

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



LUANA MOURA VILARINHO

**Síntese da manganês porfirina tetrarutenada e nanopartículas de ouro
utilizadas para determinação voltamétrica de fármacos.**

UBERLÂNDIA
2017

LUANA MOURA VILARINHO

**Síntese da manganês porfirina tetrarutenada e nanopartículas de ouro
utilizadas para determinação voltamétrica de fármacos.**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Luis Rogério Dinelli

**UBERLÂNDIA
2017**

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

V69s
2017

Vilarinho, Luana Moura, 1992-
Síntese da manganês porfirina tetra-rutenada e nanopartículas de ouro
utilizadas para determinação voltamétrica de fármacos / Luana Moura
Vilarinho. - 2017.
89 f. : il.

Orientador: Luis Rogério Dinelli.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Química.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.78>
Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Porfirina e compostos de porfirina - Teses. 3.
Nanopartículas - Teses. 4. Eletrodos - Teses. I. Dinelli, Luis Rogério. 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 DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 259/PPQUI.

DATA: 30/06/2017

DISCENTE: Luana Moura Vilarinho

MATRÍCULA: 11512QM008

TÍTULO DO TRABALHO: Estudo eletrocatalítico da manganês porfirina tetra-rutenada em associação a nanopartículas de ouro para determinação voltamétrica de fármacos.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Ciência dos Materiais: Química do estado sólido.

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Síntese de novos eletrocatalisadores a base de complexos de rutênio e porfirinas supramoleculares.

Às quatorze horas do dia trinta de junho do ano dois mil e dezessete, no Auditório II no Campus da FACIP/UFU em Itulutaba, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Cid Pereira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Edson Nossol do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (IQUFU) e Luis Rogério Dinelli, professor(a) 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 Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) 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. Ultimeada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e Aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será Síntese da manganês porfirina tetra-rutenada e nanopartículas de ouro utilizadas para determinação voltamétrica de fármacos.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. 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 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 50 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Cid Pereira

UFU

Prof. Dr. Edson Nossol – UFU

Orientador(a): Prof. Dr. Luis Rogério Dinelli – FACIP-UFU

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus queridos pais Maria José e Edjunio que me incentivaram com muito amor para que eu vencesse mais essa etapa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus que me deu sabedoria necessária e por ser meu amigo fiel em todas as horas.

Aos meus queridos pais por acreditarem e me incentivarem nos meus estudos, pelo carinho e atenção nos momentos de necessidade.

Ao meu namorado Dieison, pela compreensão e paciência eu tive comigo.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa, em especial a Rebecca e Thiago pelo auxílio e amizade e aos demais amigos do laboratório Lauro, Giselle, Allyson, Lorraine, Dielle, pelo apoio, companhia e carinho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luís Rogério Dinelli, pela oportunidade, paciência, dedicação e compromisso nesses cinco anos de orientação.

Aos membros da banca Prof. Dr. Edson Nossol e Prof. Dr. Cid Pereira por aceitarem o convite.

À Faculdade de Ciências Integradas do Pontal por me fornecer o espaço necessário para a realização desse trabalho.

Aos órgãos de fomento FAPEMIG e CNPq pelos recursos financeiros necessários.

E todas as pessoas que contribuíram diretamente ou indiretamente, em orações, torcidas e pensamentos positivos.

EPÍGRAFE

“A medida do amor é não ter medidas.”

Santo Agostinho

“Sei que meu trabalho é uma gota no oceano, mas sem ele, o oceano seria menor.”

Madre Tereza de Caicutá

RESUMO

O presente trabalho apresenta a síntese da porfirina 5, 10, 15, 20-(tetrapiridil)porfirina ou TPyP, a qual foi a precursora para a coordenação do íon manganês no centro porfirínico. Posteriormente o complexo obtido, $[\text{Mn-TPyP}]^+$, foi deixado em reação com o composto *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ para a formação da espécie supramolecular $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$. Os compostos obtidos foram caracterizados pela técnica de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível e infravermelho, onde foram apresentadas bandas e estiramentos característicos dos complexos porfirínicos. O complexo supramolecular foi utilizado para formação de filmes sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo, utilizando a técnica de eletropolimerização via voltametria cíclica, formando um eletrodo quimicamente modificado. O eletrodo modificado com a porfirina supramolecular foi utilizado como sensor eletroquímico para determinação e quantificação simultânea do ácido ascórbico com paracetamol. Nanopartículas de ouro foram sintetizadas através do método de Brust, que é realizado em um sistema bifásico (tolueno/água). As nanopartículas de ouro foram imobilizadas juntamente com a porfirina supramolecular, por interação eletrostática, com o intuito de obter um eletrodo modificado ainda mais seletivo. O eletrodo modificado com porfirina supramolecular e nanopartículas de ouro foi utilizado para a determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina. Os eletrodos modificados quando comparados ao eletrodo convencional sem o processo de modificação, apresentou melhores respostas para os analitos estudados, onde foram obtidos baixos limites de detecção e quantificação, permitindo aos mesmos serem aplicados em amostras reais. Foram realizados também estudos de pH, de repetibilidade e de interferentes para otimizar as condições de análise.

Palavras-chave: Porfirina supramolecular, nanopartículas de ouro, eletrodo modificado.

ABSTRACT

The present work performed the synthesis of 5, 10, 15, 20 - (tetrapyrrolyl) porphyrin or TPyP, which was used to coordinate the manganese ion in the porphyrin center. The porphyrin $[\text{Mn-TPyP}]^+$, was left in reaction with the complex *mer* - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ to obtain the supramolecular specie $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^{4+}$. All the complexes were characterized by ultraviolet and visible and infrared absorption spectroscopy, where bands and characteristic stretches of the porphyrin complexes were presented. The supramolecular porphyrin was used to form films on the surface of the glassy carbon electrode, using the electropolymerization technique by cyclic voltammetry. The electrode modified with supramolecular porphyrin was used as an electrochemical sensor for simultaneous determination and quantification of ascorbic acid and paracetamol. Gold nanoparticles were synthesized by the Brust method, which is performed in a two-phase (toluene / water) system. The gold nanoparticles were immobilized with the supramolecular porphyrin, by electrostatic interaction, in order to obtain a modified electrode even more selective. The electrode modified with supramolecular porphyrin and gold nanoparticles was used to the simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine. The modified electrodes when compared to the conventional electrode without the modification process, presented better responses for the studied analytes, where low detection and quantification limits were obtained, allowing them to be applied in real samples. PH, repeatability and interferences studies were performed to optimize as analysis conditions.

Keywords: Supramolecular porphyrin, Nanoparticles of gold, Modified electrode.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura básica da porfirina.	16
Figura 2. Estrutura da 5,10,15,20-tetrapiridilporfirina. (TPyP).....	18
Figura 3. Imagem do copo de Licurgo com coloração verde quando visualizado por reflexão e vermelho visualizado por transmissão.....	20
Figura 4. Formação de dipolos oscilantes induzidos pela radiação eletromagnética em nanopartículas de ouro.....	21
Figura 5. Estrutura química do paracetamol.....	23
Figura 6. Estrutura química do ácido ascórbico.	24
Figura 7. Fórmula molecular da dopamina.....	24
Figura 8. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina TPyP (1×10^{-5} mol L ⁻¹).	34
Figura 9. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina [Mn-TPyP] ⁺ (1×10^{-4} mol L ⁻¹).	36
Figura 10. Estrutura proposta para a [Mn-TPyP] ⁺	37
Figura 11. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(H ₂ O) (5×10^{-5} mol L ⁻¹).	38
Figura 12. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺ (1×10^{-6} mol L ⁻¹).	39
Figura 13. Estrutura proposta para a porfirina supramolecular {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺ ...	40
Figura 14. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para AuNPs em tolueno.	41
Figura 15. Espectro de absorção na região do infravermelho da TPyP.....	42
Figura 16. Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(H ₂ O)].	43
Figura 17. Espectro de absorção na região do infravermelho por ATR para a {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺	44
Figura 18. Voltamogramas cíclicos registrados em solução de HTBA($0,1$ mol L ⁻¹) para a obtenção do filme polimérico no eletrodo de carbono vítreo.....	46
Figura 19. Mecanismo proposto para a eletropolimerização da porfirina polirutenada na superfície do eletrodo de carbono vítreo.	47
Figura 20- Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1$ mol L ⁻¹) comparando-se o ECV-PS e o ECV para determinação de AA ($2,25 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹). Velocidade de varredura: 100 mV s ⁻¹	48

Figura 21 - Mecanismo proposto para a oxidação do ácido ascórbico.....	48
Figura 22- Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) comparando-se o ECVM-PS e o ECV para determinação de PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). VV: 100 mV s^{-1}	49
Figura 23. Mecanismo proposto para a oxidação/redução do paracetamol.....	50
Figura 24. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) comparando-se o ECVM-PS e o ECV para determinação de DP ($750 \mu\text{mol L}^{-1}$). VV: 100 mV s^{-1}	51
Figura 25. Mecanismo proposto para a oxidação/redução da dopamina.....	52
Figura 26. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) comparando-se o ECVM-PS e o ECV para determinação simultânea de AA ($4,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). VV: 100 mV s^{-1}	53
Figura 27. Voltamogramas cíclicos registrados em solução de HTBA em diclorometano para formação de bicamadas contendo porfirina supramolecular e AuNPs.....	54
Figura 28. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível realizado em eletrodo ITO contendo $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ e AuNPs	55
Figura 29. Comparação dos eletrodos de carbono vítreo modificado e não modificado para a determinação simultânea de dopamina ($30 \mu\text{mol L}^{-1}$) e ácido ascórbico ($120 \mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão acetato.	56
Figura 30. (A) Voltamogramas cíclicos registrados em solução acetato de sódio em diferentes concentrações de AA (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250; (f) 350 e (g) $450 \mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque. VV: 100 mVs^{-1} . (B) Curva analítica para o ácido ascórbico utilizando o ECVM-PS.....	58
Figura 31- Voltamogramas cíclicos registrados em solução acetato em diferentes concentrações de PA (a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100; (e) 125; (f) 175 e (g) $225 \mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque. VV: 100 mV s^{-1} . (B) Curva analítica do paracetamol empregando o ECVM-PS.....	59
Figura 32. Voltamogramas cíclicos realizados em tampão acetato em diferentes concentrações de DP (a) 20; (b) 60; (c) 90; (d) 120; (e) 150; (f) 180 e (g) 210 (h) 310; (i) 410; (j) 510; (k) $610 \mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque. VV: 100 mV s^{-1} . (B) Curva analítica da dopamina empregando o ECVM-PS.....	60
Figura 33. Voltamogramas cíclicos registrados em solução acetato de sódio/ácido acético ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes valores de pH para determinação simultânea de AA ($4,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) empregando o ECVM-PS.	61

Figura 34. Dependência da I_{pa} com o pH para a determinação simultânea de AA e PA utilizando o ECVM-PS.....	63
Figura 35. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético (pH 4,5) 0,1 mol L ⁻¹ na presença de AA e PA em diferentes velocidades de varredura, utilizando-se o ECVM-PS. (a) 20; (b) 40; (c) 60; (d) 80; (e) 100; (f) 120; (g) 140; (h) 160; (i) 180; (j) 200 mV s ⁻¹	64
Figura 36- Gráficos das correntes de pico anódicas em função da $v^{1/2}$ para a determinação simultânea de AA e PA utilizando o ECVM-PS.	65
Figura 37- Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético em diferentes concentrações de AA: (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250; (f) 350 e (g) 450 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e PA: (a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100; (e) 125; (f) 175 e (g) 225 $\mu\text{mol L}^{-1}$. VV: 100 mVs ⁻¹	66
Figura 38. Curvas analíticas: (A) ácido ascórbico (B) paracetamol utilizando o ECVM-PS. .	66
Figura 39- Dez voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético contendo AA (450 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e PA (225 $\mu\text{mol L}^{-1}$).	69
Figura 40 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético na presença de AA em concentração constante (450 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e PA variando em: (a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100; (e) 125; (f) 175 e (g) 225 $\mu\text{mol L}^{-1}$. VV: 100 mV s ⁻¹ . (B) Curva analítica do PA na presença de AA em concentração constante.	70
Figura 41 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético na presença de PA em concentração constante (225 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e AA variando em: (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250; (f) 350 e (g) 450 $\mu\text{mol L}^{-1}$. VV: 100 mV s ⁻¹ . (B) Curva analítica do AA na presença de PA em concentração constante.	71
Figura 42. Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes valores de pH corrigidos a partir da solução tampão acetato para determinação simultânea de AA e DP empregando o ECVM-PS/AuNPs.	72
Figura 43. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato (pH 4,5) 0,1 mol L ⁻¹ na presença de 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de DP e 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AA em diferentes velocidades de varredura, utilizando-se o ECVM-PS. (a) 20; (b) 40; (c) 60; (d) 80; (e) 100; (f) 120; (g) 140; (h) 160; (i) 180; (j) 200 mV s ⁻¹	73
Figura 44. Gráficos das correntes de pico anódicas em função da $v^{1/2}$ para determinação simultânea de AA e DP.	74
Figura 45. Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão acetato empregando o ECVM-PS/AuNPs para construção da curva analítica da determinação simultânea de AA e DP.....	75

Figura 46. Curvas analíticas: (A) ácido ascórbico, (B) dopamina empregando o EVCM-PS/AuNPs.....	75
Figura 47 - Dez voltamogramas cíclicos realizados em tampão acetato contendo $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DP e $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA para o estudo da repetibilidade do ECVM-PS/AuNPs na determinação dos simultânea dos analitos.....	78
Figura 48. (A) Voltamogramas cíclicos realizados em solução tampão acetato contendo AA em concentração constante ($120 \mu\text{mol L}^{-1}$) e adições de DP em concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e $30 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva analítica da DP.....	79
Figura 49 - (A) Voltamogramas cíclicos realizados em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) contendo DP em concentração constante ($60 \mu\text{mol L}^{-1}$) e adições de AA em concentrações de 40, 60, 80, 100, 120 e $140 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva analítica do AA.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de ε para as bandas de absorção da TPyP (1×10^{-5} mol L ⁻¹) em diclorometano.	35
Tabela 2. Valores de absortividade molar da [Mn-TPyP] ⁺ (1×10^{-4} mol L ⁻¹) em diclorometano.	36
Tabela 3. Valores de absortividade molar do complexo mer-[RuCl ₃ (dppb)(H ₂ O).	38
Tabela 4. Valores de ε para a porfirina {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺ (1×10^{-6} mol L ⁻¹) em diclorometano.	39
Tabela 5. Tentativas de atribuições da TPyP diluída em pastilhas de KBr	42
Tabela 6. Tentativas de atribuições do complexo mer-[RuCl ₃ (dppb)(H ₂ O) diluído em pastilhas de KBr.	43
Tabela 7. Tentativas de atribuições para a {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺	45
Tabela 8– Valores da diferença de separação dos picos de AA e PA.	63
Tabela 9- Valores de LD, LQ, e R para determinação simultânea de AA e PA utilizando o ECVm-PS.....	67
Tabela 10 - Valores de ΔI_a mantendo-se o PA constante durante o estudo de interferência....	71
Tabela 11. Valores de LD, LQ, coeficientes de correlação linear e faixas lineares de concentração para AA e DP empregando o ECVm-PS/AuNPs.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS

ECV	Eletrodo de carbono vítreo
ECVM-PS	Eletrodo de carbono vítreo modificado com porfirina supramolecular
ECVM-PS/AuNPs	Eletrodo de carbono vítreo modificado com porfirina supramolecular e nanopartículas de ouro
TPyP	5, 10, 15, 20-(tetrapiridil)porfirina
dppb	1, 4-bis(difenilfosfina)butano
mer	Isômero meridional
Ag/AgCl(sat) com KCl.	Eletrodo de referência de prata/ cloreto de prata em solução saturada
ITO	Indium tin oxide (Eletrodo de índio/estanho)
HTBA	Hexafluorofosfato de tetrabutilamonio
DMF	Dimetilformamida
DP	Dopamina
AA	Ácido ascórbico
PA	Paracetamol
VV	Velocidade de varredura
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação

LISTA DE SÍMBOLOS

I_{pa}	Corrente de pico anódica
n	Número de elétrons
F	Constante de Faraday
R	Constante dos gases ideais
R^2	Coefficiente de correlação linear
ε	Absortividade molar
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Porfirinas	16
1.2 Nanopartículas de ouro	19
1.3 Eletrodos quimicamente modificados	21
1.4 Paracetamol	22
1.5 Ácido ascórbico	23
1.6 Dopamina	24
2 OBJETIVOS	26
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	27
3.1 Reagentes e solventes	27
3.2 Equipamentos e técnicas instrumentais	27
3.2.1 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível	27
3.2.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	27
3.2.3 Voltametria cíclica	28
3.2.4 Preparo de soluções	28
3.3 Síntese dos complexos	28
3.3.1 Síntese da manganês porfirina (Mn-TPyP ⁺)	28
3.3.2 Síntese do complexo <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(H ₂ O)] (aqua)	29
3.3.3 Síntese da porfirina supramolecular: {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺	29
3.3.4 Síntese das nanopartículas de ouro	29
3.4 Preparação dos eletrodos modificados	30
3.4.1 Eletrodo modificado com a porfirina supramolecular {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺	30
3.4.2 Eletrodo modificado com porfirina supramolecular e nanopartículas de ouro	31

3.4.3 Caracterização do material com eletrodo de ITO pela técnica UV-vis	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Caracterização das porfirinas e nanopartículas de ouro pelo método de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis)	33
4.1.1 Caracterização da 5, 10, 15, 20-tetrapiridilporfirina (TPyP)	33
4.1.2 Caracterização da metaloporfirina [Mn-TPyP] ⁺	35
4.1.3 Caracterização do complexo <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(H ₂ O)]	36
4.1.4 Caracterização da porfirina supramolecular {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺	37
4.1.5 Caracterização das nanopartículas de ouro.	39
4.2 Caracterização das porfirinas pela técnica de Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Refletância Total Atenuada (ATR).	40
4.2.1 Caracterização da TPyP.	41
4.2.2 Caracterização do complexo <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(H ₂ O)]	42
4.2.3 Caracterização da {MnTPyP[RuCl ₃ (dppb)] ₄ } ⁺	43
4.3 Caracterização do eletrodo de carbono vítreo modificado com porfirina supramolecular	44
4.4 Comportamento eletroquímico dos analitos estudados	46
4.4.1 Comportamento eletroquímico do ácido ascórbico	46
4.4.2 Comportamento eletroquímico do paracetamol	48
4.4.3 Comportamento eletroquímico da dopamina	50
4.4.4 Comportamento eletroquímico da análise simultânea de AA e PA	53
4.4 Caracterização do eletrodo de carbono vítreo modificado com porfirina supramolecular e nanopartículas de ouro	53
4.5 Estudo da interação da porfirina supramolecular com as nanopartículas de ouro	54
4.6 Comportamento eletroquímico da determinação simultânea de AA e DP	56
4.7 Quantificação de ácido ascórbico, paracetamol e dopamina	57

4.7.1 Quantificação do ácido ascórbico utilizando ECVM-PS	57
4.7.2 Quantificação do paracetamol utilizando ECVM-PS	59
4.7.3 Quantificação da dopamina utilizando ECVM-PS	60
4.8 Determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol utilizando ECVM-PS	61
4.8.1 Estudo do pH na determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol empregando o ECVM-PS	61
4.8.2 Efeito da velocidade de varredura na determinação simultânea de AA e PA utilizando ECVM-PS	64
4.8.3 Quantificação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol empregando o ECVM-PS	66
4.8.4 Estudo da repetibilidade do ECVM-PS na determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol	69
4.8.5 Estudo de interferência entre o ácido ascórbico e paracetamol empregando ECVM-PS	69
4.9 Determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina utilizando o ECVM-PS/AuNPs	72
4.9.1 Estudo do efeito do pH para a determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina empregando o ECVM-PS/AuNPs	72
4.9.2 Efeito da velocidade de varredura na determinação simultânea de AA e DP empregando o ECVM-PS/AuNPs	73
4.9.3 Quantificação simultânea de ácido ascórbico e dopamina empregando o ECVM-PS/AuNPs	74
4.9.4 Estudo de repetibilidade do ECVM-PS/AuNPs na determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina	78
4.9.5 Estudo da interferência na determinação simultânea do ácido ascórbico e dopamina	79
5 CONCLUSÕES	82
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

1 INTRODUÇÃO

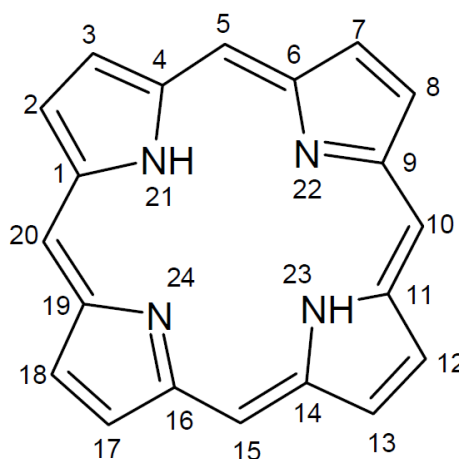
1.1 Porfirinas

O termo porfirina vem do grego onde “porphura” [1] é característica da coloração púrpura. Essa coloração é intensa e descreve uma das características dos derivados de complexos porfirínicos e explica também o valor de absorvidade molar elevado. A coloração das porfirinas pode-se variar não somente em cores púrpuras, mas também entre pigmentações vermelhas.

As porfirinas possuem um papel importante na natureza e no metabolismo dos organismos vivos, pois são responsáveis pelo armazenamento de oxigênio na hemoglobina e mioglobina, transporte de elétrons e conversão de energia.

O sistema mais simples do composto porfirínico está exemplificado na Figura 1, esse composto apresenta-se uma estrutura com geometria quadrada planar e em sua totalidade é formado por um grupo contendo 20 átomos de carbono com seus respectivos hidrogênios e quatro nitrogênios. Através da Figura apresentada observa-se um sistema conjugado de elétrons contendo onze ligações duplas alternadas, permitindo a ligação de grupos ao redor anel.

Figura 1. Estrutura básica da porfirina.



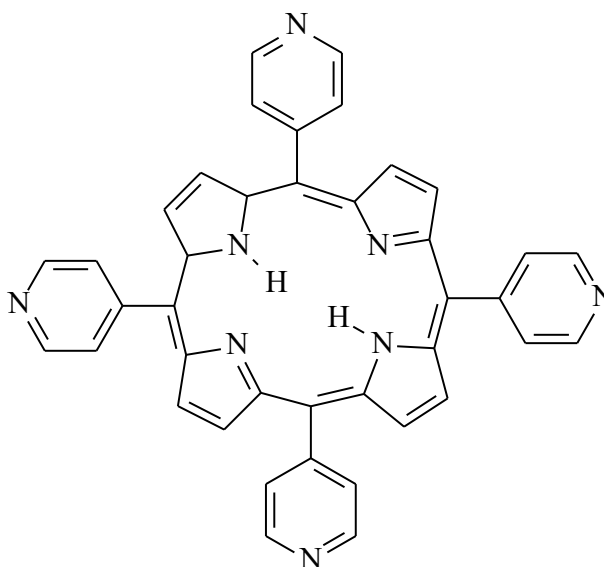
As porfirinas nomeadas como base-livres ocorrem quando não há coordenação de nenhum metal no centro porfirínico, isto é, quando nas posições 21 e 23 do anel tem hidrogênios ligados no átomo de nitrogênio.

Metaloporfirinas designam na coordenação de algum íon metálico no centro porfirínico (Figura 1) pela perda dos respectivos prótons centrais. Devido a metalação do anel uma mudança significativa da simetria ocorre, uma vez que a porfirina base livre possui uma simetria de C_{2h} e porfirinas metaladas apresentam simetria D_{4h} . O íon metálico coordenado no centro porfirínico é capaz de alterar as propriedades da estrutura, em outras palavras a escolha do íon metálico é muito importante, pois ele transfere suas propriedades catalíticas, reativas e mantém a estabilidade da molécula. O íon manganês, por exemplo, utilizado neste trabalho como metal interno, permite a obtenção de bons catalizadores e também adquire compostos com maior solubilidade em diferentes meios [2, 3].

O termo supramolecular foi definido inicialmente por Lehn [4] em 1995 onde ele descreve como sendo a química dos arranjos moleculares e das ligações intermoleculares. A obtenção de novas supramoléculas tem como objetivo desenvolver novas espécies que desempenhem melhores propriedades, especificidades e funções distintas. A química de coordenação está ganhando destaque crescente no campo da química supramolecular. Tal tendência deve-se às características favoráveis dos compostos de coordenação, como a ocorrência de várias geometrias e números de coordenação, à possibilidade de se obter supermoléculas por meio de reações de automontagem (self-assembly) e à capacidade dos complexos de se regenerarem espontaneamente, aliada às propriedades redox, catalíticas e fotoquímicas dos mesmos [5].

Neste sentido as porfirinas do tipo “building blocks”, que através de montagem coordenativa molecular, podem formar diferentes espécies com o objetivo de melhorar a estabilidade, reatividade e atividade catalítica da espécie. Um exemplo desse tipo é a 5, 10, 15, 20-(tetrapiridil)porfirina (Figura 2), uma estrutura muito utilizada em formações de espécies supramoleculares [6, 7, 8, 9, 10]. A obtenção desse composto é através da reação com pirrol destilado com 4-piridinacarboxialdeído resultando na coordenação de quatro piridinas nas posições 5, 10, 15 e 20 da porfirina base livre.

