

# UFAL

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

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO FUNDAMENTADO EM  
MONOCAMADAS AUTO-ORGANIZADAS DE NANOPARTÍCULAS DE OURO E  
4-NITROTIOFENOL PARA DETECÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

**MAYRANE CARLA MARQUES DO NASCIMENTO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**

**Campus A.C. SIMÕES  
Tabuleiro dos Martins  
57072-970 – Maceió/AL**

**MAYRANE CARLA MARQUES DO NASCIMENTO**

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO FUNDAMENTADO EM  
MONOCAMADAS AUTO-ORGANIZADAS DE NANOPARTÍCULAS DE OURO E  
4-NITROTIOFENOL PARA DETECÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do grau de Mestra em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Phabyanno Rodrigues Lima

Coorientador: Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Marília Oliveira Fonseca Goulart

Maceió-AL

2019

**Catálogo na fonte  
Universidade Federal de  
Alagoas Biblioteca Central**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho

N244d Nascimento, Mayrane Carla Marques do.

Desenvolvimento de um sensor eletroquímico fundamentado em monocamadas auto-organizadas de nanopartículas de ouro e 4-nitrotiofenol para detecção de ácido ascórbico / Mayrane Carla Marques do Nascimento. – 2019.

98 f.: il.

Orientador: Phabyanno Rodrigues Lima.

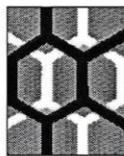
Co-orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.

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

Bibliografia: f. 85-98.

1. Sensores eletroquímicos. 2. Ouro - Nanopartículas. 3. Ácido ascórbico. I. Título.

CDU: 543.55:547.475.2



**PPGQB**

Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia



### FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação de Mestrado de **MAYRANE CARLA MARQUES DO NASCIMENTO**, intitulada: “**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO FUNDAMENTADO EM MONOCAMADAS AUTO-ORGANIZADAS DE NANOPARTICULAS DE OURO E 4-NITROTIOFENOL PARA DETECÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 9 de janeiro de 2019, às 9h, na sala de reuniões do IQB/UFAL.

### COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Phabyanno Rodrigues Lima  
(Orientador(a) – PPGQB/IQB/UFAL)

Profa. Dra. Marília de Oliveira Fonseca Goulart  
(Coorientador(a) - PPGQB/IQB/UFAL)

Prof. Dr. Cleylton Bezerra Lopes  
(IFAL/CAMPOS MURICI)

Prof. Dr. Diógenes Menezes dos Santos  
(PPGQB/IQBUFAL)

Dedico aos meus pais Mércia Regina e Osias Carlos, a minha irmã Mayara Carla e a meu esposo Gilmar Leite.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo dom da vida e por ter permitido em sua infinita bondade a conclusão deste ciclo mesmo diante de tantos problemas.

Aos meus pais, Mércia Regina e Osias Carlos, por todo amor e por terem sempre deixado claro a importância do estudo na vida de uma pessoa. Principalmente a minha mãe, que esteve comigo incondicionalmente em todos os momentos que precisei, sentindo junto comigo a sensação maravilhosa de dever cumprido, assim como, por ter me dado colo nos momentos difíceis.

A meu esposo, Gilmar Leite, que neste período esteve comigo todos os dias, sentindo de forma direta o sofrimento de minha luta para conseguir concluir esse mestrado. Além disso, por toda paciência e amor atribuído a mim mesmo nos dias de estresse e por não ter deixado eu parar.

A minha irmã Mayara Carla, por ter me apoiado e por ter me acalmado nos meus momentos difíceis.

Aos meus familiares por acreditarem em minha capacidade enquanto discente, por compreender minha ausência nas reuniões em família e por me ajudar quando necessário.

Ao meu professor e orientador Phabyanno Rodrigues Lima por ter acreditado em meu potencial. Além disso, por todos os ensinamentos a mim atribuídos no que se refere a meu processo de formação em química. Mas principalmente, por ter estado ao meu lado nos momentos difíceis, enfatizando como um amigo, que todo mundo pode passar por atribuições e que estes fatos são apenas detalhes que surgem ao longo do percurso, mas que não nos impedem de seguir em frente e vencer a batalha. Ou seja, por ter me levantado quando eu caí.

A professora Marília Goulart, minha coorientadora, por ter me aceitado inicialmente como orientanda, pelo exemplo de mulher pesquisadora, e pelos ensinamentos ao longo dos acompanhamentos de mestrado.

Ao professor e coordenador do PPGQB, Josué Carinhonha, por todos os ensinamentos atribuídos enquanto professor de Analítica Avançada I, bem como, pelos conselhos enquanto coordenador do programa, que permitiu que eu não desistisse diante do momento de atribuições.

A professora Ana Catarina do PPGQB, vice coordenadora do programa, e demais membros do colegiado, por terem sido sensíveis a minha situação de saúde e por terem me apoiado para finalização de meu trabalho.

A todos os professores do PPGQB que tive a oportunidade de conhecer a partir das disciplinas cursadas, por todos os ensinamentos que foram fundamentais para minha formação acadêmica enquanto discente.

A todos os meus professores do IFAL, em especial, Alan John, Johnnatan Duarte e Jonas Sousa que me acompanham desde o meu momento de graduação no Instituto Federal de Alagoas e contribuíram significativamente para meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao GPAES (Grupo de Pesquisa em Analítica, Eletroanalítica e Desenvolvimento de Sensores Químicos) pela contribuição de meus colegas durante o desenvolvimento de minha pesquisa.

A Monick, Jisele, Jéssica, Walker e Diogo, companheiros de pesquisa que se esforçaram ao extremo para me ajudar na execução das análises fundamentais para minha pesquisa;

A todos os meus amigos que contribuíram muito nos momentos que precisei distrair a mente. E por terem estado ao meu lado nos momentos de dificuldade, bem como, acreditando na minha capacidade de concluir este ciclo.

Aos profissionais da clínica Centro de Saúde Integrada, que me deram o maior apoio, se esforçando em cuidar de minha saúde da melhor maneira possível para que eu não viesse a desistir do mestrado, em especial a Emanuelle Santana (psicóloga), Fernanda Coelho (clínica geral), Lua Gama (ginecologista) e Flaviane (Diretora da clínica) e Monique (Recepcionista da clínica).

A CAPES pela bolsa concedida.

Enfim, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento deste projeto.

## RESUMO

O presente trabalho descreve, a princípio, a electrooxidação catalítica do L-AscH<sub>2</sub> usando nanopartículas de ouro em eletrodo de carbono vítreo modificado com 4-nitrotiofenol (4-NTP) ativado *in situ* em monocamadas auto-organizadas (SAM). O sensor 4-NTP-SAM foi imobilizado em uma plataforma nanoestruturada contendo nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e polietilenoimina (PEI). A superfície sensora foi caracterizada por Análise Termogravimétrica (TGA), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia de Força Atômica (AFM). A espécie eletroativa, 4-hidroxilaminatiofenol, foi eletrogerada *in situ* no eletrodo modificado com 4-NTP após ciclos na faixa de potencial entre 0.2 e -1.0 V vs. Ag/AgCl na segunda varredura em tampão fosfato 0.1 mol.L<sup>-1</sup> (pH 7.0) com uma velocidade de varredura a 0.02 V.s<sup>-1</sup>. Após o processo de ativação, a faixa de potencial em torno do par redox hidroxilamina/nitroso foi selecionada e os voltamogramas foram registrados em diferentes velocidades (5-35 mVs<sup>-1</sup>). Além disso, o sensor apresentou uma eficiente atividade eletrocatalítica para a oxidação de L-AscH<sub>2</sub> em um potencial de pico catalítico observado em 0.15 V vs. Ag/AgCl. Medidas eletroquímicas incluindo Voltametria Cíclica (VC) e Cronoamperometria foram usadas para estudar o comportamento da superfície do eletrodo modificado empregado. Essas técnicas foram utilizadas para otimizar os parâmetros experimentais a fim de definir o melhor tipo de tampão, pH e concentração de tampão. Sob condições otimizadas, o sensor apresentou uma faixa linear de resposta (2-12 µmol L<sup>-1</sup>), LD (0,6 µmol L<sup>-1</sup>), LQ (2,0 µmol L<sup>-1</sup>) e sensibilidade (2,8 x 10<sup>-3</sup> µA L µmol<sup>-1</sup>). A partir dos resultados obtidos o sensor desenvolvido demonstrou-se uma alternativa promissora a ser aplicado em testes com amostras reais.

**Palavras-Chave:** Sensor. Monocamadas auto-organizadas. Ácido ascórbico.

## ABSTRACT

The present work explores, for the first time, the electrocatalytic oxidation of AA using gold nanoparticles ECV electrode modified with *in situ* activated 4-nitrophenol (4-NTP) self-assembled monolayers (SAMs). The 4NTP-SAM was immobilized in a nanostructured platform containing a multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and polyethyleneimine (PEI). The 4-NTP-SAM surface was characterized by thermal gravimetric analysis (TGA), scanning electron microscope (SEM) and Atomic Force Microscopy (AFM). The electroactive species, the 4-hydroxylaminophenol, was electrogenerated *in situ* from the 4-NTP at the modified electrode, after cycling in the potential range between 0.2 and -1.0 vs. Ag/AgCl in the first scan in 0.1 mol L<sup>-1</sup> phosphate buffer (pH 7.0) with a scan rate of 0.02 V s<sup>-1</sup>. After activation process, the potential range around the R-NO/RNHOH redox couple was selected and cyclic voltammograms were recorded at various scan rates (5–35 mV s<sup>-1</sup>). Furthermore, the electrode modified showed an efficient electrocatalytic activity towards the oxidation of AA with oxidation overpotential of 0.15 V vs. Ag/AgCl. Electroanalytical measurements including cyclic voltammetry (CV) and chronoamperometry were used to study the behavior of the modified electrode surface employed. These techniques were used to optimize experimental parameters in order to set the best buffer, pH, and buffer concentration. Under optimized conditions, the sensor showed a linear response range (2-12 μmol L<sup>-1</sup>), LOD (0.6 μmol L<sup>-1</sup>), LOQ (2.0 μmol L<sup>-1</sup>) and sensitivity (2,8 x 10<sup>-3</sup> μA L μmol<sup>-1</sup>). From the obtained results, the developed sensor demonstrates a promising alternative to be applied in tests with real sample.

**Keywords:** Sensor. Self-Assembled monolayers. Ascorbic acid.

## LISTA DE FIGURAS

|                   |                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1-</b>  | Publicações reportando sensores químicos.....                                                                                                                             | 18 |
| <b>Figura 2-</b>  | Representação genérica de um sensor químico.....                                                                                                                          | 18 |
| <b>Figura 3-</b>  | Partes fundamentais numa monocamada auto-organizada.....                                                                                                                  | 25 |
| <b>Figura 4-</b>  | Organograma com algumas propriedades de SAM.....                                                                                                                          | 26 |
| <b>Figura 5-</b>  | Representação de processo de oxidação direta (A) e processo indireto ou mediado (B).....                                                                                  | 27 |
| <b>Figura 6-</b>  | Molécula do 4-Nitrotiofenol.....                                                                                                                                          | 29 |
| <b>Figura 7-</b>  | Molécula do 4-nitrotiofenol imobilizada sobre uma superfície metálica de ouro.....                                                                                        | 30 |
| <b>Figura 8-</b>  | Nanotubos de parede única (SWCNT) à esquerda e Nanotubos de paredes múltiplas a direita (MWCNT).....                                                                      | 32 |
| <b>Figura 9-</b>  | Estrutura de um segmento do PEI.....                                                                                                                                      | 33 |
| <b>Figura 10-</b> | Aplicação do potencial para a voltametria cíclica: a) potencial com varredura linear e b) potencial do tipo escada c) voltamograma obtido para um sistema reversível..... | 35 |
| <b>Figura 11-</b> | Aplicação do potencial-step (a) Comportamento da corrente em função do tempo.....                                                                                         | 37 |
| <b>Figura 12-</b> | Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura.....                                                                                     | 38 |
| <b>Figura 13-</b> | Esquema dos componentes básicos de um microscópio de força atômica.....                                                                                                   | 40 |
| <b>Figura 14-</b> | Representação básica de uma curva termogravimétrica.....                                                                                                                  | 41 |
| <b>Figura 15-</b> | Estrutura química do L - ácido ascórbico.....                                                                                                                             | 42 |
| <b>Figura 16-</b> | Oxidação do ácido L-ascórbico em ácido L-deidroascórbico.....                                                                                                             | 43 |
| <b>Figura 17-</b> | Etapas de modificação para o eletrodo de carbono vítreo.....                                                                                                              | 50 |
| <b>Figura 18-</b> | Potenciostato da Autolab Eco Cheime.....                                                                                                                                  | 51 |
| <b>Figura 19-</b> | Modelo esquemático de célula eletroquímica com sistema de três eletrodos.....                                                                                             | 51 |
| <b>Figura 20-</b> | Microscópio eletrônico de varredura (MEV).....                                                                                                                            | 53 |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 21-</b> | Microscópio de Força Atômica (AFM).....                                                                                                                                                                                                                                                               | 53 |
| <b>Figura 22-</b> | TGA 60 da Shimadzu.....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 54 |
| <b>Figura 23-</b> | Micrografias Eletrônicas de Varredura do ECV/MWNT/PEI (a) 3.43 kx, (b) 9.29 kv.....                                                                                                                                                                                                                   | 57 |
| <b>Figura 24-</b> | Micrografias Eletrônicas de Varredura do ECV/MWNT/PEI/AuNPs (a) 3.43 kx, (b) 9.29 kv.....                                                                                                                                                                                                             | 58 |
| <b>Figura 25-</b> | Micrografias Eletrônicas de Varredura do ECV/MWNT/PEI/AuNPs/4-NTP (a) 3.43 kx, (b) 9.29 kv.....                                                                                                                                                                                                       | 59 |
| <b>Figura 26-</b> | Imagens topográficas da superfície do ECV/MWNT/PEI em duas dimensões (A) e três dimensões (B).....                                                                                                                                                                                                    | 60 |
| <b>Figura 27-</b> | Imagens topográficas da superfície do ECV/MWNT/PEI/AuNPs em duas dimensões (A) e três dimensões (B).....                                                                                                                                                                                              | 61 |
| <b>Figura 28-</b> | Imagens topográficas da superfície do ECV/MWNT/PEI/AuNPs/4-NTP em duas dimensões (A) e três dimensões (B).....                                                                                                                                                                                        | 62 |
| <b>Figura 29-</b> | Termograma para o eletrodo impresso de nanotubos de carbono sem modificação.....                                                                                                                                                                                                                      | 63 |
| <b>Figura 30-</b> | Termograma referente a degradação de MWCNT numa taxa de aquecimento de 20 <sup>o</sup> /min e sua primeira derivada.....                                                                                                                                                                              | 64 |
| <b>Figura 31-</b> | Termograma referente a decomposição do PEI numa taxa de aquecimento de 10 <sup>o</sup> /min e sua primeira derivada.....                                                                                                                                                                              | 65 |
| <b>Figura 32-</b> | Termograma referente à decomposição de AuNPs numa taxa de aquecimento de 10 <sup>o</sup> /min e sua primeira derivada e sua primeira derivada.....                                                                                                                                                    | 66 |
| <b>Figura 33-</b> | Termograma referente à decomposição de 4-NTP numa taxa de aquecimento de 10 <sup>o</sup> /min e sua primeira derivada.....                                                                                                                                                                            | 67 |
| <b>Figura 34-</b> | Plots de termogramas obtidos para cada etapa de modificação do eletrodo impresso de nanotubos de carbono com MWNT/PEI/AuNPs/4-NTP.....                                                                                                                                                                | 69 |
| <b>Figura 35-</b> | Plots dos termogramas obtidos para cada padrão utilizado na modificação e para cada etapa de modificação do eletrodo impresso de nanotubos de carbono com MWNT/PEI/AuNPs/4-NTP.....                                                                                                                   | 70 |
| <b>Figura 36-</b> | Voltamogramas cíclicos obtidos da primeira a terceira varredura para um ECV/MWCNT/PEI/NPAus/4-NTP, $v = 0,02 \text{ V s}^{-1}$ . E inicial = 0,2 V e $E \lambda = -1,0 \text{ V}$ , varredura no sentido catódico. Condições empregadas: solução tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0..... | 71 |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 37-</b> | Redução do grupo nitro a hidroxilamina.....                                                                                                                                                                                                                                              | 72 |
| <b>Figura 38-</b> | Obtenção do par redox reversível (4-NHOHTO/4-NOTP).....                                                                                                                                                                                                                                  | 72 |
| <b>Figura 39-</b> | Voltamograma cíclico referente a restrição de faixa de potencial para um ECV/MWCNT/PEI/NPAus/4-NTP, $v = 0,005 \text{ V s}^{-1}$ . Einicial = -0,3 V e Efinal = 0,4 V, varredura no sentido anódico. Condições empregadas: solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0..... | 73 |
| <b>Figura 40-</b> | Efeito das velocidades de varrimento na voltametria cíclica para ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS a pH 7,0 a 5, 10, 15, 20, 25, 50 e $55 \text{ mV s}^{-1}$ .....                                                                                                  | 74 |
| <b>Figura 41-</b> | Variação das correntes de pico anódica $I_{pa}$ e catódica $I_{pc}$ vs. $v^{1/2}$ no ECV/MWNT/PEI/AuNPs/4-NTP.....                                                                                                                                                                       | 74 |
| <b>Figura 42-</b> | Efeito do pH na voltametria cíclica para ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS .....                                                                                                                                                                                  | 75 |
| <b>Figura 43-</b> | Voltamogramas obtidos a partir ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP em diferentes concentrações de L-AscH <sub>2</sub> (a) 0,1 mM AA (b) 0,2 mM de AA (c) 0,3 mM de AA (d) 0,4 mM de AA, 0,7 Mm de AA. Realizados em solução tampão PBS pH =7,0 a $0,005 \text{ V s}^{-1}$ .....                    | 76 |
| <b>Figura 44-</b> | Mecanismo proposto para reação de oxidação do ácido ascórbico.....                                                                                                                                                                                                                       | 77 |
| <b>Figura 45-</b> | Amperograma obtido a partir ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP em diferentes concentrações de L-AscH <sub>2</sub> .Realizados em solução tampão PBS pH =7,0.....                                                                                                                                  | 78 |
| <b>Figura 46-</b> | Curva analítica para eletrodo modificado ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP.....                                                                                                                                                                                                                  | 79 |

## LISTA DE TABELAS

|                  |                                                                                            |    |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1-</b> | Principais tipos de sensores, mecanismo de operação e suas subdivisões.....                | 19 |
| <b>Tabela 2-</b> | Métodos de modificação do eletrodo e suas respectivas características.....                 | 22 |
| <b>Tabela 3-</b> | Exemplos de eletrodos quimicamente modificados e suas aplicações para ácido ascórbico..... | 47 |
| <b>Tabela 4-</b> | Nitroaromáticos utilizados como mediadores na detecção de Ácido ascórbico.....             | 80 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                     |                                           |
|---------------------|-------------------------------------------|
| AuNPs               | Nanopartículas de ouro                    |
| AFM                 | Microscópio de força atômica              |
| Ag/AgCl             | Eletrodo de Prata/Cloreto de Prata        |
| CNT                 | Nanotubos de Carbono                      |
| DMF                 | Dimetilformamida                          |
| DWCNT               | Nanotubos de carbono de paredes duplas    |
| $E^\circ$           | Potencial padrão do eletrodo              |
| EA                  | Eletrodo auxiliar                         |
| ECV                 | Eletrodo de carbono vítreo                |
| $E_p$               | Potencial de pico                         |
| $E_{pa}$            | Potencial de oxidação                     |
| $E_{pc}$            | Potencial de redução                      |
| ER                  | Eletrodo de referência                    |
| ET                  | Eletrodo de trabalho                      |
| $I_{pa}$            | Corrente de pico de oxidação              |
| $I_{pc}$            | Corrente de pico de redução               |
| L-AscH <sub>2</sub> | Ácido ascórbico                           |
| LD                  | Limite de detecção                        |
| LQ                  | Limite de quantificação                   |
| MEV                 | Microscópio eletrônico de varredura       |
| MWCNT               | Nanotubos de carbono de paredes múltiplas |
| 4-NTP               | 4-Nitrotiofenol                           |
| PEI                 | Polietilenoimina                          |
| pH                  | Potencial hidrogeniônico                  |
| SAMs                | Monocamadas auto-organizadas              |
| SWCNT               | Nanotubos de carbono de paredes simples   |
| TGA                 | Análise termogravimétrica                 |
| VC                  | Voltametria cíclica                       |

## SUMÁRIO

|            |                                                 |    |
|------------|-------------------------------------------------|----|
| <b>1.</b>  | <b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....                   | 16 |
| <b>1.1</b> | <b>Sensores químicos</b> .....                  | 17 |
| 1.1.1      | Sensores eletroquímicos.....                    | 20 |
| <b>1.2</b> | <b>Eletrodos quimicamente modificados</b> ..... | 21 |
| 1.2.1      | Monocamadas auto-organizadas (SAM).....         | 23 |
| 1.2.2      | Mediadores redox.....                           | 27 |
| 1.2.3      | 4-Nitrotiofenol.....                            | 28 |
| 1.2.4      | Nanopartículas de ouro.....                     | 30 |
| 1.2.5      | Nanotubos de Carbono.....                       | 31 |
| 1.2.6      | Polietilenoimina.....                           | 33 |
| <b>1.3</b> | <b>Técnicas de caracterização</b> .....         | 34 |
| 1.3.1      | Voltametria cíclica .....                       | 34 |
| 1.3.2      | Cronoamperometria.....                          | 36 |
| 1.3.3      | Microscopia Eletrônica de varredura.....        | 37 |
| 1.3.4      | Microscopia de Força Atômica.....               | 39 |
| 1.3.5      | Análise Termogravimétrica.....                  | 40 |
| <b>1.4</b> | <b>Analito em investigação</b> .....            | 41 |
| 1.4.1      | Ácido ascórbico.....                            | 41 |
| 1.4.2      | EQMs para detecção de Ácido ascórbico.....      | 44 |
| <b>2.</b>  | <b>OBJETIVOS</b> .....                          | 48 |
| <b>2.1</b> | <b>Objetivo Geral</b> .....                     | 48 |
| <b>2.2</b> | <b>Objetivos específicos</b> .....              | 48 |
| <b>3</b>   | <b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....                 | 49 |
| <b>3.1</b> | <b>Reagentes e Soluções</b> .....               | 49 |

|     |                                                                                   |    |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2 | Pré-tratamento do eletrodo de carbono vítreo.....                                 | 49 |
| 3.3 | Preparo da solução de Ácido ascórbico ( <i>L</i> -AscH <sub>2</sub> ).....        | 49 |
| 3.4 | Construção do sensor.....                                                         | 50 |
| 3.5 | Medidas eletroquímicas.....                                                       | 51 |
| 3.6 | Medidas microscópicas.....                                                        | 52 |
| 3.7 | Medidas Termogravimétricas.....                                                   | 54 |
| 3.8 | Otimização dos parâmetros experimentais.....                                      | 54 |
| 3.9 | Estudo da estabilidade, reprodutibilidade e tempo de vida do sensor.....          | 55 |
| 4.  | RESULTADOS E DISCUSSÕES.....                                                      | 56 |
| 4.1 | Caracterização por MEV do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP.....                          | 56 |
| 4.2 | Caracterização por AFM do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP.....                          | 59 |
| 4.3 | Caracterização Termogravimétrica do MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP....                     | 62 |
| 4.4 | Caracterização eletroquímica do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP....                     | 70 |
| 4.5 | Oxidação eletrocatalítica do Ácido ascórbico ( <i>L</i> -AscH <sub>2</sub> )..... | 75 |
| 4.6 | Caracterização analítica do sensor ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP                      | 78 |
| 4.7 | Estabilidade, repetibilidade e tempo de vida do ECV/MWCNT/AuNPs/4-NTP.....        | 80 |
| 5   | CONCLUSÃO.....                                                                    | 81 |
| 6   | REFERÊNCIAS.....                                                                  | 82 |
| 7   | PERSPECTIVA.....                                                                  | 95 |

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis, eficazes e confiáveis têm se tornado cada vez mais significativo devido à necessidade de determinação e caracterização de inúmeras espécies químicas em diferentes matrizes.

Nesse sentido, atualmente, a ciência vem ganhando destaque no que se refere ao processo de novas descobertas frente a contribuição considerável da nanotecnologia. Esta área tem possibilitado ao longo dos anos, a manipulação dos materiais em níveis cada vez menores, permitindo o desenvolvimento da ciência Química em diferentes contextos. Um deles, é o campo de desenvolvimento de plataformas utilizadas como sensores químicos, que têm sido considerados “[...] ponto chave na instrumentação analítica moderna, pois muitas vezes esses sistemas dispensam o uso de aparelhos complexos e de maior infraestrutura” (NUNES, 2013, p. 1).

Além disso, esses sistemas têm ganhado notoriedade nos últimos anos diante da necessidade de testes analíticos mais simples e mais baratos para diferentes tipos de amostras em concentrações muito baixas (ALFAYA; KUBOTA, 2002).

Dessa forma, os sensores químicos são definidos como dispositivos que conseguem responder a certos estímulos provocados por um sistema, de maneira que a partir da variação de uma determinada propriedade mensurável possa ser capaz de monitorar diferentes espécies químicas (FUCHS; SOPPERA; HAUPT, 2012).

