



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

Monyk Melo Costa

Manipulação de superfície de sensor eletroquímico para detecção de amins biogênicas e neurotransmissores utilizando nanopartículas, nanotubos de carbono e nanocompósitos

Maceió – AL, 2022

Monyk Melo Costa

Manipulação de superfície de sensor eletroquímico para detecção de amins biogênicas e neurotransmissores utilizando nanopartículas, nanotubos de carbono e nanocompósitos

Trabalho apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia como requisito para obtenção da qualificação de doutorado pela Universidade Federal de Alagoas.

Orientação: Profa. Dra. Fabiane Caxico de Abreu Galdino

Maceió – AL, 2022

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Cláudio César ~~Temóteo Galvino~~ – CRB4/1459

C837m Costa, Monik Melo.

Manipulação de superfície de sensor eletroquímico para detecção de amins biogênicas e neurotransmissores utilizando nanopartículas, nanotubos de carbono e nanocompósitos / Monik Melo Costa. – 2022.

93 f. : il.

Orientadora: Fabiane ~~Çaxiço~~ de Abreu Galdino.

Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.

Bibliografia: f. 77-93.

1. Amins biogênicas. 2. Dopamina. 3. Eletroanálise. I. Título.

CDU: 541.13

RESUMO

Este trabalho descreve o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados, construídos a partir de materiais nanoestruturados para detecção de aminas biogênicas e neurotransmissores. Foi desenvolvido três tipos de eletrodos a fim de avaliar qual deles apresenta melhor sensibilidade e especificidade para a detecção de aminas biogênicas (cadaverina, espermidina, histamina, histidina e putrescina). O primeiro sensor foi preparado a partir da modificação de um eletrodo carbono vítreo e nanocompósitos de cobre, se mostrando sensível para a detecção da dopamina. O segundo eletrodo proposto foi construído a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo e HAuCl_4 , mostrando-se sensível para dopamina, com sinal específico e pico catódico crescente entre 0,4 e 0,6 V, apresentando um $R= 0,96$ e sensível para espermidina, com sinal específico e pico catódico crescente entre 0,6 e 0,8 V. O terceiro eletrodo proposto foi construído a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com nanocompósitos de ZnO dopado com Cu/CuO. O eletrodo modificado NTC+ZnO:4Cu, apresentando linearidade de 50 a 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 9,31 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O eletrodo modificado NTC+ZnO:12Cu, apresentando linearidade de 30 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 12,58 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O eletrodo modificado NTC+CuO, apresentando linearidade de 20 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 14,08 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O eletrodo modificado NTC+ZnO, apresentando linearidade de 20 a 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 7,58 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O eletrodo modificado apenas com NTC, apresentando linearidade de 20 a 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 13,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Com o aumento da concentração de nanocompósitos de CuO observou-se a diminuição da sensibilidade do eletrodo. Quando comparado com todos, o eletrodo NTC+ZnO:4Cu se mostrou eficiente para detecção da dopamina, com curvas analíticas apresentando boa linearidade e baixos limites de detecção e quantificação.

Palavras-chave: Aminas biogênicas, Dopamina, Eletroanálise.

ABSTRACT

This work describes the development of chemically modified electrodes, built from nanostructured materials for the detection of biogenic amines and neurotransmitters. Three types of electrodes were developed in order to assess which one has the best sensitivity and specificity for the detection of biogenic amines (cadaverine, spermidine, histamine, histidine and putrescine). The first sensor was prepared from the modification of a glassy carbon electrode and copper nanocomposites, proving to be sensitive for the detection of dopamine. The second proposed electrode was constructed from the surface modification of a glassy carbon electrode and HAuCl_4 , showing to be sensitive to dopamine, with specific signal and increasing cathodic peak between 0.4 and 0.6 V, presenting an $R = 0.96$ and sensitive for spermidine, with specific signal and cathodic peak increasing between 0.6 and 0.8 V. The third proposed electrode was constructed from the modification of the surface of a glassy carbon electrode with Cu/doped ZnO nanocomposites. CuO The modified NTC+ZnO:4Cu electrode, presenting linearity from 50 to 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and LD of 9.31 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The modified NTC+ZnO:12Cu electrode, presenting linearity from 30 to 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and LD of 12.58 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The modified NTC+CuO electrode, presenting linearity from 20 to 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and LD of 14.08 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The modified NTC+ZnO electrode, presenting linearity from 20 to 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and LD of 7.58 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The electrode was modified only with NTC, showing linearity from 20 to 90 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and LD of 13.50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. With increasing concentration of CuO nanocomposites, a decrease in electrode sensitivity was observed. When compared to all, the NTC+ZnO:4Cu electrode proved to be efficient for the detection of dopamine, with analytical curves showing good linearity and low limits of detection and quantification.

Keyword: Biogenic amines, Dopamine, Electroanalysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formação de uma amina biogénica por descarboxilação de um aminoácido.	17
Figura 2. Formação da His através da descarboxilação da histidina.	18
Figura 3. Formação da Cad através da descarboxilação da lisina.	20
Figura 4. Formação da Put através da descarboxilação da ornitina.	20
Figura 5. Formação da Spd e da Spm a partir da Put	21
Figura 6: Fórmula estrutural da Dopamina.	25
Figura 7: Mecanismo de transformação das catecolaminas no organismo.	26
Figura 8: Equação da oxidação da Dopamina.	28
Figura 9: Voltamograma cíclico para um sistema reversível de $K_3Fe(CN)_6$ 6 mmol L^{-1} e KNO_3 1 mol L^{-1} , com destaque para os parâmetros mais importantes.	32
Figura 10: (a) Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em voltametria de pulso diferencial, a corrente é amostrada em 1 e 2 e a diferença entre elas é que é registrada: $\Delta I = I_{(2)} - I_{(1)}$.(b) Voltamograma de VPD.	34
Figura 11 : Nanotubos de Carbono – (A) parede única e (B) parede múltipla.	38
Figura 12: Sistema com os três eletrodos para análises eletroquímicas.	43
Figura 13: Preparação esquemática do eletrodo modificado	46
Figura 13: Preparação esquemática do eletrodo modificado	50
Figura 15: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 μM $CuSO_4$ e 0.06 M H_2SO_4 + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3; (117 μM); adição Scan : 100 $mV s^{-1}$ na faixa de -0,8 a 1,0 V. (A) dopamina	51
Figura 16: quelatos de Cu(II) e dopamina. Adaptada de Gehad e colaboradores (2011)	53
Figura 17: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 μM $CuSO_4$ e 0.06 M H_2SO_4 + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM);	53

adição 3; (117 uM); adição Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,8 a 1,0 V. (B) putrecina

Figura 18: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 µM CuSO₄ e 0.06 M H₂SO₄ + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3; (117 uM); adição Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,8 a 1,0 V. (C) cadaverina

Figura 19: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 µM CuSO₄ e 0.06 M H₂SO₄ + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3; (117 uM); adição Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,8 a 1,0 V. (D) espermidina.

Figura 20: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 µM CuSO₄ e 0.06 M H₂SO₄ + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3; (117 uM); adição Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,8 a 1,0 V. (E) histamina.

Figura 21: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 µM CuSO₄ e 0.06 M H₂SO₄ + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3; (117 uM); adição Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,8 a 1,0 V. (F)

Figura 22: Voltamogramas cíclicos para a modificação do eletrodo de carbono em solução de CuSO₄ 10,7 µM + AuCl₂ 0,01 µM

Figura 23: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 µM CuSO₄ e AuCl₂ 0,01 µM + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3 (117 uM); adição 4 (156 uM); adição 5 (193 uM); Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,6 a 0,8 V. DOPAMINA.

Figura 24: Curvas analíticas da adição de dopamina na faixa de -0,6 a 0,8 V. 59

Figura 25: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 µM CuSO₄ e AuCl₂ 0,01 µM + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 µM); adição 2 (78 µM); adição 3 (117 µM); adição 4 (156 µM); adição 5 (193 µM); Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,6 a 0,8 V. (B) PUTRECINA

Figura 26: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 µM CuSO₄ e AuCl₂ 0,01 µM + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3 (117 uM); adição 4 (156 uM); adição 5 (193 uM); Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,6 a 0,8 V. ⁹ (C) CADAVERINA

Figura 27: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 µM CuSO₄ e AuCl₂ 0,01 µM + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3 (117 uM); adição 4 (156 uM); adição 5 (193 uM); Scan : 100

mV s⁻¹ na faixa de -0,6 a 0,8 V. (D) HISTAMINA.

Figura 28: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 µM CuSO₄ e AuCl₂ 0,01 µM + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3 (117 uM); adição 4 (156 uM); adição 5 (193 uM); Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,6 a 0,8 V. (E) HISTIDINA. 63

Figura 29: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 µM CuSO₄ e AuCl₂ 0,01 µM + 39 µM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3 (117 uM); adição 4 (156 uM); adição 5 (193 uM); Scan : 100 mV s⁻¹ na faixa de -0,6 a 0,8 V. (F) ESPERMIDINA. 64

Figura 30: Voltamogramas de pulso diferencial ECVNTC/ZnO:12CuO juntamente com adições de concentrações de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3 (117 uM); adição 4 (156 uM); adição 5 (193 uM); na faixa de 0,0 a 1,2 V. 65

Figura 31: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC mais adição de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentração das adições: 10uM. na faixa de 0,0 a 1,2 V. 67

Figura 32: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/ZnO:Cu4 mais adição de dopamina 68

Figura 33: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/ZnO:12CuO mais adição de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentração das adições: 10uM. na faixa de 0,0 a 1,2 V. 69

Figura 34: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/CuO mais adição de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentração das adições: 10uM. na faixa de 0,0 a 1,2 V. 70

Figura 35: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/ZnO mais adição de dopamina. 71

Figura 36: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/nanoZnO para todas as modificações analisando apenas uma concentração da dopamina; Concentração das adições: 10uM. na faixa de 0,0 a 1,2 V. 72

Figura 37: Representação esquemática dos materiais usados como modificadores na construção do sensor eletroquímico e proposta de funcionamento baseada na oxidação da dopamina catalisada pelos nanotubos de carbono e os óxidos. 73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Níveis de His presentes no pescado e as suas consequências na saúde humana. Adaptado de Cardozo et al., 2013.	23
Tabela 2 –	Faixa linear de concentração para todos os eletrodos modificados. Todas as curvas foram feitas com o mínimo de cinco pontos.	66
Tabela 3 –	Comparação de diferentes sensores eletroquímicos para a determinação de dopamina.	67

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

I	Corrente
M	Massa molar
mol/L	mol por litros
mV/s	millivolts por segundo
n	número de elétrons
P.A.	Para análise
pH	Potencial hidrogeniônico
T	temperatura
V	Volts
VC	Voltametria Cíclica
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
VPN	Voltametria de Pulso Normal
EFSA	Autoridade Europeia de Segurança Alimentar
	HPLC cromatografia líquida de alta eficiência
FLR	deteção por fluorescência
UV	ultravioleta
ABs	Aminas Biogênicas
His	histamina
EU	União Europeia

EFSA	Autoridade Europeia de Segurança Alimentar
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência
Put	Putrescina
Cad	Cadaverina
Spd	Espermidina
Spm	Espermina
Tir	Tiramina
SNC	sistema nervoso central
CAC	Codex Alimentarius Commission
IQ	índice de qualidade
DAQ	diamina oxidases
MAO	monoamina oxidases
AO	amino-oxidases
VC	voltametria cíclica
Epc	potenciais de pico catódico
Epa	potenciais de pico anódico
Ipc	correntes de pico catódico
Ipa	correntes de pico anódico
E ½	potenciais de meia onda
Ep2	pico a meia altura de onda
CPE	Eletrodo de pasta de carbono

NT nanotubos de carbono

DA Dopamina

NTC nanotubo de carbono

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Espécies analíticas estudadas: Aminas biogênicas	18
1.1.2 Importância da presença das aminas biogênicas nos alimentos.....	23
1.1.3 Métodos para detecção e quantificação de aminas biogênicas	25
1.2 Neurotransmissor: dopamina	26
1.2.1 Síntese da Dopamina	27
1.2.2 Técnicas analíticas utilizadas para controle de qualidade de fármacos	29
1.2.3 Determinação analítica da dopamina	30
1.3 Métodos eletroquímicos	33
1.3.1 Voltametria cíclica	33
1.3.2 Voltametria de pulso diferencial	35
1.4 Eletrodos de carbono	36
1.4.1 Eletrodo de carbono vítreo quimicamente modificados	37
1.5 Nanomateriais	41
2. OBJETIVOS	43
2.1 Geral.....	43
2.2 Específicos	43
3. EXPERIMENTAL.....	44
3.1. Materiais e métodos	44
3.1.1 Reagentes e solventes	44
3.1.2 Preparação de soluções.....	44
3.2 Estudos eletroquímicos	45
3.2.1 Limpeza do eletrodo de carbono vítreo	46
3.2.2 Preparo do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocobre (ECV/nanoCu)	46
3.2.2.1 Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial	47
3.2.3.1 Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial	47
3.2.4 Preparação do eletrodo de carbono vitreo modificado com nanotubos de carbono	47
3.3 Tratamento dos dados voltamétricos	49

3.4 Parâmetros de desempenho analítico	49
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1. Estudo Eletroquímico das Aminas biogênicas.....	51
4.1.1 Voltametria cíclica do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocobre.....	51
4.1.2. Voltametria cíclica do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocobre/nanouro	59
4.3. Estudo Eletroquímico das Aminas biogênicas e Dopamina	67
4.3.1 Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e nanocompósitos (ZnO:4Cu e ZnO:12Cu) e as nanopartículas controle (CuO e ZnO) ..	68
4.3.2 Eletrodo: Nanotubos de carbono (ECV-NTC).....	68
4.3.3 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanocompósitos (ZnO:4Cu)	69
4.3.4 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanocompósitos (ZnO:12Cu)	70
4.3.5 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanopartículas de CuO	71
4.3.6 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanopartículas de ZnO.....	72
5. CONCLUSÃO.....	77
REFERÊNCIAS.....	78

1. INTRODUÇÃO

As perdas econômicas na indústria alimentícia, causadas pela deterioração e/ou contaminação de alimentos, o risco da ocorrência de doenças e até mesmo de morte pelo seu consumo, leva a relevância voltada a segurança alimentar nos mais diversos meios, por ser considerada uma questão de saúde pública. (GHASEMIVARNAMKHAISTI et al., 2018; SWINNEY; BORNHOP, 2000).

A deterioração dos alimentos se dá devido a presença de elevados níveis de aminas biogênicas (ABs) em matrizes alimentares, que resultam da descarboxilação dos aminoácidos, por ação microbiana, isso leva a perda de suas características organolépticas, sendo um obstáculo a comercialização desses alimentos (ANTOINE et al., 2001 ANDRADE et al., 2014).

Assim, para garantir a qualidade e segurança alimentar, é necessário controlar e monitorizar todas as fases de processo a que o alimento será submetido, minimizando assim os efeitos prejudiciais para a saúde humana (VISCIANO et al., 2012).

Da mesma forma, o deficit de dopamina em fluidos fisiológicos levam ao Mal de Parkinson, devido a morte dos neurônios dopaminicos. Por isso, atribui grande importância ao desenvolvimento de um método analítico eficiente e econômico para a determinação sensível de dopamina.

A dopamina é um neurotransmissor crítico no corpo humano, que desempenha um papel importante na regulação funcional dos sistemas cardiovascular, hormonal e nervoso central (DALLEY et al., 2012). Para indivíduos saudáveis, a concentração de dopamina geralmente oscila entre 0,01 e 1,0 μM (SIVASUBRAMANIAN et al., 2016).

Os desafios recorrentes enfrentados na medição de analitos biológicos em condições fisiológicas levaram a mais pesquisas para a fabricação de sensores eletroquímicos que sejam simples, rápidos, portáteis, de baixo custo, altamente sensíveis e seletivos (ZHANG et al.,2016 ZHANG et al.,2016). Alguns dos desafios que precisam ser superados incluem: a sensibilidade e seletividade dos eletrodos para detecção eletroquímica.

A utilização de nanocompósitos de ZnO dopado com cobre ocorre devido às notáveis propriedades que se pode alcançar com os materiais quando o de tamanho das partículas atinge a escala nanométrica.

Dessa a construção de novos sensores é devido à alta demanda do mercado mundial e ao interesse humano em ter um dispositivo que possa verificar a concentração de espécies em diferentes amostras, de forma simples e rápida.

1.1 Espécies analíticas estudadas: Aminas biogênicas

As aminas biogênicas (ABs) são naturalmente produzidas pela ação de enzimas na descarboxilação de aminoácidos naturais. As ABs devem a sua denominação à respectiva origem biológica (CARDOZO et al., 2013). A formação de ABs é usada como marcador de degradação sendo a histamina (HIS), putrescina (PUT), cadaverina (CAD), triptamina (TRI) e a feniletilamina (FEN), as mais frequentemente identificadas em alimentos. Assim sua determinação é importante no controle de qualidade desses produtos (Erim, 2013; EFSA, 2011; FAO/WHO, 2013).

As ABs são compostos orgânicos não voláteis de baixo peso molecular, com caráter básico, que possuem átomos de nitrogênio na sua constituição. São originadas a partir do metabolismo de aminoácidos, por microrganismos, plantas e animais, sendo sintetizadas em pequenas quantidades e possuindo funções fisiológicas essenciais (FERREIRA et al., 2006 ESATBEYOGLU et al., 2016. LUO et al., 2014. AFLAKI et al., 2014).

Podem ser classificadas de acordo com a sua estrutura química, o seu número de grupos amina e as suas funções fisiológicas. Quanto à sua estrutura molecular, são designadas de alifáticas, heterocíclicas ou aromáticas. A putrescina (Put), a cadaverina (Cad), a espermidina (Spd) e a espermina (Spm) são classificadas como alifáticas. A histamina (His) e a triptamina (Tri) são heterocíclicas, enquanto a tiramina (Tir) é uma amina aromática (ESATBEYOGLU et al., 2016; ÖNAL et al., 2007; AFLAKI et al., 2014; MOHAMMED et al., 2016).

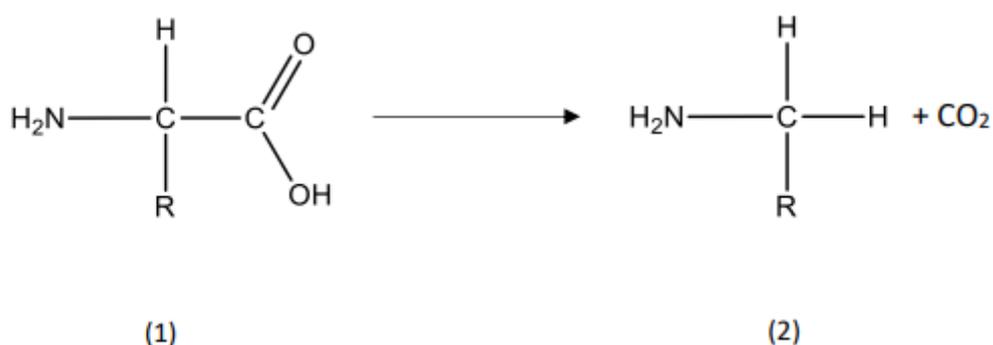
Quando classificadas relacionando a função fisiológica, são classificadas de aminas vasoativas por atuarem no sistema vascular (Tir e Tri) e de aminas psicoativas por exercerem a sua ação no sistema nervoso (His, Put e Cad) (MOHAMMED et al., 2016. CARDOZO et al., 2013). As ABs são encontradas em elevadas quantidades, em vários alimentos deteriorados e fermentados e são formadas por descarboxilação dos aminoácidos, por ação bacteriana ou levuriana (LUO et al., 2014. AFLAKI et al., 2014).

Na atividade metabólica a formação e a degradação das ABs ocorre através da descarboxilação dos aminoácidos livres ou da aminação e transaminação de cetonas e aldeídos (ALBERTO et al., 2004).

Com a remoção do grupo carboxílico (Figura 1), a descarboxilação ocorre. É originada endogenamente por enzimas, ou exogenamente, por microrganismos, através da libertação de enzimas do tipo descarboxilase (AFLAKI et al., 2014; CARDOZO, et al., 2013).

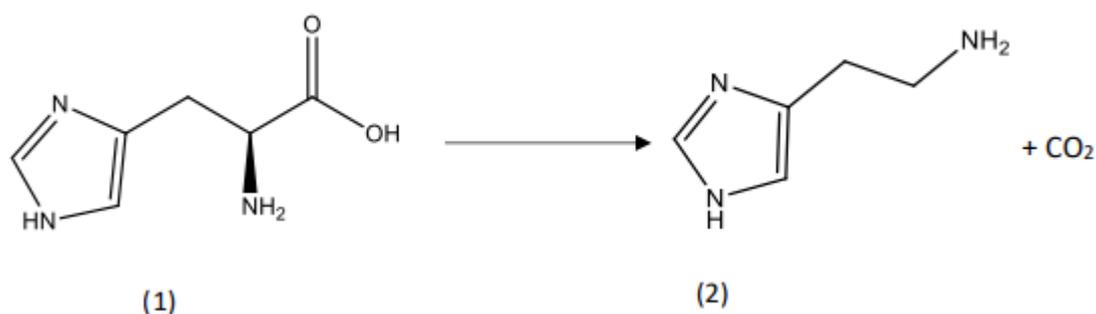
Os produtos advindos da descarboxilação da histidina, tirosina, ornitina e lisina são respetivamente, His, Tir, Put e Cad (LOIZZO et al., 2013). A descarboxilação é catalisada por enzimas que possuem como cofator o fosfato piridoxal (ESATBEYOGLU et al., 2016).

Figura 1. Formação de uma amina biogénica (2) por descarboxilação de um aminoácido (1).



