

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-graduação em Química

**“EFEITO DO TAMANHO DE NANOTUBOS DE
CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS EM SENSORES
ELETROQUÍMICOS PARA MOLÉCULAS DE
INTERESSE FARMACÊUTICO”**

RODRIGO HENRIQUE DE OLIVEIRA MONTES

TESE DE DOUTORADO

Orientador

PROF. DR. RODRIGO ALEJANDRO ABARZA MUÑOZ

Uberlândia

Setembro de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-graduação em Química

**“EFEITO DO TAMANHO DE NANOTUBOS DE
CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS EM SENSORES
ELETROQUÍMICOS PARA MOLÉCULAS DE
INTERESSE FARMACÊUTICO”**

Tese de doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação do Instituto
de Química da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito para obtenção
do título de Doutor em Química.

Doutorando: Rodrigo Henrique de Oliveira Montes

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz

Área de concentração: Química Analítica

Uberlândia

Setembro de 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M779e
2015

Montes, Rodrigo Henrique de Oliveira.

Efeito do tamanho de nanotubos de carbono de paredes múltiplas em
sensores eletroquímicos para moléculas de interesse farmacêutico /
Rodrigo Henrique de Oliveira Montes. - 2015.

152 f. : il.

Orientador: Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Química.

Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Eletrocatalise - Teses. 3. Nanotubos de
carbono - Teses. I. Abarza Muñoz, Rodrigo Alejandro. II. Universidade
Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química. III.
Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química,
do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA, NÚMERO 40/PPQUI.

DATA: 17/09/2015

DISCENTE: Rodrigo Henrique de Oliveira Montes

MATRÍCULA: 11323QMI006

TÍTULO DO TRABALHO: Efeito do tamanho de nanotubos de carbono de paredes múltiplas em sensores eletroquímicos para moléculas de interesse farmacêutico e ambiental.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Eletroquímica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento, caracterização e aplicação de sensores eletroquímicos para análises ambientais.

Às oito horas do dia dezessete de setembro do ano dois mil e quinze, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 51, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Renato Camargo Matos, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Thiago Régis Longo César da Paixão, da Universidade De São Paulo, André Luiz dos Santos, da Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Diego Leoni Franco, do Instituto de Química da UFU e Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Regulamentar nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidato(o). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

Efeito do tamanho de nanotubos de carbono de paredes múltiplas
em sensores eletroquímicos para moléculas de interesse farmacêutico

Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 60 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 13 horas e 45 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Renato Camargo Matos – UFJF

Prof. Dr. Thiago Régis Longo César da Paixão
USP

Prof. Dr. André Luiz dos Santos – FACIP/UFU

Prof. Dr. Diego Leoni Franco – IQUFU

Professor(a) Orientador(a): Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz – IQUFU

“AGRADEÇO TODAS AS DIFICULDADES QUE ENFRETEI; NÃO FOSSE POR ELAS, EU NÃO TERIA SAÍDO DO LUGAR. AS FACILIDADES NOS IMPEDEM DE CAMINHAR. MESMO AS CRÍTICAS NOS AUXILIAM MUITO”

CHICO XAVIER

“A FORÇA NÃO PROVÉM DA CAPACIDADE FÍSICA. PROVÉM DE UMA VONTADE INDOMÁVEL”

MAHATMA GANDHI

“A MENTE QUE SE ABRE A UMA NOVA IDEIA JAMAIS VOLTARÁ AO SEU TAMANHO ORIGINAL”

ALBERT EINSTEIN

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Weliton e Zélia, pelo imenso amor, preocupação e confiança que sempre tiveram durante toda a vida

À minha noiva, Maria Clara, pelo apoio diário e pela paciência que sempre teve em mais essa etapa da minha vida

Queridas pessoas essas que estiveram comigo durante toda essa etapa e sempre me apoiando contribuíram para que esse trabalho pudesse ser concluído

AGRADECIMENTOS

GOSTARIA DE AGRADECER PRIMEIRAMENTE A DEUS, MINHA REFERÊNCIA, POR TODO SUPORTE CONCEDIDO EM MINHA VIDA, SOU MUITO GRATO E FELIZ PELOS DESAFIOS COLOCADOS EM MINHA VIDA.

À TODA MINHA FAMÍLIA PELOS ENSINAMENTOS E CUMPLICIDADE NOS MOMENTOS BONS E DIFÍCEIS TAMBÉM: ZÉLIA, WELITON, MARIA CLARA, LEONARDO E GUSTAVO. OBRIGADO A TODOS, SEM VOCÊS EU NÃO TERIA CONSEGUIDO CHEGAR ATÉ ONDE CHEGUEI.

AO MEU ORIENTADOR RODRIGO MUNOZ, POR TODOS ESSES ANOS QUE TRABALHAMOS JUNTOS, EM UMA PARCERIA QUE PARA MIM JAMAIS SERÁ ESQUECIDA POR TANTOS MOMENTOS DE APRENDIZADO, AMIZADE, RESPEITO E PACIÊNCIA. VOCÊ SEMPRE TERÁ MEU RESPEITO E SERÁ UMA REFERÊNCIA PARA QUE EU POSSA TAMBÉM CONQUISTAR OS MEUS OBJETIVOS. OBRIGADO PELA EXCELENTE ORIENTAÇÃO QUE RECEBI DURANTE ESSE 7 ANOS TRABALHANDO JUNTOS.

AO MEU CO-ORIENTADOR EDUARDO RICHTER SOU GRATO PELOS ENSINAMENTOS E PELA DISPOSIÇÃO EM CONTRIBUIR PARA MELHORAR OS TRABALHOS DESENVOLVIDOS.

UM AGRADECIMENTO EM ESPECIAL AO RODRIGO AMORIM (CABEÇA) PELOS ENSINAMENTOS INICIAIS QUANDO EU ESTAVA COMEÇANDO A INICIAÇÃO CIENTÍFICA, SEM ELE, EU NÃO TERIA OS CONHECIMENTOS QUE HOJE TENHO. AO RAFAEL CUNHA (PISQUILA), UM IRMÃO QUE CONHECI MELHOR NO LABORATÓRIO, AMIGO QUE NUNCA DEIXA O CLIMA FICAR RUIM MESMO QUANDO OS RESULTADOS NÃO APARECEM, OBRIGADO POR TUDO A VOCÊS.

AOS ALUNOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA QUE TRABALHEI EM PARCERIA, HOJE TODOS NO MESTRADO, ANA PAULA, JÉSSICA, RAFAEL MELO E POLIANA FREIRE, PODEM TER CERTEZA QUE MAIS APRENDI COM VOCÊS DO QUE ENSINEI, UM AGRADECIMENTO EM ESPECIAL À ANA PAULA, QUE CONTINUOU TRABALHANDO EM PARCERIA COMIGO E ME AJUDOU BASTANTE NO MEU TRABALHO DE DOUTORADO TAMBÉM, SUA PACIÊNCIA E ESFORÇO SÃO EXEMPLOS PARA MIM.

AOS AMIGOS DO NUPE, QUE HOJE É UM LABORATÓRIO CHEIO E ANIMADO, DIFERENTE DE QUANDO ENTREI EM 2008, OBRIGADO PELA AJUDA, DESCONTRAÇÃO E AMIZADE: RAFAEL DORNELLAS, EDUARDO ALMEIDA, MARIANA, POLYANA, ALMIR, ANDRÉ LUIZ, DAVID, DENISE, HELIEDER, LUIZ ANDRÉ, WEBERSON, MICHELLE, CLARICE, ALEXANDRE, THIAGO COSTA, FERNANDA, JAMILIA, JHONYS, DALYELLI, GRACY, JIAN, LAIZ E DANI. VOCÊS FIZERAM DO NUPE UM LOCAL DE TRABALHO AGRADÁVEL.

AOS MEUS AMIGOS GUILHERME, THOMAZ, FILIPE, MURILO, ANDRÉ, DIEGO, GABRIEL MINHOCA, ROBERTO KREBS, POLIANA, KEISSY, GABI, MOACIR, CAZeca, EDGAR, THALLES, PÃO DE QUEIJO, LEONARDO (SÃO PAULINO), DIESLEY E OUTROS QUE NÃO SERÃO ESQUECIDOS, AMIGOS EXTERNOS AO LABORATÓRIO, MAS QUE SEMPRE AJUDAM A ELEVAR O AUTOESTIMA.

A CAPES E A FAPEMIG PELO APOIO FINANCEIRO

Ao INSTITUTO DE QUÍMICA (IQ-UFU) PELO ESPAÇO CONCEDIDO E PELA OPORTUNIDADE DE REALIZAR OS PROJETOS DE PESQUISA DESENVOLVIDOS ATÉ ENTÃO.

À BANCA PELO ACEITE DE PARTICIPAÇÃO NESTA DEFESA DE TESE E PELAS ENORMES CONTRIBUIÇÕES OFERECIDAS QUE AJUDARÃO A ENRIQUECER ESTE TRABALHO.

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

4-CLA – “4-chloroaniline” – 4-Cloroanilina

AA – “ascorbic acid” – Ácido ascórbico

BIA – “batch injection analysis” – Análise por injeção em batelada

CE – “counter electrode” – Eletrodo auxiliar

CHX – “chlorhexidine” – Clorexidina

CME – “chemically modified electrode” – Eletrodo quimicamente modificado

CNT – “carbon nanotubes” – Nanotubos de carbono

CV – “cyclic voltammetry” – Voltametria cíclica

DL – “detection limit” – Limite de detecção

DMF – “dimethylformamide” – Dimetilformamida

FIA – “flow injection analysis” – Análise por injeção em fluxo

FWHM – “full width at half maximum” – Largura de meia altura

GCE – “glassy carbon electrode” – Eletrodo de carbono vítreo

HPLC – “high performance liquid chromatography” – Cromatografia líquida de alta eficiência

IBF – “ibuprofen” – Ibuprofeno

LD-MWCNT – “larger diameter- multi walled carbon nanotubes” – nanotubos de carbono de paredes múltiplas – maior diâmetro

MPA – “multiple pulse amperometry” – Amperometria de múltiplos pulsos

MWCNT – “multi-walled carbon nanotubes” – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas

NPX – “naproxen” – Naproxeno

PA – “paracetamol” – Paracetamol

pH_{ZPC} – “Point of zero charge” – Ponto de carga zero

RE – “reference electrode” – Eletrodo de referência

RSD – “relative standart deviation” – Desvio padrão relativo

SD-MWCNT – “smaller diameter- multi walled carbon nanotubes” – nanotubos de carbono de paredes múltiplas – menor diâmetro

SEM – “Scanning electron microscopy” – Microscopia eletrônica de varredura

SWCNT – “*single-walled carbon nanotubes*” – Nanotubos de carbono de parede simples

SWV – “*square wave voltammetry*” – Voltametria de onda quadrada

Tampão BR – “*Britton-Robinson buffer*” – Tampão Britton-Robinson

WE – “*working electrode*” – Eletrodo de trabalho

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do princípio de ação do modificador na superfície de um eletrodo para eletrocatalise.....	4
Figura 2. Estrutura de nanotubos de carbono de paredes multiplas.	8
Figura 3. Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. Ei potencial inicial; Ef: potencial final, Es: potencial de inversão; WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar.....	14
Figura 4. (A) Perturbação aplicada e (B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial.....	16
Figura 5. (A) Disposição dos componentes de um sistema FIA típico de linha única. (B) Esquema do gradiente de concentração das amostras (ou padrões) criado em distintos momentos do fluxo transportador com os (C) sinais analíticos obtidos.	18
Figura 6. Sistema BIA com detecção eletroquímica. a) corpo da célula; b) tampa superior; c) tampa inferior; d) eletrodo de trabalho; e) eletrodo de referência; f) ponteira de micropipeta para injeção; g) eletrodo auxiliar; h) solução de eletrólito suporte.	20
Figura 7. Picos obtidos no sistema BIA com detecção amperométrica convencional e as etapas de injeção: (a) antes da injeção; (b) durante a injeção; (c) final da injeção; (d) diluição do analito (“lavagem do WE”); (e) reestabelecimento do equilíbrio inicial. Analito: PA 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$; Velocidades de injeção: (A) 1,5 mL min^{-1} ; (B) 2,5 mL min^{-1} ; (C) 3,5 mL min^{-1} . Volume injetado: 100 μL . Eap.= +1,20 V. [116].....	22
Figura 8. Estrutura química da clorexidina.	23
Figura 9. Estrutura química do naproxeno.	26
Figura 10. Estrutura química do ibuprofeno.....	29
Figura 11. Estrutura química da 4-cloroanilina.	31
Figura 12. Procedimento de modificação do eletrodo de GCE com filme de MWCNT.	38
Figura 13. Imagem do sistema FIA utilizado nas análises e a foto da célula ampliada. WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar.	40
Figura 14. Esquema do sistema FIA usado. WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar.....	41
Figura 15. Esquema da célula utilizada nas análises em BIA. Volume total da célula = 190 mL.	41
Figura 16. (A) Estrutura da célula BIA com os 3 eletrodos inseridos; (B) Sistema BIA utilizado nas análises com um suporte de acrílico para a célula e a pipeta eletrônica usada para injeção das amostras.	43
Figura 17. Espectros na região do infravermelho obtidos em pastilha de KBr para SD-MWCNT não funcionalizado em preto e SD-MWCNT funcionalizado em vermelho.	50
Figura 18. Difratogramas de raios-X do LD-MWCNT e SD-MWCNT após a funcionalização.	52

Figura 19. Espectros Raman dos SD-MWCNT e LD-MWCNT após a funcionalização.....	55
Figura 20. Imagens SEM de (a) SD-MWCNT e (b) LD-MWCNT.....	57
Figura 21. Voltamogramas cílicos em SD-MWCNT para o sistema redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, realizado em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl / $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})]_6$. Velocidades de varredura = 20, 40, 60, 80 e 100 mV s^{-1}	59
Figura 22. Interface eletrólito-CNT funcionalizado com grupos carboxílicos, pH_{ZPC} : valor de pH no ponto de carga zero.....	60
Figura 23. Voltamogramas cílicos de 1 mmol L^{-1} de (A) ferrocianeto de potássio na faixa de potencial de -0,2 a +0,7 V e (B) cloreto de hexamin-rutênio (III) na faixa de potencial de 0,2 a -0,5 V. Eletrólito: Tampão BR (pH: 2, 4, 6, 8 e 10). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1}	61
Figura 24. Voltamogramas cílicos obtidos para GCE (—), GCE/LD-MWCNT (—) e GCE/SD-MWCNT (—) na presença de 1 mmol L^{-1} de NPX. Eletrólito suporte: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1}	63
Figura 25. Mecanismo proposto de oxidação eletroquímica de naproxeno.....	65
Figura 26. Amperograma obtido para sucessivas injeções de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX. Potencial constante de trabalho: +1,3 V; eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato; volume injetado: $200 \mu\text{L}$; velocidade de despejamento: $160 \mu\text{L s}^{-1}$	66
Figura 27. Repetibilidade obtida por injeções sucessivas de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX ($n = 10$). Potencial de trabalho aplicado: +1,5 V (200 ms) e potencial de limpeza: +1,0 V (100 ms); eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato; volume injetado: $200 \mu\text{L}$; velocidade de despejamento: $160 \mu\text{L s}^{-1}$	67
Figura 28. Respostas amperométricas para estudo da velocidade de despejamento (a) e volume injetado (b) para o naproxeno $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em GCE não modificado; Potencial de trabalho: +1,5 V (200 ms) e potencial de limpeza: +1,0 V (100 ms); eletrólito: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O volume injetado em (a) foi de $200 \mu\text{L}$ e a velocidade de despejamento de $154 \mu\text{L s}^{-1}$ foi aplicada em (b).....	68
Figura 29. Respostas amperométricas do BIA para injeções em triplicata de (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 75 e (e) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de soluções padrão de NPX em GCE não modificado. As curvas de calibração correspondem às injeções em ordem crescente (▲) e decrescente (●). Potencial de trabalho: +1,5 V (200 ms) e +1,0 V (100 ms); eletrólito: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; volume injetado: $200 \mu\text{L}$; velocidade de despejamento: $160 \mu\text{L s}^{-1}$	69
Figura 30. Gráficos da corrente de pico para 1 mmol L^{-1} de NPX em função da (A) velocidade de varredura e da (B) raiz quadrada da velocidade de varredura. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato.....	72
Figura 31. Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE/LD-MWCNT (■) e GCE/SD-MWCNT (○). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5); Volume injetado: $150 \mu\text{L}$; Velocidade de despejamento: $193 \mu\text{L s}^{-1}$	73
Figura 32. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX para otimização da (A) velocidade de despejamento e (B) volume injetado.	

Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato. O volume injetado em (A) foi de 200 µL e a velocidade de despejamento em (B) foi de 193 µL s ⁻¹	74
Figura 33. Amperogramas obtidos para injeções de soluções padrão de NPX (10 - 500 µmol L ⁻¹) em: (A) GCE/LD-MWCNT e em (B) GCE/SD-MWCNT. Em (C) seguem as respectivas curvas analíticas.....	76
Figura 34. Amperogramas obtidos para injeções sucessivas (n = 15) de solução de 20 µmol L ⁻¹ de NPX no sistema BIA com detecção amperométrica em (A) GCE/LD-MWCNT e (B) GCE/SD-MWCNT. E = 1,4 V. Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5).....	77
Figura 35. Respostas amperométricas em sistema BIA de GCE/LD-MWCNT para injeções em triplicata de (a) 10; (b) 25; (c) 50; (d) 75; and (e) 100 µmol L ⁻¹ de padrão de soluções de NPX; e as correspondentes curvas de calibração inseridas no canto esquerdo superior em eletrodo não modificado (■) e eletrodo modificado com GCE/LD-MWCNT (●). Volume injetado: 200 µL; velocidade de despejamento: 193 µL s ⁻¹ . Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5).....	78
Figura 36. (A) as respostas amperométricas em sistema BIA do GCE/LD-MWCNT para injeções em triplicata de (a) 10, (b) 25, (c), 50, (d), 75, e (e) 100 µmol L ⁻¹ de padrões de NPX, duas amostras comerciais (S ₁ e S ₂) e as amostras dopadas (S _{s1} e S _{s2}). Em (B), sobreposição das curvas de calibração crescente de decrescente. Mesmas condições da Figura 31.....	80
Figura 37. Voltamogramas cíclicos para adição de 1 mmol L ⁻¹ de IBF em 0,1 mol L ⁻¹ de solução de tampão fosfato (pH 7,5) em eletrodo não modificado (—), LD-MWCNT (—) e SD-MWCNT (—) e os respectivos brancos. Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹	82
Figura 38. Voltamogramas cíclicos de IBF 1 mmol L ⁻¹ em solução de tampão fosfato (pH 7,5) 0,1 mol L ⁻¹ . Velocidades de varredura: 30, 40,50, 75, 100, 200, 300, 400 e 500 mV s ⁻¹ . O gráfico da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura está inserido neste voltamograma.....	83
Figura 39. Mecanismo de oxidação eletroquímica de ibuprofeno [237].....	85
Figura 40. (A) Gráfico de Laviron, Epa vs Log v e (B) Gráfico de Laviron, Epa vs Log v, para altas velocidades de varredura.....	85
Figura 41. Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de 50 µmol L ⁻¹ de IBF plotando a corrente detectada (n = 3) em função do potencial para GCE (□), GCE/LD-MWCNT (○) e GCE/SD-MWCNT (Δ). Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5); Volume injetado: 250 µL; Vazão: 3 mL min ⁻¹	86
Figura 42. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de 50 µmol L ⁻¹ de IBF para otimização da (A) volume injetado e (B) vazão. Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5). A vazão em (A) foi de 3,0 mL min ⁻¹ e o volume injetado em (B) foi de 200 µL.....	87
Figura 43. Amperogramas obtidos para injeções de soluções padrão de IBF (10 - 1000 µmol L ⁻¹) em: (A) GCE, (B) GCE/LD-MWCNT e (C) GCE/SD-MWCNT. Em (D) segue a respectiva faixa linear de trabalho com os valores de corrente versus a concentração para ambos os eletrodos. Vazão: 3,0 mL min ⁻¹ ; volume injetado: 300 µL. E = +1,5 V.....	89

Figura 44. Amperograma obtido para injeções sucessivas ($n = 15$) de solução de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de IBF no sistema FIA com detecção amperométrica em GCE/SD-MWCNT. $E = +1,5$ V. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5). Vazão: $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ e Volume: $300 \mu\text{L}$	90
Figura 45. Respostas amperométricas em sistema FIA do GCE/SD-MWCNT para injeções em duplicata de (a) 10, (b) 25, (c), 50, (d), 75, e (e) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de padrões de IBF e duas amostras comerciais (A_L e A_S). A curva de calibração está inserida no gráfico. $E = 1,5$ V. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5).	91
Figura 46. Voltamogramas cíclicos obtidos para adição de 1 mmol L^{-1} de CHX em (A) GCE, (B) GCE/LD-MWCNT e (C) GCE/SD-MWCNT para (—) 1º, (—) 2º ciclos e os (---) respectivos brancos. Eletrólito suporte: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 . Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1}	94
Figure 47. (A) Voltamogramas cíclicos contendo 1 mmol L^{-1} de CHX em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 e (B) em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão BR de diferentes valores de pH (2,0; 4,0; 6,0; e 8,0). Inserido em (B) segue um gráfico do potencial vs. pH. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1}	95
Figura 48. Voltamograma hidrodinâmico obtido para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; Volume injetado: $200 \mu\text{L}$; Vazão: 3 mL min^{-1}	97
Figura 49. Estudo da repetibilidade por injeções sucessivas de $6,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de clorexidina ($n = 10$). Utilizando solução de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $E = 1,3$ V; volume de injeção de $200 \mu\text{L}$ e vazão de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$	98
Figura 51. Respostas amperométricas obtidas em sistema FIA para injeções em triplicata de soluções padrão de CHX 1, 2, 4, 6, 8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a-e). Injeções em triplicata das duas amostras de enxaguante bucal (A e B) e da amostra de antisséptico hospitalar (C). Análises feitas em potencial fixado em 1,3 V, utilizando solução de HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte, volume de injeção $200 \mu\text{L}$ e vazão de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$. Curva de calibração correspondente ($R = 0,99$).	100
Figura 52. Voltamogramas cíclicos de CHX 1 mmol L^{-1} em HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidades de varredura: 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500 e 750 mV s^{-1} . O gráfico da corrente de pico em função da velocidade de varredura está inserido neste voltamograma.....	101
Figura 53. Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE (□), GCE/LD-MWCNT (○) e GCE/SD-MWCNT (Δ). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; Volume injetado: $200 \mu\text{L}$; Velocidade de despejamento: $193 \mu\text{L min}^{-1}$	102
Figura 54. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX para otimização da (A) velocidade de despejamento (28, 57, 100, 153 e $257 \mu\text{L s}^{-1}$) e (B) volume injetado (25, 50, 100, 200 e $300 \mu\text{L}$). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 . Em (A) o volume injetado foi de $200 \mu\text{L}$ e em (B) a velocidade de despejamento foi de $193 \mu\text{L s}^{-1}$	104
Figura 55. Amperograma obtido para injeções sucessivas de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX. $E = +1,3$ V; eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; volume injetado: $100 \mu\text{L}$; velocidade de despejamento: $257 \mu\text{L s}^{-1}$. À direita da imagem está inserido o último pico da repetibilidade ampliado para melhor visualização do perfil deste.....	105

Figura 56. Faixa linear de trabalho em (■) GCE/LD-MWCNT ($R = 0.999$) e (○) GCE/SD-MWCNT ($R = 0.997$) para injeções em triplicata de CHX nas concentrações: 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; volume injetado: 100 μL ; velocidade de despejamento: 257 $\mu\text{L s}^{-1}$	106
Figura 57. Amperograma obtido para injeções sucessivas ($n = 10$) de solução de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX no sistema BIA com detecção amperométrica em (A) GCE/SD-MWCNT e (B) GCE/LD-MWCNT. $E = 1,3$ V. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de HClO_4	107
Figura 58. Voltamogramas cíclicos para adição de 1 mmol L^{-1} de 4-CLA em 0,1 mol L^{-1} de solução de tampão BR (pH 2) em eletrodo não modificado (—), LD-MWCNT (—) e SD-MWCNT (—). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1}	109
Figura 59. (A) Voltamogramas cíclicos de 4-CLA 1 mmol L^{-1} em solução de tampão BR (pH 2,0) 0,04 mol L^{-1} . Velocidades de varredura: 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1000 mV s^{-1} . (B) O gráfico do log da corrente de pico ($\sim 0,87$ V) em função do log da velocidade de varredura está à direita dos voltamogramas.....	111
Figura 60. Voltamogramas cíclicos contendo 1 mmol L^{-1} de 4-CLA em 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 e em 0,04 mol L^{-1} de solução tampão BR de diferentes valores de pH (2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1}	112
Figura 61. Esquema proposto para a oxidação inicial eletroquímica de 4-CLA em DIMoxi e, em seguida, a redução deste para DIMred.....	113
Figura 62. (A) Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA versus a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE (■), GCE/LD-MWCNT (●) e GCE/SD-MWCNT (△) e (B) voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA (■) e CHX (●) plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,04 mol L^{-1} de tampão BR (pH 2); Volume injetado: 100 μL ; Velocidade de despejamento: 153 $\mu\text{L min}^{-1}$	115
Figura 63. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA para otimização da (A) velocidade de despejamento (28, 57, 100, 153 e 257 $\mu\text{L s}^{-1}$) e (B) volume injetado (10, 20, 50, 100 e 200 μL). Eletrólito: 0,04 mol L^{-1} de tampão BR (pH 2). Em (A) o volume injetado foi de 100 μL e em (B) a velocidade de despejamento foi de 153 $\mu\text{L s}^{-1}$	117
Figura 64. (A) Respostas amperométricas obtidas em sistema BIA para injeções em triplicata de soluções padrão de 4-CLA (a-g) 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$, na presença de 1,0 mmol L^{-1} de CHX. As curvas de calibração inseridas nesta figura correspondem às curvas crescente (■) e decrescente (●) e (B) Estudo da repetibilidade por injeções sucessivas de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA na presença de 1,0 mmol L^{-1} de CHX ($n = 10$). Eletrólito: 0,04 mol L^{-1} de solução tampão BR pH 2,0; $E = +1,0$ V; volume injetado de 50 μL e velocidade de despejamento de 153 $\mu\text{L s}^{-1}$	119
Figura 65. Faixa linear de trabalho com os valores de corrente versus a concentração injetada em triplicata de 4-CLA (1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 150; 300; 500; 750 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) para GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Volume injetado = 50 μL e velocidade de despejamento = 153 $\mu\text{L s}^{-1}$. $E = +1,0$ V.....	120

Figura 66. (A) Estudo da repetibilidade por injeções sucessivas de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de CHX ($n = 15$) em $E = +1,0 \text{ V}$. (B) Amperogramas de múltiplos pulsos com 10 injeções sucessivas de solução contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura de 4-CLA e CHX, 5 injeções de solução contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ CHX e 5 injeções de solução com $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA. O amperograma de limpeza igual a $+0,8 \text{ V} / 100 \text{ ms}$ não foi apresentado. Eletrólito: $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão BR pH 2,0; volume injetado de $50 \mu\text{L}$ e velocidade de despejamento de $153 \mu\text{L s}^{-1}$ 122

Figura 67. Respostas amperométricas em sistema BIA do GCE/SD-MWCNT para injeções em triplicata de 1, 10, 25, 50, 75 e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de padrões de 4-CLA e quatro amostras, sendo A1, A2 e A3 comerciais e A4 padrão estocado. A curva de calibração está inserida no gráfico. $E = 1,0 \text{ V}$. Eletrólito: $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 2,0). 125

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho.....	35
Tabela 2. Razões entre as intensidades dos picos (100) e (002) obtidos por DRX e comparação entre as larguras de meia onda do LD-MWCNT e SD-MWCNT.....	53
Tabela 3. Dados obtidos a partir dos difratogramas de raios X presentes na Figura 17	53
Tabela 4. Valores das bandas D e G, e também da razão das áreas das bandas D e G (A_D/A_G) para SD-MWCNT e LD-MWCNT após a funcionalização.	55
Tabela 5. Resultados obtidos em triplicata ($n = 3$) de corrente de pico anódica (i_{pa}), potencial de pico anódico (Epa) e catódico (Epc), variação de potencial entre o pico catódico e anódico (ΔE), e área efetiva (A) para GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT.....	59
Tabela 6. Resultados registrados de potencial de pico anódico (Epa) e catódico (Epc) e variação de potencial entre o pico catódico e anódico (ΔE) para os voltamogramas cíclicos contendo ferrocianeto de potássio e cloreto de hexamin-rutênio (III) para GCE/LD-MWCNT.	61
Tabela 7. Valores de concentrações de NPX obtidas pelo método proposto BIA em GCE não modificado e por espectrofluorimetria (mg por comprimido) e os respectivos valores de desvio padrão ($n = 3$).....	70
Tabela 8. Figuras de mérito obtidas na determinação de NPX em GCE/LD-MWCNT e em GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato.	76
Tabela 9. Resultados analíticos obtidos em BIA para a determinação de NPX em formulações farmacêuticas e ensaio de recuperação ($n = 3$).	80
Tabela 10. Figuras de mérito obtidas na determinação de IBF em GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de tampão fosfato.	89
Tabela 11. Comparação dos resultados obtidos para determinação de IBF em formulações farmacêuticas por FIA-AMP e CE-C ⁴ D ($n = 3$).	92
Tabela 12. Concentração (m/v) de CHX em amostras comerciais analisadas pelo método FIA proposto e por HPLC ($n = 3$)	100
Tabela 13. Figuras de mérito obtidas na determinação de CHX em GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de HClO ₄	106
Tabela 14. Figuras de mérito obtidas na determinação de 4-CLA em GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,04 mol L ⁻¹ de tampão BR (pH 2).	121
Tabela 15. Comparação dos resultados obtidos para determinação de 4-CLA em amostras antissépticas e padrão estocado por BIA-AMP e MS ($n = 3$).....	125

RESUMO

Montes, Rodrigo Henrique de Oliveira. Efeito do tamanho de nanotubos de carbono de paredes múltiplas em sensores eletroquímicos para moléculas de interesse farmacêutico. Uberlândia. Instituto de Química, UFU, Setembro de 2015. Tese de doutorado.

Este trabalho avalia o desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) duas diferentes dimensões (110-170 nm x 5-9 μm , LD-MWCNT e 6-9 nm x 5 μm , SD-MWCNT), tratados quimicamente com ácidos concentrados, e depositados na superfície de eletrodo de carbono vítreo para a determinação de naproxeno, ibuprofeno, clorexidina e 4-cloroanilina (presente como produto de degradação) em produtos farmacêuticos. Por espectroscopia Raman, verificou-se que SD-MWCNTs apresentaram maior densidade de defeitos estruturais, o que corroborou com o maior efeito eletrocatalítico observado pelas técnicas amperométricas e voltamétricas frente à oxidação de todos os analitos. A difração de raios X confirmou a ausência de metais (que poderiam auxiliar na oxidação eletrocatalítica das moléculas) presentes na parede externa dos tubos de carbono assim como no interior destes. A maior área eletroativa foi observada no eletrodo modificado com SD-MWCNTs, mas este não foi o parâmetro predominante no melhor desempenho dos SD-MWCNTs. Ensaio voltamétrico e amperométrico dos analitos, estes associados a sistemas de análise por injeção em batelada (BIA) ou de análise por injeção em fluxo (FIA), mostraram que os eletrodos modificados apresentaram propriedades eletrocatalíticas, sobretudo com o emprego de SD-MWCNTs. Observaram-se diminuição do potencial de oxidação das moléculas, redução dos efeitos de adsorção dos analitos ou de seus produtos de oxidação, ampliação das faixas lineares de trabalho e redução dos limites de detecção em comparação ao eletrodo não modificado e mesmo modificado com LD-MWCNTs. O eletrodo modificado com SD-MWCNTs apresentou os seguintes resultados para detecção amperométrica, respectivamente para naproxeno / ibuprofeno / clorexidina / 4-cloroanilina: limites de detecção de 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 1,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$, desvios padrão relativos de 3,4 % / 4,2 % / 1,8 % / 1,2 %, frequência analítica de 120 h^{-1} / 100 h^{-1} / 60 h^{-1} / 130 h^{-1} e faixas lineares de 10 a 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 10 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 1 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 1 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ¹. Todos os resultados indicam melhor desempenho do eletrodo modificado com SD-MWCNTs, o que pode ser relacionado com a maior densidade de defeitos na estrutura destes MWCNTs, que por sua vez, contribuiu para maior atividade eletrocatalítica deste material.

Palavras-chave: eletrocatalise, nanotubos de carbono, amperometria, análise por injeção em batelada, análise por injeção em fluxo, clorexidina, 4-cloroanilina, ibuprofeno, naproxeno.

ABSTRACT

This work evaluates the development of electrochemical sensors based on multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) of two different sizes (110-170 nm x 5-9 μm , LD-MWCNTs, and 6-9 nm x 5 μm , SD-MWCNTs), chemically treated with concentrated acids, and deposited on a glassy-carbon surface for the determination of naproxen, ibuprofen, chlorhexidine, and 4-chloroaniline (present as a degradation product) in pharmaceuticals products. By Raman spectroscopy, it was verified that SD-MWCNTs presented higher density of structural defects, which corroborated with the higher electrocatalytic effect observed using amperometric and voltammetric techniques toward the oxidation of the analytes. X-ray diffraction confirmed the absence of metals (that could contribute to the electrocatalytic oxidation of the molecules) on the outer wall of the carbon tubes as well as inside the tubes. The greater electroactive area was observed for the SD-MWCNT-modified electrode, however this parameter was not the predominant one to infer the best performance of these electrodes. Experiments using voltammetry and amperometry, the latter associated with batch-injection analysis (BIA) and flow-injection analysis (FIA), showed that modified electrodes presented electrocatalytic properties, overall when using SD-MWCNTs. Decrease in the oxidation potential of the molecules, reduction of adsorption effects of analytes or their oxidation products, widening of the linear working ranges, and reduction of the detection limits, compared to unmodified and LD-MWCNT-modified electrodes, were observed. The SD-MWCNT-modified electrode showed the following results using amperometric detection, respectively, for naproxen / ibuprofen / chlorhexidine / 4-chloroaniline: detection limits of 0.4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 1.9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0.2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 0.02 $\mu\text{mol L}^{-1}$, relative standard deviations of 3.4 % / 4.2 % / 1.8 % / 1.2 %, analytical frequency of 120 h^{-1} / 100 h^{-1} / 60 h^{-1} / 130 h^{-1} , and working linear ranges from 10 to 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 10 to 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 1 to 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ / 1 to 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$. All the results indicate better performance of the SD-MWCNT-modified electrode, which can be associated with the higher density of defects in the structure of these MWCNTs, which in turn, contributed to the higher electrocatalytic activity of this material.

Keywords: electrocatalysis, carbon nanotubes, amperometry, batch-injection analysis, flow-injection analysis, chlorhexidine, 4-chloroaniline, ibuprofen, naproxen.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO.....	1
1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	2
1.2. ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS	4
1.2.1. Eletrodos Modificados Com Nanotubos De Carbono	5
1.3. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS.....	11
1.3.1. Voltametria Cíclica	13
1.3.2. Amperometria	15
1.4. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA)	17
1.5. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA)	19
1.6. ESPÉCIES ANALÍTICAS ESTUDADAS.....	23
1.6.1. Clorexidina.....	23
1.6.2. Naproxeno.....	26
1.6.3. Ibuprofeno.....	28
1.6.4. 4-Cloroanilina	30
1.7. OBJETIVOS	32
1.7.1. Objetivo Geral	32
1.7.2. Objetivos Específicos.....	33
2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	34
2.1. REAGENTES.....	35
2.2. SOLUÇÕES E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	36
2.3. FUNCIONALIZAÇÃO DOS MWCNTs	36
2.4. PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS.....	37
2.4.1. Eletrodo De Trabalho, Referência E Auxiliar	38
2.5. INSTRUMENTAÇÃO	39
2.5.1. Sistema FIA.....	39
2.5.2. Sistema BIA.....	41
2.6. ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	44
2.7. DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX).....	44
2.8. ESPECTROSCOPIA RAMAN	44
2.9. ELETROFORESE CAPILAR COM DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA SEM CONTATO	45

2.10.	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	45
2.11.	ANÁLISE ESPECTROFLUORIMÉTRICA.....	45
2.12.	ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	46
2.13.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	47
3.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	48
3.1.	CONSIDERAÇÕES GERAIS	49
3.2.	CARACTERIZAÇÃO DOS NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS POR INFRAVERMELHO	49
3.3.	CARACTERIZAÇÃO DOS NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	51
3.4.	ESPECTROSCOPIA RAMAN	54
3.5.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	56
3.6.	ESTUDO DA ÁREA ATIVA DOS ELETRODOS	57
3.7.	INVESTIGAÇÃO DO PONTO DE CARGA ZERO DOS MWCNTs.....	60
3.8.	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE NAPROXENO EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT	63
3.8.1.	Voltamogramas Cíclicos Comparativos Na Presença De Naproxeno	63
3.8.2.	Mecanismo De Oxidação Eletroquímica De Naproxeno	64
3.8.3.	Estudo Amperométrico De Naproxeno Em GCE Não Modificado.....	66
3.8.4.	Otimizações Do Sistema BIA E Faixa Linear De Trabalho Para Determinação De Naproxeno Em GCE	68
3.8.5.	Determinação De Naproxeno De Amostras Farmacêuticas.....	70
3.8.6.	Investigação Do Transporte De Massa	71
3.8.7.	Estudo Amperométrico De Naproxeno Em Eletrodos Modificados Com MWCNT	73
3.8.8.	Otimizações Do Sistema BIA Para Eletrodo Modificado Com MWCNT	74
3.8.9.	Faixa Linear E Repetibilidade	75
3.8.10.	Determinação De Naproxeno Em Amostras Farmacêuticas	79
3.9.	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE IBUPROFENO EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT	81
3.9.1.	Voltamogramas Cíclicos Comparativos Na Presença De IBF.....	81
3.9.2.	Investigação Do Transporte De Massa	83
3.9.3.	Mecanismo De Oxidação Eletroquímica De Ibuprofeno	84
3.9.4.	Estudo Hidrodinâmico Comparativo	86
3.9.5.	Otimizações Do Sistema FIA Para Eletrodo Modificado Com MWCNT	87
3.9.6.	Faixa Linear E Repetibilidade	88

3.9.7. Determinação De Ibuprofeno Em Amostras Farmacêuticas.....	91
3.10. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE CLOREXIDINA EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT	93
3.10.1. Voltamogramas Cíclicos Comparativos De Clorexidina.....	93
3.10.2. Mecanismo De Oxidação De Clorexidina	95
3.10.3. Estudo Amperométrico De Clorexidina Em GCE Não Modificado	96
3.10.4. Otimizações Do Sistema FIA Para GCE	98
3.10.5. Faixa Linear De Trabalho E Determinação De Clorexidina Em Amostras Antissépticas	99
3.10.6. Investigação Do Transporte De Massa	101
3.10.7. Estudo Hidrodinâmico Comparativo	102
3.10.8. Otimizações Do Sistema BIA Para Eletrodo Modificado Com MWCNT	103
3.10.9. Faixa Linear E Repetibilidade	104
3.11. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE 4-CLOROANILINA EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT.....	108
3.11.1. Voltamogramas Cíclicos Comparativos Na Presença DE 4-CLA.....	108
3.11.2. Investigação Do Transporte De Massa	110
3.11.3. Mecanismo De Oxidação De 4-Cloroanilina.....	112
3.11.4. Estudo Hidrodinâmico Comparativo	114
3.11.5. Otimizações Do Sistema BIA Para Eletrodo Modificado Com MWCNT	116
3.11.6. Faixa Linear E Repetibilidade	118
3.11.7. Determinação De 4-Cloroanilina Em Amostras Antissépticas.....	124
3 CONCLUSÕES.....	127
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	130

TRABALHOS REALIZADOS

PUBLICAÇÕES EM REVISTAS CIENTÍFICAS DE ARTIGOS DURANTE O DOUTORAMENTO

- 1 – Cardoso, R. M.; Montes, R. H. O.; Lima, A. P.; Dornellas, R. M.; Nossol, E.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Multi-walled carbon nanotubes: Size-dependent electrochemistry of phenolic compounds. *Electrochimica Acta*, 2015, **176**, 36-43.
- 2 – Montes, R. H. O.; Stefano, J. S.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Exploring multiwalled carbon nanotubes for naproxen detection. *Electroanalysis*, 2014, **26**, 1449-1453.
- 3 – Montes, R. H. O.; Marra, M. C.; Rodrigues, M. M.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Fast Determination of Ciprofloxacin by Batch Injection Analysis with Amperometric Detection and Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection, *Electroanalysis*, 2014, **26**, 432-438.
- 4 – Lima, A. P.; Stefano, J. S.; Montes, R. H. O.; Cunha, R. R.; Silva, L. A. J.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Electrochemical oxidation of chlorhexidine and its amperometric determination by flow-injection analysis, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2014, **25**, 448-452.
- 5 – Stefano, J. S.; Montes, R. H. O.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Flow-injection analysis with multiple-pulse amperometry for simultaneous determination of paracetamol and naproxen using a homemade flow cell for screen-printed electrodes, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2014, **25**, 484-491.
- 6 – Marinho, J. Z.; Montes, R. H. O.; Moura, A. P.; Longo, E.; Varela, J. A.; Munoz, R. A. A.; Lima, R. C.; Rapid preparation of α -FeOOH and α -Fe₂O₃ nanostructures by microwave heating and their application in electrochemical sensors, *Materials Research Bulletin*, 2014, **49**, 572-576.
- 7 – Freire, P. G.; Montes, R. H. O.; Romeiro, F. C.; Lemos, S. C. S.; Lima, R. C.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Morphology of ZnO nanoparticles bound to carbon nanotubes affects electrocatalytic oxidation of phenolic compounds, *Sensors and Actuators B-Chemical* (aceito para publicação) - 10.1016/j.snb.2015.09.086

DEMAIS PUBLICAÇÕES EM REVISTAS CIENTÍFICAS

- 8 – Lima, A. B.; Faria, E. O.; Montes, R. H. O.; Cunha, R. R.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Santos, W. T. P.; Electrochemical Oxidation of Ibuprofen and Its Voltammetric

Determination at a Boron-Doped Diamond Electrode; *Electroanalysis*, 2013, **25**, 1585-1588.

9 – Fernandes, D. M.; Montes, R. H. O.; Almeida, E. S.; Nascimento, A. N.; Oliveira, P. V.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Storage stability and corrosive character of stabilised biodiesel exposed to carbon and galvanised steels, *Fuel*, 2013, **107**, 609-614.

10 – Stefano, J. S.; Lima, A. P.; Montes, R. H. O.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Fast determination of naproxen in pharmaceutical formulations by batch injection analysis with pulsed amperometric detection, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2012, **23**, 1834-1838.

11 - Montes, R. H. O.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Low-potential reduction of sulfite at a ruthenium-oxide hexacyanoferrate modified electrode, *Electrochemistry Communications*, 2012, **21**, 26-29.

12 - Silva, R. A. B.; Montes, R. H. O.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection, *Food Chemistry*, 2012, **133**, 200-204.

13 – Silva, R. A. B.; Montes, R. H. O.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Determinação de peróxido de hidrogênio em antisséptico bucal usando um microdispositivo contendo partículas de azul da prússia, *Química Nova*, 2011, **34**, 987-991.

14 – Almeida, E. S.; Monteiro, M. A. N. A.; Montes, R. H. O.; Mosquetta, R.; Coelho, N. M. M.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Direct determination of copper in biodiesel using stripping analysis, *Electroanalysis*, 2010, **22**, 1846-1850.

DEMAIS TRABALHOS REDIGIDOS/SUBMETIDOS DURANTE O DOUTORAMENTO

15 – Montes, R. H. O.; Dornellas, R. M.; Silva, L. A. J.; Squissato, A. L.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Amperometric determination of the insecticide fipronil using batch-injection analysis: comparison between unmodified and carbon-nanotube modified electrodes.

16 – Montes, R. H. O.; Lima, A. P.; Santos, V. B.; Lago, C. L.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Amperometric determination of 4-chloraniline in commercial chlorhexidine solutions using a multi-walled carbon nanotube modified electrode.

17 – Montes, R. H. O.; Cunha, R. R.; Santos, W. T. P.; Nossol, E.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Electrochemical detection of ibuprofen at multi-walled carbon nanotubes modified electrode.

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Novas ferramentas analíticas são necessárias para o monitoramento em tempo real de processos industriais e para a prevenção da formação de substâncias tóxicas. A obtenção de dados analíticos “in loco” se torna cada vez mais importante com o intuito de melhorar o sistema de produção e em paralelo a minimizar o impacto ambiental. Ao mesmo tempo, o monitoramento contínuo do meio ambiente, que substituiria a coleta de amostra e o transporte ao laboratório de análise, permitiria a obtenção de uma resposta rápida, que muitas vezes é primordial para evitar uma catástrofe ambiental.

Adicionalmente, o desenvolvimento de dispositivos e protocolos que minimizem a geração de rejeitos ou materiais tóxicos é de considerável interesse dentro do contexto de química verde [1]. Nesta abordagem, destaca-se o desenvolvimento de metodologias que substituam reagentes tóxicos ou minimizem os resíduos gerados por análise, além do uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria-prima [2].

Muitas vezes são usados os métodos instrumentais, que são basicamente divididos em três grandes grupos de técnicas: a espectroscopia, a cromatografia e a eletroquímica. No entanto, alguns equipamentos e reagentes que são utilizados nestas técnicas (principalmente na cromatografia) podem ser dispendiosos, tornando análises de rotina inviáveis em muitos laboratórios de pesquisa ou de empresas de pequeno porte.

No desenvolvimento de um método analítico, algumas características atrativas são desejáveis como, por exemplo, fácil operação, menor tempo de análise, mantendo adequada sensibilidade, seletividade, robustez, precisão e baixo custo. Neste sentido, as análises por injeção em fluxo (FIA-“Flow Injection Analysis”) [3] ou por injeção em batelada (BIA-“Batch Injection Analysis”) [4] têm sido amplamente exploradas para satisfazer estes requisitos. Os sistemas FIA e BIA permitem o acoplamento a diversos tipos de detectores, tais como espectrofotométricos [5-7], fluorescentes [8, 9], termométrico [10], quimiluminescentes [11-13], potenciométricos [14-16], voltamétricos [17-20], amperométricos [21-24], entre outros. Os dispositivos

eletroquímicos de análise oferecem vantagens tais como alta sensibilidade, ampla faixa linear e instrumentação simples e portátil (requer baixa quantidade de energia que pode ser fornecida por uma bateria) [25], e portanto, atendem a demanda por métodos analíticos modernos. Entre as técnicas eletroquímicas mais utilizadas, destaca-se a amperometria convencional de potencial constante. Nesta técnica, um potencial é aplicado no eletrodo de trabalho (WE) durante um intervalo de tempo e então a variação de corrente gerada pelo processo redox (redução ou oxidação) de determinado analito deve ser proporcional à sua concentração [26].

A utilização de materiais nanoestruturados em eletroanálise oferece propriedades únicas como aumento de transporte de massa, elevada área superficial e maior relação sinal-ruído (diminuição da corrente residual). A elevada área superficial de eletrodos com dimensão micro ou nanométrica, além de permitir maior transporte de massa, oferece valores de densidade de corrente (ampères por unidade de área) muito maiores do que eletrodos de dimensão convencional (macroeletrodos) [27]. Nesta perspectiva, a miniaturização dos dispositivos de análise tem adquirido uma posição de destaque na química analítica, onde cada vez mais se intensifica a pesquisa para a adaptação de detectores miniaturizados a metodologias já desenvolvidas.

Dentre os materiais nanoestruturados que podem ser adicionados à superfície de um determinado eletrodo, destacam-se os nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT – *single walled carbon nanotubes*), formados por apenas uma folha grafítica, e os nanotubos de paredes múltiplas (MWCNT – *multi walled carbon nanotubes*), formados por um conjunto de nanotubos concêntricos.

Nos capítulos posteriores são apresentados alguns aspectos teóricos e práticos sobre análises por injeção em fluxo (FIA) e em batelada (BIA) com detecção amperométrica, eletrodos modificados, modificadores baseados em nanotubos de carbono e determinação de analitos de interesse farmacêutico em produtos comerciais.

1.2. ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS

No desenvolvimento de sensores, a sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, facilidade de uso, baixo custo e robustez constituem as características mais importantes. A crescente demanda das áreas da medicina, da indústria e do meio ambiente tem impulsionado o desenvolvimento dos mais variados sensores. No entanto, a regeneração da superfície após o uso é o maior entrave para o emprego de eletrodos sólidos comerciais [28].

A denominação eletrodo quimicamente modificado (CME) foi inicialmente utilizada na eletroquímica por Murray e colaboradores [29] para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas convenientemente imobilizadas na superfície desses dispositivos. O principal objetivo dessa modificação é pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução, como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do sensor base, favorecendo assim o desenvolvimento de eletrodos para vários fins e aplicações, desde a utilização como agentes para transferências rápidas de elétrons [30], eletrocatalise [31], agentes que promovam a pré-concentração de traços de moléculas ou íons em soluções para análises quantitativas [32], entre outros. A Figura 1 mostra esquematicamente um CME com função mediação.

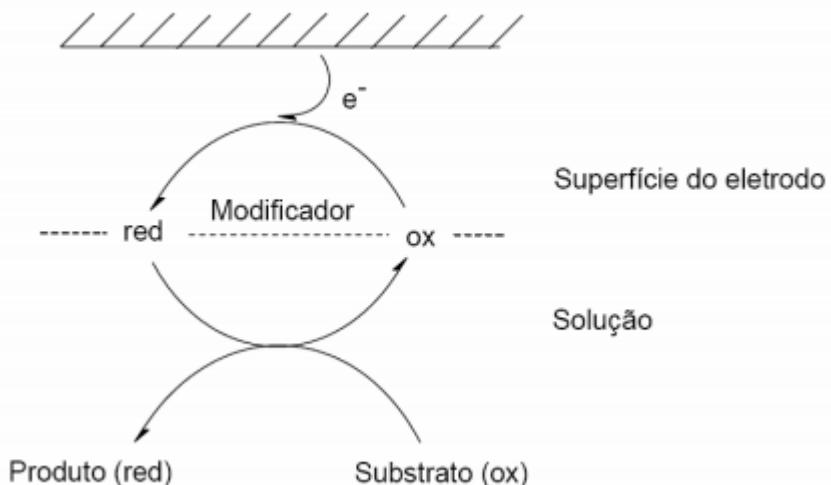


Figura 1. Representação esquemática do princípio de ação do modificador na superfície de um eletrodo para eletrocatalise [33].

O eletrodo base e o modificador químico são as duas partes que constituem um CME. A forma de preparação de um CME é determinada pelas características analíticas desejadas do sensor. O desenvolvimento desses sensores com características diferenciadas é uma área em crescimento e de grande interesse da eletroquímica e eletroanalítica. Os CMEs possuem uma ampla aplicação em estudos eletroanalíticos devido à versatilidade de modificações e modificadores eletroquímicos. A grande maioria das aplicações analíticas de CMEs envolve técnicas voltamétricas ou amperométricas. Entretanto, também são descritos na literatura a aplicação de CMEs como eletrodos íon seletivos [34].