Figura 2. Estrutura da 5,10,15,20-tetrapiridilporfirina. (TPyP)



Fonte: [11]

Íons de metais de transição também podem ser coordenados nos nitrogênios piridínicos da porfirina, alterando as propriedades espectroscópicas, eletroquímicas, e reativas [5]. Os complexos de rutênio são muito estudados na coordenação dos nitrogênios piridínicos disponíveis da porfirina. Muitos trabalhos na literatura reportam a utilização de complexos de rutênio com porfirinas [10, 17, 11].

O grande interesse por essas espécies supramoleculares foi impulsionado pela descoberta de Shi e Anson que estudaram a atividade eletrocatalítica da porfirina de cobalto (II) contendo o grupo pentaaminrutênio na redução de quatro elétrons do oxigênio molecular. Esses pesquisadores verificaram que a porfirina apresentava a transferência de quatro elétrons na redução do O_2 para H_2O sem haver a formação de H_2O_2 . [12]

Em um outro trabalho realizado por Caetano e colaboradores [10], utiliza-se uma cobalto porfirina tetra-rutenada para a modificação de um dispositivo molecular por filmes constituídos por multi-camadas, o dispositivo foi utilizado para estudos eletrocatalíticos de nitrito e mostraram um aumento na velocidade de oxidação no analito quando comparado ao eletrodo limpo.

Dreyse e colaboradores [13] estudaram a redução do nitrito, utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com tetrapiridilporfirina através da metalação com zinco e cobre, utilizou-se a técnica de eletropolimerização via voltametria cíclica com 50 ciclos entre os potenciais de -1,2 à 1,5V vs. $Ag/AgCl_{(sat)}$. Os resultados com o eletrodo modificado foram

ótimos para o estudo da redução do nitrito mostrando baixos limites de detecção e baixa sensibilidade.

Dinelli e colaboradores [14] também estudaram novas porfirinas polimetaladas com complexo de rutênio e quantidades de difenilfosfina butano $\{\text{NiTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}$, o complexo supramolecular foi utilizado para a formação de filmes eletropolimerizados em superfícies de ITO e carbono vítreo. Os eletrodos se mostraram estáveis e foram aplicados para determinação de catecol.

A utilização das porfirinas estende-se em diversas áreas como, por exemplo, na automontagem molecular [15], reconhecimento molecular [16], transporte de oxigênio pelo grupo HEME [17], catálise [18] e eletrocatalise [19, 20].

1.2 Nanopartículas de ouro

O ouro é conhecido desde a antiguidade, em suas propriedades macroscópicas por ser um metal brilhante e possuir características admiráveis aos olhos humanos. É um metal dúctil, maleável e bom condutor de eletricidade. Esse metal também possui um grande interesse em nível microscópico, mais precisamente, com o avanço da nanotecnologia o estudo de metais impulsionou uma evolução aos materiais deles obtidos, com escalas na ordem de nanômetros.

Obtido em pequenas dimensões o ouro é um metal de grande interesse. Os primeiros estudos de partículas desse metal compreendeu-se com a descoberta do copo de Licurgo. Este material possui um corpo manufaturado composto por nanopartículas de prata e ouro e sua cor é dependente do meio ao qual a luz incide, isto é este possui uma característica coloração esverdeada quando visualizada por reflexão e vermelha quando visualizada por transmissão. A Figura 3 mostra o efeito observado quando o material é visualizado por transmissão e reflexão [21].

Figura 3. Imagem do copo de Licurgo com coloração verde quando visualizado por reflexão e vermelho visualizado por transmissão.



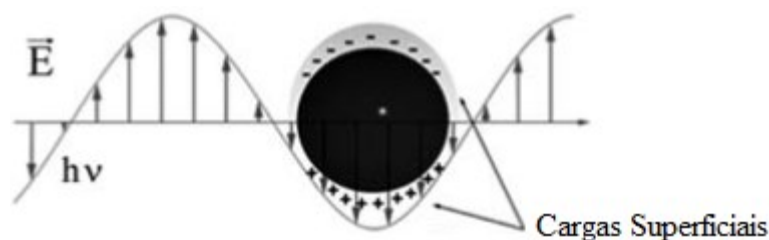
Fonte: Museu britânico, 2017.

Cientificamente, o ouro nanoparticulado foi estudado primeiramente por Faraday em 1857, quando realizou a síntese de nanopartículas de ouro pela redução do ânion AuCl_4^- em meio bifásico $\text{H}_2\text{O}/\text{CS}_2$ [21]. Mais tarde Turkevich [22], na década de 40, destacou-se na descoberta de uma nova síntese, envolvendo a redução do AuCl_4^- por íons citrato, que é um bom estabilizante para as nanopartículas e evita o processo de agregação.

Posteriormente, um novo método foi desenvolvido por Brust [23], que utilizando os conhecimentos de Faraday, desenvolveu um novo método de síntese em um sistema bifásico tolueno/água. A redução do ouro é realizada por uma solução de borohidreto de sódio e a fase em meio orgânico é preparada com brometo de hexadeciltrimetilamonio, que é o reagente de transferência de fase. A solução obtida possui uma coloração roxa e apresenta uma banda de absorção da região do ultravioleta e visível em 520 nm. [21].

As diferentes cores observadas na formação das nanopartículas de ouro são explicadas devido a formação da banda plasmon, uma onda formada através da geração de um campo eletromagnético gerado pela luz propagada, induzindo uma oscilação dos elétrons da banda de condução do metal, propagando-se como uma onda plasmônica. Quando a banda plasmônica é formada ocorre uma separação de cargas gerando dipolos oscilantes, cuja magnitude alcança um máximo na superfície das nanopartículas [24] como ilustrado na Figura 4.

Figura 4. Formação de dipolos oscilantes induzidos pela radiação eletromagnética em nanopartículas de ouro.



Fonte: Adaptada de [24]

O trabalho realizado por Katia e colaboradores [25], reporta a construção de um eletrodo modificado utilizando nanopartículas de ouro sintetizada com citrato de sódio e complexo de rutênio $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_2(\text{dppb})(\text{phen})](\text{PF}_6)$. A interação entre as espécies foi explicada eletrostaticamente e o eletrodo foi aplicado para estudos do paracetamol.

1.3 Eletrodos quimicamente modificados

A denominação de eletrodos quimicamente modificados (EQM) foi utilizada pela primeira vez na década de 70 por Moses e colaboradores [26], que definiram como sendo espécies quimicamente ativas convenientemente imobilizadas na superfície de certos dispositivos (eletrodos). A modificação de eletrodos normalmente confere a este, as características físico-químicas do modificador possibilitando assim o desenvolvimento de dispositivos com respostas adequadas para vários propósitos e aplicações, desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse. Os EQM podem ser aplicados em diversas áreas como, na saúde pública, indústria de alimentos, áreas ambientais, farmacologia, entre outros [27].

A escolha do material cuja superfície será modificada é muito importante para a preparação de um EQM. Existem diversos tipos de eletrodos que são utilizados para modificação de sua superfície, destacam-se os eletrodos de ouro, platina, carbono vítreo, fibras de carbono e pasta de carbono. O eletrodo de carbono vítreo (ECV) é um dos mais utilizados, pois apresenta boa condutividade elétrica, estabilidade térmica e robustez.

Existem diversas técnicas que são utilizadas para a modificação de eletrodos, as mais conhecidas delas são: adsorção [28, 29] que é um processo que ocorre a dissolução do agente modificador em um solvente apropriado seguido com o contato do eletrodo e esta solução, seja por imersão ou por transferência de um volume conhecido para a superfície a ser

modificada, depois do solvente ser evaporado o modificador fica imobilizado na superfície do eletrodo, a desvantagem dessa técnica é que durante a utilização do sensor pode ocorrer o processo de desorção comprometendo a sua durabilidade e a reprodutibilidade das medidas.

Outra técnica conhecida é a ligação covalente [30] que baseia-se na ligação covalente entre o agente modificador e grupos funcionais presentes na superfície do eletrodo, esta técnica permite produzir um eletrodo modificado com maior estabilidade em comparação as outras técnicas, porém consome maior tempo para sua realização e é mais difícil de ser executado. Outro método bastante empregado é o de eletropolimerização, o qual produz filmes bastante reprodutíveis e são facilmente obtidos, uma vez que este método permite o controle e o monitoramento das variáveis eletroquímicas de potencial, corrente e carga. Sendo assim, a polimerização eletroquímica designa-se em um dos melhores métodos para a preparação de eletrodos quimicamente modificados. [31]

A porfirina possui como vantagem principal a formação de filmes na superfície do eletrodo utilizando a técnica de eletropolimerização por voltametria cíclica, podendo controlar a quantidade de ciclos voltamétricos e também observar os processos redox que ocorrem nas reações. Os filmes poliméricos tem demonstrado excelentes resultados na determinação de diversas substâncias com características de maior sensibilidade e seletividade.

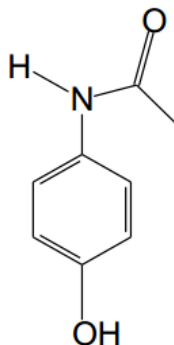
Filmes poliméricos constituídos de porfirinas tetrarutenadas estão sendo utilizados para determinação de diversos analitos como, por exemplo, catecol, dopamina, ácido ascórbico, paracetamol e nitrito [13, 32].

1.4 Paracetamol

O Acetaminofeno (N-acetil-p-aminofenol), conhecido popularmente como paracetamol (PA), é um composto muito utilizado na farmacologia, pois possui em sua formulação propriedades analgésicas e antipiréticas, possui ação semelhante a da aspirina. O PA vem sendo substituído pela aspirina em pacientes que possuem hipersensibilidade ao composto.

O paracetamol ilustrado na Figura 5 é um cristal branco inodoro, moderadamente solúvel em água, possui boa estabilidade em soluções aquosas em pH no intervalo entre 5 e 7. A primeira utilização do paracetamol na medicina foi em 1893 por Von Mering, mas tornou-se popularmente conhecido somente em 1949 o qual foi reconhecido como principal metabólito ativo em alguns medicamentos analgésicos [33, 34].

Figura 5. Estrutura química do paracetamol.



Fonte: [34].

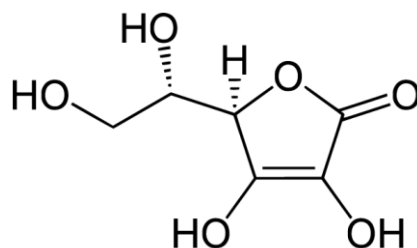
Atualmente o paracetamol é um dos medicamentos mais utilizados como analgésicos, este pode ser utilizado sozinho ou associado a algum outro componente como a cafeína e ácido ascórbico. A dosagem recomendada diariamente pela medicina é de 3 à 8 gramas. Dosagens superiores a estas podem causar doenças no fígado, hepatite medicamentosa, inflamação no pâncreas e até mesmo levar a morte, por isso o controle administrativo deve ser realizado com precaução [34].

Muitos métodos analíticos são utilizados para a determinação do paracetamol, tais como cromatografia líquida, espectrofotometria e eletroforese capilar. Porém estes métodos apresentam muitas desvantagens, como longo tempo de análise, pré-tratamento da amostra e principalmente alto custo de operação dos equipamentos. Além disso, algumas técnicas utilizadas apresentam baixa seletividade e sensibilidade, tornando inadequados para análise de rotina. Portanto os métodos eletroquímicos para determinação de PA demonstraram grande interesse ultimamente, a maioria desses utilizam eletrodos quimicamente modificados em sua determinação [35]. As técnicas eletroquímicas possuem como principais vantagens a obtenção de sensores seletivos, com boa reprodutibilidade, boa robustez e baixo custo quando comparado com as demais técnicas.

1.5 Ácido ascórbico

O ácido L-ascórbico, 2-(1,2—diidroxietil)-4,5-diidroxifuran-3-ona, vitamina C ou ácido ascórbico (AA), apresentado na Figura 6, é um sólido cristalino, inodoro, solúvel em água e com sabor ligeiramente azedo. O AA está presente em muitos sistemas biológicos, e preparações de complexos vitamínicos. Sua ausência no organismo pode levar a uma doença conhecida como escorbuto. O AA tem sido administrado como medicamento auxiliar no tratamento de várias doenças tais como, aterosclerose e mal de Alzheimer [36].

Figura 6. Estrutura química do ácido ascórbico.



Fonte: [36]

O ácido ascórbico foi isolado pela primeira vez em 1928 por Albert Szent-Cyorgyi. Em 1932, Irwin Stone descobriu eficiência do AA como vitamina, que nos humanos seriam utilizados para a prevenção do escorbuto. Além disso, o AA nos dias atuais é utilizado para manutenção de colágeno, atua como antioxidante, reforça o sistema imunológico, entre outros.

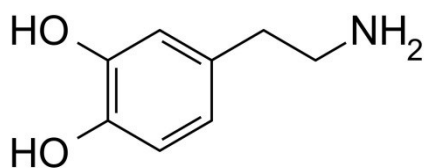
Estudos mostram que a ingestão de vitamina C em doses de 100 a 200 miligramas diariamente, minimiza o aparecimento de doenças crônicas. Os seres humanos também encontram essa vitamina em frutas como a laranja, limão, morango, mamão entre outros [36].

Existem diversos métodos utilizados para a determinação de ácido ascórbico em seus diversos meios, dentre estes, os mais utilizados são os métodos titulométricos, fluorimétricos, HPLC e espectrofotométricos [36]. Os métodos eletroquímicos também são muito utilizados para a determinação deste analito inclusive em determinações simultâneas com os analitos paracetamol e dopamina [37, 38], por exemplo.

1.6 Dopamina

A dopamina é um neurotransmissor central importante sintetizado naturalmente por nossas células nervosas. Esse neurotransmissor é precursor metabólico da noradrenalina e adrenalina. No Brasil a dopamina é comercializada em ampolas contendo 5 mg mL^{-1} e essa substância está relacionada com a coordenação motora, à motivação sexual, e sensações de prazer, e também está associada com doenças neuro-degenerativas como por exemplo o mal de Parkinson e a esquizofrenia [39]. Sua fórmula molecular está apresentada na Figura 7.

Figura 7. Fórmula molecular da dopamina.



Fonte: [39]

A detecção eletroquímica de dopamina é significativamente dificultada na presença de ácido ascórbico, já que estes oxidam-se na mesma faixa de potencial e estão sempre presentes em fluídos biológicos. Como geralmente os eletrodos convencionais demonstram baixa seletividade, a modificação de eletrodos com diversas espécies modificadoras estão sendo utilizados para a tentativa de melhorar a seletividade do método e assim poder detectar essas espécies em uma única etapa. Diversos materiais para modificações de eletrodos em determinação de dopamina estão sendo desenvolvidos como nanopartículas metálicas [40, 41], polímeros [42, 43], carbono [44] e biomateriais [45].

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é sintetizar a porfirina supramolecular $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$, utilizando como precursores a TPyP, $[\text{Mn-TPyP}]^+$ e o complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$. Construir um eletrodo modificado com a porfirina supramolecular através do método de eletropolimerização utilizando um eletrodo de carbono vítreo, posteriormente aplicar esse eletrodo como sensor eletroquímico para determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol.

Com intuito de melhorar ainda mais a seletividade do eletrodo modificado, pretende-se sintetizar nanopartículas de ouro utilizando um sistema bifásico contendo tolueno/água e utilizá-las na imobilização da superfície do eletrodo de carbono vítreo juntamente com a porfirina supramolecular através de interações eletrostáticas. Em seguida, pretende-se aplicar o eletrodo modificado como sensor eletroquímico para determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e solventes

Para a realização das sínteses das porfirinas utilizaram os seguintes reagentes e solventes: 5, 10, 15, 20-tetrapiridilporfirina (Sigma-Aldrich), acetato de sódio hidratado (Vetec), acetato de manganês (Merk), permanganato de potássio (Vetec), diclorometano (Vetec), metanol (Vetec), ácido clorídrico (Vetec), éter etílico (Vetec) e ácido acético glacial (Dinâmica).

A síntese das nanopartículas de ouro (AuNPs) foi realizada com brometo de hexadeciltrimetilamônio (Sigma), tolueno (Vetec), solução de tetracloroaurato (III) de hidrogênio, HAuCl_4 (Sigma-Aldrich) e borohidreto de sódio (Merk).

Para o estudo dos analitos propostos neste trabalho utilizaram-se: paracetamol (padronizado, 99% de pureza), ácido ascórbico (Vetec), dopamina (Sigma-Aldrich). O tampão acetato de sódio foi preparado utilizando acetato de sódio hidratado (Vetec) e ácido acético glacial (Dinâmica), obtendo uma concentração final de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Todas as soluções aquosas foram preparadas em água ultrapura (resistividade $\geq 18,3 \text{ } \Omega \text{ cm}$) utilizando um sistema de ultrapurificação Megapurity[®].

3.2 Equipamentos e técnicas instrumentais

3.2.1 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível

Os espectros de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis) foram obtidos em um espectrofotômetro da Perkin Elmer[®] Lambda 25 do laboratório de instrumentação do curso de química da FACIP/UFU. As medidas foram realizadas em cubetas de quartzo (caminho ótico de 10 mm) contendo o solvente e o composto ao qual se deseja caracterizar com a concentração conhecida.

3.2.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos através de um espectrômetro de absorção no infravermelho por ATR do laboratório de instrumentação do curso de química da Universidade Federal de Uberlândia, com intuito de realizar um estudo qualitativo dos grupos funcionais presentes nos compostos sintetizados neste trabalho. As

amostras foram prensadas juntamente com brometo de potássio formando assim pastilhas adequadas para a caracterização dos compostos na região do infravermelho. Os espectros foram obtidos na faixa espectral de 4000 à 200 cm^{-1} .

3.2.3 Voltametria cíclica

Os voltamogramas foram obtidos através de um potenciostato/galvanostato Autolab modelo μ Autolab III acoplado a um microcomputador gerenciado pelo software GPES versão 4.9. As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando um sistema de três eletrodos constituídos por um eletrodo de trabalho (carbono vítreo limpo ou modificado), eletrodo de referência (Ag/AgCl) em solução saturada de KCl e contra-eletrodo (platina), imersos em um compartimento de 30 mL (célula eletroquímica).

Os parâmetros eletroquímicos utilizados para os estudos dos analitos foram realizados em um intervalo de potencial entre -0,4 à 1,0 V em uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

3.2.4 Preparo das soluções

Para a construção do eletrodo modificado utilizando a porfírina supramolecular, foi utilizada uma solução de HTBA em diclorometano em concentração de 0,1 mol L^{-1} como eletrólito de suporte.

As soluções estoque dos analitos foram preparadas em balões volumétricos a serem completados com o tampão acetato de sódio/ácido acético (0,1 mol L^{-1}) o pH dessa solução é de 4,5. Para estudos de pH as soluções tampão foram ajustadas com soluções recém-preparadas de NaOH e HCl em diferentes concentrações.

3.3 Sínteses dos complexos

3.3.1 Síntese da manganês porfirina ($[\text{Mn-TPyP}]^+$)

A metalação da porfirina base livre foi realizada pelo o seguinte procedimento: em um balão de fundo redondo (125 mL) foram dissolvidas 0,150 g ($2,43 \times 10^{-4}$ mol) da TPyP adquirida da Aldrich em 25 mL de ácido acético glacial, em seguida adicionaram-se lentamente 0,149 g ($6,08 \times 10^{-4}$ mol) de acetato de manganês. A solução foi deixada em refluxo por aproximadamente 6 horas. Posteriormente precipitou-se o composto com uma solução de acetato de sódio (0,5 mol L^{-1}). Por fim o solvente foi rotaevaporado e o sólido resultante foi

lavado com água ultra-pura gelada. A reação foi acompanhada espectrofotometricamente pela técnica UV-vis. A massa obtida foi de 1,0685 g e o rendimento foi de 62%.

3.3.2 Síntese do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)] (aqua)

Em um tubo de Schlenk, dissolveram-se 1,144 g do complexo [Ru₂Cl₄(dppb)₃] em aproximadamente 20 mL de etanol e borbulhou-se gás cloro gerado a partir da reação de ácido clorídrico com permanganato de potássio, observou-se o processo da reação com a formação do composto pela mudança de cor da solução que passou de verde para vermelho intenso. Posteriormente a solução foi filtrada e lavada com éter etílico. O rendimento dessa reação não foi calculado, isto porque para a obtenção do complexo necessitou-se borbulhar gás cloro por outras vezes até a obtenção do complexo de coloração vermelho intenso e para isso o complexo teve que ser solubilizado novamente com etanol, portanto houve grandes perdas de massa no procedimento. Posteriormente o sólido obtido foi e seco à vácuo.

3.3.3 Síntese da porfirina supramolecular: {MnTPyP[RuCl₃(dppb)]₄}⁺

A porfirina supramolecular foi sintetizada utilizando-se uma proporção estequiométrica de 1 mol do complexo [Mn-TPyP]⁺ para 4,1 mol do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)]. Em um balão de fundo redondo adicionam-se 0,015 g da [Mn-TPyP]⁺. Preparou-se uma solução com 10 mL de diclorometano e 1 mL de metanol em uma proveta (20 mL) posteriormente adicionou-se essa solução ao balão contendo a porfirina. Em seguida, adicionou-se 0,0493 g do aqua. A mistura ficou em agitação por 6 horas. Terminada a reação, rotoevaporou-se metade do solvente, a solução resultante foi precipitada e lavada com éter etílico. O rendimento da reação foi de 82%, com massa final de 0,0631 g.

3.3.4 Síntese das nanopartículas de ouro

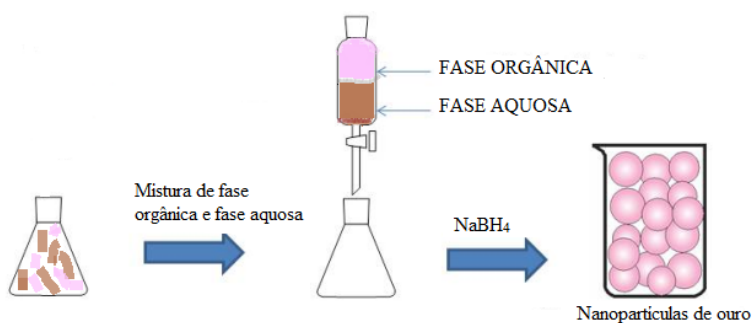
A síntese das nanopartículas de ouro coloidais foram sintetizadas com base da literatura [23, 46]. Foram preparadas as seguintes soluções: uma solução de brometo de hexadeciltrimetilamônio (50 mmol) em 80 mL de tolueno e uma solução aquosa de HAuCl₄ (12 mg mL⁻¹) na qual o pH foi corrigido para aproximadamente 6. Posteriormente a solução aquosa de HAuCl₄ foi vertida na solução orgânica e este sistema foi agitado por 10 minutos. Uma solução de NaBH₄ (0,4 mol L⁻¹) em 25 mL de água foi adicionada gota à gota na mistura durante 30 minutos. Em seguida a mistura foi deixada em agitação por mais 20 minutos. Por fim, a mistura foi transferida para um funil de separação e deixada em repouso por um dia. As

fases foram separadas e recolhidas em frascos distintos. O Esquema 1 demonstra a obtenção das nanopartículas de ouro pelo método de Brust.

A solução utilizada neste trabalho foi a que está contida na fase orgânica, onde o produto obtido é uma suspensão coloidal contendo nanopartículas de ouro. A fase orgânica utilizada continha uma pequena quantidade de solução da fase aquosa, isto porque o reagente de brometo de hexadeciltrimetilamônio não é um reagente específico para a transferência de fase, ele é um surfactante, mas, o mesmo conseguiu separar as fases de modo eficiente, essa separação foi observada visualmente.

A estabilização da solução de nanopartículas de ouro é pelo próprio reagente de transferência de fase, a solução mantém-se estável por aproximadamente três meses.

Esquema 1. Obtenção das nanopartículas de ouro pelo método de Brust, 1996.



Fonte: do próprio autor.

3.4 Preparação dos eletrodos modificados.

3.4.1 Eletrodo modificado com a porfirina supramolecular $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$

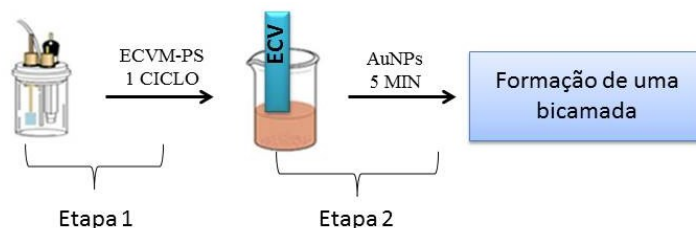
Inicialmente realizou-se a limpeza do ECV através de polimento utilizando uma suspensão de alumina ($0,03 \mu\text{m}$). Posteriormente realizou-se a modificação do eletrodo de carbono vítreo modificado com a porfirina supramolecular (ECVM-PS) utilizando a técnica de eletropolimerização através do seguinte procedimento: utilizou-se como eletrólito de suporte uma solução de HTBA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diclorometano, em seguida adicionou-se 5 mL dessa solução em uma célula eletroquímica de 10 mL, foi adicionada uma porção porfirina supramolecular $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Pela técnica de voltametria cíclica em uma faixa de potencial de $-0,4$ à $1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{(s)}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , o filme polimérico foi formado na superfície do eletrodo de carbono vítreo através da realização de 4 ciclos voltamétricos. Após a eletropolimerização, o eletrodo

modificado foi lavado com acetona para retirar o excesso de eletrólito, e logo após o filme polimérico foi estabilizado realizando uma limpeza eletroquímica através de aproximadamente 70 ciclos voltamétricos em solução de acetato de sódio em pH 9. Esse eletrodo foi utilizado para os estudos e quantificação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol.

