# Universidade Estadual de Campinas Instituto de Química Departamento de Química Analítica Programa de Pós-Graduação em Química

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

## CONSTRUÇÃO DE UMA PLATAFORMA FUNCIONAL PARA DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA DE CISTEÍNA

Autora: Cecília de Carvalho Castro e Silva

Orientador: Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota

Campinas Agosto – 2011

## FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

Si38c

Silva, Cecília de Carvalho Castro e.

Construção de uma plataforma funcional para detecção amperométrica de cisteína / Cecília de Carvalho Castro e Silva. -- Campinas, SP: [s.n], 2011.

Orientador: Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota.

Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

Eletrodo modificado.
 Nanocompósito.
 Sensor amperométrico.
 Cisteína.
 Kubota, Lauro Tatsuo.
 Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.
 Título.

**Título em inglês:** Construction of functional platform for amperometric detection of cysteine

**Palavras-chaves em inglês:** Modified electrode, Nanocomposite, Amperometric sensor, Cysteine

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Analítica

**Banca examinadora:** Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota (orientador), Prof. Dr. Aldo José Gorgatti Zarbin (DQ-UFPR), Profa. Dra. Claudia Longo (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 01/08/2011

"A utopia está lá no horizonte. Me aproximo dois passos, ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar." Eduardo Galeano

Aos meus pais Adenir e Odivar,
Minha irmã Mariana,
Meus queridos avós Julieta e Sidalino e ao meu tio Nino,
pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos,
DEDICO.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota, pela oportunidade e confiança no desenvolvimento deste trabalho, orientação competente e palavras de incentivo ao longo do curso, ficam aqui os meus mais sinceros agradecimentos.

Ao meu querido Alexandre, pelo apoio e carinho especial, mesmo quanto estava longe geograficamente. Às discussões e sugestões durante a etapa final de elaboração deste trabalho e por transmitir a mim algo fundamental para o desenvolvimento da pesquisa científica: empolgação.

A todos os integrantes do grupo LEEDS, tenho a certeza de que construi aqui valiosos laços de amizade. Em especial aos doutorandos Cátia e Murilo, pelos trabalhos em colaboração desenvolvidos durante todo o período do mestrado. Ao Tiago, pelas discussões sobre a espectroscopia de impedância eletroquímica. À Luci pelas revisões nos textos de língua inglesa e por transmitir uma tranqüilidade. À Bárbara pelo seu bom humor. Aos pós-doutorandos: Jaílson, Mariana, Maurício e Wilney, por sempre estarem dispostos a ajudar. Ao mestrando Victor, pelas discussões científicas e musicais. Aos alunos de iniciação científica: Leandrinho, Leopoldo e Marta, por serem pessoas tão agradáveis e ao técnico Humberto por me auxiliar em todos os momentos em que precisei.

À doutoranda Márcia Cristina Breitkreitz do LAQQA pela parceria e discussões no tratamento dos dados do processo de otimização multivariada utilizado neste trabalho.

Aos membros da banca do exame de qualificação, Prof. Dr. Dosil Pereira de Jesus e Prof. Dr. Fernando Aparecido Sigoli e aos membros componentes da banca avaliadora da defesa de mestrado, Prof. Dr. Aldo José Gorgatti Zarbin e Profa. Dra. Claudia Longo, pelas valiosas contribuições para a preparação final desta dissertação.

A todos os funcionários do Instituto de Química que colaboraram para a realização deste trabalho, especialmente ao Daniel Razzo pela ajuda técnica, conhecimento transmitido e paciência durante a obtenção das micrografias de MEV.A Gabriela, Izabel e Miguel (secretaria da CPG) por todos os esclarecimentos. Ao Mário (mecânica fina) e ao Miguel (oficina eletrônica) pelos serviços prestados de excelente qualidade e ao seu Nestor (vigilância) pela atenção e cuidado destinados.

Aos professores da Universidade Estadual de Maringá: Prof. Dr. Claudio Celestino de Oliveira, Prof. Dra. Helena Shizuko Nakatani e Prof. Dr. Vagner Roberto de Souza, que tanto contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

As amigas de Maringá: Fabiana e Larissa, que mesmo eu estando distante sempre se mostraram presentes.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida.

#### **CURRICULUM VITAE**

#### **INFORMAÇÕES PESSOAIS**

Nome: Cecília de Carvalho Castro e Silva

Naturalidade: Maringá-PR

Data de nascimento: 17/06/1987

#### FORMAÇÃO ACADÊMICA

#### 03/2009-08/2011 Mestrado em Química

Título da dissertação: "Construção de uma plataforma funcional para detecção amperométrica de cisteína"

Orientador: Prof. Dr.Lauro Tatsuo Kubota

Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP.

Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, SP.

#### 02/2005-12/2008 Graduação- Bacharelado em Química

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: "BIODIESEL: Processo de produção e controle de qualidade"

Orientador: Prof. Dr. Vagner Roberto de Souza.

Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, PR.

#### PRODUÇÃO CIENTÍFICA

#### Participação em Projetos de Pesquisa

#### 03/2008 - 12/2008 Iniciação Científica

Título: "Desenvolvimento de sensor nanoestruturado para detecção de peróxido de hidrogênio"

Orientadora: Profa. Dra. Helena Shizuko Nakatani. Co-orientador: Prof. Dr. Vagner Roberto de Souza.

Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, PR.

#### 03/2006 - 02/2007 Iniciação Científica

Título: "Estudo eletroquímico e espectrofotométrico de complexos de Cu(II) ancorados na superfície de sílicas modificadas com grupo amino"

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Lazara Sernaglia.

Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, PR.

#### **Trabalhos Científicos Apresentados em Congresso**

- 1. C. C. Correa, M. Santhiago, C.C.C. Silva, A. L. B. Formiga, L. T. Kubota. "Síntese e caracterização eletroquímica de MWCNTs poli(2-metoxi-4-vinilfenol)."34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, SBQ, Florianópolis-SC, maio de 2011.
- 2. C. C. Silva, M.Santhiago, C. C. Corrêa, L. T. Kubota. "Construction of a new functional platform by grafting poly(4- vinylpyridine) in MWCNTs for chelating metal ions". IX Encontro da SBPMat em Ouro Preto M.G, outubro de 2010.
- 3. C. C. C. Silva, A. L. A. Parussulo, V. R. Souza, H. S. Nakatani. "Extrato enzimático aliado às nanopartículas de prata para detecção de peróxido de hidrogênio". XVI Encontro de Química da Região Sul, Blumenau SC, novembro de 2008.
- 4. C.C.C. Silva, V.S. Oliveira, J. M. Pardo, R. C. Santana, E. I. S. Andreotti, R. L. Sernaglia. "Adsorção de um complexo de Cu(II) num ambiente de coordenação quadrado planar em aminas aromáticas ancoradas na superfície de sílica gel". XV EAIC Encontro Anual de Iniciação Científica, Ponta Grossa PR, agosto de 2006.

#### **OUTROS**

08/2009-12/2009 Bolsista do Programa de Estágio Docente – PED. Modalidade C.

Disciplina: QA282 - Química Clássica

Supervisor: Prof. Dr. Célio Pasquini.

Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, SP.

02/2006-12/2008 Bolsista do Programa de Educação Tutorial - PET.

Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, PR.

Órgão Financiador: MEC/SESu.

#### PREMIAÇÕES ACADÊMICAS

Melhor Painel de Química Analítica e Ambiental do XVI Encontro de Química da Região Sul, Blumenau, SC, 2008.

Entidade Promotora: SBQ-Sul.

#### **RESUMO**

**Título:** "Construção de uma plataforma funcional para detecção amperométrica de cisteína"

**Autora**: Cecília de Carvalho Castro e Silva **Orientador**: Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota

**Palavras-chave**: Eletrodo modificado, nanocompósito, sensor amperométrico e cisteína.

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um sensor amperométrico para detecção eletrocatalítica de cisteína, através da construção de uma plataforma funcional para a complexação de íons cobre. O material base desta plataforma foi um nanocompósito obtido por meio da modificação de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) com poli(4-vinilpiridina) PVP, através uma reação de polimerização in situ. Foi realizada uma otimização multivariada. empregando um planejamento composto central de face centrada, para a modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV), sendo a condição ótima obtida quando se utiliza concentração da dispersão de nanocompósito de MWCNTs-PVP de 6,00 mg L<sup>-1</sup>, concentração da solução CuCl<sub>2</sub> de 50 mmol L<sup>-1</sup> e tempo de complexação dos íons cobre de aproximadamente 83 minutos. A plataforma foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX), espectroscopia de impedância de eletroquímica (EIE), cronoamperometria e voltametria cíclica. Os valores da constante heterogênea de transferência de elétrons ( $k_s$ ) e da constante cinética da reação entre os íons  $Cu^{2+}$ - cisteína ( $k_{obs}$ ) foram 5,78 s<sup>-1</sup> e 6,96 x 10<sup>3</sup> L mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> respectivamente. A curva analítica apresentou uma faixa linear de 5 a 60 umol L<sup>-1</sup> para a detecção de cisteína. Já os limites de detecção e quantificação foram 1,50 e 5,00 µmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Além disso, o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresentou um tempo de resposta extremamente baixo, 0,10 s e quando aplicado para determinação de cisteína em amostras de suplemento alimentar apresentou resultados estatisticamente iguais em um nível de confiança de 95% com os resultados obtidos pelo método oficial.

#### **ABSTRACT**

**Title:** "Construction of functional platform for amperometric detection of cysteine"

Author: Cecília de Carvalho Castro e Silva

Adviser: Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota

**Key-words**: Modified electrode, nanocomposite, amperometric sensor and cysteine.

This work describes the fabrication of an amperometric sensor for electrocatalytical detection of cysteine. The developed sensor is based on a functional platform for complexing copper ions on multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) modified with poly-4-vinylpyridine through an in situ reaction of polymerization. A multivariate analysis using a central composite design to investigate the surface modification of glassy carbon electrode (GCE) was employed to optimize the experimental variables. The established optimal conditions for the concentration of MWCNTs-PVP dispersed nanocomposite were, 6,00 mg L<sup>-1</sup>, 50 mmol L<sup>-1</sup> of concentration CuCl<sub>2</sub> and around 83 min. for complexation of copper ions. The platform was characterized performing scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive x-ray (EDX), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), chronoamperometry and cyclic voltammetry analyses. The obtained values for the kinetic constants for heterogeneous electron transfer rate  $(k_s)$  and for chemical reaction  $(k_{obs})$  between  $Cu^{2+}$  and cysteine were 5.78 s<sup>-1</sup> and 6.96 L mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>, respectively. The analytical curve showed a linear range for detecting cysteine in concentrations from 5 to 60 µmol L<sup>-1</sup>. The detection and quantification limits obtained were 1.50 and 5.00 µmol L<sup>-1</sup>, respectively. Moreover, the response time of the ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> sensor was 0.1 s. The application of the sensor to detect cysteine in nutritional supplement showed results statistically equal (0.95 confidence level) to those obtained with official methods.

### SUMÁRIO

LISTA DE	xxi		
LISTA DE TABELAS			
LISTA DE	LISTA DE FIGURAS		
APRESE	NTAÇÃO	xxxi	
CAP. I	INTRODUÇÃO	1	
l.1	Nanotubos de Carbono	3	
l.1.2	Propriedades dos nanotubos de carbono	4	
1.3	Modificação dos nanotubos de carbono	8	
I.3.1	Modificação não-covalente	8	
1.3.2	Modificação covalente	10	
1.3.2.1	Modificação com polímeros	11	
1.4	Complexo polímero-metal	12	
1.5	Teoria ácido e base de Pearson	16	
1.6	Íons cobre(II)	18	
I. 7	Cisteína	18	
1.8	Motivação	20	
CAP. II	OBJETIVOS	23	
II.1	Geral	25	
II.2	Específicos	25	
CAP.III	MATERIAIS E MÉTODOS	27	
III.1	Reagentes e soluções	29	

III.2	Equipamentos	29			
III.3	Limpeza do eletrodo de trabalho				
III.4	Obtenção do nanocompósito de MWCNTs com PVP	31			
III.5	Preparo do ECV modificado com MWCNTs/PVP/Cu <sup>2+</sup>	31			
III.6	Otimização multivariada da modificação da superfície do ECV com MWCNTs/PVP/Cu <sup>2+</sup>	31			
III.7	Micrografias	32			
III.8	Análise termogravimétrica (TGA)	33			
III.9	Estudos de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)	33			
III.10	Estudo da repetibilidade das determinações, do preparo e estabilidade do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup>	34			
III.11	Aplicação do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> em amostra real	34			
CAP.IV	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37			
CAP.IV	RESULTADOS E DISCUSSÃO Polimerização da PVP nos MWCNTs	37 39			
IV.1	Polimerização da PVP nos MWCNTs  Otimização multivariada da modificação da superfície do	39			
IV.1 IV.2	Polimerização da PVP nos MWCNTs  Otimização multivariada da modificação da superfície do ECV com MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raio X do	39 40			
IV.1 IV.2 IV.3	Polimerização da PVP nos MWCNTs  Otimização multivariada da modificação da superfície do ECV com MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raio X do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> Caracterização termogravimétrica do MWCNTs-	39 40 46			

Silva, C. C. C	Disserta	ção de Mestrado
IV.7	Atividade eletrocatalítica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2</sup>	61
IV.8	Estudos Cronoamperométricos	65
IV.9	Caracterização analítica	68
IV.10	Estudo de repetibilidade e tempo de vida do sensor	73
IV.11	Teste em amostra real	73
IV.12	Estudo dos interferentes na determinação de cisteína	a 74
CAP. V	CONCLUSÕES GERAIS	77
CAP.VI	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
CAP.VII	PERSPECTIVAS	89

#### LISTA DE ABREVIATURAS

**1D** Sistemas unidimensionais

A Espécie no estado oxidado

**a**<sub>1</sub> e **a**<sub>2</sub> Vetores de base da rede hexagonal do grafeno

**AIBN** 2,2'-azo-bis-isobutironitrila

Ag/AgCl Eletrodo de referência de prata/cloreto de prata

α Coeficiente de transferência de elétrons

ANOVA Análise da variância

B Espécie no estado reduzido

C Capacitância da dupla camada elétrica

Concentração de Cys (Eq. IV.4)

**C**<sub>h</sub> Vetor quiral

**CPE** Elemento de fase constante

Cys L-cisteína

**d**<sub>t</sub> diâmetro do NTC

**ΔΕ** Ep - Eo' **ΔΕρ** Epa – Epc

ΔI Delta de corrente

Δlpa cys lpa<sub>cvs</sub> - lpa<sub>branco</sub>

DMFN'N dimetil formamidaD.P.R.Desvio padrão relativo

**Eap.** Potencial aplicado

EC´ Regeneração catalítica da espécie eletroativa seguida

de uma reação química heterogênea

**ECS** Eletrodo de calomelano saturado

**ECV** Eletrodo de carbono vítreo

**ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>** ECV modificado com nanocompósito de MWCNTs-PVP e complexado com íons Cu<sup>2+</sup>

**EDX** Energia dispersiva de raio X

Eg Hiato de energia

**EIE** Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

**E**°, Potencial formal (Epa + Epc / 2)

EpaPotencial de pico anódicoEpcPotencial de pico catódico

**F** Constante de Faraday

**Gly** Glicina

**GSH** Glutationa

**HEPES** [N-(2-hidroxietil)piperazina-N-(ácido2-etanosulfônico)]

**His** DL-histidina

**HOPG** Grafite pirolítico altamente ordenado

I Corrente

Icat Corrente catalítica na presença de Cys

I<sub>L</sub> Corrente na ausência de CysIpa Corrente de pico anódica

**Ipa**<sub>branco</sub> Corrente de pico anódica na ausência de Cys

**Ipa**<sub>cvs</sub> Corrente de pico anódica referente à oxidação de Cys

**Ipc** Corrente de pico catódica

**k**<sub>obs</sub> Constante cinética da reação íons Cu<sup>2+</sup>-analito

**k**s Constante de velocidade heterogênea de transferência

de elétrons

**LbL** Layer-by-Layer

Leu DL-Leucina

**Lys** Lisina

**m** Número de prótons

**MET** Microscopia eletrônica de transmissão

MEV Microscopia eletrônica de varredura

**MWCNTs** Nanotubos de carbono de paredes múltiplas

n,mÍndices de HamadaNúmero de elétrons

η Sobrepotencial

NaDDBS Dodecilbenzeno sulfonato de sódio

NTCs Nanotubos de carbono

PAA Poli(ácido acrílico)

PIPES [Piperazina-N-N-bis[(ácido 2-etanosulfônico)]

PMMA Poli(metilmetacrilato)

PTFE Membrana de Politetrafluoretileno

**PVP** Poli(4-vinilpiridina)

**Q** Carga

R Constante universal dos gases

Resistência a transferência de carga

Rs Resistência do eletrólito+eletrodo

SAM Monocamada auto-organizada

SDS Dodecilsulfato de sódio

**SWCNTs** Nanotubos de carbono de paredes simples

t tempo

T Temperatura

 $oldsymbol{ heta}$  Ângulo quiral

 $heta_{ extsf{p}}$  Ângulo de piramidalização

 $heta_{\sigma\pi}$  Ângulo entre os orbitais  $\pi$  e as ligações  $\sigma$  adjacentes

TGA Análise termogravimétrica

**Trp** DL- triptofano

TRIS [Tris(hidroximetil) amino-metano]

VC Voltametria cíclica

v Velocidade de varredura

 $u_a$  Velocidade de varredura do processo anódico

 $u_c$  Velocidade de varredura do processo catódico

W Impedância de Warburg

#### **LISTA DE TABELAS**

Tabela I.1	Exemplos de monômeros que podem ser empregados na obtenção de complexos polímero-metal.	15
Tabela I.2	Classificação de alguns ácidos e bases de Lewis.	17
Tabela III.1	Parâmetros avaliados no planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> e seus níveis.	32
Tabela IV.1	Valores obtidos de Ipa ( $\mu A$ ) do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> para o planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> .	40
Tabela IV.2	Parâmetros eletroquímicos e cinéticos de alguns eletrodos modificados.	54
Tabela IV.3	Valores de $R_{\text{TC}}$ obtidos para cada etapa de modificação do ECV.	60
Tabela IV.4	Condições experimentais e parâmetros analíticos para determinação de cisteína de alguns eletrodos modificados relatados na literatura.	72
Tabela IV.5	Determinação de cisteína em cápsulas de suplemento alimentar.	73

#### **LISTA DE FIGURAS**

Figura I.1	Principais vetores que caracterizam os NTCs a partir de um plano hexagonal de carbono (A) e exemplos de estruturas para SWCNTs: (i) (n,n) armchair, (ii) (n,0) zigzag e (iii) (n,m) quiral (B).				
Figura I.2	Diagrama mostrando os ângulos de piramidalização $(\theta_p)$ os ângulos entre as ligações $\sigma$ e ð $(\theta_{\sigma\pi})$ em átomos de carbono com geometria trigonal plana <b>(A)</b> e tetraédrica <b>(B)</b> Figura adaptada da referência [14].				
Figura I.3	Planos edge e basal em camadas de grafite (A) e em MWCNTs (B). Figura adaptada da referência [21].				
Figura I.4	Representação esquemática da funcionalização não- covalente nos NTCs, <b>(A)</b> por ação dos surfactantes e <b>(B)</b> envolvimento por polímeros. Figura adaptada da referência [25]	9			
Figura I.5	Representação da funcionalização covalente nos NTCs. Figura adaptada da referência [25].	10			
Figura I.6	Diferentes formas de ligação dos íons metálicos em complexos polímero-metal.	14			
Figura I.7	Estrutura molecular da L-cisteína.	19			
Figura III.1	Circuito do tipo Randles.				
Figura IV.1	Obtenção dos MWCNTs-PVP.	39			
Figura IV.2	Gráfico de distribuição normal dos efeitos para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> para a resposta lpa / μA	41			
Figura IV.3	Superfície de resposta obtida para a variação de lpa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl <sub>2</sub> ] e tempo de complexação dos íons cobre nível mínimo = 10 min.	42			
Figura IV.4	Superfície de resposta obtida para a variação de Ipa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl <sub>2</sub> ] e tempo de complexação dos íons cobre nível máximo = 45 min.	42			

