

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS CATALÃO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROQUÍMICOS PARA
DETERMINAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES UTILIZANDO ELETRODOS
DE ZIRCÔNIA NANOESTRUTURADA E DIAMANTE DOPADO COM BORO**

Maysa de Melo Paranhos

Bolsista CAPES

Catalão - GO

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS CATALÃO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ELETROQUÍMICOS PARA
DETERMINAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES UTILIZANDO ELETRODOS
DE ZIRCÔNIA NANOESTRUTURADA E DIAMANTE DOPADO COM BORO**

Maysa de Melo Paranhos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração de Química dos Materiais, da Universidade Federal de Goiás como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Santos Andrade

Catalão - GO

2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BSCAC/UFG**

Paranhos, Maysa de Melo.
P223d Desenvolvimento De Métodos Eletroquímicos Para
Determinação De Neurotransmissores Utilizando Eletrodos
De Zircônia Nanoestruturada e Diamante Dopado Com Boro
[manuscrito] / Maysa de Melo Paranhos. - 2014.
87 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Santos Andrade
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,
Campus Catalão, Departamento de Química, 2014.

Bibliografia.

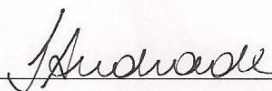
Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

Apêndices.

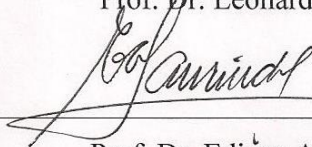
1. Epinefrina. 2. Técnicas Voltaméricas. 3. Zirconatos. I.
Título.

CDU: 621.357

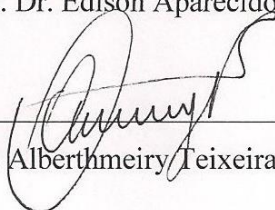
*Assinatura dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de
Dissertação de Mestrado da candidata **Maysa de Melo Paranhos**, realizada em 28 de
janeiro de 2014.*



Prof. Dr. Leonardo Santos Andrade



Prof. Dr. Edison Aparecido Laurindo



Prof. Dr. Albertmeiry Teixeira de Figueiredo

Dedico este trabalho,

Primeiro aos meus queridos pais Romeu e Sirley, meus exemplos de vida, pelo amor, apoio, incentivo, companheirismo, conselhos, confiança e compreensão.

Aos meus irmãos Pedro Leonardo e Mayara por todo amor, apoio, incentivo, amizade e companheirismo.

Aos meus avós maternos Osvaldo e Sílvia e a minha avó paterna Elfídia (*in memoriam*), exemplos de amor, perseverança e fé, por todo carinho, apoio, dedicação, incentivo e também por suas orações com as quais sempre pude contar e que, com certeza, me fizeram mais forte nos momentos de dificuldades.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força e pelo amparo concedido durante todos os momentos de dificuldades, fraquezas e incertezas.

Ao Prof. Dr. Leonardo Santos Andrade pela orientação, apoio, incentivo, dedicação, confiança, por todos os ensinamentos e pela grande oportunidade de trabalho e de crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Alberthmeiry Teixeira de Figueiredo, pelo apoio durante todo o desenvolvimento deste trabalho e por todos os conhecimentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. Cauê Ribeiro de Oliveira que possibilitou a realização de parte deste trabalho na Embrapa Instrumentação Agropecuária em São Carlos.

Aos professores Dra. Elaine Cristina Paris, Dr. Mário Godinho Junior e Dr. Alberthmeiry Teixeira de Figueiredo, as funcionárias Silviane, Adriana, Alice e Viviane e demais funcionários da Embrapa agradeço pelo apoio oferecido durante este período de trabalho.

Aos amigos Kellen, Gleice, Regiane, Pablo, Alison e Fernando agradeço pela amizade, pelo período de ótima convivência e por todo o apoio e incentivo durante minha estadia em São Carlos.

Aos colegas de Laboratório e amigos, Kamila, Larissa, Paula, Geisel, Rafaela, Priscila, Letícia, Bruno Pontes, Kellen, Sandra, Kátia e Elismar pela amizade, por todos os conhecimentos compartilhados e pelos momentos de descontração e apoio.

As amigas e também companheiras de trabalho, Larissa e Kamila agradeço pelo carinho e por toda a disposição e ajuda oferecida durante a execução da parte experimental deste trabalho.

A amiga Sandra agradeço pela amizade, apoio e pela ajuda nas análises de DRX.

As amigas Melina, Ana Paula, Gracy, Carol e Rafaela Gonçalves, agradeço pela amizade, conselhos, apoio e também pela compreensão com a minha ausência.

Aos técnicos de laboratório Regis e Márcia e as estagiárias Nara e Juliana.

Ao Departamento de Química e ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Goiás, *Campus Catalão*, que possibilitaram a realização deste trabalho.

A CAPES e a FAPEG pelo apoio financeiro concedido.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Eletrodos a base de DSA[®] modificados com filmes de ErYZrO₂ e YZrO₂ bem como eletrodos de Diamante Dopado com Boro (DDB) foram testados como sensores eletroquímicos para a detecção eletroquímica do neurotransmissor Epinefrina (EP) e de seus interferentes ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU), os quais coexistem com a EP nos fluidos biológicos oxidando-se praticamente no mesmo potencial. As caracterizações física, química e morfológica dos filmes a base de ZrO₂ foram realizadas por meio das técnicas de DRX, MEV/FEG, EDXS e potencial de circuito aberto. Para caracterização eletroquímica do sensor produzido foram utilizadas as técnicas de Voltametria Cíclica (VC), Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) e Análise por Injeção em Fluxo em modo Amperométrico. As análises utilizadas para caracterização física e morfológica dos filmes a base de ZrO₂ mostraram que a técnica de *spin-coating* juntamente com a metodologia utilizada para deposição dos filmes a base de ZrO₂ sobre substrato de DSA[®] permitiu a obtenção dos filmes espessos e com boa homogeneidade. O eletrodo de DDB apresentou boa atividade eletroquímica para as substâncias analisadas (EP, AA e AU). Enquanto eletrodos de DDB apresentaram boa sensibilidade para detecção de EP na presença de AA, eletrodos de ZrO₂, além de boa sensibilidade, apresentaram seletividade e boa reprodutibilidade para detecção de EP sem interferência de AU e AA.

Palavras Chave: Epinefrina, Análise por Injeção de Fluxo, Técnicas Voltamétricas, Eletrodos quimicamente modificados, Zirconatos.

ABSTRACT

DSA[®] electrodes modified with films ErYZrO₂ or YZrO₂ and boron-doped diamond electrodes (BDD) were tested as electrochemical sensors detect front of the neurotransmitter epinephrine and its interfering ascorbic acid (AA) and uric acid (UA), which coexist with epinephrine in biological fluids and are also electroactive, rusting in the same potential that epinephrine. The physical and morphological characterization of the films of ZrO₂ were performed using the techniques of XRD, SEM / FEG, EDXS and Open circuit potential. For electrochemical characterization of the sensor in developing were used the techniques of cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV) and Flow Injection Analysis with Amperometric Detection. The analyzes used for physical and morphological characterization of the ZrO₂ films demonstrated that the technique of spin coating together with the methodology used for the deposition of ZrO₂ films on the surface of substrate DSA[®] showed films were obtained satisfactory. The BDD electrodes showed good catalytic activity for both analyzed substances (EP, AA and UA). While BDD electrode showed good sensitivity for detection of EP in the presence of AA, electrodes ZrO₂ addition to good sensitivity and selectivity showed good reproducibility for the detection of EP without interference from UA and AA.

Keywords: Epinephrine, Flow Injection Analysis, Voltammetric Techniques, Zirconate, Modified electrodes.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.1: Representação esquemática das estruturas apresentadas pela zircônia em função da temperatura: (a) monoclínica, (b) tetragonal e (c) cúbica. 16
- FIGURA 1.2: Anodos dimensionalmente estáveis - DSA[®] testados como eletrodo de trabalho na detecção eletroquímica da EP, AA e AU..... 16
- FIGURA 1.3: Eletrodos de diamante dopado com boro (DDB) utilizado como eletrodo de trabalho na detecção eletroquímica de EP, AA e AU..... 16
- FIGURA 1.4: Fórmula estrutural dos principais neurotransmissores encontrados no organismo dos mamíferos (a) NE, (b) EP e (c) DA..... 16
- FIGURA 1.5: Representação esquemática da reação de oxidação da Norepinefrina a Norepinefrinoquinona..... 16
- FIGURA 1.6: Representação esquemática da reação de oxidação da Epinefrina a Epinefrinoquinona. 16
- FIGURA 1.7: Estrutura molecular do AA e AU. 16
- FIGURA 1.8: Sinais de excitação utilizados na técnica de voltametria (SKOOG *et al.* 2010)..... 16
- FIGURA 1.9: Sinal de excitação utilizado na Voltametria de Pulso Diferencial. S1 e S2 representam os instantes em que as medições de corrente são feitas(SKOOG *et al.* 2010). 16
- FIGURA 3.1: Fluxograma ilustrando o processo de síntese do citrato de zircônia utilizado na preparação das resinas poliméricas de ErYZrO₂ e YZrO₂..... 19
- FIGURA 3.2: Etapas envolvidas no procedimento de análise gravimétrica do citrato de zircônia. 20
- FIGURA 3.3: Fluxograma ilustrativo do processo de síntese da resina de Er_{1%}Y_{2%}Zr_{97%}O₂. 21
- FIGURA 3.4: Fluxograma ilustrativo do processo de síntese da resina de Y_{3%}Zr_{97%}O₂.21

- FIGURA 3.5: Fluxograma ilustrativo do processo de síntese dos materiais $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$ ou $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ na forma de pó..... 22
- FIGURA 3.6: Dispositivo Spin Coater utilizado para deposição dos filmes de ZrO_2 sobre a superfície dos eletrodos de DSA[®]..... 22
- Figura 3.7: Forno de tubo utilizado para tratamento térmico dos filmes. 23
- FIGURA 3.8: Suporte de teflon para os eletrodos de trabalho: (a) suporte aberto mostrando o compartimento onde o eletrodo de trabalho é colocado (b) eletrodo de trabalho sendo colocado no suporte e (c) suporte fechado pronto para ser usado nas análises voltamétricas. 25
- FIGURA 3.9: Esquema ilustrativo do sistema utilizado nas análises por injeção em fluxo: a) Bomba peristáltica; b) Injetor-comutador e c) Detector. 29
- FIGURA 3.10: Esquema ilustrativo do sensor eletroquímico utilizado nas análises por FIA (ANDRADE et. al, 2009)..... 30
- FIGURA 4.1: Difratomogramas DRX para os pós de interesse - $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ e $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$ 32
- FIGURA 4.2: Difratomogramas DRX para os pós de $ErYZrO_2$ calcinados em diferentes temperaturas..... 33
- FIGURA 4.3: Caracterização morfológica por FEG para o pó de $YZrO_2$ calcinado a 700 °C..... 34
- FIGURA 4.4: Caracterização morfológica por FEG para o pó de $ErYZrO_2$ calcinado a 700 °C..... 34
- FIGURA 4.5: Difratomogramas DRX do filme $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ e do substrato sem filme. 35
- FIGURA 4.6: Micrografias de MEV para a) substrato sem filme; b) Substrato com 4; c) 8 e d) 15 camadas de $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ 36
- FIGURA 4.7: Análise por MEV para medição da espessura do filme de 15 camadas de $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ 37

FIGURA 4.8: Análise por EDXS para três diferentes regiões do eletrodo de ZrO_2 modificado com 15 camadas de $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$	38
FIGURA 4.9: Análise por EDXS para o substrato DSA.....	39
FIGURA 4.10: Medida de potencial de circuito aberto para o filme de $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$	40
FIGURA 4.11: Diagrama de Pourbaix ilustrando a região de estabilidade de potencial para o óxido de zircônia - ZrO_2 (ZIPPERIAN & RAGHAVAN, 2005).	40
FIGURA 4.12: Voltamogramas cíclicos das soluções AA, AU e EP ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) em PBS pH 7,0 para o eletrodo de DDB (pré-tratamento DDB catódico em H_2SO_4).	41
FIGURA 4.13: Voltamogramas cíclicos na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ das soluções AA, AU e EP em PBS pH 7,0 para o eletrodo de ZrO_2 modificado com 15 camadas de $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$	42
FIGURA 4.14: Pré-tratamentos efetuados com o eletrodo DDB: a) catódico em H_2SO_4 ; b) anódico em H_2SO_4 ; c) Catódico em KOH com densidade de corrente de 3 mA cm^{-2} d) Catódico em KOH com densidade de corrente de 100 mA cm^{-2}	43
FIGURA 4.15: Voltamogramas cíclicos para a solução de EP + AA ou EP + AU na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizando o eletrodo DDB em PBS pH 4.....	45
FIGURA 4.16: Voltamogramas cíclicos para a solução de EP + AA ou EP + AU $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizando o eletrodo DDB em PBS pH 5.....	46
FIGURA 4.17: Resultados VPD: a) EP + AA na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em PBS pH 4 utilizando eletrodo de DDB e b) EP + AA na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em PBS pH 7 utilizando eletrodo ZrO_2 dopado.	47
FIGURA 4.18: VPD e Curva analítica (figura inserida) para a mistura EP + AA construída para o intervalo de concentração de $5,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $50,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e utilizando o eletrodo DDB.....	49
FIGURA 4.19: VPD e Curva analítica (figura inserida) para a solução EP construída para o intervalo de concentração de $5,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $50,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e utilizando o eletrodo DDB.....	49

FIGURA 4.20: VPD e Curva analítica (figura inserida) para a solução AA construída para o intervalo de concentração de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e utilizando o eletrodo DDB..... 50

FIGURA 4.21: Otimização da alça de amostragem por FIA: a) Sinais de corrente registrados em função do volume da alça de amostragem e b) Amperograma obtido para a alça de amostragem de 70 cm ($350 \mu\text{L}$). $[\text{EP}] = 0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $E = 0,5 \text{ V x Ag/AgCl}$ (3 mol L^{-1})..... 52

FIGURA 4.22: Sinais de corrente registrados em função da vazão. $[\text{EP}] = 0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, alça de amostragem 70 cm e $E = 0,5 \text{ V x Ag/AgCl}$ (3 mol L^{-1})..... 53

FIGURA 4.23: Voltamograma hidrodinâmico para oxidação de EP. O gráfico mostra o sinal de corrente obtido em diferentes potenciais no intervalo de $0,2 \text{ V}$ a $0,7 \text{ V x Ag/AgCl}$ ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$)..... 54

FIGURA 4.24: Amperograma referente a injeções sucessivas de EP ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) para determinação da reprodutibilidade. 55

FIGURA 4.25: Amperograma obtido para a concentração de $1,95 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EP, correspondente ao LD..... 55

FIGURA 4.26: Amperograma obtido para a concentração de $3,90 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EP, correspondente ao LQ..... 56

FIGURA 4.27: Curva analítica para EP construída no intervalo de concentração de $4 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($E = 0,5 \text{ V x Ag/AgCl} - 3 \text{ mol L}^{-1}$). 56

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1: Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho.....	18
TABELA 3.2: Soluções utilizadas nas análises por Voltametria Cíclica.....	26
TABELA 4.1: Relação corrente de pico e potencial de pico para as soluções AA, AU e EP em diferentes pHs e utilizando o eletrodo de DDB.	44
TABELA 4.2: Limites de Detecção e Quantificação para os analitos AA e EP na mistura EP + AA.	50
TABELA 4.3: Limites de Detecção e Quantificação para EP quando analisado individualmente.	51
TABELA 4.4: Limites de Detecção e Quantificação para AA quando analisado individualmente.	51
TABELA 4. 5: Exatidão (%) e precisão (\pm %) para detecção de EP utilizando FIA.	57
TABELA 4.6: Limites de Detecção e Quantificação da Literatura para EP utilizando diferentes materiais de eletrodo.	58

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido ascórbico
AU	Ácido úrico
C	Concentração analítica
CA	Catecolaminas
CME	Eletrodos quimicamente modificados
DA	Dopamina
DDB	Diamante dopado com Boro
DRX	Difração de raios X
DSA [®]	Anodos dimensionalmente estáveis
E	Potencial
EP	Epinefrina
EPH	Eletrodo padrão de hidrogênio
EDXS	Energia dispersiva de raios X
FEG	Microscopia eletrônica de Varredura de Alta Resolução
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
I	Corrente
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NE	Norepinefrina
R	Coefficiente de correlação linear
VC	Voltametria Cíclica
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	16
1.1 - ASPECTOS GERAIS.....	16
1.2 - ELETRODOS MODIFICADOS	16
1.2.1 - MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS: DEPOSIÇÃO DE FILMES FINOS	16
1.3 - ELETRODOS DE ZIRCÔNIA NANOESTRUTURADA	16
1.4 - MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE ÓXIDOS - MÉTODO PECHINI	16
1.5 - SUBSTRATOS UTILIZADOS PARA DEPOSIÇÃO DOS FILMES	16
1.5.1 - ELETRODOS DE DSA [®]	16
1.5.2 - ELETRODOS DE DIAMANTE DOPADO COM BORO (DDB).	16
1.6 - SENSORES ELETROQUÍMICOS DE NEUROTRANSMISSORES	16
1.6.1 - DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE NEUROTRANSMISSORES	16
1.7 - NEUROTRANSMISSORES: PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS E FUNÇÕES.	16
1.8 - PRINCIPAIS INTERFERENTES NA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE NEUROTRANSMISSORES	16
1.9 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO FÍSICA	16
1.9.1 - DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	16
1.9.2 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	16
1.10 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA	16
1.10.1 - MEDIDA DE POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO.....	16
1.10.2 - VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)	16
1.10.3 - VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	16
1.10.4 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO.....	16
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	17
CAPÍTULO 3: PARTE EXPERIMENTAL.....	18
3.1 - REAGENTES UTILIZADOS	18
3.2 - SÍNTESE DAS RESINAS POLIMÉRICA DE ZrO ₂	18
3.3 - OBTENÇÃO DOS FILMES DE ZrO ₂	22
3.4 - CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS DAS RESINAS POLIMÉRICAS E DOS FILMES DE ZrO ₂	23
3.5 - ELETRODO DE DDB	23
3.6 - CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA UTILIZANDO POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO.....	24

3.7 - DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO NEUROTRANSMISSOR	24
3.7.1 - VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)	25
3.7.2 - VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL (VPD).....	27
3.7.2.1 - PERFIS VOLTAMÉTRICOS DAS SOLUÇÕES EP, AA E AA + EP EM PBS (pH 4) UTILIZANDO O ELETRODO DE DDB	27
3.7.2.1.1 - CURVA ANALÍTICA, LIMITE DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO PARA O ELETRODO DE DDB.....	28
3.7.3 - PERFIL VOLTAMÉTRICO DAS SOLUÇÕES EP + AA EM PBS pH 7,1 PARA O ELETRODO DE YZrO_2	29
3.8 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA)	29
3.8.1 - CURVA ANALÍTICA, LIMITE DE DETECÇÃO, LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO, REPRODUTIBILIDADE, EXATIDÃO E PRECISÃO PARA O ELETRODO DE YZrO_2	31
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 - CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS (ESTRUTURAL E MORFOLÓGICA).....	32
4.1.1 - DIFRAÇÃO DE RAIOS X PARA OS PÓS DE ZrO_2 DOPADO – $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$ e $\text{Y}_{3\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$	32
4.1.2 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA OS PÓS DE ZrO_2 DOPADO – $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$ e $\text{Y}_{3\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$	33
4.1.3 - DIFRAÇÃO DE RAIOS X PARA OS FILMES DE ErYZrO_2	34
4.1.4 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDXS) PARA O SUBSTRATO SEM FILME E PARA OS FILMES DE ZrO_2 DOPADO.	35
4.2 - CARACTERIZAÇÕES ELETROQUÍMICAS.....	39
4.2.1 - POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO	39
4.2.2 - VOLTAMETRIA CÍCLICA.....	41
4.2.3 - VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	47
4.2.3.1 - VALIDAÇÃO DO MÉTODO UTILIZANDO VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL PARA O ELETRODO DE DDB.....	48
4.2.3.2 - VALIDAÇÃO DO MÉTODO UTILIZANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO PARA O ELETRODO DE ZrO_2 DOPADO	51
CAPÍTULO 5: CONCLUSÕES	59
CAPÍTULO 6: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1 - ASPECTOS GERAIS

A descoberta e o desenvolvimento de novos materiais de eletrodo que sejam sensíveis à detecção de substâncias químicas do tipo neurotransmissoras, principalmente, Dopamina (DA), Epinefrina (EP) e Norepinefrina (NE), são justificados em função de sua importância não apenas no campo da química biomédica e neuroquímica, mas também para a pesquisa de diagnósticos patológicos.

Várias patologias neurológicas estão relacionadas à desregulação nos níveis dessas substâncias e isto explica a grande necessidade da existência de técnicas que sejam efetivas na detecção destes compostos. Entretanto, estas substâncias neurotransmissoras coexistem com outros compostos no organismo, por exemplo, ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU) o que prejudica a sua detecção eletroquímica, já que ambos (neurotransmissores e interferentes) são eletroativos e oxidam-se em potenciais muito próximos.

Um fator agravante adicional é que a concentração de interferentes é muito superior a concentração da substância neurotransmissora de interesse. A concentração de Dopamina, por exemplo, nos fluidos biológicos é da ordem de 10^{-9} mol L⁻¹ enquanto que a de AA é de 0,2 - 0,4 mmol L⁻¹ (LIU *et al.*, 2007).

Estes fatores prejudicam características como a seletividade e a sensibilidade dos métodos de detecção e explica a necessidade em se desenvolver métodos que sejam mais seletivos e sensíveis a este tipo de substância.

Vários tipos de eletrodos quimicamente modificados têm sido estudados para tais finalidades e têm mostrado resultados promissores no que diz respeito à seletividade e sensibilidade das técnicas envolvidas. Várias substâncias neurotransmissoras têm sido determinadas com boa seletividade, sensibilidade e baixos tempos de resposta, e desta forma, resultados importantes relacionadas a processos de transmissão de informações entre células nervosas tem sido melhor compreendidas.

1.2 - ELETRODOS MODIFICADOS

Eletrodos modificados, também denominados eletrodos quimicamente modificados (CME, do inglês *chemically modified electrodes*), são eletrodos sobre os

quais monocamadas eletroativas são imobilizadas na superfície de um substrato para obtenção de propriedades melhores e específicas para determinada aplicação.

A utilização de eletrodos modificados surgiu com a intenção de facilitar os processos de transferência eletrônica e restringir o acesso de determinadas espécies químicas a superfície eletródica, a fim de se evitar o envenenamento do eletrodo e melhorar suas propriedades, tais como seletividade, sensibilidade, estabilidade e atividade catalítica.

Existem vários tipos de revestimentos que são usados como modificadores de superfícies eletródicas, por exemplo, zeólitas, polímeros, DNA, sol-gel e argilas. Estes revestimentos são fixados ao substrato por diversos métodos os quais utilizam de ligação covalente, quimissorção (ex. self assembly), e fisissorção (ex. Langmuir-Blodgett) como meio de fixação substrato-revestimento (ZOSKI, 2007).

O substrato é o eletrodo base sobre o qual o revestimento modificador é fixado. Este deve possuir características eletroquímicas adequadas para a aplicação desejada e ser adequado ao método de mobilização selecionado.

Normalmente, o substrato passa por uma etapa de pré-tratamento antes de sofrer a modificação. Esta etapa tem a função de preparar a superfície para receber o revestimento modificador e pode ser feita por meio de um processo químico (por exemplo, ataque ácido), eletroquímico (eletrodeposição) ou por polimento (BARD & FAULKNER, 2001).

Os materiais frequentemente utilizados como substrato são aqueles também utilizados como eletrodos na forma não modificada. Esses materiais incluem metais (por exemplo, ouro e platina) e carbono (por exemplo, carbono vítreo e fibra de carbono). Diversos materiais menos usuais tais como, materiais semicondutores (por exemplo, DSA[®]), materiais poliméricos e vidros condutores também podem ser utilizados como eletrodo base.

A escolha do substrato, do revestimento e da técnica de fixação utilizada são etapas de grande importância e depende da compatibilidade entre suas propriedades e da aplicação pretendida. Por exemplo, ao se usar um revestimento polimérico, tanto substrato quanto revestimento deve ter coeficientes de dilatação próximos a fim de evitar a formação de trincas durante processo de tratamento térmico. Por outro lado, se a aplicação pretendida requer altas temperaturas, a utilização de fisissorção (forças de van der Waals) como técnica de fixação, pode prejudicar a integridade do eletrodo devido às fracas interações entre substrato e revestimento.

Segundo SOUZA (1997), os primeiros trabalhos envolvendo a preparação de eletrodos com superfícies modificadas surgiram no início da década de 70. Antes apenas eram utilizados eletrodos de materiais ditos "inertes" (carbono, ouro, platina e mercúrio).

Vários trabalhos visando tanto métodos de preparação e caracterização quanto o vasto campo de aplicações dos eletrodos modificados têm sido desenvolvidos desde então. Por exemplo, KULYS e DRUNGILIENE, em 1991 estudaram a oxidação electrocatalítica de compostos sulfidríla utilizando um eletrodo de grafite quimicamente modificado com tetraciano-*p*-quinodimetano, tetratiofulvaleno e 1,1-dimetilferroceno. Os sistemas electrocatalíticos estudados mostraram estabilidade a longo prazo e resultados satisfatórios para detecção de colinesterases (enzimas responsáveis por catalisar a hidrólise de acetilcolina, um importante neurotransmissor).

ALEIXO *et al.* (1993) desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com sílica gel para determinação voltamétrica de mercúrio(II) e os resultados mostraram que esses eletrodos apresentam forte potencial para tal aplicação.

ZEN *et al.* (1998) relataram a determinação de serotonina em sangue humano utilizando um eletrodo de Náfion quimicamente modificado com Óxido de Rutênio. O eletrodo desenvolvido pelos autores apresentou boa sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade e tempos de resposta mais rápido que eletrodos não modificados.

GAO *et al.* (2004) mostraram que eletrodos de carbono impressos modificados exibiram uma boa estabilidade e atividade electroquímica para a oxidação de NADH em tampão fosfato (pH 6,9), com um sobrepotencial mais que 500 mV menor que o apresentado por eletrodos não modificados, sendo promissor como um detector amperométrico para análise por injeção em fluxo (FIA) de NADH.

