



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

JESSICA SCREMIN

**CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DO MATERIAL HÍBRIDO  
DE TiO<sub>2</sub>-NPsAu INTEGRADO COM NANOTUBOS DE  
CARBONO EM FILME DE DIEXADECIL HIDROGÊNIO  
FOSFATO NA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

JESSICA SCREMIN

**CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DO MATERIAL HÍBRIDO  
DE TiO<sub>2</sub>-NPsAu INTEGRADO COM NANOTUBOS DE  
CARBONO EM FILME DE DEXADECIL HIDROGÊNIO  
FOSFATO NA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elen Julciléia Romão Sartori Braz

Londrina  
2017

### Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S433c Scremin, Jessica.  
Electrochemical evaluation of the hybrid material TiO<sub>2</sub>-NPsAu integrated with carbon nanotubes on dhp film for amperometric determination of ascorbic acid / Jessica Scremin. - Londrina, 2017.  
59 f.: il.

Orientador: Elen Julciléia Romão Sartori Braz.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2017.  
Inclui bibliografia.

1. Eletrodo de carbono - Tese. 2. Nanotubos de carbono. - Tese. 3. Vitamina C - Tese. 4. Voltametria – Tese. 5. Química analítica – Tese. I. Braz, Elen Julciléia Romão Sartori. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 543

JESSICA SCREMIN

**CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DO MATERIAL HÍBRIDO DE  
TiO<sub>2</sub>-NPsAu INTEGRADO COM NANOTUBOS DE CARBONO EM  
FILME DE DIEXADECIL HIDROGÊNIO FOSFATO NA  
QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elen Julciléia Romão  
Sartori Braz  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andressa Gali Salante  
Universidade Estadual do Centro Oeste –  
UNICENTRO

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ieda Spacino Scarmínio  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 23 de fevereiro de 2017.

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus,  
por ser essencial na minha vida, e aos meus  
pais Marcia e Otavio, por todo o apoio.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada seria possível, por me dar forças e coragem nas horas difíceis, por sempre estar junto de mim quando precisei.

A minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elen Sartori por toda a paciência, dedicação e carinho que me dedicou todos esses anos. Obrigada por sempre estar ao meu lado me ajudando a alcançar meus sonhos.

Agradecer ao Prof. Dr. Pedro Henrique Curry Camargo e doutorando Eduardo Barbosa pelo fornecimento do material para a realização desse projeto.

Aos meus pais Marcia e Otavio, que estiveram presente sempre que precisei. Por todo o amor que me deram, e quanto amor me deram.

Aos meus irmãos Rodrigo e Henrique, que sempre estiveram ao meu lado me ajudando em cada dificuldade que encontrei durante minha vida.

Aos meus avós Maria, Aneide e Otavio por sempre torcerem por mim, tenho muita sorte de tê-los em minha vida. Vocês são muito especiais.

Meus amigos que estão comigo desde a graduação e sempre torceram por mim.

Ao grupo LAES, que são as melhores pessoas para se conviver dentro de um laboratório, sempre ajudando com o que é preciso e acima de tudo pela amizade.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AU	Ácido úrico
CV	Carbono vítreo
DA	Dopamina
DMT	2,5-dimercapto-1,3,4-tiadiazol
DHP	Diexadecil hidrogênio fosfato
DHP/ECV	Eletrodo de carbono vítreo modificado com diexadecil hidrogênio fosfato
DPR	Desvio padrão relativo
DQV	Deposição química em fase vapor
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
EIS	Espectrometria de impedância eletroquímica
EPC	Eletrodo de pasta de carbono
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
IUPAC	União Internacional da Química Pura e Aplicada
LD	Limite de detecção
NPs	Nanopartículas
NPsAu	Nanopartículas de ouro
NTsC	Nanotubos de carbono
NTsC/ECV	Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono e diexadecil hidrogênio fosfato
NTsC-N	Nanotubos de carbono dopado com nitrogênio
NTsCPS	Nanotubos de carbono de parede simples
NTsC	Nanotubos de carbono de parede múltipla
OGR	Grafeno parcialmente reduzido
$R_{et}$	Resistência de transferência de elétrons
TiO <sub>2</sub> -NPsAu	Dióxido de titânio decorado com nanopartículas de ouro e diexadecil hidrogênio fosfato
TiO <sub>2</sub> -NPsAu/ECV	Eletrodo de carbono vítreo modificado com dióxido de titânio decorado com nanopartículas de ouro e diexadecil hidrogênio fosfato

TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV Eletrodo de carbono vítreo modificado com dióxido de titânio decorado com nanopartículas de ouro e nanotubos de carbono e diexadecil hidrogênio fosfato

VPD Voltametria de pulso diferencial

VOQ Voltametria de onda quadrada

Quit Quitosana

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcuta)

SCREMIN, Jessica. **Avaliação eletroquímica do material híbrido de TiO<sub>2</sub>-NPsAu integrado com nanotubos de carbono em filme de DHP para determinação amperométrica de ácido ascórbico**. 2017. 59 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## RESUMO

Neste trabalho descreve-se o desempenho de um novo sensor amperométrico a base de materiais nanoestruturados. O material híbrido a base de TiO<sub>2</sub> decorado com nanopartículas de Au (TiO<sub>2</sub>-NPsAu) foi integrado com nanotubos de carbono (NTsC) em filme de diexadecil hidrogênio fosfato (DHP) para a modificação de um eletrodo de carbono vítreo (ECV). O eletrodo desenvolvido foi caracterizado por meio da espectroscopia eletroquímica de impedância que revelou uma forte diminuição na resistência de transferência de elétrons do ECV modificado quando comparado ao não modificado, o que facilita a transferência de elétrons na sua superfície. Na presença de ácido ascórbico (AA), o ECV modificado apresentou um processo de oxidação em 0,20 V, menor que aqueles apresentados por outros eletrodos modificados com materiais nanoestruturados. Utilizando a técnica amperometria, a curva analítica obtida foi linear no intervalo de concentração para o AA de 4,97 a 60,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, com um limite de detecção de 1,23  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O eletrodo assim modificado foi aplicado com sucesso na determinação de AA em medicamento e suco de laranja comercial. Os resultados obtidos foram estatisticamente semelhantes aos obtidos através do método iodométrico.

**Palavras-chave:** Eletrodo quimicamente modificado. Material híbrido. TiO<sub>2</sub>-NPsAu. nanotubos de carbono. Ácido ascórbico.

SCREMIN, Jessica. **Electrochemical evaluation of the hybrid material TiO<sub>2</sub>-NPsAu integrated with carbon nanotubes on dhp film for amperometric determination of ascorbic acid.** 2017. 59 p. Dissertation (Master's degree chemical) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

### ABSTRACT

This work describes the performance of a new amperometric sensor based on nanostructured materials. The hybrid material based on TiO<sub>2</sub> decorated with Au nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPsAu) was integrated with carbon nanotubes on dihexadecyl hydrogen phosphate (DHP) film for the modification of a glassy carbon electrode (GCE). The developed electrode was characterized by electrochemical impedance spectroscopy that revealed a decrease in the electron transfer resistance of the modified ECV as compared to unmodified, which facilitates the transfer of electrons on its surface. In the presence of ascorbic acid (AA), the modified ECV presented an oxidation process at 0.20 V, lower than those presented by other electrodes modified with nanostructured materials. Using amperometry, the obtained analytical curve was linear in the concentration range from 4.97 to 60.1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  in 0.1 mol L<sup>-1</sup> KCl solution, with a detection limit of 1.23  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . The electrode as soon modified was successfully applied in the determination of AA in pharmaceutical and orange juice. The results were statistically similar to those obtained using the iodometric method.

**Key words:** Modified electrode. Carbon nanotubes. TiO<sub>2</sub>-NPsAu. Acid ascorbic determination.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	– Vantagens dos materiais clássicos.....	13
<b>Figura 2</b>	– Representação dos NTsC antes e depois da funcionalização por tratamento químico com mistura de ácidos $H_2SO_4$ e $HNO_3$ .....	19
<b>Figura 3</b>	– Estrutura molecular do AA .....	23
<b>Figura 4</b>	– Ilustração da modificação da superfície do ECV com o material híbrido a base de $TiO_2$ decorado com NPsAu .....	30
<b>Figura 5</b>	– Imagem obtida por MEV das esferas colidais de $TiO_2$ (A) e $TiO_2$ -NPsAu (B).....	33
<b>Figura 6</b>	– Imagens de MEV do ECV (A) e dos filmes de DHP/ECV (B), $TiO_2$ -NPsAu/ECV (C), NTsC/ECV (D) e $TiO_2$ -NPsAu/NTsC/DHP (E).....	34
<b>Figura 7</b>	– Voltamogramas cíclicos (50 mV s <sup>-1</sup> ) para os eletrodos de ECV (—), DHP/ECV (—), $TiO_2$ -NPsAu/ECV (—), NTsC/ECV (—) e $TiO_2$ -NPsAu/NTsC/ECV (—) na presença de 5,00 mmol L <sup>-1</sup> de $K_3[Fe(CN)_6]$ em KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> .....	36
<b>Figura 8</b>	– Diagramas de Nyquist para espectroscopia de impedância eletroquímica em solução de KCl 0,5 mol L <sup>-1</sup> contendo $K_3[Fe(CN)_6]$ na concentração de 1,0 mmol L <sup>-1</sup> para: ECV (■), DHP/ECV (▲), $TiO_2$ -NPsAu/ECV (●), NTsC/ECV (▼) e $TiO_2$ -NPsAu/NTsC/ECV (◀).....	37
<b>Figura 9</b>	– Voltamogramas cíclicos (50 mV s <sup>-1</sup> ) em KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> contendo 0,10 mmol L <sup>-1</sup> de AA em diferentes eletrodos: ECV (—), DHP/ECV (—), $TiO_2$ -NPsAu/ECV (—), NTsC/ECV (—) e $TiO_2$ -NPsAu/NTsC/ECV (—).....	39
<b>Figura 10</b>	– Voltamogramas cíclicos (50 mV s <sup>-1</sup> ) do AA em solução de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> empregando o eletrodo de $TiO_2$ -NPsAu/NTsC/ECV preparado com diferentes quantidades de $TiO_2$ -NPsAu à dispersão de NTsC em DHP. Alíquotas do material híbrido: 25 µL (—), 50 µL (—), 75 µL (—) em 100 µL de NTsC.....	40
<b>Figura 11</b>	– Variação da velocidade de varredura de 5 – 400 mV s <sup>-1</sup> nos voltamogramas do AA em solução de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> na presença de AA 0,05 mmol L <sup>-1</sup> (A), gráfico da $I_{pa}$ vs $v$ (B) .....	43
<b>Figura 12</b>	– A reação de oxidação do AA proposta.....	44

- Figura 13** – Curva analítica obtida utilizando a técnica de amperometria, em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, no potencial de 0,4 V, com a concentração de AA variando de 4,97 a 60,1 μmol L<sup>-1</sup>. Inseto: amperograma da respectiva curva analítica.....45
- Figura 14** – Voltamogramas cíclicos a 50 mV s<sup>-1</sup> de AA em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> na presença de AU 0,20 mmol L<sup>-1</sup> (A), DA 0,10 mmol L<sup>-1</sup> (B) e sulfito 0,15 mmol L<sup>-1</sup> (C).....48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> –Valores dos potenciais de oxidação e intensidade de corrente de cada voltamograma da Figura 7 .....	35
<b>Tabela 2</b> –Valores da resistividade para ECV, DHP/ECV, TiO <sub>2</sub> -NPsAu/ECV, NTsC/ECV, TiO <sub>2</sub> -NPsAu/NTsC/ECV obtidos pela espectroscopia de impedância eletroquímica .....	38
<b>Tabela 3</b> –Valores de potencial de oxidação e intensidade de corrente para os voltamogramas de cada modificação representados na Figura 9.....	39
<b>Tabela 4</b> –Respostas analíticas obtidas por CV (50 mV s <sup>-1</sup> ) com 0,05 mmol L <sup>-1</sup> de AA em diferentes eletrólitos suporte .....	42
<b>Tabela 5</b> –Comparação dos parâmetros analíticos empregando diferentes eletrodos modificados com materiais nanoestruturados e/ou técnicas para a determinação de AA.....	46
<b>Tabela 6</b> –Determinação da concentração de AA em medicamento e suco de fruta empregando-se o método proposto e o método comparativo .....	49

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	12
1.1	Considerações Gerais	12
1.2	Material Híbrido	13
1.2.1	Dióxido de Titânio (TiO <sub>2</sub> )	14
1.2.2	Nanopartículas Metálicas	15
1.2.3	Material Híbrido a base de TiO <sub>2</sub> -NPsAu	16
1.3	Nanotubos de carbono	16
1.3.1	Síntese do NTsC	17
1.3.2	Funcionalização dos NTsC	18
1.4	Sensores Químicos	19
1.4.1	Eletrodos Quimicamente Modificados	20
1.4.1.1	Eletrodos modificados com material híbrido	21
1.5	Ácido Ascórbico	22
1.5.1	Determinação do AA Empregando Eletrodo Modificado Com Material Nanoestruturado	23
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	25
2.1	Objetivos Específicos	25
<b>3</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	26
3.1	Reagentes e Soluções	26
3.2	Equipamentos	27
3.3	Funcionalização do NTsC	27
3.4	Síntese das NPsAu	28
3.5	Modificação do ECV	28
3.6	Procedimentos analíticos	29
3.7	Preparo das amostras	30
3.8	Método de referência	30
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	31
4.1	Desenvolvimento do eletrodo de trabalho, TiO <sub>2</sub> -NPsAu/NTsC/ECV, e sua caracterização eletroquímica	31
4.2	Potencialidade analítica do novo eletrodo desenvolvido	37
4.2.1	Estudo do Comportamento Voltamétrico do AA em Diferentes Eletrodos	37

4.2.2	Estudo da Proporção de TiO <sub>2</sub> -NPsAu e NTsC .....	38
4.2.3	Estudo do Efeito do Eletrólito Suporte e pH .....	40
4.2.4	Estudo da Velocidade de Varredura .....	41
4.2.5	Curva Analítica .....	43
4.2.6	Comparação com Outros Eletrodos Modificados com Materiais Nanoestruturados na Determinação de AA em Diferentes Matrizes .....	44
4.2.7	Estudo de Interferentes e Outras Potencialidades do Novo Eletrodo Desenvolvido .....	45
4.2.8	Determinação de AA em Diferentes Matrizes .....	48
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>50</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Nos últimos anos, o desenvolvimento de novos sensores a partir de materiais nanoestruturados vem sendo proposto visando a fácil, sensível, seletiva e rápida detecção dos mais diferentes compostos de interesse para a aplicação em diversos campos, tais como a monitoramento e controle de processos industriais e ambiental, diagnóstico clínico e segurança alimentar (KHALILZADEH; ARAB, 2016; SARGAZI; MAJD, 2017).

Nesse sentido, surgem os materiais híbridos a base de nanopartículas metálicas (NPs) que apresentam propriedades complementares e características únicas, diferenciadas daquelas dos materiais que o originaram, dependendo da distribuição espacial e do tamanho de seus constituintes (EDER, 2010; TAN; CHEETHAM, 2011). Estes materiais híbridos podem ser adicionados à matriz carbonácea na forma de filmes sobre a superfície eletródica (DOS REIS et al., 2015).

A integração de NPs com nanotubos de carbono (NTsC) tem recebido cada vez mais atenção, uma vez que apresentam características eletroquímicas, eletromagnéticas e estruturais que não estão disponíveis para o componente individual. Ambos integrados podem produzir um efeito sinérgico, combinando as excelentes propriedades das NPs e dos NTsC, em termos de aumento do efeito eletrocatalítico ou aumento de sinal analítico, favorecendo uma maior sensibilidade e menores limites de detecção (LD), além de deslocar o potencial de trabalho para valores mais próximo do zero, diminuindo assim possíveis interferências de concomitantes (CHIKAE et al., 2006; JIANG et al., 2003; KIM; SIGMUND, 2004; TANG et al., 2009; XU et al., 2006).

