos, tornozelos, calcânhares e artelhos do pé, onde a temperatura do corpo é mais baixa. Quando o ácido úrico atinge taxas superiores a 80 mg L^{-1} no plasma sanguíneo, ele pode se depositar em qualquer tecido do organismo. Quando isso ocorre, podem surgir processos inflamatórios como gota ou artrite. A quantificação de AU no sangue e na urina é de grande valor para o diagnóstico das alterações do metabolismo do AU estando a hiperuricemia relacionada a diversas doenças, como, por exemplo, leucemia, hipertensão e diabetes (SILVA, 2017).

Figura 9- Estrutura do ácido úrico



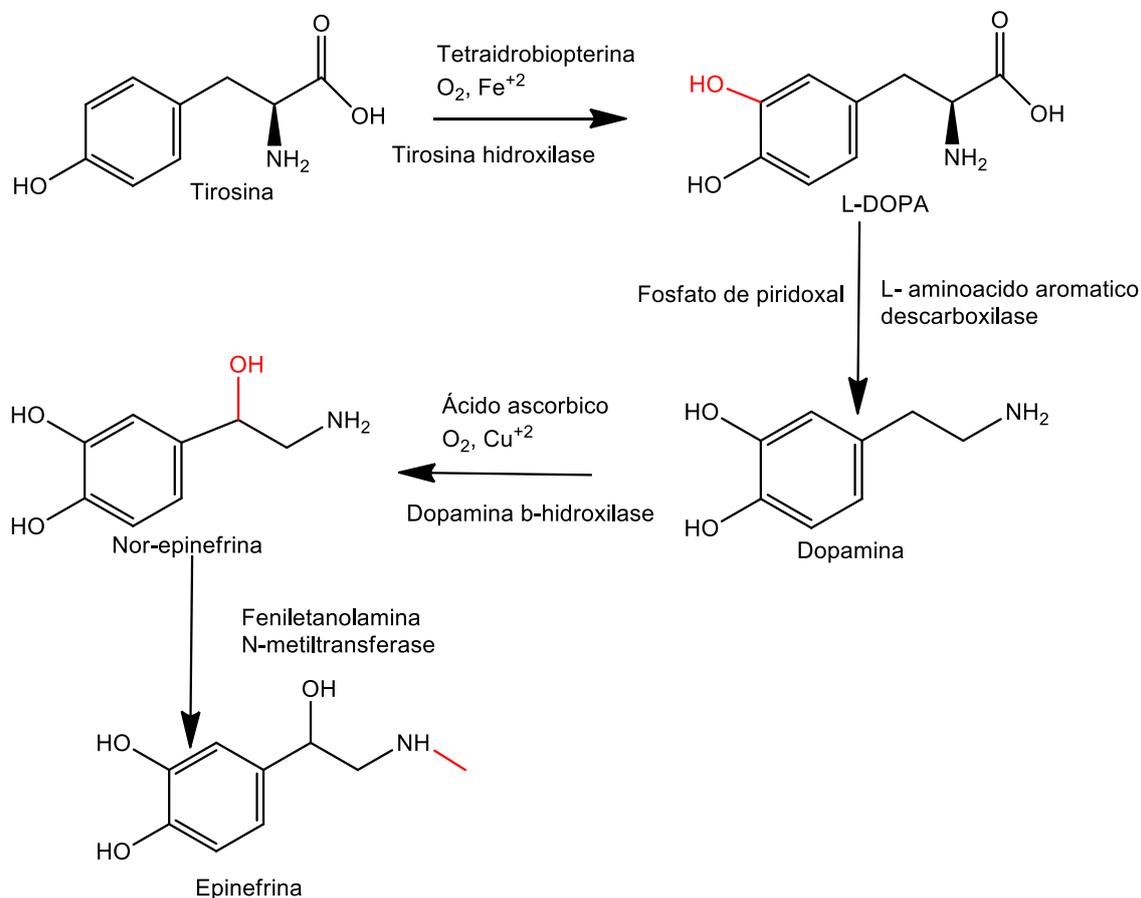
Fonte: Autor, 2019.

2.5.3 Catecolaminas

A diminuição da concentração da dopamina (DA) do esquema (Figura 10), devido aos níveis de receptores dopaminérgicos situados no corpo estriado, pode ocasionar diversos sintomas motores, como: tremor, micrografia, rigidez e apatia facial, bem como, não-motores, como: distúrbios autonômicos e alterações comportamentais, que podem levar a uma doença degenerativa e progressiva (crônica) do sistema nervoso central, conhecida como doença de

Parkinson. Essa se caracteriza pela perda neural de células dopaminérgicas, que são identificadas por uma substância negra, na região do mesencéfalo (MENESES, 2006).

Figura 10 - Mecanismo para formação das catecolaminas.



Fonte: Adaptado de KVETNANSKY; SABBAN; PALKOVITS, 2009 .

A DA (Figura10) é um importante neurotransmissor no sistema nervoso central (LI et al, 2016 e PRASAD et al, 2013; SANSUK et al., 2013), além de exercer papel importante nos sistemas renal, hormonal e cardiovascular. A ausência da dopamina irá conduzir a perturbações neurológicas, tais como na doença de Parkinson e na esquizofrenia (WIGHTMAN, et al, 1988; ADAMS, 1976; VENTON e WIGHTMAN, 2003). Em altos valores de pH, a dopamina encontra-se em sua forma não protonada, sendo possíveis reações químicas acopladas à etapa de formação da *orto*-quinona.

Na população idosa (acima de 65 anos), a prevalência da doença de Parkinson é ainda maior, afetando de 1 a 2% dos idosos em todo mundo e 3% no Brasil (PETERNELLA,2008). Sua distribuição é universal, atingindo todos os grupos étnicos e classes socioeconômicas. Com o aumento da idade da

população mundial, estima-se que, em 2020, mais de 40 milhões de pessoas poderão ter desordens motoras secundárias à Doença de Parkinson (ASANO, 2015).

Devido à abrangência e efeitos da Doença de Parkinson, há uma demanda crescente por técnicas inovadoras, ou por métodos simples e rápidos para a determinação e a quantificação de catecolaminas. Entre eles, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos, pois têm a capacidade de determinar qualquer substância passível de ação redox, como as catecolaminas.

3. OBJETIVOS

3.2 Geral

Este trabalho visa desenvolver sensores fundamentados em nanotubos de carbono (MWCNT) e polímeros baseados em fenóis, como por exemplo a capsaicina (CAP), o ácido xanturênico (AX) e outros para detecção e quantificação de substâncias de interesse medicinal.

3.3 Específicos

- Realizar o tratamento ácido dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas;
- Avaliar as propriedades morfológicas dos materiais obtidos;
- Preparar superfícies modificadas com nanotubos de carbono e fenóis oxidados.
- Investigar o comportamento eletroquímico do sensor ECV/MWCNT/CAP na ausência e presença de AA, AX e AU, e da plataforma ECV/MWCNT/AX, na ausência e presença de DA;
- Investigar o comportamento eletrocatalítico da plataforma nanoestruturada a base de ECV/MWCNT/CAP na detecção de AA, AX e AU e da plataforma nanoestruturada de ECV/MWCNT/AX, na detecção de DA;
- Calcular os parâmetros cinéticos (k_{cat}) da reação entre CAP e AA, AX e AU.
- Calcular os parâmetros cinéticos (k_{cat}) da reação entre AX e DA;
- Obter uma curva analítica para quantificação de AA, AX e AU, sobre a plataforma ECV/MWCNT/CAP;
- Determinar os parâmetros analíticos tais como: limite de detecção, quantificação e faixa linear para o AA, AX, AU e DA;
- Aplicar as plataformas em amostras reais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes

Os seguintes reagentes foram obtidos de seus respectivos fornecedores e utilizados sem tratamento prévio: capsaïcina (CAP), ácido xanturênico (AX), ácido ascórbico (AA), ácido úrico (AU) e dopamina (DA) foram obtidos da Sigma-Aldrich, fosfato de sódio monobásico monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), fosfato de sódio dibásico diidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), hidróxido de sódio (NaOH), ácido clorídrico (HCl), etanol e ácido nítrico (HNO_3) foram obtidos da Vetec.

Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT), código 698849 (D.E.x C 6-13 nm x 2,5-20 μm), obtidos da Sigma-Aldrich, passaram por tratamento prévio com ácido nítrico (HNO_3), como descrito na metodologia. Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) (D.E.x C 9,5 nm x 1,5 μm) obtidos na UFMG, passaram por tratamento prévio com ácido nítrico (HNO_3), como descrito na metodologia.

As soluções foram preparadas, usando água deionizada obtida em um sistema Milli-Q Millipore e os valores de pH das soluções tampão foram ajustadas com um pHmetro modelo Quimis Q400A.

4.1.1 Tratamento dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram pesados 50 mg de nanotubos de carbono de paredes múltiplas. A seguir, adicionaram-se 20 mL de ácido nítrico concentrado. Deixou-se o sistema em aquecimento entre 140-150 $^\circ\text{C}$, sob refluxo durante 4 horas. Após o aquecimento, a amostra foi resfriada até a temperatura ambiente e filtrada a vácuo através de uma membrana PTFE hidrofílica de 0,2 μm (Omnipore, Millipore) para recolher os nanotubos de carbono. Os NTCs foram então lavados com água deionizada até se obter uma solução com valor de pH 7,0 (ROSCA et al., 2005). Os nanotubos de carbono foram caracterizados por espectroscopia RAMAN (apresentados em anexos).

4.2. Equipamentos e materiais

Um potenciostato modelo PGSTAT30 Eco Chemie da AUTOLAB (Utrecht, The Netherlands), interfaceado a um microcomputador (software: GPES 4.9), foi empregado para as medidas eletroquímicas. Nos estudos amperométricos para obtenção das figuras de mérito, foi empregado um eletrodo de disco rotatório (EDR), com uma velocidade de rotação otimizada (100 rpm).

As medidas foram realizadas, usando 5,0 mL de solução tampão fosfato com os seguintes valores de pH: 7,4 e 10,0 ($c = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e força iônica $0,2 \text{ mol L}^{-1}$). A eliminação de oxigênio dissolvido foi feita pelo borbulhamento de um fluxo de Ar (g) nas soluções, durante 10 minutos antes das análises.

Utilizou-se um sistema de três eletrodos, sendo o eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado), fio de platina como eletrodo auxiliar e eletrodo de carbono vítreo Metrohm (diâmetro= 3,0 mm) para as análises envolvendo CAP e AX, com a superfície modificada ou não como eletrodo de trabalho.

4.3 Limpeza do eletrodo de carbono vítreo (ECV)

O ECV foi polido com alumina ($0,3 \mu\text{m}$), lavado com água deionizada, levado ao ultrassom por 1 min, em etanol e lavado com água novamente. A limpeza do eletrodo foi verificada por voltametria cíclica, utilizando $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1 mmol L^{-1} , em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sistema bem reversível em potenciais adequados. Em seguida, o ECV foi lavado com água e secado à temperatura ambiente.

4.4. Preparação de solução de CAP e AX

Em um *ependorf*, foram pesados 3,05 mg de CAP e adicionados a 0,250 L de Etanol (PA), antes das polimerizações, como solução estoque (40 mmol L^{-1}).

4.5.Preparação da plataforma de MWCNT

4.5.1 Preparação da dispersão de MWCNT

Em um *ependorf*, foi pesado 1 mg de MWCNT (obtido do tratamento com ácido nítrico) e adicionado 1,0 mL de DMF. Esta mistura ficou sob agitação no ultrassom por 3 horas para uma melhor dispersão. Esta solução foi preparada

antes das análises e pôde ser utilizada durante três meses. Esta dispersão pode ser armazenada à temperatura ambiente e utilizada em outros experimentos.

4.5.2 Modificação do eletrodo de carbono vítreo com MWCNT

Uma alíquota de 5,0 μL desta dispersão foi adicionada à superfície do eletrodo, em 5 frações sucessivas de 1,0 μL . Em cada adição, o DMF foi lentamente evaporado em estufa a 60 °C, durante 10 minutos para só então serem adicionadas às próximas frações. Esta etapa é comum aos demais eletrodos modificados com MWCNT.

4.6 Modificação do eletrodo carbono vítreo com MWCNT e CAP

ECV/MWCNT foi imersa em uma solução de capsaicina (CAP), com concentração de 0,8 mmol L^{-1} e foram realizadas 20 ciclagens na faixa de - 0,5 a 1,0 V versus Ag/AgCl, no sentido anódico, em 5,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH 5,5, em velocidade de 0,050 V s^{-1} .

Após esta etapa, o eletrodo foi removido da solução, lavado com água deionizada e colocado em uma nova solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH 7,0 para análises na ausência e presença de (AA), (AX) e (AU)

4.7 Modificação do eletrodo carbono vítreo com MWCNT e AX

ECV/MWCNT foi imerso em uma solução de ácido xanturênico (AX) com concentração de 0,2 mmol L^{-1} e foram realizadas 20 ciclagens na faixa de -0,6 a 1 V versus Ag/AgCl, Cl^- , no sentido anódico, em 5,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH = 5,5, em velocidade de 0,050 V s^{-1} .

Após esta etapa, o eletrodo foi removido da solução, lavado com água deionizada e colocado em uma nova solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH 7,0 para análises na ausência e presença de (DA).

4.8 Determinação da área ativa do EQM

As áreas ativas das plataformas ECV/MWCNT/CAP e ECV/MWCNT/AX, foram calculadas, utilizando-se ferricianeto de potássio como sonda

eletroquímica. A equação de Randles-Sevcik (Equação 1) (BARD e FAULKNER, 2001) foi aplicada aos resultados obtidos:

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

Sendo D e C_o o coeficiente de difusão e a concentração do ferricianeto de potássio no seio da solução, respectivamente. Experimentos de voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura foram realizados em ECV/MWCNT/CAP, em uma solução de 1 mM de $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ em KCl 0,1 mol L⁻¹. A partir das inclinações de I_p vs. $\nu^{1/2}$ e utilizando $D = 7,6 \times 10^{-6}$ cm² s⁻¹, $n = 1$, a área ativa foi então obtida, a qual apresentou um valor de 0,267 cm² e 0,255 cm² para ECV/MWCNT/CAP e ECV/MWCNT/AX (SANTHIAGO et al., 2009; SILVA et al., 2011).

4.9 Análise de amostras reais e testes de interferências

A plataforma desenvolvida com capsáicina oxidada foi utilizada diretamente para determinar as concentrações de AA em urina sintética (Liu, L. et al. 2006). A análise de AU foi realizada em plasma sanguíneo sintético (LAUBER, N. 2001), com os componentes listados na tabela 2.

Tabela 2: Componentes do plasma sanguíneo sintético (PSG, PBS 7,4) e urina sintético (PBS 6,0).

COMPONENTES	PSG (g L ⁻¹)	URINA (g L ⁻¹)
Uréia	-	2,5
NH ₄ Cl	-	0,1
KCl	0,112	0,2
KH ₂ PO ₄	-	0,1
NaCl	4,018	0,3
NaHCO ₃	0,176	-
Na ₂ SO ₄	0,036	0,2
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,155	-

CaCl₂·2H₂O	0,146	0,1
Na₂HPO₄·H₂O	0,140	-

Fonte: autor, 2019

A plataforma desenvolvida com o polímero de ácido xanturênico foi utilizada diretamente para determinar a concentração de DA, em amostras farmacêuticas com concentração padrão de 5 mg mL⁻¹ e 1 mg mL⁻¹ para o cloridrato de dopamina (DOPACRIS), respectivamente, da CRISTÁLIA Farmacêutica, Itapira-SP, Brasil.

Inicialmente, as amostras farmacêuticas foram diluídas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0). Em seguida, foram adicionadas concentrações definidas de DA, a partir da solução estoque para avaliar recuperação de amostra.

O estudo de interferentes foi realizado com vários analitos (AA, AX, AU, EP e SER) todos em uma mesma concentração (100 μmol L⁻¹) e a variação da corrente foi medida por cronoamperometria, aplicando-se o potencial de +0,050 V vs. Ag/AgCl/Cl⁻ para adições sucessivas de cada analito, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0.

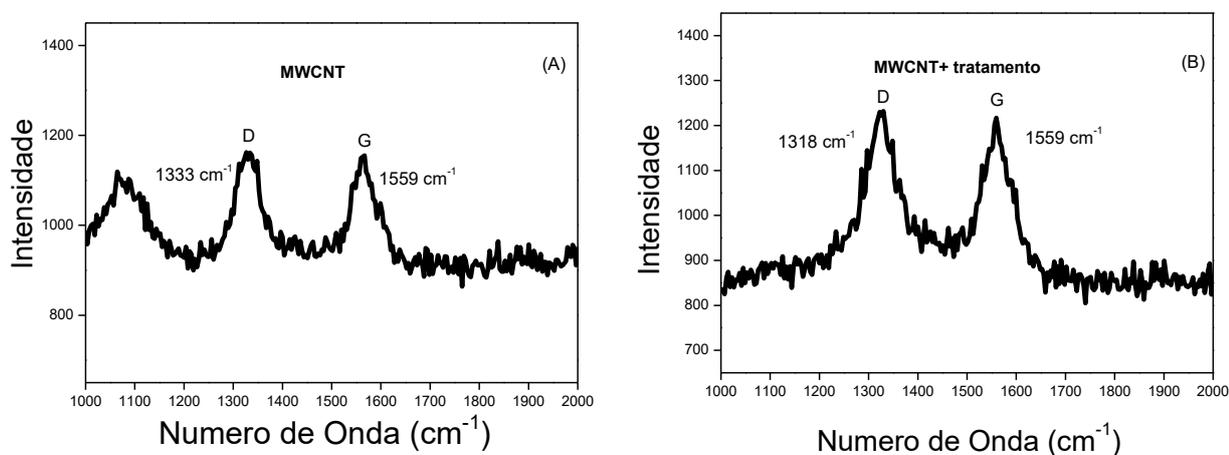
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO (PARTE 1)

5.1 Espectroscopia Raman para MWCNT

O nanotubos de carbono possui um espectro com duas bandas: banda G (*graphitic band*), centrada em cerca de 1580-1604 cm^{-1} , associa-se com os modos vibracionais tangencial, e a banda D (defect. or disorder band), centrada em aproximadamente 1300-1350 cm^{-1} , associa-se com o grau de desordem em relação a largura e a intensidade do carbono desordenado (BOZOBZA, 2012). Assim a posição e intensidade relativa destas bandas permitem obter o grau de purezas e defeitos da amostra.