ZAVARISE *et al.* (2009) relataram a determinação de Pb(II) em águas naturais utilizando eletrodo de ouro modificado com 2-mercaptobenzimidazol-5-sulfonado (MBIS) e observaram que tais dispositivos são eficazes, oferecendo um limite de detecção de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$.

OLIVEIRA *et al.* (2013) utilizaram eletrodos de platina e de carbono vítreo quimicamente modificados com filmes de "Bases de Schiff" de uranila, $[\text{UO}_2(3\text{MeOSalen})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{HO}$ e $[\text{UO}_2(5\text{-MeOSalen})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$, para determinação de cocaína por análise voltamétrica. Os autores encontraram limites de detecção de 0,07

e $0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$, para as substâncias anteriormente citadas, respectivamente, e observaram que uma interação reversível entre a cocaína e a superfície modificada dos eletrodos de trabalho aumentou o pico inicial de corrente da superfície, de acordo com as espécies modificadoras utilizadas.

Vários outros exemplos de aplicações de CMEs têm sido encontrados na literatura (WIECK *et al.*, 1984; LI *et al.*, 1990; ROUSHAN *et al.*, 2013; BOGDANOWICZ *et al.*, 2013). Em todos estes exemplos fica claro que a modificação pode proporcionar ao eletrodo características que favorecem o seu desempenho. Sendo assim, a utilização de CMEs tem apresentado uma potencialidade de aplicações eletroquímicas e eletroanalíticas incluindo aplicações eletrocromáticas, sensoras, biosensoras, na indústria de alimentos, biotecnologia, ensaios enzimáticos, controle ambiental, entre outras.

A utilização de eletrodos modificados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos de neurotransmissores tem sido muito investigada desde a década de 80 e tem apresentado resultados promissores.

Em 1983, BLAHA & LANE desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado para monitorar catecolaminas (CA) do cérebro. Segundo os autores, os resultados proporcionaram a primeira evidência direta de que eletrodos de pasta de grafite quimicamente modificado podem ser usados para monitorar seletivamente mudanças de CA no tecido cerebral.

Desde então, muitos trabalhos envolvendo eletrodos modificados para o desenvolvimento de sensores mais seletivos a catecolaminas têm sido frequentemente relatados. O principal motivo de tais estudos está fundamentado no fato de que as catecolaminas coexistem com vários interferentes nos fluídos biológicos e, em eletrodos não modificados, os interferentes (AA, AU) e catecolaminas (DA, NE e EP, por exemplo) são oxidados quase no mesmo potencial (SALIMI, *et al.*, 2006; ZHU, *et al.*, 2009; SHAHROKHIAN & KHAFAJI, *et al.*, 2010; ABBASPOUR & NOORI, 2011).

Assim, métodos de detecção de CA envolvendo eletrodos sólidos não modificados, apresentam pouca seletividade e sensibilidade e isto explica o grande interesse dos pesquisadores da área em utilizar eletrodos modificados.

1.2.1 - MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS: DEPOSIÇÃO DE FILMES FINOS

Existem diversos métodos utilizados na preparação de eletrodos modificados. Dentre as principais técnicas comumente utilizadas, tem-se a técnica de quimisorção, fisorção (Langmuir-Blodgett), ligação covalente e deposição de filmes poliméricos (*spin-coating*, *dip-coating*).

A modificação de uma superfície de eletrodo pela técnica de quimisorção se dá pela formação de uma forte ligação química espontânea entre substrato e o revestimento (ZOSKI, 2007). Trata-se da técnica mais simples de modificação, mas apresenta a desvantagem (em alguns casos) de permitir a imobilização de apenas uma monocamada modificadora na superfície do eletrodo a ser modificado, podendo limitar a faixa de resposta linear. A técnica de fisorção consiste na imobilização do modificador na superfície do eletrodo base por meio de interações de van der Waals (ZOSKI, 2007). Um exemplo típico da utilização deste tipo de interação é a fabricação de filmes LB pela técnica de Langmuir-Blodgett (LB). Estes filmes são compostos de uma monocamada organizada de moléculas anfifílicas (compostos tensoativos) numa interface líquido/gás. Esta monocamada é, posteriormente, transferida a partir da interface líquido/gás a uma superfície de substrato (BARD & FAULKNER, 2001). O poder da técnica LB é a grande variedade de tipos possíveis e orientações de camadas. Como desvantagens, as forças que mantêm o filme numa unidade coerente sobre a superfície do substrato (interações de van der Waals) são fracas e as camadas de LB podem não ser estáveis por longos períodos de tempo e em condições ambientais drásticas (ZOSKI, 2007).

Outra forma de se obter eletrodos modificados é pela técnica de ligação covalente (BARD & FAULKNER, 2001). Esta técnica consiste na imobilização do modificador a superfície do eletrodo pela formação de ligações covalentes do componente desejado com os grupos formados sobre a superfície do substrato por pré-tratamento. Reações de silanização envolvendo organosilanos são frequentemente empregadas nesse método (ROCHA, 2009). Esta técnica permite a formação de apenas uma monocamada sobre a superfície eletródica e, embora seja de grande estabilidade em relação aos demais métodos, requer maior tempo para preparação além de ser de difícil execução (PEREIRA, 2002).

Superfícies eletródicas também podem ser modificadas utilizando camadas poliméricas (BARD & FAULKNER, 2001). Nesse caso, ao contrário dos métodos já mencionados, várias camadas podem ser imobilizadas na superfície do eletrodo (QUINTINO, 2003) e isso pode ser feito partindo-se de uma solução do polímero, o qual pode ser obtido, por exemplo, pelo método Pechini (PECHINI, 1967). Dependendo da aplicação pretendida, o polímero de revestimento pode ser, por exemplo, um polímero eletroativo, condutor, de coordenação, de troca-iônica (Nafion, por exemplo), entre outros.

O polímero é imobilizado na superfície eletródica utilizando diversos métodos, tais como *dip-coating* e *spin-coating*. Enquanto na imobilização por *dip-coating* o polímero de revestimento é depositado pela imersão do substrato a solução polimérica, na imobilização por *spin-coating*, gotas da solução do material de revestimento são depositadas, por exemplo, com auxílio de uma micropipeta sobre o substrato, o qual é mantido em movimento de rotação por determinado tempo (SANTOS, 2009).

Neste trabalho, a técnica de *spin-coating* foi utilizada para deposição dos filmes de óxido de zircônia sobre o substrato de DSA[®] devido à obtenção de materiais mais homogêneos e com boa reprodutibilidade, além de ser uma técnica de fácil execução e baixo custo, muito utilizada para a deposição de filmes poliméricos sobre superfícies eletródicas.

1.3 - ELETRODOS DE ZIRCÔNIA NANOESTRUTURADA

O óxido de zircônio (ZrO_2) exibe três fases polimórficas cristalinas bem definidas até a sua temperatura de fusão: (FIGURA 1.1a) a monoclinica (estável até ~ 1170 °C), (FIGURA 1.1b) a tetragonal (estável entre 1170 °C e ~ 2370 °C) e (FIGURA 1.1c) a cúbica (estável acima de ~ 2370 °C). Esta última estrutura cristalina também é referida como tipo fluorita.

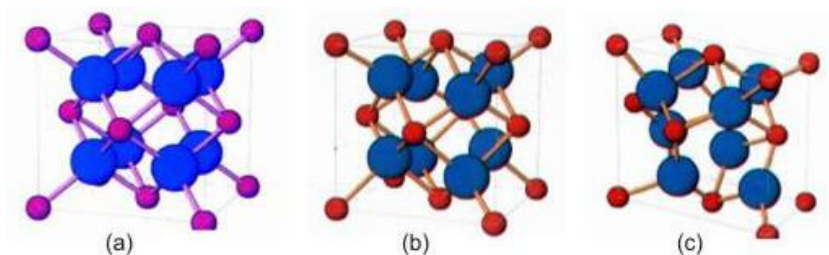


FIGURA 1.1: Representação esquemática das estruturas apresentadas pela zircônia em função da temperatura: (a) monoclinica, (b) tetragonal e (c) cúbica (GONÇALVES, 2009).

Este material é usado rotineiramente para a confecção de ferramentas de corte, refratários, abrasivos, e outros materiais estruturais. Também possui aplicações tecnológicas, tais como, uso na confecção de sensores de oxigênio e de neurotransmissores (CHEN *et al.*, 2011), células a combustível e recobrimentos térmicos, além de aplicações na medicina, principalmente na confecção de próteses ortopédicas e ortodônticas.

O uso de óxidos de metais semicondutores, tais como ZrO_2 ou TiO_2 como materiais de eletrodo apresenta muitas vantagens, que incluem estabilidades química e térmica, robustez, baixo custo, biocompatibilidade e boa condutividade eletrônica (CHIBIROVA *et al.*, 2003; CHEN *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2011). Nesse sentido, a síntese de óxidos semicondutores tornou-se uma questão importante na construção de nanosensores inteligentes. Uma das propriedades de grande importância em cerâmicas à base de zircônia é a sua alta condutividade elétrica, essencialmente de natureza iônica. Em geral, as composições de interesse são soluções sólidas deficientes de ânions, de estrutura cúbica de face centrada do tipo fluorita. Como o cátion Zr^{+4} é muito pequeno para permitir a formação desta estrutura na temperatura ambiente, torna-se necessário a dopagem da zircônia com óxidos bivalentes ou trivalentes cujos cátions sejam de tamanhos adequados. Como há uma diferença entre a valência do cátion estabilizante e o íon Zr^{4+} , vacâncias de oxigênio são criadas para manter a neutralidade

elétrica da estrutura cristalina (ARCHANJO *et al.*, 2009). Estas vacâncias contribuem para a estabilização das fases.

A adição de dopantes permite que as fases termodinamicamente estáveis em temperaturas mais elevadas sejam estabilizadas metaestavelmente à temperatura ambiente, por meio da dissolução dos dopantes na estrutura da zircônia. O processo de estabilização não está completamente explicado, no entanto, sabe-se que fatores como a criação de vacâncias de oxigênio, influência das energias de interfaces e ainda as propriedades dos níveis energéticos eletrônicos que são dependentes da natureza e da quantidade do dopante utilizado influenciam o processo (LANDA *et al.*, 2009; LU *et al.*, 2008; ARANTES *et al.*, 2010; BERLIN *et al.*, 2011; PRASAD *et al.*, 2011; PUZYREV *et al.*, 2011; UDAGAWA *et al.*, 2011).

Sendo assim, a adição de dopantes é fundamental para estabilizar as fases tetragonal e cúbica da zircônia. A utilização de alguns aditivos (dopantes) tem a finalidade de controlar as propriedades elétricas, sensoras e magnéticas, dentre outras e também de promover modificações destas propriedades nestes materiais semicondutores. Portanto, abre-se um enorme campo de aplicação quando se utiliza dopantes.

Além disso, o estudo de materiais cujos tamanhos das partículas encontram-se na faixa de nanômetros, desperta um grande interesse da comunidade científica e tecnológica. O fato de que as propriedades dos materiais sejam fortemente dependentes do tamanho de suas partículas faz com que hoje exista um enorme interesse em se obter materiais na escala nanométrica, em particular, o ZrO_2 .

1.4 -MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE ÓXIDOS - MÉTODO PECHINI

Vários métodos para preparação de óxidos são conhecidos podendo-se citar o método sol-gel, co-precipitação, mistura de óxidos, pechini e hidrotermal. Dentre esses processos, o método Pechini vem sendo muito utilizado para a preparação de óxidos e filmes de óxidos e tem apresentado resultados satisfatórios.

Por meio do método sol-gel, obtém-se uma resina polimérica partindo-se de precursores orgânicos alcóxidos. O método baseia-se na hidrólise de alcóxidos metálicos ou sais inorgânicos formando uma dispersão estável de partículas em um líquido (sol). Em seguida, o excesso de solvente é evaporado formando um gel ou resina

polimérica. Ao elevar a temperatura do gel o líquido remanescente é evaporado e o gel é convertido no material cerâmico de interesse (BRITO, 2009).

Este método tem como vantagens a obtenção de material com elevada porosidade, elevada homogeneidade, baixa temperatura de síntese, curto tempo de processamento e elevada pureza. No entanto, os precursores alcóxidos utilizados na síntese possuem custo elevado (FERREIRA, 2010).

O método Pechini é derivado do método sol-gel, mas nesse caso a resina polimérica é obtida a partir de um citrato metálico e utiliza-se etilenoglicol como agente polimerizador. O citrato metálico é obtido partindo-se de um ácido α -hidroxicarboxílico (por exemplo, ácido cítrico, ácido láctico ou ácido glicólico) (PECHINI, 1967) que é misturado aos reagentes precursores dos metais de interesse, podendo ser utilizados cloretos, carbonatos, nitratos e alcóxidos (GONÇALVES, 2009).

Este método é baseado na obtenção de um poliéster a partir da queelação de cátions metálicos com o poliácido carboxílico, formando complexos metálicos estáveis. No processo, com adição de um polihidroxi-álcool (etilenoglicol) e aquecimento a temperaturas próximas a 100 °C ocorre sucessivas reações de poliesterificação formando uma rede polimérica pela formação de um éster orgânico, onde os cátions metálicos estão distribuídos de forma homogênea por toda a rede (SOUZA, 2009).

Com aquecimento da solução obtida (também denominada resina polimérica) a temperaturas próximas a 300 °C tem-se a eliminação da parte orgânica resultando em um aglomerado do óxido de interesse amorfo denominado “Puff”. O material de interesse na forma cristalina é obtido com tratamento térmico a temperaturas superiores a 500 °C.

Os materiais obtidos através do método Pechini, ainda na sua forma de resina polimérica, podem ser usados na fabricação de filmes. Nesse caso, a resina é depositada sobre substratos adequados, os quais são, posteriormente, submetidos a tratamentos térmicos (GONÇALVES, 2009).

Dentre as vantagens do método Pechini destacam-se: preservação da estequiometria inicial dos íons metálicos (GONÇALVES, 2009), baixo custo dos precursores e formação de óxidos com alta homogeneidade (HUÍZAR-FÉLIX *et al.*, 2012), alta cristalinidade, pequeno tamanho de partícula e pureza (SZCZESZAK *et al.*, 2013), baixas temperaturas de processamento e método de síntese rápido e de fácil execução.

Neste trabalho, o método Pechini foi utilizado na preparação dos óxidos de ErYZrO_2 e YZrO_2 os quais foram utilizados na forma de filme, como modificadores da superfície eletródica para o desenvolvimento dos eletrodos de zircônia nanoestruturada.

1.5 - SUBSTRATOS UTILIZADOS PARA DEPOSIÇÃO DOS FILMES

Uma das etapas de fundamental importância para o desenvolvimento de processos para detecção eletroquímica é a escolha do material de eletrodo. O eletrodo participa efetivamente do processo eletroquímico, funcionando tanto como doador ou receptor de elétrons como fornecendo os sítios para adsorção ou transferência eletrônica. Portanto, estrutura cristalina e eletrônica, morfologia, área superficial e natureza do material de eletrodo são fatores que influenciam a atividade do eletrodo, de forma que a velocidade e a extensão dos processos eletroanalíticos estão diretamente relacionados a esses fatores. De tal modo, a escolha do material de eletrodo é uma etapa que merece atenção especial.

Para a finalidade de interesse (detecção eletroquímica/eletroanalítica de neurotransmissores), um bom material de eletrodo deve possuir uma alta atividade eletroquímica, seletividade e boa resistência mecânica. Neste sentido, eletrodos de DSA[®] (do inglês, Dimensionally Stable Anodes) e DDB (diamante dopado com boro) satisfazem esses critérios.

1.5.1 - ELETRODOS DE DSA[®]

Eletrodos de DSA[®] (FIGURA 1.2) são constituídos de um suporte metálico barato, normalmente titânio metálico, sobre o qual óxido de titânio (TiO_2) e óxido de rutênio (RuO_2) são depositados por decomposição térmica. O TiO_2 fornece ao eletrodo alta resistência mecânica e química enquanto o RuO_2 é um bom agente catalítico muito ativo na oxidação de diversas substâncias orgânicas.

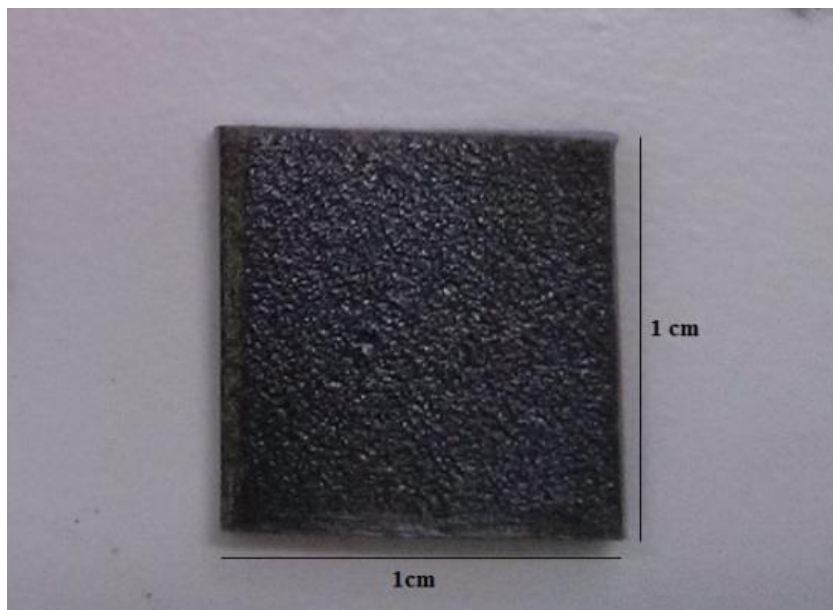


FIGURA 1.2: Anodos dimensionalmente estáveis - DSA[®] testados como eletrodo de trabalho na detecção eletroquímica da EP, AA e AU.

Anodos dimensionalmente estáveis (DSA[®]) foram inicialmente desenvolvidos para suprir as desvantagens de baixa estabilidade, custo e baixa atividade catalítica de eletrodos de grafite que eram utilizados para reação de evolução de cloro na década de 1950 (TRASATTI, 2000).

Além do baixo custo e alta condutividade (FORTI *et al.*, 2001), da alta estabilidade mecânica e química e do poder catalítico, os DSA[®] ainda possuem alta área superficial e sua superfície pode ser facilmente modificada pela deposição de outros óxidos. Todas essas características tornam esse material muito promissor para aplicação como substrato no estudo proposto.

1.5.2 - ELETRODOS DE DIAMANTE DOPADO COM BORO (DDB)

Eletrodos de diamante surgiram como uma alternativa a eletrodos de carbono tradicionais (por exemplo, carbono vítreo, fibra de carbono, nanotubos de carbono e grafite), devido às suas propriedades superiores, tais como, maior intervalo de potencial de trabalho, estabilidade química superior, baixa corrente de fundo e menor risco de envenenamento, (FUJISHIMA *et al.*, 2005 - C; SHAHROKHIAN & KHAFAJI 2010).

Os primeiros estudos utilizando eletrodos de diamante foram relatados no início da década de 80 por cientistas japoneses. Eles puderam perceber que tais

eletrodos apresentavam maior janela de potencial na direção catódica e menor corrente de fundo que eletrodos de carbono vítreo e ainda se tornavam condutor com a introdução de íons zinco em sua estrutura. Mais tarde, em 1987, um cientista russo utilizou diamante para estudos fotoeletroquímicos e percebeu que eletrodos de diamante eram sensíveis às terminações oxigênio ou hidrogênio da superfície o que os tornaram promissores para aplicação em eletrodos modificados (FUJISHIMA *et al.*, 2005 - A).

Outras características importantes destes materiais incluem biocompatibilidade e alta condutividade (PARK *et al.*, 2006).

Estes eletrodos são usualmente produzidos por técnicas de deposição química a vapor, por exemplo, deposição química a vapor de filamento quente e deposição química a vapor plasma assistida (FUJISHIMA *et al.*, 2005 - B). Tais técnicas consistem na utilização de uma fase gasosa contendo o precursor do diamante, ou seja, espécies contendo carbono (por exemplo, uma mistura de metano e acetona) que é convertido à forma sólida cristalina cúbica do carbono, o diamante.

Diversos substratos podem ser usados para a produção de eletrodos de diamante. Comumente se utiliza substratos de Si devido as semelhanças de suas propriedades com as do diamante. No entanto, substratos de Mo, Nb, e Ti também são muito utilizados. Para torná-lo condutor, o diamante pode ser dopado com alguns íons, por exemplo, com boro (1%). Essa dopagem torna o eletrodo de diamante um condutor do tipo p e possibilita sua aplicação em sensores. Na FIGURA 1.3 está ilustrado o eletrodo de diamante dopado com boro utilizado neste trabalho.

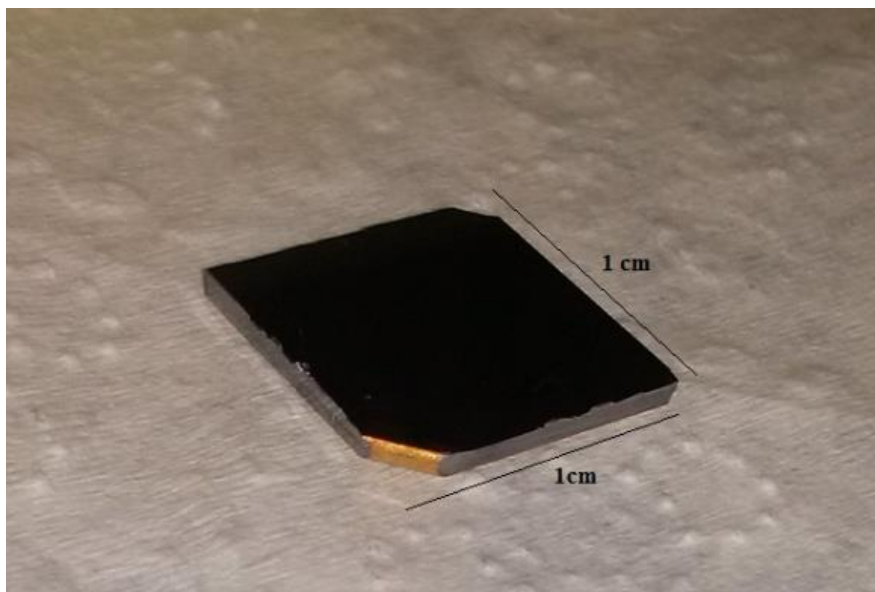


FIGURA 1.3: Eletrodos de diamante dopado com boro (DDB) utilizado como eletrodo de trabalho na detecção eletroquímica de EP, AA e AU.

Para dopagem com boro utiliza-se diborano (B_2O_3), trimetilboro ou boratos orgânicos como precursor de íons boro. Estes precursores são adicionados à fase gasosa. A dopagem com boro dependendo da proporção, além de aumentar a condutividade permite obtenção de comportamento metálico ou semimetálico do eletrodo resultando em um material de eletrodo com outras propriedades promissoras que são somadas às propriedades típicas do próprio eletrodo de diamante.

Existem poucos trabalhos na literatura sobre a detecção eletroquímica de neurotransmissores utilizando eletrodos de diamante (PARK *et al.*, 2006; TRYK *et al.*, 2007; CHAN *et al.*, 2009; SHAHROKHIAN & KHAFAJI 2010; MEDEIROS *et al.*, 2012; BOGDANOWICZ *et al.*, 2013). Entretanto, os trabalhos existentes têm mostrado resultados promissores no que se refere aos baixos limites de detecção obtidos.

Neste trabalho, o comportamento eletroquímico de eletrodos de DDB e eletrodos de DDB modificado com óxido de zircônia foi analisado frente à detecção do neurotransmissor EP e seus interferentes (AA e AU) sendo os resultados obtidos comparados com os da literatura.

1.6 - SENSORES ELETROQUÍMICOS DE NEUROTRANSMISSORES

Como citado anteriormente, a utilização de eletrodos modificados no desenvolvimento de sensores eletroquímicos de neurotransmissores tem sido muito investigada desde a década de 80. O objetivo principal de tais estudos é o desenvolvimento de técnicas mais sensíveis e seletivas a tais substâncias neurotransmissoras. Isso se explica pelo fato de que catecolaminas neurotransmissoras coexistem com vários interferentes em fluídos biológicos sendo ambos oxidados quase no mesmo potencial, em eletrodos não modificados, o que prejudica fatores como a seletividade e sensibilidade no processo de detecção.

Várias doenças, muito comuns na atualidade, tais como o mal de Parkinson e o mal de Alzheimer, estão diretamente relacionadas a irregularidades de concentração de determinados neurotransmissores no organismo. Um fator agravante é que os sintomas dessas doenças costumam se pronunciar apenas em estágio avançado da doença dificultando sua detecção e, conseqüentemente, impedindo seu controle e tratamento desde o princípio. Isto é outro fator que justifica a necessidade e importância de desenvolver técnicas capazes de detectar estas substâncias de forma sensível e seletiva.

1.6.1 - DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE NEUROTRANSMISSORES

A maioria dos trabalhos publicados sobre a detecção eletroquímica de neurotransmissores é bastante recente, principalmente considerando-se a literatura dos últimos 10 anos (ONI & NYOKONG *et al.* 2001; SHANKARAN *et al.* 2003; JIN *et al.* 2004; PARK *et al.* 2006; SALIMI *et al.* 2006; SAFAVI *et al.* 2006; ALWARAPPAN *et al.* 2007; LIU *et al.* 2007 ZHU *et al.* 2009; CHAN *et al.* 2009; ENSAFI *et al.* 2009; PERIASAMY *et al.* 2009; HUANG & LU, 2011). Por exemplo, PARK *et al.* 2006 empregaram a técnica eletroquímica com detecção amperométrica sobre o eletrodo diamante dopado com boro (DDB) para determinação de 2 neurotransmissores (DA e NE). O eletrodo DDB apresentou resultados reproduzíveis, com limites de detecção de 44 e 52 nmol L⁻¹, para DA e NE, respectivamente, e a faixa linear de concentração foi de 0,05 - 100 μmol L⁻¹ para ambos neurotransmissores.

SAFAVI *et al.* (2006) utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial sobre um eletrodo modificado de carbono (compósito de carbono), investigaram a determinação de dopamina na presença de ácido ascórbico e ácido úrico. Os limites de detecção apresentaram valores de 1,0 μmol L⁻¹, 20×10^{-5} mol L⁻¹ e 1,0 μmol L⁻¹ para a DA, AA e AU, respectivamente.

