

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

DILTON MARTINS PIMENTEL

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ÁCIDO ÚRICO E EPINEFRINA
EMPREGANDO UM SENSOR À BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO E BIS-
TETRACIANOQUINODIMETANETO DE TRIS- FENANTROLINA DE COBRE (II).**

DIAMANTINA - MG

2013

DILTON MARTINS PIMENTEL

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ÁCIDO ÚRICO E EPINEFRINA
EMPREGANDO UM SENSOR À BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO E BIS-
TETRACIANOQUINODIMETANETO DE TRIS- FENANTROLINA DE COBRE (II).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Química da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Silva Luz

DIAMATINA – MG

2013

Ficha Catalográfica - Sistema de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária: Jullyele Hubner Costa CRB-6/2972

P644d 2014	<p>Pimentel, Dilton Matins</p> <p>Determinação simultânea de ácido úrico e epinefrina empregando um sensor à base de nanotubos de carbono e bis-tetracianoquinodimetaneto de tris-fenantrolina de cobre (II). / Dilton Matins Piementel. – Diamantina: UFVJM, 2014. 80 p. : il.</p> <p>Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rita de Cássia Silva Luz</p> <p>Dissertação (mestrado) –Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.</p> <p>1. Ácido úrico. 2. Epinefrina. 3. Nanotubos de carbono funcionalizados. I. Luz, Rita de Cássia Silva. II. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 543</p>
---------------	--

Elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DILTON MARTINS PIMENTEL

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ÁCIDO ÚRICO E EPINEFRINA
EMPREGANDO UM SENSOR À BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO E BIS-
TETRACIANOQUINODIMETANETO DE TRIS- FENANTROLINA DE COBRE (II).**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre em Química**

Instituição: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Área de concentração: Química Analítica.

Data da aprovação: 16/08/2013

Dissertação aprovada pela seguinte banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Silva Luz
Orientadora/Presidente
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof. Dr. Eduardo Mathias Richster
Examinador
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Flávio Santos Damos
Examinador
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus irmãos Delton e Danúbia pela força nas horas mais difíceis. Aos meus pais Zilda e Nery que sempre foram os meus alicerces, são eles os responsáveis por tudo que sou e foram eles que acreditaram de forma incondicional no sucesso da minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e ao meu Pai Seta Branca que nunca me faltaram durante minha caminhada, fazendo com que tudo que fosse de meu merecimento chegasse até as minhas mãos. Aos meus mentores pelos conselhos e pela luz que emanaram sobre mim, fortalecendo meu espírito para que as intempéries no caminho fossem mais amenas;

Aos meus pais Zilda e Nery, meus irmãos Delton e Danúbia, dindinha Vânia, tio Bastiãozinho e meu cunhado Luciano pelo apoio, carinho e força concedidos;

À minha sobrinha Laís, que é a melhor coisa que aconteceu em minha vida durante o mestrado e que apesar de ainda estar impossibilitada de ler estas palavras, sabe o quanto este tio a ama.

Aos meus amigos Lucas, André, Celina, Angelita, Tarciane, Fabrício, Annelise, Andressa, Dayana, Isabela, Marcela e tantos outros que suportaram e entenderam as minhas várias ausências no decorrer deste trabalho;

Aos técnicos Vanessa e Teles pela ajuda, ideias, momentos de descontração e companhia nos dias em que o laboratório estava vazio;

Aos meus amigos do LABVALE que foram companhias espetaculares durante a realização dos experimentos: Dani, Júnior, Renata, Natália, Larrisa, Amanda, João Gabriel, Neuma, Filipe, Cátia, Lúcio, Tereza, Fernando, Lucio, Tatinha, Artur, Edmilson, Fanne, Mirian, Thaís, Fernanda, Polyana, Matheus, Christian, Milene, Jussara, Grazy, Isabel, Gabriele e tantos outros;

Um agradecimento especial ao meu amigo e companheiro de laboratório Fernando Mota pela contribuição e parceria na elaboração do trabalho. Pelo compartilhamento de dias cansativos em que abríamos e fechávamos o laboratório na persistência de que tudo desse certo. Pela dedicação e teimosia que

compartilhávamos e que possibilitaram a elaboração e conclusão do trabalho de pesquisa;

Ao meu querido Povo Janurano (Júnior, Patrícia, Flavinha, Laryssa, Alcício, Ana, Daiane e aos mestres e ninfas mais novos na doutrina) pelo apoio incondicional e pelo convívio em família que me proporcionaram com todo carinho e atenção nas horas mais difíceis e nos inesquecíveis momentos de “gordices”;

Aos meus alunos do Colégio Tiradentes da Polícia Militar, que compreenderam os atrasos nas correções de suas avaliações devido aos momentos de dedicação na escrita deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Flávio pelas importantíssimas contribuições e intervenções durante todo o processo;

À Profa. Dra. Rita pela orientação, paciência, incentivo e apoio durante o desenvolvimento do trabalho;

Ao professor Adriano Bof de Oliveira pelo complexo cedido.

À FAPEMIG pela bolsa concedida;

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, meu crescimento pessoal e profissional.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

Pimentel, D. M. **Determinação simultânea de ácido úrico e epinefrina empregando um à base de nanotubos de carbono e bis-tetracianoquinodimetaneto de tris-fenantrolina de cobre (II)**. 2013, 75 p. Dissertação (Mestrado em Química). Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2013.

No presente trabalho foi construído um sensor sensível e seletivo para determinação de ácido úrico e epinefrina por voltametria de pulso diferencial a partir da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (bis(tetracianoquinodimetaneto) de tris(fenantrolina) de cobre (II)). O compósito foi caracterizado por Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectroscopia de Impedância Eletroquímica e Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier. Os coeficientes de transferência de carga anódico e catódico e a constante de velocidade de transferência eletrônica foram determinados para a reação eletroquímica envolvendo os nanotubos funcionalizados, os valores encontrados foram 0,58, 0,41 e 2,9 s^{-1} , respectivamente. O número de elétrons e a constante heterogênea de transferência eletrônica envolvidos na reação de oxidação do ácido úrico e epinefrina foram calculados obtendo os valores de 2 elétrons, $2,6 \cdot 10^4$ para 0,1 mmolL^{-1} e $1,2 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$ para 0,5 mmolL^{-1} de ácido úrico e de 2 elétrons, $3,5 \cdot 10^5$ para 0,1 mmolL^{-1} e $1,1 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$ para 0,5 mmolL^{-1} de EP. Um intervalo de resposta linear de 20 a 440 μmolL^{-1} , com sensibilidade de 0,024 ALmol^{-1} , limite de quantificação de 23,23 μmolL^{-1} e limite de detecção de 7 μmolL^{-1} para a EP e intervalo de resposta linear de 10 a 420 μmolL^{-1} , com sensibilidade de 0,079 ALmol^{-1} , limite de quantificação de 7,09 μmolL^{-1} e limite de detecção de 2,13 μmolL^{-1} para a AU foram obtidos para o sensor em condições otimizadas.

Palavras-chave: Ácido Úrico; Epinefrina; Nanotubos de carbono funcionalizados.

ABSTRACT

Pimentel, D. M.: **Development and application of a voltammetric sensor for simultaneous analysis of Uric Acid and Epinephrine in the presence of Ascorbic Acid employing a glassy carbon electrode modified with (tris(1,10-phenantroline)copper(II) bis(tetracyanoquinodimethanide)) functionalized multi-wall carbon nanotubes.** 2013, 79 p. Dissertation Stricto Sensu Post-Graduate Program in Chemistry. Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2013.

A sensitive and selective sensor for determination of uric acid and epinephrine in the presence of ascorbic acid by differential pulse voltammetry using a glassy carbon electrode modified with $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (tris(1,10-phenantroline)copper(II) bis(tetracyanoquinodimethanide)) functionalized multi-wall carbon nanotubes was developed in this work. The composite was characterized by Scanning Electron Microscopy, Electrochemical Impedance Spectroscopy and Fourier Transform Infrared Spectroscopy. The anodic and cathodic transfer coefficients and the standard rate transfer constant for electrochemical reaction of functionalized nanotubes were determined; the found values were 0,58, 0,41 and $2,9 \text{ s}^{-1}$, respectively. The number of electrons and the heterogeneous rate constant involved in the oxidation reaction of uric acid and epinephrine was calculated, the values obtained were 2 electrons, 2.6×10^4 for 0.1 mmolL^{-1} and $1.2 \times 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$ for 0.5 mmolL^{-1} of uric acid and 2 electrons, 3.5×10^5 for $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$ and $1.1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$ for 0.5 mmolL^{-1} of epinephrine. A linear response range from 20 up to $440 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$, with a sensitivity of $0.024 \text{ A.L.mol}^{-1}$, quantification and detection limits of 23.23 and $7 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$ for epinephrine and linear response range from 10 up to $420 \text{ }\mu\text{molL}^{-1}$, with a sensitivity of $0.079 \text{ A.L.mol}^{-1}$, quantification and detection limits of 7.09 and $2.13 \text{ }\mu\text{mol/L}$ for uric acid were obtained for this sensor in optimized conditions.

Keywords: Uric acid; Epinephrine; Functionalized carbon nanotubes

LISTA DE ABREVIações

\vec{a}_1	Vetor 1
\vec{a}_2	Vetor 2
A	Área do eletrodo
A _o	Analito oxidado
A _r	Analito reduzido
AA	Ácido Ascórbico
AL	Ablação por laser
AU	Ácido Úrico
α	Coefficiente de transferência eletrônica
b	Coefficiente angular
C	Concentração da espécie eletroativa em solução
\vec{C}_h	Vetor quiral
Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂	Bis(tetracianoquinodimetaneto) de tris(fenantrolina) de Cobre(II)
Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados com bis(tetracianoquinodimetaneto) de tris(fenantrolina) de Cobre(II)
D	Coefficiente de difusão
DA	Descarga por arco
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio padrão
DQV	Deposição química de vapor
EA	Eletrodo Auxiliar
ECV	Eletrodo de Carbono Vítreo
EP	Epinefrina
EQM	Eletrodo Quimicamente Modificado

EIS	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
E_{oxi}	Potencial de oxidação
E_p	Potencial de pico
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
ΔE	Amplitude de pulso
ΔE_p	Variação de potencial de pico
$E_{p1/2}$	Potencial de corrente de pico a meia altura
ET	Eletrodo de Trabalho
ER	Eletrodo de Referência
F	Constante de Faraday
FT- IR	Microscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
HEPES	[N-(2-hidroxietil(piperazina)-N,N'-bis(2-ácido etanosulfônico)]
I_p	Corrente(s) de pico
I_{pa}	Corrente(s) de pico anódica(s)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
k	Constante da velocidade da reação
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
M_o	Mediador oxidado
M_r	Mediador reduzido
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
n	Número de elétrons total
n_a	Número de elétrons da etapa determinante da velocidade
(n,m)	índices de Hamada
NADH	β -nicotinamida adenina dinucleotídeo
Na_2HPO_4	Hidrogeno fosfato de sódio
NTC	Nanotubos de Carbono
NTCPM	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas
NTCPS	Nanotubos de Carbono de Parede Simples

O	Espécie eletroativa em sua forma oxidada
pH	Potencial hidrogeniônico
R	Constante dos gases
<i>R</i>	Espécies geradas na forma reduzida
T	Temperatura
TCNQ	Tetracianoquinodimetano
Γ	Concentração de espécies eletroativas na superfície do eletrodo
TRIS	Tris [(hidroximetil)amino-metano]
u	Velocidade(s) de varredura
v	velocidade cinemática
VC	Voltametria Cíclica
VHL	Voltametria hidrodinâmica de varredura linear
VPD	Voltametria de pulso diferencial
ω	Velocidade de rotação

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Estrutura do ácido úrico.....	5
FIGURA 2: Estrutura da epinefrina.....	6
FIGURA 3: Estrutura do ácido ascórbico.....	7
FIGURA 4: Nanotubos de carbono de parede simples, NTCPS (A) e Nanotubos de carbono de parede múltiplas, NTCPM (B)	11
FIGURA 5: Configuração geométrica para os NTCPS. Neste caso, a folha de grafite é enrolada de forma que a origem (0,0) coincida com o extremo (11,7). As linhas pontilhadas representam as direções que geram tubos zigzag e armchair.....	12
FIGURA 6: NTCPS (A) configuração armchair; (B) configuração zigzag; (C) configuração quiral.....	13
FIGURA 7: Esquema da formação de nanotubos de carbono pelo método de Descarga de Arco.....	14
FIGURA 8: Esquema da formação de nanotubos de carbono pelo método de Ablação a Laser.....	15
FIGURA 9: Esquema da formação de nanotubos de carbono pelo método de Deposição Química de Vapor.....	16

FIGURA 10: Representação esquemática do defeito Stone-Wales.....	18
FIGURA 11: Ilustração esquemática para eletrocatalise em uma monocamada.....	19
FIGURA 12: Estrutura do tetracianoquinodimetano.....	20
FIGURA 13: Estrutura do composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$	21
FIGURA 14: Potenciostato PGSTAT 101 e célula eletroquímica (A) ; Célula eletroquímica convencional (B) com ECV (ET), fio de ouro (EA) e eletrodo de Ag/AgCl (ER).....	28
FIGURA 15: Potenciostato 128 N da Autolab (A) ; Aparato para realização da Voltametria Hidrodinâmica de Varredura Linear (B) : célula eletroquímica (a), motor de rotação (b) e controlador de rotação (c).....	28
FIGURA 16: Espectrofotômetro FT-IR VARIAN, modelo 640 IR.....	29
FIGURA 17: Microscópio Eletrônico de Varredura TESCAN, modelo VEJA 3...	30
FIGURA 18: Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura de (A) NTCPM, (B) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ e (C) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ sobre substrato sólido.....	35
FIGURA 19: Espectro FT-IR para (A) NTCPM, (B) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ e (C) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2 / \text{NTCPM}$	36

FIGURA 20: Diagrama de Nyquist obtidos por Impedância Eletroquímica para o ECV não modificado (preto) e modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (vermelho), NTCPM (verde) e $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$. (azul).....	36
FIGURA 21: Voltamograma cíclico para o ECV modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,00. Velocidade de varredura de 20 mV/s.....	38
FIGURA 22: Relação entre a as correntes de pico anódicas e catódicas e a velocidade de varredura para o intervalo 10–200 mV/s e voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura (10–200 mV/s) para o $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,00 (A) . Relação entre as correntes de pico anódicas e catódicas e a raiz quadrada da velocidade de varredura para o intervalo 250–1000 mV/s (B)	40
FIGURA 23: ΔE em função de $\log v$ para as velocidades de varredura analisadas 10–2000 mV/s (A) ; ΔE em função de $\log v$ para altas velocidades de varredura 500–2000 mV/s (B)	41
FIGURA 24: Gráfico da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura. Voltamogramas realizados utilizando o eletrodo modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em solução de KCl contendo 1 mmol L ⁻¹ de ferricianeto de potássio.....	43
FIGURA 25: Voltamogramas cíclicos referentes à oxidação de 1 mmol L ⁻¹ para o AA, AU e EP sobre o eletrodo não modificado (A) , modificado apenas com NTCPM (B) , apenas com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (C) e com o composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ (D) . Experimentos realizados em tampão fosfato, pH = 7,00.....	45
FIGURA 26: Corrente de oxidação do AU (1 mmol/L) (A) e da EP (1,5 mmol/L) (B) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.....	48

FIGURA 27: Potencial de pico do AU (1 mmol/L) (A) e da EP (1,5 mmol/L) (B) em função do logaritmo da velocidade de varredura.....	50
FIGURA 28: Voltamogramas de varredura linear em condições hidrodinâmicas; Velocidades de rotação de 5,2; 10,5; 15,7; 20,9; 26,2; 41,9; 52,3; 62,8; 73,3; 83,7 e 94,2 rad s ⁻¹ em solução de AU 0,1 mmol/L (A) , 0.5 mmol/L (B) e de EP 0,1 mmol/L (C) e 0.5 mmol/L (D)	51
FIGURA 29: Corrente limite em função da raiz quadrada da velocidade de rotação e inverso da corrente limite em função do inverso da raiz quadrada da velocidade de rotação para o AU (A) e (B) e para a EP (C) e (D) , respectivamente.....	53
FIGURA 30: Corrente de oxidação dos analitos em função da concentração de composto utilizada para funcionalização dos NTCPM. Medidas realizadas em solução 0,1 mol L ⁻¹ tampão fosfato, pH 7,00. [AU] = 0,375 mmol L ⁻¹ , [EP] = 1,125 mmol L ⁻¹ e [AA] = 1,875 mmol L ⁻¹	55
FIGURA 31: Correntes de oxidação dos analitos em função da quantidade de compósito Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM. Medidas realizadas em solução 0,1 mol L ⁻¹ tampão fosfato, pH 7,00. [AU] = 0,375 mmol L ⁻¹ , [EP] = 1,125 mmol L ⁻¹ e [AA] = 1,875 mmol L ⁻¹	56
FIGURA 32: Correntes de oxidação dos analitos em função de 0,1 mol L ⁻¹ da solução tampão pH =7,00 utilizado. [AU] = 0,375 mmol L ⁻¹ , [EP] = 1,125 mmol L ⁻¹ e [AA] = 1,875 mmol L ⁻¹	57
FIGURA 33: Corrente de oxidação dos analitos em função do pH da solução. Medidas realizadas em tampão fosfato 0,1 mol/L.....	58
FIGURA 34: Voltamogramas de pulso diferencial (A) e gráfico I vs. [EP] (B) para o sensor proposto em solução 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0) contendo 100,0 μmol L ⁻¹ de AU, 50 μmol L ⁻¹ de AA e diferentes concentrações de EP.....	61

FIGURA 35: Voltamogramas de pulso diferencial (A) e gráfico I vs. [AU] (B) para o sensor proposto em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0) contendo 100,0 μmol L⁻¹ de EP, 50 μmol L⁻¹ de AA e diferentes concentrações de AU. **63**

FIGURA 36: Voltamogramas de pulso diferencial para as concentrações crescentes de AU e Ep na presença de AA sobre o ECV modificado com Cu(phen)₃(TCNQ)₂/NTCPM **(A)** e relação entre corrente de pico e concentração obtida (curva analítica) **(B)**. Medidas realizadas em tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,00, Amplitude= 0,14 V e velocidade = 0,06 V/s e [AA] = 50μmol.L⁻¹ **64**

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Correntes e potenciais de oxidação do AU, EP e AA para diferentes modificações do eletrodo. Experimentos realizados em solução tampão fosfato pH = 7. Velocidade de varredura: 10mV/s.....	44
TABELA 2: Valores de k_{obs} ($\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$) obtidos através da linearização dos dados.....	53
TABELA 3: Correntes de oxidação do AU para diferentes velocidades de varredura em VPD. A amplitude foi mantida em 30 mV em todas as medidas, as quais foram realizadas em tampão fosfato pH 7,0.....	59
TABELA 4: Correntes de oxidação do AU para diferentes amplitudes de pulso em VPD. A velocidade de varredura foi mantida em 0,06 V/s em todas as medidas, as quais foram realizadas em tampão fosfato pH 7,0.....	59
TABELA 5: Estudo da influência da matriz na resposta do sensor proposto.....	65

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE ABREVIACÕES	iii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	xv
1.0. INTRODUÇÃO	1
2.0. REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1. Ácido Úrico	5
2.2. Epinefrina	6
2.3. Eletrodos Quimicamente Modificados	7
2.4. Nanotubos de Carbono	10
2.4.1 Síntese de Nanotubos de Carbono	13
2.4.2. Funcionalização de Nanotubos de Carbono	17
2.5. Compostos a base de TCNQ como mediadores de transferência eletrônica	28
2.6. Sensores eletroquímicos para determinação de Epinefrina e Ácido Úrico.	21
3.0. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo geral	25
3.2. Objetivos específicos	25
4.0. MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1. Reagentes e Soluções	27
4.2. Instrumentação	27
4.3. Funcionalização dos Nanotubos de Carbono	30
4.4. Preparação do ECV modificado	30
4.5. Aplicação do sensor em amostras de urina	31
5.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33

5.1. Caracterização morfológica e espectroscópica dos materiais NTCPM, Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM e Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂	33
5.2. Comportamento eletroquímico do ECV modificado com Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM.....	37
5.3. Área efetiva do ECV modificado com Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM.....	42
5.4. Estudo do efeito do modificador sobre a eletro-oxidação de Ácido Ascórbico (AA), Ácido Úrico (AU) e Epinefrina (EP).	43
5.5. Estudos sobre a oxidação do AU e da EP utilizando o ECV modificado com o compósito Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM.	47
5.6. Estudos em condições hidrodinâmicas empregando a voltametria de varredura linear.	51
5.7. Estudo dos parâmetros experimentais e operacionais	54
5.7.1. Influência das concentrações de Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ e do compósito usados na modificação do ECV sobre as correntes dos analitos.	54
5.7.2. Influência do tipo de solução tampão sobre a oxidação dos analitos.	56
5.7.3. Influência do pH sobre a oxidação dos analitos.	57
5.7.4. Estudo das melhores condições operacionais: Amplitude e velocidade para VPD.....	58
5.7.5. Estudo da interferência de um analito sobre o outro empregando o ECV modificado com o compósito Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM.....	60
5.8. Caracterização analítica do sensor para AU e EP na presença de AA..	63
5.9. Determinação simultânea de AU e EP na presença de AA em amostras de urina humana empregando-se o ECV modificado com Cu(phen) ₃ (TCNQ) ₂ /NTCPM.....	65
6.0. CONCLUSÕES	67
7.0. PERSPECTIVAS FUTURAS	69
8.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

INTRODUÇÃO

1.0. INTRODUÇÃO

Devido aos novos desafios impostos para se desenvolver dispositivos que apresentem elevada sensibilidade, seletividade e estabilidade quando aplicados para a detecção e quantificação de importantes moléculas, como por exemplo, as de interesse biológico, o desenvolvimento de novos métodos analíticos é uma das áreas de maior e mais rápido crescimento dentro da química analítica.

Epinefrina (EP), ácido úrico (AU) e ácido ascórbico (AA) desempenham papéis cruciais no metabolismo humano. Estas substâncias coexistem nos fluidos biológicos (como sangue e urina) e seus níveis estão diretamente associados a uma diversidade de patologias. Assim, a determinação individual ou simultânea destas moléculas é uma questão importante não só no campo de química biomédica, mas também nas pesquisas patológicas e de diagnóstico (QIAO, *et al*, 2008; MAZLOUM-ARDAKANI, *et al*, 2011; BOUHOUTI, *et al*, 2009; BEITOLLAHI, *et al*, 2008; CHANDRASHEKAR, *et al*, 2012).

Com a crescente necessidade de identificação e quantificação de analitos de forma rápida, seletiva e em pequenas quantidades de amostras, foram desenvolvidos eletrodos quimicamente modificados (EQM). Este termo foi utilizado para designar eletrodos que possuem espécies quimicamente ativas como resultado da imobilização de um agente modificador sobre a superfície de um eletrodo base com objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução (VENDRAME, 2004).

Um maior controle das características do eletrodo e reatividade é alcançado através destas modificações quando comparados a eletrodos convencionais, possibilitando desenvolver eletrodos para vários propósitos e aplicações.

Eletrodos modificados originam frequentemente sinais de corrente faradaica mais elevados do que sem os modificadores. A camada de modificador eletroativa funciona como mediador entre a solução e o eletrodo-substrato no processo de transferência de elétrons (VENDRAME, 2004).

Atualmente, com a aplicação de novos métodos eletroanalíticos e de novos materiais de sensores, têm sido desenvolvidos vários trabalhos de investigação tanto do material do suporte como do agente modificador, sendo a escolha do material um aspecto de extrema relevância na construção de um EQM.

O substrato deve apresentar características apropriadas eletroquimicamente e ser adequado para o método de imobilização escolhido. Entre os materiais convencionais destacam-se o ouro, platina, carbono vítreo, filme de mercúrio, pasta de carbono, material plástico condutor e vidros condutores (VENDRAME, 2004).

No campo dos eletrodos quimicamente modificados, os nanotubos de carbono tem despertado grande atenção dos pesquisadores principalmente no que diz respeito ao desenvolvimento de sensores químicos.

Esses materiais foram sintetizados pela primeira vez em 1991 usando o processo de pirólise de grafite em plasma sob atmosfera controlada de hélio (IJIMA, 1991). Pode-se dizer que a descoberta de Iijima, em conjunto com os fulerenos (KROTO, et al., 1985) abriu uma nova fronteira na química e na física do carbono.

Nesse sentido, uma grande variedade de aplicações deste tipo de nanoestrutura, assim como a necessidade de controlar a morfologia apropriada para sua utilização, faz da pesquisa nesta área do conhecimento um trabalho de característica eminentemente multidisciplinar, envolvendo fatores que definem o sucesso de suas aplicações, tais como rota de síntese, processamento em formas variadas, bem como a sua qualidade e aplicação (LEITE, 2011). Os nanotubos têm sido aplicados na indústria nos mais diversos ramos, como na obtenção de compósitos condutores ou de alta resistência mecânica, dispositivos para armazenamento e conversão de energia, produção de sensores e semicondutores de escala manométrica.

Neste contexto, o interesse nas singulares propriedades destes materiais tem resultado num avanço científico rápido e crescente a respeito do desenvolvimento e uso de novos materiais fundamentados nas propriedades dos nanotubos de carbono e, conseqüentemente, tem havido um interesse crescente na manipulação das propriedades químicas destes materiais através da funcionalização química dos mesmos.

O complexo tetracianoquinodimetano é um forte aceptor de elétrons pela presença de quatro grupos ciano e seu sistema de ligações π conjugadas, o que faz com que se formem reservatórios eletrônicos estáveis devido pequenas mudanças estruturais durante as transições redox do sistema extensivamente ressonante, favorecendo uma rápida transferência eletrônica (LUZ, 2007).