3.4.2 Eletrodo modificado com porfirina supramolecular e nanopartículas de ouro

O eletrodo modificado com a porfirina supramolecular e nanopartículas de ouro (ECVM-PS/AuNPs) foi preparado através do seguinte procedimento: Previamente foi realizada a limpeza do eletrodo de carbono vítreo com a suspensão de alumina. Posteriormente a porfirina supramolecular foi adicionada na concentração de 1×10^{-4} em 5 mL do eletrólito de suporte, HTBA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diclorometano e em seguida foi realizado um ciclo voltamétrico pela técnica de voltametria cíclica na faixa de potencial de $-0,4$ à $1,0 \text{ V}$ na velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} como descrito no item 3.4.1. O eletrodo foi imerso em seguida na solução de suspensão coloidal contendo nanopartículas de ouro por 5 minutos. Esse procedimento com uma camada (um ciclo) de porfirina e uma camada de nanopartículas de ouro forma-se uma bicamada. Foram realizadas mais duas bicamadas, totalizando três bicamadas, constituindo por fim o ECVM-PS/AuNPs. O procedimento descrito para obtenção do ECVM-PS/AuNPs está ilustrado no Esquema 2.

Esquema 2. Ilustração do sistema para obtenção do ECVM-PS/AuNPs.



Fonte: do próprio autor.

3.4.3 Caracterização do material com eletrodo de ITO pela técnica UV-vis

Para a caracterização do ECVM-PS/AuNPs foi utilizado o seguinte procedimento: em um eletrodo de ITO previamente limpo com diclorometano, foi obtido o filme da porfirina supramolecular, por voltametria cíclica (um ciclo), utilizando como eletrólito de suporte $0,1 \text{ mol/L}$ HTBA em diclorometano. O ITO foi utilizado como eletrodo de trabalho, o

eletrodo de platina como contra eletrodo e $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{s})}$ como eletrodo de referência, em uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , em uma faixa de potencial de -0,4 a 1,0 V. O filme foi lavado com acetona para retirar o excesso de porfirina no eletrodo. Posteriormente o eletrodo modificado foi mergulhado na solução de AuNPs por 5 minutos e lavado com tolueno, o eletrodo com a bicamada foi analisado por UV-vis em uma faixa espectral de 400 á 800 nm. Este procedimento foi repetido por mais duas vezes, realizado da mesma forma que no item 3.4.2 com a formação das 3 bicamadas ECVM-PS/AuNPs para assim verificar a interação da porfirina supramolecular com as nanopartículas de ouro.

3.4.3 Estudo e quantificação dos analitos

Foi utilizada a técnica de voltametria cíclica para as quantificações simultâneas do ácido ascórbico e paracetamol e ácido ascórbico e dopamina.

Para as análises utilizou-se uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos em um compartimento de 30 mL. Foram empregados nessa determinação: eletrodos de carbono vítreo modificados como eletrodos de trabalho, platina como contra eletrodo e $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{s})}$ como eletrodo de referência.

As soluções estoque dos analitos foram preparadas em balões volumétricos (10 mL) utilizando água ultra-pura. Todos os estudos realizados em tampão acetato de sódio e ácido acético. Para a construção das curvas analíticas foram realizadas adições sucessivas das soluções estoque dos analitos. Em seguida construíram-se gráficos de concentração *versus* corrente de pico anódica.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das porfirinas e nanopartículas de ouro pelo método de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis).

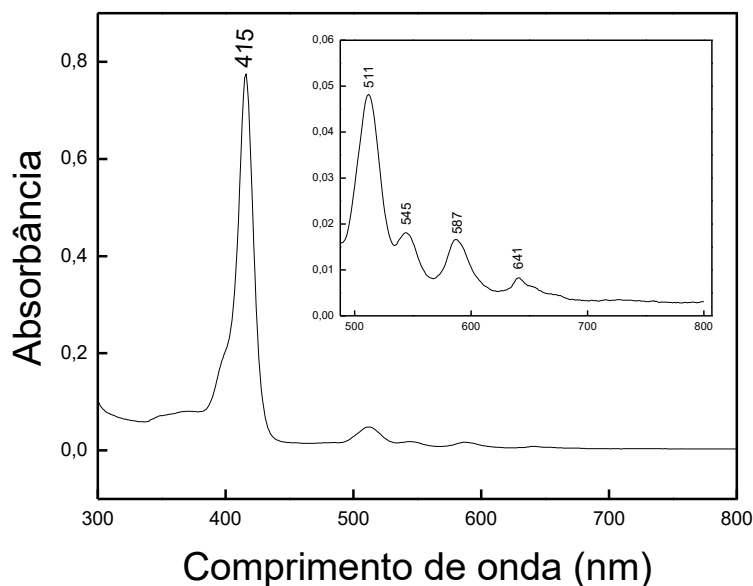
Nesta sessão serão apresentadas as caracterizações pela técnica de UV-vis da porfirina base livre (TPyP), metaloporfirina de manganês $[\text{MnTPyP}]^+$, porfirina supramolecular $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ e complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ (aqua). As porfirinas apresentam bandas características já comprovadas pela literatura [47, 48]. As soluções das porfirinas caracterizadas por esta técnica foram preparadas em concentrações conhecidas, permitindo assim quantificar e calcular os valores dos coeficientes de absorvidade molares (ϵ) para compreensão das transições observadas para os compostos porfirínicos.

A solução de nanopartículas de ouro caracterizadas pela técnica de UV-vis, foi realizada de forma qualitativa, na qual foi possível a identificação da banda característica das nanopartículas de ouro.

4.1.1 Caracterização da 5, 10, 15, 20-tetrapiridilporfirina (TPyP).

A solução da porfirina base livre TPyP foi caracterizada em uma solução de concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em diclorometano. A porfirina TPyP apresentou uma banda de absorção (Soret) e outras quatro bandas de absorção com menor intensidade (Q). Essas absorções observadas no UV-vis são determinadas essencialmente pelos elétrons do anel porfirínico, sendo transições $\pi \rightarrow \pi^*$. A Figura 8 apresenta o espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina TPyP.

Figura 8. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina TPyP ($1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$).



Fonte: do próprio autor.

O espectro de absorção apresentado na Figura 8 apresenta uma banda Soret em aproximadamente 415 nm e quatro bandas Q em 511, 545, 587 e 641 nm. Os coeficientes de absortividade molar foram calculados pela equação da lei de Beer-Lambert [49] que define que a absorbância é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente. A Equação 1 apresenta a Equação da lei de Beer.

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (\text{Equação 1})$$

Onde A é a absorbância, ε é a absortividade molar, b é o caminho óptico do meio absorvente (1 cm), e c é a concentração da espécie (mol L^{-1}). A absortividade molar de um composto em um máximo de absorção é característica dessa espécie, absortividades altas são muito importantes nas análises quantitativas, pois levam a altas sensibilidades analíticas [50]. Os valores de absortividade molar das bandas características da porfirina TPyP estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de ϵ para as bandas de absorção da TPyP (1×10^{-5} mol L⁻¹) em diclorometano.

Bandas (nm)	Log absortividade molar (ϵ)
415	4,892
511	3,699
545	3,256
587	3,230
641	2,954

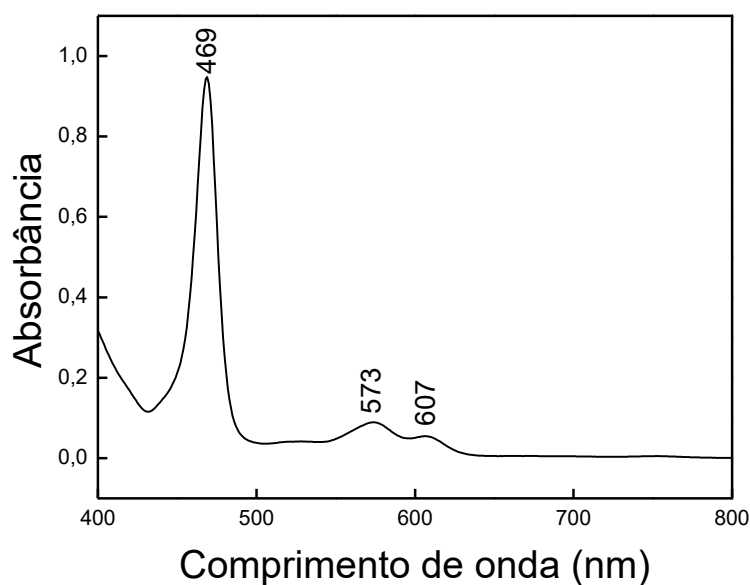
Os valores de ϵ que variam de 1 até 10^5 são transições totalmente permitidas por simetria [49].

4.1.2 Caracterização da metaloporfirina [Mn-TPyP]⁺

Para a porfirina metalada [MnTPyP]⁺, foi observada uma diminuição do número de bandas de transição da porfirina base livre depois da metalação, essa alteração observada pode ser explicada devido a mudança de simetria da porfirina. A porfirina base livre TPyP possui uma simetria C_{2h} e quando esta é metalada ela adquire uma nova simetria D_{4h}, explicando assim a variação das transições observadas na metaloporfirina. [51]

O espectro de absorção UV-vis apresentado na Figura 9 mostra as bandas características da metaloporfirina sintetizada neste trabalho, o espectro apresentou uma banda Soret em 469 nm e duas bandas Q de menor intensidade em 573 e 607 nm. Foi observado um deslocamento batocrômico, isto mostra que houve a metalação do metal.

Figura 9. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina $[\text{Mn-TPyP}]^+$ ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).



Fonte: do próprio autor.

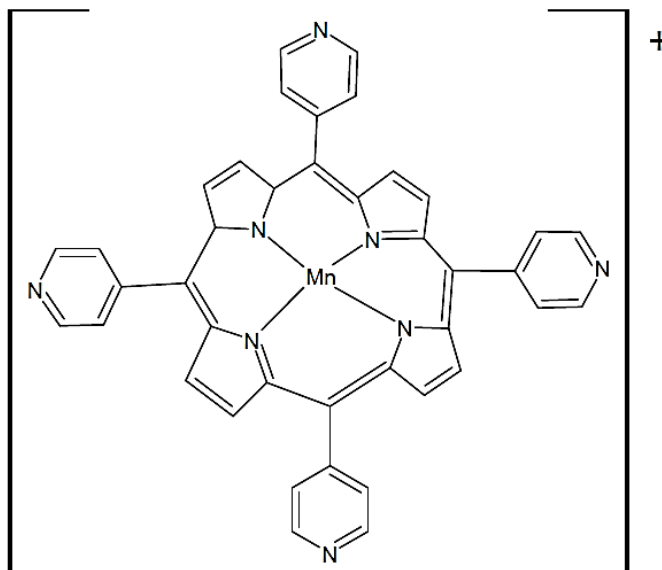
Os valores de absorvidade molar referente a metaloporfirina $[\text{Mn-TPyP}]^+$, calculados com auxílio da Equação 1 estão listados na Tabela 2. Os valores de ϵ foram comparados com a literatura [52].

Tabela 2. Valores de absorvidade molar da $[\text{Mn-TPyP}]^+$ ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em diclorometano.

Bandas (nm)	Log absorvidade molar (ϵ)	Log absorvidade molar (ϵ) da literatura
469	3,982	3,951
573	2,954	2,963
607	2,778	2,848

A estrutura proposta para a $[\text{Mn-TPyP}]^+$, está apresentada na Figura 10, mostrando a coordenação do metal manganês no centro da porfirina onde há a troca de dois átomos de hidrogênio centrais do anel porfirínico por o íon manganês.

Figura 10. Estrutura proposta para a $[\text{Mn-TPyP}]^+$.

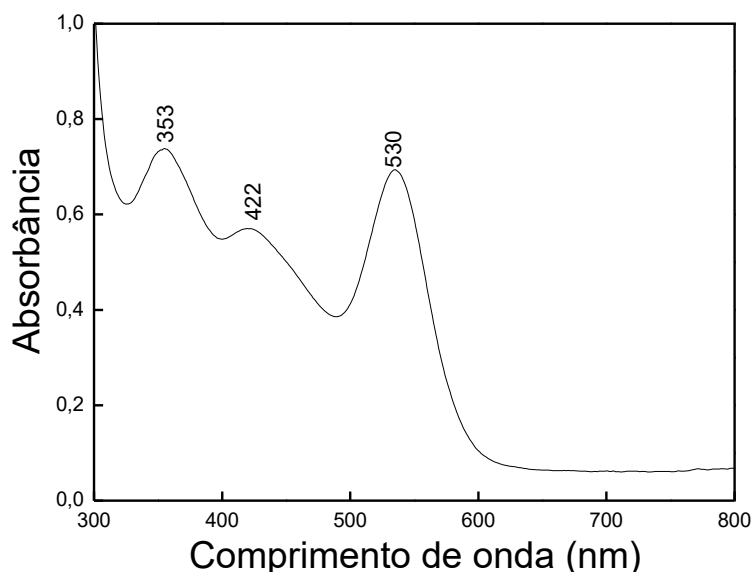


Fonte: [56]

4.1.3 Caracterização do complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$.

O complexo precursor (aqua) *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ foi caracterizado pela técnica de UV-vis, utilizando como solvente diclorometano. A Figura 11 apresenta o espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo aqua. Foram observadas três bandas em 353, 422 e 530 nm que referem-se a bandas de transferência de carga ligante-metal (TCLM) ao quais são esperadas nesta faixa de transição e estão de acordo, quando comparada com os resultados da literatura [52]

Figura 11. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)] (5×10^{-5} mol L⁻¹).



Fonte: do próprio autor.

Os valores de absorvidade molar para o complexo periférico estão listados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de absorvidade molar do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)].

Bandas(nm)	Log absorvidade molar (ϵ)
353	4,176
422	4,064
530	4,140

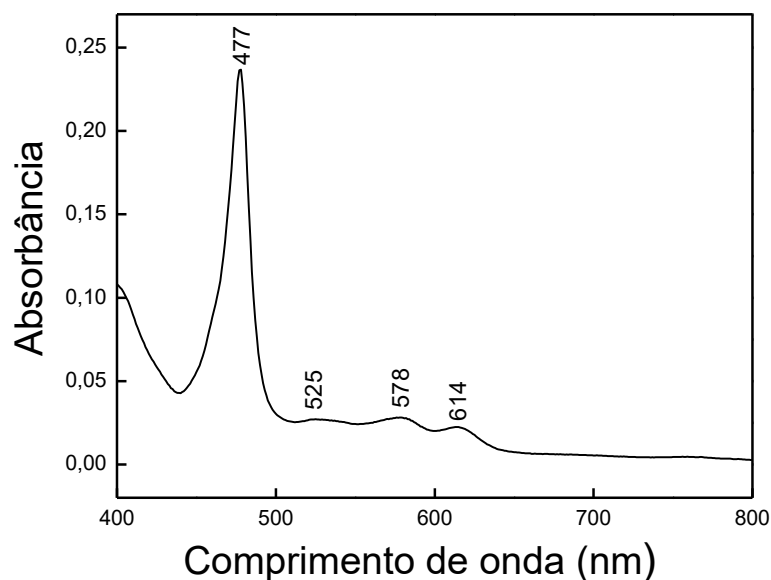
4.1.4 Caracterização da porfirina supramolecular {MnTPyP[RuCl₃(dppb)]₄}⁺.

A porfirina supramolecular {MnTPyP[RuCl₃(dppb)]₄}⁺ utilizada na preparação do eletrodo modificado apresentou uma banda Soret em 467 nm e duas bandas Q em 571, e 613 nm, respectivamente. O espectro UV-vis para a porfirina supramolecular foi realizado em diclorometano na concentração de 1×10^{-6} mol L⁻¹. Comparando-se a porfirina supramolecular (Figura 13) com a porfirina metalada apresentada no item 4.1.2, pode-se observar que as transições observadas mantiveram-se, podendo concluir que a coordenação do complexo aqua *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)] a porfirina metalada, não interfere na simetria local da porfirina.

Pode-se prever que o espectro da porfirina supramolecular é a soma do espectro eletrônico da porfirina metalada com o complexo periférico. A banda observada em 525 é a

banda característica do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)]. A Figura 12 apresenta o espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina {MnTPyP[RuCl₃(dppb)]₄}⁺.

Figura 12. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível da porfirina {MnTPyP[RuCl₃(dppb)]₄}⁺ (1x10⁻⁶ mol L⁻¹).



Fonte: do próprio autor.

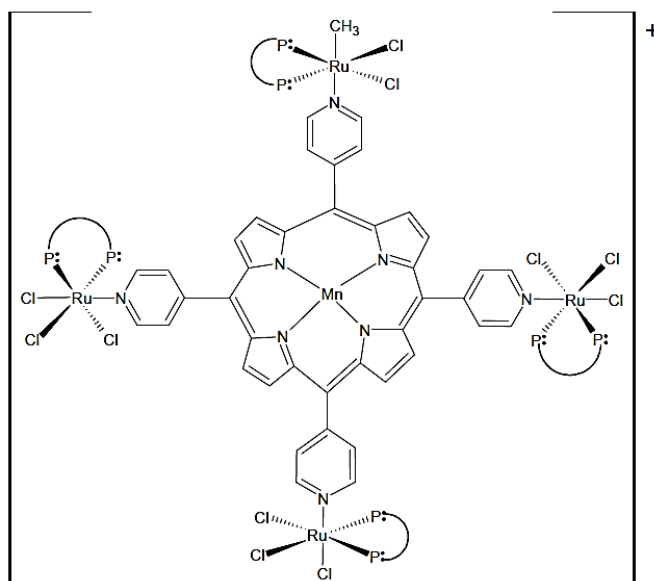
Os valores calculados dos coeficientes de absortividade molar para a porfirina supramolecular foram comparados e estão de acordo com a literatura [52], estão apresentados na Tabela 4 os valores obtidos.

Tabela 4. Valores de ϵ para a porfirina {MnTPyP[RuCl₃(dppb)]₄}⁺ (1x10⁻⁶ mol L⁻¹) em diclorometano.

Bandas (nm)	Log absortividade molar (ϵ)
477	5,380
525	4,431
678	4,447
614	4,301

A estrutura proposta para a porfirina supramolecular está apresentada na Figura 13.

Figura 13. Estrutura proposta para a porfirina supramolecular $\{MnTPyP[RuCl_3(dppb)]_4\}^+$



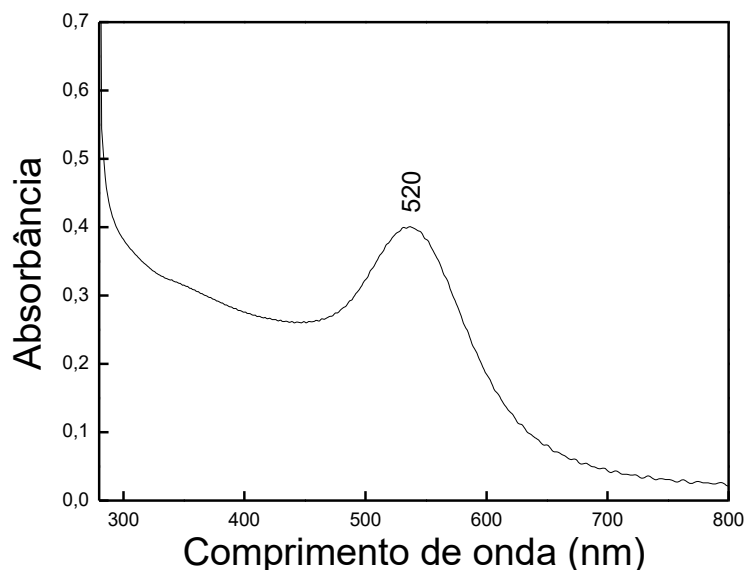
Fonte: [52]

4.1.5 Caracterização das nanopartículas de ouro.

A formação da suspensão coloidal obtida na síntese das nanopartículas foi evidenciada pela mudança de coloração da solução de ouro após a adição do borohidreto de sódio que passou de amarela para roxa. A função do reagente $NaBH_4$ é permitir a redução do metal e também manter a estabilização da solução coloidal e consequentemente evitar a agregação da solução.

A suspensão coloidal contendo nanopartículas de ouro foi caracterizada pela técnica de UV-vis. Através do espectro obtido (Figura 14) pela técnica foi possível observar uma banda em 520 nm. Essa banda em 520 nm é característica da formação coloidal e permite predizer o tamanho aproximado do diâmetro das nanopartículas. O tamanho estimado para as nanopartículas formadas neste trabalho é previsto com aproximadamente 20 nm [21]. A solução da nanopartícula de ouro mantém-se estável por aproximadamente três meses, comprovado pela realização de um novo espectro de absorção, em que a banda de absorção manteve-se próxima a 520 nm.

Figura 14. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para AuNPs em tolueno.



Fonte: do próprio autor.

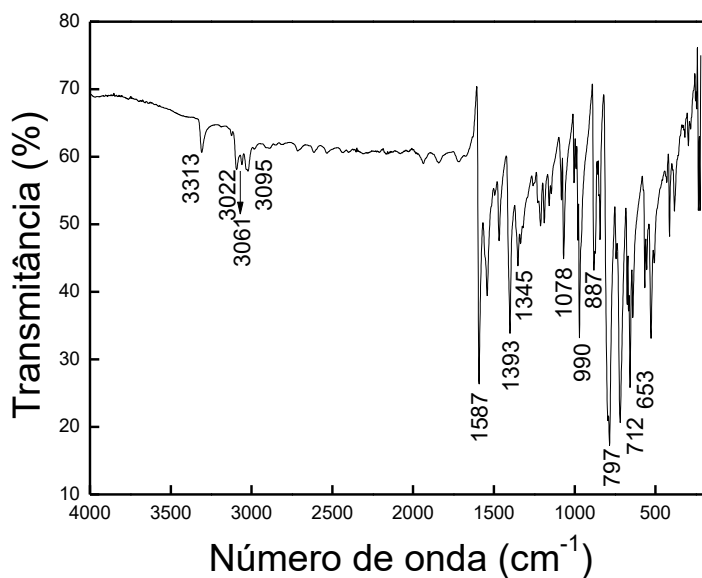
4.2 Caracterização das porfirinas pela técnica de Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Refletância Total Atenuada (ATR).

A avaliação qualitativa pela técnica de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por refletância total atenuada (ATR) que permitiu a identificação dos grupos funcionais principais presentes nos complexos porfirínicos sintetizados neste trabalho. Para a caracterização desses complexos foi utilizada uma faixa espectral de 4000 a 200cm^{-1} .

4.2.1 Caracterização da TPyP.

Foram selecionadas as principais bandas referentes a porfirina 5, 10, 15, 20 tetrapiridilporfirina (TPyP) onde há ausência de complexos periféricos e metal central em sua estrutura. O espectro de Infra Vermelho apresentado na Figura 15 apresentou as bandas características das duplas ligações presentes no anel porfirínico bem como as bandas característicos das ligações de carbono e nitrogênio dos grupos piridínicos.

Figura 15. Espectro de absorção na região do infravermelho da TPyP.



Fonte: do próprio autor.

A Tabela 5 apresenta a tentativa de atribuições da porfirina base livre (TPyP). As atribuições foram designadas de acordo com a literatura [53, 54, 55,56].

Tabela 5. Atribuições das bandas de IV da TPyP.

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuição
653	γ C-H
712	γ C-H
797	γ C-H
887	ν C=C
990	δ C-H
1345	ν C=C
1393	ν C=C
1475	ν C=C
1587	ν C=N
3022, 3061, 3095	ν C-H aromático

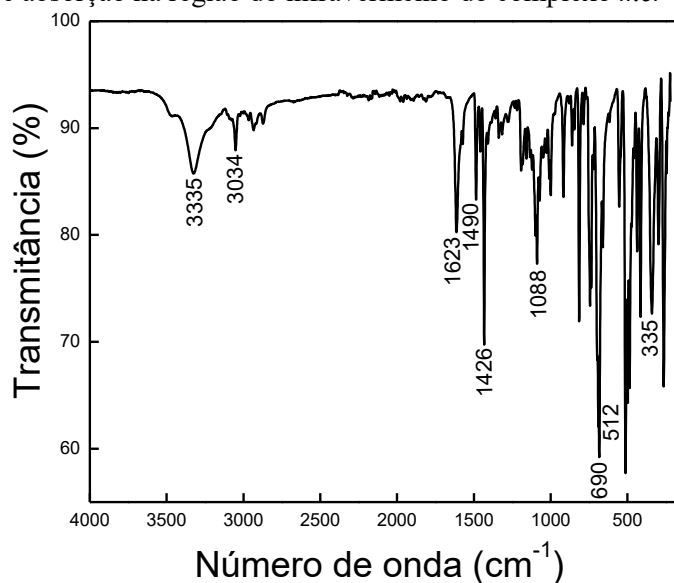
Onde: ν = Estiramento simétrico; γ = deformação fora do plano; δ = deformação angular simétrica no plano.