Figura IV.5	Superfície de resposta obtida no novo planejamento fatorial para a variação de lpa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl <sub>2</sub> ] e tempo de complexação dos íons cobre (ponto central = 82,5 min).	43		
Figura IV.6	Representação do planejamento composto central de face centrada com os parâmetros avaliados e seus níveis.			
Figura IV.7	Superfície de resposta obtida para o planejamento composto central de face centrada para log lpa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl <sub>2</sub> ] e tempo de complexação dos íons cobre (ponto central = 82,5 min).	45		
Figura IV.8	Micrografia da superfície de carbono vítreo modificada com MWCNTs. Ampliação de 50000 vezes (A) e espectro de EDX para a superfície MWCNTs (B).	46		
Figura IV.9	Micrografia da superfície de carbono vítreo modificada com MWCNTs-PVP. Ampliação de 50000 vezes (A) e espectro de EDX para a superfície MWCNTs-PVP (B).	47		
Figura IV.10	Micrografia da superfície de carbono vítreo modificada com MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> . Ampliação de 50000 vezes <b>(A)</b> e espectro EDX para a superfície MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> <b>(B)</b> .	47		
Figura IV.11	Micrografia do perfil do filme de MWCNTs-PVP sobre o ECV. Ampliação de 1000 vezes. Micrografia inserida, ampliação de 8500 vezes.	48		
Figura IV.12	Curvas termogravimétricas para MWCNTs, MWCNTs-PVP e MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> . Taxa de aquecimento a 10 °C min <sup>-1</sup> , em atmosfera oxidante.	49		
Figura IV.13	Curvas termogravimétricas para MWCNTs, MWCNTs-PVP e MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> . Taxa de aquecimento a 10 °C min <sup>-1</sup> , em atmosfera de Ar <sub>(g)</sub> .	49		
Figura IV.14	Voltamogramas cíclicos obtidos pelo ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> em várias velocidades de varredura (10-850 mV s <sup>-1</sup> ), varredura sentido anódico. Eletrólito de suporte tampão fosfato de potássio 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0.Gráfico de lp <i>vs</i> v <b>(A)</b> e gráfico de Laviron <b>(B)</b> .	52		
Figura IV.15	Influência do pH da solução no valor do potencial formal <b>(A)</b> e da corrente de pico anódico <b>(B)</b> no ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> a partir de voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> e $v = 30$ mV s <sup>-1</sup> .	55		

Figura IV.16	Efeito do eletrólito de suporte no valor de Ipa para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu $^{2+}$ . Concentração dos eletrólitos suporte 0,1 mol L $^{-1}$ , pH 7,0 a $\nu$ = 30 mV s $^{-1}$ .	57
Figura IV.17	Estrutura molecular dos eletrólitos de suporte avaliados na caracterização analítica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> .	57
Figura IV.18	Influência da concentração do tampão fosfato de potássio no valor de Ipa para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> . pH 7,0 a 30 mV s <sup>-1.</sup>	58
Figura IV.19	Diagrama de Nyquist obtido para o ECV, ECV/MWCNTs e ECV/MWCNTs-PVP (A) e ECV/PVP (B), em 5 mmolL <sup>-1</sup> de K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]/K <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] em KCl 0,1mol L <sup>-1</sup> . Faixa de frequência 10 <sup>-2</sup> a 10 <sup>5</sup> Hz, 5 mV de amplitude de pulso. Potencial aplicado: 178; 178,5; 181 e 181 mV vs ECS respectivamente Insert (A): ampliação do gráfico de Nyquist.	59
Figura IV.20	Influência do pH sobre a corrente catalítica de 0,80 mmol L <sup>-1</sup> de cisteína do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> .	63
Figura IV.21	Voltamogramas cíclicos obtidos para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> , na ausência <b>(A)</b> e na presença de 0,80 mmol L <sup>-1</sup> de cisteína <b>(B)</b> . Estudo realizado em solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0 e $\nu$ = 5 mv s <sup>-1</sup> .	63
Figura IV.22	Voltamogramas cíclicos (referentes à 2ª varredura) obtidos em solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L <sup>-1</sup> pH 7,0 na ausência (—) e na presença de Cys 0,1 mmol L <sup>-1</sup> (—) à 5 mV s <sup>-1</sup> para o ECV/Cu <sup>2+</sup> (A), ECV/MWCNTs (B), ECV/MWCNTs/Cu <sup>2+</sup> (C), ECV/PVP/Cu <sup>2+</sup> (D) e ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> (E).	64
Figura IV.23	Cronoamperogramas obtidos em solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L <sup>-1</sup> pH 7,0: (a) branco, (b) 0,320, (c) 0,637, (d) 1,264 e (e) 2,186 mmol L <sup>-1</sup> de cisteína.	66
Figura IV.24	Ilustração para o processo das reações que ocorrem na superfície do ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> na presença de cisteína.	67
Figura IV.25	Gráfico de $I_{cat}$ / $I_{L}$ vs. $t^{1/2}$ (A) e gráfico obtido a partir dos coeficientes angulares das retas obtidas em (A) vs. [Cys] <sup>1/2</sup> (B).	68

Figura IV. 26	Influência do potencial aplicado (Eap.) sobre a resposta cronoamperométrica (ΔI) para detecção de 10 μmol L <sup>-1</sup> de cisteína para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> , n= 3.			
Figura IV.27	Resposta cronoamperométrica observada após sucessivas adições de uma solução estoque de cisteína 2,0x10 <sup>-3</sup> mo L <sup>-1</sup> em 10 mL de solução tampão fosfato de potássio 0, mol L <sup>-1</sup> pH 7,0. Eap: 150 mV <i>vs</i> ECS. Velocidade de agitação = 250 r.p.m.			
Figura IV.28	Dependência do $\Delta I$ em relação à concentração de cisteína, obtida por cronoamperometria com o ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> desenvolvido. Tampão fosfato de potássio 0,1 mol L <sup>-1</sup> , pH 7,0.	71		
Figura IV.29	Resposta cronoamperométrica observada para 5 $\mu$ mol L <sup>-1</sup> de Cys na ausência e na presença de 5 $\mu$ mol L <sup>-1</sup> das espécies His, Lys Gly,GSH, Trp e Leu, em 10 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L <sup>-1</sup> pH 7,0. Eap: 150 mV $vs$ ECS. Velocidade de agitação = 250 r.p.m.	74		
Figura IV.30	Estrutura molecular das espécies avaliadas como interferentes na determinação amperométrica de cisteína com ECV/MWCNTs-PVP/Cu <sup>2+</sup> .	75		

#### **APRESENTAÇÃO**

Ao longo das últimas décadas os nanomaterias vêm despertando um crescente interesse em inúmeras áreas científicas. Neste contexto, as propriedades únicas dos nanotubos de carbono têm oferecido grandes possibilidades para melhoria das propriedades elétricas e químicas dos materiais utilizados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Tal possibilidade poderá ser observada neste trabalho, onde um nanocompósito de nanotubos de carbono-polímero será utilizado para modificação de eletrodos de carbono vítreo, construindo uma plataforma funcional para complexação de íons metálicos, visando melhorar as propriedades interfaciais do eletrodo e ainda obter assim um sensor sensível e seletivo a detecção de moléculas de interesse biológico. Diante disso, o presente trabalho foi dividido em capítulos no sentido de abordar detalhadamente a obtenção da plataforma funcional e sua aplicação como sensor amperométrico.

O primeiro capítulo abordará uma pequena introdução sobre as propriedades dos nanotubos de carbono, estratégias adotadas para sua modificação, a utilização de nanocompósitos poliméricos para construção de plataformas de complexação de íons metálicos, a importância em se determinar o analito selecionado e por fim a motivação para o desenvolvimento deste trabalho.

No segundo capítulo são apresentados os objetivos do presente trabalho e no terceiro os reagentes e equipamentos empregados, a síntese do nanocompósito e metodologia aplicada para a modificação do eletrodo e condições experimentais adotas nos ensaios de caracterização e avaliação do seu desempenho.

O quarto capítulo abordará os resultados referentes à obtenção do nanocompósito e construção, caracterização, estudo das propriedades eletrocatalíticas e aplicação de uma plataforma funcional de complexação de íons cobre como sensor amperométrico para a detecção de cisteína.

Os últimos capítulos serão destinados às conclusões gerais, referências bibliográficas e perspectivas deste trabalho.

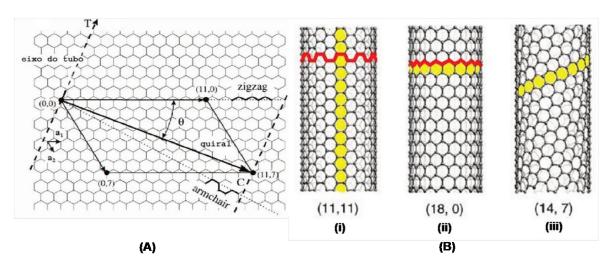
## CAPÍTULO I INTRODUÇÃO

#### I.1 Nanotubos de Carbono

Desde a publicação de lijima [1], os nanotubos de carbono (NTCs) têm despertado um considerável interesse por ambas comunidades, científica e tecnológica [2-4]. Estes materiais são diferenciados por possuírem diâmetros muito pequenos, podendo chegar a 0,4 nm, contendo assim, até 10 átomos de carbono em torno de sua circunferência, e em alguns casos os tubos podem ter a espessura de até um átomo apenas. A razão de aspecto (comprimento/diâmetro) pode ser muito grande (maior até que 10<sup>4</sup>), desta forma os NTCs podem ser considerados sistemas unidimensionais (1D) [5].

Um NTC é conceitualmente constituído por uma folha de grafeno enrolada de forma cilíndrica [6]. Sendo assim, apresentam em sua estrutura intrínseca, átomos de carbono ligados entre si em uma hibridização sp², formando uma rede hexagonal [7]. Os NTCs podem ser classificados quanto ao número de camadas de folhas de grafeno do qual são constituídos, podendo ser nanotubos de carbono de parede única (do inglês, SWCNTs) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (do inglês, MWCNTs). O comprimento dos NTCs pode variar de algumas centenas de nanômetros a vários micrômetros, e o diâmetro de 0,4-2 nm para os SWCNTs e 2-100 nm para MWCNTs [8].

A maioria das propriedades dos SWCNTs e MWCNTs dependem dos seus diâmetros,  $d_t$ , e ângulos quirais ( $\theta$ ) e especialmente as propriedades eletrônicas, pois a maneira com que a camada de grafeno foi enrolada influencia diretamente na posição das bandas de valência e condução das nanoestruturas [9]. Assim, um NTCs pode ser construído a partir de uma folha de grafeno enrolada de tal forma que coincidam dois sítios cristalograficamente equivalentes de sua rede hexagonal. O vetor  $C_h$  chamado quiral, que define a posição relativa dos dois sítios é definido mediante dois números inteiros (n,m) e pelos vetores de base ( $a_1$  e  $a_2$ ) da rede hexagonal do grafeno ( $C_h = na_1 + ma_2$ ) como mostrado na **Figura I.1(A).** Estes dois parâmetros resultam dos chamados índices de Hamada (n,m). [10].



**Figura I.1.** Principais vetores que caracterizam os NTCs a partir de um plano hexagonal de carbono **(A)** e exemplos de estruturas para SWCNTs: (i) (n,n) *armchair*, (ii) (n,0) *zigzag* e (iii) (n,m) *quiral* **(B)**.

Dependendo dos valores relativos do par (n, m), os NTCs podem ser: armchair (n = m), zig-zag (n, m = 0), ou quiral  $(n \neq m \neq 0)$  e estão definidos pelo ângulo de quiralidade  $\theta$ . Se  $\theta$  varia de 0 a 30° podem ser gerados tubos partindo do tipo zig-zag até o armchair como limites, passando pelos tubos quirais. As três variedades de SWCNTs são ilustradas na **Figura I.1 (B)**.

#### I.1.2 Propriedades dos nanotubos de carbono

Como resultado das características estruturais singulares dos NTCs, estes apresentam propriedades elétricas, mecânicas, químicas e eletroquímicas diferenciadas. Por exemplo, os SWCNTs têm propriedades eletrônicas excepcionais. Em função dos índices de Hamada (n,m), um NTC é considerado metálico quando n-m é múltiplo de 3, em caso contrário é semicondutor. Todos os nanotubos do tipo armchair são metálicos, enquanto que os zig-zag e quiral podem ser metálicos ou semicondutores. Através da relação Eg = 0.8 eV  $/ d_t$ , onde  $d_t$  é o diâmetro do NTC é possível realizar uma aproximação do hiato de energia (do inglês, bandgap) (Eg) dos NTCs semicondutores. Portanto, quanto maior o diâmetro, maior será o comportamento metálico dos NTCs. Além disso, eles podem se comportar como fios quânticos devido aos efeitos de confinamento,

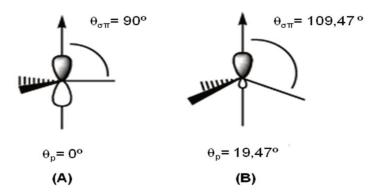
podendo exibir um transporte elétrico balístico, onde o caminho livre médio dos elétrons pode ser de vários micrômetros, sendo assim, capazes de conduzir densidades de corrente elevadas. Por exemplo, os NTCs têm demonstrado suportar densidades de corrente até 10<sup>9</sup> A / cm<sup>2</sup>, sendo este valor cerca de 2 a 3 ordens de magnitude maior do que em metais como o Al ou Cu [11,12].

Igualmente importantes, as propriedades mecânicas dos nanotubos de carbono também têm sido amplamente investigadas, seja teórica ou experimentalmente. Neste contexto, a observação direta destas nanoestruturas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) tem mostrado que os nanotubos de carbono com pequenos diâmetros apresentam elevada flexibilidade mecânica. Como resultado, estes materiais podem ser dobrados ou enrolados sem sofrer fraturas [13]. Consequentemente, devido as suas propriedades mecânicas e eletrônicas singulares os NTCs podem ser utilizados em diferentes configurações para o desenvolvimento dos mais variados dispositivos físicos e químicos.

Especificadamente, as propriedades químicas dos NTCs estão relacionadas à sua reatividade química, sendo que esta é governada pela estrutura atômica local. Por exemplo, os NTCs, o grafeno e o fulereno são todos constituídos pelo mesmo elemento básico (carbono), porém, eles possuem reatividades químicas ligeiramente diferentes. Logo, a reatividade química de um NTC é maior do que a de uma folha de grafeno, mas menor quando comparada à de um fulereno. Tal comportamento pode estar intimamente relacionado à curvatura da superfície do carbono, dos NTCs e à maior tensão gerada pela geometria esférica nos fulerenos [14,15].

Portanto, a reatividade química para sistemas de carbono tensionados surge de dois fatores. O primeiro é a curvatura induzida por piramidalização em átomos de carbono e o segundo, o desalinhamento de orbitais  $\pi$  entre átomos de carbono adjacentes [7]. A curvatura induzida por piramidalização é proveniente dos ângulos de piramidalização ( $\theta_p$ ), que são definidos pelo ângulo entre os orbitais  $\pi$  e as ligações  $\sigma$  adjacentes ( $\theta_{\sigma\pi}$ ) menos  $90^{\circ}$  ( $\theta_p = \theta_{\sigma\pi} - 90^{\circ}$ ). Desse modo,  $\theta_p$ , têm sido amplamente utilizado para avaliar a energia de deformação em sistemas  $\pi$  não planares [16]. Por exemplo, para um átomo de carbono com hibridização sp $^2$ 

(geometria trigonal plana) a planaridade é preferida e isto implica em um  $\theta_p$  de  $0^\circ$ , já para um átomo de carbono com hibridização sp<sup>3</sup> (geometria tetraédrica) é necessário um  $\theta_p$  de aproximadamente 19,5 $^{\circ}$ , conforme ilustrado na **Figura I.2**. Os átomos de carbono em um fulereno possuem um  $\theta_p$  de 11,6°, portanto uma geometria tetraédrica é mais apropriada do que uma trigonal plana, sendo assim, há uma liberação de energia de tensão piramidal quando estes sofrem reações de adição. Desse modo, as reações de adição em fulerenos são energeticamente favoráveis porque a conversão de um átomo de carbono com hibridização sp<sup>2</sup> para sp<sup>3</sup> alivia a alta tensão nas ligações provocada pela sua geometria esférica no ponto onde foi realizada a conversão. Já para os NTCs, a tensão de piramidalização não contribui tanto para a reatividade química desses materiais, já que o  $\theta_p$ , no caso de SWCNTs, é de aproximadamente 3,0°, porém o desalinhamento dos orbitais π provoca uma maior influência. Este desalinhamento associado com ligações em um ângulo da circunferência do tubo (por exemplo. ligações que não são paralelas nem perpendiculares ao eixo do tubo) é a origem da tensão torsional nos NTCs e o alívio dessa tensão é adquirido à medida em que ocorrem reações de adição nos NTCs. Como o desalinhamento dos orbitais π e o ângulo de piramidalização são inversamente proporcionais ao diâmetro, quanto menor o diâmetro do NTC maior será a sua reatividade química [14,16].



**Figura I.2.** Diagrama mostrando os ângulos de piramidalização  $(\theta_p)$  e os ângulos entre as ligações  $\sigma$  e ð  $(\theta_{\sigma\pi})$  em átomos de carbono com geometria trigonal plana **(A)** e tetraédrica **(B)**. Figura adaptada da referência [14].

Como já mencionado anteriormente, a reatividade química dos NTCs depende da sua estrutura local. Desse modo, as extremidades dos tubos são mais

reativas do que as suas paredes laterais devido à alta energia das ligações erráticas (do inglês, *dangling bonds*) presentes nos átomos de carbono periféricos [4].

Com o propósito de melhor entender as propriedades eletrocatalíticas dos NTCs, alguns pesquisadores têm comparado o comportamento redox de inúmeras espécies sobre eletrodos de grafite pirolítico altamente ordenado (do inglês *Highly* Oriented Pyrolytic Graphite (HOPG)), visto que um grande número de trabalhos associa os efeitos eletrocatalíticos dos NTCs à presença de grupos químicos típicos destes planos (edge e basal). O plano basal do HOPG engloba todos os carbonos de uma folha de grafite, enquanto que o plano edge corresponde ao eixo perpendicular ao plano basal, conforme mostrado na Figura I.3 (A). O plano basal de um HOPG é atomicamente ordenado, apresenta uma maior resistência eletrônica e é quimicamente mais inerte que o plano edge [17-19]. Foi demonstrado que o plano basal do HOPG apresenta cinética de transferência de elétrons lenta, enquanto os sitios reativos dos planos edge pode aumentar a taxa de transferência eletrônica em quase cinco ordens de magnitude. Esta mesma anisotropia eletroquímica também pode ser esperada para os NTCs. As extremidades abertas dos NTCs assemelham-se ao plano edge, enquanto as paredes laterais do tubo assemelham-se ao plano basal dos HOPGs. Assim, segundo Banks et al [20], a base da natureza eletrocatalítica dos NTCs reside na transferência eletrônica a partir de suas extermidades. A Figura I.3 (B) ilustra os planos edge e basal em um MWCNTs.

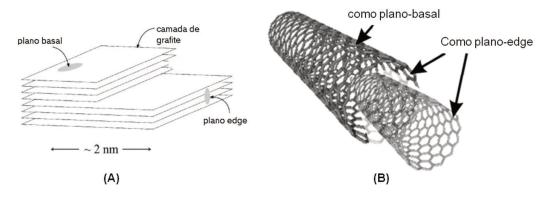


Figura I.3. Planos edge e basal em camadas de grafite (A) e em MWCNTs (B). Figura adaptada da referência [21].

As propriedades eletroquímicas dos NTCs vão além das apresentadas devido ao comportamento de suas extremidades serem semelhante aos do plano edge em HOPG. Devido ao seu tamanho nanométrico os NTCs podem ser manipulados para projetar novas arquiteturas de eletrodos ou para amplificação de sinais. Sendo ainda que devido à sua elevada área superficial, estes materiais podem ser empregados na modificação de eletrodos, aumentando as correntes de espécies eletroativas, além de permitir a imobilização de complexos metálicos, enzimas, antígenos e outras espécies de interesse em suas superfícies [22-24].