Na Figura abaixo são apresentados os espectros para os nanotubos de carbono de paredes múltiplas não funcionalizados e funcionalizados. Através desses espectros foram calculadas as razões I_D/I_G e verificada a ocorrência de modificação química.

Figura 12- Espectros Raman para (A) MWCNT, (B) MWCNT funcionalizado.



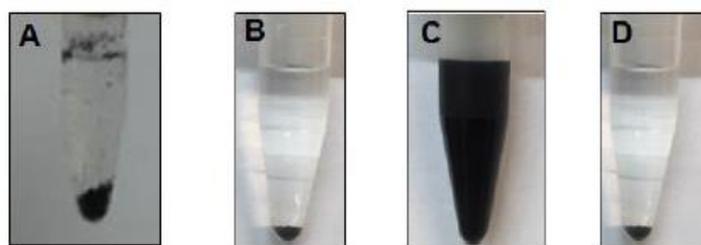
Fonte: autor, 2019

Para os nanotubos de carbono sem funcionalização, a razão I_D/I_G foi igual a 1,001. Para os nanotubos de carbono funcionalizados, a razão I_D/I_G foi igual a 1,020. A avaliação das intensidades relativas das bandas D e G sugere a presença de defeitos nos nanotubos de carbono induzidos pela funcionalização química e que o tratamento com HNO_3 promoveu desordem e modificação química nos NTCs, podendo ser vista na Figura 12.

5.2 Dispersão do MWCNT em DMF

Realizou-se a dispersão dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas em DMF, em aparelho de ultrassom (Figura 13). Podemos observar os MWCNT após o tratamento ácido (Figura 13-A) e sem o tratamento ácido (Figura 13-B), em 0 minutos no ultrassom. Ao visualizar a figura 13-C, podemos observar a eficiência da funcionalização dos nanotubos de carbono com aparecimento de grupos carboxila e outros, resultante do tratamento ácido. Esse processo facilita a abertura das extremidades dos nanotubos e um dano oxidativo em suas paredes, indicado através da razão I_b/I_G (Figura 12), fazendo com que estes sejam funcionalizados com grupos funcionais contendo grupos carbonila (SILVA,G.G, 2016), sendo este disperso com sucesso em DMF após o período de 3 horas no ultrassom, evidenciado pela coloração escura da suspensão. Em nanotubo de carbono não tratado, após as 3 horas no ultrassom, não foi possível realizar a dispersão em DMF (Figura 13-D).

Figura 13- A) MWCNT com tratamento ácido 0 minutos, B) MWCNT sem tratamento, C) MWCNT com tratamento ácido 180 min, D) MWCNT sem tratamento 180 min.



Fonte: autor, 2019

5.3 Processo de Polimerização de CAP em ECV/MWCNT

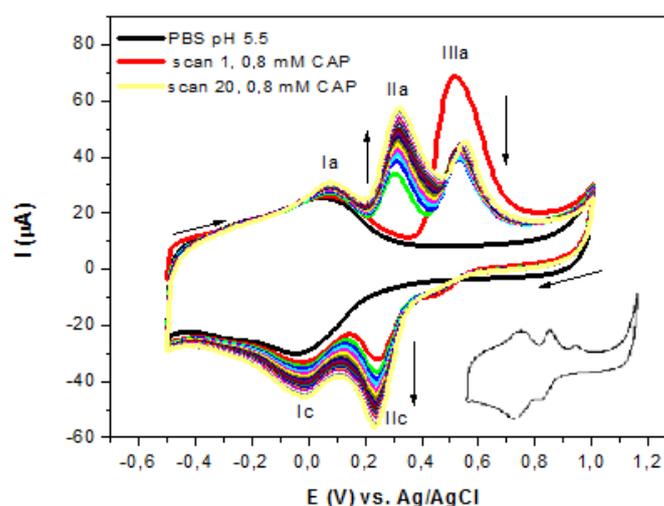
A partir da análise da Tabela 1, verifica-se a ausência de plataformas derivadas da capsaïcina, o que é a motivação para a presente dissertação. Há inúmeros trabalhos de eletroanálise de capsaïcina, mas, até o presente momento, a literatura não apresenta sensores baseados em sua oxidação.

A partir de metodologias e resultados obtidos em estudos anteriores do Laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo/UFAL (LEEO/UFAL), com a

plataforma nanoestruturada da capsaïcina (CAP) (SILVA, 2017), para detecção de dopamina e epinefrina, aplicamos, na presente dissertação, o sensor desenvolvido para detecção de novas moléculas de relevância biológica, de modo a complementar a investigação.

A plataforma foi construída a partir da eletropolimerização *in situ* de CAP, no ECV/MWCNT, após ciclagens de potenciais na faixa de -0,5 a +1,0 V vs. Ag/AgCl/Cl⁻, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,5), com uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ (Figura 14). As condições experimentais para a eletropolimerização de CAP foram: 20 varreduras sucessivas aplicadas ao eletrodo, concentração de CAP de 0,8 mmol L⁻¹ e pH 5,5.

Figura 14- Voltamogramas Cíclicos na faixa de -0,5 a 1,0 V vs. Ag/AgCl para a polimerização e ativação do ECV/MWCNT com capsaïcina a 800 µmol L⁻¹, em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5,5 e $v = 50$ mV s⁻¹.



Fonte: Autor, 2019.

Na figura 14, na ausência de capsaïcina, observa-se a presença dos picos Ia (+0,07 V) e Ic (-0,014 V), provenientes do tratamento ácido em nanotubos (Figura 12). Esses grupos geram sítios energeticamente favoráveis à deposição de partículas e inclusão de mediadores redox fenólicos e outros.

Na primeira varredura, na presença de capsaïcina, na Figura 14, um pico anódico irreversível (IIIa), é observado, em +0,52 V vs. Ag/AgCl, com aparecimento de uma onda catódica (IIc), em +0,24 V. Na segunda e subsequentes varreduras, na presença de capsaïcina, pode-se observar a

presença de uma onda anódica (IIa), permitindo concluir que as ondas IIc e IIa são eletrogeradas a partir do pico IIIa.

Na Figura 15, é sugerido o mecanismo para a oxidação de CAP, onde ocorre a oxidação monoelétrica de CAP, formando o cátion radical. Com a saída de 1 próton, há formação de radicais. Essa etapa está relacionada à onda IIIa, em 0,52 V vs. Ag/AgCl (Figura 14), e sua irreversibilidade devido às reações químicas acopladas e geração de espécies mais estáveis nas etapas seguintes, conforme mostrado na Figura 15 (SILVA,2017; MANAIA et al., 2012).

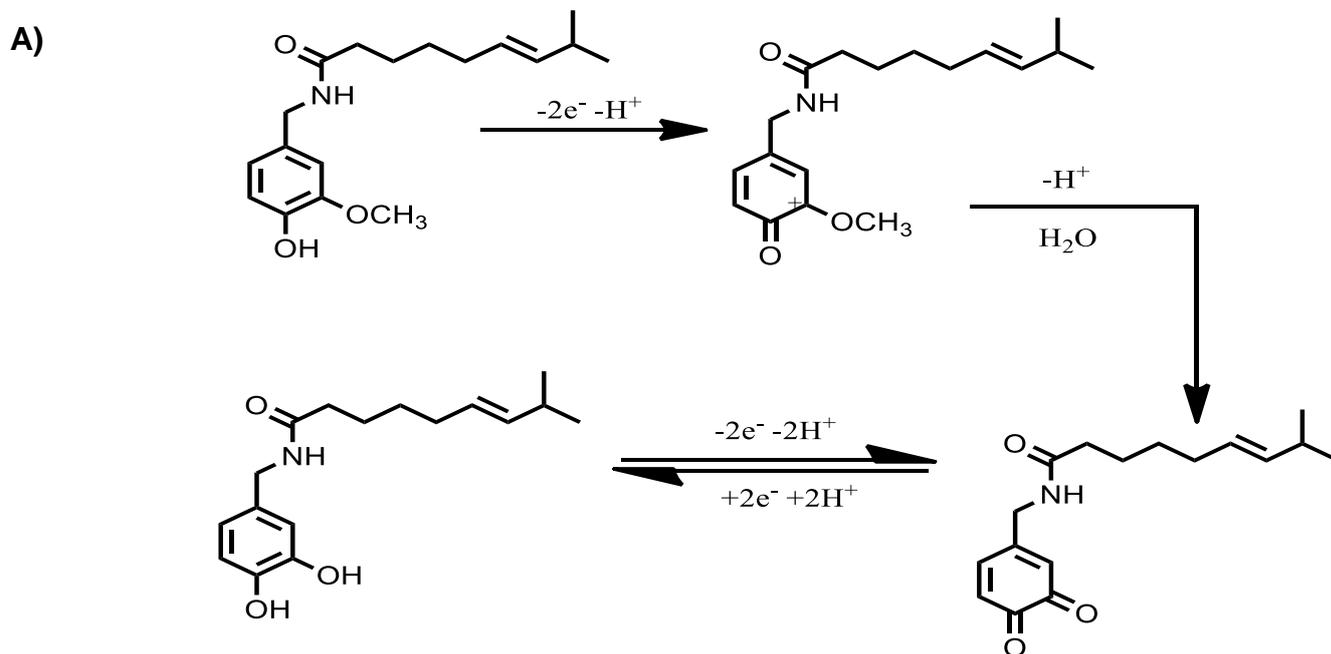
O sistema redox, IIa/IIc pode ser compreendido através da oxidação monoelétrica dos radicais fenoxila, que levará à formação de carbocátions que, por sua vez, sofrerão hidrólise, levando à formação de quinonas, responsáveis pelo par redox reversível no voltamograma cíclico (etapa reversível, Figura 15A).

Nas varreduras posteriores, verificamos a diminuição da corrente relacionada ao pico IIIa, indicando o consumo de capsaicina e aumento de corrente para as ondas IIa/IIc, em varreduras sucessivas constituindo desta forma, um sistema redox bem definido, assim como Ia/Ic do suporte. O par redox IIa/IIc não desaparece, quando o eletrodo é lavado e transferido a uma nova solução tampão, livre de CAP, indicando a permanência do material eletrogerado na superfície modificada.

Sem utilização de nanotubos de carbono sobre o eletrodo de carbono vítreo, não se observa a formação de espécies redox, devido, provavelmente, à passivação do eletrodo, fato este característico de compostos fenólicos (EŽERSKIS; JUSYS, 2001).

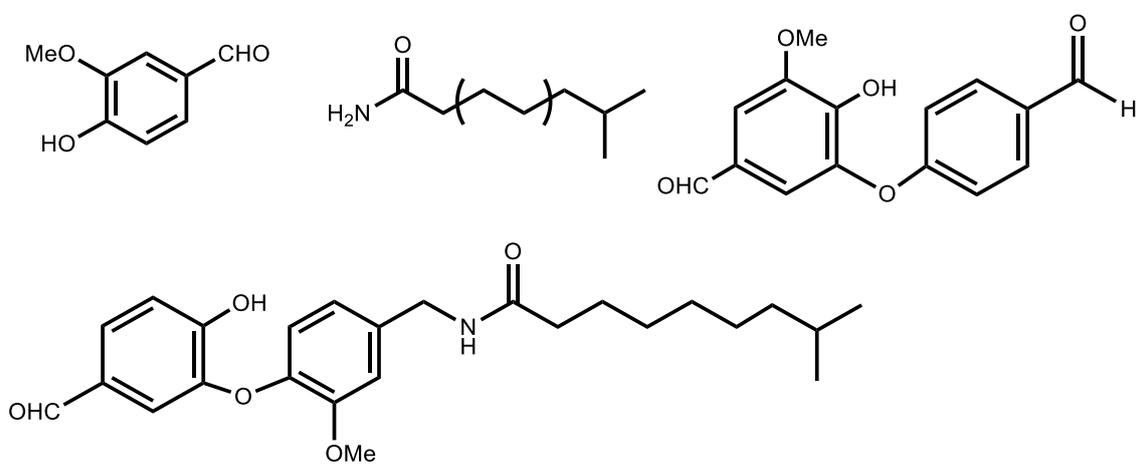
Nos trabalhos que analisam a eletro-oxidação da capsaicina, não foram avaliados os produtos de oxidação (MANAIA et al., 2012; KACHOOSANGI et al., 2008), o que compromete os resultados. Houve previsão da formação de quinonas. Há possibilidade de outros mecanismos, o que indica a necessidade de estudos adicionais. A oxidação da capsaicina foi investigada pelo emprego de enzimas (peroxidase) (BERNAL; BARCELO, 1996; GOODWIN; HERTWIG, 2003) e por DPPH (NAKAMURA et al., 2002), com obtenção de dímeros, polímeros e produtos de hidrólise (Figura 15B). Estes produtos podem ser oxidados. Há forte possibilidade de serem gerados, uma vez que não há lixiviação do produto oxidado, o que normalmente acontece no caso de uma simples conversão hidroquinona/quinona.

Figura 15- (A e B) Mecanismos propostos relativos à formação de produtos através da oxidação de CAP.



Fonte: Adaptado de KACHOOSANGI et al., 2008 e de MANAIA et al., 2012.

B)

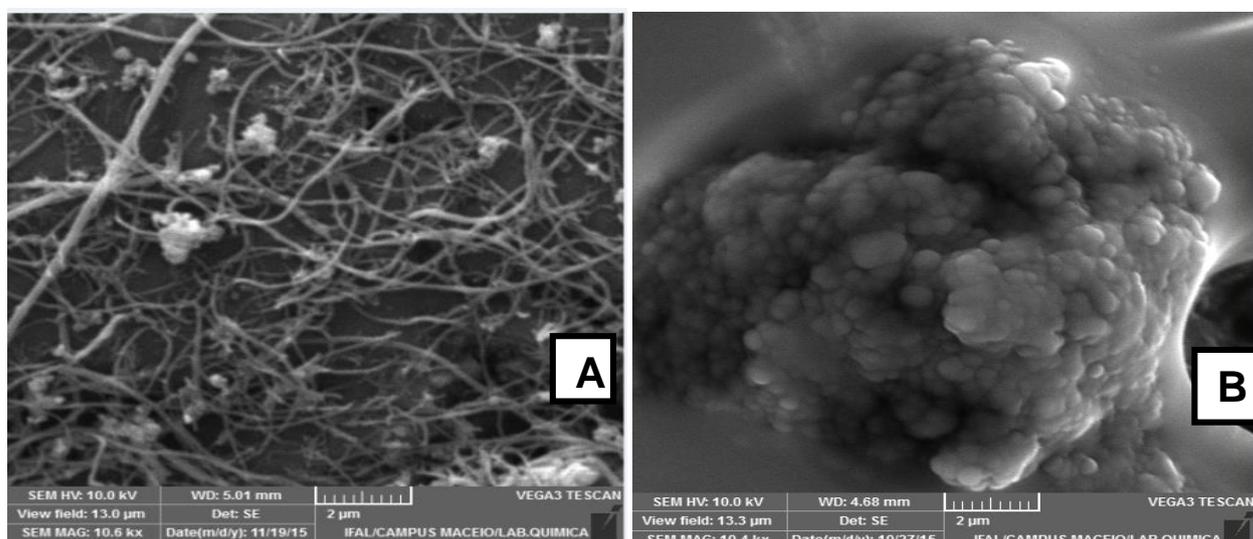


Fonte: Adaptado de NAKAMURA et al., 2002

5.4 Caracterização de ECV/MWCNT/CAP

Utilizou-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para caracterizar a morfologia superficial de ECV/MWCNT e ECV/MWCNT/CAP. A Figura 16A mostra a morfologia típica de nanotubos de carbono bem dispersos na matriz com visualização de “fios”. Por outro lado, após o processo de modificação da superfície (Figura 16B), é evidente que ocorreu uma alteração na morfologia dos MWCNTs, possivelmente devido à cobertura pela matriz polimérica de CAP, resultando em regiões rugosas.

Figura 16- Micrografias de MEV de ECV/MWCNT (A), ECV/MWCNT/CAP (B)



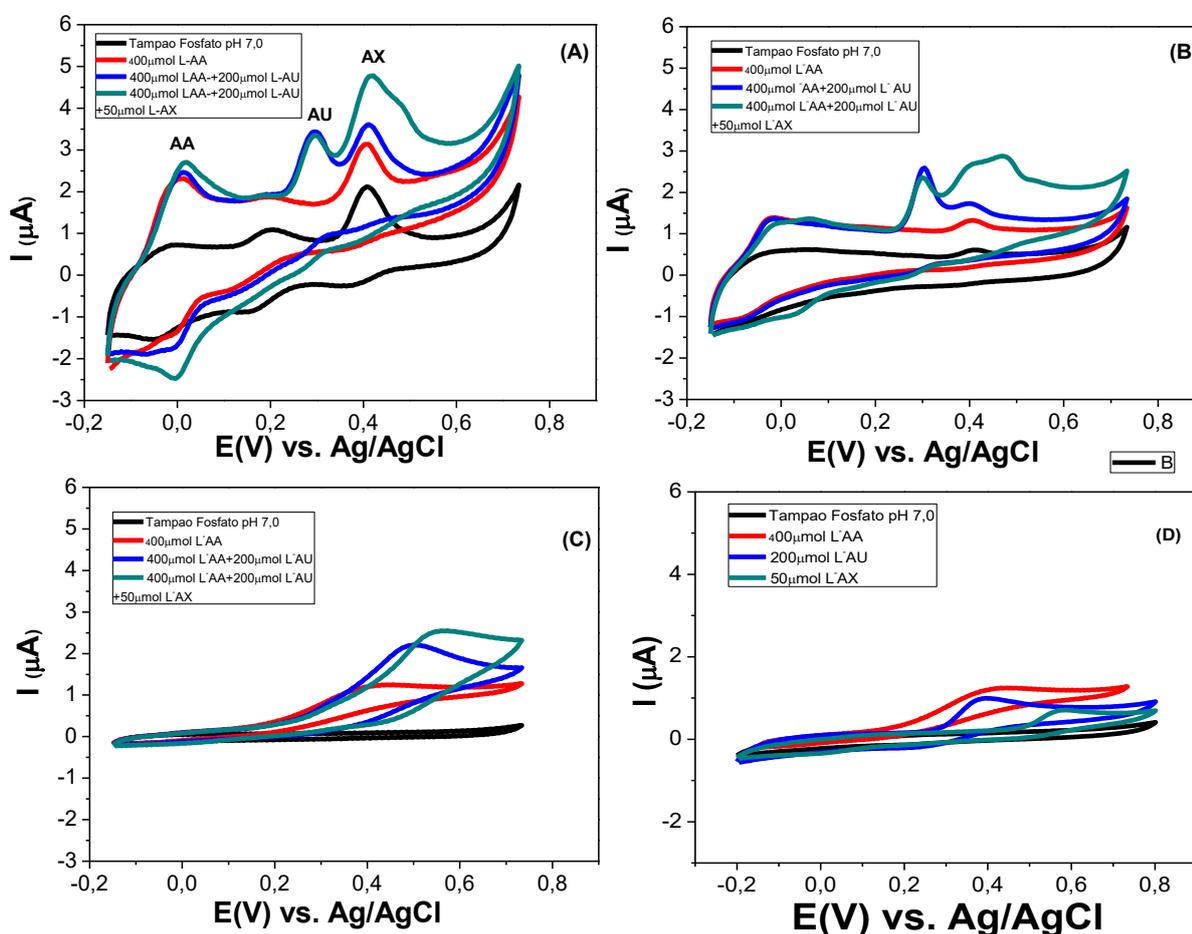
Fonte: Autor SILVA, 2017.