Tais dispositivos vêm sendo desenvolvidos e empregados em testes analíticos com o objetivo de aprimorar parâmetros como sensibilidade, seletividade, limites de detecção, quantificação, estabilidade, entre outros (CIUCU, 2014; FREIRE; PESSOA; KUBOTA, 2003; LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006; LOPES, 2014; PINHO, 2016).

Para isso, a eletroanalítica, área a qual compreende um conjunto de métodos analíticos baseados nas propriedades elétricas de uma solução contendo um analito, tem se empenhado bastante em desenvolver sistemas que apresentem mecanismos de respostas satisfatórios. No entanto, alguns trabalhos reportados na literatura mostram que ainda há limitações que devem ser melhoradas.

Nesse contexto, o desenvolvimento de sensores vem ascendendo por permitir o controle interfacial no mecanismo de resposta podendo melhorar dessa forma os resultados obtidos.

Por esta razão, diferentes classes de compostos químicos vêm sendo avaliados no procedimento de construção de sensores, possibilitando aos pesquisadores da área, a descoberta de novas metodologias de preparo e aplicações em diferentes matrizes.

Nesse contexto, este trabalho discute o desenvolvimento de um sensor, apresentando as potencialidades dos compostos: Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT), Polietilenoimina (PEI), Nanopartículas de ouro (AuNPs) e 4-nitrotiofenol (4-NTP) através de um processo de automontagem (monocamadas auto-organizadas - SAMs) , utilizado para detectar e quantificar Ácido ascórbico (L-AscH<sub>2</sub>), vitamina comumente usada como antioxidante e considerada essencial para o funcionamento do organismo com diferentes aplicabilidades, tais como: na indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos.

## 1.1 Sensores químicos

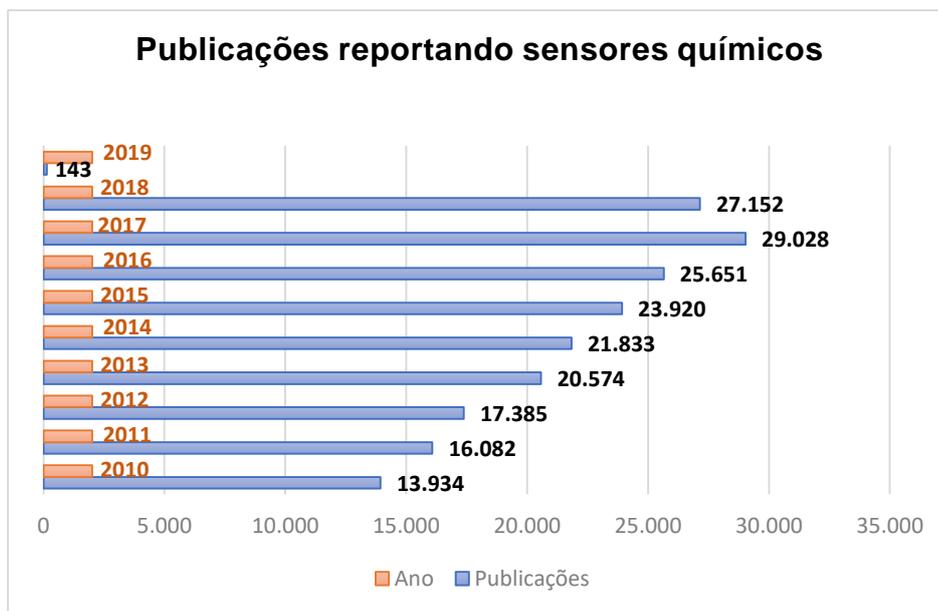
Sensores químicos podem ser definidos como dispositivos capazes de transformar informações químicas em um sinal analiticamente útil (THEVENOT, 1999). Além disso, permitem a coleta de dados e obtenção de resultados com manipulação mínima do sistema estudado (LOWINSOHN e BERTOTTI, 2006).

Tais dispositivos possuem diferentes aplicações, como por exemplo, na saúde pública, na indústria de alimentos e bioprocessos, em monitoramentos ambientais, entre outros (PEREIRA, SANTOS E KUBOTA, 2002).

Suas vantagens estão relacionadas às possibilidades de contornar inconvenientes como baixos valores de sensibilidade e seletividade, tempo de análise, custo elevado, entre outros parâmetros verificados em técnicas tais como: a titulação com solução oxidante, técnicas: cromatográfica, fluorimétrica, espectrofotométrica, quimiluminescente e eletroforese capilar (KALIMUTHU e JOHN, 2010; MADRAKIAN, HAGSHENAS e AFKHAMI, 2014; PISOSCHI *et al.*, 2014; ARDAKANI *et al.*, 2010).

Nesse contexto, conforme Figura 1, dados reportados nos últimos anos na plataforma de artigos científicos Science Direct, demonstram um crescimento significativo no número de publicações voltadas ao desenvolvimento de sensores químicos, de forma que se justifica a importância da área de estudo e a necessidade de novas pesquisas.

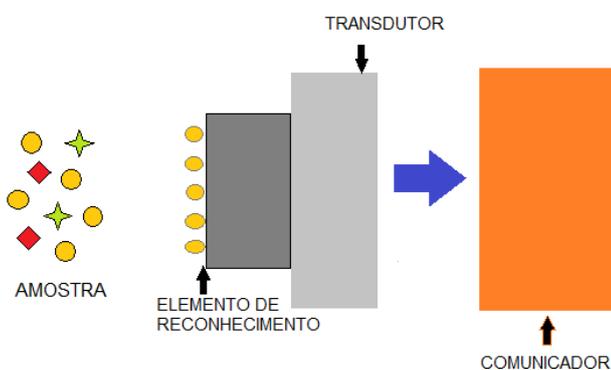
**Figura 1 - Publicações reportando sensores químicos.**



Fonte: Science Direct, 2018 (Adaptado).

Conforme demonstrado na figura 2, as partes principais que compõem um sensor são: elemento de reconhecimento, elemento transdutor e elemento condutor. O elemento de reconhecimento é o responsável por gerar uma variação de sinal (propriedade do sistema) a partir da interação de uma molécula; o elemento transdutor converte o sinal gerado a partir da interação entre o elemento de reconhecimento e o analito num sinal mensurável; e o elemento condutor que transporta o sinal analítico ao equipamento (DORST *et al.*, 2010).

**Figura 2 - Representação genérica de um sensor químico.**



Fonte: YERGA, 2018 (Adaptado)

Os sensores químicos podem ser classificados de acordo com o princípio de funcionamento do transdutor. Podem ser Ópticos, Elétricos, Termométricos, Sensíveis à massa, Magnéticos e Eletroquímicos (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991).

A tabela 1 reporta os tipos de sensores com seus respectivos mecanismos de operação e exemplos de subclasses inerentes a cada mecanismo.

**Tabela 1 - Principais tipos de sensores, mecanismo de operação e suas subdivisões.**

| <b>TIPO DE SENSOR</b>    | <b>MECANISMO DE OPERAÇÃO</b>                                                                                                     | <b>SUBCLASSES</b>                                                                                                                                   |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ópticos</b>           | Transformam mudanças de fenômenos ópticos em um sinal mensurável.                                                                | Absorbância;<br>Refletância;<br>Luminescência;<br>Fluorescência;<br>Dispersão de luz.                                                               |
| <b>Elétricos</b>         | As medidas são realizadas a partir de mudanças de alguma propriedade elétrica gerada pela interação com analito                  | Semicondutores de óxido metálico;<br>Semicondutores orgânicos;<br>Sensores de condutividade eletrolítica ;<br>Sensores elétricos de permissividade. |
| <b>Termométricos</b>     | Funcionam de acordo com os efeitos do calor gerado por uma reação química específica.                                            | Sensores de temperatura.                                                                                                                            |
| <b>Sensíveis à massa</b> | Transformam mudança de massa, em uma superfície modificada, em uma mudança de propriedade do material suporte, gerando um sinal. | Sensores piezolétricos;<br>Sensores de onda acústica de superfície                                                                                  |
| <b>Magnéticos</b>        | Baseados na alteração das propriedades paramagnéticas de um gás a ser analisado.                                                 | Monitores de oxigênio.                                                                                                                              |

---

|                       |                                                                                                   |                                                                                          |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Eletroquímicos</b> | Transformam as interações eletroquímicas entre o analito e o eletrodo em um sinal analítico útil. | Potenciométrico;<br>Conduítmétrico;<br>Voltamétrico;<br>Amperométrico;<br>Impedimétrico. |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|

---

**Fonte:** HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991 (Adaptado).

### 1.1.1 Sensores Eletroquímicos

Os sensores eletroquímicos representam uma classe de sensores químicos na qual o eletrodo é o elemento transdutor e o elétron é utilizado para aquisição de sinal. Além da possibilidade de atuar sozinho, os sensores eletroquímicos podem ainda ser utilizados como aprimoramento de outras técnicas (SIMÕES e XAVIER, 2015).

Nestes dispositivos, as medidas eletroquímicas podem ser efetuadas tanto em condições de equilíbrio, na qual se tem a passagem de corrente elétrica desprezível e os tipos de sensores podem ser potenciométricos ou impedimétricos, como fora do equilíbrio, onde têm-se corrente elétrica ou potencial elétrico de forma expressiva e os sensores são classificados como voltamétricos, conduítmétricos ou amperométricos (NUNES, 2013).

Na condição de equilíbrio, parâmetros termodinâmicos podem ser fornecidos diretamente, já nas medidas fora do equilíbrio podem ser obtidos parâmetros cinéticos e termodinâmicos do sistema eletroquímico (MORETO, 2006).

Nesses sensores o sinal analítico obtido está relacionado com o processo de interação entre a fase sensora constituída na extremidade do transdutor (eletrodo) e o analito. A fase sensora pode ser o próprio eletrodo, a qual pode ser de diferentes materiais condutores como ouro, platina, carbono, entre outros. No entanto, algumas desvantagens podem ser evidenciadas quando utilizados individualmente, destacam-se: a falta de seletividade em sistemas complexos, passivação gradual da superfície por adsorção de produtos e/ou intermediários da reação eletroquímica e a necessidade de aplicar sobretensões elevadas para garantir a oxidação/redução de algumas espécies com baixa velocidade de reação (ROSATTO, 2001; FREIRE, 2003; QUITINO, 2003).

Uma área que tem crescido significativamente com potencial para minimizar as desvantagens supracitadas, é a dos eletrodos quimicamente modificados (EQMs) considerados um dos fatores mais importantes associados à qualidade das medidas realizadas (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006; WANG, 1991).

## **1.2 Eletrodos quimicamente modificados**

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM), foi introduzido na década de 70 por Murray e colaboradores. A designação foi empregada para caracterizar eletrodos com espécies quimicamente ativas em sua superfície de forma a conseguir pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução (ARAÚJO, 2017).

O EQM é constituído de um eletrodo base e um agente modificador. Vários tipos de materiais podem ser utilizados como eletrodo base como citado anteriormente, carbono vítreo, ouro, platina, pasta de carbono, entre outros (NUNES, 2013). Dentre os citados, o carbono vítreo é bastante utilizado por apresentar uma boa condutividade elétrica, estabilidade térmica e robustez (CARVALHO, 2011).

Diferentes espécies químicas podem ser utilizadas como agentes modificadores, tais como espécies orgânicas, nanopartículas, óxidos, compósitos, polímeros e outras misturas (JÚNIOR, 2016). A escolha dependerá do método de modificação escolhido na qual destacam-se a adsorção irreversível direta, ligação covalente, materiais compósitos, recobrimento com filmes poliméricos (CARVALHO, 2011; SHARMA, 2018) como resumido na tabela 2:

**Tabela 2 - Métodos de modificação do eletrodo e suas respectivas características**

| <b>MÉTODO</b>        | <b>CARACTERÍSTICAS</b>                                                                                                                                  |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Adsorção             | Incorporação simples e rápida dos compostos em uma variedade de tipos de eletrodos base.                                                                |
| Ligação covalente    | Incorporação de diferentes compostos de forma estável, através da manipulação de reatividade dos grupos funcionais presentes na superfície do eletrodo. |
| Filmes poliméricos   | Imobilização de policamadas da espécie ativa na superfície do eletrodo.                                                                                 |
| Materiais compósitos | Possibilidade de modificação interna do material eletródico.                                                                                            |

Fonte: PEREIRA; SANTOS E KUBOTA, 2002.

O uso dos eletrodos quimicamente modificados pode promover melhorias significativas sobre o eletrodo base, justificado pela possibilidade de aprimorar parâmetros analíticos, reduzir a possibilidade de obstrução do eletrodo e sobrepotencial requerido para oxidar ou reduzir espécies de interesse (SOUZA, 1997; FAGAN-MURPHY, 2015; SOUZA, 1997).

A escolha de grupos funcionais específicos, também serão de extrema importância para estratégia de modificação, de forma a realizar-se um pré-tratamento que projete a criação de locais ativos na superfície do substrato (EDWARDS, 2007). Os procedimentos de modificação são confirmados no estudo de eletrocatalise, cinética de transferência eletrônica, síntese eletroorgânica e foto-eletroquímica (BALDO, 2014).

Dentre as metodologias de modificação do eletrodo base que vem sendo desenvolvidas, Freire e Kubota (2003) ressaltam que a modificação por deposição sequencial de monocamadas de moléculas funcionais, podem proporcionar estruturas mais ordenadas com maior facilidade de serem controladas. Com isso, uma alternativa que tem sido considerada bastante promissora envolve a formação de monocamadas auto-organizadas (SAM “Self-Assembled Monolayers”).

### 1.2.1 Monocamadas auto-organizadas (SAM)

Monocamadas auto-organizadas (SAM) são exemplos típicos de um processo de auto-organização fundamentado na adsorção química espontânea entre espécies orgânicas e um substrato a fim de gerar alta estabilidade e ordenamento, na qual possuem uma diversidade de aplicações tais como: prevenção de corrosão, adesão de polímeros condutores, reconhecimento molecular e catálise (CAMACHO, 2012; FERREIRA, SILVA e ABRANTES, 2008).

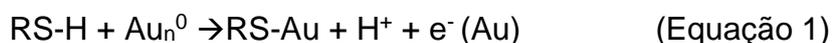
A adsorção é resultado da afinidade de um grupo funcional do adsorvente, que interage fortemente com o substrato, sendo a força motriz para a organização da estrutura originada a partir de interações hidrofóbicas (do tipo Van der Waals, por exemplo) das cadeias carbônicas ligadas ao grupo cabeça (SELLERS et al., 1993).

Os substratos utilizados para formação das SAMs podem ser desde superfícies planas (eletrodos, faces cristalinas) à nanoestruturas altamente curvadas (nanocristais, nanobastões, e coloides). No entanto, os substratos planos são mais utilizados tendo em vista a facilidade de preparo e compatibilidade com um conjunto de técnicas (voltametrias, difração de raios-X, impedância eletroquímica, microscopias, entre outras) que permitem analisar a superfície formada (CAMACHO, 2012).

Existem três abordagens de formação de SAMs na qual podem ser classificadas de acordo com o mecanismo de fixação da monocamada sobre o eletrodo sólido. A primeira abordagem é a sinalização, descrita inicialmente por Sagiv, que utilizou alquiltriclorosilanos sobre superfícies polares, gerando monocamadas organizadas quimicamente ligadas à superfície. A segunda, a técnica de Langmuir-Blodget, envolve a formação de membranas lipídicas sobre os eletrodos sólidos, por fim, a mais reportada, que trata da adsorção irreversível de moléculas anfóteras funcionalizadas sobre superfícies metálicas ordenadas (FREIRE; PESSOA; KUBOTA, 2003).

Particularmente, no que concerne a terceira abordagem, o grupo mais empregado e estudado são os tióis sobre superfícies de ouro. A automontagem de monocamadas de tióis em ouro deve-se à forte interação química entre o átomo de S e a superfície metálica. O grupo tiol, é responsável pela adsorção da molécula na superfície do substrato, controlando dessa forma a energia envolvida na adesão da monocamada ao substrato (COELHO, 2011).

Além disso, ainda segundo Coelho, de acordo com dados reportados na literatura, a reação entre o tiol em solução e o ouro pode seguir o mecanismo representado pela equação 1:

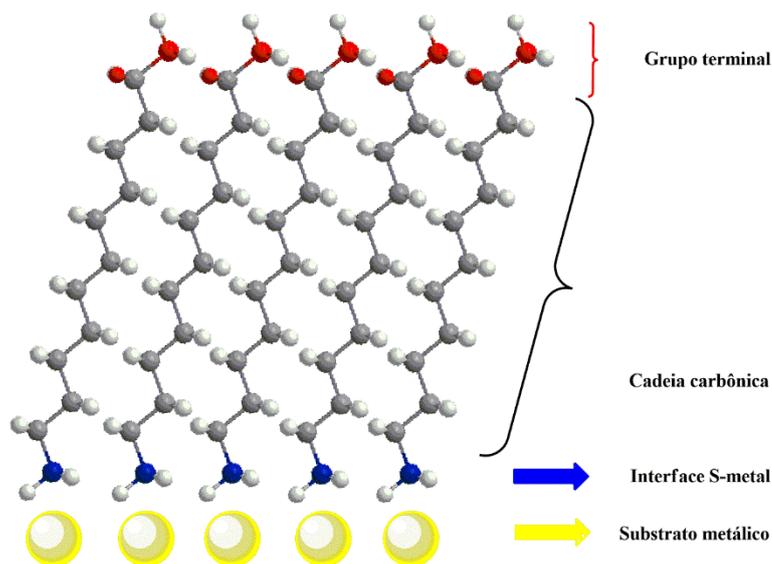


Onde, RS-Au representam a adsorção do alcanotiol na superfície metálica e  $\text{e}^- (\text{Au})$  representa os elétrons acumulados na superfície de ouro (COELHO,2011).

O mecanismo de adsorção da SAM à superfície ainda é considerado divergente, no entanto, há um consenso que estabelece o processo adsorptivo em dois estágios: O primeiro de poucos minutos, em que ocorre a formação de ~80% da monocamada a partir de uma quimissorção caótica e o segundo estágio de 10-20 horas dependente do tempo de imersão, para finalização do empacotamento com alta regularidade (CARVALHAL ,2005; MENDES,2006; MOSSANHA, 2011).

De um modo geral, a molécula utilizada na constituição de uma monocamada pode ser dividida em três partes fundamentais que conferem sua importância no processo de automontagem. Como mostrado na figura 3, ela é dividida em: cabeça (grupo ligante) responsável por iniciar o processo de organização criando uma ligação covalente forte entre a molécula e o substrato, esqueleto (cadeia carbônica) que finaliza o empacotamento com alta regularidade a partir de interações intermoleculares, e grupo terminal que rege as propriedades da superfície (FISCHER, 2011).

**Figura 3 - Partes fundamentais numa monocamada auto-organizada.**



Fonte: COELHO, 2011 (Adaptado).

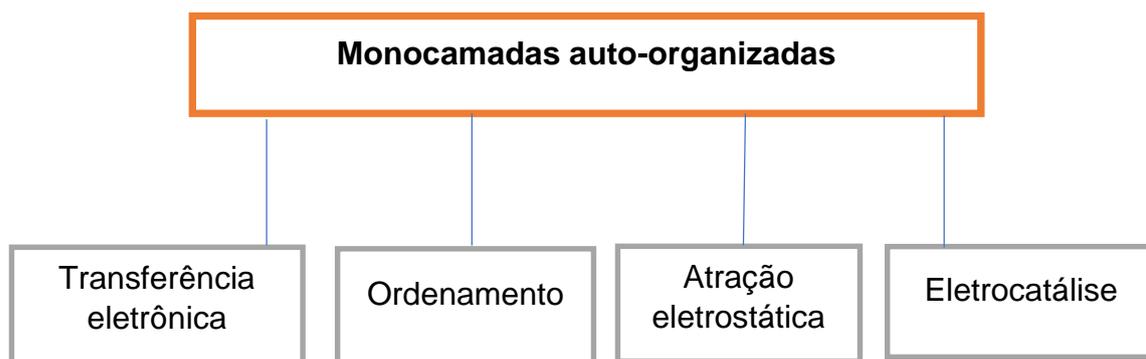
Fatores como morfologia do substrato, limpeza, pureza do adsorvente, solvente de deposição, concentração da solução de adsorvente, tempo de deposição e outras variáveis mais específicas são fundamentais, tendo em vista a necessidade de se eliminar os defeitos no momento de formação da monocamada (CARVALHAL, 2005).

Na maioria dos estudos, o etanol ( $C_2H_6O$ ) é utilizado para formação das SAMs devido ao baixo custo, baixa toxicidade e elevada pureza. Além disso, à temperatura ambiente,  $25\text{ }^{\circ}C$ , a cinética de formação é favorecida e os defeitos são minimizados. No entanto outros solventes como água, acetona e diclorometano podem ser utilizados a depender da solubilidade do tiol utilizado (CAMACHO, 2012; POZZA, 2016).

De acordo com Mendes (2006) pode-se citar três vantagens importantes que justifiquem o uso das SAMs: 1. As monocamadas são fáceis de serem formadas, são estáveis e formam estruturas ordenadas; 2. A versatilidade na variação do grupo terminal, através de grupos funcionais diferentes, permite que se obtenham superfícies com características hidrofóbicas ou hidrofílicas e ainda permitindo reações de imobilização; 3. As monocamadas apresentam estabilidade por um período de aproximadamente três meses permitindo que sejam utilizadas para a realização de um grande número de medidas.

As SAMs são utilizadas com o objetivo de se superar a capacidade catalítica do substrato utilizado, frente as reações de interesse. A figura 4, reporta um organograma com as propriedades das SAMs quando utilizadas no desenvolvimento de sensores.

**Figura 4 - Organograma com algumas propriedades de SAMs.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

Apesar da possibilidade de se formar monocamadas auto-organizadas de tióis utilizando-se diretamente o eletrodo de ouro como substrato, algumas questões como a necessidade de pré-tratamento térmico, mecânico e eletroquímico, permite a substituição por nanopartículas de ouro adsorvidas na superfície de um outro substrato, como eletrodo de carbono vítreo. Além disso, a substituição por nanopartículas é fundamentalmente justificada pela possibilidade de aumento de área superficial de forma que o processo de transferência de elétrons é aprimorado e com isso têm-se o aumento de sensibilidade e seletividade de um método, bem como, facilitar o preparo da SAM (HOLANDA, 2016).

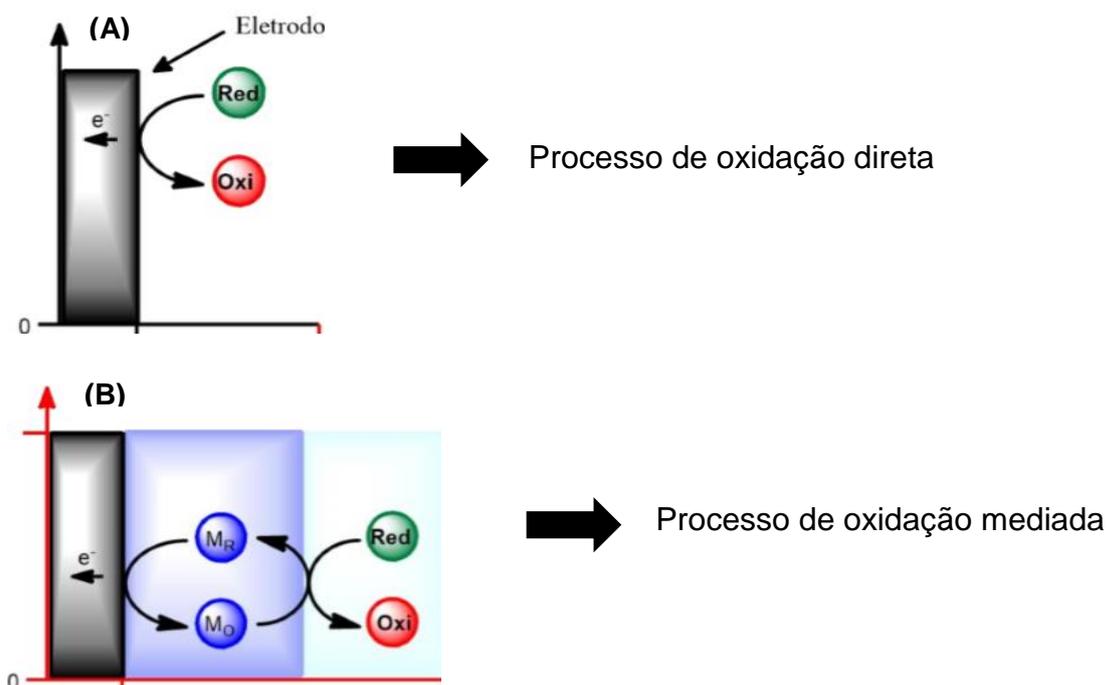
Nesse sentido, como as nanopartículas junto aos tióis têm a capacidade de aprimorar o processo de transferência de elétrons numa resposta eletroquímica pela deposição sequencial das monocamadas, eles são classificados como Mediadores redox.

### 1.2.2 Mediadores redox

Os mediadores redox são definidos como substâncias capazes de aprimorar o processo de transferência de elétrons entre a espécie de interesse e o eletrodo. As propriedades dos mediadores que mais se destacam é a necessidade de diminuir os potenciais de oxidação e aumentar a sensibilidade (COSTA, 2016; SANTHIAGO, 2010).