Sendo assim, no presente trabalho os nanotubos de carbono de paredes múltiplas foram modificados com bis-tetracianoquinodimetaneto de tris-fenantrolina de cobre (II), os quais foram imobilizados sobre eletrodo de carbono vítreo (ECV) para posterior detecção de epinefrina e ácido úrico na presença de ácido ascórbico.

REVISÃO DA LITERATURA

2.0. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Ácido Úrico

O ácido úrico (2,6,8-trihidróxipurina, AU) (**FIGURA 1**) é o principal produto do metabolismo da purina (HUO, SHANGGUAN, 2013). Os níveis de AU normais são da faixa de $2,4 \times 10^{-4}$ a $5,2 \times 10^{-4}$ molL⁻¹ (REVIN, JOHN, 2012), em soro sanguíneo e $1,4 \times 10^{-3}$ a $4,4 \times 10^{-3}$ molL⁻¹ em urina (BEHERA, 2007; REVIN, JOHN, 2012; BALLESTA-CLAVER, RODRÍGUEZ-GÓMEZ, CAPITÁN-VALLVEY, 2013). Níveis anormais de AU são produzidos pelo metabolismo alterado da purina, o qual está relacionado a várias doenças, tais como gota, hiperuricemia, hepatite intensa, síndrome de Lesch-Nyhan (GRABOWSKA *et al*, 2008) e leucemia (VULCU *et al*, 2013). Além disso, concentrações incomuns deste composto podem estar associadas à toxicidade e falha renal (ZARE, NASIRIZADEH, 2010). Neste sentido, o monitoramento da concentração de AU tanto no sangue quanto na urina é de extrema importância para facilitar o diagnóstico das doenças citadas acima.

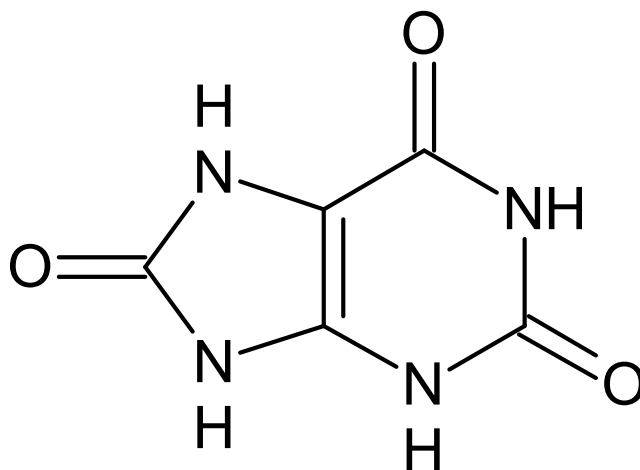


FIGURA 1: Estrutura do ácido úrico.

Diversas técnicas são empregadas com o objetivo de detectar e determinar AU, dentre elas se observa espectrometria, fluorescência (GRABOWSKA *et al*, 2008), cromatografia líquida de alta eficiência (SUN *et al*, 2010), eletroforese capilar

(PORMSILA, KRÄHENBÜHL, HAUSER, 2009) e eletroquimiluminescência (BALLESTA-CLAVER, RODRÍGUEZ-GÓMEZ, CAPITÁN-VALLVEY, 2013).

Todavia, as técnicas eletroquímicas se destacam pelo relativo baixo custo, rapidez e baixos limites de detecção obtidos, possibilitando a construção de inúmeros sensores para compostos eletroativos em matrizes biológicas (ENSAFI, DADKHAH, KARIMI-MALEH, 2011) sem a necessidade do tratamento da amostra.

2.2. Epinefrina

A epinefrina (EP), também chamada adrenalina (**FIGURA 2**), é um importante neurotransmissor catecolamina para o sistema nervoso central dos mamíferos. Ela desempenha um papel importante na função do sistema nervoso, renal, hormonais, central e cardiovascular.

Sua presença no corpo afeta a pressão sanguínea e a frequência cardíaca, a lipólise, o sistema imunológico e o metabolismo do glicogênio. (LI, 2009). Alterações em sua concentração podem resultar em muitas doenças, sendo que baixas concentrações de epinefrina são normalmente encontradas em pacientes com Parkinson. (BOUHOUTI, 2009). Do ponto de vista da medicina, é um fármaco utilizado no tratamento de situações de emergência, em reação alérgica grave e parada cardíaca, sendo utilizado como vasoconstritor, estimulador cardíaco e broncodilatador (LY, 2006).

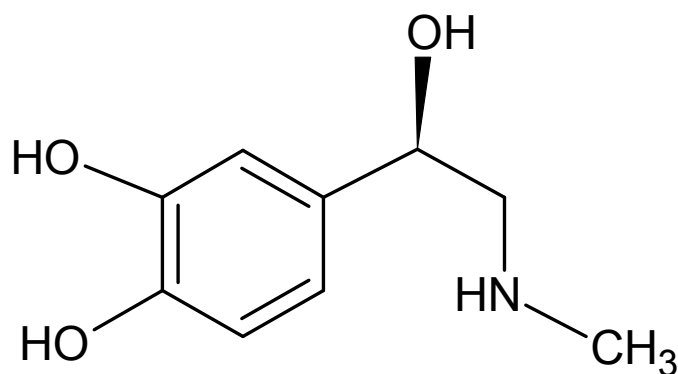


FIGURA 2: Estrutura da epinefrina.

Assim, o desenvolvimento de novos métodos quantitativos, sensíveis e seletivos para estudar EP vai ajudar significativamente na compreensão dos seus efeitos sobre o sistema nervoso e quaisquer substitutos artificiais, sendo este de grande valia para as pesquisas biológicas e farmacológicas (NIU, *et al*, 2011).

Geralmente, AU e EP coexistem em fluidos biológicos humanos e são oxidados em potenciais muito próximos em eletrodos sólidos, resultando numa sobreposição voltamétrica de seus sinais analíticos.

O principal obstáculo encontrado para a determinação eletroquímica de AU e EP em amostras biológicas é a presença de ácido ascórbico (AA) (**FIGURA 3**), o qual também se oxida em potencial muito próximo ao AU e a EP, interferindo em sua resposta analítica.

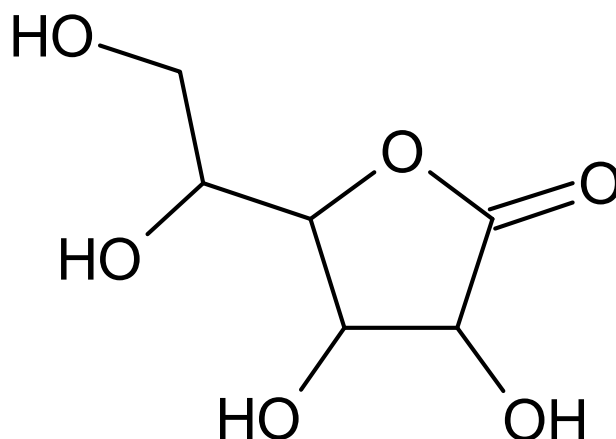


FIGURA 3: Estrutura do ácido ascórbico.

Portanto, a determinação simultânea de AU e EP coexistindo com AA é um sério desafio para os pesquisadores. Sendo assim, a fim de superar este problema, são utilizados eletrodos quimicamente modificados, os quais promovem a separação dos sinais de corrente observados para o AU e a EP na presença do AA (QIAO, *et al*, 2008; MAZLOUM-ARDAKANI, *et al*, 2011; BOUHOUTI, *et al*, 2009; BEITOLLAHI, *et al*, 2008; CHANDRASHEKAR, *et al*, 2012).

2.3. Eletrodos Quimicamente Modificados

O termo Eletrodo Quimicamente Modificado (EQM) foi utilizado pela primeira vez na área da eletroquímica em 1975, quando Murray e colaboradores usaram-no

para designar eletrodos que possuíam espécies quimicamente ativas imobilizadas em suas superfícies, com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução (SOUZA, 1997).

Os primeiros trabalhos envolvendo a preparação de EQM's surgiram no início da década de 70. Até então só tinham sido utilizados eletrodos de materiais convencionalmente chamados de "inertes", como ouro, platina e mercúrio (MURRAY, EWING e DURSTY, 1987). O uso deste tipo de eletrodos pode apresentar diversas dificuldades relacionadas às baixas sensibilidade e seletividade que são minimizadas, ou até mesmo eliminadas, com o uso de modificações nos eletrodos, dentre elas podemos citar:

- Transferência eletrônica entre eletrodo convencional e analito ocorre de forma lenta e em altos potenciais de ativação;
- Adsorção de espécies indesejáveis na superfície do eletrodo, as quais diminuem a área ativa do eletrodo, conseqüentemente ocorre queda do sinal analítico;
- Competição de diferentes espécies por regiões ligantes existentes na superfície do eletrodo. Desta forma um número menor do analito se liga ao eletrodo gerando modificação do sinal analítico, prejudicando sua fidedignidade;
- O sinal da oxidação ou redução monitorada pode sofrer interferência pelo fato de outras espécies presentes no meio responderem em potenciais muito próximos ao do analito em questão, podendo haver uma sobreposição dos sinais analíticos.

Através da interação analito/agente modificador se obtém melhorias consideráveis em termos de sensibilidade e seletividade das eletroanálises devido a fenômenos como: pré-concentração, eletrocatalise e exclusão de interferentes.

A imobilização do modificador na superfície do eletrodo, de forma geral, pode ser feita por adsorção, formação de compósitos, ligação covalente ou recobrimento com membranas poliméricas (SOUZA, 1997).

Na imobilização feita por adsorção o eletrodo é mantido em contato com uma solução do agente modificador ou pequenos volumes são adicionados em sua superfície volatizando o solvente em seguida. Trata-se de um método simples e rápido, contudo, apenas uma monocamada de modificador é obtida e o fenômeno de desorção pode prejudicar a reprodutibilidade do sistema (PEREIRA, SANTOS, KUBOTA, 2002). Leite e colaboradores desenvolveram um sensor a base de nanotubos de carbono e cloro(piridil)bis(dimetilgloximato) de cobalto (III) para L-dopa

utilizando este método para imobilizar um compósito capaz de eletrocatalizar a oxidação desta substância química, utilizada no tratamento de pacientes com doença de Parkinson (LEITE et al,2012).

A formação de compósitos consiste na mistura entre o substrato e o material modificador (SOUZA, 1997). Compósitos representam uma classe de materiais onde duas ou mais substâncias combinadas passam a exibir propriedades únicas, que não são possíveis de serem obtidas a partir de seus componentes individuais, podendo ser formados pela combinação de diferentes materiais, do tipo inorgânico-inorgânico, orgânico-orgânico ou orgânico-inorgânico, sendo, neste último caso, também chamados de materiais híbridos. Esta metodologia é adequada para modificar eletrodos a base de carbono em pó, tais como grafite, negro de fumo e nanotubos de carbono (CHUJO, 1996). Neste caso, também pode ocorrer perda do modificador para o ambiente no qual será utilizado o eletrodo.

Sotomayor e colaboradores desenvolveram um sensor para compostos fenólicos baseado em um eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobre e histidina para identificação de compostos fenólicos. Sendo assim, o material que constitui o eletrodo utilizado trata-se de um compósito formado por pó de grafite, ftalocianina de cobre e histidina, tendo como aglutinante óleo mineral (SOTOMAYOR, TANAKA, KUBOTA, 2002).

A modificação do eletrodo por meio de ligações covalentes é feita através de reações entre o agente modificador e determinadas regiões sujeitas a este tipo de interação presentes na superfície do substrato do eletrodo. Este tipo de imobilização possui grande estabilidade, reprodutibilidade e, sendo assim, se mostra extremamente vantajoso para construção de biossensores (PEREIRA, SANTOS, KUBOTA, 2002). Entretanto, seguindo esta metodologia, como na imobilização por adsorção, apenas uma camada de cobertura é obtida (SOUZA, 1997).

No recobrimento com membranas poliméricas o polímero que se pretende imobilizar na superfície do substrato do eletrodo podem possuir, basicamente, três funções diferentes: eletrocatalise, pré-concentração ou exclusão de interferentes, portanto, inúmeras são as possíveis aplicações para este tipo de modificação devido sua versatilidade. Outros fatores positivos se relacionam as modificações poliméricas, tais como estabilidade e o fato de ser possível imobilizar um grande número de camadas de material, favorecendo a sensibilidade do sistema (PEREIRA, SANTOS,

KUBOTA, 2002). Além disso, polímeros podem ser utilizados como matrizes para imobilização de outras espécies que dificilmente seriam incorporadas no substrato do eletrodo (DU *et al*, 2007).

Liu e colaboradores desenvolveram um sensível e seletivo sensor para clenbuterol, composto utilizado no tratamento de depressão humana e doenças pulmonares, modificando um eletrodo de carbono vítreo com um compósito formado por Nafion e ouro coloidal, neste trabalho o polímero aumentou a seletividade do sistema na medida que formou uma barreira para interferentes negativamente carregados (LIU, 2010).

Dentre os materiais utilizados para modificação de eletrodos destacam-se os nanotubos de carbono. As excepcionais propriedades eletrônicas que possuem conferem a esses materiais, quando usados em eletrodos, a habilidade de atuarem como mediadores em reações onde ocorre a transferência de elétrons envolvendo espécies eletroativas em solução, promovendo, na maioria das vezes, a eletrocatalise (LEITE, 2011; JACOBS, PEAIRS, VENTON, 2010).

2.4. Nanotubos de Carbono

Os primeiros relatos sobre a existência dos nanotubos de carbono (NTC) são de Bacon (1960). Entretanto, foi apenas em 1991, que Iijima conseguiu produzir grandes quantidades de NTC, que foram observados na fuligem obtida pela descarga por arco em bastões de grafite (MONTHIOUX; KUZNETSOV, 2006; CAPEK, 2009). Desde então este nanomaterial tem atraído intenso interesse por pesquisadores de diversas áreas (SOUZA FILHO e FAGAN 2007), devido às extraordinárias propriedades que apresentam como altas condutividades térmica e elétrica, alta rigidez, estabilidade térmica e razão área/volume. Estas propriedades surgem da combinação de sua dimensionalidade, estrutura e topologia, possuindo ligações covalentes carbono-carbono que geram uma folha de grafeno enrolada, cuja estrutura consiste em um arranjo bidimensional de átomos de carbono com hibridização sp^2 , ligados em hexágonos (SILVA, 2013). Em geral, os nanotubos de carbono apresentam comprimentos da ordem de micrometros e diâmetros da ordem de poucos nanômetros (AJAYAN, 1999).

Tais características fazem com que este material possua imenso potencial para aplicações em sensores químicos, pois promovem aumento de sensibilidade e viável utilização em diferentes ambientes (FAM *et al*, 2011).

Caso haja apenas uma folha de grafeno enrolada ele é classificado como nanotubo de carbono de paredes simples (**FIGURA 4(A)**), já aqueles formados por vários cilindros concêntricos são chamados nanotubos de carbono de paredes múltiplas (LI; THOSTENSON; CHOU; 2008), representados na **FIGURA 4(B)**.

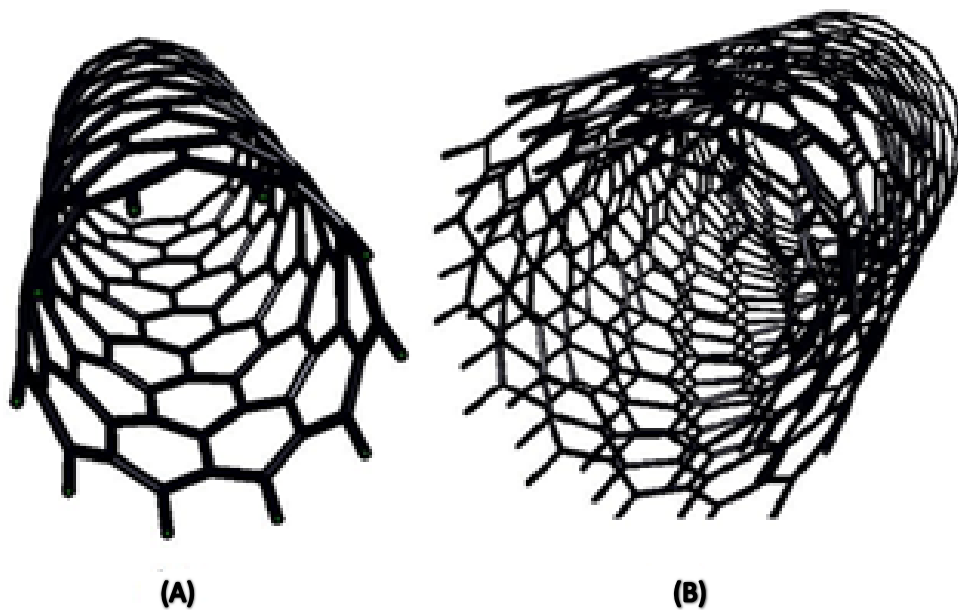


FIGURA 4: Nanotubos de carbono de parede simples, NTCPS **(A)** e Nanotubos de carbono de parede múltiplas, NTCPM **(B)**. **Fonte:** SANTOS, 2011.

As folhas de grafite que formam os NTC não se encontram enroladas sempre da mesma forma. A direção pela qual a folha de grafite está enrolada formando o NTC pode ser descrita através do vetor quiral \vec{C}_h , dado por (1):

$$\vec{C}_h = n\vec{a}_1 + m\vec{a}_2 \tag{1}$$

onde \vec{a}_1 e \vec{a}_2 são vetores e os índices (n,m), chamados índices de Hamada, são números inteiros (ROMERO *et al*, 2002). Caso $m = n \neq 0$ ($\theta + \phi = 30^\circ$) o nanotubo gerado é denominado “armchair”, se $m = 0 \neq n$ ($\theta + \phi = 0^\circ$) ele é denominado “zigzag”.

Para os demais valores de n e m os tubos são denominados “quirais” (FIGURA 5), dependendo da quiralidade os nanotubos podem se comportar, em termos de condutividade elétrica, como metais ou semicondutores (LI, THOSTENSON, CHOU, 2008). Todos os nanotubos armchair (FIGURA 6 (A)) são metálicos, já os zigzag (FIGURA 6 (B)) e quirais (FIGURA 6 (C)) podem ser metálicos ou semicondutores (ROMERO *et al*, 2002). De forma mais específica, se $n - m$ resultar num múltiplo de 3 o nanotubo é um semicondutor de gap quase nulo, caso contrário ele é um semicondutor e para $n = m$ os nanotubos são metálicos (SOUZA FILHO, FAGAN 2007).

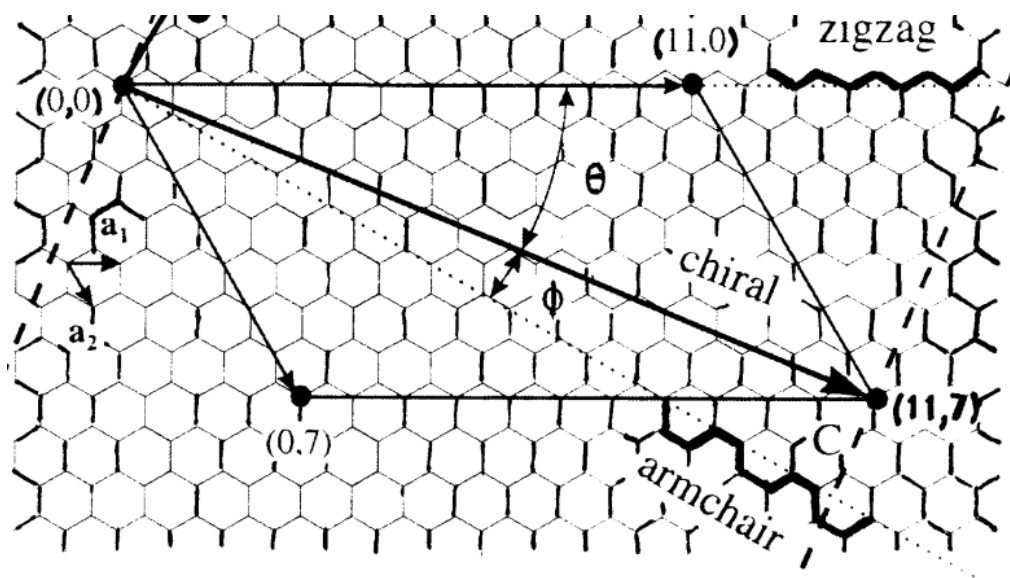


FIGURA 5: Configuração geométrica para os NTCPS. Neste caso, a folha de grafite é enrolada de forma que a origem (0,0) coincida com o extremo (11,7). As linhas pontilhadas representam as direções que geram tubos zigzag e armchair. **Fonte:** ROMERO *et al*, 2002, adaptada.

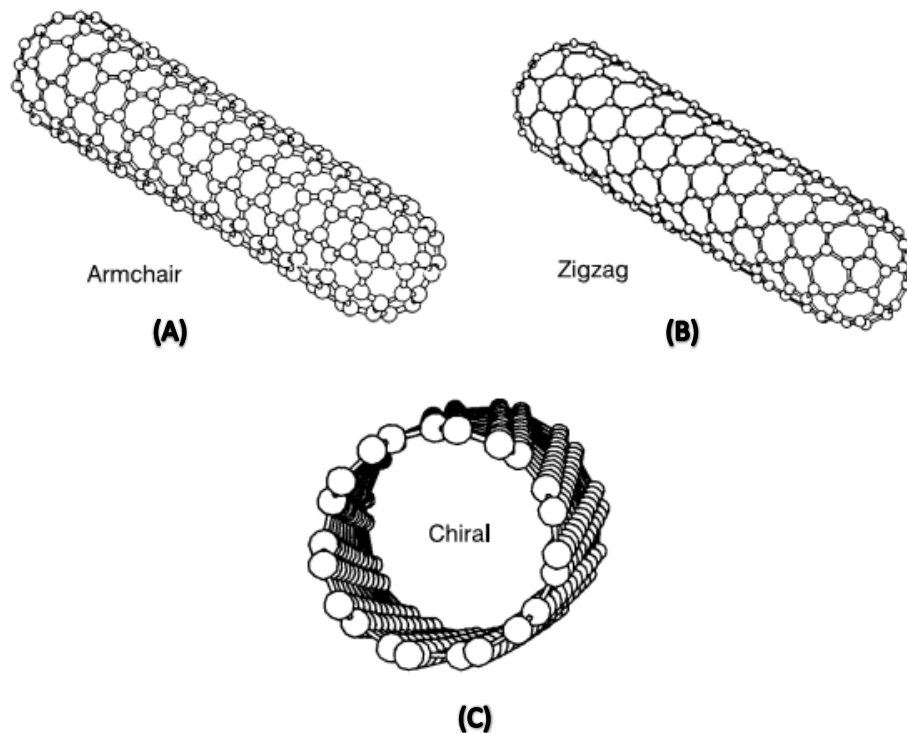


FIGURA 6: NTCPS (A) configuração armchair; (B) configuração zigzag; (C) configuração quiral. **Fonte:** ROMERO *et al*, 2002, adaptada.

Existem três metodologias principais para síntese de nanotubos: Descarga por Arco (DA), Ablação por Laser (AL) e Deposição Química de Vapor (DQV). Um dos principais problemas observados nas mesmas se concentra na necessidade de purificação dos NTC formados, pois outros compostos de carbono são sintetizados (FAM *et al*, 2011) e, além disso, partículas de catalisador podem ser encontradas nas estruturas dos nanotubos (ROMERO, 2002).

2.4.1. Síntese de Nanotubos de Carbono

Na síntese por descarga de arco (**FIGURA 7**), um arco elétrico é formado entre dois eletrodos de grafite, formando carbono atômico em temperaturas acima de 3000 °C, sendo que em um dos bastões de grafite são introduzidas partículas metálicas que atuam como catalisadores para crescimento dos NTC, os quais tem diâmetro entre 2 e 20 nm (NTCPM) e tendem a ser curtos. Este método é o mais utilizado atualmente para produção de nanotubos, apesar de produzir uma mistura complexa, com vários compostos que precisam ser purificados para separar o material desejado de fuligem

e resíduos metálicos, apresentando rendimento por volta de 25% (RODRIGUES, 2011).

Os dois eletrodos de grafite devem ser mantidos a uma distância de cerca de 1 mm, para que haja formação de um plasma entre eles durante a passagem da corrente, região onde a temperatura é muito alta. O grafite é então sublimado do eletrodo positivo (ânodo) e é depositado no catodo ou nas paredes da câmara. São nestes depósitos que os nanotubos são encontrados.

Para se evitar flutuações no plasma, é necessário que a distância entre os eletrodos seja mantida constante, e como o ânodo vai se desgastando, diminuindo seu tamanho durante o processo, este deve se movimentar durante todo o tempo no sentido do catodo.