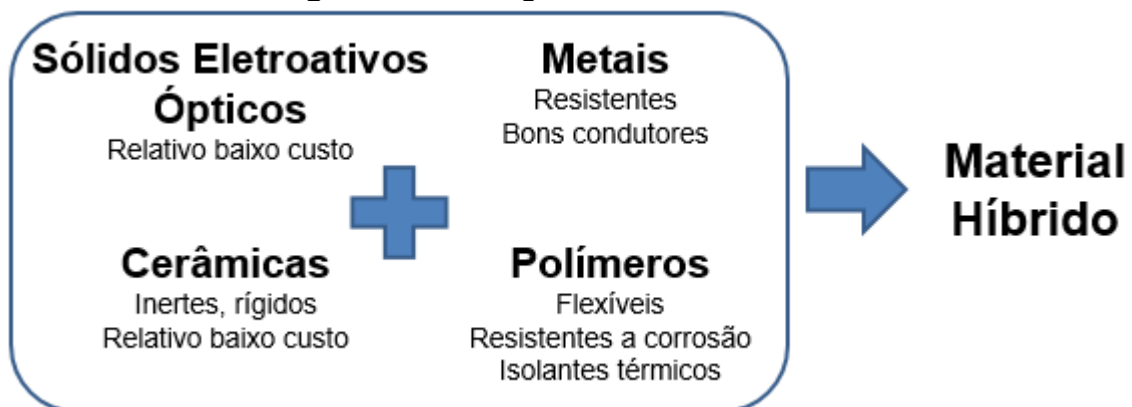
Esses nanomateriais a base de carbono e partículas metálicas podem ser adequadamente dispersos em solução aquosa contendo diexadecil hidrogênio fosfato (DHP) para a modificação do eletrodo de carbono vítreo (ECV) (DEROCO; VICENTINI; FATIBELLO-FILHO, 2015). O DHP é um surfactante e pode ser disperso em água por agitação ultrassônica, no qual a sua dispersão forma uma película estável na superfície do eletrodo após a evaporação da água.

## 1.2 MATERIAL HÍBRIDO

As novas tecnologias estão cada vez mais inovadoras exigindo assim materiais com combinação de propriedades, pois os materiais convencionais têm suas propriedades limitadas. Neste contexto, temos o surgimento dos materiais híbridos como uma alternativa para a obtenção de novos materiais com características multifuncionais e potencialidades com uma larga faixa de aplicação em diversas áreas (NICOLE et al., 2014). Os materiais híbridos são compostos por dois ou mais materiais, não necessariamente da mesma classe. Um dos mais antigos e famosos material híbrido produzido pelo homem, é do tipo orgânico-inorgânico, no qual surgiu para atender as necessidades das indústrias de tintas, onde os materiais eram compostos por dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ), sendo este o pigmento inorgânico e era suspenso em misturas orgânicas como solventes e surfactantes (KICKELBICK, 2007).

A Figura 1 ilustra as classes convencionais dos materiais e suas vantagens. Pode-se observar que com a combinação de dois ou mais destes compostos clássicos tem-se a formação de um material híbrido.

**Figura 1** – Vantagens dos materiais clássicos.



O material híbrido, também denominado de compósito pode ser obtido por dispersão, mistura física ou reação química entre dois ou mais materiais distintos e com propriedades diferentes (EDER, 2010; RAO; CHEETHAM; THIRUMURUGAN, 2008; TAN; CHEETHAM, 2011). Essas propriedades únicas dos

materiais híbridos tornam-se mais pronunciadas quando pelo menos uma das fracções ocorre em escala manométrica (MATTHEWS; RAWLINGS, 2008).

Um dos grandes desafios nas sínteses de materiais híbridos é ter uma combinação adequada dos compostos clássicos para que as propriedades finais do mesmo sejam as desejadas. Por exemplo, muitas cerâmicas são estáveis a altas temperaturas, porém são frágeis, já os metais são resistentes e bons condutores, mas são pesados e propensos à corrosão. Assim, a combinação destes dois tipos de materiais tem levado ao desenvolvimento de compósitos com propriedades superiores às apresentadas por seus componentes individuais (NICOLE et al., 2014).

### 1.2.1 Dióxido de Titânio

O  $\text{TiO}_2$  é um semicondutor do tipo  $n$  e constitui 0,63 % da crosta terrestre, sendo o nono elemento da tabela periódica mais abundante (ROBINSON et al., 2007). É quimicamente inerte, resistente à corrosão química e luminosa, além de apresentar baixo custo e não ser tóxico (BEHPOUR; MEHRZAD; HOSSEINPOUR-MASHKANI, 2015). O  $\text{TiO}_2$  pode ser encontrado em diversos itens utilizado no dia-dia, entre eles, na tinta branca (pigmento), bloqueador solar, cosméticos e como carga em diversos produtos (BENÍTEZ-MARTÍNEZ; LÓPEZ-LORENTE; VALCÁRCEL, 2016; CHANG et al., 2016; SHEN et al., 2016).

O  $\text{TiO}_2$  pode ser encontrado na natureza sob três formas cristalinas alotrópicas: anatásio (tetragonal), rutilo (tetragonal) e brookita (ortorrômbica). O Anatásio é meta estável e formado em temperaturas por volta de  $400^\circ\text{C}$ , suas características variam quando estão em escala manométrica (YILDIZHAN; STURM; GULGUN, 2016). O rutilo é mais estável e formado em altas temperaturas (acima de  $1000^\circ\text{C}$ ) (WEHINGER; BOSAK; JOCHYM, 2016). Por fim, a brookita é a fase considerada mais instável (KUSUMAWATI et al., 2014). Quando apresenta a estrutura cristalina do tipo anatásio, o  $\text{TiO}_2$  possui uma elevada atividade fotocatalítica e é utilizada como um semicondutor para a aplicação em diversas áreas, entre elas: sensores eletroquímicos (MONDAL; MADHURI; SHARMA, 2017; ZHU et al., 2016), guia de ondas (PRABHAKAR VATTIKUTI; VENKATESH; DEEPAK, 2014) e células solares (LI et al., 2016; ZHANG et al., 2013). Na eletroanalítica, o  $\text{TiO}_2$  vem sendo cada vez mais utilizado para a modificação de

eletrodos a base de carbono, como o ECV (KEMMEGNE-MBOUGUEN et al., 2016), eletrodo impresso (HAYAT et al., 2016) e eletrodo de pasta de carbono (EPC) (BABAEI et al., 2016) para a determinação individual e simultânea dos mais diversos analitos (LV et al., 2016; SUN et al., 2016).

### 1.2.2 Nanopartículas Metálicas

As NPs vêm sendo examinadas para a sua utilização como ferramentas para uma nova geração de dispositivos tecnológicos. Por possuírem um tamanho entre 1 e 100 nm, as NPs possuem propriedades diferente do mesmo material enquanto sólido, propriedades eletrônicas, ópticas, fotoquímicas, de transporte, magnéticas, eletroquímicas e catalíticas. Conseqüentemente vem despertando o interesse de diversas áreas distintas: ambiental, farmacêutica, alimentícia, energética, entre outras (PENN; HE; NATAN, 2003; PINGARRÓN; YÁÑEZ-SEDEÑO; GONZÁLEZ-CORTÉS, 2008; TOKONAMI et al., 2012; ZARBIN, 2007).

Na eletroanalítica, as NPs vem sendo utilizada para a modificação de eletrodos, pois proporciona vantagens perante os eletrodos convencionais, dentre elas pode-se citar grande área de contato, efeito eletrocatalítico e um aumento do transporte de massa. Conseqüentemente podem favorecer uma maior sensibilidade, menores LD e deslocar o potencial de trabalho para valores mais próximos de zero, ocorrendo dessa maneira, diminuição do efeito de matriz (CHIKAE et al., 2006; JIANG et al., 2003; KIM; SIGMUND, 2004; TANG et al., 2009; XU et al., 2006).

Estas NPs podem ser impregnadas ou depositadas sobre a superfície de um suporte. A técnica de impregnação é realizada quando as NPs e o suporte são sintetizados separados e em seguida a NPs são impregnadas na superfície do suporte. Já na técnica de deposição ocorre as sínteses das NPs na solução do suporte, deste modo, têm-se uma maior estabilidade das NPs sobre a superfície do suporte e uma maior interação entre ambos (BANIN; BEN-SHAHAR; VINOKUROV, 2014; DANIEL; ASTRUC, 2004).

### 1.2.3 Material Híbrido a base de TiO<sub>2</sub>-NPsAu

Os nanocompósitos a base de esferas coloidais de dióxido de titânio decorado com nanopartículas de ouro (TiO<sub>2</sub>-NPsAu) tem atraído um grande interesse para a construção de sensores e biossensores devido às suas excelentes propriedades (AMPELLI et al., 2015; QU et al., 2008; ZHOU; ZIONG; LIU, 2015), tais como a sua grande área de superfície, excelente biocompatibilidade (BABAEI et al., 2016). O TiO<sub>2</sub> é considerado um excelente substrato e de baixo custo para a dispersão de metais (PASSALACQUA et al., 2012). Enquanto isso, as atraído atenção nos últimos anos devido às suas excelentes propriedades ópticas, eletroquímicas e eletrônicas. Portanto, é esperado que o material híbrido a base de TiO<sub>2</sub>-NPsAu combine as propriedades vantajosas destes dois materiais, para uma nova performance eletroquímica.

Há trabalhos na literatura que mostram que a atividade electrocatalítica de TiO<sub>2</sub> pode ser melhorada pela decoração de sua superfície com NPs, como Au, Pt, Pd, devido às suas propriedades eletroquímicas e eletrônicas (CHANMANEE et al., 2012; LIN et al., 2013). Damato e colaboradores (2013) demonstraram um novo método de síntese de TiO<sub>2</sub>-NPsAu, simples e ambientalmente favorável, no qual emprega-se AuCl<sub>4</sub><sup>-</sup> como precursor de Au, ácido ascórbico (AA) como agente redutor, polivinilpirrolidona (PVP) como estabilizador e água como solvente. Nesse trabalho, as esferas de TiO<sub>2</sub> foram sintetizadas em seguida realizou-se a deposição de NPsAu sobre a sua superfície para gerar híbridos de TiO<sub>2</sub> com recobrimentos de NpsAu. O tamanho das NPsAu pode ser facilmente controlado por meio da redução de 4-nitrofenol (DAMATO et al., 2013). Esse material, quando utilizado na modificação do ECV, garantiu um melhor desempenho na eletrogeração *in situ* de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por meio da reação de redução de oxigênio frente ao eletrodo não modificado (DOS REIS et al., 2015).

### 1.3 NANOTUBOS DE CARBONO

O elemento químico carbono possui diversos alótropos, entre eles: diamante, grafite, grafeno, furelino e nanotubos. Devido as suas propriedades

físicas e química únicas é utilizado no desenvolvimento de diversos eletrodos para a determinação de analitos em amostras ambientais, farmacêuticas, alimentícias, entre outras (HIRSCH, 2010; NIU et al., 2012).

Em 1978, Peter Wiles e John Abrahamson citaram pela primeira vez fibras de carbono com 4 nm de diâmetro (WILDGOOSE et al., 2005). Porém, foi em 1991 que Iijima fez a primeira concepção sobre o NTsC (IJIMA, 1991). Por fim em 1993 Iijima e colaboradores publicaram a síntese do NTsC (IJIMA; ICHIHASHI, 1993). Desde então, em consequência de sua condutividade elétrica e boa resistência mecânica, bem como ser quimicamente inerte em grande parte das soluções de eletrólitos suporte, mas mantendo uma elevada atividade de superfície e uma ampla janela de potencial (WILDGOOSE et al., 2006), os NTsC veem cada vez mais sendo empregados na eletroanalítica, na confecção ou modificação de eletrodos (SARTORI; TAKEDA; FATIBELLO-FILHO, 2011; TANG et al., 2014; VALEZI et al., 2014).

Os NTsC são classificados de acordo com o seu número de camadas, sendo dois os principais tipos NTsC, os nanotubos de carbono de parede simples (NTsCPS) e os de paredes múltiplas (NTsC) (DE SOUZA FILHO; FAGAN, 2007). Os NTsCPS consistem em uma folha de grafeno enrolada entre si no formato de um cilindro (um nanotubo) e seus diâmetros variam entre 1 a 2 nm; já os NTsC tem sua composição por vários NTsC concêntricos separados entre si por alguns nanômetros e possuem diâmetros entre 2 a 100 nm (BETHUNE et al., 1993; IJIMA; ICHIHASHI, 1993).

### 1.3.1 Síntese do NTsC

Entre as técnicas utilizadas para a síntese de NTsC, destacam-se três: a ablação a laser (vaporização a laser), pirólise em arco voltaico e deposição química em fase vapor (DQV) (SHIRAZI et al., 2011).

O método de ablação por laser consiste no uso de um laser em um alvo de carbono gerando altas temperatura. Desse modo, o carbono rapidamente evapora e é resfriado com uma corrente de gás inerte (hélio, argônio). Em seguida, os NTsC são guardados em tudo refrigerado. Neste método, o alvo de grafite é impregnado com material catalítico composto principalmente por partículas de Fe e Co, obtendo assim os NTsC (SEE; HARRIS, 2007; THESS et al., 1996).

O método da pirólise em arco voltaico foi utilizado por Iijima em 1991 e foi o primeiro método utilizado para sintetizar NTsC. É baseado na geração de um arco elétrico entre dois eletrodos de grafite separados por 1 mm sob uma atmosfera inerte (hélio ou argônio) e sob pressão reduzida. Entre os eletrodos, se tem a passagem de uma corrente elevada (entre 50 e 120 A) em um potencial de 30 V, acarretando a formação de um plasma de alta temperatura. Conseqüentemente, o carbono é sublimado e condensado produzindo os NTsC. Este método possibilita a produção de NTsCPS e NTsC (LI et al., 2003).

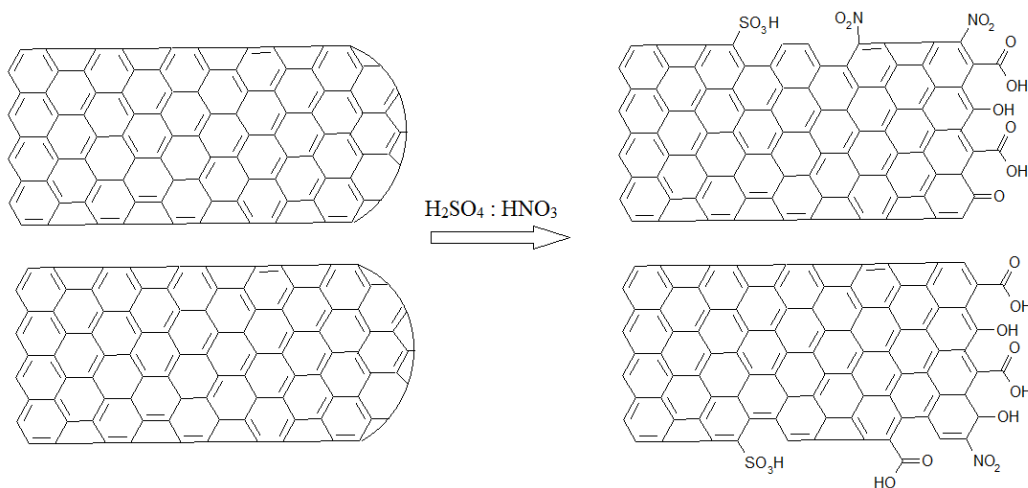
A DQV é atualmente o método mais empregado para a obtenção de NTsC, em razão de que este método proporciona um melhor controle das variáveis da síntese, garantindo grandes quantidades de NTsC, com maior teor de pureza (HERBST; MACÊDO; ROCCO, 2004). A síntese é realizada em uma atmosfera inerte onde ocorre a reação de decomposição de um vapor contendo átomos de carbono, na presença de um substrato metálico, no qual consiste de uma camada de partículas metálicas catalíticas (Ni, Co, Fe ou mistura de metais), sendo aquecido entre 800-1000 °C. Dentro do reator são misturados dois gases: hidrogênio, nitrogênio ou amônia e gás precursor (metano, etileno ou acetileno). Assim, os gases reagem, rompendo as ligações covalentes e os átomos liberados seguem para as bordas das partículas metálicas, onde os nanotubos são crescidos (LI; KINLOCH; WINDLE, 2004; ZHANG; ZHENG, 2008).