A figura 5, reporta a diferença entre o processo de oxidação direta de uma espécie de interesse (I) e processo indireto ou mediado (II). Nela é possível averiguar que no processo direto a espécie de interesse que está na forma reduzida se aproxima da superfície do eletrodo por difusão e sofre oxidação na interface eletrodo-solução. Já no processo mediado, a reação ocorre por transferência de elétrons homogênea entre a espécie de interesse e o mediador, sendo a forma oxidada do mediador responsável por captar os elétrons e oxidar a espécie. Existem alguns casos em que o mediador não consegue promover uma diminuição do potencial de oxidação, no entanto, promove aumento de corrente, o que acarreta em uma maior sensibilidade (COSTA, 2016; SANTHIAGO, 2010; SILVA *et al.*, 2012).

**Figura 5 - Representação de processo de oxidação direta (A) e processo indireto ou mediado (B)**



Fonte: SILVA, 2017 (Adaptado).

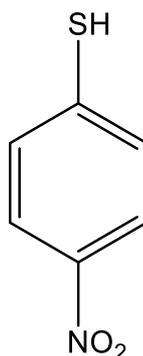
Nos últimos anos, espécies aromáticas que apresentam o grupo nitro ( $R-NO_2$ ) tem se destacado por apresentar as características desejáveis para um mediador. As espécies que apresentam o grupo nitro são denominadas nitrocompostos. O grupo nitro na forma oxidada não possui efeito catalítico para diferentes espécies químicas, no entanto, quando submetido a um processo de redução *in situ* na superfície do eletrodo, forma o grupo hidroxilamina. A hidroxilamina formada pode ser oxidada reversivelmente através de um processo de  $2H^+/2e^-$  sobre a superfície eletródica, gerando, portanto, o correspondente grupo nitroso ( $-NHOH/-NO$ ) (COSTA, 2016; LIMA, 2009; SANTHIAGO, 2010).

Nesse sentido, o uso de diferentes compostos contendo o grupo nitro como mediadores para o desenvolvimento de novas interfaces tem sido amplamente empregados para detecção de diferentes analitos, principalmente os compostos de interesse biológico como exemplo, ácido ascórbico. No entanto, alguns deles, ainda apresentam limitações como baixa sensibilidade, reprodutibilidade, instabilidade da fase sensora ou baixas constantes de velocidade, o que justifica o emprego de novos mediadores redox.

Com isso, o 4-nitrotiofenol, pode ser empregado como um novo mediador redox, frente a versatilidade da sua estrutura. Pois, a estrutura de sua molécula permite seu uso como promissor na formação de monocamadas junto as nanopartículas de ouro.

### 1.2.3 4-Nitrotiofenol

O 4-nitrotiofenol (4-NTP), figura 6, é um composto aromático eletroativo, na forma de um sólido cristalino de coloração amarela, parcialmente solúvel em água e clorofórmio e solúvel em etanol. Contém um grupo tiol (SH) que lhe confere a possibilidade de ancorar sua molécula a uma superfície metálica de ouro frente uma forte interação. Além disso, apresenta um grupo nitro ( $NO_2$ ) que pode ser amplamente utilizado em sistemas redox.

**Figura 6 - Molécula do 4-Nitrotiofenol**

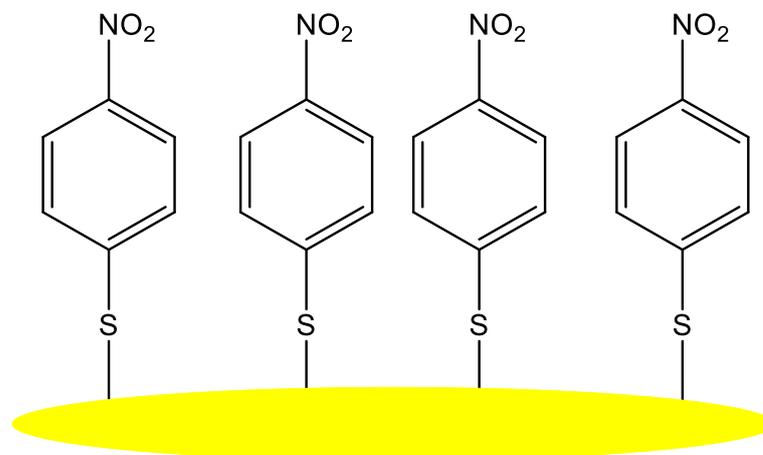
Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

O grupo terminal (-NO<sub>2</sub>) presente em uma de suas extremidades, pode ser irreversivelmente reduzido ao grupo terminal eletroquimicamente ativo, hidroxilamina (-NHOH), na qual exibe um comportamento redox reversível gerando como espécie o nitroso (-NO) (REDA, 1999; TSUTSUMI *et al.*, 1995).

As SAMs de tióis a partir de compostos aromáticos como o 4-NTP atrelado as nanopartículas tem ganhado destaque nos últimos anos, tendo em vista os compostos aromáticos apresentarem característica anisotrópica, alta condutividade elétrica e fortes interações intermoleculares. Nesse sentido, a escolha do grupo terminal do tiol aromático é fundamental, pois ele irá reagir diretamente com a espécie de interesse (CANCINO, 2008).

Enquanto novo mediador redox no desenvolvimento de sensores, o 4-nitrotiofenol, terá sua molécula imobilizada na superfície dos eletrodos junto às nanopartículas, mediante processo de interação entre a (porção R) que contém o grupo SH e o Au. A figura 7 mostra uma molécula do mediador imobilizada sobre uma superfície metálica, com o grupo nitro estrategicamente posicionado a reagir com o analito.

**Figura 7 - Molécula do 4-nitrotiofenol immobilizada sobre uma superfície metálica de ouro.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

#### 1.2.4 Nanopartículas de ouro

Nanopartículas são compostos ou moléculas que apresentam tamanho numa escala de (1–100 nm). Seu estudo tem sido voltado e aplicado em áreas distintas, tais como: ambiental, médica, farmacêutica, cosmética, entre outras (FIGUEIREDO FILHO, 2014).

As nanopartículas de ouro têm ganhado destaque nos últimos anos frente às suas propriedades elétricas, magnéticas e ópticas. Elas apresentam propriedades diferenciadas dos materiais em escala macroscópica e tem tornado materiais relevantes para diferentes aplicações (FIGUEIREDO FILHO, 2014).

Suas propriedades dependem do tamanho, composição, forma e natureza da sua superfície. O tamanho das partículas em escala nanométrica é responsável pelas alterações verificadas em propriedades fundamentais do ouro. Uma das características bastante evidenciada é a alteração da cor, que pode assumir diferentes tons de acordo com o tamanho das partículas. Em solução, as nanopartículas apresentam coloração avermelhada, vinho ou arroxeadas (COSTA, 2012).

Existem diferentes métodos para a síntese de nanopartículas de ouro, no entanto, o método de Turkevich, descrito em 1951 ainda hoje é o mais empregado. Consiste em adicionar citrato de sódio em excesso em uma solução aquosa de ácido

cloroáurico com temperatura de refluxo, aguardar o período reacional de aproximadamente 30 minutos e obter a solução coloidal. Como as nanopartículas são instáveis, o citrato funciona tanto na redução de precursor de ouro, como para estabilizar as nanopartículas (TEXEIRA, 2016).

Uma vez sintetizadas, estas nanopartículas são consideradas como blocos versáteis no processo de automontagem junto ao novo mediador 4-NTP. Elas podem reagir com o tiol para formar a monocamada, bem como, podem ter suas propriedades funcionalizadas com moléculas específicas e/ou ser arranjadas sobre um substrato de interesse.

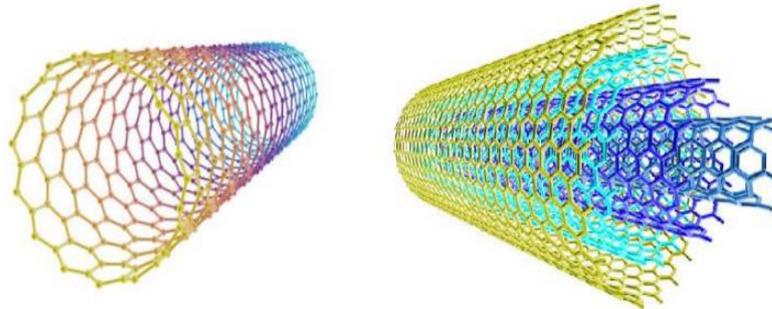
Como eletrodos não modificados apresentam poucos grupos funcionais passíveis de reagir diretamente com os mediadores redox (AuNPs/4-NTP), uma alternativa promissora para contornar alguns inconvenientes que possam surgir, é através da combinação destes mediadores, com materiais nanoestruturados funcionalizados e imobilizados inicialmente na superfície dos eletrodos. Nesse contexto, destacam-se os nanotubos de carbono como materiais nanoestruturados na modificação de eletrodos, possibilitando a formação de uma plataforma capaz de receber outros diferentes tipos de mediadores redox (SANTHIAGO, 2010).

#### 1.2.5 Nanotubos de Carbono

Os Nanotubos de carbono têm sido considerados estruturas versáteis capazes de atuar de forma multidisciplinar, com diferentes possibilidades de aplicações. Essas estruturas vêm sendo amplamente testadas em superfícies de eletrodos por sua alta condutividade elétrica, grande área superficial, estabilidade mecânica e química (FILHO e FAGAN, 2007; SAJID *et al.*, 2015; WANG, 2005).

Os Nanotubos de carbono (CNT) foram descobertos por Sumio Iijima em 1991. São formados por folhas de grafeno enroladas na forma de cilindros, na qual átomos de carbono formam ligações covalentes com hibridizações  $sp^2$ . São classificados quanto ao número de camadas, podendo ser do tipo: nanotubos de carbono de paredes múltiplas (“multi-wall carbon nanotubes - MWCNTs”), nanotubos de carbono de parede dupla (“double-wall carbon nanotubes - DWCNTs”) e nanotubos de carbono de camada simples (“single-wall carbon nanotubes- SWCNTs”) (FERNANDES, 2008; FILHO, 2007) conforme figura 8:

**Figura 8 - Nanotubos de parede única (SWCNT) à esquerda e Nanotubos de paredes múltiplas a direita (MWCNT).**



Fonte: FERNANDES, 2008.

Estas nanoestruturas são muito utilizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos, pois exibem atividade catalítica para muitos processos de transferência eletrônica quando imobilizados na superfície de eletrodos (CERNAT *et al.*, 2015).

Um fenômeno que tem sido explorado no desenvolvimento de sensores é a funcionalização de nanotubos de carbono de forma a aprimorar suas propriedades eletrônicas e mecânicas (FILHO e FAGAN, 2007). Pois, apesar de serem materiais com características bastantes promissoras, suas extremidades são mais propensas a oxidar do que suas paredes laterais devido à presença de maior tensão e defeitos nas ligações. Como alternativa de tentar contornar a falta de reatividade das paredes laterais dos tubos, são utilizados polímeros que possam reagir com a estrutura completa dos NTC (SANTHIAGO *et al.*, 2010).

Nesse sentido, vários trabalhos têm despontado o Polietilenoimina (PEI), como alternativa promissora na funcionalização dos NTC, pois é provocado um efeito sinérgico nas propriedades destes materiais, de forma a aumentar a ductibilidade do filme formado e melhorando o fluxo de corrente (PINTO, 2016; YANG, 2016).

### 1.2.6 Polietilenoimina - PEI

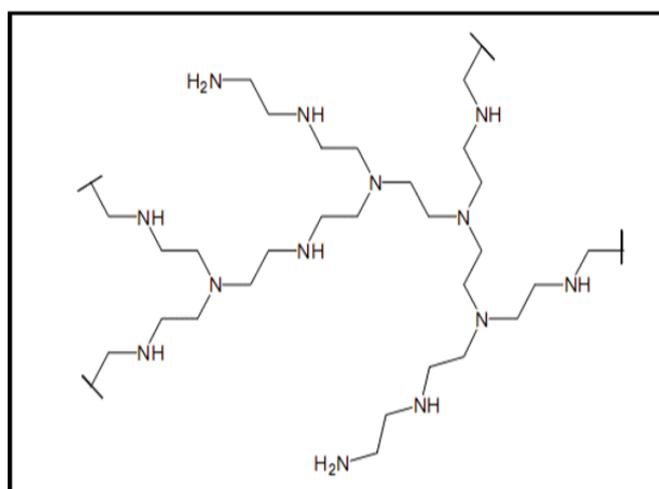
O PEI, de acordo com a Figura 9, é um polieletrólito fraco em solução aquosa, que existe em duas formas diferentes: linear ou ramificada. Sua forma linear tem apenas grupos amino secundários na cadeia polimérica, o que fornece um meio macromolecular local mais simples em solução aquosa que a PEI ramificada que possui aminas secundárias e terciárias na cadeia principal, e aminas primárias nas ramificações (GUERRA, 2011).

As diferentes possibilidades estruturais do PEI tem permitido uma diversidade de aplicações do polímero, cuja escolha depende do tipo de aplicação. No entanto, alguns estudos tem apontado que o polímero em sua forma ramificada tem apresentado melhores resultados tendo em vista o maior número de grupos amino presente na estrutura (DEPIERI, 2012; KWOK; HART, 2011; TOFFANI, 2015).

É um polímero obtido pelo processo de polimerização de etilenoimina por catálise ácida. Comercialmente, pode ser encontrado com diferentes massas moleculares (RICARDO, 2008).

Várias áreas como a química, biologia molecular e medicina tem utilizado as propriedades do polímero em seus estudos, e uma característica bastante evidenciada é a capacidade de agir como nucleófilos, podendo ser funcionalizado e conseqüentemente resultar em um polímero com atividade catalítica (JOHNSON e KLOTZ, 1974).

**Figura 9 - Estrutura de um segmento do PEI**



Fonte: RICARDO, 2008.

O polímero possui abundância de grupos amino em sua estrutura, apresenta elevada solubilidade em água, assim como alta adesão. Ele pode garantir uma interface carregada positivamente, e conseqüentemente deixá-la apta a adsorver uma grande quantidade de cargas negativas (YANG *et al.*, 2016).

Frente a possibilidade de adsorver espécies com cargas negativas, o PEI, pode ser considerado uma alternativa promissora para funcionalizar os nanotubos de carbono, e permitir a deposição sequencial das monocamadas auto-organizadas de tióis sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo.

Dessa forma, as monocamadas podem ser caracterizadas por diferentes técnicas, como microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica, termogravimetria, técnicas eletroquímicas, entre outras.

### **1.3 Técnicas de caracterização**

#### **1.3.1 Voltametria cíclica**

A voltametria cíclica (VC) é uma das técnicas eletroquímicas mais utilizadas para obtenção de informações qualitativas sobre processos eletroquímicos (WANG, 2006). Utilizada para a análise de espécies eletroativas com a determinação de mecanismos de reação e constantes de velocidade, ou seja, obtenção de informações termodinâmicas sobre os processos redox, assim como da cinética de transferência de elétrons (COMPTON *et al.*, 2011; WANG, 2000).

De acordo com Pacheco *et al* (2013) em um experimento voltamétrico, inicia-se a aplicação do potencial em um valor no qual nenhuma redução ocorre. Com a variação de potencial para regiões mais negativas (catódica) ocorre a redução do composto em solução, gerando um pico de corrente proporcional à concentração deste composto. Quando o potencial já tiver atingido um valor no qual nenhuma reação de redução ocorre, o potencial é varrido no sentido inverso até o valor inicial.

Ainda segundo Pacheco *et al* (2013), no caso de uma reação reversível os produtos que tiverem sido gerados no sentido direto (e se localizam ainda próximos à superfície do eletrodo) serão oxidados, gerando um pico simétrico ao pico da redução. O tipo de voltamograma gerado depende do tipo de mecanismo redox que o composto

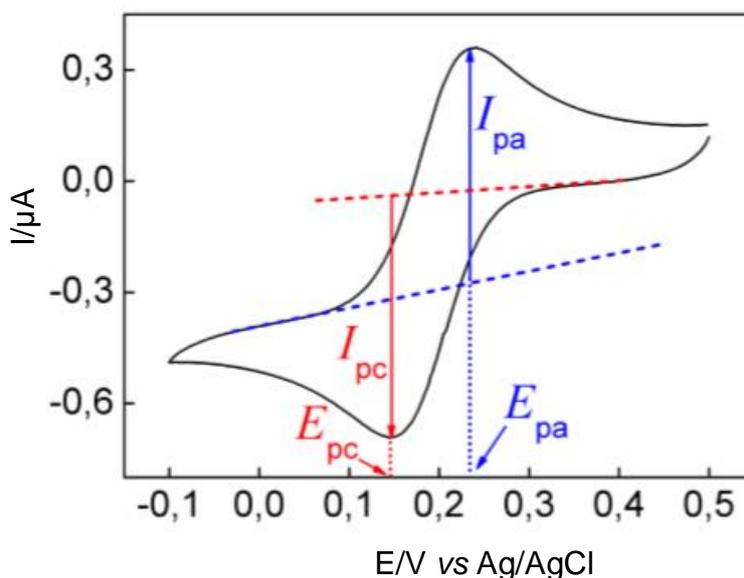
em questão sofre no eletrodo, o que faz da voltametria cíclica uma ferramenta valiosa para estudos mecanísticos.

Numa VC é medido valores de corrente entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo em função do potencial (normalizado ao potencial do eletrodo de referência) a partir de um sistema eletroquímico de três eletrodos. A corrente é medida ao ser aplicado uma diferença de potencial de um eletrodo (o eletrodo de trabalho), que é imerso em uma solução (ARISTOV et al., 2015).

A intensidade de corrente resultante em função do potencial aplicado, que é proporcional ao gradiente causado pela diferença de concentração entre superfície do eletrodo e a solução, permitindo a quantificação de um composto eletroativo (VERNASQUI, 2017).

Na figura 10, é representado um processo reversível de um ciclo de potencial na qual a partir deste é possível se obter parâmetros tais como potenciais de pico anódico ( $E_{pa}$ ) e catódico ( $E_{pc}$ ), assim como, correntes de pico anódico e catódico  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  respectivamente.

**Figura 10 - Voltamograma cíclico para espécies redox em solução com seus principais parâmetros obtidos**



Fonte: PAIOLA et al, 2017.

Em voltametria cíclica defeitos na formação de monocamadas auto-organizadas podem ser obtidos, a partir do monitoramento de mudanças no processo de transferência de elétrons das moléculas consideradas como sondas redox (MOSSANHA, 2011).

Apesar de ser essencial para análises qualitativas em sistemas redox, para testes quantitativos, faz-se necessário o uso de técnicas mais sensíveis, como exemplo, a Cronoamperometria.

### 1.3.2 Cronoamperometria

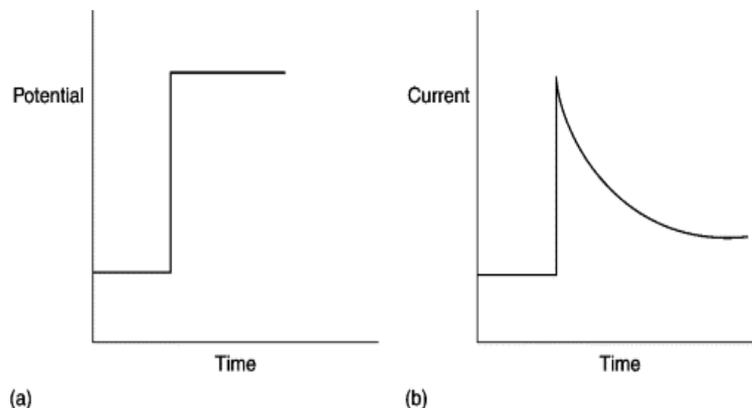
Cronoamperometria é uma técnica eletroquímica que determina a corrente que flui em um eletrodo de trabalho em função do tempo a um potencial constante. O fluxo de corrente é resultado do gradiente de concentração de espécies oxidadas na superfície do eletrodo. Este processo é regido pela equação de Cottrell, conforme mostrado abaixo (FERREIRA, 2009).

$$I_t = \frac{nFAC_0D_0^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} = bt^{-1/2}$$

Onde:  $I_t$  é a corrente a um tempo  $t$ ,  $n$  é o número de elétrons,  $F$  é a constante de Faraday,  $A$  é a área do eletrodo,  $C$  é a concentração das espécies oxidadas e  $D$  é o coeficiente de difusão das espécies oxidadas.

Nesta técnica, do tipo *potencial-step*, dois potenciais são aplicados. O primeiro potencial ( $E_1$ ) tem função de carregar a dupla camada elétrica na superfície do eletrodo de trabalho e é aplicado numa região na qual não ocorre reações com as espécies eletroativas. Já o segundo potencial ( $E_2$ ) é o potencial na qual ocorre a reação para espécie em investigação, conforme figura 11 (FERREIRA, 2009).

**Figura 11 - (a) Aplicação do potencial-step; (b) Comportamento da corrente em função do tempo.**



Fonte: GUY e WALKER, 2016.

Nesta técnica, para sistemas com espécies eletroativas adsorvidas na superfície do eletrodo como no caso dos eletrodos quimicamente modificados (EQM):

Ocorre redução ou oxidação total do mediador na qual a corrente irá estabilizar eletroquimicamente o analito. Com isso, é verificado uma variação de corrente provocada pelo efeito catalítico a partir do mediador utilizado. Além disso, se a variação de corrente for linear compreende-se que o eletrodo pode ser usado como sensor (NECTOUX, 2012, p. 10).

### 1.3.3 Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)

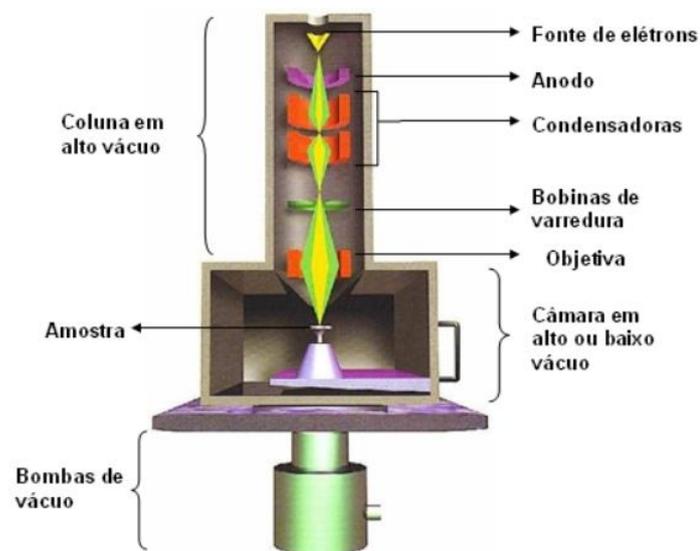
O microscópio eletrônico de varredura (MEV) tem se tornado uma ferramenta fundamental em pesquisas de diversas áreas do conhecimento. Em particular, o desenvolvimento de novos materiais, exige uma caracterização detalhada em termos de características microestruturais, e o MEV é um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para esse tipo de análise (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

Quando comparadas suas vantagens a outros microscópios, ele está entre o Microscópio ótico (MO) e o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). A grande vantagem do MEV em relação ao microscópio ótico é sua alta resolução, na ordem de 2 a 5 nm (20 – 50 Å) - atualmente existem instrumentos com até 1 nm (10 Å) - enquanto

que no ótico é de 0,5  $\mu\text{m}$ . Comparado com o MET a grande vantagem do MEV está na facilidade de preparação das amostras (MALISKA, 2018).

A figura 12 mostra o princípio básico de funcionamento do MEV que consiste basicamente da coluna ótico-eletrônica, unidade de varredura, câmara de amostra, sistema de detectores e sistema de visualização da imagem.

**Figura 12 - Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura.**



Fonte: Fap.USP, 2018.

Como observado acima, o canhão de elétrons é usado para a produção do feixe de elétrons com energia e quantidade suficiente para ser captado pelos detectores. Esse feixe eletrônico é então demagnificado por várias lentes eletromagnéticas, cuja finalidade é produzir um feixe de elétrons focado com um pequeno diâmetro numa determinada região da amostra. Esse feixe de elétrons varre a superfície da amostra e sua interação com o material analisado gera diversos tipos de sinais que são utilizados para a formação de imagens ou análise da composição da amostra. Com isso, as imagens podem fornecer informações referentes à morfologia e topografia (MALISKA, 2018).

A alta resolução da imagem é justificada como a principal razão para sua utilização. Além disso o MEV promove uma aparência tridimensional da amostra revelada pela profundidade de foco (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

#### 1.3.4 Microscopia de Força Atômica (AFM)

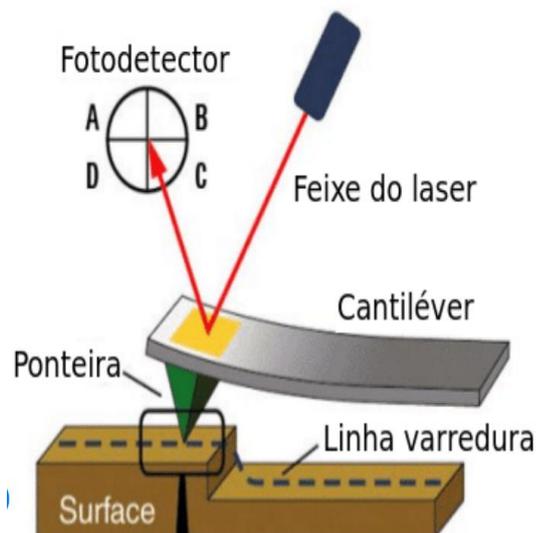
A microscopia de força atômica tem promovido um grande avanço à ciência frente a possibilidade de gerar imagens com resolução atômica. O estudo promove características referentes a morfologia das amostras destacando-se por ser aplicável em amostras do tipo condutoras ou não.