No trabalho de SALIMI *et al.* (2006) os neurotransmissores DA e adrenalina (EP) foram quantificados independentemente na presença de AA e AU utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada e um eletrodo de carbono cerâmico. Boa linearidade foi conseguida para ambos neurotransmissores e o limite de detecção obtido foi de 0,07 μmol L⁻¹ tanto para a dopamina como para a adrenalina. Do ponto de vista de sensibilidade os resultados mostraram valores de 0,041 μA/μmol L⁻¹ e 0,044 μA/μmol L⁻¹ para DA e adrenalina, respectivamente.

ALWARAPPAN *et al.* (2007) desenvolveram um método para detecção e determinação de DA *in vitro* (na presença de proteínas) com detecção eletroquímica utilizando um eletrodo cilíndrico de carbono hidrogenado. O limite de detecção obtido para este método foi de 0,75 μmol L⁻¹ e as faixas lineares de concentração foi de 0,1 mol L⁻¹ a 1,0 mol L⁻¹.

Em trabalho publicado por LIU *et al.* (2007) o neurotransmissor DA foi quantificado na presença de AA e AU utilizando a técnica de voltametria varredura linear e um eletrodo modificado de nanotubos de carbono. O limite de detecção obtido

para a DA foi de 20 nmol L^{-1} e a faixa linear de concentração da curva analítica foi de $0,04$ a $3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

ZHU *et al.* (2009) utilizando a técnica de voltametria de varredura linear sobre um eletrodo modificado de carbono vítreo, investigaram a determinação de DA na presença de AA e AU. Os limites de detecção apresentaram valores de 60 nmol L^{-1} , $5,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 nmol L^{-1} para a DA, AA e AU, respectivamente. Boa reprodutibilidade dos experimentos foi alcançada uma vez que a atividade eletroquímica do eletrodo manteve-se em $\sim 95\%$ após 50 medidas.

Em método desenvolvido por ENSAFI *et al.* (2009), o qual consistiu na detecção e determinação eletroquímica de DA na presença dos AA e AU utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado, o limite de detecção observado foi de $0,29 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e as faixas lineares de concentração foi de $5,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $280 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A técnica eletroquímica utilizada foi a voltametria de pulso diferencial.

CHAN *et al.* (2009) desenvolveram um microeletrodo (micro-sonda) de DDB policristalino para testes *in vivo*. Tais testes tinham como objetivo final a implantação desta sonda na região do córtex auditivo do cérebro de cobaias. O neurotransmissor investigado foi a NE e o limite de detecção em estudos iniciais apresentou valor de 10 nmol L^{-1} .

SHAHROKHIAN & KHAFAJI (2010), encontraram limites de detecção da ordem de nanomols utilizando eletrodos modificados de grafite pirolítico na determinação simultânea de EP, AA e AU. Segundo os autores, o efeito interferente do AA foi completamente eliminado e um limite de detecção de 3 nmol L^{-1} foi encontrado tanto para AU quanto para EP.

Mais recentemente, CHEN *et al.* (2011) empregaram a técnica voltametria cíclica para estudar a determinação de catecol (um neurotransmissor) sobre o eletrodo de zircônia (ZrO_2). O eletrodo apresentou resultados reprodutíveis, com limite de detecção de $0,13 \text{ mmol L}^{-1}$, tanto para a oxidação como para a redução do composto. A faixa linear de concentração foi de $0,13$ a $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Tais limites de detecção obtidos podem ser considerados excelentes considerando o alcance da técnica eletroquímica utilizada que foi a de voltametria cíclica.

ZOU *et al.* (2013) estudaram o comportamento de eletrodos de carbono vítreo modificados com filmes finos de um nanocompósito de partículas de ouro na detecção simultânea de EP e AU. Os limites de detecção obtidos foram de $0,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para AU e $0,08 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para EP.

Cabe ressaltar que, dos trabalhos anteriormente citados apenas um deles (CHEN *et al.*, 2011) foi encontrado ser relativo à detecção eletroquímica de um neurotransmissor utilizando eletrodo de ZrO_2 . Além disso, estudos sistemáticos sobre a utilização deste material de eletrodo relativos a determinações eletroanalíticas ainda são inexistentes. Nesse sentido, estudos científicos sobre a determinação de neurotransmissores por métodos eletroquímicos e utilizando eletrodos de ZrO_2 tornam-se muito atrativos, especialmente em função da grande margem de exploração investigativa que é oferecida pelo tema.

1.7 - NEUROTRANSMISSORES: PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS E FUNÇÕES.

Norepinefrina (FIGURA 1.4a), epinefrina (FIGURA 1.4b) e dopamina (FIGURA 1.4c) são exemplos de catecolaminas, substâncias que possuem duas hidroxilas unidas a um núcleo benzênico formando o grupo catecol que por sua vez encontra-se ligado a uma amina, também denominadas aminas biogênicas, que atuam no organismo como neurotransmissores.

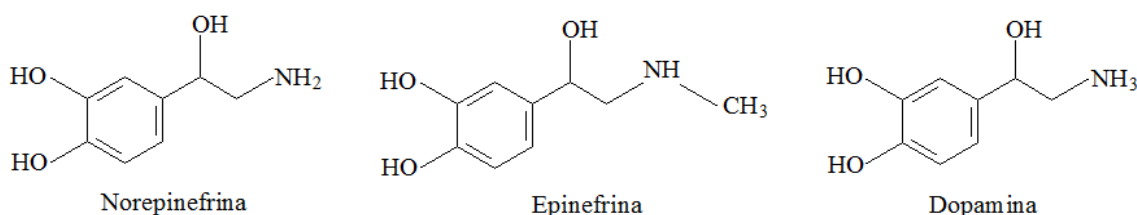


FIGURA 1.4: Fórmula estrutural dos principais neurotransmissores encontrados no organismo dos mamíferos (a) NE, (b) EP e (c) DA.

Para um bom funcionamento do sistema nervoso central é necessário que os neurônios comuniquem entre si e isto é feito através das sinapses químicas por intermédio dos neurotransmissores. Diversas patologias como, por exemplo, disfunções neurológicas, tal como, a esquizofrenia, doença de Alzheimer e a doença de Parkinson estão intimamente relacionadas às catecolaminas (RIBEIRO, 2013). Portanto, o monitoramento dos níveis dessas substâncias neurotransmissoras é de grande importância tanto por razões clínicas quanto por razões diagnósticas e patológicas (PARK *et al.*, 2006).

A NE, também denominada noradrenalina é um vasoconstritor modulador do tônus muscular e está diretamente relacionada à regulação da pressão arterial (PARK *et al.*, 2006). NE é produzida e liberada pelas glândulas supra-renais e

também pelos neurônios adrenérgicos durante a transmissão sináptica, principalmente em situações de estresse (CINGOLANI & ROUSSAY, 2004). Anomalias nos níveis de NE estão relacionadas à ocorrência de várias doenças como, por exemplo, a doença de Parkinson (BIAN *et al.*, 2010).

A NE é uma substância eletroativa a qual é oxidada a sua forma NE-*o*-quinona segundo a reação redox ilustrada na FIGURA 1.5 (PARK *et al.*, 2006; CHAN *et al.*, 2009), sendo desta forma, suscetível à detecção por meio de técnicas eletroquímicas.

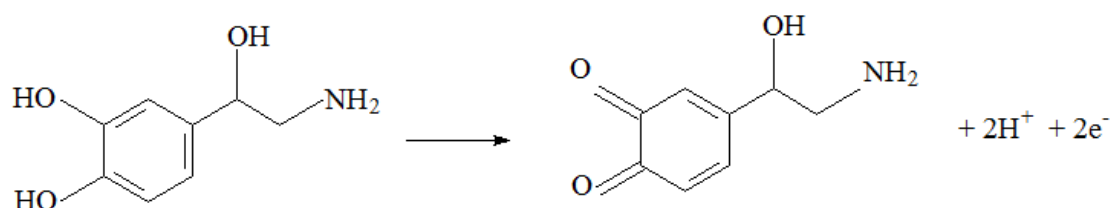


FIGURA 1.5: Representação esquemática da reação de oxidação da Norepinefrina a Norepinefrinoquinona.

A EP, conhecida popularmente como adrenalina (1-(3,4-dihidroxifenil)-2-metilaminoetanol), é o principal hormônio secretado pelas glândulas adrenais e está relacionada aos estados de excitação, alerta, nervosismo, medo e pânico (RIBEIRO, 2013). Trata-se de uma substância eletroativa que é oxidada a sua forma epinefrinoquinona como ilustrado na FIGURA 1.6 (WU *et al.*, 2013):

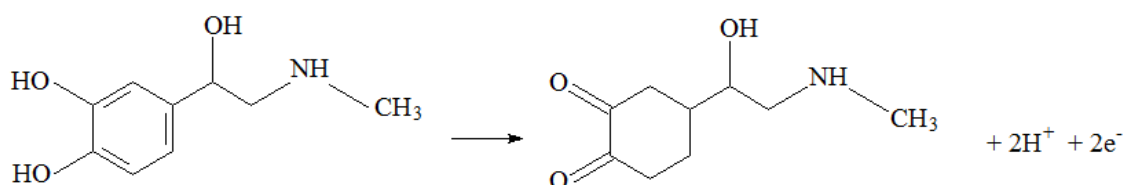


FIGURA 1.6: Representação esquemática da reação de oxidação da Epinefrina a Epinefrinoquinona.

Segundo SHAHROKHIAN & KHAFAJI (2010), baixos níveis de EP têm sido encontrados em pacientes com doença de Parkinson.

1.8 - PRINCIPAIS INTERFERENTES NA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE NEUROTRANSMISSORES

Os principais interferentes eletroativos que coexistem com as catecolaminas nos fluidos biológicos e interferem nos processos de detecção

eletroquímica de tais compostos são o AA ($C_6H_8O_6$) e o AU ($C_5H_4N_4O_3$) representados na FIGURA 1.7.

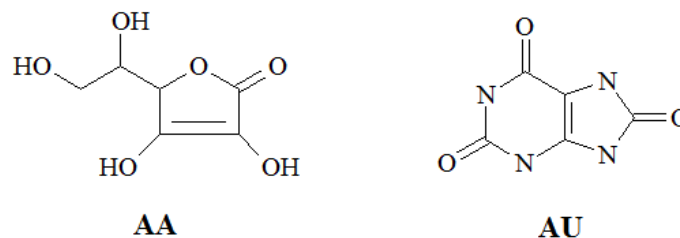


FIGURA 1.7: Estrutura molecular do AA e AU.

O AA (vitamina C) é uma vitamina essencial que participa de diversas reações no organismo (ZHU *et al.* 2009). Já o AU é o produto primário do metabolismo das purinas e níveis anormais de AU no organismo podem levar a doenças como gota (ENSAFI *et al.* 2009).

1.9 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO FÍSICA

1.9.1 - DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A técnica de difração de raios X (DRX) é de fundamental importância no estudo das propriedades estruturais de materiais. Consiste numa técnica utilizada, por exemplo, para acompanhar a formação e/ou a evolução das fases de determinado material, sua composição e a evolução da ordem a longo alcance.

Através da técnica de DRX é possível determinar a identidade química de determinado material cristalino desconhecido porque o padrão de DRX é único para cada material. Comparando o padrão de raios X obtido para o material desconhecido, com os padrões de amostras conhecidas e obtendo-se uma concordância exata, a composição do material desconhecido é então determinada.

1.9.2 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para o estudo das propriedades morfológicas, microestruturais e caracterização de superfície de materiais, a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é amplamente utilizada. Nesta técnica, as imagens produzidas são geradas por um feixe fino de elétrons de alta energia (feixe primário) que incide sobre a superfície da amostra. Quando ocorre interação, parte desse feixe é refletido (feixe secundário) e coletado por um detector que converte o sinal na imagem.

Para estudar a morfologia de materiais nanométricos utiliza-se a Microscopia de Varredura de Alta Resolução (FEG) que difere da microscopia eletrônica convencional pela utilização de um filamento o qual permite maior resolução e conseqüentemente imagens com maiores aproximações podem ser obtidas.

1.10 - TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

1.10.1 - MEDIDA DE POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO

Denomina-se medida de potencial de circuito aberto o potencial do eletrodo de trabalho medido em relação a um eletrodo de referência quando nem corrente, nem potencial são aplicados no sistema.

Nessa técnica o potencial é monitorado em função do tempo com auxílio de um multímetro. Comparando-se o potencial estabilizado nesta medida ($E \times t$) com um diagrama de Pourbaix que seja específico para a espécie modificadora da superfície eletródica, essa técnica torna-se uma boa aliada à caracterização química de eletrodos modificados.

1.10.2 - VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)

As técnicas voltamétricas, são métodos eletroquímicos que estão relacionados aos fenômenos que ocorrem na interface eletrodo-solução. São métodos onde o comportamento da corrente é obtido a partir de um potencial aplicado de forma controlada. O registro da corrente em função do potencial é denominado voltamograma e a magnitude da corrente obtida, representada no voltamograma na forma de um pico, refere-se as reações de oxirredução dos analitos envolvidos.

A voltametria cíclica é uma técnica muito utilizada no estudo de sistemas que contém espécies eletroativas. Por meio da voltametria cíclica é possível estudar, por exemplo, os mecanismos de eletro-oxidação das espécies eletroativas e o caráter reversível de um sistema.

Basicamente, um voltamograma cíclico fornece os seguintes parâmetros:

- Potencial de pico catódico (E_{pc}) – Potencial no qual a corrente catódica apresenta seu valor máximo.
- Potencial de pico anódico (E_{pa}) – Potencial no qual a corrente anódica apresenta seu valor máximo.
- Corrente de pico catódico (i_{pc}) – Maior valor da corrente catódica.

- Corrente de pico anódico (i_{pa}) – Maior valor da corrente anódica.

No processo, o potencial de eletrodo é varrido num intervalo em que o processo eletroquímico ocorre. Quando o potencial final é atingido, a direção de varredura é invertida e o potencial retorna a seu valor inicial (PARK *et al.*, 2006). Utiliza-se uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos (eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e contra eletrodo). Os parâmetros experimentais são controlados por meio de um potenciostato acoplado ao sistema experimental.

Segundo a equação de Randles-Sevcik ($I_p = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} a D^{1/2} C v^{1/2}$), a corrente de pico (I_p) é diretamente proporcional à concentração do analito (C) e por isso a VC pode ser utilizada para análise quantitativa. Normalmente, aplicações qualitativas de voltametria são baseadas no uso de curvas analíticas de calibração, onde as alturas de pico são registradas em função da concentração do analito.

Vários grupos funcionais orgânicos podem ser reduzidos voltametricamente utilizando eletrodos usuais, e isto permite a determinação de uma grande variedade de compostos utilizando técnicas voltamétricas.

Existem vários eletrodos que podem ser empregados em VC. Eletrodos de Pt são frequentemente empregados e outros materiais de eletrodo incluem o carbono vítreo, fibra de carbono, DDB e eletrodos quimicamente modificados.

1.10.3 - VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

Nas técnicas voltamétricas são utilizados diversos sinais de excitação de potencial em função do tempo (FIGURA 1.8).

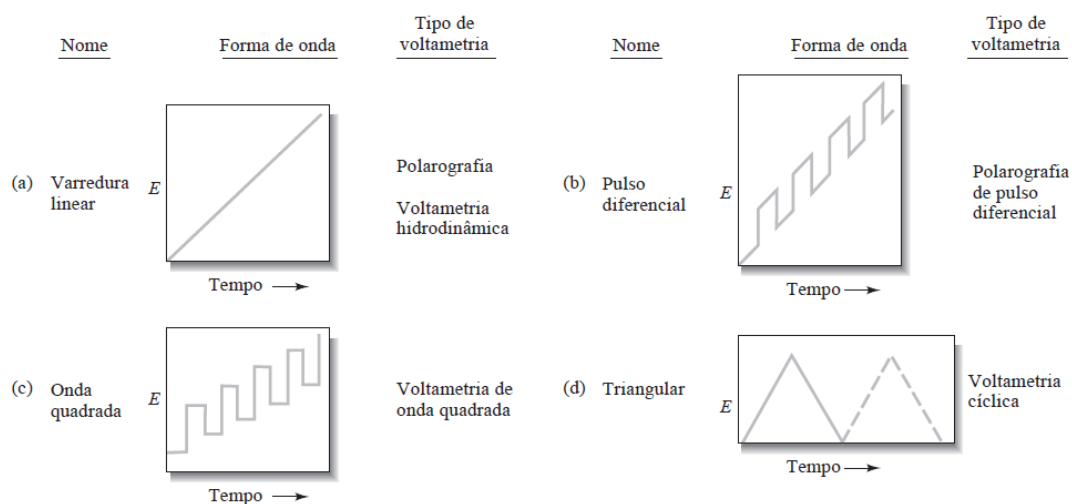


FIGURA 1.8: Sinais de excitação utilizados na técnica de voltametria (SKOOG *et al.* 2010).

Na voltametria de pulso diferencial (VPD), o sinal de excitação ocorre na forma de pulsos de potenciais e as correntes são medidas em vários instantes, durante o tempo de vida de cada pulso. Normalmente duas medidas de corrente são feitas de forma alternada, uma logo antes da aplicação do pulso e outra logo após o final do pulso, S1 e S2 respectivamente, como ilustrado na FIGURA 1.9 (SKOOG *et al.*, 2010). A primeira corrente é instrumentalmente subtraída da segunda e a diferença ($\Delta I = I_{S1} - I_{S2}$) é plotada versus o potencial aplicado. Obtêm-se assim picos de corrente cuja altura é diretamente proporcional à concentração do analito (WILEY, 2001).

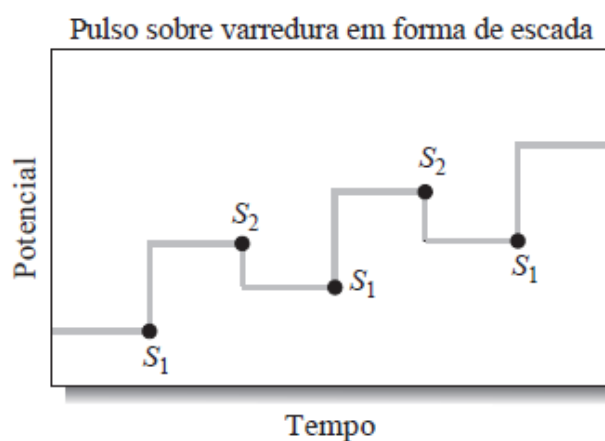


FIGURA 1.9: Sinal de excitação utilizado na Voltametria de Pulso Diferencial. S1 e S2 representam os instantes em que as medições de corrente são feitas (SKOOG *et al.*, 2010).

A grande vantagem das técnicas de pulso é que da forma como a corrente é medida é feito um melhor discernimento entre corrente faradaica e corrente capacitiva e dessa forma o efeito da corrente capacitiva que se refere ao carregamento da dupla camada elétrica e que interfere, por exemplo, na medida da corrente de pico (I_p) é praticamente eliminado obtendo-se assim melhor sensibilidade do método e consequentemente melhores limites de detecção ($10^{-7} / 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$).

1.10.4 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

Desenvolvida na década de 1970, a análise por injeção em fluxo (do inglês flow injection analysis, FIA) trata-se de um método de automação muito utilizado em análises químicas de caráter analítico. É um tipo de análise química em que a amostra é introduzida em um fluido carregador o qual tem a função de fazer a amostra chegar ao detector.

Esses sistemas são constituídos normalmente dos seguintes equipamentos:

- Bomba Peristáltica
- Injetor
- Sensor
- Potenciostato

A propulsão da solução carregadora e da amostra ocorre por meio da bomba peristáltica. A função do injetor é introduzir a amostra no percurso analítico do sistema e o sensor é responsável por permitir o contato da amostra com a superfície do eletrodo de trabalho gerando as reações químicas de maior interesse. O potenciostato funciona como detector sendo o responsável por gerar o sinal analítico o qual é transformado em sinal gráfico por meio de um software.

Vários sistemas de detecção podem ser usados em análises por injeção de fluxo, por exemplo, absorção atômica, quimiluminescência, fluorescência, amperometria e voltametria (GIMENES, 2009).

A impulsão do carregador e da amostra pode ser feita a pressão constante ou a vazão constante. Quando utilizamos uma bomba peristáltica esta impulsão é frequentemente feita a vazão constante.

Os injetores comumente empregados são os de válvula giratória (Rotary valve) ou injetor comutador o qual consiste em três peças de acrílico sendo duas peças fixas e uma móvel. A peça central (móvel) pode ser deslocada em relação às laterais (peças fixas) um passo a frente ou um passo atrás de forma a permitir que a amostra seja colocada no caminho analítico.

As vantagens de se utilizar a técnica FIA incluem simplicidade e versatilidade, já que os equipamentos necessários podem ser facilmente adaptados com o que se tem em mãos. O uso de técnicas automatizadas, de um modo geral, oferece ainda velocidade de análise significativamente maior que técnicas manuais, o que possibilita a realização de um maior número de determinações diárias além de vantagens econômicas devido ao baixo custo (SKOOG *et al.*, 2010).

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

O objetivo geral do trabalho foi desenvolver e aplicar uma metodologia eletroanalítica que seja sensível e seletiva para a detecção dos neurotransmissores EP e NE. Para isso foi feito o uso de técnicas de detecção eletroquímica tais como voltametria cíclica e de pulso diferencial visando à otimização e/ou validação do método proposto.

Como objetivos específicos foi proposto a síntese assim como as caracterizações, físicas e eletroquímicas de eletrodos modificados com filmes de ZrO_2 dopados com íons do tipo terra rara (íttria e érbio), para aplicação como eletrodos em sensores eletroquímicos de neurotransmissores. Foi proposto ainda a utilização de eletrodos de DDB (diamante dopado com boro), para fins comparativos dos resultados com aqueles obtidos com o eletrodo de ZrO_2 modificado.

CAPÍTULO 3: PARTE EXPERIMENTAL

3.1- REAGENTES UTILIZADOS

Os principais reagentes utilizados durante a realização deste trabalho encontram-se listados na TABELA 3.1.

TABELA 3.1: Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho.

Nome do Reagente	Fórmula Molecular	Massa molar / g mol ⁻¹	Procedência
N-propóxido de zircônia	Zr(O(CH ₂)CH ₃) ₄	327,58	NOAH
Ácido cítrico anidro	C ₆ H ₈ O ₇	192,13	Synth
Acetato de érbio (III) hidratado	C ₂ H ₃ O ₂) ₃ Er. xH ₂ O	344,39	Aldrich
Óxido de ítria	Y ₂ O ₃	225,809	NOAH
Ácido nítrico	HNO ₃	63,01	Synth
Etilenoglicol	C ₂ H ₆ O ₂	62,07	Synth
Fosfato de potássio monobásico anidro	KH ₂ PO ₄	136,09	Synth
Cloreto de sódio	NaCl	58,44	Synth
Fosfato de sódio dibásico anidro	Na ₂ HPO ₄	141,96	Êxodo
Epinefrina	C ₉ H ₁₃ NO ₃	183,20	Sigma
Norepinefrina	C ₈ H ₁₁ NO ₃	169,18	Sigma
Ácido úrico	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	168,12	E-Merck
Ácido ascórbico	C ₆ H ₈ O ₆	176,13	Vetec

3.2- SÍNTESE DAS RESINAS POLIMÉRICA DE ZrO₂

Os materiais de interesse, ZrO₂ dopado com Y³⁺ ou Y³⁺ e Er³⁺, foram obtidos na forma de pó e na forma de filmes finos utilizando o método dos precursores poliméricos (Método Pechini).

Primeiramente, para a obtenção das resinas poliméricas a base de zircônia, foi preparado o citrato de zircônia. Conforme mostra o fluxograma apresentado na FIGURA 3.1, utilizou-se o n-propóxido de zircônia como fonte de íons zircônia, e o ácido cítrico como agente quelante, obedecendo a relação de 1 mol de íons metálicos para 3 mols de ácido cítrico. Para isso, zircônia na forma de n-propóxido de zircônia foi solubilizada em uma solução aquosa de ácido cítrico, a aproximadamente 50 °C, sob agitação constante. A solução resultante foi mantida a uma temperatura de

90 °C até completa solubilização do n-propóxido de zircônia, ou seja, até a solução ficar incolor.

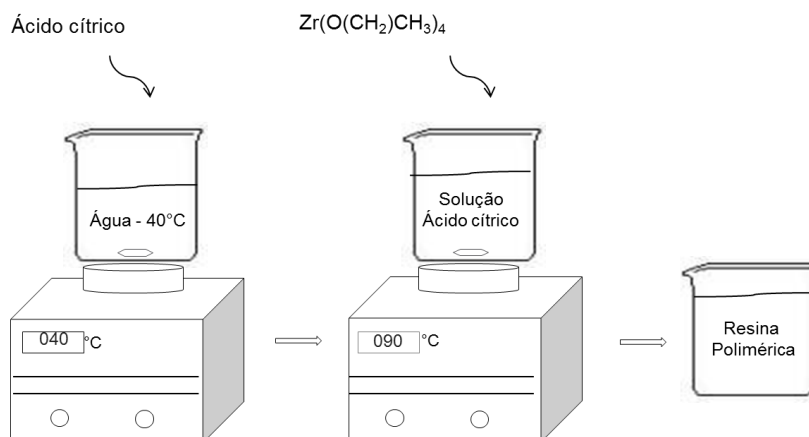


FIGURA 3.1: Fluxograma ilustrando o processo de síntese do citrato de zircônia utilizado na preparação das resinas poliméricas de $ErYZrO_2$ e $YZrO_2$.

A porcentagem em massa de zircônia na solução de citrato de Zircônia foi determinada por análise gravimétrica. Esse processo consistiu em calcinar massas conhecidas da solução do citrato de zircônio a 900 °C por 4 h em cadinhos de alumina, em fornos do tipo mufla, sendo em seguida, após o resfriamento, o pó resultante (ZrO_2) pesado novamente. A massa final (massa após queima, M2) corresponde a quantidade em massa de ZrO_2 presente naquela massa inicial de citrato (M1). A M2 é facilmente transformada em quantidade de matéria utilizando a relação ($N = m/MM$). Ao dividir N por M1 determina-se o número de mols por unidade de massa do citrato (FIGURA 3.2). Utilizaram-se três massas diferentes de solução e uma média foi feita considerando o número de mols por massa de citrato (em g) obtido para cada uma das soluções analisadas.