A escolha do material para o eletrodo base, cuja superfície sofrerá a modificação, é um aspecto muito importante da preparação de um CME. Este substrato deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e também ser adequado para o método de imobilização selecionado. Entre os materiais convencionais podemos citar ouro, platina, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono, pasta de carbono e nanotubos de carbono (CNT). Carbono vítreo reticulado, polímero condutor e vidros condutores estão incluídos entre os substratos menos usuais.

Adsorção irreversível direta, ligação covalente a sítios específicos da superfície do eletrodo, recobrimento com filmes poliméricos, de forma geral, constituem os métodos mais importantes para promover a modificação do eletrodo base [35]. Dentro deste contexto, vêm se destacando ultimamente os eletrodos modificados com CNTs, que apresentam morfologia tubular com dimensões nanométricas.

1.2.1. ELETRODOS MODIFICADOS COM NANOTUBOS DE CARBONO

Nas últimas décadas, houve considerável estímulo na área de sensores devido às recentes descobertas da nanotecnologia. A possibilidade de empregar materiais nanoestruturados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos conferindo melhoria no desempenho destes tem atraído atenção de diversas áreas de atuação como, por exemplo, em diagnósticos clínicos, indústria de alimentos, fármacos e ambiental. Estes materiais geralmente exibem propriedades diferenciadas com relação

aos demais materiais com maiores dimensões, como propriedades do tipo magnéticas, óptica, alto ponto de fusão, calor específico e reatividade da superfície [36].

As novas propriedades buscadas em nanomateriais podem ser atribuídas a dois fatores. Quando se tem um material em escala nanométrica, cada partícula é formada por uma pequena porção de átomos, normalmente de dezenas a algumas centenas. Isso faz com que a razão entre superfície/volume de nanopartículas seja alta. Assim, o número de átomos na superfície da partícula é comparável ao número de átomos no interior da mesma. Como o número de átomos de cada entidade nanométrica é reduzido, normalmente os átomos superficiais possuem número de coordenação incompletos, o que acarreta em sistemas instáveis termodinamicamente e, por isso, são mais susceptíveis a formar novas ligações. O segundo fator é o efeito de confinamento quântico, que está diretamente relacionado com variações nas propriedades óticas e eletrônicas de um nanomaterial. Este fenômeno pode ser explicado através de uma aproximação ao “modelo da partícula na caixa”, onde o tamanho da caixa é dado pelas dimensões das nanopartículas [37, 38].

Nesta perspectiva, a miniaturização dos dispositivos de análise tem ganhado uma posição de destaque na química analítica, onde cada vez mais se intensifica a pesquisa para a adaptação de detectores miniaturizados aos métodos já desenvolvidos.

Desta forma, destaca-se a química eletroanalítica, devido a algumas características vantajosas, como: portabilidade, custo moderado, elevada sensibilidade nas determinações [39, 40], possibilidade de miniaturização dos eletrodos e uso de diferentes materiais que podem ser de baixo custo e/ou reaproveitáveis. Como materiais utilizados para a análise de pequenos volumes, pode-se citar o uso de eletrodos de películas metálicas como ouro ou prata aproveitados de CD-Rs [41-43], fios de ouro [44, 45], prata [46], platina [47] ou cobre [48] com diâmetro de até 200 μm , eletrodos de pasta de carbono [49] e compósitos de grafite [50].

A imobilização de espécies de interesse sobre superfícies de CMEs tem sido uma área em destaque nos anos mais recentes. Dentre essas inúmeras formas de modificação, o recobrimento da superfície eletródica por CNT tem merecido destaque. Na sua maioria, essas modificações estão combinadas de tal forma, que os CMEs

ganham sensibilidade, seletividade, reproduzibilidade, estabilidade e aplicabilidade superiores àquelas do eletrodo convencional sem prévia modificação.

Um dos trabalhos pioneiros foi feito por Wang e colaboradores [51] em que um eletrodo de carbono vítreo (GCE) foi modificado com camadas de CNT, e utilizado para oxidação eletrocatalítica de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH). Foi observado um decréscimo de 490 mV no sobrepotencial de oxidação (começando em -0,05 V vs Ag/AgCl; pH 7,4) em relação ao eletrodo não modificado. A utilização destes eletrodos modificados foi estudada por outros pesquisadores [52-54].

A cinética mais rápida de uma reação redox em eletrodo modificado é comumente interpretada em termos de eletrocatalise causada pelos nanotubos. O critério de diagnóstico para processos de eletrodo de cinética rápida é frequentemente simplificado à avaliação da separação entre os potenciais de pico dos picos direto e reverso do experimento de voltametria cíclica (CV). No entanto, essa comparação só é válida se o regime de transporte de massa para o eletrodo não modificado e modificado é o mesmo [55].

Um dos frutos do interesse pelo domínio das pequenas dimensões foi a obtenção por acaso dos CNT sintetizados e descritos como tal pela primeira vez em 1991 por Iijima, usando o processo de pirólise de grafite em plasma sob atmosfera controlada de hélio [56]. Desde a sua descoberta [57], os CNTs têm sido reconhecidos como um importante nanomaterial para a concepção de sensores e biosensores eletroquímicos. Eles geralmente possuem um forte efeito eletrocatalítico, uma rápida velocidade de transferência de elétrons, condutância elevada, resistência à tração, boa estabilidade química e excelente biocompatibilidade.

Estes materiais podem ser produzidos por diferentes métodos, sendo o mais investigado o processo por deposição de vapor químico, baseado na decomposição térmica de fontes gasosas de carbono, como CH₄, C₂H₄ ou outras moléculas orgânicas, na superfície de catalisadores metálicos nanoparticulados [58].

Os CNTs tratam-se de uma forma alotrópica do carbono, na qual arranjos hexagonais destes átomos, com hibridização nominal sp², se dispõem ao longo de superfícies cilíndricas de diâmetros da ordem de nanômetros e comprimentos da ordem de micrômetros [59]. Podem ser observadas estruturas de múltiplas camadas concêntricas (MWCNTs, Figura 2) ou estruturas de uma única camada (SWCNTs),

sendo que as extremidades podem ser constituídas por formas semi-esféricas (hemi-fulerenos), formas cônicas ou poliédricas [60].

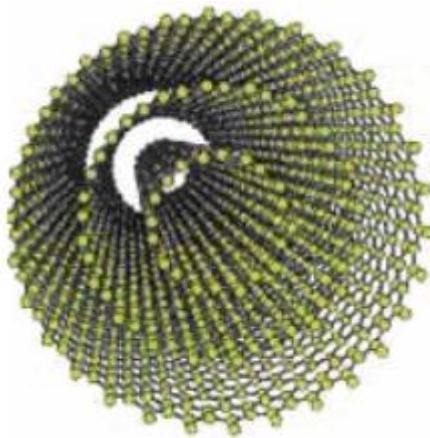


Figura 2. Estrutura de nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

Apesar da semelhança estrutural para uma única folha de grafeno que é um semicondutor, os SWCNTs podem ser condutores ou semicondutores, dependendo da direção da folha de grafeno sobre a qual é enrolado para formar o nanotubo.

As propriedades eletrônicas dos MWCNTs são bastante semelhantes aos SWCNTs, pois a junção entre os cilindros é fraca. Através da estrutura eletrônica quase unidimensional, o transporte eletrônico dos SWCNTs e dos MWCNTs se dá ao longo da superfície dos CNTs [61, 62]. Os SWCNTs consistem em um único tubo de grafeno, e os MWCNTs consistem em vários tubos concêntricos de grafeno. Os diâmetros dos CNTs podem variar de nanômetros para os MWCNTs (1,4 a 100 nm) e só alguns nanômetros no caso dos SWCNTs (0,4 a 3,0 nm). A maioria das propriedades dos SWCNTs depende do seu diâmetro e ângulo quiral, também chamado de ângulo de helicidade, ϕ . Estes dois parâmetros resultam dos chamados índices de Hamada (n, m) [63]. Na literatura é possível encontrar alguns trabalhos que estudaram e mostraram que MWCNTs com diferentes diâmetros geralmente apresentam diferentes propriedades físico-químicas [64-66]. As dimensões reduzidas, a alta condutividade e as propriedades físico-químicas ímpares dos CNTs são as responsáveis pelo aumento do desempenho eletroanalítico dos sensores, a saber: aumento do sinal analítico e diminuição do sobrepotencial de trabalho. Outra característica importante dos CNTs é a possibilidade de sua modificação, por exemplo, com enzimas, proteínas redox, mediadores de

elétrons entre outros, incrementando as suas propriedades químicas e/ou mecânicas, aumentando desta maneira a aplicabilidade destes materiais em diversas áreas de interesse [54, 67-70].

Sendo as propriedades dependentes da estrutura, pode-se supor que a modificação racional desta possa levar à modulação de uma determinada propriedade. A manipulação de CNT vem sendo amplamente avaliada [71], sendo relatados vários tipos de interações, tais como processos físicos e químicos. Tais interações se fazem importantes no sentido de possibilitar, por exemplo, a dispersão das espécies [72].

A grande barreira para o desenvolvimento de tais dispositivos com CNTs é a insolubilidade destes em todos solventes [73]. Algumas estratégias têm sido propostas para superar os vários obstáculos para realizar a dispersão incluindo o uso de ultrassons, o uso de agentes tensoativos, modificação química através da funcionalização e combinações destes [74], buscando diminuir as forças de Van der Waals. Os problemas de agregação podem ser habitualmente resolvidos pelo uso de ultrassons durante o processo de dispersão de CNT [75].

A condutividade elétrica mais elevada é obtida no caso de uma melhor dispersão de CNT [76]. A medida da permissividade dielétrica é um método indireto para caracterizar o estado de dispersão de CNT [77]. É possível encontrar também diferentes dispersões sendo caracterizadas por espectrofotométrico UV-Vis [78].

Métodos de dispersão usando ultrassons são geralmente necessários para a dispersão de materiais em escala nanométrica no líquido, devido às grandes relações entre área superficial e volume bem como a escala de ação das ondas ultrassônicas [79]. É visto na literatura a capacidade do polímero Nafion amplamente utilizado para solubilizar CNT de parede única e multiparedes. Filmes de Nafion têm sido amplamente utilizados para a modificação de superfícies de eletrodos e para a construção de biossensores amperométricos [80, 81] de forma semelhante a outros polímeros usados para dispersar CNT [82]. Tal capacidade de Nafion para solubilizar CNT é claramente indicada pelas mudanças visíveis a olho nu. A solubilização de CNT por Nafion permite uma variedade de manipulações, incluindo a modificação de superfícies de eletrodos e a preparação de biossensores. A associação CNT/Nafion não prejudica as propriedades eletrocatalíticas do CNT [83]. É comum encontrar na literatura, dispersão em solventes orgânicos apróticos polares, tais como

dimetildiformamida (DMF), o qual forma uma dispersão cineticamente estável [84]. Até o momento, praticamente nada se sabe sobre as estruturas e interações do CNT em solução. Torna-se assim importante compreender a natureza coloidal do CNT nestas dispersões. Estes meios influenciam sobre a morfologia dos recobrimentos e sobre as propriedades eletroquímicas dos CNTs dependendo do mecanismo do sistema redox, mas não altera a superfície química do nanomaterial como ocorre quando se empregam meios ácidos ou tratamentos eletroquímicos de ativação [85].

Uma aplicação promissora do CNT é a sua utilização em sensores químicos e aparelhos eletrônicos em nanoscalas. Tais aplicações se beneficiam muito com a capacidade dos CNT para promover as reações de transferência de elétrons entre biomoléculas importantes, incluindo o citocromo c [86], NADH [51], neurotransmissores de catecolaminas [87], ou ácido ascórbico [88].

A adsorção irreversível de CNT sobre superfícies eletródicas convencionais constitui uma estratégia útil para preparar, de forma simples, sistemas de detecção que exibem um excelente comportamento frente às reações eletroquímicas de algumas moléculas de interesse [85].

Dalmasso e colaboradores [89] relataram o desempenho analítico de GCE modificados com uma dispersão de MWCNT em poli-histidina (poli-his) (GCE/MWCNT-poli-his) para a determinação simultânea de ácido ascórbico (AA) e paracetamol (PA). O eletrodo modificado apresentou maior sensibilidade (aproximadamente 4 e 7 vezes maior para AA e PA, respectivamente) e menores potenciais de oxidação das espécies (decréscimo de 292 mV para AA e 40 mV para PA), demonstrando excelentes atividades eletrocatalíticas para oxidação de AA e PA comparado ao GCE não modificado. O limite de detecção (DL) foi 0,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para AA e 32 nmol L^{-1} para PA [89].

Jara-Ulloa e colaboradores reportaram o comportamento eletroquímico de um derivado do 4-nitroimidazol em GCE modificado com MWCNT utilizando água e DMF como dispersante. O eletrodo modificado apresentou propriedades eletroquímicas significativas para a redução deste composto com correntes satisfatórias, diminuição no sobrepotencial e boa relação sinal-ruído comparada ao eletrodo não modificado. Uma boa repetibilidade com coeficiente de variação de 2,9 % e um DL igual a 114 nmol L^{-1} foram adquiridos [90].

Um nanosensor voltamétrico de GCE modificado com MWCNT foi utilizado por Dogan-Topal e colaboradores para a determinação de um fármaco anti-viral chamada calganciclovir em amostras farmacêuticas. Um faixa linear de trabalho de $7,5 \text{ nmol L}^{-1}$ a $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ com DL de $1,52 \text{ nmol L}^{-1}$ foi adquirida. Um baixo desvio padrão relativo (RSD) de 2,07 % com 5 injeções de mesma concentração é apresentado neste trabalho. O eletrodo modificado apresentou satisfatória estabilidade, sensibilidade, seletividade e reprodutibilidade para este fármaco [91].

Rodríguez e colaboradores reportam a quantificação altamente sensível e seletiva de ácido úrico na presença de AA utilizando eletrodos de GCE modificados com MWCNTs dispersos em poli-lisina (Plys) (GCE / MWCNT-Plys). A atividade eletrocatalítica de GCE/MWCNT-Plys verificou-se pela diminuição de até 440 mV no sobrepotencial de oxidação de AA, o que permitiu desta forma determinar ácido úrico na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AA, e obtendo um DL de $2,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ para AU [92].

1.3. TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

O controle de qualidade nas indústrias farmacêuticas é dominado por técnicas cromatográficas, principalmente pela cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta, mais conhecida pela sigla HPLC do inglês “*High Performance Liquid Chromatography*”, uma vez que estas permitem o desenvolvimento de métodos altamente robustos e seletivos, parâmetros analíticos extremamente importantes. Entretanto, os métodos cromatográficos, apesar das vantagens descritas anteriormente, apresentam diversos inconvenientes frente a outras ferramentas analíticas, tais como: elevado custo na aquisição dos equipamentos e serviços de manutenção, utilização de reagentes de alto custo onerando as análises de rotina, baixa frequência analítica devido aos tediosos e recorrentes tratamentos de amostras e longos tempos de retenção, complexidade de operação requerendo mão-de-obra altamente capacitada, além da elevada geração de resíduos devido à utilização de solventes orgânicos na fase móvel, exigindo controle mais complexo e dispendioso dos efluentes das empresas para que não haja impacto ambiental pelo setor analítico.

Com o objetivo de se obter informações fundamentais sobre propriedades intrínsecas das substâncias, as técnicas eletroanalíticas estão sendo cada vez mais utilizadas nas mais diversas áreas do conhecimento. Estudos de processos de oxidação e redução em vários meios, de adsorção em superfícies e de mecanismo de transferência de elétrons, exemplificam algumas das aplicações das técnicas eletroanalíticas.

Além disso, o entendimento do transporte de massa do seio da solução até a superfície do eletrodo também é de extrema importância. Existem três formas pelo qual o transporte de massa pode ocorrer em uma célula eletroquímica: difusão, migração e convecção [93]. A difusão é criada pela diferença de concentração entre as espécies próximas à superfície do eletrodo e o seio da solução; a migração deve-se à movimentação de espécies iônicas devido à ação de um campo elétrico e a convecção consiste na movimentação de espécies iônicas ou neutras devido à agitação mecânica da solução (sistemas hidrodinâmicos) ou em função de um gradiente de temperatura (normalmente desprezível).

Assim, as técnicas eletroanalíticas surgem com uma alternativa para a determinação de fármacos, pois além de simples e de baixo custo, elas oferecem a possibilidade de se determinar a concentração do composto de interesse diretamente na amostra, sem pré-tratamentos ou separações prévias com grande sensibilidade, seletividade e baixos DL resultante das técnicas de pré-concentração e modos de aquisição de sinal que proporciona ambiente com baixo sinal ruído [94].

Dois tipos de correntes podem influenciar na situação de baixo sinal ruído: alta corrente faradaica e baixa corrente capacitiva. A corrente faradaica e a corrente não faradaica ou capacitiva estão relacionadas a dois diferentes processos, em que a faradaica pode conduzir corrente através da interface eletrodo/solução [95]. A origem da corrente faradaica está na transferência de elétrons entre o eletrodo de trabalho e as espécies eletroativas da solução. Este processo obedece à lei de Faraday, a qual determina que a corrente é proporcional a quantidade de reagentes formados ou consumidos no eletrodo. A corrente capacitiva é gerada pela dupla camada elétrica formada na interface eletrodo/solução devido a uma variação de potencial ou até mesmo a potencial constante, caso a capacitância do eletrodo estiver mudando por

alguma razão, que pode ser pela mudança de área do eletrodo ou pela variação de temperatura. Esta corrente não depende de nenhuma reação eletroquímica.

1.3.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

A CV é uma técnica usada como alternativa na análise qualitativa e quantitativa de qualquer composto químico que seja eletroativo, isto é, que possa ser oxidado e/ou reduzido eletroquimicamente. Com esta técnica podem ser efetuados estudos fundamentais de processos de oxidação e redução em vários eletrólitos, processos de adsorção em diferentes materiais, e mecanismos de transferência eletrônica em superfícies de CMEs. Nesta técnica, a intensidade de corrente que flui através de um eletrodo é medida em função do potencial aplicado ao eletrodo de trabalho [96].

A CV, embora não seja utilizada com frequência para a determinação quantitativa, é uma técnica que deve ser escolhida, quando se inicia o estudo de um sistema desconhecido, isto é, para se estudar eletroquimicamente um composto pela primeira vez. A partir do voltamograma traçado, facilmente se obtém informações quanto aos potenciais em que ocorrem os processos de transferência de elétrons, para o estudo da reversibilidade das reações redox, na detecção de intermediários de reação e nos estudos de produtos formados no decorrer de uma reação [97].

Quando a cinética do processo é controlada por difusão das espécies, o processo global de transferência eletrônica é considerado eletroquimicamente reversível. Quando a velocidade de transferência eletrônica controla o sistema, este é considerado eletroquimicamente irreversível. Um sistema é considerado quase-reversível, nos casos intermédios, em que as duas velocidades são da mesma ordem de grandeza [40, 94].

O perfil de corrente elétrica em função do potencial do registro da corrente elétrica, associada à variação de potencial, denomina-se voltamograma. A forma deste depende de três fatores: velocidade da reação de transferência eletrônica; transporte de massa da espécie eletroativa do interior da solução para a superfície do eletrodo; existência de reações químicas acopladas a algum destes processos. Desta forma, a taxa da reação estará controlada pela etapa que for mais lenta e a reação estará

controlada ou por transporte (transporte de massa) ou por ativação (transferência de elétrons). [40].

A velocidade do transporte de massa não deve sofrer alterações para que a relação sinal eletroquímico medido e concentração da espécie analítica de interesse seja linear. Para isso, deve-se utilizar um eletrólito inerte cuja concentração seja pelo menos 100 vezes superior ao das espécies analíticas de interesse, sendo que este eletrólito deve estar presente nas amostras e nas soluções padrão [98].

Na CV uma variação linear de potencial sobre a superfície do eletrodo de trabalho é feita de modo triangular obtendo-se um voltamograma da densidade de corrente em função do potencial aplicado (Figura 3) [94, 99-101].

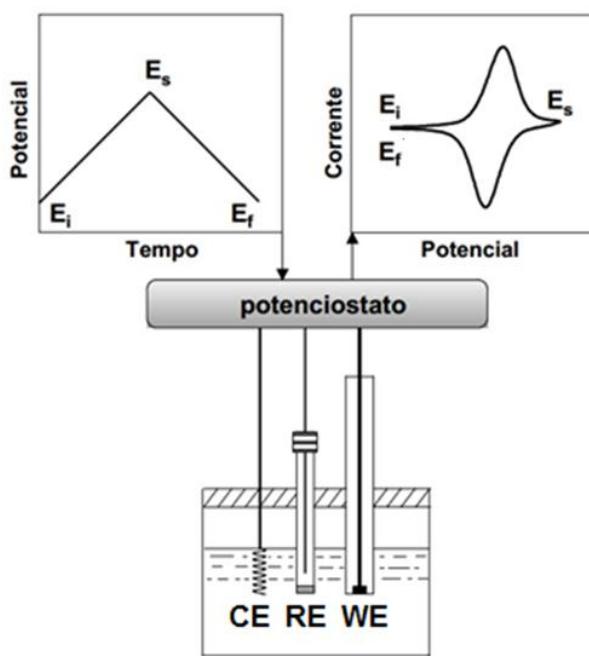


Figura 3. Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. Ei: potencial inicial; Ef: potencial final; Es: potencial de inversão; WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar [102].

As técnicas voltamétricas abrangem um conjunto de técnicas eletroquímicas, nas quais o controle do potencial é feito no WE. Para que este controle seja possível, uma diferença de potencial é aplicada entre o WE e um RE cujo potencial elétrico é conhecido e constante. Para que o potencial se mantenha constante no RE durante os experimentos, a corrente gerada pelo sistema flui entre o WE e o CE. Os principais

atributos responsáveis pela popularização, em diversas áreas de aplicação, dessas técnicas são: facilidade de utilização e versatilidade.

Outras técnicas voltamétricas muito utilizadas também são: de pulso diferencial e de onda quadrada. Na voltametria de pulso diferencial uma série de pulsos de amplitude constantes (10-100 mV) são superpostos a rampa de potencial crescente. A corrente é medida duas vezes, uma antes da aplicação do pulso e outra ao final do pulso. A primeira corrente é instrumentalmente subtraída da segunda, e a diferença das correntes é plotada versus o potencial aplicado. A diferença de corrente por pulso é registrada em função do potencial aplicado. O objetivo de se fazer duas medidas da corrente e trabalhar com a diferença entre elas é a correção da corrente capacitiva. O resultado é uma curva diferencial no qual consiste em um máximo cuja altura é diretamente proporcional à concentração do analito e esta técnica permite obter limites de detecção na ordem de 10^{-8} mol L⁻¹ [39, 94, 103].

A voltametria de onda quadrada é um tipo de voltametria de pulso que tem como vantagem a grande velocidade e a alta sensibilidade, sendo possível obter um voltamograma completo em poucos segundos. Com o eletrodo de trabalho, a varredura é feita durante os últimos milisegundos do período de tempo de cada degrau do sinal de excitação. A corrente é amostrada duas vezes, uma ao final do pulso direto, quando a direção do pulso é igual à direção da varredura, e outro ao final do pulso reverso, onde a direção do pulso é contrária à direção da varredura. Assim como na voltametria de pulso diferencial, esta dupla amostragem da corrente garante uma minimização da contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente total lida [39, 94, 103].

1.3.2. AMPEROMETRIA

A amperometria convencional é uma técnica em que se aplica um potencial constante, no qual ocorre a oxidação ou redução eletroquímica de compostos eletroativos de interesse, e mede-se a corrente correspondente ao longo do tempo, relacionando a corrente à concentração. Um potenciómetro registra os pontos em uma região selecionada do perfil corrente-potencial [40]. A amperometria se baseia na

aplicação de um único degrau de potencial (Figura 4A), produzindo uma corrente que decai rapidamente com o tempo (Figura 4B).

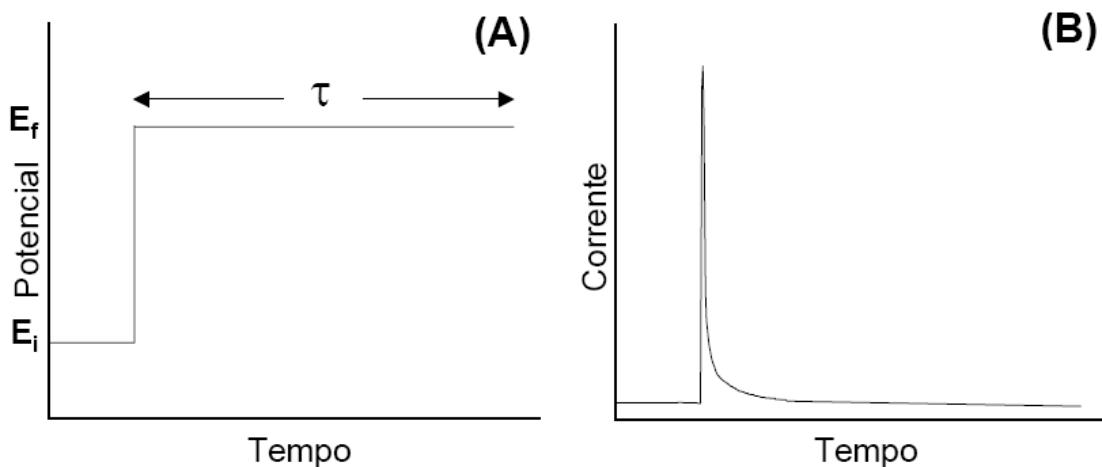


Figura 4. (A) Perturbação aplicada e (B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial [102].

Os detectores amperométricos apresentam maior sensibilidade, sendo que a medição de correntes baixíssimas (μA a nA), portanto de baixas concentrações, está associada à menor corrente capacitiva (resultante do carregamento da dupla camada elétrica do eletrodo) uma vez que o potencial do eletrodo é mantido em um único valor fixo e menor efeito de contaminação da superfície do WE devido ao menor tempo de contato da amostra e dos produtos do processo redox com o eletrodo (comparado aos processos estacionários) [104]. Desta forma, uma maior estabilidade pode ser alcançada, proporcionando alta reprodutibilidade nos resultados obtidos.

Esta técnica é muito utilizada em eletroanálise, principalmente em aplicações envolvendo titulações amperométricas, sensores amperométricos e medições em fluxo. Quando associada a métodos de análise com alta velocidade, tais como FIA e BIA, esta técnica torna-se ainda mais atrativa em eletroanalítica.

Uma das limitações desta técnica consiste na sua baixa seletividade. Se a análise é realizada em potenciais extremos (positivos ou negativos), promove-se a oxidação ou a redução de todas as espécies que são eletroativas em potenciais abaixo do valor estabelecido. Portanto, é aconselhável empregar valores mínimos de potencial.

Outro problema da técnica está relacionado ao bloqueio da superfície do eletrodo durante as análises. A contaminação da superfície do eletrodo pode produzir sinais eletroquímicos, devido aos produtos adsorvidos, interferindo no sinal desejado e ainda afetar a taxa de transferência de carga entre o eletrodo e o analito.

Para contornar estes problemas em relação à contaminação ou passivação, ou ambos, da superfície do eletrodo de trabalho, geralmente as técnicas amperométricas baseadas na amperometria de múltiplos pulsos (MPA) aparecem como boa alternativa. Portanto, a aplicação de um pulso adicional possibilita a limpeza eletroquímica do eletrodo alcançando uma boa estabilidade do sinal eletroquímico ao longo da análise [105].

Geralmente, esse processo conta com um potencial de limpeza, o qual seria usado com o intuito de oxidar ou reduzir possíveis espécies que estejam adsorvidas no eletrodo, sejam estas o próprio analito ou produtos de oxidação do mesmo. Se a superfície do eletrodo for mantida limpa e eletroquimicamente ativa durante a análise, aumenta consideravelmente a possibilidade de obtenção de respostas estáveis, reproduutíveis e relacionáveis com a concentração do analito na solução (faixa linear de trabalho). O software GPES 4.9.007 que possui a MPA permite a aplicação de até 10 pulsos de potenciais com o monitoramento da corrente em função do tempo em todos os pulsos de potenciais (aquisição de até 10 amperogramas distintos e simultâneos).

1.4. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA)

Análise por injeção em fluxo, do inglês “*Flow Injection Analysis*” originou a sigla FIA internacionalmente conhecida. Este sistema tem sido bastante explorado para a análise de diversas substâncias e, por sua vez, proporciona diversas vantagens, tais como: uso de instrumentação versátil, baixo custo dos componentes do sistema, elevada frequência analítica e ainda pode ser automatizado, diminuindo os riscos de intoxicação do analista, devido à exposição aos reagentes e amostras em comparação aos procedimentos manuais [106].

Procedimentos automáticos ou mecanizados alternativos baseados na técnica de injeção em fluxo com detectores amperométricos e voltamétricos têm sido amplamente sugeridos na indústria farmacêutica, de alimentos e nas ciências forenses e clínicas [107]. FIA é um sistema analítico bem estabelecido para análise de rotina e controle de qualidade [108].

Ruzicka desenvolveu o sistema [3] e com o auxílio de uma seringa, uma alíquota de amostra era inserida no fluxo transportador e os reagentes eram inseridos continuamente por uma bomba peristáltica a vazão constante em pontos de confluência, nos quais ocorria a interação reagente/amostra que, em seguida, era bombeada até o detector permitindo a obtenção de um sinal transiente. A pulsação do fluido transportador nos sistemas FIA pode ser evitada por meio do uso de amortecedores pneumáticos. Resultados reprodutíveis e confiáveis podem ser obtidos em FIA, desde que as condições iniciais (vazão, volume injetado e dimensões do sistema) permaneçam inalteradas até o final do experimento. A Figura 5 mostra os componentes de um sistema FIA de linha única e o perfil dos sinais analíticos obtidos.

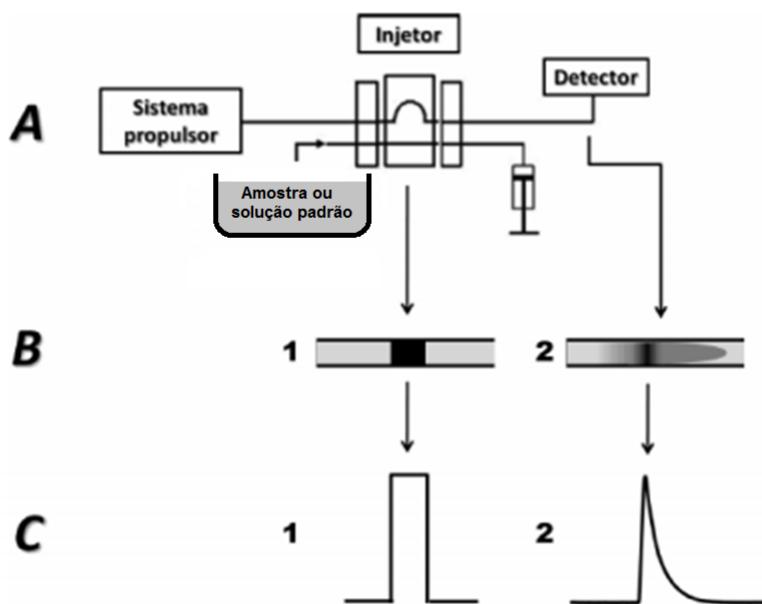


Figura 5. (A) Disposição dos componentes de um sistema FIA típico de linha única. (B) Esquema do gradiente de concentração das amostras (ou padrões) criado em distintos momentos do fluxo transportador com os (C) sinais analíticos obtidos.

O líquido transportador é impulsionado pelo sistema propulsor (Figura 5A), o qual serve para impulsionar a amostra (ou solução padrão), que é injetada durante o movimento deste fluxo. Fluídos podem ser transportados através das tubulações do sistema FIA por distintos mecanismos físicos. Propulsores de bomba de pistão, propulsão a gás, fluxo gravitacional, bombas peristálticas e bombas de membrana são alguns sistemas possíveis para movimentar a solução transportadora em uma tubulação. Porém, a bomba peristáltica é o propulsor mais utilizado, devido a maior versatilidade relativa (vazão constante gerada, controle de vazão por sistemas computadorizados, controle de vazão em várias tubulações simultaneamente, etc.). No entanto, as vazões produzidas pelas bombas peristálticas são pulsadas, o que pode gerar ruídos nos detectores, principalmente nos eletroquímicos. Para diminuir ruídos causados pela pulsação da bomba, comumente utiliza-se amortecedores de pulsos [109].

A amostra ou solução padrão é inserida pelo injetor no sistema em fluxo. Geralmente, são injetados, nos sistemas FIA convencionais, volumes na ordem de 50 a 300 μL . O injetor manual do tipo proporcional construído em Piracicaba é usado em nosso grupo de trabalho [110].

A unidade de detecção é o ponto do curso no qual as leituras e os sinais são obtidos e podemos ter diversos tipos de detectores utilizados em Química Analítica, como espectrofotômetro UV-Vis, espectrofotômetros de absorção e emissão atômica, potenciômetros e condutivímetros [111]. Nos detectores eletroquímicos, ao contrário, o sinal monitorado é governado pela quantidade de espécies eletroativas que alcançam a superfície do eletrodo, onde ocorre a reação eletroquímica para produzir o sinal do detector. Assim sendo, o sinal é sensivelmente dependente da taxa de transporte de massa para a interface eletrodo/solução.

1.5. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA (BIA)

O desenvolvimento de sistemas automatizados, com alta velocidade, boa precisão, de baixo custo e com possibilidade de uso em campo se tornou essencial na

química analítica devido à crescente demanda por análises rápidas de um grande número de amostras.

Em 1991, Wang e Taha [4] introduziram um procedimento analítico inovador batizado como análise por injeção em batelada (BIA, do inglês “*Batch Injection Analysis*”), a qual é considerada uma forma alternativa de realização de testes rápidos. A técnica BIA envolve a injeção de uma alíquota (normalmente 100 μL) de amostra, através da ponteira de uma micropipeta, diretamente na superfície do eletrodo de trabalho (considerado como configuração wall-jet) que está imerso em um grande volume de solução. São observadas respostas transientes (picos, semelhante a um sistema de análise por injeção em fluxo “FIA”), refletindo a passagem da zona de amostra sobre a superfície do eletrodo de trabalho. Este procedimento possui características atraentes e semelhantes às observadas em sistemas em fluxo, como: alta velocidade de análise, sensibilidade e reproduzibilidade. Além disso, o sistema BIA apresenta algumas vantagens em relação a FIA, como eliminação de problemas relacionados com bombas ou válvulas, vazamentos, presença de bolhas no sistema, descarte excessivo de eletrólitos e adaptação do sistema a análises em campo (fora do ambiente de laboratório) [112].

A Figura 6 apresenta um diagrama esquemático de uma célula BIA que foi utilizada em alguns trabalhos científicos e descrita no artigo de revisão por Quintino e Angnes [112].

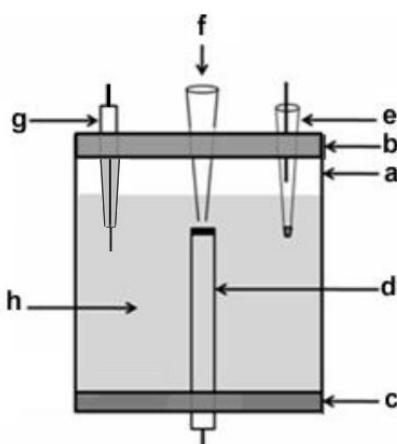


Figura 6. Sistema BIA com detecção eletroquímica. a) corpo da célula; b) tampa superior; c) tampa inferior; d) eletrodo de trabalho; e) eletrodo de referência; f) ponteira de micropipeta para injeção; g) eletrodo auxiliar; h) solução de eletrólito suporte. Adaptada de [112]

Numa célula BIA, o WE é posicionado na direção oposta à da injeção (Figura 6), ou seja, ele se encontra numa posição invertida em relação à posição normalmente utilizada em células eletroquímicas. Para injeção das soluções de análise pode ser utilizada uma micropipeta convencional ou uma micropipeta eletrônica [113]. Entretanto, a última fornece maior precisão, pois as condições (volume e principalmente velocidade de injeção) são programadas eletronicamente. Deste modo, operadores com pouca (ou nenhuma) experiência podem efetuar as injeções no sistema de forma reproduzível. A ponteira da micropipeta é acomodada em um orifício (localizado na tampa da célula) posicionado na direção exatamente oposta (frontal) ao WE, de modo que todas as injeções sejam feitas com a mesma distância entre a ponteira e a superfície do WE. O WE pode ser movido para cima ou para baixo, de modo a ajustar a melhor distância entre a superfície do eletrodo e a ponteira da micropipeta. Em outros dois orifícios localizados na tampa da célula são fixados o RE e CE. Opcionalmente pode também ser inserida uma barra magnética para acelerar o transporte de massa no interior da célula, ou ainda por meio de uma haste giratória acionada por bateria e posicionada em orifício adicional na parte superior da célula da Figura 6 [114]. Por último, é adicionada à solução do eletrólito suporte em volume suficiente para que os três eletrodos tenham contato elétrico entre si.

Antes da injeção (Figura 7a), observa-se uma corrente constante referente ao eletrólito suporte (ausência de transferência eletrônica na interface eletrodo/solução); no início da injeção (Figura 7b) existe o aumento abrupto da corrente, referente à conversão redox do analito (oxidação ou redução) que está sendo transportado mecanicamente (micropipeta eletrônica) até a superfície do WE; no final da injeção (Figura 7c) é alcançado o valor máximo de corrente (patamar de corrente – $I_{\text{máx}}$), que permanece constante durante um pequeno intervalo de tempo; após o fim da injeção existe uma queda abrupta na corrente (Figura 7d), que é referente a mudança do transporte mecânico (micropipeta) para o transporte de massa por difusão. Nesta etapa, o analito começa a ser diluído pelo eletrólito suporte (processo de difusão) até que se restabeleçam as condições iniciais do equilíbrio existente antes da injeção (Figura 7e). Esta velocidade de remoção do analito da superfície do WE (“lavagem”) pode ser aumentada através de agitação magnética, pois a convecção acelera

significativamente a diluição do produto da reação redox no eletrólito após o término da injeção.

Algumas condições de trabalho típicas de sistemas BIA com detecção amperométrica são:

- Células com volume total entre 10,0 e 200,0 mL;
- Volume de injeção de 100 μ L, pois geralmente a I_{max} é facilmente atingida com este volume injetado (para WE com diâmetro de 2 ou 3 mm). Logo a injeção de volumes maiores causa somente o alargamento do pico, devido ao maior tempo para a difusão das espécies, acarretando em menor frequência analítica;
- Distância entre a superfície do WE e a ponteira da micropipeta de aproximadamente 2 mm. O emprego de distâncias menores provoca efeitos de retorno (fluxo reverso) e distâncias maiores causam um aumento da dispersão da zona de amostra [115].

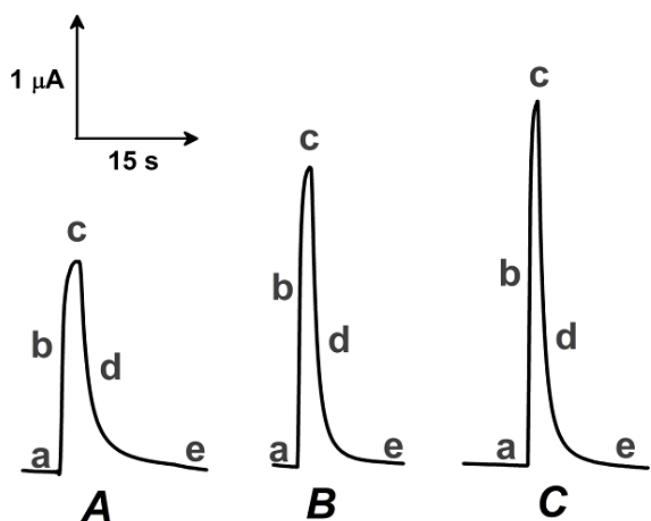


Figura 7. Picos obtidos no sistema BIA com detecção amperométrica convencional e as etapas de injeção: (a) antes da injeção; (b) durante a injeção; (c) final da injeção; (d) diluição do analito (“lavagem do WE”); (e) reestabelecimento do equilíbrio inicial. Analito: PA 50 μ mol L $^{-1}$; Velocidades de injeção: (A) 1,5 mL min $^{-1}$; (B) 2,5 mL min $^{-1}$; (C) 3,5 mL min $^{-1}$. Volume injetado: 100 μ L. Eap.= +1,20 V. [116]

Os resultados obtidos com êxito em BIA têm sido atribuídos a alguns fatores como o princípio hidrodinâmico da célula wall-jet e a alta diluição da amostra na solução inerte contida no interior da célula eletroquímica. As primeiras células

desenvolvidas para o uso de BIA continham volumes relativamente grandes, de 250 a 700 mL, garantindo assim a alta diluição das amostras (volumes na ordem de microlitros). Entretanto, estudos têm demonstrado que o volume da célula pode ser reduzido, sem comprometer o sucesso da análise, já que o efeito de memória devido ao acúmulo das espécies de interesse não é observado [112]. As células de volumes menores, além de serem mais fáceis de manusear e potencializar as análises em campo, mantêm as mesmas características daquelas de grandes volumes, tais como precisão, simplicidade e alta frequência de análise.

1.6. ESPÉCIES ANALÍTICAS ESTUDADAS

1.6.1. CLOREXIDINA

Clorexidina (CHX), 1,1-bis hexametileno (5-p-Clorofenilbiguanida) (Figura 8), é uma bisbiguanida de ação antisséptica e desinfetante. Mais especificamente a CHX possui ação bacteriostática e bactericida contra uma vasta gama de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo mais efetiva contra bactérias Gram-positivas, pouco ativa contra *Pseudomonas* e *Proteus*. Entretanto, é ineficaz contra micobactérias [117].

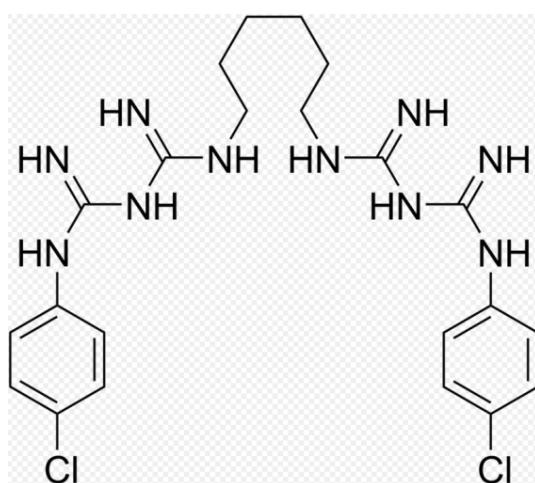


Figura 8. Estrutura química da clorexidina.

CHX e os seus sais (por exemplo, diacetato ou digluconato de clorexidina) são agentes antibacterianos utilizados em produtos pessoais, tais como soluções para lentes de contato, enxaguantes bucais, pastas de dentes, e como desinfetante, disponível em diferentes concentrações, para a limpeza de superfícies, equipamentos e roupas de hospitais. O uso da CHX como agente químico antiplaca em soluções de enxague bucal ou em forma de gel tem sido amplamente divulgado [118-120].

A faixa de concentração da solução de CHX empregada em odontologia é bastante ampla, sendo utilizada em concentrações entre 0,12 e 2,0%. De acordo com a literatura, altas concentrações oferecem efeito bactericida e baixas concentrações efeito bacteriostático na placa bacteriana [121-123].

No entanto, um estudo recente demonstrou que a CHX sofre degradação hidrolítica e seu principal produto de degradação é 4-cloroanilina (4-CLA), que é hematotóxico e carcinogênico. Portanto, a quantificação analítica da CHX, especialmente em soluções de enxague bucal, pode indicar se os processos de degradação detectados tiveram início com o consumo de CHX [124].

Vários métodos analíticos foram desenvolvidos para a determinação de CHX, como espectrofotometria [125, 126], HPLC [127, 128] e eletroforese capilar [129]. Tipicamente, estes métodos analíticos são demorados, trabalhosos e exigem tratamento de amostras, como extração com solvente (extração líquido-líquido), precipitação, limpeza de excipientes, o que pode diminuir a reprodutibilidade das respostas. Por outro lado, a análise eletroquímica oferece vantagens frente a outros sistemas de detecção, é uma técnica alternativa que fornece determinações simples, rápidas, sensíveis e frequentemente não requerem etapas de tratamento e preparação das amostras [130].

Métodos eletroanalíticos foram desenvolvidos para determinação de CHX com base na sua redução eletroquímica em eletrodos de mercúrio ou em eletrodos modificados com filmes de mercúrio, e estes exploram potenciais muito negativos (de -1,4 até -1,9 V em eletrodo saturado de calomelano) [131-135].

Wang e colaboradores investigaram o comportamento eletroquímico de CHX utilizando filme de mercúrio eletrodepositado em GCE e em eletrodo de ouro, e diferentes eletrólitos em meio aquoso foram usados. A técnica de pulso diferencial foi usada e a redução eletroquímica de clorexidina, em mistura de 0,1 mol L⁻¹ de cloreto

de lítio e 0,1 mol L⁻¹ de hidróxido de lítio, foi realizada em -1,88 V e DLs de 20,00; 2,23; e 0,74 mg L⁻¹ foram obtidos para GCE, filme de mercúrio eletrodepositado em GCE e filme de mercúrio eletrodepositado em eletrodo de ouro, respectivamente. A determinação quantitativa deste composto foi realizada em produtos de higiene bucal e a comparação com os resultados obtidos foi feita utilizando HPLC e uma concordância de 98% foi obtida [132].

A polarografia de corrente contínua, polarografia de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada e CV foram usadas por Sarna e colaboradores para a determinação de CHX em produtos farmacêuticos em eletrodo de gota de mercúrio. O processo analisado para CHX apresentou comportamento irreversível e difusional. A faixa linear de trabalho usando voltametria de onda quadrada foi de 0,25-20 µg mL⁻¹, RSD de 1,19% e potencial de redução da CHX de -1,44 V vs. SCE, e para a polarografia de pulso diferencial a faixa de trabalho foi de 25-100 µg mL⁻¹, RSD de 0,87% e potencial de redução da CHX de -1,22 V.

A quantificação de CHX por voltametria adsorptiva de redissolução foi realizada em eletrodo de gota de mercúrio. Um DL de 1x10⁻⁷ mol L⁻¹ foi conseguida através da imersão do eletrodo em uma solução (0,1 mol L⁻¹ de tampão de acetato de amônio, pH 9,7) sob agitação contendo o fármaco durante um tempo fixo de 60 s a um potencial de 0,0 V vs Ag/AgCl e, em seguida, a redissolução catódica em pulso diferencial no potencial de -1,53 V. Gluconato de cloredixina foi quantificado em solução de enxágue bucal e em soluções de lentes de contato [134].

Jacobsen e colaboradores também exploraram a eletroredução de CHX por polarografia e mostraram que a corrente é controlada por difusão e proporcional à concentração. Este trabalho mostra que a redução irreversível de CHX ocorre nos 4 grupamentos amino, propondo o seguinte mecanismo: > C=NH + 2H⁺ + 2e → > CH-NH₂. A determinação por polarografia de pulso da droga foi proposta em cremes e líquidos antissépticos e o potencial de dessorção foi de -1,45 V. Uma faixa linear de 5x10⁻⁶ mol L⁻¹ a 2x10⁻⁴ mol L⁻¹ foi obtida [135].

1.6.2. NAPROXENO

Naproxeno (NPX), quimicamente denominado ácido (S)-2-(6-metoxinaft-2-il)propanóico (Figura 9), é um medicamento não esteroide que apresenta propriedades antipiréticas e anti-inflamatórias. É o único medicamento não esteroide comercializado sob a forma de um único enantiômero (S-Naproxeno) [136-138].

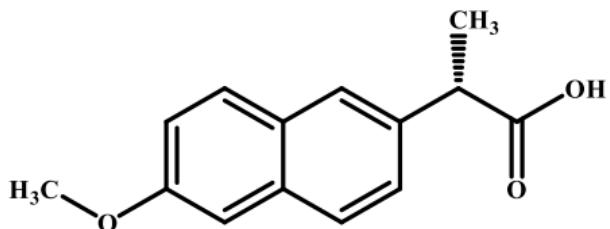


Figura 9. Estrutura química do naproxeno.

Ele é indicado para o tratamento de algumas doenças como artrite reumatoide, osteoartrite e artrite juvenil, ou espondilite aquilosante [139, 140]. Este medicamento é muito útil para alívio de dor leve a moderada, no entanto, sua administração excessiva apresenta manifestações tóxicas geralmente características de drogas anti-inflamatórias, tais como erosão gastrintestinal, sangramento e alterações patológicas no córtex renal, túbulos e papilas [141]. Naproxeno e naproxeno sódico são fármacos antiinflamatórios não-esteroidais que inibem a síntese de prostaglandinas [142].

Este fármaco tem sido muito investigado para artrite reumatóide sendo tão efetivo quanto a aspirina, porém melhor tolerado, conduzindo a um maior número de adeptos ao tratamento contínuo. Por esta razão, médicos agora preferem indicar derivados do ácido propiônico, como o NPX, em detrimento à aspirina para pacientes com artrite reumatóide. Em estudos comparativos com outros fármacos antiinflamatórios não esteroidais, assim como indometacina, ibuprofeno (IBF), fenoprofeno e outros, todos os fármacos demonstraram eficácia similar, embora o NPX seja algumas vezes preferido devido a sua melhor tolerância [143, 144].

O NPX é amplamente consumido pela população e devido à sua eliminação inadequada, este composto foi encontrado na concentração de microgramas por litro em águas naturais e em estação de tratamento de efluentes de esgoto. A

determinação do NPX é relevante em formulações farmacêuticas, bem como nos fluidos biológicos [145].

Alguns métodos têm sido reportados na literatura para determinação de NPX em amostras farmacêuticas incluindo espectrofotometria UV [146, 147], espectrofluorimetria [141, 148], HPLC acoplado com método espectrofotométrico [149], eletroforese capilar [150], detector de espectrometria de massas [140] e cromatografia líquida com detector amperométrico [151]. No entanto, estes métodos de análise requerem equipamentos e reagentes caros, são demorados, e muitas vezes necessitam de procedimentos de tratamento pré e pós-coluna.

Por outro lado, métodos eletroanalíticos são mais simples, apresentam análises rápidas com equipamentos portáteis, e fornecem respostas com sensibilidade comparável ou melhor do que os métodos de HPLC. A detecção de NPX foi descrita usando eletrodo de platina [152], diamante dopado com boro [153], eletrodos impressos modificados com CNT [154], eletrodo de pasta de carbono modificado com nanofios de disprósio [155] e eletrodo de pasta de carbono modificado com MWCNT e nanopartículas de ZnO [156].

A oxidação de NPX em produtos farmacêuticos foi realizada por Adhoum e colaboradores em um eletrodo de platina usando CV, voltametria de varredura linear e de pulso diferencial. Um pico irreversível bem definido foi observado em 1146 mV vs Ag/AgCl em acetonitrila contendo 0,1 mol L⁻¹ de LiClO₄. Uma faixa linear de trabalho de 1 a 25 µg mL⁻¹ ($R^2 = 0,998$) e um DL de 0,24 ng mL⁻¹ foram obtidos. O método apresentou boa reprodutibilidade (DPR = 1,2%) e precisão (recuperações entre 99,8 e 101,2%) [152].