A Histamina ou 4-(2-aminoetil)-1H-imidzole tem sua produção diretamente ligada a temperatura dos alimentos, dos níveis da histidina livre e ainda da presença de descarboxilases (ANTOINE et al., 2001). Encontra-se naturalmente presente no nosso organismo (LUO et al., 2014; HUNGERFORD et al., 2010). Esta amina é resultante da descarboxilação da histidina, seu mecanismo está representado na Figura 2. Possui a fórmula molecular C₅H₉N₃ e uma massa molar de 111,15 g/mol. Considerada como uma substância endógena, ela tem funções a nível da neuromodulação, da resposta imunológica e do controle da secreção ácida gástrica (FAO et al., 2012; AL BULUSHI et al., 2009; CARDOZO, et al., 2013).

Figura 2. Formação da His (2) através da descarboxilação da histidina (1).



Através da descarboxilação bacteriana, um aminoácido livre é facilmente convertido em His quando as condições de manuseamento e armazenamento são inadequadas, proporcionando a multiplicação de microrganismos que favoreçam a sua atividade (VISCIANO et al., 2012). A produção da His nos músculos das espécies ocorre após a morte, sendo que a sua presença é proporcional aos níveis de histidina presentes, uma vez que esta encontra-se na sua forma livre nos tecidos musculares (HUNGERFORD et al., 2010; ALTIERI et al., 2016).

O peixe fresco não contém His, visto que esta surge apenas no início da deterioração do peixe, ou então quando sujeito a elevadas temperaturas que favorecem a sua acumulação (YESUDHASON et al., 2013). A deterioração alimentar por ação bacteriana provoca reações alérgicas e tóxicas, sendo que, alimentos ricos em His podem levar à intolerância e originar intoxicações alimentares (LUO et al., 2014; LOIZZO et al., 2013 FAO et al., 2012).

A formação de histamina está diretamente ligada à temperatura de armazenamento do peixe. As temperaturas elevadas (> 30°C) originam o aumento dos níveis de His, devido à presença de bactérias mesófilas, como é o caso da *Morganella morganii* e do *Proteus vulgaris*, que produzem His e que ao 25 °C atingem o seu máximo de produção. Baixas temperaturas conduzem à produção de níveis reduzidos de His, devido à presença de bactérias decompositoras, como a *Pseudomonas putida*, que consegue decompor a His a baixas temperaturas (AL BULUSHI I et al., 2009).

A deterioração das propriedades organolépticas dos alimentos não está relacionada com a produção de His, pois o atum conservado a temperaturas entre -

20 °C foi rejeitado com base nas suas características organolépticas, antes dos níveis de His presentes no peixe atingirem o nível de segurança (50 mg/kg) permitido pela FDA (AL BULUSHI I et al., 2009).

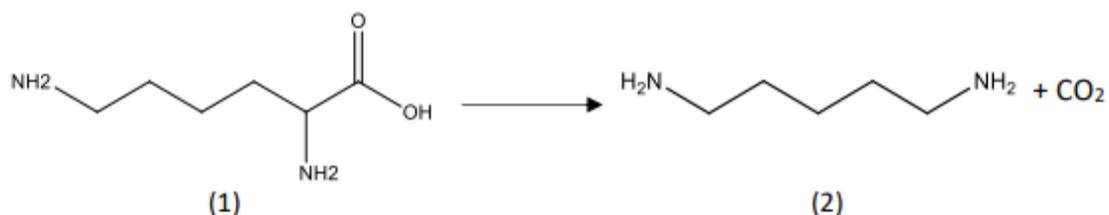
A ingestão de peixe que contenha valores de His superiores a 500 mg/kg produz intoxicação, entre dez a sessenta minutos após o consumo de peixe contaminado, sendo por vezes os sintomas confundidos com uma alergia alimentar ou com uma infeção por salmonela (CARDOZO, et al., 2013; MUSCARELLA et al., 2013; HUNGERFORD et al.,2010; YESUDHASON et al., 2013).

A intoxicação alimentar associada a His recebe o nome de intoxicação escombróide. É um tipo de intoxicação alimentar com sintomas e tratamento similar ao associado às alergias causadas por mariscos (HUNGERFORD et al.,2010; ALTIERI ET AL., 2016), esta resulta da ingestão de espécies como, sardinha, cavala, atum, anchova e arenque, pois são espécies que possuem teores elevados de histidina (HUNGERFORD et al.,2010; ALTIERI et al., 2016).

Sintomas relacionados com o sistema nervoso central (SNC), como a ansiedade, são menos frequentes. O tratamento para a intoxicação escombróide é através da administração de anti-histamínicos (HUNGERFORD et al.,2010). A contribuição de outras aminas como Cad, Put e Tir na intoxicação escombróide é desconhecido (FAO et al., 2012).

A Cad se origina através da descarboxilação (Figura 3) por bactérias ou fermentação, devido às, mas condições de manuseamento, tem como precursor o aminoácido lisina (FERREIRA et al., 2006; HUNGERFORD et al.,2010; FAO et al., 2012). A Cad ou 1,5-diaminopentano possui a fórmula molecular de $C_5H_{14}N_2$ e massa molecular 102,18 g/mol (MOHAMMED et al., 2016).

Figura 3. Formação da Cad (2) através da descarboxilação da lisina (1).

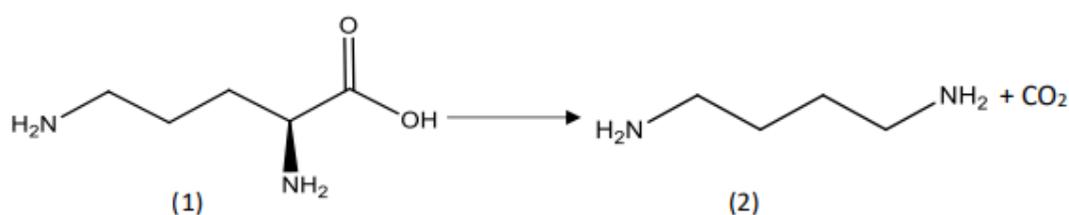


A Cad e a Put estão relacionadas com a produção de fortes e repulsivos odores cadavéricos que indicam a existência de contaminação bacteriana. Porém, para alguns animais como ratos e insetos, estas diaminas têm um efeito atrativo, permitindo assim a colonização do cadáver (HUSSAIN et al., 2013). Em geral os níveis de Cad são mais elevados do que os de His, a cinética de formação é mais rápida pelo que surge mais cedo no processo de deterioração e tem a capacidade de potenciar os níveis da His (HUSSAIN et al., 2013; HUNGERFORD et al., 2010; FAO et al., 2012; ESATBEYOGLU et al., 2016)

Diferente da His e a Tir, a formação da Cad não é inibida pelas baixas temperaturas, verificando-se um aumento acentuado em comparação as duas, que não apresentam aumentos significativos a baixas temperaturas (AL BULUSHI I et al., 2009).

A Put resulta da descarboxilação do aminoácido ornitina (Figura 4) e é utilizada como indicador da deterioração, estando associada ao aparecimento de odores rançosos e pútridos. A Put ou 1,4-diaminobutano possui fórmula molecular $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2$ (88,15 g/mol), (AL BULUSHI I et al., 2009; ÖNAL et al., 2007; FAO et al., 2012; ALTIERI et al., 2016; SENTELLAS et al., 2016; NATIONAL et al., 2018)

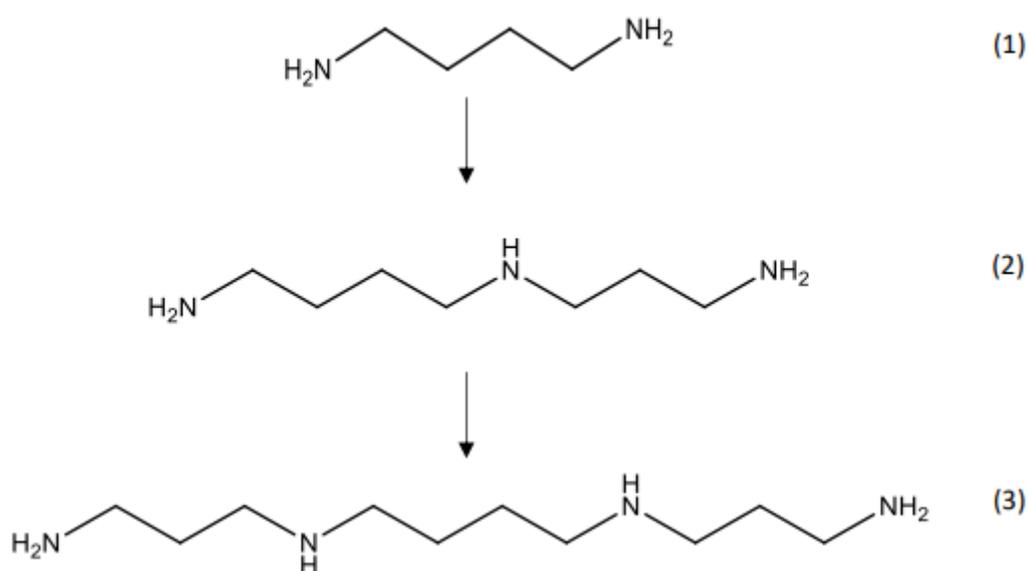
Figura 4. Formação da Put (2) através da descarboxilação da ornitina (1).



A Put é o precursor das poliaminas Spd e Spm (Figura 5) (ÖNAL et al., 2007; YAMAMOTO et al., 2018). Estas poliaminas são essenciais no crescimento, diferenciação e apoptose celular e ainda apresentam funções anti-inflamatórias e antioxidantes (ZHANG et al., 2017). Ao longo do processo de envelhecimento verifica-se um decréscimo dos níveis intracelulares da Spd em vários órgãos, concretamente, nos ovários, nos pulmões, no fígado, nos músculos, entre outros. Porém, em pacientes com doença de Alzheimer os níveis encontram-se elevados (ZHANG et al., 2017).

A Spm possui a fórmula molecular $C_{10}H_{26}N_4$ e uma massa molecular de 202,34 g/mol, enquanto a Sdp possui a fórmula molecular $C_7H_{19}N_3$ e massa molecular de 145,25 g/mol (ZHANG et al., 2017)

Figura 5. Formação da Spd (2) e da Spm (3) a partir da Put (1).



1.1.2 Importância da presença das amins biogênicas nos alimentos

Os efeitos tóxicos despontaram a necessidade de um maior controle das quantidade de ABs presentes nos alimentos (ESATBEYOGLU et al., 2016). A determinação quantitativa não só é importante devido à toxicidade originada pelas

ABs, mas também pelo fato de poderem ser utilizadas como indicadores da qualidade alimentar, pois as suas concentrações estão relacionadas com as condições de higiene durante o processamento das matérias-primas, fornecendo informação útil sobre as condições a que os alimentos estiveram expostos, indicadora de serem ou não frescos (ESATBEYOGLU et al., 2016; AL BULUSHI I et al., 2009).

Para garantir a segurança alimentar a FDA recomenda que os níveis de His presentes no peixe estejam de acordo com a Tabela 1 (CARDOZO, et al., 2013; EFSA et al., 2011).

Tabela 1. Níveis de His presentes no pescado e as suas consequências na saúde humana. Adaptado de Cardozo et al., 2013.

Níveis de His (mg/kg)	Níveis de segurança no consumo humano
<50	Seguro
50-200	Possível tóxico
200-1000	Provavelmente tóxico
>1000	Tóxico e impróprio

De modo a garantir a segurança dos consumidores foram estabelecidos limites máximos para a concentração de ABs no peixe e em produtos de pesca (TAO et al., 2011).

Os níveis de Tir presentes nos alimentos são considerados toleráveis até 100 mg/kg (BILGIN et al., 2015; BYUN et al., 2012). Níveis totais de ABs presentes nos alimentos, superiores a 1000 mg/kg, constituem um perigo para a saúde humana (BILGIN et al., 2015; BYUN et al., 2012). O Codex Alimentarius Commission (CAC) estipulou que, nos escombrídeos, os níveis de His não podem ultrapassar os 200 mg/kg (EFSA et al., 2011; BIJI et al., 2016; WHO et al., 2018)

1.1.3 Métodos para detecção e quantificação de aminas biogênicas

A quantificação de aminas biogênicas é uma operação analítica com acentuado grau de dificuldade devido fundamentalmente a alguns fatores como o caráter polar dos compostos que resulta numa maior solubilidade em água do que na maioria dos solventes orgânicos; a ausência de propriedades intrínsecas dos compostos que possibilitem a sua detecção diretamente por métodos físico-químicos de aplicação corrente, como é o caso de métodos espectrofotométricos, fluorimétricos ou eletroquímicos; à extrema complexidade da matriz; às baixas concentrações em que estes compostos se encontram nas amostras; e à potencial presença de compostos interferentes (ÖNAL, 2007).

Um grande número de métodos de separação tem sido descrito para determinação de aminas biogênicas, como a cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e eletroforese capilar (VITALI et al., 2013).

Para a quantificação e identificação das ABs nas matrizes alimentares recorre-se usualmente às técnicas cromatográficas (FERREIRA et al., 2006).

A Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) recomenda a utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com derivatização pré ou pós-coluna e com detecção por fluorescência (FLR), ultravioleta (UV) ou eletroquímica (ESATBEYOGLU et al., 2016).

A utilização de agentes derivantizantes são frequentes, devido a capacidade de formar derivados que potencializem o sinal analítico e desta forma possibilitem a detecção de ABs mesmo em quantidades vestigiais. Devido à fraca sensibilidade que as ABs apresentam na gama UV-Vis é necessário a realização de uma etapa de derivatização. Para isso são usados diversos agentes químicos, o DnsCl, o cloreto de benzoílo (BzCl), o O-ftalaldeído (OPA), a fluoresceína, entre outros (LÁZARO et al., 2013)

Uma das vantagens da utilização do DnsCl é a possibilidade dele se ligar a aminas primárias, aminas secundárias e aminas terciárias, permanecendo os derivados estáveis durante o tempo suficiente para a análise (AFLAKI F, 2014)

1.2 Neurotransmissor: dopamina

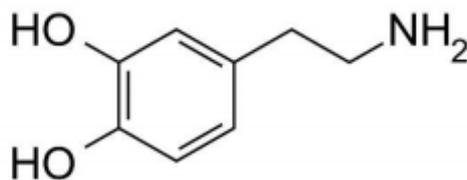
A dopamina (DA) ou Cloridrato de Dopamina nomeada quimicamente por 3,4 dihidroxifeniletilamina, com massa molecular de 189,65 e fórmula estrutural apresentada na (Figura 6), é uma catecolamina (apresenta os grupos catecol e amina) sensível a álcalis, sais de ferro e agentes antioxidantes, é também um neurotransmissor central, precursor metabólico da noradrenalina e da adrenalina, que atua em receptores específicos no organismo, presentes no sistema nervoso central, nos vasos mesentéricos, renais e nas coronárias (BRASIL, 2010).

Destaca-se também na terapia de pacientes com baixos níveis de dopamina como os esquizofrênicos e parkinsonianos (STANDAER, 2009).

No Brasil o medicamento dopamina é comercializado em forma de ampolas de 10 ml contendo 5 mg/mL de cloridrato de dopamina (LUPETTI, 2003) e os excipientes cloreto de sódio, bissulfito de sódio (agente antioxidante) e água purificada . Outra característica do medicamento é a sua apresentação incolor ou levemente amarelada, sendo que outras variações de cores não são permitidas e podem indicar fotólise e oxidação do fármaco (BRASIL, 2010).

A associação da DA com diversos problemas do sistema neurológico evidencia a grande importância do desenvolvimento de novos métodos analíticos para sua detecção, em baixas concentrações, nos seres humanos. Dessa forma, diversos métodos são descritos em literatura para a determinação de DA em diferentes fluídos corporais, utilizando diferentes sistemas de detecção, tais como os métodos: amperométricos (LI et al., 2006), detecção por fluorescência (SHOU et al., 2006), espectrofotométricos (MADRAKIAN et al., 2006) cromatográficos (LI et al., 2009), etc. Dentre estes, os métodos eletroquímicos apresentam-se como uma das técnicas mais favoráveis para a determinação de DA por causa de seu baixo custo, alta sensibilidade e de fácil operação.

Figura 6: Fórmula estrutural da Dopamina.

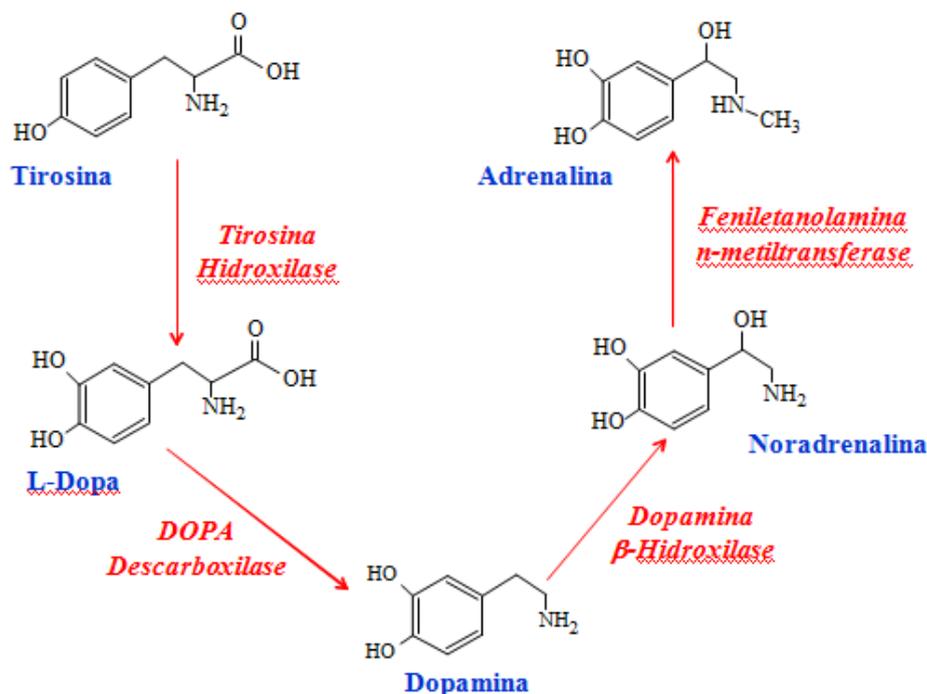


1.2.1 Síntese da Dopamina

Ocorre no organismo, uma síntese natural e endógena de três catecolaminas: dopamina, adrenalina e noradrenalina. As catecolaminas endógenas originam-se de um precursor denominado tirosina que se transforma sucessivamente em dopa, dopamina, noradrenalina e adrenalina por ação enzimática. Sinteticamente são produzidas, além da adrenalina, noradrenalina e dopamina, três outras catecolaminas: dobutamina, isoproterenol e dopexamina. Todas essas aminas possuem indicações terapêuticas específicas, diferindo entre si pela seletividade e potência de ações sobre os diferentes receptores no organismo (OSTINI et al., 1998).

Assim, para a produção das outras catecolaminas, a tirosina é enviada para os neurônios secretores de catecolaminas e sofre uma série de derivações enzimáticas que vai convertendo o precursor (tirosina) em L-dopa, dopamina, noradrenalina e adrenalina⁵⁰ sucessivamente, como mostrado no mecanismo da Figura 7.

Figura 7: Mecanismo de transformação das catecolaminas no organismo.



As catecolaminas podem ser secretadas no organismo em resposta a qualquer forma de estresse, atuando diretamente na frequência cardíaca e respiratória, pressão arterial, força muscular e agilidade mental. Em situações de estresse, as catecolaminas podem ser liberadas na corrente sanguínea com a finalidade de reduzir a quantidade de sangue que vai para a pele, transferindo o fluxo sanguíneo para órgãos importantes como coração, cérebro, fígado e rins (HOFFMAN et al., 2004).

A dosagem das catecolaminas no organismo pode indicar uma série de doenças. Altas concentrações podem indicar trauma no sistema nervoso central, danos no tronco cerebral, tumores neuroendócrinos medulares, diabetes e hipertensão arterial. Baixas concentrações de catecolaminas podem acarretar em sérias doenças neurológicas, déficit de aprendizado e de memória, dificuldade no controle da pressão arterial, mal de Parkinson e esquizofrenia. Dessa forma, o desenvolvimento de métodos analíticos para o controle dos teores de catecolaminas em fluidos biológicos torna-se muito importante. Nesse trabalho, serão analisadas as catecolaminas: dopamina e adrenalina (LIMA et al., 2006).

1.2.2 Técnicas analíticas utilizadas para controle de qualidade de fármacos

A Indústria Farmacêutica é um segmento vital do sistema de cuidados da saúde, já que conduz a pesquisa, fabrica e comercializa os medicamentos. Para garantir o cumprimento das legislações vigentes e de suas políticas e procedimentos internos, com o objetivo de produzir produtos farmacêuticos de qualidade, a empresa deve desenvolver organizações de qualidade bastante sofisticadas, com responsabilidades bem definidas (DE AZEREDO et al., 2004).

A autenticidade dos produtos farmacêuticos tornou-se um problema global e por isso, se torna cada vez mais importante detectar a introdução no mercado de produtos fraudulentos e de qualidade inferiores, quer por razões econômicas, quer por razões de saúde. As adulterações em produtos farmacêuticos são relativamente frequentes e diversificadas, incluindo a substituição do medicamento por placebos ou por adulteração da quantidade do princípio ativo, o que reduz ou anula a ação do medicamento no organismo (DE AZEREDO et al., 2004).

Há vários métodos e técnicas analíticas para identificação de substâncias, os quais são escolhidos avaliando desde fatores referentes à substância (propriedades químicas, físicas e biológicas) como também do método, disponibilidade, simplicidade, viabilidade financeira, adequação técnica, dentre outros (AMORIM et al., 2013).