## 1.3 Modificação dos nanotubos de carbono

O emprego dos NTCs no desenvolvimento de sensores eletroquímicos muitas vezes implica em sua modificação. Essa modificação busca contornar um dos problemas encontrados na manipulação dos NTCs, que é a dificuldade em dispersá-los, principalmente em meio aquoso, já que os nanotubos formam aglomerados devido às interações de van der Waals existentes entre eles [25]. Além disso, a modificação dos NTCs pode facilitar a interação destes com moléculas orgânicas e biológicas e possibilitar a imobilização de complexos metálicos, biomoléculas, entre outros, garantindo a estes materiais propriedades diferenciadas. Neste sentido, existem basicamente dois tipos de modificações que os NTCs podem sofrer: as modificações não-covalentes e as covalentes [7,26].

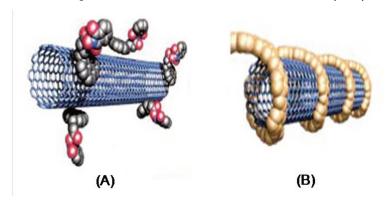
# I.3.1 Modificação não-covalente

A funcionalização não-covalente é particularmente atraente devido à possibilidade de adsorção de vários grupos na superfície dos NTCs sem ocasionar em uma mudança nas propriedades eletrônicas dos mesmos, uma vez que a estrutura sp $^2$  e a conjugação dos átomos de carbono são conservadas [6]. Este tipo de funcionalização ocorre com base nas interações de van der Waals,  $\pi$ - $\pi$ , CH- $\pi$ , e outras interações entre a parte hidrofóbica das moléculas adsorvidas e as paredes laterais dos NTCs. Além da inserção de grupos de interesse na superfície

dos NTCs, estas modificações promovem uma melhor dispersão destes materiais em meio aquoso devido às interações das partes hidrofílicas das moléculas adsorvidas com o solvente [27].

Dentre os muitos exemplos de funcionalização não-covalente dos NTCs presentes na literatura, destacam-se as modificações com surfactantes, biomacromoléculas ou envolvimento por polímeros [28].

Os NTCs podem ser bem dispersos em meio aquoso através do uso de surfactantes aniônicos, catiônicos e não-iônicos [29]. Surfactantes aniônicos como o dodecilsulfato de sódio (SDS) e dodecilbenzeno sulfonato de sódio (NaDDBS) são comumente empregados para diminuir a agregação dos NTCs em água [30,31]. A funcionalização dos NTCs com biomacromoléculas tem sido de particular interesse, já que possibilita a utilização destes materiais na construção de biossensores. Alguns trabalhos mostram que o DNA interage muito bem com os NTCs, formando compósitos uniformes [32]. Já o envolvimento dos NTCs por polímeros foi recentemente estendido aos biopolímeros, incluindo a quitosana, sulfato de condroitina e ácido hialurônico. Dessa forma, biomoléculas de interesse, como os anticorpos, podem ser posteriormente ancoradas a esses biopolímeros envoltos aos NTCs [33-35]. A **Figura 1.4** ilustra a funcionalização não-covalente nos NTCs por meio da ação de surfactantes e envolvimento por polímeros.



**Figura I.4**. Representação esquemática da funcionalização não-covalente nos NTCs, **(A)** por ação dos surfactantes e **(B)** envolvimento por polímeros. Figura adaptada da referência [25]

A principal desvantagem da funcionalização não-covalente é que as interações entre as moléculas e os NTCs são mais fracas, ocasionando uma baixa

estabilidade nas dispersões dos NTCs e podendo diminuir a eficiência da transferência de carga em nanocompósitos poliméricos com NTCs [36].

#### I.3.2 Modificação covalente

Embora as extremidades dos NTCs apresentem uma reatividade química maior do que suas paredes laterias, os locais de defeito em suas paredes (devido à preseça de aneis de carbono de cinco ou sete membros, átomos de carbono com hibridização sp<sup>3</sup> e grupos fucionais ricos em oxigênio (-COOH e -OH) em sua estrutura) também constituem sítios reativos [7]. Assim, a funcionalização covalente pode ser realizada por qualquer modificação nos grupos funcionais ricos em oxigênio dos NTCs ou por uma adição direta de reagentes às suas paredes. Mais grupos funcionais como (-COOH, -C=O e -OH) podem ser criados nos locais de defeito dos NTCs por ação de agentes oxidantes fortes como ácidos sulfúrico e nítrico concentrados e soluções ácidas de peróxido de hidrogênio e de permanganato de potássio [37]. A presença de grupos carboxílicos na superfície dos NTCs é mais conveniente do que a de outros grupos, pois uma variedade de reacões químicas e imobilização de biomoléculas podem ser realizadas a partir deles [25]. Já os reagentes que podem ser adicionados diretamente às paredes dos NTCs são flúor, radicais arila, grupos alguil, carbenos, entre outros [38-40]. A Figura I.5 representa a funcionalização covalente nos NTCs.



**Figura I.5**. Representação da funcionalização covalente nos NTCs. Figura adaptada da referência [25]

As modificações químicas melhoram a solubilidade e processabilidade dos NTCs e garantem dispersões estáveis por longos períodos de tempo, mas também alteram a estrutura e as propriedades eletrônicas dos mesmos, devido à

destruição parcial do sistema  $\pi$  conjugado dos átomos de carbono, que passam de uma hibridização sp<sup>2</sup> para sp<sup>3</sup> [41].

Neste âmbito, uma estratégia de funcionalização covalente menos agressiva que vem sendo amplamente adotada é a modificação covalente com polímeros, mais conhecida como processo de enxertia (do inglês, "grafting") [42,43].

## I.3.2.1 Modificação com polímeros

Existem basicamente dois métodos para realizar a ligação covalente de polímeros sobre a superfície dos NTCs, que são definidos como "grafting to" e "grafting from" [37]. O primeiro envolve a síntese de um polímero com massa molecular específica e com grupos terminais reativos em sua cadeia ou precursores radicalares. Em uma reação subsequente, a cadeia do polímero é ligada à superfície dos nanotubos por reações de adição, como amidação esterificação, reações radicalares, entre outras. Uma desvantagem desse método é que o teor de polímero enxertado é limitado devido à reatividade relativamente baixa e elevado impedimento estérico dessas macromoléculas. Em comparação, o método "grafting from" envolve o crescimento de polímeros sobre a superfície dos NTCs por meio de uma reação de polimerização *in situ* de monômeros iniciada por espécies químicas (precursores radicalares) imobilizadas nas paredes laterais e extremidades dos NTCs. A grande vantagem deste método é a possibilidade de controlar a taxa de polimerização, através da razão monômero e precursor radicalar empregada, podendo obter assim nanocompósitos com elevada densidade de polímero e com os NTCs bem dispersos e aderidos na matriz polímerica [44].

Como mencionado anteriormente no item **I.1** devido às dimensões nanométricas dos NTCs, estes materiais apresentam uma elevada área superficial, alta razão de aspecto, além de outras propriedades físicas e químicas extraordinárias que os tornam ideais para o preenchimento de matrizes poliméricas conferindo assim, novas funcionalidades a estes nanocompósitos.

Desse modo, os NTCs garantem uma estrutura reforçada aos nanocompósitos poliméricos (devido à alta rigidez e resistência à tração) e uma notável condutividade [45].

Diante do exposto, a obtenção de nanocompósitos de NTCs-polímeros demonstra-se muito atrativa e o método de "grafting from" torna-se uma ferramenta ideal para síntese desses materiais. Jia et al. [46], foram pioneiros na síntese de um nanocompósito de CNTs-poli(metilmetacrilato) (PMMA) utilizando como iniciador radicalar o 2,2'-azo-bis-isobutironitrila (AIBN). Os pesquisadores obtiveram através deste método uma forte interação dos NTCs com a matriz polimérica do PMMA. Já Kong et al. [47], empregaram a metodologia para obter MWCNTs funcionalizados com 55% de poli(ácido acrílico) (PAA) e exploraram os MWCNTS-PAA através de um sistema de deposição eletrostática camada por camada (do inglês, layer-by-layer (LbL)), obtendo superfícies muito lisas e uniformes.

Assim, dependendo do tipo de monômero utilizado nas reações de polimerização *in situ* na presença dos NTCs, existe a possibilidade do emprego destes nanocompósitos formados na construção de plataformas para complexação de íons metálicos, formando assim um complexo polímero-metal.

# I.4 Complexo polímero-metal

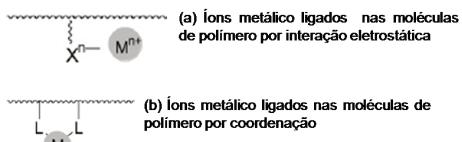
Complexos polímero-metal tornaram-se destaque em pesquisas durante as últimas quatro décadas devido ao seu potencial de aplicação em diversas áreas como síntese orgânica, tratamento de águas residuais, hidrometalurgia, polímeros para liberação controlada de fármacos, recuperação de íons metálicos em concentração traços, além de serem usados também como modelos para as enzimas [48-52].

Um complexo polímero-metal é caracterizado como sendo o resultado de uma interação ácido-base entre os "sítios" básicos da cadeia polimérica e íons metálicos, através da formação de ligações coordenadas. O complexo polímero-metal pode ser preparado pela complexação entre o grupo funcional ancorado em

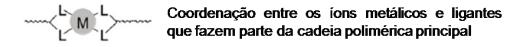
uma matriz polimérica e um íon metálico de interesse, resultando em um polímero orgânico com funções inorgânicas. Desse modo a formação de um complexo polímero-metal pode acarretar a este material novas propriedades como alta eficiência catalítica, comportamento elétrico de um semicondutor, resistência térmica, entre outras [53].

Algumas vezes, a estrutura de coordenação nos complexos polímero-metal pode não ser bem definida e as interações entre o polímero e os íons metálicos podem ser favorecidas e/ou desfavorecidas por efeitos estéricos ou conformacionais da própria cadeia polimérica [53]. De acordo com Ciardelli *et al.* [54], os íons metálicos podem estar ligados ao polímero não só pelo estabelecimento de ligações coordenadas, mas também através de outras interações. Portanto foi proposto pelos autores uma classificação dos tipos de ligações e interações que podem ocorrer (**Figura I.6**). No tipo I, os íons metálicos estão ligados através de grupos pendentes na cadeia lateral do polímero pelo estabelecimento de interações eletrostáticas e ligações coordenadas com estes grupos. Já no tipo II, os íons metálicos se coordenam a ligantes que fazem parte da cadeia principal polimérica. Por fim, no tipo III, os íons metálicos estão incorporados à matriz polimérica por uma interação física.

# Tipo I. Íons metálicos ligados à cadeia ou superfície das moléculas de polímero



#### Tipo II. Íons metálicos fazem parte da cadeia ou rede polimérica



Tipo III. Íons metálicos interagindo fisicamente com as moléculas de polímero



Figura I.6 Diferentes formas de ligação dos íons metálicos em complexos polímero-metal.

Há uma variedade muito grande de monômeros que podem ser utilizados na síntese de polímeros visando a formação de complexos polímero-metal. A **Tabela I.1** apresenta alguns exemplos, onde é possível visualizar que todos os monômeros possuem grupos que atuam como doadores de elétrons em ligações coordenadas [53,55]. Assim, dependendo do tipo de íon metálico que se deseja ter na composição do complexo polímero-metal, é determinado o monômero empregado na síntese do polímero, sendo que a teoria de ácido e base de Pearson [56], pode ser uma ferramenta muito útil neste processo de escolha.

**Tabela I.1**. Exemplos de monômeros que podem ser empregados na obtenção de complexos polímero-metal.

Grupo coordenante	Monômero
Álcoois -OH, ácidos carboxílicos -COOH	- CH <sub>2</sub> - CH , -CH <sub>2</sub> - C -, -CH- CH-, -CH- CH-, -N CH <sub>2</sub> COOH OH COOH COOH OH OH CH <sub>2</sub> COOH
Tióis -SH	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
Aminas -NH <sub>2</sub> , >NH, ≩N	$- CH_2 - CH - , H_2N (CH_2CH_2NH)_x CH_2CH_2NH_2 , -NHCH_2CH_2 - \\ NH_2 - CH_2 - CH \\ CH_2NHCH_2CH_2NH_2$
Nitrogênio de heterocíclicos	$-CH_{2}-CH-, -CH_{2}-CH- , -NH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CH-CH-CO- ,$ $-NH-CH-CH-CH-CH-CH-CH-CH-CH-CH-CH-CH-CH-CH$
Base de Schiff , c = N-	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

#### I.5 Teoria ácido e base de Pearson

Em 1963 Ralph Pearson [56], introduziu o conceito de ácidos e bases "duros" e "moles" para esclarecer tendências observadas em reações de compostos, segundo o conceito ácido e base de Lewis, em que:

sendo A o ácido de Lewis (espécie receptora de par de elétrons), B a base de Lewis (espécie doadora de par de elétrons) e A:B o complexo ácido-base.

Assim, Pearson classificou os ácidos e bases de Lewis em "duros" e "moles", em que ácidos "duros" são espécies que geralmente possuem o átomo receptor de elétrons com estado de oxidação elevado, elevada eletronegatividade, tamanho pequeno, não possuem elétrons externos facilmente excitados e não são polarizáveis. Já os ácidos "moles" possuem o átomo receptor de elétrons com baixo estado de oxidação, tamanho relativamente grande, baixa

eletronegatividade e possuem vários elétrons externos facilmente excitados e são polarizáveis. Nas bases "duras" o átomo doador é de baixa polarizabilidade e de elevada eletronegatividade, é difícil de se oxidar e não possuem orbitais eletrônicos vazios de baixa energia. Para as bases "moles" o átomo doador é de elevada polarizabilidade e de baixa eletronegatividade, sendo facilmente oxidado e está associado com orbitais eletrônicos vazios e de baixa energia. [57]. A **Tabela 1.2** apresenta uma classificação para alguns ácidos e bases de Lewis como "moles" e "duros".

Tabela I.2 Classificação de alguns ácidos e bases de Lewis

	"Duros"	Fronteira	"Moles"
Ácidos	H <sup>+</sup> ,Li <sup>+</sup> ,Na <sup>+</sup> ,K <sup>+</sup> Be <sup>2+</sup> ,Mg <sup>2+</sup> ,Ca <sup>2+</sup> SO <sub>3</sub> , BF <sub>3</sub>	Fe <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> Cu <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> SO <sub>2</sub> , BBr <sub>3</sub>	Cu <sup>+</sup> , Ag <sup>+</sup> , Au <sup>+</sup> Tl <sup>+</sup> , Hg <sup>+</sup> Pd <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Pt <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup> BH <sub>3</sub>
Bases	F <sup>-</sup> , OH <sup>-</sup> , H <sub>2</sub> O, NH <sub>3</sub> CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , NO <sub>3</sub> , O <sub>2</sub> <sup>-</sup> SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	$NO_{2}^{-}$ , $SO_{3}^{2}$ - $N_{3}^{-}$ $N_{2}$ $C_{6}H_{5}N$ , $SCN_{2}^{-}$	$H^{T}$ , $R^{T}$ , $CN^{T}$ , $CO$ , $SCN^{T}$ , $R_{3}P$ , $C_{6}H_{6}$ $R_{2}S$

<sup>\*</sup>O elemento sublinhado é o sítio de fixação ao qual a classificação se refere.

De acordo com o princípio de Pearson, bases "duras" preferem se coordenar com ácidos "duros", em uma interação de caráter eletrostático, enquanto que as bases "moles" coordenam-se com ácidos "moles" com interações predominantemente covalentes [57].

Dentre os ácidos e bases clasisficados como de fronteira (**Tabela I.2**), destaca-se o estabelecimento de ligações coordenadas efetivas entre os íons Cu<sup>2+</sup> e as moléculas de piridina através do átomo de nitrogênio. Desse modo, polímeros como a poli(4-vinilpiridina) (PVP) ou nanocompósitos de NTCs contendo este polímero, podem ser empregados na construção de plataformas de complexação de íons Cu<sup>2+</sup>.

# I.6 Íons cobre(II)

O ancoramento de íons cobre(II) em plataformas formadas a partir dos nanocompósitos de NTCs é de grande interesse, já que estes íons apresentam propriedades eletrocatalíticas frente a uma vasta gama de compostos orgânicos e moléculas biológicas, além de possuírem uma baixo potencial redox [58]. Devido a estas propriedades, eles se tornam excelentes candidatos para estudos eletroquímicos e modificação de eletrodos.

Baseado na teoria de Pearson [56], complexos metálicos de cobre podem interagir com moléculas que possuem em sua composição átomos de enxofre (base "mole"). Assim, estes complexos metálicos interagem com moléculas bioativas de grande importância que possuem o grupo tiol (R-SH), como a cisteína.

## I. 7 Cisteína

A cisteína é um α-aminoácido que contém em sua composição um grupo tiol, **Figura I.7**. Ela é considerada um dos aminoácidos mais importantes, já que está presente na composição do sítio ativo de muitas enzimas, peptídeos e proteínas [59]. A molécula de cisteína desempenha um papel crítico em sistemas biológicos, atuando em uma variedade de importantes funções celulares, como enovelamento de proteínas, metabolismo, desintoxicação e comunicação entre as células do sistema imunológico [60,61]. Uma ingestão dietética inadequada de cisteína pode causar inúmeros problemas clínicos, como por exemplo, danos ao fígado, lesões na pele, despigmentação do cabelo, edemas, perda de letargia de músculo e gordura, e em crianças, um crescimento lento [62,63]. Sendo assim, a cisteína é amplamente empregada na formulação de fármacos e suplementos alimentares. Portanto, a determinação sensível desta espécie é uma tarefa muito importante, tanto para finalidades clínicas quanto comerciais.

HS 
$$\stackrel{O}{\longrightarrow}$$
 OH  $\stackrel{NH_2}{\longrightarrow}$ 

Figura I.7. Estrutura molecular da L-cisteína

Muitos métodos têm sido empregados na determinação de cisteína e outros compostos contendo grupos tióis, como os espectrofotométricos, cromatográficos e eletroquímicos [64]. Conlan *et al.* [65], através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) obtiveram a determinação seletiva e sensível de cisteína no interior de células de fibras musculares multinucleadas, com um limite de detecção (L.D.) extremamente baixo, de apenas 50 nmol L<sup>-1</sup>. Porém, a metodologia utilizada pelos pesquisadores apresenta algumas desvantagens como, um elevado tempo de análise devido às etapas de pré-tratamento das amostras (processo de derivatização pré-coluna) e um alto custo, já que é necessário a utilização de um grande volume de reagentes de elevado grau de pureza.

Em contraste, os métodos eletroquímicos são caracterizados pela sua simplicidade, alta sensibilidade, boa estabilidade e baixo custo de instrumentação [66]. Contudo, o principal problema relacionado à detecção eletroquímica dos tióis em eletrodos sólidos convencionais (por exemplo: carbono vítreo e platina) é a lenta cinética de transferência de elétrons. Consequentemente um elevado sobrepotencial (η) necessita ser aplicado para que o processo de eletro-oxidação ocorra com uma taxa de transferência eletrônica conveniente, garantindo assim uma boa sensibilidade nas determinações. Além disso, o elevado sobrepotencial necessário reduz significativamente a seletividade na detecção de tióis, principalmente em amostras biológicas, provocando ainda a formação de óxidos sobre a superfície dos eletrodos e efeitos de incrustação [67].

Para superar os problemas relacionados com a detecção de cisteína em eletrodos convencionais, uma estratégia que vêm sendo adotada é a modificação de suas superfícies através da imobilização de espécies que possuem um par-

redox definido, os quais podem interagir com a cisteína provocando a sua oxidação eletrocatalítica, ocasionando assim uma diminuição do η empregado e um aumento na corrente de oxidação [68,69]. Qu et al. [70] modificaram um eletrodo de carbono vítreo (ECV) com um filme de MWCNTs em náfion e imobilizaram nanopartículas de hexacianoferrato de ítrio sobre este filme, e o empregaram para detecção eletrocatalítica de cisteína aplicando um potencial de 570 mV vs eletrodo de calomelano saturado (ECS). Os pesquisadores obtiveram um baixo limite de detecção para cisteína, sendo este de 0,16 µmol L-1, porém o eletrodo modificado apresentou uma faixa linear de apenas 0.20 - 11.4 umol L<sup>-1</sup>. Já Sattarahmady et al [71], visando a quantificação de cisteína em amostras de urina, incorporaram nanopartículas de hexacianoferrato de cobalto com uma estrutura core-shell (onde o óxido de ferro(III) é o "núcleo" (core) e o hexacianoferrato de cobalto a "casca" (shell)) em um eletrodo de pasta de carbono e obtiveram uma maior faixa linear na quantificação amperométrica de cisteína, de 5,0 - 37,0 µmol L<sup>-1</sup>, porém um potencial muito elevado ainda foi aplicado, sendo este de 900 mV vs eletrodo de Ag/AgCl. Porém, Deng et al. [72] ao modificarem um ECV com um filme de Boro-dopado com NTC, obtiveram uma ampla faixa linear para quantificação amperométrica de cisteína (0.78 µ - 0.20 mmol L<sup>-1</sup>). aplicando um potencial mais baixo, sendo este de 0,470 vs ECS. Desse modo, o estudo e a compreensão das reações eletrocatalíticas dos compostos tiolados e o desenvolvimento de novos materiais para modificação de eletrodos, demonstra-se de extrema importância para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos mais sensíveis, seletivos e que operam em regiões de baixos sobrepotenciais, para estas espécies, assim como para suas futuras aplicações tecnológicas.