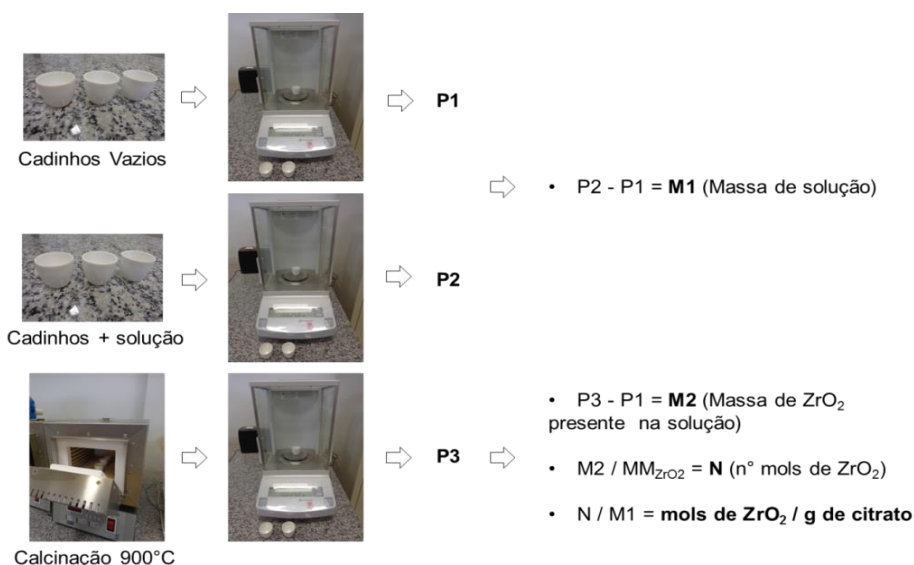


FIGURA 3.2: Etapas envolvidas no procedimento de análise gravimétrica do citrato de zircônia.

Na síntese das resinas poliméricas dopadas com íons terra raras (Er^{3+} , Y^{3+}), quantidades conhecidas destes íons com concentrações pré-determinadas foram adicionadas à solução precursora.

Conforme o procedimento ilustrado na FIGURA 3.3, para a síntese das resinas poliméricas de $ErYZrO_2$, determinada massa de citrato de zircônia, inicialmente pesada, foi mantida sob aquecimento a 50 °C. Em seguida, o érbio na forma de acetato de érbio ($Er(CH_3CO_2)_3$) foi adicionado obedecendo a proporção estequiométrica 1%Er : 2%Y : 97%Zr. Após solubilizar o óxido de ítria (Y_2O_3) com aproximadamente 5 mL de ácido nítrico, os íons Y^{3+} foram adicionados. Posteriormente, adicionou-se etilenoglicol obedecendo à proporção em massa de 60% de ácido cítrico e 40% de etilenoglicol, promovendo, portanto, a polimerização. A solução foi mantida sob agitação a 80-90 °C para a eliminação da água e formação da resina polimérica a qual foi posteriormente utilizada para a síntese dos filmes.

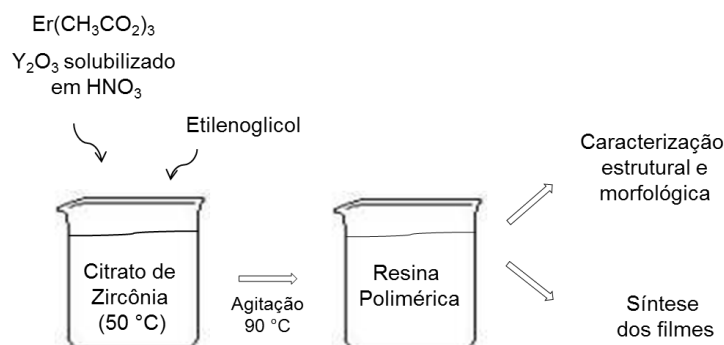


FIGURA 3.3: Fluxograma ilustrativo do processo de síntese da resina de $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$.

Para a síntese das resinas poliméricas de YZrO_2 (FIGURA 3.4) o mesmo procedimento foi usado, exceto pela exclusão da etapa de adição de acetato de érbio e pela proporção estequiométrica obedecida (3% de Y : 97% de Zr).

Uma vez determinada a massa de citrato de zircônia inicialmente pesada, ela foi mantida sob aquecimento a 50 °C. Em seguida, após abrir o óxido de ítria com aproximadamente 5 mL de ácido nítrico, os íons Y^{3+} foram adicionados. Adicionou-se etilenoglicol obedecendo a proporção em massa de 60% de ácido cítrico e 40% de etilenoglicol e a solução resultante foi mantida sob agitação a 80-90 °C para eliminação da água e formação da resina polimérica.

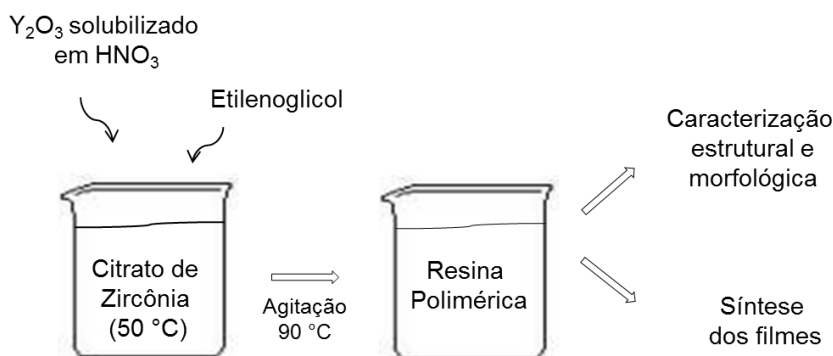


FIGURA 3.4: Fluxograma ilustrativo do processo de síntese da resina de $\text{Y}_{3\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$.

Para caracterização estrutural e morfológica dos materiais sintetizados, as resinas poliméricas obtidas foram calcinadas a 300 °C para eliminação da matéria orgânica e formação do Puff e posteriormente a 700 °C para obtenção das fases cristalinas do material. Este procedimento está ilustrado na FIGURA 3.5.

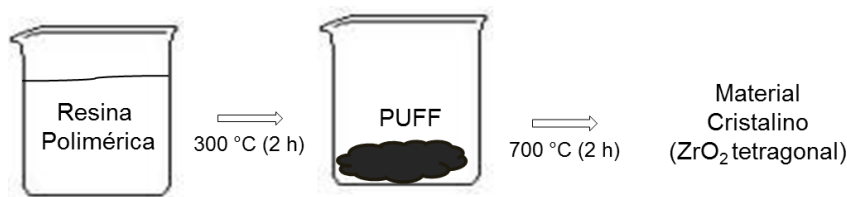


FIGURA 3.5: Fluxograma ilustrativo do processo de síntese dos materiais $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$ ou $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ na forma de pó.

3.3- OBTENÇÃO DOS FILMES DE ZrO_2

Para a obtenção dos filmes, a resina polimérica de interesse ($ErYZrO_2$ ou $YZrO_2$) foi aplicada sobre a superfície do substrato de DSA[®] por meio da técnica de *spin-coating*.

Placas quadradas de DSA[®] com área geométrica de 1 cm^2 foram lavadas utilizando detergente Extran, sendo mantidas por aproximadamente 2 h sob aquecimento e, em seguida, 10 s em ultrassom. Após o banho ultrassônico, os substratos foram lavados com álcool isopropílico e posteriormente com água deionizada garantindo assim remoção total de impurezas.

Após secagem completa dos substratos, estes foram fixados em um spin coater modelo KW-4A (Chemat Technology), como o ilustrado na FIGURA 3.6. Com auxílio de uma micropipeta, gotas da resina polimérica de interesse, com viscosidade entre 15 e 17 cp (determinadas com auxílio de um viscosímetro), foram depositadas sobre os substratos e estes, em seguida, foram submetidos a uma rotina com rotações sucessivas de 3000 rpm e 5000 rpm durante 5 s e 30 s, respectivamente.



FIGURA 3.6: Dispositivo Spin Coater utilizado para deposição dos filmes de ZrO_2 sobre a superfície dos eletrodos de DSA[®].

Após deposição do filme, o substrato foi submetido ao seguinte tratamento térmico:

1 - 100 °C mantido por 5 min (usando placa de aquecimento)

2 - 300 °C mantido por 2 h com taxa de 3 °C/min

700 °C/30min com taxa de 3 °C/min

Resfriamento a temperatura ambiente. (usando forno de tubo com fluxo de oxigênio conforme ilustrado na FIGURA 3.7).



FIGURA 3.7: Forno de tubo utilizado para tratamento térmico dos filmes.

3.4- CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS DAS RESINAS POLIMÉRICAS E DOS FILMES DE ZrO_2

As caracterizações físicas (estrutural e morfológica) dos materiais na forma de pó e de filmes foram realizadas por meio das técnicas de difratometria de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG) e energia dispersiva de raios X (EDXS) de modo convencional. Utilizou-se para análises de DRX um difratômetro Shimadzu XRD 6100. Para as análises por FEG utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura Jeol modelo JSM-6701F e para as análises por MEV e EDXS um microscópio Jeol modelo JSM-6610 equipado com EDS Thermo scientific NSS Spectral Imaging.

3.5- ELETRODO DE DDB

O eletrodo de diamante dopado com boro (DDB) utilizado como eletrodo de trabalho foi preparado pela deposição de um filme de DDB sobre um dos lados de

uma placa de *p*-silício (1,2 cm × 1,2 cm) no “*Centre Suisse d’Électronique et d’Microtechnique*”, Neuchâtel, Suíça. Sobre o outro lado, da placa de *p*-silício foi depositado um filme fino de ouro, para propiciar contato elétrico adequado. O filme de DDB foi sintetizado pela técnica de deposição de vapor químico assistida por filamento quente (HF-CVD), com a temperatura do filamento compreendida entre 2440 °C e 2560 °C. A fase gasosa consistia em metano (CH₄) com excesso de H₂, sendo o gás de dopagem o trimetil-boro.

3.6- CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA UTILIZANDO POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO

Os eletrodos de DDB, DSA[®] sem filme e DSA[®] modificado com filme de zircônia foram caracterizados química/eletroquimicamente pela técnica denominada medida de potencial de circuito aberto utilizando uma célula convencional de três eletrodos (eletrodo de trabalho, eletrodo de referencia – Ag/AgCl 3 mol L⁻¹ e eletrodo auxiliar – placa de Pt). O potencial da célula foi controlado com auxílio de um multímetro por um intervalo de 6 h e o seu valor anotado a cada 30 min.

3.7 - DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO NEUROTRANSMISSOR

As medidas eletroquímicas foram feitas utilizando as técnicas voltamétricas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial, para o eletrodo de ZrO₂ e para fins comparativos, eletrodos de diamante dopados com boro (DDB) também foram investigados. As substâncias neurotransmissoras estudadas foram EP, AA e AU em função da grande importância destas substâncias no organismo. Estas análises foram feitas em modo batelada, utilizando célula eletroquímica do tipo convencional (3 eletrodos) e um Bipotenciostato/Galvanostato modelo μStat400 acoplado a um computador. Os dados foram obtidos utilizando o software DropView 2.9.

O suporte para o eletrodo de trabalho utilizado (FIGURA 3.8) foi fabricado em material teflon. Como eletrodo auxiliar foi utilizado uma placa de platina e utilizou-se também um eletrodo de referência de Ag/AgCl (3 mol L⁻¹).

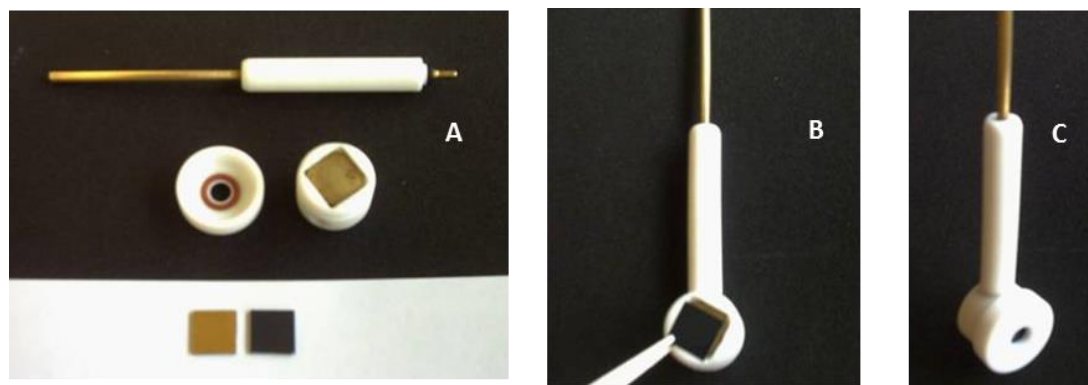


FIGURA 3.8: Suporte de teflon para os eletrodos de trabalho: (a) suporte aberto mostrando o compartimento onde o eletrodo de trabalho é colocado (b) eletrodo de trabalho sendo colocado no suporte e (c) suporte fechado pronto para ser usado nas análises voltamétricas.

O eletrodo de referência foi preparado por eletrodeposição de um fio de Ag utilizando solução saturada de KCl (3 mol L^{-1}) e aplicando-se uma corrente anódica de $0,11 \text{ A}$ por 30 s .

Como eletrólito suporte foi utilizada solução de PBS (solução salina de tampão fosfato) em diferentes pHs ($4,0$; $5,0$; $6,0$; $7,0$; $8,0$; $9,0$ e 10). Estas soluções foram preparadas utilizando de Cloreto de Sódio (NaCl-Synth) $0,150 \text{ mol L}^{-1}$, Fosfato de Sódio dibásico anidro ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-Êxodo}$) $0,252 \text{ mol L}^{-1}$ e Fosfato de Potássio monobásico anidro ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Synth}$) $0,0100 \text{ mol L}^{-1}$. Para ajuste do pH do eletrólito suporte foram utilizadas soluções de HCl ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e um pHmetro GEAKA PG1800.

3.7.1 - VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)

O comportamento eletroquímico para cada uma das soluções listadas na TABELA 3.2 foi analisado por VC inicialmente em solução de PBS pH $7,1$ e posteriormente nos pHs ($4,0$; $5,0$; $6,0$; $8,0$; $9,0$; 10), utilizado o eletrodo de DDB.

Para o eletrodo de DSA modificado com ErYZrO_2 ou YZrO_2 o comportamento das soluções EP, AA e AU foi analisado utilizando solução de PBS apenas em pH $7,1$.

TABELA 3.2: Soluções utilizadas nas análises por Voltametria Cíclica.

Soluções analisadas por Voltametria Cíclica
EP
AA
AU
EP + AA
EP + AU
EP + AA + AU

As soluções listadas na TABELA 3.2 foram preparadas da seguinte maneira:

- a. EP: A solução foi preparada na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando HCl - $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como solvente
- b. AA: A solução foi preparada também na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando água desionizada (Milli-Q) como solvente.
- c. AU: A solução foi preparada na concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando NaOH - $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como solvente.
- d. NE: A solução foi preparada na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando HCl - $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como solvente.
- e. As soluções envolvendo dois analitos ou mais foram preparadas partindo-se das soluções anteriores (a-d) pela adição direta do volume correspondente a concentração de interesse de cada analito à solução de PBS prosseguindo com a medida após agitação. Por exemplo, quando a solução a ser analisada era EP + AA na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $200 \text{ }\mu\text{L}$ da solução EP $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $200 \text{ }\mu\text{L}$ da solução AA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ eram adicionados a 40 mL de PBS fornecendo uma concentração final de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de AA e $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EP.

Antes de iniciar as medidas utilizando o DDB, foi feito um pré-tratamento sobre a sua superfície, sendo o primeiro anódico com duração de 30 s e o segundo catódico com duração de 150 s , ambos utilizando uma densidade de corrente de $0,5 \text{ A cm}^{-2}$. Nesse procedimento foi utilizado H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrólito suporte, uma placa de Pt como contra-eletrodo e uma fonte de tensão/corrente

Instrutherm[®] cuja corrente foi controlada com auxílio de um multímetro Minipa[®] ET-1002.

Para estabilização da corrente capacitiva (referente ao carregamento da dupla camada elétrica), 50 varreduras do branco no intervalo de potencial entre 0,2 V e 0,6 V x Ag/AgCl (3 mol L⁻¹) e à uma velocidade de 100 mV s⁻¹ foram realizadas antes de iniciar as medições.

As medições para análise dos perfis voltamétricos foram feitas no intervalo de 0 V a 1,0 V x Ag/AgCl (3 mol L⁻¹), utilizando uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. Primeiro fazia-se uma varredura do branco, e posteriormente com auxílio de uma micropipeta era adicionado o volume da solução do analito em estudo. A solução resultante era mantida sob agitação por aproximadamente 1 min para homogeneização. Em seguida, uma segunda varredura era efetuada obtendo-se assim o perfil voltamétrico.

3.7.2 - VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL (VPD)

Com base nos resultados obtidos por VC, os perfis voltamétricos das soluções EP, AA e AA + EP foram analisados em solução tampão PBS (pH 4) por VPD utilizando o eletrodo de DDB. Analisou-se também por VPD o perfil voltamétrico das soluções EP + AA em solução tampão PBS (pH 7,1) para o eletrodo de YZrO₂.

3.7.2.1 - PERFIS VOLTAMÉTRICOS DAS SOLUÇÕES EP, AA E AA + EP EM PBS (pH 4) UTILIZANDO O ELETRODO DE DDB

Primeiro foi efetuada a otimização das condições de velocidade, amplitude e escada de potencial a serem utilizadas. Para isso, utilizou-se a solução EP + AA e como eletrólito suporte PBS (pH 4). Em uma primeira etapa, a amplitude e a escada de potencial foram fixadas, respectivamente, em 5 mV e 50 mV e variou-se a velocidade no intervalo de 10 a 90 mV s⁻¹, encontrando, assim, a melhor condição de velocidade com base na melhor sensibilidade (maior I_p) e melhor seletividade (maior ΔE_p). Posteriormente, fixou-se a velocidade na melhor condição encontrada na etapa anterior (70 mV s⁻¹) e a escada de potencial em 5 mV e variou-se a amplitude no intervalo de 10 a 90 mV sendo a melhor condição encontrada em 90 mV. Finalmente, fixou-se a velocidade e a amplitude em 70 mV s⁻¹ e 90 mV, respectivamente e variou-se

a escada de potencial entre 1 mV e 7 mV, sendo a melhor condição encontrada em 5 mV. Todas essas medidas foram feitas no intervalo de 0 V a 1 V x Ag/AgCl (3 mol L⁻¹) e utilizando um tempo de pulso de 10 ms.

Antes de iniciar estas medições e as demais que serão citadas no item a seguir, o eletrodo de DDB foi pré-tratado da mesma forma como citado no item 2.6.1.

3.7.2.1.1 - CURVA ANALÍTICA, LIMITE DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO PARA O ELETRODO DE DDB

Foram construídas três curvas analíticas utilizando o eletrodo DDB: Uma para a mistura de AA + EP, e outra para cada analito individual (uma para AA e outra para EP).

Para a curva analítica da mistura de AA + EP realizaram-se injeções nas seguintes concentrações de AA e EP: 5 µmol L⁻¹, 10 µmol L⁻¹, 20 µmol L⁻¹, 30 µmol L⁻¹, 40 µmol L⁻¹, 50 µmol L⁻¹. Todas as medidas foram realizadas em triplicata e conduzidas nas condições definidas acima (velocidade de varredura de 70 mV s⁻¹, amplitude de 90 mV e escada de potencial de 5 mV), no intervalo de 0 V a 1 V x Ag/AgCl (3 mol L⁻¹) e tempo de pulso de 10 ms.

Para as demais curvas, cada analito foi adicionado individualmente nestas mesmas concentrações e todas as medidas também feitas em triplicata, seguindo as mesmas condições anteriores.

Antes de iniciar as medições para cada curva analítica, 10 varreduras do branco no intervalo de potencial de 0 V a 1 V x Ag/AgCl (3 mol L⁻¹) foram efetuadas para o cálculo do desvio Padrão.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados considerando-se as relações (INMETRO, 2007):

$$LD = 3S_b/a$$

$$LQ = 10S_b/a$$

onde,

S_b = desvio padrão de 10 medidas do branco;

a = coeficiente angular da curva analítica.

3.7.3 - PERFIL VOLTAMÉTRICO DAS SOLUÇÕES EP + AA EM PBS pH 7,1 PARA O ELETRODO DE YZrO_2

O perfil voltamétrico para o eletrodo de DSA[®] modificado com YZrO_2 foi efetuado seguindo as mesmas condições de velocidade, amplitude e escada de potencial citados no item 2.6.2.1 para o eletrodo DDB. No entanto, não foi utilizada nenhuma etapa de pré-tratamento neste eletrodo de trabalho.

Devido a baixa sensibilidade obtida para o eletrodo de YZrO_2 para detecção de EP por VPD, utilizou-se para validação do método a técnica de FIA, a partir da qual uma curva analítica foi construída e foram determinados o limite de detecção, quantificação, reprodutibilidade, exatidão e precisão.

3.8 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA)

Para realização das análises por FIA, montou-se um sistema de fluxo como ilustrado na FIGURA 3.9.



FIGURA 3.9: Esquema ilustrativo do sistema utilizado nas análises por injeção em fluxo: a) Bomba peristáltica; b) Injetor-comutador e c) Detector.

Para montagem do sistema mostrado acima, utilizou-se uma bomba peristáltica Gilson-Minipuls (a), previamente calibrada, por onde era feito o controle da vazão, acoplada a um injetor comutador (b), o qual possui a função de injetar a amostra

no caminho da solução carregadora. O injetor utilizado, construído em material acrílico, é composto por uma linha que transporta a solução carregadora e outra que conduza amostra. O detector (indicado por “c” na FIGURA 3.9 e mostrado em detalhes na FIGURA 3.10), é constituído de dois blocos de acrílico onde em um deles encontram-se os compartimentos para o eletrodo de trabalho (f), de referência (d) e o contra-eletródo (c). Na parte inferior do detector tem-se um parafuso fixado o qual é responsável por fazer o contato elétrico com o eletrodo de trabalho (g). Um anel a base de silicone (e) é responsável pela vedação do sensor, a qual impede que a solução escape através da junção existente entre os dois blocos de acrílico.

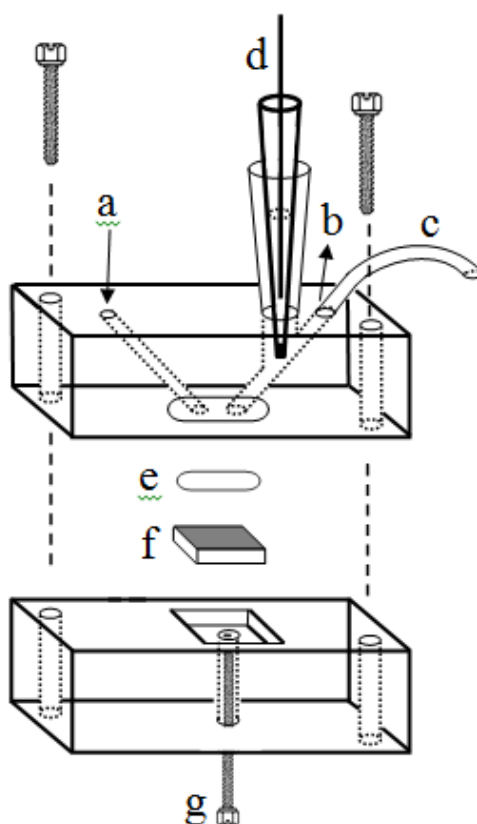


FIGURA 3.10: Esquema ilustrativo do sensor eletroquímico utilizado nas análises por FIA (ANDRADE et al. 2009).

As medidas por FIA foram realizadas a potencial constante, ou seja, utilizando detecção Amperométrica, sendo as variáveis alça de amostragem, vazão e potencial, previamente otimizadas. Estas medidas foram realizadas para a solução EP utilizando o eletrodo de ZrO_2 dopado com Y^{3+} .

3.8.1 - CURVA ANALÍTICA, LIMITE DE DETECÇÃO, LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO, REPRODUTIBILIDADE, EXATIDÃO E PRECISÃO PARA O ELETRODO DE YZrO_2

Para determinação do melhor tamanho da alça de amostragem (equivalente ao volume de injeção) a ser utilizada nas análises por FIA, injeções da solução EP na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ foram realizadas a um potencial de $0,5 \text{ V x Ag/AgCl}$ (3 mol L^{-1}) variando-se o tamanho da alça de amostragem em 20 cm, 40 cm, 60 cm e 70 cm. Após determinado o melhor tamanho de alça de amostragem, novas injeções foram realizadas sob as mesmas condições, variando-se as vazões em $1,00 \text{ mL min}^{-1}$, $1,25 \text{ mL min}^{-1}$, $1,50 \text{ mL min}^{-1}$, $1,75 \text{ mL min}^{-1}$ e $2,00 \text{ mL min}^{-1}$. Por fim, para escolha do melhor potencial a ser aplicado, novas injeções foram realizadas variando-se o potencial conforme o intervalo de potencial do pico de oxidação observado no voltamograma cíclico obtido.

A reprodutibilidade foi avaliada fazendo-se 10 injeções sucessivas de EP na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, todas nas mesmas condições.

Para determinação do limite de detecção (LD), injeções de EP foram efetuadas partindo-se da concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ e diminuindo-se esta concentração pela metade a cada medida, até o sinal do pico de corrente tornar-se, pelo menos aproximadamente 3 vezes maior do que o ruído.

Partindo-se das injeções realizadas para determinação do LD, determinou-se também o limite de quantificação, o qual foi definido como sendo a menor concentração a qual pode ser detectada com boa reprodutibilidade.

Para a construção da curva analítica, foram realizadas injeções de EP nas respectivas concentrações de EP: 4,0; 10,0; 20,0; 30,0; 60,0; 100; 150; 200; 300 e 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

Para determinação da precisão e exatidão foram realizadas injeções nas concentrações de 50, 180 e 350 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Neste caso as medidas foram realizadas em quintuplicata.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS (ESTRUTURAL E MORFOLÓGICA)

4.1.1 - DIFRAÇÃO DE RAIOS X PARA OS PÓS DE ZrO_2 DOPADO – $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ e $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$

A FIGURA 4.1 mostra os difratogramas obtidos para os pós de $ErYZrO_2$ e $YZrO_2$ calcinados a 700 °C. Segundo a ficha cristalográfica JCPDS 50-1089, os picos encontrados foram caracterizados pelos seus respectivos planos hkl na figura e são característicos da fase tetragonal da zircônia. Isto demonstra que a fase tetragonal da zircônia foi estabilizada tal como fora pretendido.