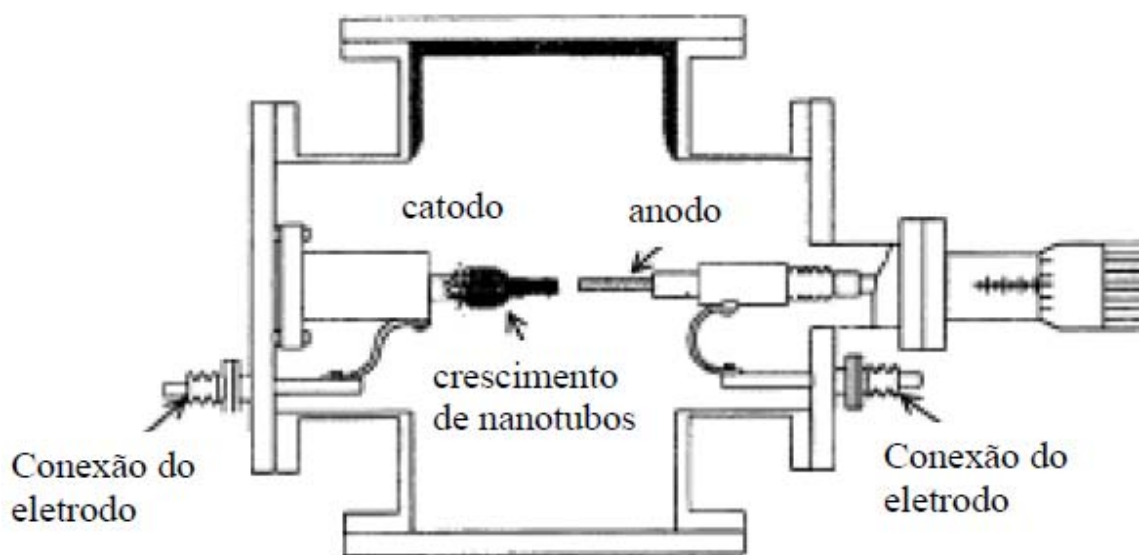


FIGURA 7: Esquema da formação de nanotubos de carbono pelo método de Descarga de Arco. **Fonte:** THOSTENSON; RENB; CHOUA, 2001.

Na síntese por Ablação a Laser (**FIGURA 8**), altas temperaturas são obtidas pela irradiação de laser sobre um bastão de grafite contendo partículas metálicas apropriadas (Ferro, Cobalto, ou Níquel) levando a formação dos nanotubos, da mesma forma que na de Descarga de Arco (CAPEK, 2009).

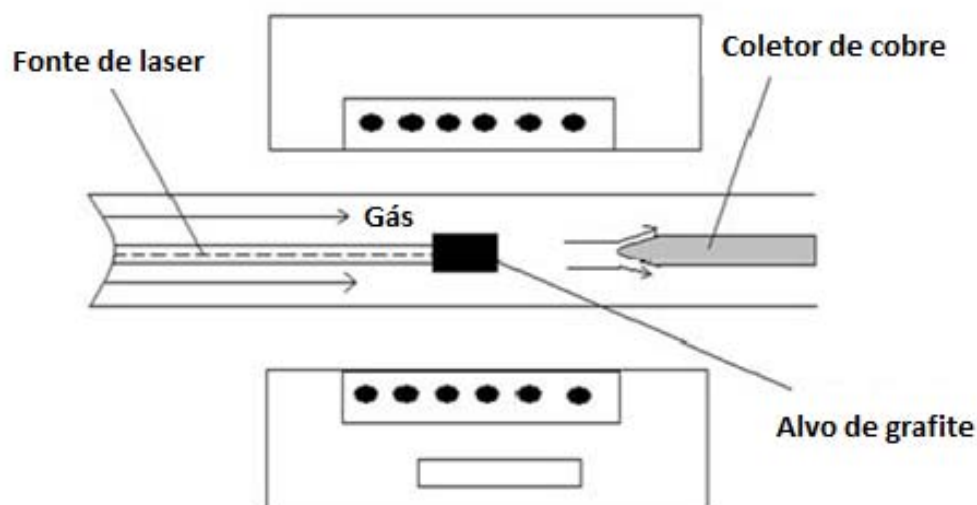


FIGURA 8: Esquema da formação de nanotubos de carbono pelo método de Ablação a Laser. **Fonte:** HIRLEKAR *et al.*, 2009.

Essa técnica é baseada na vaporização do carbono a partir da superfície de um bastão de grafite, com um diâmetro de aproximadamente 1,25 cm, em um fluxo de hélio ou de argônio, com uma velocidade de 0,2-2 cm/s e uma pressão de 500 torr (RODRIGUES, 2011). Esse processo resulta numa fuligem que é carregada pelo gás injetado e coletada numa superfície resfriada do forno, sendo que o processo ocorre a uma temperatura de 1200°C.

Os nanotubos produzidos por este método são mais puros que os da Descarga por Arco (70-90% de pureza), mas ainda assim restam impurezas que devem ser retiradas através de um processo de purificação, processo este, muito oneroso quando pensamos em produção em larga escala (RODRIGUES, 2011).

Por fim, o método de Deposição Química de Vapor (**FIGURA 9**) consiste na decomposição de compostos de carbono (ex. metano, etano, etileno) sobre substratos contendo metais de transição (ferro, níquel ou cobalto), os quais agem como catalisadores favorecendo o crescimento dos nanotubos (PEŁECH, 2010).

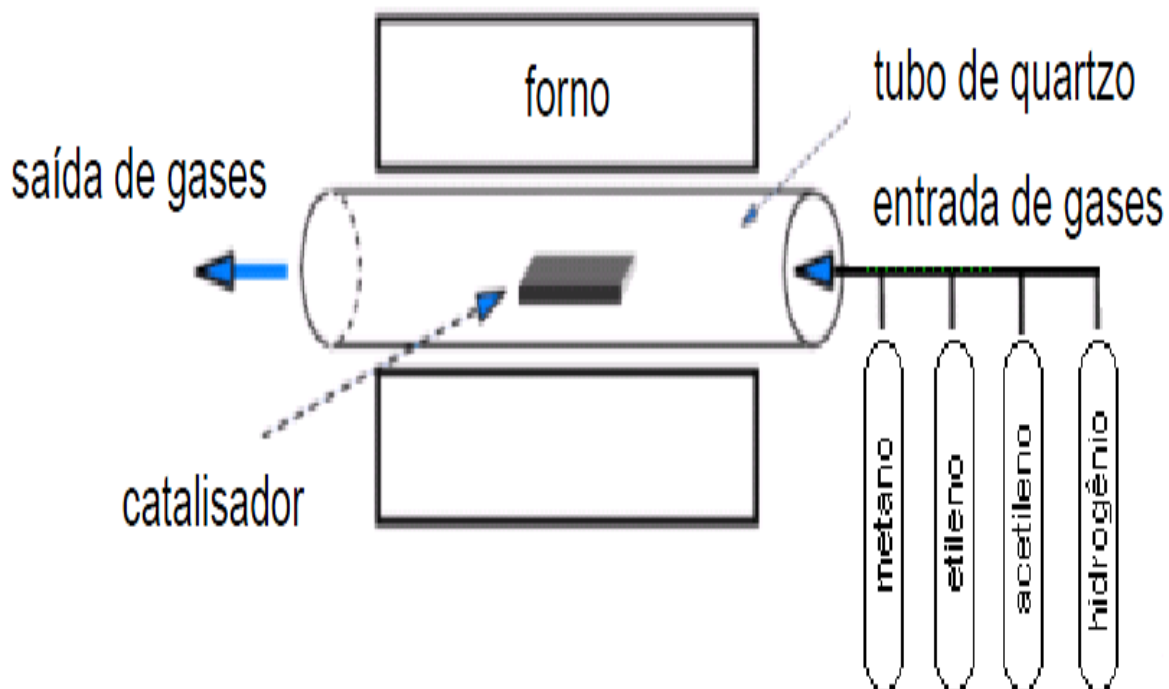


FIGURA 9: Esquema da formação de nanotubos de carbono pelo método de Deposição Química de Vapor. **Fonte:** OLIVEIRA, 2009.

Este é um método que tem um custo mais baixo se comparado aos de Descarga por Arco e de Ablação por Laser, e requer temperaturas mais baixas (500 - 1000°C), possibilitando que os parâmetros são mais facilmente controlados (RODRIGUES, 2011).

A purificação dos nanotubos obtidos por Deposição Química de vapor envolvem basicamente as etapas seguintes etapas (PARK, 2001):

Na primeira etapa ocorre a oxidação térmica, onde os produtos da síntese são colocados em um forno a uma temperatura de aproximadamente 40°C com o objetivo de eliminar o carbono amorfo presente, via uma oxidação preferencial. A segunda etapa tem por objetivo a eliminação do suporte catalítico utilizado no crescimento, e para isso o produto da etapa anterior é colocado em uma solução de HCl. Na terceira etapa ocorrerá a remoção de resíduos, então o produto anterior é filtrado por uma membrana e lavado para se retirar o ácido utilizado e outros resíduos solúveis que possam estar presentes. Esses resíduos são considerados totalmente eliminados quando o pH da solução que passa pelo filtro fique neutro. O produto anterior é então colocado em um forno a 400°C por mais 24 horas, em um fluxo constante de vapor de

água. Isso é feito pra se eliminar partículas de carbono que possam ainda estar presentes. Ocorre uma filtração final, até que se atinja novamente um pH 7 na solução filtrada. Por fim, esta amostra é levada a uma estufa para secar.

No caso dos nanotubos sintetizados por arco elétrico, a purificação pode ser feita por um processo de poucas etapas descritas a seguir (RODRIGUES, 2001):

Primeiramente ocorre a etapa de oxidação. A fuligem é aquecida em um forno a aproximadamente 400 °C para que ocorra a oxidação seletiva dos carbonos amorfos que se encontram recobrimdo partículas metálicas e NTC. O produto da etapa anterior é colocado em uma solução de HCl para se retirar as partículas metálicas. É realizada a filtração até que a solução filtrada se neutralize (pH= 7). Os nanotubos são então levados à estufa para secarem.

2.4.2. Funcionalização de Nanotubos de Carbono

Dependendo da aplicação na qual se pretende utilizar os NTC se torna necessário funcionalizá-los com o objetivo de modificar ou melhorar suas propriedades em busca de efeitos sinérgicos para o compósito obtido. Neste sentido, os materiais obtidos apresentam grande potencialidade para aplicação em sensores e dispositivos eletrônicos. As estruturas quimicamente modificadas obtidas interagem de forma diferenciada com determinadas moléculas alvo, deste modo, podem ser observadas mudanças na reatividade química do material, contribuindo para a seletividade dos dispositivos baseados em nanotubos funcionalizados. Os nanotubos podem ser funcionalizados a partir de interações covalentes ou não covalentes com outros elementos ou compostos químicos. Muitas rotas sintéticas tem sido propostas para modificação covalente da estrutura dos NTCPS, as quais levam a mudanças mais intensas na estrutura deste material (SOUZA FILHO, FAGAN, 2007).

Muitos defeitos são observados na estrutura dos NTC, os mais comuns são defeitos pela presença de átomos intersticiais, átomos ligados em sua superfície, defeitos de abertura na extremidade dos nanotubos (edges), vacâncias, dopantes e presença de pentágonos, heptágonos ou octógonos em sua estrutura (LEHMAN *et al*, 2011). Alguns destes podem promover a funcionalização dos nanotubos, como exemplo pode-se citar a presença de dois pares de anéis de cinco e sete membros, denominado defeito Stone-Wales (**FIGURA 10**), o qual favorece reações de adição na

interface entre os dois anéis de cinco membros devido à forte curvatura introduzida (CAPEK, 2009).

Como a funcionalização não covalente modifica menos intensamente a estrutura de carbonos sp^2 dos NTC, as propriedades consequentes, eletrônicas e mecânicas, não são perdidas (SOUZA FILHO, FAGAN, 2007). Logo, torna-se desejável desenvolver metodologias simples e adequadas para este tipo de funcionalização.

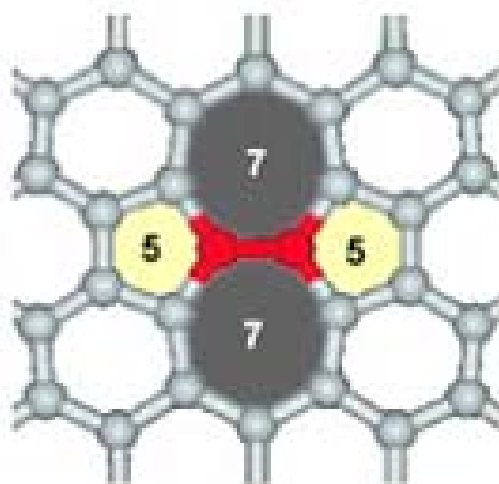


FIGURA 10: Representação esquemática do defeito Stone-Wales. **Fonte:** LEHMAN *et al*, 2011, adaptada.

No desenvolvimento de sensores eletroquímicos é conveniente funcionalizar os NTC com moléculas que atuem como mediadores de transferência eletrônica a fim de promover a eletrocatalise da(s) molécula(s) alvo, como é o caso dos sais de tetracianoquinodimetano (TCNQ).

2.5. Compostos a base de TCNQ como mediadores de transferência eletrônica.

Mediadores de transferência eletrônica são utilizados com o objetivo de aumentar a sensibilidade e seletividade do sistema pelo aumento de corrente e diminuição do sobrepotencial necessário para promover a oxidação ou redução de um analito mediada por sua presença na superfície do eletrodo. Sendo assim, há um aumento na taxa de transferência de elétrons ocorrendo em valores menos positivos ou negativos de potencial, isto é, eletrocatalise.

O modelo que descreve as etapas envolvidas na eletrocatalise não é único, todavia, considerando a superfície do eletrodo modificada quimicamente por uma monocamada, na qual existem compostos que se comportam como mediadores de transferência eletrônica (BARD; FAULKNER, 2001).

Neste sentido, a **FIGURA 11** ilustra as etapas da eletrocatalise em uma modificação em monocamada: a primeira etapa consiste numa reação eletroquímica, a espécie mediadora é reduzida (ou oxidada) na superfície do eletrodo; na segunda etapa ocorre uma reação química de oxirredução entre a espécie gerada inicialmente e o analito, o qual é oxidado (ou reduzido), produzindo outras espécies mediadoras em sua forma reduzida (ou oxidada), as quais reagem eletroquimicamente com a superfície do eletrodo. Caso o mediador em questão tenha alta taxa de transferência eletrônica e seja capaz de reduzir ou oxidar o analito em solução, observa-se considerável aumento no sinal de corrente e uma possível mudança no potencial de oxidação ou redução, logo, a eletrocatalise colabora para a construção de sensores mais sensíveis e seletivos (BARD; FAULKNER, 2001).

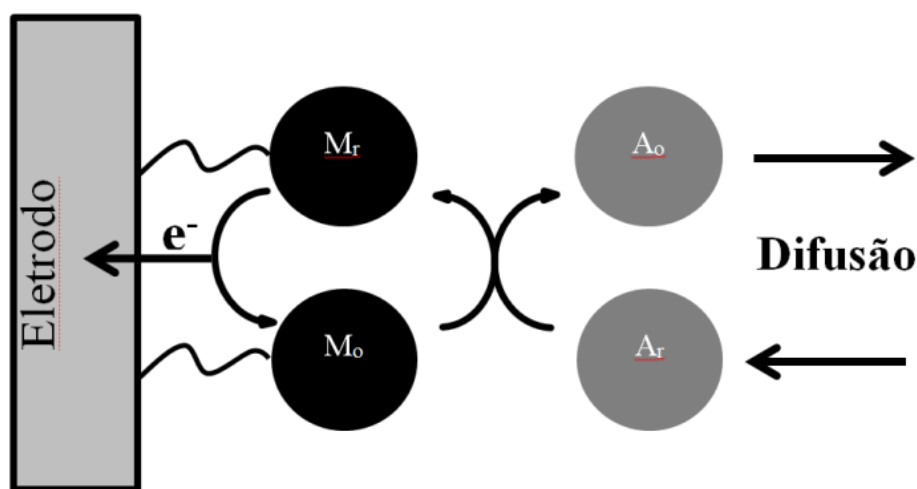


FIGURA 11: Ilustração esquemática para eletrocatalise em uma monocamada.

O complexo tetracianoquinodimetano (**FIGURA 12**) é um forte acceptor de elétrons pela presença de quatro grupos ciano e seu sistema de ligações π conjugadas, o que faz com que se formem reservatórios eletrônicos estáveis devido pequenas mudanças estruturais durante as transições redox do sistema

extensivamente ressonante, favorecendo uma rápida transferência eletrônica (LUZ, 2007).

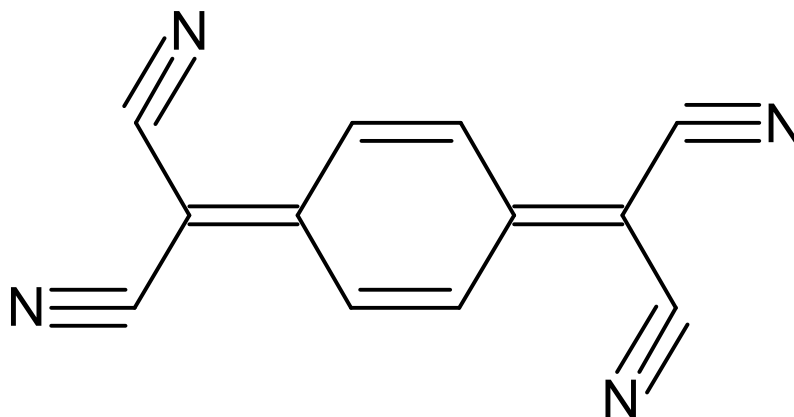


FIGURA 12: Estrutura do tetracianoquinodimetaneto.

Vários trabalhos tem demonstrado a capacidade deste composto em promover eletrocatalise de diversas substâncias tais como NADH (MURTHY, ANITA 1994a), tiocolina (KULYS, D’COSTA, 1991; ROTARIU, ZAMFIR, BALA, 2012), glutathione (CALVO–MARZAL *et al*, 2006) e ácido ascórbico (MURTHY, ANITA 1994b), este último evidencia a possibilidade da superação com respeito à interferência da resposta de corrente do AA sobre a do AU.

O principal obstáculo encontrado para o uso destes sensores é a alta solubilidade que este composto apresenta em água, como consequência estes apresentam baixa reprodutibilidade.

Com o objetivo de minimizar os problemas causados por sua solubilidade pode-se utilizar sais deste complexo que sejam menos solúveis, tais como o bis(tetracianoquinodimetaneto) de bis(fenantrolina) de cobre (II).

Tal composto foi utilizado em conjunto com o polímero poli-L-lisina para modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo gerando um sensor altamente sensível e reprodutível para catecol (LUZ, 2006). Outra possibilidade consiste na utilização do composto bis(tetracianoquinodimetaneto) de tris(fenantrolina) de cobre (II), $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$, (**FIGURA 13**).

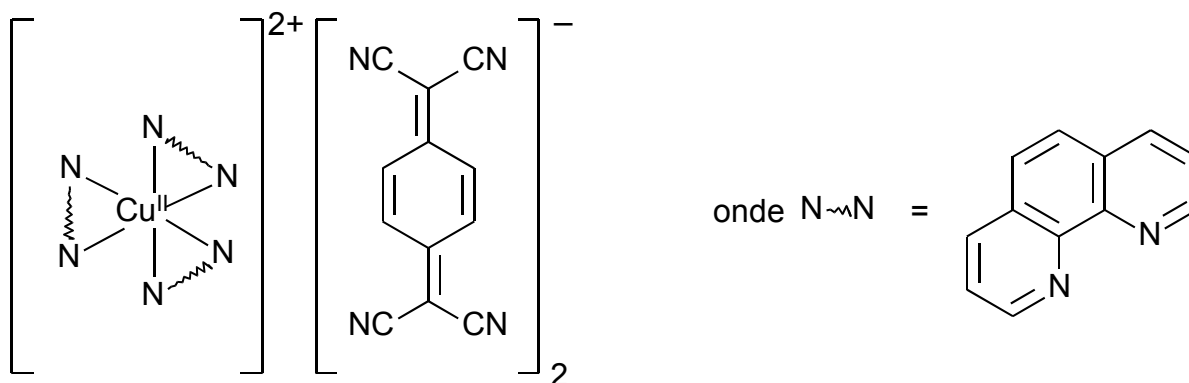


FIGURA 13: Estrutura do composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$.

Recentemente, nanotubos de carbono em conjunto com o TCNQ foram utilizados com o objetivo de construir um biossensor para pesticidas organofosforados. Em tal estudo foi observado o efeito sinérgico da interação entre os nanotubos e o tetracianoquinodimetano (ROTARIU, ZAMFIR, BALA, 2012).

2.6. Sensores eletroquímicos para determinação de Epinefrina e Ácido Úrico

Devido às diversas doenças associadas às variações nos níveis de epinefrina e de ácido úrico no organismo humano, bem como ao fato destas substâncias coexistirem nos fluidos biológicos, a determinação simultânea destas moléculas desperta um grande interesse tanto na área da química biomédica quanto nas pesquisas patológicas e de diagnósticos.

Neste sentido, dentre as várias técnicas empregadas para a análise simultânea de EP e AU, os métodos eletroquímicos têm recebido grande destaque devido às vantagens que apresentam, tais como o baixo custo, alta sensibilidade e seletividade, rapidez de análise e facilidade de operação. No entanto, um grande problema associado à detecção eletroquímica simultânea destas espécies consiste na interferência que uma substância promove na outra, uma vez que elas apresentam potenciais de oxidação muito próximos, impossibilitando, assim, uma detecção seletiva.

Métodos eletroanalíticos utilizando eletrodos quimicamente modificados (EQM) têm possibilitado a realização de análises com maior seletividade e sensibilidade, o que possibilita sua aplicação para determinar simultaneamente EP e AU. Neste contexto, serão descritos, a seguir, alguns trabalhos presentes na literatura

envolvendo o emprego de EQM para determinação simultânea destas substâncias através da técnica de Voltametria de Pulso Diferencial.

Mazloum-Ardakani e colaboradores (2011) realizaram a determinação simultânea de AU e EP através da modificação de um eletrodo de ouro modificado com um monocamada auto-organizada de 2-(2,3-di- hidroxifenil)-1, 3-ditiano. Assim, obteve-se uma faixa linear de resposta de 170 a 470 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,995$, $n=6$) para EP e de 70 a 750 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,998$, $n=6$) para o AU. O eletrodo proposto foi então utilizado para determinação de epinefrina em medicamentos injetáveis.

Shahrokhian e Khafaji (2010) utilizaram um eletrodo de grafite pirolítico modificado com nano-diamantes para determinação simultânea de EP e AU na presença de AA. As faixas lineares de resposta para EP e AU foram de 0,01 a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r=0,999$, $n=9$) e 0,01 a 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r=0,999$, $n=9$), respectivamente, obtendo-se um limite de detecção de 3 nmol L^{-1} para ambos os analitos. O sensor foi utilizado para determinação de epinefrina em sangue, urina e ampola de medicamentos.

Beitollahi e colaboradores (2008) descreveram a utilização de um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono de paredes duplas e EBNBH (2,2'-[1,2-ethanediylbis(nitriloethylidyne)]-bishydroquinone) para determinação simultânea de epinefrina, ácido úrico e ácido fólico, as faixas lineares de trabalho foram de 10 a 450 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ($r=0,9989$, $n=10$), 15 a 450 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r=0,9982$, $n=10$) e 35 a 275 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,9996$, $n=10$), respectivamente. O sensor proposto apresentou limites de detecção de 0,216 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a epinefrina, 8,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o ácido úrico e 11 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ para o ácido fólico, sendo aplicado em amostras de sangue humano.

Chandrashekar e colaboradores (2012) descrevem a determinação simultânea de EP e AU utilizando um eletrodo de pasta de carbono com filme de 1-butil-4-metil-piridina tetrafluorborato. A faixa linear de resposta para determinação de EP foi de 50 a 450 $\mu\text{mol L}^{-1}$, mantendo-se a concentração de AU constante em 0,5 mmol L^{-1} . O sensor foi usado para determinação de epinefrina em ampolas de medicamento.

Ni e colaboradores (2010) relataram a utilização de um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme de dupla camada hidróxido de zinco e alumínio para determinação simultânea de AU e EP. O sensor proposto apresentou faixas lineares de trabalho de 3,99 a 137 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ($r=0,9840$, $n=10$) para a EP e 9,98 a 159 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ($r=0,9860$, $n=10$) para o AU. O sensor foi aplicado para determinação de AU em urina e de EP em amostras de medicamentos.

Pelo exposto, observa-se que muitos dos sistemas desenvolvidos não permitem a detecção das espécies analisadas com baixos limites de detecção e ampla faixa de resposta linear, sendo este último muito importante para a determinação de substâncias em baixas concentrações, sendo assim, a utilização de novas moléculas se faz necessário com o intuito de atingir tais características. Para isso, é necessário que estas substâncias apresentem propriedades que justifiquem sua utilização no desenvolvimento de sensores químicos para então serem aplicados em amostras de interesse. Neste sentido, o composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ destaca-se por apresentar propriedades físico-químicas interessantes as quais podem possibilitar suas aplicações na área de desenvolvimento de sensores eletroquímicos.

OBJETIVOS

3.0. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver um sensor sensível e seletivo para determinação de ácido úrico e epinefrina na presença de ácido ascórbico empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados com o composto bis(tetracianoquinodimetaneto) de tris(fenantrolina) de Cobre(II), $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$.

3.2. Objetivos específicos

- Funcionalizar os nanotubos de carbono com o complexo $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$;
- Caracterizar os nanotubos não funcionalizados (NTCPM), o complexo $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ e o compósito formado pela funcionalização dos nanotubos ($\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$) por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica;
- Verificar esta funcionalização por meio de experimentos de natureza eletroquímica;
- Modificar a superfície do eletrodo de carbono vítreo utilizando os nanotubos funcionalizados;
- Verificar a resposta do eletrodo modificado frente aos compostos ácido úrico, ácido ascórbico e epinefrina;
- Estudar a cinética de transferência de elétrons do sistema proposto;
- Observar a variação da resposta de corrente frente às condições experimentais, tais como concentração do composto, concentração de nanotubos, pH e tipo de tampão utilizado;
- Observar a variação da resposta de corrente frente às condições operacionais de amplitude e velocidade para a técnica de Voltametria de Pulso Diferencial;
- Construir curva analíticas para determinação do ácido úrico e epinefrina na presença de ácido ascórbico após otimização dos parâmetros operacionais e

experimentais a partir do sensor em sua condição mais sensível e seletiva e aplicar o sensor em amostra de urina.