As regiões atribuídas são referentes aos estiramentos e deformações do anel porfirínico, como por exemplo, ligações simples e duplas dos átomos entre os carbonos, e ligações simples e duplas entre os átomos de carbono e nitrogênio.

4.2.2 Caracterização do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)].

O complexo de rutênio foi caracterizado pela técnica de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por ATR, as bandas principais evidenciadas foram descritas no gráfico apresentado na Figura 16 e as tentativas de atribuições para essas bandas estão apresentadas na Tabela. As informações referentes às tentativas de atribuições foram retiradas da literatura [53, 54, 56, 57, 58, 59].

Figura 16. Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)].



Fonte: do próprio autor.

Tabela 6. Tentativas de atribuições da bandas de IV para o complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)].

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuição
335	ν Ru-Cl
512	δ P-C
690	δ P-C
1088	ν P-C
1426	ν C-H
1490	ν C=C, ν P-C
1623	δ O-H coordenado
3034	ν C-H aromático
3335	ν O-H

Onde: ν = Estiramento; γ = deformação fora do plano; δ = deformação angular simétrica no plano.

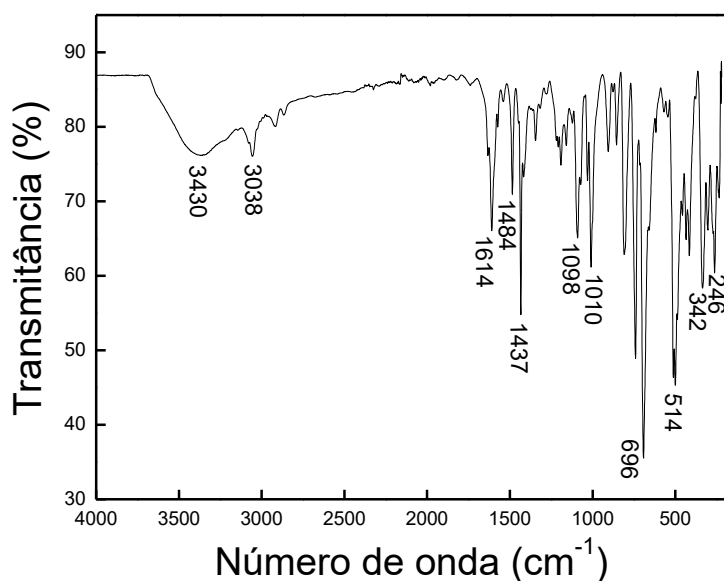
Os resultados de IV para o complexo aqua foi comparado com os da literatura [60], mostrando que o complexo foi obtido com sucesso.

4.2.3 Caracterização da $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$.

Foram encontradas dificuldades para a caracterização deste complexo por IV, pois o espectro apresentou muitas vibrações referentes ao porfirínico e também do complexo periférico de rutênio. Pode-se esperar que o espectro de IV da porfirina supramolecular seja uma soma dos espectros da porfirina TPyP com o do complexo aqua *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$. Espera-se também as bandas referentes ao complexo periférico sejam mais intensas, uma vez que a sua proporção é maior que a da porfirina (a relação molar é de 1:4).

A Figura 17 apresenta o espectro de absorção na região do infravermelho para a porfirina supramolecular: $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$, onde apresenta-se as bandas e tentativas de atribuições para esse complexo [50, 53, 54, 55, 56].

Figura 17. Espectro de absorção na região do infravermelho por ATR para a $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$.



Fonte: do próprio autor.

A Tabela 7 apresenta as tentativas de atribuições para a $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$.

Tabela 7. Atribuições para a $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$.

Frequência (cm^{-1})	Atribuição
246	ν Mn-N
342	ν Ru-Cl
514	δ P-C
696	δ P-C
1010	ν P-C
1098	ν P-C
1437	ν C-H
1484	ν C=C e ν P-C
1614	ν C=N
3038	ν C-H aromático
3440	ν O-H

Onde: ν = Estiramento; γ = deformação fora do plano; δ = deformação angular simétrica no plano.

4.3 Caracterização do eletrodo de carbono vítreo modificado com porfirina supramolecular.

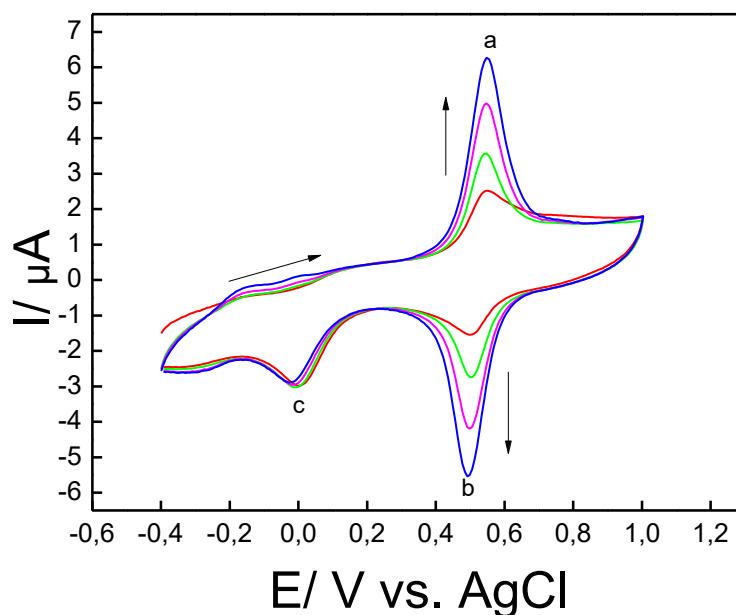
A técnica de eletropolimerização foi utilizada para a imobilização do complexo $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ na superfície do eletrodo de carbono vítreo por voltametria cíclica. As porfirinas que utilizam o complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ como precursor, sofrem eletropolimerização redutiva, possibilitando a formação de um filme polimérico na superfície do eletrodo de carbono vítreo. Estudos realizados por Dinelli e colaboradores mostram que a eletropolimerização é explicada pelo comportamento eletroquímico do aqua complexo que durante a voltametria cíclica forma um complexo binuclear de valência mista, o $[\text{Ru}_2\text{Cl}_5(\text{dppb})_2]$. [56]

Para a obtenção do filme polimérico foram realizados quatro ciclos voltamétricos utilizando uma faixa de potencial de -0.4 a 1,0 V vs. Ag/AgCl e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , o eletrólito suporte utilizado foi uma solução de HTBA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diclorometano.

O filme foi obtido com 4 ciclos voltamétricos, pois filmes obtidos com maiores números de ciclos pode levar a passivação do eletrodo.

Os voltamogramas cíclicos obtidos através da eletropolimerização da porfirina supramolecular estão apresentados na Figura 18.

Figura 18. Voltamogramas cíclicos registrados em solução de HTBA(0,1 mol L⁻¹) para a obtenção do filme polimérico no eletrodo de carbono vítreo.



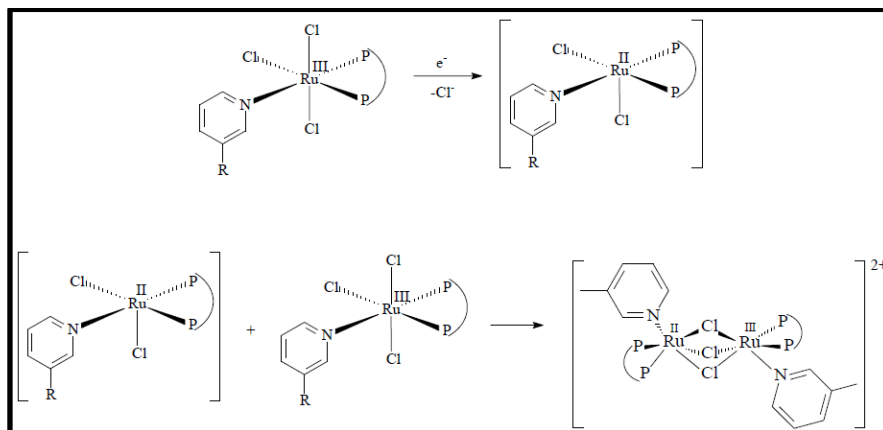
Fonte: do próprio autor.

Os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 19 mostram que a porfirina foi eletropolimerizada na superfície do eletrodo, a formação do filme é confirmada pelo aumento na corrente tanto catódica quanto anódica durante o processo eletroquímico em aproximadamente 0,5 V.

Observa-se o seguinte comportamento para a formação do filme polimérico na superfície do eletrodo: os picos a e b referem-se aos processos que ocorrem na superfície do eletrodo referente ao par redox $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{Ru}^{\text{III}}$ e o pico c é correspondente ao Ru (III) presente na solução, primeiramente a espécie de Ru(III) (489 mV) é reduzida na superfície do eletrodo, esta forma uma espécie intermediária de Ru(II), que então reage com a espécie de Ru(III) em solução, formando o complexo binuclear de valência mista.

O mecanismo apresentado na Figura 19 foi proposto por Dinelli, 2003, para o processo de eletropolimerização da porfirina polirutenada na superfície do eletrodo de carbono vítreo, este mecanismo foi baseado no comportamento eletroquímico que ocorre em solução relacionado ao composto *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)], considerando a formação do composto binuclear de valência mista [Ru₂Cl₅(dppb)₂]. [56]

Figura 19. Mecanismo proposto para a eletropolimerização da porfirina polirutenada na superfície do eletrodo de carbono vítreo.



Fonte: [56]

4.4 Comportamento eletroquímico dos analitos estudados.

O comportamento eletroquímico dos analitos AA, PA e DP foram analisados por voltametria cíclica utilizando um intervalo de potencial entre -0,4 à 1,0 V em uma solução tampão ácido acético/acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5). Foram realizados estudos para analisar se os analitos respondem reversivelmente e também estudos comparativos entre o eletrodo modificado com a porfirina supramolecular ECVM-PS (ou nanopartículas de ouro) e o eletrodo de carbono vítreo não modificado (ECV).

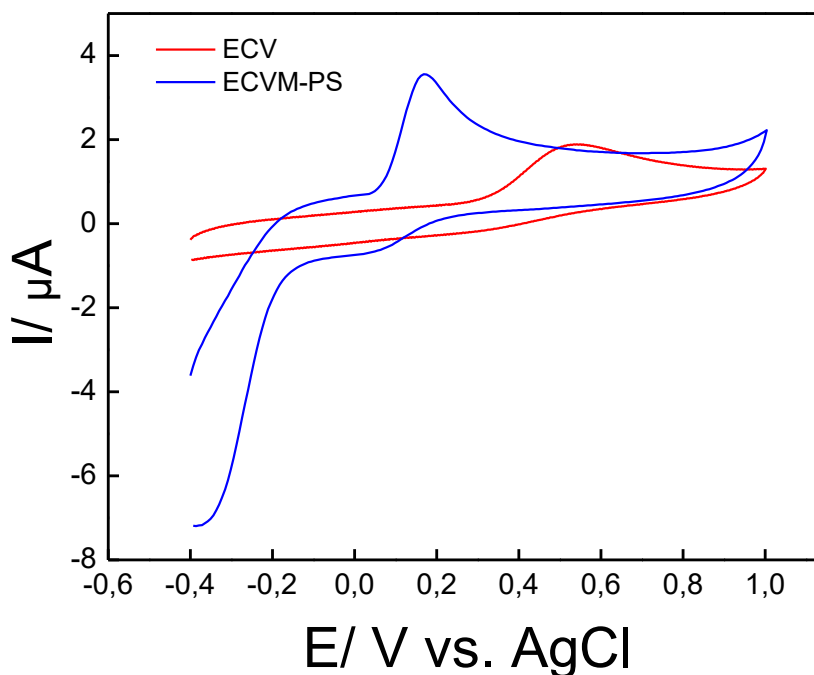
4.4.1 Comportamento eletroquímico do ácido ascórbico.

Analisando os voltamogramas apresentados na Figura 20, observa-se que o processo redox do ácido ascórbico é irreversível, pois não existe nenhum pico inverso à direção da varredura de potencial, observando somente sua oxidação em aproximadamente 0,2 V.

Comparando-se o eletrodo de carbono vítreo limpo com o eletrodo quimicamente modificado com a porfirina supramolecular, percebe-se que o eletrodo modificado apresenta uma melhor resposta tanto em relação a sensibilidade quanto em seletividade, mostrando uma maior corrente de pico anódica e um deslocamento de potencial de 0,537 para 0,168 V.

Estudos para a identificação do mecanismo do ácido ascórbico têm sido realizados em diferentes superfícies eletrônicas [61, 62]. O mecanismo aceito para soluções estudadas em pH menor que 8 foi proposto por Hu em 1986 e é aceito até hoje [62].

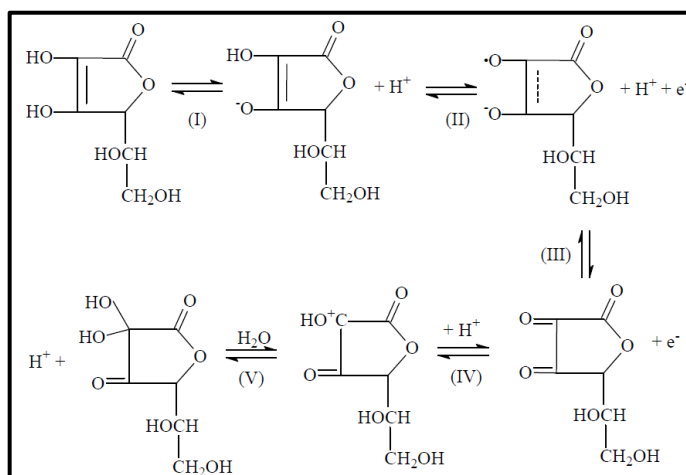
Figura 20- Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) comparando-se o ECVM-PS e o ECV para determinação de AA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .



Fonte: do próprio autor.

O mecanismo proposto para a oxidação do AA está apresentado na Figura 21.

Figura 21 - Mecanismo proposto para a oxidação do ácido ascórbico.



Fonte: [34]

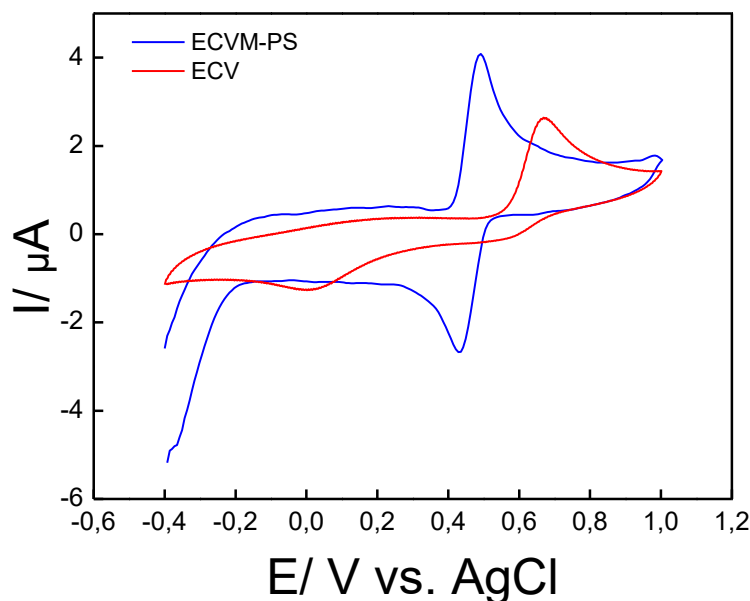
No mecanismo proposto, inicialmente ocorre a perda de um elétron levando a formação do intermediário L-ascorbato, em seguida ocorre a perda de mais um elétron formando o L-ácidodehidroascórbico (etapa determinante). Por fim, ocorre uma reação de

hidratação que garante que a redução desse composto não é observável em métodos voltamétricos [62].

4.4.2 Comportamento eletroquímico do paracetamol.

Os voltamogramas apresentados na Figura 22 mostram que quando se utiliza um eletrodo de carbono vítreo sem a modificação de sua superfície o processo redox do paracetamol é irreversível, isto é, os picos de oxidação e redução ficam muito distintos em relação às suas correntes de picos. Quando o eletrodo foi modificado utilizando o ECVM-PS o processo tornou-se reversível, isto porque a razão entre a corrente de pico anódica e corrente de pico catódica que é igual a 1,2, este valor está próximo com o valor da literatura, que diz que quando a razão entre os picos for próximo a 1 o processo pode ser considerado reversível [63].

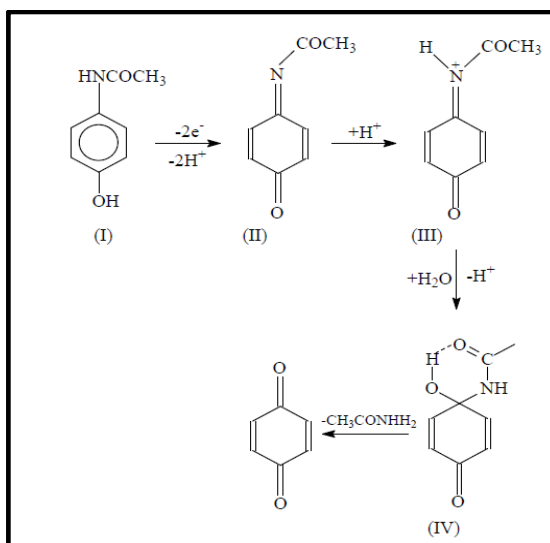
Figura 22- Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) comparando-se o ECVM-PS e o ECV para determinação de PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). VV: 100 mV s^{-1} .



Fonte: do próprio autor.

O mecanismo proposto por Van Benschoten em 1983 é ainda aceito na literatura recentemente [64,34]. O mecanismo para a oxidação/redução do paracetamol está apresentado na Figura 23.

Figura 23. Mecanismo proposto para a oxidação/redução do paracetamol.



Fonte: [34]

O mecanismo apresentado na Figura 23 mostra que inicialmente o paracetamol (I) é oxidado em um processo que envolve a perda de dois prótons e dois elétrons produzindo um intermediário (II) N-acetil-p-quinoneimina, essa espécie em soluções mais ácidas é imediatamente protonada produzindo a espécie (III) que é instável e rapidamente se converte na sua forma hidratada que posteriormente forma-se uma espécie eletroquimicamente ativa, a benzoquinona.

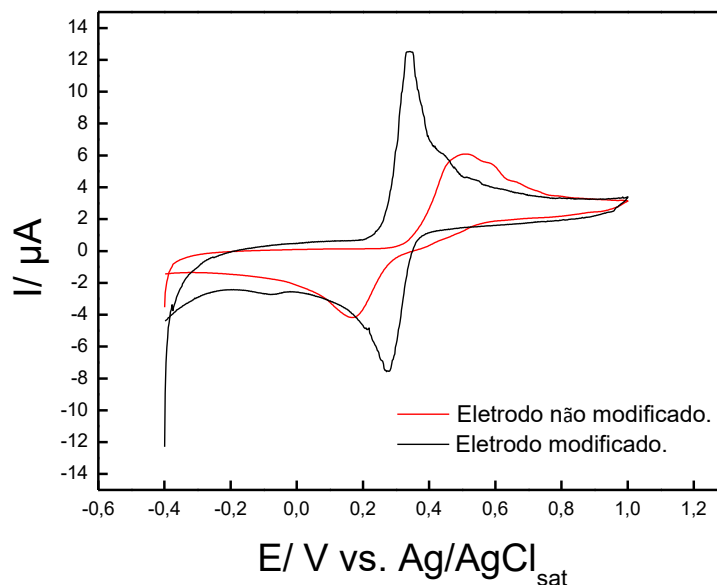
O eletrodo modificado com a porfirina supramolecular apresentou uma resposta melhor comparada ao eletrodo não modificado para a detecção de PA. Pode-se observar um deslocamento de potencial de oxidação deste analito para menores potenciais de 672 para 489 V, este deslocamento de potencial é de extrema importância, pois possibilita a diminuição de interferentes e também diminui a energia necessária para ocorrer a transferência eletrônica entre o analito e o eletrodo. Evidenciou-se também um aumento na corrente tanto catódica como anódica, permitindo maior sensibilidade do método nas medidas.

4.3.3 Comportamento eletroquímico da dopamina.

A Figura 24 apresenta os gráficos dos voltamogramas cíclicos comparando-se a presença da dopamina ($750 \mu\text{mol L}^{-1}$) utilizando o eletrodo de carbono vítreo modificado e o eletrodo de carbono vítreo não modificado como descrito no gráfico. Observa-se um processo reversível, pois há presença do pico anódico e catódico. A razão entre o pico anódico e

catódico para a resposta da dopamina foi de 0,9, este resultado está próximo ao descrito na literatura para processos reversíveis [63].

Figura 24. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) comparando-se o ECVM-PS e o ECV para determinação de DP ($750 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$). VV: 100 mV s^{-1} .

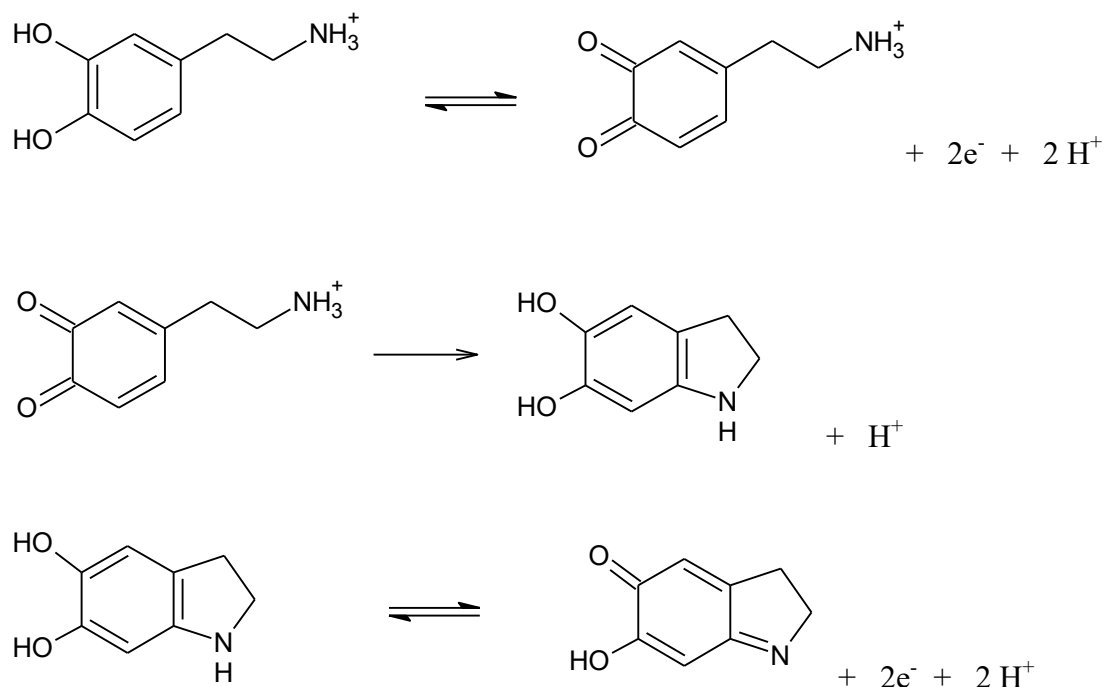


Fonte: do próprio autor.

Comparando-se a resposta eletroquímica da dopamina utilizando o eletrodo modificado e o não modificado pode-se perceber uma melhora significativa na sensibilidade, pois houve um aumento das correntes de pico anódica e catódica. Também foi observado um deslocamento de potencial de 0,49 para 0,34 V, obtendo assim um sensor mais seletivo para a determinação das espécies, isto porque diminui a presença de possíveis interferentes na presença da dopamina, permitindo análises com mais analitos na mesma solução.

O mecanismo proposto para a oxidação/redução da dopamina está apresentado na Figura 25.

Figura 25. Mecanismo proposto para a oxidação/redução da dopamina.



Fonte: [65, 66]

De acordo com o mecanismo proposto [65, 66] para a oxidação/redução da dopamina, o processo envolve a transferência de dois elétrons em uma solução aquosa. Inicialmente, no processo é formada a espécie o-dopaminoquinona (o-DQ), em seguida a amina é desprotonada formando a leucodopaminocromo (LDC), essas duas espécies são oxidadas facilmente, oxidando-se mais facilmente que a DP em uma etapa envolvendo $2e^-$ para a dopaminocromo (DC).