Segundo o código oficial farmacêutico do País, representado pela Farmacopeia Brasileira onde se estabelecem, dentre outras coisas, os requisitos mínimos de qualidade para fármacos, insumos, drogas vegetais, medicamentos e produtos para a saúde. Existem diversas metodologias que podem ser adotadas para a realização do controle de qualidade dos medicamentos, dentre elas se destacam espectrometria de absorção atômica, espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Visível e no infravermelho, difração de raios x, cromatografia gasosa, cromatografia em papel, cromatografia líquida, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia de camada delgada, análise por injeção em fluxo, polarografia e outras (BRASIL 2010). Existe também uma crescente elaboração de metodologias eletroanalíticas para o monitoramento de fármacos em

fluidos biológicos, formulações farmacêuticas, pesticidas, vitaminas, alimentos e em outras matrizes. Devido à crescente demanda da indústria farmacêutica e a necessidade de controle de qualidade cada vez mais eficazes, tem sido cada vez mais explícito o interesse na pesquisa de metodologias de maior simplicidade que possam colaborar no processo de produção e de controle para fármacos. Além disso, é fundamental que se assegure a autenticidade dos produtos introduzidos no mercado, evitando erros de manipulação, adulterações e falsificações (HALEEM et al., 2014).

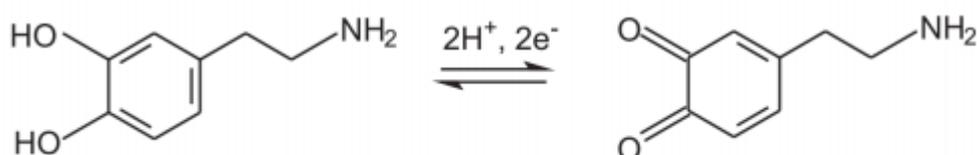
Devido ao fato das técnicas eletroanalíticas apresentarem simplicidade, sensibilidade, seletividade e baixo custo das análises, a técnica vem conquistando cada vez mais espaço neste cenário (MALAGUTTI et al., 2003).

1.2.3 Determinação analítica da dopamina

Diversas metodologias podem ser encontradas na literatura para determinação de dopamina em amostras biológicas e formulações farmacêuticas, dentre estas destacam-se os procedimentos em fluxo com detecção espectrofotométrica, amperométrica, cromatografia líquida de alta eficiência e por quimiluminescência (LUPETTI et al., 2003).

Segundo Afkhami e colaboradores (2005) a DA é oxidada por um processo reversível envolvendo 2 prótons e 2 elétrons, produzindo o derivado o-benzoquinona (dopaminaquinona), o qual pode ser reduzido na varredura reversa (Figura 8).

Figura 8: Equação da oxidação da Dopamina



Devido a dopamina ser facilmente oxidada eletroquimicamente por eletrodos convencionais, as técnicas eletroanalíticas têm sido intensivamente utilizadas na sua determinação (TASHKHOURIAN et al., 2009). Alguns estudos sugerem a utilização de eletrodos de pasta de carbono modificada com nanopartícula de prata e nanotubos de carbono, eletrodo de pasta de carbono modificado através de um pré-tratamento com hidróxido de sódio (MAHANTHESHA et al., 2013), eletrodo de pasta de carbono com perovskita, eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno (ATTA et al., 2014), eletrodo de disco de ouro modificado com ouro nanodendrite recoberto por nanocamada aniônica (ácido-8-mercaptooctanóico) (WANG et al., 2014) entre outros.

Mesmo existindo uma variedade de trabalhos utilizando os eletrodos de pasta de carbono como sensores para determinação de dopamina nas mais distintas matrizes, ainda não é constatado na literatura nenhum dispositivo a base de pasta de carbono modificada com óxido de zinco ou dispositivos utilizando nanotubos de carbono.

A química eletroanalítica, de forma geral, está fundamentada na interação da eletricidade com a matéria (substâncias químicas), ou seja, por meio das medições de grandezas elétricas, tais como: corrente, potencial e carga, são estabelecidos parâmetros químicos sobre o analito (MAHANTHESHA et al., 2013). Essa área da química geralmente é empregada para fins de análises e possui uma infinidade de aplicações no monitoramento ambiental, controle de qualidade industrial e análises biomédicas. A eletroanalítica possui características vantajosas, como alta sensibilidade, boa precisão, portabilidade, miniaturização dos dispositivos de medida, medidas diretas em amostras sem pré-tratamento e instrumentação relativamente barata (WANG et al., 2001; SKOOG et al., 2002; FARGHALY et al., 2014).

As técnicas voltamétricas são genericamente denominadas como técnicas eletroanalíticas e compreende um grupo de métodos eletroquímicos nos quais as informações sobre o analito são obtidas através de medidas de corrente em função do potencial aplicado e em condições que estimulem a polarização de um eletrodo de trabalho, também chamado de indicador (SKOOG et al., 2002).

As espécies químicas analisadas são colocadas em uma cela eletroquímica, a qual é constituída por no mínimo três eletrodos (WANG et al., 2001): eletrodo de trabalho (comumente feito de material inerte, como ouro, platina, carbono, mercúrio),

contra-eletrodo (placa ou fio de platina) e o eletrodo de referênciã (apresenta uma grande áreã superficial e potencial constante). Dependendo do tipo de imposiçãõ de potencial, a voltametria pode ser denominada por voltametria linear, voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e voltametria por pulso diferencial.

Cada uma destas técnicas permite obter informações qualitativas e quantitativas a respeito das espécies químicas numa soluçãõ eletrolítica e dos processos de transferênciã de elétrons que ocorrem na interface substrato condutor/soluçãõ, como também obter parâmetros cinéticos e termodinâmicos das reações de transferênciã de elétrons (SKOOG et al., 2002). Essas técnicas baseiam-se de forma geral nos estudos de processos de oxidaçãõ e reduçãõ de espécimes químicas em vários e diferentes meios, bem como no estudo de processos de adsorçãõ em superfícies e de mecanismo de transferênciã de elétrons em superfícies de eletrodos quimicamente modificados (SKOOG et al., 2002; DE SOUZA et al., 2003)

Para diversificar a aplicabilidade das técnicas voltamétricas e estender seu uso para reduçãõ e oxidaçãõ de diferentes analitos os eletrodos quimicamente modificados têm sido alvo de estudo na busca por novos sensores eletroquímicos com desempenho melhorado. Em muitos casos, a modificaçãõ se dá através da deposiçãõ de filmes de materiais poliméricos sobre a superfície do eletrodo e, sobre estes, a fixaçãõ de agentes transportadores de carga, como íons ou metais (DE OLIVEIRA et al., 2016).

Desta forma, vários eletrodos de trabalho têm sido propostos para os mais diversos tipos de análises: mercúrio (HERNÁNDEZ et al., 2008) filmes de mercúrio (MARTINIANO et al., 2013; WANG et al., 2006) amalgamas (YOSYPCHUK et al., 2011; Danhel et al., 2014); metálicos puros (ouro, platina, prata, cobre etc) (CHRZESCIJANSKA et al., 2014; ARAUJO et al., 2014), ligas metálicas (CHOU 2013; MOORCROFT et al., 2000); carbono vítreo (DICULESCU et al., 2010), diamante dopado com boro (SVORC et al., 2014; HONÓRIO et al., 2014); compósitos (SHENG et al., 2014; CESARINO et al., 2013), pasta de carbono (REDDAIAH et al., 2014), pasta de carbono modificado (ABU-SHAWISH., 2013; FRITZEN-GARCIA et al., 2009), eletrodos modificados com nanotubos de carbono (RASTAKHIZ et al., 2012; ARRIBAS et al., 2013)

1.3 Métodos eletroquímicos

A eletroquímica trata de fenômenos químicos associados à transferência de elétrons, que ocorrem heterogeneamente na superfície do eletrodo, ou homogeneamente em solução (BRETT e BRETT, 1996). O processo eletroquímico fundamenta-se na aplicação de um potencial capaz de oxidar ou reduzir substratos de interesse, sendo o método padrão para o estudo das reações redox. Quando comparada a química convencional, a eletroquímica destaca-se pelo baixo gasto de reagentes, além do fácil controle de variáveis, que, combinadas de formas diversas, levam a técnicas eletroquímicas particulares (MELLO, 2007; MOURA, 2008).

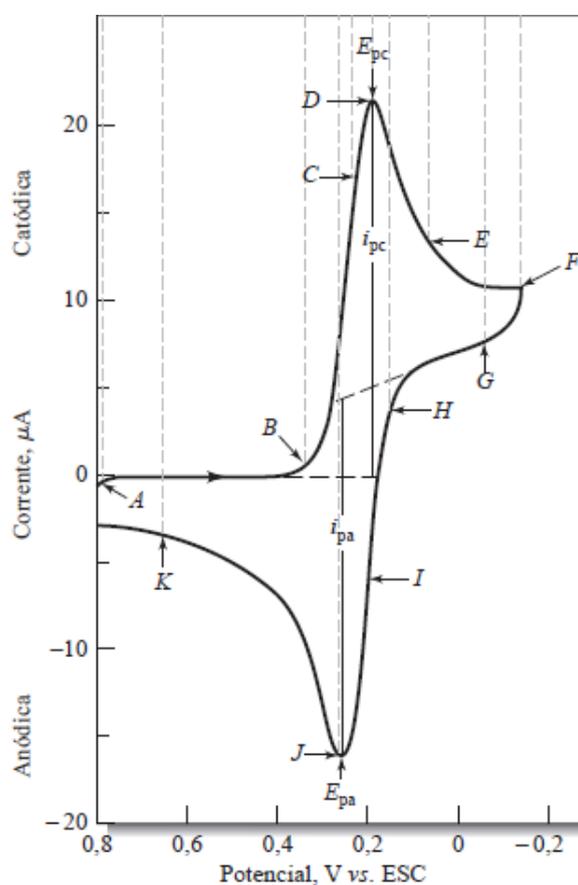
Eletroquímica pode imitar as principais reações oxidativas que ocorrem no corpo humano, proporcionando uma boa aproximação do que ocorre in vivo (KAVACIC et al., 2014), logo os estudos que envolvem a transferência de elétrons auxiliam na compreensão de vários processos que ocorrem no meio biológico, ajudando assim o desenvolvimento das áreas químico-farmacêutica, farmacológica, toxicológica e biomédica, em geral. Os processos de oxirredução estão relacionados como principais mecanismos desenvolvidos na célula viva, desde processo metabólico aos de defesa, sendo intermediados por enzimas presentes em todos os organismos vivos. Esses processos requerem um ambiente redox que permita realizar eficientemente sua função baseados em uma série de transformações redox e não redox, catalisadas por enzimas ou não, e envolvendo transferência de elétrons e de átomos, aliado a tudo isso encontra-se um complexo grupo de proteínas, peptídeos e genes. Qualquer mudança nesse delicado equilíbrio pode causar alteração na homeostase celular ou em outros ambientes (MOURA, 2008).

1.3.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica eletroanalítica importante e amplamente empregada no estudo de reações redox, na detecção de intermediários de reação e na observação e no acompanhamento de reações envolvendo produtos

formados nos eletrodos. A voltametria cíclica é uma técnica de varredura reversa de potencial, onde o potencial aplicado ao eletrodo é submetido a variação, numa velocidade conhecida, e ao atingir o potencial final desejado, a varredura é revertida ao valor inicial, na mesma velocidade. Obtem-se como resposta a essa perturbação, no caso de uma transferência eletrônica reversível, um par de picos, catódico e anódico (Figura 9). Um experimento envolvendo VC pode empregar um ciclo inteiro, um ciclo parcial ou ainda vários ciclos (SKOOG, 2005)

Figura 9: Voltamograma cíclico para um sistema reversível de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 6 mmol L^{-1} e KNO_3 1 mol L^{-1} , com destaque para os parâmetros mais importantes.



Fonte: SKOOG, 2005

Pode avaliar-se o processo eletródico ocorrido, através seguintes dados: potenciais de pico catódico e anódico (E_{pc} e E_{pa}), as correntes de pico catódico e anódico (i_{pc} e i_{pa}) e os potenciais de meia onda ($E_{1/2}$) ou de pico a meia altura de onda (E_{p2}). Como esses dados, é possível inferir se o processo de transferência de elétrons é reversível ou não, a presença de reações químicas acopladas, adsorção e

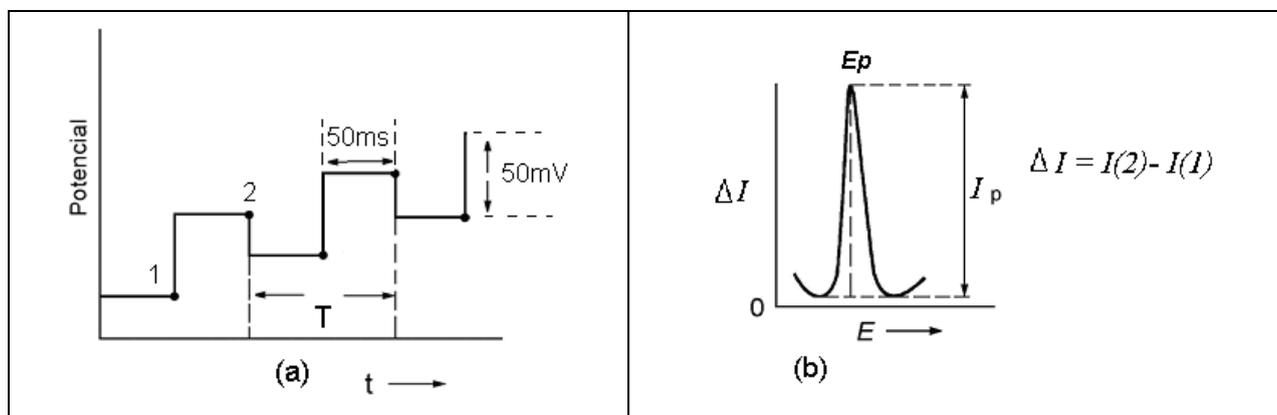
fenômenos catalíticos, a caracterização do fenômeno que controla a corrente de pico, se a velocidade de varredura influencia no potencial e na corrente e também determinar a concentração de substâncias eletroativas (GREEF et al., 1985; SKOOG, 2005).

1.3.2 Voltametria de pulso diferencial

A voltametria de pulso diferencial é uma técnica eletroanalítica semelhante à VPN, porém geralmente é mais sensível, e apresenta limites de detecção significativamente menores, devido a uma melhora da corrente faradaica ou uma diminuição na corrente de carga não-faradaica na VPD. Como na VPD, na voltametria de pulso diferencial normal, escolhe-se um valor base de potencial, normalmente onde não há reação faradaica, e aplica-se ao eletrodo. A partir desse valor, aplicam-se pequenos pulsos de amplitude crescente, sendo o aumento de amplitude sempre igual, a corrente é medida no fim de cada pulso, cuja duração vai normalmente de 5 ms a 100 ms; o intervalo entre os pulsos é de 2 – 4 s. (BRETT, 1996; SKOOG, 2005).

O potencial-base é aumentado entre os pulsos, sendo esses aumentos de mesma intensidade. A corrente é medida imediatamente antes da aplicação do pulso e registra-se a diferença entre as duas correntes; isso diminui a percepção da corrente capacitiva. Os valores das duas correntes estão separados de dois valores de potenciais por cerca de 50 mV a 100 mV (que na verdade é o valor da amplitude do pulso superposto). A duração de cada pulso varia normalmente entre 5 – 50 ms. O intervalo entre os pulsos é de 0,5 – 4s. Os pulsos de potencial são superpostos em uma rampa de potencial em forma de degraus com potencial linearmente crescente, quando em instrumento digital, conforme Figura 10.

Figura 10: (a) Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em voltametria de pulso diferencial, a corrente é amostrada em 1 e 2 e a diferença entre elas é que é registrada: $\Delta I = I(2) - I(1)$. (b) Voltamograma de VPD.



Fonte: SKOOG, 2005

1.4 Eletrodos de carbono

Por apresentarem características interessantes como ampla janela de potencial, inércia eletroquímica e boa estabilidade térmica, eletrodos a base de carbono costumam ser muito utilizados em eletroanálises. Outro ponto positivo da utilização deste substrato, está na possibilidade de modificar seu material interno/superfície com uma grande variedade de compostos (materiais nanoestruturados, biomateriais, polímeros, líquidos iônicos, entre outros), característica muito apreciável quando se busca o desenvolvimento de EQMs e biossensores cada vez mais sensíveis (SZUNERITS e BOUKHERROUB, 2008; OISHI, 2009).

Dentre os substratos mais utilizados nos eletrodos de carbono, destacam-se o carbono vítreo, a pasta de carbono, o diamante dopado com boro e os eletrodos de carbono impressos (SZUNERITS e BOUKHERROUB, 2008).

1.4.1 Eletrodo de carbono vítreo quimicamente modificados

O carbono vítreo pode ser considerado um material com grande importância tecnológica pois apresenta propriedades muito atrativas nas quais se destacam a excelente condutividade elétrica e térmica, a biocompatibilidade, a inércia química, a baixa porosidade (impermeabilidade a gás), a superfície polida e a boa rigidez mecânica, podendo ser aplicado nas indústrias médicas, aeroespacial e química, por exemplo (BOTELHO et. al., 2001; GONÇALVES, 2007).

O carbono vítreo está entre os substratos mais utilizados em eletroanálises, pois oferece ampla janela de potencial de trabalho, baixa corrente capacitiva, boa condutividade e biocompatibilidade, além de ser quimicamente inerte. Estas características também favorecem a modificação da superfície de eletrodos de carbono vítreo (GCE) com materiais que são capazes de melhorar ainda mais o desempenho deste eletrodo (SUN, 2006; ZUCONELLI, 2009). Wang e colaboradores depositaram folhas de grafeno sobre a superfície de um GCE e utilizaram este eletrodo modificado na detecção de levodopa e carbidopa em fármacos. As correntes de pico mostraram uma resposta linear para ambas as catecolaminas na faixa de 1-16 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com limite de detecção de 0,80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a levodopa e 1,80 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para a carbidopa (WANG et. al.; 2013).

Com o objetivo de melhorar as propriedades físico-químicas e controlar a natureza da interface eletrodo-solução, surgiram nos anos 70 os primeiros trabalhos relacionados a modificação da superfície de eletrodos (SOUZA, 1997; PEREIRA et al., 2002). Os eletrodos quimicamente modificados (EQMs) podem ser construídos a partir da modificação de um substrato base (ouro, platina, carbono vítreo, pasta de carbono) com uma série de materiais (nanomateriais, biomoléculas, líquidos iônicos, polímeros, entre outros) que geralmente conferem melhoria na sensibilidade, na seletividade, na estabilidade e na condutividade do eletrodo base, o que justifica a sua aplicação (VIDAL et al., 1999; PEREIRA et al., 2002).

De maneira geral, os métodos mais utilizados para a incorporação de um agente modificador consistem em: (a) adsorção - dissolução do modificador em um solvente aproximado e exposição da superfície do eletrodo a esta solução; (b) eletrodeposição - deposição de uma espécie na superfície do eletrodo pela aplicação

de um potencial; (c) ligação covalente - o modificador é ligado covalentemente à superfície do eletrodo e (d) recobrimento com filmes poliméricos (MURRAY et al., 1980; VIDAL et al., 1999).

O uso de eletrodos quimicamente modificados aliados a técnicas eletroanalíticas permite a detecção *in situ* e em tempo real de uma grande variedade de compostos, o que confere a esta metodologia certas vantagens em relação a outras técnicas de análise (como a cromatografia e a espectrofotometria, por exemplo). Além disso, o baixo custo (instrumental e de reagentes), a facilidade na construção dos eletrodos, a portabilidade e a possibilidade de miniaturização do sistema tornam esta metodologia uma importante ferramenta tecnológica, que pode ser aplicada na análise química de várias substâncias em diversas áreas, tais como clínica, ambiental e biotecnológica (MURRAY, 1980; ABRUNA et al., 1981; MELLO e KUBOTA, 2002; LOWINSOHN e BERTOTTI, 2006).

Em 1975 por Murray e colaboradores e se referiram aos eletrodos sólidos convencionais aqueles que possuem espécies quimicamente ativas imobilizadas em sua superfície. Os primeiros estudos acerca dos eletrodos quimicamente modificados surgiram no início da década de 70 com o objetivo de estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução e devido à necessidade de analisar compostos específicos que não eram eletroativos em eletrodos convencionais.

Os métodos mais utilizados para realizar a modificação são: adsorção (método simples e rápido no qual o agente modificador é dissolvido e o eletrodo é colocado em contato com a solução); ligação covalente (é a incorporação de um vasto número de substâncias, de maneira estável, através da manipulação da reatividade dos grupos funcionais existentes na superfície do eletrodo); filmes poliméricos (imobilização de polímeros da espécie ativa na superfície do eletrodo a partir do recobrimento com filmes poliméricos); ou materiais compósitos (modificação interna do material eletrodico pela combinação de duas ou mais fases de diferentes naturezas) (RUIZ-CAPILLAS et al., 2001). Geralmente, a camada de modificação é eletroativa e age como mediador de elétrons na interface eletrodo/solução).

Sensores eletroquímicos a base de materiais carbonáceos As determinações eletroanalíticas estão aliadas ao registro de dados eletroquímicos referentes a reações redox processadas na interface eletrodo/solução. Por conseguinte, o

desempenho analítico dos métodos eletroanalíticos é completamente dependente do material eletródico utilizado como eletrodo de trabalho. Os materiais de carbono ou carbonáceos constituem-se como uma das classes de materiais mais importantes no cenário de construção de eletrodos de trabalho para fins analíticos, variando desde superfícies tradicionais como a dos eletrodos de carbono vítreo e pasta de carbono até superfícies avançadas, incluindo eletrodos à base de nanotubos de carbono grafeno e diamante (RUIZ-CAPILLAS et al., 2001).

Os eletrodos de carbono apresentam, em geral, elevada taxa de transferência de elétrons para uma ampla gama de compostos orgânicos e inorgânicos, resistência química e mecânica, sendo todas estas, propriedades fundamentais para o estabelecimento de métodos eletroanalíticos seletivos, sensíveis e reproduzíveis.