5.5 Atividade eletrocatalítica de ECV/MWCNT/CAP frente ao ácido ascórbico, ácido úrico e ácido xanturênico.

No intuito de se avaliar o efeito eletrocatalítico em diferentes plataformas, realizaram-se ensaios com AA, AU e AX. Na Figura 17-A, o voltamograma cíclico representa o ECV/MWCNT/CAP tem um papel como mediador redox, baseado em um sistema quinona/hidroquinona. Observou-se efeito eletrocatalítico na oxidação de AA, AU e AX uma vez que o potencial de oxidação de AA em ECV/MWNCT, 0,07 V para o AA, 0,32 V para o AU e 0,49 V para o AX,

ECV/MWNCT/CAP, quando o potencial de oxidação diminui para 0,02 V para AA, 0,29 V para AU e 0,41 V para AX (Tabela 3). Na plataforma ECV* (Figura 17-D), foi possível realizar análises destes analitos, de maneira separada, obtendo os potenciais de oxidação de 0,42 V para o AA, 0,39 V para AU e 0,58 V para o AX respectivamente, entretanto ao realizar análise simultânea em ECV Figura 17-C, não foi possível discriminar os potenciais dos analitos, assim em ECV, não há possibilidade de realizar análises simultânea.

Figura 17- Voltamogramas Cíclicos de (A) ECV/MWCNT/CAP, (B) ECV/MWCNT, (C) ECV e (D) ECV*, em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0, $\nu = 0,005$ V s⁻¹, na presença de AA, AU e AX.



Fonte: Autor, 2019.

Quando uma solução de AA, AU e AX é adicionada, os potenciais de pico anódico, $E_{pa} = 0,02$ V, 0,29 V e 0,41 V vs Ag/AgCl, (Figura 17A) sofrem deslocamentos catódicos. É também observado ganho de corrente, em relação

às demais plataformas, tornando o sistema mais sensível para determinação destes analitos.

Na plataforma ECV/MWNCT/CAP permite determinar os três analitos de maneira simultânea por voltametria cíclica, sem qualquer interferência de potencial ou corrente, indicando que essa plataforma é mais sensível e mais seletiva, apesar da desvantagem da presença do pico da capsaïcina.

Em ECV, não é visto um pico definido, tornando a análise simultânea impossível de ser realizada na plataforma (Figura 17-C). No entanto, na Figura 17-B (ECV/MWCNT) permite fazer a detecção simultânea pois os picos são mais definidos em relação à plataforma ECV. Entretanto, o eletrodo modificado com nanotubos de carbono e com capsaïcina oxidada apresentou maior reprodutibilidade e melhor resposta, quando comparado com ECV e ECV/MWCNT.

Este resultado mostra um efeito sinérgico entre os nanotubos de carbono e a superfície modificada com capsaïcina oxidada para a oxidação catalítica de AA, AU e AX e determinação simultânea de AA, AU e AX. Este comportamento pode ser explicado por uma taxa mais rápida de transferência de elétrons na superfície quimicamente modificada.

Tabela 3. Potenciais e correntes referentes à oxidação de AA, AU e AX em diferentes plataformas obtidos por voltametria cíclica.

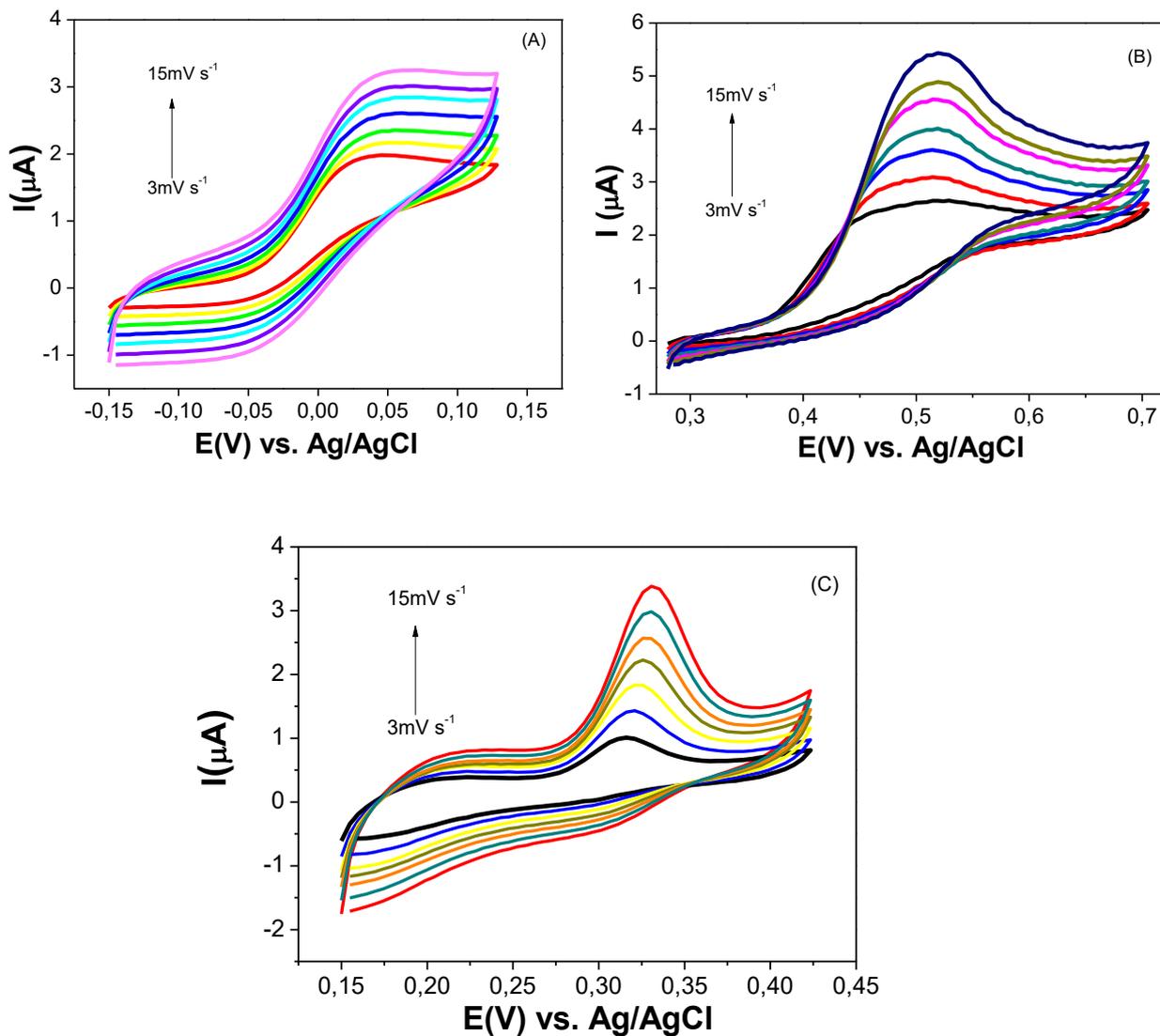
Eletrodo	Potencial (V)			ΔI (μA)			Área (cm^2)	J ($\mu A/cm^2$)		
	AA	AU	AX	AA	AU	AX		AA	AU	AX
ECV*	0,42	0,39	0,58	1,32	0,98	0,75	0,09	14,66	10,88	8,33
ECV/MWCNT	0,07	0,32	0,49	1,36	2,56	1,54	0,22	6,12	11,53	6,93
ECV/MWCNT/CAP	0,02	0,29	0,41	2,70	3,44	2,77	0,26	10,11	12,88	10,37

ECV* eletrodo carbono vítreo em análise não simultânea.

Fonte: Autor, 2019.

A influência da velocidade de varredura no comportamento eletródico foi investigada a seguir. Verifica-se o aumento da corrente de pico anódico de AA, AX e AU, com o aumento da velocidade de varredura, bem como o deslocamento do potencial de oxidação para valores mais positivos, indicando desta forma uma limitação cinética para estes processos redox na plataforma utilizada (Figura 18).

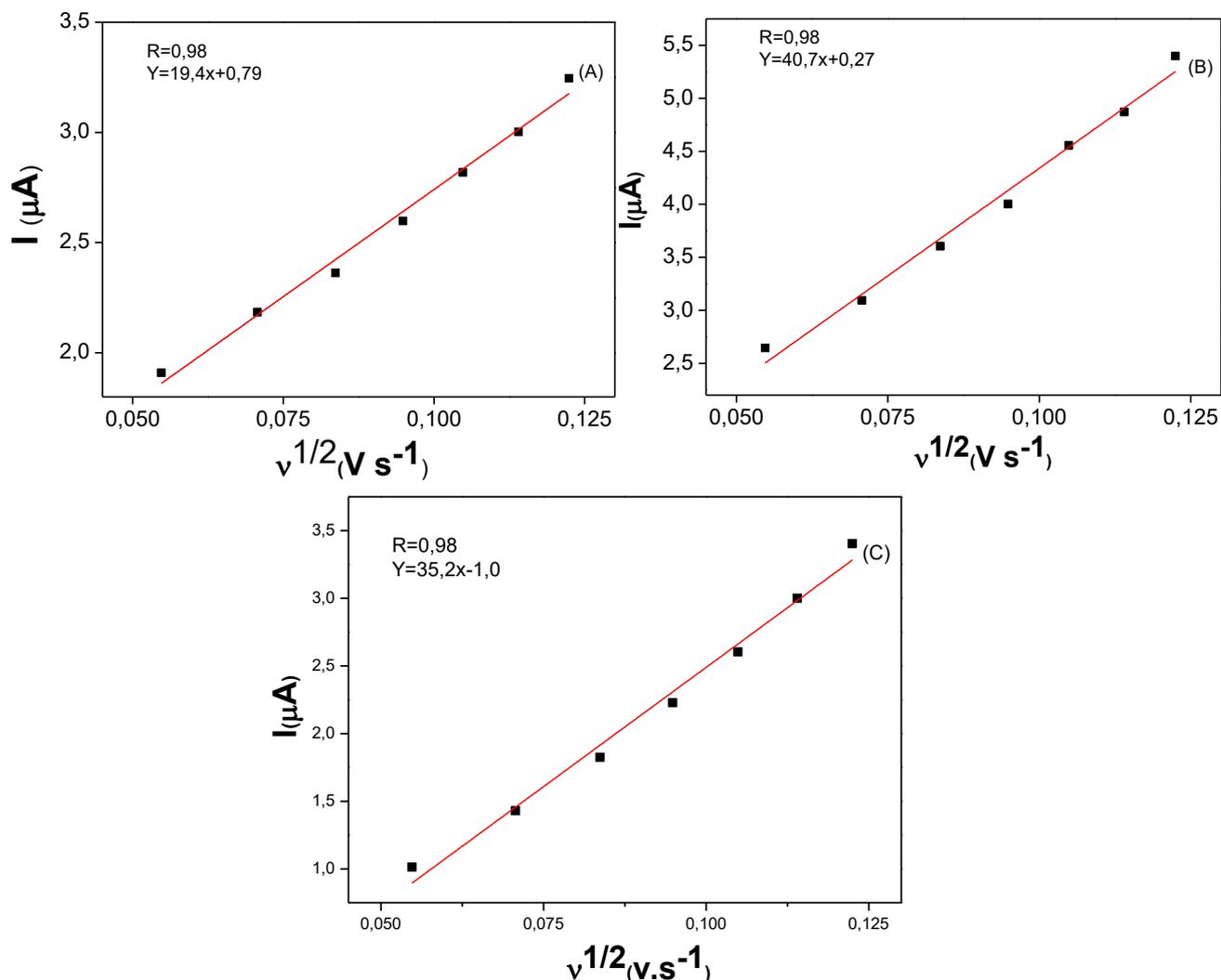
Figura 18- Voltamogramas Cíclicos em ECV/MWCNT/CAP em várias velocidades de varredura em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0 na presença de 200 μmol L⁻¹ de AA (A), AX (B) e AU (C).



Fonte: Autor, 2019.

O gráfico de corrente I vs. a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$) na faixa de velocidade de 0,003 a 0,015 V s^{-1} foi construído para cada analito e resultou em dependência linear. Desta forma, podemos concluir que o processo é controlado por difusão, nos três casos (Figura 19).

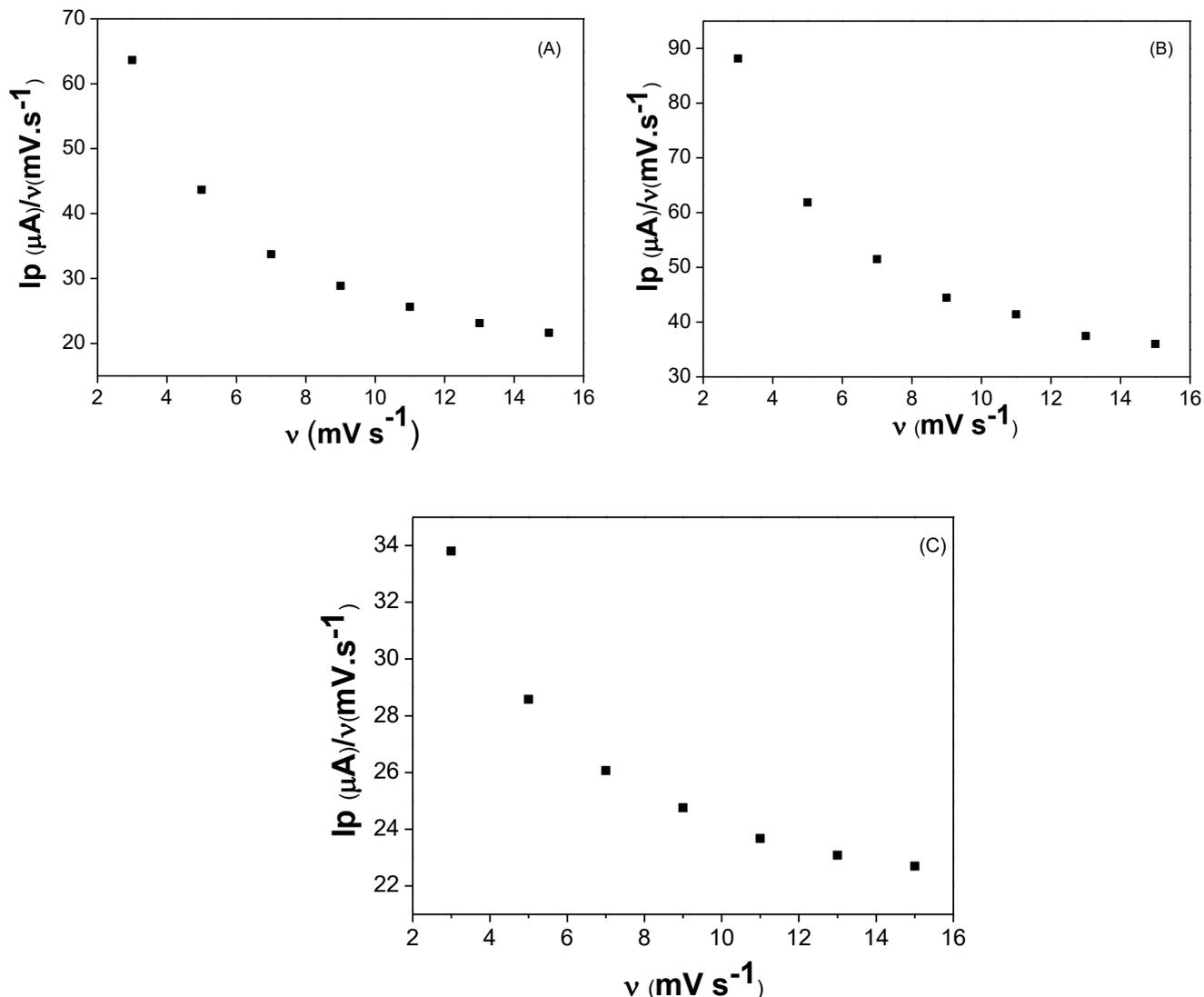
Figura 19 Variação da corrente de pico anódica I_{pa} vs $v^{1/2}$ no ECV/MWCNT/CAP, em solução contendo $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA (A), AX (B) e AU (C). Medidas realizadas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e $v = 0,003\text{-}0,015 \text{ V s}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2019.