### 1.3.2 Funcionalização dos NTsC

A baixa solubilidade dos NTsC em diversos solventes, entre eles, água e álcoois é uma limitação para o seu uso. Para superar essa limitação é possível tratar quimicamente os NTsC, funcionalizando os mesmos para promover o aparecimento de diversos grupos funcionais polares na sua superfície. Dentre os métodos para funcionalização dos NTsC pode-se citar a exposição ao ozônio (BYL; LIU; YATES JR, 2005), vapor de água (XIA et al., 2007), dióxido de carbono (TSANG; HARRIS; GREEN, 1993), peróxido de hidrogênio (XU et al., 2006), plasma de oxigênio (LOBO et al., 2012), ácido nítrico concentrado (SHIRAZI et al., 2011), ácido clorídrico concentrado (WANG et al., 2010) e misturas de ácidos nítrico e sulfúrico concentrados (JIANG et al., 2009; SANTANGELO et al., 2012).

Devido à alta eficiência na funcionalização, os principais procedimentos empregados para a funcionalização dos NTsC são aqueles que utilizam ácidos, pois provocam modificações na morfologia dos NTsC, ocorrendo a diminuição do tamanho e/ou abertura das extremidades dos nanotubos, aumento dos defeitos nas estruturas, rupturas das paredes e também introdução de grupos funcionais oxigenados como ácido carboxílico, álcool, hidroxila e cetona, além de grupos nitro (BEKYAROVA et al., 2004; KIM; SIGMUND, 2004)(Figura 2). Com isso, tem-se uma melhora na dispersão dos NTsC em soluções aquosas e uma eliminação das impurezas de metais provenientes dos processos catalíticos durante sua síntese NTsC (BEKYAROVA et al., 2004).

**Figura 2** - Representação dos NTsC antes e depois da funcionalização por tratamento químico com mistura de ácidos  $H_2SO_4$  e  $HNO_3$ . Figura adaptada da tese de Vicentini (2013).



#### 1.4 SENSORES QUÍMICOS

Em 1991, a União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC) definiu sensor químico como sendo um dispositivo que converte a informação química em sinais analiticamente úteis, onde é possível identificar a composição e concentração da amostra. Estes sensores são compostos por um receptor, onde ocorre a transformação da informação química em forma de energia e em seguida o transdutor transforma a energia em um sinal analítico estável e útil. Os sensores químicos podem ser classificados de acordo com o transdutor, sendo os principais: eletroquímicos, magnéticos, ópticos e termométricos (HULANICKI; GLAB;

INGMAN, 1991). Os sensores eletroquímicos vêm se destacando devido as suas vantagens perante outros sensores químicos, como alta sensibilidade e seletividade, curto tempo de análise, relativo baixo custo e fácil manuseio (ERIC; TELTING-DIAZ, 2002; WANG; YANG; WU, 2009).

Os sensores voltamétricos estão classificados como um sensor eletroquímico, destacando os eletrodos à base de carbono. Estes são largamente utilizados na eletroanalítica, devido a suas amplas faixas de potencial de trabalho, serem razoavelmente inertes quimicamente e suas superfícies podem ser facilmente modificadas. Dentre os eletrodos de carbono cita-se o CV (ASADIAN et al., 2017; SARTORI; TAKEDA; FATIBELLO-FILHO, 2011), pasta de carbono (BAGHERI et al., 2016; VALEZI et al., 2014), diamante dopado com boro (MORAES et al., 2016; SALAMANCA-NETO et al., 2016) e eletrodo de carbono impresso (EL HARRAD; AMINE, 2016).

O ECV é um material isotrópico, não grafitizável e pode ser obtido por meio da carbonização de resinas termorrígidas, a pelo menos 1000 °C (GONÇALVES et al., 2009). Tem sido amplamente empregado na eletroanalítica devido à sua baixa corrente residual, satisfatória janela de potencial, excelentes valores de condutividade elétrica e térmica tanto em meios orgânicos como aquosos (RAHMAN et al., 2016).

#### 1.4.1 Eletrodos Quimicamente Modificados

MOSES e colaboradores em 1975 introduziram o termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) para referenciar eletrodos com espécies quimicamente ativas, imobilizadas em sua superfície com o intuito de pré-estabelecer e controlar a natureza físico química da interface eletrodo/solução. O EQM consiste em duas partes, sendo elas: o eletrodo base e a camada do material modificador. A seleção do eletrodo base deve-se adequar com o método de imobilização selecionado. Entre os eletrodos convencionais encontrados na literatura para a modificação temos em destaque o ECV (DAI et al., 2016; SHAHROKHIAN et al., 2016), pasta de carbono (CHERAGHI; TAHER; KARIMI-MALEH, 2016; YANG et al., 2016), carbono impresso (RIBEIRO et al., 2016; TALARICO et al., 2016), fibras de carbono ouro (JIANG et al., 2016) e platina (NESAKUMAR et al., 2016).

Os EQMs têm despertado o interesse em diversas áreas além de fins não analítico, incluindo estudos básicos de eletrocatalise (FARJAMI et al., 2016), cinética de transferência de elétrons (DONEUX; CHERIF; BUESS-HERMAN, 2016) e fotoeletroquímica (YU et al., 2017). Na eletroanalítica, o ECV tem sido extensivamente utilizados como substrato para a deposição de nanomateriais com a finalidade de se obter maior seletividade e menores LD (ASADIAN et al., 2017).

#### 1.4.1.1 Eletrodos modificados com material híbrido

Na literatura há diversos trabalhos que empregam NPs para a modificação de sensores eletroquímicos, porém há poucos trabalhos que empregam materiais híbrido de NPs Au com  $\text{TiO}_2$  na modificação de eletrodos para aplicações analíticas (AMPELLI et al., 2015; QU et al., 2008; ZHOU; ZIONG; LIU, 2015).

Ampelli e colaboradores em 2015 desenvolveram um método para o monitoramento de glicose em processos de fermentação com base no desenvolvimento de sensores eletroquímicos de glicose sem enzimas e modificados com  $\text{TiO}_2$ -NPs Au. A síntese das NPs Au foi realizada em banho de óleo a  $100\text{ }^\circ\text{C}$  onde foi adicionado citrato de sódio em uma solução de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Em seguida, o compósito de  $\text{TiO}_2$  impregnado em NPs Au foi preparado por meio de impregnação úmida de  $\text{TiO}_2$  na solução coloidal de NPs Au previamente sintetizada. Esse material foi depositado em eletrodo de carbono impresso, sendo capaz de monitorar a glicose durante o processo de fermentação sem haver interferência do etanol.

Zhou e colaboradores desenvolveram um sensor eletroquímico sensível e seletivo para a detecção dos íons mercúrio ( $\text{Hg}^{2+}$ ), modificando um eletrodo de ouro com o nanocompósito de Au- $\text{TiO}_2$  NPs e quitosana (Quit) (Au- $\text{TiO}_2$  NPs/Quit/ouro). Para a preparação do nanocompósito, os autores primeiramente sintetizaram o  $\text{TiO}_2$  através do processo sol-gel, onde prepararam uma solução de titanato de tetrabutila em etanol e adicionaram ácido acético. Em seguida, deixou-se em agitação por 24 h até que se transformou em um gel e por meio da calcinação obteve-se o  $\text{TiO}_2$  em pó. Então, o compósito foi produzido adicionando  $\text{HAuCl}_4$  e  $\text{NaBH}_4$  em uma solução aquosa de  $\text{TiO}_2$  sintetizado (ZHOU; ZIONG; LIU, 2015).

QU e colaboradores modificaram um ECV com nanocompósito  $\text{TiO}_2$ -NPs Au em conjunto com a quitosana ( $\text{TiO}_2$ -NPs Au/Quit/ECV) para determinação de traços de paration, um inseticida organofosforados. A síntese do

nanocompósito foi realizada em um solução já contendo NPs de TiO<sub>2</sub> e então adicionado citrato de sódio, H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> e NH<sub>2</sub>OH.HCl e após 12 h resultando no nanocompósito de TiO<sub>2</sub>-NPsAu (QU et al., 2008).

### 1.5 ÁCIDO ASCÓRBICO

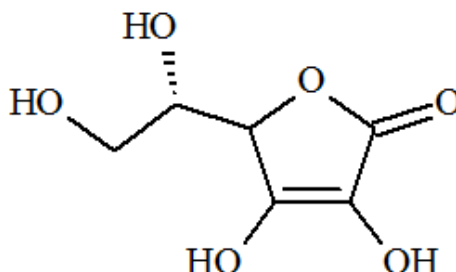
O AA, também é conhecido como vitamina C, é uma vitamina hidrossolúvel essencial na dieta humana (EITENMILLER; YE; LANDEN, 2008). Os benefícios do AA foram descobertos ainda na Idade Média, porém há vários relatos sobre o escorbuto, doença causada pela falta de AA, no Antigo Egito, Grécia e Roma. Era uma doença já conhecida pelo filósofo Hipócrates e romano Plínio. Porém, a primeira epidemia de escorbuto foi relatada na Idade Média, no norte e centro da Europa nos soldados e marinheiros em campos de concentração, onde a dieta não continha quantidades necessárias de AA (DAVEY et al., 2000).

A maioria dos animais e plantas como frutas cítricas, produtos hortícolas e vegetais possuem habilidade de sintetizar o AA a partir de D-glicose ou D-galactose via ácido glicurônico, porém os seres humanos, outros primatas e algumas espécies de morcegos frugívoros não possuem a enzima necessária para sintetizar o AA (DU; CULLEN; BUETTNER, 2012).

A Figura 3 ilustra a estrutura química do AA, sendo considerado um potente antioxidante natural, devido a sua facilidade em perder elétrons, sendo assim muito efetivo em sistemas biológicos (BERNHARDT; SCHLICH, 2006). É encontrado na natureza na forma reduzida (AA) e na forma oxidada (ácido dehidroascórbico). A molécula é oxidada quando interage com radicais livres e pode ser novamente reduzida através da ação de enzimas no organismo (MARSANASCO et al., 2016). Por causa de seu potencial antioxidante, o AA auxilia na desintoxicação, absorção de ferro e no aumento do sistema imunológico. É reconhecido na prevenção de gripes e escorbuto, além de desempenhar um papel importante como radical livre limpador, contribuindo desse modo, para a prevenção de radicais livres, causadores de doenças induzidas, como a de Parkinson, o câncer e doenças cardiovasculares (COZZOLINO, 2013; EITENMILLER; YE; LANDEN, 2008; SERPEN; GÖKMEN, 2007). Quantidades diárias inferiores a 90 mg para homens e 75 mg para mulheres podem indicar sintomas de escorbuto, tais como, hemorragias capilares, sangramento gengival, perda dos dentes, depressão e

fadiga. Desse modo, faz-se necessário sua ingestão por meio da alimentação e suplementos vitamínicos (ADITI; GRAHAM, 2012).

**Figura 3** – Estrutura molecular do AA.



Além dos benefícios causados na saúde dos seres humanos, o AA é também muito utilizado em indústrias alimentícias. Estas empregam AA como aditivo alimentar (E300) para prevenção contra a oxidação, mantendo o sabor e cor dos alimentos, podendo estes serem consumidos a longo prazo (VARVARA et al., 2016). Dessa forma, por motivos acima mencionados faz-se necessário o controle do AA em formulações farmacêuticas e alimentos.

#### 1.5.1 Determinação do AA Empregando Eletrodo Modificado Com Material Nanoestruturado

Na literatura há vários métodos voltamétricos para a determinação de AA empregando materiais nanoestruturados (ANEESH et al., 2014; FERNANDES et al., 2015; HOSSEINI; FARAJI; MOMENI, 2011; KANNAN; JOHN, 2009; PARDAKHTY et al., 2016; YANG et al., 2014; ZHOU et al., 2015), entretanto, nenhum empregando eletrodos a base de carbono modificados com materiais híbridos do tipo TiO<sub>2</sub>-NPsAu. O uso de eletrodo modificado, principalmente com materiais nanoestruturados, tende a melhorar a sensibilidade e a seletividade na determinação eletroquímica de AA.

Kannan e Jonh desenvolveram um sensor eletroquímico para a determinação de AA, modificando um eletrodo de ouro com camadas automontadas de NPsAu e 2,5-dimercapto-1,3,4-tiadiazol (DMT) (NPsAu-A/DMT/Au). O perfil voltamétrico do AA foi investigado na voltametria de varredura linear em tampão fosfato 0,2 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,2), observando um pico em 0,31 V. Para a construção da

curva analítica empregou-se a técnica de amperometria obtendo-se uma linearidade de 0,05 a 0,40  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e um LD de 0,05  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (KANNAN; JOHN, 2009).

Hosseini e colaboradores determinaram a concentração de AA em amostras de medicamento empregando um eletrodo de titânio modificado com nanotubos de  $\text{TiO}_2$  e subsequente deposição de NPs Au (NPs Au/ $\text{TiO}_2/\text{Ti}$ ). Utilizando o sensor desenvolvido, os autores realizaram o perfil voltamétrico do AA utilizando VC em tampão fosfato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 7,2) e observaram um pico em 0,40 V. Sob as mesmas condições, construíram a curva analítica obtendo-se uma linearidade de 100 a 500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (HOSSEINI; FARAJI; MOMENI, 2011).

Aneesh e colaboradores modificaram o ECV com nano lamina de grafeno parcialmente reduzido (OGR/ECV). O perfil voltamétrico do AA foi realizado em solução tampão fosfato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 3,0) utilizando VC a 50  $\text{mV s}^{-1}$  e observaram um pico de oxidação em 0,20 V e sob as mesmas condições construíram a curva analítica através da voltametria de pulso diferencial (DPV), observando linearidade de 40 a 1000  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e um LD de 4,6  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (ANEESH et al., 2014).

Pardakhty e colaboradores desenvolveram um sensor de pasta de grafite modificado com NPs de NiO e tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio como aglutinante, para a determinação de AA em amostras farmacêuticas e alimentícias. O perfil voltamétrico e a curva analítica foram construídos a partir da técnica de VC (50  $\text{mV s}^{-1}$ ) em solução tampão fosfato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  (pH 7,0) e o pico de oxidação do AA foi observado em 0,50 V. A curva analítica foi construída no intervalo de concentração de AA de 0,08 a 380  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e um LD de 0,04  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (PARDAKHTY et al., 2016).

Fernandes e colaboradores modificaram o ECV com NTsC dopado com nitrogênio (NTsC-N) funcionalizados com NPs de  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  ( $\text{MnFe}_2\text{O}_4@\text{NTsC-N/ECV}$ ) e aplicado para a determinação eletroquímica do AA. O perfil voltamétrico do AA foi investigado usando VC, a 5  $\text{mV s}^{-1}$ , em solução tampão  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{Na}_2\text{SO}_4$  (pH 2,5) e observaram um pico de oxidação próximo de 0,55 V. Empregando a voltametria de onda quadrada (VOQ) e nas mesmas condições experimentais, a curva analítica foi construída obtendo uma linearidade de 2 a 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e um LD de 1,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (FERNANDES et al., 2015).