De forma geral, adsorção irreversível direta, ligação covalente a sítios específicos da superfície do eletrodo, recobrimento com filmes poliméricos, constituem os métodos mais importantes para promover a modificação do eletrodo base (PEREIRA et al., 2002). Dentro deste contexto, vêm se destacando ultimamente os eletrodos de Nanotubos de Carbono (CARBON NANOTUBES - NTC), que apresentam morfologia tubular com dimensões nanométricas. Desde sua descoberta em 1991 (STANIC et al., 2011), os NTC têm despertado grande interesse em diferentes aplicações nas áreas da química e física dos materiais, devido às suas características próprias como propriedades eletrônicas, óticas, grande resistência mecânica e suas propriedades químicas resultantes da combinação de sua dimensionalidade, estrutura e tipologia (MERKOÇI et al., 2005)

Atualmente, os NTC são os componentes mais comuns usados na nanotecnologia. Com uma força de tensão 100 vezes maior que a do aço, condutividade térmica maior que a de todos os compostos (exceto a do diamante ultrapuro), e uma condutividade elétrica maior que a do cobre, com a possibilidade de transportar correntes maiores (AJAYAN et al., 1999; FILHO et al., 2007).

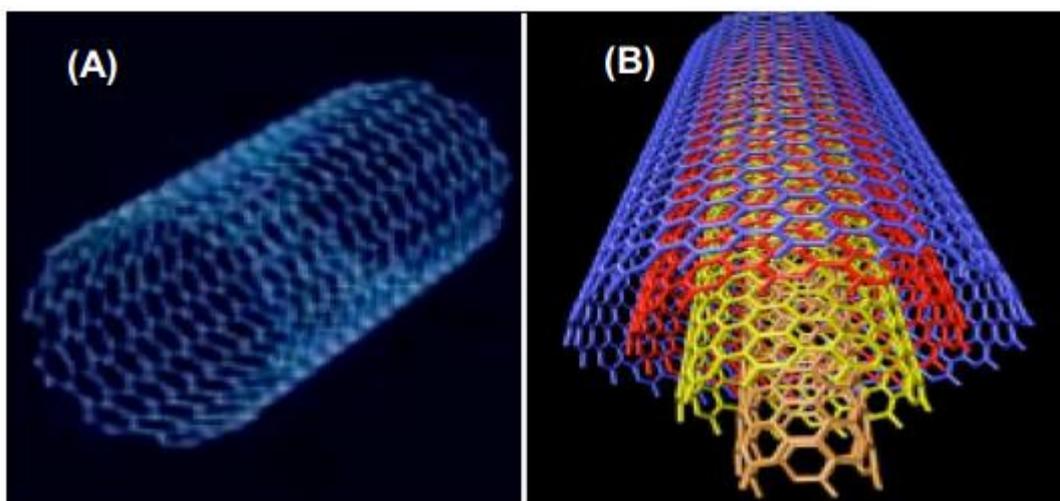
Uma maneira simples de representar os NTCPS (Figura 11 (A)) é considerar uma camada simples de grafite e enrolá-la até formar um cilindro de tal modo que dois sítios cristalograficamente coincidam. Uma camada simples de grafite está constituída por átomos de carbono formando uma rede hexagonal, com ligações simples e duplas, sendo a distância entre dois átomos mais próximos

da ordem de 0,14 nm. No grafite, as ligações entre camadas são do tipo Van der Waals, sendo a distância entre elas da ordem de 0,34 nm (FILHO et al., 2007).

. Por outro lado os NTCPM (Figura 11 (B)) são constituídos por duas ou mais camadas simples de cilindros coaxiais (obtidos enrolando uma folha de grafite), fechados nos seus extremos também com “hemisférios” de fullerenos, os quais em geral, apresentam defeitos (presença de pentágonos não isolados e heptágonos). A distância de separação entre camadas é da ordem de 0,34 nm (3-5% maior que o espaçamento entre as camadas do grafite de aproximadamente 0,339 nm). Na maioria dos casos, a relação comprimento/diâmetro atinge valores entre 100 e 1000 e, portanto, podem ser considerados como sistemas unidimensionais (FILHO et al., 2007).

NTC têm sido usados na confecção de diferentes tipos de dispositivos, como emissores de elétrons para mostradores, sensores de gases e sensores biológicos, pontas para microscópio de força atômica e, quando combinados a outros materiais, como polímeros e fibras, servem como elementos de reforço formando compósitos com excelentes propriedades mecânicas, além de sua grande aplicação tecnológica na construção de biosensores e transdutores eletroquímicos, que atuam acelerando reações de transferência de elétrons em moléculas do tipo proteína ou neurotransmissores (ORIVE et al., 2006).

Figura 11 :Nanotubos de Carbono – (A) parede única e (B) parede múltipla



(FILHO et al., 2007)

A adsorção irreversível de NTC sobre superfícies eletródicas convencionais constituem uma estratégia útil para preparar, de forma simples, sistemas de detecção que exibem um excelente comportamento frente as reações eletroquímicas de algumas moléculas de interesse (ORIVE et al., 2006).

Para a preparação destes eletrodos e, devido à baixa solubilidade dos NTC na maioria dos solventes, é preciso selecionar um meio de solubilização que seja compatível com as espécies envolvidas na detecção. Os agentes dispersantes mais utilizados tem sido água (ORIVE et al., 2006), polímeros como o nafion (perfluorosulfonato sódico), solventes orgânicos como o dimetilformamida (DMF) (ULLOA et al., 2008) e tensoativos, como o dodecilsulfato sódico (FILHO et al., 2007). Estes meios influem sobre a morfologia dos recobrimentos e sobre as propriedades eletroquímicas dos NTC dependendo do mecanismo do sistema redox, não alterando a superfície química do nanomaterial como ocorre quando se empregam meios ácidos ou tratamentos eletroquímicos de ativação (ULLOA et al., 2008; FILHO et al., 2007).

1.5 Nanomateriais

A nanotecnologia adapta a composição, tamanho e forma dos materiais em escala nanométrica para atingir propriedades distintas, que podem ser manipuladas de forma eficiente para as aplicações necessárias (M. SIMA, 2013).

O estudo de materiais cujos tamanhos das partículas que os constituem encontram-se na faixa dos nanômetros (chamados de nanomateriais) ganhou importância significativa no final do século XX, levando ao aparecimento e consolidação de toda uma área do conhecimento, hoje reconhecida como "Nanociência e Nanotecnologia". De fato, nos primeiros anos do século XXI é raro encontrar pessoas que de alguma forma nunca tenham se deparado com estes termos. A área da Nanociência e Nanotecnologia extrapolou os limites da academia e da indústria e, rapidamente, atingiu o público em geral, trazendo consigo promessas de uma verdadeira revolução de costumes, alimentando a imaginação da indústria da ficção científica (ALDO et al., 2007).

Mecanismo de ação das nanopartículas de ZnO é um semicondutor de banda larga convencional. É único propriedades o tornam apropriado para várias aplicações biomédicas, incluindo usos anticancerígenos, antibacterianos e antifúngicos. O óxido de zinco, como um material direto e de banda larga, atraiu na última década intensa atenção experimental e teórica por suas potenciais aplicações em nanoeletrônica e optoeletrônica (RASMUSSEN, et al.,2010). A justificativa para a mistura entre nanotubos de carbono e as nanopartículas são propriedades condutoras apresentadas.

Os nanocristais de ZnO, CuO e os nanocompósitos contendo nanocristais de ZnO dopado com Cu e nanocristais de CuO (ZnOxCu) foram sintetizados e caracterizados conforme mostrado no artigo Imunossensor à base de nanocristais de óxido de zinco decorados com cobre para a detecção eletroquímica de alfa-amilase salivar humana, Silva, A. C. A. et al., 2021. Os nanocompósitos de ZnO:4Cu e ZnO:12Cu apresentaram aumento no sinal eletroquímico e interferência na detecção, mostrando alta especificidade e sensibilidade devido à interação do cobre.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar a interação das aminas biogênicas e catecolaminas (caso da dopamina) com eletrodos modificados através de técnicas eletroquímicas, a fim de desenvolver um eletrodo nanoestruturado para detecção de aminas biogênicas e neurotransmissores

2.2 Específicos

Para atingir o objetivo proposto, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

□ Investigar o comportamento eletroquímico das aminas frente aos eletrodos de carbono vítreo modificados com nanoCu, eletrodos de carbono vítreo modificados com nanoAu/nanoCu e eletrodos de carbono vítreo modificados com NTC.

□ Desenvolver eletrodos para avaliar a interação destas aminas com nanocompósitos de ZnO dopado com Cu/CuO com variação de CuO.

□ Investigar o comportamento eletroquímico das aminas biogênicas em eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de Cu e eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de Cu com nanopartículas de Au utilizando as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial

□ Investigar o processo de oxidação e redução de dopamina sobre os eletrodos modificados com NTC e nanocompósitos de ZnO dopado com Cu/CuO com variação de CuO utilizando as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial.

□ Obter curvas analíticas e determinar os parâmetros, tais como LD, LQ, sensibilidade e faixa linear de resposta.

3. EXPERIMENTAL

3.1. Materiais e métodos

3.1.1 Reagentes e solventes

utilizados neste trabalho para a modificação do eletrodo foram cedidos pela professora Anielle Christine Almeida Silva do laboratório de novos materiais nanoestruturados e funcionais do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas. As aminas: dopamina, histidina, histamina, cadaverina e putrecina foram adquiridas da Sigma Aldrich, pureza $\geq 95\%$ (Steinheim, Germany). ácido sulfúrico (H_2SO_4) foi obtido da Cromoline® (Diadema, Brasil). O sulfato de cobre (CuSO_4), fosfato de sódio diidratado (Na_2HPO_4) e fosfato de sódio monoidratado (NaH_2PO_4) têm procedência da Vetec Química Fina Ltda (Rio de Janeiro, Brasil). O dimetilformamida extra seco foi adquirido da AcrosOrganics® (New Jersey, USA).

Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas em água ultrapura ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) de um sistema de purificação Milli-Q da Millipore Inc.

3.1.2 Preparação de soluções

Soluções-estoque de dopamina, histamina, histidina, putrecina e cadaverina foram preparadas na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em água deionizada, pouco antes de sua utilização no estudo eletroquímico.

Para os estudos fizeram-se necessários o uso de alguns tampões. Tampão fosfato pH 7,0 como força iônica de 0,222, preparado com adição de 30,5 ml de Na_2HPO_4 e 19,5 ml de NaH_2PO_4 , ambos na concentração de $0,20 \text{ mol L}^{-1}$, completando o volume para 100 ml com água deionizada; para o tampão acetato pH 4,8, como força iônica de 0,100, foi adicionado a um balão volumétrico de 100 ml, 7,2 ml de NaOAc e 12,5 ml de

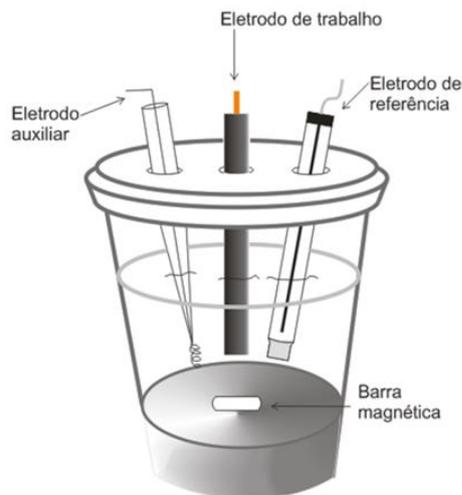
HOAc, na concentração de $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ completando o volume para 100 ml com água deionizada.

3.2 Estudos eletroquímicos

As medições eletroquímicas foram realizadas através do equipamento potenciostato/galvanostato, PGSTAT (AUT73222) da Autolab®. Para os estudos eletroquímicos utilizou-se um sistema de três eletrodos (Figura 12): eletrodo de carbono vítreo (BAS, diâmetro 1,6 mm) como eletrodo de trabalho; eletrodo de fio de platina, como auxiliar; e Ag|AgCl|Cl⁻ (saturado) da BAS, como eletrodo de referência.

Experimentos voltamétricos foram realizados em cela eletroquímica com 10 mL, tampão fosfato, para o estudo do perfil voltamétrico das aminas. Os gráficos processados foram tratados utilizando o programa Origin 8.0®.

Figura 12: Sistema com os três eletrodos para análises eletroquímicas.



Fonte: ANDRADE, 2013

3.2.1 Limpeza do eletrodo de carbono vítreo

O eletrodo de carbono vítreo (BAS) passou por uma limpeza mecânica. Foi polido com alumina ($0,3 \mu\text{m}$) e lavado abundantemente com água, antes de ser levado ao ultrassom por 30 s em etanol.

Após o procedimento de limpeza, foi realizado o teste com uma solução de ferricianeto de potássio, para verificar a área eletroativa do eletrodo, assim como a eficiência do polimento. Em seguida, o eletrodo foi utilizado no estudo eletroquímico onde foi modificado com as nanopartículas e os nanotubos de carbono. Foi necessário limpar a superfície do eletrodo a cada nova modificação, pois a substância adere facilmente a superfície do eletrodo dificultando as leituras posteriores.

3.2.2 Preparo do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocobre (ECV/nanoCu)

Para preparar o eletrodo de carbono vítreo com diâmetro de 4 mm foi polido com Pasta de óxido de alumínio de $0,05 \mu\text{m}$ para obter uma superfície espelhada, enxaguada e sonicada em água destilada e seca ao ar.

Para preparar camada de nanopartículas de cobre pelo processo eletroquímico, utilizou-se método de deposição da literatura (Zheng et al, 2013), conduzidos experimento de voltametria cíclica com o ECV na faixa de potencial de $-0,6 \sim 0,8 \text{ V}$ em $0,06 \text{ M}$ de H_2SO_4 + $10,7 \mu\text{M}$ de CuSO_4 sendo realizadas adições sucessivas até 30 ciclos a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . O eletrodo obtido ficou pronto para uso após uma lavagem final com água deionizada e denotado como nano-cobre/ GCE.

O eletrodo modificado foi utilizado com os testes com as aminas biogênicas e dopamina na faixa de concentração variando de 39 a $193 \mu\text{M}$.

3.2.2.1 Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial

O nanocobreNTC/ECV foi imerso em 0,06 M de H_2SO_4 + 10,7 μM de CuSO_4 solução contendo DA, histamina, histidina, putrecina e cadaverina separadamente, cada uma por vez. O tempo de acumulação no circuito aberto foi de 60 s. Então o cíclico voltamogramas foram obtidos entre -0,6 e +0,8 V, e o potencial de varredura inicial foi -0,6 V.

3.2.3 Preparo do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanoCu/nanoAu (ECV/nanoCu/nanoAu)

Para preparar camada de nanopartículas de cobre e ouro pelo processo eletroquímico, o método de deposição foi baseado da literatura de El-Nouret al. 2017.

3.2.3.1 Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial

A modificação do eletrodo foi realizada por voltametria cíclica na faixa de potencial de -0,6 a 0,8 V em solução de CuSO_4 10,7 μM + AuCl_2 0,01 M, utilizando uma velocidade de varredura de 100 mV/s por 25 ciclos.

Na solução de modificação de CuSO_4 10,7 μM + AuCl_2 0,01 M era adicionada a amina para que sua concentração fosse 39 μM , sendo realizadas adições sucessivas. Esse sistema foi analisado em voltametria de pulso diferencial nas faixas de -0,6 a 0,8 V, e o potencial de varredura inicial foi -0,6 V.

3.2.4 Preparação do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono

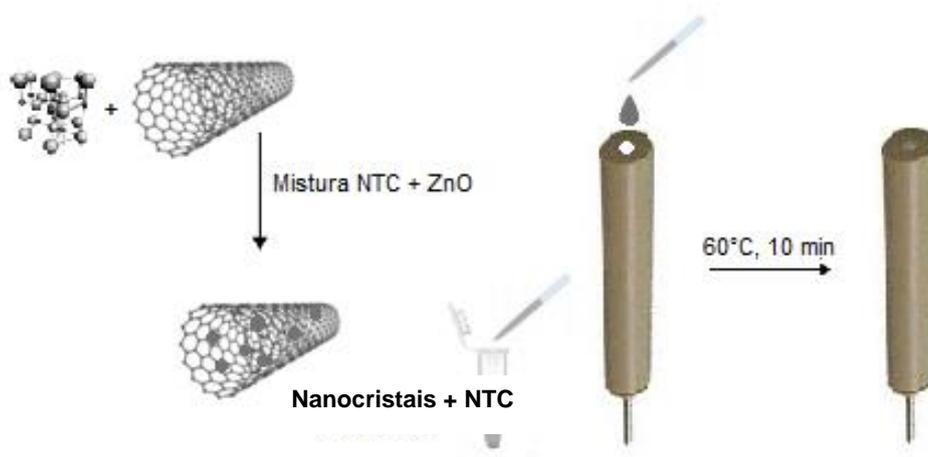
3.2.4.1 Preparação das suspensões contendo os nanocompósitos

A modificação dos NTC com os nanocompósitos (ZnO:4Cu e ZnO:12Cu) e as nanopartículas controle (CuO e ZnO) foi feita a partir da mistura de: 1,0 mg de NTC funcionalizado e 1,0 mg de nanomateriais utilizando 1,0 mL de dimetilformamida (DMF) como solvente. Essas misturas foram submetidas a trinta minutos de banho de ultrassom até a formação de uma suspensão homogênea.

3.2.4.2 Modificação do eletrodo

Uma alíquota de 2 μL foi depositada sobre a superfície do sensor base e seco a 60°C, em estufa, por 30 minutos para completa evaporação do solvente, obtendo filmes homogêneos e uniformes. Após resfriar a superfície eletrodica modificada e realizar a ativação em eletrólito puro, as medidas voltamétricas foram executadas. O preparo do eletrodo está esquematizado na Figura 13.

Figura 13: Preparação esquemática do eletrodo modificado



Após as medidas voltamétricas, o eletrodo deve ser limpo para evitar que algum efeito da modificação prejudique a superfície do carbono vítreo. A remoção da modificação é facilmente promovida quando colocada por alguns segundos em um

banho ultrassônico com água deionizada, sendo a superfície regenerada com polimento em alumina conforme sequência de tratamento apresentada nesta seção.

3.2.4.3 Voltametria de pulso diferencial

A resposta analítica das aminas em presença dos nanocristais foi observada por voltametria de pulso diferencial. As medidas foram realizadas em 10,0 mL de tampão fosfato ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$). A velocidade de varredura foi constante e igual a 50 mV s^{-1} e a faixa de potencial variou entre 0,0 a 1,2 Vs.

3.3 Tratamento dos dados voltamétricos

Os voltamogramas de pulso diferencial apresentados foram suavizados através da função Savitsky-Golay smooth nível 4, visando a eliminação do ruído de fundo sobreposto ao sinal voltamétrico. Em seguida, era corrigido a linha de base através da função moving average com um step window de 2 mV, ambas disponíveis no software GPES versão 4.9. Através desse tratamento matemático realizado nos voltamogramas, melhorou a visualização e identificação dos processos oxidativos dos analitos. Além desse software, também foi utilizado o Origin® 5.0 para tratamento dos dados.

3.4 Parâmetros de desempenho analítico

De acordo com a literatura, a eficiência de uma metodologia analítica é estimada pelas variáveis de desempenho analítico, tais como sensibilidade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão (repetibilidade e reprodutibilidade).

A sensibilidade de um método mede a sua capacidade em distinguir entre pequenas diferenças na concentração de um analito. Ela foi avaliada através dos valores de LD e LQ, calculados conforme as Equações 1 e 2. Dez medidas realizadas em eletrólito puro

(brancos) foram usadas para estimar o desvio-padrão da média do sinal analítico, que representa o nível de ruído da técnica.

$$LD = 3S_b / b \quad \text{(Equação 1)}$$

$$LQ = 10S_b / b \quad \text{(Equação 2)}$$

Onde:

S_b = desvio-padrão da média do sinal do branco em eletrólito puro

b = sensibilidade da curva analítica (coeficiente angular da reta)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudo Eletroquímico das Aminas biogênicas

Nesta etapa do trabalho serão apresentados, interpretados e discutidos os resultados obtidos na otimização da metodologia analítica para análise eletroquímica das aminas biogênicas e dopamina. Para essas análises, dois diferentes tipos de eletrodos de trabalho foram utilizados: os eletrodos de pasta de carbono (EPC) e os eletrodo de carbono vítreo (ECV) ambos devidamente modificados com os nanomateriais em questão.

O EPC foi escolhido por apresentar alta pureza química, baixa capacidade de adsorção de oxigênio e de impurezas eletroativas e ainda uma distribuição granulométrica uniforme, os ECV foram escolhidos por serem sensores com alta sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, facilidade de uso, custo baixo e robustez.