Suryanarayanan e colaboradores estudaram a oxidação eletroquímica de NPX usando eletrodo de diamante dopado com boro por CV e voltametria de pulso diferencial em solvente não aquoso e os resultados foram comparados com GCE nas mesmas condições. É apresentado o mecanismo eletroquímico de transferência de elétrons, resultando na formação de cátion radical para a primeira etapa da oxidação, que segue outras etapas, como desprotonação, remoção de outro elétron e ataque nucleofílico. O eletrodo de diamante dopado com boro forneceu maior relação sinal-ruído, picos mais bem definidos e voltamogramas cíclicos mais reprodutíveis do que o

GCE. Usando a voltametria de pulso diferencial, NPX foi determinado na faixa de trabalho de 0,5 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um DL de 30 nmol L^{-1} [153].

A determinação simultânea de NPX e PA foi investigada por Stefano e colaboradores usando a detecção amperométrica de múltiplos pulsos em um eletrodo impresso modificado com MWCNT adaptado em uma célula de FIA construída em laboratório. Uma sequência de dois pulsos de potencial (+0,30 e 0,70 V por 70 ms cada) foi aplicada continuamente de tal forma que paracetamol foi seletivamente oxidado em +0,30 V e ambos compostos (PA E NPX) são oxidados em +0,70 V. Subtração da corrente depois de usar um fator de correção foi empregada para a determinação de naproxeno sem a interferência do paracetamol. O método FIA proposto apresentou frequência analítica de 90 injeções h^{-1} , DL para NPX de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e os resultados foram comparados com HPLC com detector UV-VIS [154].

Tashkhourian e colaboradores usaram eletrodo de pasta de carbono modificado com nanopartículas de ZnO e MWCNTs como uma ferramenta rápida e sensível para a investigação de oxidação eletroquímica do NPX em pH biológico. O estudo foi realizado por meio das técnicas de CV, cronoamperometria e voltametria de onda quadrada. Alguns parâmetros, tais como o coeficiente de transferência de elétron ($\alpha = 0,60$) e coeficiente de difusão ($D = 7,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) foram também determinados para a oxidação de NPX. O NPX foi detectado em uma faixa de concentração linear de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ por voltametria de onda quadrada. O DL foi obtido na forma de $2,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. O eletrodo modificado mostrou uma boa seletividade para o NPX na presença de certos cátions inorgânicos e açúcares. Também foram realizadas análises em amostras farmacêuticas [156].

1.6.3. IBUPROFENO

O ibuprofeno (IBF), ácido α -metil-4-(2-metilpropil) benzoacético, é um derivado do ácido propiônico e apresenta a fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (Fig. 10) e pertence à classe dos antiinflamatórios não esteroidais bem conhecido e amplamente utilizado no tratamento da artrite reumatóide, doenças degenerativas das articulações e outras doenças inflamatórias reumáticas. Na literatura é possível encontrar estudos

bioquímicos e toxicológicos do efeito do medicamento ministrado em homens e animais [157]. O IBF contém um átomo de carbono quiral na cadeia lateral de ácido propiônico, por isso, existe como dois enantiômeros. É geralmente vendido como uma mistura 50/50% dos enantiômeros S e R, ainda que se saiba que a atividade farmacológica é devida quase exclusivamente ao S-enantiômero [158].

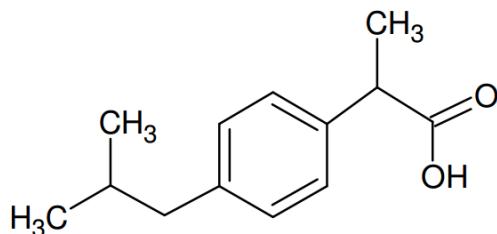


Figura 10. Estrutura química do ibuprofeno.

Esta substância é o ingrediente ativo de uma variedade de medicamentos por via oral na forma de comprimidos, pastilhas de gel e as formas de xarope que são utilizados em todo o mundo devido à maior eficácia e tolerância, baixos efeitos adversos e toxicidade do que outras substâncias, tais como, aspirina, indometacina e derivados pirazolônicos [159].

A eliminação do IBF ocorre principalmente por meio da urina: cerca de 90% do fármaco e seus metabólitos são excretados por esta via. A excreção urinária de uma única dose é completada em 24 horas [160].

Vários métodos têm sido utilizados para a determinação de IBF em amostras biológicas e farmacêuticas, incluindo métodos cromatográficos (HPLC, GC, HPTLC, TLC) [161-169], métodos eletroforéticos [150, 170-172], espectrofotometria [173, 174], espectrofluorimetria [175, 176], condutometria [177] e os métodos de titulação com detecção do ponto final da titulação de forma visual e potenciométrica [178-180]. Normalmente, com exceção dos métodos titulométricos, estes métodos analíticos exigem tratamentos de amostra dispendiosos, tais como extração de solvente, extração líquido-líquido, precipitação do excipiente, e passos demorados de limpeza da amostra, o que pode aumentar a irreprodutibilidade.

Métodos eletroanalíticos têm sido relatados para a determinação de IBF. Existem dois artigos científicos sobre o uso de detecção amperométrica de IBF após

separação por HPLC [181, 182]. A oxidação eletroquímica do IBF também tem sido investigada por voltametria [183, 184].

A oxidação eletroquímica de IBF foi reportada por Lima e colaboradores em eletrodo de diamante dopado com boro. Um pico bem definido foi observado por volta de 1,6 V em solução 0,1 mol L⁻¹ de H₂SO₄ com 10% (v/v) de etanol em eletrodo de diamante dopado com boro após ativação catódica ou anódica. A determinação de IBF foi feita em formulações farmacêuticas usando a técnica de voltametria de pulso diferencial. Uma faixa linear de trabalho de 20 a 400 µmol L⁻¹ de IBF e um DL de 5 µmol L⁻¹ foram obtidos juntamente com RSD para 10 repetições igual a 2,0 % [183].

Motoc e colaboradores descreveram o comportamento eletroquímico de IBF em eletrodo compósito contendo MWCNTs e zeólita de prata contendo MWCNT (AgZMWCNT). O eletrodo de AgZMWCNT apresentou melhor condutividade elétrica e maior área de superfície eletroativa. Foram utilizadas as técnicas de voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada e cronoamperometria. Primeiro foi feita a degradação de IBF em ambos os eletrodos compósitos utilizando eletrólise controlada em 1,2 e 1,75 V vs Ag/AgCl, e a concentração de IBF foi determinada comparativamente por voltametria de pulso diferencial, sob condições ótimas usando eletrodo de AgZMWCNT. Porém, as curvas deste trabalho apresentam baixos valores de coeficiente de correlação (por volta de 0,97) e os picos não estão bem definidos, desta forma, os resultados apresentados não mostram uma confiabilidade adequada [184].

1.6.4. 4-CLOROANILINA

4-Cloroanilina (4-CLA) é uma amina aromática amplamente utilizada nas indústrias têxteis, de corantes e de borrachas [185]. Anilinas cloradas são poluentes da água comuns e foram encontrados na forma de metabólitos de uma série de herbicidas no solo [186]. Em particular, a 4-CLA foi detectada como metabólito principal de herbicidas de fenilureia [187, 188]. O potencial de impacto ambiental desta classe de compostos é descrito por estudos que mostram que as anilinas

cloradas podem ser consideravelmente menos biodegradáveis e mais tóxicas do que seus precursores [189, 190].

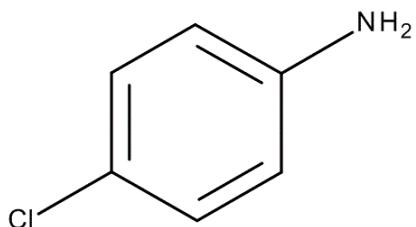


Figura 11. Estrutura química da 4-cloroanilina.

A presença traços de 4-CLA pôde ser identificada pela decomposição dos sais de clorexidina em soluções aquosa, influenciada pela temperatura elevada e pH alcalino [191], fato esse que desperta uma preocupação adicional para a aplicação de CHX em alimentos, visto que a 4-CLA é tóxica, além de existirem suspeitas de carcinogenicidade e mutagenicidade [192], devido à possibilidade de conversão desta, na presença de hemoglobina, em compostos do tipo N-nitroso [193, 194]. Na literatura alguns estudos toxicológicos reportam a toxicidade, imunotoxicidade e carcinogenicidade da 4-CLA [195-197].

A ANVISA determina uma quantidade máxima deste composto ativo igual a 0,03 g/kg devido à sua toxicidade [198]. Por causa dessa toxicidade a U.S. Pharmacopeial Convention estabeleceu um limite para o nível de 4-CLA presente nas soluções de enxaguantes bucais contendo CHX, este limite deve ser menor que 3 ppm [199]. Consequentemente, o controle analítico de CHX, especialmente em soluções de enxaguantes bucais, pode indicar se os processos de degradação e formação de 4-CLA se iniciaram com o consumo da clorexidina.

A determinação de 4-CLA é reportada por métodos analíticos em água utilizando HPLC, após uma ou mais etapas de pré-concentração em coluna [200-203]. Métodos de análise por HPLC com detecção UV-Vis ou detector de arranjo de diodos [128, 204] e por CG-DIC [205] para determinação de 4-CLA em produtos cirúrgicos e desinfetantes formulados com CHX ou triclocarban. Alguns métodos utilizando detectores eletroquímicos ou UV com arranjo de diodo acoplado ao HPLC foram desenvolvidos em amostras de mel [206] e origem vegetal [207]. Quantificação por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas ou detector de ionização

de chama após microextração em fase sólida também foram usadas para análises em fluidos biológicos [208] e água [194].

Poucos trabalhos são encontrados na literatura que reportam a determinação eletroquímica de 4-CLA [206, 209, 210]. Haque e colaboradores realizaram a oxidação eletroquímica de 4-CLA usando voltametria cíclica e voltametria de pulso normal. A dependência do pico de potencial de meia onda pela velocidade de varredura e concentração também são apresentados [209].

Em outro trabalho, Balugera e parceiros utilizaram cromatografia líquida com detecção amperométrica para 4-CLA e outros 2 compostos em metabólitos de mel realizando previamente uma extração destas substâncias. Foi utilizado GCE como eletrodo de trabalho operando em um potencial de 1100 mV vs Ag/AgCl. O método desenvolvido apresentou DL igual $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$ para 4-CLA. A reproducibilidade aquirida em termos de RSD foi próxima de 3,93% [206].

Zettersten e colaboradores registraram a oxidação eletroquímica por voltametria cíclica de 4-CLA acoplado a espectrometria de massas com ionização por "electrospray" usando duas células eletroquímicas de fluxo de diferentes configurações. Um estudo do mecanismo, em meio ácido da oxidação eletroquímica, e detecção dos produtos por espectrometria de massas, mostrou que o produto majoritário dessa oxidação, com pico intenso em $m/z = 217,2$, é a 4-[(4-clorofenil)imina]-2,5-ciclohexadien-1-imina [210].

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de sensores eletroquímicos empregando materiais nanoestruturados visando à obtenção de sensores de alta eficiência (maior seletividade, sensibilidade e robustez) utilizando CNT sobre GCE. Além disso, o estudo da oxidação eletroquímica de fármacos em eletrodo modificado com MWCNTs de diferentes diâmetros e uma comparação com eletrodo

não modificado é objetivo deste trabalho, com a perspectiva de que o eletrodo modificado apresente melhores resultados (redução no potencial de oxidação, maior sensibilidade, menor adsorção do analito no eletrodo, entre outros) em comparação ao eletrodo não modificado para justificar o seu uso. Um dos grandes objetivos deste trabalho é investigar se os nanotubos de carbono de paredes múltiplas apresentam melhora de resposta nas análises de fármacos e o quanto o diâmetro desse material influencia nesta resposta e, ainda, tentar justificar o porquê desta melhor resposta para o eletrodo modificado.

1.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O presente trabalho apresenta como objetivos específicos:

1. Caracterizar os MWCNTs por infravermelho, microscopia eletrônica de varredura, difração de raios X e espectroscopia Raman.
2. Utilizar duas dispersões de MWCNT, uma com menor diâmetro do material (SD-MWCNT) e outra com maior diâmetro (LD-MWCNT), em DMF e fixar a dispersão na superfície de um GCE, avaliando principalmente a sensibilidade, seletividade e possíveis efeitos de passivação de eletrodo.
3. Investigação do perfil voltamétrico dos fármacos NPX, IBF, CHX e 4-CLA nos diferentes eletrodos (GCE, SD-MWCNT, LD-MWCNT).
4. Estudo comparativo do transporte de massa, seletividade, sensibilidade, potencial de oxidação e faixa linear de trabalho dos fármacos nos diferentes eletrodos.
5. Determinar 4-CLA, que é um produto tóxico de degradação da CHX, em amostras reais na presença de CHX e comparar com resultados obtidos por espectrometria de massas.
6. Investigação da determinação destes compostos em formulações farmacêuticas utilizando sistema FIA ou sistema BIA com detecção amperométrica.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1. REAGENTES

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (PA), e todas as soluções foram preparadas em água deionizada de alta pureza ($R \geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida de um sistema de purificação de água Milli Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Na Tabela 1 encontram-se listados os reagentes utilizados, a procedência e a pureza.

Tabela 1. Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho.

REAGENTES	PROCEDÊNCIA	% (m/m)
Ácido perclórico	Reagen	70 %
Ácido acético glacial	Synth	99,7 %
Ácido fosfórico	Reagen	85 %
Ácido nítrico	Synth	64 %
Ácido sulfúrico	Vetec	95 %
REAGENTES	PROCEDÊNCIA	PUREZA
Hidróxido de sódio	Dinâmica	PA
Ferricianeto de potássio	Vetec	PA
Cloreto de hexamin-rutênio (III)	Sigma-Aldrich	PA
Naproxeno	DEG	PA
Ibuprofeno	Sigma-Aldrich	PA
Acetato de clorexidina	Acros Organics	> 98 %
Digluconato de clorexidina	Alfa Aesar	20 %
4-Cloroanilina	Sigma-Aldrich	PA
Ácido bórico	QM	PA
Dimetilformamida	Vetec	PA
Cloreto de potássio	Proquimios	PA
MWCNT (diam. = 6 – 9 nm e comp. = 5 μm)	Sigma-Aldrich	> 95 %
MWCNT (diam. = 110 – 170 nm e comp. = 5-9 μm)	Sigma-Aldrich	> 90 %

2.2. SOLUÇÕES E PREPARO DAS AMOSTRAS

As soluções estoque foram preparadas imediatamente antes dos experimentos. A solução sulfonítrica ($3\text{H}_2\text{SO}_4_{(\text{conc})} : 1\text{HNO}_3_{(\text{conc})}$, v/v) foi utilizada nas etapas de purificação, “quebra” e funcionalização dos MWCNTs. As soluções estoque de NPX, IBF e CHX foram obtidas a partir da dissolução do padrão sólido em eletrólito adequado, formando uma solução estoque com concentração de 1 mmol L^{-1} . Todas essas soluções foram previamente diluídas em eletrólitos suporte apropriados, sendo $0,1\text{ mol L}^{-1}$ para ácido perclórico, tampão fosfato (pH 7,5) ou hidróxido de sódio ou $0,04\text{ mol L}^{-1}$ para tampão Britton-Robinson (BR) em diferentes pHs (2,0 – 10,0) para análises voltamétricas.

As amostras foram adquiridas em drogarias da cidade de Uberlândia-MG e preparadas no mesmo eletrólito suporte. Todos os experimentos foram conduzidos em temperatura ambiente.

No preparo das amostras farmacêuticas sólidas (IBF e NPX), 5 comprimidos foram pesados em uma balança analítica (precisão de quatro casas decimais) e macerados utilizando um almofariz e pistilo de porcelana. O estoque das soluções amostra foi feito a partir de uma quantidade suficiente em massa para uma concentração final igual a 1 mmol L^{-1} . Na etapa seguinte, uma alíquota desta solução foi diluída em eletrólito suporte para as análises quantitativas.

No preparo das amostras líquidas (IBF e CLX), uma determinada quantidade foi pipetada para um balão volumétrico de forma que a concentração final do analito, de acordo com o valor do rótulo, fosse igual a 1 mmol L^{-1} após a adição do eletrólito, e assim, após diferentes diluições foi possível obter diferentes concentrações destes compostos para análise química.

2.3. FUNCIONALIZAÇÃO DOS MWCNTs

Para a funcionalização dos nanotubos misturou-se uma quantidade igual a 1100 mg de MWCNT com 1200 mL de uma solução de sulfonítrica ($3\text{H}_2\text{SO}_4 : 1\text{HNO}_3$; v/v).

Essa mistura foi sonicada por 6 h a 40°C em banho de ultrassom para introduzir os grupos de ácido carboxílicos na superfície dos MWCNTs. Após resfriamento a temperatura ambiente, adicionou-se 3000 mL de água desionizada fria e a suspensão resultante foi então filtrada (tamanho dos poros menor que 5 nm) à pressão reduzida. Então o MWCNT retido no filtro foi lavado com água deionizada até pH igual a 7. A secagem da amostra foi feita em uma estufa a 80°C por 8 h [211].

2.4. PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS

Neste trabalho foram utilizados sensores preparados a partir de eletrodos de carbono vítreo (GCE) recobertos com filmes de MWCNTs de diferentes diâmetros.

Primeiramente foi realizada uma etapa de limpeza e condicionamento da superfície do GCE ($\phi = 1,6$ mm). A limpeza consistiu em polimento do eletrodo em suspensão de alumina 0,3 μm , lavagem com água ultrapura da superfície, sonicação em banho de ultrassom com etanol absoluto e com água desionizada por cerca de 1 min, respectivamente, e posteriormente seco com pano liso.

Uma massa de 5 mg de SD-MWCNT e LD-MWCNT foi adicionada em bêqueres separados contendo 5 mL de DMF e dispersado em banho de ultrassom durante 30 min. Após esse tempo, as soluções foram sonicadas em sonda ultrassônica (20 % de amplitude) por 5 min. Em seguida, 10 μL das suspensões foram colocadas sobre a superfície de GCE e o solvente foi evaporado por exposição a 50°C durante 30 min (Fig. 12). Os filmes resultantes eram claramente visíveis a olho nu. Após a modificação o eletrodo foi lavado com água desionizada e com eletrólito de trabalho antes de ser inserido na célula de trabalho.

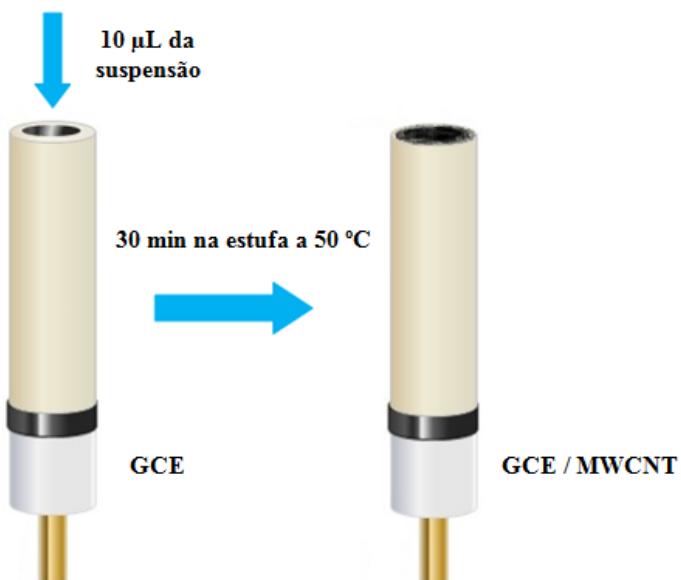


Figura 12. Procedimento de modificação do eletrodo de GCE com filme de MWCNT.

CV foi utilizada para ativação do eletrodo em eletrólito de trabalho até obter ciclos reprodutíveis. Geralmente, 5 ciclos eram suficientes para obter varreduras de potenciais reprodutíveis.

2.4.1. ELETRODO DE TRABALHO, REFERÊNCIA E AUXILIAR

O WE utilizado em todas as medidas (voltamétricas e amperométricas convencionais) foi o de GCE não modificado, GCE modificado com SD-MWCNT e modificado com LD-MWCNT. Este GCE apresenta diâmetro de 1,6 mm e foi adquirido da empresa BASi (West Lafayette, EUA).

A cada dia de análises um novo filme de MWCNT foi formado seguindo o mesmo procedimento descrito. Após as análises, a limpeza deste eletrodo foi feita manualmente, com o uso de alumina (granulometria 0,3 μm) e enxaguado exaustivamente com água deionizada e posteriormente seco com pano de algodão.

Antes de qualquer análise, voltamogramas cíclicos em eletrólito suporte foram realizados para condicionamento do eletrodo e possível descontaminação ainda existente no eletrodo.

O RE foi preparado pela eletrodeposição de AgCl sobre um fio de Ag (30,0 mm x 1,0 mm de diâmetro) através da oxidação (0,3 V versus Ag/AgCl) do fio de prata em meio de HCl 0,1 mol L⁻¹ durante uma hora. Após a eletrodeposição, o fio de Ag/AgCl foi inserido em uma ponteira de micro pipeta de 100 µL, a qual foi obstruída na sua extremidade menor por meio de uma junção porosa (separador de bateria de automóveis) e preenchida com uma solução de KCl e Ag⁺_(aq), constituindo dessa forma o mini-referência [212].

Como eletrodo auxiliar foi usado um fio de platina, de aproximadamente 3 cm, inserido em uma ponteira de micropipeta de 100 µL.

2.5. INSTRUMENTAÇÃO

As medidas eletroquímicas foram realizadas empregando-se um potenciómetro µAUTOLAB tipo III (Eco Chemie - Metrohm; software GPES 4.9.007). Uma célula eletroquímica do tipo “wall-jet” com os três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar mencionados nas seções anteriores) foi utilizada nos estudos em sistema FIA e sistema BIA.

Para a dispersão dos padrões de MWCNTs em DMF foi utilizada uma sonda ultrassônica da marca Cole-Parmer, modelo CPX 130 de potência igual a 130 W e frequência de 20 KHz.

2.5.1. SISTEMA FIA

Um sistema FIA de linha única foi empregado e montado no laboratório na detecção amperométrica em fluxo. O esquema e os componentes básicos deste sistema são detalhados nas Figuras 13 e 14. As soluções foram transportadas por tubos de polietileno de 1 mm de diâmetro e 20 cm de comprimento (percurso analítico). O sistema de propulsão foi baseado na pressão gerada por bomba peristáltica, a qual permite um controle preciso de vazão e foi utilizado um sistema de amortecedor de

pulsos para impedir possíveis ruídos de variações de corrente no sistema. O volume da célula é de 8 mL e esta possui orifício inferior de aço inox para entrada da solução e outros três para entrada dos eletrodos, além de um orifício de saída de solução como mostra as Figuras 13 e 14.

Um injetor comutador manual foi usado para as injeções das soluções (Cena-USP) [110]. A detecção foi realizada utilizando uma célula de vidro que permite a utilização dos 3 eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) e ainda possui uma linha de saída de solução permitindo o fluxo contínuo do eletrólito, em que é facilmente adaptada no final da tubulação de um sistema FIA (célula do tipo “wall Jet”). O eletrodo de trabalho foi posicionado a uma distância aproximada de 2 mm da linha final da tubulação, evitando assim, causar dispersão do fluxo ou difusão sem toda amostra entrar em contato com o eletrodo.

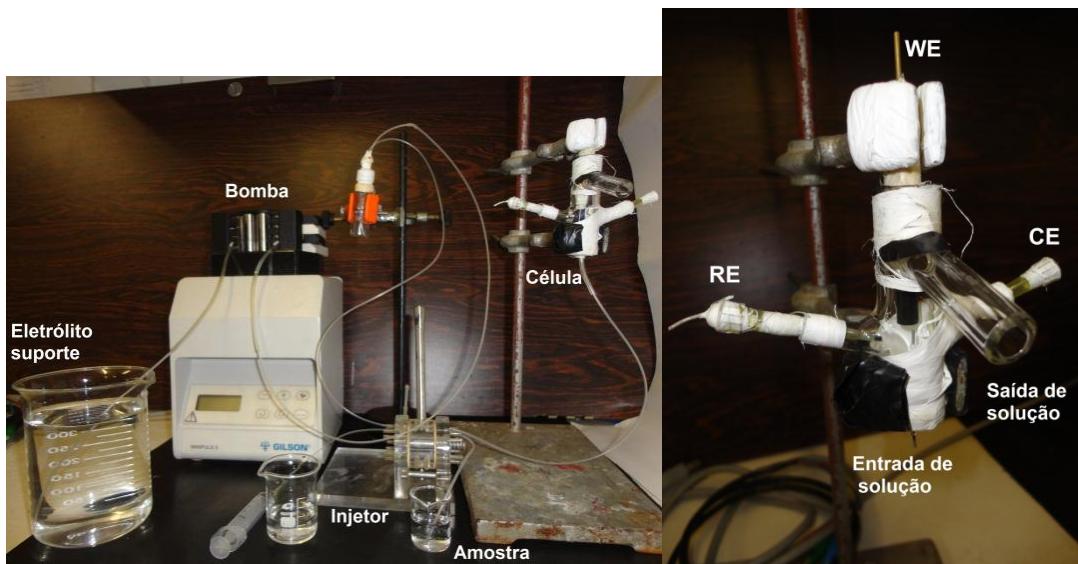


Figura 13. Imagem do sistema FIA utilizado nas análises e a foto da célula ampliada. WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar.

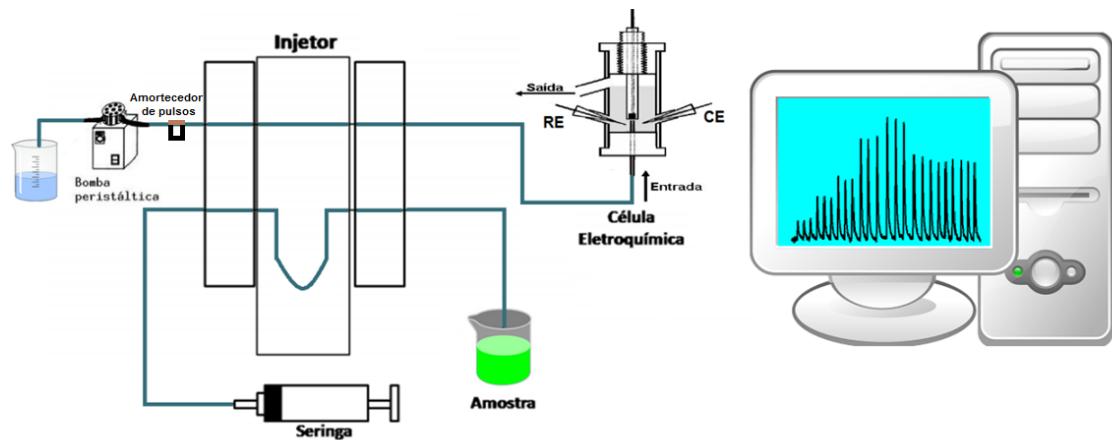


Figura 14. Esquema do sistema FIA usado. WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar.

2.5.2. SISTEMA BIA

Todas as análises usando sistema BIA foram feitas em uma célula construída no próprio laboratório, constituído por um tubo de vidro com as seguintes dimensões: $\phi_{\text{interno}} = 7,3 \text{ cm}$; altura = 7,1 cm; volume total = 200 mL.

A Figura 15 ilustra um diagrama esquemático da célula utilizada no trabalho.

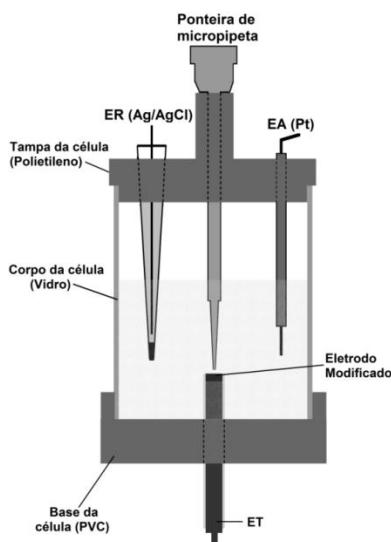


Figura 15. Esquema da célula utilizada nas análises em BIA. Volume total da célula = 200 mL.

Uma tampa superior de polietileno e uma tampa inferior de PVC foram firmemente instaladas no cilindro de vidro. No topo, a tampa de polietileno continha 4 furos para posicionar os eletrodos auxiliar e de referência, a ponteira da micropipeta (posicionada no centro da tampa) e outro para, caso houvesse necessidade, posicionar um micro motor para convecção da solução. Na base da célula foi feito um orifício de 11,5 mm de diâmetro exatamente no centro para o encaixe do WE, que era inserido na posição “wall jet” (invertida em relação aos outros eletrodos) e logo abaixo da ponteira da micropipeta (aproximadamente 2 mm). Esta célula BIA foi empregada quando foi utilizado o WE não modificado e modificado com CNTs de diferentes diâmetros. Um suporte de acrílico foi feito no próprio local de trabalho para posicionar a célula BIA e realização de todas as análises. As injeções foram realizadas com uma pipeta eletrônica (Eppendorf® Multipette stream), a qual oferece dez velocidades de injeção diferentes (níveis de 1 a 10), sendo que estes níveis correspondem, respectivamente, às seguintes velocidades de injeção: $v_1 = 28$; $v_2 = 43$; $v_3 = 56$; $v_4 = 75$; $v_5 = 100$; $v_6 = 113$; $v_7 = 156$; $v_8 = 193$; $v_9 = 256$ e $v_{10} = 344 \mu\text{L s}^{-1}$. A extremidade da ponteira da pipeta foi posicionada a 2 mm do WE [112] com o objetivo de obter resultados reproduutíveis e livre de efeitos de transporte de massa que pudessem alterar os resultados durante as análises. Todos os componentes da célula BIA são detalhados na Figura 16.

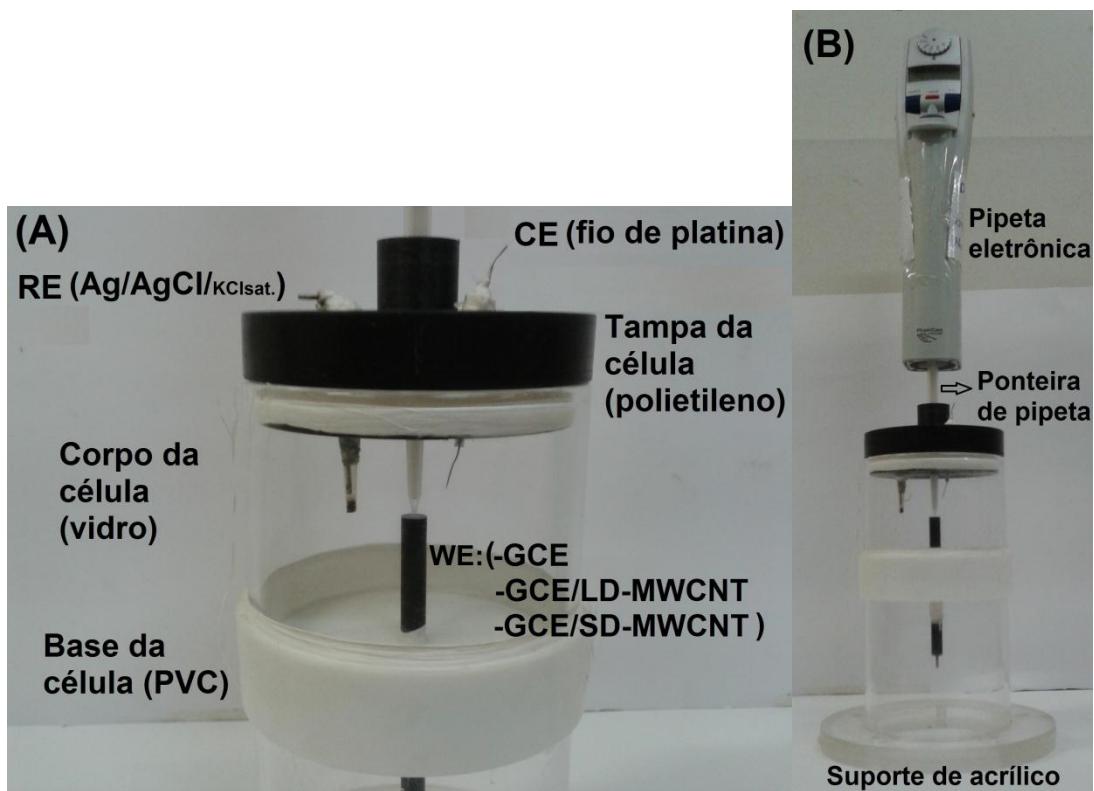


Figura 16. (A) Estrutura da célula BIA com os 3 eletrodos inseridos; (B) Sistema BIA utilizado nas análises com um suporte de acrílico para a célula e a pipeta eletrônica usada para injeção das amostras.

Algumas estratégias foram usadas para aumentar a robustez do sistema, como: cobrir com Teflon® a lateral da tampa para fixa-la melhor no corpo da célula, impedindo que a ponteira da micropipeta se movimente durante as análises e a solução atinja diferentes áreas da superfície do eletrodo gerando diferentes resultados. Outra estratégia foi construir um suporte de acrílico que encaixasse perfeitamente a célula BIA, impedindo qualquer movimentação durante as análises. Este suporte possui um orifício central de 2 cm de comprimento e 4 cm de largura para permitir a conexão do WE com o potenciómetro.

2.6. ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

As análises por espectroscopia no infravermelho foram realizadas em um equipamento de espectroscopia de absorção na região do infravermelho modelo Prestigie 21 da Shimadzu.

O material foi preparado na forma de pastilhas de KBr na proporção de 1:100 MWCNTs : KBr (m/m). Os sólidos foram misturados e finamente pulverizados em almofariz de ágata. Esta mistura foi levada a um pastilhador que comprimiu esse material com uma força de aproximadamente 60 kN. Foram feitas 4 varreduras na faixa de 150 a 4000 cm^{-1} .

2.7. DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Para investigar a estrutura, cristalinidade e a presença de alguns metais nos padrões de MWCNTs, medidas de difratometria de raios X foram realizadas em um difratômetro Shimadzu XRD 6000, usando radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) com tensão 40 kV e 40 mA em um intervalo de 10 a 80° no modo 2 θ , com passo de 0,02° e com acumulação de 1s / ponto.

2.8. ESPECTROSCOPIA RAMAN

Um espectrofômetro Renishaw acoplado a um microscópio óptico com resolução espacial de 1 μm foi usado para obtenção dos espectros Raman. O laser utilizado foi de He-Ne (632,8 nm) com potências de incidência de 2 mW. Os espectros foram obtidos para amostras na forma de pó, com acumulações que variaram de 5 a 10 com tempo de acumulação de 20 s na região de 130 a 3000 cm^{-1} . A deconvolução das bandas dos espectros foi realizada utilizando-se o programa Origin 7.0, através da ferramenta *fitting multi-peaks Lorentziano* em diferentes regiões espectrais.

2.9. ELETROFORESE CAPILAR COM DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA SEM CONTATO

Para comparação dos resultados eletroquímicos para determinação de IBF foi usado um equipamento CE-C⁴D construído no laboratório do Prof. Cláudimir Lúcio do Lago do Departamento de Química Fundamental do Instituto de Química da USP (São Paulo). O equipamento foi fornecido com dois detectores condutométricos (eletrodos sem contato acoplados capacitivamente) compactos e de alta resolução [213, 214].

Um programa de computador desenvolvido em ambiente LabView 8 (National Instruments, Austin, TX) é responsável pelo controle do equipamento e aquisição dos dados. O instrumento é equipado com uma fonte de alta tensão bipolar (Spellman Power Supply 30 Kv).

2.10. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Para comparação dos resultados eletroquímicos para determinação de CHX foi usado um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC-10 VO equipado com detector UV-VIS (SPD-10AV), uma coluna LC (Lychrispher 100 A8 RP18-C18, 250 mm x 4,6 mm, 5 µm), um degaseificador (DGU-20A5), um injetor manual (20 µL) e uma bomba (LC-10AD-VP). A fase móvel consistiu em metanol e água (70:30, v/v). O detector foi fixado em 260 nm. A vazão foi de 0,8 mL min⁻¹.

2.11. ANÁLISE ESPECTROFLUORIMÉTRICA

Para a determinação de NPX e comparação com os resultados eletroquímicos utilizou-se um espectrofluorímetro Hitachi F4500 em conformidade com a literatura [141]. As soluções padrão e as amostras foram preparadas em 0,05 mol L⁻¹ solução

tampão de fosfato (pH 7,5). Os comprimentos de onda de excitação e emissão de fluorescência foram mantidos a 271 e 353 nm, respectivamente.

2.12. ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Um equipamento de eletroforese capilar modelo 7100 CE acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo 6430 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) com fonte de ionização por eletronebulização (ESI) foi utilizado (CE-ESI-MS) para determinação de 4-CLA. Para isso um capilar de sílica fundida de 50 μm (d.i.) x 55 cm de comprimento foi empregado. Durante a corrida eletroforética uma diferença de potencial de 25 kV a 25°C foi aplicada e as amostras foram injetadas a uma pressão de 100 mbar durante 3 s. O gás nitrogênio foi utilizado como gás nebulizador a uma pressão de 11 psi e como gás carregador com vazão de 5 L min^{-1} a 20°C. O espectrômetro foi operado no modo de reações múltiplas (MRM) com polarização positiva com as seguintes transições: 253,6 \rightarrow 170,1 m/z (CHX), 128,0 \rightarrow 93,0 m/z (4-CLA) e 131,0 \rightarrow 114,2 m/z (Diaminaheptano). A ionização por eletronebulização foi ajustada em 5,0 KV a temperatura de 300°C, aplicando-se 4,0 V na célula de aceleração e tempo de permanência para 200 ms. Potencial de 12, 8 e 12 V foram aplicados na célula de colisão e potenciais de 45 V, 20 V e 45 V foram empregados para produzir os íons fragmentos na ordem citada acima.

Uma solução 0,030 mol L^{-1} de ácido acético foi utilizada como eletrólito (pH = 3,2). Uma solução 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de diaminoheptano foi utilizada como padrão interno. Soluções estoque de 0,005 mol L^{-1} de 4-CLA e 0,001 mol L^{-1} de CHX foram preparadas em água deionizada. Uma solução 0,030 mol L^{-1} de ácido acético foi utilizada como eletrólito (pH = 3,2). O líquido de contato (sheath liquid) usado na fonte de eletronebulização foi ácido acético 0,001 mol L^{-1} solubilizado numa solução de metanol/água (90/10 %) foi pressurizada a uma vazão de 6 $\mu\text{L min}^{-1}$. Para acondicionamento do capilar de sílica fundida, uma solução de NaOH 1,0 mol L^{-1} foi pressurizada pelo menos durante 5 min, logo em seguida, água desionizada por 5 min, e finalmente, o eletrólito de corrida por 5 min. Entre as análises de enxaguante bucal,

um procedimento de limpeza do capilar empregando uma solução de NaOH 0,01 mol L⁻¹ por 2 min, depois água deionizada, e por fim, a solução de eletrólito de corrida ambas por 2 min foi empregada. Para as amostras de antisséptico, apenas a solução de eletrólito de corrida foi empregada entre a análise das amostras.

2.13. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) foram realizadas utilizando um equipamento Mira FEG-SEM (TESCAN) operado a 10 kV. As amostras foram dispersas em etanol e estas dispersões de CNT foram colocadas sobre substratos de Si em bases com fita condutora de carbono “dupla-face” e fixadas usando uma lâmina de cobre. O aumento utilizado foi de 50000 vezes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados e discussões abordados nesta tese serão divididos em duas partes.

Na primeira parte, serão apresentados os estudos de caracterização, por espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios X e espectroscopia Raman, dos MWCNTs de diferentes diâmetros para investigar a causa do possível efeito de eletrocatalise do material e um estudo da área ativa do GCE modificado com estes dois MWCNTs (menor diâmetro = SD-MWCNT e maior diâmetro = LD-MWCNT). Na segunda parte, serão apresentados os resultados voltamétricos para a oxidação dos quatro diferentes fármacos (NPX, IBF, CLX e 4-CLA) com estes sensores eletroquímicos e a aplicação destes para análise de algumas formulações farmacêuticas que contenham os fármacos (ou produto de degradação).

3.2. CARACTERIZAÇÃO DOS NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES

MÚLTIPLAS POR INFRAVERMELHO

A partir da técnica Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho foi possível observar que a funcionalização dos nanotubos de carbono foi realizada com sucesso, de forma que os grupamentos carboxílicos foram inseridos na estrutura dos MWCNTs (Figura 17).

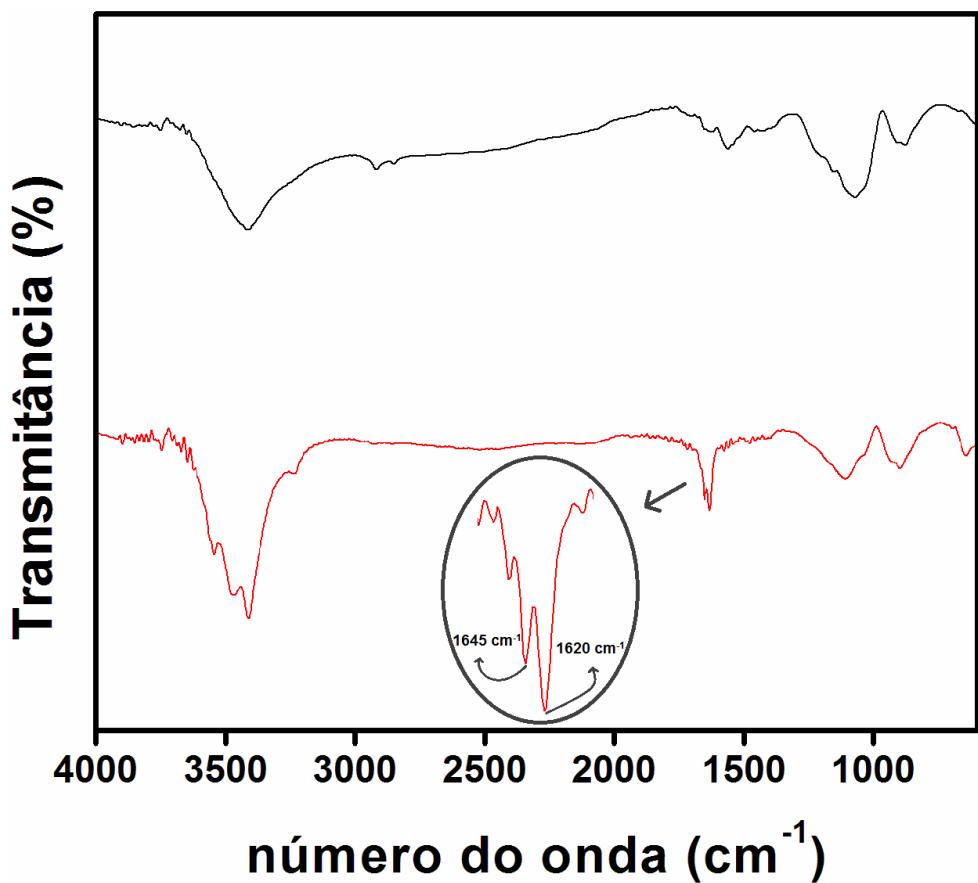


Figura 17. Espectros na região do infravermelho obtidos em pastilha de KBr para SD-MWCNT não funcionalizado em preto e SD-MWCNT funcionalizado em vermelho.

O espectro na região do infravermelho do SD-MWCNT mostra duas bandas típicas para nanotubos de carbono, sendo a primeira entre 3180 cm^{-1} a 3690 cm^{-1} referente à deformação axial -OH bem como uma banda em 1620 cm^{-1} que está associada à vibração do “esqueleto” dos nanotubos de carbono, ou seja, o estiramento da ligação “-C=C-”. O nanotubo funcionalizado com grupos carboxílicos apresentou uma banda de absorção em 1645 e outra em 1620 cm^{-1} que corresponde à vibração da carbonila (-C=O) e estiramento da ligação “-C=C-”, respectivamente. Possivelmente, a banda da carbonila se acoplou à banda de vibração -C=C-. Além disso, a banda da hidroxila a 3430 cm^{-1} é bem mais intensa e um pouco mais larga correspondendo à presença de grupos carboxílicos e hidroxilos. O aparecimento desses grupos funcionais é devido ao tratamento oxidante a que foi submetido os MWCNTs, sendo estes localizados nas extremidades abertas e nos defeitos estruturais que poderiam ser observados após o tratamento. A adição desses grupos auxilia na homogeneização dos

nanomateriais e em possíveis modificações desses materiais. A inserção de grupos carboxílicos auxilia na dispersão, pois aumenta-se a polarização com o solvente, visto que o DMF é um solvente polar aprótico.

3.3. CARACTERIZAÇÃO DOS NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Esta técnica não destrutiva foi usada para analisar a qualidade estrutural dos MWCNTs de diferentes diâmetros e observar a presença ou não de metais, como por exemplo, partículas de ferro, nas estruturas cilíndricas desses materiais, para tentar explicar o possível efeito eletrocatalítico dos CNTs.

A amostra é bombardeada por raios X para produzir um padrão de difração que é coletado com ajuda de um detector de raios X. Os átomos no cristal funcionam como centros de espalhamento dos raios X. Nos planos cristalinos, cuja distância interplanar é d , é incidido um feixe de raios X e o fenômeno de difração aparece pela reflexão desses feixes por dois planos subsequentes. A condição de interferência construtiva, em que a diferença entre seus caminhos óticos são números inteiros de comprimentos, está determinada pela lei de Bragg [215]:

$$n\lambda = 2d\sin\theta$$

θ – Ângulo de incidência

λ – Comprimento de onda

n – Número inteiro (ordem de difração).

d – Distância interplanar

Desta forma, medindo-se o ângulo θ e sendo o comprimento de onda conhecido, a distância interplanar pode ser determinada e assim, a estrutura cristalina. A intensidade e a largura do pico (002) estão relacionadas ao número de camadas, às variações do espaçamento intercamadas, às distorções da rede e à orientação dos CNTs se comparados ao feixe de raios X incidentes [216].

Esta técnica fornece informações sobre a pureza dos nanotubos e permite inferir sobre a criação de defeitos causados pelos tratamentos oxidativos. A Figura 18 apresenta os resultados para SD-MWCNT e LD-MWCNT.

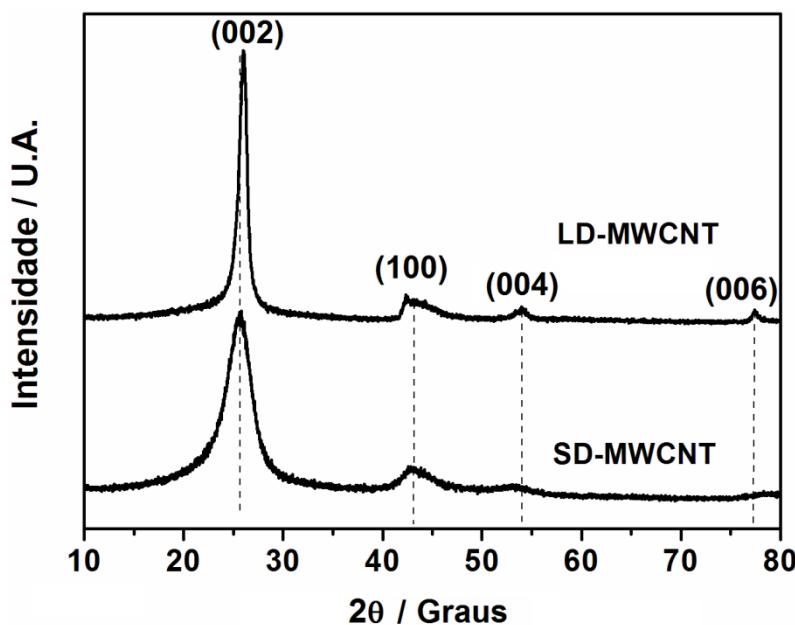


Figura 18. Difratogramas de raios-X do LD-MWCNT e SD-MWCNT após a funcionalização.

Pelo difratograma é possível observar que não há metais nas paredes dos CNTs ou a quantidade é abaixo do limite de detecção do equipamento, pois os picos observados são todos característicos do próprio nanotubo e não de outro metal, o que descarta a possibilidade de um possível efeito eletrocatalítico ser causado por metais presentes na estrutura cilíndrica dos tubos do material. Desta forma, defeitos estruturais são necessários para que haja grupos funcionais ácidos, o que aumenta o poder eletrocatalítico dos nanotubos e pode facilitar uma reação eletroquímica. A largura de meia altura (FWHM) e a razão das intensidades dos picos (100) e (002), I_{100}/I_{002} , possuem uma relação direta com o aumento de defeitos nos CNT's [217], quanto maior estes valores, maior o número de defeitos estruturais.

Na Tabela 2 são mostrados os resultados para estes dois materiais para avaliar a qualidade estrutural dos CNTs de diferentes diâmetros.

Tabela 2. Razões entre as intensidades dos picos (100) e (002) obtidos por DRX e comparação entre as larguras de meia onda do LD-MWCNT e SD-MWCNT.

AMOSTRA	I_{100}/I_{002}	FWHM (002)
LD-MWCNT	0,069	0,45°
SD-MWCNT	0,113	1,46°

A análise dos valores da razão I_{100}/I_{002} e por FWHM (Tabela 2) mostra que o SD-MWCNT possui um maior número de defeitos devido aos maiores valores obtidos de I_{100}/I_{002} e de FWHM, provavelmente causados após tratamentos oxidativos ou pelo próprio método de fabricação utilizada pela empresa que repassa os CNT's, o que indica um maior efeito catalítico para SD-MWCNT comparado com LD-MWCNT. Esta técnica é bastante interessante por ser simples e de fácil acesso para comparar a qualidade estrutural de diferentes materiais nanoestruturados.

Utilizando a lei de Bragg é possível encontrar os valores da distância interplanar (d_{002}) do SD-MWCNT e LD-MWCNT e essa comparação é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Dados obtidos a partir dos difratogramas de raios X presentes na Figura 17.

AMOSTRA	2θ (graus) pico (002)	d_{002} (Å)
LD-MWCNT	26,03	3,42
SD-MWCNT	25,62	3,47

Geralmente, quanto maior o valor de d_{002} , maior o grau de “desordem” estrutural do material carbonáceo. Desta forma, mais uma vez, este resultado indica maior desorganização por parte do SD-MWCNT, o que pode indicar maior efeito catalítico para esse material.

É importante ressaltar que esse experimento também foi realizado para SD-MWCNT sem o tratamento oxidativo com ácidos (não mostrado) e também não foram registrados a presença de metais nas paredes do CNT. Os resultados registrados mostraram que este também possui uma grande quantidade de defeitos estruturais causados provavelmente pelo método de fabricação da empresa que foi adquirida o nanomaterial, ou seja, os valores encontrados pela largura de meia altura e pela razão das intensidades dos picos (100) e (002), I_{100}/I_{002} , foram similares aos encontrados para

o SD-MWCNT após o tratamento oxidativo. Porém isso não exclui a necessidade da funcionalização dos CNT's, pois a inserção dos grupos carboxílicos ocorre após o tratamento com ácidos, como apresentado nos resultados de caracterização por infravermelho.