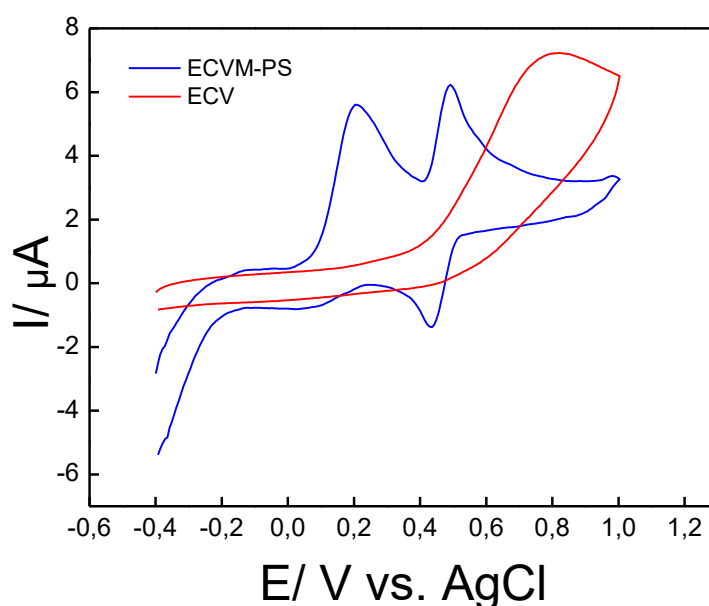
4.3.4 Comportamento eletroquímico da análise simultânea de AA e PA.

O comportamento eletroquímico contendo ambos os analitos (ácido ascórbico e paracetamol) presentes na solução foi investigado por voltametria cíclica. Comparando-se os voltamogramas apresentados na Figura 26, percebe-se que a determinação simultânea dos analitos é dificultada com a utilização do eletrodo não modificado, pois houve sobreposição dos picos de oxidação do AA e do PA, pois ambos oxidam-se em uma mesma faixa de potencial, demonstrando que o ácido ascórbico interfere nas análises de paracetamol ou vice-versa. A modificação do eletrodo com a porfirina supramolecular permite realizar análises simultâneas dos analitos, tendo em vista que os picos de oxidação utilizando o

eletrodo modificado ocorreu em 205 mV para o AA e 488 mV para o PA, ambos ficaram definidos e houve também uma boa separação entre os picos destes analitos.

O ECVM-PS permitiu melhora da cinética de transferência de elétrons. Isso demonstra a importância no desenvolvimento de EQM, pois permite a determinação de analitos de uma forma mais seletiva e sensível, já que os eletrodos convencionais exibem diversos problemas nas determinações e cinéticas extremamente lentas.

Figura 26. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) comparando-se o ECVM-PS e o ECV para determinação simultânea de AA ($4,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). VV: 100 mV s^{-1} .



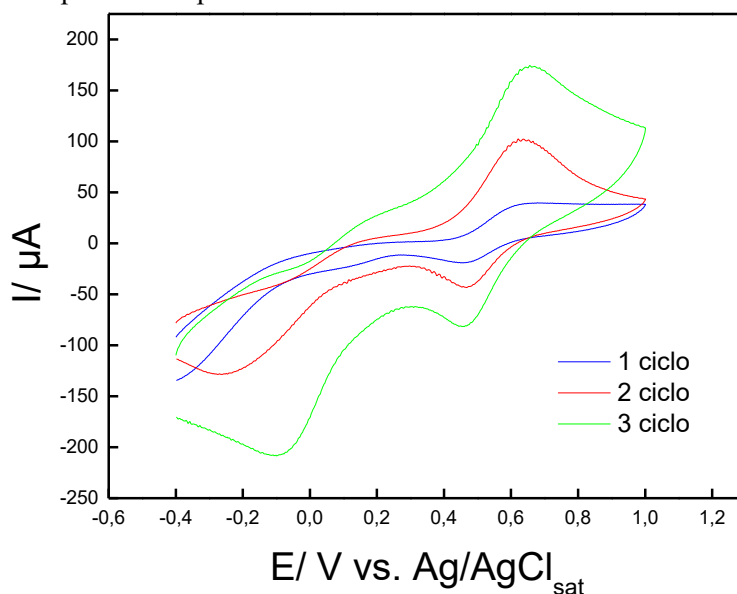
Fonte: do próprio autor.

4.4 Caracterização do eletrodo de carbono vítreo modificado com porfirina supramolecular e nanopartículas de ouro.

O eletrodo de carbono vítreo foi modificado através da formação de três bicamadas contendo a porfirina supramolecular e AuNPs como descrito na sessão dos procedimentos no item 3.4.4, onde a porfirina supramolecular foi eletrodepositada na superfície do eletrodo de carbono vítreo em uma faixa de potencial de -0,4 à 1,0 V e em seguida o eletrodo foi deixado em repouso por 5 minutos para a formação da primeira bicamada, essa interação é eletrostática envolvendo a carga do complexo porfirínico catiônico com as cargas negativas das espécies AuNP^- da solução de nanopartículas de ouro.

A figura 27 apresenta os três voltamogramas cíclicos realizados para a formação das bicamadas contendo porfirina supramolecular e AuNPs.

Figura 27. Voltamogramas cíclicos registrados em solução de HTBA em diclorometano para formação de bicamadas contendo porfirina supramolecular e AuNPs.



Fonte: do próprio autor.

Analisando os voltamogramas explícitos na Figura 28, percebe-se a formação do par redox Ru(II)/Ru(III) que oxida em aproximadamente 0,6 V e reduz em aproximadamente 0,5 V formando a espécie de valência mista como explicada no item 4.3 deste trabalho. Percebe-se que o aumento das correntes de pico anódicas e catódicas foi muito significativo, isto pode ser explicado pela formação do filme polimérico que é diretamente proporcional com a concentração da porfirina depositada sobre o eletrodo.

4.5 Estudo da interação da porfirina supramolecular com as nanopartículas de ouro.

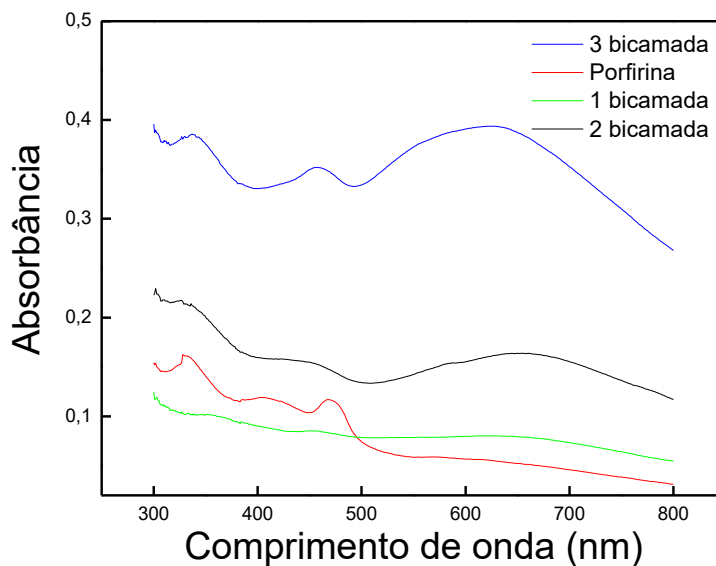
Estudos envolvendo interação de nanopartículas de ouro com complexos de rutênio já foram realizados na literatura [26, 67, 68]. Esses estudos comprovam que as nanopartículas interagem com complexos de rutênio por interações eletrostáticas entre os complexos catiônicos e as espécies que envolvem as nanopartículas. Posteriormente esses autores desenvolveram eletrodos modificados para a determinação de diversas espécies.

Foi realizado um estudo da interação da porfirina supramolecular com as AuNPs utilizando a técnica de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível através do seguinte procedimento: um eletrodo de ITO foi substituído pelo eletrodo de carbono vítreo, ou seja este foi utilizado como eletrodo de trabalho, como eletrodo de referencia foi utilizado

o eletrodo de Ag/AgCl e como contra eletrodo o eletrodo de platina. A porfirina $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ foi eletropolimerizada com os mesmos parâmetros utilizados para a formação das bicamadas dessa espécie e posteriormente o eletrodo de ITO foi mergulhado por 5 minutos na solução de AuNPs.

A Figura 28 apresenta os espectros de absorção na região do visível realizado em eletrodo ITO para estudar a interação da porfirina supramolecular com as AuNPs.

Figura 28. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível realizado em eletrodo ITO contendo $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ e AuNPs.



Fonte: do próprio autor.

Analisando a Figura 28, observa-se uma banda em aproximadamente 300 nm e uma banda em aproximadamente 478 nm, as quais estão relacionadas ao complexo porfirínico, já que são de maiores intensidades. Pode-se observar que ao realizar o procedimento para a obtenção da primeira bicamada com porfirina e nanopartículas comparada a primeira camada onde há presença de apenas porfirina supramolecular (linha vermelha) como indicado no gráfico da Figura 28, acontece um encobrimento das bandas referentes ao complexo porfirínico, isso pode ser explicado devido a interação eletrostática que ocorre da supramolécula com as AuNPs, já que a camada de nanopartículas fica sobreposta ao complexo. Observando a linha azul do espectro, na terceira bicamada, pode-se observar claramente a presença da porfirina, pela banda Soret em aproximadamente 460 nm, e da nanopartícula de ouro, pela banda plasmom alargada em aproximadamente 620 nm.

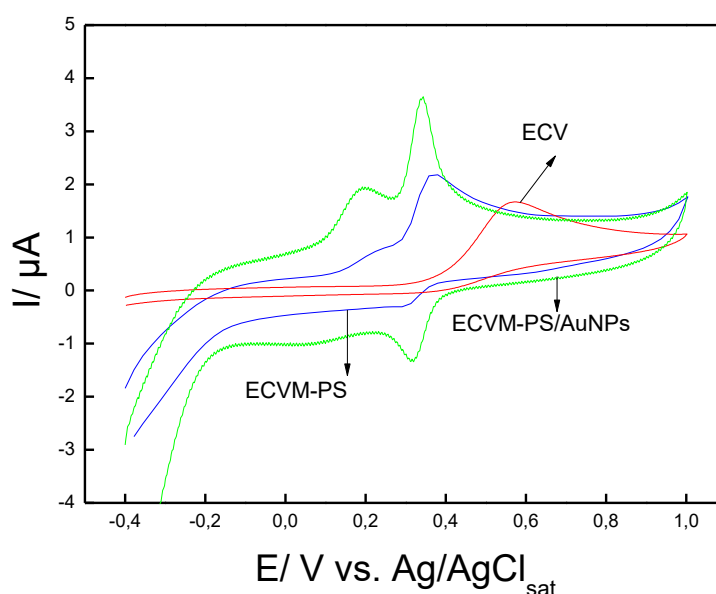
A interação entre as espécies $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ e AuNP^- além do surgimento da sobreposição dos picos já mencionada, fez com que também ocorressem alargamentos e deslocamentos nas bandas características das nanopartículas de ouro e porfirinas, mostrando que houve interação entre a porfirina supramolecular e as nanopartículas de ouro. Pode-se analisar também, observando a figura 28, uma dificuldade em se conseguir uma boa linha de base uma vez que praticamente não existe caminho óptico, qualquer diferença no posicionamento do eletrodo no equipamento pode provocar uma mudança na linha de base.

4.6 Comportamento eletroquímico da determinação simultânea de AA e DP.

A porfirina supramolecular $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ foi utilizada na tentativa de também estudar os analitos AA e DP simultaneamente, porém os picos dessas espécies não se separaram de modo eficiente, deste modo a alternativa de utilizar soluções de nanopartículas de ouro veio com o intuito de melhorar a seletividade do eletrodo modificado, a fim de conseguir a separação desses analitos.

A Figura 29 confirma que utilizando o ECVM-PS não há separação eficiente dos picos anódicos do AA ($120 \mu\text{mol L}^{-1}$) e DP ($30 \mu\text{mol L}^{-1}$), por isso as soluções coloidais formadas por nanopartículas de ouro foram utilizadas juntamente com a porfirina supramolecular $\{\text{MnTPyP}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})]_4\}^+$ com o objetivo de melhorar a seletividade e assim separar os picos dos compostos ácido ascórbico e dopamina.

Figura 29. Comparação dos eletrodos de carbono vítreo modificado e não modificado para a determinação simultânea de dopamina ($30 \mu\text{mol L}^{-1}$) e ácido ascórbico ($120 \mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão acetato.



Fonte: do próprio autor.

A Figura 29 mostra os voltamogramas cíclicos comparando o eletrodo de carbono vítreo limpo com os eletrodos modificados, e pode-se observar a eficiência da utilização do ECVM-PS/AuNPs para a determinação dos analitos, onde houve a separação dos picos conseguindo analisar ambos simultaneamente. Isso demonstra que a modificação do eletrodo é de extrema importância para a separação das espécies em estudo, pois com a utilização do eletrodo de carbono vítreo os picos dos analitos se sobrepõem isto porque estes oxidam-se em potenciais muito próximos, impedindo a determinação destes em um mesmo meio, mostrando que o eletrodo convencional é cineticamente inviável e não seletivo.

4.7 Quantificação de ácido ascórbico, paracetamol e dopamina.

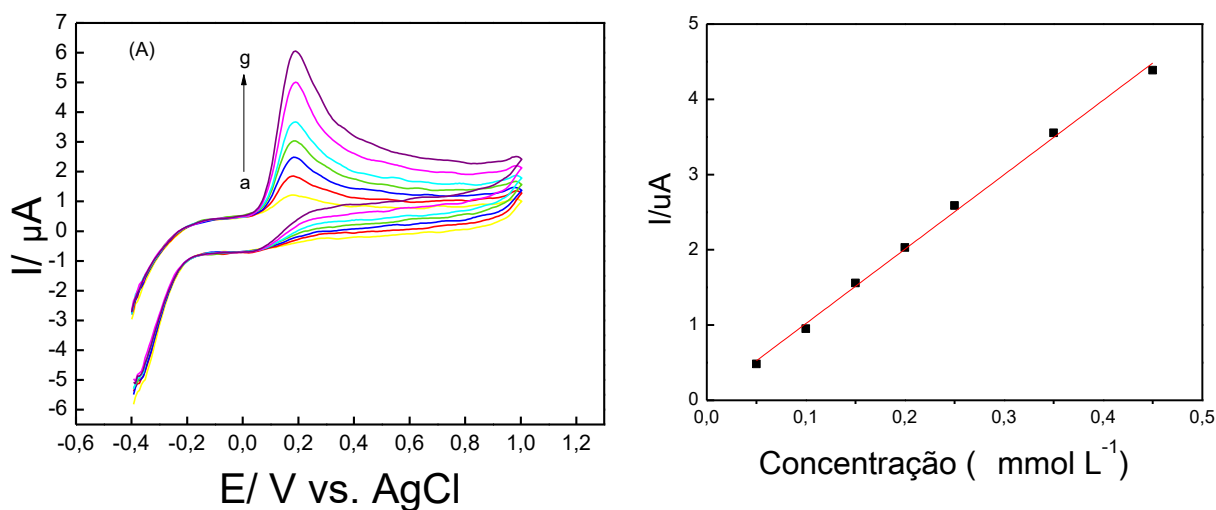
Nesta sessão, inicialmente os analitos ácido ascórbico, paracetamol e dopamina foram quantificados individualmente, posteriormente, realizaram-se a determinação simultânea de AA e PA utilizando o ECVM-PS.

As quantificações dos analitos foram realizadas utilizando a técnica de voltametria cíclica em um intervalo de potencial de -0,4 à 1,0 V em solução tampão ácido acético/acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,5). Posteriormente utilizando os valores de corrente de pico anódica em função das concentrações dos analitos foram construídas curvas analíticas que foram utilizadas para determinação de faixas lineares de concentração, coeficientes de correlação linear, sensibilidade, limites de detecção e limites de quantificação e demais estudos.

4.7.1 Quantificação do ácido ascórbico utilizando ECVM-PS.

Para a construção da curva analítica do AA utilizando o ECVM-PS, foram realizadas sete adições de AA em concentrações diferentes (50 a 450 µmol L⁻¹) a partir da solução estoque na concentração de 0,01 mol L⁻¹. A Figura 30 A apresenta os voltamogramas obtidos e a curva analítica (Figura 30 B) construída através dos valores de I_{pa} em função da concentração de AA presente na célula eletroquímica.

Figura 30. (A) Voltamogramas cíclicos registrados em solução acetato de sódio em diferentes concentrações de AA (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250; (f) 350 e (g) 450 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque. VV: 100 mVs^{-1} . (B) Curva analítica para o ácido ascórbico utilizando o ECVM-PS.



Fonte: do próprio autor.

Observou-se que as correntes de pico anódicas aumentaram proporcionalmente com o aumento da concentração do AA. A curva analítica apresentou uma ampla faixa linear de concentração (50 à 450 $\mu\text{mol L}^{-1}$), um bom coeficiente de correlação linear de 0,997.

A Equação da reta para o ácido ascórbico está apresentada na Equação 2.

$$I (\mu\text{A}) = 0,030 + 9,895 C \text{ mmol L}^{-1} \quad (\text{Equação 2})$$

O limite de detecção (LD) é a menor concentração que pode ser distinguida pelo método com 98% de confiança [50], o LD foi calculado com o auxílio da Equação 3.

$$LD = \frac{3.S_b}{m} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde S_b é o desvio padrão do branco e m é a inclinação da curva analítica.

Outro parâmetro importante é o limite de quantificação (LQ) que representa a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada com precisão e exatidão [50]. O LQ foi calculado através da Equação 4.

$$LQ = \frac{10.S_b}{m} \quad (\text{Equação 4})$$

A sensibilidade é um parâmetro que avalia qual das espécies é mais sensível quando se utiliza o eletrodo modificado. Este pode ser calculado pela Equação 5.

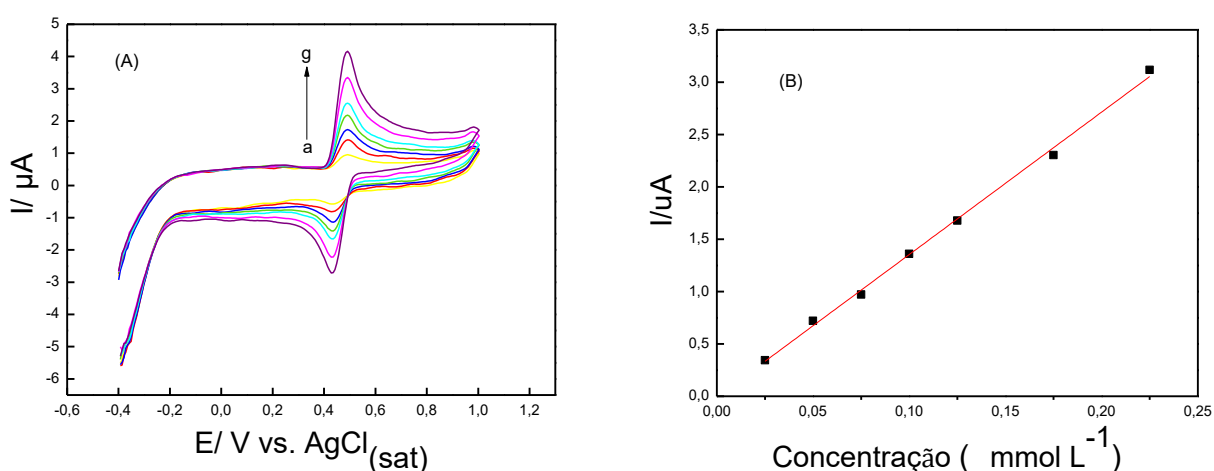
$$S = \frac{\text{Coeficiente angular}}{\text{Área do eletrodo}} \quad (\text{Equação 5})$$

Os valores de LD e LQ calculados na determinação de AA foram de: 17,1 e 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, os limites obtidos foram na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$, mostrando que método é confiável para a determinação de AA em amostras reais, pois pode ser detectado em baixas concentrações. Considerando que a área do eletrodo é $0,0314\text{cm}^2$ a sensibilidade calculada para o AA é $315 \mu\text{A mmol L}^{-1}\text{cm}^{-2}$

4.7.2 Quantificação do paracetamol utilizando ECVM-PS.

Os mesmos parâmetros voltamétricos mencionados no item 4.7.1 foram empregados para a quantificação do paracetamol. Foram realizadas sete adições de PA na célula eletroquímica. A Figura 31 A apresenta os voltamogramas cíclicos realizados para a construção da curva analítica. A curva analítica do PA (Figura 31 B) foi construída através das correntes de pico anódicas versus a concentração do PA adicionada de 25 à 225 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$).

Figura 31- Voltamogramas cíclicos registrados em solução acetato em diferentes concentrações de PA (a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100; (e) 125; (f) 175 e (g) 225 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque. VV: 100 mV s^{-1} . (B) Curva analítica do paracetamol empregando o ECVM-PS.



Fonte: do próprio autor.

Foram calculados através das Equações 3 e 4 os limites de detecção e quantificação para o paracetamol, os valores encontrados foram de: 8,5 e 28,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os valores foram baixos, permitindo uma análise satisfatória do PA, possibilitando o emprego

em amostras reais. A curva analítica apresentou um bom coeficiente de correlação linear de 0,997. A Equação da reta para o paracetamol está apresentada na Equação 6.

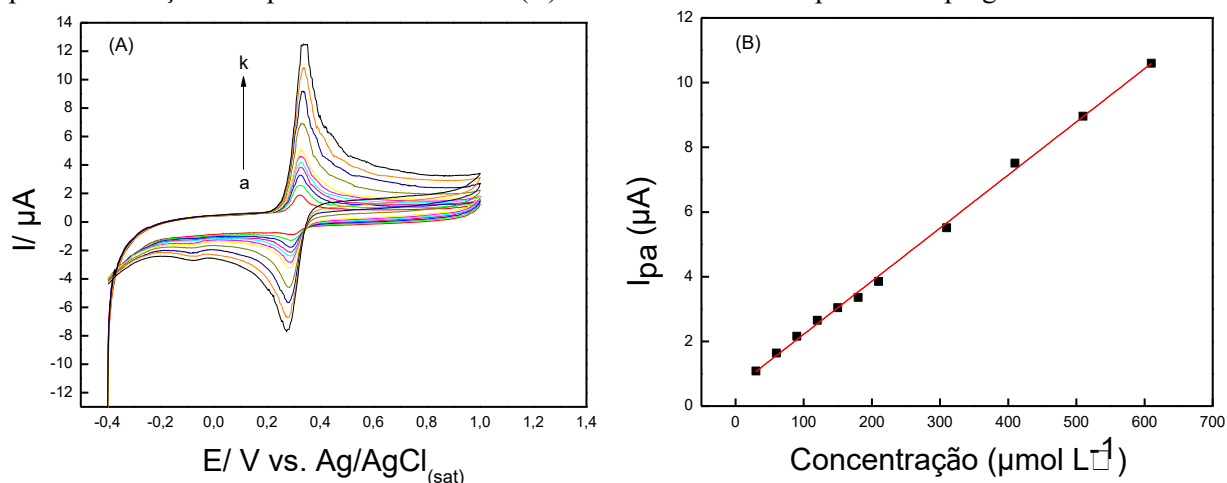
$$I (\mu A) = 0,039 + 13,607 C \text{ mmol L}^{-1} \quad (\text{Equação 6})$$

A sensibilidade calculada através da Equação 5 para o paracetamol foi de $433 \mu A \text{ mmol L}^{-1} \text{cm}^{-2}$, mostrando que o paracetamol é mais sensível comparado ao ácido ascórbico utilizando eletrodo modificado.

4.7.3 Quantificação da dopamina utilizando ECVM-PS

A quantificação da dopamina foi realizada em solução tampão acetato utilizando o ECVM-PS pela técnica de voltametria cíclica em uma faixa de potencial de -0,4 à 1,0 V. Diferentes concentrações de dopamina (30 à $610 \mu\text{mol L}^{-1}$) foram adicionadas na célula eletroquímica para a construção da curva analítica. A curva analítica foi construída através das correntes de pico anódicas versus a concentração de DP adicionada. As Figuras 32 A e B apresentam os voltamogramas cíclicos obtidos, com sua respectiva curva analítica.

Figura 32. Voltamogramas cíclicos realizados em tampão acetato em diferentes concentrações de DP (a) 20; (b) 60; (c) 90; (d) 120; (e) 150; (f) 180 e (g) 210 (h) 310; (i) 410; (j) 510; (k) $610 \mu\text{mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque. VV: 100 mV s^{-1} . (B) Curva analítica da dopamina empregando o ECVM-PS.



Foram calculados os limites de detecção e quantificação através das Equações 3 e 4. Os valores obtidos foram de $11,9$ e $39,9 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. A sensibilidade para a dopamina foi de $0,509 \mu A \mu\text{mol L}^{-1} \text{cm}^{-2}$ mostrando a resposta para dopamina é mais sensível comparando-se com o ácido ascórbico e paracetamol. Foi obtida uma ampla faixa linear de concentração em 30 à $610 \mu\text{mol L}^{-1}$ e um bom coeficiente de correlação linear de 0,998.

A Equação da reta obtida para a dopamina está expressa na Equação 7.

$$I (\mu A) = 0,578 + 0,016 C \mu mol L^{-1} \quad (\text{Equação 7})$$

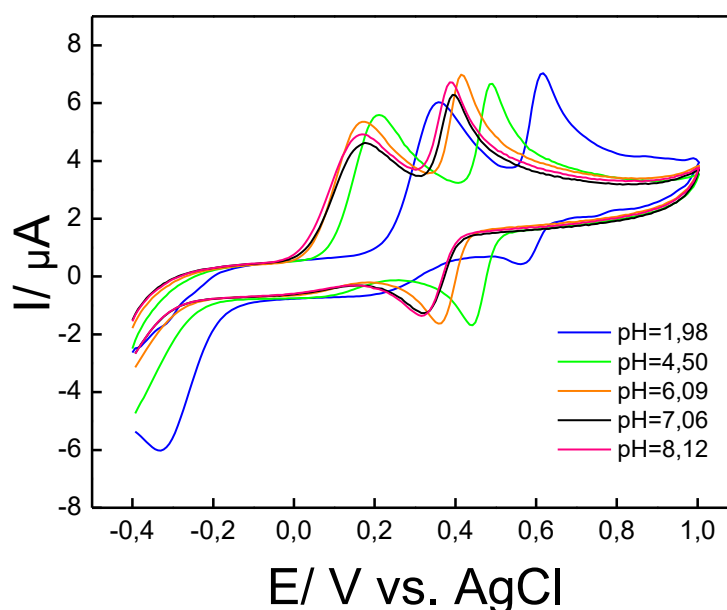
4.8 Determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol utilizando ECVM-PS.