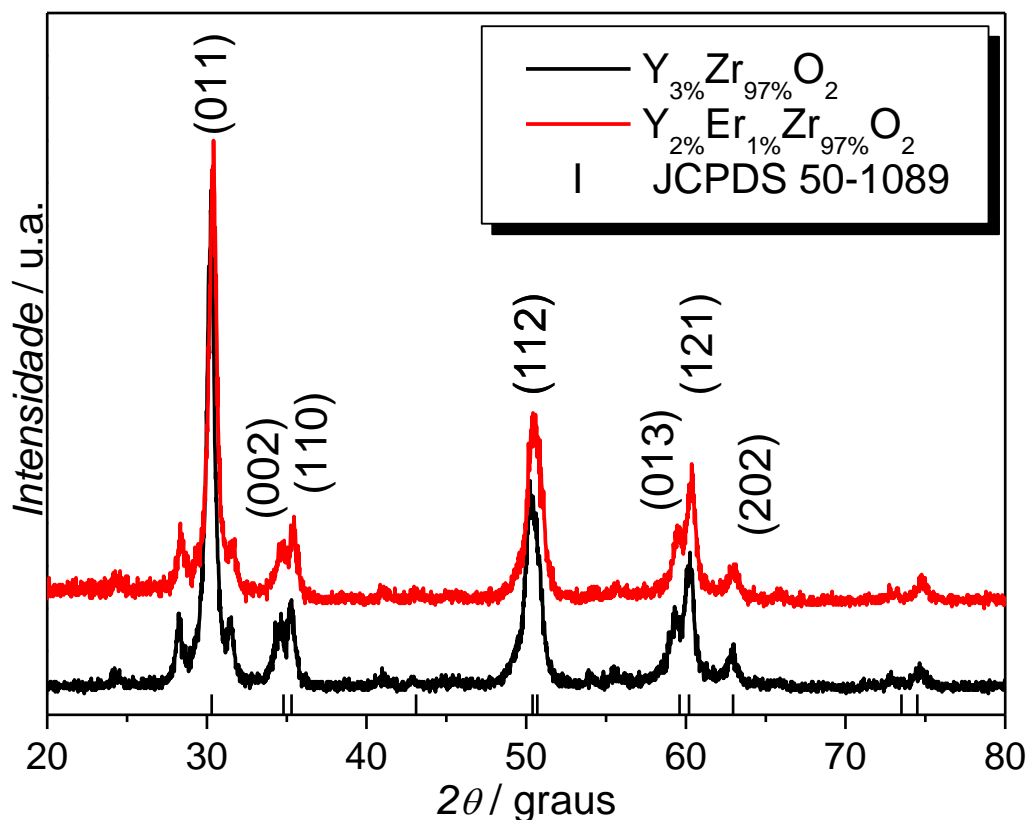


FIGURA 4.1: Difratogramas DRX para os pós de interesse - $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ e $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$.

Um estudo por DRX sobre a influência da temperatura no processo de cristalização do material $Er_{1\%}Y_{2\%}Zr_{97\%}O_2$ (FIGURA 4.2) mostrou que este processo inicia-se a uma temperatura próxima a 500 °C, uma vez que a esta temperatura os picos referentes à fase tetragonal da zircônia são exibidos, mas em menores intensidades.

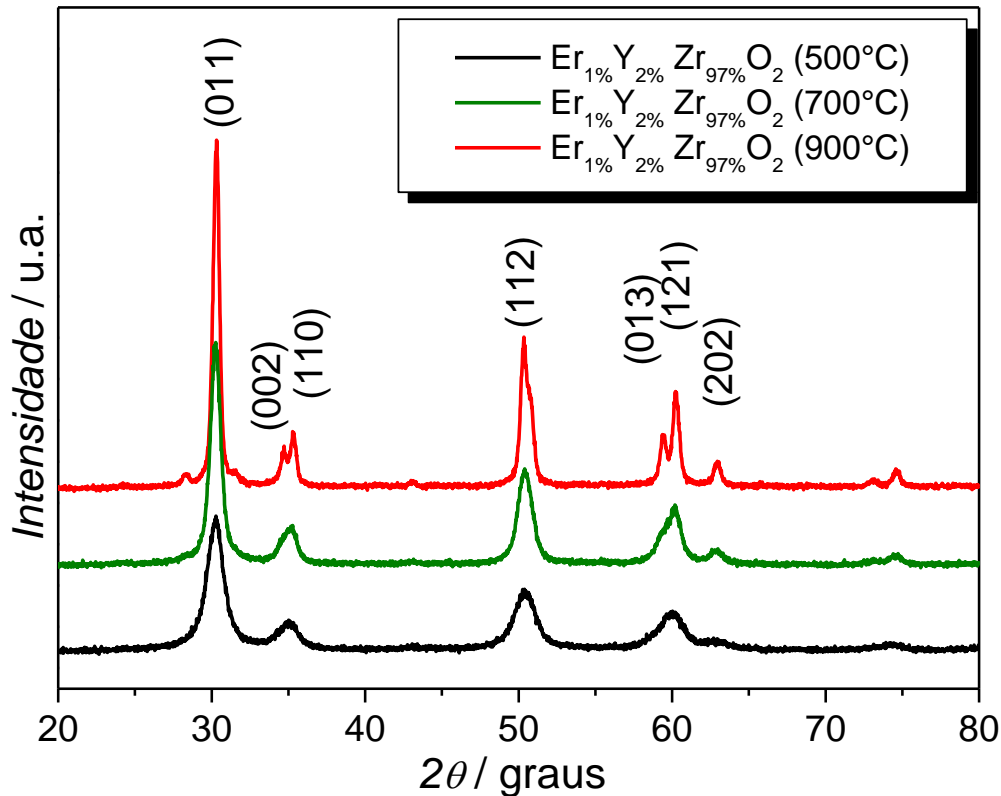


FIGURA 4.2: Difratogramas DRX para os pós de ErYZrO₂ calcinados em diferentes temperaturas.

Com base na FIGURA 4.2, à temperatura de 700 °C, picos cristalográficos de alta intensidade e muito bem definidos foram observados, indicando que a esta temperatura de calcinação o material já se encontra com alto grau de cristalinidade. Portanto, esta temperatura foi utilizada para o tratamento térmico na síntese dos filmes a base de ZrO₂.

4.1.2 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA OS PÓS DE ZrO₂ DOPADO – Er_{1%}Y_{2%}Zr_{97%}O₂ e Y_{3%}Zr_{97%}O₂

As imagens obtidas por FEG para os pós de Y_{3%}Zr_{97%}O₂ e Er_{1%}Y_{2%}Zr_{97%}O₂, apresentadas nas FIGURAS 4.3 e 4.4 respectivamente, mostraram que ambos os materiais foram obtidos na forma de aglomerados de partículas nanométricas, tal como o esperado, devido ao método de síntese utilizado ter sido o método Pechini, o qual, normalmente, leva a obtenção de materiais com estas características.

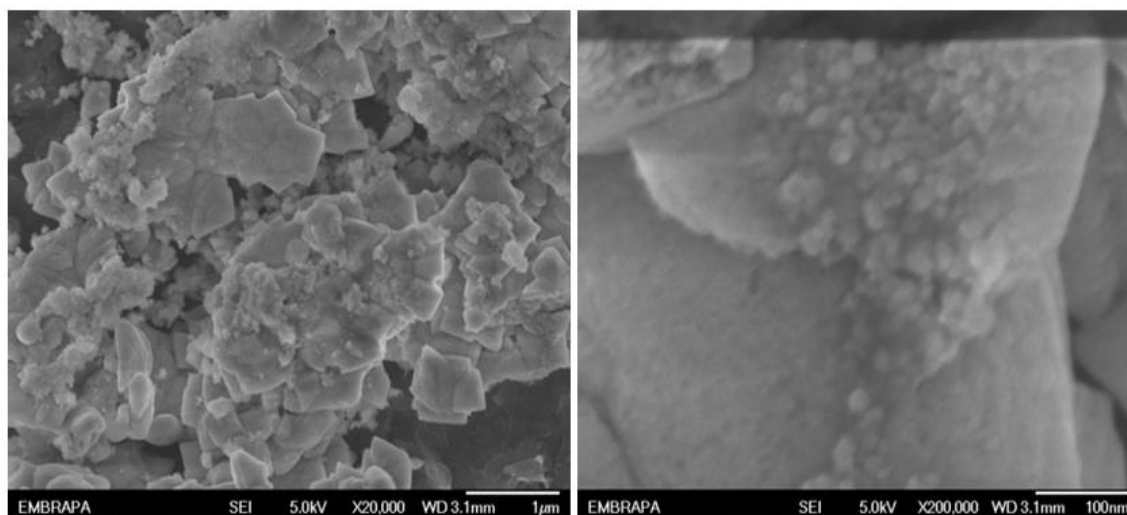


FIGURA 4.3: Caracterização morfológica por FEG para o pó de YZrO₂ calcinado a 700 °C.

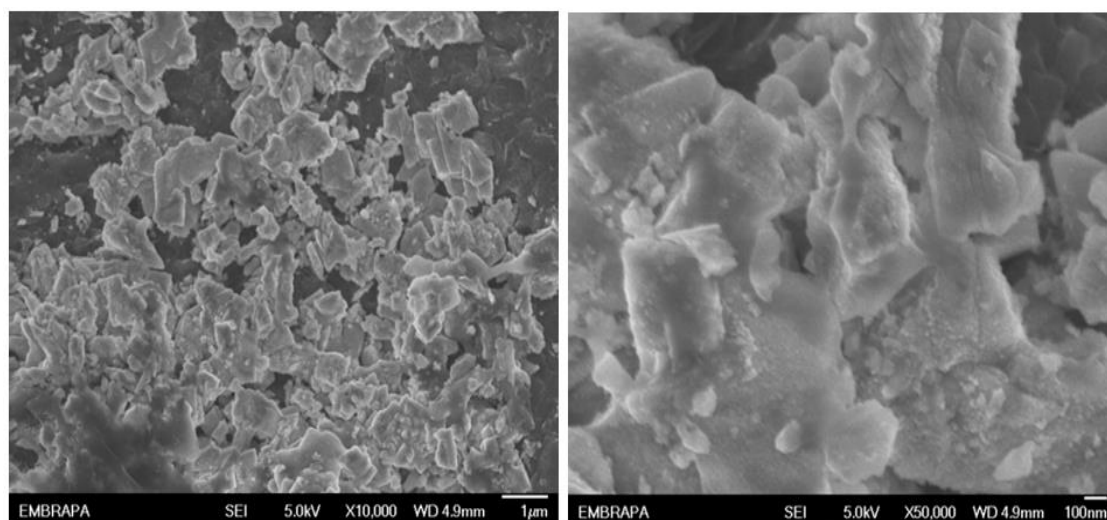


FIGURA 4.4: Caracterização morfológica por FEG para o pó de ErYZrO₂ calcinado a 700 °C.

4.1.3 - DIFRAÇÃO DE RAIOS X PARA OS FILMES DE ErYZrO₂.

Na FIGURA 4.5 estão ilustrados os difratogramas obtidos para o substrato de DSA[®] sem filme e para o substrato com 6 camadas de ErYZrO₂.

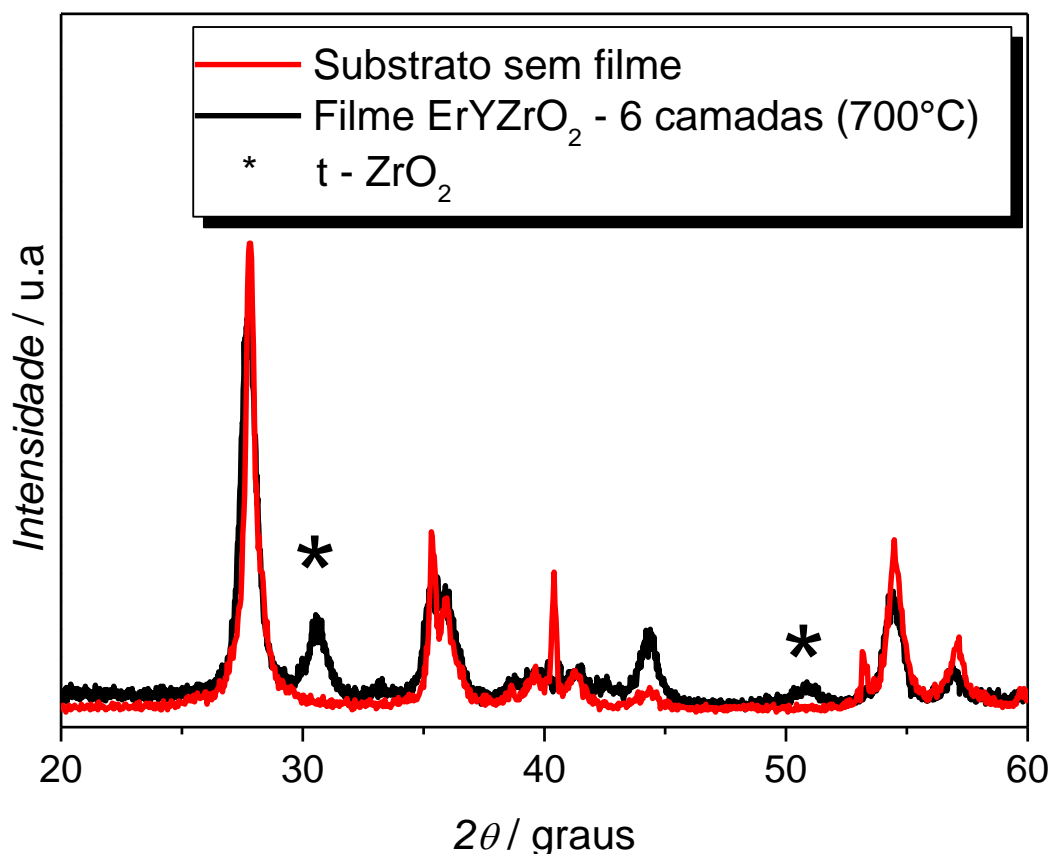


FIGURA 4.5: Difratoformas DRX do filme $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$ e do substrato sem filme.

O difratograma obtido para o eletrodo modificado apresentou dois picos, respectivamente em 30° e 50° , os quais não apareceram no difratograma obtido para o substrato sem filme. Estes picos, segundo a ficha cristalográfica JCPDS 50-1089, são os picos mais intensos característicos da fase tetragonal da zircônia. Isto indica que o filme de $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$ foi devidamente depositado sobre a superfície do substrato.

4.1.4 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDXS) PARA O SUBSTRATO SEM FILME E PARA OS FILMES DE ZrO_2 DOPADO.

As imagens obtidas por MEV, tanto para o substrato sem filme quanto para os filmes de $\text{Y}_{3\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$ (FIGURA 4.6) mostraram que ambos possuem morfologia do tipo barro-rachado. Essa observação está de acordo com o resultado esperado uma vez que esta morfologia é típica de materiais obtidos por decomposição térmica e tanto o substrato quanto o eletrodo de $\text{Y}_{3\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$ foram assim sintetizados.

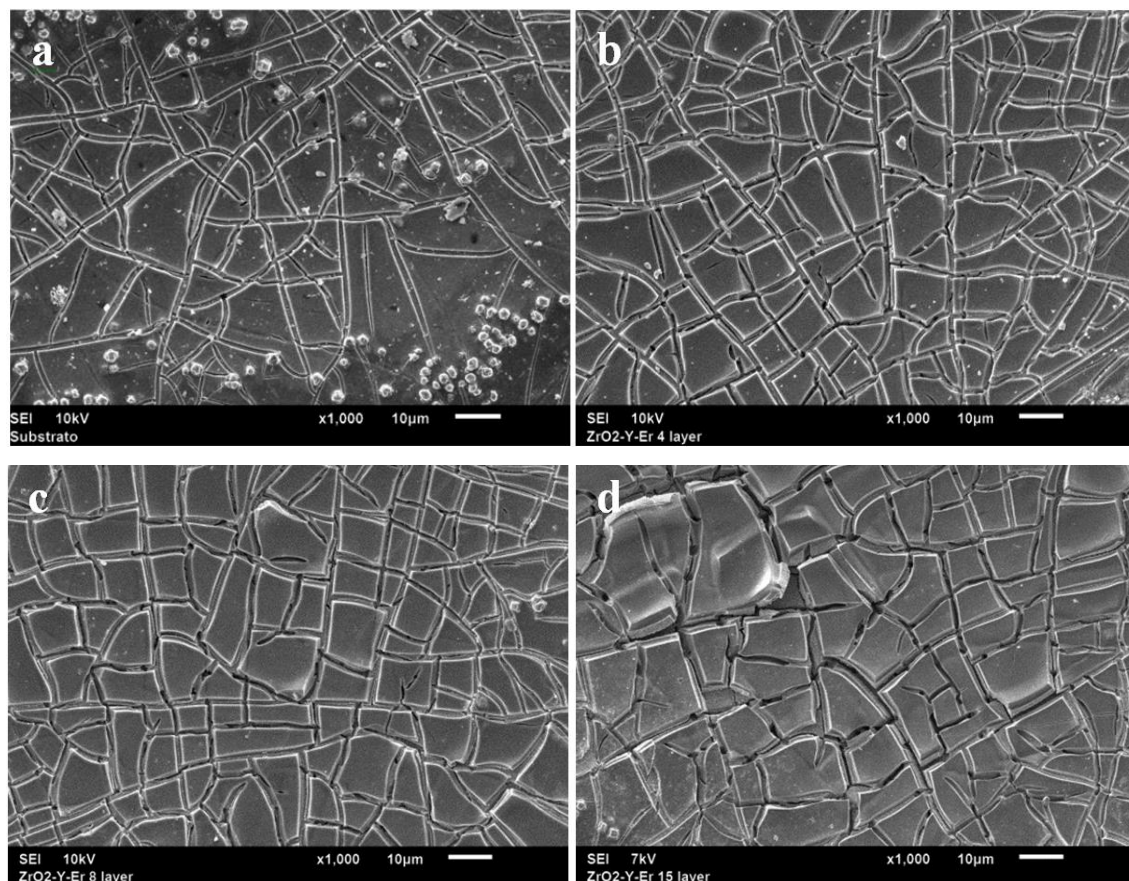


FIGURA 4.6: Micrografias de MEV para a) substrato sem filme; b) Substrato com 4; c) 8 e d) 15 camadas de $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$.

Do ponto de vista de contornos de grãos, foram observadas diferenças quanto ao tamanho e homogeneidade. Com o aumento do número de camadas de filme ocorre uma diminuição do tamanho e os contornos tornam-se um pouco mais homogêneos.

Além disso, é possível observar também a presença de (grãos) sobre a superfície do substrato sem o filme (FIGURA 4.6a), os quais, provavelmente, estão relacionados à presença de óxidos não solubilizados. Com o aumento do número de camadas de filme aplicadas sobre o substrato, observa-se que estes cristais vão desaparecendo gradualmente, pois as camadas de ZrO_2 acabam por recobri-los, permitindo que a superfície torne-se cada vez mais homogênea.

Ao analisar minuciosamente a imagem obtida para o eletrodo com 15 camadas de $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$, observou-se a existência de camadas inferiores à camada mais externa as quais não foram claramente observadas para os eletrodos com menores números de camadas, indicando que, nesse caso, a espessura do filme obtido é maior que nos demais casos.

Todas estas observações em conjunto com aquelas obtidas por DRX para o eletrodo modificado (eletrodo de ErYZrO_2) comprovam que os filmes a base de ZrO_2 foram depositados de forma satisfatória sobre a superfície do substrato de DSA[®].

Foram feitas ainda tentativas para se medir a espessura do filme de 15 camadas por MEV (FIGURA 4.7).

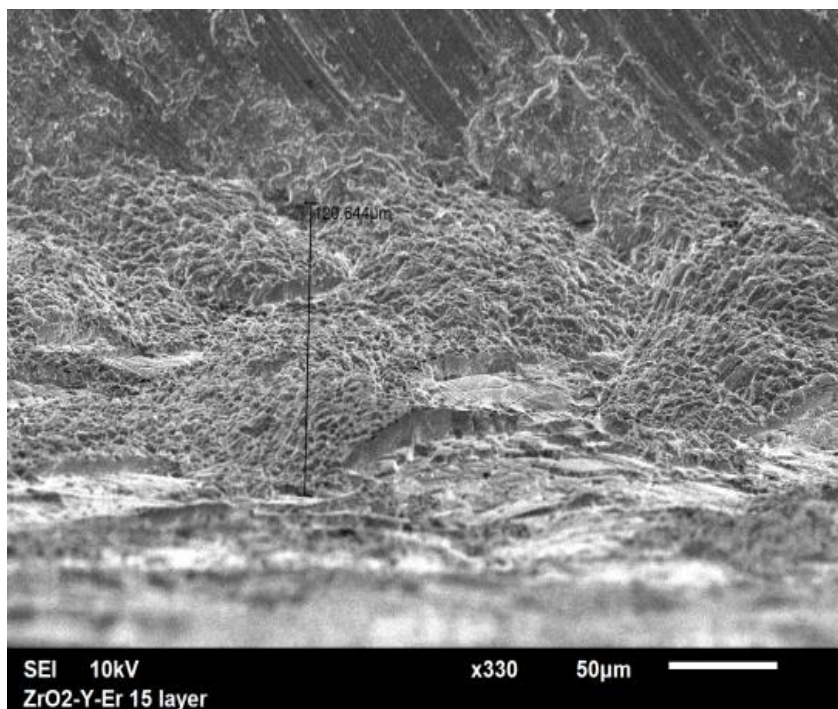


FIGURA 4.7: Análise por MEV para medição da espessura do filme de 15 camadas de $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$.

De acordo com a FIGURA 4.7, a espessura estimada para este filme foi de aproximadamente 120 μm , uma espessura relativamente grande. No entanto, acredita-se que exista algum efeito de borda proporcionado pelo corte da peça, o qual fora feito a partir do uso de guilhotinas e serras, o que levaria à uma espessura medida superior a espessura real. Este fato foi comprovado por meio da análise por EDXS para este filme (FIGURA 4.8) uma vez que os resultados de EDXS indicaram picos referentes a elementos presentes tanto no substrato como no filme. Considerando-se que a espessura estimada do filme foi da ordem de 120 μm , seria esperado o aparecimento somente de picos de elementos relacionados ao filme.

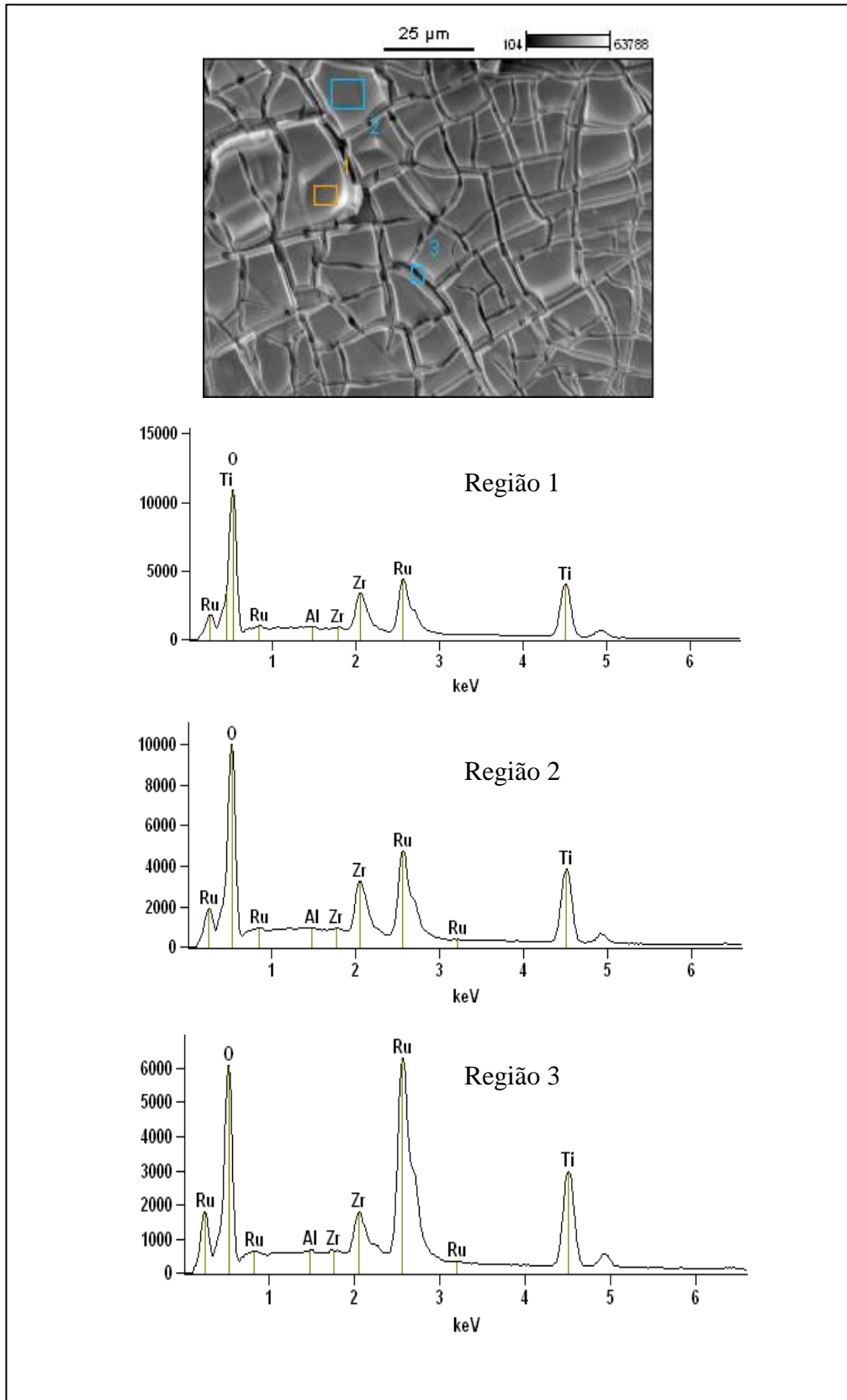


FIGURA 4.8: Análise por EDXS para três diferentes regiões do eletrodo de ZrO_2 modificado com 15 camadas de $\text{Er}_{1\%}\text{Y}_{2\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$.