3.4. ESPECTROSCOPIA RAMAN

É possível ter um indicativo da quantidade de defeitos presentes no SD-MWCNT e LD-MWCNT a partir da razão entre as bandas D e G utilizando espectroscopia Raman [218]. A banda D está relacionada à presença de defeito estrutural sp^3 , sp, presença de heteroátomo e/ou ligação incompleta e a banda G está relacionada à presença de carbono sp^2 . Esse método permite obter informações a respeito tanto da qualidade como da quantidade de defeitos estruturais (perturbações na estrutura grafítica como vacâncias, pares pentágonos-hexágonos ou mesmo bordas livres) ou de impurezas carbonosas ricas em carbono com hibridização sp^3 , como o carbono amorf [219-222]. Porém, como o espalhamento é de natureza ressonante e devido à maneira diferente como responde aos diferentes tipos de defeitos, não é possível estabelecer uma relação direta entre a concentração dos mesmos e o parâmetro D/G, sendo este apenas um critério comparativo [218].

Desta forma, o valor da banda D foi dividido pelo valor da banda G, sendo que maiores valores desta razão estão relacionados com o maior número de defeitos estruturais do tipo sp^2 . Os valores das áreas das bandas foram obtidos através do cálculo das áreas das respectivas bandas por deconvolução Lorentziana. Os espectros obtidos e as razões das áreas das bandas D pela G juntamente com os números de onda encontram-se na Figura 19 e Tabela 4, respectivamente.

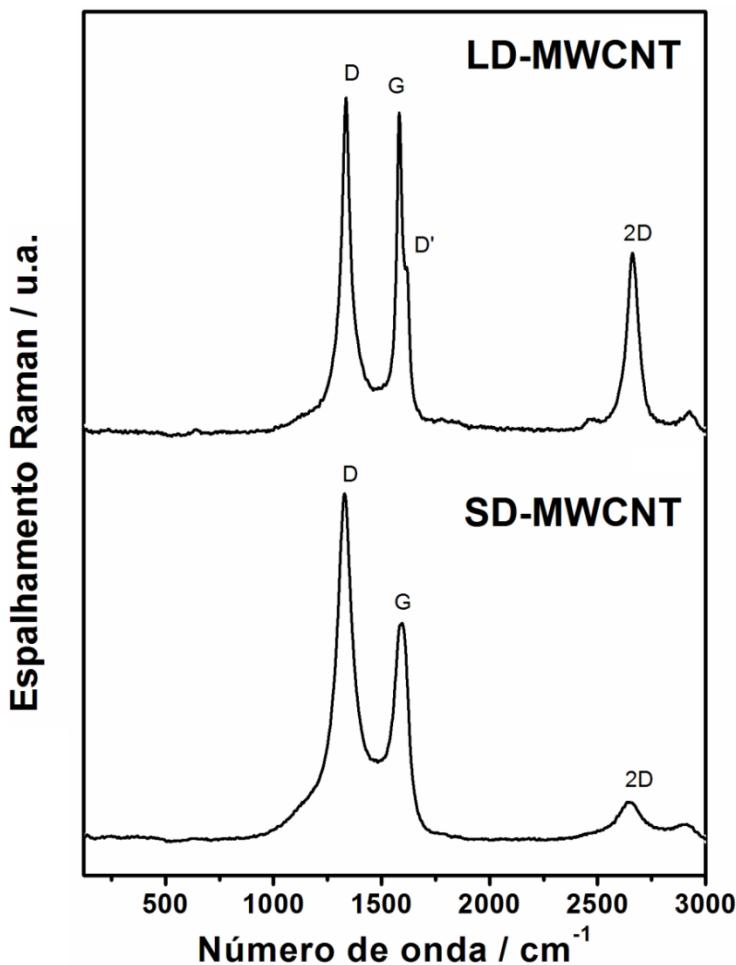


Figura 19. Espectros Raman dos SD-MWCNT e LD-MWCNT após a funcionalização.

Tabela 4. Valores das bandas D e G, e também da razão das áreas das bandas D e G (A_D/A_G) para SD-MWCNT e LD-MWCNT após a funcionalização.

	LD-MWCNT	SD-MWCNT
Banda D	$1334,9\text{ cm}^{-1}$	$1328,8\text{ cm}^{-1}$
Banda G	$1581,7\text{ cm}^{-1}$	$1584,4\text{ cm}^{-1}$
A_D/A_G	1,38	1,86

A banda D', que está relacionada aos defeitos presentes na parede do nanotubo, é vista claramente apenas em LD-MWCNT. Provavelmente em SD-MWCNT esta banda está encoberta pela banda G, que é mais larga em SD-MWCNT do que em LD-MWCNT. A banda 2D, mais intensa em LD-MWCNT, está relacionada à ordem bidimensional do grafeno. É visto na literatura que a presença de banda D indica a formação de um material desordenado e em escala de tamanho reduzido [56, 223]. O

valor encontrado pela razão A_D/A_G para SD-MWCNT foi maior mostrando a maior quantidade de defeitos estruturais neste material do que no LD-MWCNT, e ainda, a intensidade da banda D é maior para SD-MWCNT, o que também indica maior grau de desordem estrutural do material. Além disso, o alargamento da banda G (estiramento C-C destas estruturas) indica uma maior heterogeneidade e/ou desordem estrutural [224], e esse alargamento é maior para SD-MWCNT. Os estudos por Raman confirmaram os resultados apresentados no DRX através dos valores de d_{002} retirados dos difratogramas.

3.5. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A diferença entre as morfologias dos CNTs se torna clara analisando as imagens SEM apresentadas na Figura 20. Para o SD-MWCNT (Figura 20-a) observa-se uma grande quantidade de CNTs, de pequeno diâmetro, preenchendo de maneira bastante densa a área analisada. De maneira contrária, para o LD-MWCNT (Figura 20-b) são verificados poucos tubos, com grande diâmetro, sendo que esses estão distribuídos randomicamente ao longo do substrato, e de maneira menos compacta que no caso do SD-MWCNT.

Observa-se também, para ambos os MWCNTs uma distribuição homogênea em relação ao diâmetro desses materiais, esta característica facilita o estudo de propriedades fundamentais e a exploração de novas aplicações para esses materiais.

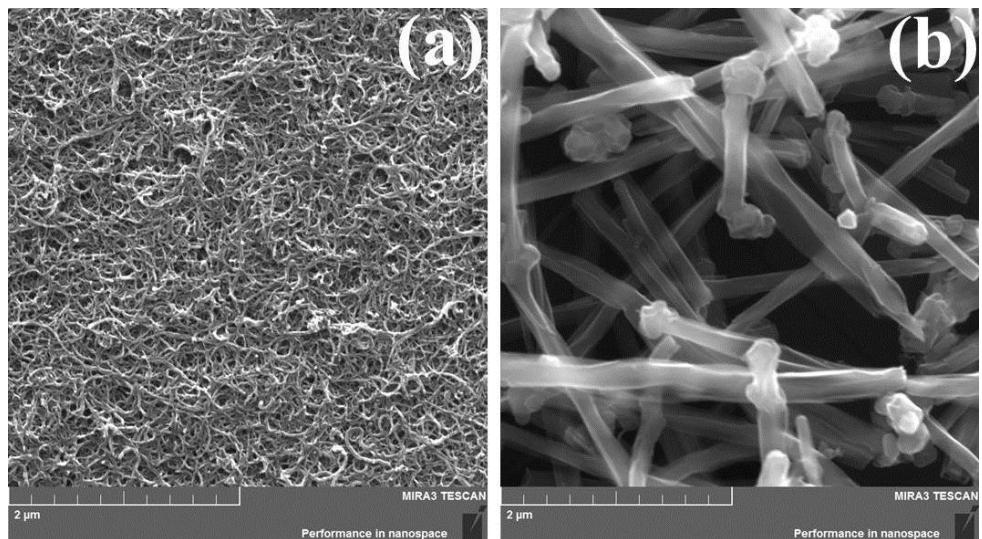


Figura 20. Imagens SEM de (a) SD-MWCNT e (b) LD-MWCNT.

3.6. ESTUDO DA ÁREA ATIVA DOS ELETRODOS

Após as caracterizações dos diferentes CNTs funcionalizados, a modificação do eletrodo de GCE foi realizada utilizando o método descrito de deposição da dispersão de CNTs na superfície do GCE, e compararam-se os resultados entre GCE não modificado, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT.

A área ativa geralmente é diferente da área geométrica, sendo este último maior na maioria das vezes, considerando as rugosidades que podem aparecer no eletrodo com o tempo de uso muito prolongado, porque nem toda superfície do eletrodo é composta por regiões eletroativas, que são as regiões que promovem a transferência eletrônica na superfície do eletrodo. Porém, quando o cálculo é realizado considerando uma superfície isenta de rugosidades ou qualquer tipo de defeito, esse valor da área geométrica se apresenta menor que o valor da área ativa.

A área ativa do eletrodo foi analisada utilizando a técnica de voltametria cíclica e a equação de Randles-Sevcik, a qual mostra que em sistemas reversíveis com transferência de massa controlada por difusão existe uma relação entre a corrente de pico e a área ativa do eletrodo. Essa área pode ser obtida a partir da equação de Randles-Sevcik [39, 94] desde que conhecidos o número de elétrons, coeficiente de difusão e concentração da espécie eletroativa, velocidade de varredura do potencial e

corrente de pico a uma dada temperatura. O processo de transferência de carga com o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, que possui comportamento eletroquímico bem conhecido, foi utilizado para essa análise de área efetiva do eletrodo. A seguir a equação de Randles-Sevcik é apresentada:

$$A = \frac{ip}{v^{1/2}} \chi \frac{1}{2,686 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot C_0}$$

Sendo,

A – área efetiva do eletrodo (cm^2)

ip – corrente de pico (Ampere)

v – velocidade de varredura (V s^{-1})

n – número de elétrons envolvidos na reação redox (constante adimensional).

D – coeficiente de difusão da espécie eletrolítica ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

C_0 – concentração das espécies reduzidas ou oxidadas (mol cm^{-3})

Para o sistema $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ as variáveis são: $n = 1$, $C_0 = 1 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$, e o coeficiente de difusão do ferrocianeto de potássio em meio de KCl $0,1 \times 10^{-3} \text{ mol cm}^{-3}$, que é igual a $6,39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ [225]. Foram realizados voltamogramas cílicos em diferentes velocidades de varredura (20, 40, 60, 80 e 100 mV s^{-1}) em três dias diferentes para os três eletrodos para adquirir um desvio padrão das análises e analisar a reprodutibilidade. Desenvolvendo-se as equações, chegamos a um valor de área ativa para GCE, LD-MWCNT e SD-MWCNT e comparamos estes resultados na Tabela 5. Além disso, na Tabela 5 são registradas algumas comparações entre a variação dos potenciais dos picos catódicos e anódicos (ΔE) e também uma comparação entre as correntes de pico anódicas para uma velocidade de varredura igual a 60 mV s^{-1} . A Figura 21 ilustra um resultado obtido para o eletrodo SD-MWCNT, ressaltando que o teste foi feito nas mesmas condições para os demais eletrodos.

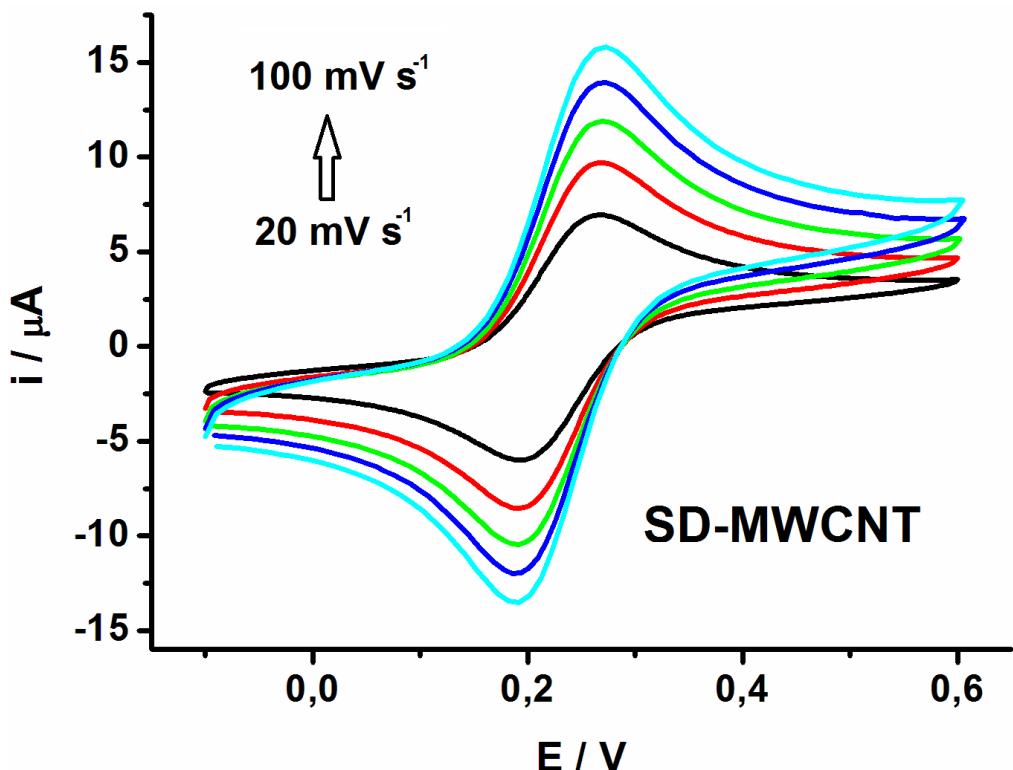


Figura 21. Voltamogramas cíclicos em SD-MWCNT para o sistema redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, realizado em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl} / 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Velocidades de varredura = $20, 40, 60, 80$ e 100 mV s^{-1} .

Tabela 5. Resultados obtidos em triplicata ($n = 3$) de corrente de pico anódica (i_{pa}), potencial de pico anódico (E_{pa}) e catódico (E_{pc}), variação de potencial entre o pico catódico e anódico (ΔE), e área efetiva (A) para GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT.

ELETRODOS	$i_{pa} / \mu\text{A}^*$	E_{pa} / mV^*	E_{pc} / mV^*	$\Delta E / \text{mV}^*$	A / mm^2
GCE	$8,2 \pm 0,9$	293 ± 8	183 ± 15	110 ± 9	$4,7 \pm 0,8$
GCE/LD-MWCNT	$8,7 \pm 1,0$	283 ± 10	183 ± 11	100 ± 18	$5,7 \pm 0,7$
GCE/SD-MWCNT	$9,8 \pm 0,5$	275 ± 13	190 ± 4	85 ± 10	$5,9 \pm 0,5$

*Valores adquiridos em voltamogramas cíclicos utilizando velocidade de varredura igual a 60 mV s^{-1} .

Quando GCE foi modificado com ambos MWCNTs verificou-se maior reversibilidade eletroquímica para o par redox estudado, comprovados pelos dados de ΔE e as razões das correntes de pico próximas a unidade. Os valores ainda demonstram maior área efetiva e menor variação de potencial dos picos anódicos e

catódicos para o eletrodo de GCE/SD-MWCNT, o que indica menor resistência elétrica e maior efeito catalítico para este material. Posteriormente, serão apresentados resultados comparativos destes eletrodos em análises de compostos orgânicos utilizados na indústria farmacêutica.

3.7. INVESTIGAÇÃO DO PONTO DE CARGA ZERO DOS MWCNTs

Um dos fatores mais importantes nos estudos de interação entre compostos e superfície dos eletrodos é o efeito do pH do meio [226]. Um interessante índice da tendência de uma superfície se tornar positiva ou negativamente carregada em função do pH, é o valor de pH requerido para que a carga líquida do material seja nula, denominado ponto de carga zero (pH_{ZPC}). Para valores de pH superiores ao pH_{ZPC} , a carga superficial é negativa e a interação com cátions é favorecida. Por outro lado, em valores de pH inferiores ao pH_{ZPC} , a carga superficial é positiva e a interação com ânions é favorecida [227]. Neste trabalho foram utilizados ferrocianeto de potássio, o qual é um composto aniónico, portanto, teoricamente, valores de pH menores que o pH_{ZPC} é desejado, e cloreto de hexamin-rutênio (III), o qual é um composto catiônico, portanto, teoricamente, para estes valores em que o pH é menor que o pH_{ZPC} as interações eletrostáticas devem ser desfavorecidas. A Figura 22 ilustra esse processo.

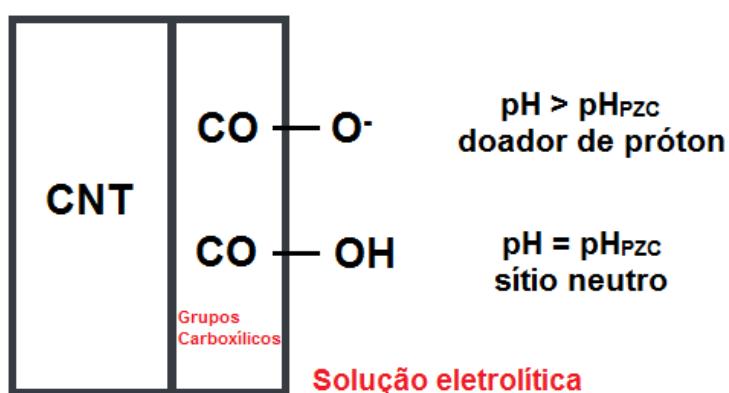


Figura 22. Interface eletrólito-CNT funcionalizado com grupos carboxílicos, pH_{ZPC} : valor de pH no ponto de carga zero.

Desta maneira a técnica usada para encontrar o valor do pH_{ZPC} para os MWCNTs foi CV utilizando tampão BR em diferentes pHs (2, 4, 6, 8, 10), e foram testados os dois compostos com diferentes cargas, ferrocianeto de potássio (aniônico) e cloreto de hexamin-rutênio (III) (catiônico), com a finalidade de observar a interação dos compostos nos diferentes pHs com os grupos carboxílicos dos MWCNTs, como registrado na Figura 23 para LD-MWCNT e os valores de ΔE são apresentados na Tabela 6.

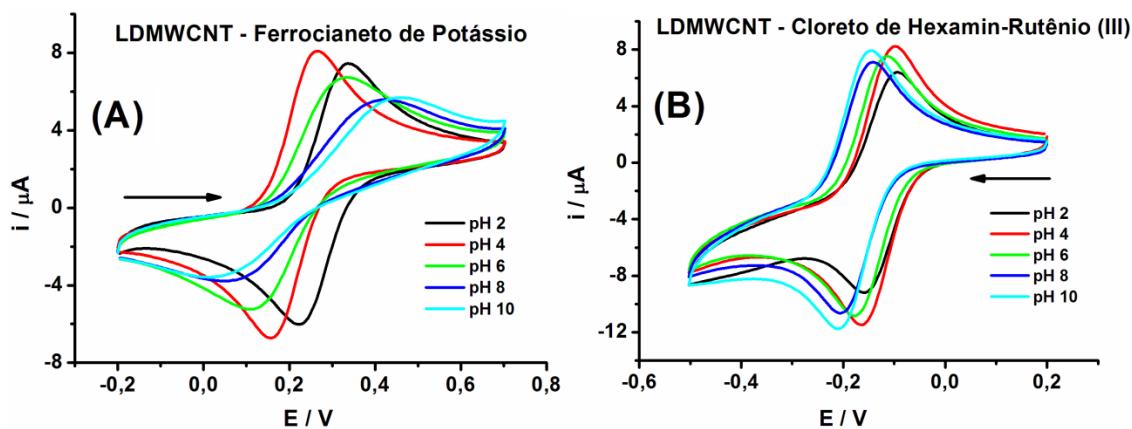


Figura 23. Voltamogramas cíclicos de 1 mmol L^{-1} de (A) ferrocianeto de potássio na faixa de potencial de -0,2 a +0,7 V e (B) cloreto de hexamin-rutênio (III) na faixa de potencial de 0,2 a -0,5 V. Eletrólito: Tampão BR (pH: 2, 4, 6, 8 e 10). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .

Tabela 6. Resultados registrados de potencial de pico anódico (Epa) e catódico (Epc) e variação de potencial entre o pico catódico e anódico (ΔE) para os voltamogramas cíclicos contendo ferrocianeto de potássio e cloreto de hexamin-rutênio (III) para GCE/LD-MWCNT.

<i>pH</i>	FERROCIANETO DE POTÁSSIO			CLORETO DE HEXAMIN-RUTÊNIO (III)		
	<i>Eanód.</i> / V	<i>Ecat.</i> / V	ΔE / V	<i>Eanód.</i> / V	<i>Ecat.</i> / V	ΔE / V
2	0,338	0,222	0,116	-0,093	-0,159	0,066
4	0,266	0,156	0,110	-0,098	-0,166	0,068
6	0,335	0,108	0,227	-0,113	-0,176	0,063
8	0,425	0,049	0,376	-0,142	-0,205	0,063
10	0,462	0,010	0,452	-0,147	-0,210	0,063

Pela Figura 23A e pela Tabela 6 é claro o aumento do valor de ΔE à medida que o valor do pH aumenta, isso pode ser explicado pela desprotonação dos grupos

carboxílicos dos MWCNTs em meios mais básicos, com essa desprotonação o carboxilato (COO^-), que possui sinal negativo igualmente ao ferrocianeto de potássio que se encontra em solução, dificulta a interação deste com a superfície do eletrodo. Esta diferença entre os valores de ΔE e os valores de corrente começam a ficar mais evidentes em valores de pH acima de 4.

Pela Figura 23B e pela Tabela 6 a diferença é bem menos significante, pois ao contrário do ferrocianeto, o cloreto de hexamin-rutênio tem carga positiva, desta forma, melhores resultados são esperados em meios mais básicos, devido à maior interação entre a carga negativa do carboxilato com a carga positiva do composto em solução, e acima de pH 4 os valores de ΔE diminuem levemente e os picos sofrem um leve deslocamento para potenciais mais negativos. Esses resultados indicam o ponto de carga zero deve estar entre pH 4 e 6, pois nesta faixa pode estar ocorrendo a desprotonação nos grupos carboxílicos e para meios mais básicos ou ácidos que estes valores podem ocorrer diferentes respostas para diferentes compostos.

Outro teste realizado para avaliar a acidez destes MWCNTs é proposto por Menendez e colaboradores [228], em que, resumidamente 60 mg dos MWCNTs funcionalizados e não funcionalizados foram dispersos em 3 mL de 0,1 mol L⁻¹ de KNO_3 , solução esta feita com água fervida. Essa dispersão foi selada, deixada sobre ação do gás N_2 durante 5 minutos e agitada por 24 horas, após esse tempo, o pH da medida foi registrado sem necessidade de filtração. Os valores encontrados para os MWCNTs não funcionalizados foram similares ao da solução de KNO_3 (pouco menor que 7), já para SD-MWCNT e LD-MWCNT os valores foram respectivamente, 1,72 e 2,03. Estes resultados mostram o quanto a inserção dos grupos carboxílicos aumentam a acidez desses nanomateriais, alterando a interação com diferentes analitos, além disso, indicam que o SD-MWCNT pode apresentar maior quantidade de grupos carboxílicos por apresentar uma valor de pH menor que LD-MWCNT.

3.8. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE NAPROXENO EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT

3.8.1. VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS COMPARATIVOS NA PRESENÇA DE NAPROXENO

NPX é solúvel em soluções aquosas em condições ligeiramente alcalinas, não sendo solúvel em condições ácidas. Desta forma foram utilizados soluções de 0,1 mol L⁻¹ de NaOH, 0,1 mol L⁻¹, de tampão fosfato (pH 7,5) e 0,04 mol L⁻¹ de tampão BR em diferentes pHs (7,5; 8 e 9). As melhores respostas eletroquímicas para NPX foram obtidas em solução tampão fosfato em pH 7,5 e em soluções com maiores valores de pH houve pequeno decréscimo sinal. Desta forma, a solução tampão fosfato (pH 7,5) foi escolhida para todas as análises que envolveram a determinação de NPX. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos que utilizaram eletrodos de pasta de carbono para determinação de NPX [155, 156].

Foram realizados voltamogramas cíclicos para NPX e compararam-se as respostas obtidas em GCE não modificado, com eletrodo de GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT (Figura 24). O primeiro ciclo voltamétrico de NPX, em cada eletrodo, é apresentado.

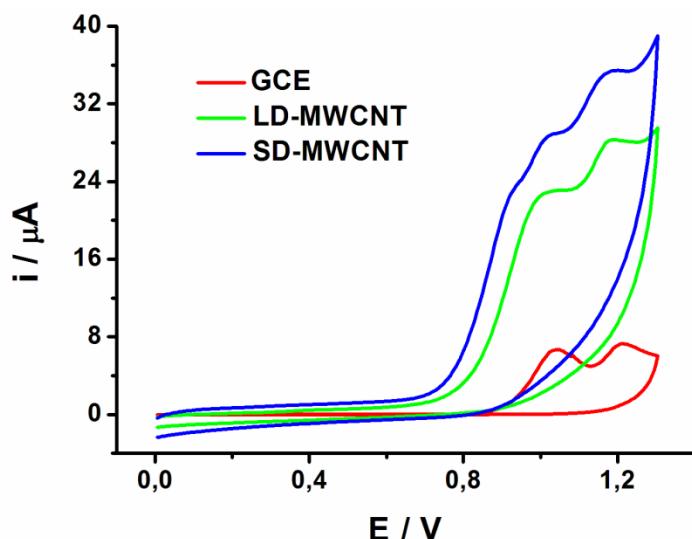


Figura 24. Voltamogramas cíclicos obtidos para GCE (—), GCE/LD-MWCNT (—) e GCE/SD-MWCNT (—) na presença de 1 mmol L⁻¹ de NPX. Eletrólito suporte: 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5). Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.

Conforme visualizado, dois picos de oxidação irreversíveis foram observados em 1,04 e 1,21 V em GCE não modificado, com oxidação a partir de 0,9 V (linha em vermelho na Figura 24). No GCE/LD-MWCNT, dois picos de oxidação irreversíveis em 1,00 e 1,18 V, com oxidação a partir de aproximadamente 0,7 V (linha em verde), e um aumento de 4 vezes em relação ao GCE foi observado. No GCE/SD-MWCNT, três picos de oxidação irreversíveis em 0,92; 1,02 e 1,18 V, com oxidação a partir de aproximadamente 0,65 V (linha em azul), e um aumento de 5 vezes em relação ao GCE foi obtido. Trabalhos anteriores relataram apenas um único pico de oxidação irreversível para naproxeno em diferentes superfícies dos elétrodos [153-156], exceto o trabalho de Adhoum e colaboradores [152] que investigou este processo em um eletrodo de platina e um pequeno segundo pico de oxidação foi observado pela técnica de voltametria cíclica, mas não foi discutido.

Resumidamente, o GCE/SD-MWCNT apresentou melhor desempenho, devido à maior sensibilidade e menor potencial de oxidação apresentados à detecção da espécie analítica. Porém, ambos os eletrodos modificados com CNTs apresentam um provável efeito eletrocatalítico para a determinação de NPX. Alguns estudos para este composto foram feitos adiante apenas para GCE não modificado e GCE/LD-MWCNT, pois ainda não havia sido adquirido o GCE/SD-MWCNT pelo laboratório quando estes testes foram realizados. Os testes que foram feitos apenas para GCE/LD-MWCNT foram testes simples de otimização de volume injetado e vazão, e estudo do transporte de massa.

3.8.2. MECANISMO DE OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DE NAPROXENO

Voltamogramas cíclicos registrados na presença de NPX em diferentes pHs (de 7,5 a 13) mostraram que o potencial de pico e a intensidade da corrente praticamente não variam, o que sugere que a oxidação eletroquímica de NPX não é dependente do pH.

A voltametria de onda quadrada (SWV) foi explorada para a determinação de NPX utilizando o GCE/LD-MWCNT. Os parâmetros de SWV otimizados foram 40 Hz como frequência de aplicação dos pulsos de potencial, 30 mV como amplitude dos

pulsos de potencial e 6 mV como incremento de varredura. O número de elétrons envolvidos nas duas etapas da oxidação eletroquímica do naproxeno foi calculado utilizando SWV e considerando ambos os processos de oxidação eletroquímica como irreversíveis e o coeficiente de transferência eletrônica (α) como 0,5 [229]. Dois processos de um elétron foram obtidos após o cálculo utilizando dados adquiridos da SWV. Todos os dados da literatura sobre o mecanismo de oxidação do NPX relataram a transferência de um único elétron [152-155], envolvendo a formação de um cátion radical seguida de descarboxilação, com base no isolamento e identificação dos produtos de oxidação [230]. No entanto, os voltamogramas cílicos em GCE e em GCE/LD-MWCNT (Figura 24) mostram dois picos de oxidação e em GCE/SD-MWCNT é possível ver ainda três picos de oxidação.

Bosca e colaboradores [230] reportaram que a descarboxilação de NPX envolve a transferência de único elétron. Em solução aquosa, o principal produto (76 %) de oxidação de naproxeno (obtida por eletrólise usando potencial controlado) foi um derivado cetônico (com eliminação do grupo carboxílico)[230].

Em pH 7,5 o NPX está completamente desprotonado ($pK_a = 4,2$) e, assim, um radical (sem carga) seria formado durante o primeiro processo de oxidação eletroquímica, seguido por descarboxilação, de acordo com a Figura 25. A segunda transferência de um elétron pode envolver a formação de um cátion que é estabilizado pela estrutura ressonante do anel metoxi-naftalênico. Este mecanismo é reforçado pelos produtos da oxidação eletroquímica isolados (1, 2 e 3 na Figura 24) por Bosca e colaboradores [230]. Portanto, a oxidação eletroquímica de NPX em meio aquoso ocorreu por meio da formação de uma das espécies intermediárias (radical não carregado ou cátion).

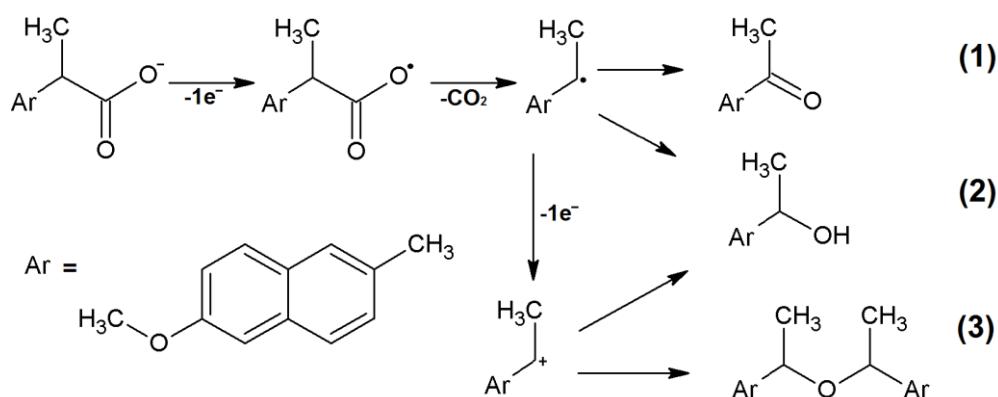


Figura 25. Mecanismo proposto de oxidação eletroquímica de naproxeno.

3.8.3. ESTUDO AMPEROMÉTRICO DE NAPROXENO EM GCE NÃO MODIFICADO

Primeiramente foi feito um estudo amperométrico para determinação de NPX em eletrodo de GCE não modificado utilizando sistema BIA. Analisando o voltamograma cíclico para NPX em GCE, foi escolhido e fixado um potencial de +1,3 V para a detecção amperométrica em potencial constante. A Figura 26 apresenta uma série de seis injeções sucessivas de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX.

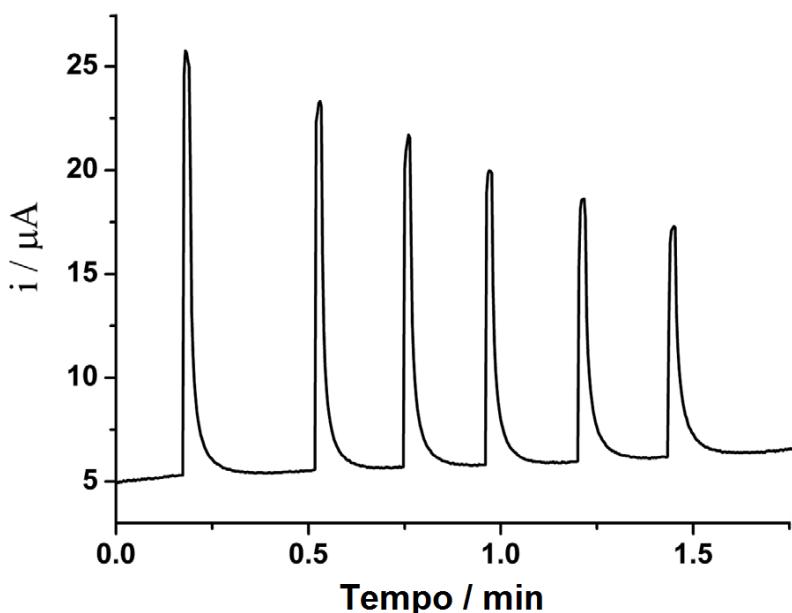


Figura 26. Amperograma obtido para sucessivas injeções de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX. Potencial constante de trabalho: +1,3 V; eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato; volume injetado: $200 \mu\text{L}$; velocidade de despejamento: $160 \mu\text{L s}^{-1}$.

Um constante decréscimo na corrente de oxidação foi verificado para sucessivas injeções de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX, claramente indicando adsorção de NPX ou dos produtos de oxidação na superfície do eletrodo bloqueando sítios ativos. Gráficos de voltametria cíclica para este composto também demonstraram este bloqueio na superfície do eletrodo, desaparecendo completamente o sinal característico da oxidação de 1 mmol L^{-1} NPX após o terceiro ciclo consecutivo de varredura.

Na literatura é possível encontrar métodos eletroanalíticos para determinação de NPX que reportaram processos adsorptivos resultantes da oxidação eletroquímica de NPX [152, 153]. No entanto, estes métodos foram desenvolvidos em meios não-

aquosos, enquanto que o presente método proposto emprega uma solução aquosa como eletrólito, o que pode ser uma explicação para os diferentes comportamentos. Trabalhos anteriores demonstraram que a técnica de MPA é capaz de resolver tal problema através da aplicação de pulso de potencial adicional para limpar a superfície do eletrodo a partir da oxidação de produtos adsorvidos [231, 232].

Assim, uma sequência de dois pulsos foi avaliada, tendo em consideração a detecção de NPX e limpeza eficiente do eletrodo. Esta estratégia resultou em respostas altamente repetitivas para injeções de NPX. A Figura 27 apresenta um conjunto de 10 injeções sucessivas de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de naproxeno aplicando 1,5 V durante 200 ms e 1,0 V com tempo de pulso de 100 ms. A maior resposta de corrente para NPX e a limpeza mais eficiente foram verificados sob essas condições de pulso de potencial. O desvio padrão relativo (RSD) foi de 3% ($n = 10$).

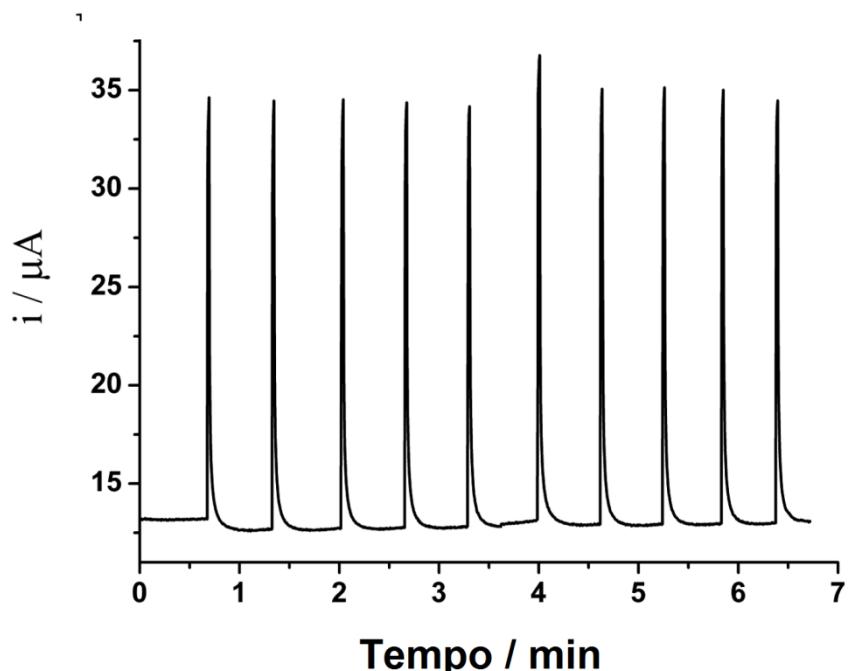


Figura 27. Repetibilidade obtida por injeções sucessivas de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX ($n = 10$). Potencial de trabalho aplicado: +1,5 V (200 ms) e potencial de limpeza: +1,0 V (100 ms); eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato; volume injetado: $200 \mu\text{L}$; velocidade de despejamento: $160 \mu\text{L s}^{-1}$.

3.8.4. OTIMIZAÇÕES DO SISTEMA BIA E FAIXA LINEAR DE TRABALHO PARA DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO EM GCE

Os parâmetros BIA tais como volume injetado e velocidade de despejamento, controlados por uma micropipeta eletrônica, foram otimizados. A Figura 28 apresenta a variação de resposta da corrente de NPX em função da velocidade de despejamento e do volume injetado.

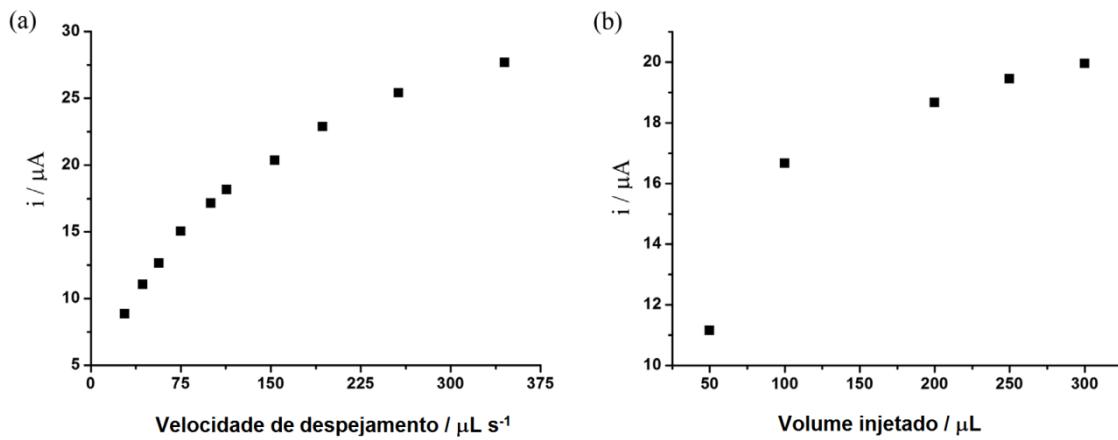


Figura 28. Respostas amperométricas para estudo da velocidade de despejamento (a) e volume injetado (b) para o naproxeno $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em GCE não modificado; Potencial de trabalho: $+1,5 \text{ V}$ (200 ms) e potencial de limpeza: $+1,0 \text{ V}$ (100 ms); eletrólito: tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O volume injetado em (a) foi de $200 \mu\text{L}$ e a velocidade de despejamento de $154 \mu\text{L s}^{-1}$ foi aplicada em (b).

A corrente de pico aumenta à medida que a velocidade de despejamento também aumenta (Figura 28a). Uma velocidade de despejamento de $160 \mu\text{L s}^{-1}$ foi selecionado para as próximas medidas. Apesar de maiores correntes serem adquiridas sempre que maiores velocidades de despejamento são utilizados, baixas repetibilidades e reproduzibilidades (alto desvio padrão) foram verificadas para velocidades de despejamento maiores que $160 \mu\text{L s}^{-1}$. O pico de corrente aumenta significantemente com o aumento do volume injetado, de 50 para $100 \mu\text{L}$, e continua aumentando levemente de 100 para $300 \mu\text{L}$. O volume de injeção de $200 \mu\text{L}$ foi selecionado para as próximas análises. A faixa dinâmica linear sob condições otimizadas foi construída de 10 a $125 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX. As respostas de corrente não aumentaram linearmente para o naproxeno em concentrações maiores que $125 \mu\text{mol L}^{-1}$.

L^{-1} . Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) sob condições otimizadas foram estimados em 0,3 e 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente ($\text{LD} = 3s_B/S$ e $\text{LQ} = 10s_B/S$, onde s_B é o desvio padrão de intercepto e S é a inclinação da curva de calibração).

Os valores de limite de detecção obtidos para o NPX através de sua determinação por voltametria de pulso diferencial em platina [10] e eletrodos de diamante dopado com boro [9] foram 0,9 e 0,03 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. No entanto, ambos os procedimentos eletroanalíticos empregam eletrólitos não aquosos, o que pode ser considerado uma desvantagem devido à toxicidade dos mesmos. A Figura 29 apresenta as respostas amperométricas para injeções em triplicata de soluções contendo concentrações crescentes de naproxeno (a-e: 10-100 $\mu\text{mol L}^{-1}$). As respectivas curvas de calibração (crescente e decrescente) também são apresentadas. A frequência analítica estimada é superior a 90 injeções por hora (muito superior que os métodos anteriormente relatados) [152, 153].

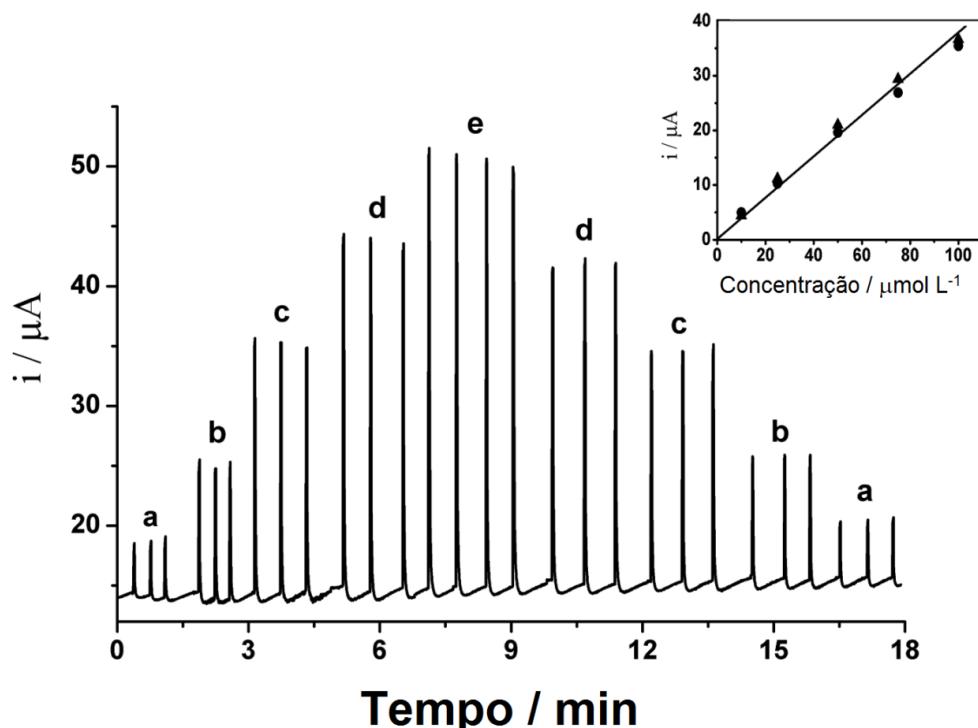


Figura 29. Respostas amperométricas do BIA para injeções em triplicata de (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 75 e (e) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de soluções padrão de NPX em GCE não modificado. As curvas de calibração correspondem às injeções em ordem crescente (\blacktriangle) e decrescente (\bullet). Potencial de trabalho: +1,5 V (200 ms) e +1,0 V (100 ms); eletrólito: tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} ; volume injetado: 200 μL ; velocidade de despejamento: 160 $\mu\text{L s}^{-1}$.

Um comportamento linear, com alto coeficiente de correlação ($R > 0,99$), foi observado na faixa de 10-100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX com valores de inclinação semelhantes para ambas as curvas (0,357 e 0,336 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$). Não foi verificado processo de adsorção no eletrodo entre as injeções de soluções padrão, tal como evidenciado pelo fato de que as respostas de corrente não diminuíram durante as medições amperométricas, devido à aplicação de um pulso de potencial de limpeza (1,0 V), utilizando a técnica de detecção amperométrica pulsada.

3.8.5. DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO DE AMOSTRAS FARMACÊUTICAS

O método BIA otimizado com detecção amperométrica pulsada foi aplicado para a determinação de naproxeno em formulações farmacêuticas. Para comparação, as amostras foram também analisadas por espectrofluorimetria de acordo com trabalho reportado na literatura [141]. Os resultados são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Valores de concentrações de NPX obtidas pelo método proposto BIA em GCE não modificado e por espectrofluorimetria (mg por comprimido) e os respectivos valores de desvio padrão ($n = 3$).

AMOSTRAS	<u>Valor do rótulo / mg</u>	<u>BIA / mg</u>	<u>Espectrofluorimetria / mg</u>
Fármaco A	500	484 ± 33	507 ± 16
Fármaco B	550	557 ± 3	570 ± 13

Todos os resultados obtidos pelo método proposto BIA foram concordantes com os obtidos por espectrofluorimetria (Tabela 7). Ao nível de confiança de 95%, os valores do teste-t calculados (teste-t *Student* pareado) foram menores do que o valor crítico (2,78, $n = 4$), o que indica que não existem diferenças significativas entre os resultados obtidos em ambos os métodos.

A presença de partículas sólidas da matriz da amostra (excipientes) em solução não afetam a medição amperométrica e, portanto, uma etapa de filtração não foi necessária (vantagem de métodos eletroquímicos em comparação com métodos ópticos).

Os testes realizados com GCE para determinação de NPX em sistema BIA, como dito anteriormente, só podem ser usados utilizando a técnica MPA com potencial de limpeza, devido à alta adsorção do material na superfície do eletrodo. Porém, o software GPES 4.9.007, que é o único que permite a aplicação e medição da corrente em vários pulsos de potencial (até 10 pulsos de potencial) ao mesmo tempo, é fornecido unicamente pela empresa Metrohm Pensalab. A modificação deste GCE com MWCNTs apresenta-se como uma boa alternativa na tentativa de minimizar ao máximo esses efeitos de adsorção na superfície do eletrodo e também na utilização da técnica amperométrica convencional a potencial constante para a determinação de espécies analíticas, como o NPX, técnica esta que a maioria dos softwares produzidos por diferentes empresas possui.

3.8.6. INVESTIGAÇÃO DO TRANSPORTE DE MASSA

O efeito da velocidade de varredura para a oxidação de NPX foi investigado em 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5) e este estudo foi realizado usando GCE/LD-MWCNT com o objetivo de avaliar a natureza do transporte do material eletroativo para a superfície do eletrodo. A Figura 30 apresenta os valores de corrente vs a velocidade de varredura (A) e os valores da corrente vs a raiz da velocidade de varredura (B), em uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ contendo 1 mmol L⁻¹ de NPX. Neste estudo, dois diferentes comportamentos foram observados. Em baixas velocidades de varredura (10 a 100 mV s⁻¹), a corrente de pico de oxidação do NPX (em 1,00 V) versus a velocidade de varredura foi linear (Figura 30A), o que sugere que o processo de oxidação é controlado por adsorção. Por outro lado, em velocidades de varredura mais altas (75-1000 mV s⁻¹), a corrente de pico de oxidação do NPX (em 1,00 V) versus a raiz da velocidade de varredura (75-1000 mV s⁻¹) foi linear (Figura 30B) o que sugere que o processo de oxidação é controlado pela difusão. Portanto, estes resultados indicam sistema misto de transporte de massa, adsorção do analito na fina camada do filme (baixas velocidades de varredura) e regime controlado por difusão semi-infinita (altas velocidades de varredura), conforme descrito por alguns

pesquisadores na literatura, incluindo empregando superfície de eletrodos modificados com CNTs [55, 233-235].

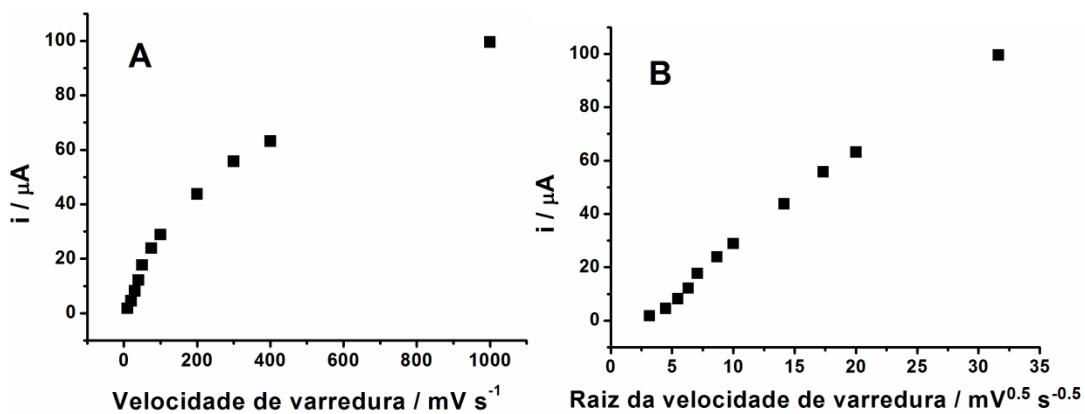


Figura 30. Gráficos da corrente de pico para 1 mmol L⁻¹ de NPX em função da (A) velocidade de varredura e da (B) raiz quadrada da velocidade de varredura. Eletrólito: 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato.

Uma hipótese seria que, em baixas velocidades de varredura, haveria tempo suficiente para a difusão através dos poros no filme de LD-MWCNT em GCE e, assim, uma contribuição significativa de espécies de NPX causada pela difusão dentro das camadas finas do filme de CNT seria verificada. Em seguida, o filme poroso de LD-MWCNT comportar-se-ia como um eletrodo tridimensional com uma elevada área superficial, que as espécies de naproxeno teriam acesso, o que explica a corrente mais elevada observada para a oxidação de naproxeno em GCE/LD-MWCNT comparado ao GCE não modificado (Figura 21).

Experimentos usando ressonância plasmônica de superfície acoplada à eletroquímica e microbalança eletroquímica de cristal de quartzo também provaram a inclusão de espécies eletroativas em filmes de eletrodos modificados durante os processos de oxidação eletroquímica [236].

3.8.7. ESTUDO AMPEROMÉTRICO DE NAPROXENO EM ELETRODOS MODIFICADOS COM MWCNT

O sistema BIA, com detecção amperométrica a potencial constante, foi utilizado na realização das medidas dos voltamogramas hidrodinâmicos para injeções de NPX em eletrodos modificados com CNTs. O GCE não foi utilizado nesse teste, pois seria necessário utilizar um potencial de limpeza adicional, ou seja, usar a técnica de MPA, pois sem esse potencial de limpeza ocorre adsorção do material na superfície do eletrodo, como mostrado anteriormente, e seria impossível seguir com as análises. Desta forma, os testes foram realizados com LD-MWCNT e SD-MWCNT aplicando sete potenciais separadamente (+0,8 V a +1,4 V) (Figura 31) com injeções de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX.