A técnica permite mapear a topografia de uma amostra desde a escala micrométrica até a atômica (SINGAMANENI et al., 2008). Quando comparado a outros tipos de microscópios, ele se destaca no que se refere a alta resolução em 3 dimensões diferentes, além disso, não há necessidade de aplicar métodos específicos para preparo da amostra, possibilita a quantificação da rugosidade e permite a medição de filmes ultrafinos sobre os substratos (PINTO et al, 2013).

A figura 13 traz o princípio de funcionamento que consiste na varredura de uma sonda sobre uma superfície. São medidas deflexões da sonda (ponteira + cantilever) do microscópio enquanto uma ponta, componente desta sonda realiza a varredura. Essas deflexões são consequências de forças de interação que ocorrem entre a ponta-amostra na qual a força mais comumente associada com a deflexão do cantilever é a força de van der Waals. A parte superior ao cantilever, possui um laser que incide e reflete um feixe que passa por um espelho e alcança um fotodetector de quatro quadrantes (FERREIRA e YAMANAKA, 2006; LOGRADO, 2009).

As diferenças de deflexões do cantilever que são captadas no detector por meio dos desvios do laser, são processadas e armazenadas no computador que as transformam em imagens topográficas. Ainda, a varredura é efetiva a partir de um sistema de scanner piezoelétrico que realiza movimentos em três direções (X, Y e Z) com precisão em escala nanométrica (HERMANN et al, 1997; LOGRADO, 2009).

**Figura 13 - Esquema dos componentes básicos de um microscópio de força atômica.**



Fonte: researchgate.net, 2019.

### 1.3.5 Análise Termogravimétrica

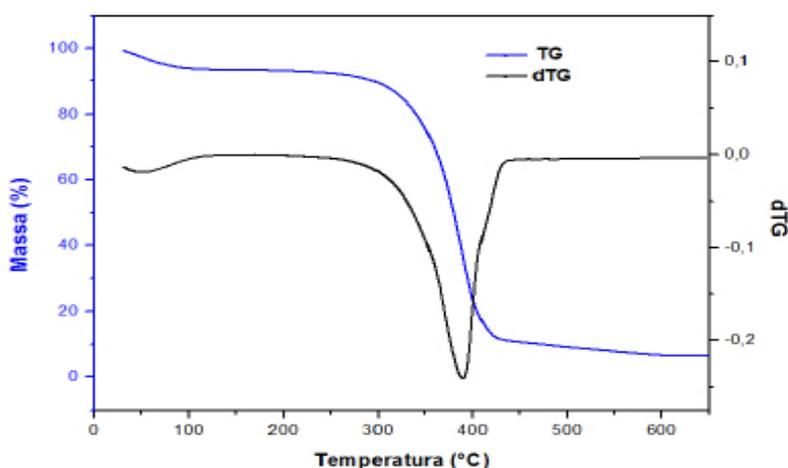
A análise termogravimétrica (TGA) faz parte de um conjunto de técnicas denominadas termoanalíticas. Ela realiza o acompanhamento da amostra, que pode perder ou ganhar massa, em função de uma programação de temperatura aplicada ao sistema ou por tempo de aquecimento (DENARI e CAVALHEIRO, 2012).

É uma técnica de análise térmica considerada como quantitativa a partir da variação de massa sofrida pela amostra decorrente de transformações físicas (sublimação, evaporação, condensação) ou químicas (degradação, decomposição, oxidação) (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002). Um fator importante a ser considerado para as variações de decomposições térmicas, é o ambiente em que amostra se encontra, assim como a atmosfera vinculada a ela (LAN *et al.*, 2018).

Um sistema que compõe a análise por termogravimetria é uma balança analítica sensível, um forno, sistema de gás de purga e um sistema de aquisição de análise dos dados. Nas curvas obtidas no TGA, como representado na figura 14, a perda de massa (expressa no eixo vertical em porcentagem) é caracterizada por duas temperaturas  $T_i$  e  $T_f$  (no eixo horizontal). A  $T_i$  é a temperatura inicial e indica o valor que a termobalança é capaz de detectar, já a  $T_f$  indica a temperatura final que é o valor máximo de degradação correspondente ao término da reação (GIOLOTO e

IONASHIRO, 1980). A imagem é exemplo de um composto qualquer com suas respectivas perdas de massa e sua dTG (primeira derivada) na qual apresenta informações mais facilmente visualizadas, como eventos sobrepostos, por exemplo.

**Figura 14 - Representação básica de uma curva termogravimétrica.**



Fonte: BENADUCCI e BRANCIFORTI, 2016

A curva resultante pode fornecer informações sobre estabilidade térmica, composição da amostra inicial e formação de possíveis intermediários formados no decorrer da análise. A técnica vem sendo utilizada para diferentes aplicações, inclusive, na caracterização de nanomateriais tais como nanotubos de carbono, nanopartículas, entre outros, o que justifica sua importância para área de desenvolvimento de sensores

## 1.4 Analito em investigação

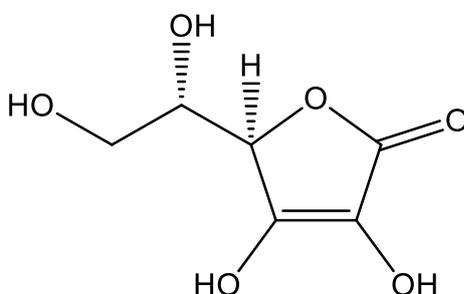
### 1.4.1 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico - L-AscH<sub>2</sub> ou vitamina C (Figura 15) é uma vitamina hidrossolúvel comumente utilizada como antioxidante, considerada essencial para o funcionamento do organismo. De acordo com Nogueira (2011, p. 13) “antioxidantes são substâncias que podem prevenir ou retardar danos oxidativos de lipídios,

proteínas e ácidos nucleicos por espécies reativas de oxigênio, que incluem radicais livres e não-radicais”.

É essencial ao homem, pois não pode ser sintetizado a partir da glicose que é seu precursor, como ocorre em plantas e na maioria dos animais (LIMA, 2009). Apresenta fórmula  $C_6H_8O_6$  e massa molecular de  $176,13 \text{ g mol}^{-1}$ . É descrito como pó cristalino branco, estável enquanto sólido, mas que oxida facilmente quando em solução. É solúvel em água e pouco solúvel em solventes orgânicos (FARMACÓPEIA, 2010).

**Figura 15 - Estrutura química do L - ácido ascórbico**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

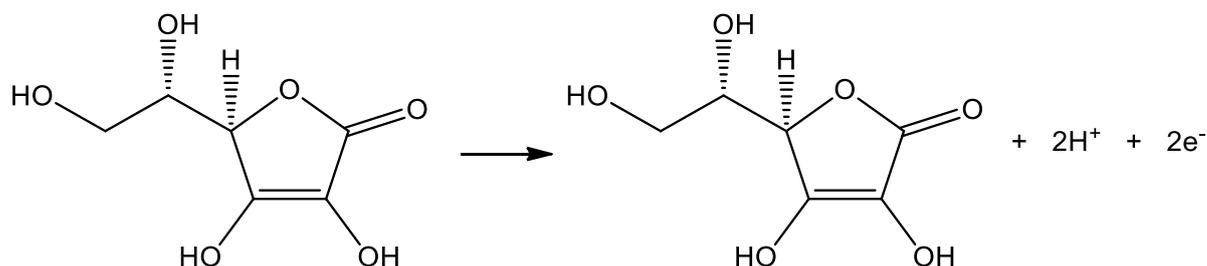
É abundante em frutas e na maioria dos vegetais, particularmente naqueles compostos de folhas verdes. Entretanto é a mais lábil vitamina nos alimentos e parte de sua atividade é perdida através do auto oxidação durante a preparação, cozimento e armazenamento dos alimentos. A reserva de ácido L-ascórbico no organismo de um ser humano adulto é de aproximadamente 1500 mg, sendo considerada a ingestão média diária de 45 a 75 mg. Caso não ocorra ingestão da vitamina e a reserva decresça para menos de 300 mg, quadro clínico como a doença de escorbuto pode surgir no intervalo de 30 a 45 dias (GONÇALVES, 2008).

Estudos recentes, tem realizado avaliação acerca do papel do L-AscH<sub>2</sub> no tratamento e/ou prevenção de diferentes doenças tais como: asma, rinite alérgica, dermatites, doenças cardiovasculares, obesidade, hipertensão, infertilidade, aterosclerose, infertilidade, câncer e doenças autoimunes (BI *et al.*,2016). Entretanto, essa mesma substância pode causar no organismo humano, irritação gástrica e

problemas renais oriundos de um de seus metabólitos, o ácido oxálico caso sua concentração seja alterada.

Dentre as suas propriedades, a que mais se destaca é a propriedade redox. Possui em sua estrutura dois átomos de hidrogênio ionizáveis (pKa 4,04 e 11,34) observado pela presença da estrutura de um diol que é oxidado formando o ácido L-deidroascórbico conforme mostrado na figura 16. Além disso, apresenta-se em maior proporção no meio fisiológico pH= 7,4 na forma de ascorbato, o qual é responsável pela sua ação antioxidante, visto que possui a capacidade de doar um H<sup>•</sup> ou [H<sup>+</sup> + e<sup>-</sup>] para outro radical. A espécie ascorbato oxida facilmente e sua taxa de oxidação depende do pH. Com isso, é bastante relevante em sistemas bioquímicos (FORNARO E COICHEV, 1998).

**Figura 16 - Oxidação do ácido L-ascórbico em ácido L-deidroascórbico.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

Pela importância que o ácido ascórbico tem para o funcionamento do organismo e manutenção da vida enquanto vitamina, vários métodos já foram descritos e aplicados frente a necessidade de sua detecção e quantificação em diferentes amostras de interesse. O método titulométrico utilizando o indicador 2,6-dicloro-fenol-indofenol é o método oficial da AOAC (Official Methods of Analysis of the Association Official Analytical Chemists). Apesar de ser o método oficial e apresentar simplicidade e baixo custo, ele apresenta desvantagens em relação a interferentes redutores, corantes como as antocianinas, compostos fenólicos e

flavonoides, pois, a concentração destas substâncias aumenta à medida que o fruto amadurece interferindo na detecção da vitamina C (NOGUEIRA, 2008).

No entanto, pesquisas ainda têm sido realizadas na tentativa de se propor novos métodos de determinação com sistemas analíticos mais simples e eficazes (HANSEN et al. 2016). Nesse contexto, os sensores eletroquímicos têm sido considerados como uma alternativa de detecção e quantificação promissora, uma vez que se tem a possibilidade de se trabalhar com sistemas altamente sensíveis e seletivos ao analito.

#### 1.4.2 EQMs para detecção de Ácido ascórbico

Florou *et al.* (2000), desenvolveram uma metodologia de detecção para o ácido ascórbico a partir de um eletrodo impresso, modificado com um catalisador 2,6-diclorofenolindofenol sal lantânio. A técnica utilizada para investigação eletroquímica foi voltametria cíclica, na qual obteve-se limite de detecção de  $0,6 \text{ mmol L}^{-1}$ , com percentual de recuperação que variou de 91 a 103%.

Raof, Ojani e Kiani (2001), construíram um eletrodo de pasta de carbono a base de pó de grafite e ácido carboxílico ferroceno. Os autores obtiveram uma redução no potencial de oxidação do ácido ascórbico, cerca de 248 mV menos positivo do que em um eletrodo de pasta de carbono não modificado, com limite de detecção  $1,08 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

Shankaran, Limura e Kato (2003) desenvolveram um sensor a partir de um eletrodo modificado com um composto sol-gel contendo cobre disperso a partir de (3-mercaptopropil) trimetoxisilano (MPS) e nitrato de cobre para determinação de ácido ascórbico e dopamina. Os limites de detecção obtidos foram  $8,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  para AA e  $5,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  para DA.

Roy *et al.* (2004) Depositaram eletroquimicamente polímeros de N, N-dimetilanina sobre eletrodos de pasta de carbono. O filme formado, carregado positivamente, facilitou a oxidação do ácido ascórbico de forma que se percebeu um deslocamento potencial para uma região menos positiva.

Sivanesan, Kannan e John (2007) modificaram um eletrodo de ouro com monocamadas auto-organizadas de nanopartículas de ouro e 1,6-hexanoditiol. Os autores obtiveram um limite de detecção de  $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , de forma que interferentes

fisiológicos como ureia, oxalato e glicose não apresentaram interferência dentro da faixa de detecção obtida.

Ardakani *et al.* (2010) desenvolveram um sensor a partir de um eletrodo de pasta de carbono fundamentado em nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  para detecção de ácido ascórbico e ácido úrico, com limite de detecção de  $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$ .

Habibi e Pournaghi-Azar (2010) empregaram um eletrodo de carbono cerâmico modificado com MWCNT para a determinação simultânea de ácido ascórbico (AA), dopamina (DA) e ácido úrico (AU). O sensor apresentou baixos limites de detecção e foi aplicado em amostras reais de soro humano.

Francisco *et al.* (2012) modificaram um eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e ácido poly-xanturênico (AX) e obtiveram limites de detecção muito baixos para ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU). O sensor desenvolvido foi aplicado em amostras reais.

Wang *et al.* (2013) utilizaram nanopartículas de paládio, grafeno e quitosana para modificação de um eletrodo de carbono vítreo. Técnicas como voltametria cíclica e de pulso diferencial foram utilizadas para mostrar a atividade eletrocatalítica do sensor na detecção de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico. No que concerne ao ácido ascórbico o limite de detecção obtido foi de  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Zhang *et al.* (2013) relataram um método simples para a determinação do ácido ascórbico usando um eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com poli (bromocresol roxo). O filme de poli (BCP) exibiu o efeito eletrocatalítico em relação à oxidação do ácido ascórbico, com resposta de corrente aumentada. O limite de detecção obtido foi de  $6,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , e os autores aplicaram o sensor em amostras de comprimidos de vitamina C.

Fang *et al.* (2015) desenvolveu um sensor a partir de eletrodo de grafite, modificado com nanotubos de carbono funcionalizados com catalisador (Ni) e Polianilina a partir do processo de polimerização. Observaram por microscopia uma rede tridimensional típica com atividade eletrocatalítica para o ácido ascórbico (AA), com limite de detecção de  $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ .

Tsierkezos *et al.* (2016) desenvolveram um estudo que mostra a capacidade eletrocatalítica de diferentes nanopartículas metálicas imobilizadas em nanotubos de carbono dopados com nitrogênio na oxidação simultânea de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico. As análises mostraram que dentre as nanoestruturas

metálicas, as nanopartículas de ouro, apresentaram menores potenciais de oxidação. Particularmente ao ácido ascórbico, o limite de detecção obtido foi de  $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Sha e badhulika (2018) desenvolveram um método de síntese verde para o composto reduzido de óxido de grafeno (rGO) óxido de estanho ( $\text{SnO}_2$ ) usando extrato de limão por processo hidrotérmico, com detecção eletroquímica seletiva e ultrasensível de ácido ascórbico. O sensor como fabricado exibiu limite inferior de detecção  $38,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Apresentou também seletividade para espécies interferentes, como glicose, uréia, ácido úrico e íons  $\text{Na}^+$ .

Li et al (2018) sintetizaram nitreto de boro hexagonal a partir de síntese por combustão à baixa temperatura, bem como nitretação e redução carbotérmica, para modificação do eletrodo de carbono vítreo. E utilizaram como sensor para detecção de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico com limites de detecção de 3,77, 0,02 e  $0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$  respectivamente.

Os trabalhos reportados são apenas alguns exemplos dentre várias metodologias de modificação de eletrodo para detecção de ácido ascórbico. Os estudos contínuos, mostram a importância de detecção e quantificação do analito, assim como a necessidade de propor novas metodologias a fim de se obter resultados mais significativos frente a diferentes tipos de amostras de interesse.

A tabela 3 apresenta exemplos de aplicações de métodos eletroquímicos para detecção de ácido ascórbico a partir de eletrodos quimicamente modificados. É percebido através dos exemplos trazidos que a partir de diferentes metodologias de modificação (transdução) é possível aplicar as plataformas desenvolvidas em diferentes tipos de amostras reais.

**Tabela 3 - Exemplos de eletrodos quimicamente modificados e suas aplicações para ácido ascórbico.**

| <b>MÉTODO</b>           | <b>TRANSDUTOR (EQM)</b>                                                                        | <b>MATRIZ</b>                  | <b>REFERÊNCIA</b>             |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Voltamétrico (VPD E VC) | Eletrodo de pasta de carbono com platina.                                                      | Suco de laranja                | Pisoschi et al, 2011          |
| Amperométrico           | Microeletrodos de ouro modificados por deposição eletroquímica de paládio.                     | Urina                          | Matos et al, 2000             |
| Amperométrico           | Microeletrodo de fibra de carbono modificado com óxido de níquel/ hexacianoferrato de Rutênio. | Suco gástrico humano           | Hutton et al, 2010            |
| Voltamétrico (VPD)      | Eletrodo de carbono-cerâmico modificado com nanotubos de carbono de paredes simples            | Comprimidos de Ácido ascórbico | Habibi et al, 2011            |
| Amperométrico           | Eletrodo de oxigênio Clark                                                                     | Suco de frutas e refrigerante  | Pisoschi et al, 2010          |
| Amperométrico           | Eletrodo de ouro modificado com nanotubos de carbono carboxilados/Polianilina                  | Comprimidos de Vitamina C      | Chauran, Naran e Pundir, 2011 |

Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

Com isso, os sensores eletroquímicos utilizando monocamadas auto-organizadas de tióis, anteriormente mencionados, pode ser uma alternativa promissora na detecção do ácido ascórbico quando comparado a outros sensores já reportados, utilizando diferentes metodologias de imobilização dos mediadores redox.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento de um sensor eletroquímico baseado em monocamadas auto-organizadas (SAMs) para determinação, detecção e quantificação do antioxidante ácido ascórbico.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar a plataforma desenvolvida a partir de diferentes técnicas, tais como: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia de Força Atômica (AFM) e Análise Termogravimétrica (TGA);
- b) Caracterizar a fase sensora eletroquimicamente a partir da técnica de voltametria cíclica;
- c) Otimizar parâmetros experimentais tais como, valor de pH, velocidade de varredura sobre o sinal analítico e concentração da solução tampão;
- d) Investigar os mecanismos das reações eletroquímicas entre a fase sensora e o analito em estudo;
- e) Obter as figuras de mérito referentes à espécie de interesse a partir da técnica cronoamperometria;
- f) Realizar estudos de possíveis interferentes, bem como verificar a estabilidade, repetibilidade e tempo de vida útil;
- g) Comparar resultados obtidos com outros métodos reportados na literatura.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Reagentes e Soluções

Todas as substâncias empregadas foram de grau analítico. Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT), Nanopartículas de ouro (AuNPs), 4-nitrotiofenol (4-NTP), N, N-Dimetilformamida (DMF), *L*-AscH<sub>2</sub> (ácido ascórbico), foram adquiridos da Sigma–Aldrich (St. Louis, USA), Polietilenoimina (PEI), Etanol, Diidrogenofosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e hidrogenofosfato de sódio (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) foram adquiridos da Synth (São Paulo, Brasil).

As soluções foram preparadas usando água purificada em sistema Milli-Q Millipore (18.2 MΩ cm, Millipore (Merck), Darmstadt, Germany) e os valores de pH das soluções tampão a serem utilizadas foram ajustadas com solução de NaOH (Sigma–Aldrich, St. Louis, USA) e determinados com um pHmetro (Tecnocon mPA 210).

#### 3.2 Pré-tratamento do eletrodo de carbono vítreo (ECV)

Para iniciar o procedimento de modificação da superfície do ECV foi realizado um polimento mecânico com alumina de diferentes granulações (1,0, 0,5, 0,3 μm), para obter uma superfície verdadeiramente limpa e espelhada. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água deionizada e colocado em etanol por 1 minuto para remoção de possíveis partículas de alumina adsorvidas na superfície do eletrodo. A limpeza do eletrodo foi averiguada a partir da técnica de voltametria cíclica, fazendo-se uso de uma sonda eletroquímica já elucidada, o ferrocianeto de potássio (K<sub>4</sub> [Fe(CN)<sub>6</sub>] ) 1mmol em KCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>, um sistema reversível em potenciais adequados. Em seguida, o eletrodo foi lavado com água deionizada e guardado à temperatura ambiente (LOPES, 2014).

#### 3.3 Preparo da solução de Ácido ascórbico (*L*-AscH<sub>2</sub>)

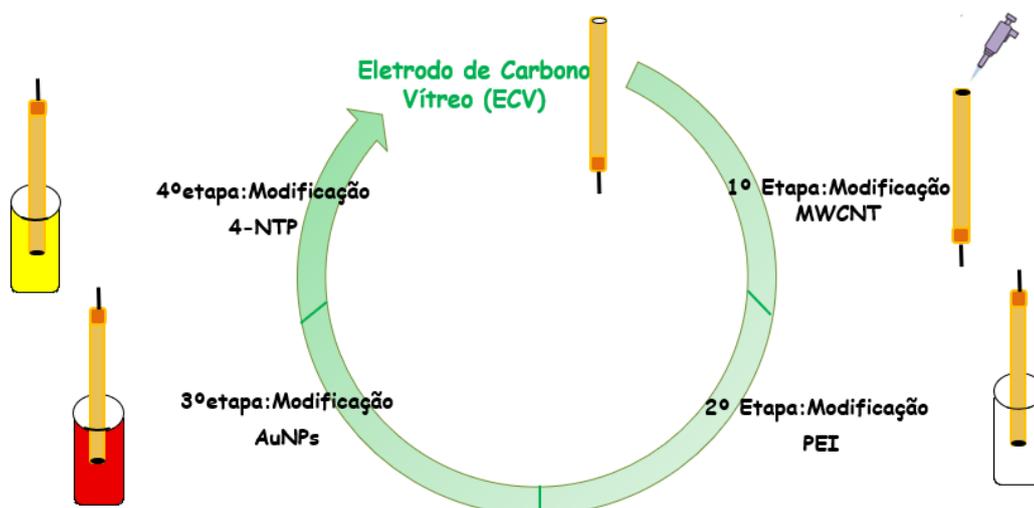
Solução de (*L*-AscH<sub>2</sub>) – Em um eppendorf, foi pesada uma massa de 1,7 mmol L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico, em seguida, foi adicionado 1 mL de tampão fosfato pH = 7,00. Frente a instabilidade do ácido ascórbico (possibilidade de oxidação), a solução foi preparada e utilizada no mesmo dia.

### 3.4 Construção do sensor

Para a construção do sensor, uma vez o eletrodo de carbono vítreo (ECV) previamente polido, o eletrodo passou por processo de modificação em quatro etapas sobre sua superfície. Inicialmente, foram depositadas alíquotas de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) dispersos em dimetilformamida (DMF) numa proporção de 2:1, as quais foram secas em estufa a 80 °C.

Em seguida, o ECV modificado com MWCNT, foi lavado com água e imerso numa solução de Polietilenoimina (PEI) a 2% por 1 h à temperatura ambiente, seguido de lavagem com água. A partir do eletrodo modificado com MWCNT/PEI, uma monocamada auto-organizada (SAMs) foi formada através da imersão do eletrodo em nanopartículas de ouro (AuNPs) 5 nm por 1 h à 4 °C, seguido de lavagem com água e imerso novamente em uma solução de 4-nitrotiofenol por 15 h à temperatura ambiente.

**Figura 17 - Etapas da modificação do eletrodo de carbono vítreo para formação da SAM.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

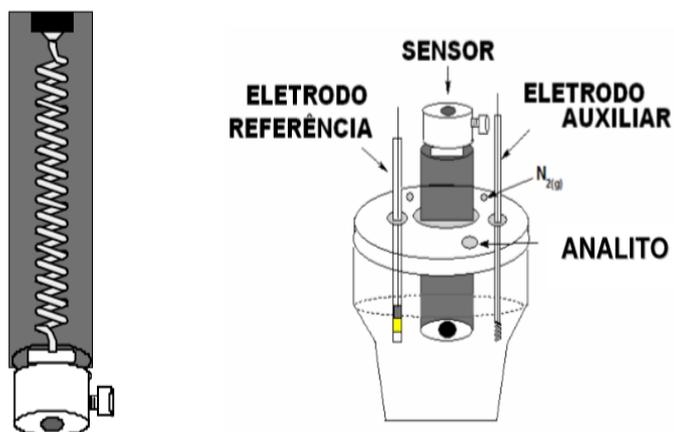
### 3.5 Medidas eletroquímicas

As medidas voltamétricas e cronoamperométricas foram realizadas com um Potenciostato modelo PGSTAT-30 da Autolab Eco Chemie (Utrecht, The Netherlands) conectado a um PC (Software NOVA 1.0). Uma célula eletroquímica com três eletrodos foi utilizada, sendo o eletrodo de referência um Ag/AgCl (KCl saturado), um fio de platina como eletrodo auxiliar e um eletrodo de carbono vítreo tanto na ausência quanto na presença de modificação como eletrodo de trabalho, conforme figuras 18 e 19.