4.1.1 Voltametria cíclica do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocobre

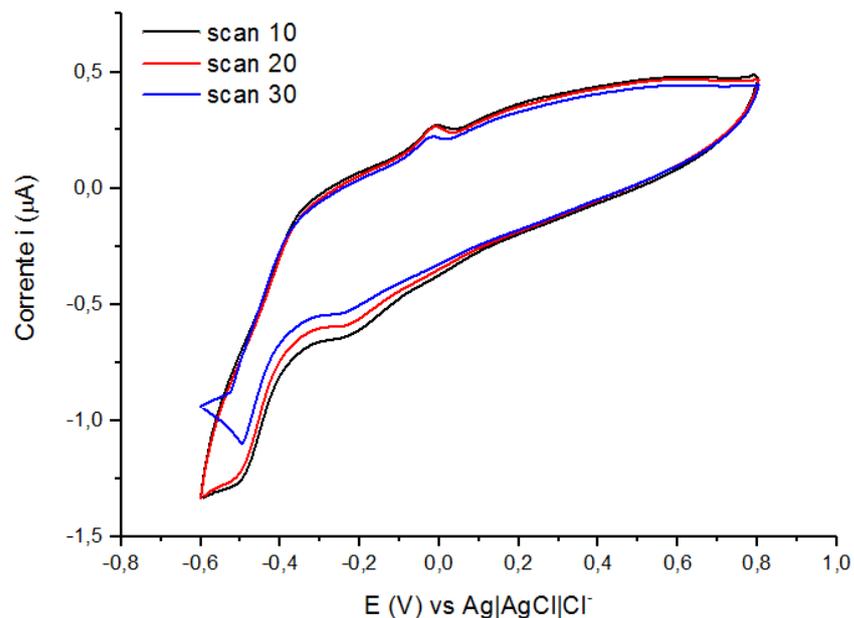
Um sensor de carbono vítreo foi produzido para realização dos estudos, de modo a servir de suporte para as nanopartículas de cobre na superfície do eletrodo. A literatura já relata a eficiência na associação de nanopartículas de cobre e dopamina (ZENG et al., 2013). O procedimento utilizado neste trabalho (descrito na metodologia), foi empregado também com aminas biogênicas, a fim de avaliar a interação com outros compostos nitrogenados.

A Figura 14 mostra o voltamograma cíclico da caracterização eletroquímica do eletrodo. Nota-se que existem picos catódicos e anódico em torno de -0,3 e 0,1 V, correspondentes à redução de Cu^{2+} íons e a oxidação de nanopartículas de Cu, respectivamente. Nos ciclos contínuos, os picos redox das nanopartículas de cobre tendem a ser estáveis após 30 ciclos. É interessante notar que o pico de oxidação e redução das nanopartículas de Cu mudam na direção positiva com a ciclagem, sugerindo que a redução de íons Cu^{2+} nas nanopartículas de Cu se torna mais e

mais fácil enquanto sua oxidação se torna cada vez mais difícil nos ciclos (ABRANTES et al., 1995) comprovando que as nanopartículas de Cu se depositam e acumulam na superfície do ECV em ciclos contínuos.

Inicialmente foi possível observar a influência da quantidade de ciclos na formação/identificação dessa interação por eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de cobre.

Figura 14: CVs do MWC/GCE em 0.06 M H₂SO₄ + 10.7 μM CuSO₄. Scan : 100 mV s⁻¹



O próximo passo foi demonstrar a interação entre as nanopartículas de cobre e as aminas biogênicas, com eletrodo modificado em sua superfície,

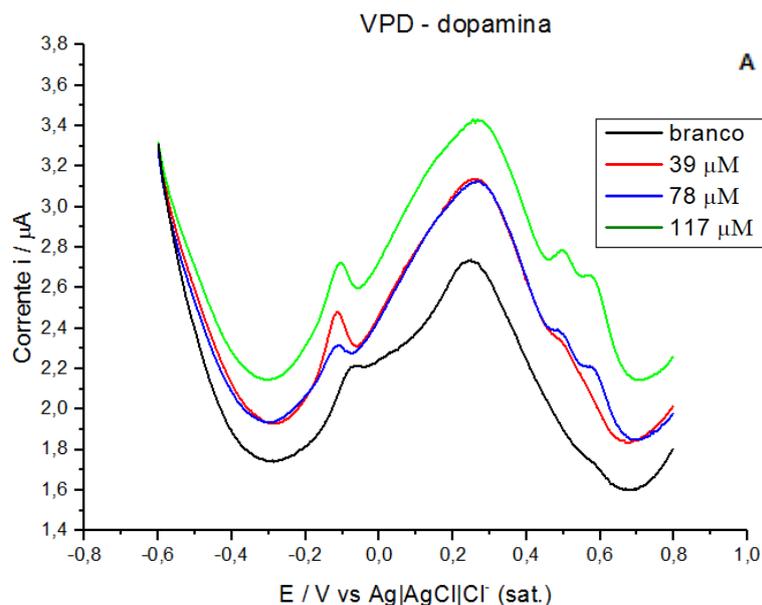
4.1.1.1 Oxidação eletrocatalítica das aminas biogênicas e da dopamina

O voltamograma foi obtido por voltametria de pulso diferencial para os eletrodos de carbono vítreo modificados por nano-cobre na solução de CuSO₄ + H₂SO₄ com e sem 39 μM de DA. No primeiro voltamograma (Figura 15), pode-se observar que o pico correspondente ao nanoCu entre -0,3 e 0,0 V.

Em seus estudos Zheng et.al., (2013), obtiveram resultados semelhantes, quando comparamos os resultados referentes a interação nanoCu e DA, obtivemos um melhor resultado, visto que o pico correspondente ao nanoCu está entre -0,2 e 0,1 V, apresentando assim uma detecção menos sensível, em ambos os trabalhos foi utilizado um mesmo potencial.

Também são obtidos picos redox bem definidos referentes ao eletrodo, além do sinal da DA entre os potenciais +0,4 e +0,8 V (Figura 15), podendo ser comparado com o trabalho de Zheng e colaboradores, 2013 com resultados semelhantes.

Figura 15: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 μM CuSO_4 e 0.06 M H_2SO_4 + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3; (117 μM); adição Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,8 a 1,0 V. (A) dopamina



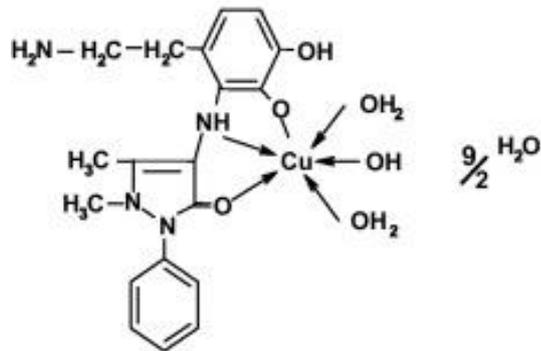
Podemos observar também que o sinal do nanocobre entre os potenciais -0,2 e 0,0 V aumentou com o aumento da concentração de dopamina no meio, indicando a interação entre o nanocobre e a dopamina.

Na superfície do eletrodo durante a varredura anódica -0,6 à 0,8 V, o Cu^0 é oxidado a íons Cu^{2+} (Eq. 3) que reagem com a dopamina para forma um complexo resultando no aumento do sinal.



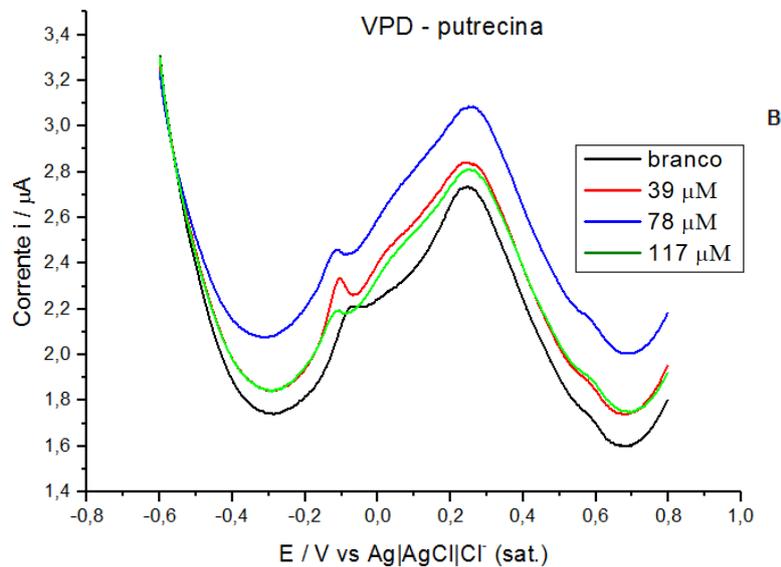
Com base em Gehad e colaboradores (2011), segue uma proposta da reação global que envolve os processos de oxidação entre o cobre e a dopamina (Figura 16).

Figura 16: quelatos de Cu(II) e dopamina. Adaptada de Gehad e colaboradores (2011)



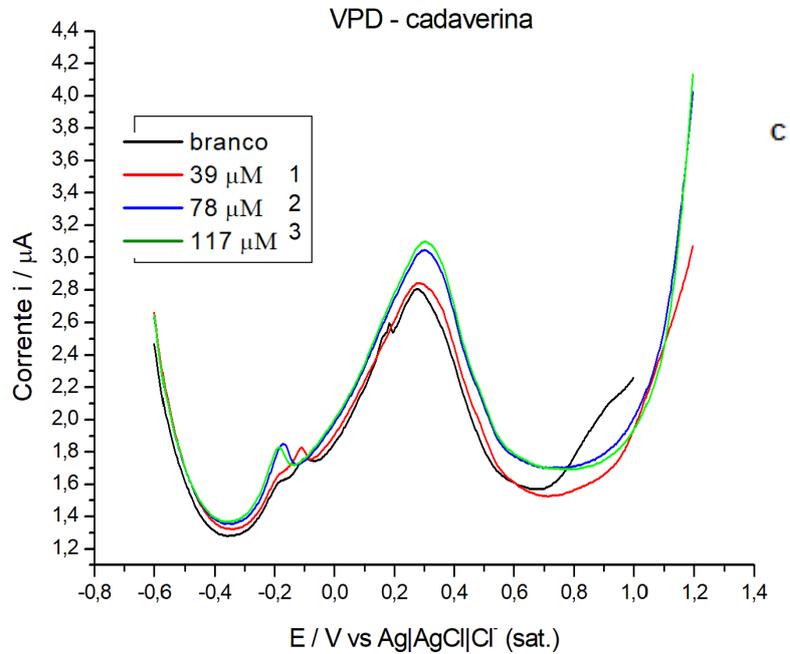
A Figura 17 mostra o voltamograma obtido por voltametria de pulso diferencial para os eletrodos de carbono vítreo modificados por nanocobre na solução de $\text{CuSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$ com e sem $39 \mu\text{M}$ de putrecina. No potencial entre $-0,2$ e $0,0$ V, correspondente ao nanoCu, pode-se observar o aumento do pico anódico, à medida que a concentração da amina na solução aumentou, indicando assim uma possível interação entre a amina e o nanocobre. No entanto não foi possível detectar o pico correspondente ao sinal específico da putrecina.

Figura 17: VPD do VCE/nanoCu em $10.7 \mu\text{M}$ CuSO_4 e 0.06 M H_2SO_4 + $39 \mu\text{M}$ das amins separadamente. Concentrações: adição 1 ($39 \mu\text{M}$); adição 2 ($78 \mu\text{M}$); adição 3; ($117 \mu\text{M}$); adição Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de $-0,8$ a $1,0 \text{ V}$. (B) putrecina



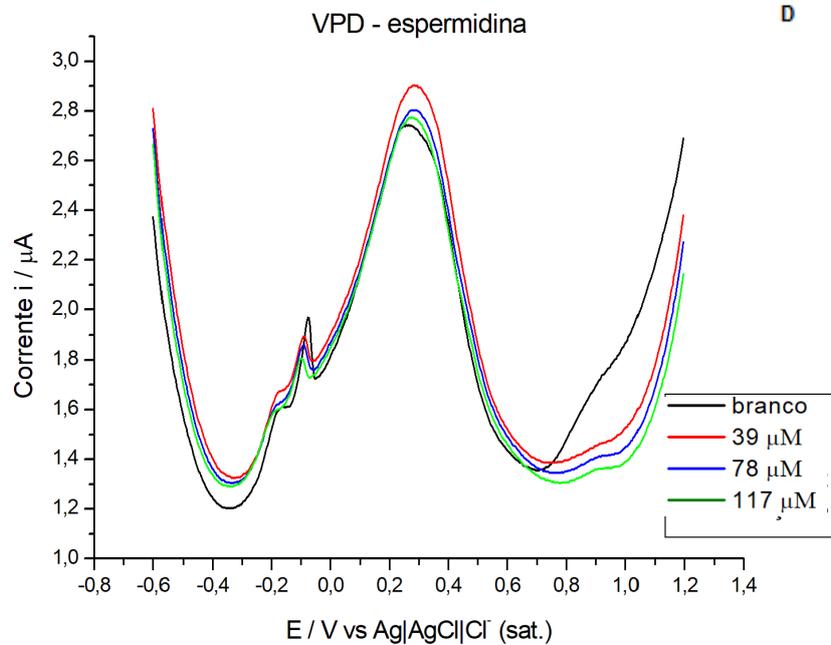
No voltamograma (Figura 18), pode-se observar que o pico correspondente ao nanoCu com potenciais entre $-0,2$ e $0,0 \text{ V}$ sofreu deslocamento e aumento à medida que a concentração da amina na solução aumentou, indicando assim uma possível interação entre a amina e o nanocobre. O sinal específico da cadaverina e a resposta analítica não foram observados, dessa forma a análise não se mostrou favorável, pois não houve sensibilidade a partir da modificação do eletrodo.

Figura 18: VPD do VCE/nanoCu em $10.7 \mu\text{M}$ CuSO_4 e 0.06 M H_2SO_4 + $39 \mu\text{M}$ das amins separadamente. Concentrações: adição 1 ($39 \mu\text{M}$); adição 2 ($78 \mu\text{M}$); adição 3; ($117 \mu\text{M}$); adição Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de $-0,8$ a $1,0 \text{ V}$. (C) cadaverina



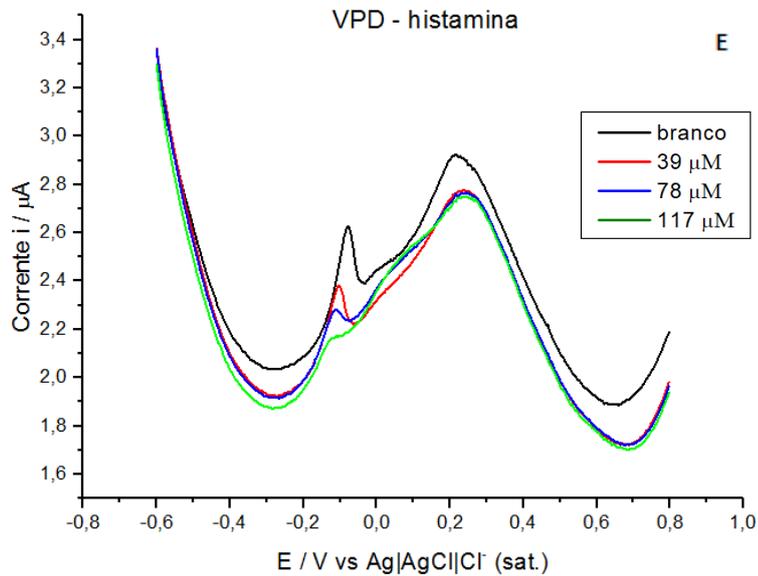
Na Figuras 19 o voltamograma foi obtido por voltametria de pulso diferencial para os eletrodos de carbono vítreo modificados por nanocobre na solução de CuSO_4 + H_2SO_4 com e sem $39 \mu\text{M}$ de espermidina. A análise não apresentou linearidade, sendo assim não favorável para detecção.

Figura 19: VPD do VCE/nanoCu em 10.7 μM CuSO_4 e 0.06 M H_2SO_4 + 39 μM das amins separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3; (117 μM); adição Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,8 a 1,0 V. (D) espermidina.



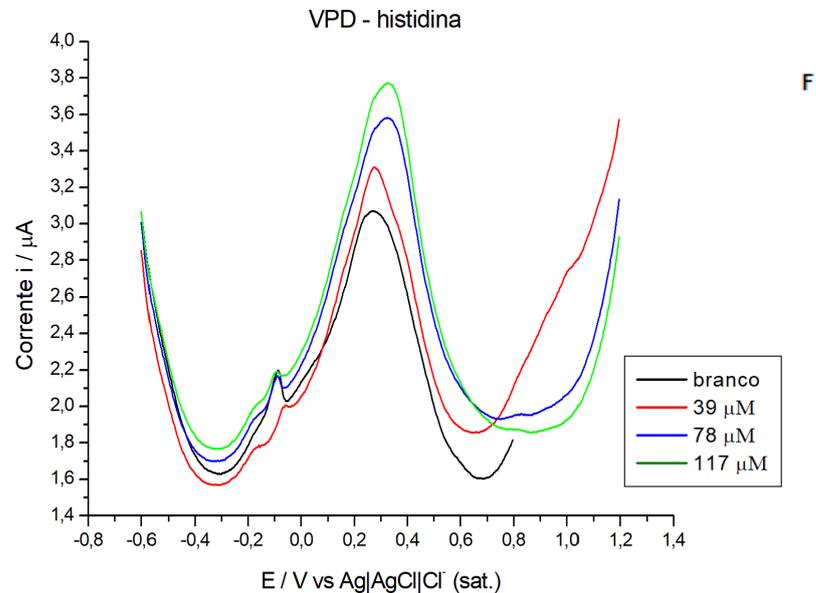
Na Figura 20, o voltamograma foi obtido por voltametria de pulso diferencial para os eletrodos de carbono vítreo modificados por nano-cobre na solução de CuSO_4 + H_2SO_4 com e sem 39 μM de histamina. A análise do voltamograma não apresentou sinal específico para a histamina, não se mostrando favorável para detecção.

Figura 20: VPD do VCE/nanoCu em $10.7 \mu\text{M}$ CuSO_4 e 0.06 M H_2SO_4 + $39 \mu\text{M}$ das amins separadamente. Concentrações: adição 1 ($39 \mu\text{M}$); adição 2 ($78 \mu\text{M}$); adição 3; ($117 \mu\text{M}$); adição Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de $-0,8$ a $1,0 \text{ V}$. (E) histamina.



Na Figura 21, o voltamograma foi obtido por voltametria de pulso diferencial para os eletrodos de carbono vítreo modificados por nanocobre na solução de CuSO_4 + H_2SO_4 com e sem $39 \mu\text{M}$ de histamina. Não foi observado sinal específico para a histamina, como também a ausência de linearidade, o que torna a análise não favorável.

Figura 21: VPD do VCE/nanoCu em 10,7 μM CuSO_4 e 0,06 M H_2SO_4 + 39 μM das amins separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3; (117 μM); adição Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,8 a 1,0 V. (F)



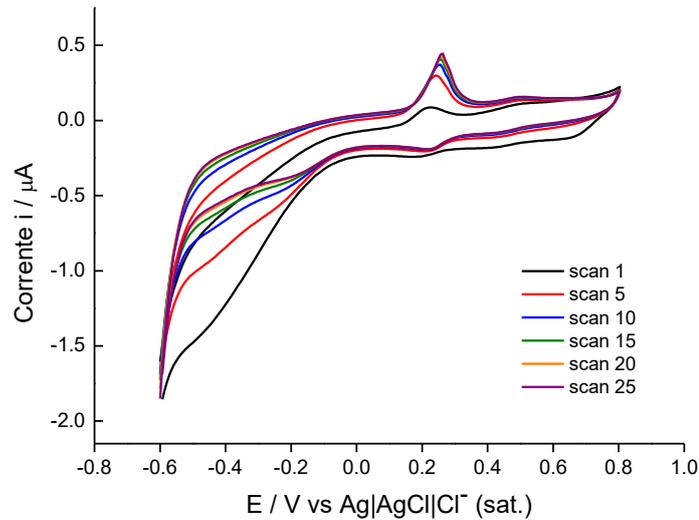
4.1.2. Voltametria cíclica do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocobre/nanocouro

As nanopartículas são sistemas estáveis que podem se adequar a outras moléculas para melhorar sua eficácia, liberação no alvo de ação e até mesmo a biodisponibilidade de substâncias pouco solúveis. Entre essas nanopartículas, a literatura traz exemplo do nanoAu como uma forma de construir biossensores mais seletivos e sensíveis (CHALLA et al., 2005; ZUO et al., 2008).

Diante disso, estudos foram realizados com o eletrodo modificado com nanoCu e nanoAu.

Os resultados estão exibidos na Figura 22. Nota-se, na caracterização eletródica, que existem picos catódicos e anódicos entre 0,1 e 0,4 V, correspondentes a oxidação e redução das nanopartículas de Cu, respectivamente. Nos ciclos contínuos, os picos redox das nanopartículas de Au tendem a ser estáveis após 25 ciclos.

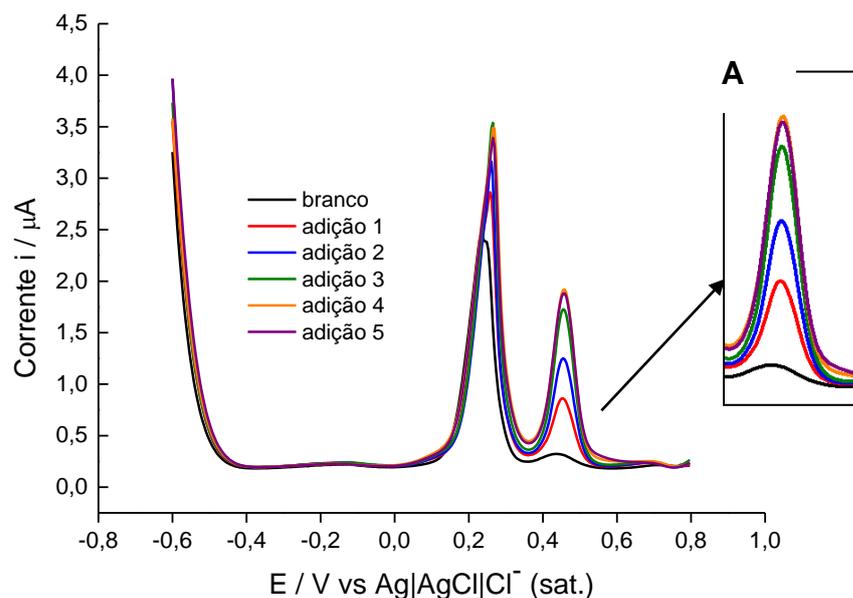
Figura 22: Voltamogramas cíclicos para a modificação do eletrodo de carbono em solução de CuSO_4 10,7 μM + AuCl_2 0,01 μM



Na solução de modificação de CuSO_4 $10,7 \mu\text{M}$ + AuCl_2 $0,01 \text{ M}$ onde foram adicionadas as aminas para que sua concentração fosse $39 \mu\text{M}$, sendo realizadas adições sucessivas. Foram obtidos os voltamogramas a seguir.