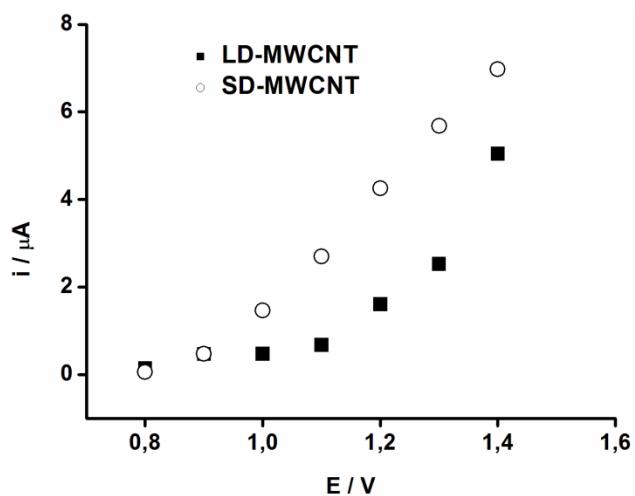


Figura 31. Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE/LD-MWCNT (■) e GCE/SD-MWCNT (○). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5); Volume injetado: $150 \mu\text{L}$; Velocidade de despejamento: $193 \mu\text{L s}^{-1}$.

O voltamograma hidrodinâmico foi feito com base nas respostas de corrente obtidas em diferentes potenciais aplicados em experimentos sequenciais (usando amperometria potencial constante) e a maior corrente para oxidação de NPX, em ambos os eletrodos modificados foi verificada em 1,4 V, que foi selecionado para outras medições amperométricas. Neste potencial de trabalho ocorrem dois processos de um elétron cada e, por esta razão, uma corrente mais elevada foi observada. A

oxidação de NPX em ambos eletrodos começam em 0,8 V e tem o seu máximo de corrente em 1,4 V, e sendo o GCE/SD-MWCNT o mais sensível.

3.8.8. OTIMIZAÇÕES DO SISTEMA BIA PARA ELETRODO MODIFICADO COM MWCNT

Os parâmetros do sistema BIA foram otimizados (volume injetado e velocidade de despejamento) baseando-se no maior sinal analítico de corrente e os resultados são apresentados na Figura 32 para injeções de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX em triplicata. Estas otimizações foram feitas para GCE/LD-MWCNT, e estes resultados desta otimização também serão usados para os outros eletrodos. O gráfico da velocidade de despejamento foi construído de 28 a $193 \mu\text{L s}^{-1}$ e o do volume injetado foi de 50 a 300 μL .

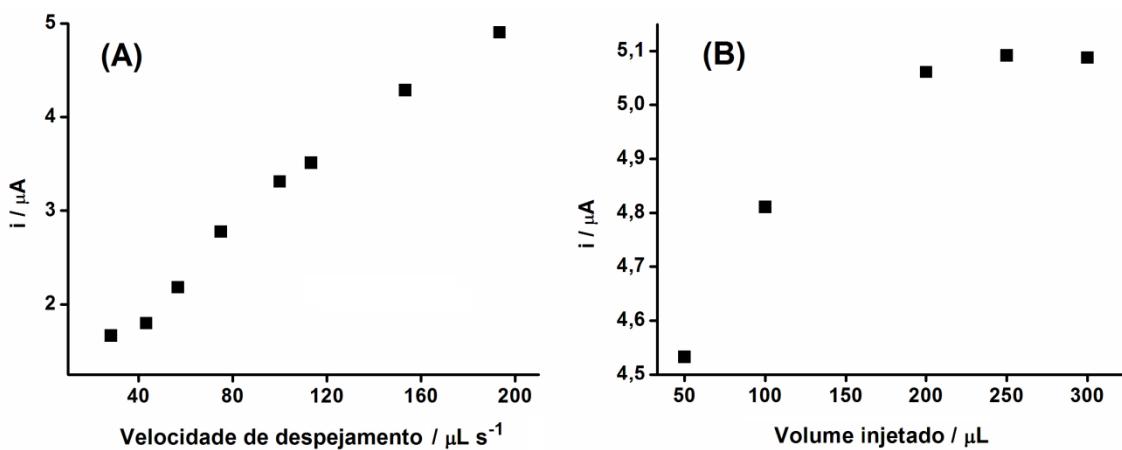


Figura 32. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX para otimização da (A) velocidade de despejamento e (B) volume injetado. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato. O volume injetado em (A) foi de $200 \mu\text{L}$ e a velocidade de despejamento em (B) foi de $193 \mu\text{L s}^{-1}$.

Como pode ser visto, a corrente máxima de velocidade de despejamento igual a $193 \mu\text{L s}^{-1}$ foi adquirida, sendo então escolhida para as posteriores análises. Em velocidades de despejamento inferiores, a corrente detectada é menor, assim como a frequência analítica. Aqui verifica-se o comportamento quase linear da corrente em função da velocidade de despejamento.

A corrente de oxidação de NPX aumenta com o aumento do volume injetado de forma significativa até 200 μL e continua crescendo levemente até 300 μL . No entanto, o volume injetado de 200 μL foi selecionado com o objetivo de reduzir o consumo de amostras e reagentes, aumentar a frequência de amostragem e diminuir a probabilidade de contaminação do eletrodo de trabalho. Além disso, não há perda significativa da sensibilidade.

Uma correlação linear entre a corrente de oxidação da espécie química e a velocidade de despejamento foi observada. Este resultado está de acordo com uma configuração em “wall-jet” em eletrodo de disco em que a máxima corrente em BIA deve ser linearmente proporcional à $v^{3/4}$ (velocidade de despejamento) [115].

3.8.9. FAIXA LINEAR E REPETIBILIDADE

Posteriormente, já com as condições otimizadas do sistema BIA, foram realizadas injeções de soluções contendo concentrações de NPX com o objetivo de avaliar a faixa linear de resposta (corrente versus concentração) empregando sistema BIA para GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. A partir deste experimento foi obtida uma curva de calibração linear para GCE/LD-MWCNT de 10 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e para GCE/SD-MWCNT de 10 a 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em um experimento que consistiu em um intervalo de concentração de 10 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$, como mostra a Figura 33. As figuras de mérito das respectivas curvas encontram-se na Tabela 8.

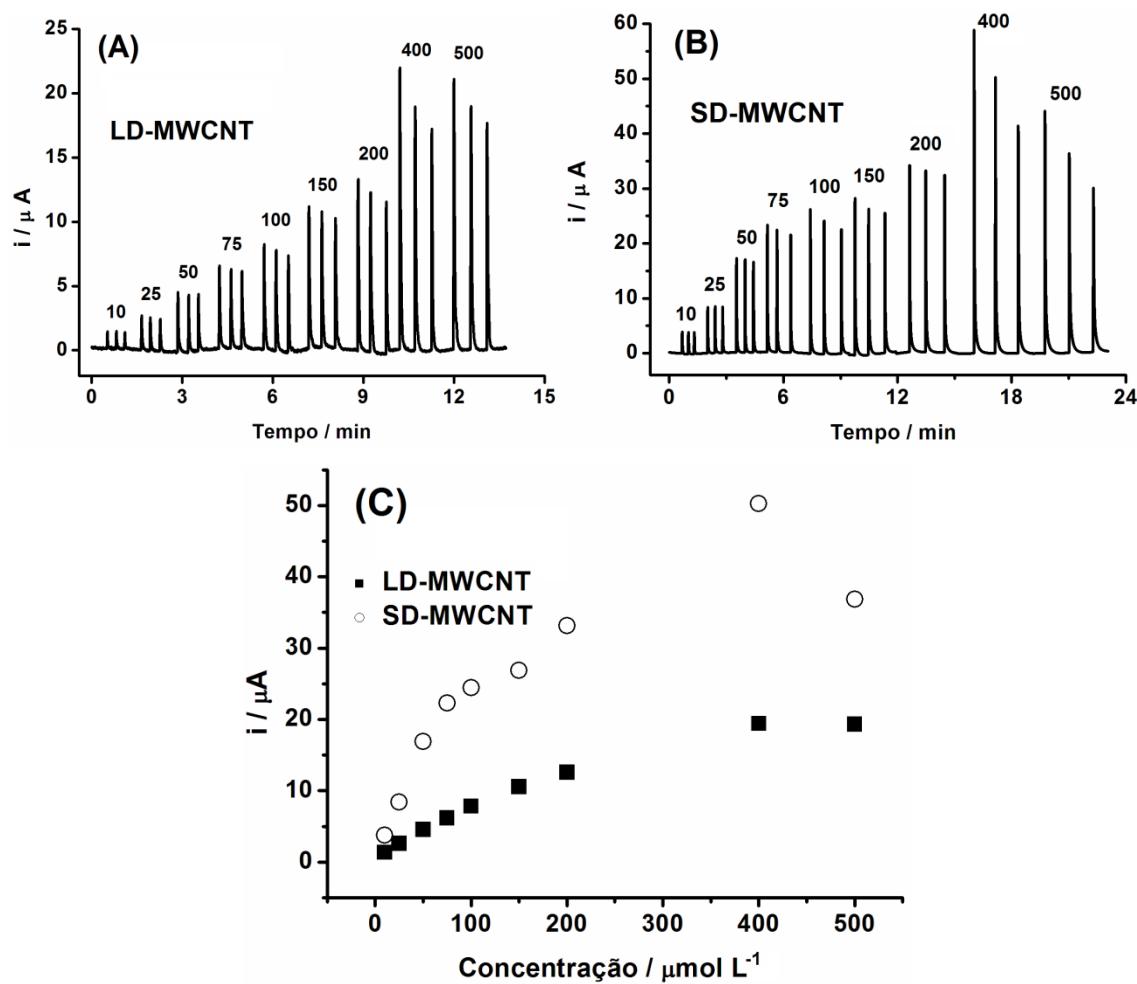


Figura 33. Amperogramas obtidos para injeções de soluções padrão de NPX (10 - 500 μ mol L⁻¹) em: (A) GCE/LD-MWCNT e em (B) GCE/SD-MWCNT. Em (C) seguem as respectivas curvas analíticas.

Tabela 8. Figuras de mérito obtidas na determinação de NPX em GCE/LD-MWCNT e em GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato.

ELETRODOS	Faixa de trabalho / μ mol L ⁻¹	Equação da reta de calibração	LD / μ mol L ⁻¹	R
<u>GCE/LD-MWCNT</u>	10 - 200	$i(\mu\text{A}) = 0,0593[\text{NPX}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 1,3728$	2,0	0,993
<u>GCE/SD-MWCNT</u>	10 - 75	$i(\mu\text{A}) = 0,2897[\text{NPX}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 1,2552$	0,4	0,995

Este teste não foi realizado para GCE não modificado devido aos problemas de adsorção que ocorre no mesmo, já citados anteriormente. O GCE/LD-MWCNT apresentou menor efeito de memória com uma faixa linear de trabalho de 10 a 200 μ mol L⁻¹. No entanto, a sensibilidade do GCE/SD-MWCNT foi 5 vezes maior, indicado

pelo coeficiente angular das retas, que a sensibilidade do GCE/LD-MWCNT. A menor faixa linear de trabalho do GCE/SD-MWCNT não seria um problema para análises de amostras farmacêuticas, pois NPX é geralmente é o único composto ativo da formulação e não haveria problemas em trabalhar com concentrações menores que 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Foram feitas também injeções sucessivas de solução contendo NPX na concentração de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para analisar a repetibilidade e a frequência analítica desses eletrodos em sistema BIA, conforme mostra a Figura 34.

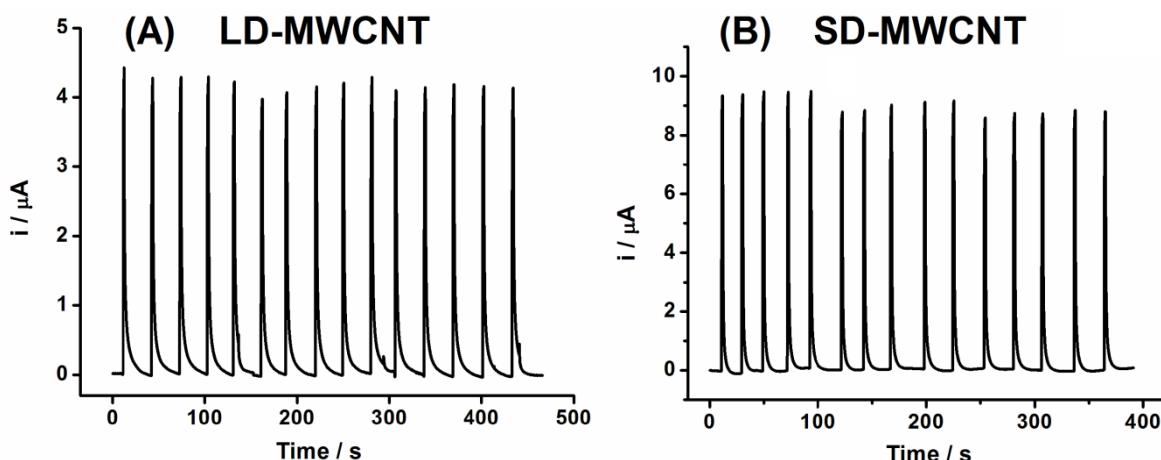


Figura 34. Amperogramas obtidos para injeções sucessivas ($n = 15$) de solução de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX no sistema BIA com detecção amperométrica em (A) GCE/LD-MWCNT e (B) GCE/SD-MWCNT. $E = 1,4$ V. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato (pH 7,5).

Pelos gráficos é possível observar que não houve efeito de memória na superfície de ambos os eletrodos e que baixos RSD foram adquiridos, sendo 2,5 e 3,4 % para GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT, respectivamente. Uma elevada frequência analítica foi obtida, aproximadamente 120 injeções h^{-1} , para estes eletrodos, o que mostra uma possibilidade de realizar inúmeras análises em um dia todo de experimentos, o que não seria possível, por exemplo, em um equipamento de HPLC. Estes resultados demonstram que o método proposto (eletrodos modificados com materiais nanoestruturados acoplado ao sistema BIA) apresenta adequada precisão, seletividade e sensibilidade para a determinação de NPX em formulações farmacêuticas.

Visto que as condições ótimas para o sistema BIA foram realizadas, juntamente com a faixa linear de trabalho, foi feita uma simples comparação amperométrica do eletrodo GCE/LD-MWCNT com GCE não modificado em uma curva com injeções nas concentrações de 10 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX. A Figura 35 apresenta uma medida amperométrica usando sistema BIA para injeções em triplicata de 10, 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NPX em GCE/LD-MWCNT e a curva de calibração comparando as correntes adquiridas.

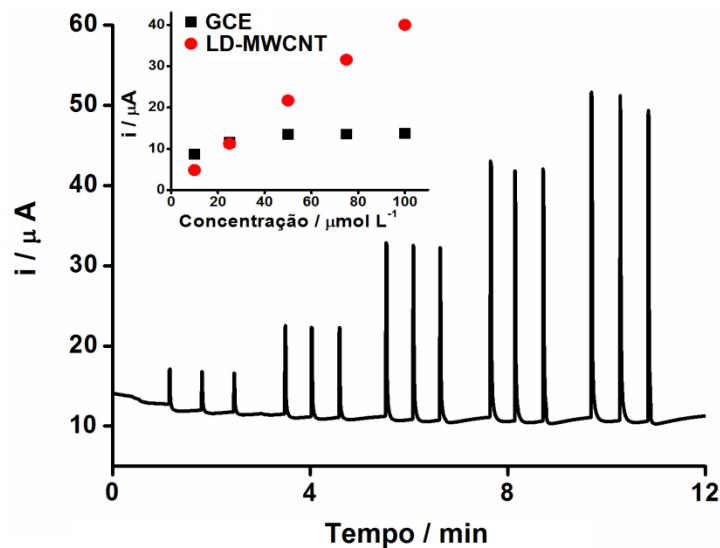


Figura 35. Respostas amperométricas em sistema BIA de GCE/LD-MWCNT para injeções em triplicata de (a) 10; (b) 25; (c) 50; (d) 75; and (e) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de padrão de soluções de NPX; e as correspondentes curvas de calibração inseridas no canto esquerdo superior em eletrodo não modificado (■) e eletrodo modificado com GCE/LD-MWCNT (●). Volume injetado: 200 μL ; velocidade de despejamento: 193 $\mu\text{L s}^{-1}$. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato (pH 7,5).

O eletrodo modificado respondeu rapidamente (~ 5 s) e de forma consistente com as adições de NPX. As medições amperométricas em GCE convencional indicam claramente uma forte adsorção de NPX ou de seus produtos de oxidação que inativam a superfície do eletrodo durante o electroanálise de NPX. O processo de adsorção ocorreu mesmo sob condições de fluxo do sistema de BIA como relatado anteriormente. Por outro lado, a presença de filmes de MWCNTs na superfície de GCE eliminou os processos de adsorção durante a oxidação NPX.

Outra informação interessante verificada nos amperogramas é a baixa diferença na corrente registrada em ambas as superfícies dos eletrodos, opostamente ao enorme aumento na corrente verificada em experimentos de CV no eletrodo modificado (Figura 24). Este resultado também indica que a corrente mais elevada verificada no voltamograma cíclico em baixas velocidades de varredura pode ser explicada pelo efeito de difusão em camada fina enquanto sob condições de alto fluxo de BIA (193 mL s^{-1}), não há tempo suficiente para o aprisionamento de NPX dentro dos filmes de MWCNT, o que contribuiria para o aumento da corrente.

3.8.10. DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO EM AMOSTRAS FARMACÊUTICAS

Formulações farmacêuticas, contendo NPX, adquiridas em drogarias da cidade de Uberlândia foram analisadas pelo método proposto utilizando GCE/LD-MWCNT. A Figura 36A apresenta uma medição amperométrica neste eletrodo modificado para injeção de soluções padrão de NPX contendo um aumento crescente (a-e) e decrescente (e-a) de concentrações do material, e injeções de amostras farmacêuticas após o tratamento adequado (S_1 e S_2) e depois de dopar estas com quantidades conhecidas de NPX (S_{S1} e S_{S2}). Figura 36B apresenta as respectivas curvas de calibração (sobreposição da curva crescente e decrescente). A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos para duas amostras farmacêuticas analisadas e valores de recuperação encontrados após dopagem das mesmas amostras farmacêuticas com solução padrão de NPX $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (as amostras foram preparadas para concentração final de $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e as dopagens feitas na mesma concentração às soluções de cada amostra).

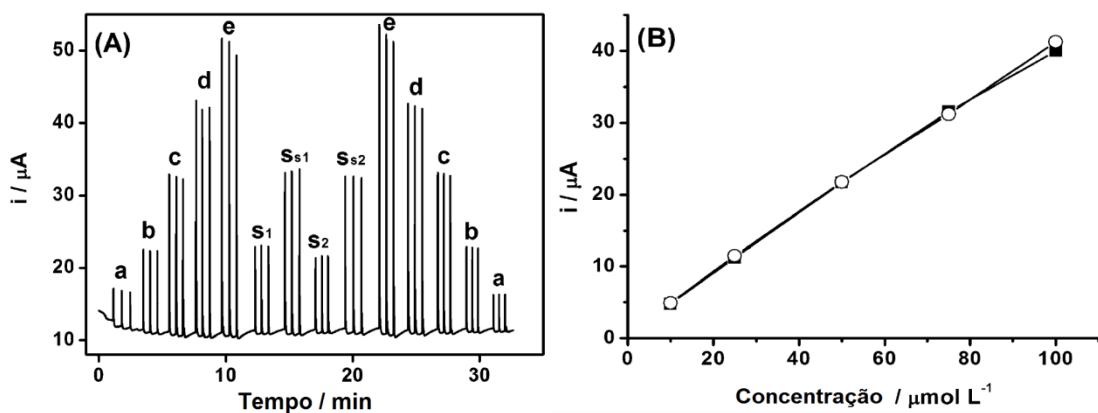


Figura 36. (A) as respostas amperométricas em sistema BIA do GCE/LD-MWCNT para injeções em triplicata de (a) 10, (b) 25, (c) 50, (d) 75, e (e) 100 μ mol L⁻¹ de padrões de NPX, duas amostras comerciais (S_1 e S_2) e as amostras dopadas (S_{s1} e S_{s2}). Em (B), sobreposição das curvas de calibração crescente de decrescente. Mesmas condições da Figura 31.

Tabela 9. Resultados analíticos obtidos em BIA para a determinação de NPX em formulações farmacêuticas e ensaio de recuperação ($n = 3$).

AMOSTRAS	Valor do rótulo / mg	BIA / mg	Recuperação / %
1	500	531.4 ± 0.14	104
2	550	501.4 ± 0.09	110

Um comportamento linear com ótimo coeficiente de correlação foi verificado de 10 a 100 μ mol L⁻¹ de NPX com coeficientes angulares (sensibilidade) de 0,394 e 0,401 μ AL μ mol⁻¹ para a curva crescente e decrescente, respectivamente. Para ambas as curvas o coeficiente de correlação (R) foi de 0,999.

Os valores de recuperação para amostras dopadas também pode ser considerado aceitável (107 ± 5), atestando a exatidão do método proposto e ausência de interferências de excipientes contidos nas formulações farmacêuticas.

Essa tese apresenta pela primeira vez a oxidação eletroquímica do NPX usando um eletrodo modificado com MWCNT. O menor potencial de oxidação e o aumento de corrente em experimentos usando CV podem ser um indicativo de processo de difusão de espécies aprisionadas no interior do filme de MWCNTs ao invés de eletrocatalise. Este resultado é semelhante a estudos demonstrados na literatura para eletrodos modificados com CNTs e hexacianoferratos metálicos. [55, 233-235].

As propriedades anti-adsortivas de MWCNTs foram demonstradas para a detecção amperométrica de NPX no sistema BIA, que permitem a determinação precisa e exata de NPX em amostras farmacêuticas. Além disso, com o uso do sistema BIA, essas análises podem ocorrer *in situ* devido à portabilidade do sistema, podendo ser acoplada a um potenciómetro portátil.

Similares magnitudes de corrente de oxidação de NPX foram verificadas para as medições amperométricas em GCE não modificado e modificado com MWCNTs utilizando o sistema BIA de alto fluxo, o que pode ser explicado pelo curto tempo de contato de espécies de NPX com o filme MWCNT. Consequentemente, as espécies de NPX não penetram através dos filmes de MWCNT durante o processo de oxidação eletroquímica, ao contrário do que ocorre durante a CV em baixas velocidades de varredura.

3.9. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE IBUPROFENO EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT

3.9.1. VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS COMPARATIVOS NA PRESENÇA DE IBF

IBF também é solúvel em soluções aquosas em condições mais básicas, não sendo solúvel em condições ácidas. Desta forma foram utilizados soluções de 0,1 mol L⁻¹ de NaOH, 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5) e 0,04 mol L⁻¹ de tampão BR em diferentes pH's (7,5; 8; 9; 10; 11 e 12). Solução tampão fosfato em pH = 7,5 produziu melhores respostas eletroquímicas para IBF com picos mais bem definidos e mais estáveis. Para valores maiores de pHs, há maior dificuldade de visualizar as correntes máximas de pico. Desta forma, a solução tampão fosfato (pH 7,5) foi escolhida para todas as análises que envolveram determinação de IBF.

A Figura 37 compara os voltamogramas cíclicos da oxidação eletroquímica de IBF em GCE não modificado, com eletrodo de GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. O primeiro ciclo de IBF, em cada eletrodo, pela técnica de CV é apresentado. Foram realizadas adições de 1,0 mmol L⁻¹ de IBF em 0,1 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH 7,5).

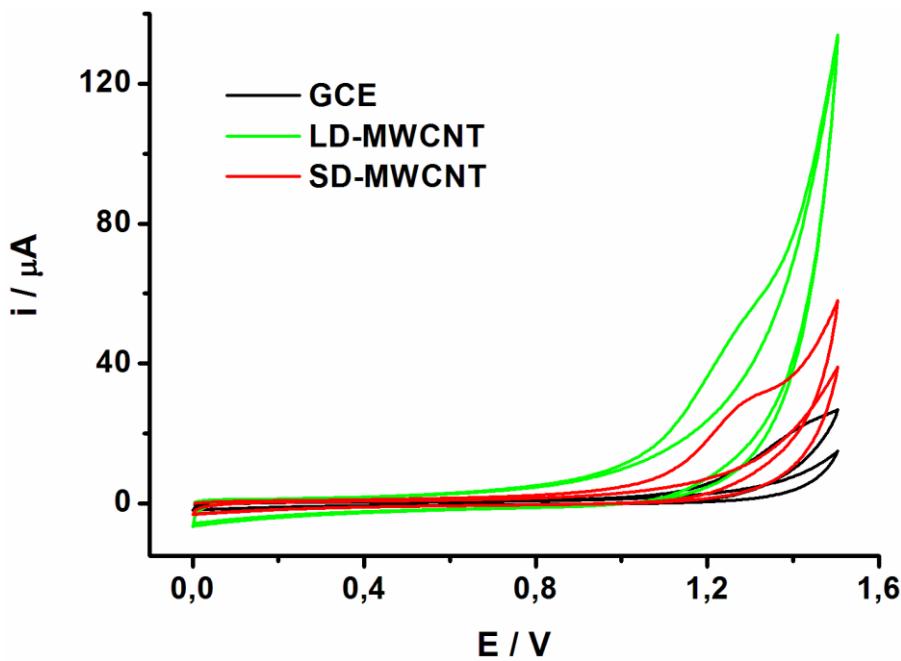


Figura 37. Voltamogramas cíclicos para adição de 1 mmol L^{-1} de IBF em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução de tampão fosfato (pH 7,5) em eletrodo não modificado (—), LD-MWCNT (—) e SD-MWCNT (—) e os respectivos brancos. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .

Um pico irreversível de oxidação foi observado em 1,45 V em GCE não modificado, com a oxidação se iniciando em 1,2 V (linha preta na Figura 37). Em LD-MWCNT (linha verde) e SD-MWCNT (linha vermelha), um pico irreversível de oxidação em 1,25 V, com oxidação começando em 1,0 V, e aumento de duas vezes na corrente foi observado.

Resumidamente, o GCE/SD-MWCNT apresentou picos mais bem definidos. No entanto, a sensibilidade e o potencial de início da oxidação foram aproximadamente os mesmos que em GCE/LD-MWCNT, e ambos os eletrodos foram mais sensíveis e tiveram início na oxidação do material em potenciais menores do que em GCE não modificado. Assim, ambos os eletrodos modificados com CNTs apresentaram provável efeito eletrocatalítico para a determinação de IBF.

3.9.2. INVESTIGAÇÃO DO TRANSPORTE DE MASSA

Com o objetivo de avaliar a natureza do transporte do material eletroativo para a superfície do eletrodo, o efeito da velocidade de varredura na oxidação de IBF foi investigado em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5) e este estudo foi realizado usando GCE/SD-MWCNT e também com GCE não modificado. Desta forma, a corrente de pico da oxidação de IBF foi plotada vs a velocidade de varredura e também versus a raiz da velocidade de varredura. Em processos em que este último gráfico apresenta um coeficiente de correlação alto (próximo de 1) dizemos que o processo é difusional; da mesma forma que se o primeiro gráfico citado se mostrar com um valor elevado do coeficiente de correlação (aproximadamente 1) dizemos que há um processo adsorptivo. A Figura 38 mostra os voltamogramas cíclicos para o eletrodo GCE/SD-MWCNT em diferentes velocidades de varredura ($10 \text{ a } 500 \text{ mV s}^{-1}$) para adição de 1 mmol L^{-1} de IBF em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5) e os valores da corrente vs a raiz da velocidade de varredura também estão inseridos no gráficos.

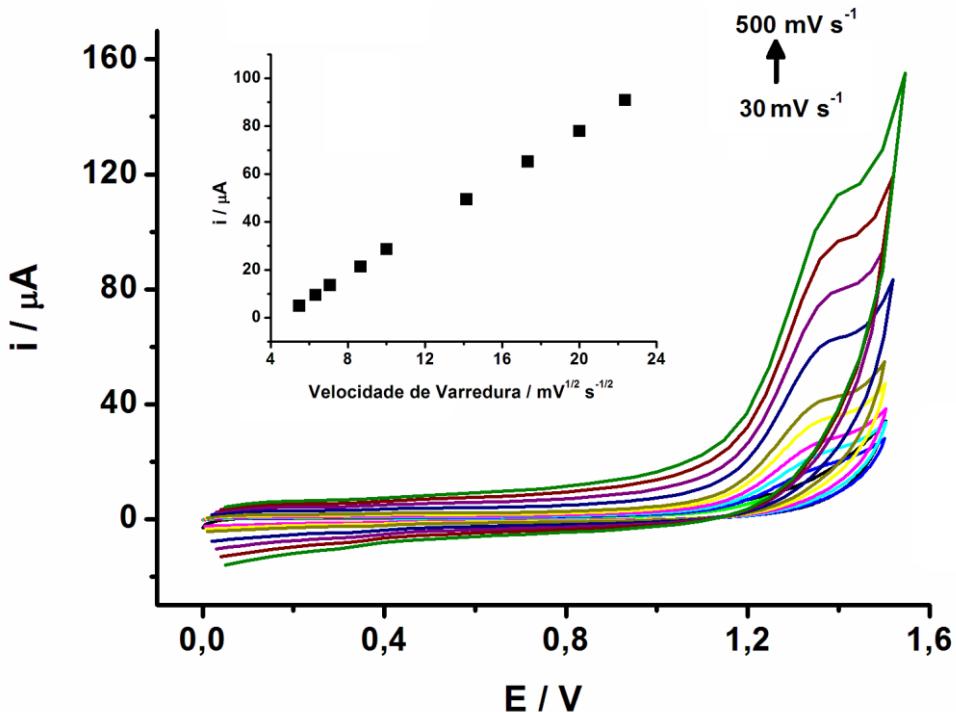


Figura 38. Voltamogramas cíclicos de IBF 1 mmol L^{-1} em solução de tampão fosfato (pH 7,5) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidades de varredura: 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400 e 500 mV s^{-1} . O gráfico da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura está inserido neste voltamograma.

Diferentemente dos resultados observados para o NPX, tanto para o eletrodo GCE não modificado (não mostrado) como para o eletrodo GCE/SD-MWCNT (Figura 38), os dados adquiridos sugerem, que tanto em baixas como em altas velocidades de varredura, o transporte de massa é realizado apenas por processo de difusão, visto que a curva plotada entre as correntes de pico da oxidação de IBF (pico máximo de corrente em 1,25 V) versus a raiz da velocidade de varredura se apresenta com uma reta ($R > 0,999$). Como já esperado, a curva da corrente máxima versus a velocidade de varredura (não mostrado) se mostra como uma parábola. Esse teste também foi feito para GCE/LD-MWCNT (não mostrado), e os resultados foram similares, demonstrando processo controlado por difusão em altas e baixas velocidades de varredura.

3.9.3. MECANISMO DE OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DE IBUPROFENO

Respostas voltamétricas em tampão BR de diferentes pHs (de 7,5 a 12) apresentam uma forte evidência que o mecanismo de oxidação eletroquímica de IBF não é dependente do pH, pois não houve deslocamento de pico de corrente com o aumento do pH. Considerando que o IBF está desprotonado no pH do eletrólito ($pK_a = 4,9$) e considerando os produtos de oxidação eletroquímica 4-isobutilacetofenona e 1-(1-hidroxietil)-4-isobutilbenzeno isolados por Ambuludi e colaboradores [237], a oxidação eletroquímica de IBF possivelmente envolve um elétron via formação de radical, seguido por descarboxilação, muito similar ao mecanismo do NPX, gerando os produtos anteriormente isolados, como mostra a Figura 39.

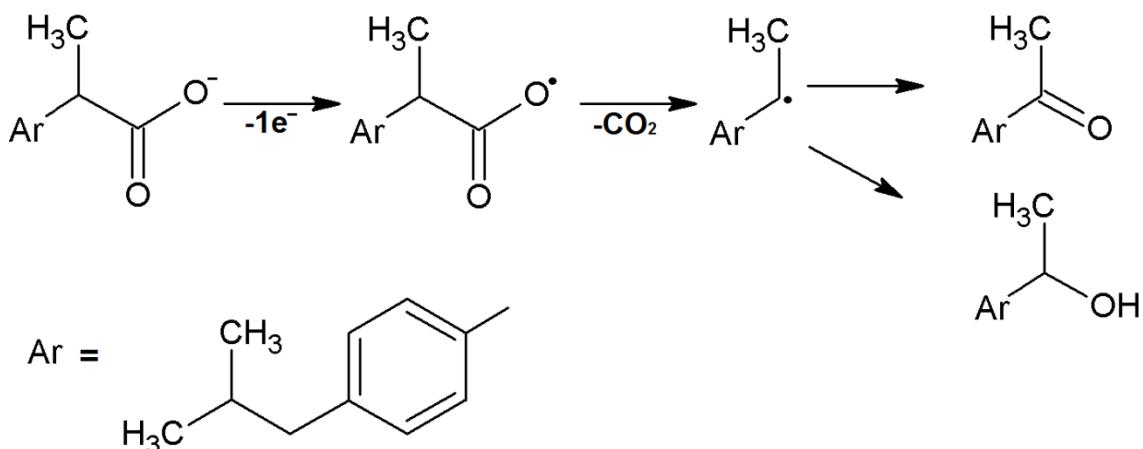


Figura 39. Mecanismo de oxidação eletroquímica de ibuprofeno [237].

Neste trabalho, a equação de Laviron foi utilizada para mostrar a dependência dos potenciais de picos anódicos com logaritmo da velocidade de varredura (v) para os voltamogramas cíclicos. Pela Figura 40, é facilmente observável que em baixas velocidades de varredura há uma certa independência entre os potenciais de picos e as velocidades de varredura; por outro lado, em velocidades de varredura acima de 300 mV s^{-1} , os potenciais de pico são proporcionais ao $\log v$, como previsto pela teoria de Laviron [238].

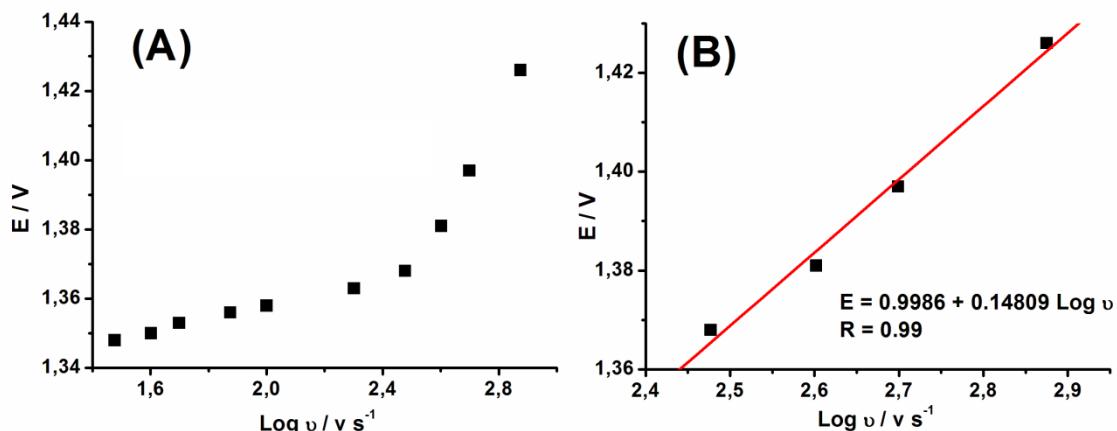


Figura 40. (A) Gráfico de Laviron, Epa vs Log v e (B) Gráfico de Laviron, Epa vs Log v, para altas velocidades de varredura.

Um coeficiente de transferência de elétrons igual a 0,6 foi encontrado, sugerindo que a comunicação eletrônica entre a superfície do eletrodo e o MWCNT auxilia o processo interfacial, sendo este resultado obtido através valor da inclinação

da reta para a porção anódica em altas velocidades de varredura. Essas porções de pontos anódicos apresentam inclinações das retas iguais a $\frac{2,3RT}{(1-\alpha)nF}$. Em que:

$$T = 298 \text{ K}$$

$$R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ (constante universal dos gases perfeitos)}$$

$$n = 1 \text{ (número de elétrons transferidos)}$$

$$F = 96485,34 \text{ C mol}^{-1} \text{ (constante de Faraday)}$$

3.9.4. ESTUDO HIDRODINÂMICO COMPARATIVO

Sistema FIA com detecção amperométrica foi utilizada para determinação de IBF em GCE não modificado, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Um voltamograma hidrodinâmico foi registrado baseado na resposta de corrente obtida através da aplicação de diferentes potenciais (usando amperometria de potencial constante) (+1,0 V a +1,5 V) e o maior sinal de corrente de oxidação de IBF em todos os eletrodos foi verificado em 1,5 V (Figura 41), o qual foi selecionado para todas as medidas amperométricas.

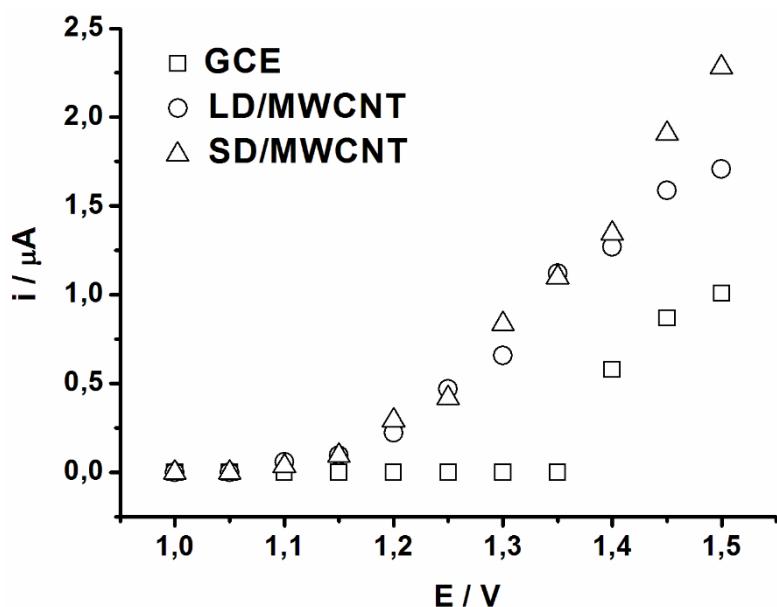


Figura 41. Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de IBF plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE (\square), GCE/LD-MWCNT (\circ) e GCE/SD-MWCNT (Δ). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5); Volume injetado: $250 \text{ } \mu\text{L}$; Vazão: 3 mL min^{-1} .

Sob condições hidrodinâmicas, a corrente de oxidação de IBF em eletrodo não modificado (GCE) começou a aumentar por volta de 1,4 V, enquanto o potencial de oxidação da espécie analítica para GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT começou a apresentar corrente de oxidação de IBF em 1,1 V. Portanto, a presença de MWCNTs em GCE melhorou a resposta de IBF, causando aumento da corrente e baixando os potenciais de oxidação (diminuição de 300 mV no sobrepotencial da reação de oxidação). As respostas para GCE/SD-MWCNT foram duas vezes maiores do que as obtidas para GCE não modificado, demonstrando a ação eletrocatalítica dos MWCNTs.

3.9.5. OTIMIZAÇÕES DO SISTEMA FIA PARA ELETRODO MODIFICADO COM MWCNT

Os parâmetros do sistema FIA de volume injetado (correspondente a diferentes alças de amostragem que são constituídas de tubos de polietileno com comprimentos distintos e mesmos diâmetros) e vazão (controlado por uma bomba peristáltica), foram otimizados (Figura 42) em SD-MWCNT levando em consideração a maior resposta analítica e foram selecionados $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ e $300 \mu\text{L}$ como vazão (no intervalo de 1 a 4 mL min^{-1}) e volume de injeção (na faixa de 100 e $300 \mu\text{L}$), respectivamente. O comprimento da tubulação entre a injeção da amostra e a célula analítica utilizada foi de 25 cm.

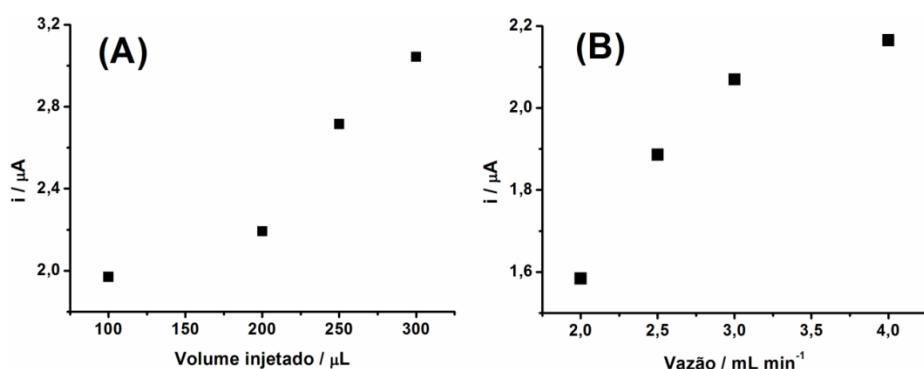


Figura 42. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de IBF para otimização da (A) volume injetado e (B) vazão. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5). A vazão em (A) foi de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ e o volume injetado em (B) foi de $200 \mu\text{L}$.

A corrente de oxidação de IBF aumenta com o aumento do volume injetado significativamente até 300 μL , e esta então foi escolhida para ser usada nos próximos experimentos. Para valores superiores o consumo de amostras e reagentes também não justifica o seu uso.

Pela figura é possível visualizar que o aumento da corrente é proporcional ao aumento da vazão, porém até 3,0 mL min^{-1} a corrente cresce significativamente, já acima desse valor o aumento é leve e há um consumo maior de amostras e reagentes, o que aumenta a chance de contaminar o eletrodo. Estes fatores sugerem que a vazão de 3,0 mL min^{-1} deve ser usada nas próximas análises amperométricas. Em vazões inferiores, a corrente detectada é menor, assim como a frequência analítica.

3.9.6. FAIXA LINEAR E REPETIBILIDADE

Foram realizadas injeções de soluções contendo concentrações de IBF com o objetivo de avaliar a faixa linear de trabalho (corrente versus concentração) empregando sistema FIA, com as condições já otimizadas (vazão e volume injetado) para GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. A partir deste experimento foi obtida uma curva de calibração linear para GCE de 50 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para GCE/LD-MWCNT de 25 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e para GCE/SD-MWCNT de 10 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em um experimento que consistiu em um intervalo de concentração de 10 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, como mostra a Figura 43. As figuras de mérito das respectivas curvas encontram-se na Tabela 10.

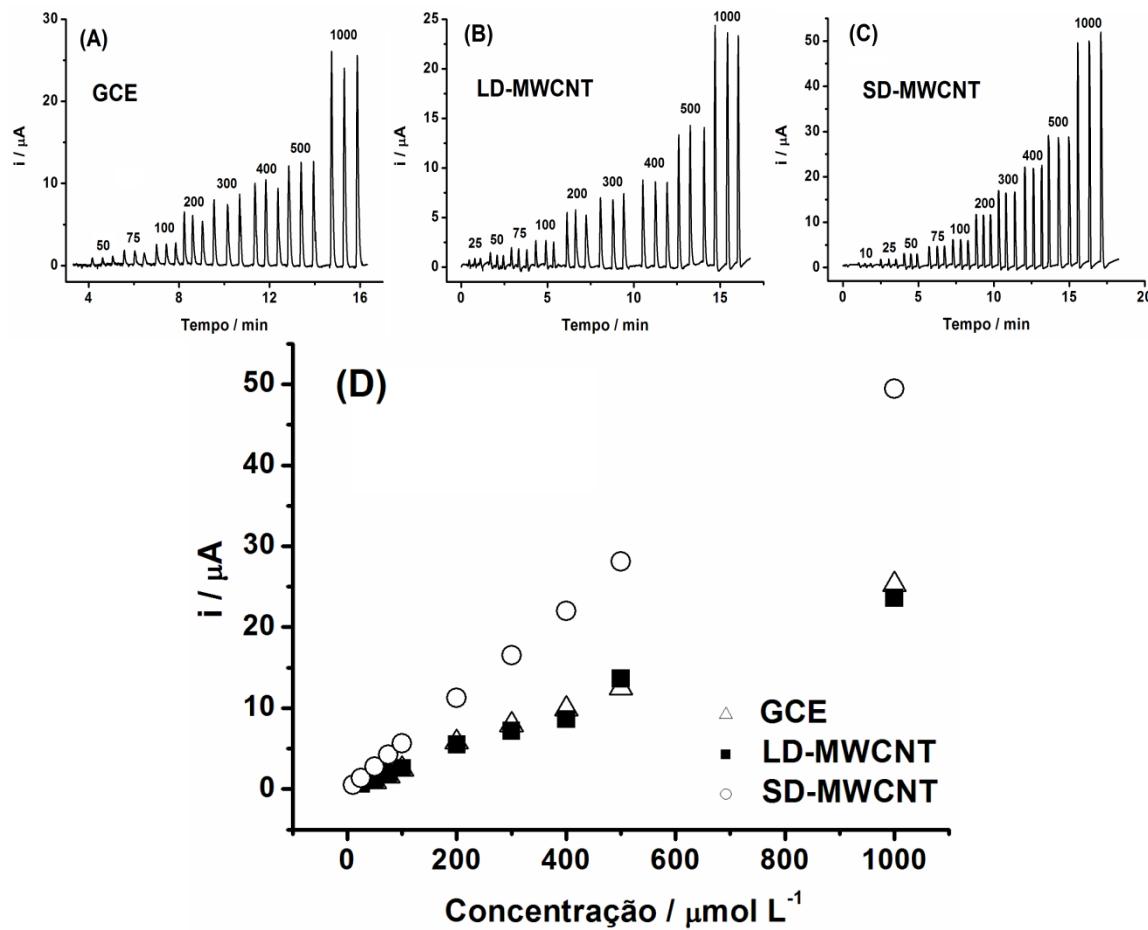


Figura 43. Amperogramas obtidos para injeções de soluções padrão de IBF (10 - 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em: (A) GCE, (B) GCE/LD-MWCNT e (C) GCE/SD-MWCNT. Em (D) segue a respectiva faixa linear de trabalho com os valores de corrente versus a concentração para ambos os eletrodos. Vazão: 3,0 mL min^{-1} ; volume injetado: 300 μL . $E = +1,5$ V.

Tabela 10. Figuras de mérito obtidas na determinação de IBF em GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato.

ELETRODOS	Faixa de trabalho / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Equação da reta de calibração	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	R
<u>GCE</u>	50 - 1000	$i(\mu\text{A}) = 0,0254[\text{IBF}](\mu\text{mol L}^{-1}) - 0,0217$	3,7	0,999
<u>GCE/LD-MWCNT</u>	25 - 1000	$i(\mu\text{A}) = 0,0237[\text{IBF}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 0,2453$	4,0	0,995
<u>GCE/SD-MWCNT</u>	10 - 1000	$i(\mu\text{A}) = 0,0503[\text{IBF}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 0,8061$	1,9	0,998

Nenhum dos eletrodos apresentou efeito de memória para o analito, apresentando amplas faixas lineares de trabalho (até 1 mmol L^{-1}). O GCE/SD-MWCNT apresentou menores desvios entre os picos e uma maior sensibilidade

(aproximadamente duas vezes, indicado pelo coeficiente angular das retas) comparada aos outros eletrodos, pois tanto GCE como GCE/LD-MWCNT apresentam sinais de corrente apenas para valores superiores a $25 \mu\text{mol L}^{-1}$.

O limite de detecção (LD) para todos os eletrodos foram calculados seguindo as normas da IUPAC ($\text{LD} = 3s_B/S$, em que s_B é o desvio padrão do ruído linha base e S é o coeficiente angular da curva analítica).

O eletrodo GCE/SD-MWCNT apresentou melhores resultados (maior sensibilidade e menor potencial de oxidação de IBF) e, assim, foi escolhido para seguir com as análises amperométricas. Foram feitas também injeções sucessivas de solução contendo IBF na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ para analisar a reprodutibilidade e a frequência analítica desses eletrodos em sistema FIA, conforme mostra a Figura 44.

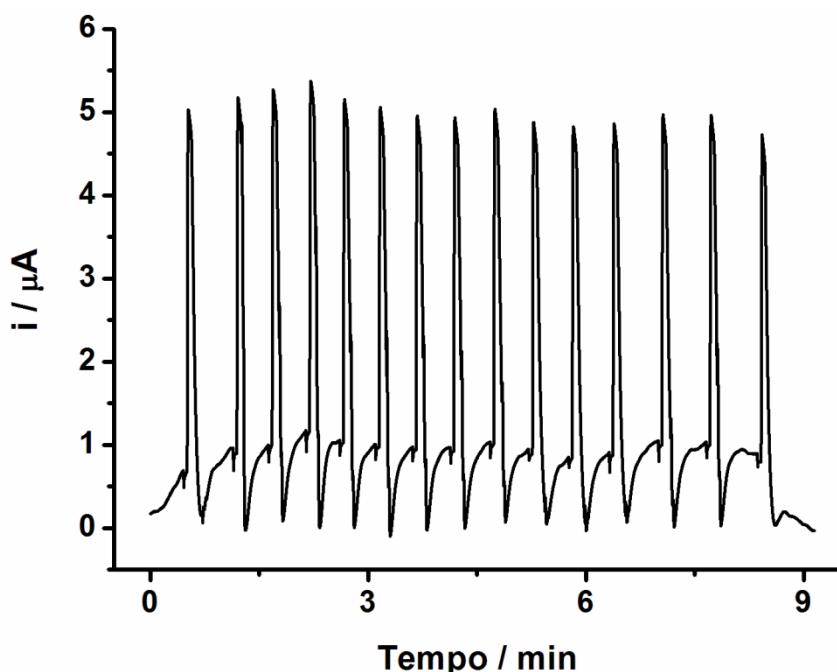


Figura 44. Amperograma obtido para injeções sucessivas ($n = 15$) de solução de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de IBF no sistema FIA com detecção amperométrica em GCE/SD-MWCNT. $E = +1,5 \text{ V}$. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,5). Vazão: $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ e Volume: $300 \mu\text{L}$

Pelos gráficos é possível observar que não houve contaminação do eletrodo durante as análises e baixo RSD foi adquirido, sendo 4,2 %. Uma elevada frequência analítica foi obtida, aproximadamente $100 \text{ injeções h}^{-1}$, o que mostra a possibilidade de realizar inúmeras análises em um dia todo de experimentos sem ter que realizar a

troca do filme de MWCNTs. O método proposto (eletrodos modificados com materiais nanoestruturados acoplado ao sistema FIA) apresenta adequada precisão e sensibilidade para a determinação de IBF em formulações farmacêuticas.

3.9.7. DETERMINAÇÃO DE IBUPROFENO EM AMOSTRAS FARMACÊUTICAS

O método FIA otimizado com detecção amperométrica foi aplicado para determinação de IBF utilizando GCE/SD-MWCNT em formulações farmacêuticas (comprimidos sólidos e amostras líquidas), contendo IBF, adquiridas em drogarias da cidade de Uberlândia. A Figura 45 apresenta uma medição amperométrica neste eletrodo modificado para injeção de soluções padrão de IBF contendo um aumento crescente de concentrações da espécie e injeções de amostras farmacêuticas após o tratamento adequado (A_L e A_S). Inserido na figura segue a respectiva curva de calibração. Para comparação, as amostras foram também analisadas por eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato. Todos os resultados são apresentados na Tabela 11.