Figura 18 - Potenciostato da Autolab Eco Chemie



Figura 19 - Modelo esquemático de célula eletroquímica de três eletrodos



Fonte: LIMA, 2009.

As medidas foram realizadas usando 10 mL de solução tampão fosfato. Durante todas as análises foi necessária a eliminação de oxigênio dissolvido, na qual foi realizada pelo borbulhamento de um fluxo de nitrogênio ( $N_2(g)$ ) nas soluções por 10 minutos para cada análise.

### **3.6 Medidas microscópicas: MEV E AFM**

Conforme as figuras 20 e 21, o microscópio eletrônico de varredura utilizado, foi o modelo da Shimadzu VEGA3 (LM, SE) juntamente com a técnica de deposição a partir de um metalizador Quorum Technologies LTD, Ashford, modelo Q15OR e o Microscópio de Força Atômica utilizado, foi o modelo SPM-9700, da Shimadzu com operação no modo dinâmico com pontas de geometria cônica de raios nominal do ápice de 5 nm.

Essas técnicas permitiram que fossem evidenciadas as morfologias e topografias do eletrodo modificado frente a um processo de modificação do eletrodo de carbono vítreo realizado em quatro etapas. Foram realizados ensaios microscópicos para:

- 1) Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de parede múltipla e polietilenoimina;
  
- 2) Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de parede múltipla, polietilenoimina e nanopartículas de ouro;
  
- 3) Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de parede múltipla, polietilenoimina, nanopartículas de ouro e 4-nitrotiofenol (SAM).

**Figura 20 - Microscópio eletrônico de varredura (MEV)**



Fonte: Tescan.com

**Figura 21- Microscópio de Força Atômica (AFM)**



Fonte: Mesochem.com

### 3.7 Medidas Termogravimétricas

As análises de TGA foram realizadas em aparelho de termoanálise da marca Shimadzu (Kyoto, Japão), modelo DTG-60 conforme figura 22, com uma taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  onde cada amostra correu em um fluxo de gás  $\text{N}_2(\text{g})$  de  $50\text{ mL min}^{-1}$  de 25 a  $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Para caracterizar a monocamada foi averiguado o perfil de decomposição térmica de cada padrão utilizado no processo de formação da monocamada separadamente, assim como, o perfil da monocamada constituída a partir do eletrodo quimicamente modificado frente as quatro etapas.

**Figura 22 - TGA 60 da Shimadzu**



Fonte: ifsc.usp.br

### 3.8 Otimização dos parâmetros experimentais

Inicialmente, verificou-se as melhores proporções para os reagentes utilizados no procedimento de modificação e em seguida, a proporção que apresentou melhor sinal analítico foi fixada e utilizada nos estudos posteriores.

Dessa forma, para o procedimento de modificação do eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono foram avaliadas três proporções diferentes de

dispersão de nanotubos (MWCNT + DMF): Proporção de 1:1; proporção de 1:2 e de 2:1 na qual a proporção fixada foi de 1:2.

Para utilização das nanopartículas foram testados dois tipos: nanopartículas de ouro de 10 nm e de 5 nm, sendo a de 5 nm a que apresentou melhores resultados.

Foi também realizado um estudo de melhor solução tampão. As soluções avaliadas foram tampão fosfato de sódio, tampão Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanossulfônico - (Hepes) e tampão tris-hidroximetilaminometano (TRIS). Sendo o tampão fosfato de sódio aquele que apresentou o melhor resultado e foi fixado para os demais estudos.

Após a escolha da solução tampão fosfato como solução fixa a ser utilizada para as medidas, foi avaliada a melhor concentração do tampão escolhido realizando-se um estudo para diferentes concentrações num intervalo de 0,020 e 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A concentração fixada foi de 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

A partir dos parâmetros de modificação otimizados, foi investigada a melhor faixa de potencial para a ativação *in situ* do eletrodo. Com isso, foram avaliadas duas faixas de potenciais: -0,3 a 0,2 V e -0,3 a 0,4 V, na qual a segunda faixa citada apresentou melhor desempenho e foi fixada para os estudos posteriores.

### **3.9 Estudo da estabilidade, repetibilidade e tempo de vida do sensor**

A avaliação da estabilidade foi realizada a partir de diferentes medidas consecutivas fazendo-se uso do mesmo eletrodo modificado. Assim, foi possível comparar as respostas obtidas no decorrer de diferentes análises. Já a análise do tempo de vida do eletrodo foi verificada a partir de medidas realizadas ao longo de um mês a partir do mesmo eletrodo guardado sob temperatura ambiente. A repetibilidade do sensor foi avaliada a partir da construção de 5 sensores em dias diferentes e, em seguida, o DPR foi calculado para as medidas obtidas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Caracterização da plataforma ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

No intuito de estudar os aspectos morfológicos da fase sensora, foram obtidas diferentes micrografias, frente a imobilização de MWCNT, PEI, AuNPs e 4-NTP sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo.

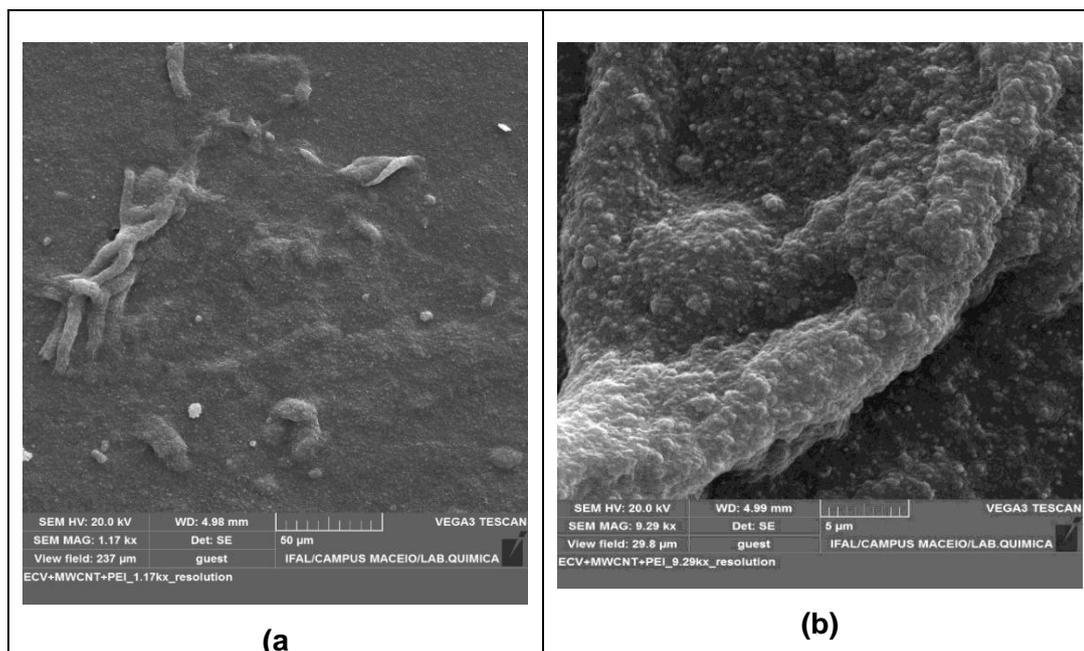
As micrografias foram realizadas para cada etapa de modificação do eletrodo no processo de formação da monocamada. Para obtenção das imagens o eletrodo de carbono vítreo passou por uma adaptação de tamanho a partir de cortes realizados em sua estrutura. Os eletrodos adaptados foram modificados com cada reagente supracitado anteriormente e lavados com água deionizada em seguida, passaram pelo metalizador para deposição de ouro sobre suas superfícies e foram adicionados ao porta amostra do microscópio eletrônico para realização das varreduras.

Diferentes magnificações foram utilizadas para que fossem evidenciadas as morfologias de cada região da superfícies modificadas.

Com isso, a partir das Figuras 23 (a e b), obtidas em diferentes magnificações, é possível perceber que o eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNT/PEI apresenta característica de aglomeração. Essa característica justifica-se tanto interações entre nanotubos de carbono e polietilenoimina, quanto pela própria característica intrínseca ao PEI que é considerado um excelente promotor de aderência.

Com isso, essa tendência de aglomeração gerou um recobrimento de superfície rugoso quase homogêneo, pois, em algumas regiões da superfície ainda é possível perceber estruturas semelhantes a “espaguete” que são características dos nanotubos de carbono.

**Figura 23 - Micrografias Eletrônicas de Varredura do ECV/MWCNT/PEI (a) 3.430x e (b) 9.290x.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

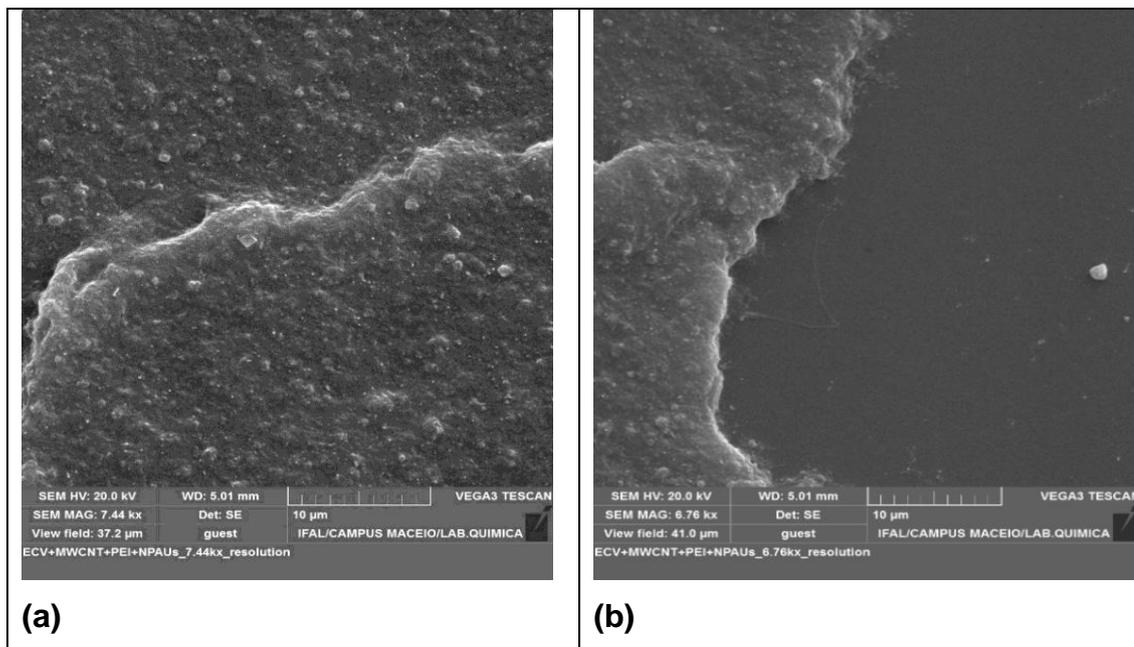
Comparando as micrografias anteriores com a das Figuras 24 (a-b), que reporta o eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNT/PEI/AuNPs não se observa diferenças significativas na morfologia a partir da presença das nanopartículas. No entanto, é possível perceber a formação de uma camada mais uniforme quando comparada com eletrodo com MWCNT/PEI. Essa uniformidade comprova a excelente capacidade do PEI de formação de filme com grande compatibilidade com as nanopartículas com possibilidade de múltiplas interações que resultam em forte adsorção do polímero nas nanopartículas.

Nesta etapa de formação da camada PEI/AuNPs ocorre um processo de interação eletrostática, justificada pela característica catiônica do polímero Polietilenoimina e caráter aniônico das nanopartículas de ouro. Com isso, as nanopartículas são bem distribuídas ao longo das cadeias do polímero de forma que ficam bem dispersas por todo o filme.

Na Figura 24-b é mostrado nitidamente o processo de formação de modificação frente a comparação a partir de região da superfície não modificado do carbono vítreo. O lado direito da imagem mostra uma superfície lisa e plana característica do eletrodo do sem modificação (ECV), diferentemente do lado esquerdo que reporta uma

camada expressa com característica rugoso e homogênea, comprovando forte adsorção das espécies na superfície do eletrodo.

**Figura 24 - Micrografias Eletrônicas de Varredura do ECV/MWCNT/PEI/ AuNPs (a) 3.430x, (b) 9.290x.**

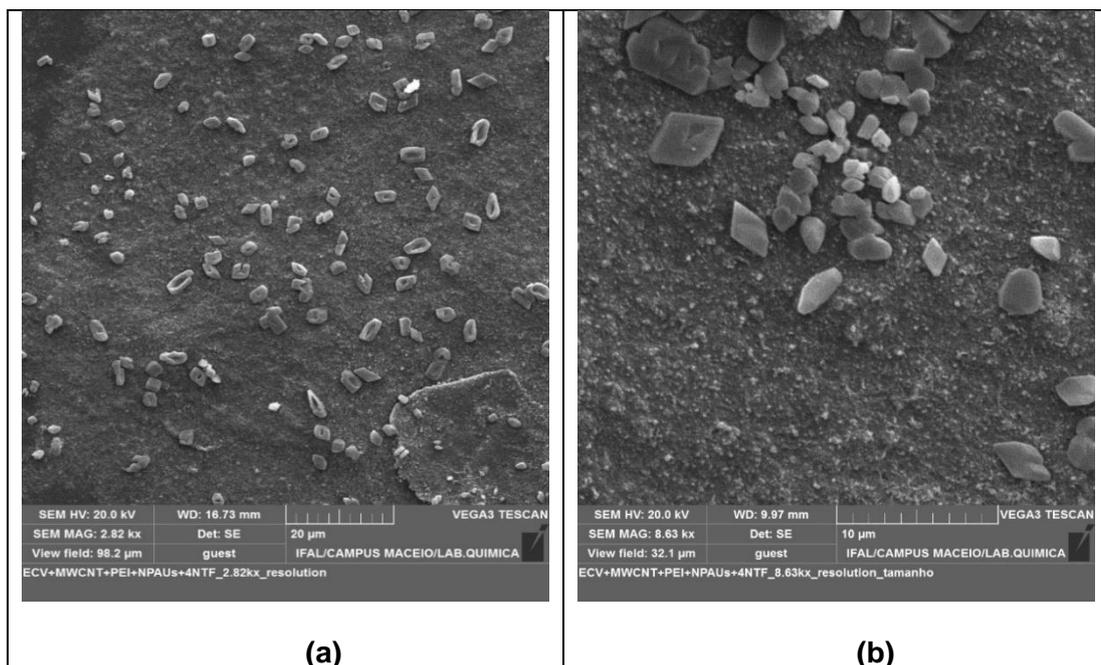


Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

Nas micrografias das figuras 25 (a-b) é possível ser verificado que após a formação da SAM frente a modificação completa do eletrodo de carbono vítreo com MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP, ocorreu alteração morfológica expressiva, comprovando que o mediador redox 4-nitrotiofenol foi efetivamente imobilizado na superfície da plataforma sensora.

Ainda, é possível perceber que a presença do mediador 4-nitrotiofenol promoveu uma superfície mais uniforme e compacta devido a boa interação entre o átomo de enxofre proveniente do mediador com a superfície de ouro das nanopartículas. No entanto, pode-se observar também, a presença de várias partículas com formas e tamanhos irregulares, o que indica, provavelmente, excesso de mediador na superfície do eletrodo, mesmo quando realizada a lavagem com água.

**Figura 25 - Micrografias Eletrônicas de Varredura do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP (a) 3.430x e (b) 9.290x.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

As etapas de modificação do eletrodo de carbono vítreo para montagem da fase sensora a partir das monocamadas auto-organizadas, foram também caracterizadas por Microscopia de Força Atômica, pois, como a técnica permite o estudo acerca da morfologia e rugosidade da superfície do eletrodo é possível que os dados sejam comparados com a microscopia eletrônica de varredura realizada inicialmente.

#### **4.2 Caracterização da plataforma ECV/MWNT/PEI/AuNPs/4-NTP por Microscopia de Força Atômica (AFM)**

A microscopia de força atômica também foi utilizada para caracterizar a plataforma MWCNT, PEI, AuNPs e 4-NTP. A técnica permitiu verificar o perfil de cada etapa de modificação do eletrodo de carbono vítreo a partir de imagens topográficas.

As imagens obtidas em duas e três dimensões, auxiliaram na compreensão inerente ao processo de crescimento da monocamada a cada etapa de imobilização realizada, possibilitando a confirmação do material adsorvido na superfície eletródica.

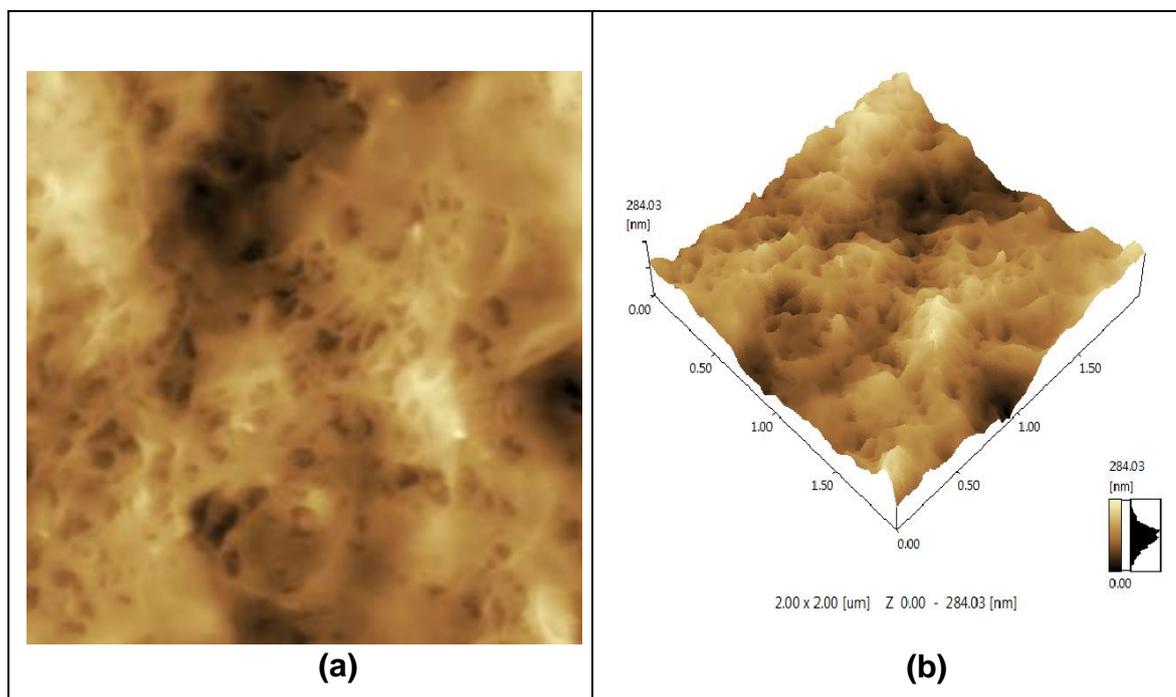
Para obtenção das imagens, foram utilizados os eletrodos de carbono vítreo adaptados, anteriormente citados na microscopia eletrônica de varredura. Os

eletrodos modificados foram lavados e inseridos individualmente ao porta amostra do microscópio para realização das varreduras.

As Figuras de 26 a 28, mostram as imagens em duas dimensões (a) e três dimensões (B) para cada etapa da monocamada formada.

Na Figura 26, em (a) reporta-se a superfície do eletrodo modificado com nanotubos de carbono e polietilenoimina, na qual verifica-se uma região mais homogênea o que justifica a interação entre os nanotubos de carbono e o polímero. No entanto, se confere ainda, a morfologia típica dos nanotubos de carbono, que apresentam-se bem dispersos na superfície do eletrodo. Em (b) é percebida uma superfície rugosa mais heterogênea, que apresenta diferenças de rugosidade em torno da superfície do eletrodo modificado. Ainda, essa camada apresenta uma altura de 284.03 nm.

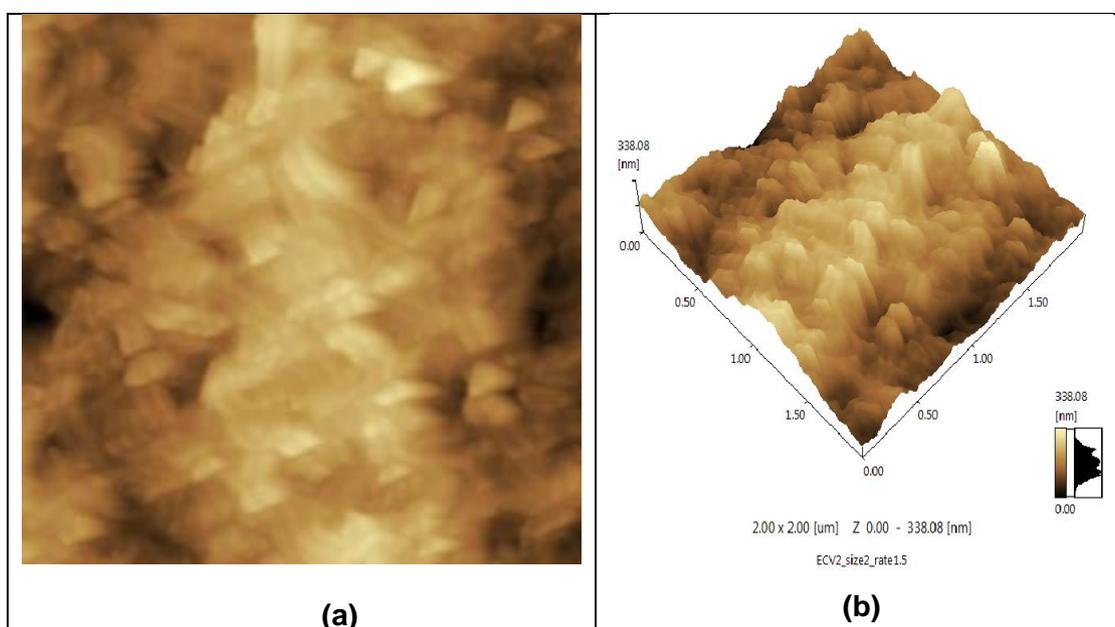
**Figura 26 - Imagens topográficas da superfície do ECV/MWCNT/PEI em duas dimensões (a) e três dimensões (b).**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

A imagem 27 reporta a superfície do eletrodo modificada com MWCNT/PEI/AuNPs. Em (a) percebe-se uma superfície mais homogênea quando comparada a imagem topográfica do eletrodo do carbono vítreo modificado com MWCNT/PEI. Essa característica justifica-se por se tratar de mais uma camada de recobrimento sobre a superfície do eletrodo, assim como, pela forte interação entre as nanopartículas de ouro e o polietilenoimina. Em (b) percebe-se uma maior rugosidade da camada apresentando uma altura em torno de 338.08 nm, diferindo em torno de 54.05 nm da camada formada na primeira etapa de modificação.

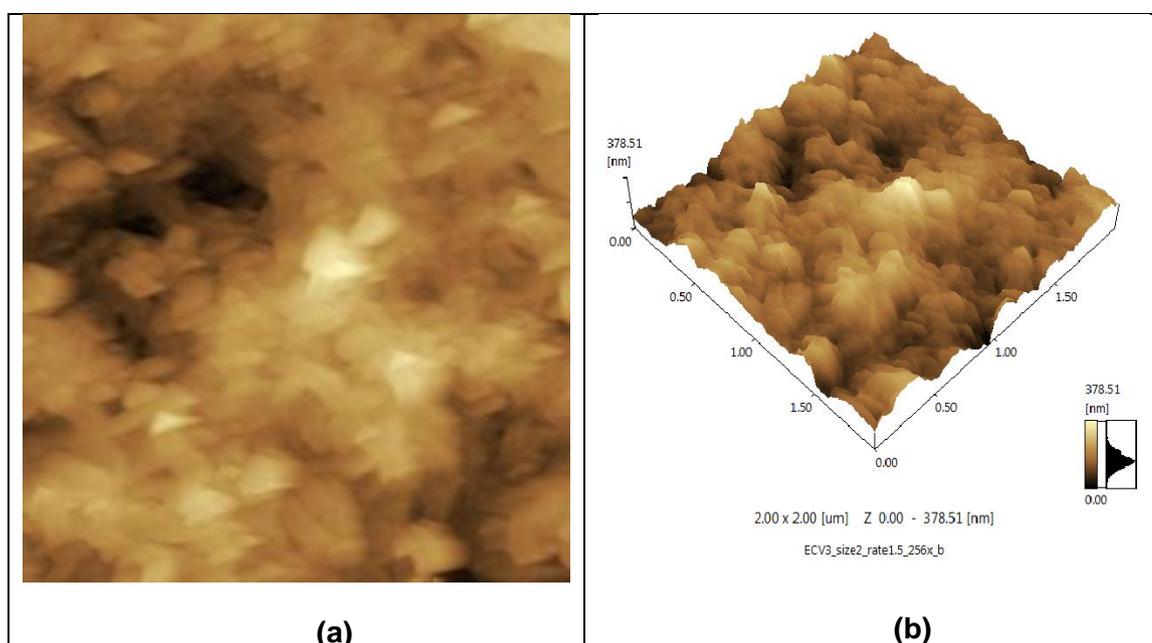
**Figura 27 - Imagens topográficas da superfície do ECV/MWNT/PEI/AuNPs em duas dimensões (a) e três dimensões (b).**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

Em continuidade, a Figura 28 concerne na modificação completa do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP. Em (a) verifica-se que morfologicamente não há muita diferença da monocamada formada quando comparada a ECV/MWNT/PEI/AuNPs. No entanto, quando verificado em (b) a partir da imagem em três dimensões, constata-se que houve um aumento da camada, quando adicionado o mediador redox 4-nitrotiofenol. Com isso, a altura final da monocamada foi de 378.51 nm, com uma diferença de 40.43 nm.