Para comprovar que o processo de oxidação electrocatalítica entre AA, AU e AX e a plataforma ECV/MWCNT/CAP apresenta uma etapa química acoplada, foi elaborado um gráfico da corrente de pico normalizada com a velocidade de varredura (I_{pa}/v) vs. v (Figura 20). Neste foi possível observar um perfil característico de um processo electroquímico-químico catalítico (E_{RCat}) (BARD e FAULKNER, 2001).

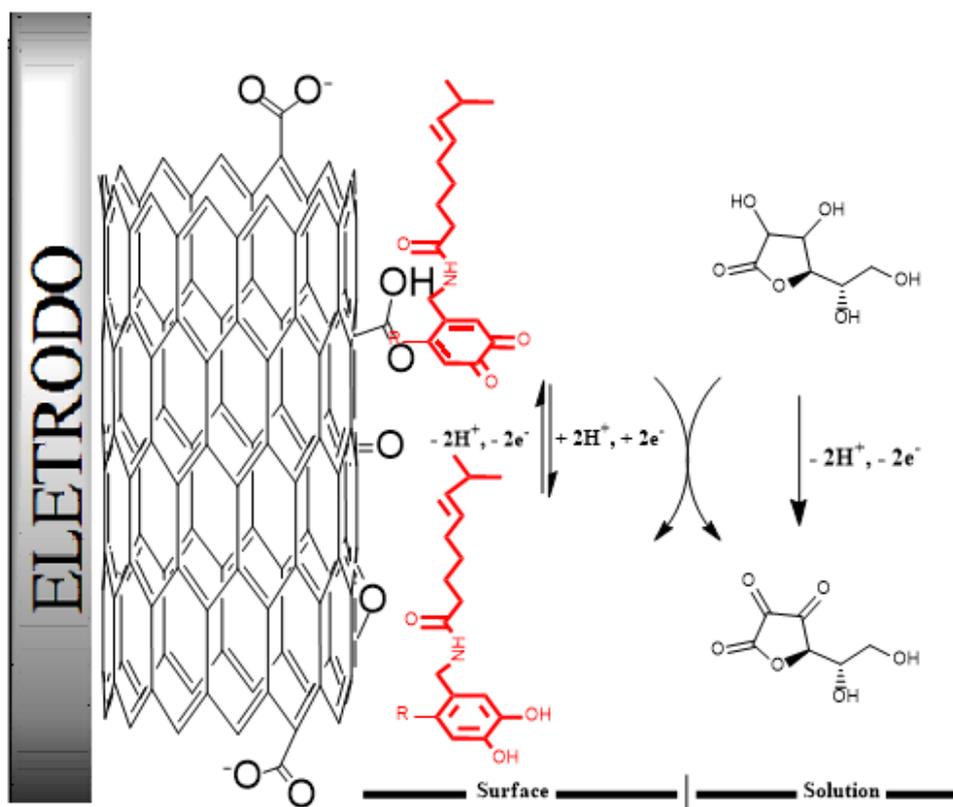
Figura 20- Variação da corrente de pico anódica normalizada I_{pa}/v v.s. v no ECV/MWCNT/CAP em solução contendo $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA (A), AX (B) e AU (C). Medidas realizadas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e v 0,003-0,015 V s^{-1} .



Fonte: Autor, 2019.

Esse mecanismo eletrocatalítico pode ser explicado através da interação entre o polímero eletroativo quinônico gerado através da oxidação de CAP na plataforma com nanotubos de carbono. O grupo quinona do polímero eletroativo pode ser reduzido à hidroquinona por um processo de dois elétrons e dois prótons, formando um ciclo catalítico para a oxidação eletrocatalítica de AA, que envolve o par redox (quinona/hidroquinona) (Figura 21).

Figura 21- Modelo simplificado do mecanismo proposto para o processo de eletrocatalise de AA sobre a plataforma ECV/MWCNT/CAP.



Fonte: Adaptado de SILVA, 2017.

5.6 Estudos Cronoamperométricos

Na Figura 22, mostra-se o comportamento eletrocatalítico da oxidação do AA, na plataforma proposta ECV/MWCNT/CAP, a fim de obter parâmetros cinéticos.

Na Figura 22-A, foi empregada a cronoamperometria de duplo salto de potencial. Neste experimento foram feitas adições sucessivas de AA, aplicando $E_{inicial} = +0,05$ V e $E_{final} = -0,10$ V vs. Ag/AgCl. A partir do Figura 22-A, observa-se que não existe corrente catódica correspondente à redução do mediador na presença de AA na Figura 22-A.

Nesse estudo, os potenciais direto e reverso para o mediador, na ausência de AA, mostraram-se simétricos, com o consumo de carga igual para a redução e oxidação, no sistema redox eletrogerado, na superfície da plataforma proposta ECV/MWCNT/CAP. Nas adições sucessivas de AA, podemos verificar o aumento da corrente, em diferentes concentrações de AA no potencial de +0,05

V e da corrente de redução permanece praticamente inalterada a -0,100 V vs Ag/AgCl/Cl⁻.

A partir da integração dos cronoamperogramas, foi possível obter o consumo de carga tanto para o processo catódico, quanto o anódico. Nestes, há um aumento significativo do processo anódico Figura 22-B.

Para obter o coeficiente de difusão do AA em solução, a corrente correspondente da reação eletroquímica (sob controle de difusão) é descrita pela lei de Cottrell (Equação 2) (NGAMCHUEA et al., 2014; SANTHIAGO et al., 2009a).

$$I = nFAD^{1/2}_{AA}C_0 \pi^{-1/2} t^{-1/2} \quad \text{Equação 2}$$

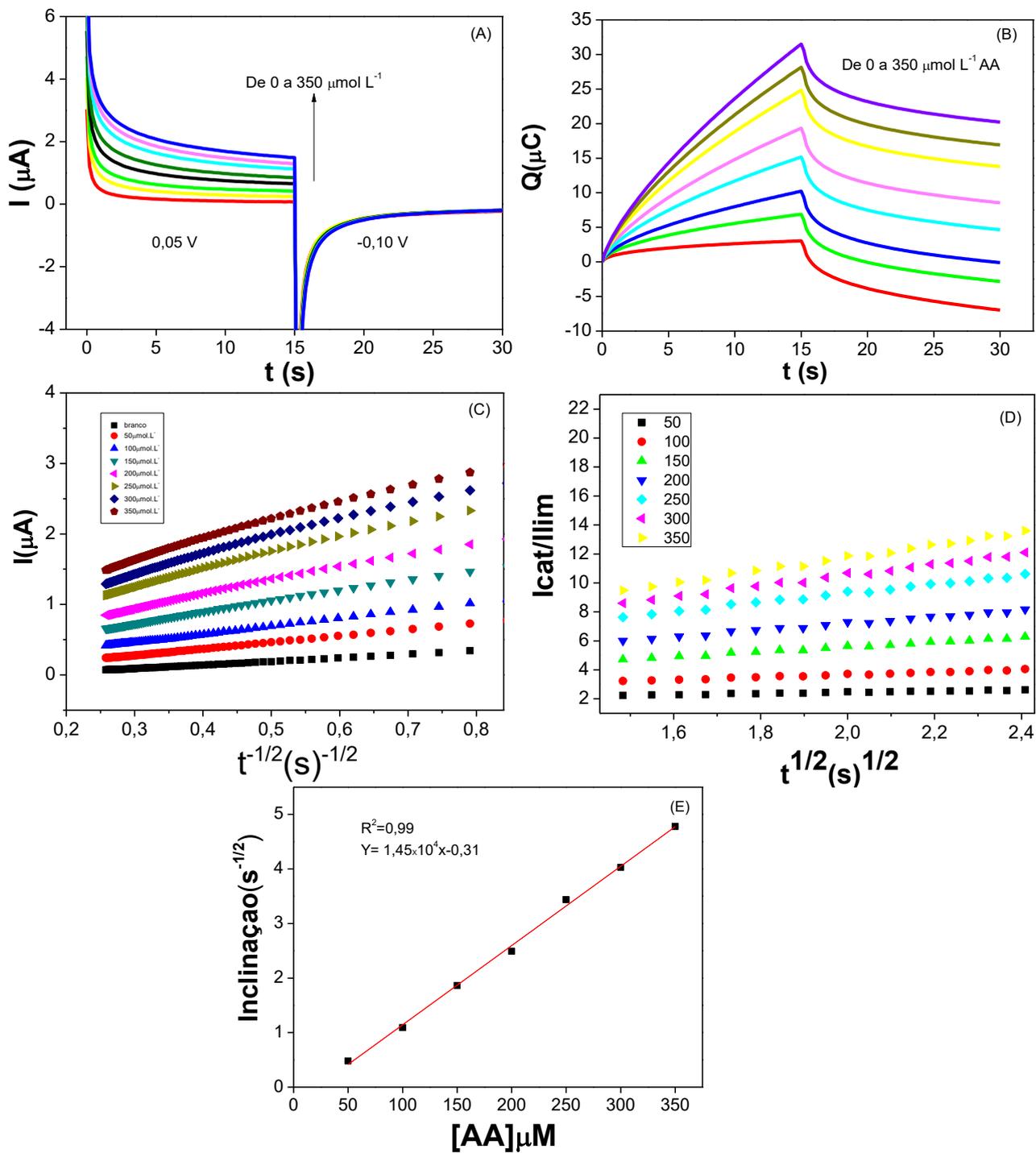
Sendo n o número de mols de elétrons, F a constante de Faraday, a área do eletrodo ($0,267 \text{ cm}^2$), D_{AA} e C_0 o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$) e a concentração de AA (mol cm^{-3}). Pela análise da Figura 22-C, foi possível obter o valor de $D_{AA}=1,113 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, através da inclinação I versus $t^{-1/2}$. Na faixa de concentração (50 a $350 \mu\text{mol L}^{-1}$), utilizando a mesma abordagem, o valor médio do coeficiente de difusão para o (AX) foi $4,30 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ Figura 23-C e (AU) $3,0 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ Figura 24C.

A constante de velocidade catalítica (k_{cat}) ($\text{L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) foi calculada por cronoamperometria, de acordo com o método descrito na literatura (Equação 3) (GALUS, 1976).

$$I_{cat}/I_{Lim} = \pi^{1/2} (kCt)^{1/2} \quad \text{Equação 3}$$

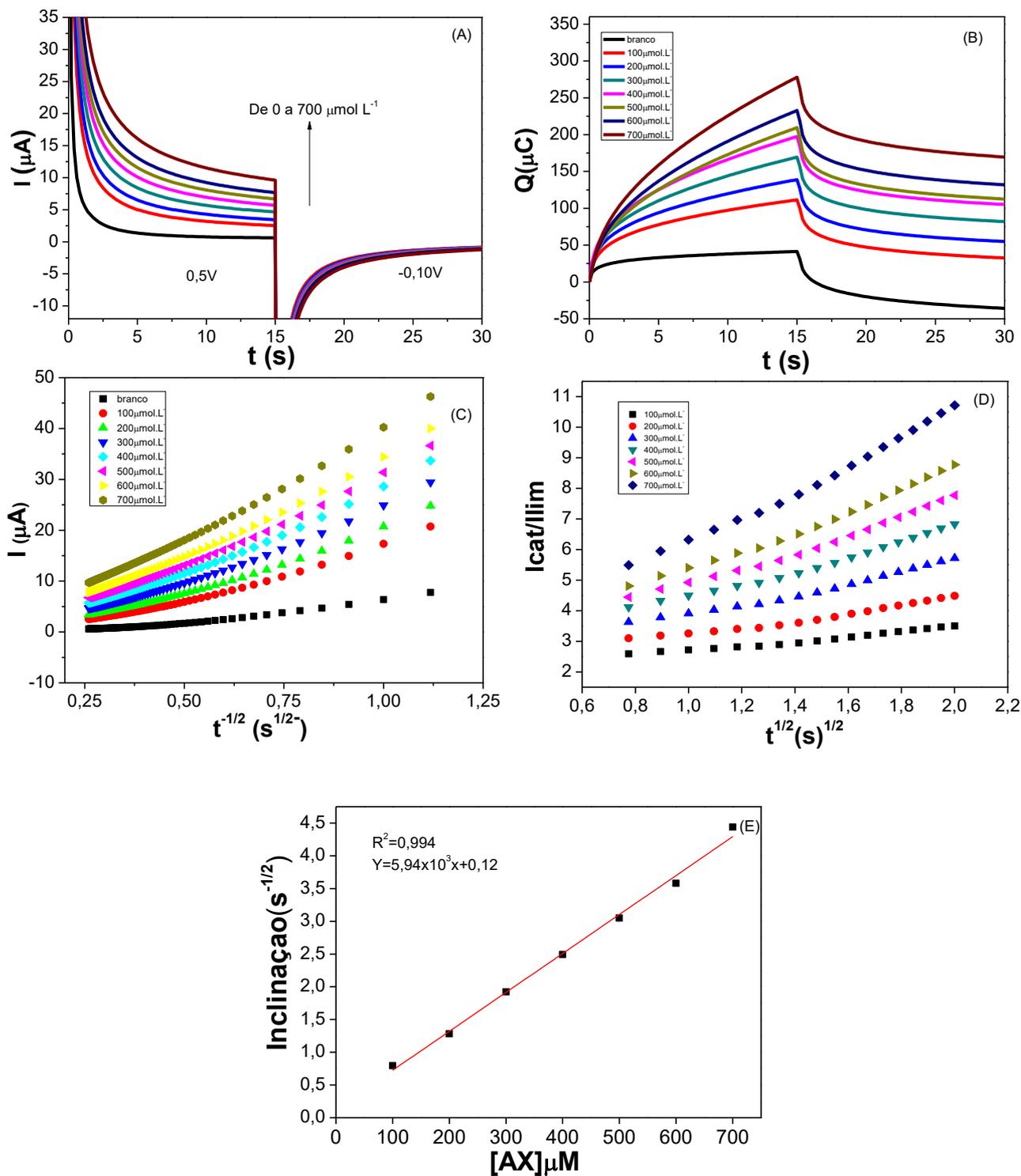
A partir das inclinações do gráfico I_{cat}/I_{Lim} vs. $t^{1/2}$ em cada concentração estudada (Figura 22D e E), por meio da equação 3, foi possível obter os seguintes valores de k_{cat} $1,453 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$; $5,94 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$; $2,10 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para AA, AX (Figura 23D e E) e AU (Figura 24D e E), respectivamente.

Figura 22. (A) Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 na ausência e presença de várias concentrações de AA, E_{inicial}=+0,050 V e E_{final} = - 0.100 V vs. Ag/AgCl, Cl⁻; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de *I* vs. *t*^{1/2}; (D) Gráficos de *I*_{cat}/*I*_{lim} vs. *t*^{1/2}; (E) inclinação vs [AA].



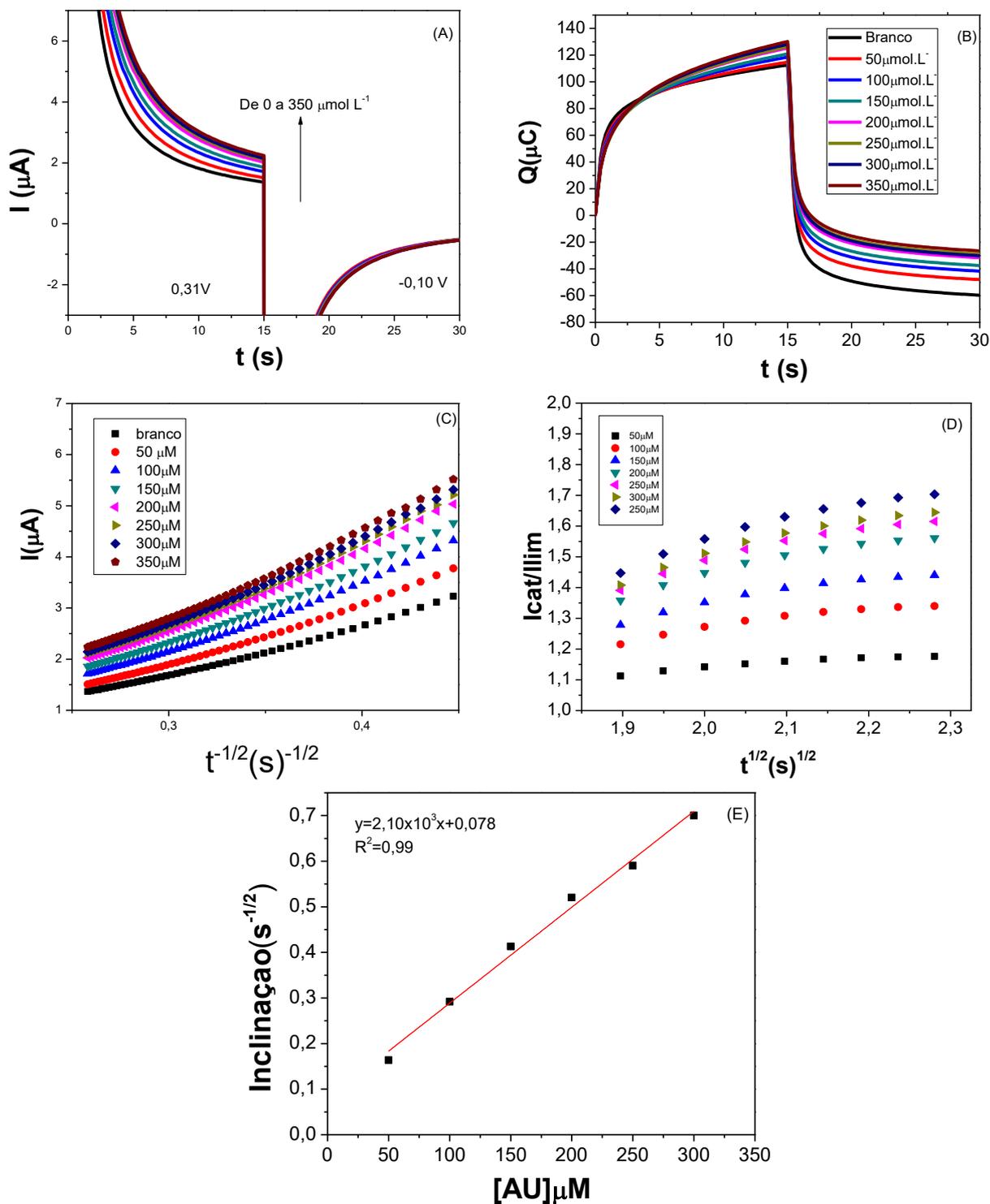
Fonte: Autor, 2019.