Nesta sessão, inicialmente serão apresentados os estudos das melhores condições de análise para a determinação simultânea do AA e PA. Posteriormente utilizando a técnica de voltametria cíclica em um intervalo de -0,4 à 1,0 V, empregando o ECVM-PS, será realizada a quantificação simultânea desses analitos.

4.8.1 Estudo do pH na determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol empregando o ECVM-PS.

O estudo do pH no comportamento eletroquímico de AA e PA foi determinado utilizando o eletrodo modificado com a porfirina supramolecular, foi utilizada uma faixa de pH entre 1,98 à 8,12. Os valores de pH foram corrigidos com soluções de NaOH e HCl a partir da solução tampão acetato de sódio/ácido acético. Para este estudo foram adicionadas alíquotas de AA ($4,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). A figura 33 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para o estudo de pH dos analitos.

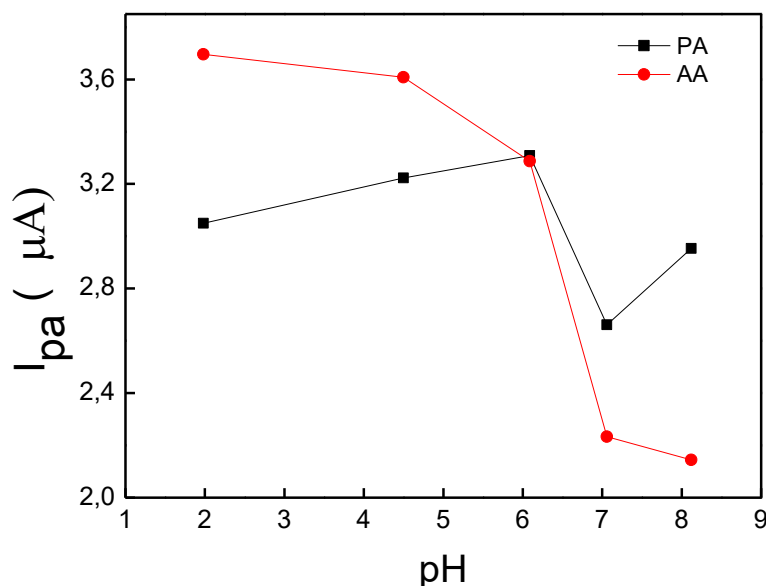
Figura 33. Voltamogramas cíclicos registrados em solução acetato de sódio/ácido acético ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em diferente valores de pH para determinação simultânea de AA ($4,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) empregando o ECVM-PS.



Fonte: do próprio autor.

A Figura 33 mostra a variação da separação dos picos anódicos e a diferença nos potenciais de oxidação dos analitos com a mudança do pH. Utilizando as correntes de pico anódicas obtidas através dos voltamogramas apresentados na Figura 33, construiu-se um gráfico de I_{pa} versus pH, para avaliar em qual valor de pH evidencia-se maior sensibilidade ou seja maior valor de corrente de pico, para a determinação de AA e PA.

Figura 34. Dependência da I_{pa} com o pH para a determinação simultânea de AA e PA utilizando o ECVM-PS.



Fonte: do próprio autor.

Ao observar a figura 34 pode-se observar que o maior valor de corrente para o AA foi no pH 2 e para o PA foi no pH 6. O valor de pH escolhido para as análises foi o tampão acetato de sódio/ácido acético (pH=4,5) por ser um valor intermediário e também apresentar uma boa corrente de pico. Analisando a Figura 34 observa-se que em solução mais ácida (pH=1,98), os processos de oxidação ocorreram em um potencial maior, desfavorecendo sua eletrocatalise, isto é, precisa-se de uma energia maior para ocorrer o processo de oxidação do analito.

A separação entre os picos do AA e PA é outro fator importante, pois se os picos estiverem muito próximos, a seletividade do eletrodo torna-se menor, fazendo com que os analitos sofram interferência, pois oxidariam em uma mesma faixa de potencial.

A Tabela 8 apresenta os valores das diferenças de potenciais calculados entre a separação dos picos do AA e PA nos diferentes valores pH utilizados.

Tabela 8– Valores da diferença de separação dos picos de AA e PA.

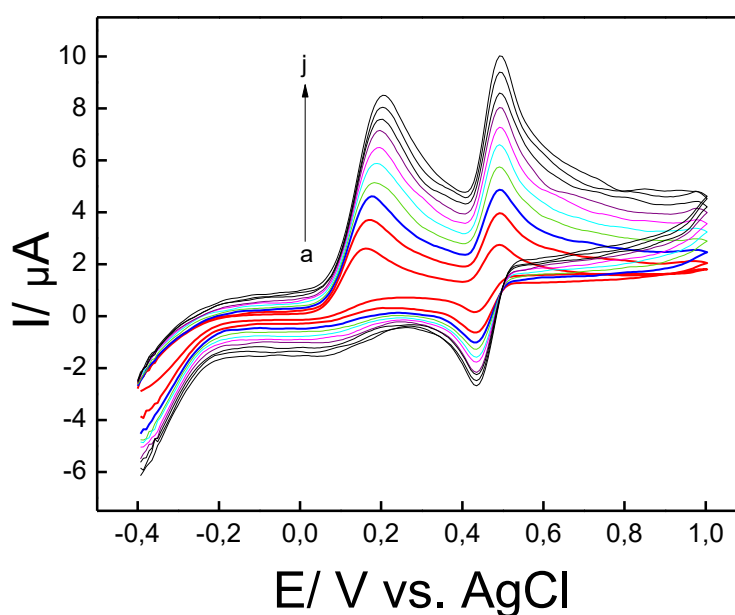
pH	Diferença de separação (mV)
4,5 (tampão acetato)	0,287
6,09	0,248
7,06	0,227
8,12	0,222

Foi observado que a maior separação entre os picos do ácido ascórbico e o paracetamol ocorreu em tampão acetato, por isso, os estudos foram realizados na solução tampão, pois este demonstrou um bom desempenho em termos de seletividade e sensibilidade.

4.8.2 Efeito da velocidade de varredura na determinação simultânea de AA e PA utilizando ECVM-PS.

A influência da velocidade de varredura no comportamento eletroquímico de AA e PA foi investigada por voltametria cíclica empregando o ECVM-PS. A Figura 35 apresenta os voltamogramas realizados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5) na presença de AA ($4,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e PA ($2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), em diferentes velocidades de varredura entre 20 à 200 mV s^{-1} .

Figura 35. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético (pH 4,5) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de AA e PA em diferentes velocidades de varredura, utilizando-se o ECVM-PS. (a) 20; (b) 40; (c) 60; (d) 80; (e) 100; (f) 120; (g) 140; (h) 160; (i) 180; (j) 200 mV s^{-1} .



Fonte: do próprio autor.

A Figura 35 mostra que conforme aumenta-se a velocidade de varredura, as correntes de pico catódicas do AA e PA aumentam de modo proporcional.

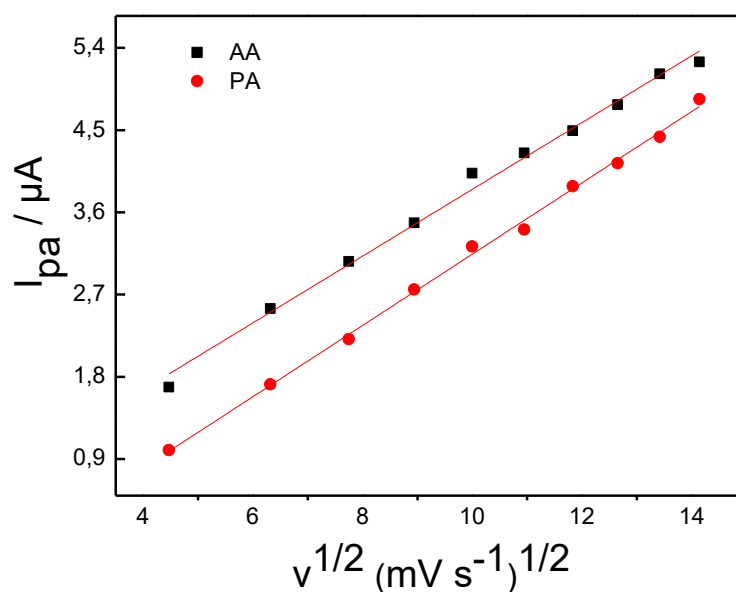
A relação entre a velocidade de varredura e a corrente de pico é descrita pela Equação de Randles-Sevcik em temperatura de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$. [63]

$$I_p = 2,68610^5 n^{1/2} A c D^{1/2} v^{1/2} \quad (\text{Equação 8})$$

Onde I_p é a corrente de pico, A corresponde à área em cm^2 do eletrodo, D refere-se ao coeficiente de difusão em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, c equivale à concentração em mol ml^{-1} e n o número de elétrons envolvidos na reação. A Equação de Randles-Sevcik mostra que se o gráfico de I_p versus $v^{1/2}$ for linear, o processo de transporte de massa no eletrodo é controlado por difusão.

A partir dos dados coletados dos voltamogramas foram construídos gráficos de I_{pa} em função da $v^{1/2}$ para AA e PA. Os gráficos estão apresentados Figura 36.

Figura 36- Gráficos das correntes de pico anódicas em função da $v^{1/2}$ para a determinação simultânea de AA e PA utilizando o ECVM-PS.



Fonte: do próprio autor.

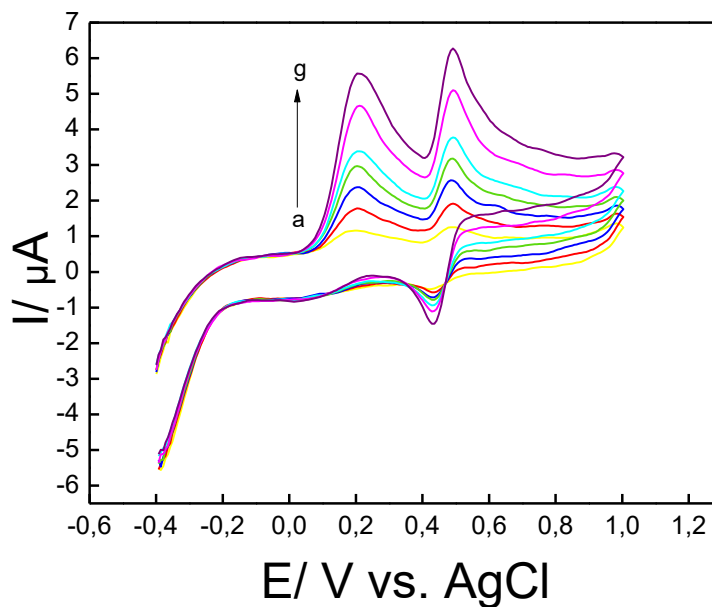
Com os coeficientes de correlação linear obtidos através das curvas de I_{pa} versus $v^{1/2}$ (AA: $R^2 = 0,993$ e PA: $R^2 = 0,997$), pode-se concluir que as reações eletroquímicas dos analitos é controlada pela difusão das espécies para a superfície do eletrodo modificado.

4.8.3 Quantificação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol empregando o ECVM-PS.

A quantificação simultânea dos analitos AA e PA foi realizada em solução tampão acetato, através da técnica de voltametria cíclica utilizando o ECVM-PS. Para a construção da curva analítica foram adicionadas alíquotas em diferentes concentrações a partir da solução estoque de AA e PA ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

A Figura 37 apresenta os voltamogramas obtidos variando-se a concentração de AA (50 à $450 \mu\text{mol L}^{-1}$) e PA (25 à $225 \mu\text{mol L}^{-1}$).

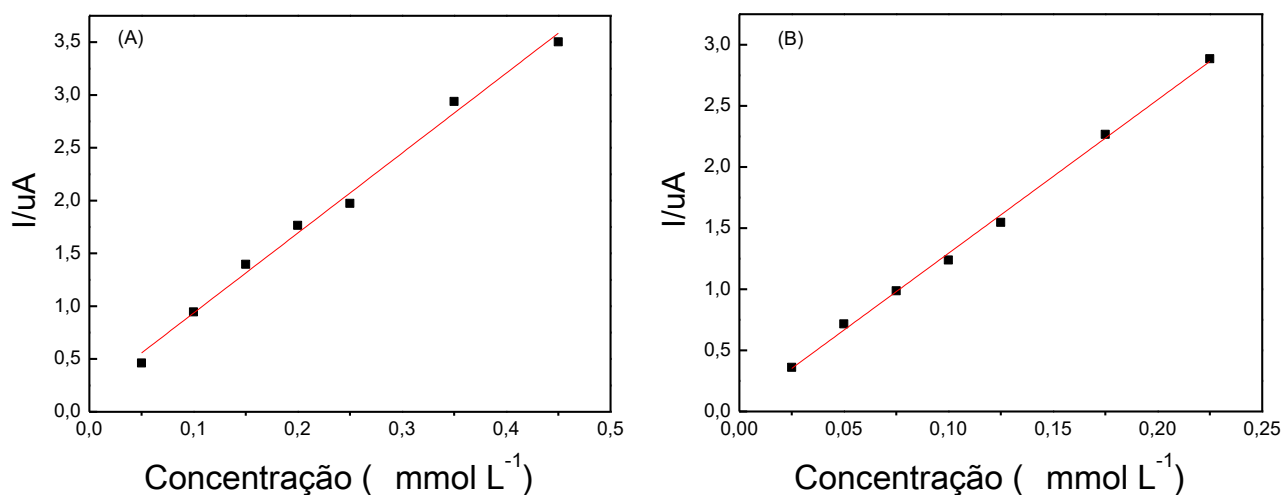
Figura 37- Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético em diferentes concentrações de AA: (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250; (f) 350 e (g) 450 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e PA: (a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100; (e) 125; (f) 175 e (g) 225 $\mu\text{mol L}^{-1}$. VV: 100 mVs^{-1} .



Fonte: do próprio autor.

Através das correntes de pico anódicas obtidas foram construídas as curvas analíticas para o AA e PA. A Figura 38 apresenta as curvas analíticas do AA e PA utilizando o ECVm-PS.

Figura 38. Curvas analíticas: (A) ácido ascórbico (B) paracetamol utilizando o ECVm-PS.



Fonte: do próprio autor.

As Equações da reta obtidas através das curvas analíticas foram:

$$\text{AA: } I_{\text{pa}} (\mu\text{A}) = 0,038 + 12,56 C \text{ mmol L}^{-1} \quad (\text{Equação 9})$$

$$\text{PA: } I_{\text{pa}} (\mu\text{A}) = 0,178 + 7,57 C \text{ mmol L}^{-1} \quad (\text{Equação 10})$$

Os limites de detecção e quantificação foram calculados através das Equações 3 e 4 e estão apresentados na Tabela 9 juntamente com os coeficientes de correlação linear, faixas lineares de concentração e sensibilidades

Tabela 9 - Valores de LD, LQ, e R^2 para determinação simultânea de AA e PA utilizando o ECV-M-PS

	AA	PA
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	29,4	8,2
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	97,9	27,4
R^2	0,991	0,997
Faixa linear de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	50 à 450	25 à 225
Sensibilidade ($\mu\text{A mmol L}^{-1}\text{cm}^{-2}$)	241,15	400,08

As curvas analíticas apresentadas na Figura 39 A e B apresentaram amplas faixas lineares de concentração. Os valores de LD e LQ calculados para os analitos foram baixos, sugerindo que o método pode ser aplicado em amostras reais com sensibilidade e seletividade. Os valores de sensibilidade mostram que o paracetamol é mais sensível que o ácido ascórbico, tanto na determinação individual quanto simultânea, isto mostra também que os valores não diferem-se muito, mostrando que a interferência pode ser descartada.

Habibi e colaboradores [69] realizaram um estudo utilizando um eletrodo de carbono-cerâmico modificado com nanotubos de carbono de parede simples, este foi utilizado para a determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol. As análises foram realizadas por voltametria de pulso diferencial em tampão fosfato pH 7. Os limites de detecção para o AA e PA foram: 3 μmol e 0,12 μmol , respectivamente.

Em um outro trabalho, Dalmasso e colaboradores [70] estudaram simultaneamente os analitos ácido ascórbico e paracetamol utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com uma dispersão de nanotubos de carbono em multi-parede. O eletrodo demonstrou uma excelente atividade catalítica e apresentou limites de detecção encontrados foram de 0,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o AA e 32 nmol L^{-1} para o PA.

Katarzyna e colaboradores [71] descreveram o estudo simultâneo de ácido ascórbico e paracetamol utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro modificado com Nafion e filmes de chumbo. O eletrodo apresentou melhores respostas na separação dos picos dos analito, boa repetibilidade e os limites de detecção foram de 0,17 e 0,52 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o PA e AA simultaneamente.

No trabalho de Rodovan e colaboradores [72] foi utilizado um eletrodo de diamante dopado com boro sem modificação prévia para estudos de ácido ascórbico e paracetamol simultaneamente. Os resultados utilizando o eletrodo apresentaram boa aplicabilidade sem a necessidade de pré-tratamento. Os limites de detecção encontrados foram de 0,77 e 0,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o AA e PA, respectivamente.

A Tabela 10 apresenta trabalhos utilizando diferentes eletrodos para a determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol.

Tabela 10. Comparação de valores de limites de detecção para determinação simultânea de AA e PA.

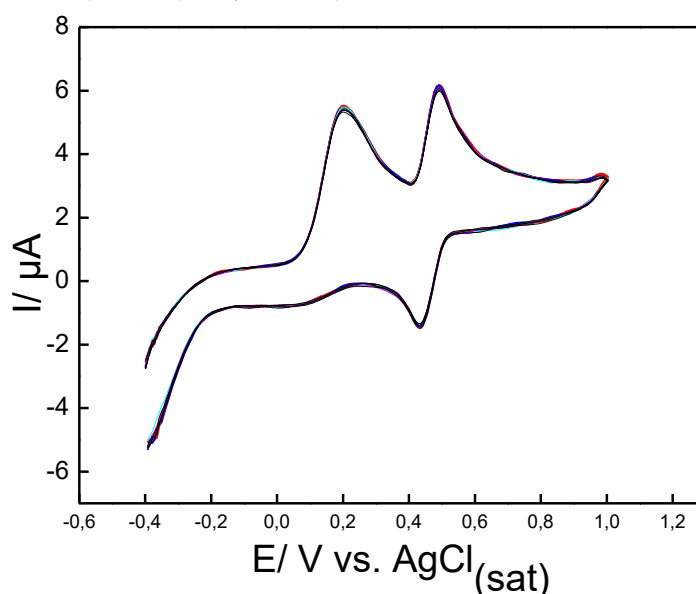
Eletrodo	Técnica	Limites de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
Carbônico-cerâmico modificado com nanotubos de carbono.	Pulso diferencial	AA: 3 PA: 0,12	[69]
Carbônico vítreo modificado com nanotubos de carbono com multi-paredes.	Pulso diferencial	AA: 0,76 PA: 32 nmol L ⁻¹	[70]
Diamante dopado com boro modificado com nafion e chumbo.	Pulso diferencial	AA: 0,52 PA: 0,17	[71]
Diamante dopado com boro	Pulso diferencial	AA: 0,77 PA: 0,85	[72]
Carbônico vítreo modificado com porfirina supramolecular	Voltametria cíclica	AA: 29,4 PA: 8,2	Presente trabalho

No contexto geral, como discutido nas sessões anteriores, o presente trabalho possibilitou o desenvolvimento de um sensor eletroquímico útil, eficiente e rápido para a determinação de ácido ascórbico e paracetamol. Os limites de detecções dos trabalhos apresentados foram menores quando comparados com o presente trabalho, isto pode ser explicado porque as técnicas de pulso são mais sensíveis a detecção quando comparadas com as técnicas voltamétricas.

4.8.4 Estudo da repetibilidade do ECVM-PS na determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol.

A repetibilidade é um importante parâmetro para avaliar a aplicabilidade do sensor eletroquímico, as medidas são realizadas por um único operador, utilizando o mesmo equipamento e parâmetros em várias medidas. A repetibilidade do ECVM-PS foi realizada através de 10 medidas voltamétricas nas mesmas condições, em solução tampão acetato de sódio/ácido acético $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,75) contendo $450 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA e $225 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de PA. A Figura 39 apresenta os voltamogramas das 10 medidas realizadas na presença de AA e PA.

Figura 39- Dez voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético contendo AA ($450 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) e PA ($225 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$).



Fonte: do próprio autor.

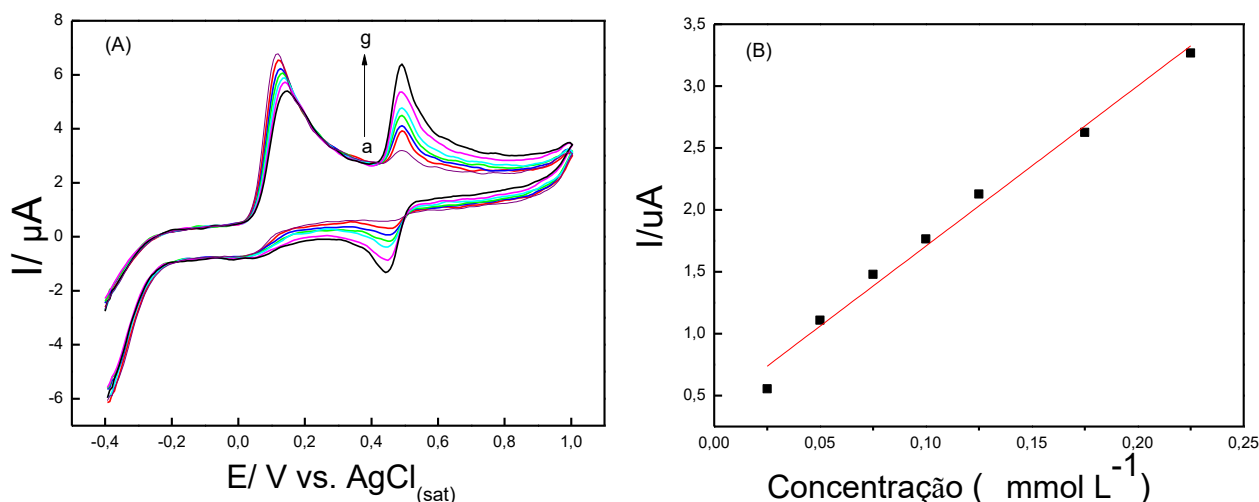
Os desvios padrão relativo das correntes de pico catódicas para as 10 medidas foram de: 1,23% para o AA e 2,35% PA, garantindo uma boa confiabilidade na aplicabilidade do ECVM-PS como sensor constituído pela porfirina supramolecular.

4.8.5 Estudo de interferência entre o ácido ascórbico e paracetamol empregando o ECVM-PS.

Evidenciando-se a possibilidade de interferência dos analitos AA e PA, realizaram-se estudos mantendo a concentração de um dos analitos constante durante as análises. As concentrações utilizadas para esse estudo foram as mesmas empregadas na quantificação simultânea dos analitos.

As Figuras 40 e 41 apresentam os voltamogramas obtidos mantendo a concentração de AA constante nas análises e vice-versa.

Figura 40 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético na presença de AA em concentração constante ($450 \mu\text{mol L}^{-1}$) e PA variando em: (a) 25; (b) 50; (c) 75; (d) 100; (e) 125; (f) 175 e (g) $225 \mu\text{mol L}^{-1}$. VV: 100 mV s^{-1} . (B) Curva analítica do PA na presença de AA em concentração constante.

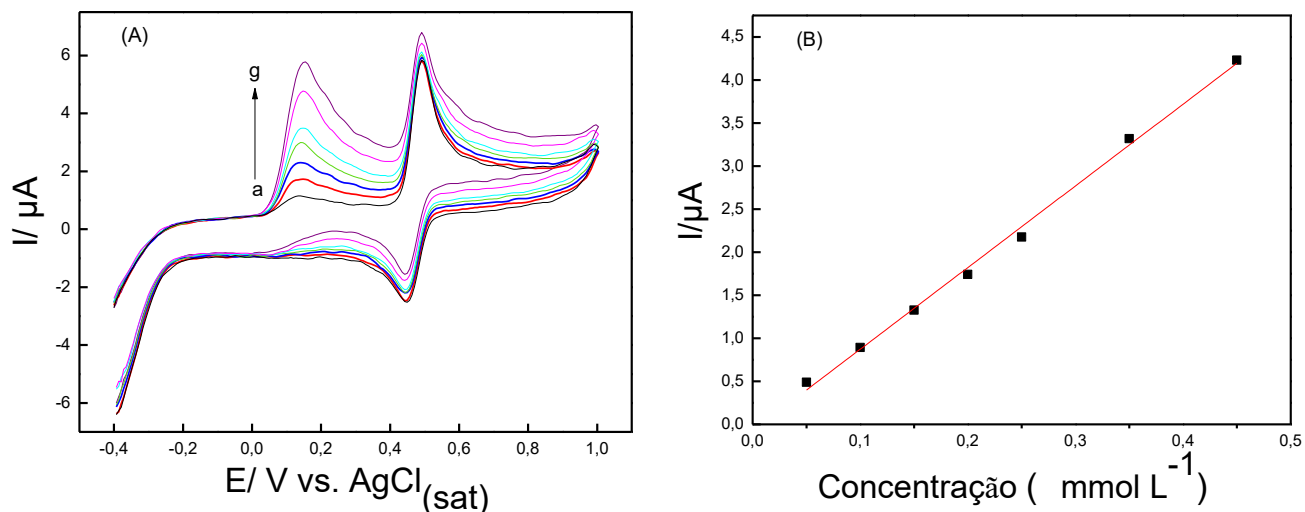


Fonte: do próprio autor.