MATERIAIS E MÉTODOS

4.0. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes e Soluções

NTCPM (pureza >90%, 110-170 nm de diâmetro, 5-9 µm de comprimento) e epinefrina comprados da Sigma-Aldrich®. A síntese e caracterização do composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ foi realizada de acordo com a literatura (MELBY *et al*, 1962; SCHWARTZ, HATFIELD, 1987). Tris(hidroximetil)amino-metano (Tris), ácido clorídrico, hidróxido de sódio, hidrogenofosfato de sódio, ácido úrico e ácido ascórbico foram adquiridos da Vetec.

Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico e suas soluções preparadas em água purificada pelo sistema Ultrapurificador de água PURELAB Classic DI Belga.

4.2. Instrumentação

Todas as medidas por Voltametria Cíclica (VC) e Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) foram realizadas utilizando-se um potenciostato PGSTAT 101 da Autolab acoplado a um microcomputador contendo o software NOVA 1.7. Uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos foi utilizada, sendo o eletrodo de trabalho (ET), um de carbono vítreo (ECV), de área 0,031 cm², o eletrodo auxiliar (EA), um fio de ouro e o eletrodo de referência (ER), um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3 mol/L) (**FIGURA 14**).

Os estudos de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) foram feitos em um Potenciostato Modelo 128 N da Autolab contendo os softwares GPES 4.9 e FRA 4.9 (**FIGURA 15 (A)**) e os de Voltametria Hidrodinâmica Linear (VHL) foram realizados por meio do Rotatório Modelo AFMSRCE (PINE) acoplado a este (**FIGURA 15 (B)**).

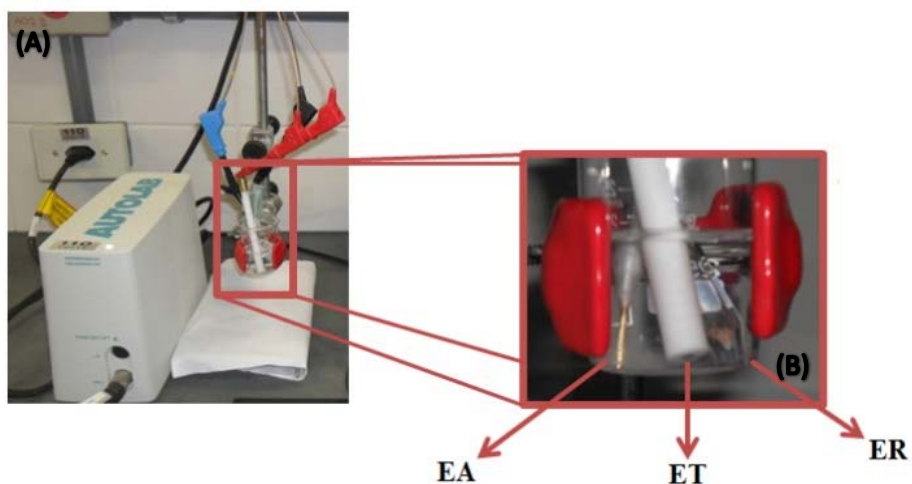


FIGURA 14: Potenciostato PGSTAT 101 e célula eletroquímica (A); Célula eletroquímica convencional (B) com ECV (ET), fio de ouro (EA) e eletrodo de Ag/AgCl (ER).



FIGURA 15: Potenciostato 128 N da Autolab (A); Aparato para realização da Voltametria Hidrodinâmica de Varredura Linear (B): célula eletroquímica (a), motor de rotação (b) e controlador de rotação (c).

Os estudos de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) foram feitos em um Espectrofotômetro FT-IR VARIAN, modelo 640 IR (**FIGURA 16**).



Figura 16: Espectrofotômetro FT-IR VARIAN, modelo 640 IR.

A morfologia das superfícies dos materiais sintetizados e modificados foram analisadas por imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um microscópio eletrônico de varredura TESCAN, modelo VEGA 3 LM (**FIGURA 17**).



FIGURA 17: Microscópio Eletrônico de Varredura TESCAN, modelo VEGA 3 LM.

4.3. Funcionalização dos Nanotubos de Carbono

Para a funcionalização dos NTCPM foi preparada uma dispersão de 0,6 g/L de $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ em Dimetilsulfóxido (DMSO) a qual foi mantida sob temperatura ambiente durante 72 horas. Em seguida, a dispersão preparada foi lavada e filtrada à vácuo. O material obtido foi seco em estufa durante 12 horas sob 40 °C e estocado para posterior utilização.

4.4. Preparação do ECV modificado

Antes da modificação, a superfície do ECV foi polida utilizando uma dispersão de alumina, sendo a mesma lavada com água destilada e seca. Para a modificação foram adicionados na superfície do eletrodo 5 μL de uma dispersão 3 mg/mL do composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em água destilada. Em seguida, o eletrodo foi seco em estufa à 40 °C durante 15 minutos. Outras modificações foram realizadas,

nas quais o ECV foi modificado apenas com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$, adicionando em sua superfície 5 μL de uma dispersão 1 mg/mL deste composto em água destilada, e modificado apenas com NTCPM (ECV/NTCPM) pela adição de 5 μL de uma dispersão 3 mg/mL dos nanotubos em água destilada.

4.5. Aplicação do sensor em amostras de urina

Foram utilizadas adições de 50 e 75 μL de amostra de urina humana para 10 mL de eletrólito. As amostras foram fortificadas com 100 e 140 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de epinefrina e as medidas foram feitas na presença de ácido ascórbico 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização morfológica e espectroscópica dos materiais NTCPM, $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ e $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$

Medidas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas com a finalidade de analisar a morfologia e a composição dos nanotubos de carbono modificados e não modificados com o complexo bis-tetracianoquinodimetaneto de trifenantrolina de cobre (II) ($\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$). As imagens de MEV dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) obtidas antes e após a modificação com ($\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$) (**FIGURA 18 (A) e (B)**), indicaram que as moléculas de $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ estão distribuídas sobre os nanotubos de carbono sem a formação de grandes agregados destes últimos sobre os nanotubos de carbono. Adicionalmente, a imagem de MEV para $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (**FIGURA 18(C)**) evidencia que a ausência dos nanotubos de carbono resultou na formação de materiais lamelares.

Adicionalmente, os NTCPM, o $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$, bem como o compósito $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ foram caracterizados por espectroscopia vibracional no infravermelho por Transformada de Fourier, FT-IR (**FIGURA 19 (A), (B) e (C)**). A **FIGURA 19 (A)** mostra o espectro de FT-IR para os NTCPM, os quais possuem uma banda larga em 3445 cm^{-1} atribuído ao estiramento dos grupos carboxila sobre a superfície dos nanotubos de carbono ($\text{O}=\text{C}-\text{OH}$ e $\text{C}-\text{OH}$) e ao estiramento dos grupos hidroxila livres dos NTCPM (ABUILAIWIL et al., 2010; SALEH, GUPTA, 2011). O pico em 2362 cm^{-1} pode ser atribuído ao estiramento O-H do hidrogênio fortemente ligado dos grupos $-\text{COOH}$ (DAVIS et al., 1999). Uma banda no espectro com máximo em 2867 cm^{-1} foi observada e pode ser atribuída aos modos de estiramento de H-C do grupo $\text{H}-\text{C}=\text{O}$ presente nos grupos carboxila (GOYANES et al., 2007; DHAND et al., 2008; SALEH, GUPTA, 2011; CUI et al., 2004).

O espectro de FT-IR apresentado na **FIGURA 19 (B)** representa a varredura para o $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ e apresenta uma banda em 1629 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ aromáticos e outro em 1421 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ de

grupos laterais. Além disso, são observadas bandas em 880 e 719 cm^{-1} , que são características de dobramento CH(CD) (TAKENAKA, 1969).

A funcionalização dos nanotubos de carbono para a formação do compósito $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ é evidenciada pelo aparecimento na **FIGURA 19 (C)** de todas as bandas características citadas acima.

A **FIGURA 20** mostra os espectros de impedância eletroquímica para os nanotubos, os nanotubos funcionalizados com o complexo e para o complexo. Os resultados mostram que as maiores resistências a transferência de carga são obtidas com o complexo $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (7,385 $\text{K}\Omega$) e com o eletrodo não modificado (41,438 $\text{K}\Omega$) e que há uma diminuição significativa da resistência à transferência de carga quando são utilizados apenas os nanotubos de carbono (0,397 $\text{K}\Omega$) e o compósito produzido (0,485 $\text{K}\Omega$).

A pequena diferença entre a resistência do eletrodo modificado com os nanotubos de carbono e com o compósito deve-se, provavelmente, a diminuição de carbonos sp^2 na estrutura dos nanotubos quando estes interagem com o complexo para formação do $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$.

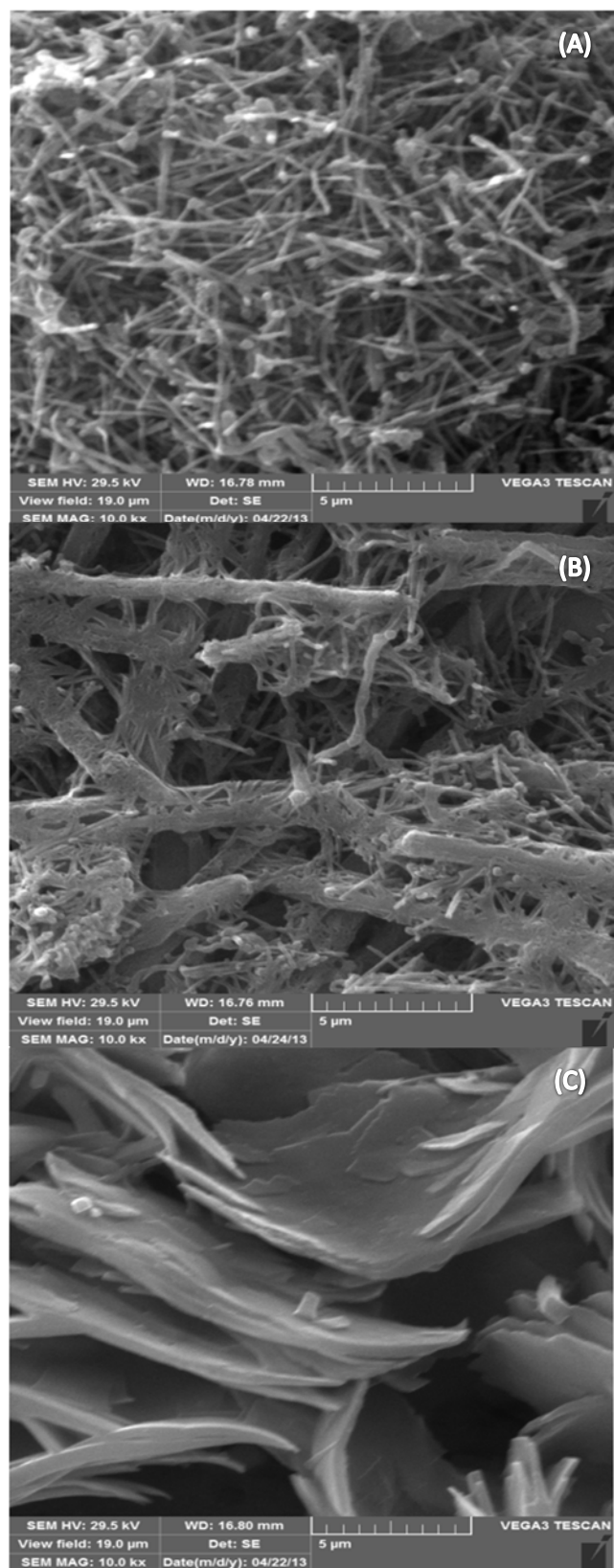


FIGURA 18. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura de (A) NTCPM, (B) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ e (C) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ sobre substrato sólido.

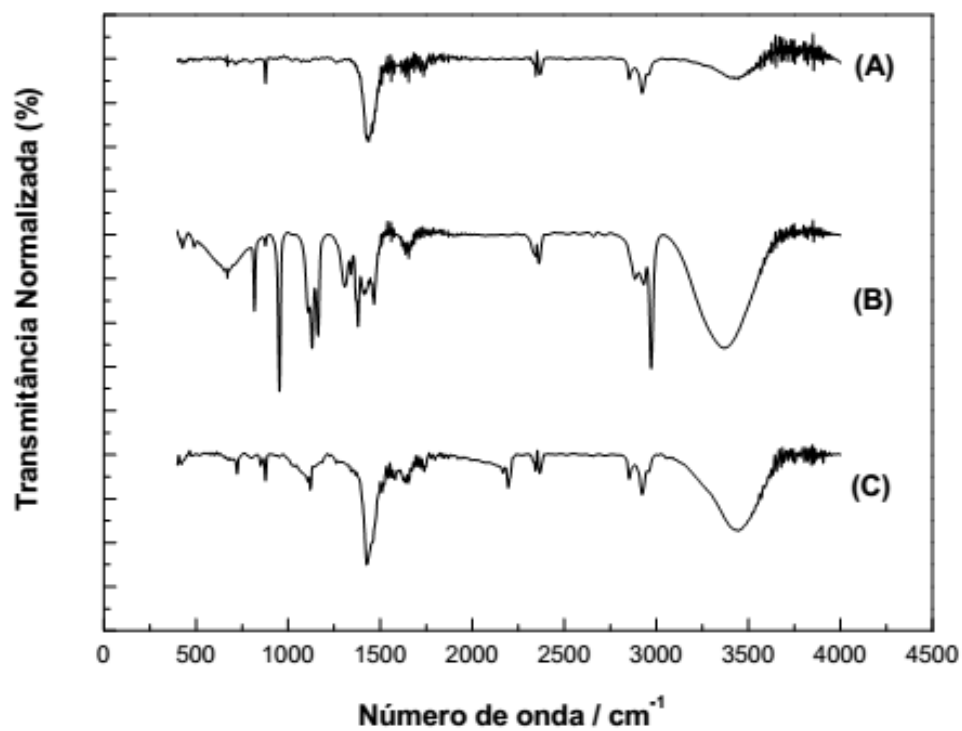


FIGURA 19: Espectro FT-IR para (A) NTCPM, (B) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ e (C) $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$.

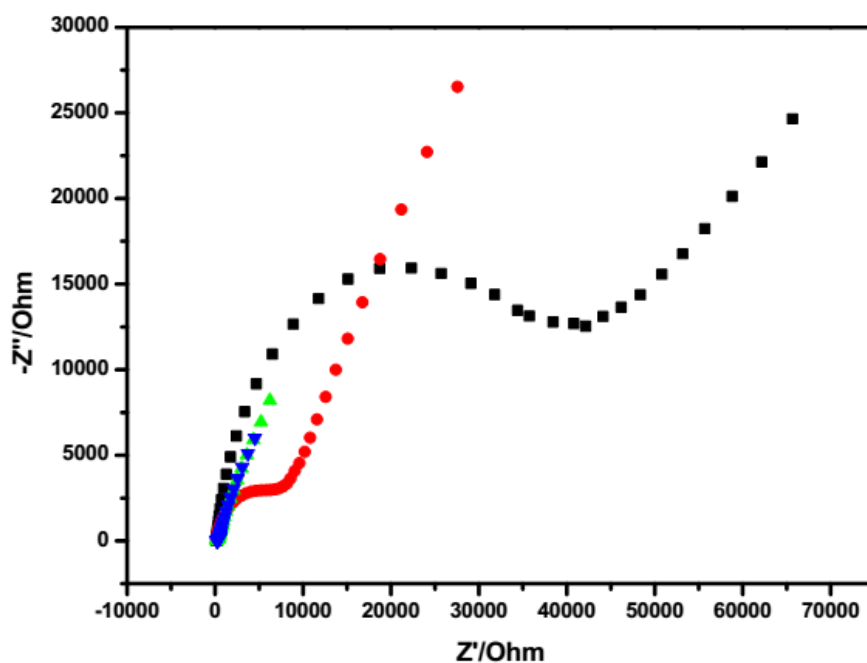


FIGURA 20: Diagrama de Nyquist obtidos por Impedância Eletroquímica para o ECV não modificado (preto) e modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (vermelho), NTCPM (verde) e $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ (azul).

5.2. Comportamento eletroquímico do ECV modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$.

A partir dos voltamogramas cíclicos obtidos para o ECV modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ foi possível confirmar a funcionalização do eletrodo pela presença dos processos redox em cerca de -600 mV e cerca de 0 e -200 mV, os quais, provavelmente, estão relacionados à oxidação e redução da fenantrolina de cobre (II) e do TCNQ (BANO *et al*, 2011), respectivamente (**FIGURA 21**). Neste sentido, estudou-se, inicialmente, a estabilidade do compósito a qual foi avaliada a partir da varredura de potencial de -800 a 800 mV de forma que após 20 ciclos consecutivos os valores de corrente não variaram consideravelmente. Para os últimos cinco ciclos o valor de desvio obtido para o par redox atribuído ao TCNQ foi de 1,35%, já para o par redox atribuído à 1,10-fenantrolina de cobre (II) este valor foi de 1,69%, sugerindo uma boa estabilidade para o eletrodo modificado.

Estudos empregando a variação da velocidade de varredura foram realizados com respeito ao par redox cujos picos foram observados em 0 e -200 mV, pois a atividade catalítica do sistema utilizado foi relacionada à presença do TCNQ na estrutura dos nanotubos.

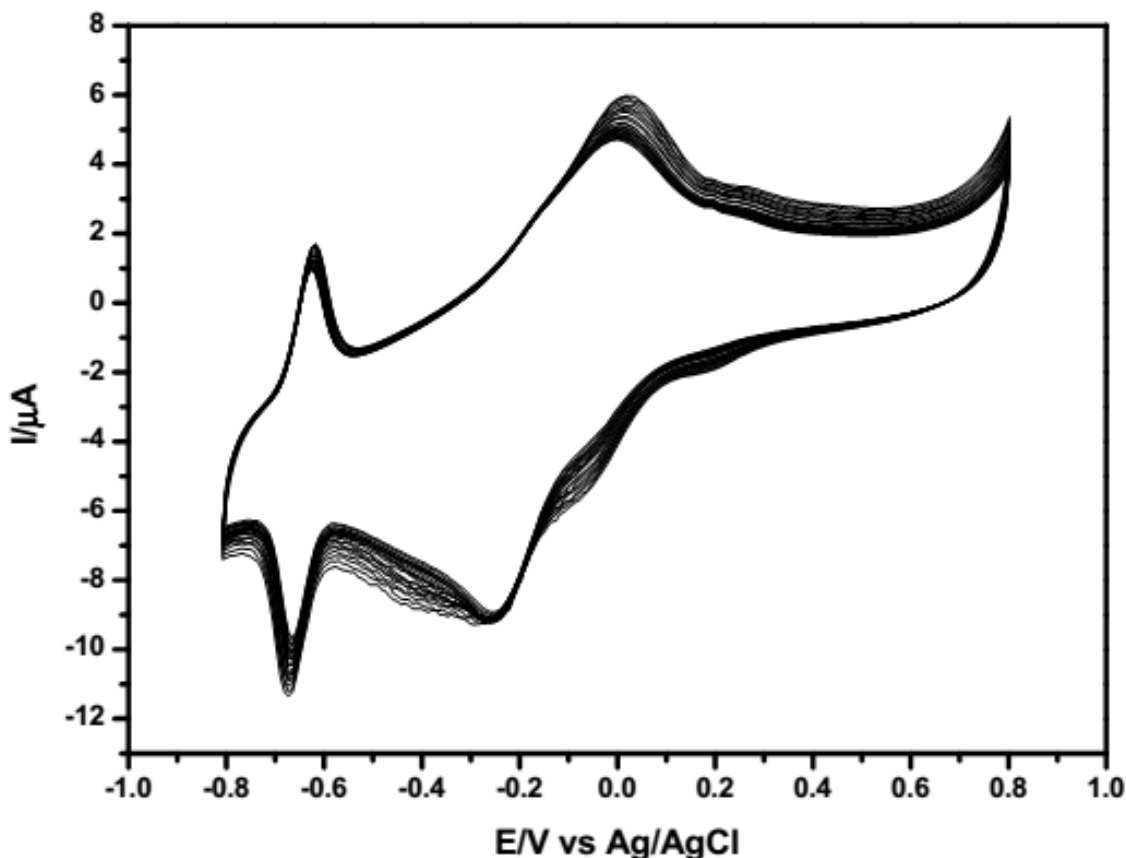


FIGURA 21. Voltamograma cíclico para o ECV modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,00. Velocidade de varredura de 20 mV/s.

Ao variar a velocidade de varredura a fim de se verificar o comportamento eletroquímico do sensor, observou-se uma relação linear entre a corrente e a velocidade de varredura para a faixa de 10 – 200 mV/s (**FIGURA 22 (A)**), o que é característico de um processo adsorptivo ou de um processo redox confinado na superfície do eletrodo, a figura inserida mostra os voltamogramas referentes a este estudo. Já a **FIGURA 22 (B)** mostra que para velocidades de varredura mais altas (250–1000 mV/s) uma relação linear foi obtida entre a corrente e a raiz quadrada da velocidade, o que é característico de um processo controlado por difusão, a qual se refere ao movimento de contra íons pelo filme para manter a eletroneutralidade do sistema.

Em altas velocidades de varredura foi observada uma maior diferença entre os potenciais de pico, anódico e catódico, e o potencial formal, o qual pode ser obtido através da equação (1). Esta diferença entre os potenciais ($\Delta E = E_p - E^0$) foi maior

que 200 mV/n, onde n é o número de elétrons envolvidos, logo, através da teoria de Laviron (LAVIRON, 1979) foi possível calcular os coeficientes de transferência de carga catódico e anódico (α_c e α_a , respectivamente) e a constante heterogênea aparente de transferência de carga (k_s).

$$E^0 = E_{pa} - \alpha(E_{pa} - E_{pc}) \quad (1)$$

onde E^0 é o potencial formal, E_{pa} o potencial de pico anódico, E_{pc} o potencial de pico catódico e α o coeficiente de transferência de carga.

Os parâmetros α_c , α_a e k_s foram calculados através do gráfico de ΔE em função do logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$) (**FIGURA 23 (A)**). Em altas velocidades foram obtidas relações lineares entre ΔE e $\log v$ (**FIGURA 23 (B)**), sendo que para o pico anódico o coeficiente angular é dado pela equação (2) e para o pico catódico o coeficiente angular é dado pela equação (3).

$$\text{coef. angular} = 2,303RT/\alpha_a nF \quad (2)$$

$$\text{coef. angular} = -2,303RT/\alpha_c nF \quad (3)$$

onde R é a constante dos gases, T a temperatura, n o número de elétrons envolvidos, F a constante de Faraday e α o coeficiente de transferência de carga.

Os valores obtidos para α_c e α_a foram respectivamente 0,41 e 0,58 demonstrando que a barreira de energia a ser vencida para que ocorra a oxidação é menor se comparada à redução. Nos estudos subsequentes o valor médio de 0,5 foi utilizado. Desta forma, k_s foi calculada de acordo com a equação 4 e obteve-se um valor de 2,9 s⁻¹ para k_s .

$$\log k_s = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log \alpha - \log \left(\frac{RT}{nFv} \right) - \alpha(1 - \alpha)nF \left(\frac{\Delta E}{2,3RT} \right) \quad (4)$$

onde os símbolos utilizados possuem o mesmo significado atribuído anteriormente.

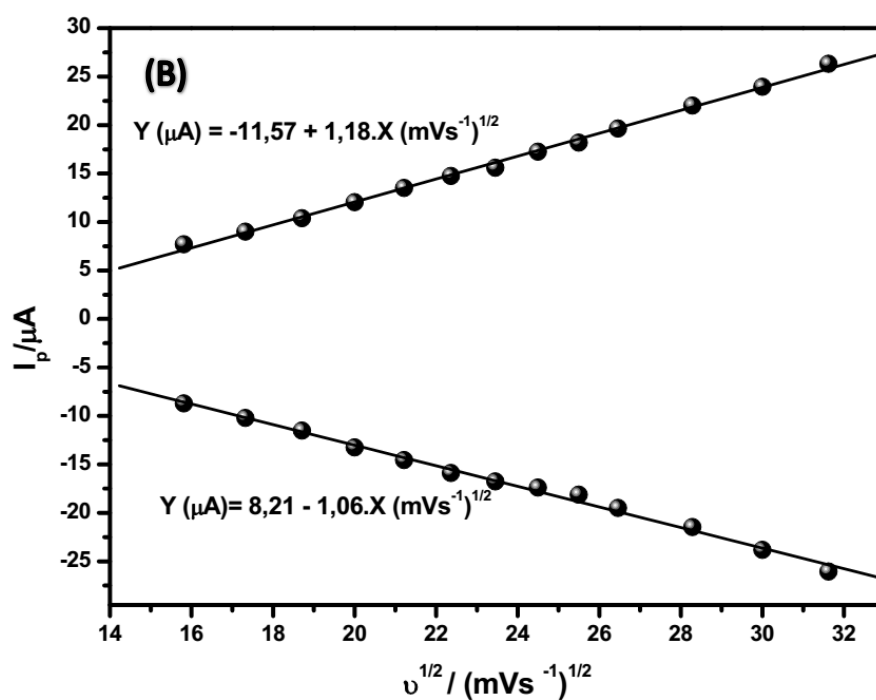
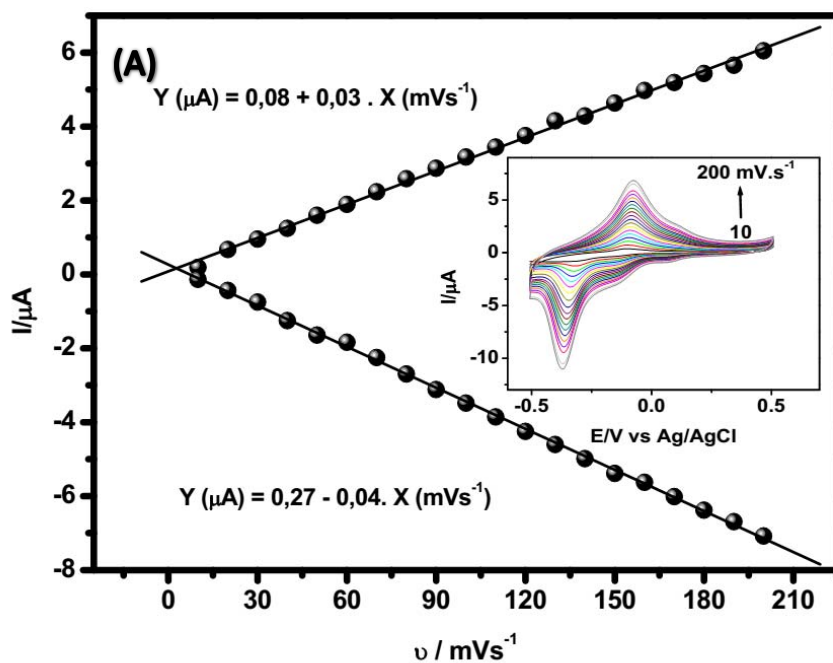


FIGURA 22: Relação entre a as correntes de pico anódicas e catódicas e a velocidade de varredura para o intervalo 10–200 mV/s e voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura (10–200 mV/s) para o $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,00 (A). Relação entre as correntes de pico anódicas e catódicas e a raiz quadrada da velocidade de varredura para o intervalo 250–1000 mV/s (B).