# I.8 Motivação

Diante do exposto, o presente trabalho teve como motivação principal unir as propriedades eletrônicas e eletroquímicas dos nanotubos de carbono com o poder de coordenação da poli(4-vinilpiridina), obtendo um nanocompósito com propriedades interessantes para ser empregado na modificação de eletrodos.

Nesse sentido, a complexação de íons Cu<sup>2+</sup> sobre filmes do nanocompósito formados na superfície de eletrodos, visa o desenvolvimento de um sensor amperométrico para cisteína com elevada seletividade, sensibilidade e que opera em uma região de baixos sobrepotenciais.

CAPÍTULO II OBJETIVOS

#### II.1 Geral

O presente trabalho visa a construção e caracterização de uma plataforma funcional de nanocompósitos de MWCNTs contendo PVP para complexação de íons cobre, utilizando um ECV como base, visando o desenvolvimento de um sensor altamente sensível, seletivo e robusto para a determinação amperométrica de cisteína.

#### **II.2 Específicos**

- Realizar a modificação dos MWCNTs através de uma reação de polimerização *in situ* com 4-vinilpiridina.
- Construir uma plataforma funcional com o nanocompósito MWCNTs-PVP para complexação de íons cobre, utilizando ECV como base.
- Realizar uma caracterização morfológica, termogravimétrica e eletroquímica desta plataforma.
- Obter as constantes cinéticas das reações interfaciais.
- Realizar a caracterização analítica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>.
- Aplicar o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> em amostras reais.

# CAPÍTULO III MATERIAIS E MÉTODOS

### III.1 Reagentes e soluções

A L-cisteína, DL-leucina, glicina, DL-histidina, DL-lisina, DL-triptofano, MWCNTs (obtido a partir do método catalítico de deposição química de vapor (do inglês, CCVD), com diâmetro externo de 10-15 nm e interno de 2-6 nm, comprimento 0,1 – 10 µm, possuindo uma parede com espessura média de 5-15 camadas de grafeno, com 90% de pureza, sendo livre de carbono amorfo e apresentando traços de impurezas metálicas), PIPES [piperazina-N-N-bis [(ácido **HEPES** 2-etanosulfônico)]. [N-(2-hidroxietil) piperazina-N-(ácido 2-etanosulfônico)], TRIS [tris(hidroximetil) amino-metano], hexacianoferrato(III) de potássio (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>), e hexacianoferrato(II) de potássio (K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>.3H<sub>2</sub>O) foram obtidos da Sigma, St. Louis, USA. 4- vinilpiridina, poli(4-vinilpiridina) e 2,2'-azo-bisisobutironitrila (AIBN) foram obtidas da Aldrich, St Louis, USA. Membrana de Politetrafluoretileno (PTFE) (com tamanho de poro de 0,2 µm) foi obtida da Millipore, USA. N'N dimetil formamida (DMF), dihidrogenofosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), hidrogenofosfato de potássio (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), cloreto de potássio (KCI) e etanol foram obtidos da Synth, São Paulo, Brasil. Cloreto de cobre (CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) foi obtido da Vetec, Rio de Janeiro, Brasil. Alumina (suspensão aquosa de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> com tamanho de partícula de 0,3 µm) foi adquirida da empresa Fortel, São Paulo, Brasil.

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água deionizada (Sistema Mili-Q de purificação de água, Millipore Inc., USA) com resistividade maior que 18  $M\Omega$  cm<sup>-1</sup>. Os valores de pH das soluções tampão foram ajustados com o auxílio de um pHmetro Corning, modelo 35, USA.

# **III.2 Equipamentos**

Os experimentos voltamétricos e de espectroscopia de impedância eletroquímica foram realizados em um potenciostato PGSTAT30 da marca Autolab, os softwares utilizados para o controle das medidas foram: GPES 4.9 e

FRA 4.8, ambos da Eco Chemie BV, Holanda. Uma célula eletroquímica convencional de vidro com capacidade de 5,0 mL composta por três eletrodos foi empregada, sendo o eletrodo de trabalho o ECV (área geométrica de 0,071 cm²) modificado, o de referência um eletrodo de calomelano saturado (ECS) e o auxiliar um fio de platina helicoidal. Para homogeneizar a solução do eletrólito de suporte após a adição do analito foi utilizado um agitador magnético da marca Corning com 6 modos de velocidades. A célula eletroquímica possuía também um local para entrada de N<sub>2(q)</sub>, para remoção do oxigênio dissolvido.

Para o preparo das dispersões e limpeza do ECV foi utilizado um banho de ultrassom da marca UNIQUE modelo USC-1400. Uma balança analítica Sartorius BP 211D, de 5 casas decimais, foi utilizada para pesar os reagentes. Para obter a separação do nanocompósito MWCNTs-PVP do solvente, foi utilizada uma centrífuga da marca Centribio, modelo 80-2B.

### III.3 Limpeza do eletrodo de trabalho

Antes das modificações, o eletrodo de trabalho foi polido com uma pasta de alumina de 0,3 µm, para obter uma superfície espelhada e depois lavado com água destilada. O ECV foi levado ao ultrassom em uma solução 1:1 (v/v) etanol/água por 5 minutos para remover possíveis partículas de alumina adsorvidas na superfície do eletrodo.

Para verificar se a superfície do ECV estava realmente limpa e pronta para ser modificada, realizaram-se medidas de voltametria cíclica em meio de hexacianoferrato(II/III) de potássio 5,0 mmol L<sup>-1</sup> em KCI 0,1 mol L<sup>-1</sup>, entre os potenciais de 0 e 450 mV, a 10 mV s<sup>-1</sup>. Sendo adotado como parâmetro de avaliação da efetividade da limpeza a diferença de potencial de pico,  $\Delta$ Ep (Epa – Epc, potencial de pico anódico e catódico respectivamente) para o sistema Fe(CN)<sub>6</sub>(III/IV), com o valor de  $\Delta$ Ep = 59 mV.

# III.4 Obtenção do nanocompósito de MWCNTs com PVP

Para obter os MWCNTs enxertados com PVP, adaptou-se o procedimento descrito por Qin *et al.*[73] onde 50 mg de MWCNTs foram adicionados em 70 mL de DMF, sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética por 20 min. Posteriormente 80 mg de AIBN e 10 mL de 4-vinilpiridina foram adicionados à mistura sob agitação a 70 °C, em banho termostatizado de óleo, por 48h. Após este período, a mistura obtida foi resfriada à temperatura ambiente e diluída a 300 mL de DMF, sendo em seguida centrifugada por 6 horas e filtrada em um sistema à vácuo, através de uma membrana PTFE de diâmetro de poro 0,20 µm.

# III.5 Preparo do ECV modificado com MWCNTs/PVP/Cu<sup>2+</sup>

Inicialmente foram preparadas dispersões dos MWCNTs polimerizados com PVP (MWCNTs-PVP) em DMF utilizando um banho de ultrassom por 2 h. Alíquotas de 2,5 µL destas dispersões foram adicionadas ao ECV limpo e em seguida aguardou-se o eletrodo secar à temperatura ambiente, visando a formação de um filme homogêneo sobre a superfície. Posteriormente o eletrodo foi imerso em uma solução aquosa de cloreto de cobre(II), visando a complexação dos íons cobre na superfície do ECV modificado.

# III.6 Otimização multivariada da modificação da superfície do ECV com MWCNTs/PVP/Cu<sup>2+</sup>

Inicialmente um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> sem replicatas foi empregado a fim de realizar uma triagem dos parâmetros experimentais para modificação da superfície do ECV com as dispersões de MWCNTs-PVP e complexação com íons cobre(II). Com o intuito de se obter a formação de um filme homogêneo sobre o ECV e que o ECV modificado apresentasse um perfil voltamétrico definido e com elevado valor de corrente de pico anódica (Ipa), foram adotados os seguintes

fatores: concentração da dispersão de MWCNTs-PVP, a concentração da solução aquosa de CuCl<sub>2</sub> e o tempo de complexação dos íons cobre, sendo que estes foram variados de acordo com as condições usuais de trabalho, conforme exibido pela **Tabela III.1**. O valor de Ipa, extraído dos voltamogramas cíclicos obtidos com os ECVs modificados foi utilizado como resposta para este planejamento, pois fornece informações importantes sobre o desempenho do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, já que o valor de Ipa está diretamente relacionado com processo redox Cu <sup>I/II</sup> [74].

**Tabela III.1**. Parâmetros avaliados no planejamento fatorial 2<sup>3</sup> e seus níveis.

Fatores	Níveis		
i atores	-	+	
A - [MWCNTs-PVP]/ mg mL <sup>-1</sup>	0,25	2,00	
B - [CuCl <sub>2</sub> ]/ mmol L <sup>-1</sup>	5,00	30,0	
C – Tempo de complexação dos íons cobre/ min	10	45	

Os ensaios de voltametria cíclica foram realizados em uma faixa de potencial de -350 a 350 mV, em uma velocidade de varredura de 30 mV s<sup>-1</sup> e utilizando como eletrólito de suporte tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> em pH 7,0. Todos os experimentos foram realizados em ordem aleatória e utilizou-se o programa Design – Expert 7.1.5 para o tratamento estatístico dos dados.

# **III.7 Micrografias**

As micrografias foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) JEOL JSM-5610LV e os espectros de energia dispersiva de raio X (EDX) através do software Noran System Six, da THERMO. As amostras foram preparadas sobre ponteiras de carbono vítreo utilizando as mesmas condições empregadas no item III.5 e IV.2 e posteriormente colocadas em um dessecador, onde foi realizado vácuo por 1 hora e em seguida levadas à estufa à 140º C por 3

horas, para que o solvente (DMF) fosse removido do filme formado sobre o ECV. As micrografias foram obtidas empregando as condições otimizadas de preparação do ECV modificado.

#### III.8 Análise termogravimétrica (TGA)

Os experimentos termogravimétricos foram realizados em um equipamento Seiko Instrumentos TG/DTA 6200, sob atmosfera oxidante e de Ar<sub>(g)</sub>, submetendose cada amostra a um aquecimento entre 30 a 1030°C, com uma velocidade programada de 10 °C min<sup>-1</sup>. A massa das amostras utilizadas era de aproximadamente 2,00 mg.

# III.9 Estudos de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)

As medidas de impedância foram realizadas utilizando uma solução de hexacianoferrato(II/III) de potássio 5,0 mmol L<sup>-1</sup> em KCI 0,1 mol L<sup>-1</sup>, como sonda redox. Os espectros de impedância foram obtidos aplicando o valor do potencial formal da sonda redox, determinado previamente por meio de experimentos de voltametria cíclica, em uma faixa de frequência de 10<sup>-2</sup> a 10<sup>5</sup> Hz empregando uma amplitude de perturbação de 5 mV.

O circuito equivalente utilizado como modelo para representar para a interface eletrodo/eletrólito foi o circuito de Randles, **Figura III.1**.

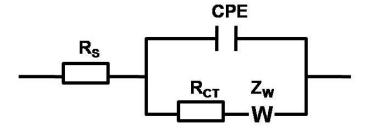


Figura III.1. Circuito do tipo Randles.

onde, R<sub>S</sub> é a resistência do eletrólito+eletrodo, R<sub>CT</sub> é a resistência à transferência de carga, W é a impedância de Warburg e CPE é o elemento de fase constante

(do inglês, *Constant Phase Element*), que substitui a capacitância da dupla camada elétrica ,C, quando se trata de eletrodos porosos e/ou rugosos [75]. Os espectros de impedância foram ajustados pelo programa FRA 4.8.

# III.10 Estudo da repetibilidade das determinações, do preparo e estabilidade do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>

A repetibilidade das determinações utilizando o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi obtida monitorando a variação da corrente (ΔI) por cronoamperometria na presença de 5 μmol L<sup>-1</sup> de cisteína, para quatro amostras e calculado o desvio padrão relativo (DPR). Já a repetibilidade da construção do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi avaliada empregando as mesmas condições descritas acima, usando a resposta obtida com cinco sensores diferentes, modificados seguindo o mesmo procedimento.

A estabilidade do ECV/MWCNTS-PVP/Cu $^{2+}$  foi avaliada realizando várias determinações consecutivas de 5 µmol L $^{-1}$  de cisteína com o mesmo sensor e os valores de  $\Delta I$  obtidos foram comparados.

# III.11 Aplicação do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> em amostra real

A determinação cronoamperométrica de cisteína em amostra de suplemento alimentar foi realizada por meio do método de adição de padrão, ou seja, à amostra foram adicionados mais 3 volumes de solução de concentração conhecida de padrão de cisteína. As amostras de suplemento alimentar foram preparadas dissolvendo-se 2 cápsulas de 500 mg em 1000 mL de água deionizada. A solução obtida foi levada ao ultrassom por 30 minutos e posteriormente filtrada através de um papel de filtro quantitativo. Após esta etapa, uma alíquota de 5 mL da solução resultante foi diluída para 25 mL. Para se realizar as determinações cronoamperométricas, 60 μL desta solução foram adicionados em uma célula eletroquímica contendo 10 mL de uma solução tampão fosfato de potássio 0,1mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0.

Com a finalidade de se verificar a exatidão das determinações cronoamperométricas de cisteína com o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, os resultados foram comparados com os obtidos pelo método de referência proposto pela Farmacopéia Britânica [76], titulação com solução tiossulfato de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Primeiramente foi preparada a solução tiossulfato de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup> e esta foi padronizada com dicromato de potássio, utilizado como padrão primário. 1 cápsula de suplemento alimentar e 6 g de iodeto de potássio foram dissolvidos em 20 mL de água deionizada. Em seguida foram adicionados 3 mL de ácido clorídrico à solução e esta foi resfriada em banho de gelo. Posteriormente foram adicionados 42 mL de uma solução de iodo 0,05 mol L<sup>-1</sup>, preparada em meio de uma solução 0,12 molL<sup>-1</sup> de iodeto de potássio. A solução resultante foi armazenada em local escuro por 20 minutos e posteriormente titulada com solução de tiossulfato de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, utilizando 3 mL de uma solução de amido como indicador visual do ponto de viragem.

# CAPÍTULO IV RESULTADOS E DISCUSSÃO

## IV.1 Polimerização da PVP nos MWCNTs

A inserção da PVP nos MWCNTs foi realizada através da dispersão dos MWCNTs em DMF, seguida da polimerização da 4-vinilpiridina, empregando o AIBN como iniciador radicalar, como mostrado na **Figura IV.1**.

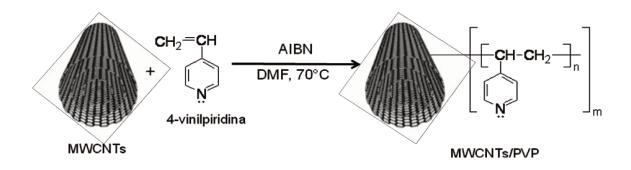


Figura IV.1. Obtenção dos MWCNTs-PVP.

O método de polimerização in situ via radical livre para inserir a PVP nos MWCNTs mostrou-se muito vantajoso, pois não foi necessário a realização de nenhum pré-tratamento nos MWCNTs, além do fato de que o desmembramento e a funcionalização dos MWCNTs serem obtidos em uma única etapa. Sendo ainda, que foi possível obter dispersões estáveis deste nanocompósito em meio de DMF por um período de aproximadamente oito meses.

Jia *et al.* [46] sugeriram que nas reações de polimerização *in situ* via radical livre, inicialmente, em alguns pontos da rede hexagonal dos NTCs, as suas ligações π são abertas pela ação dos fragmentos do inciador radicalar empregado, no caso o AIBN. Assim, os MWCNTs podem participar da polimerização da PVP como receptores radicalares. Porém Dalton *et al.* [77] atribuíram às interações π-π, entre as paredes dos NTCs e as moléculas do polímero, como sendo as grandes responsáveis pela efetiva união entre estas estruturas. Portanto, diante do exposto é possível propor que a PVP forme uma rede polimérica em torno dos MWCNTs, funcionalizando-os com grupos piridínicos, que possuem grande capacidade para ancoramento de diversos íons metálicos.

# IV.2 Otimização multivariada da modificação da superfície do ECV com MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>

Os resultados obtidos nos ensaios do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> sem replicatas, para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> encontram-se na **Tabela IV.1**.

**Tabela IV.1.** Valores obtidos de Ipa ( $\mu$ A) do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> para o planejamento fatorial 2<sup>3</sup>.

Ensaio	Fatores aio principais Fatores de interação			Inc./A				
	A	В	С	AB	ВС	AC	ABC	lpa / μA
1	-	-	-	+	+	+	-	0,11
2	+	-	-	-	+	-	+	0,28
3	-	+	-	-	-	+	+	0,05
4	+	+	-	+	-	-	-	1,35
5	-	-	+	+	-	-	+	0,63
6	+	-	+	-	-	+	-	0,49
7	-	+	+	-	+	-	-	0,35
8	+	+	+	+	+	+	+	1,66

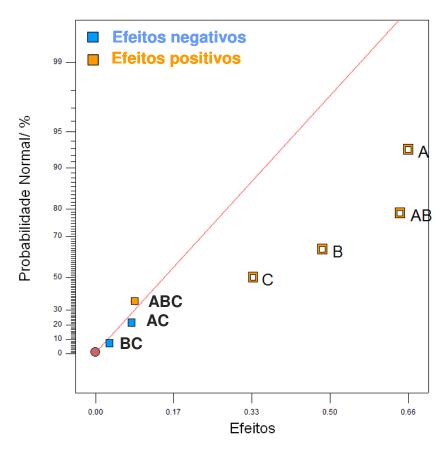
 $A = [MWCNTs-PVP] / mg mL^{-1}, B = [CuCl<sub>2</sub>] / mmol L^{-1} e$ 

A partir dos resultados obtidos, confeccionou-se o gráfico de distribuição normal dos efeitos para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, conforme exemplificado na **Figura IV.2**.

Em um gráfico de distribuição normal, um efeito é tido como significativo quanto mais distante ele se encontrar do ponto (efeito, probabilidade normal / %) = (0,0) [78]. A **Figura IV.2**, mostra que quatro efeitos são significativos na resposta lpa, são eles C (tempo de complexação dos íons cobre), B ([CuCl<sub>2</sub>]), AB (efeito de interação entre [MWCNTs-PVP] e [CuCl<sub>2</sub>]) e A ([MWCNTs-PVP]), sendo este

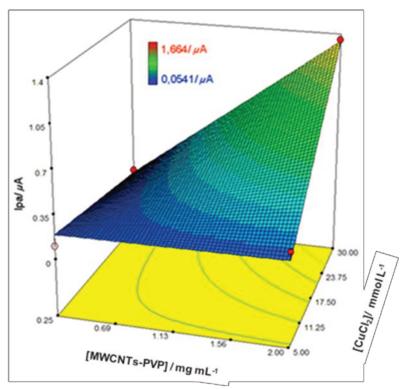
C = Tempo de complexação dos íons cobre/ min.

ultimo o mais significativo. Todos estes efeitos são positivos, ou seja, contribuem para o aumento de Ipa.

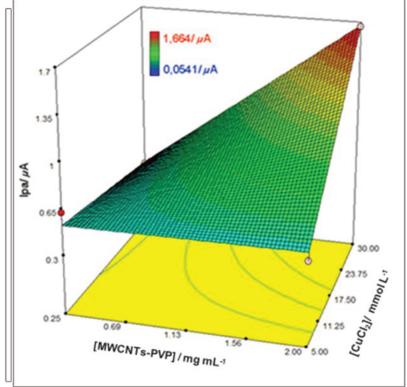


**Figura IV.2** Gráfico de distribuição normal dos efeitos para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu $^{2+}$  para a resposta Ipa /  $\mu$ A.