## 2 OBJETIVOS

Levando em consideração os aspectos mencionados, no presente trabalho descreve-se a preparação e caracterização de um novo sensor voltamétrico baseado em um ECV modificado com o material híbrido do tipo  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu}$  integrado com os NTsC funcionalizados em filme de DHP, bem como a sua aplicação na determinação de AA em matrizes alimentícia e farmacêutica.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar diferentes formas de modificação do ECV com o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2$  decorado com NPsAu integrado com NTsC funcionalizado em filme de DHP.
2. Examinar a superfície dos diferentes eletrodos modificados através da caracterização morfológica da superfície utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV).
3. Caracterizar a superfície dos diferentes eletrodos modificados empregando as técnicas eletroquímicas: VC e espectroscopia de impedância eletroquímica com ferricianeto de potássio  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , onde serão determinadas e comparadas com as áreas eletroativas.
4. Analisar o comportamento voltamétrico do AA sobre o eletrodo modificado com a VC, investigando-se a composição do filme a ser utilizado.
5. Avaliar os parâmetros analíticos, tais como sensibilidade, seletividade, LD, intervalo linear de concentração, estabilidade, exatidão e precisão do procedimento eletroanalítico proposto.
6. Determinar o AA em formulação farmacêutica e suco de laranja comercial, empregando-se a amperometria.
7. Investigar a potencialidade do eletrodo desenvolvido para a determinação simultânea de AA e sulfito e também de AA e analitos de interesse biológico, como o ácido úrico (AU) e dopamina (DA).
8. Comparar os parâmetros analíticos obtidos para a determinação de AA empregando o  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  com aqueles eletrodos modificados com materiais nanoestruturados previamente descritos na literatura.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade  $>18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ) proveniente do sistema Milli-Q (Millipore®). O AA, DHP e NTsC (20-30 nm de diâmetro e 0,5-2  $\mu\text{m}$  de largura; pureza  $\geq 95 \%$ ) foram obtidos pela Sigma-Aldrich. Todos os sais utilizados para o preparo das soluções foram adquiridos pela Merck.

As soluções de cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl) 0,1 mol L<sup>-1</sup> foram preparadas por dissolução de cada sal, em balão volumétrico de 250 mL.

Foram preparadas soluções a 0,1 mol L<sup>-1</sup> de nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>) e nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) pesando a massa referente de cada sal e dissolvidos em água deionizada.

As soluções de tampão acetato pH 4,00 e pH 5,00 foram preparadas a partir da mistura de ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) e acetato de sódio (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub>) ambos a 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Para o ajuste do pH 4,00 e 5,00 foi adicionado acetato de sódio na solução de ácido acético.

Os tampões fosfato pH 6,00 e 8,00 foram preparados pela mistura das soluções de fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e fosfato de potássio bibásico (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ambas de concentração 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Para o ajuste do pH 6,00 e 8,00 foi adicionado à solução de fosfato de potássio monobásico na solução de fosfato de potássio bibásico.

A solução de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] foi preparada a cada dia de trabalho a partir da dissolução do sal em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

A solução padrão de DA, AU e sulfito a 10 mmol L<sup>-1</sup> foram preparadas a cada dia de trabalho por dissolução do padrão, em 1,5 mL do eletrólito suporte.

A solução padrão estoque de AA a 10 mmol L<sup>-1</sup> foi preparada dissolvendo o AA em eletrólito suporte a cada dia de trabalho. As soluções de trabalho, na concentração de 1 mmol L<sup>-1</sup>, foram preparadas por meio da diluição da solução padrão estoque no eletrólito suporte.

As amostras contendo AA (farmacêutica e alimentícia) utilizadas neste trabalho foram adquiridas em uma drogaria e mercado local na cidade de Londrina, Brasil, respectivamente.

### 3.2 EQUIPAMENTOS

As medidas voltamétricas foram realizadas em um FRAII  $\mu$ AUTOLAB tipo III (Metrohm Autolab B.V., Holanda) controlado pelo software General Purpose Electrochemical System – GPES. Todos os experimentos voltamétricos foram realizados em uma célula eletroquímica contendo três eletrodos, incluindo um  $\text{TiO}_2$ -NPsAu/NTsC/ECV como eletrodo de trabalho, uma placa de platina como eletrodo auxiliar e todos os potenciais foram medidos em relação a um eletrodo de referência de Ag/AgCl ( $3,0 \text{ mol L}^{-1}$  KCl). O ECV foi obtido da Tokay Carbon Co., Japão (diâmetro 3 mm).

As medidas do pH foram realizadas com um pHmetro HI-221 (Hanna Instruments, EUA), empregando um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de Ag/AgCl ( $3,0 \text{ mol L}^{-1}$  KCl) como referência externa.

As imagens de microscópio foram obtidas por um MEV JOEL FEG-SEM JSM 6330-F operado a 5 kV.

### 3.3 FUNCIONALIZAÇÃO DO NTsC

Os NTsC foram purificados com uma solução de HCl  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  com a finalidade de remover impurezas metálicas. Em seguida foram tratados com uma mistura de ácidos  $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4$  (3:1, v/v) por 12 h a temperatura ambiente, para permitir sua funcionalização, pela introdução de grupos polares, principalmente grupos carboxílicos, nas extremidades ou nos defeitos de parede lateral da estrutura de nanotubos (SARTORI; TAKEDA; FATIBELLO-FILHO, 2011). Em seguida, a suspensão foi centrifugada e o sólido foi lavado várias vezes com água ultrapura até pH 6,5-7,0 e por fim foi deixado secar em estufa, a uma temperatura de  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  por 6h.

### 3.4. SÍNTESE DAS NPSAU

As esferas coloidais de  $\text{TiO}_2$  foram sintetizadas de acordo com procedimento previamente descrito na literatura (DAMATO et al., 2013). Adicionou-se 1 mL de  $\text{Ti}(\text{O}i\text{Bu})_4$  a 22,5 mL de etilenoglicol e deixado em agitação por 8 h a temperatura ambiente. Em seguida, essa solução foi colocada em 100 mL de acetona contendo 1,25 mL de água deionizada e 0,4 mL de ácido acético. Esta mistura foi mantida sob agitação por 3 h, originando um precipitado branco, que foi lavado várias vezes com etanol. Na próxima etapa, o produto glicolato de titânio foi adicionado em 50 mL de água e agitou-se por 8 h a  $70\text{ }^\circ\text{C}$  para produzir esferas coloidais de  $\text{TiO}_2$ , em seguida lavou-se várias vezes com água.

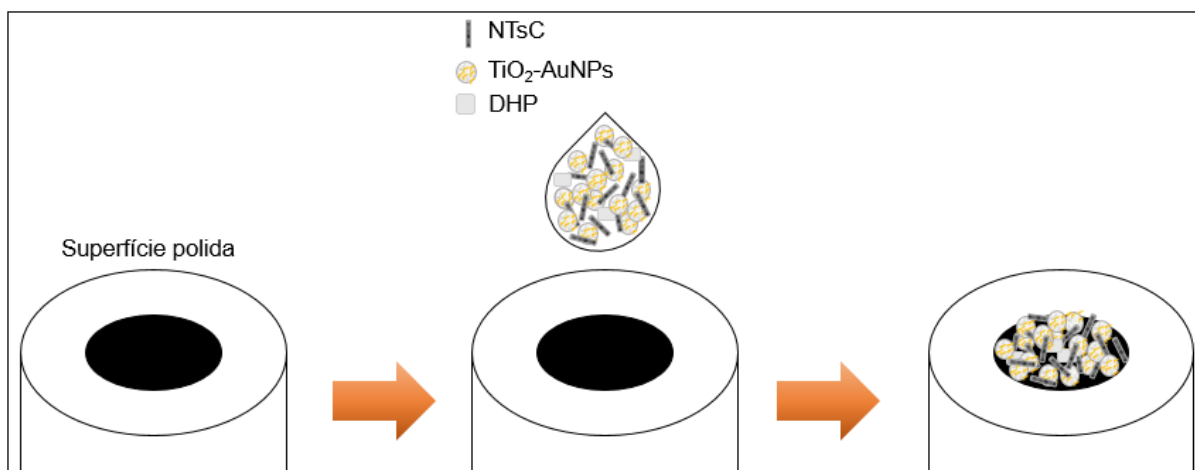
Em seguida, foi realizada a obtenção das NPsAu nas esferas de  $\text{TiO}_2$ , de acordo com procedimento da literatura (DAMATO et al., 2013). Em 1 mL de uma suspensão aquosa de  $\text{TiO}_2$  (~0,9 mg) foi adicionado 6 mL de uma solução aquosa contendo 35 mg de PVP e 60 mg de AA. Esta mistura foi aquecida a  $90\text{ }^\circ\text{C}$  e mantida sob agitação. Depois de 10 min, foi adicionado 3 mL de uma solução de  $\text{AuCl}_{4(\text{aq})}$  na concentração de  $1\text{ mmol L}^{-1}$  e foi deixada reagir durante 3 h. Sendo este o primeiro passo da redução. O segundo passo de redução foi realizado pela adição de mais 3 mL da solução  $\text{AuCl}_{4(\text{aq})}$   $\text{mmol L}^{-1}$  na solução obtida no final do primeiro passo de redução, seguida pela agitação a  $90\text{ }^\circ\text{C}$  durante mais 3 h. Da mesma forma, um terceiro passo de redução foi efetuado. No final do terceiro passo de redução a solução foi centrifugada, lavada várias vezes com água ultrapura e ressuspendeu-se em água para utilização posterior.

### 3.5 MODIFICAÇÃO DO ECV

Uma massa de 1,0 mg de NTsC e 1,0 mg de DHP foram adicionados em 1 mL de água ultrapura e deixados no ultra-som durante 30 min. A proporção de NTsC e DHP na dispersão foi baseada em dados da literatura (VICENTINI et al., 2013), por apresentar melhor estabilidade, resposta voltamétrica e aderência do filme contendo os NTsC no ECV. Numa alíquota de 50  $\mu\text{L}$  dessa suspensão foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  de uma solução contendo as  $\text{TiO}_2$ -NPsAu  $4,0\text{ mg mL}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  e 10% de NPsAu.

Antes da modificação, o ECV foi cuidadosamente polido com um papel abrasivo metalográfico (nº 6) e com suspensões de alumina 0,3 e 0,05  $\mu\text{L}$  para a obtenção de uma superfície do eletrodo espelhada. Em seguida, foi lavado com água ultrapura, sonificado com etanol absoluto e água deionizada por cerca de 1 min, respectivamente. Então, com o auxílio de uma micropipeta foram gotejados 10  $\mu\text{L}$  da solução contendo  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC}$  na superfície do ECV e deixado secar por 5 h a temperatura ambiente como ilustrado na Figura 4. O mesmo procedimento foi utilizado para preparar o ECV modificado com DHP (DHP/ECV), com  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu}$  e DHP ( $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/ECV}$ ) e com NTsC e DHP (NTsC/ECV).

**Figura 4** – Ilustração da modificação da superfície do ECV com o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2$  decorado com NPsAu.



### 3.6 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

A VC foi empregada para caracterização eletroquímica do eletrodo desenvolvido e também no estudo do comportamento voltamétrico do AA. A impedância eletroquímica foi aplicada para estudos de resistividade dos diferentes eletrodos, DHP/ECV,  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/ECV}$ , NTsC/ECV e  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$ .

A curva analítica foi construída em triplicata utilizando a técnica de amperometria, onde foram feitas sucessivas adições de AA na célula eletroquímica contendo 10 mL de solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>. O LD foi determinado pela Equação 1 (LONG; WINEFORDNER, 1983):

$$LD = \frac{3s}{m} \quad (Eq. 1)$$

onde  $s$  é o desvio padrão relativo (DPR) da média aritmética de 10 voltamogramas do branco, obtidas das correntes medidas no mesmo potencial do pico de oxidação do AA e o  $m$  é o valor do coeficiente angular da curva analítica.

### 3.7 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para o preparo da amostra de medicamento, pesou-se 10 comprimidos contendo AA, e macerou-se com o auxílio de um almofariz e pistilo e após a homogeneização pesou-se a massa referente a um comprimido. Em um balão volumétrico de 50 mL dissolveu o comprimido no eletrólito suporte (KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>). Então, 5 µL dessa solução foi transferida para célula eletroquímica contendo 10 mL de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> e os amperogramas foram obtidos.

Para o preparo da amostra de suco, foram pipetados 3 mL do suco de laranja em um balão volumétrico de 5 mL e o volume completado com o eletrólito suporte (KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>). Então, desta solução foi retirada uma alíquota de 200 µL e transferida para a célula eletroquímica contendo 10 mL de KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup> e os amperogramas foram obtidos.

A concentração de AA em cada amostra foi determinada diretamente utilizando a curva analítica previamente obtida com soluções de referência de AA. As medidas foram feitas em triplicata para cada amostra.

### 3.8 MÉTODO DE REFERÊNCIA

O método iodométrico foi utilizado como método de referência para a determinação de AA na amostra alimentícia e farmacêutica (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1998). Para tal, empregou-se solução padronizada de iodo na concentração de 0,0500 mol L<sup>-1</sup> e amido como indicador, para a adequada visualização do ponto final da titulação.

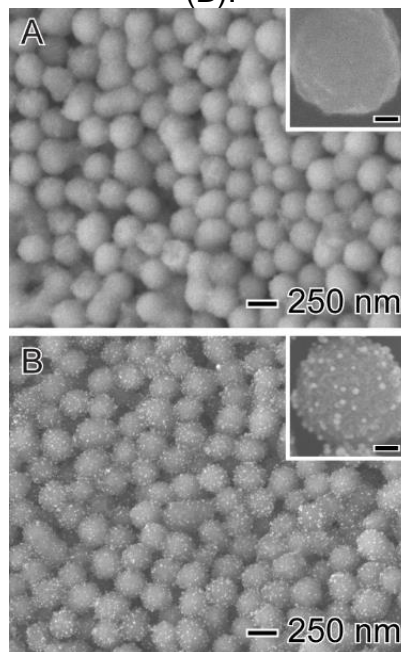
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 DESENVOLVIMENTO DO ELETRODO DE TRABALHO, TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV, E SUA CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

A dispersão de NTsC em DHP mostrou-se homogênea e estável, como também relatado na literatura (EFTEKHARI, 2008; JANEGITZ et al., 2015). Após a adição do material híbrido a base de TiO<sub>2</sub>-NPsAu nessa dispersão previamente obtida, observou-se a formação de um filme homogêneo na superfície do ECV.

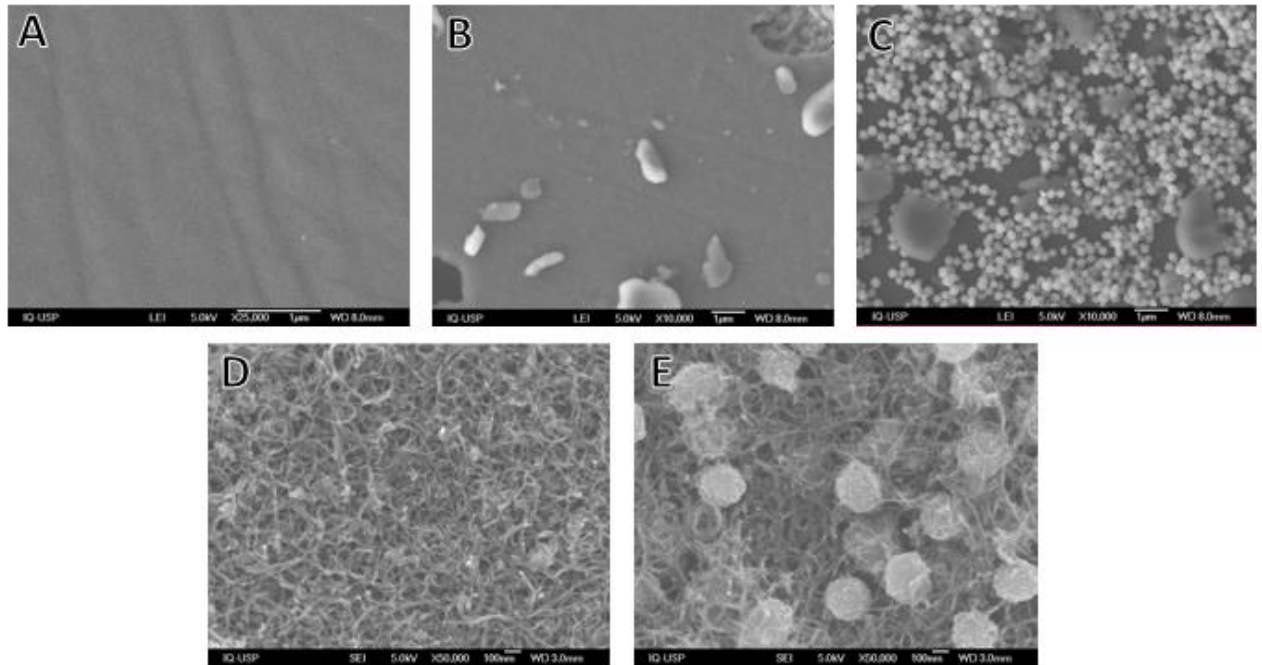
A Figura 5 dispõe de uma imagem obtida por MEV das esferas colidais de TiO<sub>2</sub> (A) e do material híbrido a base de TiO<sub>2</sub>-NPsAu (B). Pode-se observar que após a síntese das NPsAu sobre a superfície do TiO<sub>2</sub> não há modificação do tamanho e nem da forma do TiO<sub>2</sub> e que as NPsAu estão distribuídas de forma homogênea na superfície da partícula de TiO<sub>2</sub>. As NPsAu apresentaram diâmetro em torno de  $9,7 \pm 2,2$  nm. Quando as NPsAu são sintetizadas em um suporte, no caso o TiO<sub>2</sub>, há interação entre ambos os materiais ocorrendo um maior número de sítios reativos, que em virtude das NPsAu estarem em escalas manométricas, estes sítios reativos detêm uma grande área superficial. Verifica-se também que a junção das NPsAu (metal) com o TiO<sub>2</sub> (semicondutor) ocorre transferência de elétrons entre eles (AL-OTAIFY et al., 2014).