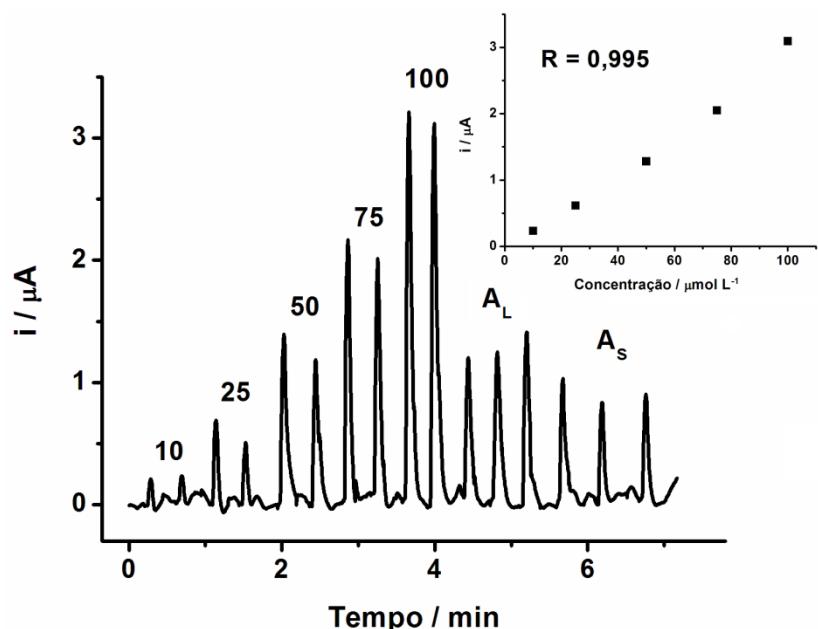


Figura 45. Respostas amperométricas em sistema FIA do GCE/SD-MWCNT para injeções em duplicata de (a) 10, (b) 25, (c), 50, (d), 75, e (e) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de padrões de IBF e duas amostras comerciais (A_L e A_S). A curva de calibração está inserida no gráfico. $E = 1,5$ V. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato (pH 7,5).

Tabela 11. Comparação dos resultados obtidos para determinação de IBF em formulações farmacêuticas por FIA-AMP e CE-C⁴D (n = 3).

Amostras	Analito	Valor do rótulo	FIA-AMP	CE-C ⁴ D
A _S – Comprimidos (mg)	IBF	600	566 ± 43	585 ± 27
A _L – Amostras líquidas (mg mL ⁻¹)	IBF	50	35 ± 4	37 ± 1

Todos os resultados obtidos pelo método proposto estavam de acordo com os obtidos por CE-C⁴D. Considerando um nível de confiança de 95 %, foi calculado o teste de Student e os valores encontrados foram menores que o valor crítico (2,78), considerando grau de liberdade igual a 4, o que indica que não há diferenças significativas entre os resultados.

Essa tese apresenta pela primeira vez a oxidação eletroquímica do IBF usando um eletrodo modificado com MWCNT com detecção amperométrica de potencial constante.

O menor potencial de oxidação e o aumento de corrente em experiências usando voltametria cíclica e amperometria de potencial constante mostram que o GCE/SD-MWCNT apresentou melhores desempenhos e, diferentemente do que foi observado para NPX, os resultados para IBF indicam a ocorrência de eletrocatalise. Com o método proposto é possível analisar e determinar de maneira precisa e exata IBF em amostras farmacêuticas. Além disso, com o uso do sistema FIA essas análises podem ter sofrido menores efeitos de adsorção no eletrodo, pois constantemente o fluxo do sistema renova a superfície do eletrodo com eletrólito, e consequentemente, as espécies de IBF não penetram através dos filmes de MWCNT durante o processo de oxidação eletroquímica.

3.10. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE CLOREXIDINA EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT

3.10.1. VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS COMPARATIVOS DE CLOREXIDINA

A CHX, ao contrário das outras espécies químicas estudadas, apresenta solubilidade em meios ácidos, não sendo solúvel em meios mais alcalinos. Desta forma, foram utilizadas soluções de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 , $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR em diferentes pHs (2; 4; 6 e 8). A solução de HClO_4 apresentou melhores respostas eletroquímicas (baseado na estabilidade e sensibilidade), e para valores maiores de pH há um certo deslocamento de pico e pequeno decréscimo sinal. Desta forma, a solução de $\text{HClO}_4 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi escolhida para todas as análises que envolvem determinação de CHX.

Pela Figura 46 é possível observar as respostas eletroquímicas obtidas em comparação com GCE não modificado, com eletrodo de GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT para adições de CHX. Os dois primeiros ciclos em solução contendo CHX, em cada eletrodo, pela técnica de voltametria cíclica é apresentado.

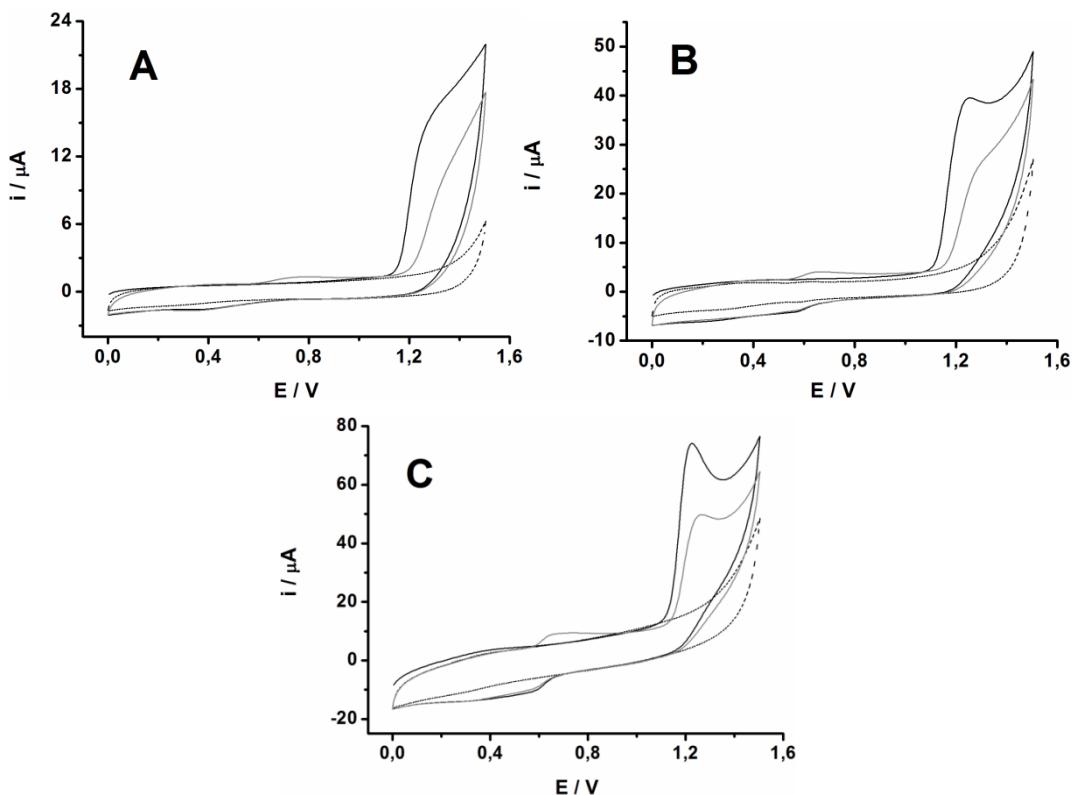


Figura 46. Voltamogramas cíclicos obtidos para adição de 1 mmol L⁻¹ de CHX em (A) GCE, (B) GCE/LD-MWCNT e (C) GCE/SD-MWCNT para (—) 1º, (—) 2º ciclos e os (---) respectivos brancos. Eletrólito suporte: 0,1 mol L⁻¹ de HClO₄. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.

Pelo gráfico é claramente observável que as correntes de pico para GCE/MWCNTs são muito mais elevadas do que aquelas para GCE sem modificação, já que a modificação com MWCNT aumenta a área eletroativa da superfície do eletrodo, como mostrado nesse trabalho de doutorado e também na literatura [239].

Um pico de oxidação irreversível foi observado em 1,28 V no GCE não modificado, com oxidação a partir de aproximadamente 1,1 V (A). O perfil voltamétrico do primeiro ciclo para CHX apresenta um pico de redução em cerca de 0,35 V e o segundo ciclo revela o pico de oxidação em 0,75 V. Este perfil foi também observado para o terceiro e quarto ciclos subsequentes (não mostrado).

No GCE/LD-MWCNT (B) e GCE/SD-MWCNT (C), um pico de oxidação irreversível em 1,22 V, com oxidação se iniciando por volta de 1,1 V, e um aumento da corrente de 3 e 5 vezes para GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT, respectivamente, foram observados. O perfil voltamétrico do primeiro ciclo para a clorexidina apresenta um

pico de redução próximo de 0,35 V e o segundo ciclo revela o pico de oxidação em 0,60 V. Estes picos podem ser explicados pela formação provável de p-cloroanilina (ou algum subproduto com estrutura bastante similar) [124], o qual é um produto de degradação eletrolítica de clorexidina. O composto é altamente tóxico e pode causar a hemólise e metemoglobinemia [124].

3.10.2. MECANISMO DE OXIDAÇÃO DE CLOREXIDINA

O eletrodo de GCE não modificado foi usado para investigar o efeito do pH na oxidação eletroquímica de CHX. A Figura 47 apresenta os respectivos voltamogramas para soluções tampão BR nos diferentes pHs (2,0; 4,0; 6,0 e 8,0) e solução de HClO_4 , contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de clorexidina em cada eletrólito.

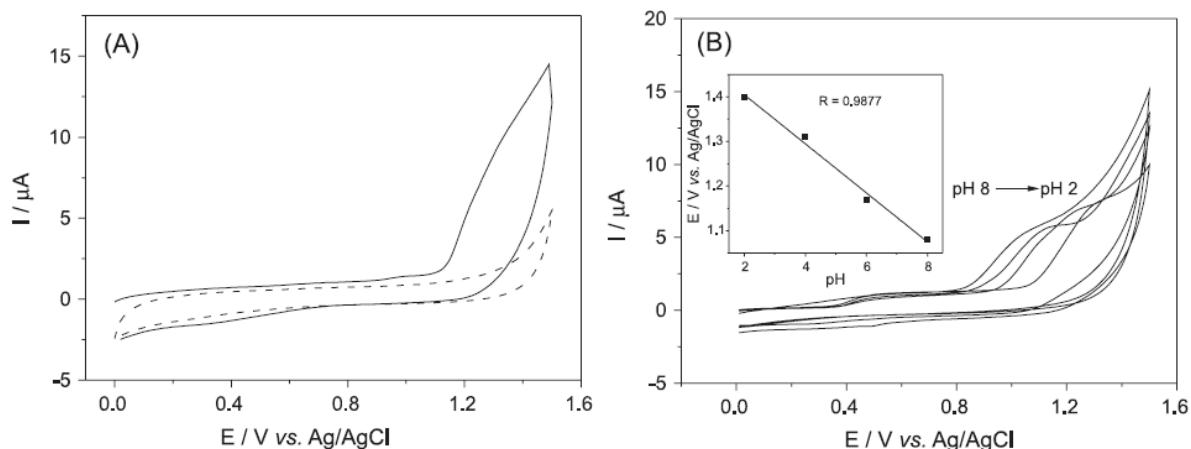


Figure 47. (A) Voltamogramas cíclicos contendo 1 mmol L^{-1} de CHX em 0.1 mol L^{-1} de HClO_4 e (B) em 0.1 mol L^{-1} de solução tampão BR de diferentes valores de pH (2,0; 4,0; 6,0; e 8,0). Inserido em (B) segue um gráfico do potencial vs. pH. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .

Foi realizado um estudo da relação entre o pH e o potencial e os resultados mostram claramente (Figura 47) que, diferente dos outros analitos explorados, o mecanismo da oxidação eletroquímica de CHX é dependente do pH. À medida que o pH foi aumentado, observou-se um deslocamento no potencial de pico para valores de potencial menos positivo. O gráfico do potencial de pico versus os valores de pH apresentou coeficiente angular de 55 mV por unidade de pH, o que indica que o

mesmo número de prótons e elétrons está envolvido no processo de eletro-oxidação. Usando voltametria de onda quadrada [229], o número de elétrons foi calculado em um elétron (considerando $\alpha = 0,5$ para um sistema irreversível). O pKa da clorexidina é 10,78, indicando que este composto existe principalmente sob a forma protonada. Portanto, um próton de um dos quatro grupos amino protonados da molécula pode ser liberado pela oxidação eletroquímica da clorexidina e assim a perda de um elétron pode ser deduzida. Dessa forma, o processo envolve a transferência de um único elétron, possivelmente através da formação de um cátion radical no grupo amino desprotonado. Similarmente, mecanismos envolvendo a formação de cátion radical têm sido demonstrados para a oxidação eletroquímica de cloroanilina e aminas aromáticas [210, 240].

Pode-se observar na Figura 47, que o analito apresenta uma maior corrente de oxidação em meio de ácido perclórico, enquanto que nos testes com tampão BR (pH 2,0; 4,0; 6,0; 8,0) observaram-se efeitos de adsorção do analito contaminando o eletrodo, o que não foi observado em ácido perclórico. O segundo e o terceiro ciclos voltamétricos (não mostrados) apresentam similares perfis aos dos brancos (desaparecimento completo do sinal do analito), principalmente em pHs maiores (especialmente 6 e 8), o que indica uma forte adsorção no GCE. Por esse motivo, para todas as análises utilizou-se da solução de ácido perclórico, sendo que nesta solução, o analito em questão obteve uma corrente de oxidação satisfatória.

Medições amperométricas em soluções tampão BR com diferentes valores de pH (2 a 6) confirmaram os processos de adsorção, de modo que o RSD para injeções sucessivas de $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX foi maior do que 20% em todos os casos (constante diminuição da corrente para repetidas injeções).

3.10.3. ESTUDO AMPEROMÉTRICO DE CLOREXIDINA EM GCE NÃO MODIFICADO

Foi realizado um estudo amperométrico para determinação de CHX em eletrodo de GCE não modificado utilizando sistema BIA, porém nesse sistema havia sempre um decréscimo de sinal a cada injeção do material, indicando adsorção na superfície do eletrodo, mesmo em HClO_4 . Dessa forma, utilizou-se o sistema FIA, visto

que este corresponde a uma análise em fluxo constante e esse fato ajuda a minimizar efeitos de adsorção. Assim, o sistema FIA com detecção amperométrica foi avaliado, tendo em consideração a detecção de CHX sem ocorrência de queda do sinal analítico (adsorção na superfície do eletrodo). O estudo dos potenciais de oxidação da espécie química foi analisado através de um voltamograma hidrodinâmico utilizando amperometria de potencial constante. Uma resposta significativa foi observada para a clorexidina em potenciais iguais ou superiores a 1,3 V (Figura 48). Contudo, a falta de repetibilidade foi verificada nas medidas amperométricas para injeções repetitivas de CHX aplicando potenciais acima de 1,3 V. Portanto, o potencial de 1,3 V foi selecionado para posteriores medições amperométricas embora houvesse uma leve perda de sensibilidade.

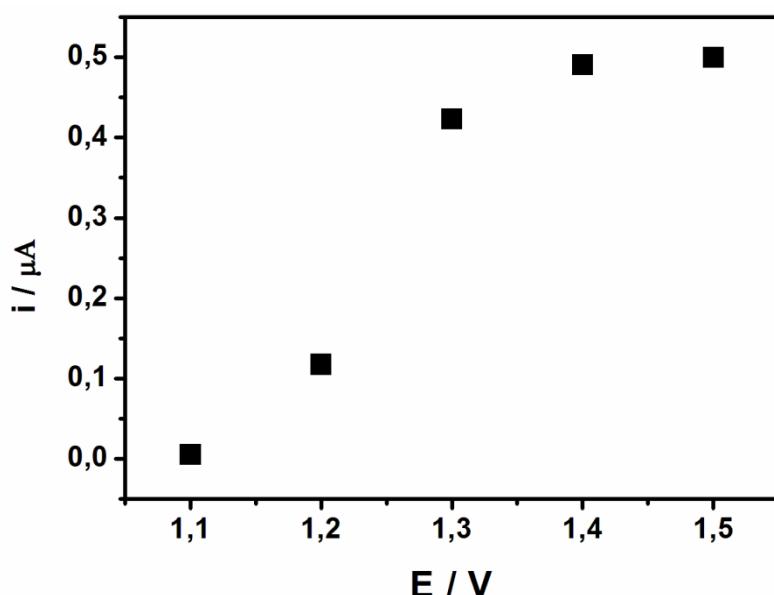


Figura 48. Voltamograma hidrodinâmico obtido para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE. Eletrólito: $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; Volume injetado: $200 \mu\text{L}$; Vazão: 3 mL min^{-1} .

A Figura 49 apresenta um conjunto de 10 injeções sucessivas de $6,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX aplicando 1,3 V (escolhido pelo voltamograma hidrodinâmico). De acordo com a observação da figura, os estudos da repetibilidade resultaram em respostas reproduutíveis, ou seja, os sinais amperométricos obtidos alcançaram valores de corrente semelhantes não havendo adsorção do analito ao eletrodo e isso indica um RSD de 5,1 % para $n = 10$.

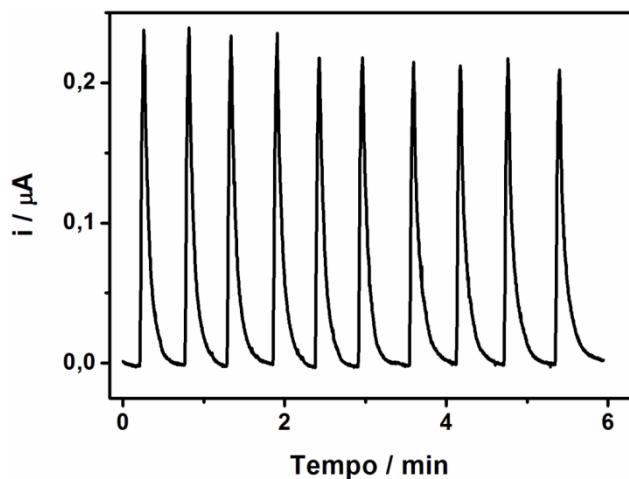


Figura 49. Estudo da repetibilidade por injeções sucessivas de $6,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de clorexidina ($n = 10$). Utilizando solução de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $E = 1,3 \text{ V}$; volume de injeção de $200 \text{ } \mu\text{L}$ e vazão de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$.

3.10.4. OTIMIZAÇÕES DO SISTEMA FIA PARA GCE

Os parâmetros FIA tais como volume injetado (correspondem a diferentes alças de amostragem que são constituídas de tubos de polietileno com comprimentos distintos e mesmos diâmetros) e vazão (controlado por uma bomba peristáltica, foram otimizados). A Figura 50 apresenta a variação de resposta da corrente de CHX em função da (A) vazão e do (B) volume injetado. O comprimento da tubulação entre a injeção da amostra e a célula analítica utilizada foi de 25 cm.

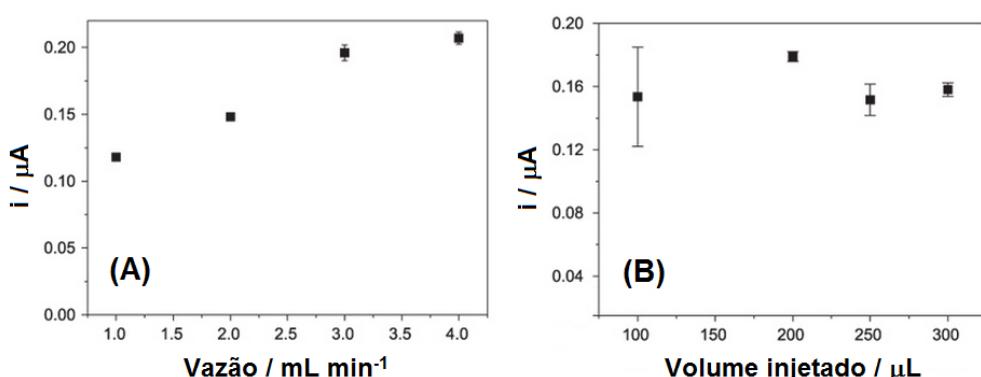


Figura 50. Otimização dos parâmetros FIA: variação de (A) o volume injetado (100, 200, 250 e $300 \text{ } \mu\text{L}$) e de (B) vazão ($1,0, 2,0, 3,0$ e $4,0 \text{ mL min}^{-1}$) com base nas injeções em triplicata de $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HClO_4 .

Uma corrente mais elevada com menor desvio padrão ($n = 3$) foi observada para um volume de injeção de 200 μL de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no sistema de detecção de CHX em sistema FIA (Figura 50A), o qual foi selecionado para as próximas análises amperométricos. A vazão do sistema de FIA (Figura 50B) foi avaliada mantendo-se constante o volume de injeção de 200 μl de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX. Observou-se um aumento linear de corrente para vazão de 1,0 a 3,0 mL min^{-1} e um leve aumento de corrente foi atingido em 4,0 mL min^{-1} , porém nessa vazão há um maior gasto de reagentes e amostras. Consequentemente, as vazões menores não resultam em respostas satisfatórias e fornecem um valor de corrente menor, ou seja, vazões inferiores fornecem picos pouco intensos e largos, devido a uma maior dispersão da zona da amostra na tubulação do sistema FIA e podem resultar em sinais amperométricos com pouca intensidade. A vazão de 3,0 mL min^{-1} foi selecionada para posteriores medições amperométricas.

3.10.5. FAIXA LINEAR DE TRABALHO E DETERMINAÇÃO DE CLOREXIDINA EM AMOSTRAS ANTISSÉPTICAS

A faixa linear de trabalho foi avaliada utilizando as condições otimizadas do FIA. Um comportamento linear com elevado coeficiente de correlação foi verificado entre 1 e 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX. O limite de detecção (LOD) para a determinação de CHX foi calculada de acordo com a IUPAC ($\text{LOD} = 3\text{SB} / S$, em que s_B é o desvio padrão do ruído de linha de base e S é a inclinação da curva analítica, 0,029 $\mu\text{A L mol}^{-1}$). Utilizando a inclinação da curva de calibração (inserido na Figura 51), o limite de detecção foi estimado em 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

As condições otimizadas de potencial e do sistema FIA foram aplicadas para determinação de CHX em duas amostras de enxaguante bucal e uma amostra de antisséptico hospitalar, concentração destas preparadas por diluição (de acordo com o valor rotulado) para 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A resposta amperométrica para injeções de padrões de CHX (curva analítica) e amostras (após diluição) é apresentada na Figura 51. Para

comparação, as amostras foram analisadas também por HPLC. Todos os resultados estão presentes na Tabela 12.

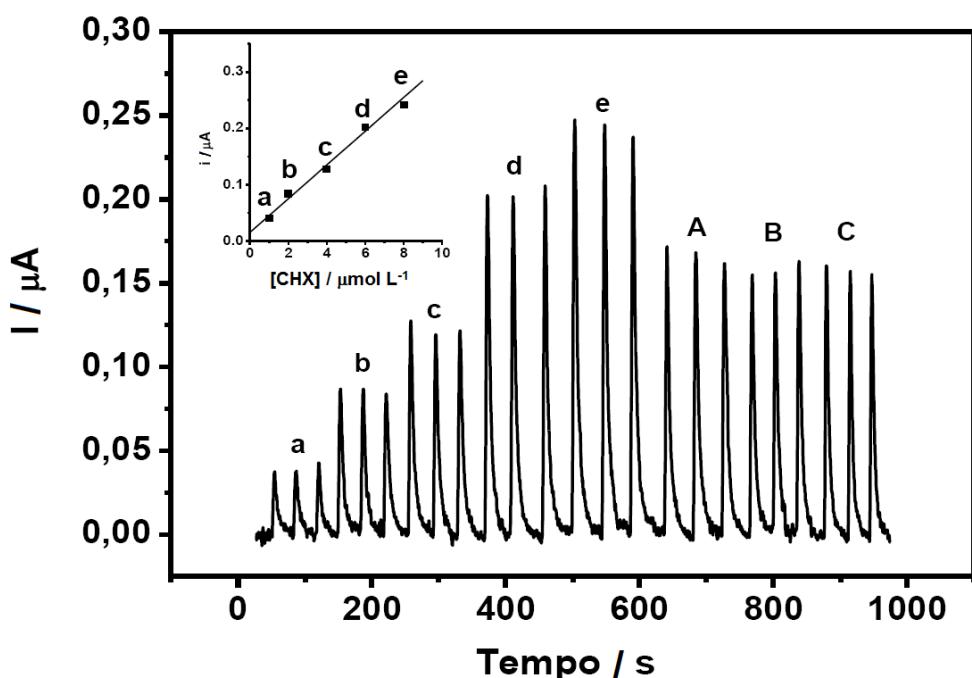


Figura 51. Respostas amperométricas obtidas em sistema FIA para injeções em triplicata de soluções padrão de CHX 1, 2, 4, 6, 8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (a-e). Injeções em triplicata das duas amostras de enxaguante bucal (A e B) e da amostra de antisséptico hospitalar (C). Análises feitas em potencial fixado em 1,3 V, utilizando solução de HClO_4 0,1 mol L^{-1} como eletrólito suporte, volume de injeção 200 μL e vazão de 3,0 mL min^{-1} . Curva de calibração correspondente ($R = 0,99$).

Tabela 12. Concentração (m/v) de CHX em amostras comerciais analisadas pelo método FIA proposto e por HPLC ($n = 3$).

AMOSTRAS	Valor do rótulo / %	FIA / %	HPLC / %
A	0,12	$0,12 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,01$
B	0,12	$0,12 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$
C	2	$1,96 \pm 0,09$	$1,83 \pm 0,09$

Os resultados obtidos pelo método FIA proposto estavam de acordo com os obtidos por HPLC a um nível de confiança de 95% (os valores t calculados a partir do teste t de Student foram menores do que o valor crítico, 2,78, para $n = 4$), atestando a

exatidão do método proposto. Outros compostos contidos nas diferentes amostras comerciais não interferiram na determinação amperométrica de CHX. Além disso, foram realizados testes de recuperação utilizando a amostra B fortificada com uma quantidade conhecida de clorexidina (metade da concentração de seu valor de rótulo). Valores de recuperação de $97 \pm 1\%$ ($n = 3$) foram obtidos, fato este que também atesta a precisão do método proposto e ausência de interferência de matriz da amostra.

3.10.6. INVESTIGAÇÃO DO TRANSPORTE DE MASSA

O efeito da velocidade de varredura para a oxidação de CHX foi investigado em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido perclórico e este estudo foi realizado usando GCE/SD-MWCNT com o objetivo de avaliar a natureza do transporte do material eletroativo para a superfície do eletrodo. A Figura 49 apresenta os valores de corrente vs a velocidade de varredura em uma solução de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 1 mmol L^{-1} de CHX. O gráfico da corrente de pico de oxidação de CHX (de $1,22 \text{ V}$) versus a velocidade de varredura (de 10 a 750 mV s^{-1}) (Figura 52) é linear ($R = 0,999$), o que sugere que o processo de oxidação é controlado por adsorção (difusão em camada fina) devido à natureza porosa da camada do modificador.

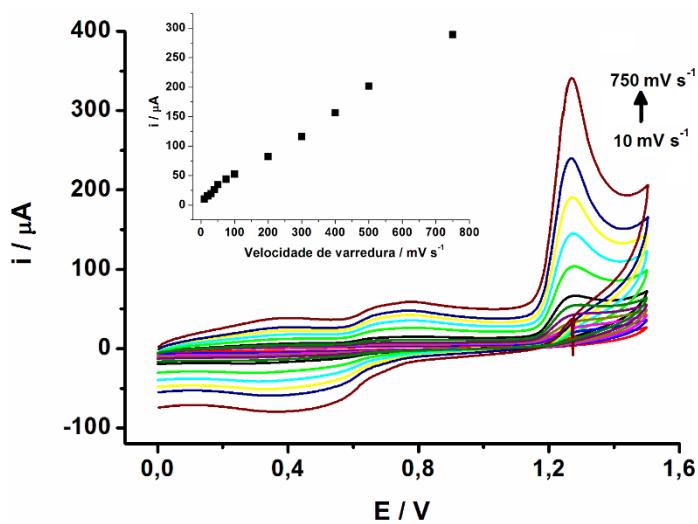


Figura 52. Voltamogramas cíclicos de CHX 1 mmol L^{-1} em HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidades de varredura: $10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500$ e 750 mV s^{-1} . O gráfico da corrente de pico em função da velocidade de varredura está inserido neste voltamograma.

Os dados obtidos sugerem que tanto em baixas como em altas velocidades de varredura o comportamento do transporte de massa é realizado predominantemente por processos adsortivos, visto que a curva plotada entre as correntes de pico da oxidação de CHX (pico máximo de corrente em 1,22 V) versus a velocidade de varredura se apresenta com uma reta ($R > 0,999$). Como já esperado, a curva da corrente máxima versus a raiz da velocidade de varredura (não mostrado) se mostra como uma sigmoide.

3.10.7. ESTUDO HIDRODINÂMICO COMPARATIVO

BIA com detecção amperométrica foi avaliada por determinação CHX em CGE não modificado e GCE/MWCNTs. Um voltamograma hidrodinâmico foi plotado (Figura 53) com base na resposta de corrente obtidas em diferentes potenciais (+0,8 a +1,5 V) aplicados (usando amperometria a corrente constante).

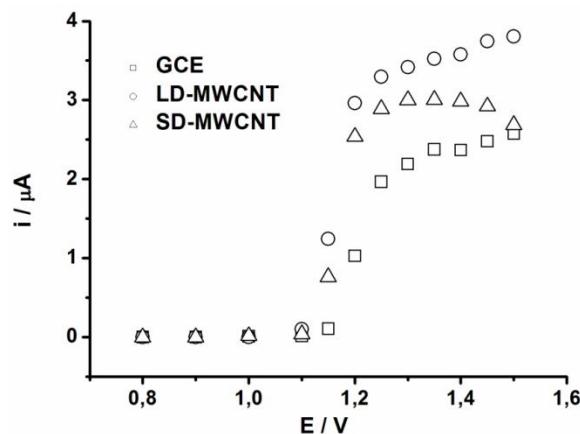


Figura 53. Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE (□), GCE/LD-MWCNT (○) e GCE/SD-MWCNT (Δ). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; Volume injetado: $200 \mu\text{L}$; Velocidade de despejamento: $193 \mu\text{L min}^{-1}$.

A corrente para a oxidação CHX cresce consideravelmente até 1,3 V em todos os eletrodos, que foi selecionado para outras medições amperométricas. Nos eletrodos GCE e GCE/LD-MWCNT, há um ligeiro aumento de corrente até 1,5 V, porém em potenciais maiores, diminui-se a seletividade, pois outras espécies podem se oxidar

juntamente com CHX. No eletrodo GCE/SD-MWCNT houve um decréscimo do sinal de corrente após 1,3 V.

Os três eletrodos apresentaram potencial de oxidação começando em 1,1 V com baixas correntes de oxidação. Em 1,3 V, potencial escolhido para as medidas amperométricas, o eletrodo GCE foi o menos sensível, conforme esperado, e da mesma forma que para os outros analitos estudados, neste trabalho os MWCNTs melhoraram a resposta de CHX. O eletrodo GCE/LD-MWCNT foi o que apresentou maiores correntes, sendo levemente mais sensível que o eletrodo de menor diâmetro GCE/SD-MWCNT. As respostas para GCE/LD-MWCNT foram 1,5 vezes maiores do que as obtidas para GCE não modificado, provavelmente devido a maior área superficial dos MWCNTs.

3.10.8. OTIMIZAÇÕES DO SISTEMA BIA PARA ELETRODO MODIFICADO COM MWCNT

As otimizações do sistema BIA (volume injetado e velocidade de despejamento) foram feitas baseando-se no maior sinal analítico de corrente e os resultados são apresentados na Figura 54 para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX em triplicata. Estas otimizações foram feitas para GCE/SD-MWCNT, e estes resultados desta otimização também serão usados para os outros eletrodos. O gráfico da velocidade de despejamento foi construído de 28 a $257 \mu\text{L s}^{-1}$ e o do volume injetado foi de 25 a 300 μL .

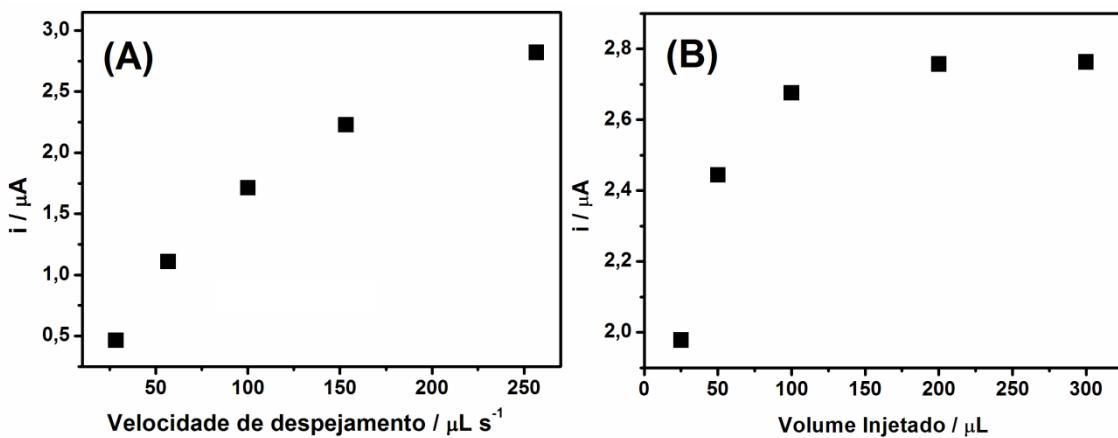


Figura 54. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX para otimização da (A) velocidade de despejamento (28, 57, 100, 153 e $257 \mu\text{L s}^{-1}$) e (B) volume injetado (25, 50, 100, 200 e 300 μL). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 . Em (A) o volume injetado foi de $200 \mu\text{L}$ e em (B) a velocidade de despejamento foi de $193 \mu\text{L s}^{-1}$.

Pelo gráfico, foi adquirida corrente máxima de velocidade de despejamento (Figura 54A) igual a $257 \mu\text{L s}^{-1}$ apresentando boa reprodutibilidade, sendo então escolhida para as posteriores análises. Em velocidades de despejamento inferiores, a corrente detectada é menor, assim como a frequência analítica.

O aumento do volume injetado (Figura 54B) causa um aumento na corrente de oxidação de CHX de forma significante até $100 \mu\text{L}$ e continua crescendo, quase de forma imperceptível, até $300 \mu\text{L}$. Desta maneira, o volume injetado de $100 \mu\text{L}$ foi selecionado com o objetivo de reduzir o consumo de amostras e reagentes, aumentar a frequência de amostragem e minimizar os efeitos de contaminação do eletrodo de trabalho. Para valores menores que $100 \mu\text{L}$, a queda de corrente foi bastante intensa, fato esse que diminuiu a sensibilidade do eletrodo para detecção de CHX.

3.10.9. FAIXA LINEAR E REPETIBILIDADE

A faixa linear de resposta (corrente versus concentração) empregando sistema BIA, já com as condições otimizadas, para GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT foram investigadas. Foram realizadas injeções de soluções contendo concentrações de CHX

com o objetivo de avaliar o limite de corrente que responde proporcionalmente à concentração de CHX. Não foi feito faixa linear de trabalho para GCE não modificado, pois, mesmo em sistema BIA, há adsorção muito intensa do material ou dos produtos dessa oxidação na superfície do eletrodo bloqueando os sítios ativos (Figura 55), ou seja, fica claro que os MWCNTs contribuíram bastante para eliminar esses efeitos de adsorção na superfície do eletrodo utilizando sistema BIA. Os testes em voltametria cíclica mostraram claramente esses feitos adsorptivos, uma vez que o sinal de CHX desapareceu completamente após o terceiro ciclo.

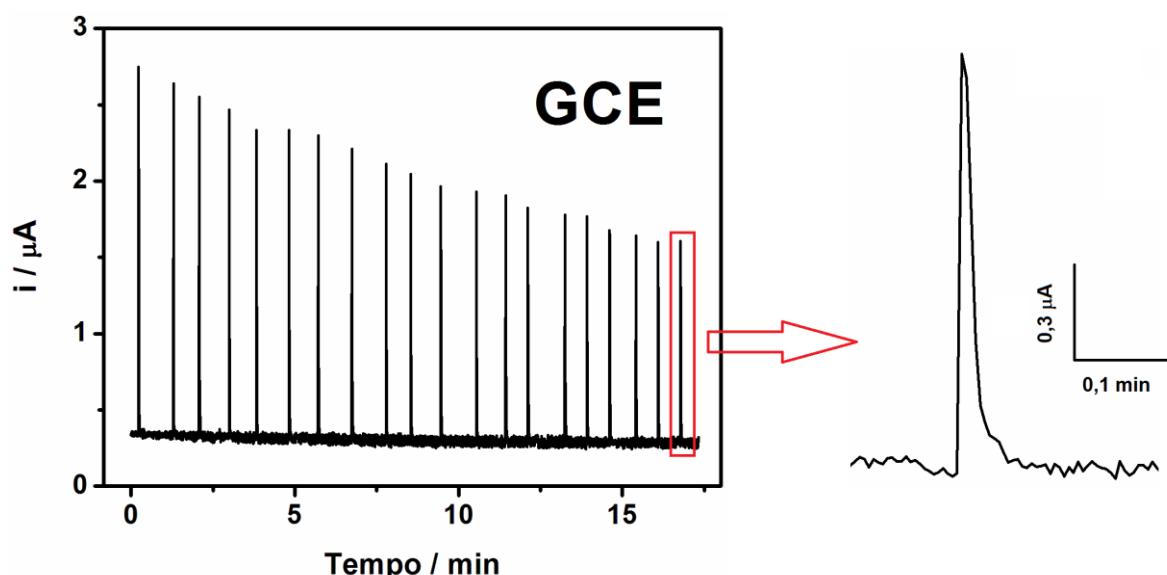


Figura 55. Amperograma obtido para injeções sucessivas de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX. $E = +1,3 \text{ V}$; eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 ; volume injetado: $100 \mu\text{L}$; velocidade de despejamento: $257 \mu\text{L s}^{-1}$. À direita da imagem está inserido o último pico da repetibilidade ampliado para melhor visualização do perfil deste.

Em seguida foi obtida uma curva de calibração linear para GCE/LD-MWCNT de 1 a $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ e para GCE/SD-MWCNT de 1 a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ em um experimento que consistiu avaliar o intervalo de concentração de 1 a $500 \mu\text{mol L}^{-1}$, como mostra a Figura 56. As figuras de mérito das respectivas curvas encontram-se na Tabela 13.

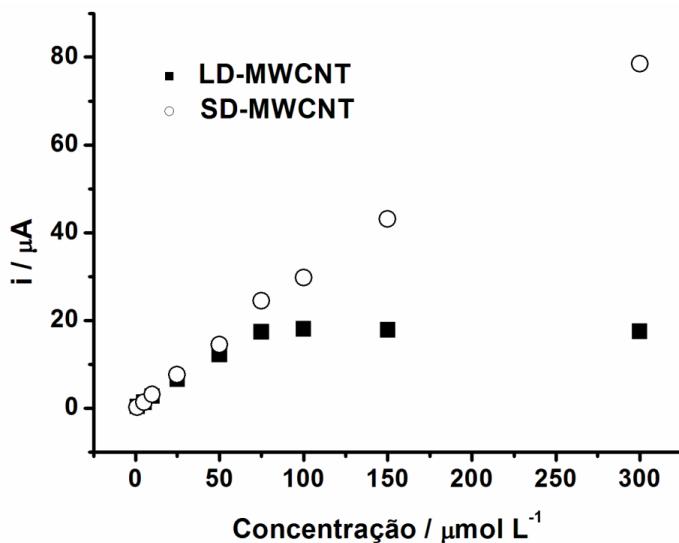


Figura 56. Faixa linear de trabalho em (■) GCE/LD-MWCNT ($R = 0.999$) e (○) GCE/SD-MWCNT ($R = 0.997$) para injeções em triplicata de CHX nas concentrações: 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 ; volume injetado: 100 μL ; velocidade de despejamento: 257 $\mu\text{L s}^{-1}$.

Tabela 13. Figuras de mérito obtidas na determinação de CHX em GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,1 mol L^{-1} de HClO_4 .

ELETRODOS	Faixa de trabalho / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Equação da reta de calibração	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	R
<u>GCE/LD-MWCNT</u>	1 - 75	$i(\mu\text{A}) = 0,2305[\text{CHX}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 0,4103$	0,2	0,999
<u>GCE/SD-MWCNT</u>	1 - 300	$i(\mu\text{A}) = 0,2640[\text{CHX}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 1,5360$	0,2	0,997

O limite de detecção (LD) para todos os eletrodos foram calculados seguindo as normas da IUPAC ($LD = 3s_B/S$, em que s_B é o desvio padrão do ruído linha base e S é o coeficiente angular da curva analítica).

O GCE/SD-MWCNT apresentou menor efeito de memória com uma maior faixa linear de trabalho de 1 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$. No entanto, a sensibilidade dos dois eletrodos foi praticamente a mesma, indicada pelo coeficiente angular das retas.

Foram feitas também injeções sucessivas de solução contendo CHX na concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para analisar a reprodutibilidade e a frequência analítica desses eletrodos em sistema BIA, conforme mostra a Figura 57.

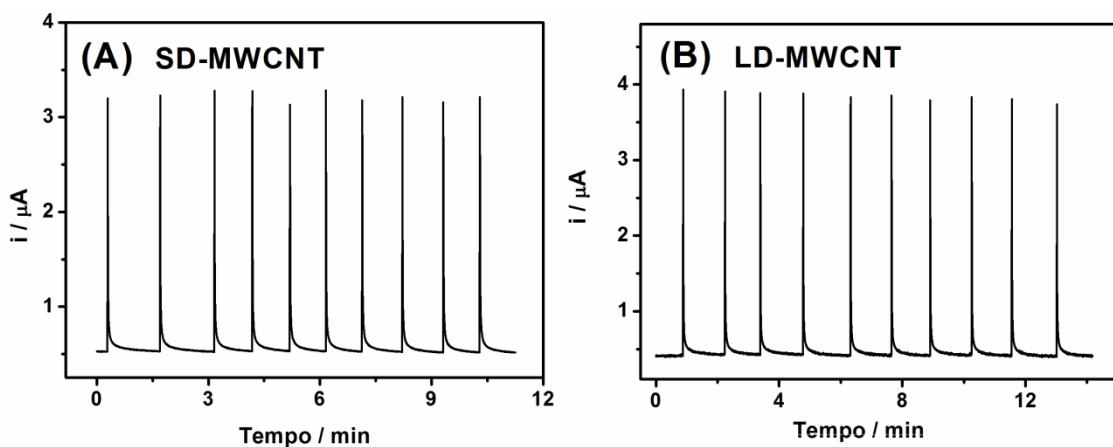


Figura 57. Amperograma obtido para injeções sucessivas ($n = 10$) de solução de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CHX no sistema BIA com detecção amperométrica em (A) GCE/SD-MWCNT e (B) GCE/LD-MWCNT. $E = 1,3$ V. Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 .

Como mostrado acima não houve contaminação do eletrodo durante as análises e baixo RSD foi adquirido, sendo 1,6 % para (A) GCE/LD-MWCNT e 1,8 % para (B) GCE/SD-MWCNT. Uma frequência analítica satisfatória foi obtida, aproximadamente $43 \text{ injeções h}^{-1}$ para GCE/LD-MWCNT e $60 \text{ injeções h}^{-1}$ para GCE/SD-MWCNT, o que mostra a possibilidade de realizar inúmeras análises em um dia completo de experimentos sem ter que realizar a troca do filme de MWCNTs. O método desenvolvido (eletrodos modificados com materiais nanoestruturados acoplado ao sistema BIA) apresenta boa precisão, seletividade e sensibilidade para a determinação de CHX.

Nenhum outro grupo de pesquisa havia desenvolvido um trabalho para determinação eletroquímica de CHX pela sua oxidação. Este trabalho mostra o desenvolvimento de um método em eletrodo puro usando sistema FIA e o seu aperfeiçoamento em sistema BIA utilizando MWCNTs, os quais minimizaram ao máximo os efeitos de adsorção que acontece em GCE não modificado, sendo então impossível usar GCE em sistema BIA, e ainda, foi ampliada a faixa de trabalho que, para o eletrodo não modificado foi de 1 a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, para 1 a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o eletrodo GCE/SD-MWCNT.

3.11. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE 4-CLOROANILINA EM GCE, LD-MWCNT E SD-MWCNT

3.11.1. VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS COMPARATIVOS NA PRESENÇA DE 4-CLA

Inicialmente a solubilidade da 4-CLA foi avaliada em soluções contendo diferentes pHs e a solubilidade desta substância aumenta em meios mais ácidos. O estudo foi feito utilizando $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão BR (Britton-Robinson) em pHs distintos, sendo estes pH 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0. A solução de tampão BR em pH = 2,0 apresentou melhores respostas eletroquímicas (baseado na melhor definição dos picos e sensibilidade), e para valores maiores de pH há um certo deslocamento de pico e pequeno decréscimo sinal. Desta forma, a solução de BR (pH 2,0) foi escolhida para todas as análises que envolvem determinação de 4-CLA.

Pela Figura 58 é possível observar as respostas eletroquímicas obtidas em comparação com GCE não modificado, com eletrodo de GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT para adições de 4-CLA. É registrado o segundo ciclo em solução contendo 4-CLA, pela técnica de voltametria cíclica, comparando a oxidação eletroquímica de 4-CLA em GCE não modificado, em GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Foram realizadas adições de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de 4-CLA em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 2,0).

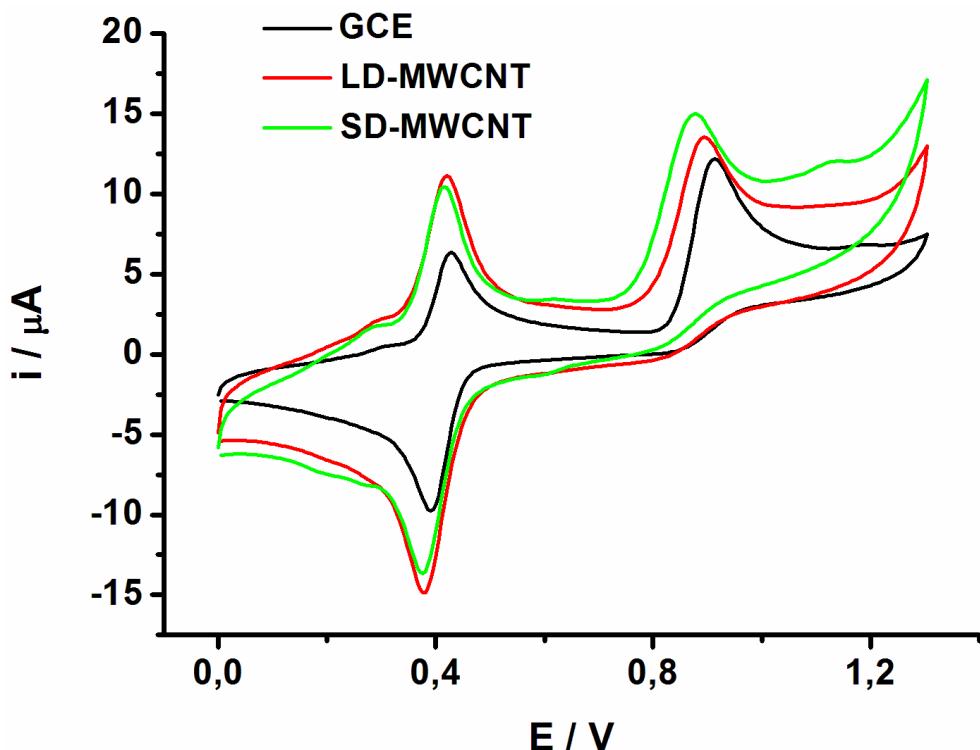


Figura 58. Voltamogramas cíclicos (2º ciclo) para adição de 1 mmol L⁻¹ de 4-CLA em 0,1 mol L⁻¹ de solução de tampão BR (pH 2,0) em eletrodo não modificado (—), LD-MWCNT (—) e SD-MWCNT (—). Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.

Para todos os eletrodos foram observados 3 picos na janela de potencial avaliada, sendo dois picos anódicos e um catódico. É importante ressaltar que o primeiro pico anódico (em 0,4 V) só é formado no segundo ciclo, pois ele é formado após a redução do produto oxidado da 4-CLA. O primeiro pico de oxidação (a partir do segundo ciclo) foi observado em 0,43 V em GCE não modificado, com a oxidação se iniciando em 0,35 V (linha preta na Figura 58). O segundo pico de oxidação irreversível foi registrado em 0,91 V, iniciando-se em 0,81 V. O pico catódico foi adquirido em 0,39 V, com início de redução em 0,47 V.

Em LD-MWCNT (linha vermelha) foi observado para o primeiro pico anódico em 0,42 V, com a oxidação se iniciando em 0,32 V (a partir do 2º ciclo). O segundo pico de oxidação irreversível foi registrado em 0,89 V, começando em 0,73 V. O pico catódico foi adquirido em 0,38 V, com início de redução em 0,50 V.

Para o SD-MWCNT (linha verde), observou-se comportamento semelhante ao LD-MWCNT, com potenciais de pico e valores de corrente próximos. O primeiro pico de oxidação foi registrado em 0,41 V com a oxidação se iniciando em 0,32 V (2º ciclo).

O segundo pico de oxidação irreversível foi observado em 0,87 V, começando em 0,71 V. O pico catódico foi adquirido em 0,38 V, com início de redução em 0,50 V.

Portanto, a resposta eletroquímica para ambos os eletrodos modificados com MWCNTs foram parecidas em termos de sensibilidade e potenciais de pico de oxidação e redução do analito, porém com maior sinal analítico quando comparado ao eletrodo não modificado, apesar dos potenciais de início de oxidação e redução ter sido aproximadamente os mesmos. Isso mostra que os possíveis efeitos eletrocatalíticos dos CNTs não foram tão acentuados para 4-CLA como verificado para os outros analitos.

3.11.2. INVESTIGAÇÃO DO TRANSPORTE DE MASSA

Com a finalidade de avaliar a natureza do transporte do material eletroativo para a superfície do eletrodo, o efeito da velocidade de varredura na oxidação de 4-CLA foi investigado em 0,04 mol L⁻¹ de tampão BR (pH 2,0) e este estudo foi realizado usando GCE/SD-MWCNT, GCE/LD-MWCNT e também com GCE não modificado. Desta forma, a corrente de pico da oxidação de 4-CLA foi plotada vs a velocidade de varredura e também versus a raiz da velocidade de varredura (não mostrados). Como citado anteriormente, em processos em que este último gráfico apresenta um coeficiente de correlação alto (próximo de 1) dizemos que o processo é difusional; da mesma forma que se o primeiro gráfico citado se mostrar com um valor elevado do coeficiente de correlação (aproximadamente 1) dizemos que há um processo eletródico envolvendo espécies imobilizadas/adsorvidas. Para comprovar os resultados, foi feito também o gráfico de log i versus o log v, sendo que para valores de coeficiente angular igual ou próximo de 0,5 correspondem a processos difusoriais e para valores próximos de 1 representam processos que envolvem bloqueamento da superfície do eletrodo com os produtos da oxidação do analito. Os voltamogramas cíclicos para o eletrodo GCE/SD-MWCNT em diferentes velocidades de varredura (10 a 1000 mV s⁻¹) para adição de 1 mmol L⁻¹ de 4-CLA em solução de 0,04 mol L⁻¹ de tampão BR (pH 2,0) são registrados na Figura 59A e os valores do logaritmo da corrente vs o logaritmo da velocidade de varredura também estão registrados na Figura 59B.