As **Figuras IV.3** e **4** ajudam a visualizar a influência dos fatores A, B e C e suas interações na reposta de Ipa do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+.</sup>



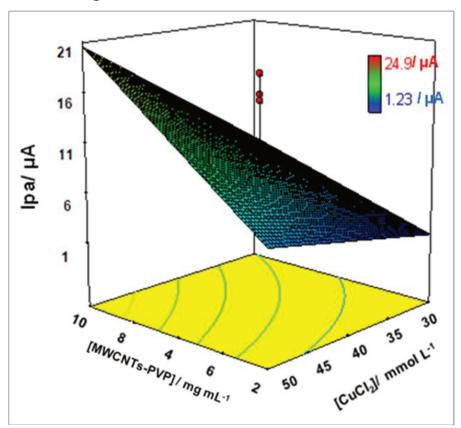
**Figura IV.3** Superfície de resposta obtida para a variação de lpa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl<sub>2</sub>] e tempo de complexação dos íons cobre nível mínimo = 10 min.



**Figura IV.4** Superfície de resposta obtida para a variação de lpa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl<sub>2</sub>] e tempo de complexação dos íons cobre nível máximo = 45 min.

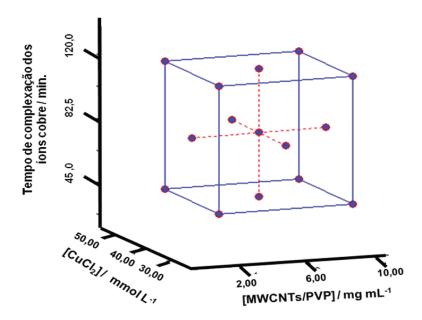
Ao se observar as superfícies de resposta. Figuras IV.3 e 4, verifica-se que quando se aumenta o nível do fator C o valor de lpa máximo também aumenta, comprovando que o tempo de complexação dos íons cobre tem uma grande contribuição no ganho de lpa para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Uma análise mais aprofundada dessas superfícies permite concluir que todos os fatores no nível máximo geram uma região onde encontram-se os maiores valores de Ipa. Portanto foi necessário realizar um segundo planejamento fatorial, avaliando estes mesmos fatores, porém em níveis superiores ([MWCNTs-PVP] = 2,00 - 10,0 mg L<sup>-1</sup>  $^{1}$ ,  $[CuCl_{2}] = 30.0 - 50.0$  mmol L<sup>-1</sup> e tempo de complexação dos íons cobre = 45 -120 min.), utilizando três replicatas no ponto central, a fim de se encontrar a condição ótima para а modificação da superfície ECV MWCNTs/PVP/Cu<sup>2+</sup>.

A partir dos resultados obtidos foi gerada um nova superfície de resposta, que é mostrada na **Figura IV.5**.



**Figura IV.5**. Superfície de resposta obtida no novo planejamento fatorial para a variação de lpa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl<sub>2</sub>] e tempo de complexação dos íons cobre (ponto central = 82,5 min).

Analisando a superfície de resposta obtida, é possível visualizar que as replicatas no ponto central encontram-se bem fora dela, indicando assim, que possivelmente existe uma curvatura significativa na superfície de resposta. Além disso, foi aplicado o método de análise da variância (ANOVA) para estes resultados, incluindo as replicatas no ponto central, para o ajuste de um modelo linear, o qual apresentou falta de ajuste. Assim, foi possível concluir que um modelo quadrático seria mais adequado aos resultados obtidos. Portanto, foi necessário realizar uma ampliação deste segundo planejamento fatorial 2<sup>3</sup> com replicatas no ponto central, realizando um planejamento composto central de face centrada. Para realizar este planejamento, simplesmente foi acrescentado ao planejamento anterior (que pode ser definido como a parte cúbica do planejamento composto central) uma parte axial, formada por seis pontos localizados no centro das faces do cubo gerado pela parte cúbica e mais duas replicatas no ponto central [78], representado pela **Figura IV.6**.

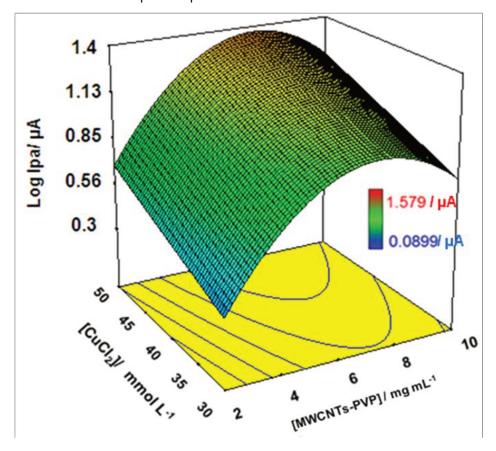


**Figura IV.6**. Representação do planejamento composto central de face centrada com os parâmetros avaliados e seus níveis.

Utilizando os resultados obtidos no planejamento composto central de face centrada e os resultados obtidos no planejamento anterior aplicou-se a ANOVA para o ajuste de um modelo quadrático. Foi necessário aplicar a função logarítmica nas respostas lpa, devido ao fato da faixa de resposta lpa ser muito

ampla, dessa forma garante-se que o modelo se ajusta por toda a extensão de valores da resposta. A ANOVA, através do teste F, revelou que o modelo apresenta uma regressão significativa sem falta de ajuste [78]. Com base nestas informações foi confeccionada a superfície de resposta que contém a condição ótima para modificação do ECV, **Figura IV.7**.

Com a análise da superfície de resposta (**Figura IV.7**) é possível observar que a condição ótima para modificação do ECV com MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> é [MWCNTs-PVP] = 6,00 mg L<sup>-1</sup>, [CuCl<sub>2</sub>] = 50,00 mmol L<sup>-1</sup> e tempo de complexação dos íons cobre de aproximadamente 83 minutos. Esta condição foi empregada em todos os estudos posteriores, já que proporcionou ao ECV modificado a formação de um filme homogêneo, que apresenta elevado valor de lpa e um perfil voltamétrico bem definido para o par redox Cu<sup>I/II</sup>.

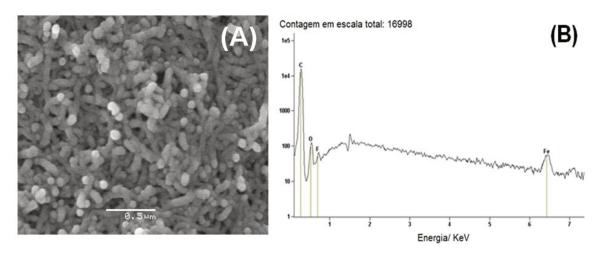


**Figura IV.7**. Superfície de resposta obtida para o planejamento composto central de face centrada para log lpa em função dos fatores [MWCNTs-PVP], [CuCl<sub>2</sub>] e tempo de complexação dos íons cobre (ponto central = 82,5 min).

# IV.3 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raio X do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>

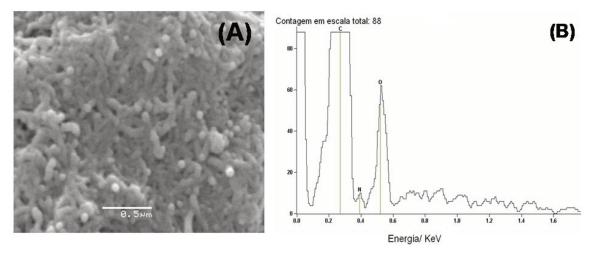
Foram obtidas imagens por MEV e espectros de EDX das superfícies de carbono vítreo modificadas nas condições otimizadas com MWCNTs (**Figura IV.8 A** e **B**), MWCNTs-PVP (**Figura IV.9 A** e **B**) e MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> (**Figura IV.10 A** e **B**) respectivamente.

Com a análise da **Figura IV.8 (A)** é possível observar que os MWCNTs encontram-se bem distribuídos sobre a superfície. A **Figura IV.8 (B)** mostra o espectro de EDX para a região analisada pelo MEV, onde destacam-se os picos de C (0,280 KeV), devido aos MWCNTs, O (0,527 KeV) e Fe (6,37 KeV), sendo que estes elementos podem ser provenientes de catalisadores (resíduos) de óxidos de ferro empregados na síntese dos MWCNTs [79].



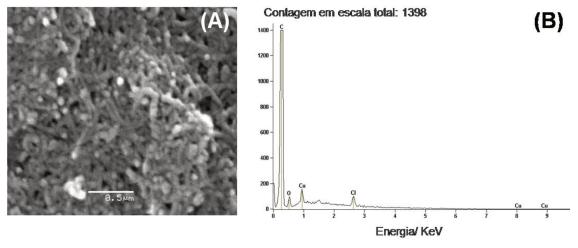
**Figura IV.8**. Micrografia da superfície de carbono vítreo modificada com MWCNTs. Ampliação de 50000 vezes (A) e espectro de EDX para a superfície MWCNTs (B).

Observando a **Figura IV.9** (**A**) é visível que ocorre uma mudança na morfologia dos MWCNTs, possivelmente devido a presença da PVP. A **Figura IV.9** (**B**) exibe o espectro de EDX para o nanocompósito, onde se destacam os picos de C (0,280 KeV), N (0,39 keV) (presente na composição dos grupos piridínicos da PVP) e O (0,527 KeV).



**Figura IV.9**. Micrografia da superfície de carbono vítreo modificada com MWCNTs-PVP. Ampliação de 50000 vezes (A) e espectro de EDX para a superfície MWCNTs-PVP (B).

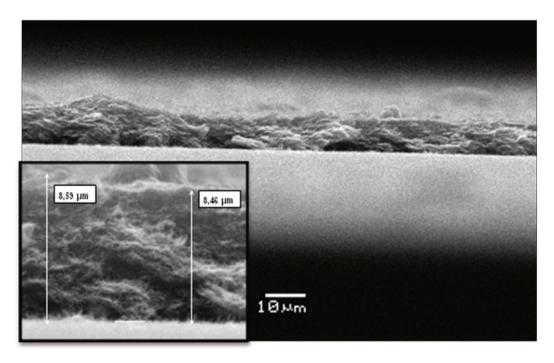
Ao realizar a análise da **Figura IV.10 (A)**, é possível concluir que a formação do complexo não acarreta em uma grande mudança na morfologia do nanocompósito. Com a análise do espectro de EDX (**Figura IV.10 (B)**) para a superfície MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, é possível observar a presença da série de baixa energia (0,9 KeV) do Cu [80], evidenciando que este metal encontra-se aderido ao nanocompósito.



**Figura IV.10.** Micrografia da superfície de carbono vítreo modificada com MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Ampliação de 50000 vezes **(A)** e espectro EDX para a superfície MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> **(B)**.

Foram obtidas também micrografias do perfil do filme de MWCNTs-PVP sobre o ECV, conforme exibido na **Figura IV.11**. É possível visualizar que o filme possui uma espessura média de 8,5 µm (micrografia inserida na **Figura IV.11**).

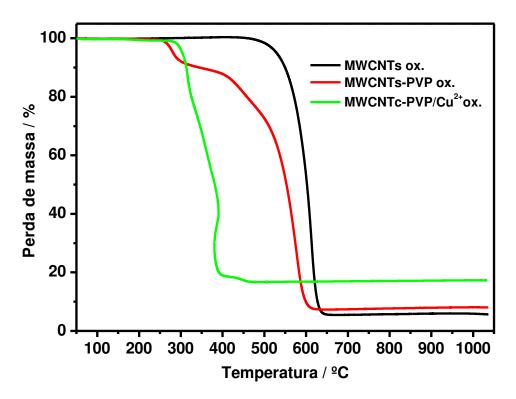
Apesar de este valor ser elevado, a comunicação eletrônica entre os íons Cu<sup>2+</sup> imobilizados no filme do nanocompósito e o ECV é bastante rápida, conforme será discutido posteriormente no item **IV.5**.



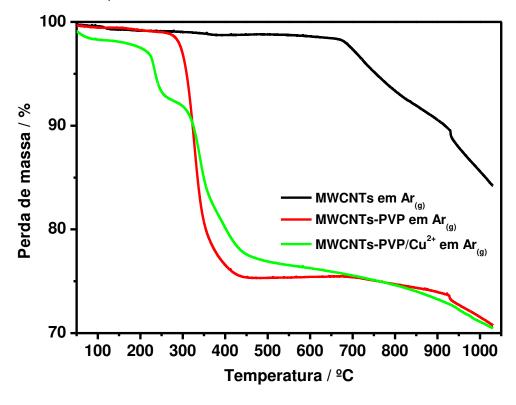
**Figura IV.11.** Micrografia do perfil do filme de MWCNTs-PVP sobre o ECV. Ampliação de 1000 vezes. Micrografia inserida, ampliação de 8500 vezes.

#### IV.4 Caracterização termogravimétrica do MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>

Foram obtidas curvas termogravimétricas para amostras de MWCNTs, MWCNTs-PVP e MWCNTs/PVP/Cu<sup>2+</sup>, em atmosfera oxidante e em atmosfera inerte conforme exemplificado nas **Figuras IV.12** e **IV.13**, respectivamente.



**Figura IV.12.** Curvas termogravimétricas para MWCNTs, MWCNTs-PVP e MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Taxa de aquecimento a 10 °C min<sup>-1</sup>, em atmosfera oxidante.



**Figura IV.13.** Curvas termogravimétricas para MWCNTs, MWCNTs-PVP e MWCNTs-PVP/Cu $^{2+}$ . Taxa de aquecimento a 10 °C min $^{-1}$ , em atmosfera de Ar  $_{(g)}$ .

Ao analisar a curva termogravimétrica para o MWCNTs em atmosfera oxidante (**Figura IV.12**), observa-se que a amostra inicia sua degradação em 500 °C, finalizando em 650 °C, totalizando uma perda de massa de 92,8%. Segundo Scheibe *et al.* [81] pode-se considerar que esta amostra de MWCNTs encontra-se praticamente livre de carbono amorfo, pois a temperatura de oxidação deste é em torno de 380 °C e na curva termogravimétrica do mesmo, não foi observada nenhuma perda de massa significativa nesta temperatura. Quando os MWCNTs são submetidos a um processo de pirólise (**Figura IV.13**), a temperatura de degradação inicia-se em 670 °C e mesmo após ter atingido a temperatura de 1030 °C houve uma perda de massa de apenas 14%. Esta pequena porcentagem de perda de massa dos MWCNTS em atmosfera inerte, em relação ao processo de degradação que ocorre em uma atmosfera oxidante, pode ser explicado pelo fato que os sítios de defeitos dos MWCNTs, que contém átomos de carbono com hibridização sp³ e grupos carboxílicos, são mais facilmente oxidados na presença de oxigênio [7].

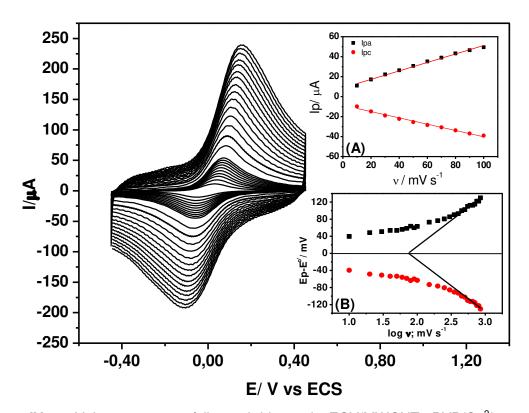
**IV.12** As **Figuras** е IV.13 também apresentam as curvas termogravimétricas para o nanocompósito MWCNTs-PVP em atmosfera oxidante e inerte, respectivamente. Em ambos os casos a perda de massa inicia-se em 250 °C e vai até 400 °C na presença de oxigênio, e 450 °C em atmosfera inerte. Estes resultados encontram-se dentro do esperado, já que a faixa de temperatura de degradação da PVP é de 320 a 450 °C em atmosfera inerte [82]. A análise desses termogramas também permitiu realizar uma estimativa da porcentagem de PVP no nanocompósito, sendo esta de aproximadamente 23%. Apesar de este valor aparentar um baixo rendimento, quando comparado com o trabalho de Qin et al. [73], que obtiveram 39% de PVP no nanocompósito com SWCNTs, a porcentagem de PVP no nanocompósito deste trabalho é mais do que suficiente para criar uma rede polimérica em torno dos MWCNTs, garantindo um número significativo de sítios de coordenação. Além disso, uma porcentagem muito maior de PVP na composição do nanocompósito poderia dificultar a transferência de elétrons entre o MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> e o ECV, já que a condutividade elétrica da PVP em temperatura ambiente é na ordem de 10<sup>-14</sup> S cm<sup>-1</sup> [84].

A análise das curvas termogravimétricas para as amostras de MWCNTs-PVP e MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> em atmosfera oxidante (**Figura IV.12**) possibilitou estimar que há aproximadamente 11,5% de um material que não se degradou até 1030°C, sendo este possivelmente o óxido de cobre gerado durante o aquecimento do MWCNTS-PVP/Cu<sup>2+</sup> em atmosfera oxidante. Já a curva termogravimétrica para a amostra de MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> em atmosfera inerte (**Figura IV.13**) nos revê-la que a complexação dos íons Cu<sup>2+</sup> na matriz polimérica acarreta em uma diminuição da estabilidade térmica do nanocompósito, que inicia sua perda de massa em aproximadamente 210 °C. Foi estudado por Zander *et al.* [85] o efeito do CuCl<sub>2</sub> na estabilidade térmica da PVP. Os pesquisadores atribuíram que o fato dos íons Cu<sup>2+</sup> formarem complexos de geometria preferencialmente quadrado planar com a matriz polimérica acarreta em um aumento da distância entre as ligações cruzadas intermoleculares do polímero, já que esta geometria é menos compacta. Assim, há uma diminuição da rigidez da cadeia polimérica, causando uma menor estabilidade térmica deste material.

Por fim, é possível concluir com a análise de todas as curvas termogravimétricas que o MWCNTs-PVP é estável termicamente na faixa de temperatura usual de trabalho (condições ambientes) e um ótimo material para construção de plataformas para complexação de íons metálicos, tornando-se um excelente candidato para a modificação de eletrodos, já que possui uma porcentagem suficiente de centros de coordenação aliado com as características dos MWCNTs que favorecem a transferência de elétrons [86].

#### IV.5 Caracterização eletroquímica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>

Inicialmente foram realizados alguns ensaios com o intuito de estudar as propriedades eletroquímicas do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Portanto, foram obtidos voltamogramas cíclicos com o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> na faixa de potencial de - 450 a 450 mV, em várias velocidades de varredura (10 - 850 mV s<sup>-1</sup>), conforme mostrados na **Figura IV.14**.



**Figura IV.14**. Voltamogramas cíclicos obtidos pelo ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> em várias velocidades de varredura (10-850 mV s<sup>-1</sup>), varredura sentido anôdico. Eletrólito de suporte tampão fosfato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0.Gráfico de Ip vs v (A) e gráfico de Laviron (B).

A **Figura IV.14** exibe voltamogramas cíclicos com picos bem definidos e que apresentam um aumento de corrente em função do aumento da velocidade de varredura. Ao se analisar o gráfico das correntes de picos anódica (Ipa) e catódica (Ipc) em função da velocidade de varredura, **Figura IV.14 (A)**, é possível observar que estas exibem um comportamento linear em função da velocidade de varredura, indicando assim, que os íons cobre possuem um comportamento eletroquímico característico de espécies redox que estão confinadas na superfície do eletrodo [87].