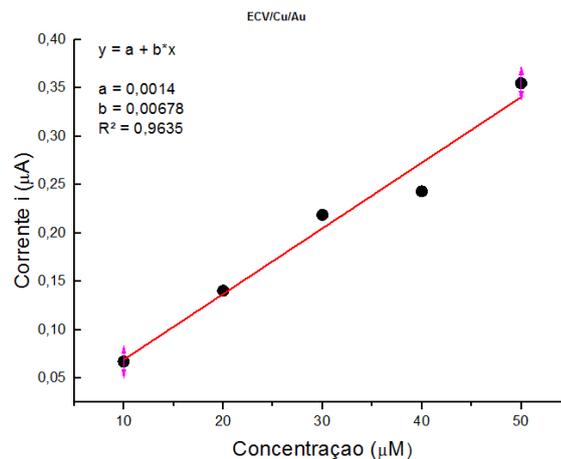
Na figura 23, observa-se o comportamento eletroquímico das nanopartículas em presença da DA, variando a concentração de 39 uM à 193 uM , em tampão fosfato.

Figura 23: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em $10,7 \mu\text{M}$ CuSO_4 e AuCl_2 $0,01 \mu\text{M}$ + $39 \mu\text{M}$ das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 uM); adição 2 (78 uM); adição 3 (117 uM); adição 4 (156 uM); adição 5 (193 uM); Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de $-0,6$ a $0,8 \text{ V}$. DOPAMINA.



No voltamograma, entre os potenciais de 0,4 e 0,6 observa-se um pico anódico crescente, correspondente a adição da dopamina, a crescente é proporcional ao aumento da concentração do meio, ocorrendo linearidade e resposta analítica. A partir disso foi possível desenvolver sua respectiva curva analítica de concentração (Figura 24).

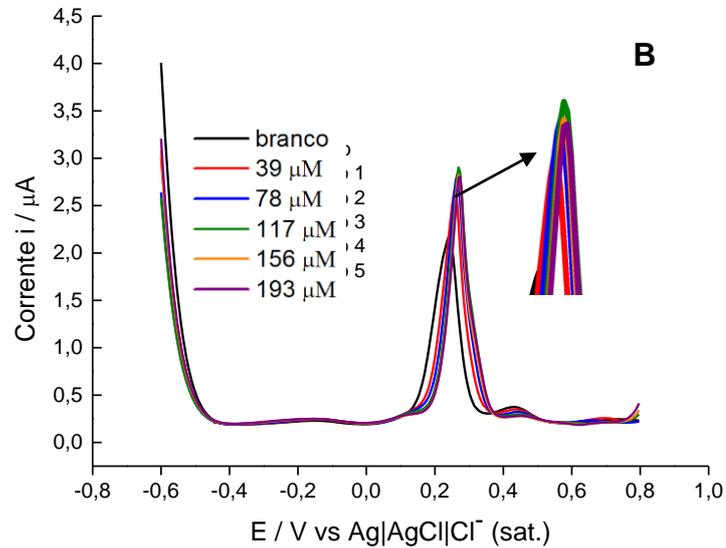
Figura 24: Curvas analíticas da adição de dopamina na faixa de -0,6 a 0,8 V.



Na figura 23 também observou-se um aumento da corrente de pico anódico correspondente ao nanoCu, entre 01 e 0,3 V, este aumento foi proporcional ao aumento das concentrações, representando linearidade nos resultados até a concentração de 117 μM , após essa adição ocorreu uma saturação e o eletrodo perdeu a estabilidade.

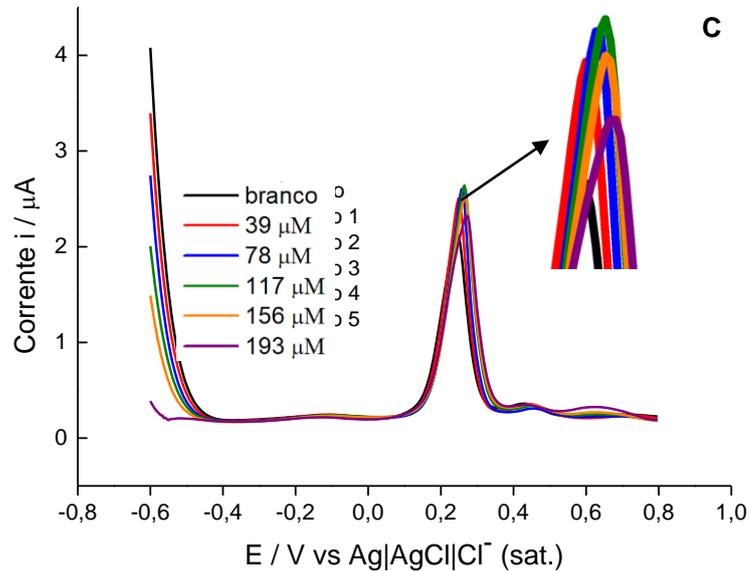
No voltamograma (Figura 24), observa-se o comportamento eletroquímico da putrecina em presença de nanoAu e nanoCu, variando a concentração em tampão fosfato, mostrando que ocorre interação entre as nanopartículas e a amina com o deslocamento e aumento do pico até a concentração de 117 μM . Não foi possível o detectar o sinal específico da putrecina.

Figura 25: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 μM CuSO_4 e AuCl_2 0,01 μM + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3 (117 μM); adição 4 (156 μM); adição 5 (193 μM); Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,6 a 0,8 V. (B) PUTRECINA



A Figura 25 mostra o voltamograma referente ao comportamento eletroquímico da cadaverina em presença de nanoAu e nanoCu, variando a concentração em tampão fosfato, mostrando que ocorre interação entre as nanopartículas e a amina, com o aumento e deslocamento do pico. Não foi possível o detectar o sinal específico da cadaverina.

Figura 26: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 μM CuSO_4 e AuCl_2 0,01 μM + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3 (117 μM); adição 4 (156 μM); adição 5 (193 μM); Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,6 a 0,8 V. ⁹ (C) CADAVERINA



Na figura 26, observa-se o comportamento eletroquímico da histamina em presença de nanoAu e nanoCu, variando a concentração em tampão fosfato, mostrando que ocorre interação entre as nanopartículas e a amina, com o deslocamento e aumento do pico, onde a intensidade de corrente de pico catódico aumentam conforme a concentração do meio, apresentando linearidade e resposta analítica. Dessa forma foi possível desenvolver a curva de concentração referente a histamina (Figura 27). É possível observar o sinal específico da histamina no potencial entre 0,6 e 0,8 V.

Figura 27: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 μM CuSO_4 e AuCl_2 0,01 μM + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3 (117 μM); adição 4 (156 μM); adição 5 (193 μM); Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,6 a 0,8 V. (D) HISTAMINA.

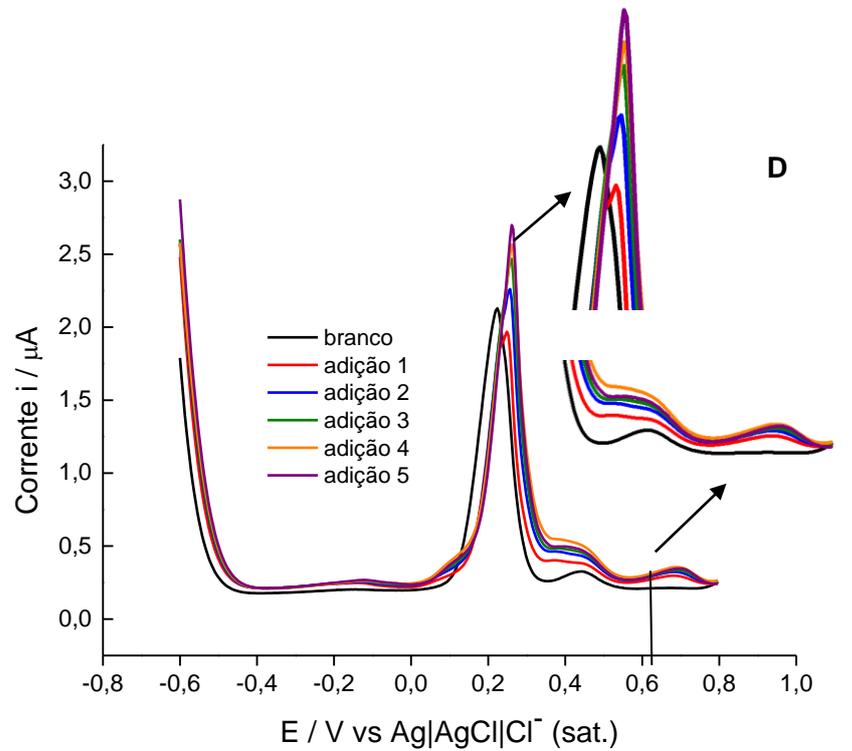
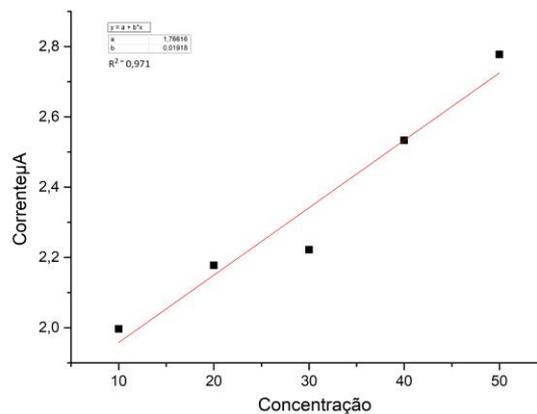
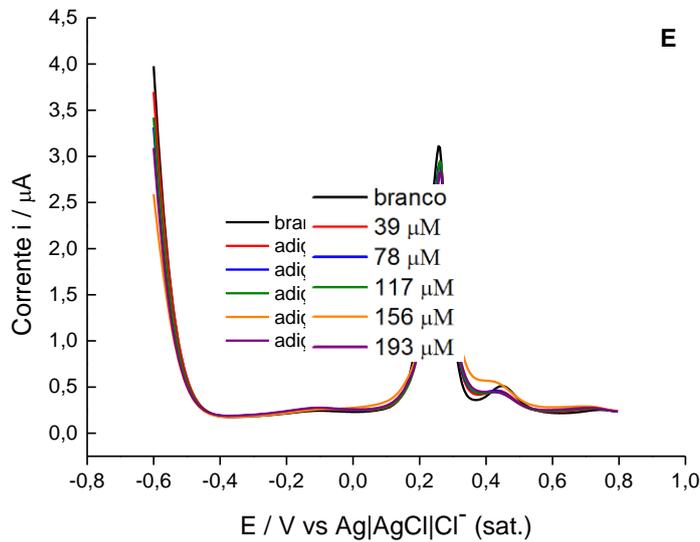


Figura 28: Curvas analíticas da adição de dopamina na faixa de -0,6 a 0,8 V.



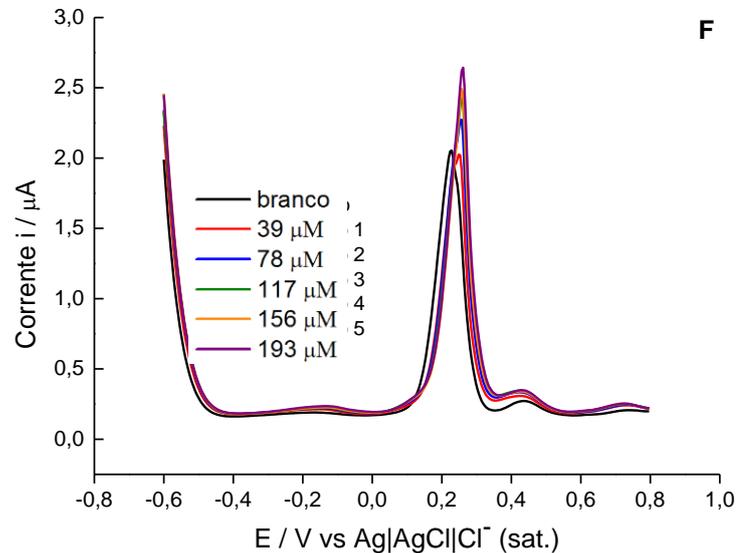
A Figura 28 mostra o voltamograma referente ao comportamento eletroquímico da histidina em presença de nanoAu e nanoCu, variando a concentração em tampão fosfato, mostrando que não ocorre interação entre as nanopartículas e a amina.

Figura 29: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10,7 μM CuSO_4 e AuCl_2 0,01 μM + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3 (117 μM); adição 4 (156 μM); adição 5 (193 μM); Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,6 a 0,8 V. (E)HISTIDINA.



O voltamograma da Figura 29, referente ao comportamento eletroquímico da espermidina em presença de nanoAu e nanoCu, variando a concentração de amostra, mostrando que ocorre interação entre as nanopartículas e a amina com o deslocamento e aumento do pico, onde a intensidade de corrente de pico catódico aumenta conforme a concentração do meio. Não foi possível observar o sinal específico da espermidina no voltamograma.

Figura 30: VPD do VCE/nanoCu/nanoAu em 10.7 μM CuSO_4 e AuCl_2 0,01 μM + 39 μM das aminas separadamente. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3 (117 μM); adição 4 (156 μM); adição 5 (193 μM); Scan : 100 mV s^{-1} na faixa de -0,6 a 0,8 V. (F) ESPERMIDINA.



No trabalho de EL-NOUR et al., 2017 pode-se observar a interação da histamina com nanopartículas de ouro e de cobre utilizadas em um sensor óptico, mostrando assim a viabilidade de um complexo entre histamina e essas nanopartículas.

Alemnew et al., 2014 mostrou a interação das histaminas com eletrodos modificados com nanotubos de carbono. O trabalho aqui apresentado se mostrou sensível para a detecção da histamina sem a utilização de nanotubos, sendo assim um eletrodo mais simples e sensível.

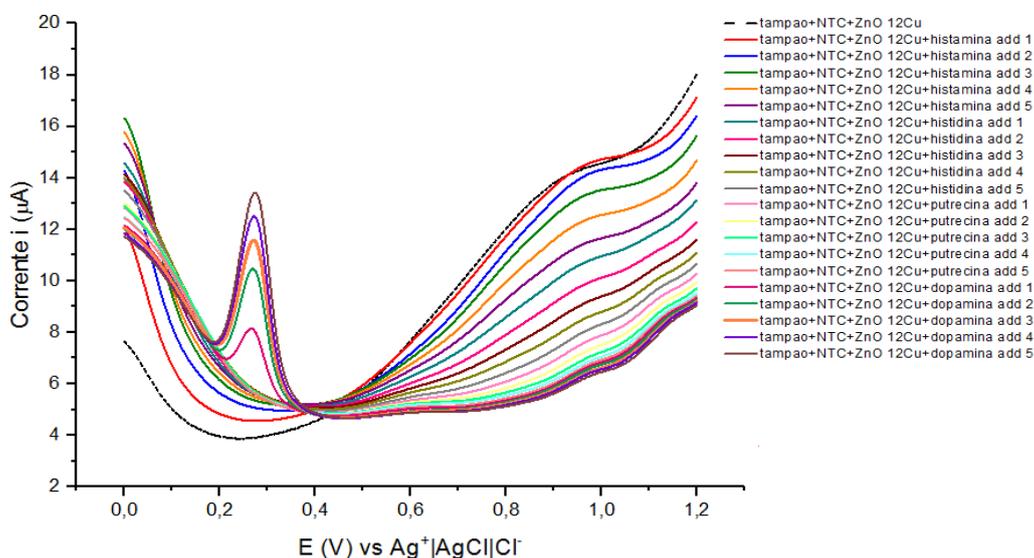
Com exceção da histidina (Figura 30), todos os voltamogramas apresentaram aumento do sinal no pico catódico correspondente a faixa 0,0 e 0,4 V, levando a uma possível interação entre as aminas e as nanopartículas. No entanto não obtivemos resultados sensíveis para as aminas biogênicas.

Quando comparamos os resultados das modificações ECV/nanoCu e ECV/nanoCu/nanoAu, podemos concluir que o nanoAu tornou a análise mais sensível, assim apresentando melhores resultados.

4.3. Estudo Eletroquímico das Aminas biogênicas e Dopamina

A fim de avaliar a sensibilidade do eletrodo modificado com nanocristais, foi realizada análise simultânea das aminas biogênicas (histamina, histidina e putrecina) e dopamina (Figura 31).

Figura 31: Voltamogramas de pulso diferencial ECVNTC/ZnO:12CuO juntamente com adições de concentrações de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentrações: adição 1 (39 μM); adição 2 (78 μM); adição 3 (117 μM); adição 4 (156 μM); adição 5 (193 μM); na faixa de 0,0 a 1,2 V.



A partir da análise do voltamograma (Figura 31), pode-se concluir que as aminas biogênicas não apresentaram resposta eletroquímica, no entanto o sinal da dopamina foi detectado, mesmo na presença das aminas biogênicas, assim, não sofrendo interferência. O sinal da dopamine aparece no potencial entre 0,1 e 0,4 V. Seu sinal apresentou crescente na intensidade de corrente de pico anódico conforme o aumento da concentração do meio.

Após a obtenções desses resultados, apenas a dopamina foi selecionada para seguir nas análises com os nanocristais.

Nesta etapa do trabalho serão apresentados, interpretados e discutidos os resultados obtidos na otimização da metodologia analítica para análise eletroquímica da dopamina.

Para essas análises, o eletrodo de trabalho foi o ECV, eletrodo de carbono vítreo, por ser um sensor com alta sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, facilidade de uso, custo baixo e robustez.

4.3.1 Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e nanocompósitos (ZnO:4Cu e ZnO:12Cu) e as nanopartículas controle (CuO e ZnO)

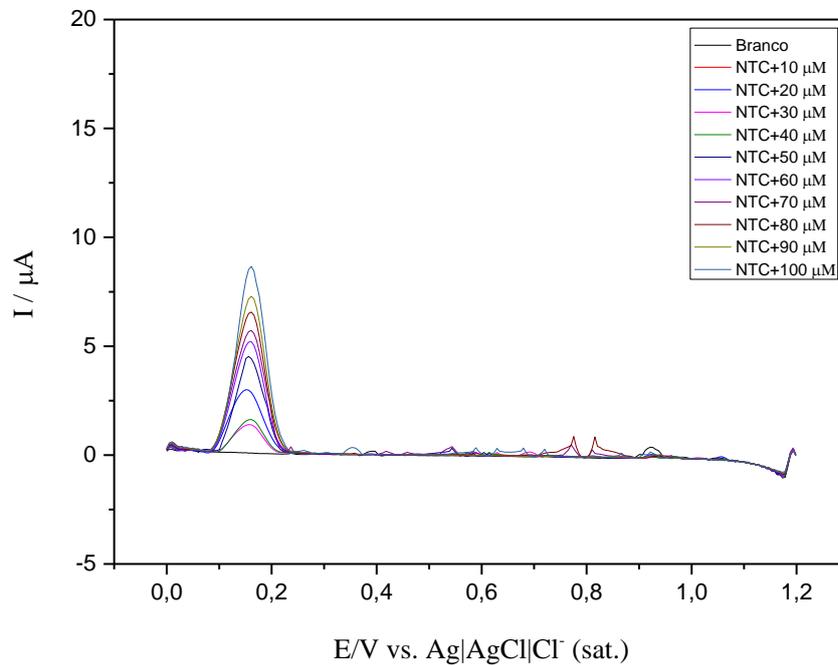
A finalidade dos NTCs é desbloquear os planos de borda, criar defeitos no corpo dos tubos, diminuir tanto do comprimento, quanto do diâmetro dos tubos e favorecer o aparecimento de grupos funcionais, principalmente, grupos carboxilados que se ancoram nos planos de borda e defeitos dos NTC. Esta nanoestruturação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

4.3.2 Eletrodo: Nanotubos de carbono (ECV-NTC)

Iniciamos os testes avaliando apenas a capacidade de detecção dos NTCs.

No voltamograma (Figura 32), observou-se que o aumento da concentração de dopamina no meio, induziu o aumento do pico anódico, mesmo com a ausência de nanocristais, mostrando assim, a sensibilidade que os NTCs apresentam de forma independente.

Figura 32: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC mais adição de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentração das adições: 10 μ M. na faixa de 0,0 a 1,2 V.



Comparando a faixa de potencial onde apareceu o pico anódico referente a oxidação da dopamina (0,1 – 0,3V), com os resultados descritos por Zheng et al., 2013, temos um eletrodo mais sensível, oxidando em menor potencial, que proporciona diminuição nas interferências. Em seu trabalho, Zheng et al., 2013 mostra a oxidação da dopamina acontecendo na faixa de potencial de (0,4 – 0,6 V).