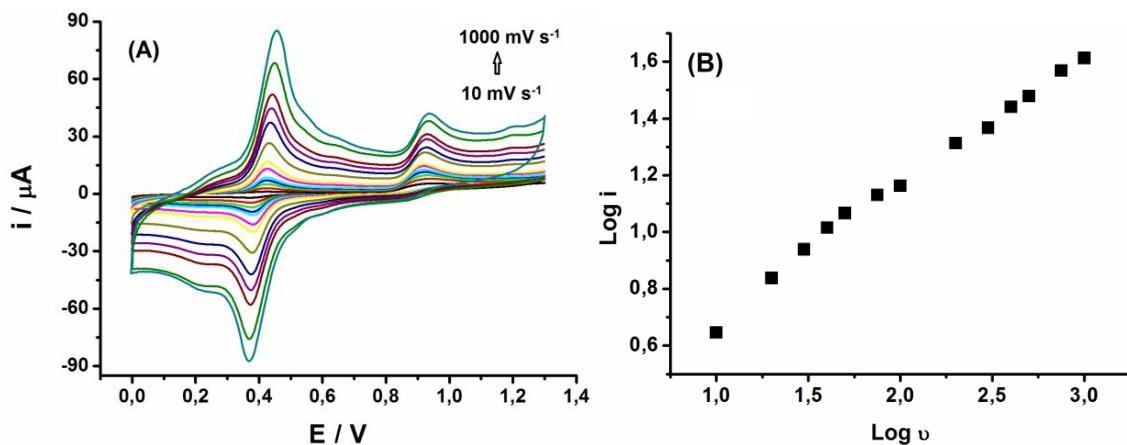


Figura 59. (A) Voltamogramas cíclicos de 4-CLA 1 mmol L^{-1} em solução de tampão BR (pH 2,0) 0,04 mol L^{-1} . Velocidades de varredura: 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750 e 1000 mV s^{-1} . (B) O gráfico do log da corrente de pico ($\sim 0,87$ V) em função do log da velocidade de varredura está à direita dos voltamogramas.

Similar aos resultados adquiridos para o estudo feito com o IBF, em baixas e altas velocidades de varredura na presença de 1 mmol L^{-1} de 4-CLA, tanto para o eletrodo GCE não modificado e GCE/LD-MWCNT (não mostrados), como para o eletrodo GCE/SD-MWCNT (Figura 59), os resultados adquiridos sugerem que o transporte de massa é realizado majoritariamente por processo de difusão, visto que a curva plotada entre o log da corrente de pico da oxidação de 4-CLA versus o log da velocidade de varredura se apresenta com uma reta ($R > 0,996$) apresentando coeficiente angular igual a 0,46. Os valores de corrente de pico foram plotados versus a velocidade de varredura (não mostrado) e, como já esperado, a curva se mostra como uma parábola e quando plotado a corrente de pico versus a raiz quadrada da velocidade de varredura registrou-se uma reta ($R > 0,998$), comprovando a ocorrência do processo difusional. Também foram realizados gráficos para os picos de corrente de oxidação registrados em 0,41 V e os resultados também indicaram processos difusionais, sendo $R = 0,997$ para o gráfico de corrente versus a raiz da velocidade de varredura e parábola para o gráfico de corrente versus a velocidade de varredura.

3.11.3. MECANISMO DE OXIDAÇÃO DE 4-CLOROANILINA

Para investigar a relação entre o pH e as correntes de oxidação de 4-CLA, foram realizados, utilizando GCE/SD-MWCNT, CVs em diferentes valores de pH (de 1 a 10). O estudo foi feito utilizando $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido perclórico (pH 1,0) e $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de soluções tampão BR (pH 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0), como mostra a Figura 60 os respectivos voltamogramas (2º ciclo) contendo $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de 4-CLA em cada eletrólito citado.

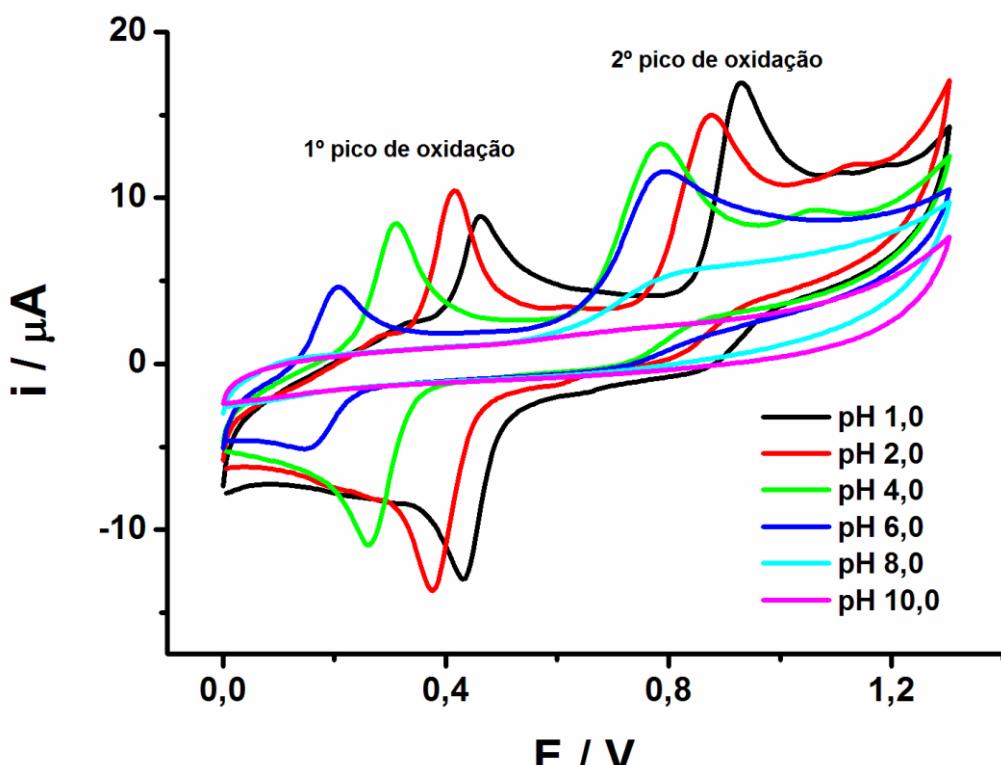


Figura 60. Voltamogramas cíclicos contendo 1 mmol L^{-1} de 4-CLA em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HClO_4 e em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão BR de diferentes valores de pH (2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0). Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} .

Pela Figura 60 é possível observar claramente uma relação dependente entre o processo de oxidação e redução da 4-CLA com o pH do eletrólito utilizado. É importante ressaltar que na Figura 60 estão apresentados os segundos ciclos de cada eletrólito analisado, pois no primeiro ciclo aparece apenas o segundo pico de oxidação (acima de $+0,75 \text{ V}$), e desta forma, consequentemente, a redução desta espécie

oxidada. A partir do segundo ciclo, o primeiro pico de oxidação já pode ser observado devido a oxidação da espécie que foi reduzida anteriormente.

Quanto maior os valores de pH, mais os picos se deslocam para a esquerda (para mais próximo de 0,0 V). Os gráficos dos potenciais dos picos versus os valores de pH para o primeiro pico oxidação (~0,41 V) e para o pico de redução apresentaram valores dos coeficientes angulares, respectivamente, de 52 e 57 mV, em uma faixa de pH de 1,0 a 6,0, o que significa, como citado para CHX, valores encontrados próximos de 59 mV, mostram uma oxidação e redução envolvendo o mesmo número de prótons e elétrons.

O gráfico dos potenciais dos picos versus os valores de pH para o segundo pico de oxidação (~0,87 V) apresentou valor de coeficiente angular igual a 48 mV, valor relativamente próximo do teórico que indica uma oxidação que envolve o mesmo número de prótons e elétrons, sendo dependente do pH apenas na faixa de pH de 1,0 a 4,0. Esta pequena faixa de pH, pode ser explicada pelo pKa da 4-CLA que é igual a 3,98 [241], o que indica que para valores de pH acima de 4 a molécula se encontra na forma desprotonada e abaixo de 4 protonada.

Em trabalho apresentado por Zettersten e colaboradores [210], é proposto um mecanismo de oxidação envolvendo uma dimerização de um cátion radical (produto da oxidação da 4-CLA protonada; 2º pico de oxidação). Em potenciais menores, a forma oxidada deste dímero (DIMoxi) pode sofrer redução na varredura do sentido catódico, se transformando na forma reduzida do dímero (DIMred), e este dímero reduzido, em seguida na varredura anódica, sofre uma oxidação (1º pico de oxidação), como mostra a Figura 61. Este processo foi descrito envolvendo 1 elétron 1 próton.

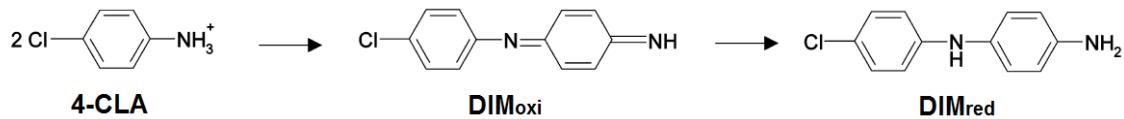


Figura 61. Esquema proposto para a oxidação inicial eletroquímica de 4-CLA em DIMoxi e, em seguida, a redução deste para DIMred [210].

3.11.4. ESTUDO HIDRODINÂMICO COMPARATIVO

Mais uma vez os três eletrodos foram utilizados para a detecção amperométrica em sistema BIA para determinação de 4-CLA. Foram feitas injeções em triplicata usando amperometria de potencial constante (+0,5 V a +1,5 V) baseado na resposta de corrente obtida. O maior sinal de corrente de oxidação de 4-CLA para os eletrodos modificados com CNTs foi observado em 1,4 V e para GCE não modificado foi em 1,5 V (Figura 62A). Porém, é importante ressaltar que esse potencial de trabalho para oxidar a 4-CLA não deve ser muito elevado a ponto de oxidar eletroquimicamente também a CHX, visto que esse composto seria um interferente, já que o objetivo é determinar 4-CLA (produto de degradação tóxico da CHX) em amostras que possuem CHX, mesmo que CHX esteja em concentrações bem maiores. Pensando nisso, a Figura 62B mostra uma comparação entre os voltamogramas hidrodinâmicos de CHX e 4-CLA para o eletrodo de GCE/SD-MWCNT, nas mesmas condições, para escolher um potencial para continuar as análises, sem ter a interferência de CHX.

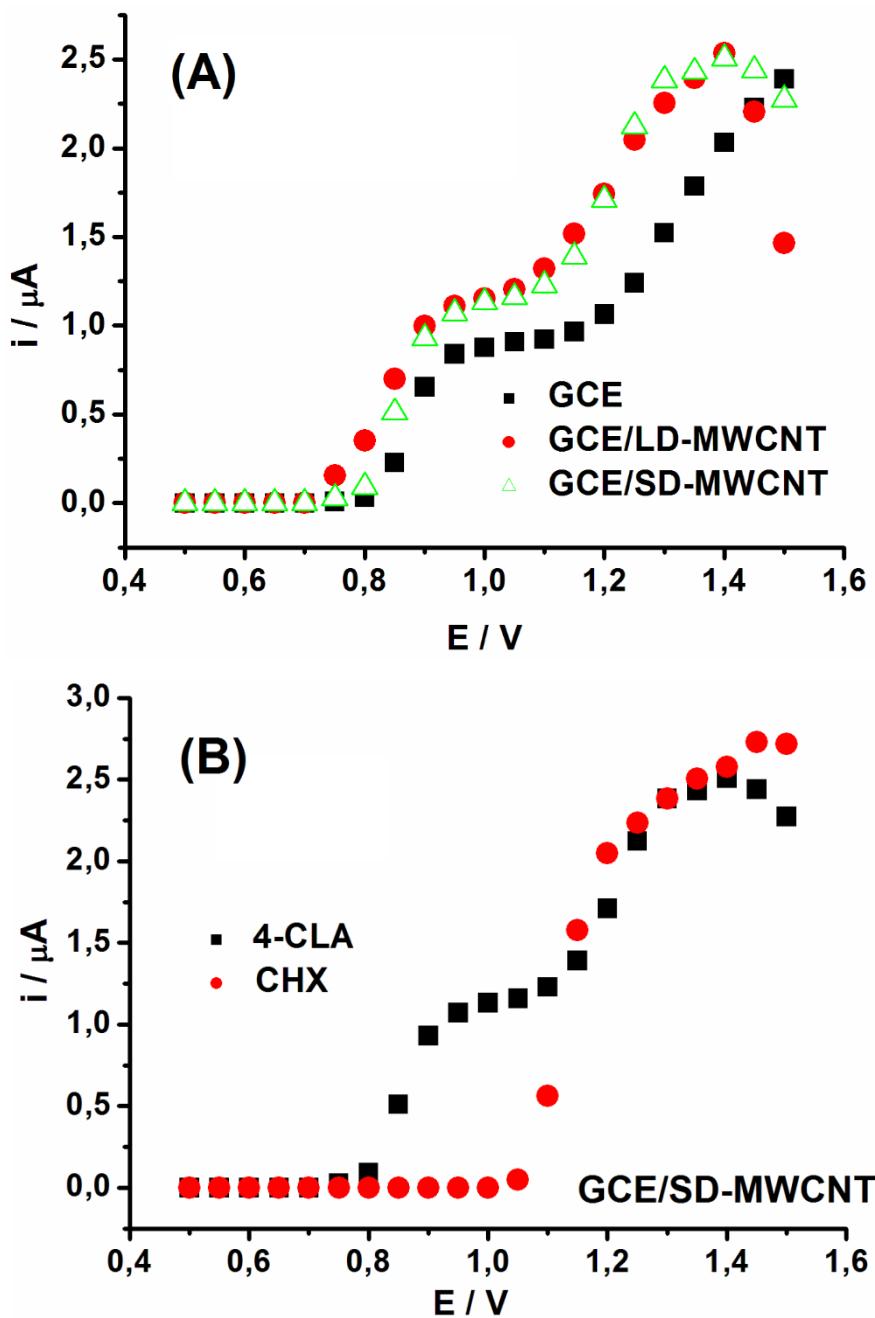


Figura 62. (A) Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA versus a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE (■), GCE/LD-MWCNT (●) e GCE/SD-MWCNT (▲) e (B) voltamogramas hidrodinâmicos obtidos para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA (■) e CHX (●) plotando a corrente detectada ($n = 3$) em função do potencial para GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 2,0); Volume injetado: $100 \mu\text{L}$; Velocidade de despejamento: $153 \mu\text{L min}^{-1}$.

Pela Figura 62A é possível observar que em condições hidrodinâmicas, a corrente de oxidação de 4-CLA em todos os eletrodos começou a aumentar por volta de 0,75 V, apesar de começar maior para GCE/SD-MWCNT e menor em GCE não modificado. Portanto, a presença de MWCNTs em GCE não melhorou significativamente a resposta de 4-CLA como observado para os outros analitos avaliados.

Observando a Figura 62B fica claro que a 4-CLA começa a oxidar antes da CHX nas mesmas condições, 0,75 V para 4-CLA e 1,05 V para CHX, este fato indica que quaisquer potenciais entre estes dois valores podem ser utilizados para determinar apenas 4-CLA, sem interferência de CHX. Para obter melhores respostas em relação à sensibilidade e desvios padrões, o potencial de 1,0 V foi escolhido para as próximas análises amperométricas em potencial constante.

3.11.5. OTIMIZAÇÕES DO SISTEMA BIA PARA ELETRODO MODIFICADO COM MWCNT

As otimizações dos parâmetros do sistema BIA estão relacionadas ao principal instrumento utilizado nas determinações, que é a pipeta eletrônica. As condições de volume injetado e velocidade de despejamento são programadas eletronicamente na própria pipeta eletrônica, e este é o principal instrumento para fazer-se o estudo da velocidade de injeção e do volume injetado. Foram selecionadas cinco velocidades de despejamento para estudo, sendo que as mesmas são selecionadas diretamente na pipeta eletrônica e analisadas separadamente em triplicata por amperometria de potencial constante. Os valores de velocidade de injeção investigados foram 28, 57, 100, 153 e 257 $\mu\text{L s}^{-1}$, já os volume injetados analisados foram 10, 20, 50, 100 e 200 μL e ambas as otimizações avaliadas em função da resposta amperométrica do analito. As Figuras 63A e 63B mostram, respectivamente, os resultados obtidos pelo estudo da velocidade de despejamento e volume injetado, indicando a média de corrente obtida para cada triplicata. Esses resultados apresentados foram realizados para GCE/SD-MWCNT, porém os resultados para os outros eletrodos foram similares.

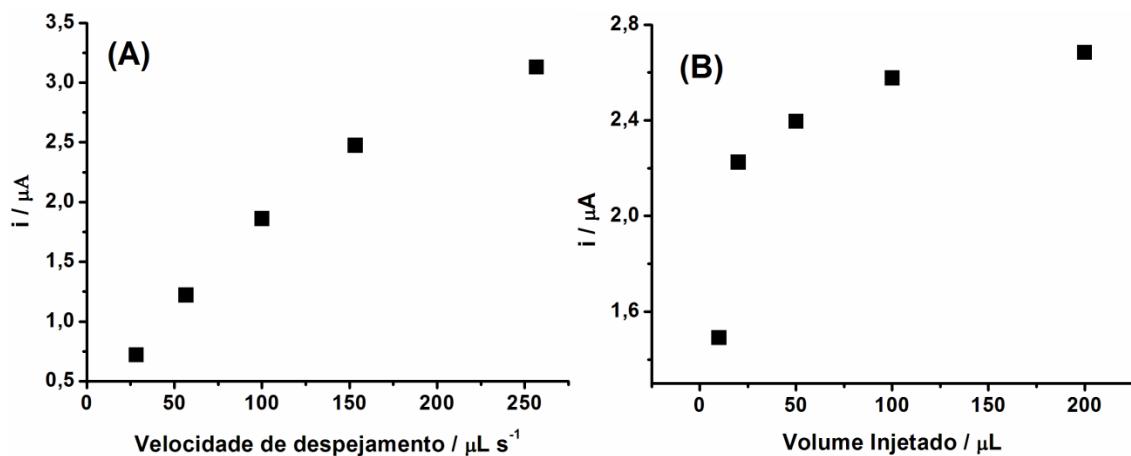


Figura 63. Valores de corrente em triplicata dos amperogramas obtidos para injeções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA para otimização da (A) velocidade de despejamento (28, 57, 100, 153 e $257 \mu\text{L s}^{-1}$) e (B) volume injetado (10, 20, 50, 100 e $200 \mu\text{L}$). Eletrólito: $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 2,0). Em (A) o volume injetado foi de $100 \mu\text{L}$ e em (B) a velocidade de despejamento foi de $153 \mu\text{L s}^{-1}$.

Pelo gráfico, foi adquirida corrente máxima de velocidade de despejamento (Figura 63A) igual a $257 \mu\text{L s}^{-1}$, porém este gráfico se mostra linear até $153 \mu\text{L s}^{-1}$ e para maiores valores há uma perda de reproduzibilidade, sendo então $153 \mu\text{L s}^{-1}$ escolhida para as posteriores análises. Em velocidades de despejamento inferiores, a corrente detectada é menor, assim como a frequência analítica.

O aumento do volume injetado (Figura 63B) causa um aumento na corrente de oxidação de 4-CLA de forma significante até $50 \mu\text{L}$ e com baixos desvios entre cada injeção, acima deste valor a corrente aumenta de forma insignificante e estabilidade dos sinais diminui. Desta maneira, com o objetivo de consumir menos reagentes, obter respostas mais rápidas com menores efeitos de contaminação do eletrodo de trabalho o volume injetado de $50 \mu\text{L}$ foi selecionado.

3.11.6. FAIXA LINEAR E REPETIBILIDADE

Posteriormente às otimizações realizadas para velocidade de despejamento e volume injetado, foram feitos testes de repetibilidade e faixa linear, inicialmente, para o GCE não modificado. Este teste foi realizado com uma série de injeções de 50 μL , utilizando solução padrão contendo 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-cloroanilina na presença de 1,0 mmol L^{-1} de clorexidina em solução tampão BR (pH 2,0), mantendo o potencial fixo em 1,0 V (escolhido pelo voltamograma hidrodinâmico). O objetivo de injetar altas concentrações de CHX junto com os padrões de 4-CLA é exatamente para simular futuras amostras reais, que deverão conter uma quantidade de CHX bem maior que de 4-CLA, visto que 4-CLA é um produto de degradação de CHX e obter respostas amperométricas satisfatórias para o analito em questão. A Figura 64 exibe os resultados do estudo da repetibilidade e da faixa linear crescente e decrescente para injeções de 4-CLA até 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

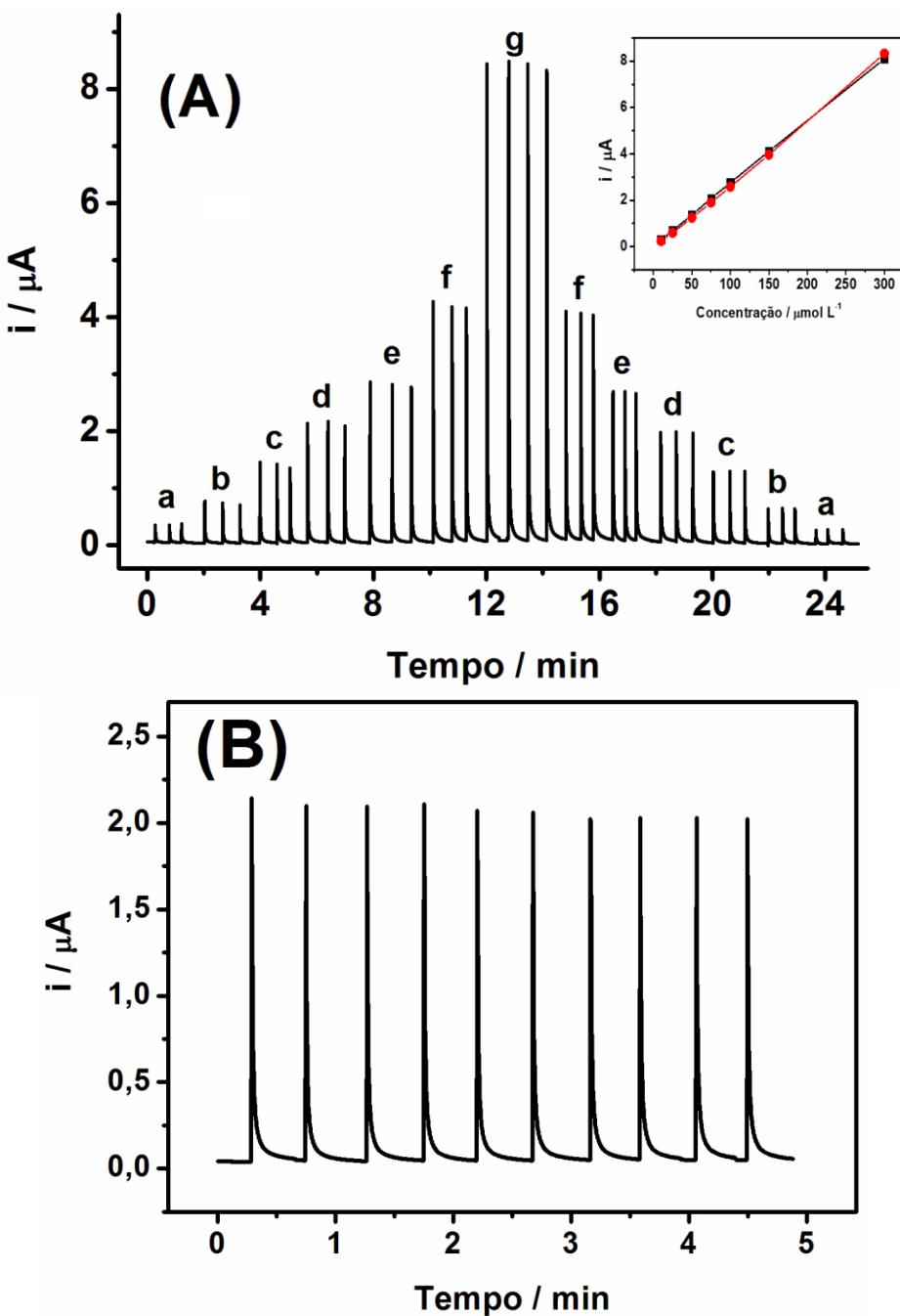


Figura 64. (A) Respostas amperométricas obtidas em sistema BIA para injeções em triplicata de soluções padrão de 4-CLA (a-g) 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$, na presença de 1,0 mmol L^{-1} de CHX. As curvas de calibração inseridas nesta figura correspondem às curvas crescente (■) e decrescente (●) e (B) Estudo da repetibilidade por injeções sucessivas de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA na presença de 1,0 mmol L^{-1} de CHX ($n = 10$). Eletrólito: 0,04 mol L^{-1} de solução tampão BR pH 2,0; $E = +1,0$ V; volume injetado de 50 μL e velocidade de despejamento de 153 $\mu\text{L s}^{-1}$.

Como pode ser observada na Figura 64A, a injeção das soluções padrão resultou em respostas amperométricas com boa magnitude, sendo que todos os padrões analisados continham uma grande quantidade de CHX ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$), o qual não interferiu nos sinais de oxidação de 4-CLA. Além de que o método de análise em questão apresentou vantagens como uma elevada frequência analítica (96 injeções h^{-1}). De acordo com a observação da Figura 64B, os estudos da repetibilidade resultaram em respostas reproduutíveis, ou seja, os sinais amperométricos obtidos alcançaram valores de corrente semelhantes não havendo adsorção do analito no eletrodo e isso indica um baixo RSD de 2,20 % para $n = 10$.

Desta maneira, os eletrodos modificados com CNTs também foram utilizados e uma faixa linear de trabalho para cada um foi avaliada (Figura 65). Outra faixa de linear de trabalho foi realizada para GCE não modificada até concentração maior igual a 1 mmol L^{-1} , visto que na Figura 64A é possível observar que até $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ as respostas de corrente se mostram proporcionais às concentrações dos padrões de 4-CLA. A partir deste experimento foi obtida uma curva de calibração linear para GCE de 1 a $1000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, para GCE/LD-MWCNT de 1 a $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e para GCE/SD-MWCNT de 1 a $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em um experimento que consistiu em um intervalo de concentração de 1 a $1000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, como mostra a Figura 65. As figuras de mérito das respectivas curvas encontram-se na Tabela 14.

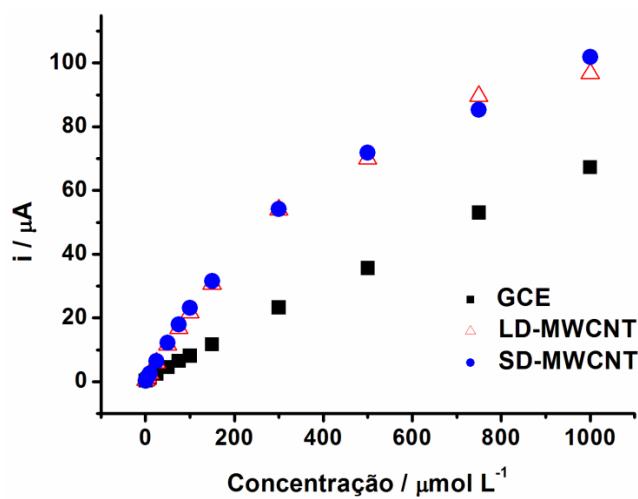


Figura 65. Faixa linear de trabalho com os valores de corrente versus a concentração injetada em triplicata de 4-CLA (1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 150; 300; 500; 750 e $1000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) para GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Volume injetado = $50 \text{ } \mu\text{L}$ e velocidade de despejamento = $153 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$. $E = +1,0 \text{ V}$.

Tabela 14. Figuras de mérito obtidas na determinação de 4-CLA em GCE, GCE/LD-MWCNT e GCE/SD-MWCNT. Eletrólito: 0,04 mol L⁻¹ de tampão BR (pH 2,0).

ELETRODOS	Faixa de trabalho	Equação da reta de calibração	LD /	R
	/ $\mu\text{mol L}^{-1}$		$\mu\text{mol L}^{-1}$	
<u>GCE</u>	1 - 1000	$i(\mu\text{A}) = 0,0678[4\text{-CLA}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 1,1323$	0,06	0,999
<u>GCE/LD-MWCNT</u>	1 - 300	$i(\mu\text{A}) = 0,1805[4\text{-CLA}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 1,7374$	0,02	0,996
<u>GCE/SD-MWCNT</u>	1 - 300	$i(\mu\text{A}) = 0,1820[4\text{-CLA}](\mu\text{mol L}^{-1}) + 2,1443$	0,02	0,993

Diferentemente dos resultados observados para os outros analitos, no caso de 4-CLA a utilização dos CNTs apresentou efeitos adsortivos a partir de 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e para o GCE não modificado aprese sentou faixa linear de trabalho até 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, porém a sensibilidade para os eletrodos modificados foi maior (aproximadamente 3 vezes) comparada ao GCE não modificado. Todos os eletrodos apresentaram sinais de corrente para injeções a partir de 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e os eletrodos modificados com CNTs apresentaram respostas bastante similares.

Apesar de apresentar uma menor faixa de trabalho em relação ao GCE não modificado, o eletrodo GCE/SD-MWCNT apresentou maior sensibilidade, e para este trabalho esse fator é mais importante, pois como a 4-CLA deve ser encontrada em menores concentrações nas amostras que contém CHX, devido à sua degradação, não é necessário ampla faixa linear de resposta e sim eletrodo mais sensível ao analito.

Desta forma, GCE/SD-MWCNT foi utilizado para as análises amperométricas envolvendo a determinação de 4-CLA na presença de CHX e também nos testes em que foram utilizadas amostras reais. Foram feitas também injeções sucessivas ($n = 15$) de solução contendo 4-CLA na concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para analisar a reprodutibilidade e a frequência analítica desse eletrodo em sistema BIA conforme mostra a Figura 66A, além disso, também foi feito um teste de seletividade (Figura 66B) mostrando a possibilidade de determinar simultaneamente CHX e 4-CLA utilizando MPA, com injeções de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura e de cada analito separadamente.

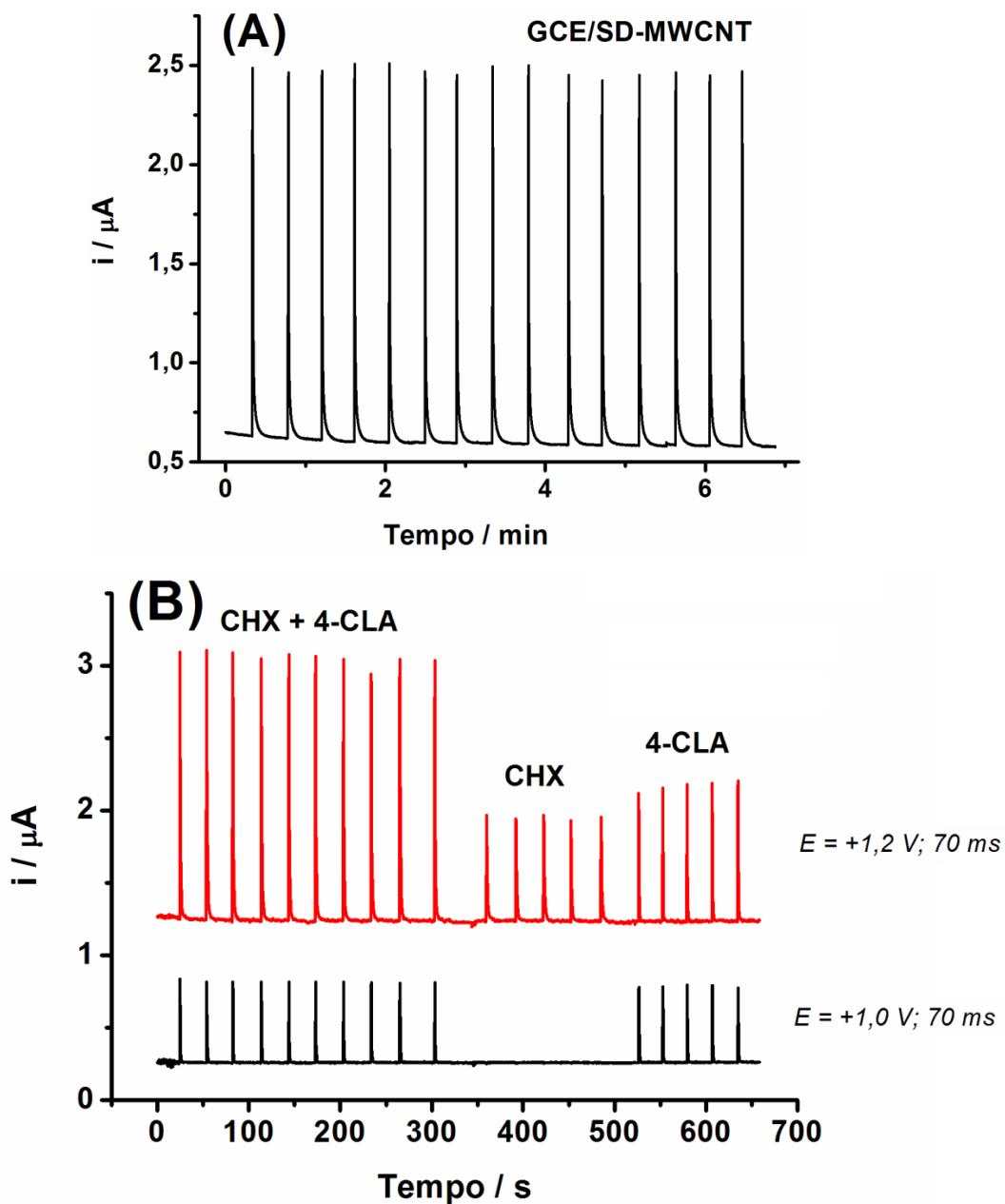


Figura 66. (A) Estudo da repetibilidade por injeções sucessivas de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de CHX ($n = 15$) em $E = +1,0 \text{ V}$. (B) Amperogramas de múltiplos pulsos com 10 injeções sucessivas de solução contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ da mistura de 4-CLA e CHX, 5 injeções de solução contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ CHX e 5 injeções de solução com $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA. O amperograma de limpeza igual a $+0,8 \text{ V} / 100 \text{ ms}$ não foi apresentado. Eletrólito: $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão BR pH 2,0; volume injetado de $50 \mu\text{L}$ e velocidade de despejamento de $153 \mu\text{L s}^{-1}$.

Como registrado na Figura 66A, A repetibilidade apresentada demonstra uma boa reproducibilidade com baixos desvios para o analito, sendo possível a análise de

várias amostras de 4-CLA com presença de CHX sem perda no sinal analítico igualmente para o GCE não modificado. Os valores de RSD encontrado e a frequência analítica para 4-CLA, foram respectivamente: 1,2% e 130 injeções/h.

A Figura 66B mostra a possibilidade de determinar simultaneamente ambos os compostos (CHX e 4-CLA), e para essa determinação simultânea foi necessário utilizar a técnica MPA para aplicar mais de um pulso de potencial. Para a oxidação de 4-CLA, já foi estudado anteriormente o melhor potencial sem interferência de CHX e escolhido em +1,0 V durante 70 ms. Pelo voltamograma hidrodinâmico da CHX (Figura 62B) o potencial de +1,2 V foi selecionado para oxidação de CHX, e consequentemente oxidação também de 4-CLA. O potencial de +0,8 V durante 100 ms foi escolhido para realizar a limpeza do eletrodo, promovendo a dessorção de produtos de oxidação dos analitos avaliados. O RSD para a mistura em 1,2 V foi igual a 2,4 %, mostrando a boa reprodutibilidade do método apresentado.

Foram então selecionados +1,0 V (oxidação de 4-CLA) durante 70 ms, +1,2 V (oxidação de 4-CLA + CHX) durante 70 ms, e +0,8 V (potencial de limpeza) durante 100 ms. Os tempos de cada pulso foram otimizados (não apresentados). Como no potencial de +1,2 V as duas espécies são oxidadas é necessário criar um fator de correção para determinar a quantidade exata de CHX, pois a corrente de 4-CLA em +1,0 V é diferente da corrente obtida para 4-CLA em +1,2 V, como segue a equação abaixo:

$$FC = i_{\text{4-CLA em } 1,2\text{ V}} / i_{\text{4-CLA em } 1,0\text{ V}}$$

$$I_{\text{CHX}} = i_{+1,2\text{ V}} - (FC \times i_{+1,0\text{ V}})$$

No entanto, como a quantidade de CHX nas amostras são bem maiores que a quantidade de 4-CLA, a determinação simultânea, neste caso, fica complicada devido à diferença enorme que seria observada nos sinais analíticos e, por conseguinte, para a determinação de 4-CLA nas amostras reais, que serão apresentadas a seguir, foi utilizada a técnica de amperometria convencional de potencial constante, determinando apenas 4-CLA, que é o analito de interesse.

3.11.7. DETERMINAÇÃO DE 4-CLOROANILINA EM AMOSTRAS ANTISSÉPTICAS

O método BIA otimizado com detecção amperométrica foi aplicado para determinação de 4-CLA utilizando GCE/SD-MWCNT em amostras antissépticas adquiridas em drogarias da cidade de Uberlândia, sendo duas amostras de enxaguante bucal e uma amostra médica, todas contendo CHX descritas no rótulo, e ainda, um padrão líquido de digluconato de clorexidina estocado por mais de 2 anos no laboratório de análise. Essas amostras possuem descritas no rótulo que possuem o composto CHX e a sua quantidade, porém nada descrevem sobre 4-CLA, o qual é um produto tóxico de degradação de CHX, que não deveria estar presente em nenhuma amostra analisada. As quatro amostras analisadas são descritas abaixo e foram comparadas por espectrometria de massas (CE-MS), com a colaboração do grupo de pesquisa da Universidade de São Paulo - USP.

Amostra 1 (A1) – Amostra de enxaguante bucal em recipiente plástico transparente contendo CHX na concentração descrita pelo de rótulo de 0,12 %. Foi feita uma diluição de 20 vezes.

Amostra 2 (A2) – Amostra médica em recipiente plástico da cor branca contendo CHX na concentração descrita pelo de rótulo de 2,00 %. Foi feita uma diluição de 40 vezes.

Amostra 3 (A3) – Amostra de enxaguante bucal em recipiente plástico marrom (sem passagem de luz) contendo CHX na concentração descrita no rótulo de 0,12 %. Foi feita uma diluição de 20 vezes.

Amostra 4 (A4) – Padrão líquido de digluconato de clorexidina, estocado em vidro ambar durante 2 anos, na concentração descrita no rótulo de 20 %. Foi feita uma diluição de 400 vezes.

Figura 67 apresenta uma medição amperométrica neste eletrodo modificado para injeção de soluções padrão de 4-CLA (1 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) contendo um aumento crescente de concentrações da espécie e injeções das quatro amostras (A1 a A4). Inserido na figura segue a respectiva curva de calibração. Para comparação, as amostras foram também analisadas por CE-MS. Todos os resultados são apresentados na Tabela 15.

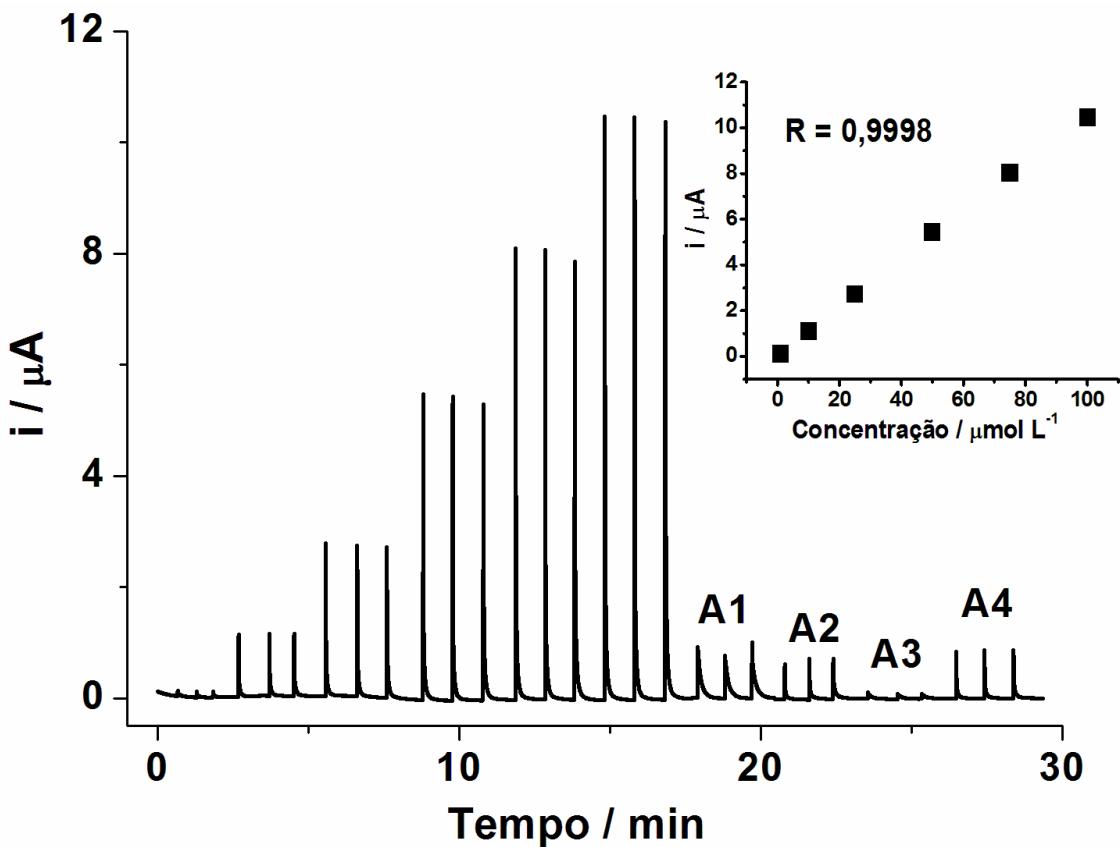


Figura 67. Respostas amperométricas em sistema BIA do GCE/SD-MWCNT para injeções em triplicata de 1, 10, 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de padrões de 4-CLA e quatro amostras, sendo A1, A2 e A3 comerciais e A4 padrão estocado. A curva de calibração está inserida no gráfico. $E = 1,0$ V. Eletrólito: 0,04 mol L^{-1} de tampão BR (pH 2,0).

Tabela 15. Comparação dos resultados obtidos para determinação de 4-CLA em amostras antissépticas e padrão estocado por BIA-AMP e CE-MS ($n = 3$).

	BIA-AMP / μM	SD	RSD	CE-MS / μM	SD	RSD
A1	157	± 22	14,2 %	145	± 40	27,6%
A2	235	± 18	8,0 %	235	± 7	3,3%
A3	4	± 2	54,1 %	< DL	--	--
A4	2872	± 110	3,8 %	2800	± 33	1,2%

É importante destacar que este valor encontrado para a amostra 4 não corresponde aos picos da Figura 67, pois o valor encontrado para esta curva foi de 2978 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com SD igual a $\pm 59,6$ e RSD igual a 2,0 %, porém como o padrão preparado para ser injetado na curva ficou em ambiente com presença de luz parado durante algum tempo pode ter causado esse aumento na concentração encontrada,

então, uma nova curva (não mostrado) foi realizada com outro padrão preparado no momento da curva, novamente diluído 400 vezes, e então o valor obtido dessa nova curva é o que consta na Tabela 15, para as outras amostras os valores indicados na tabela são os que foram registrados pela Figura 67.

Todos os resultados obtidos pelo método proposto estavam de acordo com os obtidos por CE-MS. A confiabilidade do método foi realizada calculando o teste t de Student, considerando um nível de confiança de 95 %, e os valores encontrados foram menores que o valor crítico (2,78), considerando grau de liberdade igual a 4, o que indica que não há diferenças significativas entre os resultados.

Essa tese apresenta pela primeira vez a oxidação eletroquímica de 4-CLA usando um eletrodo modificado com MWCNT com detecção amperométrica de potencial constante e ainda sua determinação em amostras que possuem CHX, indicando a presença de 4-CLA, produto de degradação de CHX que pode causar vários riscos à saúde se ingerido em altas concentrações. Além disso, a possibilidade de determinação simultânea de CHX e 4-CLA foi apresentada pela primeira vez por métodos eletroquímicos.

Pequenos deslocamentos para potenciais mais próximos de zero e aumento considerável de corrente foram observados para os eletrodos modificados com MWCNTs na determinação de 4-CLA utilizando CV e amperometria de potencial constante. Com o método proposto é possível analisar e determinar de maneira precisa e exata amostras farmacêuticas que contenham 4-CLA, mesmo que em pequenas concentrações.

3 CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou a potencialidade dos nanotubos de carbono de diferentes diâmetros para utilização em sensores eletroquímicos acoplados às técnicas BIA e FIA com detecção amperométrica no desenvolvimento de métodos de análise de rotina, principalmente para análises de produtos farmacêuticos. De maneira geral, os resultados obtidos com os nanotubos de carbono apresentaram diversas vantagens em relação ao eletrodo não modificado (carbono vítreo): menores potenciais de oxidação, picos mais bem definidos e de maior magnitude, maior sensibilidade, menores efeitos de adsorção que dificultavam as análises e maiores frequências analíticas por conta do efeito eletrocatalítico verificado. Além disso, a simplicidade dos métodos também é algo bastante vantajoso.

Este é o primeiro trabalho que investiga a potencialidade dos nanotubos de carbono de diferentes diâmetros em sensores eletroquímicos e a aplicação de forma satisfatória para determinação dos fármacos naproxeno, ibuprofeno, clorexidina e 4-cloroanilina usando sistemas BIA e/ou FIA para análise de produtos comerciais. Comparações com outros métodos (HPLC, eletroforese capilar, espectrofluorimetria e espectrometria de massas) foram realizadas para mostrar a exatidão do método desenvolvido e todos os testes ficaram de acordo com o teste t pareado “Student” com nível de confiança de 95%.

Os métodos usados de caracterização dos nanotubos sugerem que não há metais, como o ferro, presentes nos tubos dos nanotubos de carbono, o que mostra que o efeito eletrocatalítico apresentado em alguns casos é causado pelos defeitos estruturais presentes nos nanotubos de carbono, e em maior proporção no de menor diâmetro, confirmado pela espectroscopia Raman. Este fato explica os melhores resultados para os nanotubos de carbono de menor diâmetro.

O nanotubo de carbono de menor diâmetro apresentou melhores resultados quase que em sua totalidade e observa-se o aumento da área ativa de cerca de 20 % maior que aquela encontrada em eletrodo de carbono vítreo não modificado. A funcionalização dos nanotubos foi realizada de forma satisfatória, com a inserção dos grupos carboxílicos e o ponto de carga zero desse material foi avaliado por voltametria cíclica e situado entre os valores de pH de 4,0 a 6,0. Vários estudos do mecanismo de transporte de massa (difusional para ibuprofeno e 4-cloroanilina, misto para

naproxeno e adsortivo para clorexidina), da transferência de elétrons e do processo de oxidação das espécies químicas foram realizados.

O eletrodo modificado com nanotubo de menor diâmetro apresentou os seguintes resultados, respectivamente a naproxeno / ibuprofeno / clorexidina/ 4-cloroanilina: baixos limites de detecção de $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ / $1,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ / $0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ / $0,02 \mu\text{mol L}^{-1}$, baixos desvios padrão relativos de 3,4 % / 4,2 % / 1,8 % / 1,2 %, elevada frequência analítica de 120 injeções h^{-1} / 100 injeções h^{-1} / 60 injeções h^{-1} / 130 injeções h^{-1} e amplas faixas lineares de trabalho 10 a $75 \mu\text{mol L}^{-1}$ / 10 a $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ / 1 a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ / 1 a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$.

O produto de degradação da clorexidina, 4-cloroanilina, foi monitorado eletroquimicamente por amperometria utilizando o método descrito nesta tese, e pela primeira vez na literatura, a determinação de 4-cloroanilina na presença de altas concentrações de clorexidina foi desenvolvida. Além disso, a determinação simultânea destes compostos explorando os nanotubos de carbono de diferentes diâmetros e utilizando sistema BIA com detecção amperométrica de múltiplos pulsos foi aprimorada.

A metodologia apresenta inúmeras vantagens do ponto de vista analítico, como fácil execução dos experimentos, possibilidade de realização de dezenas de medidas utilizando uma mesma solução, volumes muitos baixos de analitos ($\sim 100 \mu\text{L}$) e baixos tempos de análise. Outra vantagem é a possibilidade de utilização de sistemas portáteis, nos estudos com células BIA.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 1. Anastas, P.T., *Green Chemistry and the Role of Analytical Methodology Development*. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 1999. **29**(3): p. 167-175.
2. Prado, A.G.S., *Química verde, os desafios da química do novo milênio*. Química Nova, 2003. **26**: p. 738-744.
3. Řužička, J. e E.H. Hansen, *Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis*. Analytica Chimica Acta, 1975. **78**(1): p. 145-157.
4. Wang, J. and Z. Taha, *Batch injection analysis*. Analytical Chemistry, 1991. **63**(10): p. 1053-1056.
5. El-Nemma, E.M., N.M. Badawi, e S.S.M. Hassan, *Cobalt phthalocyanine as a novel molecular recognition reagent for batch and flow injection potentiometric and spectrophotometric determination of anionic surfactants*. Talanta, 2009. **78**(3): p. 723-729.
6. Hassan, R.O. e A.T. Faizullah, *Reverse-FIA with spectrophotometric detection method for determination of vitamin C*. Journal of the Iranian Chemical Society, 2011. **8**(3): p. 662-673.
7. Lira, L.F.B., D.C.M.B. Santos, M.A.B. Guida, L. Stragevitch, M.G.A. Korn, M.F. Pimentel e A.P.S. Paim, *Determination of phosphorus in biodiesel using FIA with spectrophotometric detection*. Fuel, 2011. **90**(11): p. 3254-3258.
8. Mbaye, M., M.D.G. Seye, J.J. Aaron e A. Coly, *Application of flow injection analysis—photo-induced fluorescence (FIA-PIF) for the determination of α -cypermethrin pesticide residues in natural waters*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011. **400**(2): p. 403-410.
9. Wang, J., G.D. Rayson e Z. Taha, *Batch Injection Analysis Using Fiber-Optic Fluorometric Detection*. Applied Spectroscopy, 1992. **46**(1): p. 107-110.
10. Thavarungkul, P., P. Suppapitnarm, P. Kanatharana e B. Mattiasson, *Batch injection analysis for the determination of sucrose in sugar cane juice using immobilized invertase and thermometric detection*. Biosensors and Bioelectronics, 1999. **14**(1): p. 19-25.
11. Satienperakul, S., P. Phongdong e S. Liawruangrath, *Pervaporation flow injection analysis for the determination of sulphite in food samples utilising potassium permanganate-rhodamine B chemiluminescence detection*. Food Chemistry, 2010. **121**(3): p. 893-898.