**Figura 5** – Imagem obtida por MEV das esferas colidais de  $\text{TiO}_2$  (A) e  $\text{TiO}_2$ -NPsAu (B).



Para a caracterização das diferentes modificações do ECV utilizou-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 6 mostra as imagens de MEV do ECV e de suas diferentes modificações. Na Figura 6 (A) observa-se a superfície lisa do ECV e na Figura 6 (B) tem-se DHP recobrindo a superfície do ECV. Já na Figura 6 (C) há recobrimento da superfície do ECV com o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2$ -NPsAu disperso em DHP, porém com algumas partes da superfície do ECV ainda expostas. Quando se faz a modificação com NTsC funcionalizados observa-se recobrimento total e homogêneo da superfície do ECV (Fig. 6 (D)). Na Figura 6 (E) é possível observar os NTsC e o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2$ -NPsAu recobrindo totalmente a superfície do ECV e também os nanotubos envolvendo esse material. Verifica-se também que o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2$ -NPsAu está bem distribuído nos NTsC, em tamanho uniforme, quando comparado ao filme de DHP contendo este mesmo material (Fig. 6 (C)).

**Figura 6** – Imagens de MEV do ECV (A) e dos filmes de DHP-ECV (B), TiO<sub>2</sub>-NPsAu-ECV (C), NTsC-ECV (D) e TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/DHP (E).



A área eletroativa do ECV e a modificação com DHP, NTsC/DHP, TiO<sub>2</sub>-NPsAu/DHP e TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/DHP foi estimada utilizando a equação de Randles-Sevcik (Eq. 2) (BARD; FAULKNER, 2001a):

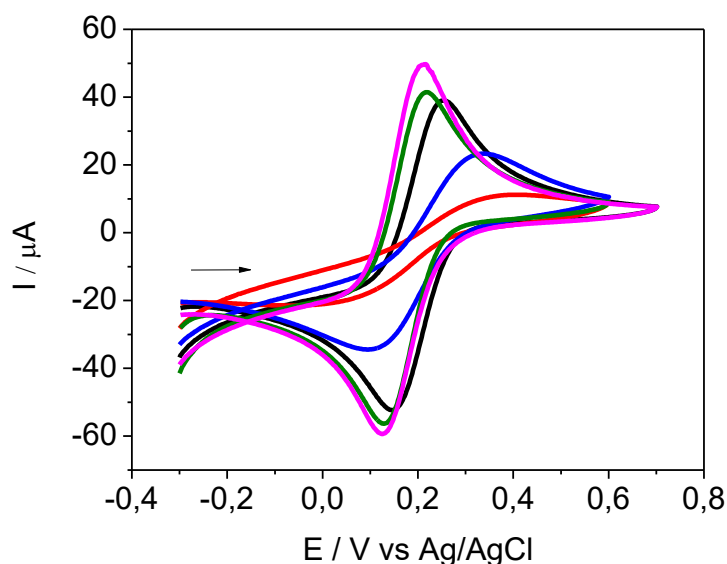
$$I = 2,69 \times 10^5 A n^{3/2} C D^{1/2} v^{1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde,  $I$  é a corrente do pico (A),  $A$  é a área eletroativa (cm<sup>2</sup>) do eletrodo estudado,  $n$  é o número de elétrons envolvidos na reação,  $C$  é a concentração do analito (mol cm<sup>-3</sup>),  $D$  é o coeficiente de difusão, que neste trabalho é  $7,6 \times 10^{-6}$  cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> (GOSSER, 1993a),  $v$  velocidade de varredura (V s<sup>-1</sup>). Para o estudo da área eletroativa foi utilizado a VC variando-se a velocidade de 5 a 100 mVs<sup>-1</sup>, empregando solução de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 5,0 mmol L<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,10 mol L<sup>-1</sup>.

A Figura 7 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para o ECV e as várias modificações de sua superfície na velocidade de 50 mVs<sup>-1</sup> e na Tabela 1 os valores dos potenciais de oxidação e intensidade de corrente de cada voltamograma. Pode-se observar que TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV apresentou maior intensidade de corrente quando comparado aos demais eletrodos, enquanto o

DHP/ECV apresenta a menor intensidade de corrente. A partir das curvas de  $I$  vs  $v^{1/2}$  foi possível estimar a área eletroativa dos diferentes eletrodos, sendo encontrado os valores de 0,0423, 0,0078, 0,0208, 0,0439 e 0,0606  $\text{cm}^2$  para os eletrodos ECV, DHP/ECV,  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/ECV}$ ,  $\text{NTsC/ECV}$  e  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$ , respectivamente. Foi observado um aumento da área eletroativa do eletrodo modificado com NTsC em relação ao ECV, isso ocorre devido à grande área superficial dos nanotubos funcionalizados, que promove uma melhora na transferência de elétrons entre o  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e a superfície base do ECV. Contudo, o maior aumento na intensidade de corrente foi observado para o eletrodo modificado com o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu}$  e NTsC, devido ao efeito sinérgico entre ambos nanomateriais, como relatado na literatura (SARTORI; VICENTINI; FATIBELLO-FILHO, 2011; SURESH et al., 2012). O menor valor de área eletroativa para DHP/ECV e  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/ECV}$  com relação ao ECV deve-se ao uso do DHP, que limita a transferência de elétrons entre o indicador de oxidação e redução e o ECV (DAI et al., 2006; DAY et al., 2005).

**Figura 7** – Voltamogramas cíclicos ( $50 \text{ mV s}^{-1}$ ) para os eletrodos de ECV (—), DHP/ECV (—),  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/ECV}$  (—),  $\text{NTsC/ECV}$  (—) e  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  (—) na presença de  $5,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  em  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .



**Tabela 1** – Valores dos potenciais de oxidação e intensidade de corrente de cada voltamograma da Figura 7.

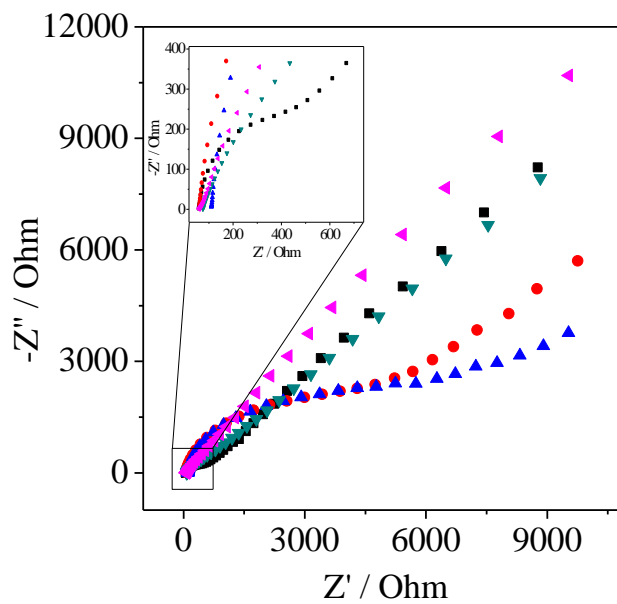
Eletrodo	Potencial / V	Corrente / $\mu\text{A}$
ECV	0,26	38,87
DHP/ECV	0,39	11,41
TiO <sub>2</sub> -NPsAu/ECV	0,34	23,03
NTsC/ECV	0,22	41,45
TiO <sub>2</sub> -NPsAu/NTsC/ECV	0,21	49,28

A EIS pode fornecer informações sobre a capacidade de transferência de elétrons na superfície do eletrodo durante o processo de modificação. Devido a isso, os diferentes eletrodos obtidos nesse trabalho foram caracterizados por EIS.

Em uma EIS o semicírculo nas altas frequências está diretamente relacionado com a resistência de transferência de elétrons ( $R_{et}$ ). As medidas de EIS foram realizadas na presença de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$   $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de  $\text{KCl}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , fixando o potencial de pico de oxidação para cada eletrodo, variando a frequência de  $100 \text{ kHz}$  a  $10 \text{ mHz}$ . Os espectros de impedância, conhecidos como diagramas de Nyquist mostraram uma diferença significativa na resposta dos eletrodos, como mostrado na Figura 8. A Tabela 2 apresenta os valores obtidos de resistência de transferência de elétrons de cada eletrodo. Observa-se que para DHP/ECV e TiO<sub>2</sub>-NPsAu/ECV tem-se um aumento na resistência de elétrons. Esse fenômeno pode ser atribuído ao filme de DHP e o filme de TiO<sub>2</sub>-NPsAu formado sobre a superfície do ECV, onde provavelmente introduzem uma resistência entre o sistema eletrodo-solução e/ou há uma diminuição da difusão do  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  através dos filmes. No entanto, com o filme de NTsC observa-se uma diminuição na resistência de transferência de elétrons quando comparado com o ECV sem modificação, isso ocorre pois os NTsC são conhecidos por facilitar a transferência de elétrons (YANG et al., 2015). O diagrama de Nysquit para o eletrodo proposto, ou seja, aquele formado a partir da integração de NTsC e do material híbrido a base de TiO<sub>2</sub>-NPsAu nos mostra uma forte diminuição na resistência de transferência de elétrons quando comparado com os demais eletrodos. Essa diminuição pode ser explicada pelo efeito sinérgico proporcionado pela integração dos NTsC com o

material híbrido a base de TiO<sub>2</sub>-NPsAu, facilitando a transferência de elétrons na superfície do eletrodo assim modificado.

**Figura 8** – Diagramas de Nyquist para espectroscopia de impedância eletroquímica em solução de KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> contendo K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] na concentração de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> para: ECV (■), DHP/ECV (▲), TiO<sub>2</sub>-NPsAu/ECV (●), NTsC/ECV (▼) e TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV (◄).



**Tabela 2** – Valores da resistividade para ECV, DHP/ECV, TiO<sub>2</sub>-NPsAu/ECV, NTsC/ECV, TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV obtidos pela espectroscopia de impedância eletroquímica.

Eletrodo	Z' / Ohm
ECV	500
DHP/ECV	6000
TiO <sub>2</sub> -NPsAu/ECV	5200
NTsC/ECV	450
TiO <sub>2</sub> -NPsAu/NTsC/ECV	375

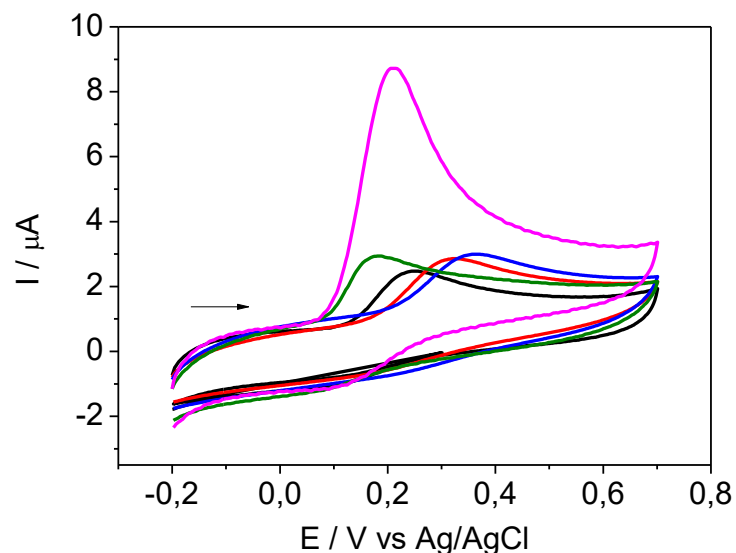
## 4.2. POTENCIALIDADE ANALÍTICA DO NOVO ELETRODO DESENVOLVIDO

### 4.2.1. Estudo do Comportamento Voltamétrico do AA em Diferentes Eletrodos

Para verificar a aplicabilidade analítica do novo eletrodo proposto, modificado com NTsC e  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu}$  em filme de DHP, o mesmo foi empregado no estudo do comportamento voltamétrico de AA seguido de sua aplicação analítica.

Inicialmente, o comportamento voltamétrico do AA  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  foi investigado por VC em solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  empregando-se os seguintes eletrodos, ECV, DHP/ECV,  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/ECV}$ , NTsC/ECV e  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$ . A Figura 9 apresenta os voltamogramas cíclicos para o processo de oxidação do AA para cada um dos eletrodos mencionados e na Tabela 3 os respectivos valores de potencial de oxidação e intensidade de corrente de cada modificação. Como pode ser visto, o AA apresenta um pico de oxidação para todos os eletrodos empregados. Não há pico no sentido da varredura reversa, indicando um processo irreversível.

**Figura 9** – Voltamogramas cíclicos ( $50 \text{ mV s}^{-1}$ ) em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA em diferentes eletrodos: ECV (—), DHP/ECV (—),  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/ECV}$  (—), NTsC/ECV (—) e  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  (—).



**Tabela 3** – Valores de potencial de oxidação e intensidade de corrente para os voltamogramas de cada modificação representados na Figura 9.

Eletrodo	Potencial / V	Corrente / $\mu\text{A}$
ECV	0,24	2,46
DHP/ECV	0,32	2,88
TiO <sub>2</sub> NPsAu/ECV	0,36	2,02
NTsC/ECV	0,18	2,94
TiO <sub>2</sub> -NPsAu/NTsC/ECV	0,20	8,81

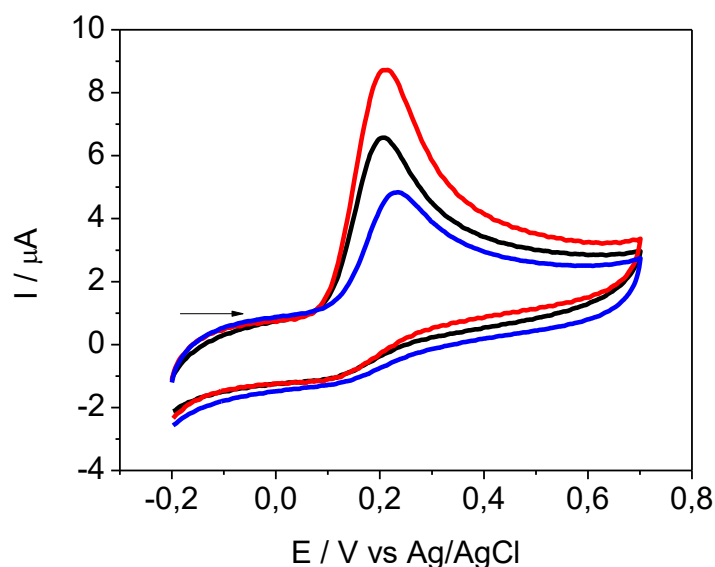
Quando comparado aos demais eletrodos, nas mesmas condições experimentais, o TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV apresenta maior magnitude de corrente para o AA, e isto pode ser justificado em virtude da grande área superficial proporcionada pelo sinergismo entre os NTsC funcionalizados e NPs na modificação do ECV. Observa-se também que a oxidação do AA ocorre em um valor de potencial menos positivo daquele observado para o ECV. A diminuição do potencial e o aumento na intensidade de corrente mostram a atividade eletrocatalítica do TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV para a oxidação do AA. Assim, estes resultados indicam que há uma melhora significativa na resposta do TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV quando NTsC são incorporados ao filme de NPsAu/DHP, indicando que a modificação do ECV com TiO<sub>2</sub>-NPsAu/ NTsC em filme de DHP melhora a transferência eletrônica, corroborando com os experimentos de EIS anteriormente realizados.