Analisando os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 40 A, onde a concentração do AA foi mantida constante enquanto variava-se a do PA, percebe-se uma pequena alteração nas correntes de pico anódicas. O desvio padrão relativo dos valores das correntes de pico anódicas do AA foi de 9%, esse desvio foi baixo, descartando a interferência para a determinação simultânea dos analitos estudados. A curva analítica referente ao analito em que a concentração foi variada está apresentada na Figura 41 B, a curva apresentou um bom coeficiente de correlação linear (0,985), mostrando assim a possibilidade da determinação do AA na presença do PA.

A Figura 41 A apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos mantendo-se a concentração do paracetamol constante durante as medidas.

Figura 41 - (A) Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato de sódio/ácido acético na presença de PA em concentração constante ($225 \mu\text{mol L}^{-1}$) e AA variando em: (a) 50; (b) 100; (c) 150; (d) 200; (e) 250; (f) 350 e (g) $450 \mu\text{mol L}^{-1}$. VV: 100 mV s^{-1} . (B) Curva analítica do AA na presença de PA em concentração constante.



Fonte: do próprio autor.

Foi observada uma pequena variação nas correntes, essa diferença pode ser explicada pois existe uma corrente residual devido ao pico antecedente do ácido ascórbico, por isso foram medidas as variações das correntes de pico anódicas (ΔI_a) e o desvio padrão relativo foi calculado. Na Tabela 10 estão apresentados os valores das variações das correntes de pico anódicas do paracetamol.

Tabela 11 - Valores de ΔI_a mantendo-se o PA constante durante o estudo de interferência.

Pico	$\Delta I_a (\mu\text{A})$
A	3,887
B	4,052
C	2,244
D	4,294
E	4,482
F	4,588
G	4,978

O desvio padrão relativo das variações das correntes do PA foi de 0,08%. A curva analítica apresentada na Figura 41 B também apresentou um bom coeficiente de correlação linear (0,995), mostrando que determinação de AA na presença de PA pode ser realizada sem interferências significativas.

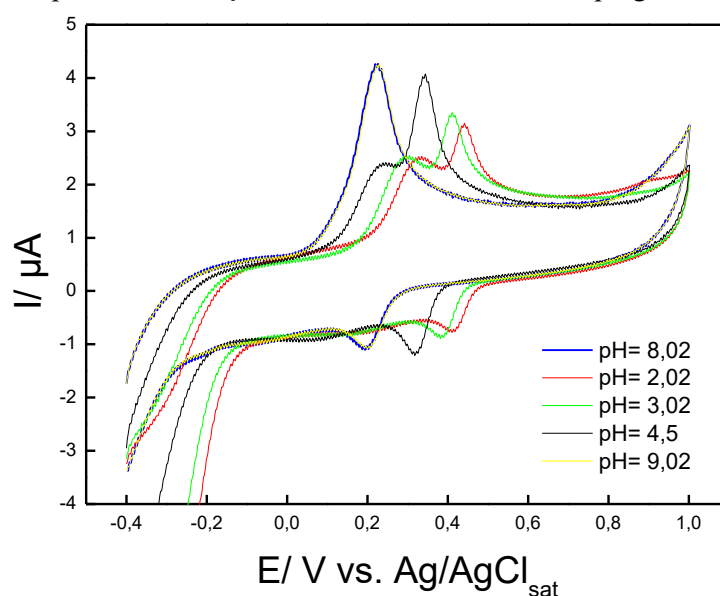
4.9 Determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina utilizando o ECVM-PS/AuNPs.

Nessa sessão, inicialmente serão discutidos os estudos das melhores condições de análise para o estudo dos analitos AA e DP, posteriormente, será realizada a quantificação simultânea do AA e DP empregando o ECVM-PS/AuNPs. Para os estudos e a quantificação dos analitos foi utilizada a técnica de voltametria cíclica em uma faixa de potencial de -0,4 à 1,0 V.

4.9.1 Estudo do efeito do pH para a determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina empregando o ECVM-PS/AuNPs.

O estudo de pH empregando o eletrodo modificado na determinação simultânea de AA e DP foi realizado em uma faixa de 2 à 9. As soluções foram recém-preparadas a partir da solução tampão acetato e os valores foram corrigidos com o auxílio de soluções diluídas de NaOH e HCl. Esse estudo foi realizado com adições de DP e AA em concentrações de 60 e 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente. A Figura 42 apresenta os voltamogramas cíclicos registrados em diferentes valores de pH para os estudos dos analitos.

Figura 42. Voltamogramas cíclicos registrados em diferentes valores de pH corrigidos a partir da solução tampão acetato para determinação simultânea de AA e DP empregando o ECVM-PS/AuNPs.



Fonte: do próprio autor.

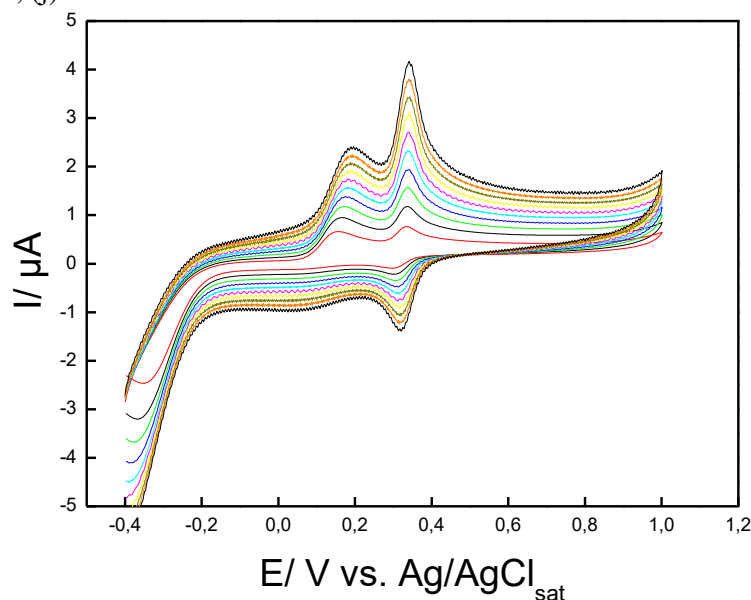
Analisando os voltamogramas cíclicos expressos na Figura 42, observa-se que em soluções básicas os picos anódicos referente aos analitos AA e DP se sobrepõe, esse efeito é

constatado pela ocorrência da desprotonação da molécula de dopamina [73, 74], essa desprotonação é favorecida em maiores valores de pH, como pode observar-se na Figura 42. O pH escolhido para os estudos simultâneos do ácido ascórbico e dopamina foi de 4,5 que apresenta uma boa separação nos picos dos analitos, apresentando uma melhora na seletividade.

4.9.2 Efeito da velocidade de varredura na determinação simultânea de AA e DP empregando o ECVM-PS/AuNPs.

O estudo da velocidade de varredura foi realizado para investigar se o processo é controlado por difusão ou por transporte de massa. Esta análise foi realizada utilizando a técnica de voltametria cíclica utilizando o ECVM-PS/ AuNPs em tampão acetato, na faixa de potencial de -0,4 à 1,0 V, onde a velocidade de varredura foi variada entre as medidas contendo $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DP e $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA. A Figura 43 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos do estudo de velocidade de varredura dos analitos.

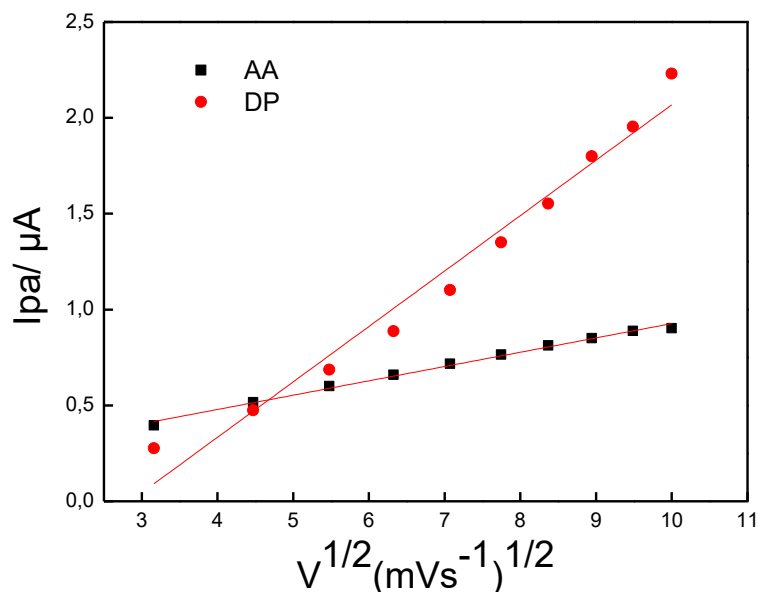
Figura 43. Voltamogramas cíclicos registrados em solução tampão acetato (pH 4,5) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DP e $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA em diferentes velocidades de varredura, utilizando-se o ECVM-PS. (a) 20; (b) 40; (c) 60; (d) 80; (e) 100; (f) 120; (g) 140; (h) 160; (i) 180; (j) 200 mV s^{-1} .



Fonte: do próprio autor.

Foram construídos gráficos das correntes de pico anódicas dos analitos AA e DP versus a velocidade de varredura elevado ao quadrado. A Figura 44 apresenta os gráficos construídos de I_{pa} vs. $V^{1/2}$ para o AA e DP.

Figura 44. Gráficos das correntes de pico anódicas em função da $v^{1/2}$ para determinação simultânea de AA e DP.



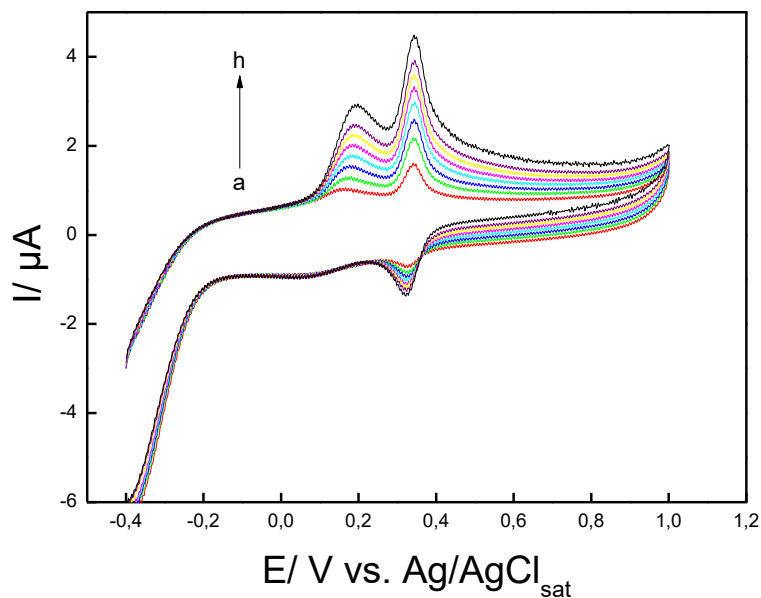
Fonte: do próprio autor.

Considerando a linearidade das curvas apresentadas na Figura 45, AA ($R^2 = 0,994$) e PA ($R^2 = 0,971$), pode-se concluir que o processo observado para as análises dos analitos é de difusão. [75].

4.9.3 Quantificação simultânea de ácido ascórbico e dopamina empregando o ECVM-PS/AuNPs.

A quantificação simultânea de AA e DP foi realizada utilizando a técnica de voltametria cíclica empregando o ECVM-PS/AuNPs. Essa determinação foi realizada em meio da solução tampão acetato (10 mL), em uma célula eletroquímica com capacidade de 30 mL. A construção da curva analítica foi realizada a partir das soluções estoque dos mesmos ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) e foram adicionadas alíquotas de AA e DP com concentrações finais no intervalo de 20 à $180 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e 5 à $45 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. A Figura 45 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para a construção das curvas analíticas para a determinação simultânea de AA e DP.

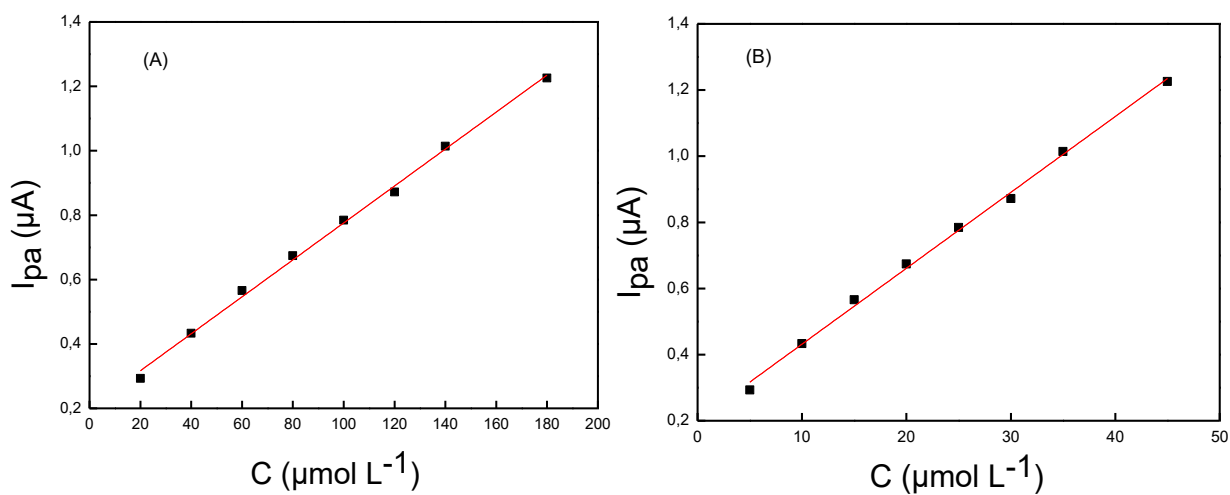
Figura 45. Voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão acetato empregando o ECVM-PS/AuNPs para construção da curva analítica da determinação simultânea de AA e DP.



Fonte: do próprio autor.

A Figura 46 apresenta as curvas analíticas obtidas na determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina.

Figura 46. Curvas analíticas: (A) ácido ascórbico, (B) dopamina empregando o ECVM-PS/AuNPs.



Fonte: do próprio autor.

As Equações da reta referente as curvas analíticas do AA e DP estão expressas nas Equações 10 e 11.

$$\text{AA: } I_{pa} = 0,202 + 0,0057 C \mu\text{mol L}^{-1} \quad (\text{Equação 10})$$

$$\text{DP: } I_{pa} = 0,202 + 0,0229 C \mu\text{mol L}^{-1} \quad (\text{Equação 11})$$

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com o auxílio das Equações 3 e 4 e estão representados na Tabela 11, assim como os coeficientes de correlação linear e faixas lineares de concentração.

Tabela 12 - Valores de LD, LQ, coeficientes de correlação linear e faixas lineares de concentração para AA e DP empregando o ECVM-PS/AuNPs.

	AA	DP
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	6,54	1,66
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	21,79	5,45
R^2	0,997	0,997
Faixa linear de concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	20 - 180	5 - 45
Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}\text{cm}^{-2}$)	181,50	729,30

Através dos dados apresentados na Tabela 12, observa-se que a determinação simultânea do AA e DP pode-se ser realizada com eficiência, pois foram obtidos baixos limites de detecções, quantificações, amplas faixas lineares de concentrações e bons coeficientes de correlação linear. Os valores de sensibilidade mostra que a dopamina é mais sensível que o ácido ascórbico nas análises por cerca de quatro vezes mais. O método proposto pode ser aplicado em amostras reais, já que apresentou baixos LD e LQ. O eletrodo modificado evidenciou uma grande melhora na sensibilidade e seletividade, permitindo a determinação simultânea desses analitos.

Trabalhos realizados na literatura estudaram simultaneamente os analitos AA e DP, como por exemplo, no trabalho de Zhang e colaboradores [76]. Os autores utilizaram eletrodos baseado em nanotubos de carbono helicoidais como sensor para determinação simultânea de AA e DP, o trabalho mencionado apresentou baixo limite de detecção na ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$, utilizando técnicas de pulsos.

Gao e colaboradores [77] modificaram um eletrodo de carbono vítreo modificados com óxido de grafeno para estudos simultâneos de ácido ascórbico e dopamina. Os resultados mostraram a coexistência de interferências para os estudos desses analitos, apresentando também uma ampla faixa linear de concentração. O limite de detecção para a dopamina foi de $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ e para o ácido ascórbico não foi mencionado, mas o mesmo não interferiu na determinação simultânea com a dopamina.

No trabalho de Shahrokhian e colaboradores [78] foi realizado o estudo simultâneo de ácido ascórbico e dopamina utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado pela incorporação de 5-nitrosalofeno (CoNSal) e brometo de tetraoctilamônio (TOAB). Os resultados apresentados mostraram que o eletrodo tem uma boa aplicabilidade, a superfície do eletrodo pode ser renovada facilmente, possui alta estabilidade e os limites de detecção foram de 0,7 e 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o AA e DP, respectivamente.

Outro trabalho repostado na literatura Raoof e colaboradores [79] utilizaram um eletrodo de pasta de carbono modificado com filmes de polipirrol e ferrocianeto para determinação simultânea de AA e DP. Os resultados mostraram que o ácido ascórbico é catalisado na superfície do eletrodo permitindo a este analito oxidar em potencial menor que a dopamina. Os limites de detecção encontrados foram de 13,4 e 38,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o AA e DP, respectivamente.

A Tabela 13 apresenta os limites de detecção e as respectivas técnicas utilizadas para a determinação simultânea dos analitos AA e DP.

Tabela 13. Comparação dos resultados de limites de detecção para determinação de AA e DP em diferentes eletrodos e técnicas.

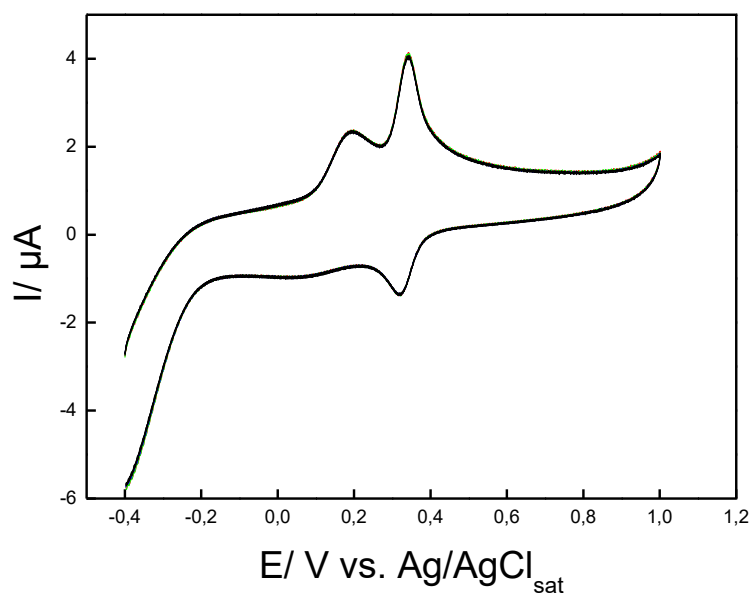
Eletrodo	Técnica	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
Nanotubos de carbono helicoidais.	Pulso diferencial	AA: 0,12 DP: 0,08	[76]
Carbono vítreo modificado com oxido de grafeno	Pulso diferencial	AA: --- DP: 0,27	[77]
Eletrodo de pasta de carbono modificado pela incorporação CoNSal e (TOAB)	Pulso diferencial	AA: 0,7 DP: 0,5	[78]
Eletrodo de pasta de carbono modificado com filmes de polipirrol e ferrocianeto	Pulso diferencial	AA: 13,4 DP: 38,6	[79]
Eletrodo de carbono vítreo modificado com porfirina supramolecular e AuNPs	Voltametria cíclica	AA: 6,54 DP: 1,66	Presente trabalho

No presente trabalho a técnica utilizada foi a de voltametria cíclica, que apesar de ser uma técnica menos sensível, também apresentou baixos limites de detecção, mostrando que o método utilizado é eficiente quando comparado aos demais métodos, permitindo portanto a detecção de AA e DP sem interferências.

4.9.4 Estudo da repetitividade do ECVM-PS/AuNPs na determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina.

Foi realizado o estudo da repetitividade utilizando o ECVM-PS/AuNPs, através de 10 ciclos voltamétricos consecutivos, em uma faixa de potencial de -0,4 à 1,0 V. Este estudo foi realizado em solução tampão acetato e os analitos foram adicionados em uma concentração de $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DP e $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA. A Figura 47 apresenta os voltamogramas cíclicos realizados para o estudo da repetibilidade do eletrodo na determinação simultânea dos analitos AA e DP.

Figura 47 - Dez voltamogramas cíclicos realizados em tampão acetato contendo $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DP e $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AA para o estudo da repetibilidade do ECVM-PS/AuNPs na determinação dos simultânea dos analitos.



Fonte: do próprio autor.

Para verificar o erro obtido na diferença das correntes de pico, foi calculado o desvio padrão relativo dos valores das correntes de pico anódicas, o desvio encontrado foi de 0,01 % para a DP e 0,03 para o AA, comprovando que o eletrodo modificado utilizado no presente trabalho é eficiente e repetitivo nas medidas voltamétricas dos analitos estudados.

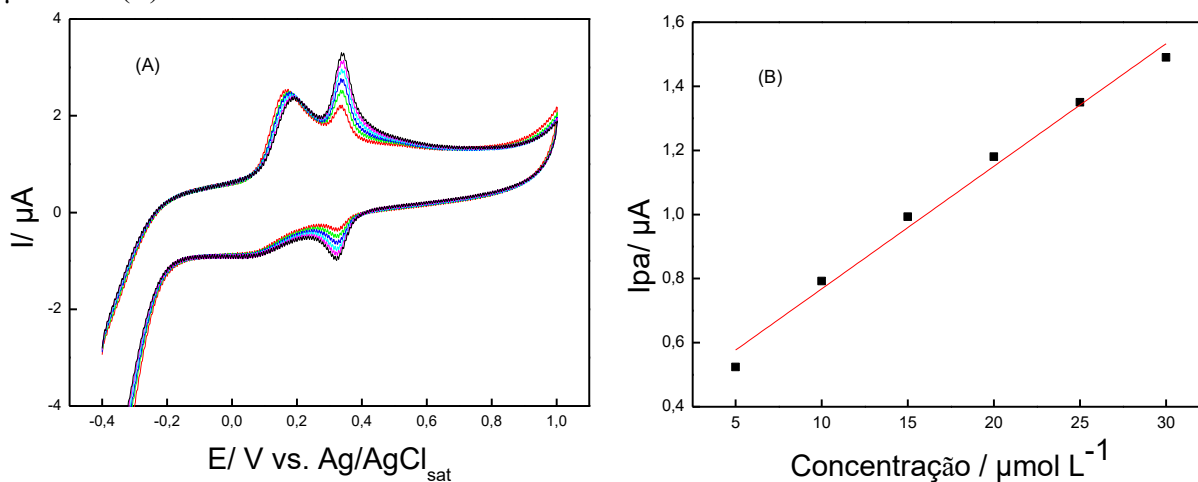
A reprodutibilidade do ECVM-PS/AuNPs não foi testada, porém foi observado que o eletrodo manteve-se a resposta eletroquímica constante durante as análises por um período de semanas.

4.9.5 Estudo da interferência na determinação simultânea do ácido ascórbico e dopamina.

Como já mencionado, os analitos AA e DP são interferentes, isto porque eles oxidam-se em aproximadamente o mesmo potencial, impedindo a determinação simultânea dos mesmos em solução. Para verificar a existência de interferências utilizando o ECVM-PS/AuNPs a concentração de um analito foi mantida constante durante as medidas. Estudos de interferência, com concentrações de AA e DP constantes em solução já foram reportados na literatura, esses trabalhos mostraram inexistentes as possíveis interferências causadas entre esses analitos[32, 80].