**Figura 28 - Imagens topográficas da superfície do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs /4-NTP em duas dimensões (a) e três dimensões (b).**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

Os resultados obtidos a partir da microscopia de força atômica corroboram de forma significativa com os resultados obtidos por microscopia eletrônica de varredura. Ambas as técnicas, mostraram o mesmo perfil para os compostos utilizados quando imobilizados na superfície do eletrodo.

### **4.3 Caracterização Termogravimétrica para ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP**

A análise termogravimétrica, assim como as microscopias, foi utilizada para comprovar o processo adsorptivo dos compostos para formação da monocamada auto-organizada. Nesta técnica foram verificadas as estabilidades térmicas para cada etapa de modificação frente a seus perfis de decomposição térmica. Assim como, foram investigados os perfis de estabilidade térmica dos padrões puros de cada composto utilizado na modificação do eletrodo.

Dessa forma, foram averiguados os padrões de Nanotubos de carbono de paredes múltiplas, polietilenoimina, nanopartículas de ouro e do 4-nitrotiofenol, bem como as etapas de modificação 1- MWCNT; 2- MWCNT/PEI; 3- MWCNT/PEI/AuNPs;

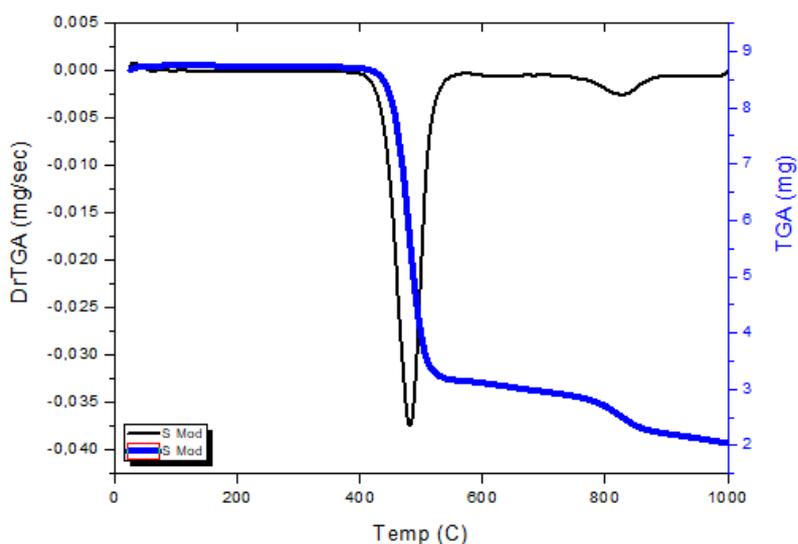
4- MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP. Para este estudo, foi utilizado um eletrodo impresso de material carbonáceo uma vez que o objetivo era comprovar a adsorção frente as interações dos compostos utilizados, e não seria viável utilizar o eletrodo de carbono vítreo para obtenção dos termogramas. Ressaltando-se que as diferenças de energia envolvidas em relação aos dois tipos de eletrodos não compromete a avaliação das interações intermoleculares que ocorrem entre os compostos utilizados.

Para obtenção dos termogramas dos padrões puros, as amostras foram adicionadas diretamente em um cadinho e levadas ao forno em um suporte interligado a uma balança analítica. Em seguida a temperatura e outros parâmetros foram selecionados e a análise iniciada.

Já para a análise de cada etapa de modificação, os eletrodos impressos foram inicialmente modificados e em seguida adicionados individualmente ao cadinho e levados ao forno.

Os termogramas a seguir mostram os perfis de perda de massa, bem como a representação da primeira derivada (DTG) da curva obtida pelo TG, na qual as perdas de massa observadas são calculadas e substituídas por picos de forma a deixar os fenômenos visualmente mais acessíveis facilitando a identificação dos processos ocorridos em cada amostra. Inicialmente é mostrado através da Figura 29 a curva de TG e sua primeira derivada (DTG) para o eletrodo impresso de carbono.

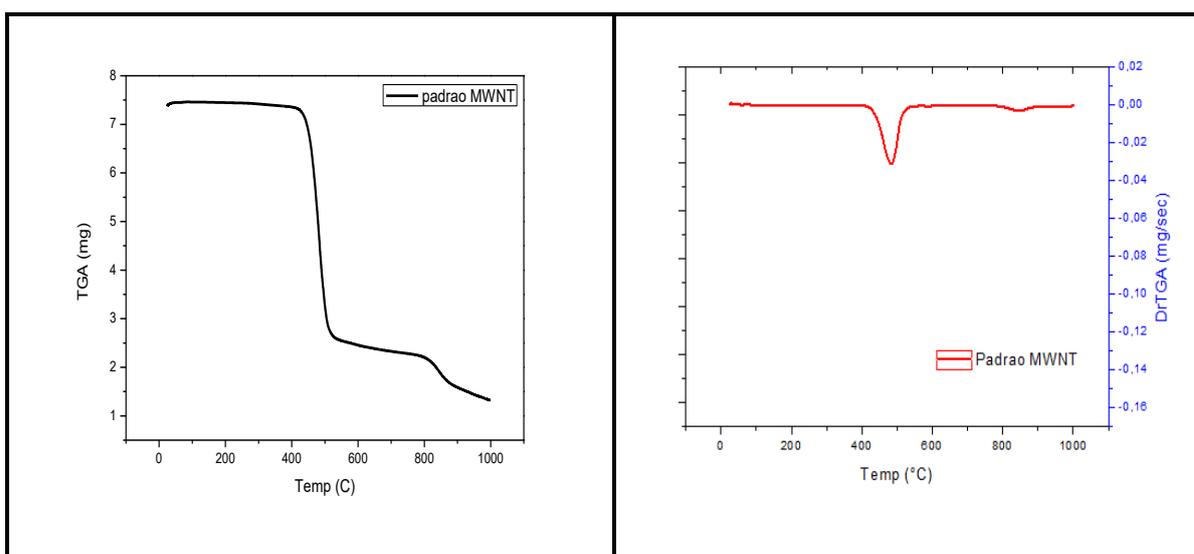
**Figura 29 - Termograma para o eletrodo impresso de carbono sem modificação.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

A Figura 30 mostra a curva obtida pelo TG e sua primeira derivada. No termograma para o nanotubos de carbono é possível perceber dois estágios de perda de massa, assim como verificado no eletrodo impresso utilizado como base. Isto justifica-se por se tratar da mesma espécie química. Logo, como verificado no termograma anterior, a primeira perda de massa se inicia partir de 450 °C e contínua até uma temperatura de aproximadamente 550 °C e a segunda iniciando em 800 °C. A primeira perda de massa está relacionada apenas a matéria carbonosa amorfa na qual ocorre geralmente na faixa de temperatura de 200-400 °C e a segunda ao carbono que ocorre em temperaturas mais elevadas. Entretanto, as temperaturas indicadas podem alterar-se a depender da atmosfera utilizada, da taxa de aquecimento e presença de catalisador específicos (GAJEWSKI *et al.*,2003).

**Figura 30 - (a) Termograma referente a degradação de MWCNT numa taxa de aquecimento de 20° /min (b) Primeira derivada**

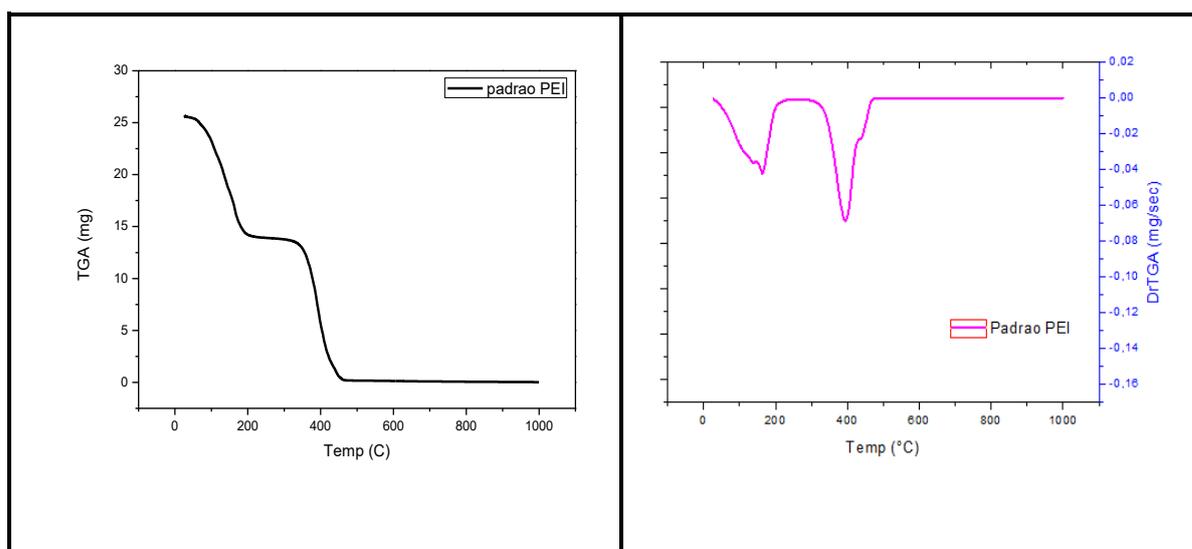


Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

A figura 31 mostra o perfil de decomposição térmica e sua primeira derivada, para o polímero polietilenoimina (PEI) na qual acontece em quatro estágios de perda de massa. O primeiro estágio ocorre numa temperatura de aproximadamente 110 °C referente a perda de água (desidratação); o segundo estágio numa temperatura de 140 °C relacionado apenas a decomposição das amins superficiais (aminas primárias); e os dois últimos estágios numa faixa de temperatura de

400-450 °C que corresponde aos demais grupos aminos dispersos na estrutura do polímero. Os dados obtidos para o polímero corroboram com os estudos de Dantas (2016).

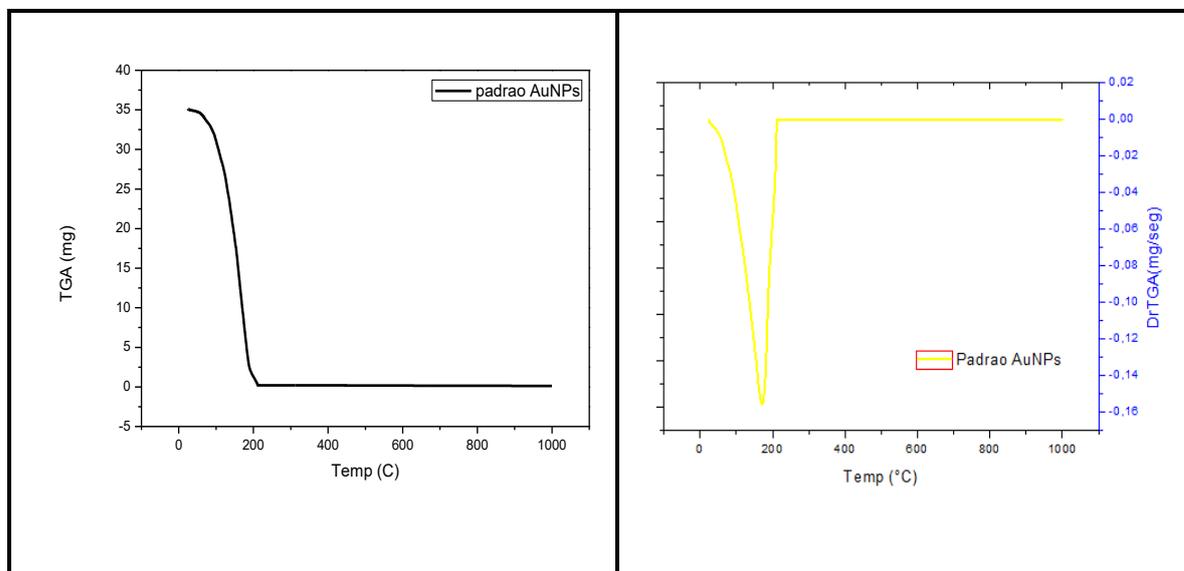
**Figura 31 - Termograma referente a decomposição do PEI numa taxa de aquecimento de 10° /min e sua primeira derivada**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

A partir da figura 32 que reporta o perfil de perda de massa e DTG para as nanopartículas de ouro, é possível verificar apenas um estágio de perda de massa na temperatura de aproximadamente 190 °C. A alta perda de massa é devido a desidratação que pode ser atribuída a higroscopicidade das nanopartículas de ouro. Além disso, a necessidade de baixas temperaturas para sua decomposição térmica caracteriza-se por tratar-se de uma amostra inorgânica (SILVA, 2015).

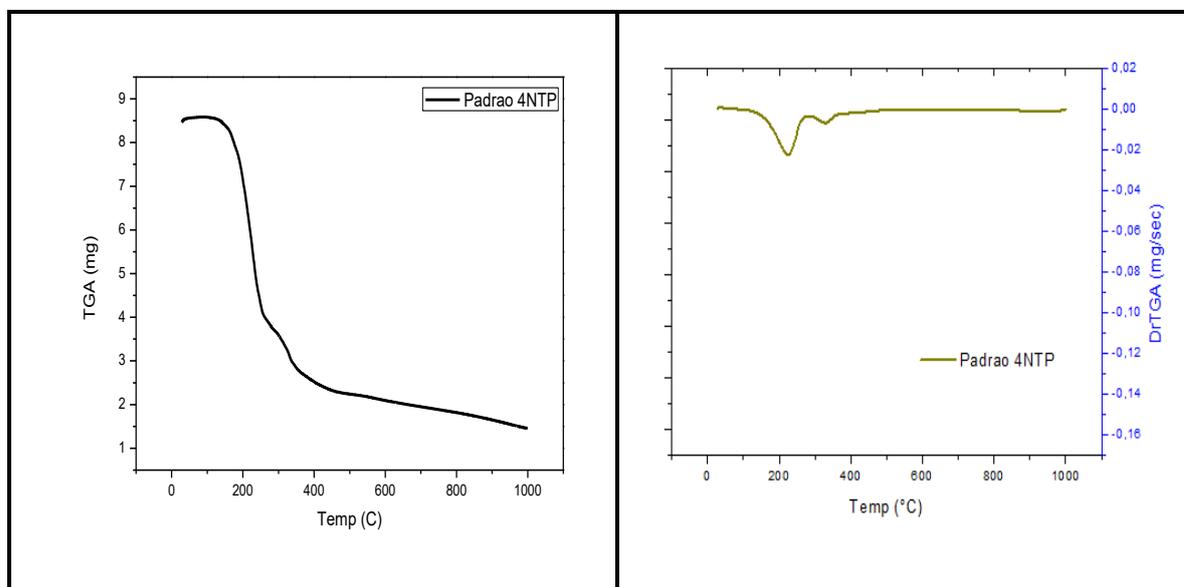
**Figura 32 - Termograma referente à decomposição de AuNPs numa taxa de aquecimento de 10<sup>o</sup> /min e sua primeira derivada.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

A figura 33 concerne na análise de perda de massa e DTG para o nitrocomposto 4-nitrotiofenol. É possível verificar que ocorrem dois processos de perda de massa numa faixa de temperatura de 210-300 °C. A temperatura de aproximadamente 225 °C é típica para as vaporizações dos grupos presentes no nitrocomposto (CORDEIRO, 2017). No que concerne ao segundo estágio de perda de massa na qual ocorreu em temperatura de 300 °C, este pode estar relacionado a alguma impureza presente no cadinho.

**Figura 33 - Termograma referente à decomposição de 4-NTP numa taxa de aquecimento de 10° /min e sua primeira derivada**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

A partir dos termogramas obtidos para cada padrão, foram verificados os perfis de estabilidade térmica dos eletrodos impressos modificados frente a cada etapa de modificação até a finalização do sensor. Com isso, a Figura 34 reporta os plots de cada termograma obtido, comparados ao perfil do eletrodo impresso sem modificação. Através da figura é possível averiguar inicialmente que os cinco termogramas obtidos apresentam o mesmo perfil térmico com dois estágios de perda de massa ocorrendo na faixa de temperatura de 450 a 880 °C.

Em vermelho têm-se o termograma referente ao eletrodo impresso sem modificação, na qual apresenta maior perfil de perda de massa quando comparado aos demais. Em preto, constata-se que apesar do perfil ser o mesmo, o percentual em massa decomposto a partir do eletrodo modificado com MWCNT foi menor, característica que comprova que o material está confinado na superfície do eletrodo de tal forma a dificultar o processo de decomposição do material.

Ainda para o termograma em preto, é possível verificar que o percentual de perda de massa é próximo ao valor obtido no branco, justamente por se tratar do

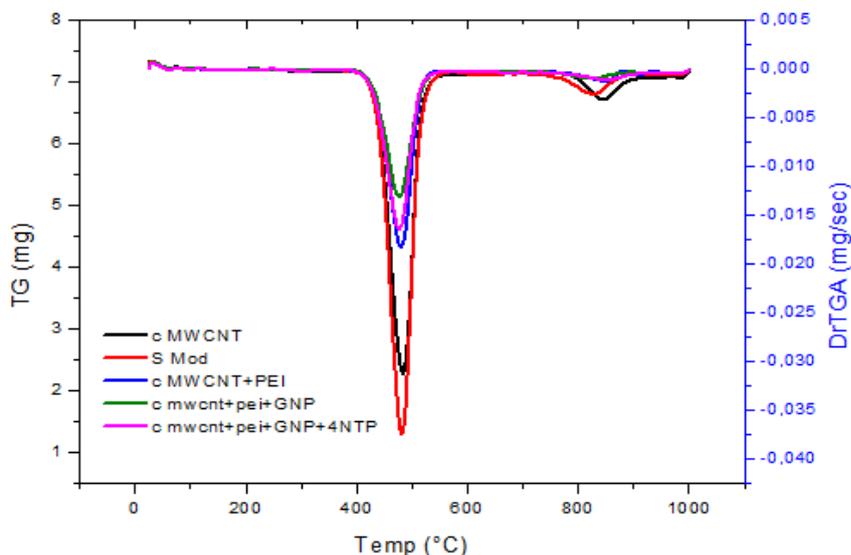
mesmo composto e por ter apenas uma camada sobre a superfície do eletrodo. Já para o termograma demonstrado em azul que reporta a modificação do eletrodo com MWCNT/PEI é percebido que o perfil de perda de massa diminuiu bastante quando comparado ao eletrodo sem modificação, confirmando uma maior estabilidade da monocamada proveniente da interação entre os nanotubos de carbono e o polietilenoimina e pela presença de mais uma camada sobre a superfície.

No termograma em verde referente à modificação com MWCNT/PEI/AuNPs, é possível observar o menor perfil de perda de massa, isso pode ser justificado inserção de mais uma camada sobre a superfície do eletrodo e principalmente pela forte interação de caráter eletrostático entre o polietilenoimina e as nanopartículas de ouro o que aumenta a estabilidade da monocamada e dificulta significativamente as perdas de massa frente as espécies confinadas na superfície do eletrodo.

Já em rosa é reportado um termograma para a última etapa de modificação do eletrodo com MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP, na qual percebe-se que o perfil de perda de massa aumenta quando comparado a terceira etapa de modificação MWCNT/PEI/AuNPs. Apesar de ter mais uma etapa sobre a superfície do eletrodo de forma a dificultar a decomposição do material, o perfil observado pode ser proveniente da ligação covalente entre o 4-nitrotiofenol e as nanopartículas de ouro na qual é mais fraca quando comparada a interação eletrostática entre o PEI/AuNPs o que torna menos estável.

Os perfis idênticos dos termogramas supracitados, confirma satisfatoriamente que todas as espécies utilizadas nas quatro etapas de modificação para a formação da monocamada estão confinadas na superfície do eletrodo, além disso, com característica de excelente estabilidade.

**Figura 34 - Plots de termogramas obtidos para cada etapa de modificação do eletrodo impresso de nanotubos de carbono com MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

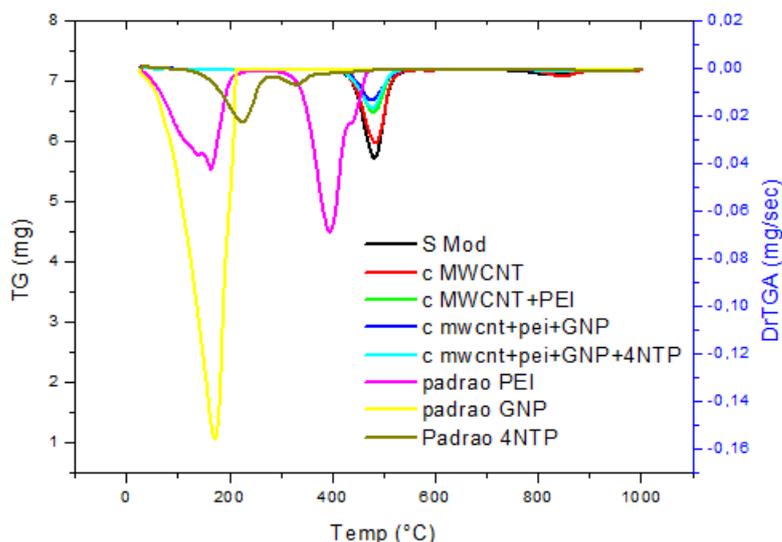
A Figura 35 reporta as DTG obtidas para cada padrão utilizado na modificação e para cada etapa de modificação do eletrodo impresso com MWCNT/PEI/AuNPs /4-NTP. Para efeito comparativo, na figura são utilizadas as DTG, pois os picos agudos permitem distinguir claramente uma sucessão de reações que muitas vezes não podem ser distinguidas nas curvas TG.

No intervalo de temperatura até 490 °C é possível observar as variações de massa para os quatro padrões isoladamente. Por seguinte, a partir de 500 °C para os padrões confinados na superfície do eletrodo após o procedimento de modificação do eletrodo.

Como os perfis dos padrões apresentam característica totalmente diferentes do observado nos plots para cada etapa de modificação, fica comprovado a formação da monocamada auto-organizada sobre a superfície do eletrodo. Pois, as espécies utilizadas demonstraram alta afinidade química entre eles de tal forma que foram capazes de se adsorver sobre a superfície do eletrodo de forma altamente estável.

Dessa forma, a partir da figura 35 pode-se afirmar que os dados obtidos pela técnica termogravimétrica corroboram com os resultados obtidos por microscopia eletrônica de varredura, assim como, por microscopia de força atômica, na qual observa-se diferenças expressivas no que concerne as três técnicas, a cada etapa de modificação do eletrodo.

**Figura 35 - Plots dos termogramas obtidos para cada padrão utilizado na modificação e para cada etapa de modificação do eletrodo impresso de nanotubos de carbono com MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP.**



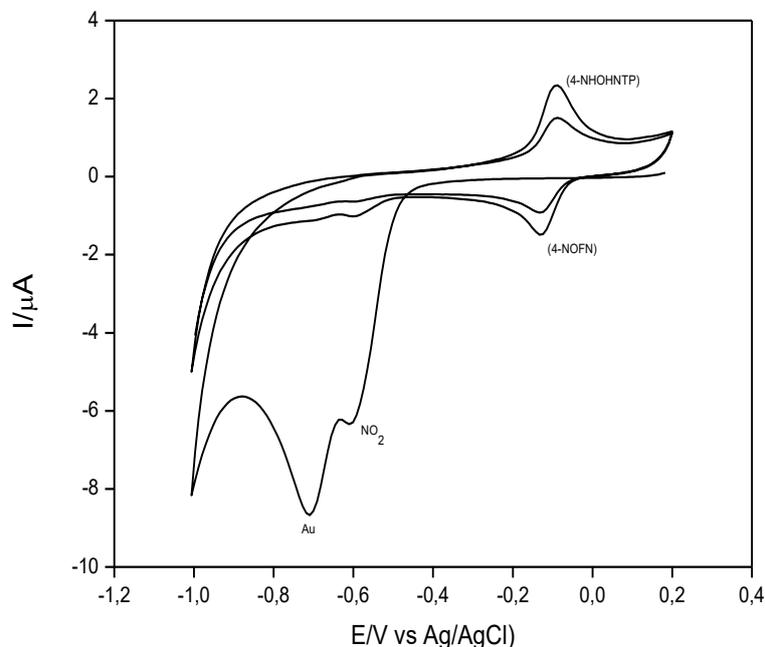
Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

#### 4.4 Caracterização eletroquímica do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP

Inicialmente, medidas usando a técnica de voltametria cíclica, foram realizadas com o objetivo de estudar o comportamento eletroquímico da plataforma (4-NO<sub>2</sub>TP). Dessa forma, a espécie eletroativa hidroxilamina tiofenol (4-NHOHTP) foi eletrogerada *in situ* a partir da redução irreversível do grupo nitro (R-NO<sub>2</sub>) derivada do 4-nitrotiofenol. A reação ocorreu após varredura na faixa de potencial de 0,2 V a -1 V vs. Ag/AgCl, em solução tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0) e velocidade de varredura de potencial  $v = 0,02 \text{ V s}^{-1}$ .