#### 4.2.2. Estudo da Proporção de TiO<sub>2</sub>-NPsAu e NTsC

A quantidade do material híbrido a base de TiO<sub>2</sub>-NPsAu adicionada na dispersão de NTsC em DHP foi investigada para AA 0,10 mmol L<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, empregando VC. Para isso, a cada 100  $\mu\text{L}$  de dispersão foram adicionados 25  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$  ou 75  $\mu\text{L}$  de solução de TiO<sub>2</sub>-NPsAu 4,0 mg mL<sup>-1</sup> de TiO<sub>2</sub> e 10% de NPsAu. A Figura 10 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para diferentes proporções de TiO<sub>2</sub>-NPsAu no filme de NTsC em DHP. O sinal analítico aumenta com o aumento da quantidade do material híbrido no filme até a quantidade de 50  $\mu\text{L}$  do material híbrido, a qual foi selecionada para a modificação do ECV. Utilizando essa quantidade de material híbrido, o filme obtido foi aderente e

apresentou respostas reprodutíveis, sem perdas de nanotubos ou do material híbrido para a solução durante as medidas eletroquímicas.

**Figura 10** – Voltamogramas cíclicos ( $50 \text{ mV s}^{-1}$ ) do AA em solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  empregando o eletrodo de  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  preparado com diferentes quantidades de  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu}$  à dispersão de NTsC em DHP. Alíquotas do material híbrido:  $25 \mu\text{L}$  (—),  $50 \mu\text{L}$  (—),  $75 \mu\text{L}$  (—) em  $100 \mu\text{L}$  de NTsC.



A estabilidade do filme de  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC}$  foi também investigado para AA  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  em solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , empregando VC. Esse experimento foi realizado no intervalo de potencial de trabalho de  $-0,2$  a  $0,7 \text{ V}$  com uma velocidade de varredura de potencial de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Após 40 medidas realizadas com o  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  pode-se observar uma diminuição no sinal analítico menor que  $5 \%$ , indicando a boa estabilidade do filme formado na superfície do ECV.

A repetibilidade na obtenção de três diferentes filmes de  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC}$  utilizando a mesma dispersão e dispersões diferentes foi estudado na presença de AA  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  por VC. O DPR foi de  $4,73 \%$  para a mesma dispersão e de  $5,74 \%$  para dispersões diferentes, indicando excelente repetibilidade no preparo desse eletrodo.

#### 4.2.3. Estudo do Efeito do Eletrólito Suporte e pH

As repostas voltamétricas da oxidação do AA  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  em diferentes eletrólitos suporte a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e diferentes valores de pH, a saber KCl,  $\text{KNO}_3$ , NaCl,  $\text{NaNO}_3$ , tampão acetato (pH 4,00 e 5,00) e tampão fosfato (pH 6,00 e 8,00) foram investigados usando o  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$ . A Tabela 4 apresenta os valores dos potenciais de oxidação e corrente obtidos para o AA para cada eletrólito suporte. Quando se empregou os sais, não houve um deslocamento de potencial significativo na oxidação do AA. Por outro lado, quando se empregou tampões acetato e fosfato em diferentes valores de pH observa-se que tanto o potencial de oxidação como a intensidade de pico diminuiram. Observa-se que para tampão acetato pH 4,00 o AA sofreu oxidação no potencial de 0,217 V e com o aumento do pH nota-se um menor valor de potencial de oxidação para o AA, deslocando-se até o potencial de 0,051 V para o tampão fosfato pH 8,00. Este comportamento indica que o pH tem influência direta sobre a oxidação do AA. Das soluções empregadas como eletrólito suporte, a que proporcionou melhor resposta para o processo de oxidação do AA, em termos de maior intensidade de corrente e melhor definição de pico, foi o KCl que possui um valor de pH 5,2. Pode-se ainda notar que, para o KCl a intensidade de corrente do pico é  $5,986 \mu\text{A}$ , enquanto que, para o sal  $\text{KNO}_3$  é  $5,969 \mu\text{A}$ , o que não representa diferença significativa entre os sais. Entretanto, uma melhor repetibilidade de sinal analítico (menor DPR entre as medidas) foi obtido para o KCl, sendo então selecionado como eletrólito suporte para a determinação de AA em diferentes matrizes.

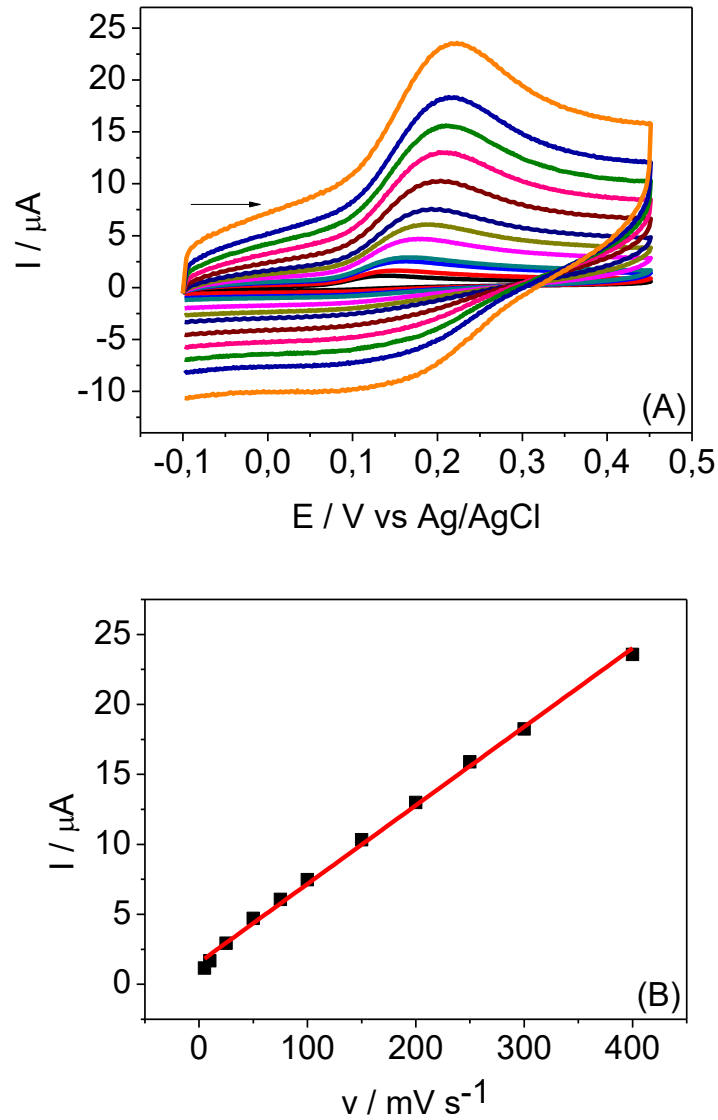
**Tabela 4** – Respostas analíticas obtidas por CV ( $50 \text{ mV s}^{-1}$ ) com  $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$  de AA em diferentes eletrólitos suporte.

Eletrólito suporte		E / V	Corrente / $\mu\text{A}$
	KCl	0,186	5,986
	$\text{KNO}_3$	0,187	5,969
	NaCl	0,183	5,639
	$\text{NaNO}_3$	0,183	5,369
Tampão acetato	pH 4,00	0,217	5,051
	pH 5,00	0,166	4,871
Tampão fosfato	pH 6,00	0,132	3,477
	pH 8,00	0,051	3,117

#### 4.2.4. Estudo da Velocidade de Varredura

O comportamento voltamétrico do AA foi estudado em diferentes velocidades de varredura, de  $5 - 400 \text{ mV s}^{-1}$ , empregando o  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  em solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , os voltamogramas cíclicos são apresentados na Figura 11(A). É possível observar um aumento na intensidade de corrente de pico com o aumento da velocidade de varredura e também um deslocamento do potencial de oxidação para valores mais positivos, evidenciando assim, o comportamento de um sistema irreversível (GOSSER, 1993b). Pelo gráfico de  $I_{pa}$  vs  $v$  (Fig. 11(B)) obteve-se linearidade no intervalo de velocidade estudado, podendo-se inferir que o processo redox na superfície do eletrodo de trabalho é controlado pela adsorção do analito na superfície do eletrodo (GOSSER, 1993b).

**Figura 11** – Variação da velocidade de varredura de 5 – 400  $\text{mV s}^{-1}$  nos voltamogramas do AA em solução de KCl 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  na presença de AA 0,05  $\text{mmol L}^{-1}$  (A), gráfico da  $I_{pa}$  vs  $v$  (B).

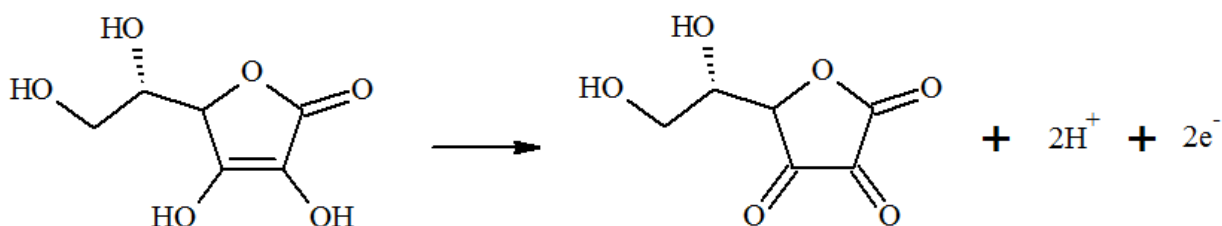


Considerando o voltamograma obtido na velocidade de 50  $\text{mV s}^{-1}$  (Fig. 11(B)) e a Equação 3 (BARD; FAULKNER, 2001b), estimou-se o número de elétrons ( $n$ ) transferidos na eletrooxidação do AA:

$$E_{pa} - E_{pa/2} = \frac{47,7}{an} \quad (\text{Eq. 3})$$

onde,  $\alpha$  é o coeficiente de transferência eletrônica,  $E_{pa}$  é o potencial de pico anódico e  $E_{pa/2}$  é o potencial de meia onda.  $E_{pa}$  e  $E_{pa/2}$  apresentaram os valores de 0,152 e 0,208 V, respectivamente. Considerando o valor de  $\alpha$  como 0,5 (usualmente empregado para sistemas irreversíveis (LI, 2007)),  $n$  para a eletrooxidação do AA foi estimado igual a 2. Esse resultado demonstra que dois elétrons estão envolvidos na oxidação do AA no  $TiO_2$ -NPsAu/NTsC/ECV, em concordância com dados previamente reportados na literatura (YILMAZ et al., 2008). Na Figura 12 tem-se o mecanismo proposto para a oxidação da molécula de AA, onde a mesma sofre oxidação em dois grupos hidroxila, com formação do ácido dehidroascórbico (YILMAZ et al., 2008).

**Figura 12** – A reação de oxidação do AA proposta.

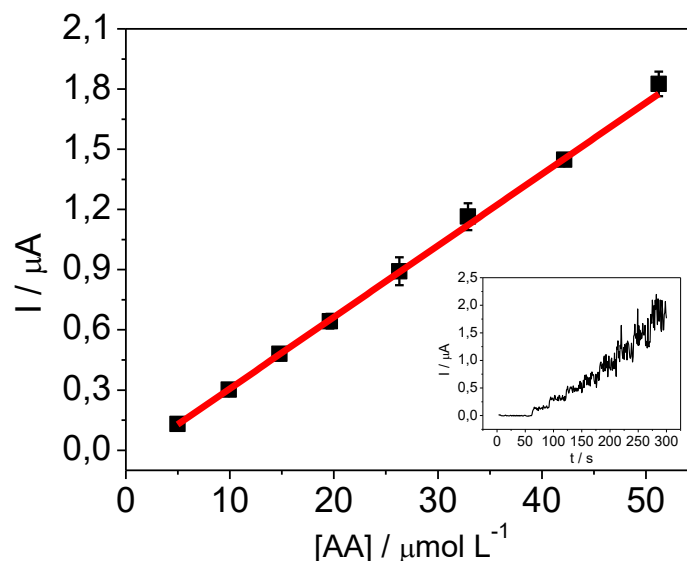


#### 4.2.5. Curva Analítica

Após estabelecidas as melhores condições experimentais de trabalho e empregando-se a técnica de amperometria, desenvolveu-se um procedimento analítico para a determinação de AA. Como empregou-se a amperometria, avaliou-se o potencial a ser aplicado para a construção da curva analítica. Investigaram-se os valores de potenciais no intervalo de 0,2 a 0,5 V em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, construindo-se para cada um, uma curva analítica, sendo os amperogramas registrados após cada adição de solução padrão de AA. A melhor resposta, em termos de melhor linearidade, foi obtida quando se empregou o potencial de 0,4 V. Nessas condições, obteve-se linearidade no intervalo de concentração de 4,97 a 60,1 μmol L<sup>-1</sup> para AA em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> com o  $TiO_2$ -NPsAu/NTsC/ECV. A curva analítica é apresentada na Figura 9 e a equação da reta obtida foi  $I_{pa}/\mu\text{A} = -0,059 + 3,6 \times 10^4 [\text{AA}/\text{mol L}^{-1}]$ , com um coeficiente de correlação

(r) de 0,999. Inserido nesta Figura 13 tem-se o amperograma da respectiva curva analítica registrado no potencial de 0,4 V. O LD calculado foi de  $1,23 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

**Figura 13** – Curva analítica obtida utilizando a técnica de amperometria, em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , no potencial de 0,4 V, com a concentração de AA variando de  $4,97$  a  $60,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Inseto: amperograma da respectiva curva analítica.



A repetibilidade intra-dia e inter-dia do método proposto na determinação de AA foi avaliada utilizando o  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  em solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  contendo AA na concentração de  $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$ . Ambos os estudos foram realizados por amperometria. O DPR foi de 3,98% para 10 determinações sucessivas de AA. A repetibilidade inter-dia foi avaliada por medidas diárias de AA na mesma concentração supracitada durante 5 dias consecutivos, renovando o filme de  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC}$  a cada dia. O DPR apresentado foi de 4,24%.

#### 4.2.6. Comparação com Outros Eletrodos Modificados com Materiais Nanoestruturados na Determinação de AA em Diferentes Matrizes

A Tabela 5 apresenta a comparação dos parâmetros analíticos obtidos para a determinação de AA empregando o  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$  com aqueles eletrodos modificados com materiais nanoestruturados previamente descritos na literatura. Pode-se observar um menor LD empregando o  $\text{TiO}_2\text{-$

NPsAu/NTsC/ECV quando comparado com MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/NTsC/ECV e OGR/ECV, exceto para NPsAu/DMT/Au. Entretanto, empregando o TiO<sub>2</sub>-NPsAu/NTsC/ECV a determinação do AA ocorre um menor potencial de oxidação, no qual minimiza o efeito de possíveis interferentes, principalmente quando aplicado em amostras complexas.

**Tabela 5** – Comparação dos parâmetros analíticos empregando diferentes eletrodos modificados com materiais nanoestruturados e/ou técnicas para a determinação de AA.

Eletrodo	Técnica	Linearidade/ μmol L <sup>-1</sup>	LD/ μmol L <sup>-1</sup>	Referência
MnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /NTsC/ECV	VOQ	2,0 – 100	1,8	(FERNANDES et al., 2015)
NPsAu/DMT/Au	Amperometria	0,05 – 0,40	0,05	(KANNAN; JOHN, 2009)
NPsAu/TiO <sub>2</sub> /Ti	VC	100 – 500	–	(HOSSEINI; FARAJI; MOMENI, 2011)
OGR/ECV	VPD	40 – 1000	4,6	(ANEESH et al., 2014)
TiO <sub>2</sub> -NPsAu/NTsC/ECV	Amperometria	4,97 – 60,1	1,23	Este trabalho

*Legenda:* VOQ – Voltametria de Onda Quadrada; VPD – Voltametria de Pulso diferencial.