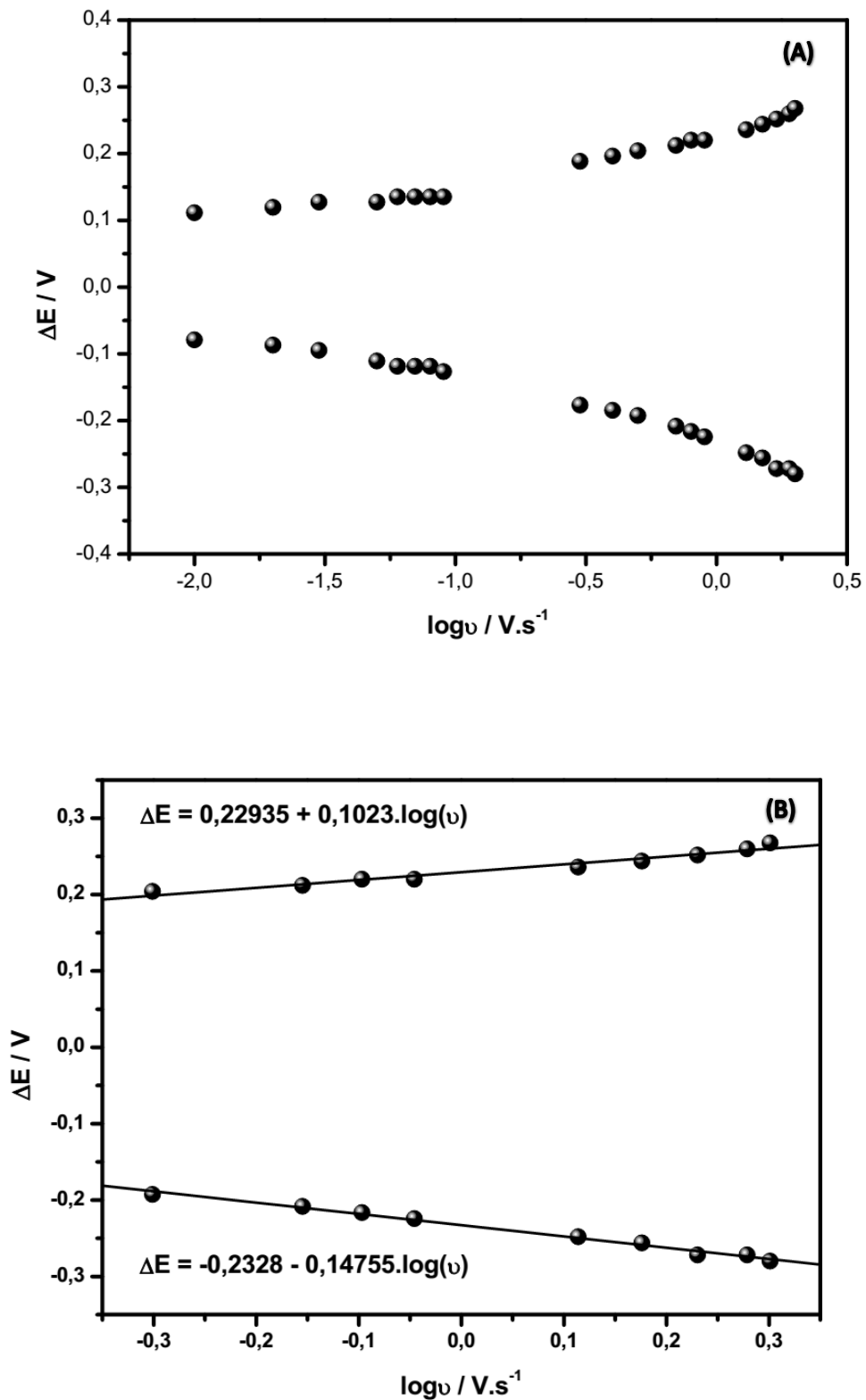


FIGURA 23: ΔE em função de $\log v$ para as velocidades de varredura analisadas 10–2000 mV/s **(A)**; ΔE em função de $\log v$ para altas velocidades de varredura 500–2000 mV/s **(B)**.

5.3. Área efetiva do ECV modificado com Cu(phen)₃(TCNQ)₂/NTCPM

Com a finalidade de se calcular a área efetiva do ECV modificado com Cu(phen)₃(TCNQ)₂/NTCPM obteve-se voltamogramas cíclicos em uma solução de KCl contendo ferricianeto de potássio 1 mmol L⁻¹ em diversas velocidades de varredura.

A partir dos voltamogramas construiu-se um gráfico de corrente em função da raiz quadrada da velocidade (**FIGURA 24**) e observou-se uma relação linear entre os dois parâmetros, tanto para as correntes anódicas quanto para as catódicas, de forma que a média dos coeficientes angulares foi utilizada para o cálculo da área efetiva do eletrodo. Para processos reversíveis controlados pelo transporte de massa a corrente segue a *equação de Randles-Sevcik* (equação 5) (WANG, 2001), sendo possível estimar a área efetiva do eletrodo modificado utilizando um composto cujo comportamento eletroquímico seja bem conhecido.

$$i_p = (2,69 \times 10^5)n^{3/2}ACD^{1/2}v^{1/2} \quad (5)$$

onde C é a concentração da espécie eletroativa, D a constante de difusão e os demais símbolos possuem os mesmos significados descritos anteriormente.

O valor encontrado foi de 0,092 cm², sendo observado um aumento na área ativa do eletrodo de aproximadamente três vezes (0,032 → 0,092 cm²) contribuindo assim para a sensibilidade do sistema. A partir deste valor de área em conjunto da média dos coeficientes angulares obtidos da relação entre corrente de pico em função da velocidade de varredura a baixas velocidades, mostrados na **FIGURA 22 (A)**, foi possível calcular a concentração de espécies eletroativas na superfície do ECV modificado com Cu(phen)₃(TCNQ)₂/NTCPM de acordo com a equação (6) (WANG, 2001):

$$i_p = n^2F^2\Gamma Av/4RT \quad (6)$$

Onde Γ representa a concentração superficial de espécies eletroativas e os demais símbolos utilizados possuem os mesmos significados atribuídos anteriormente.

Desta forma, foi encontrado o valor de $3,89 \cdot 10^{-10} \text{ mol/cm}^2$ para Γ .

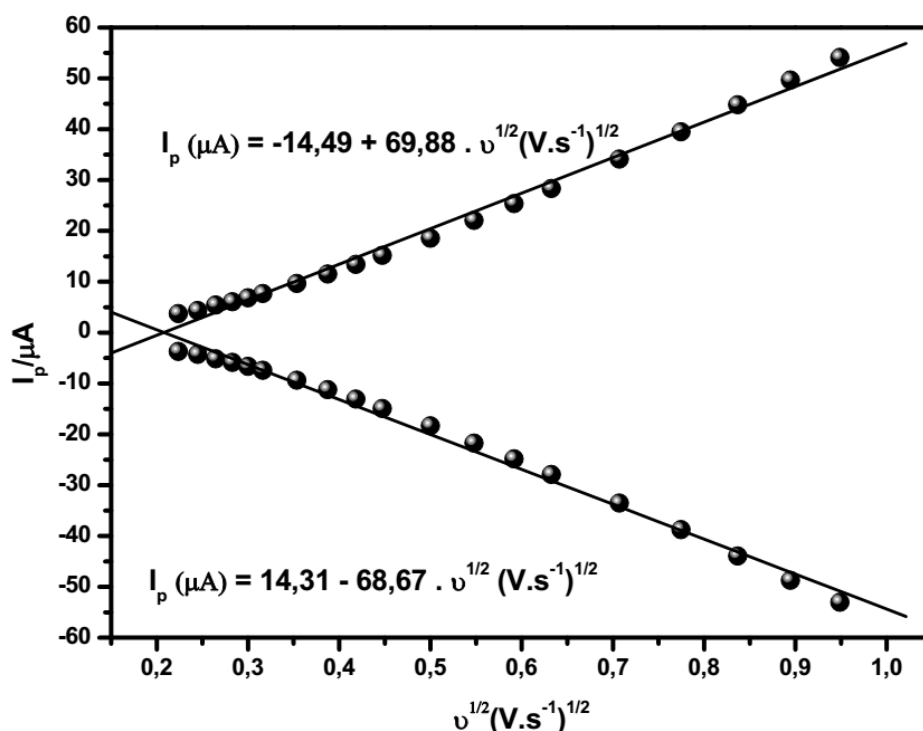


FIGURA 24: Gráfico da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura. Voltamogramas realizados utilizando o eletrodo modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em solução de KCl contendo 1 mmol L^{-1} de ferricianeto de potássio.

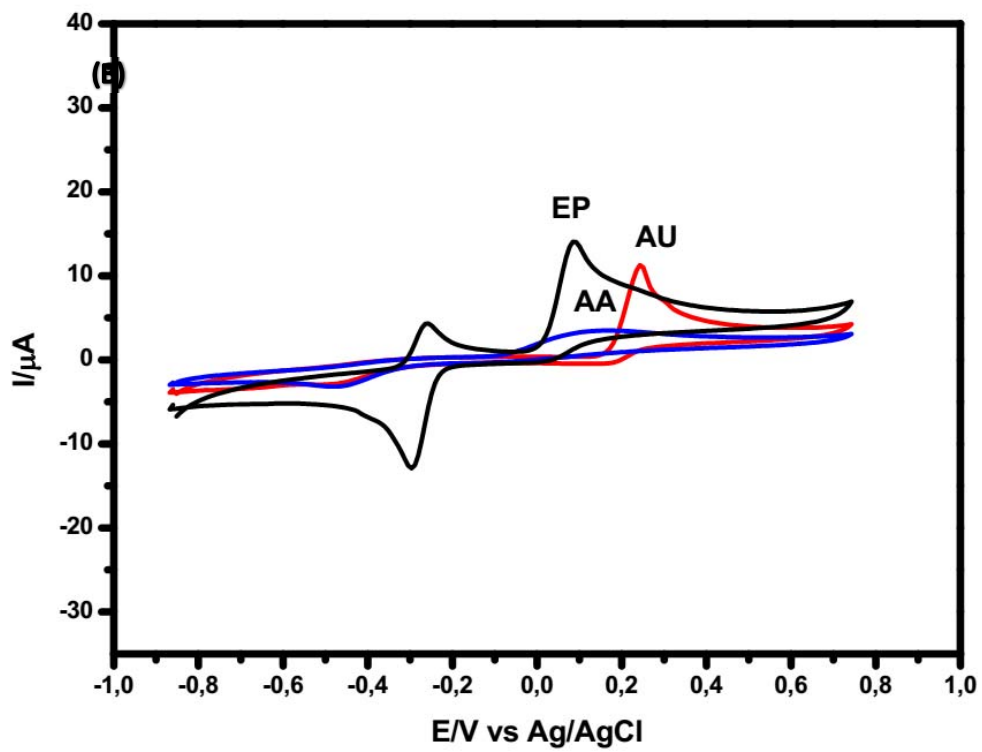
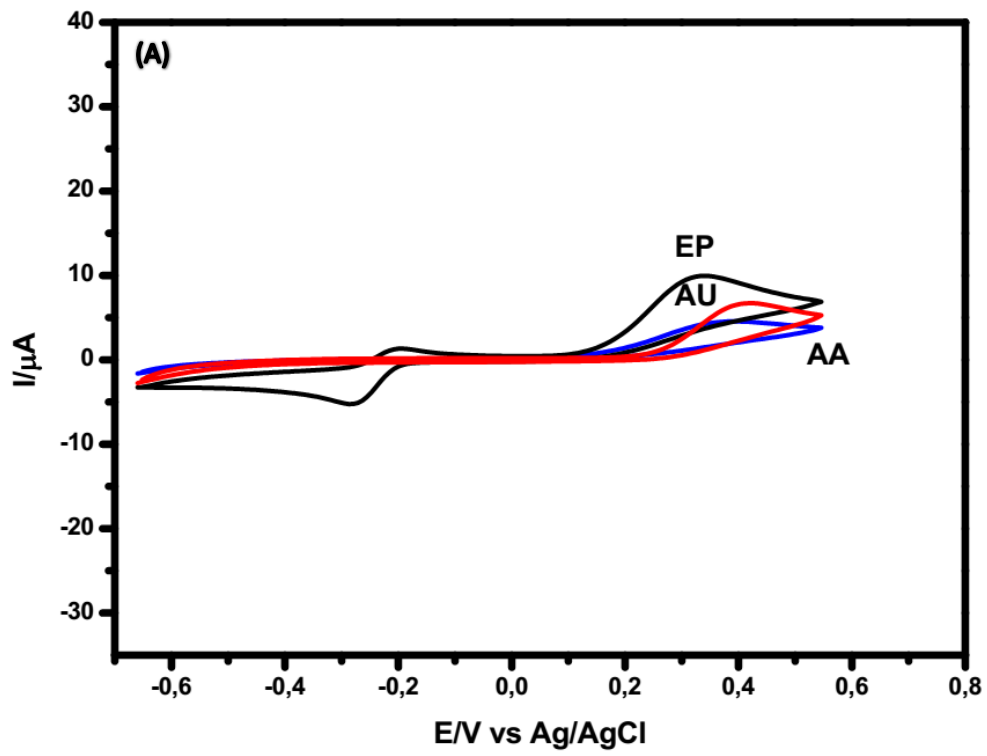
5.4. Estudo do efeito do modificador sobre a eletro-oxidação de Ácido Ascórbico (AA), Ácido Úrico(AU) e Epinefrina (EP).

Voltamogramas cíclicos na presença do AA, AU e EP (1 mmolL^{-1}) foram obtidos para o eletrodo não modificado (**FIGURA 25 (A)**), modificado apenas com NTCPM (**FIGURA 25 (B)**), modificado apenas com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (**FIGURA 25 (C)**) e modificado com o compósito $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ (**FIGURA 25 (D)**). Através dos voltamogramas obtidos observa-se que a melhor resposta para a oxidação dos analitos é obtida utilizando os nanotubos funcionalizados com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ pelo alto valor de corrente observado e melhor definição dos picos de oxidação, contudo, percebe-se que apenas os NTCPM são capazes de eletrocatalizar essa oxidação porque há um aumento de corrente seguido da diminuição do sobrepotencial

necessário para que a reação ocorra. Porém, quando utiliza-se apenas os NTCPM o AA e a EP possuem potenciais de oxidação muito próximos, fazendo com que um seja interferente na análise do outro. Para o eletrodo modificado apenas com o $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ houve um aumento na corrente do AA e da EP quando comparado ao ECV não modificado, porém, estes também respondem em potenciais de oxidação muito próximos. Sendo assim, o compósito obtido entre os nanotubos e o composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ apresentou efeitos sinérgicos fazendo com que fosse capaz de eletrocatalizar de forma mais efetiva a oxidação da EP, do AA e do AU. Os valores de corrente e potencial de oxidação para cada modificação são mostrados na **TABELA 1**.

Tabela 1: Correntes e potenciais de oxidação do AU, EP e AA para diferentes modificações do eletrodo. Experimentos realizados em solução tampão fosfato pH = 7. Velocidade de varredura: 10mV/s.

v	Modificação	Corrente de Oxidação (μA)	Potencial de Oxidação (mV)
AAU	Não modificado	3,3	411
	$\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$	2,7	465
	NTCPM	10,1	243
	$\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$	28,8	248
EEP	Não modificado	6,1	324
	$\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$	7,7	259
	NTCPM	12,2	92
	$\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$	20,3	124
AAA	Não modificado	1,9	395
	$\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$	3,9	314
	NTCPM	2,3	172
	$\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$	6,9	-25



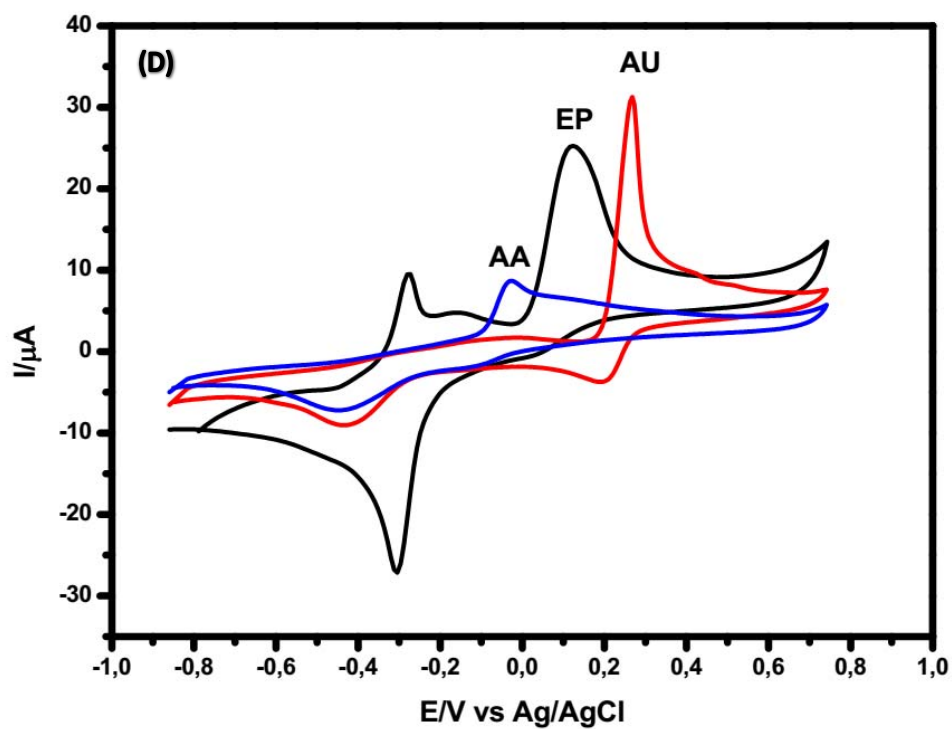
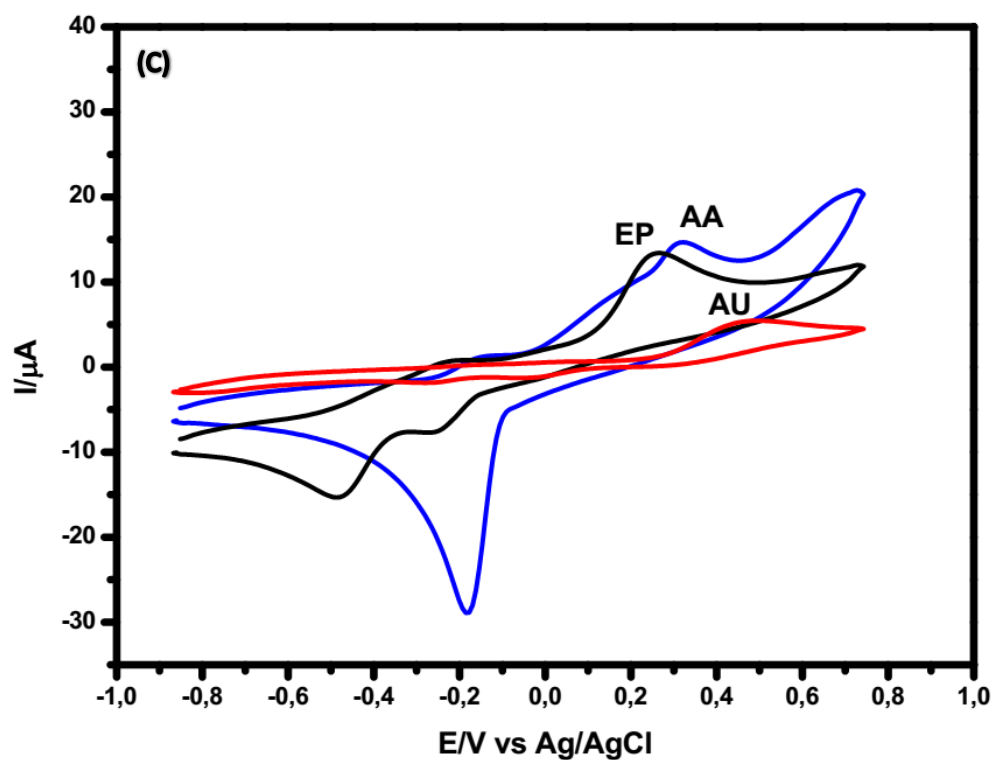


FIGURA 25: Voltamogramas cíclicos referentes à oxidação de 1 mmol L^{-1} para o AA, AU e EP sobre o eletrodo não modificado (A), modificado apenas com NTCPM (B), apenas com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ (C) e com o composto $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ (D). Experimentos realizados em tampão fosfato, $\text{pH} = 7,00$.

5.5. Estudos sobre a oxidação do AU e da EP utilizando o ECV modificado com o compósito Cu(phen)₃(TCNQ)₂/NTCPM.

A fim de se conhecer um pouco mais sobre os processos de oxidação do AU e da EP empregando-se o eletrodo modificado com o compósito Cu(phen)₃(TCNQ)₂/NTCPM outros estudos eletroquímicos foram realizados com os analitos de estudo, por meio da variação da velocidade de varredura. De acordo com o modelo teórico de Andrieux e Sevéant (ANDRIEUX, SEVÉANT, 1978) para um sistema catalítico a corrente de pico depende da velocidade de varredura de acordo com a seguinte equação:

$$i_p = 0,496FACD^{1/2} \left(\frac{Fv}{RT} \right)^{1/2} \quad (7)$$

onde os símbolos utilizados possuem o mesmo significado que anteriormente.

Para este modelo, o sistema se comporta como totalmente irreversível e controlado por difusão para altos valores de parâmetros cinéticos, ou seja, para altos valores da constante de transferência eletrônica observável k_{obs} .

Além disso, para processos irreversíveis a corrente de pico pode ser obtida pela equação (8) (WANG, 2001), a qual pode ser utilizada com o objetivo de estimar o número de elétrons envolvidos nas oxidações do AU e da EP.

$$i_p = (2,99 \times 10^5)n(\alpha n_a)^{1/2}ACD^{1/2}v^{1/2} \quad (8)$$

sendo que o valor de αn_a pode ser estimado de acordo com (9):

$$\alpha n_a = 47,7 \text{ mV}/E_p - E_{p/2} \quad (9)$$

onde E_p representa o potencial de pico e $E_{p/2}$ represente o potencial de pico de meia altura (BARD; FAULKNER, 2001).

Utilizando-se a equação 9 obteve-se um valor de αn_a igual a 1,29 para o AU e 0,73 para a EP. Através dos voltamogramas cíclicos obtidos foi observada uma relação linear entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura

(FIGURA 26 (A) e (B)), sugerindo que os processos são controlados pelo transporte de massa, ou seja, a etapa limitante dos processos de oxidação do AU e EP sobre o eletrodo modificado são controlados pela difusão das moléculas.