Com o objetivo de se obter informações importantes sobre o  $ECV/MWCNTs-PVP/Cu^{2+}$ , como o valor do coeficiente de transferência de elétrons ( $\alpha$ ), o número de elétrons envolvidos no processo redox ( $\alpha$ ), e a constante de velocidade heterogênea de transferência de elétrons ( $\alpha$ ), foram empregadas as expressões formuladas por Laviron [88], para respostas voltamétricas de

varredura linear de potencial, no caso de espécies eletroativas confinadas na superfície do eletrodo da seguinte forma:

Quando  $\Delta$ Ep >200/n mV:

$$\alpha/(1-\alpha) = v_a/v_c$$
 (Eq. IV.1)

$$k_s = nF\alpha v_c / RT = (1-\alpha)nFv_c / RT$$
 (Eq. IV.2)

onde, F é a constante de Faraday, RT apresentam seus valores usuais, e  $v_c$  e  $v_a$  representam as velocidades de varredura no intercepto das linhas retas no gráfico de Laviron, do processo catódico e anódico, respectivamente. A **Figura IV.14 (B)** exibe o gráfico de Laviron, onde  $\Delta E = Ep - E^{0'}$  (Ep é o potencial de pico e  $E^{0'}$  é o potencial formal  $[E^{0'} = (Epa + Epc)/2]$ ) é função do log da velocidade de varredura (v). Como pode ser visto, quando  $(v \rightarrow \infty)$  os valores de  $Ep - E^{0'}$  apresentam um aumento expressivo, tornando-se proporcionais ao log de v, indicando que uma limitação em decorrência da cinética de transferência de carga está ocorrendo, conforme proposto pela teoria de Laviron [88].

Empregando a **Equação IV.1** e os valores de  $v_c$  e  $v_a$  obtidos a partir da extrapolação das retas para  $\Delta E = 0$  (linha horizontal na **Figura IV.13 (B)**), o valor de  $\alpha = 0.5$  foi determinado. Utilizando os valores dos coeficientes angulares das retas, para ambos os processos, anódico 2,3RT/ (1-  $\alpha$ )nF e catódico -2,3RT/ $\alpha$ nF respectivamente, o valor de n = 1,04 foi encontrado. O valor obtido foi muito próximo ao valor esperado de 1 elétron para o processo redox Cu<sup>I/II</sup> [74].

Além disso, utilizando a **Equação IV.2**, o valor de  $k_s$  foi calculado empregando as velocidades de varredura onde  $\Delta E = 0$ , sendo obtido o valor de 5,78 s<sup>-1</sup>. O valor obtido para a constante é superior quando comparado com alguns trabalhos de modificação de eletrodos reportados na literatura, conforme apresentado na **Tabela IV.2**. A rápida transferência de elétrons entre os íons cobre e a superfície do ECV deve estar relacionada ao fato dos nanotubos de carbono apresentarem uma elevada condutividade elétrica (aproximadamente 10<sup>6</sup> S m<sup>-1</sup>), facilitando assim a transferência eletrônica no ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> [28].

**Tabela IV.2.** Parâmetros eletroquímicos e cinéticos de alguns eletrodos modificados

Eletrodo modificado	α	n	$k_S/s^{-1}$
4-Nitroftalonitrila [89]		2,30	9,70
Ftalocianina tetrassulfonada de ferro(II) e tetra-(N-metil-piridil)			
porfirina de ferro(III) [90]		-	3,80
Quinizarina [91]		-	4,50
Tetrabromo-p-benzoquinona [92]		2,00	3,80
Nitrofluorenona [93]		-	4,50
Violeta de pirocatecol [94]		-	5,30
Este trabalho	0,50	1,04	5,78

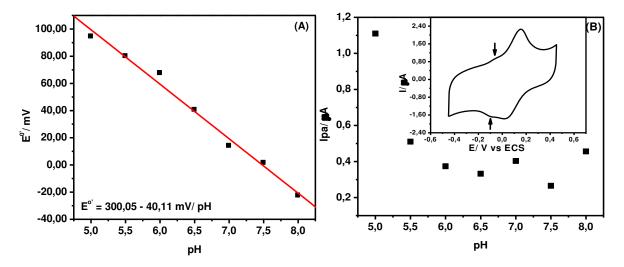
A partir de um voltamograma cíclico registrado a 5 mV s<sup>-1</sup>, a carga ( $\mathcal{Q}$ ) de íons cobre ativo no ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi calculada integrando a área abaixo do pico anódico, considerando a correção da linha base [87] e foi encontrado um valor de 30,94 mC, sendo assim há 4,54 µmol de íons Cu<sup>2+</sup> por cm<sup>2</sup> da superfície do ECV. Este resultado comprova que há uma grande quantidade de íons cobre(II) coordenados aos grupos piridínicos presente no nanocompósito, mostrando assim, a eficiência de complexação de íons Cu<sup>2+</sup> da plataforma funcional proposta por este trabalho.

Posteriormente foram obtidos voltamogramas cíclicos em soluções tampão fosfato de potássio, 0,1 mol L<sup>-1</sup> de diferentes valores de pH (5,0 a 8,0), afim de avaliar o efeito do pH na performance do ECV modificado. A **Figura IV.15** exibe os gráficos de potencial formal (E°) (A) e de corrente de pico anódica (Ipa) (B) do ECV/MWCNTs/Cu<sup>2+</sup> em função do pH.

Utilizando a equação de Nernst, escrita para sistemas eletroquímicos reversíveis que envolvem prótons, a 25º C, como no caso genérico [95]:

$$A + mH^{+} + ne^{-}$$
 B  
 $E^{0'} = E^{0} (A/B) - 2{,}303 \underline{mRT} pH$  (Eq. IV.3)

onde, E<sup>0</sup> é o potencial padrão do eletrodo; m é o número de prótons envolvidos no processo e A e B, espécies no estado oxidado e reduzido, respectivamente.



**Figura IV.15.** Influência do pH da solução no valor do potencial formal **(A)** e da corrente de pico anódico **(B)** no ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> a partir de voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> e v = 30 mV s<sup>-1</sup>

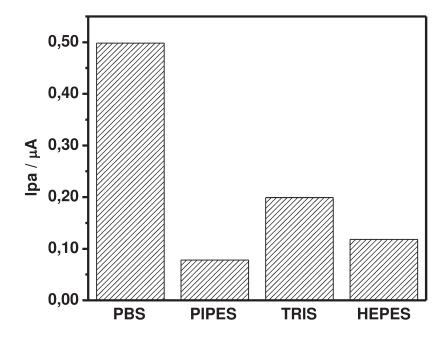
Assim, substituindo na **Equação IV.3** o valor do coeficiente angular da reta ilustrada na **Figura IV.15** (**A**), de - 40,11 mV/ pH e o número de elétrons envolvidos no processo redox obtido pelo método de Laviron [83], sendo este igual a 1, foi possível determinar o número de prótons envolvido no processo redox Cu<sup>IVII</sup>, do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, sendo este igual a 0,68 H<sup>+</sup>. A partir deste resultado pode-se fazer uma estimativa que aproximadamente 70% do processo redox Cu<sup>IVII</sup> do complexo é dependente de uma etapa de protonação. Isto implica que nem todos os íons cobre encontram-se coordenados nos átomos de nitrogênio dos grupos piridínicos. Portanto, há uma parcela desses íons que podem estar aderidos de uma outra forma ao nanocompósito, seja por adsorção nos MWCNTs ou interação com outros sítios que não são dependentes de uma etapa de protonação na faixa de pH estudado.

A análise da **Figura IV.15 (B)**, nos revela que em meio ácido (pH entre 5 – 5,5) o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresenta maiores valores de Ipa, do que quando submetido a valores de pH superiores a 5,5. Porém, estes elevados valores de Ipa em meio ácido, podem ser atribuídos ao fato de que os grupos piridínicos do

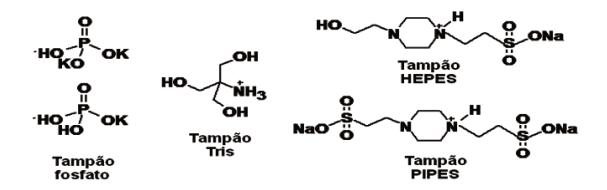
nanocompósito (pKa = 5,25) [96] encontram-se protonados. Assim, no valor de Ipa monitorado nesta faixa de pH, há também a contribuição da corrente gerada no processo de dessorção dos íons cobre dos grupos piridínicos. Este fato é evidenciado ao observar o voltamograma cíclico para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> obtido em pH 5, inserido na **Figura IV.15 (B)**, onde é possível visualizar a presença de outros pequenos picos de redução (Epc = -108 mV) e oxidação (Epa = -63mV) em uma faixa de potencial menor do que a do par redox característico do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Estes picos também foram observados nos voltamogramas cíclicos que foram obtidos até pH 6 e podem ser atribuídos aos íons Cu não ligados aos grupos piridínicos, devido ao fato destes se encontrarem protonados nesta faixa de pH. Portanto, para os estudos posteriores optou-se por utilizar um eletrólito de suporte em pH 7.

O efeito da natureza do eletrólito de suporte no desempenho do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> também foi avaliado. Para isso, foram selecionados quatro eletrólitos de suporte, todos em pH 7,0 e concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

A **Figura IV.16** mostra a influência do tipo de eletrólito de suporte no valor de Ipa. Como pode ser observado, o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresenta um valor de Ipa muito maior em tampão fosfato, do que nos tampões PIPES, HEPES e TRIS. Analisando a estrutura desses eletrólitos de suporte, **Figura IV.17**, pode-se concluir que existem dois fatores determinantes no desempenho do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> em tampão fosfato, sendo eles o tamanho de sua estrutura e sua composição química. O primeiro deles é que a pequena estrutura deste eletrólito possivelmente facilita a sua difusão pela plataforma. O segundo pode ser atribuído ao fato deste eletrólito ser o único de composição química totalmente inorgânica. Os tampões HEPES, PIPES e TRIS, apresentam na sua composição cadeias carbônicas curtas, que podem vir a interagir com a rede polimérica dos MWCNTs-PVP, podendo assim dificultar o processo redox dos íons cobre ancorados nos grupos piridínicos da plataforma.



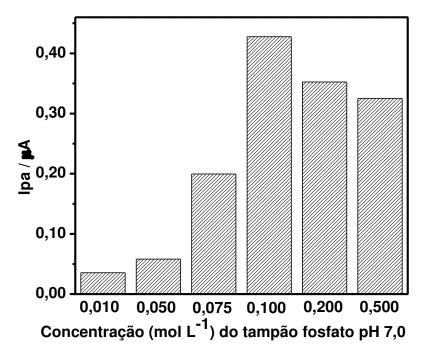
**Figura IV.16**. Efeito do eletrólito de suporte no valor de Ipa para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Concentração dos eletrólitos suporte 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 a v = 30 mV s<sup>-1</sup>.



**Figura IV.17**. Estrutura molecular dos eletrólitos de suporte avaliados na caracterização analítica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>.

Por fim, realizou-se o estudo do efeito da concentração do tampão fosfato de potássio, pH 7,0, no desempenho do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Como pode ser observado na **Figura IV.18** o valor de lpa para o processo Cu <sup>I/II</sup> aumenta com o aumento da concentração do eletrólito de suporte, até atingir um máximo em 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Em concentrações superiores a esta, há um pequeno decaimento no valor de lpa, quando comparado a concentrações menores. Pode-se concluir que a partir de concentrações maiores que 0,1 mol L<sup>-1</sup> os íons do eletrólito de suporte

podem competir pelos íons cobre, acarretando assim em uma diminuição no valor de lpa.



**Figura IV.18**. Influência da concentração do tampão fosfato de potássio no valor de Ipa para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, pH 7,0 a 30 mV s<sup>-1</sup>.

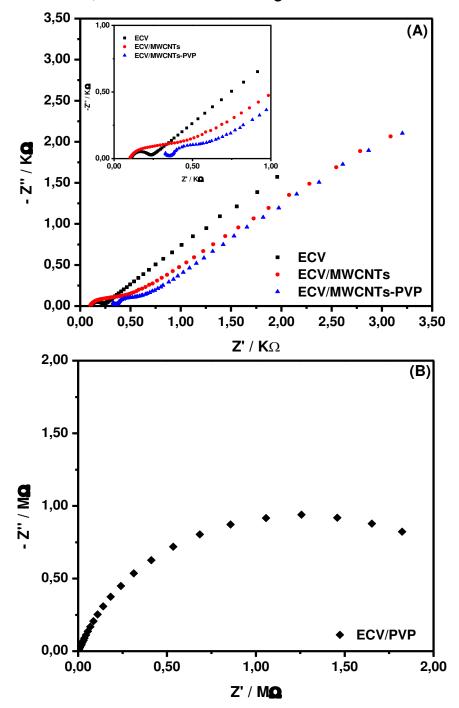
Assim, adotou-se como condição ótima para realização de estudos posteriores com o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, solução tampão fosfato de potássio, pH 7,0 a 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

# IV.6 Caracterização por EIE

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) é uma técnica extremamente útil para o estudo de propriedades interfaciais de eletrodos modificados e muitas vezes pode ser utilizada para elucidar as transformações químicas e processos associados com a condutividade elétrica do material empregado na modificação de eletrodos [97].

Buscando avaliar a contribuição de cada material utilizado na construção da plataforma funcional, foram obtidos espectros de impedância para o ECV,

ECV/MWCNTs, ECV/MWCNTs-PVP e ECV/PVP, seguindo as condições otimizadas no item IV.2, conforme ilustrado na Figura IV.19



**Figura IV.19**. Diagrama de Nyquist obtido para o ECV, ECV/MWCNTs e ECV/MWCNTs-PVP **(A)** e ECV/PVP **(B)**, em 5 mmolL<sup>-1</sup> de  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  em KCI 0,1mol L<sup>-1</sup>. Faixa de frequência  $10^{-2}$  a  $10^5$  Hz, 5 mV de amplitude de pulso. Potencial aplicado: 178; 178,5; 181 e 181 mV vs ECS respectivamente. Insert (A): ampliação do gráfico de Nyquist.

A **Figura IV.19** exibe os diagramas de Nyquist, no qual pode-se observar os valores da parte imaginária da impedância do sistema, Z", em função dos valores da parte real, Z'. Os semicírculos que aparecem no gráfico de Nyquist indicam a combinação em paralelo da resistência de transferência de carga,  $R_{TC}$ , com a capacitância da dupla camada, representada pelo elemento de fase constante, CPE, resultante da impedância do eletrodo [98]. Assim, com a análise do diâmetro dos semicirculos obtidos pelos diagramas de Nyquist, **Figura IV.19** (A) e (B) e utilizando um circuito equivalente do tipo Randles para descrever o sistema, foi possível determinar a  $R_{CT}$  para a superfície do eletrodo após cada modificação. Os dados obtidos encontram-se na **Tabela IV.3**.

**Tabela IV.3.** Valores de R<sub>TC</sub> obtidos para cada etapa de modificação do ECV.

Eletrodo	R <sub>cτ</sub> / Ω
ECV	121
ECV/MWCNTs	638
ECV/MWCNTs-PVP	881
ECV/PVP	$3 \times 10^6$

Conforme a **Tabela IV.3**, a  $R_{TC}$  obtida para o ECV puro foi de 121,4  $\Omega$ , no entanto ao se adicionar um filme de MWCNTs à superfície do ECV, ocorreu um aumento de aproximadamente 5,3 vezes à  $R_{CT}$ , fato evidenciado pelo aumento no diâmetro do semicírculo do diagrama de Nyquist referente ao ECV/MWCNTs (em destaque na **Figura IV.19 (A)).** Este aumento no valor da  $R_{CT}$  pode ser relacionado com dois fatores, o primeiro é a presença de resíduos do solvente orgânico (DMF) utilizado na obtenção do filme de MWCNTs, já que não foi realizado nenhum tratamento térmico no ECV/MWCNTs para a possível remoção deste, e o segundo devido à orientação dos MWCNTs sobre o ECV, já que a condução eletrônica em NTCs exibe uma anisotropia [99]. Assim, como não foi realizado nenhum procedimento buscando a obtenção de filmes em que os MWCNTs apresentassem uma orientação axial sobre o ECV, possivelmente estes

encontram-se dispostos de maneira desordenada sobre a superfície do ECV, o que pode acarretar em um aumento na  $R_{CT}$ . Com a adição do filme de MWCNTs-PVP sobre o ECV, um aumento de aproximadamente 243  $\Omega$  na  $R_{CT}$  em relação ao ECV/MWCNTs foi observado. Este comportamento já era esperado, pois o nanocompósito possui em sua composição 23% de PVP, o qual possui uma condutividade elétrica muito baixa [84]. Ao se analisar a **Figura IV.19 (B)** é possível observar que o semicírculo formado no diagrama de Nyquist para o ECV modificado com um filme de PVP, apresenta um diâmetro ainda maior, sendo obtido neste caso um valor de  $R_{CT}$  de 2,67  $M\Omega$ . Este valor é extremamente elevado quando comparados os valores de  $R_{CT}$  obtidos para o ECV, ECV/MWCNTs e ECV/MWCNTs-PVP, representando um aumento de aproximadamente 22000 vezes à  $R_{CT}$  do ECV puro, 4200 vezes à  $R_{CT}$  do ECV/MWCNTs-PVP.

A partir dos resultados expostos acima fica claro que apenas o emprego de um filme de PVP sobre o ECV para construir a plataforma funcional de complexação de íons Cu<sup>2+</sup> é totalmente inviável, já que o ECV/PVP apresentou uma baixíssima eficiência no processo de transferência de elétrons. Deste modo, a utilização do nanocompósito (MWCNTs-PVP) neste trabalho foi essencial, pois os NTCs contribuem para a grande eficiência na transferência eletrônica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>.

### IV.7 Atividade eletrocatalítica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>

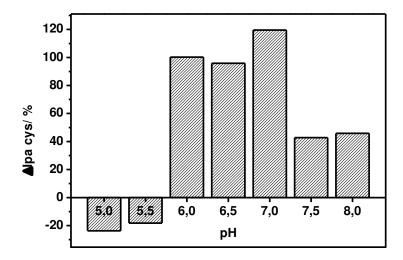
Com base na teoria formulada por Pearson [56], o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi avaliado em relação ao seu potencial eletrocatalítico para detecção de cisteína, já que esta possui em sua composição um grupo tiol que pode interagir com os íons Cu<sup>2+</sup>. Neste sentido, primeiramente foram obtidos voltamogramas cíclicos para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> a uma velocidade de varredura de 5 mV s<sup>-1</sup>, na ausência e na presença de cisteína em diversos valores de pHs (5,0 – 8,0), com intuito de determinar o pH ótimo para detecção eletrocatalítica.

A partir dos voltamogramas cíclicos obtidos, confeccionou-se um gráfico da resposta relativa de Ipa para oxidação da cisteína (Δlpa<sub>cys</sub>), (**Equação IV.4**) em função do pH, conforme exibido na **Figura IV.20**.

$$\Delta lpa_{cys} / \% = (lpa_{cys} - lpa_{branco} / lpa_{branco}) \times 100$$
 (Eq.IV.4)

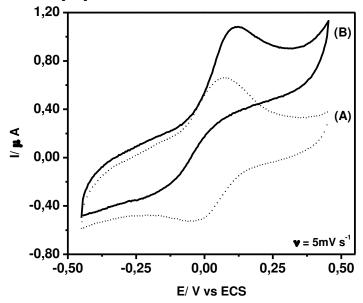
Nesta, Ipa<sub>cys</sub> é a corrente de pico anódica referente à oxidação de 0,80 mmol L<sup>-1</sup> de cisteína e Ipa<sub>branco</sub> é a corrente de pico anódica obtida pelo ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> na ausência de cisteína.

Através da análise do gráfico da **Figura IV.20**, é possível visualisar que para valores de pH menores que 6,0, os valores de Δlpa<sub>cys</sub> são negativos. Isto implica em uma diminuição no valor da corrente de pico do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> na presença de cisteína. Este comportamento pode ser atribuído ao fato de que nesta faixa de pH os grupos piridínicos do nanocompósito estão protonados. Dessa forma, os íons Cu<sup>2+</sup> vão sendo liberados da superfície do ECV modificado, acarretando em uma diminuição do valor de lpa<sub>cys</sub>, já que a quantidade de íons Cu<sup>2+</sup> coordenados aos grupos piridínicos disponíveis para reagir com cisteína será menor. Diante disso, optou-se por utilizar o pH 7,0 para realização da detecção eletrocatalítica de cisteína, já que neste valor de pH a corrente de pico apresenta também um melhor sinal.



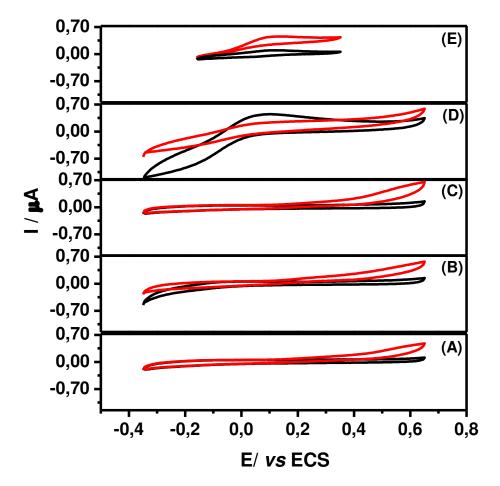
**Figura IV.20**. Influência do pH sobre a corrente catalítica de 0,80 mmol L<sup>-1</sup> de cisteína do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>.