Figura 23. (A) Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 na ausência e presença de várias concentrações de AX, E_{inicial} = + 0,52 V e E_{final} = - 0,100 V vs. Ag/AgCl; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de I vs. t^{1/2}; (D) Gráficos de I_{cat}/I_{lim} vs. t^{1/2}; (E) inclinação vs [AX].



Fonte: Autor, 2019.

Figura 24. (A) Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 na ausência e presença de várias concentrações de AU, E_{inicial} = + 0,32 V e E_{final} = - 0.100 V vs. Ag/AgCl; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de I vs. $t^{1/2}$; (D) Gráficos de I_{cat}/I_{lim} vs. $t^{1/2}$; (E) inclinação vs [AU].



Fonte: Autor, 2019.

5.7 Detecção Amperométrica

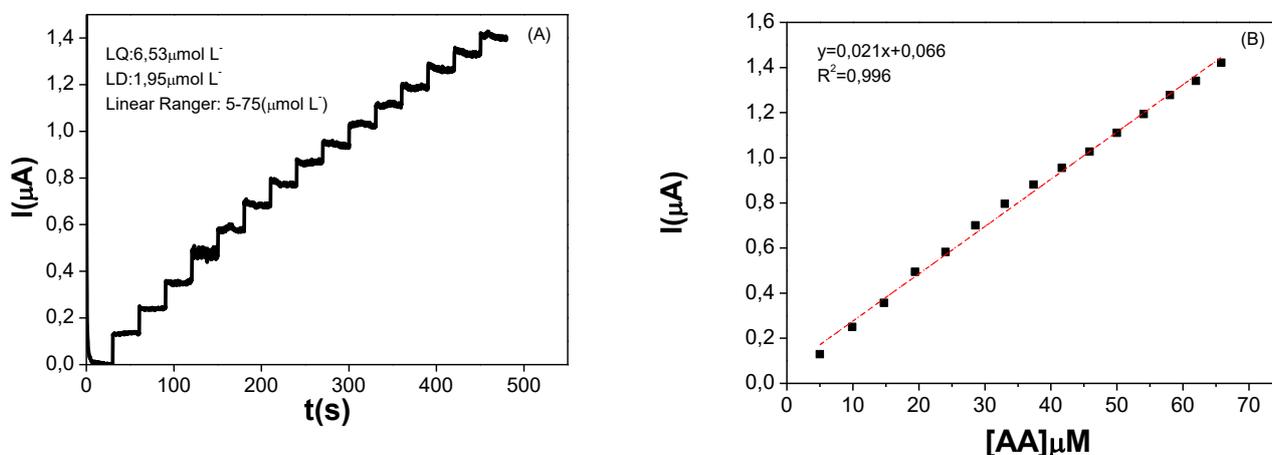
5.7.1 Ácido ascórbico

As propriedades electrocatalíticas de ECV/MWCNT/CAP para a detecção de AA também foram investigadas. A Figura 25A mostra uma curva amperométrica de ECV/MWCNT/CAP com sucessivas adições de AA (pH 7,0). O melhor potencial a ser aplicado foi +0,05 V. A plataforma ECV/MWCNT/CAP responde rapidamente às variações nas concentrações. A relação entre a concentração de AA e o sinal de corrente para ECV/MWCNT/CAP está mostrada na Figura 25-B. A corrente aumentou linearmente em uma faixa linear de 5 a 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,996$, $n = 15$) para a detecção de AA. Foi possível obter a sensibilidade $0,021 \mu\text{A L}^{-1} \mu\text{mol}$, usando uma razão $3 \sigma/b$ e sendo σ o desvio padrão do valor médio para dez amperogramas do branco e b o coeficiente angular da curva analítica, determinado de acordo com as recomendações da IUPAC (COMMITTEE, 1987), foi possível obter a limites de detecção e quantificação de 1,95 e $6,53 \mu\text{mol L}^{-1}$.

O processo desenvolvido pode ser expresso de acordo com a seguinte equação:

$$\Delta I(\mu\text{A}) = 0,066 + 0,021[\text{AA}]/\mu\text{mol L}^{-1}$$

Figura 25 (A) Medidas cronoamperométricas para a eletrooxidação de AA no ECV/MWCNT/CAP obtidas em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,0, $E_{\text{aplicado}} = +0,0500 \text{ V vs. Ag/AgCl}$; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de AA em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,0.



Fonte: Autor, 2019.

A Tabela 4, lista algumas publicações, com o propósito de comparação envolvendo diferentes técnicas e matrizes para detecção de AA. O presente trabalho apresenta limite de detecção intermediário quando comparados aos da literatura (Tabela 4). A melhor plataforma foi o poli-glioxal-2-hidroxianil, onde obteve-se o LD $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$. O LEEO tem dois trabalhos referentes à detecção de ácido ascórbico, sendo o primeiro publicado por SILVA e colaboradores (2012) com a plataforma ECV/MWCNT/poli-XA onde se obteve o LD de $0,19 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o segundo foi por Silva e colaboradores (2016), cuja plataforma de estudo foi ECV/MWCNT/poli-VA, com o valor de LD de $3,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. O melhor resultado do nosso grupo foi com a plataforma SILVA, 2012. Entretanto a plataforma proposta (ECV/MWCNT/CAP) apresenta fácil preparação em comparação a alguns trabalhos da literatura, listados na Tabela 4.

Tabela 4- Parâmetros eletroquímicos e analíticos de eletrodos modificados para a determinação de AA.

Sensor	Técnica	Faixa ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
ECV/Au-MSS	Amp.	50-15000	1,65	GUPTA, 2015
CF/ZNO	VPD	600-2000	170,1	LIU et al, 2016
P(GBHA)/ECV	VC	1,0-8,0	0,3	ERGUN et al, 2016
FeCMN/ECV	VPD	4-600	2,57	ROHANI e TAHER, 2015
ECV/tosil-CNP	VPD	10-3000	10	AMIRI et al, 2015
ECV/MWCNT/poli-AX	Amp.	25-325	0,19	SILVA, 2012
ECV/MWCNT/poli-AV	Amp	5-120	3,5	SILVA, 2016
ECV/MWCNT/CAP	Amp.	5-75	1,95	Este trabalho

Fonte: Autor, 2019.

Nota: ECV; eletrodo de Carbono vítreo; MWCNT: nanotubos de carbono de paredes múltiplas; pdNPS: nanopartículas de Pd; RG: Grafeno reduzido; MSS: esfera de sílica mesoporosa; CNTs; nanotubos de carbono; poly-AV: polímero do ácido vanílico; CAP: capsaïcina ;poly-AX:polímero do ácido xanturênico; P(GBHA): poli(glioxal-2-hidroxianil); PAM: poliacrilamida;ITO: óxido de índio e estranho; CF: fibra de carbono; NRs: nanobastões; CNP: nanopartículas de carbono; ERGO: óxido de grafeno reduzido; CM: monólito de carbono; Mn: nafion modificado; Mn-SnO₂: nanopartícula de Mn dopado com SnO₂;; Vc: Voltametria cíclica. VPD: voltametria de pulso Diferencial; VOQ: voltametria de onda quadrada.

5.7.2 Ácido xanturênico

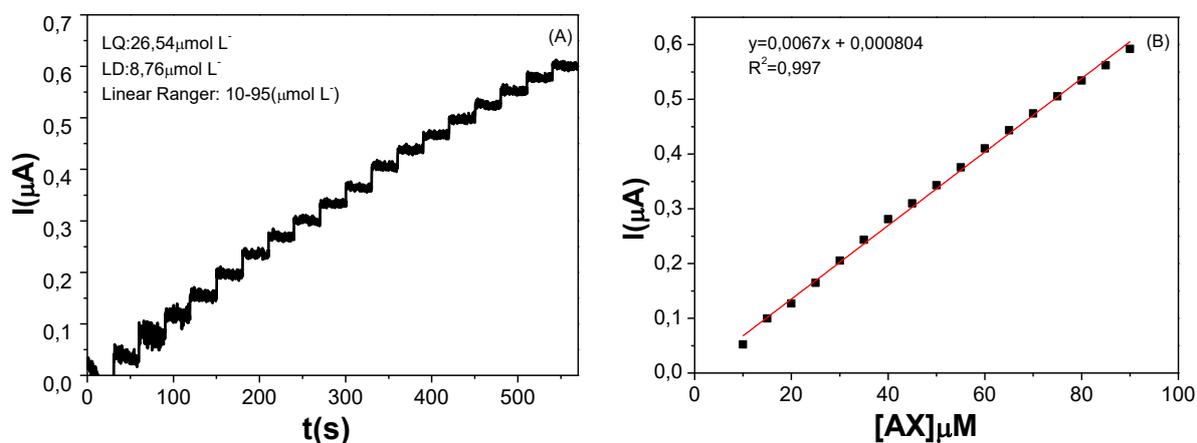
As propriedades eletrocatalíticas de ECV/MWCNT/CAP para detecção de AX também foram investigadas. A Figura 26-A mostra uma curva amperométrica de ECV/MWCNT/CAP com sucessivas adições de AX (pH 7,0). O melhor potencial a ser aplicado foi +0,52 V. A plataforma ECV/MWCNT/CAP responde rapidamente às variações nas concentrações. A relação entre a concentração de AX e o sinal de corrente para ECV/MWCNT/CAP está mostrada na Figura 26-B.

A corrente aumentou linearmente em uma faixa linear de 10 a 85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,997$, $n = 15$) para a detecção de AX. Foi possível obter a sensibilidade 0,0067 $\mu\text{A L}^{-1} \mu\text{mol}$, usando uma razão $3 \sigma/b$ e sendo σ o desvio padrão do valor médio para dez amperogramas do branco e b o coeficiente angular da curva analítica, determinado de acordo com as recomendações da IUPAC (COMITEE, 1987), foi possível obter os limites de detecção e quantificação de 8,76 e 26,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

O processo desenvolvido pode ser expresso de acordo com a seguinte equação:

$$\Delta I(\mu\text{A}) = 0,000804 + 0,0067 [\text{AX}] / \mu\text{mol L}^{-1}$$

Figura 26 (A) Medidas cronoamperométricas para a eletrooxidação de AX no ECV/MWCNT/CAP obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0, E_{aplicado} = +0,52 V vs. Ag/AgCl; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de AX em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0.



Fonte: Autor, 2019.

5.7.3 Ácido úrico

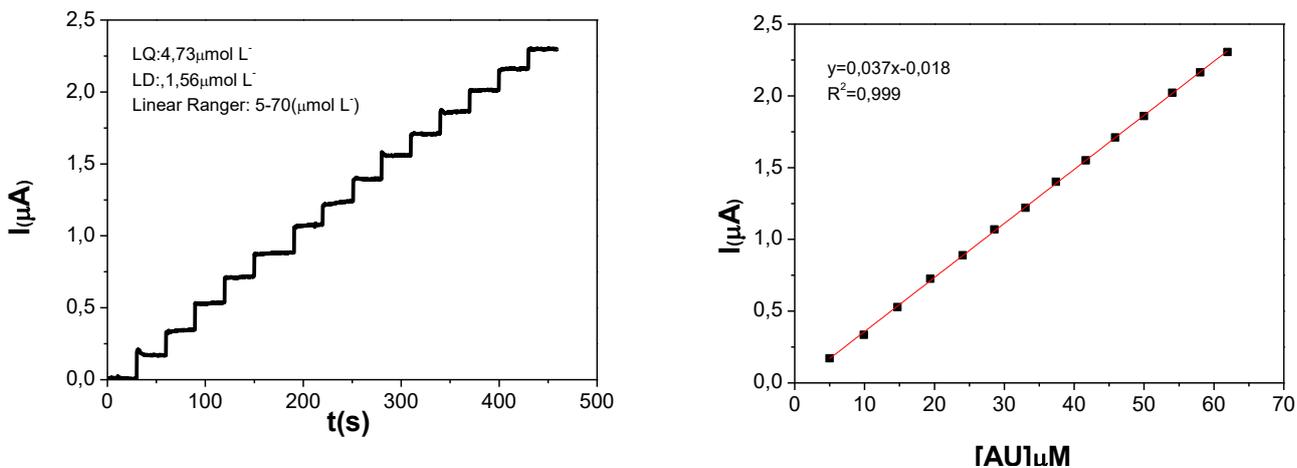
As propriedades electrocatalíticas de ECV/MWCNT/CAP para detecção de AU também foram investigadas. A Figura 27-A mostra uma curva amperométrica de ECV/MWCNT/CAP, com sucessivas adições de AU (pH 7,0). O melhor potencial a ser aplicado foi +0,32 V. A plataforma ECV/MWCNT/CAP responde rapidamente às variações nas concentrações. A relação entre a concentração de AU e o sinal de corrente para ECV/MWCNT/CAP está mostrada na Figura 27-B.

A corrente aumentou linearmente em uma faixa linear de 5 a 70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,999$, $n = 14$) para a detecção de AU. Foi possível obter a sensibilidade 0,037 $\mu\text{A L}^{-1} \mu\text{mol}$, usando uma razão $3\sigma/b$ e sendo σ o desvio padrão do valor médio para dez amperogramas do branco e b o coeficiente angular da curva analítica, determinado de acordo com as recomendações da IUPAC (COMITEE, 1987), foi possível obter a limites de detecção e quantificação de 1,56 e 4,73 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

O processo desenvolvido pode ser expresso de acordo com a seguinte equação:

$$\Delta I(\mu\text{A}) = -0,018 + 0.037 [\text{AU}]/\mu\text{mol L}^{-1}$$

Figura 27 (A) Medidas cronoamperométricas para a eletro-oxidação de AU no ECV/MWCNT/CAP obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0, E_{aplicado}=+0,32 V vs. Ag/AgCl; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de AU em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0.



Fonte: Autor, 2019.

A Tabela 5 apresenta algumas publicações, com o propósito de comparação, envolvendo diferentes técnicas e matrizes para detecção de AU. O presente trabalho apresenta limites de detecção intermediários quando comparados aos presentes na Tabela 5. A melhor plataforma foi eletrodo de carbono vítreo/ monólito de carbono ECV/CM, obtendo o LD 0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O LEEO tem dois trabalhos referente a detecção de ácido úrico, sendo o primeiro publicado por SILVA e colaboradores (2012), com a plataforma ECV/MWCNT/poli-AX, obteve o LD 0,31 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e a segunda foi por COSTA e colaboradores (2016), cuja a plataforma de estudo foi ECV/MWCNT/poli-at-5-NI, obteve o LD de 2.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O melhor resultado do nosso grupo foi com a plataforma SILVA, 2012. Entretanto a plataforma proposta ECV,MWCNT/CAP, fácil preparação, em comparação alguns trabalhos listados na tabela 5.

Tabela 5- Parâmetros eletroquímicos e analíticos de eletrodos modificados para a determinação de AU.

Sensor	Técnica	Faixa ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
Eletrodo de carbono/L-cisteína	VOQ	10-100	10,0	CHOUKAIRI et al., 2015
ECV/CM	VC	0,094-190	0,15	MUKDASAI et al., 2014
ECV/CNTs-PAM	VPD	4,0-400	1,0	ZHANG et al., 2015
ECV/Au-MSS	VPD	20-7000	2,14	GUPTA,2015
CF/ZnO	VPD	600-0200	6,7	LIU, et al., 2016
ECV/MWCNT/poli-AX	Amp	25-325	0,31	SILVA, et al., 2012
ECV/MWCNT/poli-at-5-NI	Amp	5-50	2,1	COSTA, 2018
ECV/MWCNT/CAP	Amp.	5-70	1,56	Este trabalho

Fonte: autor desta dissertação,2019

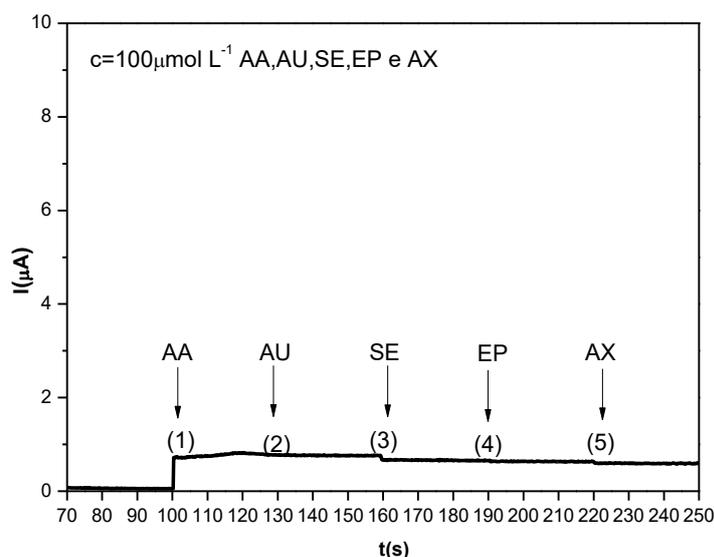
Nota: **ECV**; eletrodo de Carbono vítreo; **MWCNT**: nanotubos de carbono de paredes múltiplas **MSS**: esfera de sílica mesoporosa; **CNTs**; nanotubos de carbono; **CAP**: capsaïcina; poli-at-5-NI: poli-5-nitroindol ativado; **poli-AX**: polímero do ácido xanturênico; **PAM**: poliacrilamida; **Au**; ouro; **ZnO**: oxido de zinco; **CAP**: **Capsaïcina**; **CF**: fibra de carbono; **CM**: monólito de carbono; **Vc**: Voltametria cíclica. **VPD**: voltametria de pulso Diferencial. **VOQ**: voltametria de onda Quadrada; **Amp**: Amperometria.