No sentido de caracterizar somente o substrato para o filme de ZrO_2 , a FIGURA 4.9 mostra seu resultado obtido por EDXS. Foi possível observar que o substrato apresenta como elementos majoritários: Oxigênio, Titânio e Rutênio, o que já era esperado uma vez que o substrato é basicamente constituído de TiO_2 e RuO_2 .

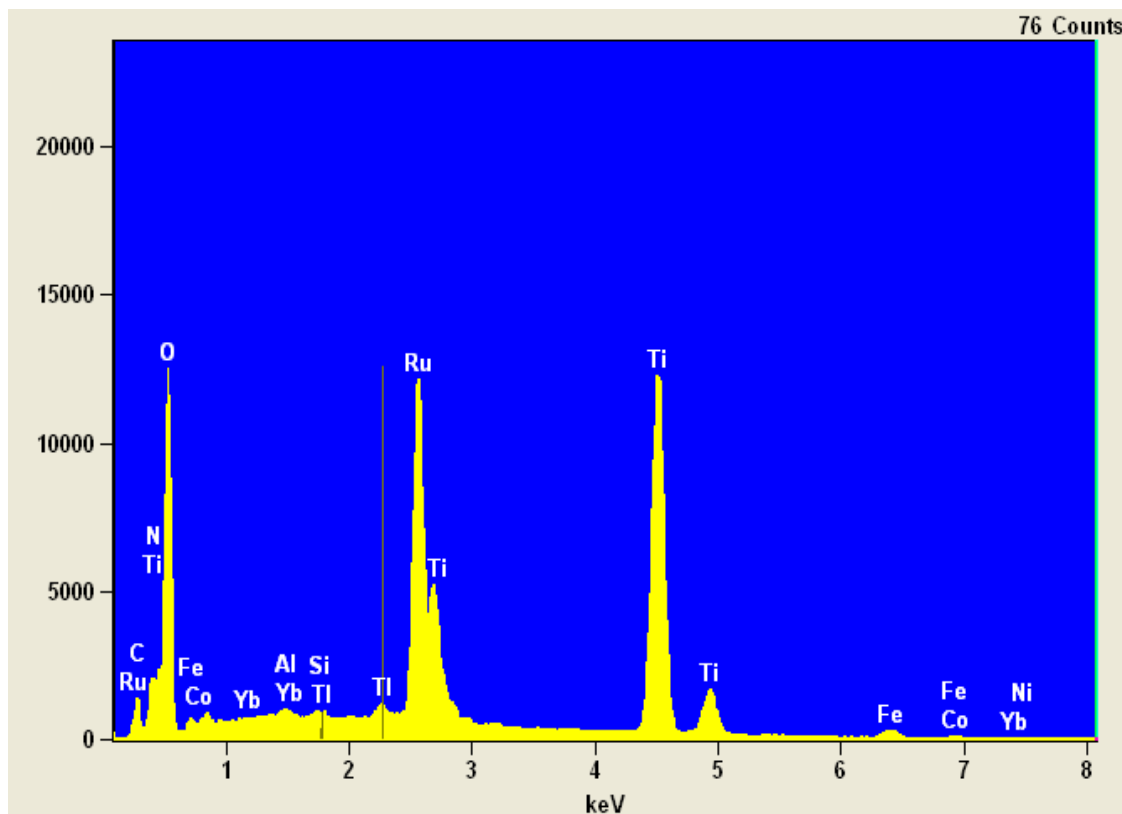


FIGURA 4.9: Análise por EDXS para o substrato DSA.

Uma comparação entre os resultados de EDXS para o substrato sem filme (FIGURA 4.8) e aqueles obtidos para o filme de 15 camadas (FIGURA 4.9) mostrou, neste último caso, a presença de picos referente à zircônia, sendo esta mais uma evidência de que os filmes foram obtidos com êxito.

4.2 - CARACTERIZAÇÕES ELETROQUÍMICAS

4.2.1 - POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO

Como mostra a FIGURA 4.10, o potencial de estabilização encontrado para o eletrodo de ZrO_2 modificado com $YZrO_2$ foi de $0,41 \text{ V} \times \text{Ag/AgCl} (3,0 \text{ mol L}^{-1})$. Este valor, convertido para um eletrodo padrão de hidrogênio (EPH) corresponde a $0,188 \text{ V}$.

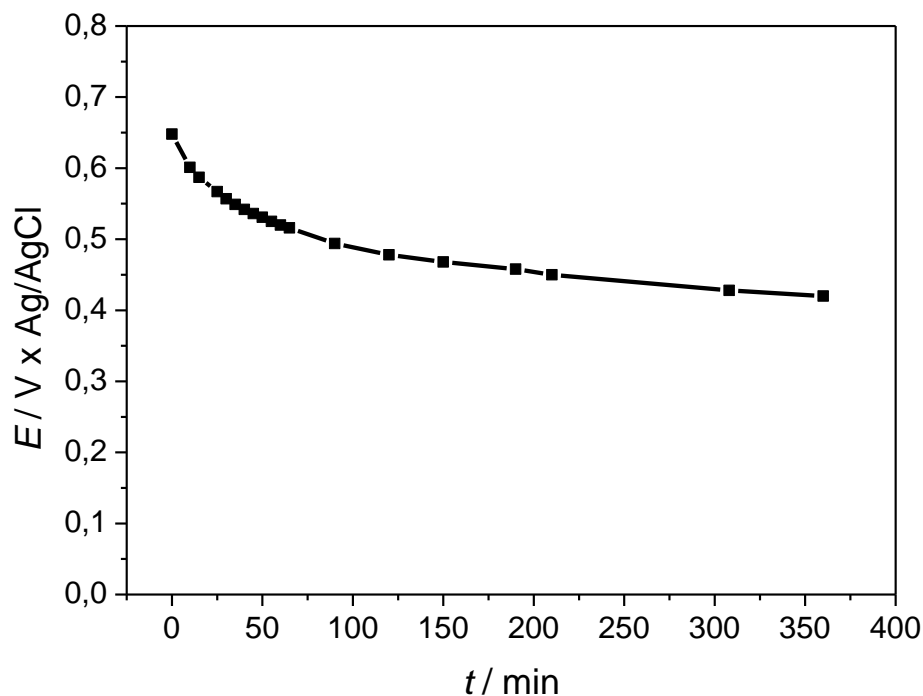


FIGURA 4.10: Medida de potencial de circuito aberto para o filme de $Y_{3\%}Zr_{97\%}O_2$.

O diagrama de Pourbaix para o óxido de Zircônia (FIGURA 4.11), mostra que o potencial de 0,188V x EPH (convertido da FIGURA 4.10) encontra-se dentro do intervalo de estabilidade do ZrO_2 (0–1,2 V x EPH). Este resultado, portanto, é um indicativo da presença de ZrO_2 na superfície do eletrodo sendo este mais um resultado que reforça a tese de que os filmes foram depositados com sucesso.

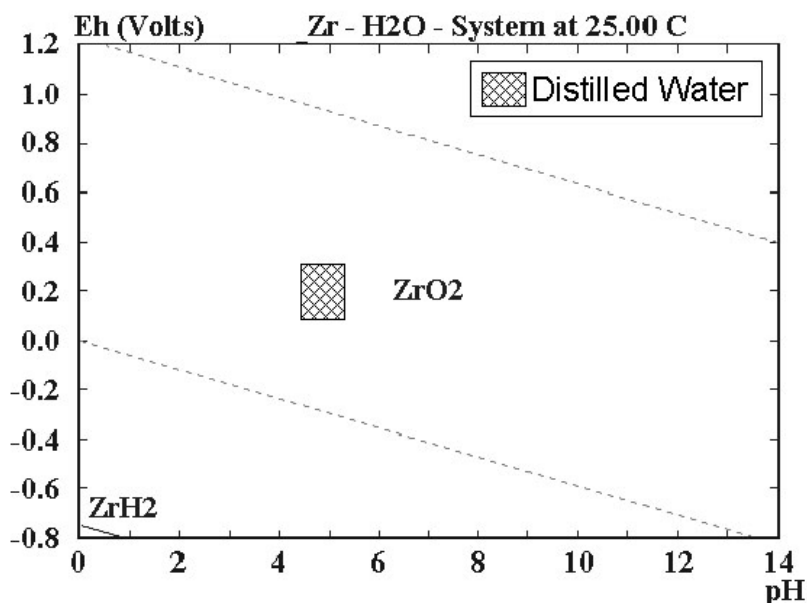


FIGURA 4.11: Diagrama de Pourbaix ilustrando a região de estabilidade de potencial para o óxido de zircônia - ZrO_2 (ZIPPERIAN & RAGHAVAN, 2005).

4.2.2 - VOLTAMETRIA CÍCLICA

O comportamento dos eletrodos de DDB e dos eletrodos de ZrO_2 modificados, foi inicialmente analisado por VC, frente a detecção eletroquímica do neurotransmissor EP e dos interferentes AA e AU.

Primeiro, ambos os eletrodos foram analisados utilizando o eletrólito suporte (PBS) em pH 7,0. Os resultados estão ilustrados nas FIGURAS 4.12 e 4.13, respectivamente, para o eletrodo de DDB e para o eletrodo de ZrO_2 dopado.

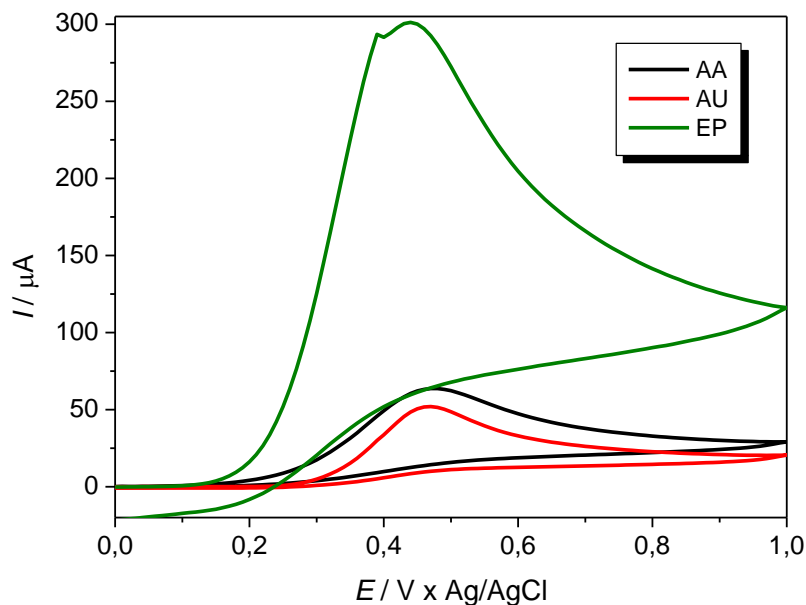


FIGURA 4.12: Voltamogramas cíclicos das soluções AA, AU e EP ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) em PBS pH 7,0 para o eletrodo de DDB (pré-tratamento DDB catódico em H_2SO_4).

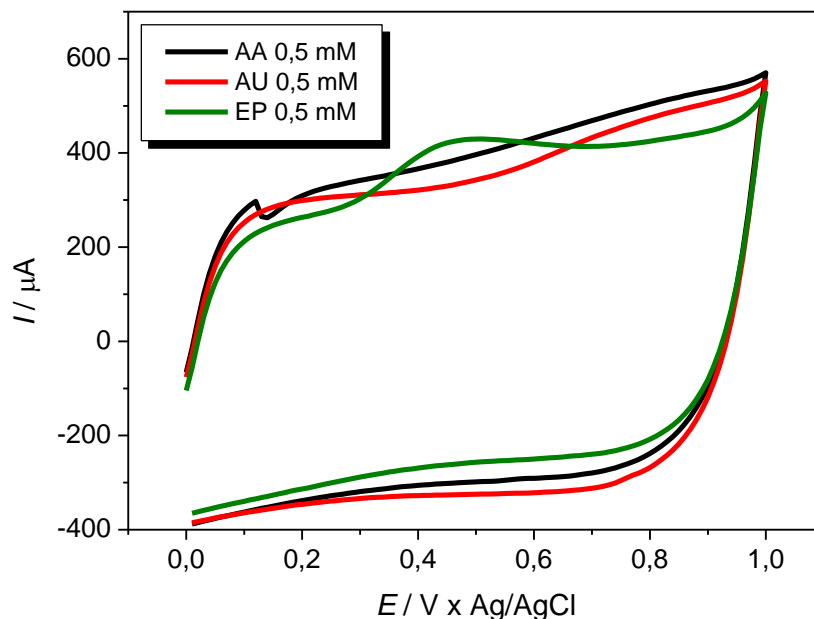


FIGURA 4.13: Voltamogramas cíclicos na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ das soluções AA, AU e EP em PBS pH 7,0 para o eletrodo de ZrO_2 modificado com 15 camadas de $\text{Y}_{3\%}\text{Zr}_{97\%}\text{O}_2$.

Foi possível observar que o eletrodo de DDB apresentou atividade eletroquímica para ambas as substâncias analisadas, sendo que tanto a Epinefrina quanto os interferentes AA e AU se oxidam praticamente no mesmo potencial ($0,43 \text{ V x Ag/AgCl} - 3,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Para o eletrodo de ZrO_2 dopado (FIGURA 4.13), observou-se que apenas a EP apresentou atividade eletroquímica. Este resultado, do ponto de vista analítico é extremamente relevante, principalmente porque o eletrodo de ZrO_2 dopado mostrou-se seletivo apenas à detecção da EP. Em outras palavras, as substâncias interferentes deixam de interferir na detecção da substância neurotransmissora de interesse utilizando-se este material de eletrodo.

O fato das três substâncias analisadas (EP, AA e AU) se oxidarem em potenciais praticamente idênticos em PBS-pH 7 utilizando o eletrodo de DDB, impossibilitou a detecção dessas substâncias de forma simultânea no pH analisado.

Com a tentativa de obtenção de uma boa separação de picos para o eletrodo de DDB, um estudo utilizando as mesmas condições anteriores e com outros pré-tratamentos para o eletrodo de DDB foi efetuado.

Três diferentes pré-tratamentos, além do pré-tratamento catódico inicialmente testado, foram feitos: Anódico com H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), catódico com KOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) utilizando uma densidade de corrente de 3 mA cm^{-2} e catódico com

KOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) utilizando uma densidade de corrente de 100 mA cm^{-2} . Os pré-tratamentos realizados em KOH foram efetuados conforme MEDEIROS et al., 2012.

Os resultados obtidos para cada pré-tratamento utilizado são apresentados na FIGURA 4.14.

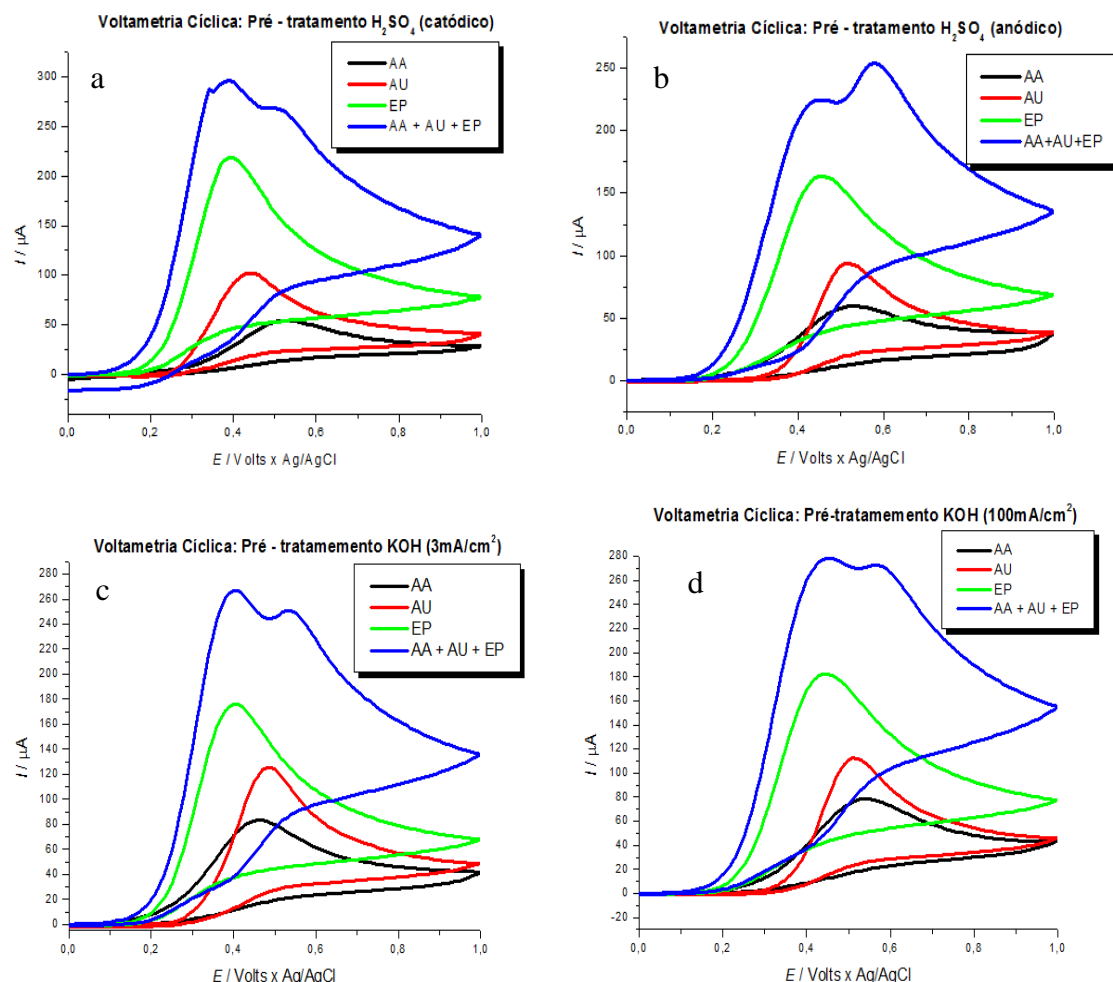


FIGURA 4.14: Pré-tratamentos efetuados com o eletrodo DDB: a) catódico em H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$); b) anódico em H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$); c) Catódico em KOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com densidade de corrente de 3 mA cm^{-2} d) Catódico em KOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com densidade de corrente de 100 mA cm^{-2} .

Conforme pode ser observado na FIGURA 4.14, nenhum dos pré-tratamentos analisados apresentou um resultado melhor do que o obtido com o DDB pré tratado catodicamente em H_2SO_4 .

Com base neste resultado, um segundo estudo utilizando pré-tratamento catódico em H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) para o eletrodo DDB e eletrólito suporte em diferentes pHs, foi efetuado com a mesma intenção anterior, ou seja, visando a obtenção de uma

boa separação dos picos de oxidação das substâncias em estudo, de forma a tornar possível a detecção simultânea dessas substâncias. Os resultados obtidos por meio deste estudo são mostrados na TABELA 4.1.

TABELA 4.1: Relação corrente de pico e potencial de pico para as soluções AA, AU e EP em diferentes pHs e utilizando o eletrodo de DDB.

pH	Substância	Ip (μA)	Ep (V)
4,0	AA	51,4	0,55
	AU	69,9	0,54
	EP	56,3	0,77
5,0	AA	52,4	0,42
	AU	60,8	0,46
	EP	47,0	0,72
6,0	AA	65,5	0,43
	AU	69,9	0,41
	EP	106,8	0,47
8,0	AA	33,6	0,35
	AU	19,8	0,17
	EP	102,8	0,33
9,0	AA	10,6	0,31
	AU	48,9	0,14
	EP	102,5	0,32
10	AA	13,9	0,26
	AU	46,0	0,15
	EP	38,4	0,27

Do ponto de vista da sensibilidade (maior sinal de corrente, ou seja, Ip) o melhor resultado foi obtido em pH 6, onde obteve-se uma corrente de pico de 106,8 μ A para EP, 65,5 μ A para AA e 69,9 μ A para AU. No entanto, do ponto de vista da seletividade, ou seja, quanto à separação de picos (Ep), não obteve-se uma boa separação de picos neste pH de modo a tornar possível a detecção simultânea das substâncias em estudo.

Os melhores resultados do ponto de vista da seletividade foram obtidos em pH 4 e pH 5, onde não foi possível uma boa separação de pico entre os três analitos analisados mas sim entre dois deles (AA e EP ou AU e EP), possibilitando, assim, a análise simultânea apenas de AA + EP ou então de AU + EP mas não de AA + AU + EP.

Com base neste resultado, soluções contendo AA + EP e AU + EP foram analisadas utilizando VC, tanto em pH 4 quanto em pH 5, com a tentativa de reproduzir os resultados apresentados na tabela acima. As FIGURAS 4.15 e 4.16 ilustram os resultados obtidos respectivamente em pH 4 e 5.

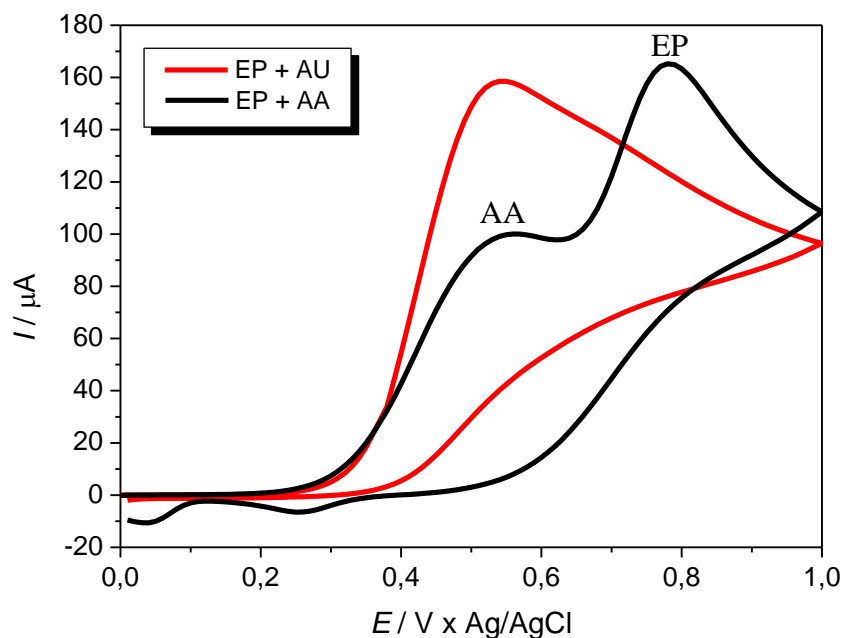


FIGURA 4.15: Voltamogramas cíclicos para a solução de EP + AA ou EP + AU na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizando o eletrodo DDB em PBS pH 4.

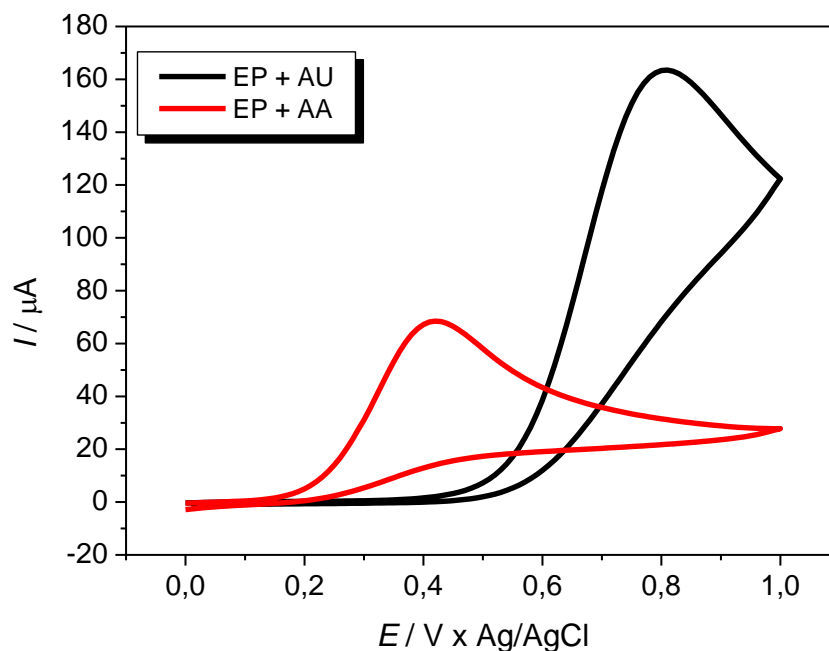


FIGURA 4.16: Voltamogramas cíclicos para a solução de EP + AA ou EP + AU $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ utilizando o eletrodo DDB em PBS pH 5.

Ao analisar a solução EP + AU em pH 4 e EP + AU ou EP + AA em pH 5, os resultados não foram reproduzidos como o esperado, uma vez que não obteve-se nenhuma separação entre os picos das substâncias analisadas. Portanto, para a solução EP + AA analisada em pH 4 uma boa separação de pico (da ordem de $\sim 300 \text{ mV}$) foi observada, sendo o potencial de oxidação do AA em 500 mV x Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e o potencial de oxidação da EP em 800 mV x Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Com base nos resultados obtidos por VC foi possível observar que o eletrodo de DDB apresentou boa atividade eletroquímica para as três substâncias analisadas sendo que a única condição possível de análise simultânea encontrada foi para detecção simultânea de AA e EP utilizando PBS pH 4. Já o eletrodo de ZrO_2 , como explicitado anteriormente, foi seletivo à EP, ou seja, apresentou boa atividade eletroquímica apenas para a EP. Este resultado é de grande relevância para o trabalho devido a sua grande importância do ponto de vista analítico já que AA e AU deixam de interferir na detecção do neurotransmissor estudado (EP) ao se utilizar o material de eletrodo proposto (ZrO_2 modificado).

A partir desses resultados, ambos os eletrodos foram analisados utilizando-se a técnica de VPD para a validação do método. Para o eletrodo DDB analisou-se a mistura EP + AA em PBS pH 4 enquanto que para o eletrodo de ZrO_2 dopado analisou-se a mistura EP + AA em PBS pH 7.

4.2.3-VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

Utilizou-se a VPD ao invés da VC para validação dos métodos devido a melhor sensibilidade oferecida pela técnica. Esta sensibilidade melhorada deve-se ao fato de que a corrente coletada na VPD, a qual é usada na construção do gráfico $E \times I$, ser decorrente apenas da corrente faradaica, ou seja, a programação para a medição da corrente é feita de tal maneira que a corrente capacitiva (corrente referente ao carregamento da dupla camada elétrica) seja descontada da corrente faradaica (corrente referente aos processos de oxirredução), o que não é possível na VC.