A **Figura IV.21** (**A**) exibe o voltamograma cíclico obtido em tampão fosfato, 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 a 5 mV s<sup>-1</sup>. É possível visualizar que o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> exibe um par redox bem definido e em uma região de baixos sobrepotenciais, com um valor de E<sup>o'</sup> de 0 mV. Após a adição de cisteína à solução, **Figura IV.21** (**B**), o pico de oxidação aumentou significativamente para o processo redox Cu <sup>I/II</sup> e o pico de redução diminui indicando assim, uma eletrocatálise eficiente [87].



**Figura IV.21**. Voltamogramas cíclicos obtidos para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, na ausência **(A)** e na presença de 0,80 mmol L<sup>-1</sup> de cisteína **(B)**. Estudo realizado em solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 e v = 5 mv s<sup>-1</sup>.

Foram realizados experimentos controle para demonstrar a eficiência de complexação de íons Cu<sup>2+</sup> do MWCNTs-PVP e o efeito eletrocatalítico da determinação de cisteína pelo ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, já que alguns trabalhos presentes na literatura, como o de Deng *et al* [72], atribuem aos nanotubos de carbono propriedades eletrocatalíticas à oxidação de cisteína. Deste modo foram obtidos voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> de cisteína para cada etapa de modificação no ECV, seguindo as condições otimizadas no item **IV.2**, conforme ilustrado na **Figura IV.22**.



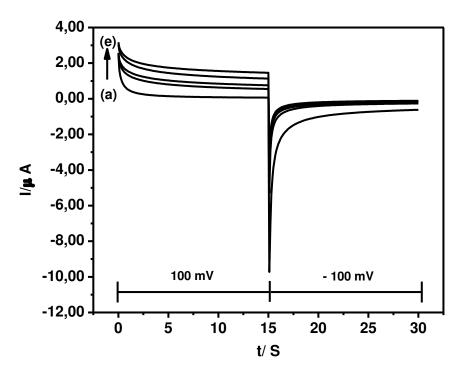
**Figura IV.22**. Voltamogramas cíclicos (referentes à  $2^a$  varredura) obtidos em solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 na ausência (—) e na presença de Cys 0,1 mmol L<sup>-1</sup> (—) à 5 mV s<sup>-1</sup> para o ECV/Cu<sup>2+</sup> (**A**), ECV/MWCNTs (**B**), ECV/MWCNTs/Cu<sup>2+</sup> (**C**), ECV/PVP/Cu<sup>2+</sup> (**D**) e ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> (**E**).

A Figura IV.22 (A), na ausência de cisteína mostra um perfil voltamétrico típico de um ECV, onde nenhum pico de oxidação e/ou redução é observado,

comprovando que não há íons Cu<sup>2+</sup> adsorvidos na superfície do ECV. Já na presença de cisteína é observado que a oxidação ocorre em um potencial de aproximadamente 550 mV e com um pequeno incremento de corrente. Quando o ECV é modificado com os MWCNTs, Figura IV.22 (B), ocorre uma diminuição de aproximadamente 100 mV no potencial de oxidação da cisteína. O voltamograma cíclico obtido para o ECV/MWCNTs/Cu<sup>2+</sup>, Figura IV.22 (C), não exibe picos característicos do processo redox Cu<sup>I/II</sup>, entretanto há um pequeno incremento na corrente relacionada com o processo de oxidação da cisteína, sendo assim, podese atribuir este aumento ao efeito de eletrocatálise dos íons Cu<sup>2+</sup>, evidenciando que estes estão presentes no filme de MWCNTs, porém em quantidade insuficiente para exibirem um par redox no voltamograma cíclico. Já o ECV modificado com um filme de PVP/Cu<sup>2+</sup>, Figura IV.22 (D), apresenta um perfil voltamétrico bem resistivo. Na presença de cisteína não é visualizado um aumento de corrente no voltamograma cíclico, mas sim, uma diminuição. Contudo para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, Figura IV.22 (E) ocorre uma diminuição de 425 mV no potencial de oxidação da cisteína em relação ao ECV/Cu2+ e com um maior incremento de corrente, mesmo a cisteína estando presente em solução em baixa concentração. Portanto é nítida a eficácia do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> na determinação de cisteína em baixos sobrepotenciais.

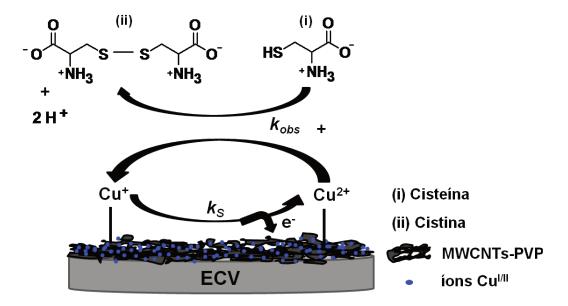
#### IV.8 Estudos Cronoamperométricos

A cronoamperometria de duplo salto de potencial foi empregada na investigação dos processos eletroquímicos na ausência e na presença de cisteína. A **Figura IV.23** exibe as curvas corrente em função do tempo para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> obtidas com  $E_{inicial} = 100$  mV e  $E_{final} = -100$  mV versus ECS para várias concentrações de cisteína.



**Figura IV.23**. Cronoamperogramas obtidos em solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0: (a) branco, (b) 0,320, (c) 0,637, (d) 1,264 e (e) 2,186 mmol L<sup>-1</sup> de cisteína.

Como pode ser visto na **Figura IV.23**, quando a concentração de Cys aumenta, a corrente anódica associada com o potencial aplicado na primeira etapa também aumenta. Porém, na segunda etapa a corrente catódica diminui, indicando que os íons Cu<sup>2+</sup> coordenados nos grupos piridínicos do nanocompósito estão sendo consumidos em uma etapa química. Baseado nos resultados apresentados nas **Figuras IV. 21 e 23**, a reação entre os íons Cu<sup>2+</sup> e as moléculas de cisteína pode ser descrita através de um mecanismo catalítico (EC´) – regeneração catalítica da espécie eletroativa seguida de uma reação química heterogênea [87], exemplificado pela **Figura IV.24** 



**Figura IV.24**. Ilustração para o processo das reações que ocorrem na superfície do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> na presença de cisteína.

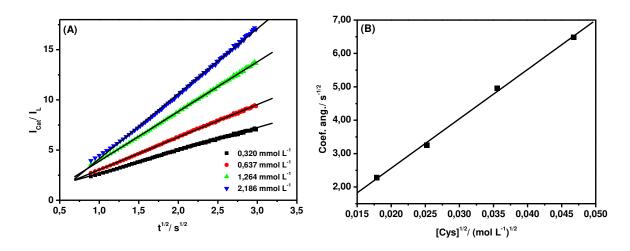
Quando cisteína é adicionada à solução, ela reage com os íons  $Cu^{2+}$  confinados na plataforma, sendo que estes são reduzidos a íons  $Cu^{+}$  e o produto da oxidação da cisteína é provavelmente a cistina, como reportado por Ralph *et al.* [100] Os íons  $Cu^{+}$  gerados nesta etapa são oxidados na superfície da plataforma (Ea = 50 mV vs ECS) à íons  $Cu^{2+}$ , permitindo assim que o ciclo catalítico se complete. A transferência de elétrons para a superfície da plataforma ocorre com um valor de constante de velocidade heterogênea de transferência de elétrons ( $k_s$ ) de apenas 5,78 s<sup>-1</sup>.

A constante de velocidade,  $k_{obs}$ , para a reação química entre a cisteína e os íons  $Cu^{2+}$  confinados na plataforma pode ser pode ser obtida por cronoamperometria de acordo com o método descrito na literatura [101]:

$$I_{cat}/I_{L} = Y^{1/2} \pi^{1/2} = \pi^{1/2} (k_{obs} Ct)^{1/2}$$
 (Eq. IV.4)

onde  $I_{cat}$  é a corrente catalítica do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> na presença de cisteína,  $I_L$  é a corrente na ausência de Cys (branco) e  $Y = k_{obs}Ct$  (C é a concentração de cisteína e t é o tempo (s)). A partir do coeficiente angular de um

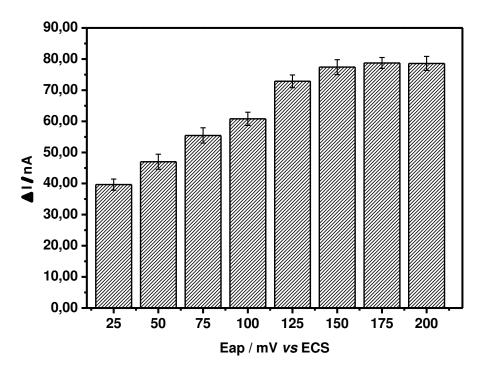
gráfico  $I_{\rm cat}$  /  $I_{\rm L}$  em função de  $t^{1/2}$  o valor de  $k_{obs}$  pode ser obtido para uma concentração conhecida do analito. A **Figura IV.25 (A)** exibe o gráfico de  $I_{\rm cat}$  /  $I_{\rm L}$  *vesus*  $t^{1/2}$  para várias concentrações de cisteína. Em seguida, confeccionou-se um gráfico dos coeficientes angulares dessas retas obtidas em função da [Cys]<sup>1/2</sup>, **Figura IV.25 (B)**. O coeficiente angular resultante foi de 147,824 s<sup>-1/2</sup> L<sup>1/2</sup> mol<sup>-1/2</sup>, resultando em um valor de constante cinética de 6,96 x 10<sup>3</sup> L mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>. O valor da constante cinética obtida neste trabalho é superior aos de outros reportados na literatura, como por exemplo o trabalho de Tong *et al* [102], que obtiveram um valor de  $k_{obs}$  de 1,59 x 10<sup>3</sup> L mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>, sendo que a eletro-oxidação de cisteína ocorreu em um elevado valor de potencial, 800 mV vs Ag/AgCl.



**Figura IV.25**. Gráfico de  $I_{cat}$  /  $I_{L}$  vs.  $t^{1/2}$  (A) e gráfico obtido a partir dos coeficientes angulares das retas obtidas em (A) vs.  $[Cys]^{1/2}$  (B).

# IV.9 Caracterização analítica

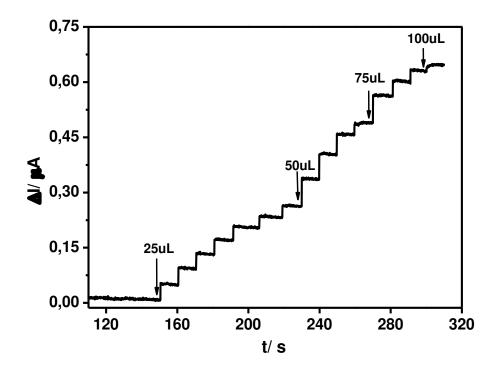
Também foi realizado um estudo para avaliar a influência do potencial aplicado ao ECV/MWCNTS-PVP/Cu<sup>2+</sup> para oxidação da cisteína. Assim, foram realizadas medidas de cronoamperometria de múltiplos pulsos, com um tempo de pulso de 0,4 s, na presença de 10 μmol L<sup>-1</sup> de cisteína e confeccionou-se um gráfico de intensidade da corrente catalítica em função do potencial aplicado, conforme exibido na **Figura IV.26**.



**Figura IV. 26.** Influência do potencial aplicado (Eap.) sobre a resposta cronoamperométrica (ΔI) para detecção de 10 μmol  $L^{-1}$  de cisteína para o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, n= 3.

A **Figura IV.26** mostra que a aplicação de potenciais ao ECV/MWCNTS-PVP/Cu<sup>2+</sup> superiores à 150 mV não provocam mudanças significativas no valor de intensidade de corrente catalítica, sendo assim, para estudos posteriores foi selecionado o potencial de 150 mV *vs* ECS.

A partir das otimizações das melhores condições de pH e potencial aplicado para determinação de cisteína, a melhor resposta obtida foi em solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,0), com potencial aplicado (Eap) de 150mV *vs* ECS. Com isso, realizaram-se sucessivas adições de 25, 50, 75 e 100 μL de uma solução de cisteína 2,00 mmol L<sup>-1</sup> em uma cela de capacidade de 10 mL, conforme exibido pela **Figura IV.27**.

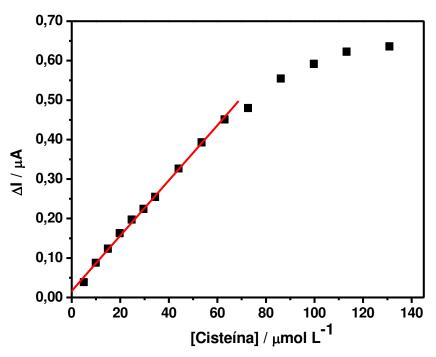


**Figura IV.27**. Resposta cronoamperométrica observada após sucessivas adições de uma solução estoque de cisteína 2,00 mmol  $L^{-1}$  em 10 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol  $L^{-1}$  pH 7,0. Eap: 150 mV vs ECS. Velocidade de agitação = 250 r.p.m.

A partir da reposta cronoamperométrica obtida pelo ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> em função da concentração de cisteína, **Figura IV.27**, confeccionou-se a curva analítica, exibida na **Figura IV.28**, onde pode ser observada uma faixa linear de 5 a 60 μmol L<sup>-1</sup>, podendo ser expressa pela seguinte equação:

$$\Delta I (\mu A) = 0.0170 (\pm 0.0040) + 0.0070 (\pm 0.0001) [Cisteina] (\mu mol L-1) (Eq.IV.5)$$

Com um coeficiente de correlação, R = 0,998 (n=3). O ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresentou limite de detecção e quantificação de 1,50 e 5,00 µmol L<sup>-1</sup>, respectivamente, calculados seguindo as recomendações da IUPAC [103], e um tempo de resposta de 0,10 s.



**Figura IV.28**. Dependência do  $\Delta I$  em relação à concentração de cisteína, obtida por cronoamperometria com o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> desenvolvido. Tampão fosfato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0.

A **Tabela IV.4** exibe os parâmetros analíticos de alguns trabalhos reportados na literatura de eletrodos modificados para determinação de cisteína. Pode ser observado que outros trabalhos apresentaram uma maior sensibilidade e menores limites de detecção, porém o presente trabalho possui o menor potencial de eletro-oxidação dentre os listados na **Tabela IV.4**. Esta característica garante ao ECV/MWCNTS-PVP/Cu<sup>2+</sup> uma maior seletividade na determinação de cisteína, uma vez que reduz a possibilidade de que os potenciais de eletrólise de espécies interferentes presentes sejam atingidos na faixa de potencial aplicado.

**Tabela IV.4**. Condições experimentais e parâmetros analíticos para determinação de cisteína de alguns eletrodos modificados relatados na literatura.

Eletrodos modificados	Método	Eap / V	Eletrólito	L.D / µmol L <sup>-1</sup>	Sensibilidade / nA L µmol <sup>-1</sup>
Coenzima PQQ em filme de polipirrol sobre ECV [104]	Cronoamperometria	0,500 <i>vs</i> Ag/AgCl	Tampão borato (pH 8,2)	0,0006	4,71
Eletrodo de diamante dopado com boro [105]	Análise por injeção em fluxo com detecção voltamétrica	0,570 <i>vs</i> ECS	KHCO <sub>3</sub> (pH 9,0)	0,9	12-20
Ftalocianina de Chumbo incorporada em membrana de cloreto de polivinila em eletrodos de grafite pirolítico [61]	Potenciometria	-	Fosfato (pH 8,5)	~1	-
Microcristais de fulereno-C60 aderidos em ECV [106]	V.C	0,580 <i>vs</i> Ag/AgCl	Fosfato (pH 7,0)	-	15,5
Complexo oxovanádio(IV)-salen [107]	Cronoamperometria	0,650 <i>vs</i> ECS	KCI (pH 5)	170	4,7
ECV/modificado com Boro-dopado com NTCs [72]	Cronoamperometria	0,470 <i>vs</i> ECS	Fosfato (pH 7,4)	0,28	0,025
Cerâmica de carbono com complexo de rutênio [108]	V.C	0,800 vs Ag/AgCl	Fosfato (pH 2,0)	1,0	5,0
SAM de complexos de ftalocianina de cobalto e ouro em eletrodos de ouro [109]	V.C	0,540 e 0,330 vs Ag/AgCl	Solução tampão (pH 4,0)	0,52	-
Este trabalho	Cronoamperometria	0,150 <i>vs</i> ECS	Fosfato (pH 7,0)	1,50	7,0

V.C: voltametria cíclica. (Ag/AgCl = ECS - 45 mV).

#### IV.10 Estudo de repetibilidade e tempo de vida do sensor

A repetibilidade das determinações utilizando o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi obtida monitorando a corrente (ΔI) por cronoamperométrica na presença de 5 μmol L<sup>-1</sup> de cisteína para n=4 e calculado o desvio padrão relativo (DPR), sendo este de apenas 3,1%. A repetibilidade da construção do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi avaliada empregando-se as mesmas condições descritas acima, usando a resposta obtida com cinco eletrodos diferentes, modificados seguindo o mesmo procedimento e o DPR obtido para a construção do ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi de 5,2%.

A estabilidade do ECV/MWCNTS-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi avaliado realizando o máximo de determinações cronoamperométricas para 5 μmol L<sup>-1</sup> de cisteína com o mesmo eletrodo, sendo possível realizar até 112 determinações sem que uma mudança significativa na resposta fosse observada.

#### IV.11 Teste em amostra real

O ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> foi empregado na determinação cronoamperométrica de cisteína em amostras de suplemento alimentar, em triplicata, através do método de adição de padrão, os resultados obtidos foram comparados com o método oficial proposto pela Farmacopéia Britânica [76], utilizando o teste–t pareado (**Tabela IV.5**), sendo que foram estatisticamente iguais em um nível de confiança de 95%.

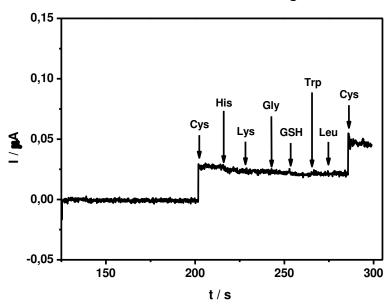
**Tabela IV.5.** Determinação de cisteína em cápsulas de suplemento alimentar.

Amostra	Valor rotulado / mg	Sensor proposto / mg	Método oficial / mg
1	500	505 ± 2	503±4
2	500	503 ± 3	504±3

O método oficial apresentou o inconveniente de produzir grande quantidade de resíduos com periculosidade considerável ao meio ambiente, utilizar grande quantidade de reagentes, por possuir uma baixa sensibilidade. No entanto, a parte instrumental é simples e de preparação rápida. O ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> é intrinsecamente mais seletivo e sensível, emprega mínimas quantidades de reagentes na sua construção e possui um tempo de análise extremamente baixo, apesar de sua preparação ser um pouco laboriosa.

#### IV.12 Estudo dos interferentes na determinação de cisteína

A amostra de suplemento alimentar utilizada para as determinações cronoamperométricas de cisteína com o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresenta-se praticamente livre de possíveis interferentes, uma vez que em sua composição, além da cisteína, estão presentes: concentrado de arroz integral, gelatina e estearato de magnésio. Assim foi avaliado o efeito de outras substâncias presentes na composição de alguns suplementos alimentares, como os aminoácidos histidina (His), lisina (Lys), glicina (Gly), triptofano (Trp) e leucina (Leu) e a molécula de glutationa (GSH). Para isso, foi monitorada a corrente (ΔI) de 5 μmol L<sup>-1</sup> de cisteína por cronoamperometria na ausência e na presença de 5 μmol L<sup>-1</sup> de cada interferente, conforme ilustrado na **Figura IV.30**.



**Figura IV.29.** Resposta cronoamperométrica observada para 5  $\mu$ mol L<sup>-1</sup> de Cys na ausência e na presença de 5  $\mu$ mol L<sup>-1</sup> das espécies His, Lys Gly,GSH, Trp e Leu, em 10 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. Eap: 150 mV vs ECS. Velocidade de agitação = 250 r.p.m.