5.8 Estudo de interferentes

O estudo de interferentes na resposta do eletrodo é útil para mostrar a seletividade e abrangência do mesmo, assim como para estabelecer o preparo da amostra, com o objetivo de minimizar os efeitos destes, nas análises. A interferência de compostos eletroativos tipicamente presentes numa amostra fisiológica considerados para o estudo foram: ácido ascórbico (AA), ácido úrico (AU), serotonina (SE), epinefrina (EP) e ácido xanturênico (AX). Na Figura 28 mostra a resposta amperométrica do eletrodo modificado quando aplicado +0,05 V, com adições sucessivas de (AA), (AU), (SE), (EP) e (AX).

Não houve interferência na resposta do eletrodo de trabalho, uma vez é possível detectar o ácido ascórbico na presença destas.

Figura 28- Resposta amperométrica de ECV/MWCNT/CAP, em adições de (1) AA, (2) AU, (3) EP,(4) SE e (5) AX, em tampão fosfato pH 7,0, potencial aplicado de +0,05 V.



Fonte: Autor, 2019.

5.9 Análises de amostras reais e testes de recuperação

O método proposto foi aplicado para a determinação de AA em urina sintética e AU em plasma sanguíneo sintético, utilizando o método de adição padrão. A amostra de AA foi diluído 80 vezes e AU foi diluída 2 vezes, esta diluição ajuda a reduzir os efeitos de matriz em amostras reais. Para confirmar os resultados, a urina e o plasma sanguíneo foi fortificado com soluções padrões de AA e AU em suas respectivas soluções, em seguida, as quantidades totais foram determinadas. O valor de recuperação das amostras fortificadas foi de 98,4% para o AA (urina) e 102% para AU (plasma) (Tabela 6). O teste de recuperação foi realizado utilizando plasma sanguíneo no caso de AU e urina para o AA, com diluição ($5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Em seguida, 250 μL e ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Em seguida 50 μL das amostras diluídas foram colocadas na célula eletroquímica (5 mL) e quantificadas por amperometria.

Tabela 6. Determinação de AA (urina sintética) e AU (plasma sintético).

	AU	AA
Detectado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)^a	26,49	24,2
Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,0	5,0
Após adição ($\mu\text{mol L}^{-1}$)^a	31,6	29,1
Recuperação (%)	102	98,4
D.P.R. (%)^b	2,22	1,65

^aNúmero de amostras analisadas, 3.

^bDesvio padrão relativo

Fonte: Autor, 2019.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO (PARTE 2)

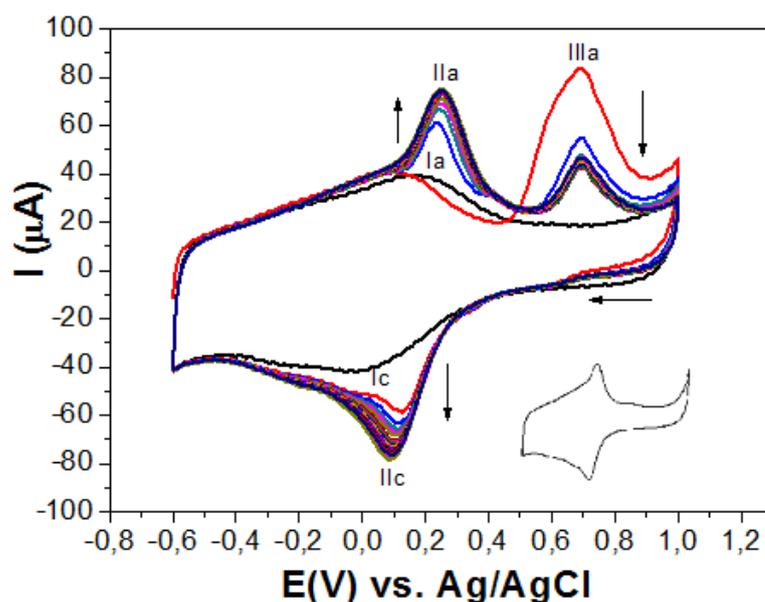
6.1 Processo de Polimerização de AX em ECV/MWCNT

O voltamograma cíclico obtido com o eletrodo modificado por ECV/MWCNT, usando AX dissolvido em tampão fosfato pH 5,5 (Figura 29), exibiu um pico de oxidação irreversível em IIIa = 0,71 V vs. Ag/AgCl, o que corresponde ao início do processo de polimerização, eletrogerando um sistema redox reversível em IIa = +0,24 V e IIc 0,83 V vs. Ag/AgCl.

Observa-se, em ciclos sucessivos, a diminuição do pico IIIa e o aumento dos picos redox IIa e IIc, indicando cobertura gradual da superfície do eletrodo de trabalho, com filme eletroativo. O eletrodo ECV/MWCNT/AX, foi lavado com água destilada para retirar o excesso de ácido xanturênico presente na superfície do eletrodo, e, na sequência, foi imerso em uma nova solução de tampão fosfato pH 7,0 para a detecção dos analitos. A resposta voltamétrica do ECV/MWCNT/AX consiste em processo quase-reversível bem formado cujo potencial de 0,043 V vs. Ag/AgCl/Cl⁻. Essas condições foram utilizadas para todos os estudos eletroquímicos.

Podemos afirmar que a presença de MWCNT impediu a passivação.

Figura 29- Voltamogramas Cíclicos na faixa de -0,6 a 1,0 V vs. Ag/AgCl para a polimerização e ativação do ECV/MWCNT com ácido xanturênico a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em solução tampão fosfato 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, pH 5,5 e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

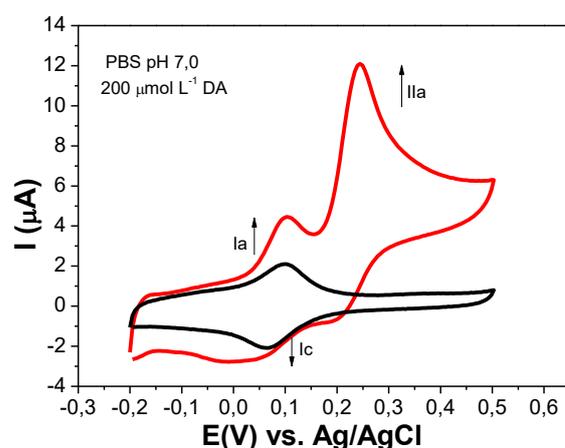


6.2 Atividade Eletrocatalítica de ECV/MWCNT/AX frente a dopamina (DA)

Como já mencionado, a plataforma ECV/MWCNT/AX apresentou efeito eletrocatalítico para a detecção de NADH, ácido úrico e ácido ascórbico, trabalhos realizados pelo grupo no LEEO da Universidade Federal de Alagoas (SILVA, 2010; 2012). Contudo, para dar continuidade aos estudos com esta plataforma foram avaliados seus efeitos eletroanalíticos para DA, uma vez que esse é um analito de extrema relevância, e sua concentração elevada ou baixa pode estar relacionada a uma série de patologias. Alguns ensaios foram realizados com DA para avaliar se haveria catálise redox, a partir do polímero eletrogerado, na presente plataforma nanoestruturada.

Na Figura 30, com ausência de dopamina observamos um sistema redox (Ia e Ic), referente ao mediador redox, eletrogerado a partir da oxidação do ácido xanturênico (Figura 29). Na primeira varredura do voltamograma, na presença de dopamina, (Figura 30), foram observados 2 picos de oxidação (Ia e IIa). O pico IIa em 0,24 V vs. Ag/AgCl que corresponde à oxidação da dopamina, além disso, foi possível observar o aumento de corrente no sistema redox (Ia e Ic), sugerindo a formação de um possível sistema redox.

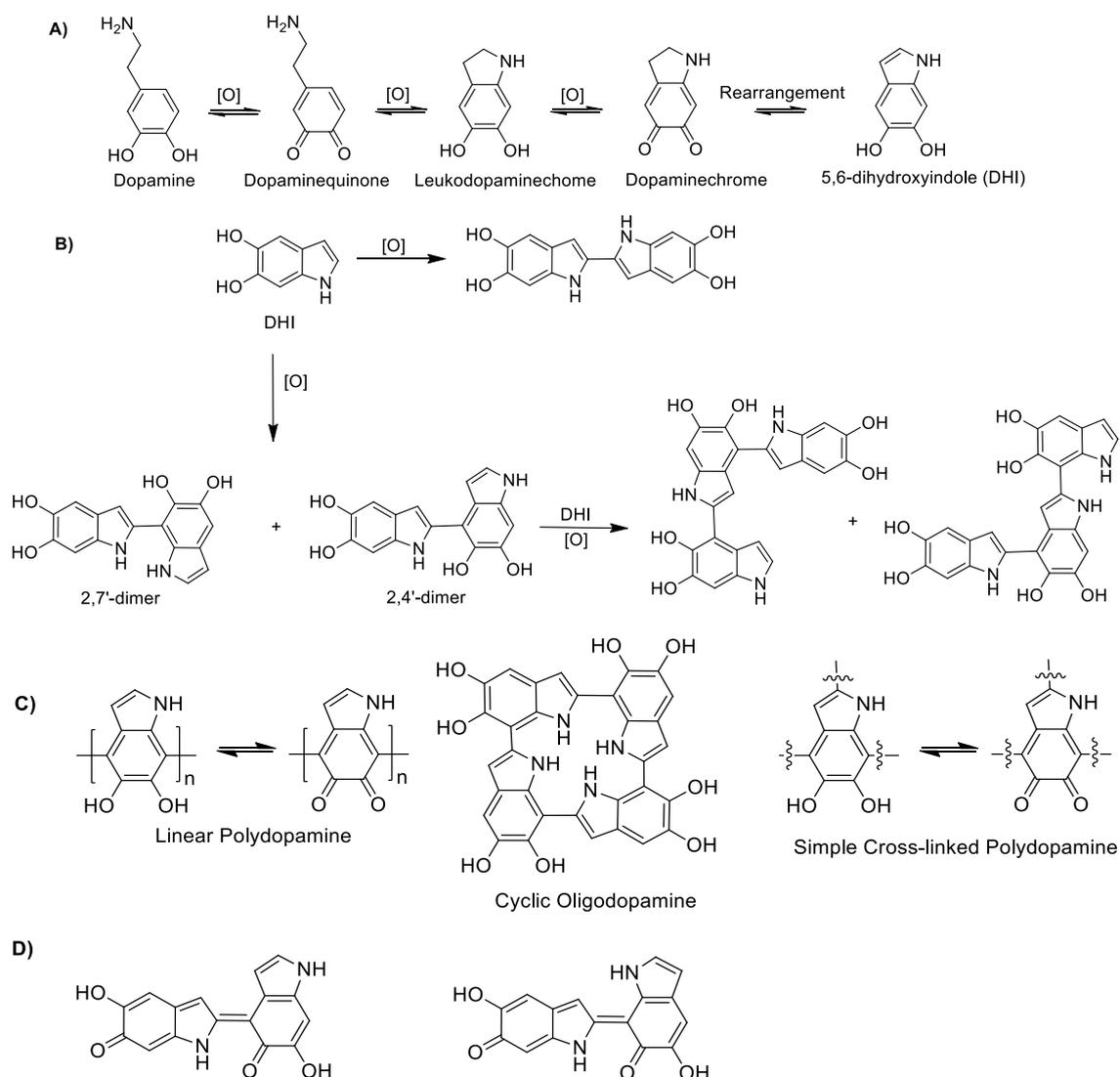
Figura 30- Voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNT/AX na ausência e presença de Dopamina (DA), $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0.



Fonte: Autor, 2019.

Em eletroquímica, um dos mecanismos da eletropolimerização para a dopamina (DA), em solução aquosa, envolve a oxidação desta para dopaminoquinona em um sistema de dois elétrons. Dependendo do pH, a amina é desprotonada e a molécula pode sofrer adição intramolecular, resultando em uma reação de ciclização, originando leucodopaminocromo, mais facilmente oxidável que sua precursora DA e pode então sofrer reações redox adicionais, formando uma série de produtos (Figura 31) (HAWLEY, 1967; KE, 2006; XIANG, 2007).

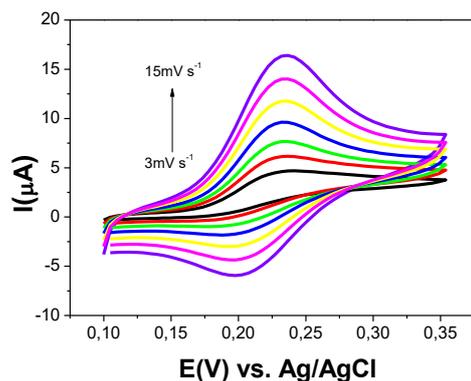
Figura 31- Mecanismo de oxidação da dopamina.



Fonte: SILVA et al., 2019.

Por meio dos estudos realizados em diferentes velocidades de varredura verifica-se o aumento da corrente de pico anódico de DA com o aumento da velocidade de varredura, bem como o deslocamento do potencial de oxidação de DA para valores mais positivos, indicando desta forma uma limitação cinética para este processo redox na plataforma utilizada (Figura 32).

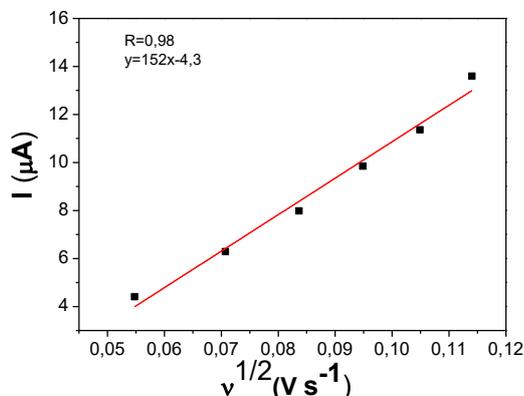
Figura 32- Voltamogramas Cíclicos de ECV/MWCNT/AX em várias velocidades de varredura em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0 na presença de 200 μmolL⁻¹ de DA.



Fonte: Autor, 2019.

O gráfico de corrente catalítica I_{pa} vs. a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial ($v^{1/2}$) na faixa de velocidade de 0,003 a 0,015 V s⁻¹ foi construída para a DA e resultou numa dependência linear, desta forma podemos concluir que o processo é controlado por difusão para a interação de DA com a plataforma proposta na (Figura 33).

Figura 33- Variação da corrente de pico anódica I_{pa} vs. $v^{1/2}$ no ECV/MWCNT/AX, em solução contendo 200 μmol L⁻¹ de DA. Medidas realizadas em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0 e v : 0,003-0,015 V s⁻¹.

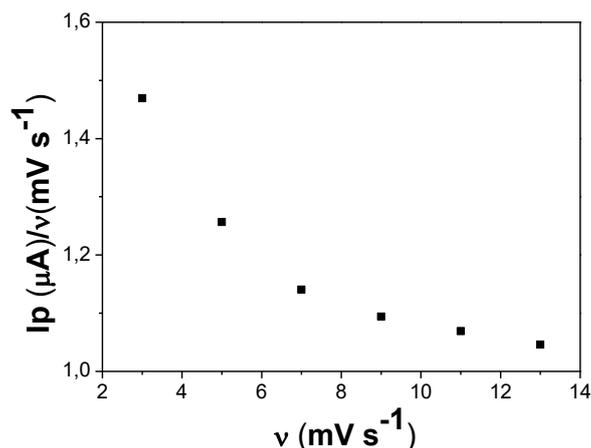


Fonte: Autor, 2019.

Para comprovar que o processo de oxidação eletrocatalítica entre DA e a plataforma ECV/MWCNT/AX apresenta uma etapa química acoplada, foi

elaborado um gráfico da corrente de pico normalizada com a velocidade de varredura (I_p/v) vs v (Figura 34) é possível observar um perfil característico de um processo eletroquímico-químico catalítico (E_{RCat}) (BARD e FAULKNER, 2001).

Figura 34- Variação da corrente de pico anódica normalizada I_p/v vs v no ECV/MWCNT/AX em solução contendo $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DA. Medidas realizadas em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 e v : $0,003\text{-}0,015 \text{ V s}^{-1}$.



Fonte: Autor, 2019.

6.3 Estudos Cronoamperométricos

A cronoamperometria de salto de potencial foi aplicada para a investigação do processo eletrocatalítico em ECV/MWCNT/AX da mesma forma que foi utilizado no capítulo anterior para a plataforma derivada da capsaïcina.