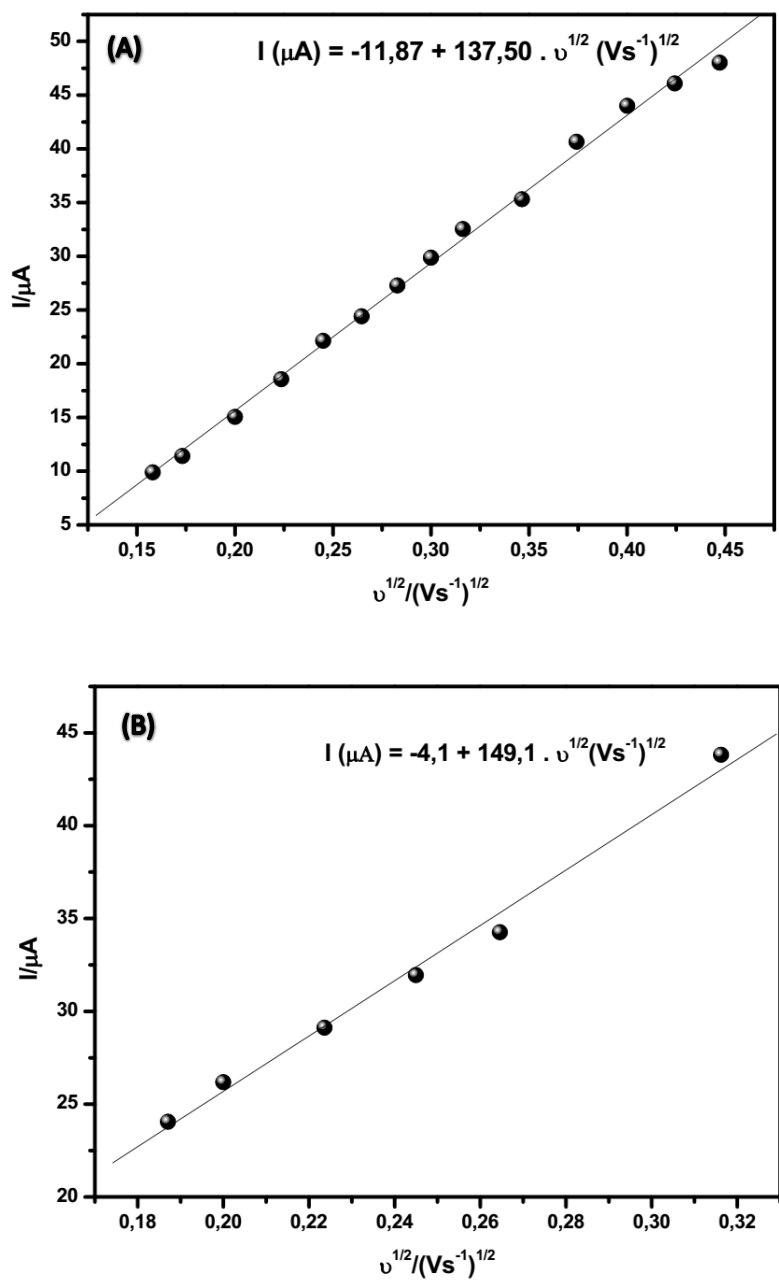


Figura 26: Corrente de oxidação do AU (1 mmol/L) (A) e da EP (1,5 mmol/L) (B) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.

Portanto, a partir dos coeficientes angulares destas retas e dos valores de α_a estimados, foi possível calcular o número de elétrons envolvidos na oxidação do AU e da EP sobre o ECV modificado com o composto com o auxílio da equação (8), considerando o valor do coeficiente de difusão (D) de $6,6 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ para o ácido úrico

(ERNST; KNOLL, 2001) e de $5,1 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ para a epinefrina (GERHART, ADAMS, 1982), sendo encontrados os valores de n iguais 1,71 e 1,87, respectivamente, para estes analitos, isto é, aproximadamente 2 elétrons para os dois processos de oxidação.

Os valores de α_n também foram calculados a partir dos coeficientes angulares das retas obtidas pela construção dos gráficos de potencial de pico (E_p) em função do logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$) (**FIGURA 27**). É esperado que tais coeficientes comportem-se de acordo com a equação 10 (BARD; FAULKNER, 2001):

$$B = 1,15RT/\alpha_n F \quad (10)$$

onde B representa o coeficiente angular e os demais símbolos utilizados possuem o mesmo significado que anteriormente

Os valores obtidos para α_n e n foram de 1,1 e 1,86 para o AU e de 0,70 e 1,91 para a EP, respectivamente. Desta forma, os mecanismo de oxidação do AU e da EP, os quais são influenciados pelo ECV modificado com o compósito devem ocorrer via 2 elétrons, corroborando com outros trabalhos da literatura (HUO, SHANGGUAN, LI, 2013; WANG *et al*, 2008; REVIN, JOHN, 2012).

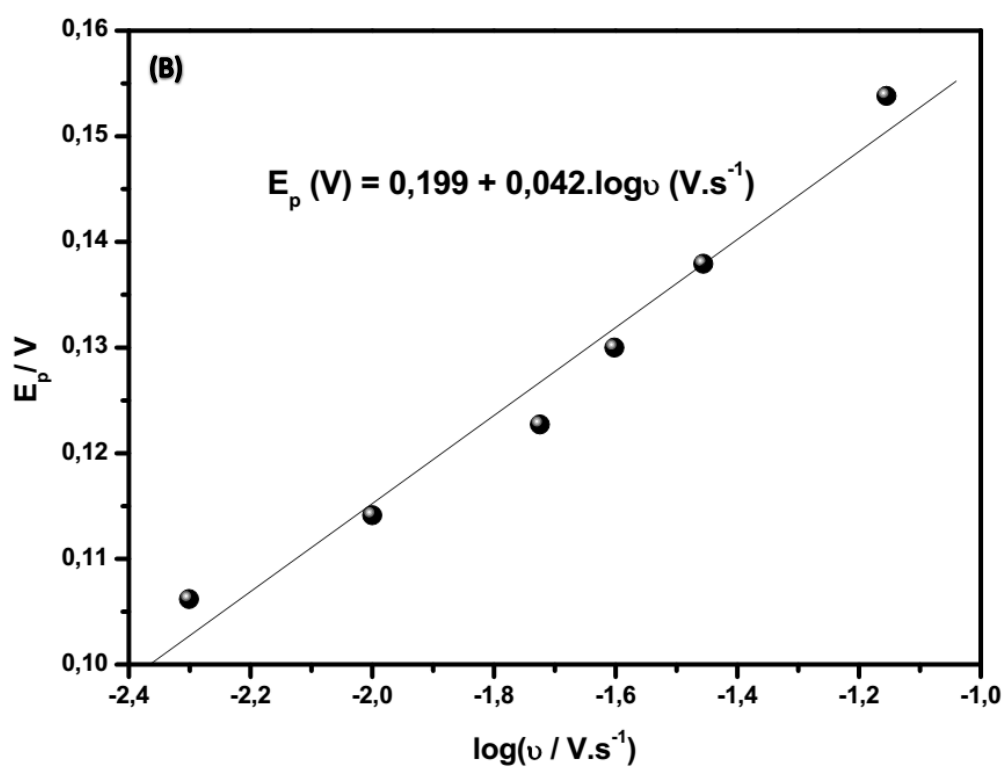
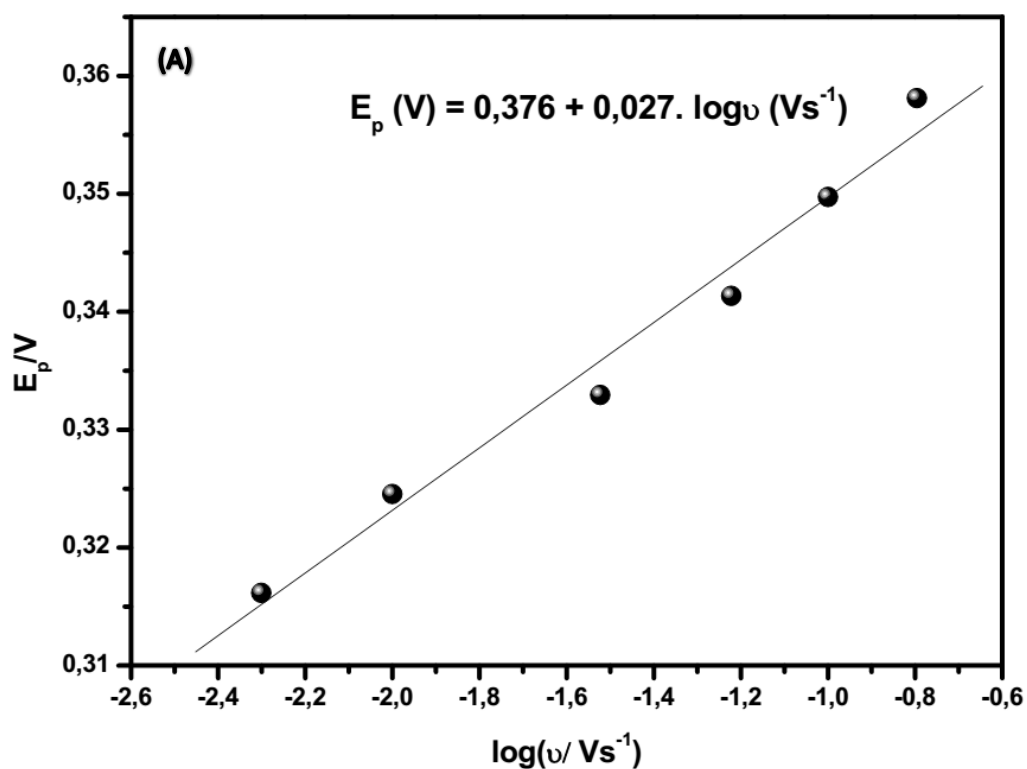


Figura 27: Potencial de pico do AU (1 mmol/L) (A) e da EP (1,5 mmol/L) (B) em função do logaritmo da velocidade de varredura.

5.6. Estudos em condições hidrodinâmicas empregando a voltametria de varredura linear

Voltamogramas de varredura linear foram obtidos para o ECV modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ em soluções de AU e EP (0,1 e 0,5 mmol/L) sob várias velocidades de rotação (ω) (**FIGURA 28**).

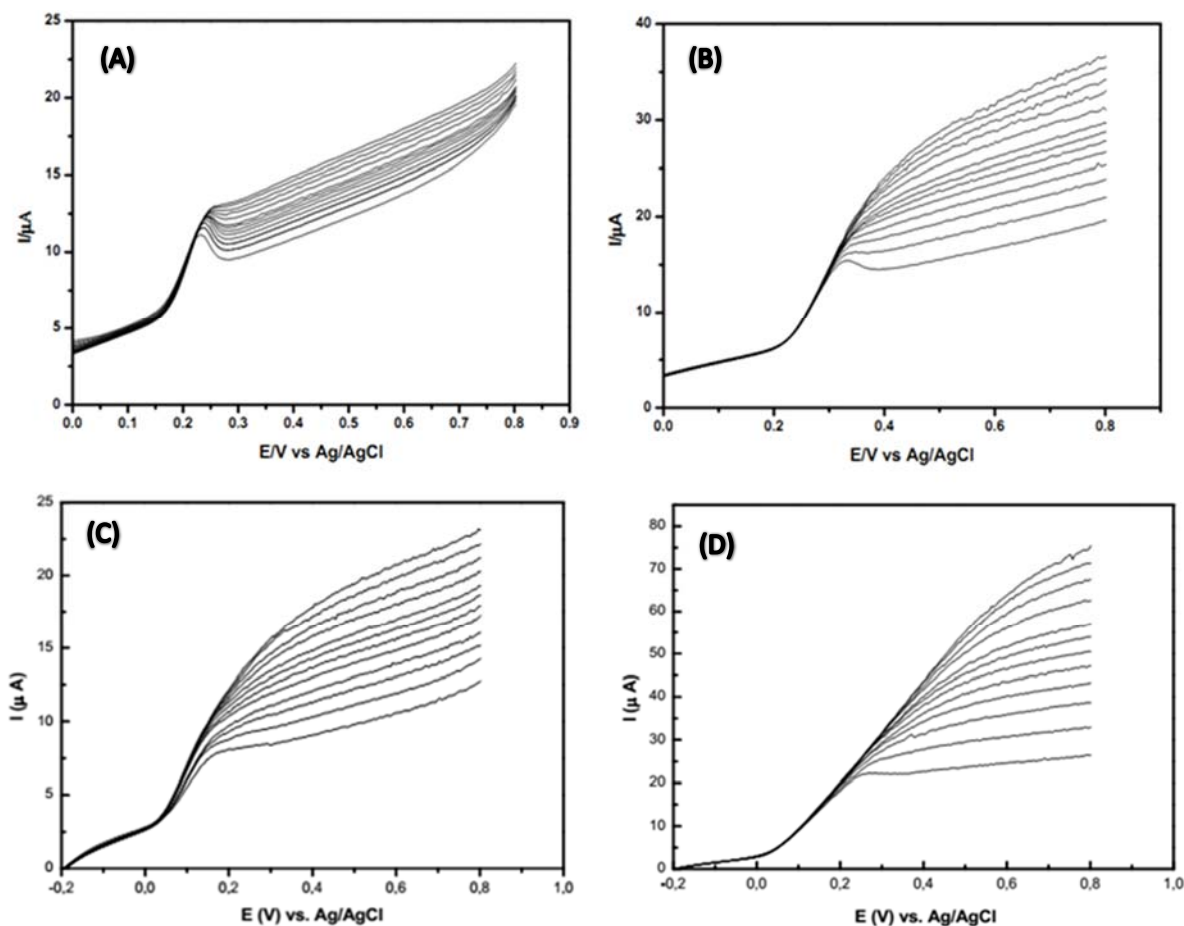


Figura 28: Curvas de polarização em condições hidrodinâmicas; Velocidades de rotação de 5,2; 10,5; 15,7; 20,9; 26,2; 41,9; 52,3; 62,8; 73,3; 83,7 e 94,2 rad s^{-1} em solução de AU 0,1 mmol/L (**A**), 0,5 mmol/L (**B**) e de EP 0,1 mmol/L (**C**) e 0,5 mmol/L (**D**).

A partir das curvas de polarização apresentadas na figura 28 foi possível obter os gráficos de corrente limite (I_{lim}) em função da raiz quadrada da velocidade de rotação ($\omega^{1/2}$).

Conforme pode ser observado na figura (**FIGURA 29 (A) e (C)**), para baixos valores de ω foi observada uma relação linear nos gráficos de Levich, ou seja, entre a corrente limite e a raiz quadrada da velocidade de rotação, indicando que o processo é controlado pelo transporte de massa. Já para valores mais altos de ω foi observado

um desvio da linearidade, indicando limitação cinética. Sendo assim, torna-se mais adequada a análise da corrente limite através da equação de *Koutecký–Levich* (equação 9), a qual considera as contribuições das correntes difusionais e cinéticas (BARD; FAULKNER, 2001). Desta forma, construindo o gráfico do inverso das correntes limites em função do inverso da raiz quadrada das velocidades de rotação **(FIGURA 29 (B) e (D))** foram obtidas relações lineares cujos interceptos puderam ser utilizados para calcular a constante cinética observada (k_{obs}). Para as concentrações 0,1 e 0,5 mmol/L de AU e EP foram obtidos os valores de $2,6 \cdot 10^4$ e $1,2 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$ para o AU e de $3,5 \cdot 10^5$ e $1,1 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$ para a EP, respectivamente, o quais estão próximos do encontrado na literatura (ARDAKANI *et al*, 2006).

$$1/I_{lim} = 1/(nFAck_{obs}\Gamma) + 1/(0,62nFAD^{2/3}\nu^{1/6}\omega^{1/2}C) \quad (9)$$

onde ν representa a viscosidade cinemática, ω a velocidade e rotação (rad/s) e k_{obs} representa a constante cinética observada. Os demais símbolos possuem o mesmo significado que anteriormente.

Adicionalmente, a fim de se ter uma ideia real dos valores de k_{obs} tanto para o ácido úrico, quanto para a epinefrina encontra-se o valor de k_{obs} quando as concentrações de AU e EP são iguais a zero (LADIU, POPESCU, LO GORTON, 2005). Neste sentido obteve-se uma equação de reta igual a $k_{obs} (\text{mol}^{-1}\text{L s}^{-1}) = 2,95 \cdot 10^4 - 3,5 \cdot 10^7 [\text{AU}]/\text{molL}^{-1}$ para o AU e uma equação de reta igual a $k_{obs} (\text{mol}^{-1}\text{L s}^{-1}) = 4,35 \cdot 10^5 - 8,5 \cdot 10^8 [\text{EP}]/\text{molL}^{-1}$ para a EP.

A partir dos interceptos das equações obteve-se valores para k_{obs} iguais a $2,95 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{L s}^{-1}$ para o AU e $4,35 \cdot 10^5 \text{ mol}^{-1}\text{L s}^{-1}$ para a EP. A **TABELA 2** mostra os valores de k_{obs} dos analitos para as concentrações 0,1 e 0,5 mmol L⁻¹ dos mesmos. Conforme os resultados apresentados nesta tabela, observou-se que o valor de k_{obs} aumenta à medida que aumentamos as concentrações.

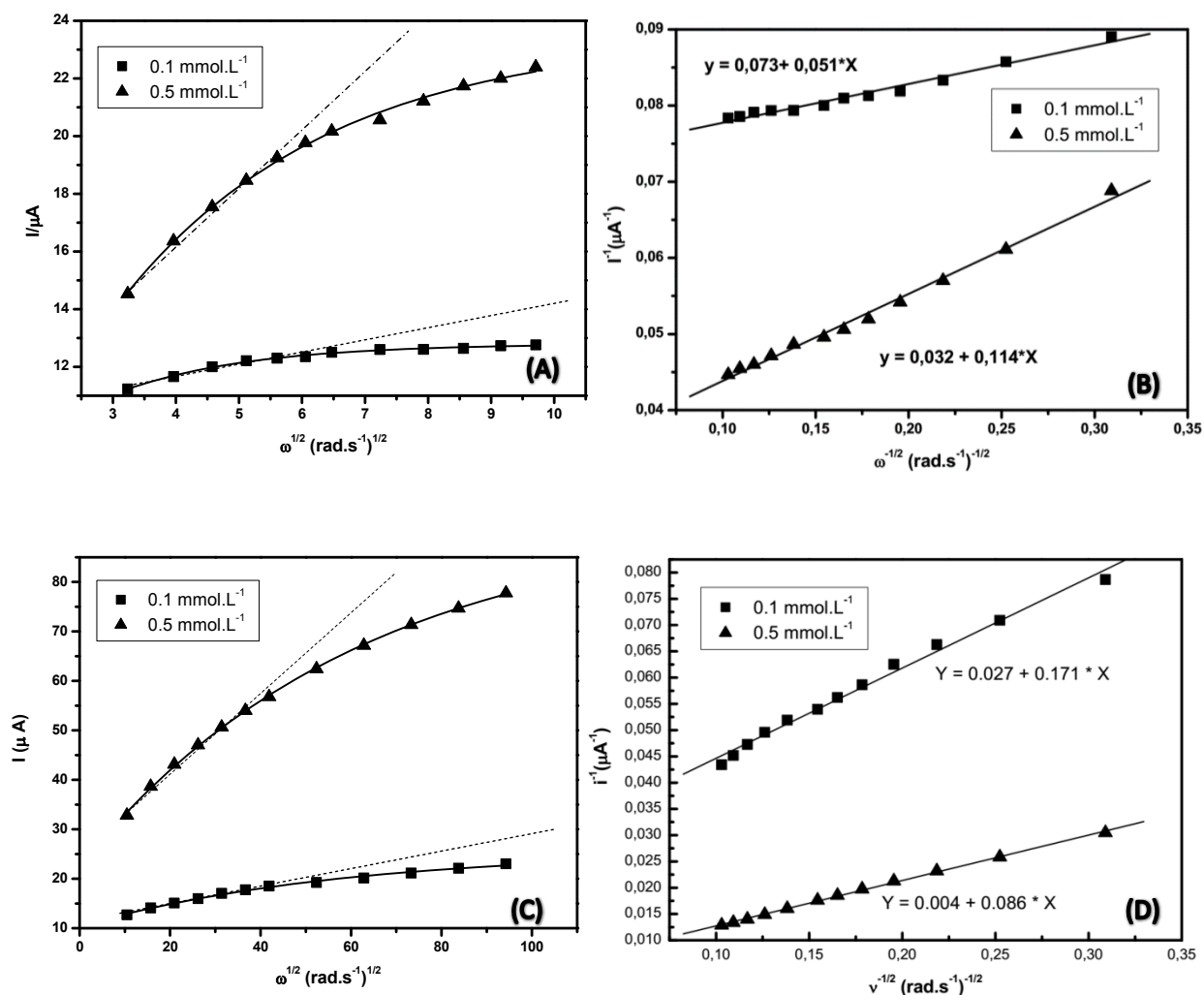


Figura 29: Corrente limite em função da raiz quadrada da velocidade de rotação e inverso da corrente limite em função do inverso da raiz quadrada da velocidade de rotação para o AU (A) e (B) e para a EP (C) e (D), respectivamente.

TABELA 2: Valores de k_{obs} ($\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$) obtidos através da linearização dos dados.

	k_{obs} AU ($\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$)	k_{obs} EP ($\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}\text{L}$)
0,0 mmol/L	$2,95 \times 10^4$	$4,35 \times 10^5$
0,1 mmol/L	$2,60 \times 10^4$	$3,50 \times 10^5$
0,5 mmol/L	$1,20 \times 10^4$	$1,10 \times 10^4$

5.7. Estudo dos parâmetros experimentais e operacionais

Os parâmetros experimentais e operacionais foram avaliados a fim de conhecer as melhores condições para o sensor proposto. Neste sentido, a concentração da solução utilizada para funcionalização dos nanotubos, a concentração da dispersão de do compósito utilizada para modificação da superfície do ECV, o pH da solução contendo os analitos, o tipo de tampão utilizado para preparar as soluções de AU, EP e AA, a amplitude de pulso e a velocidade utilizadas na VPD foram variadas, de forma que as condições que propiciaram uma maior resposta de corrente foram escolhidas e utilizadas para obtenção de uma curva analítica para determinação simultânea para o AU e EP na presença de AA. Em todos os estudos a concentração de AU foi mantida em $0,375 \text{ mmol L}^{-1}$ e a de EP em $1,125 \text{ mmol L}^{-1}$, e a do interferente AA em $1,875 \text{ mmol L}^{-1}$.

5.7.1. Influência das concentrações de $\text{Cu(phen)}_3(\text{TCNQ})_2$ e do compósito usados na modificação do ECV sobre as correntes dos analitos

Com o objetivo de verificar a influência da concentração de $\text{Cu(phen)}_3(\text{TCNQ})_2$ utilizada na funcionalização dos nanotubos frente à resposta de corrente dos analitos foram preparadas cinco soluções com diferentes concentrações de $\text{Cu(phen)}_3(\text{TCNQ})_2$ em DMSO, de $0,2$ a 1 mgmL^{-1} , as quais foram utilizadas para funcionalização dos NTCPM como descrito no item 4.4. Em seguida, os compósitos $\text{Cu(phen)}_3(\text{TCNQ})_2$ /NTCPM obtidos foram utilizados para modificação do ECV e a corrente de oxidação para o AU, EP e AA foram avaliadas (**FIGURA 30**) por meio de VPD. Percebe-se que não há uma grande variação de corrente para oxidação do AU pelas concentrações utilizadas, contudo, assumindo-se que esta oxidação é mediada pela forma oxidada do composto funcionalizado, baixas concentrações deste levam a uma menor funcionalização e, portanto, uma menos intensa mediação e, conseqüentemente, uma menor resposta de corrente para o analito foi obtida. Concentrações altas do complexo podem levar a funcionalizações menos estáveis para a EP e o AU, promovendo uma maior resistência à transferência de carga, o que pode ocasionar perda de sensibilidade. O AA, por sua vez, apresentou uma resposta

de corrente praticamente constante ao longo de toda a faixa de concentração estudada. Sendo assim, considerou-se o maior valor de corrente para os três simultaneamente como sendo $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$. Esta concentração foi considerada como ótima e utilizada nos estudos posteriores.

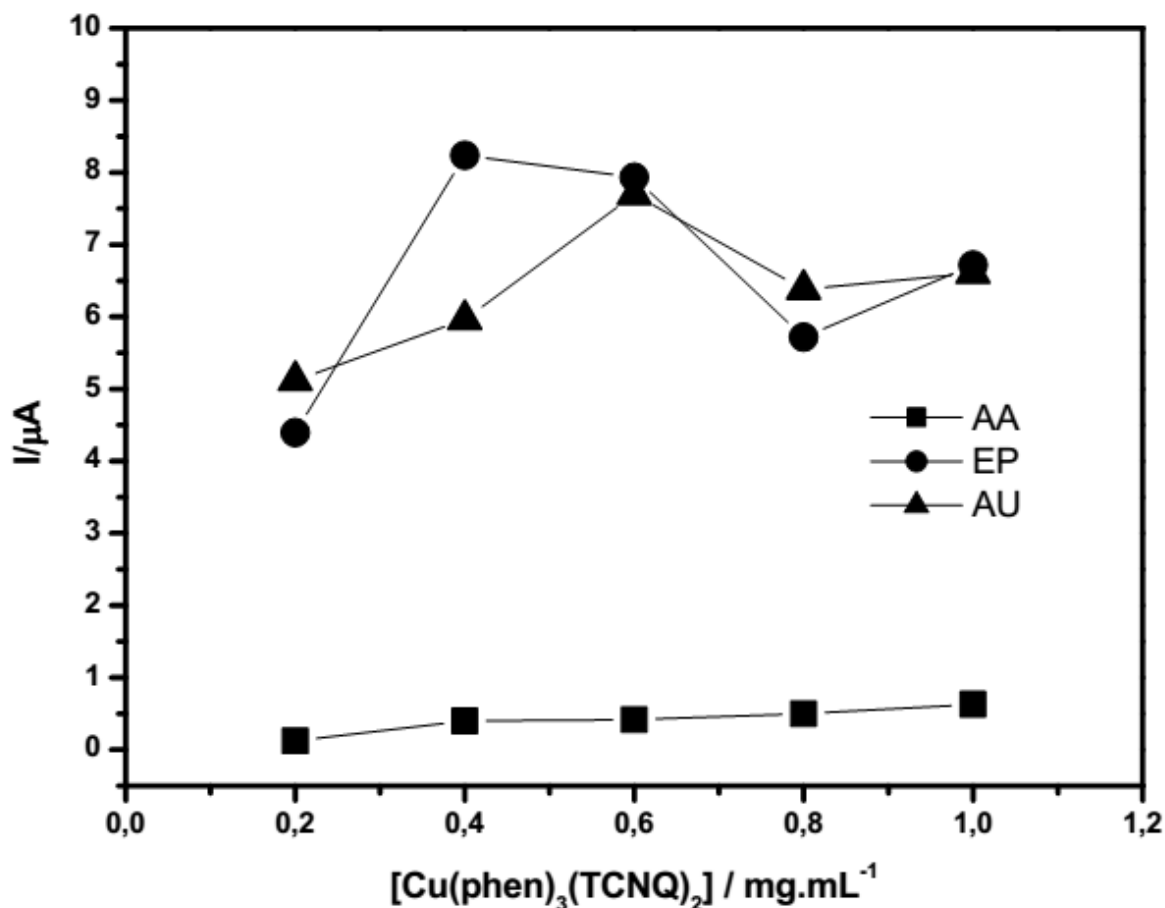


Figura 30: Corrente de oxidação dos analitos em função da concentração de composto utilizada para funcionalização dos NTCPM. Medidas realizadas em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato, pH 7,00. [AU] = $0,375 \text{ mmol L}^{-1}$, [EP] = $1,125 \text{ mmol L}^{-1}$ e [AA] = $1,875 \text{ mmol L}^{-1}$.