Pela **Figura IV.29** observou-se que não há alterações significativas no valor de (ΔI) para 5 μmol L<sup>-1</sup> de cisteína na presença das espécies His, Lys, Gly, GSH, Trp e Leu, mesmo estas estando presentes em solução na mesma concentração que as moléculas de cisteína. Portanto, estas espécies não interferem na determinação cronoamperométrica de cisteína com o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>. Ao se observar as estruturas destas espécies (**Figura IV.30**) nota-se que a molécula de glutationa possui em sua composição um grupo tiol. Portanto seria esperado que o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresentasse também um efeito eletrocatalítico sobre esta espécie, comportamento este que não foi observado. Este fato pode ser justificado pelo maior tamanho da estrutura da molécula de glutationa em relação à de cisteína, desse modo a difusão desta espécie pela plataforma até aos íons Cu<sup>2+</sup> pode ser dificultada, sendo ainda que esta também pode vir a interagir com a rede polimérica dos MWCNTs-PVP. Diante do exposto pode-se concluir que o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresenta um caráter extremamente seletivo para determinação cronoamperométrica de cisteína.

$$H_2N \longrightarrow O$$
 $NH_2OH$ 
 $H_2N \longrightarrow O$ 
 $NH_2OH$ 
 $NH_2OH$ 

**Figura IV.30.** Estrutura molecular das espécies avaliadas como interferentes na determinação cronoamperométrica de cisteína com ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>.

# CAPÍTULO V CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um sensor amperométrico para detecção de eletrocatalítica de cisteína, através da construção de uma plataforma funcional para a complexação de íons cobre, onde o material base desta plataforma foi um nanocompósito obtido por meio da modificação dos MWCNTs com PVP, através uma reação de polimerização *in situ*.

A modificação dos MWCNTs através da polimerização *in situ* com 4-vinilpiridina mostrou-se muito vantajosa, pois não foi necessário realizar nenhum pré-tratamento dos MWCNTs e o desmembramento e funcionalização dos MWCNTs foram obtidos em uma única etapa, sendo ainda que foi possível obter dispersões estáveis deste nanocompósito em meio de DMF por um período de aproximadamente oito meses. Por possuir grupos piridínicos em sua composição, o nanocompósito pode ser empregado na construção de uma plataforma funcional para complexação de íons cobre.

A utilização da otimização multivariada para a modificação da superfície do ECV com as dispersões de MWCNTs-PVP e após a complexação com íons cobre mostrou-se eficiente. Por meio da confecção dos gráficos de distribuição normal foi possível avaliar se os efeitos gerados pelos fatores ([MWCNTs-PVP], [CuCl<sub>2</sub>] e tempo de complexação dos íons cobre) eram significativos nas respostas de Ipa, sendo possível constatar que além de alguns efeitos principais, os efeitos de interação entre os fatores também contribuem para variação das respostas, justificando assim o emprego da otimização multivariada. Através da confecção do planejamento composto central de face centrada foi possível determinar a condição ótima para a construção da plataforma com o nanocompósito, sendo esta: [MWCNTs-PVP] de 6,00 mg L<sup>-1</sup>, [CuCl<sub>2</sub>] de 50 mmol L<sup>-1</sup> e tempo de complexação dos íons cobre de aproximadamente 83 minutos.

As micrografias de MEV, juntamente com os espectros de energia dispersiva de raio X, possibilitaram a caracterização morfológica de cada etapa da construção da plataforma e a identificação dos átomos de cobre ligados ao MWCNTs-PVP.

Através da análise térmica de amostras de MWCNTs, MWCNTs-PVP e MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup>, foi possível realizar uma estimativa da quantidade de PVP presente no nanocompósito, sendo esta de 23% aproximadamente.

A técnica de voltametria cíclica possibilitou determinar a carga de íons cobre ativo sobre a plataforma funcional, sendo esta de 30,94 mC, comprovando assim a eficiência de complexação de íons cobre(II) da plataforma. Além disso, parâmetros cinéticos importantes como o valor de n,  $\alpha$ ,  $k_s$  foram obtidos, sendo estes 1,04; 0,5 e 5,78 s<sup>-1</sup> respectivamente, referentes ao processo redox do Cu<sup>I/II</sup>.

Com a análise dos espectros de impedância eletroquímica comprovou-se a importância de se utilizar o nanocompósito de MWCNTs-PVP, em relação à PVP para modificação dos eletrodos, já que a incorporação do MWCNTs acarretou em uma diminuição de 3000 vezes no valor da resistência à transferência de carga no eletrodo modificado com apenas com PVP.

O ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresentou eletrocatálise eficiente para cisteína em valores de pH maiores que 6,0 e através de estudos cronoamperométricos aplicando um baixo sobrepotencial, foi possível calcular a constante cinética ( $k_{obs}$ ) sendo esta de 6,96 x 10<sup>3</sup> L mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>.

A curva analítica apresentou uma faixa linear de 5 a 60 μmol L<sup>-1</sup> para a detecção de cisteína. Já os limites de detecção e quantificação foram 1,50 e 5,00 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Além disso, o ECV/MWCNTs-PVP/Cu<sup>2+</sup> apresentou um tempo de resposta extremamente baixo, de 0,10 s e, quando aplicado a amostras de suplemento alimentar para detecção de cisteína apresentou resultados estatisticamente iguais ao do método oficial pela Farmacopéia Britânica.

## CAPÍTULO VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] lijima, S. Nature 354 (1991) 56.
- [2] Wang, J., Deo, R.P., Musameh, M. Electroanalysis 15 (2003) 1830.
- [3] Sherigara, B.S., Kutner, W., Souza, F.D. Electroanalysis 15 (2003) 753.
- [4] Ajayan, P.M. Chemical Reviews 99 (1999) 1787.
- [5] Dresselhaus, M.S., Dresselhaus, G., Jorio, A. **Annual Review of Materials Research** 34 (2004) 247.
- [6] Filho, A. G. S.; Fagan, S. B. Quimica Nova 30 (2007) 1695.
- [7] Banerjee, S.; Benny, T. H.; Wong, S. S. Advanced Materials 17 (2005) 17.
- [8] Valcárcel, M, Simonet, B. M., Cárdenas, S., Suárez, B. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 382 (2005) 1783–179.
- [9] Hamada, N., Sawada, S. Physical Review Letters 68 (1992) 1579.
- [10] Eklund, P.C., Holden, J.M., Jishi, R.A. Carbon 33 (1995) 959.
- [11] Baughman, R.H., Zakhidov, A.A., Heer, W.A. Science 297 (2002) 787.
- [12] Wildoer, J.W.G., Venema, L.C., Rinzler, A.G., Smalley, R.E., Dekker, C. **Nature** 391 (1998) 59.
- [13] Endo, M., Takenchi, K., Igarashi, S., Kobori, K., Shiraishi, M., Kroto, H.W. **Journal of Physics and Chemistry of** *Solids* 54 (1993) 1841.
- [14] Niyogi, S, Hamon, M.A.; Hu, H.; Zhao, B., Bhowmik, P., Sen, R., Itkis, M.E., Haddon, R.C. **Accounts of Chemical Research** 35 (2002) 1105.
- [15] Han, J. Structures and properties of carbon nanotubes, in: **Carbon Nanotubes: Science and Applications**, M. Meyyappan (Ed.), 2, CRC Press LLC, Florida, USA, 2005.
- [16] Chen, Z., Thiel, W., Hirsch, A. ChemPhysChem 4 (2003) 93.
- [17] Burghard, M. Surface Science Reports 58, (2005) 1.
- [18] McCreery, R.L. Carbon electrodes: Structural effects on electron transfer kinetics, in: **Electroanalytical Chemistry**, A.J. Bard (Ed.), vol 17, 221, Marcel Dekker, Inc., New York. USA, 1991
- [19] Moore, R.R., Banks, C.E, Compton, R.G. **Analytical chemistry** 76 (2004) 2677.

- [20] Banks, C.E., Moore, R.R., Davies, T.J., Compton, R.G., **Chemical Communications** 16 (2004) 1804.
- [21] Wildgoose, G. G., Abiman, P., Compton, R. G. **Journal of Materials** Chemistry 19 (2009) 4875.
- [22] Wang, J. Electroanalysis 17 (2005) 7.
- [23] Merkoci, A. Carbon Nanotubes in Analytical Sciences. **Microchimica Acta** 152 (2006) 157.
- [24] Kim, S.N., Rusling, J.F., Papadimitrakopoulos. **Advanced Materials** 19 (2007) 3214.
- [25] Hirsch, A., Angewandte Chemie International Edition 41 (2002), 1853
- [26] SUN, Y. P., FU, K., LIN, Y., HUANG, W., **Accounts of Chemical Research** 35 (2002) 1096.
- [27] Hua, C.Y., Xuc, Y. J., Duoa, S.W., Zhanga, R. F., Lia, S. M. **Journal of the Chinese Chemical Society** 56 (2009) 234.
- [28] Sahooa, N. G., Ranab, S., Chob, J. W., Li, L., Chana, S. H. **Progress in Polymer Science** 35 (2010) 837.
- [29] Paredes, J. I., Burghard, M. Langmuir 20 (2004) 5149.
- [30] Yurekli, K., Mitchell, C. A., Krishnamootri, R. **Journal of the American Chemical Society** 126 (2004) 9902.
- [31] Sáfar, G. A. M., Ribeiro, H. B., Malard, L. M., Plentz, F. O. Fantini, C., Santos, A. P., *et al.* Chemical Physics Letters 462 (2008) 109.
- [32] Guo, Z. J., Sadler, P. J., Tsang, S. C. Advanced Materials 10 (1998) 701.
- [33] Moulton, S. E., Minett, Al., Murphy, R., Ryan, K. P., McCarthy, D. *et al* **Carbon** 43 (2005)1879.
- [34] Moulton, S. E., Maugey, M., Poulin, P., Wallace, G. G. **Journal of the American Chemical Society** 129 (2007) 9452.
- [35] Lynam, C., Gilmartin, N., Minett, Al., O'Kennedy, R., Wallace, G. Carbon 47 (2009) 2337.
- [36] Olek, M. "Carbon Nanotube Composites Mechanical, electrical and optical properties", PhD Thesis, Bonn, Germany, 2006.
- [37] Tasis, D., Tagmatarchis, N., Bianco, A. Prato, M. Chemical Reviews 106 (2006) 1105.

- [38] Pompeo, F., Resasco, D. E., Nano Letters 4 (2002) 369.
- [39] Holzinge, M., Vostrowsky, O., Hirsch, A., Hennrich, F., Kappes, M., Weiss, R., Jellen, F. **Angewandte Chemie International Edition**. 40 (2001) 4002.
- [40] Qin, S., Qin, D., Ford, W. T., Resasco, D. E., Herrera, J. E. **Macromolecules** 37 (2004) 752.
- [41] Park, H., Zhao, J., Lu, J.P. Nano Letters 6 (2006) 916.
- [42] Baek, J. B., Lyons, C. B, Tan, L. S. Macromolecules 37 (2004) 8278.
- [43] Jin, Z., Sun. X., Xu, G., Goh, S. H., Ji, W. Chemical Physics Letters 318 (2000) 505.
- [44] Spitalsky, Z., Tasis, D., Papagelis, K., Galiotis, C. **Progress in Polymer Science** 35 (2010) 357.
- [45] Harris, P.J.F. International Materials Reviews 4 (2004) 31.
- [46] Jia, Z., Wang, Z., Xu, C., Liang, J., Wei, B., Wu, D., et al. Materials Science and Engineering A 271 (1999) 395.
- [47] Kong, H., Luo, P., Gao, C., Yan, D. Polymer 46 (2005) 2472.
- [48] Samuelson, O. lon exchange seperations in analytical chemistry, Wiley, New York, 1963.
- [49] Bolto, B. A. Journal of Macromolecular Science. Part A. Chemistry 14 (1980) 107.
- [50] Vernon, F. Analytica Chimica Acta 87 (1976) 49.
- [51] Banazak, J. L, Watson, H. C., Kendrew, J. C. **Journal of Molecular Biology** 2 (1965) 130.
- [52] Plumbo. M., Cosani, A., Terbojevich, M., Peggion. **Macromolecules** 10 (1978) 813.
- [53] Kaliyappan, T., Kannan, P. **Progress in Polymer Science** 25 (2000) 343.
- [54] Ciardelli, F., Tsuchida, E., W"ohrle, D. (Eds.), **Macromolecule–Metal Complexes**, Springer-Verlag, Heidelberg, 1996.
- [55] Shiver, D. F.; Atkins P. W.; Langford C. H. **Inorganic Chemistry.** Oxford: Oxford University Press, 2ª ed. 1994.
- [56] Pearson, R. G. Journal of the American Chemical Society 85 (1963) 3533-3539

- [57] Pearson, R. G. Journal of Chemical Education 64 (1987) 581.
- [58] Que, L. Jr., Tolman W. B. **Nature** 455 (2008) 333.
- [59] Droge, W., Eck, H.P., Gmunder, H., Mihm, S. **American Journal of Medicine** 91 (1991) 140.
- [60] Gazit, V., Ben-Abraham, R., Coleman, R., Weizman, A., Katz, Y. **Amino Acids** 26 (2004) 163.
- [61] Shahrokhian, S. Analytical Chemistry 73 (2001) 5972.
- [62] Shang, L., Qin, C.J., Wang, T., Wang, M., Wang, L. X., Dong, S.J. **Journal of Physical Chemistry** *C* 111 (2007) 13414.
- [63] Droge W., Eck, H.P. Mihm, S. Immunology Today 13 (1992) 211.
- [64] Luz, R. C. S.; Moreira, A. B.; Damosa, F. S.; Tanaka, A. A.; Kubota, L. T. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 42 (2006) 184.
- [65] Conlan, X.A., Stupka, N., McDermott, G.P., Francis, P.S., Barnett, N.W. **Biomedical Chromatography** 24 (2010) 455.
- [66] Sadik, O. A., Land, W.H., Wang, J. Electroanalysis 15 (2003) 1149.
- [67] Sattarahmady, N., Heli H. Analytical Biochemistry 409 (2011) 74.
- [68] Joshi, K. A, Pandey, P.C., Chen, W., Mulchandani, A. **Electroanalysis** 16 (2004) 1938.
- [69] Zhao, C., Zhang, J., Song, J. Analytical Biochemistry 297 (2001) 170.
- [70] Qu, L., Yang, S., Li, G., Yang, R., Li, J., Yu, L. **Electrochimica Acta** 56 (2011) 2934.
- [71] Sattarahmady, N., Heli, H. Analytical Biochemistry 409 (2011) 74.
- [72] Deng, C., Chen, J., Chen, X., Wang, M., Nie, Z., Yao, S. **Electrochimica Acta** 54 (2009) 3298.
- [73] Qin, S.; Qin, D.; Ford, W. T.; Resasco, D. E.; Herrera, J. E. **Macromolecules** 37 (2004) 9963.
- [74] Belle, C.; Rammal, W. Pierre, J. L. **Journal of Inorganic Biochemistry** 99 (2005) 1929.
- [75] Tribollet,B., Orazem,M. E. *Electrochemical Impedance Spectroscopy*, Wiley,New Jersey,USA, 2008.

- [76] British Pharmacopoeia, TSO, vol 1, 621, London, 2011.
- [77] Dalton A. B., Stephan, C., Coleman, C. S. J. N., McCarthy, B., Ajayan, P. M., Lefrant, S., *et al.* Journal of Physical Chemistry B 104 (2000) 10012.
- [78] Neto, B. B., Scarminio, I. S., Bruns, R. E., Como Fazer Experimentos-Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria, 2a ed., Editora da Unicamp, Campinas (SP), 2003.
- [79] Hou, P. X., Liu, C. Cheng, H. M. Carbon 46 (2008) 2003.
- [80] Goodhey, P. J., Humpheys, F.J. **Electron Microscopy Analysis**, 2nd ed., Taylor and Francis, London, 1992.
- [81] Scheibe, B., Palen, E. B., Kalenczuk, R. J. **Materials Characterization** 61 (2010) 185.
- [82] Santana, A.L., Noda, L.K., Pires, A.T.N., Bertolino, J.R. **Polymer Testing** 23 (2004) 839.
- [84] Rao, V., Ashokan, P.V., Shridhar, M.H. **Materials Science and Engineering A** 276 (2000) 266.
- [85] Zander, N. E., Orlicki, J. A., Rawlett, A. M. Army Research Laboratory. (2010).
- [86] Pereira, A. C., Kisner, A., Duran, N., Kubota, L. T. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology.** 10 (2010) 651.
- [87] Bard, A. J., Faulkner, L. Electrochemical methods Fundamental and Applications, 2nd, ed. Wiley, New York, 2001.
- [88] Laviron, E. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 101 (1979) 19 28.
- [89] Lima, P. R. "Eletrodo modificado à base de 4-nitroftalonitrila: sensor amperométrico para quantificação de alguns antioxidantes de relevância biológica", (Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas), 97, 2009.
- [90] Duarte, J. C., Luz, R. C. S., Damos, F. S., Tanaka, A. A., Kubota, L. T. **Analytica Chimica** *Acta* 612 (2008) 29.
- [91] Ardakani, M.M., Rahimi, P.E., Karami, P.E., Zane, H.R., Naeimi, H. **Sensors and Actuators B** 123 (2007) 763.
- [92] Zare, H. R., Nasirizadeh, N., Ardakani, M. M. **Journal of Electroanalytical Chemistry** 577 (2005) 25.
- [93] Munteanu, F. D., Mano, N., Kuhn, A., Gorton, L. **Journal of Electroanalytical Chemistry** 564 (2004) 167.

- [94] Golabi, S. M., Zare, H. R., Hamzehloo M. Electroanalysis 14 (2002) 611.
- [95] Compton, R. G.; Banks, E. C. **Understanding Voltammetry**, 1 ed. World Scientific, London, 2007.
- [96] Linnell, R. Journal of Organic Chemistry 25 (1960) 290.
- [97] Qiu, J. D., Xie, H.Y., Liang, R.P. Microchim Acta 162 (2008) 57.
- [98] Umasankar, Y., Huang, T. Y., Chen, S. M. **Analytical Biochemistry** 408 (2011) 297.
- [99] Javey, A., Qi, P., Wang, Q., Dai, H. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101 (2004) 13408.
- [100] Ralph, T.R., Hitchman, M.L., Millington, J.P., Walsh, F.C. **Journal of Electroanalytical Chemistry** 375 (1994) 1.
- [101] Galus, Z. *Fundamentals of Electrochemical Analysis*, Ellis Horwood Press, New York, 1976.
- [102] Tong J., Nie, M. Li, H. **Journal of Electroanalytical Chemistry** 433 (1997) 121.
- [103] Analytical Methods Commitee. **Analyst**. 112 (1987) 199 204.
- [104] Inoue, T., Kirchhoff, J.R Analytical Chemistry 72 (2000) 5755.
- [105] Spãtaru, N., Sarada, B.V, Popa E., Tryk, D.A., Fujishima, A. **Analytical Chemistry** 73 (2001) 514.
- [106] Tan, W.T., Bond, A.M., Ngooi, S.W., Lim, E.B., Goh, J.K. **Analytica Chimica Acta** 491 (2003) 181.
- [107] Teixeira, M.F.S., Dockal, E.R., Cavalheiro, E.T.G **Sensors and Actuators B** 106 (2005) 619.
- [108] Salimi, A., Pourbeyram, S. **Talanta** 60 (2003) 205.
- [109] Ozoemena, K.I. Nyokong, T. Westbroek, P. **Electroanalysis** 15 (2003) 1762.

## CAPÍTULO VII PERSPECTIVAS

O presente trabalho demonstrou que a modificação dos NTCs através de reações de polimerização *in situ*, com monômeros que possuem em sua composição grupos "básicos", possibilita a obtenção de nanocompósitos para a construção de plataformas funcionais de complexação de íons metálicos e sua aplicação na modificação de eletrodos, visando o desenvolvimento de sensores amperométricos. Assim este trabalho abre um enorme leque de possibilidades no desenvolvimento de sensores altamente seletivos e sensíveis, pois dependendo do analito de interesse, determina-se o íon e/ou complexo metálico a ser coordenado e consecutivamente o monômero empregado na síntese do nanocompósito.