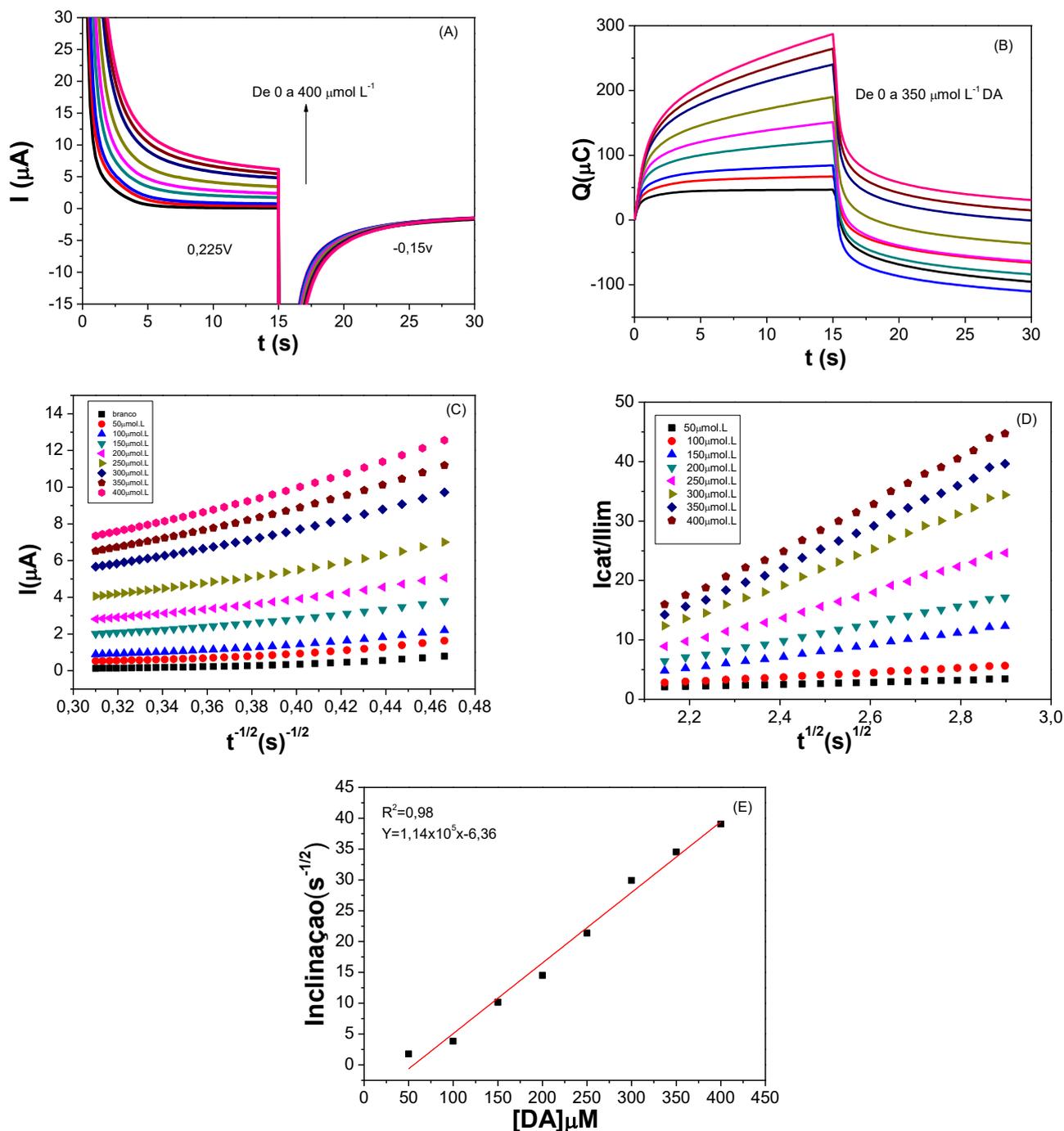
Na Figura 35, podemos avaliar o comportamento cronoamperométrico da oxidação da DA, na plataforma proposta ECV/MWCNT/AX, a fim de obter parâmetros cinéticos, Figura 35-A, está representada a cronoamperometria de duplo salto. Neste experimento, foram feitas adições sucessivas de DA, com aplicação do potencial de oxidação ($E=0,225 \text{ V}$) e o potencial de redução ($E = -0,15 \text{ V}$).

A partir da integração dos cronoamperogramas, foi possível obter o consumo de carga tanto para o processo catódico, quanto o anódico. Nestes, há um aumento significativo do processo anódico Figura 35-B.

O valor de D_{DA} , obtido a partir das inclinações de I vs. $t^{1/2}$ (Figura 35-C) para DA foi $7,95 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. A partir das inclinações do gráfico I_{cat}/I_{Lim} vs. $t^{1/2}$ em

cada concentração estudada (Figura 35-D e E), foi possível obter o valor de k_{cat} , o qual apresentou um valor calculado na faixa de concentração estudada de $1,44 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Figura 35- (A) Cronoamperogramas de ECV/MWCNT/AX em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7.0 na ausência e presença de várias concentrações de DA, E_{inicial}= + 0,225 V e E_{final}= - 0.150 V vs. Ag/AgCl; (B) Integração dos cronoamperogramas; (C) Gráficos de I vs. $t^{1/2}$; (D) Gráficos de I_{cat}/I_{lim} vs. $t^{1/2}$; (E) inclinação vs [DA].



6.4 Detecção Amperométrica

6.4.1 Dopamina

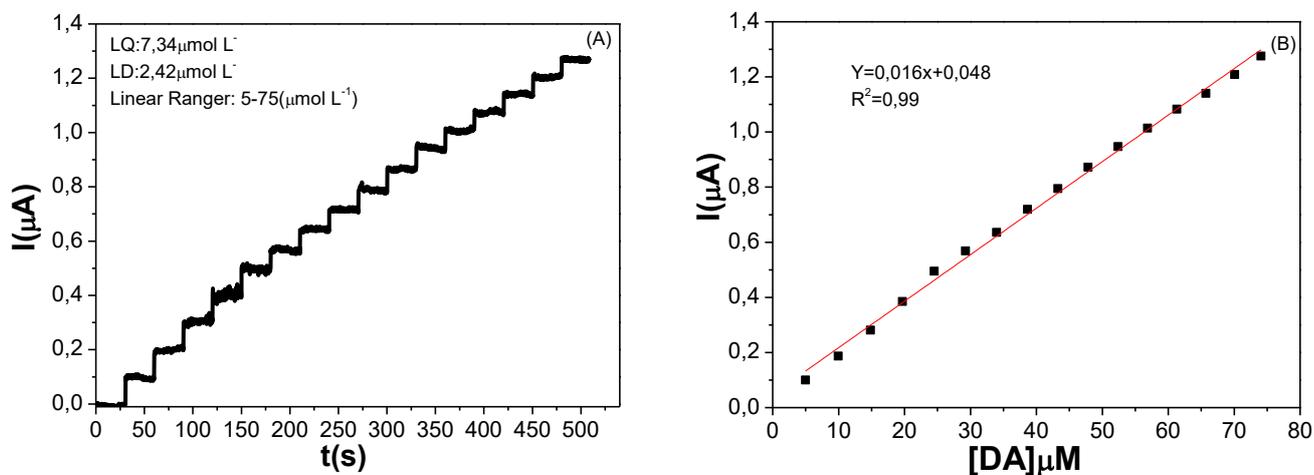
As propriedades electrocatalíticas de ECV/MWCNT/AX para detecção de DA também foram investigadas. A Figura 36-A mostra um cronoamperograma com sucessivas adições de DA (pH 7,0). O melhor potencial a ser aplicado foi +0,225V. A relação entre a concentração de DA e o sinal de corrente para ECV/MWCNT/AX está ilustrado na Figura 36-B.

A corrente aumentou linearmente em uma faixa linear de 5 a 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,99$, $n = 16$) para detecção de DA, foi possível obter a sensibilidade 16 $\text{nA L}^{-1} \mu\text{mol}^{-1}$. Usando uma razão $3\sigma/b$ e sendo σ o desvio padrão do valor médio para dez amperogramas do branco e b o coeficiente angular da curva analítica, determinado de acordo com as recomendações da IUPAC (COMMITTEE, 1987), foi possível obter a limites de detecção e quantificação de 2,423 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 7,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

O processo desenvolvido pode ser expresso de acordo com a seguinte equação:

$$\Delta I(\mu\text{A}) = 0,048 + 0,016[\text{DA}]/\mu\text{mol L}^{-1}$$

Figura 36- (A) Medidas cronoamperométricas para a eletrooxidação de DA no ECV/MWCNT/AX obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0, Eaplicado= +0,2500 V vs. Ag/AgCl.; (B) Curva analítica para a eletrooxidação de DA no ECV/MWCNT/AX, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0.



Fonte: Autor, 2019.

Na Tabela 7, podemos observar diversas plataformas para a detecção de dopamina descrito na literatura. As plataformas propostas por WANG & BI, (2013) e SILVA (2017) com melhor limite de detecção em referência a plataforma proposta para este trabalho, no entanto, mostrou-se superior aos trabalhos proposto por SALGADO (2014), SILVA, 2014, MIN & YOO (2019). Adicionalmente, é possível destacar que a plataforma desta dissertação apresenta o limite de detecção intermediário quando defrontados com alguns trabalhos da literatura, sugerindo que o sensor proposto é de fácil preparação e os materiais utilizado são acessíveis devido ao custo benefício, quando comparado a uma serie de materiais presente na modificação dos eletrodos mostrados na Tabela 7, para o qual a técnica aplicada na construção deste sensor é a amperometria, essa apresenta uma alta sensibilidade e curto tempo de análise quando comparamos com as técnicas voltamétricas.

Tabela 7- Parâmetros eletroquímicos e analíticos de eletrodos modificados para a determinação simultânea de DA.

Sensor	Técnica	Faixa ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
poli-PVA/ECV	Amp.	3-30	2,67	SALGADO, ET AL. 2014
TIR-SWNTs-Ppy/ECV	Amp	5-500	5	MIN & YOO, 2009
Polí-tir/MWCNT/ECV	VPD	0,1-30	0,02	WANG & BI, 2013
ECV/MWCNT/polí-CAP	Amp	5-115	1,8	SILVA, 2017
ECV/MWCNT/polí-AF	Amp	5-120	2,21	SILVA, 2017
ECV/MWCNT/polí-AV	Amp	150-600	4,5	SILVA, 2014
ECV/MWCNT/AX	Amp.	5-75	2,42	Este trabalho

Fonte: Autor, 2019.

Nota: **ECV**: eletrodo de carbono vítreo; **VPD**: voltametria de pulso diferencial; **VC**: voltametria cíclica; **VOQ**: voltametria de onda quadrada; **SWNTS**: Nanotubos de carbono de parede única tridimensional; **NW**: nanofios; **MWCNT**: Nanotubo de paredes múltiplas; **PVA**: poli(álcool vinílico); **MEC**:(modificado com 2- mercaptobenzotiazol); **PPY** (polipirrol); **Polí-TIR**: polímero de tirosina, **polí-CAP**: polímeros de capsaicina;; **polí-AF**: polímero de ácido ferúlico; **Polí-AV**: polímero de ácido vanílico.

6.5 Análises de amostras reais

O método proposto foi aplicado para a determinação de DA em amostras farmacêuticas, utilizando o método de adição padrão. A amostra de DA foi diluída 10,63 vezes, esta diluição ajuda a reduzir os efeitos de matriz em amostras reais. Para confirmar os resultados, as amostras farmacêuticas foram fortificadas com solução padrão de DA e, em seguida, as quantidades totais foram determinadas. O valor de recuperação das amostras fortificadas foi de 106% para DA (Tabela 8). O teste de recuperação foi realizado utilizando amostra real, no caso de DA, com diluição ($2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Em seguida, 50 μL da amostra diluída foi colocada na célula eletroquímica (5 mL) e quantificadas por amperometria.

Tabela 8. Determinação de DA em amostras farmacêuticas

	DA
Detectado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) ^a	25,8
Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,0
Após adição ($\mu\text{mol L}^{-1}$) ^a	31,1
Recuperação (%)	106
C.V (%) ^b	2,18

^aNúmero de amostras analisadas, 3.
^bDesvio padrão relativo

Fonte: Autor, 2019.

7. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível construir diferentes plataformas para fins analíticos à base de nanotubos de carbono e polímeros eletrogerados a partir de derivados de fenóis: capsaïcina e ácido xanturênico. Estes processos de modificação, com nanotubos de carbono e ativação, promoveram a formação de pares redox, que possibilitaram o desenvolvimento com sucesso de sensores eletroquímicos, sendo uma alternativa viável para determinação de ácido ascórbico, ácido xanturênico, ácido úrico e dopamina.

Os estudos eletrocatalíticos e cinéticos do AA, AX, AU e DA por meio da cronoamperometria, empregando o sistema desenvolvido ECV/MWNCT/CAP e ECV/MWNCT/AX comprovaram a eficiência deste sistema em mediar a transferência de elétrons.

As plataformas nanoestruturadas modificadas pelos mediadores CAP e AX, foram capazes de promover a detecção de AA, AX, AU e DA, com boa sensibilidade e estabilidade, bem como em tempo de resposta curto. Os sensores propostos são de fácil preparação, quando comparados a vários materiais envolvidos na modificação de eletrodos, e os materiais envolvidos são de baixo custo. Os sensores possuem características promissoras para o desenvolvimento de novos dispositivos miniaturizados para o mercado.

8. PERSPECTIVAS

Construção de novos sensores eletroquímicos com a utilização de diferentes modificadores como nanopartículas de ouro, grafeno, líquidos iônicos, entre outros, visando aumentar a sensibilidade e a seletividade para aplicações em matrizes biológicas e/ou de alimentos.

É necessária a caracterização dos produtos oxidados de CAP e AX e estudos morfológicos da plataforma ECV/MWCNT/CAP e ECV/MWCNT/AX.

Otimizar o sistema para realizar curvas analíticas dos analitos apresentados.

9.REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMID, R.; NEWAIR, E.F. Voltammetric determination of polyphenolic content in pomegranate juice using a poly(gallic acid)/multiwalled carbon nanotube modified electrode, **Beilstein J. Nanotechnol**, v.7, p.1104–1112, 2016.

ABREU, F. C.; PAULA, F. S.; FERREIRA, D. C. M.; NASCIMENTO, V. B.; SANTOS, A. M. C.; SANTORO, M. M.; SALAS, C. E.; LOPES, J. C. D.; GOULART, M. O. F. The Application of DNA-Biosensors and Differential Scanning Calorimetry to the Study of the DNA-Binding Agent Berenil. **Sensors**, v. 8, 1519 - 1538, 2008.

ALMEIDA, L.C. et al. Electrochemical and optical characterization of thin polydopamine films on carbon surfaces for enzymatic sensors. **Electrochimica Acta**, v.263, p.480 – 489, 2018.

AMIRI, M. et al., Carbon nanoparticles with tosyl functional group for distinguishing voltammetric peaks of ascorbic acid and uric acid. **Materials Science and Engineering C**, V.47, p.189-195, 2015

ANH, V.T et al., A novel electrochemical assay for aspartame determination via nucleophilic reactions with caffeic acid ortho-quinone. **Electrochimica Acta**, v.300, p.67-76, 2019.

BACHILO, S.; Strano, M. S.; Kittrell, C.; Hauge, R. H., Smalley, R. E., Weisman, R. B. Structure Assigned Optical Spectra of Single-Walled Carbon Nanotubes, **Science**, v. 298, p. 2361-2366, 2002.

BARATHI, P.; Kumar, S. Quercetin tethered pristine-multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as an efficient electrochemical detector for flow injection analysis of hydrazine in cigarette tobacco samples, **Electrochim. Acta**, v.135, p.1–10, 2014.

BARD, A; FAULKNER, L. Allen J. Bard and Larry R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, New York: Wiley, 2001. **Russian Journal of Electrochem.**

Bernal, M.A; BARCELO, .A.R. 5-5'-Dicapsaicin, 4'-O-5-Dicapsaicin Ether, and Dehydrogenation Polymers with High Molecular Weights Are the Main Products of the Oxidation of Capsaicin by Peroxidase from Hot Pepper, **J. Agric. Food Chem**, v.44, p3085–3089, 1996.

CHEN, J.; CHEN, Q.; MA, Q. Influence of surface functionalization via chemical oxidation on the properties of carbon nanotubes. **Journal of colloid and interface science**, v. 370, n. 1, p. 32-38, 2012.

CHOUKAIRI, M. et al. Electrochemical detection of uric acid and ascorbic acid: application in sérum, **Electroanalytical Chemistry**, 758, p.117-124

CHOUKAIRI, M. et al. Electrochemical detection of uric acid and ascorbic acid: application in serum, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.758, p.117-124, 2015.

CISZEWSKI, A. et al. Poly Eugenol-modified platinum electrode for selective detection of dopamine in the presence of ascorbic Acid, **Anal. Chem.**, v.71,p.1055–1061,1999.

CIUCU, A. A. Chemically Modified Electrodes in Biosensing. **Journal of Biosens Bioelectron**, v. 5, n. 3, p. 1–10, 2014

CORRÊA, C.C. et al. Synthesis and electrochemical characterization of poly(2-methoxy-4-vinylphenol) with MWCNTs, **Electroanalysis**, v.23,p. 2562–2568, 2011.

COSTA, E. DESENVOLVIMENTO DE SENSOR NANOESTRUTURADO E BIOSSENSOR DE dsDNA PARA DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE BIOLÓGICO: NITROTIROSINA, ÁCIDO ASCÓRBICO E ÁCIDO ÚRICO, Tese de doutorado: instituto de química, universidade federal de alagoas, alagoas 2016.

D'ORAZIO, P. Biosensors in clinical chemistry, v.334, p.41-69,2003.

DEVADAS, B. et al. Electropolymerization of curcumin on glassy carbon electrode and its electrocatalytic application for the voltammetric determination of epinephrine and p-acetoaminophenol, **Colloids Surfaces B Biointerfaces**, v.116, p. 674–680, 2014.

DEY, R.S. et al. Electrochemically derived redox molecular architecture: A novel electrochemical interface for voltammetric sensing, **ACS Appl. Mater. Interfaces**, v.2, p1355–1360, 2010.

DICU, D. et al. Indophenol and O-quinone derivatives immobilized on zirconium phosphate for NADH electro-oxidation, **Anal. Lett**, v.36,p.1755–1779.

EDWARDS, G. A.; BERGREN, A. J.; PORTER, M. D. Chemically modified electrodes. In: Handbook of Electrochemistry. [s.l: s.n.]. p. 295–327, 2007.

EGUÍLAZ, M. et al. Covalent functionalization of single-walled carbon nanotubes with polytyrosine: Characterization and analytical applications for the sensitive quantification of polyphenols, **Anal. Chim. Acta**, v.909,p.51–59, 2016.

EGUÍLAZ, M. et al. Single-walled carbon nanotubes covalently functionalized with polytyrosine: A new material for the development of NADH-based biosensors, **Biosens. Bioelectron**, v.86, p. 308–314, 2016.

ERGUN, E., et al., Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid and uric acid using poly(glyoxal-bis(2-hydroxyanil)) modified glassy carbon electrode, **Sensors and Actuators B**, V.224, p.55-64, 2016.

FERIN, R. et al. Rapid, sensitive and simultaneous determination of ascorbic and uric acids in human plasma by ion-exclusion HPLC-UV, *Clinical Biochemistry*, v.46, p.665-669, 2013.

FERREIRA, R. Q.; AVACA, L. A. Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante de sucos de frutas industrializados usando o crac assay, **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 8, 2169-2173, 2008.

FORINO, M. et al. NMR-based systematic analysis of bioactive phytochemicals in red wine. First determination of xanthurenic and oleanic acids. **Food Chemistry**, v.278, p.497-501, 2018.

FRANCKE, R.; LITTLE, R.D. Redox catalysis in organic electrosynthesis: basic principles and recent developments, **Chem. Soc. Rev.** 43 (2014) 2492–2521.

GALUS, Z. **Fundamentals of Electrochemical Analysis**. New York: Ellis Horwood Press, 1976.