A FIGURA 4.17a e 4.17b mostra os resultados obtidos por VPD para o eletrodo DDB e para o eletrodo de ZrO_2 dopado, respectivamente.

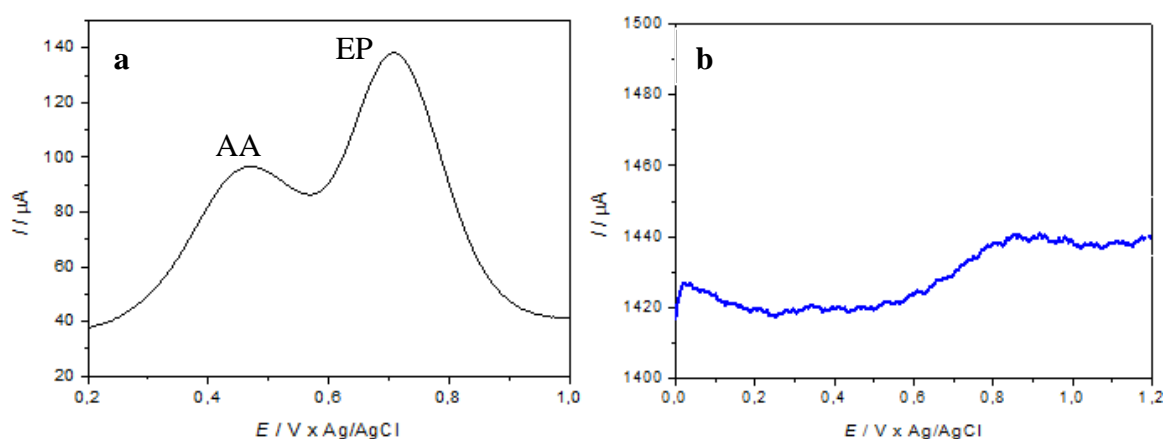


FIGURA 4.17: Resultados VPD: a) EP + AA na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em PBS pH 4 utilizando eletrodo de DDB e b) EP + AA na concentração de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em PBS pH 7 utilizando eletrodo ZrO_2 dopado.

Para o eletrodo de DDB (FIGURA 4.17a), obteve-se uma boa separação de picos entre EP e AA (da ordem de aproximadamente 200 mV) e um considerável sinal de corrente (da ordem de $60 \mu A$ para a EP). Sendo assim, utilizando-se a técnica de VPD, inicialmente foi construída uma curva analítica para a mistura EP + AA e, posteriormente, para cada um dos analitos individuais e o limite de detecção e quantificação foi determinada em cada caso.

Os analitos estudados foram analisados individualmente para comparação dos limites de detecção obtidos. Isso foi realizado com o objetivo de determinar o quanto a presença de um dos analitos interfere na detecção do outro já que apesar da boa separação de pico obtida, a presença de um não deixa de interferir na detecção do outro,

uma vez que não deixa de existir certa sobreposição (embora muito pequena) dos picos de oxidação (pico de oxidação do AA com o pico de oxidação da EP), como pode ser observado na FIGURA 4.17a.

Considerando-se o eletrodo de ZrO_2 dopado, apesar dele ter apresentado atividade eletroquímica para a oxidação da EP (FIGURA 4.17b), o sinal de corrente obtido foi muito baixo (aproximadamente $10 \mu A$, ou seja, um sinal 6 vezes menor que aquele apresentado para o eletrodo de DDB). Sendo assim, como este material de eletrodo mostrou-se seletivo a detecção de EP, não apresentando atividade eletroquímica para os interferentes (AA e AU), ele foi utilizado para a validação do método por análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção amperométrica.

4.2.3.1- VALIDAÇÃO DO MÉTODO UTILIZANDO VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL PARA O ELETRODO DE DDB

As curvas analíticas para as soluções EP + AA, EP e AA (FIGURA 4.18, FIGURA 4.19 e FIGURA 4.20, respectivamente) foram determinadas no intervalo de concentração de $5,0 \mu mol L^{-1}$ a $50 \mu mol L^{-1}$.

Para ambos os casos obteve-se uma excelente linearidade no intervalo de concentração investigado. Para a mistura EP + AA os coeficiente de correlação (R) obtidos, foram de 0,999 para AA e 0,999 para EP (FIGURA 4.18). Para a solução EP obteve-se um coeficiente de correlação de 0,998 (FIGURA 4.19) e para a solução AA um coeficiente de correlação de 0,999 foi obtido (FIGURA 4.20).

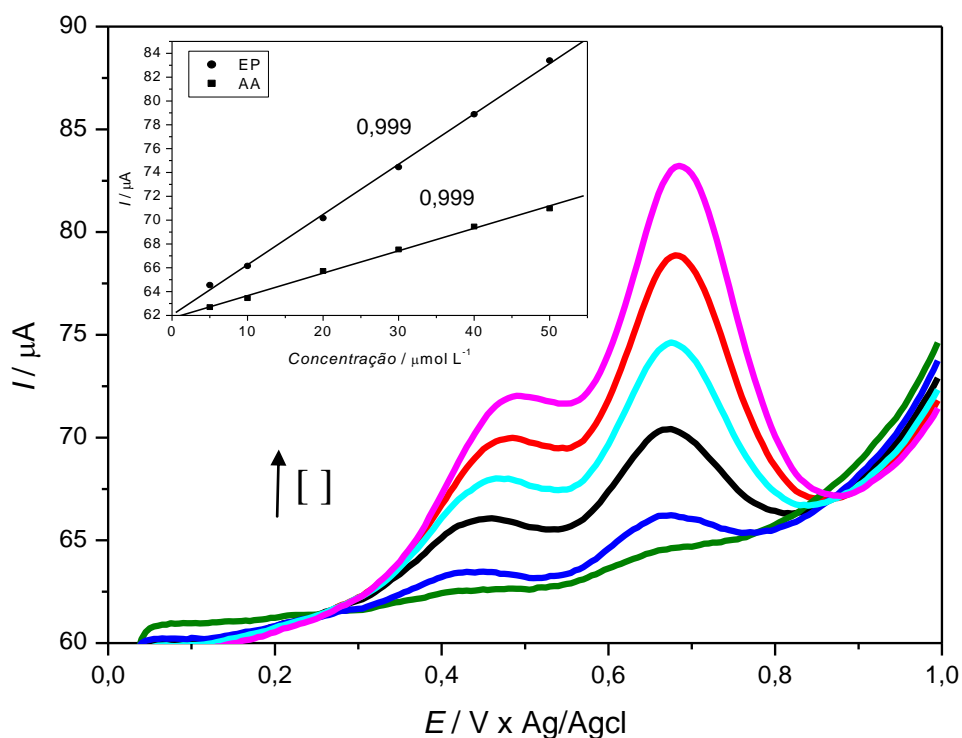


FIGURA 4.18: VPD e Curva analítica (figura inserida) para a mistura EP + AA construída para o intervalo de concentração de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e utilizando o eletrodo DDB.

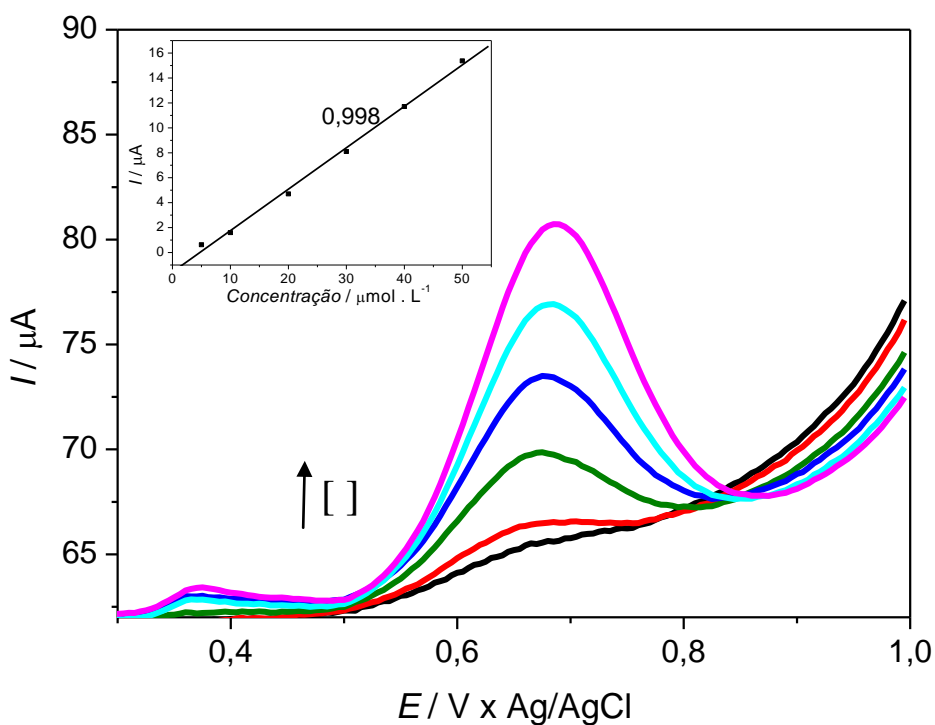


FIGURA 4.19: VPD e Curva analítica (figura inserida) para a solução EP construída para o intervalo de concentração de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e utilizando o eletrodo DDB.

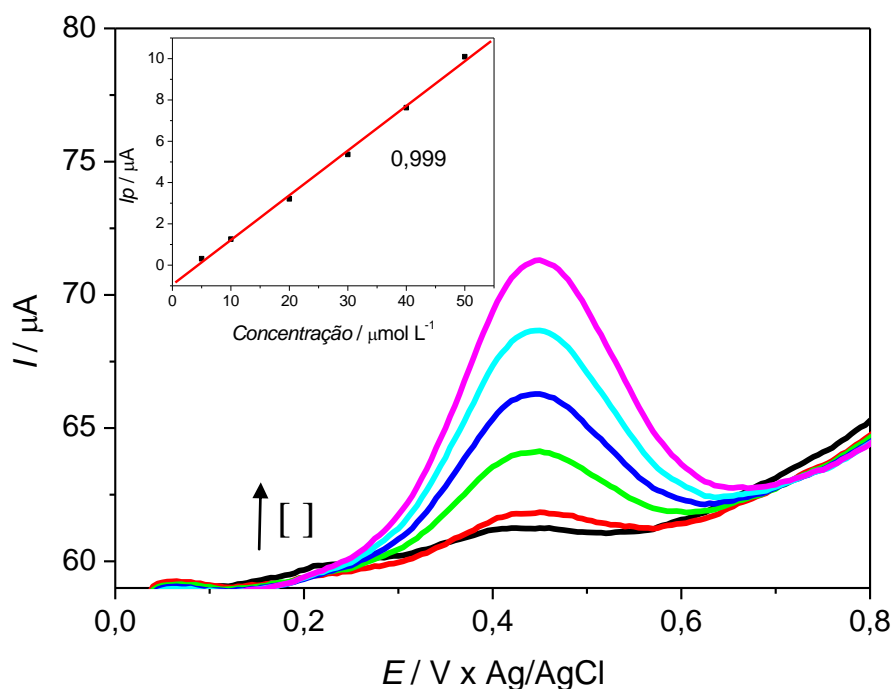


FIGURA 4.20: VPD e Curva analítica (figura inserida) para a solução AA construída para o intervalo de concentração de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e utilizando o eletrodo DDB.

A partir das equações de reta, obtidas por meio de cada curva analítica construída e dos desvios padrão obtidos com base em 10 medidas do branco, foram determinados os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) em cada um dos casos. Os valores encontrados para as soluções EP + AA, EP e AA encontram-se ilustrados nas TABELAS 4.2, 4.3, 4.4, respectivamente.

TABELA 4.2: Limites de Detecção e Quantificação para os analitos AA e EP na mistura EP + AA.

Substância	AA	EP
Desvio padrão	0,10	0,35
Equação da reta	$I_{p/AA} (\mu\text{A}) = 0,18C + 61,78$ ($R = 0,999$) $I_{p/EP} (\mu\text{A}) = 0,42C + 62,03$ ($R = 0,999$)	
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,71	2,50
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,72	8,34

TABELA 4.3: Limites de Detecção e Quantificação para EP quando analisado individualmente.

Desvio padrão	0,60
Equação da reta	$I_p(\mu A) = 0,34C + 63,24$ (R =0,998)
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,04
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	16,79

TABELA 4.4: Limites de Detecção e Quantificação para AA quando analisado individualmente.

Desvio padrão	0,12
Equação da reta	$I_p(\mu A) = 0,22C + 59,63$ (R =0,999)
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,64
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,46

4.2.3.2-VALIDAÇÃO DO MÉTODO UTILIZANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO PARA O ELETRODO DE ZrO_2 DOPADO

Inicialmente foram otimizadas as condições de alça de amostragem, vazão e potencial a serem utilizadas, sendo a melhor condição definida como aquela onde se obteve o melhor sinal de corrente.

a. Alça de amostragem

Alças de amostragem com tamanhos entre 20 cm e 70 cm foram analisadas. A alça de amostragem contém a quantidade de volume de amostra a ser inserida no detector. Quando o tamanho da alça de amostragem é aumentado, aumenta-se a quantidade de amostra que atinge o detector, o que conseqüentemente resulta em um aumento no sinal de corrente que tende a aumentar até um limite máximo e constante devido a limitações por transporte de massa. Os resultados das medidas realizadas com a variável alça de amostragem estão mostrados na FIGURA 4.21.

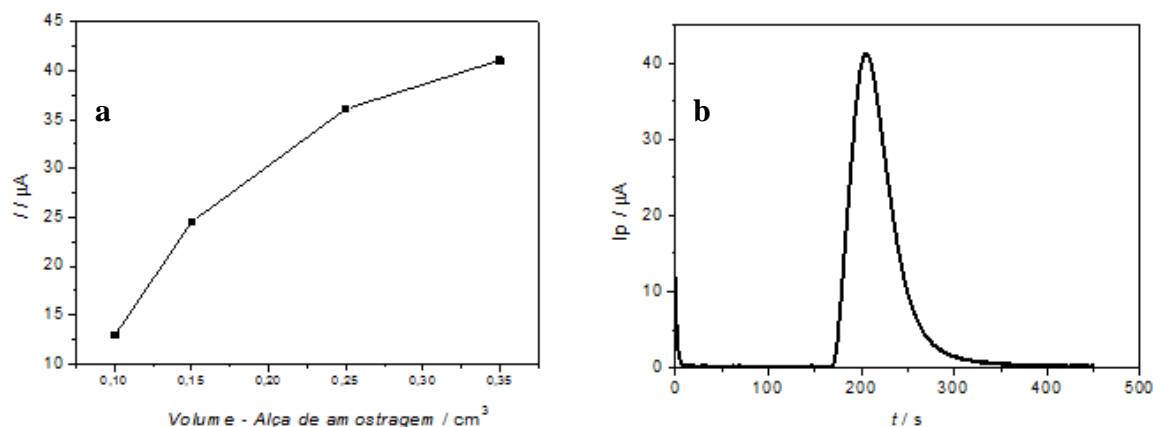


FIGURA 4.21: Otimização da alça de amostragem por FIA: a) Sinais de corrente registrados em função do volume da alça de amostragem e b) Amperograma obtido para a alça de amostragem de 70 cm (350 μL). $[\text{EP}] = 0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $E = 0,5 \text{ V x Ag/AgCl}$ (3 mol L^{-1}).

Com base nestes resultados observou-se que o melhor sinal de corrente foi obtido para a alça de amostragem de 70 cm, a qual corresponde a um volume de amostra de 350 μL . Para efeito de ilustração, apenas o amperograma obtido para este volume de amostra está mostrado na FIGURA 4.21b. Verifica-se, nesta Figura, que o pico apresenta boa resolução e o sinal de corrente encontrado foi de 41,1 μA .

b. Vazão

Para que os processos de oxidação do analito sobre a superfície do eletrodo ocorram é necessário que o analito difunda em direção à superfície do eletrodo, ou seja, o processo de oxidação será tanto mais eficiente quanto maior for o transporte de massa da espécie em direção à superfície do eletrodo. Assim, com o aumento da vazão (ou do transporte de massa), espera-se que ocorra um aumento no sinal de corrente até que se atinja um limite máximo e constante.

Os resultados obtidos das medidas realizadas para otimização da vazão são mostrados na FIGURA 4.22.

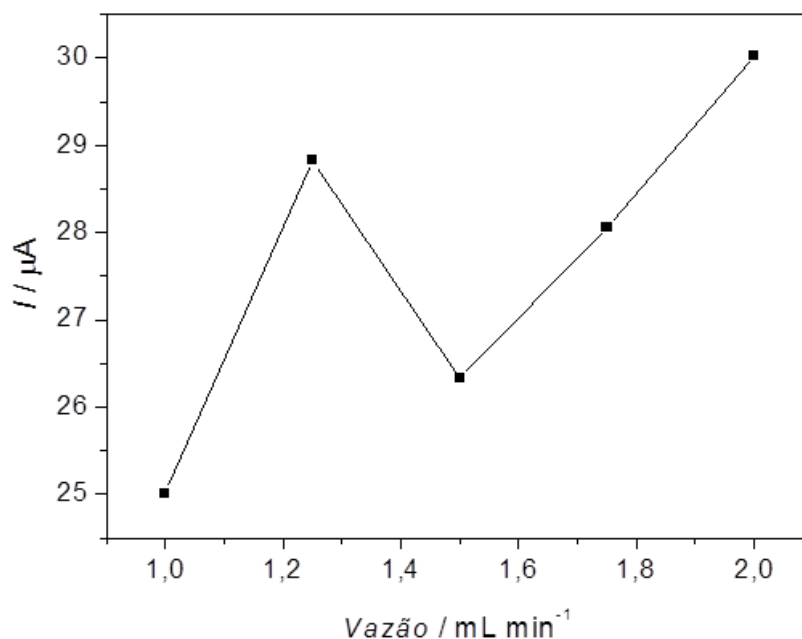


FIGURA 4.22: Sinais de corrente registrados em função da vazão. [EP] = 0,5 mmol L⁻¹, alça de amostragem 70 cm e $E = 0,5 \text{ V x Ag/AgCl (3 mol L}^{-1}\text{)}$.

Com base nos resultados apresentados na FIGURA 4.22, considerou-se que o melhor sinal de corrente foi obtido utilizando-se uma vazão de 2,0 mL min⁻¹.

a. Potencial

A otimização do potencial a ser aplicado no sistema FIA foi realizada por meio de um voltamograma hidrodinâmico.

A partir do voltamograma cíclico verificou-se que a oxidação da EP ocorre no intervalo de potencial de 0,2 V à 0,7 V x Ag/AgCl - 3,0 mol L⁻¹ (ver Figura 31). Desta forma, a escolha dos potenciais aplicados para a obtenção do voltamograma hidrodinâmico foi baseada neste intervalo. O voltamograma hidrodinâmico obtido está ilustrado na FIGURA 4.23.

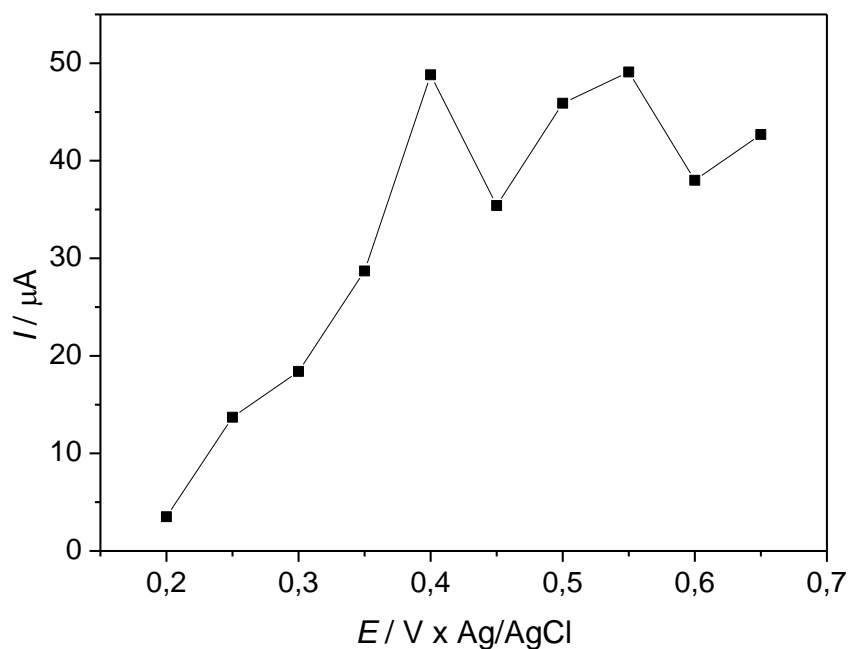


FIGURA 4.23: Voltamograma hidrodinâmico para oxidação de EP. O gráfico mostra o sinal de corrente obtido em diferentes potenciais no intervalo de 0,2 V a 0,7 V x Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Foi possível observar, com base no voltamograma hidrodinâmico acima, que a partir de um potencial aplicado de 0,4 V x Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) o sinal de corrente tende a um patamar, possivelmente devido à limitações por transporte de massa. Como a corrente de pico obtida por meio do voltamograma cíclico ocorreu no potencial de 0,5 V x Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$), este potencial foi utilizado nas análises por FIA.

Após determinado as melhores condições de alça de amostragem, vazão e potencial, determinou-se a reprodutibilidade do método. Para isso 10 medidas consecutivas e utilizando as mesmas condições foram realizadas. O resultado obtido está mostrado na FIGURA 4.24.

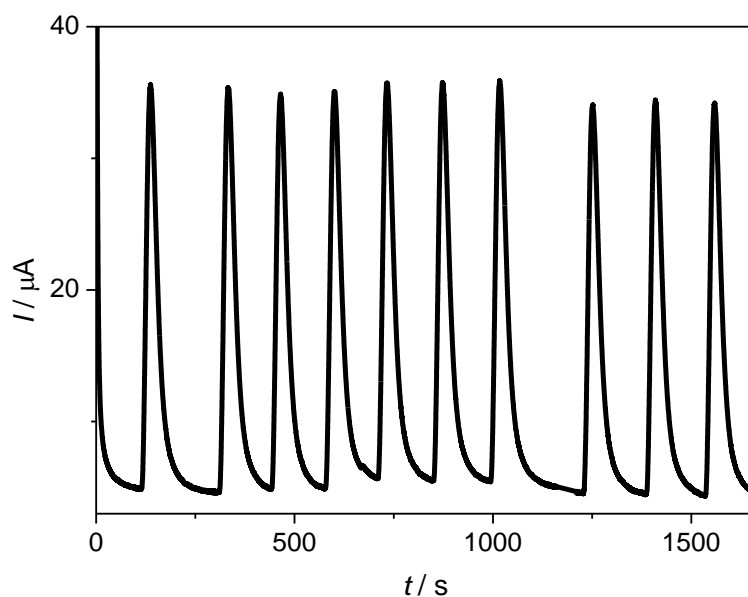


FIGURA 4.24: Amperograma referente a injeções sucessivas de EP ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) para determinação da reprodutibilidade.

Pela medida da altura dos picos mostrados no amperograma acima, foi obtido um valor médio de $30,113 \mu\text{A}$ e um desvio padrão de apenas $0,361 \mu\text{A}$. O erro relativo à medida foi de $1,2 \%$, portanto, a técnica de injeção em fluxo empregada na detecção de EP para o eletrodo ZrO_2 dopado apresentou excelente reprodutibilidade.

O limite de detecção (LD) foi definido como sendo a concentração correspondente ao sinal que é no mínimo 3 vezes maior que o sinal do ruído. O amperograma obtido no qual foi determinado o LD está ilustrado na FIGURA 4.25e seu valor de $1,95 \mu\text{mol L}^{-1}$.

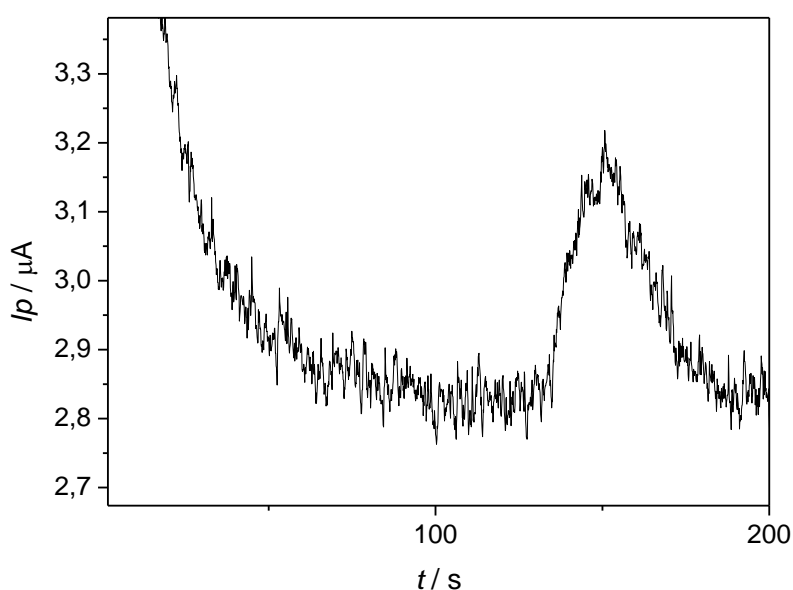


FIGURA 4.25: Amperograma obtido para a concentração de $1,95 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EP, correspondente ao LD.

O limite de quantificação (LQ) foi definido como sendo a menor concentração que pôde ser determinada com boa reprodutibilidade. O LQ obtido foi de $3,90 \mu\text{mol L}^{-1}$ e a FIGURA 4.26 mostra o amperograma obtido para esta concentração.

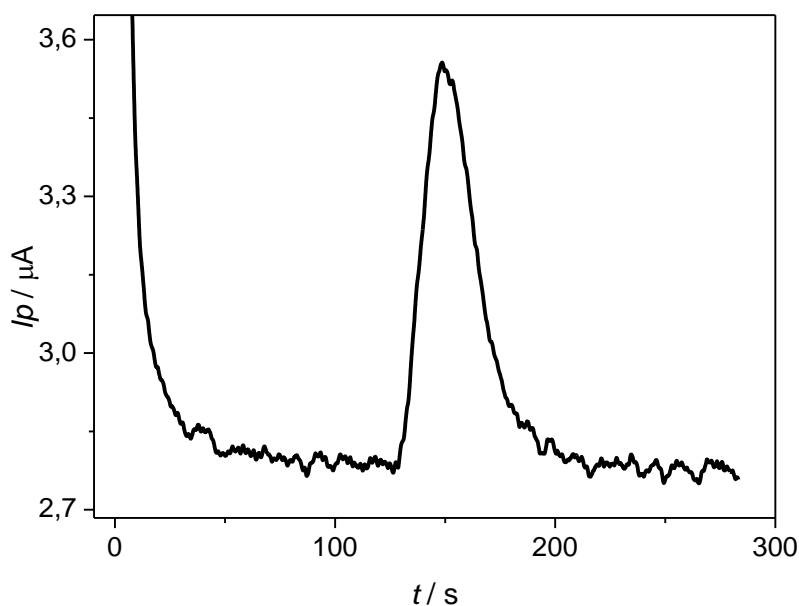


FIGURA 4.26: Amperograma obtido para a concentração de $3,90 \mu\text{mol L}^{-1}$ de EP, correspondente ao LQ.