Em seguida, estudou-se a influência da concentração da dispersão do compósito utilizada para modificação do ECV. Os valores estudados foram 1, 2, 3, 4 e 5 mg do material em água. A concentração de compósito se relaciona à cobertura e espessura da camada que modifica a superfície do eletrodo, desta forma, concentrações muito baixas podem gerar coberturas incompletas do ECV diminuindo a resposta de corrente, pois esta depende da interação analito/modificação. Por outro lado, concentrações altas de nanotubos podem gerar modificações muito espessas, mais instáveis e menos sensíveis. A melhor resposta foi observada para a

concentração 3 mg.mL^{-1} (FIGURA 31), logo, esta foi considerada como ótima e utilizada posteriormente.

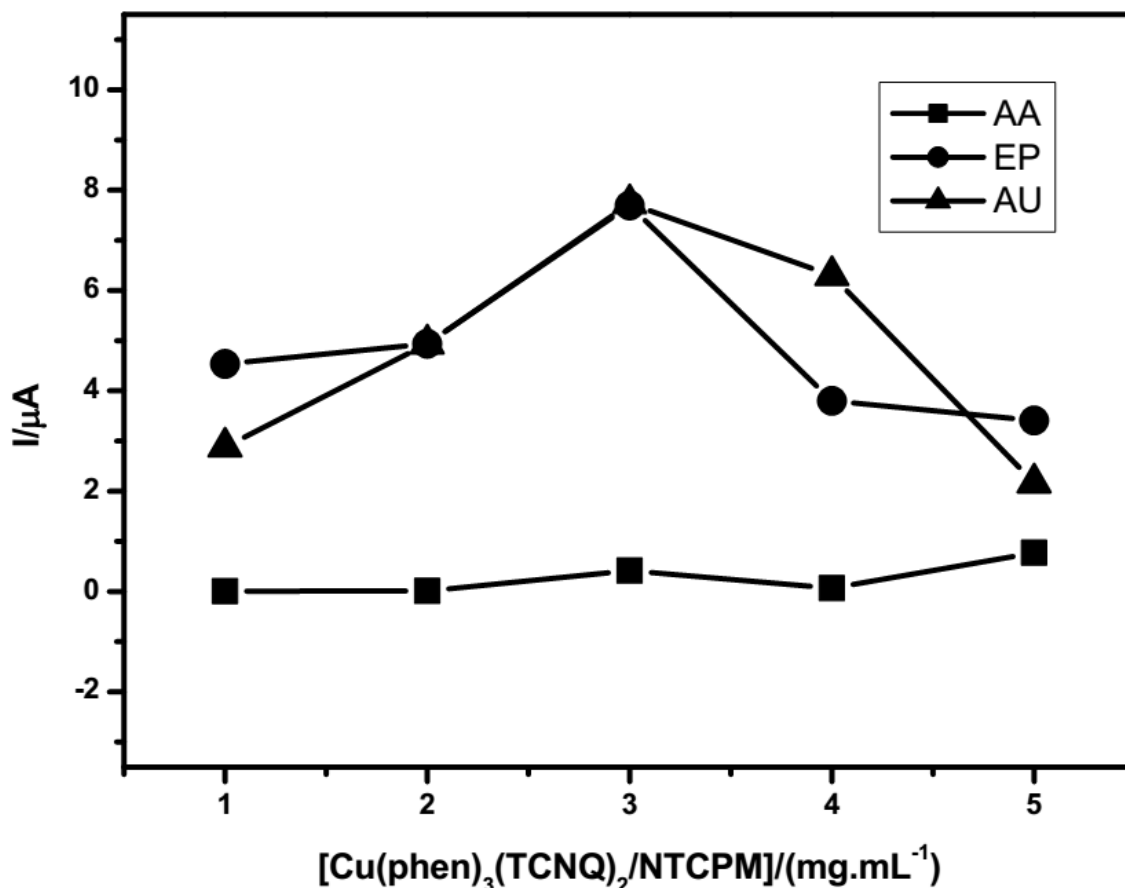


Figura 31: Correntes de oxidação dos analitos em função da quantidade de composto $\text{Cu(phen)}_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$. Medidas realizadas em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato, pH 7,00. $[\text{AU}] = 0,375 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{EP}] = 1,125 \text{ mmol L}^{-1}$ e $[\text{AA}] = 1,875 \text{ mmol L}^{-1}$.

5.7.2. Influência do tipo de solução tampão sobre a oxidação dos analitos.

Neste estudo foram utilizados os tampões McIlvaine, HEPES, Tris e Fosfato na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,00. A maior intensidade de corrente foi obtida com o tampão fosfato (FIGURA 32), o que pode ser explicado pela maior mobilidade iônica referente aos íons desta solução quando comparada às demais. Sendo assim, a corrente iônica que se desenvolve a fim de manter a eletroneutralidade do sistema é favorecida pelo menor tamanho dos íons fosfato, então, este tampão foi escolhido para construção da curva analítica os estudos seguintes.

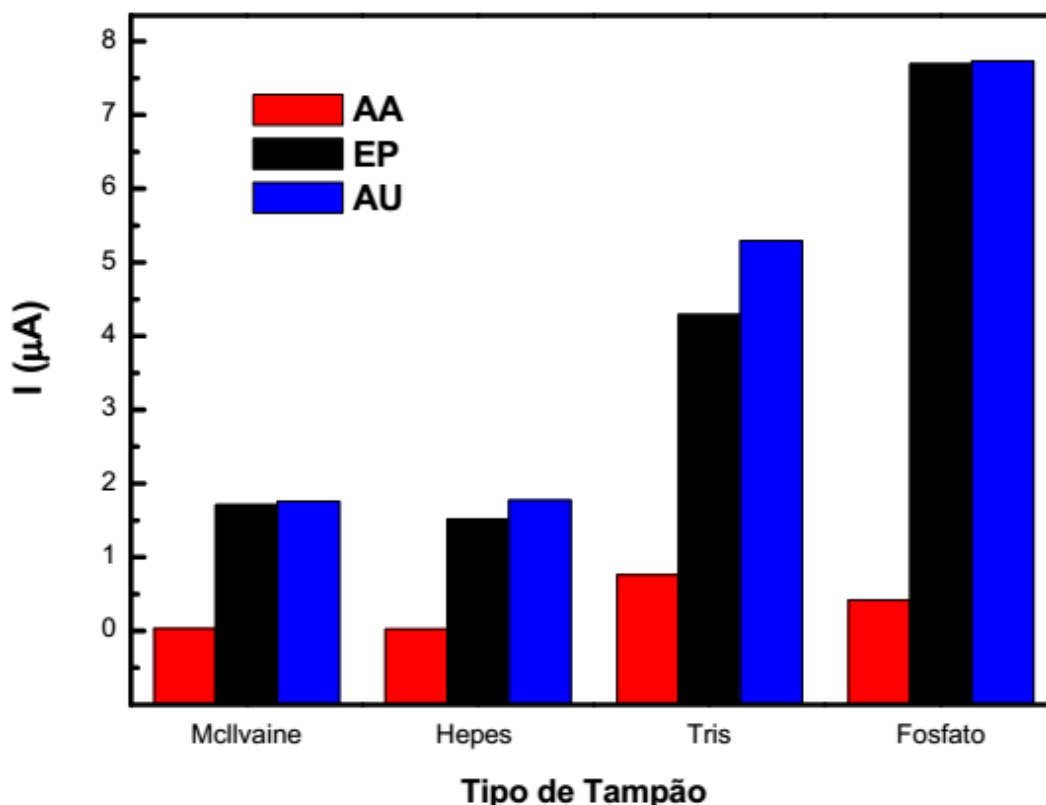


Figura 32: Correntes de oxidação dos analitos em função de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ da solução tampão pH =7,00 utilizado. $[AU] = 0,375 \text{ mmol L}^{-1}$, $[EP] = 1,125 \text{ mmol L}^{-1}$ e $[AA] = 1,875 \text{ mmol L}^{-1}$

5.7.3. Influência do pH sobre a oxidação dos analitos

A corrente de oxidação dos analitos foi avaliada em valores de pH no intervalo entre 6,0 e 8,5 (**FIGURA 33**). Conforme se pode observar na **FIGURA 33**, o AA é o analito que apresenta os menores valores de corrente, porém, a partir do pH 7,00 não houve praticamente variação na resposta do sensor. Observa-se que para o AU a corrente aumenta nos valores de pH de 6,0 a 7,0 e a partir deste último ocorre um decréscimo do sinal analítico. Este fato também foi observado por Huo e colaboradores (HUO, SHANGGUAN, LI, 2013), o quais afirmam que a oxidação do AU é facilitada em pHs mais ácidos em detrimento aos pHs menos ácidos. Já a EP apresentou dois picos máximos de corrente em pH 7,0 e pH 8,0, entretanto em pH 8 observou-se uma menor estabilidade para a EP. Neste sentido, pensando na determinação simultânea de AA, AU e Ep, escolheu-se o pH 7,0 para os estudos posteriores.

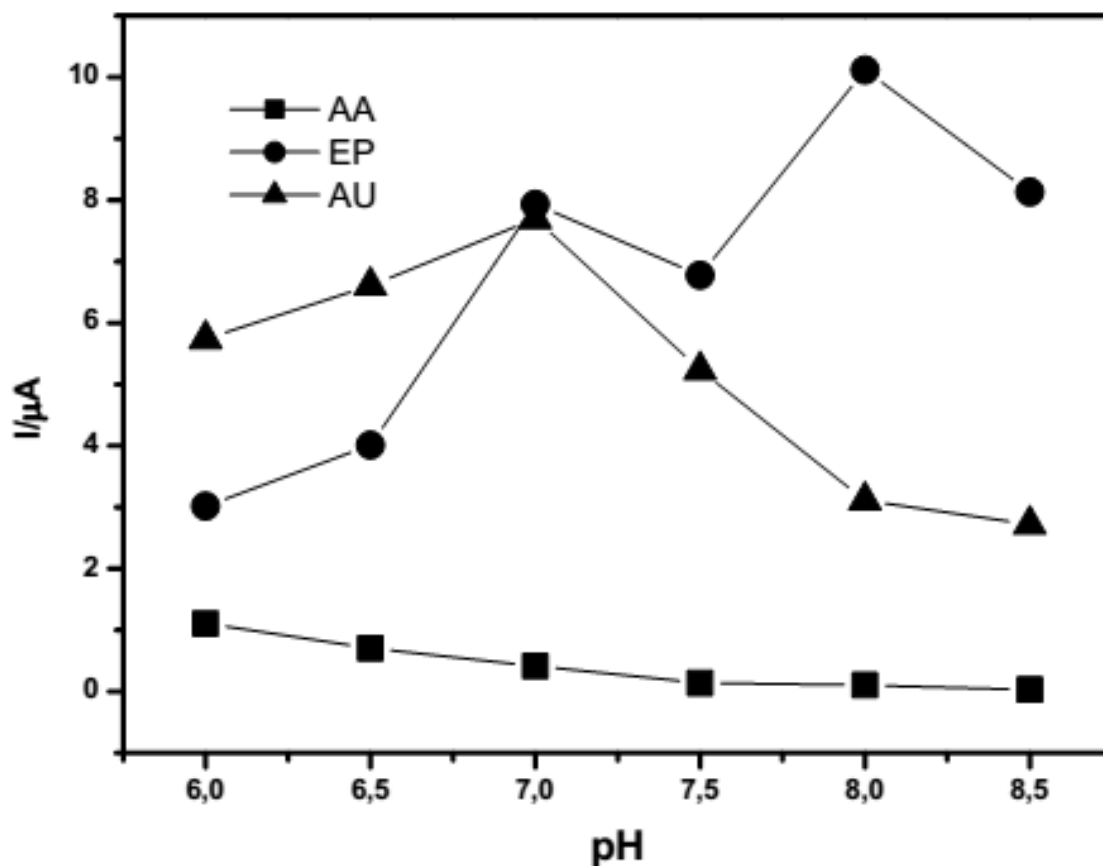


Figura 33: Correntes de oxidação dos analitos em função do pH da solução. Medidas realizadas em tampão fosfato 0,1 mol/L.

5.7.4. Estudo das melhores condições operacionais: Amplitude e velocidade para VPD

A técnica de Voltametria de Pulso Diferencial foi aplicada para construção da curva analítica devido a grande sensibilidade que possibilita, contudo, medidas foram realizadas em vários valores de velocidade e para vários valores de amplitude com o objetivo de utilizar os parâmetros que propiciem a melhor resposta analítica. As **TABELAS 3 e 4** mostram a variação de corrente de oxidação do AU, EP e AA dependendo da velocidade e amplitude utilizadas.

TABELA 3: Correntes de oxidação do AU para diferentes velocidades de varredura em VPD. A amplitude foi mantida em 0,03 V em todas as medidas, as quais foram realizadas em tampão fosfato pH 7,0.

Velocidade (V/s)	0,01	0,04	0,05	0,06	0,07	0,09
Corrente AU (μA)	7,00	7,49	8,10	9,06	8,83	6,94
Corrente EP (μA)	2,19	2,19	2,51	2,97	4,21	4,20
Corrente AA (μA)	1,22	1,52	1,54	1,58	1,62	1,37

Conforme pode ser observado na **TABELA 3**, a corrente de oxidação do AU aumenta de 0,01 à 0,06 Vs^{-1} e decresce a partir desta velocidade. Para a EP, a corrente aumenta de 0,04 à 0,07 Vs^{-1} , mantendo-se constante a partir desta velocidade. Finalmente para o AA a corrente de pico aumentou de 0,01 à 0,04 Vs^{-1} , mantendo-se praticamente constante de 0,04 à 0,07 Vs^{-1} , sendo reduzida a partir dessa velocidade. Como se trata de uma análise simultânea, considerou-se como velocidade ótima para determinação de AU, EP e AA a velocidade de 0,06 Vs^{-1} , sendo portanto a mesma utilizada no estudo de amplitude.

Tabela 4: Correntes de oxidação do AU para diferentes amplitudes de pulso em VPD. A velocidade de varredura foi mantida em 0,06 V/s em todas as medidas, as quais foram realizadas em tampão fosfato pH 7,0.

Amplitude (V)	0,01	0,03	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18
Corrente AU (μA)	3,73	9,14	20,67	30,21	36,37	39,54	43,90	58,28	55,18	52,81
Corrente EP (μA)	2,10	4,65	6,96	9,98	13,45	16,47	19,26	28,77	14,16	12,52

Corrente										
AA (μA)	1,17	3,02	3,96	6,27	9,04	12,31	16,23	23,44	12,07	10,21

No estudo de amplitude verificou-se que, tanto para o AU como para a EP e o AA, as correntes de oxidação aumentaram a partir de 0,01 a 0,14 V, sendo que nesta última os maiores valores de correntes foram alcançados. A partir de 0,14 V observou-se uma diminuição na resposta. Sendo assim, pensando em alcançar uma maior sensibilidade para o sistema escolheu-se a amplitude de 0,14 V para a construção da curva analítica.

5.7.5. Estudo da interferência de um analito sobre o outro empregando o ECV modificado com o compósito $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$

A fim de se avaliar a interferência de um analito sobre o outro durante a utilização do sensor proposta para a quantificação simultânea de AU e EP na presença de AA, dois experimentos diferentes foram realizados em solução 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,0). Em cada experimento, variou-se a concentração de um dos dois analitos enquanto as dos demais foram mantidas constantes.

A **FIGURA 34 (A)** representa a variação da concentração de EP na faixa de 55 a 175 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AA e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AU. A partir destes voltamogramas foi possível obter o gráfico que relaciona a corrente de pico anódica com a concentração de EP (**FIGURA 34 (B)**), no qual se verifica uma correlação linear entre os parâmetros, com coeficiente de correlação (r) igual a 0,998, o que demonstra que a presença de AA e AU não afeta a resposta eletroquímica do sensor proposto para a oxidação de EP. Além disso, verifica-se que não há alteração significativa nas correntes de pico anódicas do AU, mostrando que o aumento da concentração de EP também não interfere de forma significativa na resposta do sensor para este analito.

Os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a variação da concentração de AU na faixa de 35 a 155 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AA e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EP são apresentados na **FIGURA 35 (A)**. As correntes de pico anódicas obtidas nestes voltamogramas aumentam linearmente com o aumento da concentração de AU (**FIGURA 35 (B)**), com $r = 0,998$, o que demonstra que a presença de AA e EP não afeta a resposta eletroquímica do sensor proposto para a oxidação de AU. Além disso, verifica-se que não há alteração significativa nas correntes de pico

anódicas do EP, mostrando que o aumento da concentração de AU também não interfere de forma significativa na resposta do sensor para este analito.

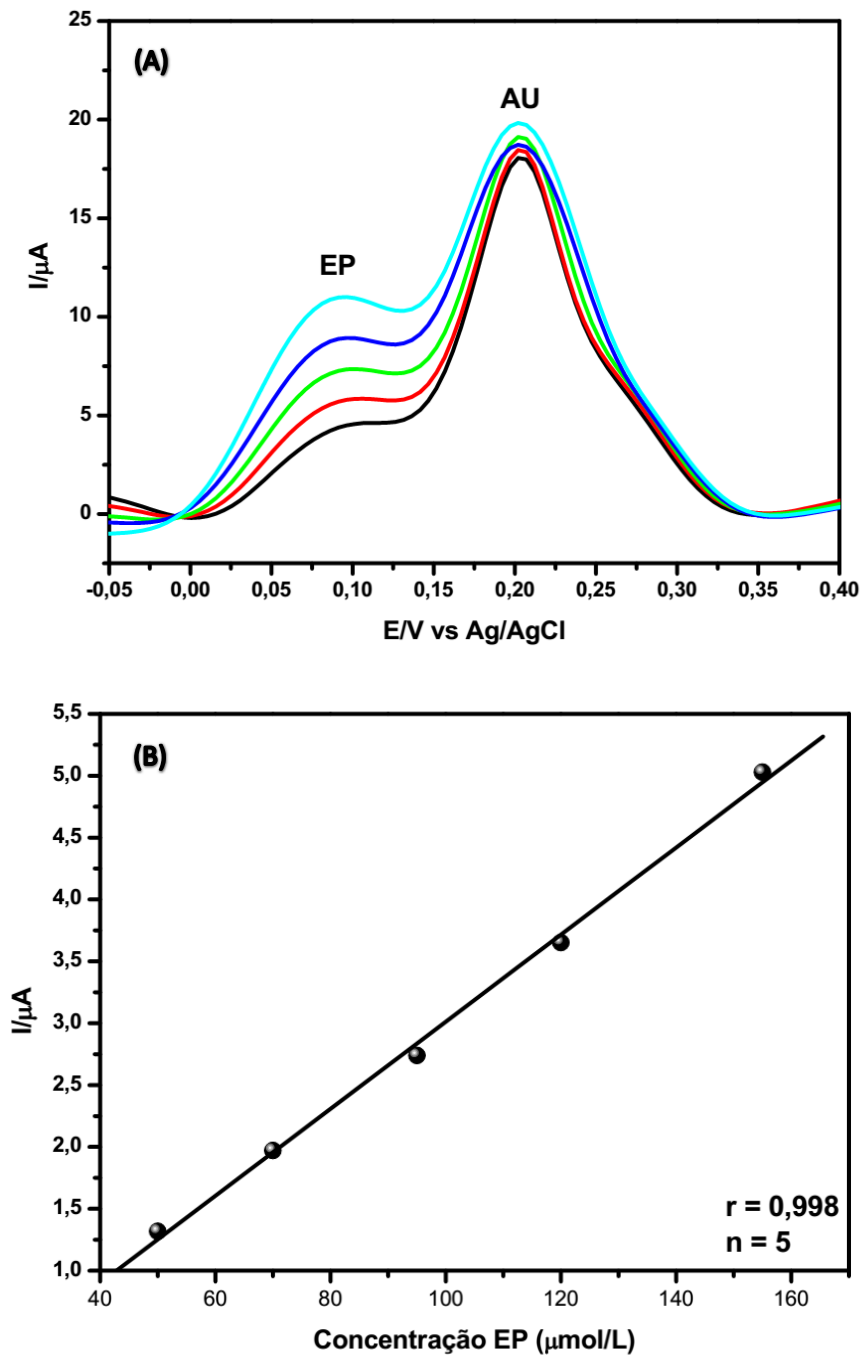


FIGURA 34: Voltamogramas de pulso diferencial (A) e gráfico I vs. $[\text{EP}]$ (B) para o sensor proposto em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato ($\text{pH } 7,0$) contendo $100,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AU, $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA e diferentes concentrações de EP.

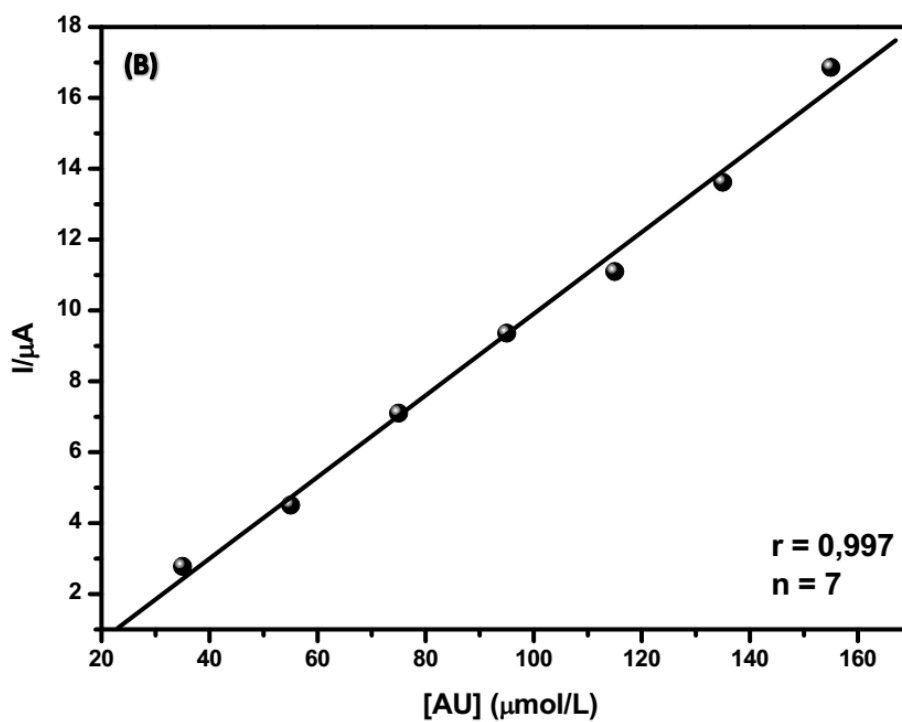
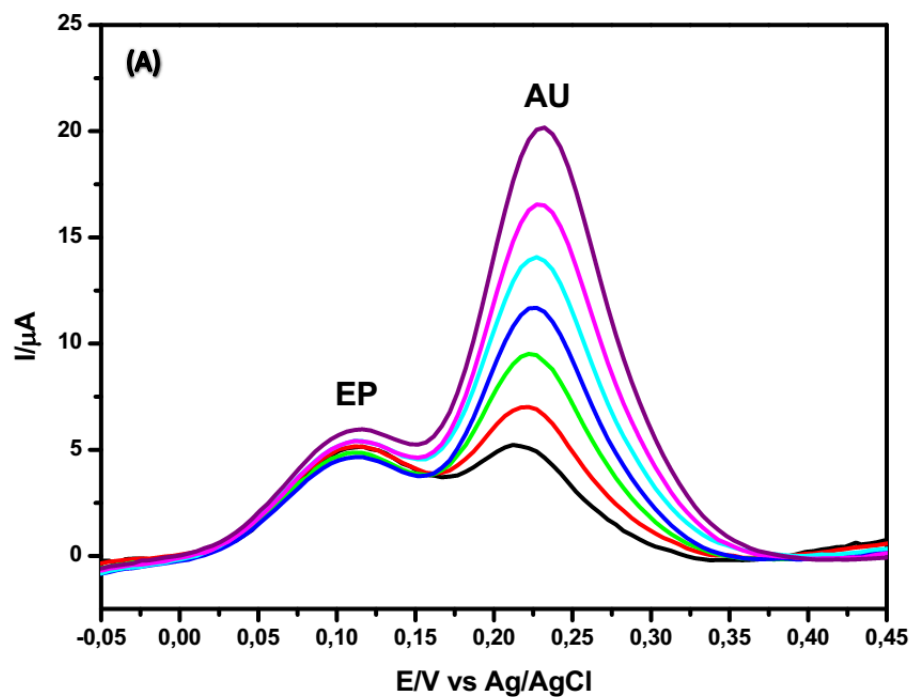


FIGURA 35: Voltamogramas de pulso diferencial (A) e gráfico I vs. [AU] (B) para o sensor proposto em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,0) contendo $100,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de EP, $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA e diferentes concentrações de AU.

5.8. Caracterização analítica do sensor para AU e EP na presença de AA.

Com o objetivo de se obter uma curva analítica para o sensor desenvolvido foram realizadas medidas por VPD em oito soluções com diferentes concentrações de AU e EP na presença de AA (**FIGURA 36(A)**). As respostas de correntes obtidas demonstrou uma relação linear com a concentração dos analitos conforme pode ser observado na **FIGURA 36 (B)**.