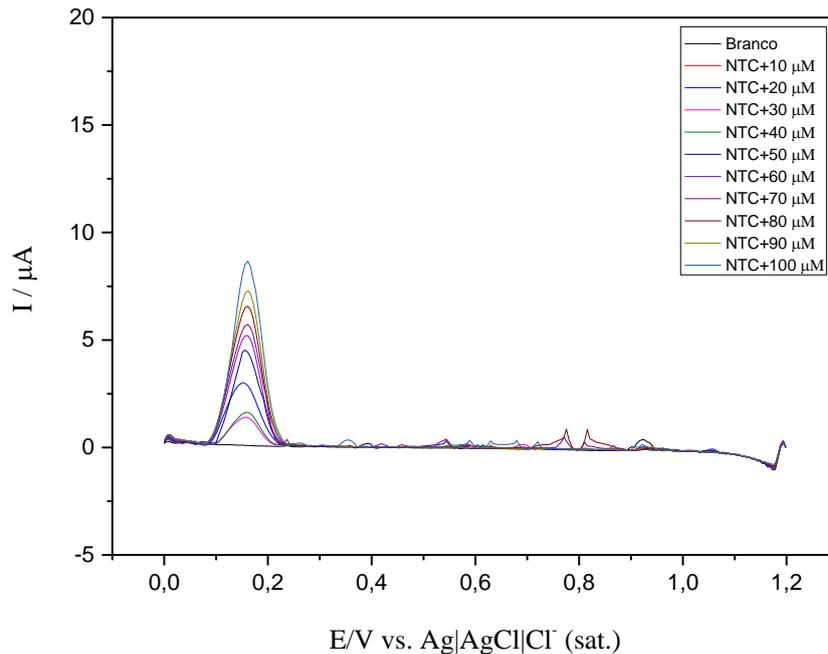
4.3.3 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanocompósitos (ZnO:4Cu)

A resposta analítica das amins em presença dos nanomateriais foi observada por voltametria cíclica, através do aumento da corrente de pico anódico. As medidas foram realizadas em 10,0 mL de tampão acetato (1,0 mol L⁻¹). A velocidade de varredura foi constante e igual a 50 mV s⁻¹ e a faixa de potencial variou entre 0,0 a 1,2 vs.

A partir do voltamograma do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e nanocristais ZnO:4Cu, foi observado um pico de oxidação com

potencial em torno de 0,0 e 0,2 V, relativo à oxidação da dopamina (Figura 33), mostrando assim que houve interação da mesma com o eletrodo. Apresentou LD 50-90 μL e $R^2 = 0,995$. Quando comparado com o eletrodo modificado apenas com NTCs, este apresentou um menor limite de detecção.

Figura 33: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/ZnO:Cu4 mais adição de dopamina



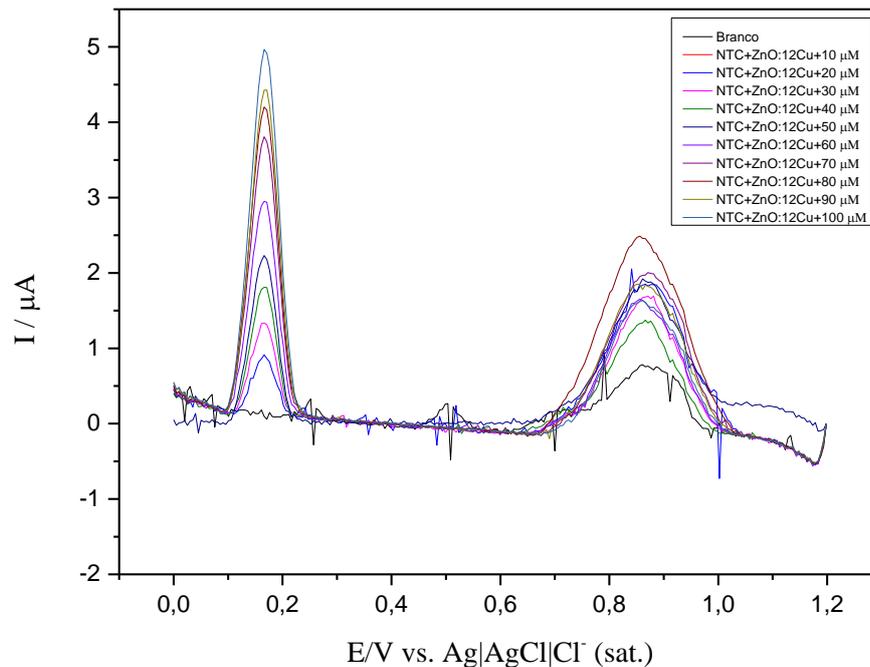
Em comparação aos resultados do eletrodo modificado apenas com NTCs, a presença dos nanocristais de cobre nessa modificação não apresentou grande influência nos sinais de oxidação da dopamina.

4.3.4 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanocompósitos (ZnO:12Cu)

Ao analisar o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e nanocristais de ZnO:12Cu, foi observado um pico de oxidação da dopamina com potencial em torno de 0,1 e 0,4V (Figura 34), mostrando assim que houve interação da mesma com o eletrodo. O fato de a concentração de cobre ter aumentado não interferiu

da resposta eletroanalítica, sendo assim, se torna viável continuar os estudos utilizando o óxido com menor concentração de cobre.

Figura 34: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/ZnO:12CuO mais adição de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentração das adições: 10uM. na faixa de 0,0 a 1,2 V.



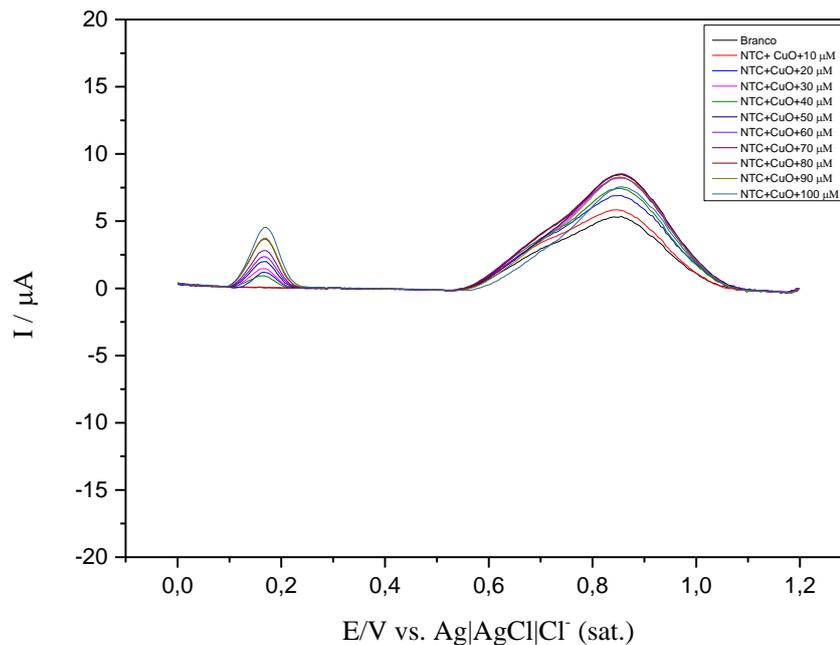
Ao analisar o voltamograma (Figura 34), pode-se notar que além do pico anódico da dopamina entre os potenciais 0,0 e 0,2 V, é visível o pico anódico do cobre entre os potenciais 0,8 e 1,0 V, esse sinal passou a ser percebido, devido o aumento da concentração de cobre nos nanocristais. O eletrodo apresentou LD 30-100 μL e $R^2 = 0,998$.

4.3.5 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanopartículas de CuO

Analisando o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e nanocristais de CuO, foi observado um pico de oxidação com potencial entre 0,2 e 0,4V vs. relativo à oxidação da dopamina (Figura 35), mostrando assim que houve interação da mesma com o eletrodo e presença de linearidade. No potencial entre 0,6 e 1,1V, é

possível observar o pico anódico referente ao nanocobre, que apresenta valores maiores referentes as correntes, visto que sua concentração na superfície do eletrodo aumentou.

Figura 35: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/CuO mais adição de: dopamina; histamina; histidina; putrecina. Concentração das adições: 10uM. na faixa de 0,0 a 1,2 V.



A partir do voltamograma é possível identificar que essa modificação foi entre todas a menos sensível. A diminuição da corrente quando comparada com as análises anteriores, nos permite concluir que esta foi até aqui a análise menos sensível. Pode-se observar também o pico entre 0,6 – 1,0 referente ao cobre que aparece em maior concentração nessa modificação. Esse eletrodo apresentou LD 20-100 μL e $R^2 = 0,991$

4.3.6 Eletrodo: Nanotubos de carbono e nanopartículas de ZnO

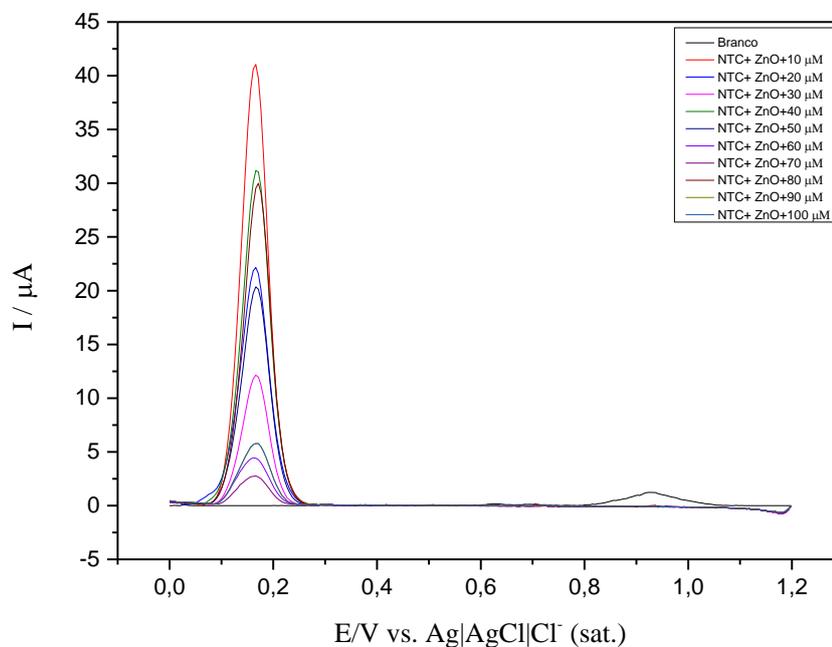
Um sensor de NTC foi produzido para realização dos estudos, de modo a servir de suporte para as nanopartículas na superfície do eletrodo. A literatura já relata a eficiência na associação de NTC e nanopartículas (ZENG et al., 2007; ZHU et al., 2009; WU et al.,

2016), acontecendo de maneira ainda mais forte na superfície eletrolítica do carbono vítreo.

A partir da análise do voltamograma (Figura 36), podemos avaliar a interação dos NTCs e as nanopartículas de ZnO com a dopamina.

A modificação com nanocristais de ZnO apresentou o melhor resultado dentre os eletrodos modificados com nanocristais e apenas NTC. Apresentando correntes com valores maiores no pico de oxidação referente a dopamina, no potencial entre 0,1 e 0,2V.

Figura 36: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/ZnO mais adição de dopamina.

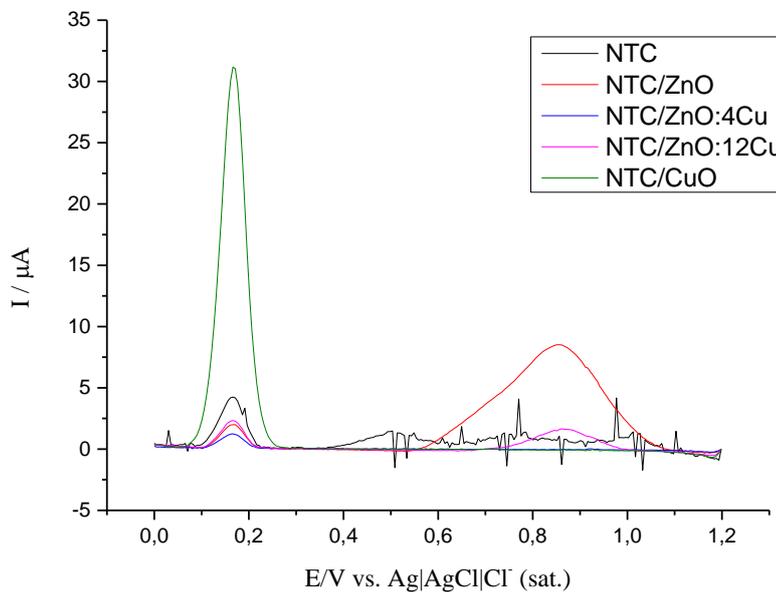


Em seus estudos, Zhang et al 2007, obtiveram uma maior sensibilidade e seletividade ao utilizarem ZnO para detecção simultânea de tirosina e levodopa, no entanto, trata-se de um eletrodo quem pois mais de um nanomaterial. Segundo Pandikumar et al., O ZnO do tipo flor/óxido de grafeno reduzido, também apresentou capacidade eletrocatalítica superior para a oxidação do nitrito com menor sobre potencial e maiores correntes de pico anódico. Essas descobertas demonstram que os nanocompósitos de ZnO podem gerar um efeito catalítico sinérgico em relação aos analistas alvo, reduzindo assim o sobrepotencial e aumentando as correntes de pico de resposta dos analistas alvo. Este eletrodo apresentou LD 20-90 μL e $R^2 = 0,989$.

O voltamograma (Figura 37) traz um compilado de todos os eletrodos modificados, a fim de fazer um estudo comparativo.

Para isso foi selecionado apenas uma concentração (50 μ M) para todos eletrodos modificados, buscando assim o eletrodo modificado que apresenta melhor seletividade em uma concentração específica.

Figura 37: Voltamogramas de pulso diferencial ECV-NTC/nanoZnO para todas as modificações analisando apenas uma concentração da dopamina; Concentração das adições: 10 μ M. na faixa de 0,0 a 1,2 V.



A partir da análise do voltamograma (Figura 37), pode-se concluir que o eletrodo que se mostrou mais sensível na detecção da dopamina foi o ECVNTC/ZnO, pois apresentou a maior corrente quando comparado aos demais. O que justifica as nanopartículas de ZnO serem consideradas um dos materiais mais atraentes devido à sua notável atividade eletrocatalítica, e por sua superfície do ZnO possuir grupos -OH abundantes, que promovem grandemente a adsorção de dopamina na superfície do eletrodo através da interação de ligação de hidrogênio. (SHETTI et al., 2019 WANG et al., 2018).

O princípio de funcionamento do sensor é ilustrado na Figura 38 e baseia-se no processo de oxidação enzimática. Neste processo, a dopamina em contato com os nanotubos, na presença de oxigênio molecular, é oxidada para a sua respectiva o-

quinona e, subsequentemente reduzida eletroquimicamente na superfície do sensor. A corrente obtida na redução eletroquímica da o-quinona é proporcional à concentração de dopamina e utilizada na quantificação deste analito.

Figura 38: Representação esquemática dos materiais usados como modificadores na construção do sensor eletroquímico e proposta de funcionamento baseada na oxidação da dopamina catalisada pelos nanotubos de carbono e os óxidos.

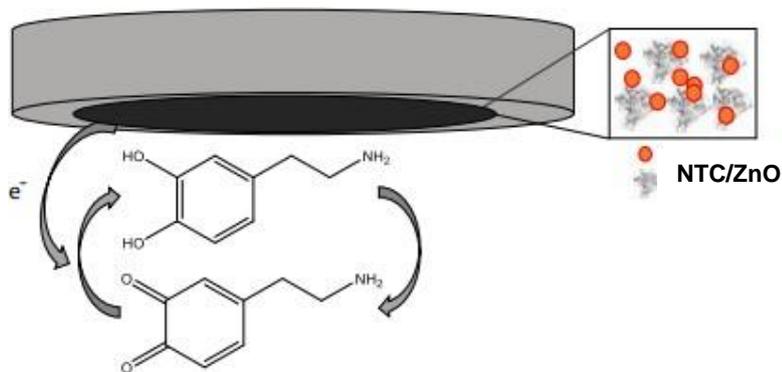


Tabela 2: mostra a faixa linear de concentração para todos os eletrodos modificados. Todas as curvas foram feitas com o mínimo de cinco pontos.

Tipo de modificação	F.L.	a	b	r
<i>NTC</i>	20-90 μL	0,062 \neq 0,002	1,54 \neq 1,90	0,997
<i>NTC/ZnO:4Cu</i>	50-90 μL	0,044 \neq 0,002	-1,00 \neq 1,77	0,995
<i>NTC/ZnO:12Cu</i>	30-100 μL	0,052 \neq 0,0012	-2,90 \neq 7,98	0,998
<i>NTC/CuO</i>	20-100 μL	0,046 \neq 0,003	1,12 \neq 2,15	0,991
<i>NTC/ZnO</i>	20-90 μL	0,035 \neq 0,002	3,62 \neq 1,49	0,989

Os valores de alta sensibilidade registrados na Tabela 3, mostraram que os eletrodos desenvolvidos desse trabalho são promissores. Apresentaram melhores resultados quando comparados a outros,

Baseado nisso, o eletrodo que apresentou a modificação mais sensível para detecção da dopamina com base no limite de detecção foi o *ECVNTC/ZnO*. Os limites de detecção obtido para *ECVNTC/ZnO:4Cu* e *ECVNTC/ZnO:12Cu* também se mostraram favoráveis, a sensibilidade e seletividade apresentadas

Os resultados das modificações com nanocristais foram menos sensíveis que os resultados apresentados por H. Ke-Jing e colaboradores (2014), isso se deve ao fato deste eletrodo ser mais complexo.

Tabela 3: Comparação de diferentes sensores eletroquímicos para a determinação de dopamina.

Material do eletrodo	Faixa linear de concentração (μL)	LD (μM)	Referências
<i>PANI-NF/Pt</i>	2,0–10 e 40–400	33.3	Bagherzadeh, 2015
<i>MWCNT/b-CD</i>	0 – 0,5	37	Alarco'n, 2008
<i>ECV/AuNPs/MoS2-PANI</i>	1–500	0.1	H. Ke-Jing
<i>NTC/ZnO</i>	20-90	7,58	Este trabalho
<i>NTC/ZnO:4Cu</i>	50-90	9,31	Este trabalho
<i>NTC/ZnO:12Cu</i>	30-100	12,58	Este trabalho
<i>NTC/CuO</i>	20-100	14,08	Este trabalho
<i>NTC</i>	20-90	13,50	Este trabalho

5. CONCLUSÃO

Desenvolveu com sucesso três eletrodos sensíveis a amins biogênicas. O eletrodo contendo nanoCu apresentou análise sensível para a dopamina. O eletrodo nanoAu apresentou análise sensível para a dopamina e para histamina, devido ao aumento da corrente referente ao pico de oxidação das amins em função da concentração, mostrando viabilidade de seu uso para aumentar sua solubilidade sem afetar o grupamento químico responsável por sua atividade biológica.

Os eletrodos contendo NTC e nanocompositos ZnO Cu apresentaram os melhores resultados, em que a maior concentração de CuO foi a melhor. Assim, comprovamos o sinergismo entre os nanomateriais e a sua eficiente sensibilidade.

Foi demonstrado que este eletrodo pode ser utilizado para a determinação de DA em amostras reais, como formulações injetáveis de DA e urina humana.

REFERÊNCIAS

ABU-SHAWISH, H. M.; SAADEH, S. M.; DALLOUL, H. M.; NAJRI, B.; ATHAMNA, H. A. Modified carbon paste electrode for potentiometric determination of silver (I) ions in burning cream and radiological films. **Sensors and Actuators B**, 182 374- 381, 2013. 201,2003.

ANTOINE FR, WEI CI, LITTELL RC, et al. Free amino acids in dark- and white-muscle fish as determined by o-phthaldialdehyde precolumn derivatization. **J Food Sci**; 66: 72–77. 2001

ANDRADE SDCS, Mársico ET, Godoy RL de O, et al. Chemical Quality Indices for Freshness Evaluation of Fish. **J Food Stud**; 3: 71–87. 2014

ATTA, N. F., ALI, S. M., EL-ADS, E. H., GALAL, A. Nano-perovskite carbon paste composite electrode for the simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. **Electrochimica Acta**, 128, 16–24, 2014.

AMORIM, S. R.; KLIER, A. H.; ANGELIS, L. H. Controle de qualidade na indústria farmacêutica: identificação de substâncias por espectroscopia no infravermelho. **Rev Bras Farm**, v. 94, n. 3, p. 234-242, 2013.

ARRIBAS, A. S.; MORENO, M.; FERNANDEZ, M. M.; BERMEJO, E.; ZAPARDIEL, A.; CHICHARRO, M. Effect of edge plane sites, oxygenated species and metallic impurities upon the electroactivity of carbon nanotube-modified electrodes toward hydrazine. **Sensors and Actuators B**, 182, 31-39, 2013.

ATTA, N. F., ALI, S. M., EL-ADS, E. H., GALAL, A. Nano-perovskite carbon paste composite electrode for the simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. **Electrochimica Acta**, 128, 16–24, 2014.

AMORIM, S. R.; KLIER, A. H.; ANGELIS, L. H. Controle de qualidade na indústria farmacêutica: identificação de substâncias por espectroscopia no infravermelho. **Rev**

Bras Farm, v. 94, n. 3, p. 234-242, 2013.

BAREK, J.; FOGG, A.G.; MUCK, A.; ZIMA, J. Polarography and voltammetry at mercury electrodes. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**. v.31, n.4, p.291-309, 2001.

BRETT, C. M. A; OLIVEIRA-BRETT, A. M. **Electrochemistry**. Principles, Methods and Applications. Oxford, UK. 464p 1993.

Brasil. Farmacopeia Brasileira, volume 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

CARDOZO M, LIMA KSC, FRANÇA TCC, et al. Biogenic Amines: A Public Health Problem. **Rev Virtual Quim**; 5: 149–168, 2013.

CALIXTO, C. M. F; DOS SANTOS, S. X; CAVALHEIRO, É. T. G. Eletrodo compósito à base de grafite-Araldite®: aplicações didáticas-parte II. **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 367- 372, 2014.

CARMO, D. R. Óxido de grafeno quimicamente modificado com o dendrímero PAMAM G.0 para aplicação eletroanalítica, 2018.

CHRZESCIJANSKA, E.; WUDARSKA, E.; KUSMIEREK, E.; RYNKOWSKI. Study of acetylsalicylic acid electroreduction behavior at platinum electrode. **Journal of Electroanal. Chem.**, 713, 17-21, 2014.