O processo de eletrorredução do grupo nitro do mediador confinado na superfície do eletrodo foi realizada em meio neutro, com potencial de pico de redução  $E_{1\text{red}} = 0,6 \text{ V vs. Ag/AgCl}$  na qual gerou a espécie (4-NHOHTP). A espécie gerada pôde ser oxidada reversivelmente ao nitrosotiofenol (4-NOTP), e com isso, obteve-se o par (4-NHOHTP) / (4-NOTP) como observado na Figura 36. Adicionalmente ao pico de redução do grupo nitro obtido a partir da varredura na faixa de potencial de 0,2 V a -1 V vs. Ag/AgCl, é verificado também um outro pico no  $E_{1\text{red}} = -0,7 \text{ V vs. Ag/AgCl}$  que pode ser atribuído a redução de óxido de ouro (SANTHIAGO et al., 2010).

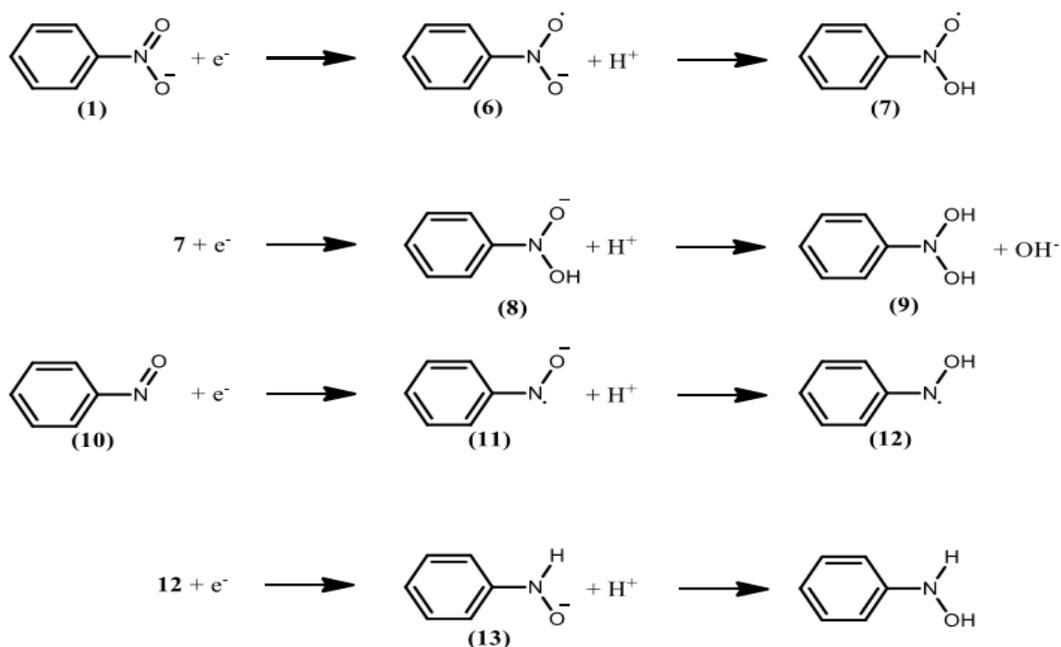
Figura 36 - Voltamogramas cíclicos obtidos da primeira a terceira varredura para um ECV/MWCNT/PEI/NPAus/4-NTP,  $v = 0,02 \text{ V s}^{-1}$ .  $E_{\text{inicial}} = 0,2 \text{ V}$  e  $E_{\lambda} = -1,0 \text{ V}$ , varredura no sentido catódico. Condições empregadas: solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0.



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

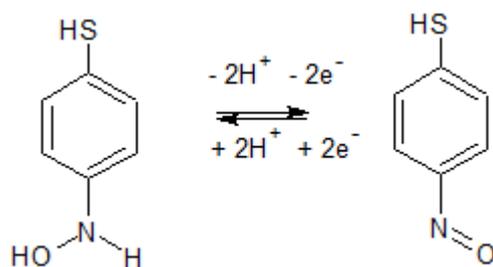
Através das figuras 37 e 38, é possível compreender que o mecanismo envolvido na redução irreversível do grupo nitro é via quatro elétrons e quatro prótons. Já para obtenção do par reversível (4-NHOHNTP) / (4-NOFN) é via dois elétrons e dois prótons. Tal mecanismo já foi proposto anteriormente por outros pesquisadores (MANO e KUHN, 2001a; MUNTEANU et al., 2004; LIMA et al., 2008a; LIMA et al., 2009; SANTHIAGO et al., 2010).

**Figura 37- Redução do grupo nitro para hidroxilamina**



Fonte: CORDEIRO, 2017

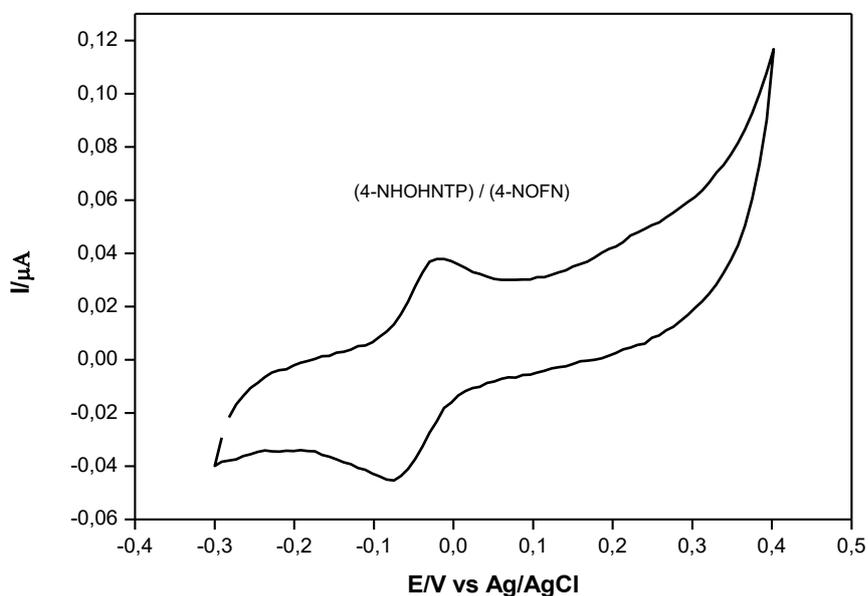
**Figura 38 - Obtenção do par redox reversível (4-NHOHTP) / (4-NOTP)**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018

Posteriormente ao processo de ativação do grupo nitro, uma faixa de potencial foi selecionada (-0,3 a 0,4 V vs Ag/AgCl) fazendo-se uso das mesmas condições empregadas anteriormente conforme Figura 39, para que fossem estudadas as características cinéticas do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP. O estudo foi realizado por voltametria cíclica.

**Figura 39 - Voltamograma cíclico referente a restrição de faixa de potencial para um ECV/MWCNT/PEI/NPAus/4-NTP,  $v = 0,005 \text{ V s}^{-1}$ . Inicial =  $-0,3 \text{ V}$  e  $E_{\text{final}} = 0,4 \text{ V}$ , varredura no sentido anódico. Condições empregadas: solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0.**

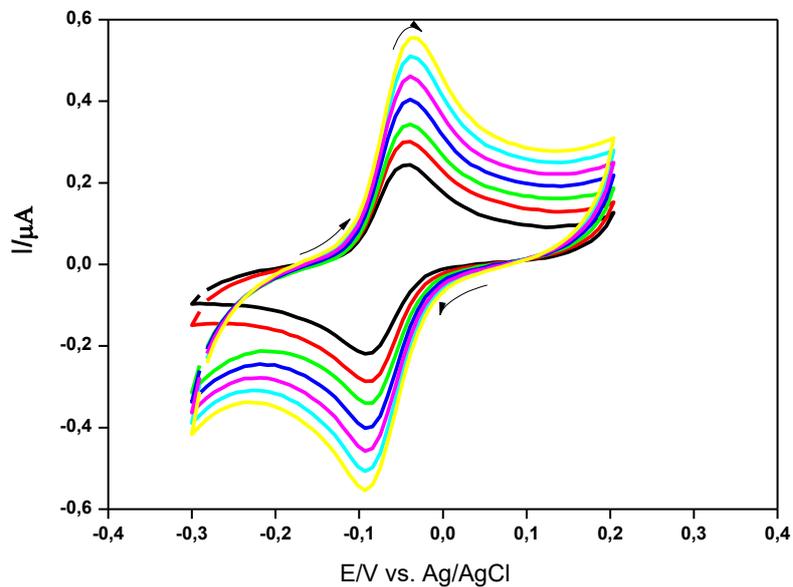


Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

A partir dos voltamogramas cíclicos representativos obtidos para o ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP para várias velocidades de varredura de potencial ( $5\text{-}35 \text{ mV s}^{-1}$ ) é possível observar picos voltamétricos persistentes e bem definidos conforme Figura 40. Além disso, conforme figura 41, o gráfico de corrente  $I_p$  vs velocidade de varredura de potencial demonstra dependência linear, o que permite concluir que o processo redox para o par NHOHNTP) / (4-NOTP) expõe características de espécies confinadas na superfície do eletrodo.

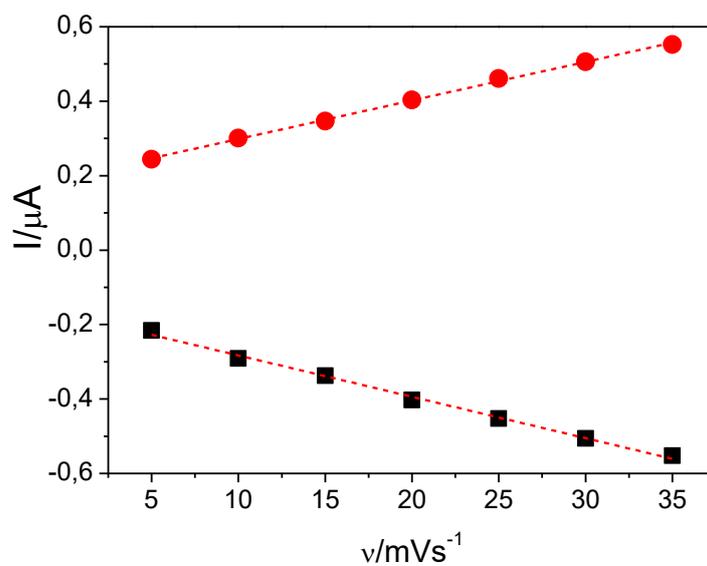
O voltamograma mostrado exibe as velocidades de ( $5\text{-}35 \text{ mV s}^{-1}$ ), entretanto, as medidas foram realizadas até a velocidade  $1 \text{ V/s}$ . Com isso, foi possível verificar que para velocidades de varredura acima de  $200 \text{ mV s}^{-1}$  ocorre um aumento na separação dos picos de oxidação e redução indicando uma limitação de cinética de transferência de carga.

Figura 40 - Efeito das velocidades de varredura de potencial na voltametria cíclica para ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP 0,1 mol L<sup>-1</sup> PBS a pH 7,0 a 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 mV s<sup>-1</sup>.



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

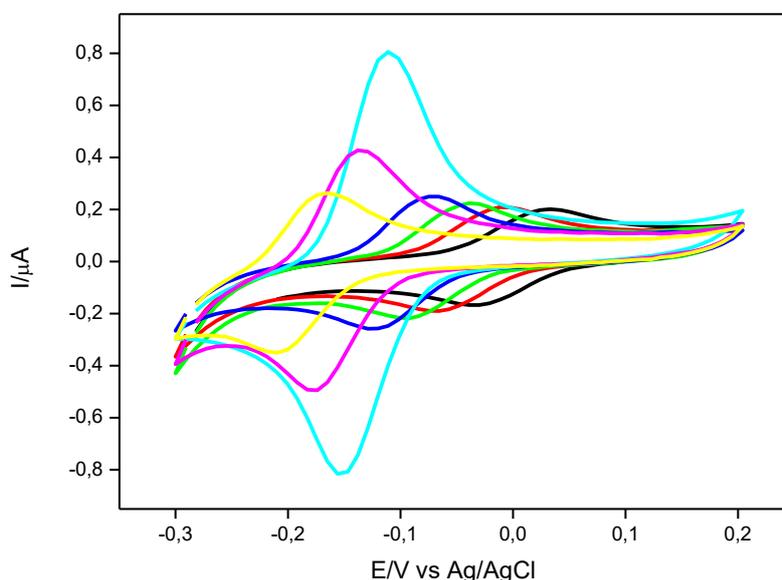
Figura 41 - Variação da corrente de pico anódica  $I_{pa}$  vs.  $\nu$  ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

A Figura 42 reporta o estudo do valor de pH para o eletrólito de suporte utilizado a partir de uma variação de 5 a 8. É possível observar intensidades de correntes mais baixas em meio mais ácido (5-6), já para pH = 7,0, verifica-se uma resposta analítica máxima, justificando maior sensibilidade da plataforma ao meio neutro. Para os valores de pH (7,5-8,0) ocorre diminuição na intensidade das correntes de pico, e observa-se também deslocamento dos potenciais de pico para potenciais menos positivos.

**Figura 42 - Efeito do pH na voltametria cíclica para ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP a 0,1 mol L<sup>-1</sup> PBS. (Valores de pH de 5 a 8).**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

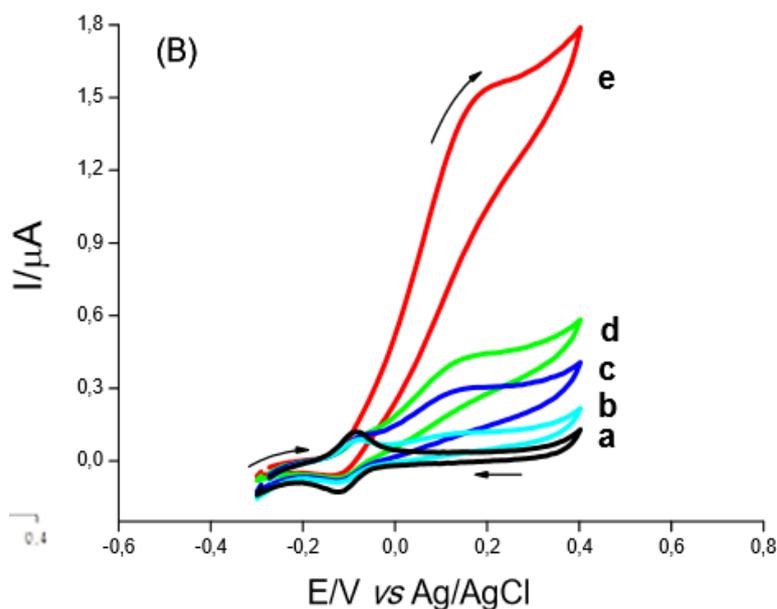
#### **4.5 Oxidação eletrocatalítica do L-AscH<sub>2</sub> a partir do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP**

Após a realização da ativação *in situ* do grupo nitro confinado na superfície do eletrodo modificado, vários ensaios foram realizados afim de se estudar a atividade eletrocatalítica do ECV/MWCNT/PEI/NPAus/4-NTP em presença do ácido ascórbico.

A figura 43, mostra voltamogramas cíclicos realizados no sentido anódico para o ECV/MWCNT/PEI/NPAus/4-NTP obtidos em solução tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> e pH = 7, na ausência e presença de L-AscH<sub>2</sub> 0,2 mmol L<sup>-1</sup> com E<sub>inicial</sub> = -0,3 V e E<sub>final</sub> = 0,4 V vs. Ag/AgCl.

Na ausência de L-AscH<sub>2</sub>, é observado um par redox de picos bem definidos provenientes das espécies 4-NHOHTP / 4-NOTP (Figura 43- a). Após adição de L-AscH<sub>2</sub>, é verificado a partir das (figuras 43 b - e), um aumento significativo da corrente de pico anódica (I<sub>pa</sub>), enquanto que nenhuma corrente catódica (I<sub>pc</sub>) é observada no sentido reverso de varredura. Este fenômeno está relacionado a reação de redução da espécie 4-NOTP a partir do L-AscH<sub>2</sub> e formação de NHOHTP. Com isso, é compreendido um efeito eletrocatalítico eficiente. O potencial de pico catalítico é observado em 150 mV versus Ag/AgCl.

**Figura 43 - Voltamogramas obtidos a partir ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP em diferentes concentrações de L-AscH<sub>2</sub> (a) 0,1 mM AA (b) 0,2 mM de AA (c) 0,3 mM de AA (d) 0,4mM de AA (e) 0,7 mM de AA. Realizados em solução tampão PBS pH =7,0 a 0,005 V s-1**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

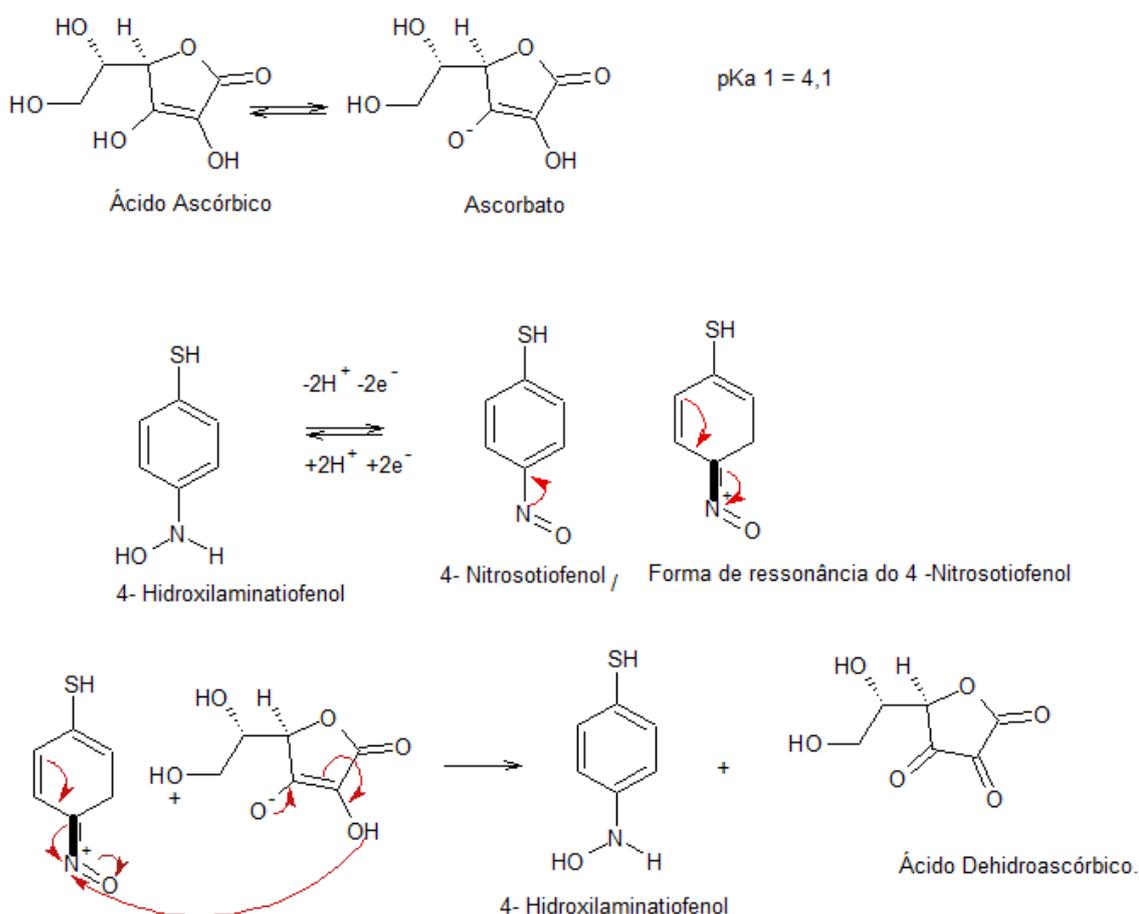
Para fins comparativos e comprovação da eficiência do mediador redox utilizado para eletrocatalise do analito estudado, sob as mesmas condições experimentais, diferentes ensaios cíclicos foram realizados para o eletrodo de carbono vítreo sem modificação, assim como, para as demais etapas de modificação do eletrodo sem o mediador. Como verificado que o potencial de pico catalítico é observado em 150 mV para o eletrodo modificado com o mediador redox, e

aproximadamente 300 mV para ele não modificado, dessa forma, é alcançada uma diminuição do sobrepotencial de 150 mV.

A oxidação irreversível do ácido ascórbico acontece conforme verificado Figura 44. Inicialmente o mecanismo mostra a reação de oxidação do ácido ascórbico (quando em solução) à ascorbato, com a perda de um próton e um elétron. Em seguida, mostra o processo reversível entre as espécies hidroxilamina e nitroso advindas do substituinte nitro no mediador redox 4-nitrotiofenol, na qual as reações de oxidação e redução ocorrem por um processo de perda e ganho de dois prótons e dois elétrons conforme mostrado anteriormente

Para a oxidação da espécie ascorbato a rota preferível é via hidreto a partir da espécie nitrosotiofenol devido a presença da carga positiva parcial no nitrogênio do grupo NO. A rota via hidreto já foi anteriormente reportada por Lima (2009) e Siskos & colaboradores (2001).

**Figura 44 - Mecanismo proposto para a reação de oxidação do Ácido ascórbico**

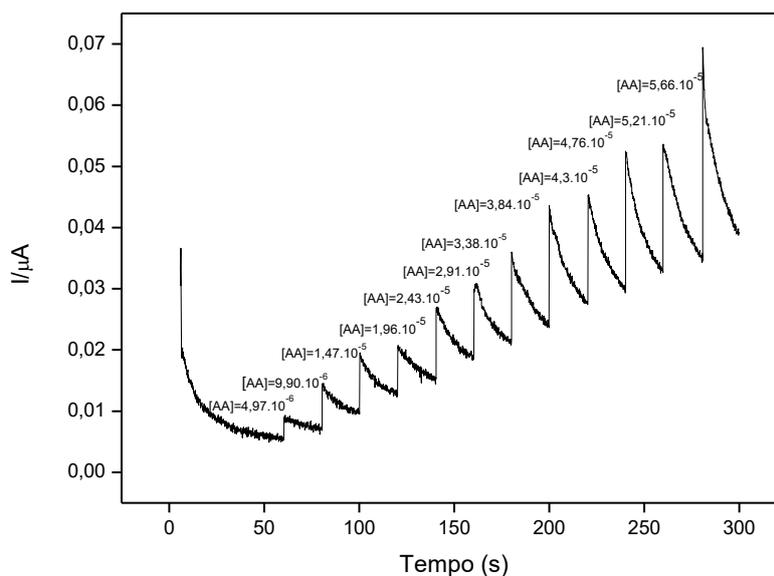


#### 4.6 Caracterização Analítica do sensor para L-AsCH<sub>2</sub>

Com intuito de traçar as figuras méritos para o sensor desenvolvido, foram realizados ensaios com detecções amperométricas. O método baseia-se na aplicação de vários degraus de potencial-tempo que acompanha o processo analítico sequencial, conforme Figura 45 (LIMA, 2009).

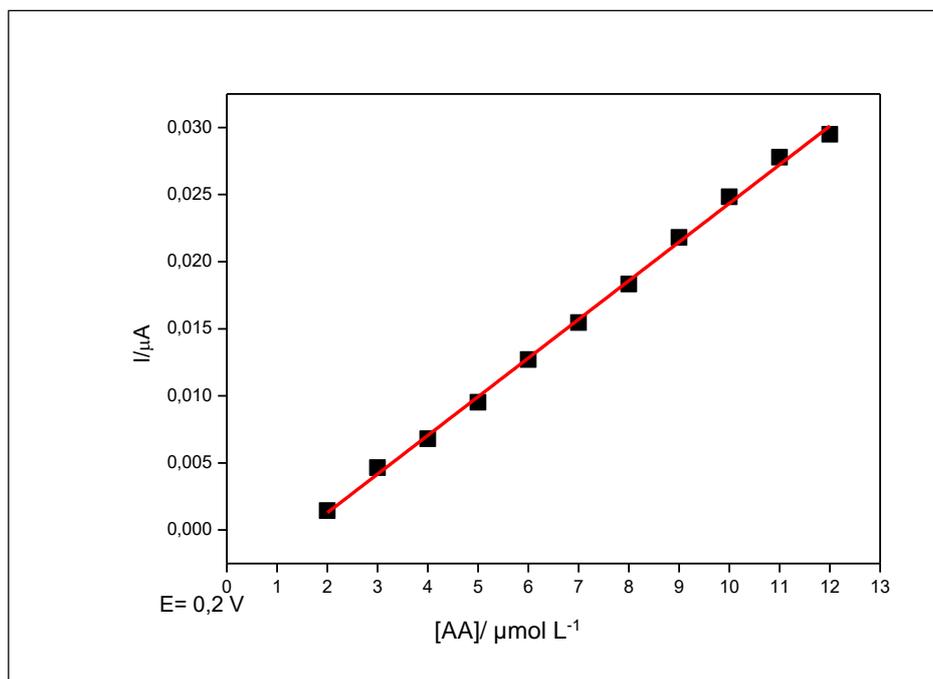
De acordo com o amperograma abaixo, é percebido que a medida que são adicionadas alíquotas de ácido ascórbico ao sistema, a concentração aumenta, assim como a intensidade da corrente, demonstrando uma correlação linear.