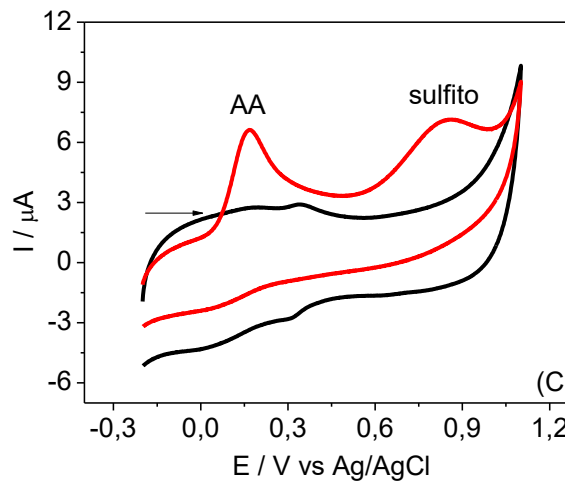
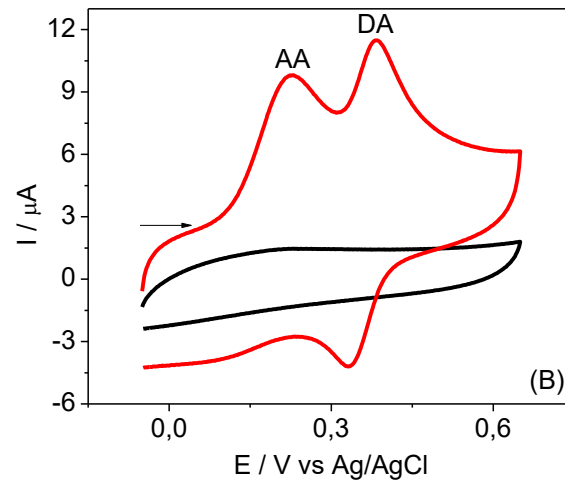
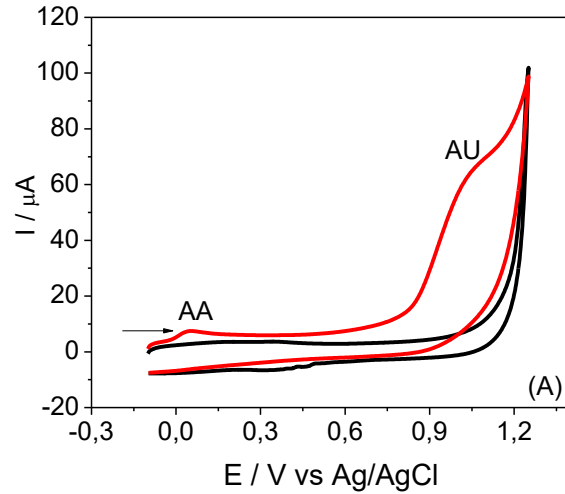
#### 4.2.7. Estudo de Interferentes e Outras Potencialidades do Novo Eletrodo Desenvolvido

O efeito de possíveis interferentes na determinação de AA em amostras reais foi avaliado, como o bicarbonato de sódio, ácido cítrico e benzoato de sódio. Nesses experimentos, foi feita adição desses concomitantes à solução de AA 0,10 mmol L<sup>-1</sup> em solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, sendo testados em uma razão de concentração de 1:1, 1:10 e 10:1 (solução padrão:interferente). Os resultados foram comparados com aqueles obtidos para as medidas somente na solução de AA. Entre

essas substâncias estudadas, não se observou mudanças significativas na intensidade de corrente do pico do AA com e sem concomitantes, indicando que estes compostos não possuem interferência significativa (< 3,0 %) na determinação de AA.

Com a finalidade de mostrar outras potencialidades de aplicação desse novo eletrodo desenvolvido, outras substâncias também foram estudadas na presença de AA, como o ácido úrico AU, DA e sulfito. A Figura 9 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para a oxidação de AA na presença desses compostos utilizando o  $\text{TiO}_2\text{-NPsAu/NTsC/ECV}$ . Pode-se observar que esses compostos apresentam potenciais distintos, possibilitando a determinação simultânea de AA e esses demais compostos.

**Figura 14** – Voltamogramas cíclicos a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  de AA em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  na presença de AU  $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$  (A), DA  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  (B) e sulfito  $0,15 \text{ mmol L}^{-1}$



#### 4.2.8. Determinação de AA em Diferentes Matrizes

O método proposto foi aplicado na determinação de AA em amostras de medicamento e suco de fruta. Os resultados obtidos foram comparados com o método de referência recomendado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (titulação iodométrica) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1998). Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 6. Observa-se que os resultados obtidos se empregando o método proposto estão em concordância com os resultados obtidos empregando-se o método de referência.

Os resultados obtidos empregando-se ambos os métodos foram comparados aplicando-se o *test-t* para diferenças na média (ANDERSON, 1987). Os valores de *t* calculado para o AA (2,55 e 1,38 para o medicamento e o suco de fruta, respectivamente) são menores do que o valor de *t* crítico (2,78), indicando que o procedimento não teve variância sistemática, uma vez que não houve diferença significativa entre os resultados obtidos, a um nível de confiança de 95 %.

**Tabela 6** – Determinação da concentração de AA em medicamento e suco de fruta empregando-se o método proposto e o método comparativo.

Amostra	Ácido ascórbico <sup>a</sup>			
	Rotulado	Amperométrico	Volumétrico	E (%) <sup>b</sup>
Medicamento (mg comprimido <sup>-1</sup> )	500	484 ± 3	478 ± 4	-1,2
Suco de laranja (mg 70 mL <sup>-1</sup> )	70	63,2 ± 1,7	64,9 ± 1,8	2,6

<sup>a</sup> Média de 3 medidas.

<sup>b</sup> Erro relativo (%) = 100 × (método proposto – método referência/método referência).

O estudo de adição e recuperação nas amostras analisadas foi realizado com a adição de concentrações conhecidas da solução padrão de AA sobre a amostra, utilizando a amperometria. Recuperações de 97,7 a 104 % e 96,3 a 105 %, respectivamente, para o medicamento e o suco de fruta. Esses valores obtidos indicam que não houve interferência significativa da matriz da amostra na determinação de AA empregando-se o método amperométrico proposto.

## 5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos nesse trabalho, pode-se verificar um aumento no sinal analítico bem como a diminuição no potencial de oxidação do AA no eletrodo modificado com o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2$ -NPsAu e NTsC em filme de DHP, indicando que a integração de ambos os materiais melhora a resposta voltamétrica quando comparado com aquela do ECV, em termos de transferência eletrônica e aumento de área superficial.

Os resultados obtidos por MEV mostraram que os NTsC e o material híbrido a base de  $\text{TiO}_2$ -NPsAu recobrem totalmente a superfície do ECV e que  $\text{TiO}_2$ -NPsAu está bem distribuído nos NTsC, em tamanho uniforme. A área eletroativa do  $\text{TiO}_2$ -NPsAu/NTsC/ECV foi maior que aquela observada para os diferentes ECV modificados. Estudos realizados por EIS, na presença de  $5,00 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  em  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , mostraram que no  $\text{TiO}_2$ -NPsAu/NTsC/ECV houve uma forte diminuição na resistência de transferência de elétrons quando comparado com os demais eletrodos modificados, indicando um efeito sinérgico proporcionado pela integração dos NTsC com o material híbrido, que facilita a transferência de elétrons na superfície do eletrodo assim modificado.

Empregando-se VC e na presença de AA  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , o  $\text{TiO}_2$ -NPsAu/NTsC/ECV apresentou um menor potencial de oxidação e maior intensidade de corrente daquele observado para ECV. Com auxílio da amperometria, no potencial de  $0,4 \text{ V}$ , foi possível observar linearidade no intervalo de concentração de AA de  $4,97$  a  $60,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , com um LD de  $1,23 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Esse eletrodo modificado em conjunto com a amperometria pode ser convenientemente utilizado na quantificação de AA em amostras de medicamento e suco de fruta, com alta sensibilidade, baixo LD, facilidade de operação, ambientalmente amigável, além de apresentar um pré-tratamento simples de amostra. O  $\text{TiO}_2$ -NPsAu/NTsC/ECV é um excelente sensor para uma rápida determinação de AA em amostras de interesse farmacêutico e alimentício, apresentando ainda potencialidade para a determinação simultânea de AA e sulfito e também de AA e analitos de interesse biológico, como o AU e DA.

## 6 REFERÊNCIAS

- ADITI, A.; GRAHAM, D. Y. Vitamin C, gastritis, and gastric disease: a historical review and update. **Digestive diseases and sciences**, v. 57, n. 10, p. 2504–2515.
- AL-OTAIFY, A. et al. Size dependence of ultrafast charge dynamics in monodisperse Au nanoparticles supported on TiO<sub>2</sub> colloidal spheres. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, n. 27, p. 14189 - 14194, 2014.
- AMPELLI, C. et al. Monitoring of glucose in fermentation processes by using Au/TiO<sub>2</sub> composites as novel modified electrodes. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 45, p. 943–951, 2015.
- ANDERSON, R. L. **Practical Statistics for Analytical Chemists**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1987.
- ANEESH, P. K. et al. Electrochemically synthesized partially reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode for individual and simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Analytical Methods**, v. 6, n. 14, p. 5322, 2014.
- ASADIAN, E. et al. Glassy carbon electrode modified with 3D graphene–carbon nanotube network for sensitive electrochemical determination of methotrexate. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 239, p. 617–627, 2017.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16. ed. ed. Maryland: AOAC International, 1998.
- BABAEI, A. et al. Fabrication of tio<sub>2</sub> hollow spheres and its application in modification of carbon paste electrode for simultaneous determination of dopamine and piroxicam in the presence of ascorbic acid. **Journal of Nanostructures**, 2016.
- BAGHERI, H. et al. Sensitive and simple simultaneous determination of morphine and codeine using a Zn<sub>2</sub>SnO<sub>4</sub> nanoparticle/graphene composite modified electrochemical sensor. **New Journal of Chemistry**, v. 40, n. 8, p. 7102–7112, 2016.
- BANIN, U.; BEN-SHAHAR, Y.; VINOKUROV, K. Hybridsemiconductor–metal nanoparticles: from architecture to function. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 1, p. 97–110, jan. 2014.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods : fundamentals and applications**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001a.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2001b.
- BEHPOUR, M.; MEHRZAD, M.; HOSSEINPOUR-MASHKANI, S. M. TiO<sub>2</sub> thin film: preparation, characterization, and its photocatalytic degradation of basic yellow 28 dye. **Journal of Nanostructures**, v. 5, n. 2, p. 183–187, 2015.

BEKYAROVA, E. et al. Chemically functionalized single-walled carbon nanotubes as ammonia sensors†. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 108, n. 51, p. 19717–19720, 2004.

BENÍTEZ-MARTÍNEZ, S.; LÓPEZ-LORENTE, Á. I.; VALCÁRCEL, M. Determination of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in sunscreen using N-doped graphene quantum dots as a fluorescent probe. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 2, p. 781–789, 28 fev. 2016.

BERNHARDT, S.; SCHLICH, E. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 2, p. 327–333, 2006.

BETHUNE, D. S. et al. Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls. **Nature**, v. 363, p. 605–607, 1993.

BYL, O.; LIU, J.; YATES JR, J. T. Etching of carbon nanotubes by ozone-A surface area study. **Langmuir**, v. 9, n. 21, p. 4200–4204, 2005.

CHANG, J. et al. Role of fatty acid composites in the toxicity of titanium dioxide nanoparticles used in cosmetic products. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 41, n. 4, p. 533–542, 2016.

CHANMANEE, W. et al. Photocatalytically generated trimetallic (Pt-Pd-Au/C-TiO<sub>2</sub>) nanocomposite electrocatalyst. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 159, n. 7, p. F226–F233, 1 jan. 2012.

CHERAGHI, S.; TAHER, M. A.; KARIMI-MALEH, H. A novel strategy for determination of paracetamol in the presence of morphine using a carbon paste electrode modified with CdO nanoparticles and ionic liquids. **Electroanalysis**, v. 28, n. 2, p. 366–371, fev. 2016.

CHIKAE, M. et al. Direct fabrication of catalytic metal nanoparticles onto the surface of a screen-printed carbon electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 8, n. 8, p. 1375–1380, 2006.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade De Nutrientes**. 4. ed. Barueri: 2005.

DAI, H. et al. Voltammetric uric acid sensor based on a glassy carbon electrode modified with a nanocomposite consisting of polytetraphenylporphyrin, polypyrrole, and graphene oxide. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 11, p. 3053–3059, nov. 2016.

DAI, X. et al. Electroanalysis using macro-, micro-, and nanochemical architectures on electrode surfaces. bulk surface modification of glassy carbon microspheres with gold nanoparticles and their electrical wiring using carbon nanotubes. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 17, p. 6102–6108, 2006.

DAMATO, T. C. et al. A facile approach to TiO<sub>2</sub> colloidal spheres decorated with Au nanoparticles displaying well-defined sizes and uniform dispersion. **Langmuir**, v. 29, n. 5, p. 1642–1649, 2013.

DANIEL, M.-C.; ASTRUC, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 1, p. 293–346, jan. 2004.

DAVEY, M. W. et al. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 825–860, maio 2000.

DAY, T. M. et al. Electrochemical templating of metal nanoparticles and nanowires on single-walled carbon nanotube networks. **Journal of the American Chemical Society**, 2005.

DE SOUZA FILHO, A.; FAGAN, S. B. Funcionalização de nanotubos de carbono. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1695–1703, 2007.

DEROCO, P. B.; VICENTINI, F. C.; FATIBELLO-FILHO, O. An electrochemical sensor for the simultaneous determination of paracetamol and codeine using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon black. **Electroanalysis**, v. 27, n. 9, p. 2214–2220, set. 2015.

DONEUX, T.; CHERIF, L. Y.; BUSS-HERMAN, C. Controlled tuning of the ferri/ferrocyanide electron transfer at oligo(ethylene glycol)-modified electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 219, p. 412–417, 2016.

DOS REIS, F. V. E. et al. Carbon-supported TiO<sub>2</sub>-Au hybrids as catalysts for the electrogeneration of hydrogen peroxide: Investigating the effect of TiO<sub>2</sub> shape. **Journal of Catalysis**, v. 326, p. 100–106, 2015.

DU, J.; CULLEN, J. J.; BUETTNER, G. R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1826, n. 2, p. 443–457, 2012.

EDER, D. Carbon nanotube-inorganic hybrids. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 3, p. 1348–1385, 2010.

EFTEKHARI, A. **Nanostructured Materials in Electrochemistry**. Cleveland: WILEY-VCH, 2008.

EITENMILLER, R. R.; YE, L.; LANDEN, W. O. **Vitamin analysis for the health and food sciences**. 2. ed. New York: CRC Press, 2008.

EL HARRAD, L.; AMINE, A. Amperometric biosensor based on prussian blue and nafion modified screen-printed electrode for screening of potential xanthine oxidase inhibitors from medicinal plants. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 85, p. 57–63, 2016.

ERIC, B.; TELTING-DIAZ, M. Electrochemical sensors. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 12, p. 2781–2800, 2002.

FARJAMI, F. et al. Electrocatalytic determination of cysteine using a carbon ionic liquid electrode modified with terpyridine copper(II) complex. **Analytical Letters**, v. 49, n. 9, p. 1412–1423, 12 jun. 2016.

FERNANDES, D. M. et al. MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@CNT-N as novel electrochemical nanosensor for determination of caffeine, acetaminophen and ascorbic acid. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 218, p. 128–136, 2015.

GONÇALVES, E. S. et al. Efeito do tratamento térmico na microestrutura, turbostraticidade e superfície de carbono vítreo reticulado analisado por XPS, espalhamento Raman e voltametria cíclica. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 158–164, 2009.

GOSSER, D. K. **Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1993a.