CHOU, Y. C.; TAI, C. Y.; LEE, J. F.; CHAN, T. S.; ZEN, J. M. A nanostructured AuCu₃ alloy electrode for highly sensitive detection of hydrazine at low potential in neutral medium. **Electrochim. Acta**, 104, 104-109, 2013.

CARDOZO M, LIMA KSC, FRANÇA TCC, et al. Biogenic Amines: A Public Health Problem. **Rev Virtual Quim**; 5: 149–168, 2013.

CRESPIELHO, F. N.; REZENDE, M. O. O. Eletrodos de pasta de carbono modificados de Azeredo, Flaubertt S. Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em produtos fitoterápicos. **Revista eletrônica de Farmácia**, v. 1, n. 2, 2004.

CHRZESCIJANSKA, E.; WUDARSKA, E.; KUSMIEREK, E.; RYNKOWSKI. Study of acetylsalicylic acid electroreduction behavior at platinum electrode. **Journal of Electroanal. Chem.**, 713, 17-21, 2014.

CESARINO, I.; CESARINO, V.; LANZA, M. R. V. Carbon nanotubes modified with antimony nanoparticles in a paraffin composite electrode: Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim. **Sensors and Actuators B**, 188, 1293-1299, 2013.

DALE, P.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A. S.; MCNAMARA, J. O. & white, I. E. **Neuroscience**, 4^a ed, Sunderland, Sinauer Associates, p.137. 2008.

DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S.; AVACA, L.A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Quim. Nova**, Vol. 26, No. 1, 81-89, 2003.

DE FIGUEIREDO TC, DE ASSIS DCS, Menezes LDM, et al. HPLC-UV method validation for the identification and quantification of bioactive amines in commercial eggs. *Talanta* 142: 240–245, 2015.

DA FONSECA, J.C.L. Drogas vasoativas-Uso racional. *Rev socerj*, v. 14, n. 2, p. 49, 2001.

DE AZEREDO, FLAUBERTT S. Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em produtos fitoterápicos. **Revista eletrônica de Farmácia**, v. 1, n. 2, 2004.

DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S.; AVACA, L.A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Quim. Nova**, Vol. 26, No. 1, 81-89, 2003.

DE OLIVEIRA, R.; PISSETTI, F.L.; LUCHO, A.M.S. Eletrodos de fto modificados por eletrodeposição direta de ouro: produção, caracterização e aplicação como sensor eletroquímico. **Quim. Nova**, Vol. 39, No. 2, 146-155, 2016.

DANHEL, A.; RAINDOVA, V.; HAVRAN, L.; PIVONKOVA, H.; HOCEK, M.; FOITA, M. Electrochemical behaviour of 2,4-dinitrophenylhydrazine as multi-redox centre DNA label at mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode. **Electrochim. Acta**, 126, 122-131, 2014.

DE ARAUJO, W. R.; PAIXÃO, T. R. L. C. Use of copper electrode for melamine quantification in milk. **Electrochim. Acta**, 117, 379-384, 2014.

DICULESCU, V. C.; MILITARU, A.; SHAH, A.; QURESHI, R.; TUGULEA, L.; BRETT, A. M. O Redox mechanism of lumazine at a glassy carbon electrode. **J. Electroanal. Chem.**, 647, 1-7, 2010.

DE AZEREDO, FLAUBERTT S. Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em produtos fitoterápicos. **Revista eletrônica de Farmácia**, v. 1, n. 2, 2004.

DE OLIVEIRA, R.; PISSETTI, F.L.; LUCHO, A.M.S. Eletrodos de fto modificados por eletrodeposição direta de ouro: produção, caracterização e aplicação como sensor eletroquímico. **Quim. Nova**, Vol. 39, No. 2, 146-155, 2016.

DANHEL, A.; RAINDOVA, V.; HAVRAN, L.; PIVONKOVA, H.; HOCEK, M.; FOITA, M. Electrochemical behaviour of 2,4-dinitrophenylhydrazine as multi-redox centre DNA label at mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode. **Electrochim. Acta**, 126, 122-131, 2014.

DALE, P.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A. S.; MCNAMARA, J. O. & WHITE, I. E. **Neuroscience**, 4^a ed, Sunderland, Sinauer Associates, p.137. 2008.

DE SOUZA, D.; MACHADO, S.A.S.; AVACA, L.A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Quim. Nova**, Vol. 26, No. 1, 81-89, 2003.

DICULESCU, V. C.; MILITARU, A.; SHAH, A.; QURESHI, R.; TUGULEA, L.; BRETT, A. M. O. Redox mechanism of lumazine at a glassy carbon electrode. **J. Electroanal. Chem.**, 647, 1-7, 2010.

ESATBEYOGLU T, EHMER A, CHAIZE D, et al. Quantitative Determination of Spermidine in 50 German Cheese Samples on a Core-Shell Column by High-Performance Liquid Chromatography with a Photodiode Array Detector Using. 2008.

FRITZEN-GARCIA, M. B.; OLIVEIRA, I. R. W. Z.; ZANETTI-RAMOS, B. G.; FATIBELLO-FILHO, O.; SOLDI, V.; PASA, A. A.; Creczynski-Pasa, T. B. Carbon paste electrode modified with pine kernel peroxidase immobilized on pegylated polyurethane nanoparticles. **Sensors and Actuators B**, 139, 570-575, 2009.

FERREIRA IMPLVO, PINHO O. Biogenic amines in Portuguese traditional foods and wines. **J Food Prot** ; 69: 2293–2303. 2006

FARGHALY, O.A.; ABDEL HAMEED, R. S.; ABU-NAWWAS H. **Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques**. Int. **J. Electrochem. Sci.**, vol 9, 2014.

FARGHALY, O.A.; ABDEL HAMEED, R. S.; ABU-NAWWAS H. Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques. Int. **J. Electrochem. Sci.**, vol 9, 2014.

FILHO, A. G. DE S.; FAGAN, S. B., Funcionalização de nanotubos de carbono, **Quim. Nova**, 30: 1695, 2007.

HALEEM, R. M., SALEM, M. B., FATAHALLAH, F. A., ABDEL FATTAH, L. E. Quality in the pharmaceutical industry - A literature review. **Saudi Pharm J**, in press, 2014.

HERNÁNDEZ, V. A.; SCHOLZ, F. The lipid composition determines the kinetics of adhesion and spreading of liposomes on mercury electrodes. **Bioelectroch.**, 74, 149-146, 2008.

HOFFMAN, B. B. Catecholamines – **Encyclopedia of Endocrine Diseases**, Four Volume- Set, Amsterdam, Academic Press, p 480. 2004.

HONÓRIO, G. G.; AZEVEDO, G. C.; MATOS, M. A. C.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; MATOS, R. C. Use of boron-doped Diamond electrode pre-treated cathodically for the determination of trace metals in honey by differential pulse voltammetry. **Food Control**, 36, 42-48, 2014.

H.-H. STREHLOW, B. TITZE, **Electrochim. Acta** 25. 839–850. 1980. IJIMA, S., Helical Microtubules of graphitic carbon, **Nature**, 354: 56, 1991.

ISSE K.F. A indústria farmacêutica nacional e a importância dos medicamentos genéricos no seu desenvolvimento. [Dissertação] Porto Alegre: Faculdade de Ciências Econômicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2011.

JOH, T. H. & HWANG, O. "Dopamine beta-hydroxylase: biochemistry and molecular biology". **Annals of the New York Academy of Sciences**, 493: 342, 1987.

KARAMAN, Y. Investigation of electrochemical behavior of calmagite at a glassy carbon electrode. **Dyes and pigments**, 106, 39-44, 2014.

LÁZARO DE LA TORRE CA, CONTE-JUNIOR CA. Chromatographic methods for biogenic amines determination in foods of animal origin. **Braz J Vet Res Anim Sci**; 50: 430– 446. 2013

LEITE, S.N, VIEIRA M, VEBER A.P. Estudos de utilização de medicamento e síntese de artigos publicados no Brasil e América Latina. **Ciênc Saúde Colet**. 2008.

LIMA, J. G.; BANDEIRA, F.; BANDEIRA, C. H.; PAULA, M.; NÓBREGA, M. L. C.; COSTA, S.O. & NÓBREGA, L. H. C. “Mínimas alterações hormonais em paciente com grandefecromocitoma”. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, 50: 145, 2006.

MENDES A.S. Controle de qualidade em processo aplicado à manipulação magistral. *Revista Racine*.57:1-7,2000.

LI, M. R.; DENG, C. Y.; CHEN, C.; PENG, L. M.; NING, G. H.; XIE, Q. J. & YAO, S.MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A.; KHALAFI, L. & MOHAMMADNEJAD M. “Spectrophotometric determination of catecholamines based on their oxidation reaction followed by coupling with 4-aminobenzoic acid”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **17**: 1259, 2006.

LUPETTI, K. O., RAMOS, L. A., FATIBELLO-FILHO, O. Determinação enzimática de dopamine em formulações farmacêuticas utilizando sistema de análise por injeção em fluxo com extrato bruto de abacate (*Persea americana*). **Quim.Nova**, 26(2), 197-201,2003.

LUPETTI, K. O., RAMOS, L. A., FATIBELLO-FILHO, O. Determinação enzimática de dopamina em formulações farmacêuticas utilizando sistema de análise por injeção em fluxo com extrato bruto de abacate (*Persea americana*). **Quim. Nova**, 26(2), 197-201,2003.

LI, N.; GUO, J. Z.; LIU, B.; YU, Y. Q.; CUI, H.; MAO, L. Q. & LIN, Y. Q. LUZ, R. C. S. et al., Electro catalysis of reduced l-glutathione oxidation by iron (III) tetra-(N-methyl- 4-pyridyl) – porphyrin (FeT4MPyP) adsorbed on multi-walled carbon nanotubes, *Talanta*, 76: 1097, 2008.

MALAGUTTI, A. R. et al. Utilização de instrumentação eletroanalítica lab-made para o estudo e determinação de fármacos, vitaminas e pesticidas. **Revista Analytica**, São Paulo, 2003.

MAHANTHESHA, K. R., KUMARA S B. E. Pretreated/Carbon paste electrode based voltammetric sensors for the detection of dopamine in presence of ascorbic acid and uric acid. **J Electroanal Chem** , 703, 1–8, 2013.

MOORCROFT, M.J.; NEI L.; DAVIS, J.; COMPTON, R.G.; Enhanced electrochemical detection of nitrite and nitrate at a Cu-30Ni alloy electrode, *Anal. Lett.* 33, 3127-3137, 2000.

MAHANTHESHA, K. R.; SWAMY, B. E. K. Pretreated/carbon paste electrode based voltammetric sensors for the detection of dopamine in presence of ascorbic acid and uric acid. **J. Electroanal. Chem.**, 703, 1-8, 2013.

MENDES A.S. Controle de qualidade em processo aplicado à manipulação magistral. **Revista Racine**.57:1-7,2000.

MALAGUTTI, A. R. et al. Utilização de instrumentação eletroanalítica lab-made para o estudo e determinação de fármacos, vitaminas e pesticidas. **Revist Analytica**, São Paulo, 2003.

MAHANTHESHA, K. R., KUMARA S B. E. Pretreated/Carbon paste electrode based voltammetric sensors for the detection of dopamine in presence of ascorbic acid and uric acid. **J Electroanal Chem** , 703, 1–8, 2013.

MARTINIANO, L. C.; ABRANTES, V. R.; NETO, S. Y.; MARQUES, E. P.; FONSECA, T. C. O.; PAIM, L. L.; SOUZA, A. G.; STRADIOTTO, N. R.; AUCÉLIO, R. Q.; CAVALCANTE, G. H. R.; MARQUES, A. L. B. Direct simultaneous determination of Pb(II) and Cu(II) in biodiesel by anodic stripping voltammetry at a mercury-film electrode using microemulsions. *Fuel*, 103, 1164-1167, 2013.

MAÑES, J., MARI, J., GARCIA, R., FONT, G. Liquid chromatographic determination of hydralazine in human plasma with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde pre-column derivatization. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**. v. 8, p. 795-798, 1990.

MARTIN, C. S., DADAMOS, T. R. L., TEIXEIRA, M. F. S. Development of an electrochemical sensor for determination of dissolved oxygen by nickel-salen polymeric film modified electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**. v.175, p. 111-117, 2012.

MATHEW, M., SANDHYARANI, N. A novel electrochemical sensor surface for the detection of hydrogen peroxide using cyclic bisureas/gold nanoparticle composite. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 28, p. 210-215, 2011.

MURRAY, R. W., MOSES, P. R. Chemically Modified Tin Oxide Electrode. **Analytical Chemistry**. v. 47, p.1882-1886, 1975.

MERKOÇI, A. et al., New materials for electrochemical sensing VI: carbon nanotubes, *Trends in Anal. Chem*, 24: 826, 2005.

OSTINI, F. M. et al. O uso de drogas vasoativas em terapia intensiva. *Medicina (Ribeirao Preto. Online)*, v. 31, n. 3, p. 400-411, 1998.

ORIVE, P. Y-S. (Bio)sensores electroquímicos basados em electrodos de superficie estructurada con nanotubos de carbono, *Boletín de la sociedad Española de Química Analítica*, 13: 10, 2006.

PACHECO, W. F., SEMAAN, F. S., ALMEIDA, V. G. K., RITTA, A. G. S. L., AUCÉLIO, R. Q. Voltamétrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Rev Virtual Quim**, 5, 4, 516-537, 2013.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T., Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas, **Quim. Nova**, 25: 1012, 2002.

PEREIRA, A. C., KUBOTA, L. T. Otimização da preparação de eletrodo de pasta de carbono contendo riboflavina imobilizada em suporte inorgânico. **Química Nova**. 2004.

RIBEIRO, W. P. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de haloperidol em formulações comerciais. Tese de Doutorado.

Universidade Federal do Ceará. 2010.

ROCHA, G. T; GALENDE, B. A importância do controle de qualidade na indústria farmacêutica. *Uningá Review*, v. 20, n. 2, 2014.

ROCHA, P. C. et al. Avaliação do conhecimento de enfermeiros sobre a importância da infusão contínua de catecolaminas em unidade de terapia intensiva. *Revista Mineira de Enfermagem*, v. 14, n. 4, p. 459-464, 2010.

REIS P. Notícias ao Minuto - Atum adulterado foi retirado do mercado em Portugal, <https://www.noticiasao minuto.com/pais/873338/atum-adulterado-foi- retirado-do-mercado-em-portugal> (acedido 21 Julho 2018).

RIBEIRO, W. P. Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação de haloperidol em formulações comerciais. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará. 2010.

RAMOS, A.L.D., Tanase, S., Rothenberg, R. Redes Metalorgânicas e suas aplicações em catálise. **Química Nova**, v.37, p. 123-133, 2014.

REN, H., FAN, Y., WANG, B., YU. Polyethyleneimine-capped CdS Quantum Dots for Sensitive and Selective Detection of Nitrite in Vegetables and Water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V. 66 p. 8851-8858, 2018.

REZAEI, B., DAMIRI, S. Voltammetric Behavior of Multi-walled carbon nanotubes modified electrode-hexacyanoferrate(II) electrocatalyst system as a sensor for determination of Captopril. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 134, p.324-331, 2008.

RIBEIRO, A.S., S VILVA, M., GUERRA, P.G., SAICK, K.W., ULIANA, M.P., LOSS, R. Risco potencial de uso de medicamentos durante a gravidez e a lactação. **Infarma– Ciências Farmacêuticas**. v. 25, p. 62-67, 2013.

REDDAIAH, K.; REDDY, T. M. Electrochemical biosensor based on silica sol-gel entrapment of horseradish peroxidase onto the carbon paste electrode toward the determination of 2-aminophenol in non-aqueous solvents: A voltammetric study. **J. Molecular Liquids**, 196, 77-85, 2014.

RIBEIRO, A.S., S VILVA, M., GUERRA, P.G., SAICK, K.W., ULIANA, M.P., LOSS, R. Risco potencial de uso de medicamentos durante a gravidez e a lactação. **Infarma- Ciências Farmacêuticas**. v. 25, p. 62-67, 2013.

SILVA, D. A. F.; MENEZES, M. L.; KEMPINAS, W. G. Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação simultânea de catecolaminas em órgãos reprodutores de ratos por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica. **Eclética Química**, v. 32, n. 4, p. 35-42, 2007.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, I. A. *Princípios de Análise Instrumental*. 5 ed., Porto Alegre: Bokman, 2002.

SVORC, L.; KALCHER, K. Modification-free electrochemical approach for sensitive monitoring of purine DNA base: Simultaneous determination of guanine and adenine in biological samples using boron-doped diamond electrode. **Sensors and Actuators B**, 194, 332-342, 2014.

SHENG, S.; ZHANG, L.; CHEN, G. Determination of 5,7-dihydroxymetastrophene and luteolin in peanut hulls by capillary electrophoresis with a multiwall carbon nanotube/poly(ethylene terephthalate) composite electrode. **Food chemistry**, 145, 555-561, 2014.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, I. A. *Princípios de Análise Instrumental*. 5 ed., Porto Alegre: Bokman, 2002.

SVORC, L.; KALCHER, K. Modification-free electrochemical approach for sensitive monitoring of purine DNA base: Simultaneous determination of guanine and adenine in biological samples using boron-doped diamond electrode. **Sensors and Actuators B**, 194, 332-342, 2014.

SHENG, S.; ZHANG, L.; CHEN, G. Determination of 5,7-dihydroxymone and luteolin in peanut hulls by capillary electrophoresis with a multiwall carbon nanotube/poly(ethylene terephthalate) composite electrode. **Food chemistry**, 145, 555-561, 2014.

SCHOLZ, FRITZ et al. *Electroanalytical methods*. Berlin-Heidelberg: Springer, 2010.

SVANCARA, I.; VYTRAS, K.; KALCHER, K.; WALCARIUS, A.; WANG, J. Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: A review on the occasion of the 50-Yer jubilee of carbono paste in electrochemistry and electroanalysis. **Electroanal.**, 21, 7-28, 2009.

STANIC, Z.; GIROUSI, S. Carbon paste electrodes in potentiometry: The state of the art and applications in modern electroanalysis (a review). **Sensing in Electroanalysis**, 6, 89-128, 2011.

SOUZA, M. DE F. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: Umaabordagem. **Química Nova**, 20, 191-195, 1997.

SOUZA, D. DE; MACHADO, SERGIO AS. Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando com ácidos húmicos: estudo e determinação de metais em meio aquoso. **Quim. Nova**, v.27, n. 6, p. 964- 969, 2004.

SVANCARA, I.; WALCARIUS, A.; KALCHER, K.; VYTRAS, K. Carbon paste electrodes in thenew millennium., *Central European J. Chem.*, 7, 598-656, 2009.

SHOU, M. S.; FERRARIO, C. R.; SCHULTZ, K. N.; ROBINSON, T. E. & KENNEDY R. T. "Monitoring dopamine in vivo by microdialysis sampling and on-line CE-laser-induced fluorescence". *Anal. Chem.*, **78**: 6717, 2006.

STANDAERT, D.; GALANTER, JOSHUA M. Farmacologia da neurotransmissão dopaminérgica. Princípios de Farmacologia: A Base Fisiopatologia da Farmacoterapia, p. 166-185, 2009.

TSAI, T-C; HUANG, F-H; CHEN, J-J J. Selective detection of dopamine in urine with electrodes modified by gold nanodendrite and anionic self-assembled monolayer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 181, p. 179-186, 2013.

TASHKHOURIAN, J.; NEZHAD, M. R. H.; KHODAVESI, J.; JAVADI, S. SILVER nanoparticles modified carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid. *J. Electroanal. Chem.*, 633, 85-91, 2009.

ULLOA, P. J. et al., Voltammetric Reduction of a 4-Nitroimidazole Derivative on a Multiwalled Carbon Nanotubes Modified Glassy Carbon Electrode, *Electroanalysis*, 20: 1470, 2008.

VYTRAS, K.; SVANCARA, I.; METELKA, R. Carbon paste electrode in electroanalytical chemistry. *J. Serbian Chemical Society*, 74, 1021-1033, 2009.

VISCIANO P, SCHIRONE M, TOFALO R, et al. Biogenic Amines in Raw and Processed Seafood. *Front Microbiol* 2012; 3: 1–10.

WANG, CAIQIN et al. A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 204, p. 302-309, 2014.

WANG, J., *Analytical Electrochemistry*, 2 ed., John Wiley, New York, 2001.

WANG, J.; THONGNGAMDEE, S.; LU, D. Adsorptive stripping voltammetric measurements of trace beryllium at the mercury film electrode. *Analytica Chim. Acta*, 564, 248-252, 2006.

WANG, CAIQIN et al. A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 204, p. 302-309, 2014.

WIGHTMAN, R. M.; AMATORE, C.; ENGSTROM, R. C.; HALE, P. D.; KRISTENSEN, E. W.; KUBR, W. G. & MAY, L. J. "Real-time characterization of dopamine overflow and uptake in the rat striatum". *Neuroscience*, 25: 513, 1988.

YOSYPCHUK, B.; MARECEK, V. Properties of thiolate monolayers formed on different amalgam electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 653, 7-13, 2011.

YOSYPCHUK, B.; MARECEK, V. Properties of thiolate monolayers formed on different amalgam electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 653, 7-13, 2011.

H.-H. STREHLOW, B. TITZE, *Electrochim. Acta* 25, **Electrodo de carbono vítreo** com nanotubos de carbono e óxido de zinco dopado com cobre, 1980.

VECIANA-NOGUÉS MT, MARINÉ-FONT A, VIDAL-CAROU MC. Biogenic Amines in Fresh and Canned Tuna. Effects of Canning on Biogenic Amine Contents. *J Agric Food Chem* 45: 4324–4328, 1997.

ZUO, F. et al. Supramolecular Assembly of β -Cyclodextrin-Capped Gold Nanoparticles on Ferrocene-Functionalized ITO Surface for Enhanced Voltammetric Analysis of Ascorbic Acid. *Electroanalysis*, v. 20, n. 8, p. 894-899, 2008.