A FIGURA 4.27 mostra a curva analítica obtida no intervalo de concentração de $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $400 \mu\text{mol L}^{-1}$ para a solução de EP.

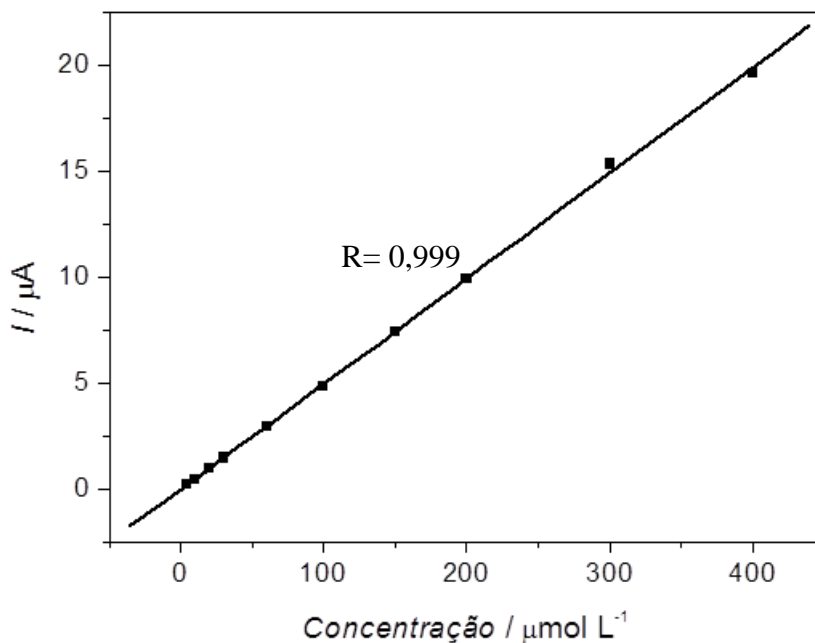


FIGURA 4.27: Curva analítica para EP construída no intervalo de concentração de $4 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($E = 0,5 \text{ V x Ag/AgCl} - 3 \text{ mol L}^{-1}$).

Com base na regressão linear, obteve-se um coeficiente de correlação (0,9999) e, portanto, uma curva com excelente linearidade no intervalo de concentração analisado.

Para a determinação da precisão e exatidão do método foram realizadas análise em quintuplicata para as concentrações intermediárias (50, 180 e 350 $\mu\text{mol L}^{-1}$). A precisão foi expressa pelo coeficiente de variação ($\pm\%$) e a exatidão expressa como porcentagem de desvio entre as quantidades adicionadas e as quantificadas ($\%$), nas concentrações analisadas. A TABELA 4.5 sumariza os resultados obtidos.

TABELA 4.5: Exatidão (%) e precisão ($\pm\%$) para detecção de EP utilizando FIA.

Concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Exatidão* (%)			
	1° dia	2° dia	3° dia	Média entre Dias
50	92 \pm 1	92 \pm 1	86 \pm 2	90 \pm 1
180	92 \pm 3	93 \pm 3	95 \pm 3	93 \pm 3
350	87 \pm 5	92 \pm 6	96 \pm 4	92 \pm 5

* Média de 5 medidas

Para a concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi obtido um valor experimental médio de concentração recuperada, o qual foi determinado por meio da equação de reta obtida via regressão linear, de 90% e um desvio padrão de $\pm 1\%$, para a concentração de 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi obtido um valor médio de concentração recuperada de 93% e um desvio padrão de $\pm 3\%$ e para a concentração de 350 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi obtido um valor experimental médio de concentração recuperada de 92% e um desvio padrão de $\pm 5\%$. Com base nestes resultados foi possível concluir que para ambos os casos, os valores de concentração recuperada estão dentro das normas de aceitação (precisão e exatidão inferiores à variação de 15% e recuperação acima de 75%).

Uma comparação entre os limites de detecção obtidos, com aqueles encontrados na literatura (TABELA 4.6), mostrou que os limites de detecção obtidos estão relativamente dentro dos valores padrões comumente encontrados na Literatura, principalmente considerando-se as limitações técnicas do potenciostato utilizado neste trabalho no que diz respeito à limitada capacidade no registro de correntes elétricas nestes tipos de medidas.

Tabela 4.6: Limites de Detecção e Quantificação da Literatura para EP utilizando diferentes materiais de eletrodo.

Material de eletrodo	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Substância	Técnica	Referência
Carbono Vítreo (GCE) modificado	0,2	EP + AU + AA	VC	REN, et al. 2006
Pasta de carbono modificada	0,5	EP + AU + AA	VPD	SHAHROKHIA, et al. 2009
PMG/MWCNT/GCE [*]	0,08	EP + AU + AA	VPD	RAOOF, et al. 2013
DDB	2,5	EP + AA	VPD	Este trabalho
ZrO ₂	1,95	EP + AA	FIA	Este trabalho

^{*}Nanotubos de Carbono multicamadas co-imobilizados na superfície de carbono Vítreo.

CAPÍTULO 4: CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram concluir que os materiais de eletrodo utilizados apresentaram boa sensibilidade à detecção eletroquímica de Epinefrina. Contudo, eletrodos de DDB apresentaram boa sensibilidade para detecção de EP na presença de AA enquanto que eletrodos de ZrO_2 além de boa sensibilidade apresentaram seletividade e boa reprodutibilidade para detecção de EP sem interferência de AU e AA.

As análises utilizadas para caracterização física e morfológica mostraram que a técnica de *spin-coating* juntamente com a metodologia utilizada para deposição dos filmes a base de ZrO_2 sobre substrato de DSA permitiu a síntese dos filmes os quais apresentaram boa aderência a superfície ao substrato e homogeneidade.

A metodologia aplicada utilizando VPD para detecção de EP, utilizando eletrodo de DDB, não permitiu a detecção simultânea dos interferentes AA e AU. No entanto, a detecção de EP na presença de AA foi possível quando se utilizou o eletrólito suporte (PBS) em pH 4. O baixo LD obtido neste caso para EP ($2,50 \mu\text{mol L}^{-1}$) demonstrou a boa sensibilidade oferecida pela metodologia desenvolvida.

Além de boa sensibilidade, a metodologia proposta utilizando o eletrodo DDB apresentou simplicidade, já que não houve necessidade de etapas de modificação da superfície do eletrodo de trabalho, apenas uma simples etapa de pré-tratamento catódico foi necessário para tornar a superfície do DDB hidrofílica.

Um resultado de grande relevância para o trabalho foi relacionado ao eletrodo de ZrO_2 , onde a metodologia aplicada mostrou-se eficiente para a determinação de EP tanto na presença quanto na ausência das substâncias interferente uma vez que estas não apresentaram atividade eletroquímica sobre a superfície eletródica. Além da boa sensibilidade oferecida pela metodologia, onde se obteve um LD de $3,95 \mu\text{mol L}^{-1}$, a metodologia desenvolvida ainda apresentou uma ótima reprodutibilidade, linearidade, precisão e exatidão.

CAPÍTULO 5: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASPOUR, A.; NOORI, A. “A cyclodextrin host–guest recognition approach to an electro-chemical sensor for simultaneous quantification of serotonin and dopamine”. *Biosensors and Bioelectronics.*, 26: 4674 - 4680, **2011**.

ALEIXO, L. M.; SOUZA, M.F.B.; GODINHO, O. E. S.; NETO, G. O.; GUSHIKEM, Y. “Development of a chemically modified electrode based on carbon paste and functionalized silica gel for preconcentration and voltammetric determination of mercury(II)”. *Analytica Chimica Acta.*, 271: 143-148, **1993**.

ALWARAPPAN, S.; BUTCHER, K. S. A.; WONG, D.K.Y. “Evaluation of hydrogenated physically small carbon electrodes in resisting fouling during voltammetric detection of dopamine”. *Sensors and Actuators B.*, 128: 299–305, **2007**.

ANDRADE, L. S.; DE MORAES, M. C.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O; CASS, Q. B. “A multidimensional high performance liquid chromatography method coupled with amperometric detection using a boron-doped diamond electrode for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk”. *Analytica Chimica Acta.*, 654: 127-132, **2009**.

ARANTES, T.M.; MAMBRINI, G.P.; STROPPA, D.G.; LEITE, E.R.; LONGO, E.; RAMIREZ, A.J.; CAMARGO, E.R. “Stable colloidal suspensions of nanostructured zirconium oxide synthesized by hydrothermal process”. *Journal of Nanoparticle Research.*, 12: 3105, **2010**.

ARCHANJO, B.S.; SILVEIRA, G.V.; GONCALVES, A.-M.B.; ALVES, D.C.B.; FERLAUTO, A.S.; LACERDA, R.G.; NEVES, B.R.A. “Fabrication of Gas Nanosensors and Microsensors via Local Anodic Oxidation”. *Langmuir.*, 25: 602-605, **2009**.

BARD, J., FAULKNER, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc.: New York, **2001**.

BERLIN, I.J., LAKSHMI, J.S., LEKSHMY, S.S., DANIEL, G.P.; THOMAS, P.V.; JOY, K. “Effect of sol temperature on the structure, morphology, optical and photoluminescence properties of nanocrystalline zirconia thin films”. *Journal of Sol-Gel Science and Technology.*, 58: 669, **2011**.

BIAN, C.; ZENG, Q.; XIONG, H.; ZHANG, X.; WANG, S. “Electrochemistry of norepinephrine on carbon-coated nickel magnetic nanoparticles modified electrode and analytical applications”. *Bioelectrochemistry.*, 79 (1): 1-5, 2010. BLAHA, C. D.; LANE, R. F. “Chemically Modified Electrode for *In Vivo* Monitoring of Brain Catecholamines”. *Brain Research Bulletin.*, 10: 861-864, **1983**.

BOGDANOWICZ, R.; CZUPRYNIAK, J.; GNYBA, M.; RYL, J.; OSSOWSKI, T.; SOBASZEK, M.; SIEDLECKA, E. M.; DAROWICKI, K. “Amperometric sensing of chemical oxygen demand at glassy carbon and silicon electrodes modified with boron-doped diamond”. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 189: 30-36, **2013**.

- BRITO, SILVIO L. M. Síntese Caracterização e Modificação Superficial de Nanopartículas de Titanato de Bário Produzidas pelo Método Pechini. São Paulo, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais - Universidade de São Paulo, 2009. Tese de Doutorado, 136p.
- CHAN, H. Y.; ASLAM, D. M.; WILER, J. A.; CASEY, B. “A Novel Diamond Microprobe for Neuro-Chemical and -Electrical Recording in Neural Prosthesis”. *Journal of Microelectromechanical Systems.*, 18 (3): 511-521, **2009**.
- CHEN, Y.; LUNSFORD, S.; DIONYSIOU, D. D. “Characterization and electrochemical response of sonogel carbon electrode modified with nanostructured zirconium dioxide film”. *Sensors and Actuators B.*, 137: 291–296, **2009**.
- CHEN, Y.; LUNSFORD, S. K.; SONG, Y.; JUB, H.; FALARAS, P.; LIKODIMOS, V.; KONTOS, A.; DIONYSIOU, D. D. “Synthesis, characterization and electrochemical properties of mesoporous zirconia nanomaterials prepared by self-assembling sol–gel method with Tween 20 as a template”. *Chemical Engineering Journal.*, 170: 518–524, **2011**.
- CHIBIROVA, F. K.; AVETISOV, A. K.; KAZAKOV, S. A.; OBVINTSEVA, L. A.; STROBKOVA, M. V. “Semiconductor sensors application for definition of factor of ozone heterogeneous destruction on Teflon surface”. *Sensors.*, 3: 504-508, **2003**.
- CINGOLANI, H. E.; ROUSSAY, A. B; *Fisiologia Humana de Roussay*, 7.ed., Artmed.: Porto Alegre, **2004**.
- DUAN, S.; ZHANG, X.; XU, S.; ZHOU C. “Simultaneous determination of aminophenol isomers based on functionalized SBA-15 mesoporous silica modified carbon paste electrode”. *Electrochimica Acta.*, 88: 885–891, **2013**.
- ENSAFI, A. A.; TAEI, M.; KHAYAMIAN. “A differential pulse voltammetric method for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using poly (3-(5-chloro-2- hydroxyphenylazo)-4,5-dihydroxynaphthalene-2,7-disulfonic acid) film modified glassy carbon electrode”. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 633: 212–220, **2009**.
- FERREIRA, NILSON S. Morfologia e Propriedades Estruturais de Nanopartículas de ZnO Sintetizadas pelo Processo Sol-Gel Proteico. São Cristovão, Universidade Federal de Sergipe, 2010. Dissertação de Mestrado, 51p.
- FORTI, J. C.; OLIVI, P.; ANDRADE, A. R. “Characterisation of DSA[®]-type coatings with nominal composition $Ti/Ru_{0.3}Ti_{(0.7-x)}Sn_xO_2$ prepared via a polymeric precursor”. *Electrochimica Acta.*, 47: 913-920, **2001**.
- FUJISHIMA, A.; EINAGA Y.; RAO, T. N.; Tryk T. A. *Diamond Electrochemical*. Elsevier B. V. 2005. Capítulo 1. p. 1-10 (A).
- FUJISHIMA, A.; EINAGA Y.; RAO, T. N.; Tryk T. A. *Diamond Electrochemical*. Elsevier B. V. 2005. Capítulo 2. p. 11-25 (B).

FUJISHIMA, A.; EINAGA Y.; RAO, T. N.; Tryk T. A. *Diamond Electrochemical*. Elsevier B. V. 2005. Capítulo 3.p. 26-50 (C).

GAO, Q.; WANG, W.; MA, Y.; YANG, X.; “Electrooxidative polymerization of phenothiazine derivatives on screen-printed carbon electrode and its application to determine NADH in flow injection analysis system”. *Talanta.*, 62(3): 477–482, **2004**.

GIMENES, D. T.; Desenvolvimento de metodologias analíticas usando FIA com detecção amperométrica: análise de dopamina, ácido ascórbico e ácido úrico. Uberlândia, UFU, 2009. Dissertação de Mestrado, 82p.

GONÇALVES, R. F. Obtenção de nanocompósitos de zircônia (ZrO₂) encapsulada com alumina (Al₂O₃). São Carlos, UFSCar, 2009. Tese de Doutorado, 129p.

HUANG, C.-W.; LU, M. S. C. “Electrochemical Detection of the Neurotransmitter Dopamine by Nanoimprinted Interdigitated Electrodes and a CMOS Circuit With Enhanced Collection Efficiency IEEE”. *Sensors Journal.*, 11: 1826-1831, **2011**.

HUÍZAR-FÉLIX, A. M.; HERNÁNDEZ T.; DE LA PARRA, S.; IBARRA, J.; KHARISOV, B. “Sol-gel based Pechini method synthesis and characterization of Sm_{1-x}Ca_xFeO₃ perovskite 0.1 ≤ x ≤ 0.5”. *Powder Technology.*, 229: 290-293, **2012**.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos -DOQ-CGCRE-008. Rev.02. 2007.

JIN, G. P.; LIN, X. Q.; GONG, J. M. “Novel choline and acetylcholine modified glassy carbon electrodes for simultaneous determination of dopamine, serotonin and ascorbic acid”. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 569, 135, **2004**.

KULYS, J.; DRUNGILIENE, A. “Chemically modified electrodes for the determination of sulphydryl compounds”. *Analytica Chimica Acta* ., 243: 287-292, **1991**.

LANDA, A., SOEDERLIND, P., TURCHI, P.E.A., VITOS, L.; RUBAN, A. “Density-functional study of Zr-based actinide alloys: 2. U-Pu-Zr system”. *Journal of Nuclear Materials.*, 385: 68, **2009**.

LI, P.; GAO, Z.; XU, Y.; WANG, G.; ZHAO, Z. “Determination of trace amounts of silver with a chemically modified carbon paste electrode”. *Analytica Chimica Acta* ., 229: 213-219, **1990**.

LIU, A.; HONMA, I.; ZHOU, H. “Simultaneous voltammetric detection of dopamine and uric acid at their physiological level in the presence of ascorbic acid using poly(acrylic acid) multiwalled carbon-nanotube composite-covered glassy-carbon electrode”. *Biosensors and Bioelectronics.*, 23: 74–80, **2007**.

LU, C.H., RAITANO, J.M., KHALID, S., KHALID, S.; ZHANG, L.H.; CHAN, S.W. “Cubic phase stabilization in nanoparticles of hafnia-zirconia oxides: Particle-size and annealing environment effects”. *Journal of Applied Physics.*, 103:124303-1243037, **2008**.

- MEDEIROS, R. A.; BENCHICK A.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O.; SAIDANI, B.; DEBIEMME-CHOUVY, C ; DESLOUIS, C. “Simultaneous detection of ascorbic acid and dopamine with electrochemically pretreated carbon nitride electrodes: Comparison with boron-doped diamond electrodes”. *Electrochemistry Communications.*, 24: 61–64, **2012**.
- OLIVEIRA, L. S.; BALBINO, M. A.; DE MENEZES, M. M. T.; DOCKAL, E. R.; DE OLIVEIRA, M. F. “Voltammetric analysis of cocaine using platinum and glassy carbon electrodes chemically modified with Uranyl Schiff base films”. *Microchemical Journal.*, 110: 374–378, **2013**.
- ONI, J.; NYOKONG, T. “Simultaneous voltammetric determination of dopamine and serotonin on carbon paste electrodes modified with iron(II) phthalocyanine complexes”. *Analytica Chimica Acta.*, 434: 9-21, **2001**.
- PARK, J.; QUAISEROVÁ-MOCKO, V.; PECKOVÁ, K.; GALLIGAN, J. J.; FINK, G. D.; SWAI, G. M. “Fabrication, characterization and application of a diamond microelectrode for electrochemical measurement of norepinephrine release from the sympathetic nervous system”. *Diamond and Related Materials.*, 15: 761-772, **2006**.
- PECHINI. M. P., U.S.patent 3, 330, 697, **1967**.
- PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. “Tendências em modificações de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas”. *Química Nova.*, 25: 1012-1021, **2002**.
- PERIASAMY, A. P.; UMASANKAR, Y.; CHEN, S. “Nanomaterials - Acetylcholinesteras and EnzymeMatrices for Organophosphorus Pesticides Electrochemical Sensors: A Review”. *Sensors.*, 9: 4034-4055, **2009**.
- PRASAD, K.; PINJARI, D.V.; PANDIT, A.B.; PANDIT, A.B.; MHASKE, S.T. “Synthesis of zirconium dioxide by ultrasound assisted precipitation: Effect of calcination temperature”. *Ultrasonics Sonochemistry.*, 18: 1128-1137, **2011**.
- PUZYREV, I.S.; LIPILIN, A.S.; IVANOV, V.V.; YATLUK, Y.G. “Stabilization of Isopropanol Dispersions of Nanosized Powders of Yttrium Oxide-Stabilized Zirconium”. *Dioxide Colloid Journal.*, 73: 83-89, **2011**.
- QUINTINO, M. S. M. Desenvolvimento de Sensores Eletroquímicos Associados a Batch Injection Analysis para Aplicação Analítica (BIA). São Paulo, Instituto de Química, USP, 2003. Tese de Doutorado, 112 p.
- RAOOF, J. B.; OJANI, R.; BAGHAYERI, M. “Fabrication of layer-by-layer deposited films containing carbon nanotubes and poly(malachite green) as a sensor for simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid”. *Turkish Journal of Chemistry.*, 37: 36-50, **2013**.
- REN, W.; LUO, H. Q.; LI, N. B.; “Simultaneous voltammetric measurement of ascorbic acid, epinephrine and uric acid at a glassy carbon electrode modified with caffeic acid”. *Biosensors and Bioelectronics.*, 21: 1086-1092, **2006**.

RIBEIRO, J. A. O. Caracterização e Otimização de Sensores Eletroquímicos para Aminas Biogénicas. Porto, Departamento de Química e Bioquímica, FCUP, 2013. Tese de Doutorado, 221 p.

ROCHA, J. R. C. Eletrodos Modificados com Óxido de Tungstênio: Métodos de Preparação e Aplicações Analíticas. São Paulo, Instituto de Química, USP, 2006. Tese de Doutorado, 125p.

ROUSHANI, M.; KARAMI, E.; SALIMI, A.; SAHRAEI, R. “Amperometric detection of hydrogen peroxide at nano-ruthenium oxide/riboflavin nanocomposite-modified glassy carbon electrodes”. *Electrochimica Acta.*, 113: 134-140, **2013**.

SAFAVI, A.; MALEKI, N.; MORADLOU, O.; TAJABADI, F. “Simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid, and uric acid using carbon ionic liquid electrode”. *Analytical Biochemistry.*, 359: 224–229, **2006**.

SALIMI, A.; MAMKHEZRI, H.; HALLAJ, R. “Simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid and neurotransmitters with a carbon ceramic electrode prepared by sol–gel technique”. *Talanta.*, 70: 823–832, **2006**.

SANTOS, V. Preparação e Caracterização de Nanopartículas de Platina incorporadas ao Polímero de Cloreto de 3-n-propilpiridíneo silsesquioxano. Ponta Grossa, Programa de Pós Graduação em Química Aplicada, Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2009. Dissertação de mestrado, 121p.

SHAHROKHIAN, S.; GHALKHANIA, M.; AMINIC, M. K. “Application of carbon-paste electrode modified with iron phthalocyanine for voltammetric determination of epinephrine in the presence of ascorbic acid and uric acid”. *Sensors and Actuators B.*, 137: 669–675, **2009**.

SHAHROKHIAN, S.; KHAFAJI, M. “Application of pyrolytic graphite modified with nano-diamond/graphite film for simultaneous voltammetric determination of epinephrine and uric acid in the presence of ascorbic acid”. *Electrochimica Acta.*, 55: 9090-9096, **2010**.

SHANKARAN, R.D.; UEHARA, N.; KATO, T. “Sol-gel derived metal dispersed ceramic-graphite composite electrode for amperometric determination of dopamine”. *Analytica Chimica Acta.*, 478, 321-327, **2003**.

SKOOG; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Fundamentos de química analítica. 8ed.*, Cengage Learning.: São Paulo, **2010**.

SOUZA, M.F.B. “Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem”. *Química Nova.*, 20: 191-195, **1997**.

SOUZA, S C. Estrutura e Fotoluminescência do Sistema $\text{SrSnO}_3:\text{Nd}^{3+}$. João Pessoa, Centro de Ciências exatas e da Natureza, Departamento de Química. Universidade Federal da Paraíba, 2009. Tese de Doutorado, 148p.

SZCZESZAK, A.; KUBASIEWICZ, K.; LIS, S. "Photophysical characterization of $\text{La}_{1-x}\text{Eu}_x\text{BO}_3$ and $\text{La}_{1-x}\text{Tb}_x\text{BO}_3$ nanopowders synthesized by sol-gel Pechini method". *Optical Materials.*, 35: 1297-1303, **2013**.

TRASATTI, S. "Electrocatalysis: understanding the success of DSA[®]". *Electrochimica Acta.*, 45: 2377-2385, **2000**.

TRYK, D. A.; TACHIBANA H.; INOUE, H.; FUJISHIMA, A. "Boron-doped diamond electrodes: The role of surface termination in the oxidation of dopamine and ascorbic acid". *Diamond & Related Materials.*, 16: 881-887, **2007**.

UDAGAWA, Y.; YAMAGUCHI, M.; TSURU, T.; ABE, H.; SEKIMURA, N. "Effect of Sn and Nb on generalized stacking fault energy surfaces in zirconium and gamma hydride habit planes". *Philosophical Magazine.*, 91: 1665, **2011**.

WIECK, H. J.; HEIDER, G. H.; YACYNYCH A. M. "Chemically modified reticulated vitreous carbon electrode with immobilized enzyme as a detector in flow-injection determination of glucose". *Analytica Chimica Acta.*, 158: 137-141, **1984**.

WILEY, J. A. *Analytical Electrochemistry*. 2ed., Joseph Wang Copyright.: New York, **2001**.

WU, Y.; FENG, X.; ZHOU, S.; SHI, H.; WU, H.; ZHAO, S.; SONG, W. "Sensing epinephrine with an ITO electrode modified with an imprinted chitosan film containing multi-walled carbon nanotubes and a polymerized ionic liquid". *Microchimica Acta*, 180: 1325-1332, **2013**.

ZAVARISE, F.; MERLI, D.; PROFUMO, A. "Determination of Pb^{2+} in natural waters with 2-mercaptobenzimidazole-5-sulfonate (MBIS) chemically modified gold electrode". *Analytica Chimica Acta.*, 668: 177-181, **2009**.

ZEN, J. M.; CHEN, I. L.; SHIH, Y. "Voltammetric determination of serotonin in human blood using a chemically modified electrode". *Analytica Chimica Acta.*, 369: 103-108, **1998**.

ZIPPERIAN, D. C.; RAGHAVAN, S. "GMR and TMR Corrosion Issues and Solutions for Magnetic Read-Write Devices". *Insight.*, 2005.

ZHU, S.; LI, H.; NIU, W.; XU, G. "Simultaneous electrochemical determination of uric acid, dopamine, and ascorbic acid at single-walled carbon nanohorn modified glassy carbon electrode". *Biosensors and Bioelectronics.*, 25: 940-943, **2009**.

ZOSKI, C. Handbook of Electrochemistry. *Elsevier B.V.*, 2007. Capítulo 8. p. 295.

ZOU, L.; LI, Y.; CAO, S.; YE, B. "Gold nanoparticles/polyaniline Langmuir-Blodgett Film modified glassy carbon electrode as voltammetric sensor for detection of epinephrine and uric acid". *Talanta.*, 117: 333-337, **2013**.