GOSSER, D. K. **Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1993b.

HAYAT, A. et al. An electrochemical sensor based on TiO<sub>2</sub>/activated carbon nanocomposite modified screen printed electrode and its performance for phenolic compounds detection in water samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 96, n. 3, p. 237–246, fev. 2016.

HERBST, M. H.; MACÊDO, M. I. F.; ROCCO, A. M. Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 986–992, dez. 2004.

HIRSCH, A. The era of carbon allotropes. **Nature Materials**, v. 9, n. 11, p. 868–871, 2010.

HOSSEINI, M. G.; FARAJI, M.; MOMENI, M. M. Application of titanium oxide nanotube films containing gold nanoparticles for the electroanalytical determination of ascorbic acid. **Thin Solid Films**, v. 519, n. 11, p. 3457–3461, 2011.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors definitions and classification. **International Union of Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247–1250, 1991.

IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, p. 56–58, 1991.  
IJIMA, S.; ICHIHASHI, T. Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. **Nature**, v. 363, n. 6430, p. 603–605, 1993.

JANEGITZ, B. C. et al. The use of dihexadecylphosphate in sensing and biosensing. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 220, p. 805–813, 2015.

JIANG, K. et al. selective attachment of gold nanoparticles to nitrogen-doped carbon nanotubes. **Nanoletters**, v. 3, n. 3, p. 275–277, 2003.

JIANG, T.-J. et al. Gold electrode modified with ultrathin SnO<sub>2</sub> nanosheets with high reactive exposed surface for electrochemical sensing of As(III). **Electrochimica Acta**, v. 191, p. 142–148, 2016.

JIANG, X. et al. The influence of acid treatment on multi-walled carbon nanotubes. **Pigment & Resin Technology**, v. 38, n. 3, p. 165–173, 2009.

KANNAN, P.; JOHN, S. A. Determination of nanomolar uric and ascorbic acids using enlarged gold nanoparticles modified electrode. **Analytical Biochemistry**, v. 386, n. 1, p. 65–72, 2009.

KEMMEGNE-MBOUGUEN, J. C. et al. Simultaneous determination of acetaminophen and tyrosine using a glassy carbon electrode modified with a tetra-ruthenated cobalt(II) porphyrin intercalated into a smectite clay. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 12, p. 3243–3253, dez. 2016.

KHALILZADEH, M.; ARAB, Z. High sensitive nanostructure square wave voltammetric sensor for determination of vanillin in food samples. **Current Analytical Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 81–86, 26 dez. 2016.

KICKELBICK, G. **Hybrid Materials: Synthesis, Characterization, and Applications**. [s.l.] WILEY-VCH, 2007.

KIM, B.; SIGMUND, W. M. Functionalized Multiwall Carbon Nanotube/Gold Nanoparticle Composites. **Langmuir**, v. 20, n. 19, 2004.

KUSUMAWATI, Y. et al. Charge transport and recombination in TiO<sub>2</sub> brookite-based photoelectrodes. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 118, n. 41, p. 23459–23467, out. 2014.

LI, C. Electrochemical determination of dipyrindamole at a carbon paste electrode using cetyltrimethyl ammonium bromide as enhancing element. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 55, n. 1, p. 77–83, mar. 2007.

LI, M. et al. Synthesis of carbon nanotube array using corona discharge plasma-enhanced chemical vapor deposition. **Chinese Science Bulletin**, v. 48, n. 6, p. 534, 2003.

LI, Y. et al. Defective TiO<sub>2</sub> with high photoconductive gain for efficient and stable planar heterojunction perovskite solar cells. **Nature Communications**, v. 7, p. 12446, 18 ago. 2016.

LI, Y.-L.; KINLOCH, I. A.; WINDLE, A. H. Direct spinning of carbon nanotube fibers from chemical vapor deposition synthesis. **Science**, v. 304, n. 5668, p. 276–278, 2004.

LIN, C. et al. Oxygen reduction catalyzed by Au–TiO<sub>2</sub> nanocomposites in alkaline media. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 5, n. 24, p. 13305–13311, dez. 2013.

LOBO, A. O. et al. **Fast functionalization of vertically aligned multiwalled carbon nanotubes using oxygen plasma** *Materials Letters*, v 70, p. 89 - 93, 2012.

LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection a closer look at the IUPAC definition. *Analytical Chemistry*, v. 55, n. 7, p. 712A–724A, jun. 1983.

LV, C.-Z. et al. Highly sensitive and selective determination of dopamine based on ionic liquid-titanium dioxide/graphene oxide nanocomposite modified electrode. *International Journal Electrochemical Science*, v. 1112, n. 10, p. 10107–1012201, 2016.

MARSANASCO, M. et al. Fortification of chocolate milk with omega-3, omega-6, and vitamins E and C by using liposomes. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 118, n. 9, p. 1271–1281, 2016.

MATTHEWS, F. L.; RAWLINGS, R. D. **Composite Materials: Engineering and Science**. CRC Press, 2008.

MONDAL, S.; MADHURI, R.; SHARMA, P. K. Electrochemical sensing of cyanometallic compound using TiO<sub>2</sub>/PVA nanocomposite-modified electrode. *Journal of Applied Electrochemistry*, v. 47, n. 1, p. 75–83, jan. 2017.

MORAES, J. T. et al. Simultaneous Voltammetric determination of antihypertensive drugs amlodipine and atenolol in pharmaceuticals using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 27, n. 7, p. 1264–1272, 2016.

NESAKUMAR, N. et al. Electrochemical acetylcholinesterase biosensor based on ZnO nanocuboids modified platinum electrode for the detection of carbosulfan in rice. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 77, p. 1070–1077, 2016.

NICOLE, L. et al. Hybrid materials science: a promised land for the integrative design of multifunctional materials. *Nanoscale*, v. 6, n. 12, p. 6267 - 6292, 2014.

NIU, H. et al. Families of superhard crystalline carbon allotropes constructed via cold compression of graphite and nanotubes. *Physical Review Letters*, v. 108, n. 13, p. 135501, mar. 2012.

PARDAKHTY, A. et al. Highly sensitive and efficient voltammetric determination of ascorbic acid in food and pharmaceutical samples from aqueous solutions based on nanostructure carbon paste electrode as a sensor. *Journal of Molecular Liquids*, v. 216, p. 387–391, 2016.

PASSALACQUA, R. et al. Anodically formed tio<sub>2</sub> thin films: evidence for a multiparameter dependent photocurrent-structure relationship. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, v. 4, n. 2, p. 142–148, fev. 2012.

PENN, S. G.; HE, L.; NATAN, M. J. Nanoparticles for bioanalysis. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 7, n. 5, p. 609–15, 2003.

PINGARRÓN, J. M.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; GONZÁLEZ-CORTÉS, A. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. **Electrochimica Acta**, v. 53, n. 19, p. 5848–5866, 2008.

PRABHAKAR VATTIKUTI, S.; VENKATESH, B.; DEEPAK, K. Hot embossed TiO<sub>2</sub> sol-gel wave guide films for sensors applications. **International Journal of Current Engineering and Technology**, v. 2, p. 2347–5161, 2014.

QU, Y. et al. Au–TiO<sub>2</sub>/Chit modified sensor for electrochemical detection of trace organophosphates insecticides. **Talanta**, v. 76, n. 4, p. 758–762, 2008.

RAHMAN, G. et al. Electrocatalytic behavior of glassy carbon electrode modified with ruthenium nanoparticles and ruthenium film. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 46, n. 4, p. 459–468, 2016.

RAO, C. N. R.; CHEETHAM, A. K.; THIRUMURUGAN, A. Hybrid inorganic–organic materials: a new family in condensed matter physics. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 20, n. 8, 2008.

RIBEIRO, M. F. M. et al. Voltammetric determination of cocaine using carbon screen printed electrodes chemically modified with uranyl schiff base films. **Electroanalysis**, v. 28, n. 2, p. 320–326, fev. 2016.

ROBINSON, M. S. et al. High resolution mapping of TiO<sub>2</sub> abundances on the Moon using the Hubble Space Telescope. **Geophysical Research Letters**, v. 34, n. 13, 16 jul. 2007.

SALAMANCA-NETO, C. A. R. et al. Differential pulse voltammetric method for the individual and simultaneous determination of antihypertensive drug metoprolol and its association with hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage forms. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 230, p. 630–638, 2016.

SANTANGELO, S. et al. Effect of sulphuric-nitric acid mixture composition on surface chemistry and structural evolution of liquid-phase oxidised carbon nanotubes. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 43, n. 10, p. 1432–1442, out. 2012.

SARGAZI, A.; MAJD, M. H. Different applications of magnetic nanoparticles in the rapid monitoring of ochratoxin A. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 346–354, 28 fev. 2017.

SARTORI, E. R.; TAKEDA, H. H.; FATIBELLO-FILHO, O. Glassy carbon electrode modified with functionalized carbon nanotubes within a poly(allylamine hydrochloride) film for the voltammetric determination of sulfite in foods. **Electroanalysis**, v. 23, n. 11, p. 2526–2533, 2011.

SARTORI, E. R.; VICENTINI, F. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Indirect determination of sulfite using a polyphenol oxidase biosensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and gold nanoparticles within a poly(allylamine hydrochloride) film. **Talanta**, v. 87, p. 235–242, 2011.

SEE, C. H.; HARRIS, A. T. A review of carbon nanotube synthesis via fluidized-bed chemical vapor deposition. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 46, n. 4, p. 997–1012, 2007.

SERPEN, A.; GÖKMEN, V. Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 721–725, 2007.

SHAHROKHIAN, S. et al. Application of glassy carbon electrode modified with a carbon nanoparticle/melamine thin film for voltammetric determination of raloxifene. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 780, p. 126–133, 2016.

SHEN, L. et al. Effect of TiO<sub>2</sub> pigment gradation on the properties of thermal insulation coatings. **International Journal of Minerals, Metallurgy, and Materials**, v. 23, n. 12, p. 1466–1474, dez. 2016.

SHIRAZI, Y. et al. Effects of different carbon precursors on synthesis of multiwall carbon nanotubes: Purification and Functionalization. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 16, p. 7359–7367, 2011.

SUN, L. et al. Simultaneous determination of small biomolecules and nitrite using an au/TiO<sub>2</sub>/carbon nanotube composite-modified electrode. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 163, n. 13, p. B567–B572, set. 2016.

SURESH, S. et al. Synergic effect of multi-walled carbon nanotubes and gold nanoparticles towards immunosensing of ricin with carbon nanotube–gold nanoparticles–chitosan modified screen printed electrode. **The Analyst**, v. 137, n. 17, p. 4086, 2012.

TALARICO, D. et al. Screen-printed electrode modified with carbon black and chitosan: a novel platform for acetylcholinesterase biosensor development. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 26, p. 7299–7309, 1 out. 2016.

TAN, J. C.; CHEETHAM, A. K. Mechanical properties of hybrid inorganic–organic framework materials: establishing fundamental structure–property relationships. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 2, p. 1059–1080, 2011.

TANG, L. et al. Highly sensitive sensor for detection of NADH based on catalytic growth of Au nanoparticles on glassy carbon electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 6–7, p. 1677–84, 2009.

TANG, W. et al. Glucose biosensor based on a glassy carbon electrode modified with polythionine and multiwalled carbon nanotubes. **PloS one**, v. 9, n. 5, p. e95030, 2014.

THESS, A. et al. Crystalline Ropes of Metallic Carbon Nanotubes. **Science**, v. 273, n. 5274, p. 483, 1996.

TOKONAMI, S. et al. Synthesis and bioanalytical applications of specific-shaped metallic nanostructures: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 716, p. 76–91, 2012.  
TSANG, S. C.; HARRIS, P. J. F.; GREEN, M. L. H. Thinning and opening of carbon

nanotubes by oxidation using carbon dioxide. **Nature**, v. 362, n. 6420, p. 520–522, 1993.

VALEZI, C. F. et al. An improved method for simultaneous square-wave voltammetric determination of amlodipine and enalapril at multi-walled carbon nanotubes paste electrode based on effect of cationic surfactant. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 205, p. 234–243, 2014.

VARVARA, M. et al. The use of the ascorbic acid as food additive and technical-legal issues. **Italian Journal of Food Safety**, v. 5, n. 1, 2016.

VICENTINI, F. C. et al. Tyrosinase biosensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and 1-butyl-3-methylimidazolium chloride within a dihexadecylphosphate film. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 188, p. 1101–1108, 2013.

WANG, F.; YANG, J.; WU, K. Mesoporous silica-based electrochemical sensor for sensitive determination of environmental hormone bisphenol A. **Analytica Chimica Acta**, v. 638, n. 1, p. 23–28, 2009.

WANG, L. et al. A facile method to modify carbon nanotubes with nitro/amino groups. **Applied Surface Science**, v. 256, n. 20, p. 6060–6064, 2010.

WEHINGER, B.; BOSAK, A.; JOCHYM, P. T. Soft phonon modes in rutile TiO<sub>2</sub>. **Physical Review B**, v. 93, n. 1, p. 14303, jan. 2016.

WILDGOOSE, G. G. et al. Graphite powder and multiwalled carbon nanotubes chemically modified with 4-nitrobenzylamine. **ChemPhysChem**, v. 6, n. 2, p. 352–362, 2005.

WILDGOOSE, G. G. et al. Chemically modified carbon nanotubes for use in electroanalysis. **Microchimica Acta**, v. 152, n. 3–4, p. 187–214, jan. 2006.

XIA, W. et al. Controlled etching of carbon nanotubes by iron-catalyzed steam gasification. **Advanced Materials**, v. 19, n. 21, p. 3648–3652, 2007.

XU, C. et al. Influence of the surface treatment on the deposition of platinum nanoparticles on the carbon nanotubes. **Advanced Engineering Materials**, v. 8, n. 1–2, p. 73–77, 2006.

YANG, F. et al. A highly sensitive ascorbic acid sensor based on carbon-supported CoPd nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 205, p. 20–25, 2014.

YANG, N. et al. Carbon nanotube based biosensors. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 207, p. 690–715, 2015.

YANG, S. et al. Amperometric L-cysteine sensor based on a carbon paste electrode modified with Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles supported on nitrogen-doped reduced graphene oxide. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 4, p. 1351–1357, 10 abr. 2016.

YILDIZHAN, M. M.; STURM, S.; GULGUN, M. A. Structural and electronic modifications on TiO<sub>2</sub> anatase by Li, K or Nb doping below and above the solubility limit. **Journal of Materials Science**, v. 51, n. 12, p. 5912–5923, jun. 2016.

YILMAZ, S. et al. Determination of ascorbic acid in tablet dosage forms and some fruit juices by DPV. **International Journal Electrochemical Science**, v. 3, p. 1534–1542, 2008.

YU, Z. et al. Photoelectrochemical sensing of hydrogen peroxide at zero working potential using a fluorine-doped tin oxide electrode modified with BiVO<sub>4</sub> microrods. **Microchimica Acta**, p. 1–8, 7 jan. 2017.

ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1469–1479, 2007.

ZHANG, Y.-Q. et al. N-doped carbon quantum dots for TiO<sub>2</sub>-based photocatalysts and dye-sensitized solar cells. **Nano Energy**, v. 2, n. 5, p. 545–552, 2013.

ZHANG, Y.; ZHENG, J. Sensitive voltammetric determination of rutin at an ionic liquid modified carbon paste electrode. **Talanta**, v. 77, n. 1, p. 325–330, 2008.

ZHOU, L.; ZIONG, W.; LIU, S. Preparation of a gold electrode modified with Au–TiO<sub>2</sub> nanoparticles as an electrochemical sensor for the detection of mercury(II) ions. **Journal Materials Science**, v. 50, p. 769–776, 2015.

ZHOU, X. et al. Amperometric determination of ascorbic acid on an au electrode modified by a composite film of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and superconductive carbon black. **Analytical Sciences**, v. 31, n. 5, p. 429–436, 2015.

ZHU, Y. et al. Hemin modified TiO<sub>2</sub> nanoparticles with enhanced photoelectrocatalytic activity for electrochemical and photoelectrochemical sensing. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 163, n. 9, p. B526–B532, jul. 2016.