12. Yamada, M., T. Nakada e S. Suzuki, *The determination of sulfite in a flow injection system with chemiluminescence detection*. *Analytica Chimica Acta*, 1983. **147**(0): p. 401-404.
13. Zeng, H.-j., R. Yang, Q.-w. Wang, J.-j. Li e L.-b. Qu, *Determination of melamine by flow injection analysis based on chemiluminescence system*. *Food Chemistry*, 2011. **127**(2): p. 842-846.
14. H.M.A. Almeer, S., I. A. Zogby e S. S.M. Hassan, *Novel miniaturized sensors for potentiometric batch and flow-injection analysis (FIA) of perchlorate in fireworks and propellants*. *Talanta*, 2014. **129**(0): p. 191-197.
15. Khaled, E., I.A. El-Sabbagh, N.G. El-Kholy e E.Y.A. Ghahni, *Novel PVC-membrane electrode for flow injection potentiometric determination of Biperiden in pharmaceutical preparations*. *Talanta*, 2011. **87**(0): p. 40-45.
16. Vahl, K., H. Kahlert, L.V. Muhlen, A. Albrecht, G. Meyer e J. Behnert, *Determination of the titratable acidity and the pH of wine based on potentiometric flow injection analysis*. *Talanta*, 2013. **111**(0): p. 134-139.
17. Pedrotti, J.J. e I.G.R. Gutz, *Ultra-simple adaptor to convert batch cells with mercury drop electrodes in voltammetric detectors for flow analysis*. *Talanta*, 2003. **60**(4): p. 695-705.
18. Tormin, T.F., L.C.D. Narciso, E.M. Richter e R.A.A. Munoz, *Batch-injection stripping voltammetry of metals in fuel bioethanol*. *Fuel*, 2014. **117, Part B**(0): p. 952-956.
19. Gupta, V.K., P. Norouzi, H. Ganjali, F. Faridbod e M.R. Ganjali, *Flow injection analysis of cholesterol using FFT admittance voltammetric biosensor based on MWCNT-ZnO nanoparticles*. *Electrochimica Acta*, 2013. **100**(0): p. 29-34.
20. Winquist, F., E. Rydberg, S. Holmin, C. Krantz-Rulcker e I. Lundstrom, *Flow injection analysis applied to a voltammetric electronic tongue*. *Analytica Chimica Acta*, 2002. **471**(2): p. 159-172.
21. Fernández-Abedul, M.T. e A. Costa-Garcia, *Flow injection analysis with amperometric detection of naltrexone in pharmaceuticals*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1997. **16**(1): p. 15-19.
22. Marinov, I., Y. Ivanov, N. Vassileva e T. Godjevargova, *Amperometric inhibition-based detection of organophosphorus pesticides in unary and binary mixtures employing flow-injection analysis*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011. **160**(1): p. 1098-1105.

23. do Socorro Maia Quintino, M., D. Corbo, M. Bertotti e L. Angnes, *Amperometric determination of acetylsalicylic acid in drugs by batch injection analysis at a copper electrode in alkaline solutions*. *Talanta*, 2002. **58**(5): p. 943-949.
24. Quintino, M.S.M., K. Araki e H.E. Toma, *Amperometric quantification of sodium metabisulfite in pharmaceutical formulations utilizing tetraruthenated porphyrin film modified electrodes and batch injection analysis*. *Talanta*, 2006. **68**(4): p. 1281-1286.
25. Wang, J., *Portable electrochemical systems*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2002. **21**(4): p. 226-232.
26. Heinze, J., *Electrochemistry, Principles, Methods, and Applications*. Von C. M. A. Brett und A. M. O. Brett. Oxford University Press, Oxford, 1993. 427 S., Broschur 25.00 £. – ISBN 0-19-855388-9. *Angewandte Chemie*, 1994. **106**(22): p. 2441-2442.
27. Paixão, T.R.L.C. e M. Bertotti, *Métodos para fabricação de microeletrodos visando a detecção em microambientes*. *Química Nova*, 2009. **32**: p. 1306-1314.
28. Nascimento, V.B. e L. Angnes, *Eletrodos fabricados por "silk-screen"*. *Química Nova*, 1998. **21**: p. 614-629.
29. Moses, P.R., L. Wier, e R.W. Murray, *Chemically modified tin oxide electrode*. *Analytical Chemistry*, 1975. **47**(12): p. 1882-1886.
30. Liu, S. e H. Ju, *Reagentless glucose biosensor based on direct electron transfer of glucose oxidase immobilized on colloidal gold modified carbon paste electrode*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003. **19**(3): p. 177-183.
31. Shahrokhian, S., A. Souri, e H. Khajehsharifi, *Electrocatalytic oxidation of penicillamine at a carbon paste electrode modified with cobalt salophen*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2004. **565**(1): p. 95-101.
32. González, P., V.A. Cortínez, e C.A. Fontán, *Determination of nickel by anodic adsorptive stripping voltammetry with a cation exchanger-modified carbon paste electrode*. *Talanta*, 2002. **58**(4): p. 679-690.
33. Segnini, A., *Uso de pirrolidinoditiocarbamatos de manganês (II) e vanadila na preparação e aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificados*. Dissertação de Mestrado, IQ-USP, 2003.
34. Souza, M.d.F.B., *Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem*. *Química Nova*, 1997. **20**: p. 191-195.

35. Pereira, A.C., A.d.S. Santos, e L.T. Kubota, *Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas*. Química Nova, 2002. **25**: p. 1012-1021.
36. Maciel, A.P., E. Longo, e E.R. Leite, *Dióxido de estanho nanoestruturado: síntese e crescimento de nanocristais e nanofitas*. Química Nova, 2003. **26**: p. 855-862.
37. Alivisatos, A.P., A.L. Harris, N.J. Levinos, M.L. Steigerwald e L.E. Brus, *Electronic states of semiconductor clusters: Homogeneous and inhomogeneous broadening of the optical spectrum*. The Journal of Chemical Physics, 1988. **89**(7): p. 4001-4011.
38. Alivisatos, A.P., *Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals*. The Journal of Physical Chemistry, 1996. **100**(31): p. 13226-13239.
39. Bard, A.J.a.L.R.F., *Electrochemical Methods - Fundamentals and Applications*. New York: John Wiley & Sons, 1980: p. 703.
40. Brett, A.M.O., Brett, C. M. A, *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*. Oxford University, Almedina, Coimbra, 1993.
41. Angnes, L., E.M. Richter, M.A. Augelli e G.H. Kume, *Gold Electrodes from Recordable CDs*. Analytical Chemistry, 2000. **72**(21): p. 5503-5506.
42. Richter, E.M., D.P. Jesus, C.A. Neves, C.L. Lago e L. Angnes, *Aplicações eletroanalíticas com eletrodos de prata confeccionados a partir de CDs graváveis*. Química Nova, 2003. **26**: p. 839-843.
43. Richter, E.M., J.A.F. Silva, I.G.R. Gutz, C.L. Lago e L. Angnes, *Disposable twin gold electrodes for amperometric detection in capillary electrophoresis*. Electrophoresis, 2004. **25**(17): p. 2965-2969.
44. Wang, J. e P. Gründler, *Electrochemical Studies of Thiol Self-Assembled Monolayers at a Heated Gold-Wire Microelectrode*. Electroanalysis, 2003. **15**(22): p. 1756-1761.
45. Wang, J. e P. Gründler, *The influence of temperature on the interaction between DNA and metal complex at a heated gold-wire microelectrode*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2003. **540**(0): p. 153-157.
46. Dobcnik, D., S. Gomiscek e J. Stergulec, *Preparation of a sulphide ion-selective microelectrode with chemical pretreatment of silver wire in Hg(II) solution*. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 1990. **337**(4): p. 369-371.

47. Li, Q.-S., B.-C. Ye, B.-X. Liu e J.-J. Zhong, *Improvement of the performance of H₂O₂ oxidation at low working potential by incorporating TTF-TCNQ into a platinum wire electrode for glucose determination*. Biosensors and Bioelectronics, 1999. **14**(3): p. 327-334.
48. Ardakani, M.M., M. Salavati-Niasari, e P. Pourhakkak, *Highly selective coated-wire copper-selective electrode based on N,N'-ethylene bis(p-tert-butyl salicyl aldiminato)*. Bulletin of Electrochemistry, 2004. **20**(5): p. 213-217.
49. Oni, J., P. Westbroek, e T. Nyokong, *Electrochemical Behavior and Detection of Dopamine and Ascorbic Acid at an Iron(II)tetrasulfophthalocyanine Modified Carbon Paste Microelectrode*. Electroanalysis, 2003. **15**(10): p. 847-854.
50. O'Hare, D., J.V. Macpherson, e A. Willows, *On the microelectrode behaviour of graphite-epoxy composite electrodes*. Electrochemistry Communications, 2002. **4**(3): p. 245-250.
51. Musameh, M., J. Wang, A. Merkoci e Y. Lin, *Low-potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes*. Electrochemistry Communications, 2002. **4**(10): p. 743-746.
52. Banks, C.E. e R.G. Compton, *New electrodes for old: from carbon nanotubes to edge plane pyrolytic graphite*. Analyst, 2006. **131**(1): p. 15-21.
53. Banks, C.E., T.J Davies, G.G. Wildgoose e R.G. Compton, *Electrocatalysis at graphite and carbon nanotube modified electrodes: edge-plane sites and tube ends are the reactive sites*. Chemical Communications, 2005(7): p. 829-841.
54. Wildgoose, G.G., C.E. Banks, H.C. Leventis e R.G. Compton, *Chemically Modified Carbon Nanotubes for Use in Electroanalysis*. Microchimica Acta, 2006. **152**(3-4): p. 187-214.
55. Streeter, I., G.G. Wildgoose, L. Shao e R.G. Compton, *Cyclic voltammetry on electrode surfaces covered with porous layers: An analysis of electron transfer kinetics at single-walled carbon nanotube modified electrodes*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2008. **133**(2): p. 462-466.
56. Herbst, M.H., M.I.F. Macêdo, e A.M. Rocco, *Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar*. Química Nova, 2004. **27**: p. 986-992.
57. Iijima, S., *Helical microtubules of graphitic carbon*. Nature, 1991. **354**(6348): p. 56-58.

58. Tristão, J.C., F.C.C. Moura, R.M. Lago e K. Sapag, *Sistema RTP: uma técnica poderosa para o monitoramento da formação de nanotubos de carbono durante o processo por deposição de vapor químico*. Química Nova, 2010. **33**: p. 1379-1383.
59. Ajayan, P.M., *Nanotubes from Carbon*. Chemical Reviews, 1999. **99**(7): p. 1787-1799.
60. Thiên-Nga, L., J.-M. Bonard e R. Gáal., *Comparison of catalytically grown and arc-discharge carbon nanotube tips*. Applied Physics Letters, 2002. **80**(5): p. 850-852.
61. Frank, S., P. Poncharal, Z.L. Wang e W.A. Heer, *Carbon Nanotube Quantum Resistors*. Science, 1998. **280**(5370): p. 1744-1746.
62. Liang, W.J., M. Bockrath, D. Bozovic, J.H. Hafner, M. Tinkham e H. Park, *Fabry-Perot interference in a nanotube electron waveguide*. Nature, 2001. **411**(6838): p. 665-669.
63. Bethune, D.S., C.H. Kiang, M.S. Vries, G. Gorman, R. Savoy, J. Vasquez e R. Beyers, *Cobalt-catalyzed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layerwalls*. Nature, 1993. **363**(6430): p. 605-607.
64. Li, J., Y. Liang, Q. Liao, Z. Zhu e Z. Tian, *Comparison of the electrocatalytic performance of PtRu nanoparticles supported on multi-walled carbon nanotubes with different lengths and diameters*. Electrochimica Acta, 2009. **54**(4): p. 1277-1285.
65. Antunes, E.F., A.O. Lobo, E.J. Corat e V.J. Trava-Airoldi, *Influence of diameter in the Raman spectra of aligned multi-walled carbon nanotubes*. Carbon, 2007. **45**(5): p. 913-921.
66. Yao, N., V. Lordi, S.X.C. Ma, E. Dujardin, A. Krishnan, M.M.J. Treacy e T.W. Ebbesen, *Structure and Oxidation Patterns of Carbon Nanotubes*. Journal of Materials Research, 1998. **13**(09): p. 2432-2437.
67. Ghica, M.E., R. Pauliukaite, O. Fatibello-Filho e C.M.A. Brett, *Application of functionalised carbon nanotubes immobilised into chitosan films in amperometric enzyme biosensors*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2009. **142**(1): p. 308-315.
68. Li, J., J.E. Koehne, A.M. Cassell, H. Chen, H.T. Ng, Q. Ye, W. Fan e J. Han, *Inlaid Multi-Walled Carbon Nanotube Nanoelectrode Arrays for Electroanalysis*. Electroanalysis, 2005. **17**(1): p. 15-27.
69. Pauliukaite, R., M.E. Ghica, O. Fatibello-Filho e C.M.A. Brett, *Comparative Study of Different Cross-Linking Agents for the Immobilization of Functionalized Carbon*

- Nanotubes within a Chitosan Film Supported on a Graphite-Epoxy Composite Electrode.* Analytical Chemistry, 2009. **81**(13): p. 5364-5372.
70. Yáñez-Sedeño, P. e J.M. Pingarrón, *Electrochemical sensing based on carbon nanotubes.* TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2010. **29**(9): p. 939-953.
71. Souza Filho, A.G.d. e S.B. Fagan, *Funcionalização de nanotubos de Carbono.* Química Nova, 2007. **30**: p. 1695-1703.
72. Mateo-Alonso, A., C. Ehli, K.H. Chen, D.M. Guldi e M. Prato, *Dispersion of Single-Walled Carbon Nanotubes with an Extended Diazapentacene Derivative†.* The Journal of Physical Chemistry A, 2007. **111**(49): p. 12669-12673.
73. Star, A., J.F. Stoddart, D. Steuerman, M. Diehl, A. Boukai, E.W. Wong, X. Yang, S.-W. Chung, H. Choi e J.R. Heath, *Preparation and Properties of Polymer-Wrapped Single-Walled Carbon Nanotubes.* Angewandte Chemie International Edition, 2001. **40**(9): p. 1721-1725.
74. Geng, H.Z., R. Rosen, B. Zheng, H. Shimoda, L. Fleming, J. Liu e O. Zhou, *Fabrication and Properties of Composites of Poly(ethylene oxide) and Functionalized Carbon Nanotubes.* Advanced Materials, 2002. **14**(19): p. 1387-1390.
75. Song, Y.S. e J.R. Youn, *Influence of dispersion states of carbon nanotubes on physical properties of epoxy nanocomposites.* Carbon, 2005. **43**(7): p. 1378-1385.
76. Sandler, J.K.W., J.E. Kirk, I.A. Kinloch, M.S.P. Shaffer e A.H. Windle, *Ultra-low electrical percolation threshold in carbon-nanotube-epoxy composites.* Polymer, 2003. **44**(19): p. 5893-5899.
77. Pötschke, P., S.M. Dudkin e I. Alig, *Dielectric spectroscopy on melt processed polycarbonate—multiwalled carbon nanotube composites.* Polymer, 2003. **44**(17): p. 5023-5030.
78. Silva, I.R.d., P.L.M. Barreto, e I.C. Bellettini, *Estudo das dispersões aquosas de nanotubos de carbono utilizando diferentes surfactantes.* Química Nova, 2013. **36**(1): p. 5-9.
79. Caneba G.T., C. Dutta, V. Agrawal e M. Rao, *Novel Ultrasonic Dispersion of Carbon Nanotubes.* Journal of Minerals & Materials Characterization & Engineering, 2010. **9**(3): p. 165-181.

80. Fan, Z. e D.J. Harrison, *Permeability of glucose and other neutral species through recast perfluorosulfonated ionomer films*. Analytical Chemistry, 1992. **64**(11): p. 1304-1311.
81. Fortier, G., M. Vaillancourt, e D. Bélanger, *Evaluation of nafion as media for glucose oxidase immobilization for the development of an amperometric glucose biosensor*. Electroanalysis, 1992. **4**(3): p. 275-283.
82. O'Connell, M.J., P. Boul, L.M. Ericson, C. Huffman, Y. Wang, E. Haroz, C. Kuper, J. Tour, K.D. Ausman e R.E. Smalley, *Reversible water-solubilization of single-walled carbon nanotubes by polymer wrapping*. Chemical Physics Letters, 2001. **342**(3-4): p. 265-271.
83. Wang, J., M. Musameh e Y. Lin, *Solubilization of Carbon Nanotubes by Nafion toward the Preparation of Amperometric Biosensors*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(9): p. 2408-2409.
84. Sano, M., J. Okamura e S. Shinkai, *Colloidal nature of single-walled carbon nanotubes in electrolyte solution: The Schulze-Hardy rule*. Langmuir, 2001. **17**(22): p. 7172-7173.
85. Orive, P.Y.S., *(Bio)sensores electroquímicos basados en electrodos de superficie estructurada con nanotubos de carbono*. Boletín de la sociedad Española de Química Analítica, 2006. **13**(10): p. 9-11.
86. Wang, J., M. Li, Z. Shi, N. Li e Z. Gu, *Direct Electrochemistry of Cytochrome c at a Glassy Carbon Electrode Modified with Single-Wall Carbon Nanotubes*. Analytical Chemistry, 2002. **74**(9): p. 1993-1997.
87. Wang, J., M. Li, Z. Shi, N. Li e Z. Gu, *Electrocatalytic Oxidation of Norepinephrine at a Glassy Carbon Electrode Modified with Single Wall Carbon Nanotubes*. Electroanalysis, 2002. **14**(3): p. 225-230.
88. Wang, Z., J. Liu, Q. Liang, Y. Wang e G. Luo, *Carbon nanotube-modified electrodes for the simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid*. Analyst, 2002. **127**(5): p. 653-658.
89. Dalmasso, P.R., M.L. Pedano e G.A. Rivas, *Electrochemical determination of ascorbic acid and paracetamol in pharmaceutical formulations using a glassy carbon electrode modified with multi-wall carbon nanotubes dispersed in polyhistidine*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2012. **173**(0): p. 732-736.
90. Jara-Ulloa, P., S. Bollo, L.J. Núñez-Vergara e J.A. Squella, *Voltammetric reduction of a 4-nitroimidazole derivative on a multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode*. Electroanalysis, 2008. **20**(13): p. 1470-1474.

91. Dogan-Topal, B., B. Bozal-Palabiyik, B. Uslu e S.A. Ozkan, *Multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a voltammetric nanosensor for the sensitive determination of anti-viral drug valganciclovir in pharmaceuticals*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2013. **177**(0): p. 841-847.
92. Rodríguez, M.C., J. Sandoval, L. Galicia, S. Gutiérrez e G.A. Rivas, *Highly selective determination of uric acid in the presence of ascorbic acid at glassy carbon electrodes modified with carbon nanotubes dispersed in polylysine*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2008. **134**(2): p. 559-565.
93. Ticianelli, E.A. e E.R. Gonzalez, *Eletroquímica: Princípios e Aplicações*. 2^a. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo – EDUSP 2005.
94. Skoog, D.A., F.J. Holler, T. A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis*. 5th ed. Philadelphia: Saunders College Publishing. 5th ed. Philadelphia: Saunders College Publishing., 1998.
95. Grosser, D.K., *Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*. VCH, New York, 1993.
96. Barroso, M.F., *Métodos analíticos em processos de biodegradação de pesticidas – o molinato*. Porto: Universidade do Porto. Tese de mestrado., 2001.
97. Nicholson, R.S. e I. Shain, *Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems*. Analytical Chemistry, 1964. **36**(4): p. 706-723.
98. Agostinho, S.M.L., R. F. V. Villamil, A. A. Neto, H. Aranha, *O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo*. Química Nova, 2004. **27**(5): p. 813-817.
99. *A review of techniques for electrochemical Analysis*. Princeton Applied Research. Application note E-4.
100. Mabbott, G.A., *An introduction to cyclic voltammetry*. Journal of Chemical Education, 1983. **60**: p. 697-701.
101. Kissinger, P.T. e W.R. Heineman, *Cyclic voltammetry*. Journal of Chemical Education, 1983. **60**(9): p. 702.
102. Quintino, M.S.M., *Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (BIA) para aplicações analíticas*. Instituto de Química. USP: São Paulo., 2003.

103. Wang, J., *Analytical Electrochemistry*, 3º ed. Wiley-VCH, 2006.
104. Santos, W.T.P.d., D.T. Gimenes, E.G.N. Almeida, S.P. Eiras, Y.D.T. Albuquerque e E.M. Richter, *Simple flow injection amperometric system for simultaneous determination of dipyrone and paracetamol in pharmaceutical formulations*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2009. **20**: p. 1249-1255.
105. Cai, Y.-e., Y. Cai, Y. Shi, S. Mou e Y. Lu, *Optimizing the integrated pulsed amperometric multicycle step waveform for the determination of tetracyclines*. Journal of Chromatography A, 2006. **1118**(1): p. 35-40.
106. Santos, W.T.P., *Desenvolvimento de metodologias de análise em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos*. Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Tese Doutorado., 2009.
107. Martínez-Calatayud, J., *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals*. London: Taylor & Francis, 1996.
108. Tzanavaras, P.D., D.G. Themelis, A. Economou e G. Theodoridis, *Flow and Sequential Injection Manifolds for the Spectrophotometric Determination of Captopril Based on its Oxidation by Fe(III)*. Microchimica Acta, 2003. **142**(1-2): p. 55-62.
109. Beinrohr, E., e P. Tschopel, *Flow-through anodic stripping coulometry and anodic stripping coulometry with collection for the simultaneous absolute determination of copper, lead, cadmium and zinc*. Analytica Chimica Acta, 1993. **273**(1-2): p. 13-25.
110. Bergamin, H., E.A.G. Zagatto, F.J. Krug e B.F. Reis, *Merging zones in flow injection analysis : Part 1. Double proportional injector and reagent consumption*. Analytica Chimica Acta, 1978. **101**(1): p. 17-23.
111. Reis, B.F., M.F. Guiné, e A.M. Kronka, *A análise química por injeção em fluxo contínuo*. Química Nova, 1989. **12**(1): p. 82-91.
112. Quintino, M.S.M. e L. Angnes, *Batch Injection Analysis: An Almost Unexplored Powerful Tool*. Electroanalysis, 2004. **16**(7): p. 513-523.
113. Wang, J., L. Chen, L. Angnes e B. Tian, *Computerized pipettes with programmable dispersion*. Analytica Chimica Acta, 1992. **267**(1): p. 171-177.
114. Pereira, P.F., M.C. Marra, R.A.A. Munoz e E.M. Richter, *Fast batch injection analysis system for on-site determination of ethanol in gasohol and fuel ethanol*. Talanta, 2012. **90**(0): p. 99-102.

115. Brett, C.M.A., A.M.O. Brett, e L.C. Mitoseriu, *Amperometric batch injection-analysis - theoretical aspects of current transients and comparison with wall-jet electrodes in continuous-flow*. *Electroanalysis*, 1995. **7**(3): p. 225-229.
116. Silva, R.A.B.d., *Caracterizações e aplicações analíticas de eletrodos compósitos modificados com Azul da Prússia e determinações simultâneas em sistemas de análise por injeção em batelada empregando somente um eletrodo*. Tese de doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, 2012.
117. Sweetman, S.C., *Martindale: The Compleat Drug Reference*. 32 rd ed. London, UK. The Pharmaceutical Press, 1999: p. 1107-1109.
118. Rosin, M., A. Welk, O. Bernhardt, M. Ruhnau, F.A. Pitten, T. Kocher e A. Kramer, *Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque*. *Journal of Clinical Periodontology*, 2001. **28**(12): p. 1121-1126.
119. Welk, A., C.H. Splieth, G. Schmidt-Martens, C. Schwahn, T. Kocher, A. Kramer e M. Rosin, , *The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque re-growth*. *Journal of Clinical Periodontology*, 2005. **32**(5): p. 499-505.
120. Ferraz, C.C.R., B.P.F.A. Gomes, A.A. Zaia, F.B. Teixeira e F.J. Souza-Filho., *Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants*. *Brazilian Dental Journal*, 2007. **18**: p. 294-298.
121. Quirynen, M., P. Avontroodt, W. Peeters, M. Pauwels, W. Coucke e D. V. Steenberghe, *Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation*. *Journal of Clinical Periodontology*, 2001. **28**(12): p. 1127-1136.
122. Bambace, A.M.J., E.J.A. Barros, S.S.F. Santos e A.O.C. Jorge, *Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfetantes de superfícies*. *Rev. Biociênc. Taubaté*, 2003. **9**(2): p. 73-81.
123. Southern, E.N., G.B. McCombs, S.L. Tolle e K. Marinak, *The comparative effects of 0,12% chlorhexidine and herbal oral rinse on dental plaque-induced gingivitis*. *J. Dental Hygiene*, 2006. **80**(1): p. 1-9.
124. Zong, Z. e L.E. Kirsch, *Studies on the instability of chlorhexidine, part I: Kinetics and mechanisms*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012. **101**(7): p. 2417-2427.

125. Bonazzi, D., V. Andrisano, R. Gatti e V. Cavrini, *Analysis of pharmaceutical creams - a useful approach based on solid-phase extraction (spe) and uv spectrophotometry*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1995. **13**(11): p. 1321-1329.
126. Fujita, Y., I. Mori, e M. Toyoda, *Spectrophotometric Determination of Chlorhexidine Based on a Hydrophobic Interaction with the o-Hydroxyhydroquinonephthalein-Manganese(II) Complex*. Analytical Sciences, 1990. **6**(6): p. 807-811.
127. Hu, O.Y.P., S.-Y. Wang, Y.-J. Fang, Y.-H. Chen e M.-L. King, *Simultaneous determination of thimerosal and chlorhexidine in solutions for soft contact-lenses and its applications in stability studies*. Journal of Chromatography, 1990. **523**: p. 321-326.
128. Gavlick, W.K., *High-performance liquid-chromatographic analysis of chlorhexidine and p-chloroaniline using a specialty column and a photodiode-array detector*. Journal of Chromatography, 1992. **623**(2): p. 375-380.
129. Abad-Villar, E.M., S.F. Etter, M.A. Thiel e P.C. Hauser, *Determination of chlorhexidine digluconate and polyhexamethylene biguanide in eye drops by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection*. Analytica Chimica Acta, 2006. **561**(1-2): p. 133-137.
130. Galli, A., D. Souza, G.S. Garbellini, C.F.B. Coutinho, L.H. Mazo, L.A. Avaca e S.A.S. Machado, *Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos*. Química Nova, 2006. **29**: p. 105-112.
131. Vert, F.T., F.V. Pedros, J.M. Calatayud e V.P. Martinez, *Polarographic determination of proguanil and chlorhexidine*. Talanta, 1983. **30**(12): p. 977-979.
132. Wang, L.-H. e S.-J. Tsai, *Voltammetric behavior of chlorhexidine at a film mercury electrodes and its determination in cosmetics and oral hygiene products*. Analytica Chimica Acta, 2001. **441**(1): p. 107-116.
133. Sarna, K. e Z. Fijalek, *Polarographic and voltammetric determination of chlorhexidine in pharmaceutical preparations*. Chemia Analityczna, 1999. **44**(2): p. 269-278.
134. Gratteri, P., et al., *Differential-pulse adsorptive stripping voltammetry of chlorhexidine*. Analyst, 1991. **116**(7): p. 723-725.
135. Jacobsen, E. e B. Glyseth, *Polarographic determination of chlorhexidine in pharmaceutical preparations*. Talanta, 1975. **22**(12): p. 1001-1004.

136. Kyung Woon, J. e K. D. Janda, *Syntheses and biological evaluation of two new naproxen analogs*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1996. **6**(19): p. 2281-2282.
137. Beetge, E., J. Plessis, D.G. Muller, C. Goosen e F.J.V. Rensburg, *The influence of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of selected NSAID's on their transdermal absorption*. International Journal of Pharmaceutics, 2000. **193**(2): p. 261-264.
138. Kim, S.J., A.J. Flach, e L.M. Jampol, *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Ophthalmology*. Survey of Ophthalmology, 2010. **55**(2): p. 108-133.
139. Sun, Y., Z. Zhang e Z. Shi, *Determination of naproxen in human urine by high-performance liquid chromatography with direct electrogenerated chemiluminescence detection*. Talanta, 2009. **79**(3): p. 676-680.
140. Elsinghorst, P.W., M. Kinzig, M. Rodamer, U. Holzgrabe e F. Sorgel, *An LC-MS/MS procedure for the quantification of naproxen in human plasma: Development, validation, comparison with other methods, and application to a pharmacokinetic study*. Journal of Chromatography B, 2011. **879**(19): p. 1686-1696.
141. Damiani, P., M. Bearzotti e M.A. Cabezón, *Spectrofluorometric determination of naproxen in tablets*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002. **29**(1-2): p. 229-238.
142. Fricke, J.R., S.C. Halladay e C.A. Francisco, *Efficacy and safety of naproxen sodium and ibuprofen for pain relief after oral surgery*. Current Therapeutic Research, 1993. **54**(6): p. 619-627.
143. Brogden, R.N., R.C. Heel, T.M. Speight e G.S. Avery, *Naproxen up to Date: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Efficacy and Use in Rheumatic Diseases and Pain States*. Drugs, 1979. **18**(4): p. 241-277.
144. Todd, P. e S. Clissold, *Naproxen*. Drugs, 1990. **40**(1): p. 91-137.
145. Arany, E., R.K. Szabó, L. Apáti, T. Alapi, I. Ilisz, P. Mazellier, A. Dombi e K. Gajda-Schrantz, *Degradation of naproxen by UV, VUV photolysis and their combination*. Journal of Hazardous Materials, 2013. **262**: p. 151-157.
146. Holzbecher, M., H.A. Ellenberger, J.M. Marsh e S. Boudreau, *An ultraviolet spectrophotometric procedure for the routine determination of naproxen*. Clinical Biochemistry, 1979. **12**(2): p. 66-67.

147. Panderi, I. e M. Parissi-Poulou, *Second-derivative spectrophotometric determination of naproxen in the presence of its metabolite in human plasma*. Analyst, 1994. **119**(4): p. 697-701.
148. Ibanez, G.A. e G.M. Escandar, *Combined liquid and solid-surface room temperature fluorimetric determination of naproxen and salicylate in serum*. J Pharm Biomed Anal, 2005. **37**(1): p. 149-55.
149. Wainer, I.W. e T.D. Doyle, *Application of high-performance liquid chromatographic chiral stationary phases to pharmaceutical analysis structural and conformational effects in the direct enantiomeric resolution of α -methylarylacetic acid antiinflammatory agents*. Journal of Chromatography A, 1984. **284**(0): p. 117-124.
150. Sádecká, J., M. Cakrt, A. Hercegová, J. Polonský e I. Skacáni, *Determination of ibuprofen and naproxen in tablets*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2001. **25**(5-6): p. 881-891.
151. Kazemifard, A.G. e D.E. Moore, *Liquid chromatography with amperometric detection for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in plasma*. J Chromatogr, 1990. **533**: p. 125-32.
152. Adhoum, N., L. Monser, M. Toumi e K. Boujlel, *Determination of naproxen in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry at a platinum electrode*. Analytica Chimica Acta, 2003. **495**(1-2): p. 69-75.
153. Suryanarayanan, V., Y. Zhang, S. Yoshihara e T. Shirakashi, *Voltammetric Assay of Naproxen in Pharmaceutical Formulations Using Boron-Doped Diamond Electrode*. Electroanalysis, 2005. **17**(11): p. 925-932.
154. Stefano, J.S., R.H.O. Montes, E.M. Richter e R.A.A. Munoz, *Flow-injection analysis with multiple-pulse amperometry for simultaneous determination of paracetamol and naproxen using a homemade flow cell for screen-printed electrodes*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2014. **25**: p. 484-491.
155. Norouzi, P., F. Doushy, M.R. Ganjali e P. Daneshgar, *Dysprosium Nanowire Modified Carbon Paste Electrode for the Simultaneous Determination of Naproxen and Paracetamol: Application in Pharmaceutical Formulation and Biological Fluid*. International Journal of Electrochemical Science, 2009. **4**(10): p. 1373-1386.
156. Tashkhourian, J., B. Hemmateenejad, H. Beigizadeh, M. Hosseini-Sarvari e Z. Razmi, *ZnO nanoparticles and multiwalled carbon nanotubes modified carbon paste electrode*

- for determination of naproxen using electrochemical techniques.* Journal of Electroanalytical Chemistry, 2014. **714–715**(0): p. 103-108.
157. Davies, E.F. e G.S. Avery, *Ibuprofen: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in rheumatic disorders.* Drugs, 1971. **2**(5): p. 416-46.
158. Haikala, V.E., I.K. Heimonen e H.J. Vuorela, *Determination of ibuprofen in ointments by reversed-phase liquid chromatography.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 1991. **80**(5): p. 456-458.
159. Gasco-Lopez, A.I., R. Izquierdo-Hornillos e A. Jimenez, *LC method development for ibuprophen and validation in different pharmaceuticals.* J Pharm Biomed Anal, 1999. **21**(1): p. 143-149.
160. Silva, P., *Metabolismo das drogas. In: Farmacologia.* 7th. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006: p. 72-77.
161. Tan, S.C., S.H.D. Jackson, C.G. Swift e A.J. Hutt, *Enantiospecific analysis of ibuprofen by high performance liquid chromatography: Determination of free and total drug enantiomer concentrations in serum and urine.* Chromatographia, 1997. **46**(1-2): p. 23-32.
162. Canaparo, R., E. Muntoni, G.P. Zara, C.D. Pepa, E. Berno, M. Costa e M. Eandi, *Determination of Ibuprofen in human plasma by high-performance liquid chromatography: validation and application in pharmacokinetic study.* Biomed Chromatogr, 2000. **14**(4): p. 219-26.
163. Wang, P., M. Qi, L. Liu e L. Fang, *Determination of ibuprofen in dog plasma by liquid chromatography and application in pharmacokinetic studies of an ibuprofen prodrug in dogs.* J Pharm Biomed Anal, 2005. **38**(4): p. 714-9.
164. Moeder, M., S. Schrader, M. Winkler e P. Popp, *Solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry of biologically active substances in water samples.* J Chromatogr A, 2000. **873**(1): p. 95-106.
165. Sajeev, C., P.R. Jadhav, D. RaviShankar e R.N. Saha, *Determination of flurbiprofen in pharmaceutical formulations by UV spectrophotometry and liquid chromatography.* Analytica Chimica Acta, 2002. **463**(2): p. 207-217.
166. de Jong, E.G., J. Kiffers e R.A. Maes, *The determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs by GC-MS-MS in equine urine.* J Pharm Biomed Anal, 1989. **7**(12): p. 1617-22.

167. Dhavse, V.V., D.V. Parmar e P.V. Devarajan, *High-performance thin-layer chromatographic determination of flurbiprofen in plasma*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1997. **694**(2): p. 449-53.
168. Lippstone, M.B. e J. Sherma, *Analysis of tablets containing naproxen and ibuprofen by HPTLC with ultraviolet absorption densitometry*. Jpc-Journal of Planar Chromatography-Modern Tlc, 1995. **8**(6): p. 427-429.
169. Hopkała, H. e A. Pomykalski, *TLC analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs and videodensitometric determination of fenbufen in tablets*. JPC - Journal of Planar Chromatography - Modern TLC, 2004. **17**(5): p. 383-387.
170. Hamoudová, R. e M. Pospišilová, *Determination of ibuprofen and flurbiprofen in pharmaceuticals by capillary zone electrophoresis*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **41**(4): p. 1463-1467.
171. Persson Stubberud, K. e O. Åström, *Separation of ibuprofen, codeine phosphate, their degradation products and impurities by capillary electrophoresis: II. Validation*. Journal of Chromatography A, 1998. **826**(1): p. 95-102.
172. Wei, W., X. Yu, e H. Ju, *Simultaneous determination of several antalgic drugs based on their interactions with beta-cyclodextrin by capillary zone electrophoresis*. J Chromatogr Sci, 2004. **42**(3): p. 155-60.
173. Abdel-Hay, M.H., M.A. Korany, M.M. Bedair e A.A. Gazy, *Colorimetric determination of seven nonsteroidal anti-inflammatory drugs using 2-nitrophenylhydrazine hydrochloride*. Analytical Letters, 1990. **23**(2): p. 281-294.
174. Babu, M.N., *Spectrophotometric method for the determination of Ibuprofen using Safranine*. Indian Drugs, 1998. **35**(1): p. 32-33.
175. Hergert, L.A. e G.M. Escandar, *Spectrofluorimetric study of the β -cyclodextrin-ibuprofen complex and determination of ibuprofen in pharmaceutical preparations and serum*. Talanta, 2003. **60**(2-3): p. 235-246.
176. Manzoori, J.L. e M. Amjadi, *Spectrofluorimetric study of host-guest complexation of ibuprofen with beta-cyclodextrin and its analytical application*. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2003. **59**(5): p. 909-16.
177. Hassan, S.M., W. Mahmoud e M. Abdel-Samad, *Direct potentiometry and potentiotitrimetry of warfarin and ibuprofen in pharmaceutical preparations using PVC ferroin-based membrane sensors*. Microchimica Acta, 1998. **129**(3-4): p. 251-257.

178. Santini, A.O., J.E. Oliveira, H.R. Pezza e L. Pezza, *A new potentiometric ibuprofenate ion sensor immobilized in a graphite matrix for determination of ibuprofen in tablets*. Microchemical Journal, 2006. **84**(1–2): p. 44-49.
179. Sousa, T.F.A., C.G. Amorim, M.C.B.S.M. Montenegro e A.N. Araújo, *Cyclodextrin based potentiometric sensor for determination of ibuprofen in pharmaceuticals and waters*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2013. **176**(0): p. 660-666.
180. Torres, K.Y.C., C.A. Garcia, J.C. Fernandes, G.O. Neto, L.T. Kubota, *Use of self-plasticizing EVA membrane for potentiometric anion detection*. Talanta, 2001. **53**(4): p. 807-814.
181. Kimura, T., O. Shirota e Y. Ohtsu, *Analysis of ibuprofen metabolites by semi-microcolumn liquid chromatography with ultraviolet absorption and pulsed amperometric detectors*. J Pharm Biomed Anal, 1997. **15**(9-10): p. 1521-6.
182. Berner, G., R. Staab e H.H. Wagener, *Determination of ibuprofen in plasma, synovial fluid and tissue by HPLC and electrochemical detection in the lower ng-range*. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 1990. **336**(3): p. 238-238.
183. Lima, A.B., E.O. Faria, R.H.O. Montes, R.R. Cunha, E.M. Richter, R.A.A. Munoz e W.T.P. Santos, *Electrochemical Oxidation of Ibuprofen and Its Voltammetric Determination at a Boron-Doped Diamond Electrode*. Electroanalysis, 2013. **25**(7): p. 1585-1588.
184. Motoc, S., A. Remes, A. Pop, F. Manea e J. Schoonman, *Electrochemical detection and degradation of ibuprofen from water on multi-walled carbon nanotubes-epoxy composite electrode*. Journal of Environmental Sciences, 2013. **25**(4): p. 838-847.
185. Beard, R.R. e J.T. Noe, *In Patty's Handbook of Industrial Hygiene and Toxicology*. Edn. Wiley-Interscience, New York. 3º Edition, 1981.
186. Tomlin, C.D.S., *Pesticide Manual. The British Crop Protection Council*, Farnham, Surrey, United Kingdom, 11 Edition, 1997.
187. Wang, Y.S., E.L. Madsen e M. Alexander, *Microbial degradation by mineralization or cometabolism determined by chemical concentration and environment*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1985. **33**(3): p. 495-499.
188. Wall, W. e Z.E. Rassi, *Electrically driven microseparation methods for pesticides and metabolites: V. Micellar electrokinetic capillary chromatography of aniline pesticidic metabolites derivatized with fluorescein isothiocyanate and their detection in real*

- water at low levels by laser-induced fluorescence.* Electrophoresis, 2001. **22**(11): p. 2312-2319.
189. Tixier, C., M. Sancelme, F. Bonnemoy, A. Cuer e H. Veschambre , *Degradation products of a phenylurea herbicide, diuron: Synthesis, ecotoxicity, and biotransformation.* Environmental Toxicology and Chemistry, 2001. **20**(7): p. 1381-1389.
190. Tixier, C., M. Sancelme, S. Ait-Aissa, P. Widehem, F. Bonnemoy, A. Cuer, N. Truffaut e H. Veschambre, *Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain, Arthrobacter sp. N2: Structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi.* Chemosphere, 2002. **46**(4): p. 519-526.
191. Martindale, *The Complete Drug Reference.* Pharmaceutical Press, London, 35 Edition, 2007.
192. Kataoka, H., *Derivatization reactions for the determination of amines by gas chromatography and their applications in environmental analysis.* Journal of Chromatography A, 1996. **733**(1-2): p. 19-34.
193. Golly, I. e P. Hlavica, *The role of hemoglobin in the N-oxidation of 4-chloroaniline.* Biochim Biophys Acta, 1983. **760**(1): p. 69-76.
194. Müller, L., E. Fattore e E. Benfenati, *Determination of aromatic amines by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry in water samples.* Journal of Chromatography A, 1997. **791**(1-2): p. 221-230.
195. Chhabra, R.S., M. Thompson, M.R. Elwell e D.K. Gerken, *Toxicity of p-chloroaniline in rats and mice.* Food Chem Toxicol, 1990. **28**(10): p. 717-22.
196. Chhabra, R.S., J.E. Huff, J.K. Haseman, M.R. Elwell e A.C. Peters, *Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice.* Food and Chemical Toxicology, 1991. **29**(2): p. 119-124.
197. Kacmar, P., J. Pistl, e I. Mikula, *The effect of p-chloroaniline on leucocytes of sheep peripheral blood under the migration-inhibition test conditions.* Immunopharmacol Immunotoxicol, 1995. **17**(3): p. 577-84.
198. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em 21/11/14.
199. United States Pharmacopeia. *Monografia: Chlorehexidine Gluconate Oral Rinse.* 34th ed. Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention, 2011. **34**: p. 2296-97.

200. Coquart, V. e M.C. Hennion, *Trace-level monitoring of chloroanilines in environmental waters using on-line trace-enrichment and liquid chromatography with UV and electrochemical detection*. Chromatographia, 1993. **37**(7-8): p. 392-398.
201. Di Corcia, A. e R. Samperi, *Determination of chloroaniline traces in environmental waters by selective extraction with two traps in tandem and liquid chromatography*. Analytical Chemistry, 1990. **62**(14): p. 1490-1494.
202. Djozan, D. e M.A. Farajzadeh, *Liquid-chromatographic determination of aniline and derivatives in environmental waters at nanogram per liter levels using fluorescamine precolumn derivatization*. Chromatographia, 1995. **41**(9-10): p. 568-572.
203. Richard, A., M. Elbaz, e G. Andermann, *Determination of 4-chloroaniline and chlorhexidine digluconate by ion-pair reversed-phase high-performance liquid-chromatography*. Journal of Chromatography, 1984. **298**(2): p. 356-359.
204. Rasmussen, H.T., N. Omelchenko, S.K. Friedman e B.P. McPherson, *Determination of chloroanilines in antibacterial soaps using cation-exchange chromatography with UV detection*. Journal of Chromatography A, 1996. **719**(2): p. 434-437.
205. Gavlick, W.K. e P.K. Davis, *Gas chromatographic determination of p-chloroaniline in a chlorhexidine digluconate-containing alcohol foam surgical scrub product*. J AOAC Int, 1994. **77**(3): p. 583-6.
206. Balugera, Z.G.d., M.A. Goicolea, e R.J. Barrio, *Determination of 4-Chloroaniline and 4-Chlorophenyl Urea in Honey By Liquid Chromatography with Electrochemical Detection*. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 1997. **20**(10): p. 1591-1603.
207. Rodriguez, E., Z.G. Balugera, M.A. Goicolea e R.J. Barrio, *HPLC/Diode-Array Method for the Determination of the Pesticide Diflubenzuron and Its Major Metabolites 2,6-Difluorobenzamide, 4-Chlorophenylurea, and 4-Chloroaniline in Forestry Matrices*. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 1998. **21**(12): p. 1857-1870.
208. DeBruin, L.S., P.D. Josephy, e J.B. Pawliszyn, *Solid-phase microextraction of monocyclic aromatic amines from biological fluids*. Anal Chem, 1998. **70**(9): p. 1986-92.
209. Haque, I.u., A.H. Kirmani, M. Tariq e S. Sadaf, *Electrooxidation of p-Chloroaniline at Gold Electrode*. The Electrochemical Society, 2014. **58**(46): p. 53-60.
210. Zettersten, C., P.J. Sjoberg e L. Nyholm, *Oxidation of 4-chloroaniline studied by on-line electrochemistry electrospray ionization mass spectrometry*. Anal Chem, 2009. **81**(13): p. 5180-7.

211. Vuković, G., A. Marinkovic, M. Obradovic, V. Radmilovic, M. Colic, R. Aleksic e P.S. Uskokovic, *Synthesis, characterization and cytotoxicity of surface amino-functionalized water-dispersible multi-walled carbon nanotubes*. Applied Surface Science, 2009. **255**(18): p. 8067-8075.
212. Pedrotti, J.J., L. Angnes e I.G.R. Gutz, *Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions*. Electroanalysis, 1996. **8**(7): p. 673-675.
213. Fracassi da Silva, J.A. e C.L. do Lago, *An Oscillometric Detector for Capillary Electrophoresis*. Analytical Chemistry, 1998. **70**(20): p. 4339-4343.
214. Francisco, K.J. e C.L. do Lago, *A compact and high-resolution version of a capacitively coupled contactless conductivity detector*. Electrophoresis, 2009. **30**(19): p. 3458-64.
215. Cullity, B.D., *Elements of X-ray diffraction, second edition*. Addison-Wesley Publishing Company, Inc., 1978.
216. Oliveira, B.L., *Síntese de nanotubos de carbono (NTC) por deposição de vapor empregando Fe/CaCO₃ e Fe/NTC como catalisador*. Dissertação de Mestrado, UFRJ, 2009.
217. Peng, Y. e H. Liu, *Effects of Oxidation by Hydrogen Peroxide on the Structures of Multiwalled Carbon Nanotubes*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2006. **45**(19): p. 6483-6488.
218. Lima, M.D., *Síntese de nanotubos de carbono por deposição química de vapor catalisada: correlação entre parâmetros de processo e características estruturais*. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.
219. Flahaut, E., C. Laurent e A. Peigney, *Catalytic CVD synthesis of double and triple-walled carbon nanotubes by the control of the catalyst preparation*. Carbon, 2005. **43**(2): p. 375-383.
220. Okamoto, A. e H. Shinohara, *Control of diameter distribution of single-walled carbon nanotubes using the zeolite-CCVD method at atmospheric pressure*. Carbon, 2005. **43**(2): p. 431-436.
221. Kajiura, H., S. Tsutsui, H. Huang, M. Miyakoshi, Y. Hirano, A. Yamada e M. Ata, *Production of single-walled carbon nanotube ropes under controlled gas flow conditions*. Chemical Physics Letters, 2001. **346**(5-6): p. 356-360.

222. Kataura, H., Y. Kumazawa, Y. Maniwa, Y. Ohtsuka, R. Sen, S. Suzuki e Y. Achiba, *Diameter control of single-walled carbon nanotubes*. Carbon, 2000. **38**(11–12): p. 1691-1697.
223. Schnitzler, M.C., *Síntese e caracterização de nanotubos de carbono utilizando precursores organometálicos*. Tese de doutorado, Universidade Federal do Paraná, 2007.
224. Fantini, C., A. Jorio, A.P. Santos, V.S.T. Peressinotto e M.A. Pimenta, *Characterization of DNA-wrapped carbon nanotubes by resonance Raman and optical absorption spectroscopies*. Chemical Physics Letters, 2007. **439**(1–3): p. 138-142.
225. Zoski, C.G., *Handbook of Electrochemistry*. Elsevier Science; 1 edition, 2007.
226. Vaghetti, J.C.P., E.C. Lima, B. Royer, B.M. Cunha, N.F. Cardoso, J.L. Brasil e S.L.P. Dias, *Pecan nutshell as biosorbent to remove Cu(II), Mn(II) and Pb(II) from aqueous solutions*. Journal of Hazardous Materials, 2009. **162**(1): p. 270-280.
227. Al-Degs, Y., M.A.M. Khraished, S.J. Allen e M.N. Ahmad, *Effect of carbon surface chemistry on the removal of reactive dyes from textile effluent*. Water Research, 2000. **34**(3): p. 927-935.
228. Menéndez, J.A., J. Phillips, B. Xia e L.R. Radovic, *On the modification and characterization of chemical surface properties of activated carbon: in the search of carbons with stable basic properties*. Langmuir, 1996. **12**(18): p. 4404-4410.
229. Souza, D.d., S.A.S. Machado, e L.A. Avaca, *Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos*. Química Nova, 2003. **26**: p. 81-89.
230. Bosca, F., R. Martinez-Mánez, M.A. Miranda, J. Primo, J. Soto e L. Vano, *Oxidative decarboxylation of naproxen*. J Pharm Sci, 1992. **81**(5): p. 479-82.
231. Tormin, T.F., D.T. Gimenes, L.G. Silva, R. Ruggiero, E.M. Richter, V.S. Ferreira e R.A.A. Munoz, *Direct amperometric determination of tert-butylhydroquinone in biodiesel*. Talanta, 2010. **82**(4): p. 1599-603.
232. LaCourse, W.R., D.C. Johnson, M.A. Rey e R.W. Slingsby, *Pulsed amperometric detection of aliphatic alcohols in liquid chromatography*. Analytical Chemistry, 1991. **63**(2): p. 134-139.
233. Sims, M.J., N.V. Rees, E.J.F. Dickinson, R.G. Compton, *Effects of thin-layer diffusion in the electrochemical detection of nicotine on basal plane pyrolytic graphite (BPPG)*

- electrodes modified with layers of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT-BPPG).*
Sensors and Actuators B: Chemical, 2010. **144**(1): p. 153-158.
234. Keeley, G.P. e M.E.G. Lyons, *The effects of thin layer diffusion at glassy carbon electrodes modified with porous films of single-walled carbon nanotubes*. International Journal of Electrochemical Science, 2009. **4**(6): p. 794-809.
235. Montes, R.H.O., E.M. Richter e R.A.A. Munoz, *Low-potential reduction of sulfite at a ruthenium-oxide hexacyanoferrate modified electrode*. Electrochemistry Communications, 2012. **21**(0): p. 26-29.
236. Munoz, R.A.A., S.H. Toma, H.E. Toma, K. Araki e L. Angnes, *Investigation of interfacial processes at tetraruthenated zinc porphyrin films using electrochemical surface plasmon resonance and electrochemical quartz crystal microbalance*. Electrochimica Acta, 2009. **54**(11): p. 2971-2976.
237. Ambuludi, S.L., et al., *Kinetic behavior of anti-inflammatory drug ibuprofen in aqueous medium during its degradation by electrochemical advanced oxidation*. Environ Sci Pollut Res Int, 2013. **20**(4): p. 2381-9.
238. Oztekin, Y., A. Ramanaviciene, Z. Yazicigil, A.O. Solak e A. Ramanavicius, *Direct electron transfer from glucose oxidase immobilized on polyphenanthroline-modified glassy carbon electrode*. Biosensors and Bioelectronics, 2011. **26**(5): p. 2541-2546.
239. Kul, D. e C.M.A. Brett, *Electrochemical Investigation and Determination of Levodopa on Poly(Nile Blue-A)/Multiwalled Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrodes*. Electroanalysis, 2014. **26**(6): p. 1320-1325.
240. Seo, E.T., R.F. Nelson, J.M. Fritsch, L.S. Marcoux, D.W. Leedy e R.N. Adams, *Anodic Oxidation Pathways of Aromatic Amines. Electrochemical and Electron Paramagnetic Resonance Studies*. Journal of the American Chemical Society, 1966. **88**(15): p. 3498-3503.
241. Perrin, D.D., *Dissociation constants of organic bases in aqueous solution*. Butterworths, London, 1972.