GOLABI, S.M.; IRANNEJAD, L. Preparation and electrochemical study of fisetin modified glassy carbon electrode. Application to the determination of NADH and ascorbic acid, **Electroanalysis**, v.17, p.985–996, 2005.

GOLABI, S.M.; ZARE, H.R.; HAMZEHLOO, M. Electrocatalytic oxidation of hydrazine at a pyrocatechol violet ž PCV / chemically modified electrode, **Microchem. J**, p.111–121, 2001.

GOLABI, S.M.; ZARE, H.R.; HAMZEHLOO, M. Electrochemistry and electrocatalytic activity of pyrocatechol violet (PCV) film on a glassy carbon electrode towards the oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide(NADH), **Electroanalysis**, v.14, p.611–618,2002.

GOODWIN, D.C.; HERTWIG, K.M. Peroxidase-catalyzed oxidation of capsaicinoids: steady-state and transient-state kinetic studies, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.417, p.18–26,2003.

GUPTA, R. GANESAN, V., Gold nanoparticles impregnated mesoporous silica spheres for simultaneous and selective determination of uric acid and ascorbic acid, **Sensors and actuators B**, V. 2019, p. 139-145, 2015.

HAN, H. S. et al. Electrochemical oxidation and determination of dopamine in the presence of AA using ferulic acid functionalized electrochemically reduced graphene. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 204, p. 289–296, 2014.

HANSEN, S.N.; TVEDEN-NYBORG, P.; LYKKESFELDT, J. Does Vitamin C Deficiency Affect Cognitive Development and Function, **Nutrients**, v.6, 2014.

HE, J.B. et al. A quercetin-modified biosensor for amperometric determination of uric acid in the presence of ascorbic acid., **Anal. Chim. Acta**, v.585, p. 337–43, 2007.

KACHOOSANGI, R. T.; WILDGOOSE, G. G.; COMPTON, R. G. Carbon nanotube-based electrochemical sensors for quantifying the “heat” of chilli peppers: the adsorptive stripping voltammetric determination of capsaicin. **The Analyst**, v. 133, n. 7, p. 888–895, 2008.

KANYONG P. et al. Polydopamine-functionalized graphene nanoplatelet smart conducting electrode for bio-sensing applications, **Arabian Journal of Chemistry**, (2018).

KANYONG, P. et al., Fabrication and electrochemical characterization of polydopamine redox polymer modified screen-printed carbon electrode for the detection of guanine, v.233 p.528–534, 2016.

KOCHIUS, S. et al. Immobilized redox mediators for electrochemical NAD(P)+ regeneration Applied. **Microbiology and Biotechnology**, v.93, p2251-2264, 2012.

KUMAR, A.S. et al. Electrochemical immobilization of ellagic acid phytochemical on MWCNT modified glassy carbon electrode surface and its efficient hydrazine electrocatalytic activity in neutral pH, **J. Electroanal. Chem**, v.782, p. 215–224,2016.

KUMAR, D.R. et al. Polydopamine electrochemically reduced graphene oxide-modified electrode for electrochemical detection of free-chlorine. **Sensors and Actuators B**, V.240, p.818–828, 2017.

LABIB, M. et al. Electrochemical Methods for the Analysis of Clinically Relevant Biomolecules, **Chemical Reviews**. 116 (2016) 9001–9090.

LAUBE, N. et al. Laser-probe-based investigation of the evolution of particles size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines, **J. of Crystal Growth**, v.233, p367-374, 2001

LEE, H. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. **Science**, v.318, p.426-430, 2007.

LI, N.B. et al. Simultaneous voltammetric measurement of ascorbic acid and dopamine on poly(caffeic acid)-modified glassy carbon electrode, **J. Solid State Electrochem**, v.12 p.693–699,2007.

LIN, K. et al. Electrochemical Determination of Ascorbic Acid Using Poly (Xanthurenic Acid) and Multi-Walled Carbon Nanotubes, **Int. J. Electrochem. Sci**, v.7, p.12752–12763, 2012.

LIN, K.C et al. Carboxy-functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes Hybridized with Poly (Xanthurenic Acid) Enhance the Electrocatalytic Oxidation of Ascorbic Acid , Dopamine , and Uric Acid, **Int. J. Electrochem. Sci**, v.10, p.2764–2775, 2015.

LIN, K.C et al. Electrochemical determination of nicotinamide adenine dinucleotide and hydrogen peroxide based on poly(xanthurenic acid), flavin adenine dinucleotide and functionalized multi-walled carbon nanotubes, **Sensors Actuators B Chem**, v.184, p.212–219, 2013.

LIU, H., et al., Plasma-assisted synthesis of carbon fibers/ZnO core-shell hybrids on carbon fiber templates for detection of ascorbic acid and uric acid, **Sensors and actuators B**, V.224, p.857-862, 2016.

LIU, L. et al. Corrosion behavior of Zr-based bulk metallic glasses in different artificial body fluids. **J. Alloy Compd**, v.425, p.268-273, 2016

LUCZAK, T. Preparation and characterization of the dopamine film electrochemically deposited on a gold template and its applications for dopamine sensing in aqueous solution, **Electrochim. Acta**. v.53, p.5725–5731, 2008

MANAIA, M. A. et al. Guaiacolic spices curcumin and capsaicin electrochemical oxidation behaviour at a glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 682, p. 83–89, 2012

MANIKANDAN, R. et al. Fabrication and characterization of poly 2-naphthol orange film modified electrode and its application to selective detection of dopamine, **J. Solid State Electrochem**, v.21,p.3567–3578, 2017.

MATOS, C.F. **Materiais nanocompósitos multifuncionais formados entre nanotubos de carbono e látices poliméricos**, **Dissertação de mestrado**, Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, 2011.

MANOKARAN, J. et al. Platinum- polydopamine @SiO₂ nanocomposite modified electrode for the electrochemical determination of quercetin, **Electrochim. Acta**. v.168,p.16–24, 2015.

MILCZAREK, G. et al. Electrocatalytic thin films based on nordihydroguaiaretic acid-functionalized polyaniline, **React. Funct. Polym.** v.68, p.1542–1548, 2008.

MILCZAREK, G. Spontaneous formation of an electroactive co-polymeric film derived from nordihydroguaiaretic acid and 4,4'-diaminobibenzyl, **Electrochem. Commun.** v.9, p.1761–1765, 2007.

MILCZAREK, G. Electrochemical conversion of poly-aniline into a redox polymer in the presence of nordihydroguaiaretic acid, **J. Electroanal. Chem**, V.626, p.143–148, 2009.

MILCZAREK, G.; Ciszewski, A. Functionalized gold nanoparticles and films stabilized by in situ formed polyeuugenol. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. **Elsevier**, v.90, p.53–57, 2012.

MOGHADDAM, A. B. et al. Electrochemical behavior of caffeic acid at single-walled carbon nanotube:graphite-based electrode. **Biophysical Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 30–37, 2007.

MOHADESI, A.; TAHER, M.A. Electrochemical behavior of Naphthol green B doped in polypyrrole film and its application for electrocatalytic oxidation of

ascorbic acid, **Sensors Actuators, B Chem**, v.123,p.733–739, 2007.

MUKDASAI, S., et al., comparison of electrochemical property between multiwalled carbon nanotubes and porous graphitized carbon monolith modified glassy carbon electrode for the simultaneous determination of ascorbic acid and uric acid, **Journal of Electroanalytical Chemistry**,731, P.53-59,2014.

MÜLAZIMOĞLU, İ. E. Electrochemical determination of copper(II) ions at naringenin-modified glassy carbon electrode: application in lake water sample. **Desalination and Water Treatment**, v. 44, n. 1–3, p. 161–167, 2012.

MÜLAZIMOĞLU, İ.E. Electrochemical determination of copper(II) ions at naringenin-modified glassy carbon electrode: application in lake water sample, **Desalin. Water Treat**, v.44, p.161–167, 2012.

NGAMCHUEA, K. et al. Planar diffusion to macro disc electrodes-what electrode size is required for the Cottrell and Randles-Sevcik equations to apply quantitatively? **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 18, n. 12, p. 3251–3257, 2014.

NAKAMURA, T. Structures of the radical (DPPH) oxidation products of dihydrocapsaicin, **Tetrahedron Letters**, v.43, p.8181–8183,2002.

OKECH, B. et al. The effects of blood feeding and exogenous supply of tryptophan on the quantities of xanthurenic acid in the salivary glands of *Anopheles stephensi* (Diptera:Culicidae). **Biochem Biophys Res Commun**, v.341, p.1113-1118, 2006.

OKUMURA, L.I. et al., Electrochemically derived redox molecular architecture: A novel electrochemical interface for voltammetric sensing, **ACS Appl. Mater. Interfaces**, v.2, p.1355–1360, 2010.

OUYANG, X. et al. Simultaneous determination of uric acid, dopamine and ascorbic acid based on poly(bromocresol green) modified glassy carbon electrode, **J. Electroanal. Chem**, v,748,p.1–7, 2015.

OZTEKIN, Y. et al. Square wave voltammetry based on determination of copper (II) ions by polylyuteolin- and polykaempferol-modified electrodes, **Talanta**, v.85, p.1020–1027,2011.

PARIENTE, F. et al. Selective immobilization of hydroquinone on carbon nanotube modified electrode via phenol electro-oxidation method and its hydrazine electro-catalysis and Escherichia coli antibacterial activity, **Electrochim. Acta**, v.62, p.207–217, 2012.

PITANGA, F. **DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ELETROANALITICA PARA A DETERMINAÇÃO DE CETOCONAZOL EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS UTILIZANDO ELETRODO DE PASTA DE CARBON MODIFICADO COM HEMINA**. Dissertação de mestrado, São Cristovão –SE.

POLETTI, J. et al. Hyperuricemia and associated factors: a cross-sectional study of Japanese-Brazilians, **Cad. Saúde Pública**, v.27, 2011.

Prieto-Simón, B.; Fàbregas, E. Comparative study of electron mediators used in the electrochemical oxidation of NADH, **Biosens. Bioelectron**, v.19, p.1131–1138, 2004.

RAJ, C.R.; CHAKRABORTY, S. Carbon nanotubes-polymer-redox mediator hybrid thin film for electrocatalytic sensing, **Biosens. Bioelectron**, v.22, p.700–706, 2006.

REN, W. et al., Simultaneous voltammetric measurement of ascorbic acid, epinephrine and uric acid at a glassy carbon electrode modified with caffeic acid, **Biosens & Bioelectron**, v.21, p.086–92, 2006.

ROHANI, T.; TAHER, M.A., Novel functionalized multiwalled carbon nanotubes-glassy carbon electrode for simultaneous determination of ascorbic acid and uric acid, **Arabian Journal of Chemistry**, 2015

SUNDARAM, S.; KUMAR, A.S. Selective immobilization of hydroquinone on carbon nanotube modified electrode via phenol electro-oxidation method and its hydrazine electro-catalysis and Escherichia coli antibacterial activity, **Electrochim. Acta**, v.62 p. 207–217, 2012.

SALIMI, A. et al. Modification of carbon ceramic electrode prepared with sol – gel technique by a thin film of chlorogenic acid : application to amperometric detection of NADH, **Talanta**, v.65, p.888–894, 2005.

SANTOS, S.R.L. **Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao Aedes aegypti, dissertação de mestrado**: Mestrado em ciências farmaceuticas, universidade federal de Sergipe, 2014

SHAHBAKHS, M. et al. Modified glassy carbon electrode with Polydopamine-multiwalled carbon nanotubes for simultaneous electrochemical determination of biocompounds in biological fluids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.16, p.66–72, 2018.

SHAHBAKHS, M.; NOROOZIFAR, M. Poly (dopamine quinone-chromium (III) complex) microspheres as new modifier for simultaneous determination of phenolic compounds. **Biosensors and Bioelectronics**, v.102, p.439–448, 2018.

SILVA L.V, **DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS BASEADOS EM NANOTUBOS DE CARBONO E POLÍMEROS DE ÁCIDO FERÚLICO E CAPSAICINA PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE 3-NITRO-L-TIROSINA, EPINEFRINA E DOPAMINA**. Tese de doutorado: instituto de química, universidade federal de alagoas, Alagoas 2017.

SILVA R.P, **Aplicações analíticas de eletrodos quimicamente modificados por espécies de interesse biológico**. Dissertação de mestrado: instituto de química, universidade de são Paulo, São Paulo

- SILVA, F. et al. Poly-xanthurenic acid modified electrodes: An amperometric sensor for the simultaneous determination of ascorbic and uric acids. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 168, p. 289–296, jun. 2012.
- SILVA, F. et al. Poly-xanthurenic acid as an efficient mediator for the electrocatalytic oxidation of NADH. **Electrochemistry Communications**, v. 12, n. 3, p. 450–454, mar. 2010.
- SILVA, L.V. et al., Amperometric sensor based on carbon nanotubes and electropolymerized vanillic acid for simultaneous determination of ascorbic acid, v.20, p.2390-2393, 2016.
- SILVA, L.V. et al. Electropolymerization of ferulic acid on multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode as a versatile platform for NADH, dopamine and epinephrine separate detection, **Microchem**, v. 133, p.460–467, 2017.
- SILVA, G.G. et al. Otimização do processo de dispersão de nanotubos de carbono em poliuretano termorrígido, **Polimeros**, v.26, 2016.
- SONG, W. et al. A selective voltammetric detection for dopamine using poly (gallic acid) film modified electrode, **Chinese Chem. Lett.**, v.21, p.349–352, 2010.
- SUNDARAM, S.; KADIR, M.R. A New Highly Conducting Carbon Black (CL-08) Modified Electrode Functionalized with Syringic Acid for Sensitive and Selective L-Cysteine Electrocatalysis at Low Potential, **Electrochim. Acta**, v.224 p.475–486, 2017.
- VASANTHA, V.S.; CHEN, S.M. Synergistic effect of a catechin-immobilized poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-modified electrode on electrocatalysis of NADH in the presence of ascorbic acid and uric acid, **Electrochim. Acta**, v.52, p.665–674, 2006.
- VULCU, A. et al. Modified gold electrodes based on thiocytosine/guanine-gold nanoparticles for uric and ascorbic acid determination, **Electrochimica Acta**, v.88, p.839-846, 2013.
- WANG, J. Analytica Electrochemistry, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2000.
- WANG, Z.; SHIRLEY, M. D.; MEIKLE, S. T.; WHITBY, R. L.; MIKHALOVSKY, S. V. The surface acidity of acid oxidised multi-walled carbon nanotubes and the influence of insitu generated fulvic acids on their stability in aqueous dispersions. **Carbon**, v. 47, n. 1, p. 73-79, 2009.
- WANG, X. et al. Electrochimica Acta A reductively treated thin layer MoS₂ nanosheet-poly (xanthurenic acid) composite with dramatically enhanced electrochemical performance and extended sensing applications, **Electrochim. Acta**, v.190, p.1025–1031, 2016.
- WANG, Y.; BI, C. Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid,

dopamine and uric acid using poly (tyrosine)/functionalized multi-walled carbon nanotubes composite film modified electrode, **J. Mol. Liq**, v.177, p.26–31,2013.

XU, H. et al. Amperometric L -cysteine Sensor Using a Gold Electrode Modified with Thiolated Catechol, **Electroanalysis**, v;29 p.1–8, 2017.

YANG, T. et al. Highly sensitive and synergistic detection of guanine and adenine based on poly(xanthurenic acid)-reduced graphene oxide interface, **ACS Appl. Mater. Interfaces**, v.6, p.11032–11037, 2014.

YANG, T. et al. One-step electropolymerization of xanthurenic acid-graphene film prepared by a pulse potentiostatic method for simultaneous detection of guanine and adenine, **Polym. Chem**, v.5, p.2214–2218, 2014.

YANG, T. et al. Enhanced electropolymerization of poly(xanthurenic acid)–MoS₂ film for specific electrocatalytic detection of guanine and adenine, **J. Mater. Chem. B**, v.3,p. 4884–4891, 2015.

Yin, X.B. et al. Polydopamine-based permanent coating capillary electrochromatography for auxin determination. Journal of Chromatography, v.1212,p.130-136, 2008.

ZANARDI, C. et al. Development of an Electrochemical Sensor for NADH Determination Based on a Caffeic Acid Redox Mediator Supported on Carbon Black, **Chemosensors**, v.3, p.118–128, 2015.

ZARE, H.R. et al. Electrocatalytic simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid and L-Cysteine in real samples using quercetin silver nanoparticles-graphene nanosheets modified glassy carbon electrode, **Appl. Surf. Sci**, v.375, p.169–178, 2016.

Zare, H.R. et al., Application of L-DOPA modified carbon nanotubes as a bifunctional electrocatalyst for simultaneous determination of ascorbic acid, adrenaline, acetaminophen and tyrosine, v.90,p.510–518, 2016.

ZARE, H.R.; GOLABI, S.M. Caffeic acid modified glassy carbon electrode for electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), **J. Solid State Electrochem**, v.4, p.87–94, 2000.

ZARE, H.R.; GOLABI, S.M. Electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) at a chlorogenic acid modified glassy carbon electrode, **J. Electroanal. Chem**, v.464, p.4–23, 1999.

ZEN, J.M. et al. Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry, **Electroanalysis**. 15 (2003) 1073–1087.

ZHANG, H. et al. Electrochemical behavior of modified electrodes with carbon nanotubes and nanofibers; application to the sensitive measurement of uric acid in the presence of ascorbic acid, **Measurement**, v.59, p.177-183,2015.

ZHANG, W.; SU, Y. Development of DNA monitoring platform based on

poly(xanthurenic acid) functionalized FePt/reduced graphene oxide, **J. Solid State Electrochem**, v.19, p.1285–1291, 2015.

ZHANG, W.; DAI, Z.; LIU, X.; YANG, J. High-performance electrochemical sensing of circulating tumor DNA in peripheral blood based on poly-xanthurenic acid functionalized MoS₂nanosheets, **Biosens. Bioelectron**, v.105,p.116–120, 2018.

ZHENG, L.; SONG, J. Curcumin multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode and its electrocatalytic activity towards oxidation of hydrazine, **Sensors Actuators B Chem**, v.135, p.650–655, 2009.