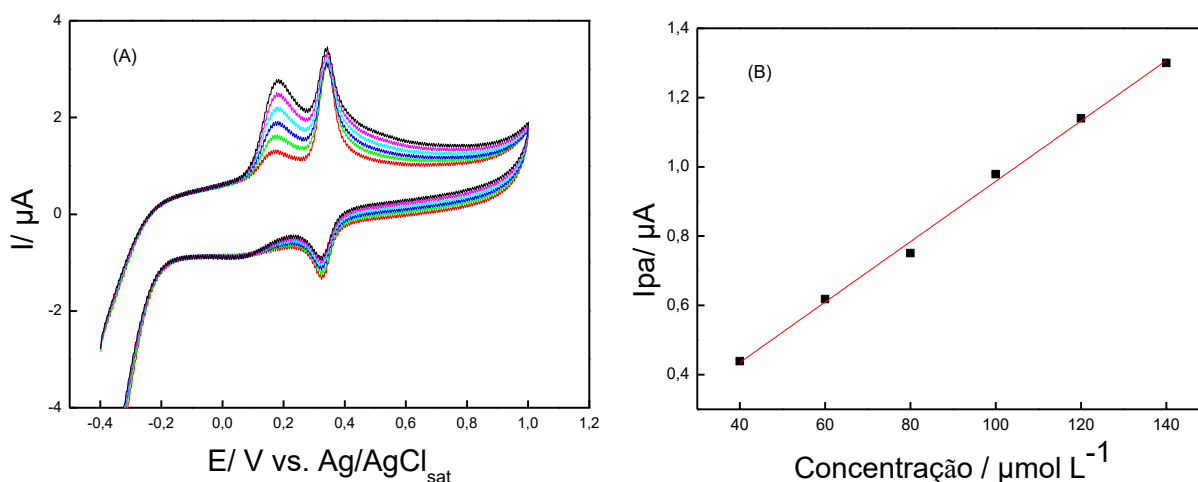
O estudo de interferência do presente trabalho foi realizado em solução tampão acetato em uma faixa de potencial de -0,4 á 1,0 V. Os Voltamogramas cíclicos realizados estão apresentados nas Figuras 48 e 49 juntamente com as curvas analíticas referentes ao analito no qual a concentração foi variada em 20 à 140 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o AA e em 5 à 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a DP.

Figura 48. (A) Voltamogramas cíclicos realizados em solução tampão acetato contendo AA em concentração constante ($120 \mu\text{mol L}^{-1}$) e adições de DP em concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva analítica da DP.



Fonte: do próprio autor.

Figura 49 - (A) Voltamogramas cíclicos realizados em solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) contendo DP em concentração constante ($60 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) e adições de AA em concentrações de 40, 60, 80, 100, 120 e $140 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva analítica do AA.



Fonte: do próprio autor.

Foram calculados o desvio padrão relativo das correntes de pico anódicas do AA e DP, os quais foram mantidos em concentração constante para avaliar a possível interferência que ambos poderiam causar na determinação um do outro. Os desvios obtidos foram de 0,3 % para a DP e de 0,1 % para o AA. Os desvios para as duas espécies foram baixos, isto comprova, pelo estudo de interferência que a determinação simultânea de AA e DP pode ser realizada com confiança e livre de interferências, isto também pode ser comprovado pelos bons coeficientes de correlação linear, obtidos pelas curvas analíticas apresentadas nas Figuras 49 B e 50 B ($R^2 = 0,996$ para o AA e $R^2 = 0,986$ para DP).

5. CONCLUSÕES

As sínteses dos precursores e da porfirina supramolecular apresentadas neste trabalho foram realizadas com sucesso. Os complexos foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas de absorção nas regiões do ultravioleta e visível e no infravermelho, e apresentou bandas e estiramentos característicos dos complexos porfirínicos. Os complexos obtidos permitiram o desenvolvimento de uma espécie supramolecular que quando imobilizada na superfície do eletrodo de carbono vítreo, formando filmes poliméricos, atua como um sensor eletroquímico muito eficiente. O sensor desenvolvido foi aplicado para a determinação simultânea de ácido ascórbico e paracetamol.

A síntese das nanopartículas de ouro foi realizada com sucesso, a solução das AuNPs quando imobilizada juntamente com a porfirina supramolecular formando bicamadas, melhora sensibilidade do eletrodo, possibilitando um estudo eficiente dos analitos AA e DP simultaneamente.

Os eletrodos modificados quando comparados com o não modificado apresentaram melhor resposta eletroquímica, com maior sensibilidade e melhor seletividade devido a aumentos de corrente e diminuições significativas de potenciais, respectivamente. Os limites de detecção e quantificação encontrados na determinação isolada e simultânea para os analitos estudados foram baixos, permitindo a aplicação deste método em amostras reais. Foram realizados estudos de interferência desses analitos, onde uma das espécies foi mantida constante em solução, os resultados obtidos mostraram que os analitos não apresentam interferência nas determinações simultâneas.

Diante dos resultados apresentados, pode-se concluir que o método empregado para a obtenção de sensores eletroquímicos é simples, rápido, de baixo custo e eficiente na determinação tanto individual quanto simultânea das espécies estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- [1] LEONARDO, M, M.; MORAES, P, C, G.; MENDONÇA, J, P, R, F. Hemoglobina extracelular gigante de glossascotex paulistus: um extraordinário sistema supramolecular hemoproteico. **Química Nova**. Vol. 34, n. 1, p. 119-130, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000100023>
- [2] TONG, Z.; SHICHI, T.; TAKAGI, K. Oxidation catalysis of a manganese (III) porphyrin intercalated in layered double hydroxide clays. v. 57, p. 2258–2261, 2003.
- [3] ZHENG, Y. et al. Biosensors and Bioelectronics A label-free electrochemical aptasensor based on the catalysis of manganese porphyrins for detection of thrombin. **Biosensors and Bioelectronic**, v. 66, p. 585–589, 2015.
- [4] LEHN, J, M. Supramolecular Chemistry: **Concepts and Perspectives**, VCH: New York, 1995.
- [5] ARAKI, K.; TOMA, H. E. Química de sistemas supramoleculares constituídos por porfirinas e complexos metálicos. **Química Nova**, v. 25, n. 6 A, p. 962–975, 2002.
- [6] STEIGER, B.; SHI, C.; ANSON, F.C. [5,10,15,20-tetrakis(4-((pentaammineruthenio)-cyano)phenyl)porphyrinato]cobalt(II) immobilized on graphite electrodes catalyzes the electroreduction of O₂ to H₂O, but the corresponding 4-cyano-2,6-dimethylphenyl derivative catalyzes the reduction only to H₂O₂. **Inorg. Chem.** Vol.36, p.4138, 1997. <https://doi.org/10.1021/ic970275o>
- [7] SHI, C.N.; ANSON, F.C. Electrocatalysis of the reduction of O₂ to H₂O by tetraruthenated cobalt meso-tetrakis(4-pyridyl)porphyrin adsorbed on graphite-electrodes. **Inorg. Chem.** Vol.31, p.5078, 1992. <https://doi.org/10.1021/ic00050a029>
- [8] ANSON, F.C.; SHI, C.N.; STEIGER, B. Novel multinuclear catalysts for the electroreduction of dioxygen directly to water. **Acc. Chem. Res.**, v.30, p. 437, 1997. <https://doi.org/10.1021/ar960264j>
- [9] SHI, C.; ANSON, F.C. Potential-dependence of the reduction of dioxygen as catalysed by tetraruthenated cobalt tetrapyridylporphyrin. **Electrochimica Acta**, Vol.39, p.1613, 1994. [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(94\)85144-1](https://doi.org/10.1016/0013-4686(94)85144-1)
- [10] CAETANO, R; DEMETS, J, F.; BERTOTTI, M.; ARAKI, K.; TOMA, H, E. Charge transfer at electrostatically assembled tetraruthenated porphyrin modified electrodes. **Electroanalytical Chemistry**, v. 526, p. 69–76, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(02\)00769-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(02)00769-6)
- [11] FLEISCHER. E. B.; α , β , γ , δ –Tetra-(4-pyridyl))-porphine and Some of its Metal Complexes. **Inorganic Chemistry**, V. 1, n. 3, p. 493-495, 1962. <https://doi.org/10.1021/ic50003a010>
- [12] ANSON, F, C.; SHI, C.; STEIGER, B.; **Novel Multinuclear Catalysts for the Electroreduction of Dioxygen Directly to Water**. Chemical research, Pesadena, 1997.

-
- [13] DREYSE, P.; ISAACS, M.; CALFUMÁN, K.; CÁCERES, C.; ALIAGA, A.; AGUIRRE, M, J.; VILLAGRA, D. Electrochemical reduction of nitrite at poly-[Ru(5-NO₂-phen)₂Cl] tetrapyridylporphyrin glassy carbon modified electrode. **Electrochimica acta**, v. 56, p. 5230-5237, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2011.03.028>
- [14] DINELLI, L. R. et al. On an electrode modified by a supramolecular ruthenium mixed valence (RuII/RuIII) diphosphine-porphyrin assembly. **Inorganic Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 4692–4700, 2009.
- [15] KAHLFUSS, C.; QUANQUIN, S, D.; CALIN, N.; DUMONT, E.; GARAVELLI, M.; ROYAL, G.; COBO, S.; AMAN, E, S.; BUCHER, C. Electron-Triggered Metamorphism in Porphyrin-Based Self-Assembled Coordination Polymers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 46, p. 15234–15242, 2016. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b09311>
- [16] SONG, H.; LI, X.; AGREN, H.; XIE, Y. Branched and linear alkoxy chains-wrapped push-pull porphyrins for developing efficient dye-sensitized solar cells. **Dyes and Pigments**, p. 1–9, 2016.
- [17] HAMZA, I.; DAILEY, H. A. One ring to rule them all: Trafficking of heme and heme synthesis intermediates in the metazoans. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1823, n. 9, p. 1617–1632, 2012.
- [18] LU, J.; LIANG, L.; WECK, M. Micelle-based nanoreactors containing Ru-porphyrin for the epoxidation of terminal olefins in water. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 417, p. 122–125, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2016.02.033>
- [19] WINNISCHOFER, H.; FORMIGA, A, L.; NAKAMURA, M.; TOMA, H, E, T.; ARAKI, K.; NOGUEIRA, A, F. Conduction and photoelectrochemical properties of monomeric and electropolymerized tetra-ruthenated porphyrin films. **Photochemical & photobiological sciences**, v. 4, n. 4, p. 359–66, 2005. <https://doi.org/10.1039/b417786j>
- [20] QUINTINO, M. S. M.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. Batch Injection Analysis Utilizing Modified Electrodes with Tetra-ruthenated Porphyrin Films for Acetaminophen Quantification. p. 1629–1634, 2002.
- [21] BONIFÁCIO, L. S. Processo de agregação e fusão de nanopartículas de ouro: Uma Abordagem Química. **Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica)** – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- [22] TURKEVICH, JOHN; COOPER, P. H. J. A study of the nucleation and growth process in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 55, n. c, p. 55–75, 1951.
- [23] BRUST, M.; WALKER, M.; BETHELL, D.; SCHIFFRIN, D, J.; WHYMAN, R. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. **Journal of the Chemical Society**, p. 801-802, 1994.

-
- [24] TOMA, H. E.; ZAMARION, V. M.; TOMA, S. H.; ARAKI, K. The Coordination Chemistry at Gold Nanoparticles. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 7, p. 1158–1176, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000700003>
- [25] OLIVEIRA, K. M.; SANTOS, T. C. C.; DINELLI, L. R.; MARINHO, J. Z.; LIMA, R. C.; BOGADO, A. L. Aggregates of gold nanoparticles with complexes containing ruthenium as modifiers in carbon paste electrodes. **Polyhedron**, v. 50, n. 1, p. 410–417, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2012.11.014>
- [26] MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 1882–1886, 1975. <https://doi.org/10.1021/ac60362a043>
- [27] PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T.; **Tendência em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas.** Química Nova, v. 25, p. 1012–1021, 2002.
- [28] LANE, R. F.; HUBBARD, A. T. Electrochemistry of chemisorbed molecules. III. Determination of the oxidation state of halides chemisorbed on platinum. Reactivity and catalytic properties of adsorbed species. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 79, n. 8, p. 808–815, 1975. <https://doi.org/10.1021/j100575a008>
- [29] MARTEL, D.; KUHN, A. Electrocatalytic reduction of H_2O_2 at $\text{P}_2\text{Mo}_{18}\text{O}_{62}^{6-}$ modified glassy carbon. **Electrochimica Acta**, v. 45, p. 1829–1836, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(99\)00399-0](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(99)00399-0)
- [30] MARCOS, G.; HAN, A. J.; KIM, B. K.; HAN, H. J.; PARK, T. S.; HWANG, S.; CHO, S. I.; LEE, W. Y.; KIM, Y. R. Stainless steel patterning by combination of micro-patterning and driven strain produced by plasma assisted nitriding. **Surface and Coatings Technology**, v. 205, n. SUPPL. 2, p. S275–S278, 2011.
- [31] CARVALHO, S. E. Q.; **Desenvolvimento e aplicação de eletrodos quimicamente modificados com hexacianoferratos dos metais Fe, Ni e Co.** Dissertação (mestrado em química analítica) - Instituto de química de São Carlos, 2011.
- [32] MUNOZ, R. A. A.; TOMA, S. H.; TOMA, H. E.; ARAKI, K.; ANGNES, L. Investigation of interfacial processes at tetra ruthenated zinc porphyrin films using electrochemical surface plasmon resonance and electrochemical quartz crystal microbalance. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 11, p. 2971–2976, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.12.020>
- [33] BABAEI, A.; AFRASIABI, M.; MIRZAKHANI, S.; TAHERI, A. R. A Sensitive Determination of Acetaminophen in Pharmaceutical Preparations and Biological Samples using Multi-Walled Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrode. **Chen. Soc.**, V.22, p.344–351, 2011.
- [34] LOURENÇÃO, B. C.; Determinação voltamétrica simultânea de paracetamol e cafeína e de ácido ascórbico e cafeína em formulações farmacêuticas empregando um eletrodo de diamante dopado com boro. **Dissertação (mestrado em química analítica)** – Instituto de química de São Carlos, São Carlos, 2009.

-
- [35] KACHOOSANGI, R. T.; WILDGOOSE, G. G.; COMPTON, R. G. Sensitive adsorptive stripping voltammetric determination of paracetamol at multiwalled carbon nanotube modified basal plane pyrolytic graphite electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 618, n. 1, p. 54–60, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.04.053>
- [36] SHAHROKHIAN, S.; ASADIAN, E. Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, acetaminophen and isoniazid using thionine immobilized multi-walled carbon nanotube modified carbon paste electrode. **Electrochimica Acta**, v. 55, n. 3, p. 666–672, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2009.08.065>
- [37] REIS, A. P.; TARLEY, C. R. T.; MANIASSO, N.; KUBOTA, L. T.. Exploiting micellar environment for simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid and dopamine. **Talanta**, v. 67, n. 4, p. 829–835, 2005.
- [38] SHERVEDANI, R. K.; BAGHERZADEH, M.; MOZAFFARI, S. A. Determination of dopamine in the presence of high concentration of ascorbic acid by using gold cysteamine self-assembled monolayers as a nanosensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 115, n. 2, p. 614–621, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.10.027>
- [39] SILVA, R. P. Aplicações Analíticas de Eletrodos Quimicamente Modificados por Espécies de Interesse Biológico. **Dissertação de mestrado – Instituto de Química, Universidade de São Paulo**, 2007.
- [40] WANG, G.; SUN, J.; ZHANG, W.; JIAO, S.; FANG, B. Simultaneous determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid with LaFeO₃ nanoparticles modified electrode. **Microchimica Acta**, v. 164, n. 3–4, p. 357–362, 2009.
- [41] KONG, L. L.; MEIXIU, K.; DONGMEI, H.; TING, W.; HUIMIN, Z. Highly sensitive response to dopamine at a modified electrode involving a composite film with Au nanoparticles dispersed in a fluorocarbon polymer. **Science China Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 826–831, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11426-010-0117-9>
- [42] AHAMMAD, A. J. S.; NATH, N. C. D.; XU, G. R.; KIM, S.; LEE, J. J. Interference-Free Determination of Dopamine at the Poly(thionine)-Modified Glassy Carbon Electrode. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 158, n. 6, p. F106, 2011. <https://doi.org/10.1149/1.3576131>
- [43] ATTA, N. F.; GALAL, A.; AHMED, R. A. Poly(3,4-ethylene-dioxythiophene) electrode for the selective determination of dopamine in presence of sodium dodecyl sulfate. **Bioelectrochemistry**, v. 80, n. 2, p. 132–141, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2010.07.002>
- [44] LIU, Y.; HUANG, J.; HOU, H.; YOU, T. Simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid with electrospun carbon nanofibers modified electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 10, n. 10, p. 1431–1434, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2008.07.020>
- [45] FERNANDES, S. C.; VIEIRA, I. C.; PERALTA, R. A.; NEVES, A. Development of a

biomimetic chitosan film-coated gold electrode for determination of dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid. **Electrochimica Acta**, v. 55, n. 23, p. 7152–7157, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.06.062>

[46] OLIVEIRA, R.L. Nanocatalisadores de ouro: Preparação, Caracterização e Desempenho Catalítico. **Dissertação de Mestrado - Instituto de Química, Universidade de São Paulo**, 2009.

[47] ZHANG, C, F.; CHEN, M.; QIAN, D, J. Characterization and electrochemistry of interfacial self-assembled multi-manganese (III)- porphyrin arrays. **Thin Solid Films**, V.517, p. 3760-3765, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2009.02.124>

[48] BEGA, P, C.; MARQUES, J, A. Síntese e caracterização de uma nova meso-porfirina e derivados metalados. **Ciências exatas e tecnologias**, V. 34, p. 171-184, 2013.

[49] SHRIVER, D, F.; ATKINS, P. **Química Inorgânica**. 4ª Ed. Porto Alegre: Brookman, p. 196, 2008.

[50] SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

[51] BONACIN, J, A.; KATIC, V.; TOLEDO, K, C, F.; TOMA, H, E. Spectroscopic and electrochemical behavior of a supramolecular tetrapyrrolylporphyrin encompassing four terpyridine(oxalate)chloridoruthenium(II) complexes and its use in nitrite sensors. **Inorganica Chimica acta**, V. 437, p. 127-131, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2015.07.048>

[52] SILVA, M, M.; RIBEIRO, G, H.; BATISTA, A, A.; FARIA, A, M.; BOGADO, A, L.; DINELLI, L, R. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, V. 24, p. 1772-1780, 2013.

[53] SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C. e MORRILL, T.C. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. **Trad. R.B. Alencastro**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1994.

[54] ROEGES, N.P.G. A Guide to the Interpretation of Infrared Spectra of Organic Structures. England, **John Wiley e Sons**, 1994.

[55] PAIVA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. Introdução à espectroscopia. 4º ed. São Paulo: **Ed. Cengage Learning**, 2010.

[56] DINELLI, L. R., “Estudos das Propriedades Estruturais e Desenvolvimento de Eletrodo Modificados de Novas Porfirinas Polimetalladas”, **Tese de Doutorado, Programas de Pós-Graduação em Química**, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, 2003.

[57] EGOROVA, M. B.; DROBACHENKO, A.V E POPOV, A .M. “ Synthesis of mixedligand chelates os ruthenium (II) with 2,2-bipyridyl and bidentate phosphines”. **Koordinatsionnaya Khimya**, V. 13, p. 541, 1987.

[58] NAKAMOTO, K. Infrared and ramam spectra of inorganic and coordination compounds, 3ª ed, New York, **John Wiley e Sons**, 1978.

-
- [59] DINELLI, L.R. Metaloporfirinas bimetaladas com a 5, 10, 15,20-piridil porfirina contendo complexos fosfínicos de rutênio periféricos. São Carlos, **Programa de Pós- Graduação em química-UFSCar**, 1997, Dissertação de Mestrado.
- [60] DINELLI, L.R.; BATISTA, A, A.; WOHNATH, K.; ARAUJO, M, P.; QUEIROZ, S, L.; BONFADINI, M, R.; OLIVA, G.; NASCIMENTO, O, P.; CYR, P, W.; MACFARLANE, K, S E JAMES, BB, R. Synthesis na characterization of $[RuCl_3P-P(H_2O)]$ complexes; P-P = achiral ou chiral, chelating ditertiary phosphine ligands. *Inorganic Chemistry*. V. 38, p. 5341, 1999.
- [61] WANTS, F.; BANKS, C. E.; COMPTON, R, G.; Direct oxidation of ascorbic acid at the edge plane pyrolytic graphite electrode : a comparison of the electroanalytical response with other carbon electrodes. **Electroanalysis**, V. 36, p. 1529-1533, 2005.
- [62] HU, I, F.; KUWANA, T. Oxidative mechanism of ascorbic-acid at glassy-carbon electrodes. **Analytical chemistry**, V. 58, p. 3235-3239, 1986. <https://doi.org/10.1021/ac00127a069>
- [63] BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. Electroquímica princípios, métodos, e aplicações. 1ª ed. Coimbra: Ed. Almedina, 1996
- [64] VAN BENSCHOTEN, J, J.; LEWIS, J, Y.; HEINEMAN, W, R.; ROSTON, D, A.; KISSINGER, P, T. Cyclic voltammetry Experiment. **Journal of Chemical Education**. V. 60, p. 772-776, 1983.
- [65] KE, N, J.; LU, S, S.; CHENG, S, H. A strategy for the determination of dopamine at a bare glassy carbon electrode: p-Phenylenediamine as a nucleophile. **Electrochemistry Communications**, V. 8, p.1514-1520, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2006.07.007>
- [66] GIMENES, D, T.; RICHITER. Desenvolvimento de metodologias analíticas usando FIA com detecção amperométrica: análise de dopamina, ácido ascórbico e ácido úrico. Dissertação de mestrado – Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.
- [67] FERREIRA, V. F.; PRADO, C. R. A.; RODRIGUES, C. M.; OTUBO, L.; BATISTA, A, A.; CRUZ, J. W.; ELLENA, J.; DINELLI, L. R.; BOGADO, A. L. Modified glassy carbon electrode with AuNPs using cis- $[RuCl(dppb)(bipy)(4-vpy)]^+$ as cross linking agent. **Polyhedron**, v. 78, p. 46–53, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.04.024>
- [68] GARCÍA, T. CASERO, E.; PARRA, M. R.; BENITO, J. M.; VAZQUÉZ, L.; LORENZO, E.; Architectures based on the use of gold nanoparticles and ruthenium complexes as a new route to improve genosensor sensitivity. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, n. 2, p. 184–190, 2008.
- [69] HABIBI, B.; JAHANBAKHSHI, M.; POURNAGHI, M, H. Differential pulse voltammetric simultaneous determination of acetaminophen and ascorbic acid using single-walled carbon nanotube-modified carbon–ceramic electrode. **Analytical Biochemistry**. V. 411, p. 167-175, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.01.005>

-
- [70] DALMASSO, P. R.; PEDANO, M. L.; RIVAS, G. A. 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**, v. 173, p. 732–736, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.07.087>
- [71] TYSZCZUK-ROTKO, K. et al. Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and ascorbic acid using a boron-doped diamond electrode modified with Nafion and lead films. **Talanta**, v. 129, p. 384–391, 2014.
- [72] RADOVAN, C.; COFAN, C.; CINGHITA, D. Simultaneous determination of acetaminophen and ascorbic acid at an unmodified boron-doped diamond electrode by differential pulse voltammetry in buffered media. **Electroanalysis**, v. 20, n. 12, p. 1346–1353, 2008. <https://doi.org/10.1002/elan.200804188>
- [73] LIN, X.; ZHUANG, Q.; JINGHUA, C.; ZHANG, S.; ZHENG, Y. Electrocatalytic property of poly-chromotrope 2B modified glassy carbon electrode on dopamine and its application. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 125, n. 1, p. 240–245, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.02.010>
- [74] ZARE, H. R.; RAJABZADEH, N.; NASIRIZADEH, N.; ARDAKANI, M. M. Voltammetric studies of an oracet blue modified glassy carbon electrode and its application for the simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 589, n. 1, p. 60–69, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2006.01.011>
- [75] ZHOU, C.; LI, S.; ZHU, W.; PANG, H.; MA, H. A sensor of a polyoxometalate and Au-Pd alloy for simultaneously detection of dopamine and ascorbic acid. **Electrochimica Acta**, v. 113, p. 454–463, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.09.109>
- [76] ZHANG, B.; HUANG, D.; XU, X.; ALEMU, G.; ZHANG, Y.; ZHAN, F.; SHEN, Y.; WANG, M. Electrochimica Acta Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid with helical carbon nanotubes. **Electrochimica Acta**, v. 91, p. 261–266, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.12.026>
- [77] GAO, F.; CAI, X.; WANG, X.; WANG, X.; GAO, C.; SHAOLI, L.; GAO, F.; WANG, Q. Sensors and Actuators B: Chemical Highly sensitive and selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid at graphene oxide modified electrode. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 186, p. 380–387, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.06.020>
- [78] SHAHROKHIAN, S.; ZARE-MEHRJARDI, H. R. Cobalt salophen-modified carbon-paste electrode incorporating a cationic surfactant for simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid and dopamine. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 121, n. 2, p. 530–537, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2006.04.088>

[79] RAOOF, J. B.; OJANI, R.; RASHID-NADIMI, S. Voltammetric determination of ascorbic acid and dopamine in the same sample at the surface of a carbon paste electrode modified with polypyrrole/ ferrocyanide films. **Electrochimica Acta**, v. 50, n. 24, p. 4694–4698, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.03.002>