A partir da **FIGURA 36 (B)** obteve-se as seguintes equações de reta para o AU e a EP, respectivamente:

$$I_p (\mu\text{A}) = -0,416 + 0,079 [\text{AU}] (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad (11)$$

$$I_p (\mu\text{A}) = 0,316 + 0,024 [\text{EP}] (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad (12)$$

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram determinados considerando $3 \times DP/b$ e $10 \times DP/b$, onde DP representa o desvio padrão para 10 voltamogramas de pulso diferencial do branco e o b o coeficiente angular da curva analítica, conforme recomendações da IUPAC (ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 1987). O desvio padrão obtido foi de $0,056 \mu\text{A}$, logo, os valores de LOD e LOQ foram $2,13$ e $7,09 \mu\text{mol/L}$ para o AU e $7,00$ e $23,23 \mu\text{mol/L}$ para a EP, respectivamente.

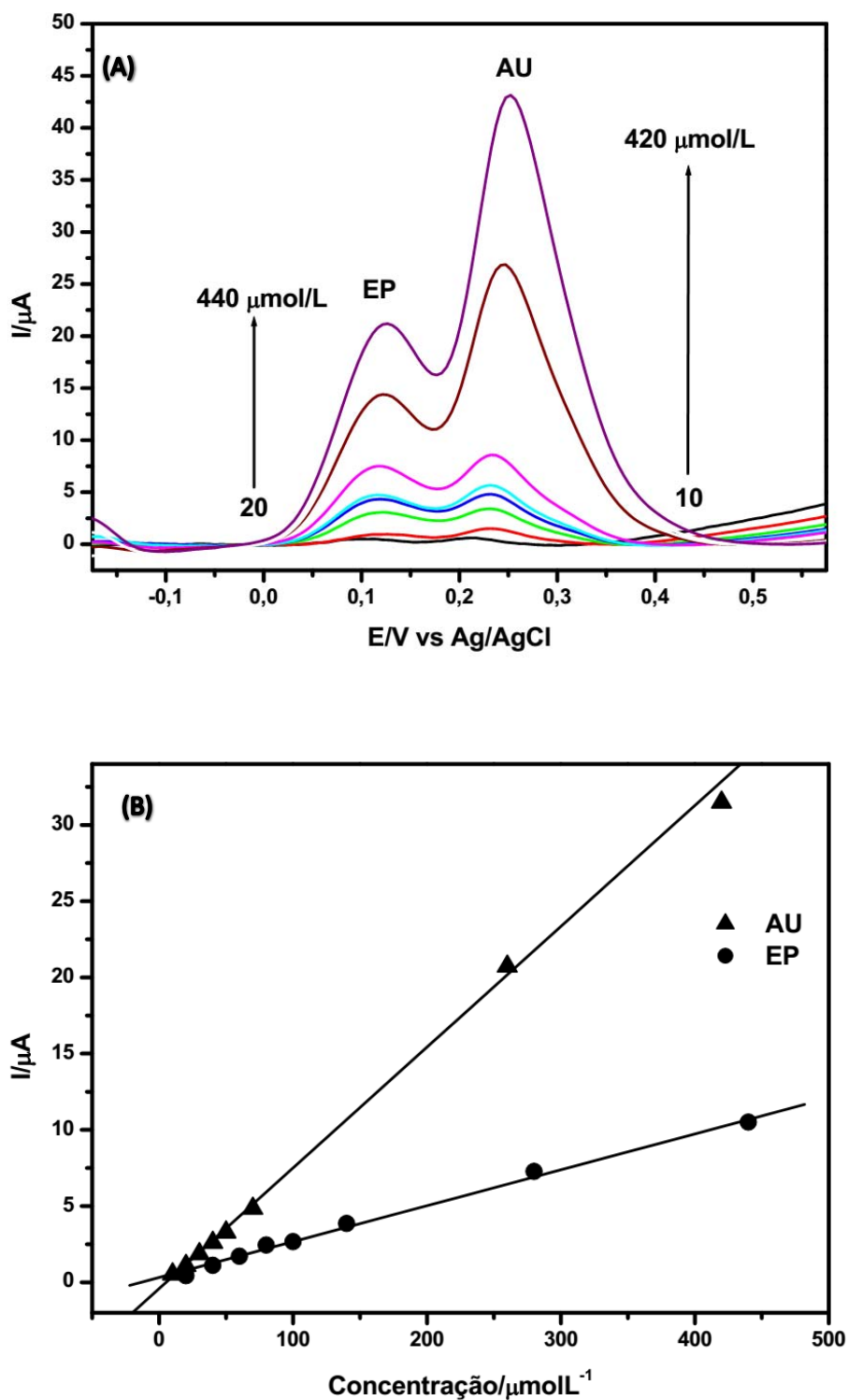


FIGURA 36: Voltamogramas de pulso diferencial para as concentrações crescentes de AU e EP na presença de AA sobre o ECV modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ **(A)** e relação entre corrente de pico e concentração obtida (curva analítica) **(B)**. Medidas realizadas em tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,00, Amplitude = 0,14 V e velocidade = 0,06 V/s e $[\text{AA}] = 50\mu\text{mol.L}^{-1}$.

5.9. Determinação simultânea de AU e EP na presença de AA em amostras de urina humana empregando-se o ECV modificado com $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$

Com a finalidade de se verificar o efeito da matriz biológica sobre a resposta do sensor desenvolvido, foram utilizadas amostras de urina humana para determinar simultaneamente AU e EP na presença de AA. Foram utilizadas adições de 50 e 75 μL para 10 mL de eletrólito. Entretanto, com a diluição não se observou resposta para a epinefrina. Por isso, determinou-se, inicialmente, apenas a concentração de AU presente nas amostras e, em seguida, as mesmas foram enriquecidas com 100 e 140 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EP possibilitando a análise simultânea dos mesmos através do método de adição padrão.

Os resultados obtidos são apresentados na **TABELA 5**:

Tabela 5: Estudo da influência da matriz na resposta do sensor proposto.

Amostras	AU* Quantificado na amostra ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	AU Fortificado na amostra ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	AU** encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DPR entre a quantidade de AU quantificada e a encontrada (%)
1	47,04	-	46,90	0,30
2	66,02	-	66,51	0,74
Amostras	EP* Quantificada na amostra ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	EP Fortificada na amostra ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	EP** encontrada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DPR entre a quantidade de EP fortificada e a encontrada (%)
1	-	100	97,67	2,33
2	-	140	147,7	5,50

*Determinados na ausência de EP e AA. **Determinados na mistura ternária contendo 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AA

Conforme os resultados observados na **TABELA 5**, verifica-se que os desvios padrão relativos entre a concentração do AU encontradas nas amostras na ausência de EP e AA e a concentração de AU encontrada na presença dos mesmos (adicionados às amostras) foram baixos, sugerindo que a matriz biológica não

apresenta efeito significativo na resposta do sensor, sendo o mesmo verificado para a EP.

CONCLUSÕES

6.0. CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou que o eletrodo de carbono vítreo modificado com o compósito $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ é uma excelente alternativa para determinação simultânea de epinefrina e ácido úrico em amostras biológicas, tais como urina humana, através da técnica de pulso diferencial. A modificação da superfície do eletrodo efetuada no presente trabalho foi realizada de forma simples, proporcionando grande estabilidade ao sensor desenvolvido.

O sensor proposto foi capaz de separar as respostas voltamétricas dos analitos, proporcionando uma considerável redução do sobrepotencial de oxidação do AA, bem como significativos aumentos nas correntes de pico anódias da EP e do Au. Estes resultados podem ser atribuídos à baixa resistência à transferência de carga do compósito $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$, bem como à boa habilidade que os NTCPM apresentam em dispersar e fixar moléculas, como o complexo $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$, na superfície de eletrodos. O emprego dos NTCPM e do $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ é fundamental para que a separação dos picos de oxidação dos analitos ocorra.

Imagens de MEV demonstraram que as moléculas de $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2$ estão bem distribuídas na superfície dos NTCPM sem a formação de agregados, confirmando o sucesso da modificação destas nanoestruturas através de um processo físico de adsorção.

Estudos voltamétricos demonstraram que os processos de oxidação da EP e do AU são controlados por difusão, sendo o transporte de massa o fator limitante do processo.

A avaliação dos parâmetros analíticos do sensor desenvolvido mostrou que o mesmo se apresenta como um ótimo dispositivo para a determinação simultânea de EP e AU na presença de AA, apresentando elevadas sensibilidades, baixos limites de detecção e de quantificação. A alta sensibilidade apresentada pelo sensor pode ser atribuída à eficiência de transferência eletrônica entre o compósito $\text{Cu}(\text{phen})_3(\text{TCNQ})_2/\text{NTCPM}$ e os analitos.

PERSPECTIVAS FUTURAS

7.0. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Estudos de repetibilidade e reprodutibilidade do eletrodo proposto.
- Estudos de adição e recuperação.
- Comparar os resultados com os obtidos na literatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUILAIWIL, F.A.; LAOUI, T.; AL-HARTHI, M.; ATIEH, M.A. Modification and functionalization of multiwalled carbon nanotube (MWCNT) via Fischer esterification. **The Arabian Journal for Science and Engineering**, 2010, 35(1C), 37-48.

AJAYAN, P. M. Nanotubes from carbon. **Chemical Reviews**, 1999, 99, 1787-1800.

ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. **Analyst**, 1987, 112, 199-204.

ANDRIEUX, C. P.; SAVEANT, J. M. Heterogeneous (Chemically Modified Electrodes, Polymer Electrodes) vs. Homogeneous Catalysis of Electrochemical Reactions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 1978, 93, 163-168.

ARDAKANI, M. M.; AKRAMI, Z.; KAZEMIAN, H.; ZARE, H. R. Electrocatalytic characteristics of uric acid oxidation at graphite-zeolite-modified electrode doped with iron (III). **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 2006, 586, 31-38.

BALLESTA-CLAVER, J.; RODRÍGUEZ-GOMES, R.; CAPITÁN-VALLVEY, L. F. Disposable biosensor based on cathodic electrochemiluminescence of tris(2,2-bipyridine)ruthenium(II) for uric acid determination. **Analytica Chimica Acta**, 2013, 770, 153-160.

BANO, K.; NAFADY, A.; ZHANG, J.; BOND, A. M. Electrode Kinetics Associated with Tetracyanoquinodimethane (TCNQ), TCNQ⁻, and TCNQ²⁻ Redox Chemistry in Acetonitrile AS Determined by Analysis of Higher Harmonic Components Derived from Fourie Transformed Large Amplitude ac Voltammetry. **The Journal of Physical Chemistry C**, 2011, 115, 24153-24163.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, INC, p. 169, 2001.

BEHERA, S.; RAJ, R. Mercaptoethylpyrazine promoted electrochemistry of redox protein and amperometric biosensing of uric acid. **Biosensors & Bioelectronics**, 2007, 23, 556-561.

BEITOLLAHI, H.; ARDAKANI, M. M.; GANJIPOUR, B.; NAEIMI, H. Novel 2,2'-[1,2-ethanediy]bis(nitriloethylidyne)]-bis-hydroquinone double-wall carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of epinephrine, uric acid and folic acid. **Biosensors and Bioelectronics**, 2008, 24, 362–368.

BOUHOUTI, H.E.; NARANJO-RODRÍGUEZ, I.; DE CISNEROS, J.L.H.-H.; ELKAOUTIT, M.; TEMSAMANI, K.R.; BOUCHTA, D.; AGUILERA, L.M.C. Electrochemical behaviour of epinephrine and uric acid at a Sonogel–Carbon L-Cysteine modified electrode. **Talanta**, 2009, 79, 22–26.

CALVO-MARZAL, P.; CHUMBIMUNI-TORRES, K. Y.; HÖEHR, N. F.; KUBOTA, L. T. Determination of glutathione in hemolysed erythrocyte with amperometric sensor based on TTF-TCNQ. **Clinica Chimica Acta**, 2006, 371, 152-158.

CAPEK, I. Dispersions, novel nanomaterial sensors and nanoconjugates based on carbon nanotubes. **Advances in Colloid and Interface Science**, 2009, 150, 63-89.

CHANDRASHEKAR, B.N.; SWAMY, B.E.K.; ASHOKA, N.B.; PANDURANGACHAR, M. Simultaneous electrochemical determination of epinephrine and uric acid at 1-butyl-4-methyl-pyridinium tetrafluoroborate ionic liquid modified carbon paste electrode: A voltammetric study. **Journal of Molecular Liquids**, 2012, 165, 168-172.

CHUJO, Y. Organic–inorganic hybrid materials. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, 1996, 1(6), 806-811.

CUI, J.; WANG, W.; YOU, Y.; LIU, C.; WANG, P. Functionalization of multiwalled carbon nanotubes by reversible addition fragmentation chain-transfer polymerization. **Polymer**, 2004, 45, 8717–8721.

DAVIS, W.M.; ERIEKSON, C.L.; JOHNSTON, C.T.; DELFINO, J.J.; PORTER, J.E. Quantitative Fourier Transform Infrared Spectroscopic Investigation of Humic Substance Functional Group Composition. **Chemosphere**, 1999, 38, 2913–2928.

DHAND, C.; ARYA, S.K.; SINGH, S.P.; SINGH, B.P.; DATTA, M.; MALHOTRA, B.D. Preparation of polyaniline/multiwalled carbon nanotube composite by novel electrophoretic route. **Carbon**, 2008, 46, 1727-1735.

DU, D.; HUANG, X.; CAI, J.; ZHANG, A. Amperometric detection of triazophos pesticide using acetylcholinesterase biosensor based on multiwall carbon nanotube-chitosan matrix. **Sensors and Actuators**, 2007, 127, 531-535.

ENSAFI, A. A.; DADKHAH, M.; KARIMI-MALEH, H. Determination of isoproterenol and uric acid by voltammetric method using carbon nanotubes paste electrode and *p*-chloranil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2011, 84, 148-154.

ERNST, H.; KNOLL, M. Electrochemical characterization of uric acid and ascorbic acid at platinum electrode. **Analytica Chimica Acta**, 2001, 449, 129-134.

FAM, D. W. H.; PALANIAPPAN, AI.; TOK, A. I. Y.; LIEDBERG, B.; MOOCHHALA, S. M. A review on technological aspects influencing commercialization of carbon nanotubes sensors. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 2011, 157, 1-7.

GERHARDT, G.; ADAMS, R. N. Determination of diffusion coefficients by flow injection analysis. **Analytical Chemistry**, 1982, 54(14), 2618-2620.

GOYANES, S.; RUBIOLO, G.R.; SALAZAR, A.; JIMENO, A.; CORCUERA, M.A.; MONDRAGON, I. Carboxylation Treatment of Multiwalled Carbon Nanotubes Monitored by Infrared and Ultraviolet Spectroscopies and Scanning Probe Microscopy. **Diamond Related Material**, 2007, 16, 412-417.

GRABOWSKA, I.; CHUDY, M.; DYBKO, A.; BRZOZKA, Z.; Uric acid determination in a miniaturized flow system with dual optical detection. **Sensors and Actuators B**, 2008, 130, 508-513.

HIRLEKAR, R.; YAMAGAR, M.; GARSE, H.; VIJ, M.; KADAM, V. Carbon nanotubes and its applications: a review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, 2009, 2(4), 17-27.

HUO, J.; SHANGGUAN, E.; LI, Q. A pre-anodized inlaying ultrathin carbon paste electrode for simultaneous determination of uric acid and folic acid. **Electrochimica Acta**, 2013, 89, 600-606.

IIJIMA, S. Helical microtubes of graphitic carbon. **Nature**, 1991, 345, 56-58.

JACOBS, C. B.; PEAIRS, M. J.; VENTON, B. J. Review: Carbon nanotube based electrochemical sensors for biomolecules. **Analytica Chimica Acta**, 2010, 662, 105-127.

KROTO, H. W.; *et al.* C60: Buckminsterfullerene. **Nature**, 1985, 318, 162-163.

KULYS, J.; D'COSTA, E. J. Printed Amperometric Sensor Based on TCNQ and Cholinesterase. **Biosensors & Bioelectronics**, 1991, 6, 109.

LAVIRON, E. General Expression of the Linear Potential Sweep Voltammogram in the Case of Diffusionless Electrochemical Systems. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 1979, 101, 19-28.

LEHMAN, J. H.; TERRONES, M.; MANSFIELD, E.; HURST, K. E.; MEUNIER, V. Evaluating the characteristics of multiwall carbon nanotubes. **Carbon**, 2011, 49, 2581-2602.

LEITE, F. R. F.; MARONEZE, C. M.; OLIVEIRA, A. B.; SANTOS, W. T. P.; DAMOS, F. S.; LUZ, R. C. S. Development of a sensor for L-Dopa based on Co(DMG)2CIPy/multi-walled carbon nanotubes composite immobilized on basal plane pyrolytic graphite electrode. **Bioelectrochemistry**, 2012, 86, 22-29.

LEITE, F. R. F. **Desenvolvimento e Validação de um L-Dopa em Medicamentos Empregando um Eletrodo a Base de Nanotubos de Carbono Modificados com Co(DMG)2CIPy**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal dos vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011.

LI, C.; THOSTENSON, E. T.; CHOU, T.-W. Sensors and actuators based on carbon nanotubes and their composites: A review. **Composites Science and Technology**, 2008, 68, 1227-1249.

LI, Y.; CHEN, S. M.; Multiwalled carbon nanotubes with poly(*NDGACHi*) biocomposite film for the electrocatalysis of epinephrine and norepinephrine. **Analytical Biochemistry**, 2009, 388, 288.

LIU, L.; PAN, H.; DU, M.; XIE, W.; WANG, J. Glassy carbon electrode modified with Nafion-Au colloids for clenbuterol electroanalysis. **Electrochimica Acta**, 2010, 55, 7240-7245.

LUZ, R. C. S. **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos à base de filmes com TCNX (tetracianoquinodimetano e tetracianoetileno) para a determinação de compostos fenólicos**. Tese de doutorado. Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2007.

LUZ, R. C. S.; DAMOS, F. S.; OLIVEIRA, A. B.; BECK, J.; KUBOTA, L. T. Development of a voltammetric sensor for catechol in nanomolar levels using a modified electrode with $\text{Cu}(\text{phe})_2(\text{TCNQ})_2$ and PLL. **Sensors and Actuators B**, 2006, 117, 274-281.

LY, S. Y.; KIM, M. H. Anodic square-wave stripping voltammetric analysis of epinephrine using carbon fiber microelectrode. **Microchemical Journal**, 2006, 82, 113-118.

MAZLOUM-ARDAKANI, M.; BEITOLLAHI, H.; AMINI, M.K.; MIRJALILI, B.-F.; MIRKHALAF, F. Simultaneous determination of epinephrine and uric acid at a gold electrode modified by a 2-(2,3-dihydroxy phenyl)-1, 3-dithiane self-assembled monolayer, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 2011, 651, 243–249.

MELBY, L.R.; HARDER, R.J.; HERTLER, W.R.; MAHLER, W.; BENSON, R.E.; MOCHEL, W.E. Substituted quinodimethans. 2. Anion-radical derivatives and complexes of 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane. **Journal of the American Chemical Society**, 1962, 84, 3374–3387.

MONTHIOUX, M.; KUZNETSOV, V. "Who should be given the credit for the discovery of carbon nanotubes?". **Carbon**, 2006, 44(9), 1621-1623

MURRAY, R. W.; EWING, A. G.; DURST, R. A.; Chemically Modified Electrodes Molecular Design for Electroanalysis. **Analytical Chemistry**, 1987, 59(5), 379-390.

MURTHY, A. S. N.; ANITA. Electrochemical oxidation of L-ascorbic acid on 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane (TCNQ) modified electrode. **Biosensors & Bioelectronics**, 1994, 9, 439-444.

MURTHY, A. S. N.; ANITA. Tetracyanoquinodimethane (TCNQ) modified electrode for NADH oxidation. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, 1994, 33, 71-73.

NI, F.; WANG, Y.; ZHANG, D.; GAO, F.; LI, M. Electrochemical Oxidation of Epinephrine and Uric Acid at a Layered Double Hydroxide Film Modified Glassy Carbon Electrode and Its Application. **Electroanalysis**, 2010, 22(10), 1130 – 1135.

NIU, L.; LIAN, K.; KANG, W.; LI, S. Characterization of poly(safranine T)-modified electrode and application for simultaneous determination of epinephrine and uric acid coexisting with ascorbic acid. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2011, 22(2), 204-210.

OLIVEIRA, B. L. **Síntese de nanotubos de carbono (NTC) por deposição química de vapor empregando Fe/CaCO₃ E Fe/NTC como catalisador**. Dissertação de mestrado. Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

PARK, Y. S.; CHOI, Y. C.; KIM, K. S.; CHUNG, D. C.; BAE, D. J.; HAN, K. H. High yield purification of multiwalled carbon nanotubes by selective oxidation during thermal annealing. **Carbon**, 2001, 39(5), 655-661.

PEŁECH, I. Preparation of carbon nanotubes using cvd CVD method. **Polish Journal of Chemical Technology**, 2010, 12(3), 45-49.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T.; Tendências em Modificação de Eletrodos Amperométricos para Aplicações Eletroanalíticas. **Química Nova**, 2002, 25(6), 1012-1021.

PORMSILA, W.; KRÄHENBÜHL, S.; HAUSER, P. C. Capillary electrophoresis with contactless conductivity detection for uric acid determination in biological fluids. **Analytica Chimica Acta**, 2009, 636(2), 224-228

QIAO, J.X.; LUO, H.Q.; LI, N.B. Electrochemical behavior of uric acid and epinephrine at an electrochemically activated glassy carbon electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2008, 62, 31–35.

REVIN, S. B.; JOHN, S. A. Highly sensitive determination of uric acid in the presence of major interferents using a conducting polymer film modified electrode. **Bioelectrochemistry**, 2012, 88, 22-29.

RODRIGUES, J. G. **Caracterização por Espectroscopia de Fotoelétrons de Nanotubos de Carbono Funcionalizados**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Ciências - Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

ROMERO, J. G. V.; LUENGO, C. A.; HUBER, J. G.; ROSOLEN, J. M. Síntese de Nanotubos de Carbono de Parede Simples por Sublimação de Grafite em Atmosfera de Hélio. **Química Nova**, 2002, 25(1), 59-61.

ROTARIU, L.; ZAMFIR, L.-G.; BALA, C. A rational design of the multiwalled carbon nanotube-7,7,8,8-tetracyanoquinodimethan sensor for sensitive detection of acetylcholinesterase inhibitors. **Analytica Chimica Acta**, 2012, 748, 81-88.

SALEH, T.A.; GUPTA, V.K. Functionalization of tungsten oxide into MWCNT and its application for sunlight-induced degradation of rhodamine B. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2011, 362, 337–344.

SANTOS, J. C. C., **Síntese e caracterização de nanocompósitos pva/nanotubos de carbono para potencial aplicação biomédica**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e Materiais. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SCHWARTZ, M.; HATFIELD, W.E. Spectroscopic and magnetic studies of 2 electricallyconducting charge-transfer compounds of 7,7,8,8 tetracyanoquinodimethanide with cationic copper-chelates. **Inorganic Chemistry**, 1987, 26, 2823–2825.

SHAHROKHIANA, S.; KHAFAJIA, M. Application of pyrolytic graphite modified with nano-diamond/graphite film for simultaneous voltammetric determination of epinephrine and uric acid in the presence of ascorbic acid. **Electrochimica Acta**, 2010, 55(8), 9090–9096.

SILVA, J. V. **Desenvolvimento e aplicação do material compósito HRP/PANI/PEG-MWCNT como plataforma para detecção de peróxido de hidrogênio a baixo potencial**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal dos vales do Jequitinhonha e Mucuri , Diamantina, 2013.

SOTOMAYOR, M. D. P. T.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, L. T. Development of an enzymeless biosensor for the determination of phenolic compounds. **Analytica Chimica Acta**, 2002, 455, 215-223.

SOUZA, M.F.B. Eletrodos Quimicamente Modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, 1997, 20, 191-195.

SOUZA-FILHO, A.G.; FAGAN, S.B. Funcionalização de nanotubos de carbono. **Química Nova**, 2007, 30(7), 1695-1703.

SUN, H.; *et al.* Thyroxine and reserpine-induced changes in metabolic profiles of rat urine and the therapeutic effect of Liu Wei Di Huang Wan detected by UPLC-HDMS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2010, 53(2), 631-645.

TAKENAKA, T. Infrared and Raman Spectra of TCNQ and TCNQ-d4 Crystals. **Bulletin of the Institute for Chemical Research, Kyoto University**, 1969, 47(4), 387-400.

THOSTENSON, E. T.; RENB, Z.; CHOUA, T. W. Advances in the science and technology of carbon nanotubes and their composites: a review. **Composites Science and Technology**, 2001, 61(13), 1899-1912.

VENDRAME, Z. B. **Eletrodos modificados e não modificados na identificação de compostos sulfurados - um estudo comparativo**. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

VULCU, A.; GROSAN, C.; MURESAN, L. M.; PRUNEANU, S.; OLENIC, L. Modified gold electrodes based on thiocytosine/guanine-gold nanoparticles for uric and ascorbic acid determination . **Electrochimica Acta**, 2013, 88, 839-846.

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**, New York, John Wiley & Sons, 2001.

WANG, G.; MENG, J.; LIU, H.; JIAO, S.; ZHANG, W.; CHEN, D.; FANG, B. Determination of uric acid in the presence of ascorbic acid with hexacyanoferrate lanthanum film modified electrode. **Electrochimica Acta**, 2008, 53, 2837-2843.

ZARE, H. R.; NASIRIZADEH, N. Simultaneous determination of ascorbic acid, adrenaline and uric acid at a hematoxylin multi-wall carbon nanotube modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 2010, 143, 666-672.