**Figura 45 - Amperograma obtido a partir ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP em diferentes concentrações de L-AsCH<sub>2</sub> realizado em solução tampão PBS pH = 7,0.**



Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

O coeficiente de correlação linear obtido foi de  $R=0,99798$ , conforme verificado na figura 46. O sensor apresentou uma faixa de resposta linear ( $2-12 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), limite de detecção ( $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), quantificação ( $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e sensibilidade ( $2,8 \times 10^{-3} \mu\text{A L mol}$ ).

**Figura 46 - Curva analítica para eletrodo modificado ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP.**

Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

A partir da tabela 4, é possível comparar os resultados obtidos neste trabalho com dados já reportados na literatura para três mediadores nitroaromáticos frente ao processo de detecção do ácido ascórbico. LIMA, 2009; COSTA, 2016 e JÚNIOR, 2016, obtiveram valores de potencial de oxidação mais baixos quando comparado a este trabalho, no entanto, o limite de detecção para o mediador 4-Nitrotiofenol é bastante promissor quando comparado aos demais nitrocompostos. Ainda, LIMA, 2009, obteve um limite de quantificação de  $5,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  utilizando o mediador 4-Nitroftalonitrila, enquanto que o LQ encontrado neste trabalho foi bem menor, no valor de  $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

**Tabela 4 - Comparação de nitroaromáticos utilizados como mediadores na detecção de Ácido ascórbico.**

| MEDIADOR REDOX      | LD ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | LQ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | E(V)   | REFERÊNCIA          |
|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------|---------------------|
| 4-Nitroftalonitrila | 1,6                           | 5,5                           | 0,10   | LIMA,2009           |
| Polinitroindol      | 1,9                           | -                             | 0,10   | COSTA, 2016         |
| Nitroanilina        | 9,84                          | -                             | -0,008 | JÚNIOR,2016         |
| 4-Nitrotiofenol     | 0.6                           | 2,0                           | 0,15   | Este trabalho, 2018 |

Fonte: Autora desta dissertação, 2018.

#### **4.7 Estabilidade, Repetibilidade e tempo de vida do ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP**

Após o procedimento de modificação do eletrodo com as monocamadas auto-organizadas e a ativação da fase sensora, a estabilidade do eletrodo foi avaliada em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH = 7,0 a partir de adições sucessivas de ácido ascórbico com monitoramento do ( $\Delta I$ ) por cronoampetria. Após 50 ciclos, nenhuma mudança significativa foi observada nas respostas amperométricas do sensor desenvolvido.

A estabilidade da plataforma provavelmente está relacionada as fortes interações entre as espécies envolvidas na modificação do eletrodo, como as interações  $\pi$ - $\pi$  nos MWCNT com a superfície do eletrodo, forte poder de adesão do PEI às AuNPs a partir de interações eletrostáticas, assim como, a forte ligação S-Au.

Quanto a repetibilidade, a mesma foi verificada através de uma série de 5 sensores desenvolvidos e testados nas mesmas condições e em dias diferentes, os quais apresentaram respostas para o ácido ascórbico com desvio menor que 5,0 %.

O eletrodo foi modificado e armazenado à temperatura ambiente. Quando utilizado, após um intervalo de 3 a 4 semanas, o eletrodo não apresentou mudanças significativas, o que demonstra tempo de vida útil favorável.

## 5 CONCLUSÃO

O sensor proposto neste trabalho, (ECV/MWCNT/PEI/AuNPs/4-NTP), demonstrou a eficiência do novo mediador redox 4-nitrotiofenol (4-NTP) junto as nanopartículas de ouro (AuNPs) utilizados no procedimento de formação de monocamadas auto-organizadas de tióis para estudo da oxidação eletrocatalítica do ácido ascórbico.

A eficiência do mediador foi evidenciada pela possibilidade de redução preliminar do grupo nitro presente em sua estrutura molecular. A ativação *in situ*, gerou um par redox hidroxilamina/nitroso (4-NHOHTP/4-NOTP), o qual apresentou atividade eletrocatalítica para o analito uma vez que mediou significativamente a transferência de elétrons e mostrou que o sensor é estável, robusto e sensível.

Diferentes técnicas de caracterização tais como as microscopia eletrônica de varredura e de força atômica, assim como, a termogravimétrica, podem ser consideradas fundamentais para identificar as monocamadas auto-organizadas, uma vez que permite a comprovação de que os compostos químicos utilizados estão de fato adsorvidos na superfície do eletrodo.

No que concerne a parâmetros analíticos, o dispositivo apresentou limite de detecção (LD) de  $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  e limite de quantificação (LQ) de  $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  para o L-Asch<sub>2</sub>. Estes resultados foram comparados com outros já reportados na literatura demonstrou concordância entre eles, cujo valor obtido é superior a vários dispositivos reportados.

Além disso, o sensor apresentou uma boa estabilidade e tempo de vida útil favorável.

Dessa forma, as monocamadas auto-organizadas utilizando o mediador (4-NTP), apresenta-se como alternativa promissora para o desenvolvimento de sensores para o ácido ascórbico, com capacidade de detectar e quantificar o analito em diferentes amostras de interesse.

## 6 REFERÊNCIAS

ARISTOV, N.; HABEKOST, A. Cyclic voltammetry –A versatile electrochemical method investigating electron transfer processes. **World Journal of Chemical Education**, v. 3, n. 5, p. 115-119, 2015.

ARDAKANI-Mazloun. M., et al. Electrochemical determination of vitamin C in the presence of uric acid by a novel TiO<sub>2</sub> nanoparticles modified carbon paste electrode. **Chinese Chemical Letters**. v. 21, p.1471-1474, 2010.

ALFAYA, A. A. S.; KUBOTA, T. T. A utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 835-841, 2002.

BALDO, T. A. **Desenvolvimento de um eletrodo modificado com monocamadas auto- organizadas e sua utilização como biossensor**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2014.

BAIN. C.D., et al., Formation of Monolayer Films by the Spontaneous Assembly of Organic Thiols from Solution onto Gold. **Journal of the American Chemical Society**. v.111, n1, p. 321-335, 1989.

BAIN, C.D., WHITESIDES, G.M. Molecular-Level Control over Surface Order in Self-Assembled Monolayer Films of Thiols on Gold. **Science**, v. 240, n 4848. p. 62-63, 1988.

BAIN, C.D, WHITESIDES, G.M. Formation of Monolayers by the Coadsorption of Thiols on Gold - Variation in the Length of the Alkyl Chain. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, n 18, p. 7164-7175, 1989.

BI, H.; DUARTE, C. M.; BRITO, M.; VILAS-BOAS, V.; CARDOSO, S.; FREITAS, P. Performance enhanced UV/vis spectroscopic microfluidic sensor for ascorbic acid quantification in human blood. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 85, p. 568–572, 2016.

CAMACHO, C.S. **Polímeros condutores em monocamadas automontadas para determinação de compostos de interesse ambiental.** Dissertação (Mestrado) – Universidade da Madeira, Funchal, 2012.

CARVALHO, S. E. Q. **Desenvolvimento e aplicação de eletrodos quimicamente modificados com hexacianoferratos dos metais Fe, Ni e Co.** Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

CARVALHAL, R. F. **Desenvolvimento de sensor biomimético empregando monocamadas auto-organizadas de tióis sobre eletrodos de ouro.** Campinas, 2005.

CERNAT, A. et al. Electrochemical sensors based on carbono nanomaterials for acetaminophen detection: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 886, p. 16–28, 2015.

CIUCU, A. A. Chemically Modified Electrodes in Biosensing. **Journal Biosens Bioelectron.** v 5, p 1-10, 2014.

CHAUHAN, N., NARANG, J., PUNDIR, C.S. Fabrication of multi-walled carbono nanotubes/polyaniline modified Au electrode for ascorbic acid determination, **Analyst.** n 9, 2011.

COELHO, D. **Caracterização eletroquímica de uma monocamada-auto-organizada mista composta por ácido 3-mercaptopropionico e ácido 11-mercaptopundecanoico.** Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, 2011,

COMPTON, R. G.; BANKS, C. E. Understanding voltammetry. **World Scientific**, 2011.

COSTA, P. R. **Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro como ferramenta terapêutica e diagnóstica.** Dissertação (mestrado) – Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte, 2012.

COSTA, Erivaldo de Oliveira Costa. **Desenvolvimento de um sensor nanoestruturado e o biossensor de dsDNA para determinação de substâncias de interesse biológico: nitrotirosina, ácido ascórbico e ácido úrico.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2016.

CORDEIRO, W.L. **Desenvolvimento e aplicação de plataformas fundamentadas na tecnologia dos polímeros impressos molecularmente para detecção de 4-nitrofenol.** Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2017.

DANTAS, T.C.M. **Síntese e caracterização de materiais mesoporosos inorgânicos-orgânicos para aplicação na adsorção de gás carbônico.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências Exatas e da Terra, PPQ, Natal, 2016.

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

DENARI, G.B; CAVALHEIRO, E. T. G. **Princípios e Aplicações das análise térmica.** São Carlos: IQSC, 2012.

DEPIERI, L.V. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas de liberação tópica a base de cristais líquidos para circulação de SiRNA na terapia gênica –** Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade Federal de São Paulo, 2012.

DORST, B. V.; MEHTA, J.; BEKAERT, K.; ROUAH-MARTIN, E.; COEN, W. D.; DUBRUEL, P.; BLUST, R.; ROBBENS, J. Recent advances in recognition elements of food and environmental biosensors: A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 4, p. 1178-1194, 2010.

DUBOIS, C, STELLACI, F. Self-Assembled Monolayer of short carboxyl-terminated molecules investigated with ex situ scanning tunneling microscopy. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n 19, p. 7431-7435, 2008.

FREIRE, R.S; PESSOA, C.A; KUBOTA, L.T. Emprego de monocamadas auto-organizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. **Química Nova**. v.26,p. 381-389, 2003.

FERREIRA, A. A. P; YAMANAKA, H. Microscopia de força atômica aplicada em imunoenaios. **Quím. Nova**. vol.29, nº.1 São Paulo Jan./Feb. 2006

FONG, J. F. YEE; CHIN, S. F.; NG, S. M. A unique “turn-on” fluorescence signalling strategy for highly specific detection of ascorbic acid using carbono dots as sensing probe. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 85 p. 844–852, 2016.

FUCHS, Y.; SOPPERA, O.; HAUPT, K. Photopolymerization and photostructuring of molecular imprinted polymers for sensor applications – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 717, p. 7-20, 2012.

FANG, et al. Preparation *in-situ* of carbono nanotubes/polyaniline modified electrode and application for ascorbic acid detection. **Journal of Electroanalytical Chemistry**.v. 755, p. 39-46, 2015.

FAGAN-MURPHY, A., ALLEN, M.C, PATEL, B.A .Chemically modified multiwall carbono nanotube composite electrodes: An assessment of fabrication strategies. **Electrochimica Acta**, v. 152, p.249–254, 2015.

FERNANDES, F. M. **Síntese de nanotubos de carbono orientados e aplicação na produção de pontas de AFM**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de São Paulo, 2008.

FILHO, A. G. S; FAGAN, S. B. Funcionalização de nanotubos de carbono. **Quim. Nova**, v. 30, n 7, p.1695-1703, 2007.

FIGUEIREDO FILHO, L.C. S. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos utilizando nanomateriais para determinação de espécies de interesse farmacêutico e ambiental**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, 2014.

FLOROU et al. Fabrication and voltammetric study of lanthanum 2,6-dichlorophenolindophenol chemically modified screenprinted electrodes. Application for the determination of ascorbic acid. **Analytica Chimica Acta**, v. 423, p 107-114, 2000.

GRANT, E. A, BERGREN, A. J, POTER, M. D. **Handbook of Electrochemistry**, p. 295-327, 2007.

GIOLITO, I; IONASHIRO, M.A. Nomenclatura, padrões e apresentações de resultados em análise térmica. **Cerâmica**, v 26, n 121, p 17-24, 1980.

GUY, J.O; WALKER, K.D. In: Silicon Carbide Biotechnology: A Biocompatible Semiconductor for Advanced Biomedical Devices and Applications, Second Edition. **Elsevier**, 2016.

GONÇALVES, A. A. S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonoides e vitamina C**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, 2008.

HANSEN, S. N, et al. Maternal vitamin C deficiency does not reduce hippocampal volume and  $\beta$ -tubulin III intensity in pre-natal Guineapigs. **Nutrition Research**, v. 36, p. 692-702, 2016.

HABIBI, B., JAHANBAKHSI, M., POURNAGHI-AZAR, M. H. Simultaneous determination of acetaminophen and dopamine using SWCNT modified carbon-ceramic electrode by differential pulse voltammetry. **Electrochimica Acta**, 2010..

HABIBI, B., JAHANBAKHSI, M., POURNAGHI-AZAR, M. H. Differential pulse voltammetric simultaneous determination of acetaminophen and ascorbic acid using single-walled carbon nanotube-modified carbon-ceramic electrode, **Anal. Biochem**, 2011

HOLANDA, L.F. **Determinação eletroanalítica de acetaminofeno sobre eletrodo modificado com nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono e ftalocianinas**

**de cobalto**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HULANICK, A; GLAB.S; INGMAN.F. Chemical sensors definitions and classification. **Pure & Appl, Chem.**, Vol .63, nº 9,pp. 1247-1250, 1991.

HUTTON, E.A et al.Amperometric microsensor for Direct probing of ascorbic acid in human gastric juice, **Analytica Chimica Acta**,2010.

JÚNIOR, W.P. **Eletrodos quimicamente modificados com nanotubos de carbono e nitroanilinas e sua aplicação na determinação de antioxidantes de importância biológica**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2016.

JOHNSON, T. W. and KLOTZ, I. M. Preparatiron and characterization of some derivatives of polyethyleneimine. **Macromolecules**. v. 7, n. 2, p. 149153, 1974.

KALIMUTHU, P., JOHN, S. A.Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, uric acid and xanthine using a nanostructured polymer film modified electrode. **Talanta**,v. 80, n 5, p. 1686-1691, 2010.

KWOK, A; HART, S,L. Comparative strutural and funcional studies of nanoparticle formulations for DNA and SIRNA delivery. **Nanomedicine**, v 7,p 210-219,2011.

KOENING, J. L. Experimental IR spectroscopy of polymers. ACS Professional Reference Book, Washington, D.C.**American Chemical Society**. p. 44-76, 1992.

LAN et al. Direct numerical simulation of the termal dehydration reaction in a TGA experiment. **Applied Thermal Engineering**.v. 128, p. 1175-1185, 2018.

LIMA, P.R. **Eletrodo modificado à base de 4-nitroftalonitrila: sensor amperométrico para quantificação de alguns antioxidantes de relevância**

**biológica.** Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2009.

LI et al, Preparation of flake hexagonal BN and its application in electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Sensors and Actuators B: Chemical**.v. 260, p. 346-356, 2018.

LOGRADO, **Daniel Lima. Microscopia de Força atômica associada espectrometria de massa na caracterização de sistemas proteicos.** Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, 2009.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre o mecanismo de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006.

MADRAKIAN, T., HAGSHENAS, E., AFKHAMI, A. Simultaneous determination of tyrosine, acetaminophen and ascorbic acid using gold nanoparticles/multiwalled carbon nanotube/glassy carbon electrode by differential pulse voltammetric method **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.193, n 31 p.451- 460, 2014.

MALISKA, A. M. **Microscopia eletrônica de varredura.** Laboratório de caracterização microestrutural e análise de imagens – LCMAI, UFSC.

Materiais e técnicas para nanoestruturas magnetoelétricas compósitas - Scientific Figure on ResearchGate. Disponível em:  
<[https://www.researchgate.net/figure/Figura-D1-Principio-basico-de-um-microscopio-de-forca-atmica-Adaptada-de-169\\_fig14\\_270592241](https://www.researchgate.net/figure/Figura-D1-Principio-basico-de-um-microscopio-de-forca-atmica-Adaptada-de-169_fig14_270592241)>. Acesso:03 Jan, 2019.

MATOS, R.C et al. Flow injection Analysis amperometric determination of ascorbic and úric acids in urine using arrays of gold microelectrodes modified by electrodeposition of palladium, **Anal.Chim. Acta**, 2000.

MENDES. **Investigação dos efeitos dos procedimentos de imobilização em monocamadas auto-organizadas da enzima peroxidase no desenvolvimento de um biossensor.** Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de São Paulo, Campinas, 2006.

**MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA.** TESCAN: Performance in nanospace. Disponível: <<https://www.tescan.com/en-us/technology/light-microscopy>> Acesso em: 02 de Dezembro de 2018.

MOSSANHA, R. **Preparação, caracterização e estudos eletroquímicos de eletrodos modificados com diferentes monocamadas auto-organizadas.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2011.

MOTHÉ, C.G; AZEVEDO. A.D. **Análise Térmica de Materiais.** São Paulo: Editora, 2002.

NECTOUX, A.S. **Desenvolvimento do sensor eletroquímico ACel/TiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/BQ e aplicação na determinação de ácido ascorbico em presença de interferentes.** (Trabalho de Conclusão de Curso) - UFRS, 2012.

**SCANNING PROBE MICROSCOPE.** NIMS Instrumentation. Disponível em: < <http://mesochem.xyz/new-page-1/>>. Acesso em 2 de Dezembro de 2018.

PAIOLA, I. F *et al.* Miniaturização de uma Célula Eletroquímica em um Experimento Didático de Voltametria Cíclica: Economizando Reagentes e Minimizando a Geração de Resíduos. **Rev. Virtual Quim.** v 9, n 3, p. 953-973, 2017.

NOGUEIRA, F.S. **Teores de ácido L-ascórbico em frutas e sua estabilidade em sucos.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Campo dos Goytacazes, RJ, 2011.

NUNES, L. O. **Síntese, caracterização e aplicação do óxido de grafite e grafeno em estudos eletroquímicos envolvendo ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina e epinefrina.** Dissertação (Mestrado) – UFVJM- Faculdade de Ciências Sociais Aplicadas e Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

PEREIRA, A.C., SANTOS, A. S., KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quim. Nova**, v. 25, n 6, p.1012-1021, 2002.

PERKINELMER. "**Thermogravimetric Analysis (TGA): A Beginner's Guide**". Disponível em: [http: <perkinelmer.com - TGABeginnersGuide.pdf>](http://perkinelmer.com - TGABeginnersGuide.pdf). Acesso em 25/02/2018.

PINTO, et al. O Microscópio de Força Atômica (AFM): importante ferramenta no estudo da morfologia de superfícies na escala nanométrica. **Macapá**, v. 3, n. 2, p. 41-50, 2013.

PINTO, M. A.C. **Estudo da utilização de filmes automontados de polianilina e nanotubos de carbono em sensores para detecção de fenóis**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Sorocaba, 2016.

PISOSCHI, A. M., POP, A., SERBAN, A. I., FAFANEATA, C. Electrochemical methods for ascorbic acid determination. **Electrochimica Acta**. p. 121- 443, 2014.

PISOSCHI, A.M, POP, A, NEGULESCU, G.P, PISOSCHI, A. Determination of ascorbic acid content of some fruit juices and wine by voltammetry performed at Pt and Carbon Paste Electrodes. **Molecules**. V. 16, 2011.

PISOSCHI, A.M, POP, A, NEGULESCU, G.P, PISOSCHI, A. Ascorbic Acid Determination by an Amperometric Ascorbate Oxidase-based Biosensor, **Rev. Chim.** V. 61, n 4, p. 339-344.

POZZA, M. D. **Avaliação da influência de diferentes tióis no desempenho de biossensores magnetoelásticos para detecção de escherichia coli**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, 2016.

QUITINO, M.S.M. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (bia) para aplicações analíticas**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2003.

RAMOS, J. M. T. A. **Estudo espectroscópico vibracional de complexos de Ni(II) com os aminoácidos serina, glicina e ácido guanido acético**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, 2006.

ROSATTO, Set al. Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras interesse ambiental. **Química Nova**, v. 24 p.77-86, 2001.

ROY et al.. Simultaneous electrochemical detection of uric acid and ascorbic acid at a poly(*N,N*-dimethylaniline) film-coated GC electrode. **Electroanalysis**, v. 561, p. 75-82, 2004.

SAJID, et al. Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine in presence of uric acid and ascorbic acid: A review. **Trends in Analytical Chemistry**, 2015.

SANTHIAGO, M. **Construção de plataformas nanoestruturadas para detecção de Cys e NADH**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

SANTHIAGO, M. Anamperometric sensor for l-cysteine based on nanostructured platform modified with 5,5\_-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB). **Sensors and Actuators B**, v.146, p. 213–220, 2010.

SHA.R, BADHULIKA. S. Facile green synthesis of reduced graphene oxide/tin oxide composite for highly selective and ultra-sensitive detection of ascorbic acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. V.816, p. 30-37, 2018.

SHARMA, Shikha et al. A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**. v.107, p. 76–93, 2018

SHANKARAN, D. R. LIMURA, K. KATO, T. Simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine at a sol–gel composite electrode. **Sensors and Actuators B**, v. 94, p. 73–80, 2003.

SELLERS, H.; ULMAN, A.; SHNIDMAN, Y.; EILERS, J.E. (1993). Structure and binding of alkanethiolates on gold and silver surfaces: implications for selfassembled monolayers. **J.Am.Chem. Soc.** 115, 9389-9401.

SILVA, F. A. S., LOPES, C. B, KUBOTA, L, T, LIMA, P.R, GOULART, M.O.F, Polyxanthurenic acid modified electrodes: Anamperometric sensor for the simultaneous determination of ascorbic and uric acids, **Sens. Actuators B** .v.168 p. 289 – 296, 2012.

SILVA, L.V. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em nanotubos de carbono e polímeros de ácido ferúlico e capsaicina para detecção e quantificação de 3-Nitro-L-Tirosina, Epinefrina e Dopamina.** Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, IQB, Maceió, 2017.

SILVA, I.O. **Síntese e imobilização de nanopartículas de ouro em fibras regeneradas via exaustão para potencial aplicação biomédica.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Rio Grande de Norte, Natal, RN, 2015.

SILVERSTEIN, R. M. et al. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 7. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIVANESAN, A, KANNAN, P, S. JOHN, A. Electrocatalytic oxidation of ascorbic acid using a single layer of gold nanoparticles immobilized on 1,6-hexanedithiol modified gold electrode. **Electrochimica Acta** v. 52, p.8118–8124, 2007.

SINGAMANENI, S. et al. Bimaterial microcantilevers as a hybrid sensing platform. **Advanced Materials**, v. 20, n. 4, p. 653-680, 2008.

SKOOG, D. A. et al.; **Fundamentos de Química Analítica**, 8ª ed., Cengage Learning: São Paulo, 2013.

SOUZA, M.F.B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química nova**, v.20, n,2, 1997.

SOUZA, K. R.O. **Estudo da determinação de ácido ascórbico em solução utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

TSUTSUMI, H, et al. Electrochemical Behavior of a 4-Nitrothiophenol Modified Electrode Prepared by the Self-Assembly Method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.175, 1995.

TEIXEIRA, P.R. **Estrutura e propriedade de nanopartículas de ouro sintetizadas na presença de polímeros**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Brasília, 2016.

TSIERKEZOS et al. Electrochemical analysis of ascorbic acid, dopamine, and uric acid on noble metal modified nitrogen-doped carbon nanotubes. **Sensors and Actuators B: Chemical**. V. 231, p.218-229, 2016.

THEVENOT, D. R. et al. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. **Pure and Appl, Chem.**, v. 71, nº 12, p. 2333-2348, 1999.

TOFFANI, L.B. **Avaliação in vitro e in vivo de nanodispersões líquidas cristalinas para veiculação de SiRNA TRP-1 para o tratamento de vitiligo**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade Federal de São Paulo, 2015.

VERNASQUI, L. G. **Análise do fenol por voltametria cíclica: eletrodos compostos de resina epoxídica, grafite e óxidos de metal**. Dissertação (mestrado) - Instituto politécnico de Bragança, 2017.

WANG, J. Modified electrodes for electrochemical sensors. **Electroanalysis**. p.255-259, 1991.

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**, 2<sup>a</sup> ed., Wiley-VCH: New Jersey, 2000.

WANG et al. Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using a palladium nanoparticle/graphene/chitosan modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v.695, p.10-16, 2013.

YANG, et al. MWCNTs-PEI composites-based electrochemical sensor for sensitive detection of bisphenol A. **Sensors and Actuators B**. v.235, p.408–413, 2016.

YE, et al. In-situ FTIR spectroscopic studies of electrocatalytic reactions and processes. **Nano Energy**. v. 29, p. 414-427,2016.

ZHANG. R., LIU.S., WANG.L., YANG.G. Electroanalysis of ascorbic acid using poly (bromocresol purple) film modified glassy carbon electrode. **Measurement**. v.46, n 3, p. 1089-1093, 2013.

## **7 PERSPECTIVAS**

- Realizar estudo de interferentes;
- Aplicar o sensor desenvolvido em amostras reais;
- Produzir e publicar um artigo a partir dos dados obtidos.