UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

OTHON SOUTO CAMPOS

**Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína
utilizando eletrodo de carbono vítreo**

Versão corrigida da Tese defendida em 05/08/2016

conforme Resolução CoPGr n. 6018.

A cópia original desta tese encontra-se disponível na SPG do IQ-USP.

São Paulo
Data do depósito na SPG
20/05/2016

OTHON SOUTO CAMPOS

**Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína
utilizando eletrodo de carbono vítreo**

Tese apresentada ao Instituto
de Química da Universidade
de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em
Ciências.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Sílvia
Helena Pires Serrano

São Paulo
2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho,
por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e
pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Campos, Othon Souto
C198e Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína utilizando eletrodo
de carbono vítreo / Othon Souto Campos. -- São Paulo, 2016.
150p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de
São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Serrano, Sílvia Helena Pires

1. Eletroquímica 2. Voltametria 3. Reações químicas 4. Cafeína
I. T. II. Serrano, Sílvia Helena Pires, orientador.

541.37 CDD

FOLHA DE APROVAÇÃO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

“Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína utilizando
eletrodo de carbono vítreo”

OTHON SOUTO CAMPOS

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à
obtenção do grau de Doutor em Ciências no Programa de Química.

Aprovado(a) por:

Profa. Dra. Silvia Helena Pires Serrano
(Orientadora e Presidente)

Prof. Dr. Mauro Bertotti
IQ - USP

Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago
IQ - USP

Prof. Dr. Hideko Yamanaka
IQ - UNESP

Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho
UFSCar

SÃO PAULO
05 de agosto de 2016

É inato, no coração do homem, o desejo de vencer-se. Todos [nós] sentimos a mágica fascinação que o gozo da vitória exerce em nossa alma. A própria vida não é mais que uma vitória sobre as condições desfavoráveis do metabolismo e do meio ambiente. A vida é uma reação e é por isso mesmo uma vitória.

Padre Luiz Gonzaga do Monte, luzeiro sacerdotal e científico do RN

RESUMO DO DOUTORADO NA USP EM QUATRO ATOS

Primum: Ao sair o resultado da prova.

Secundum: Durante o período do curso de doutorado.

Tertium: Ao final do doutorado.

Quartus: No dia da defesa.

S. C. D. V. O.

Stat Crux Dum Volvitur Orbis

Dedico este pequeno trabalho aos meus queridos pais Othon Rodrigues Campos e Ruth Maria Carvalho Souto e aos meus irmãos Israel Souto Campos e Leonardo Bezerra Campos (in memoriam).

Dedico também àqueles que duvidaram da minha capacidade em seguir na carreira acadêmica (e até mesmo em ser selecionado doutorando pela USP), ainda que estes, não sem não haver surpresa alguma, cobrissem-me de

grandes elogios, glórias e reconhecimentos (via de regra, exagerados).

Agradeço também aos que me ajudaram nos primeiros dias em São Paulo: ao Prof. Dr. Fabiano Armellini, hoje (com muito mérito) docente da Polytechnique Montréal, Canadá; à Dra. Lidiane da Silva Araújo, colega de sala de aula na disciplina de Química Analítica III em 2008 e que também deu informações importantes sobre a pós-graduação no IQ; finalmente, ao Prof. Dr. Marlon Cavalcante Maynart, pelas indicações de moradia em SP.

Também não posso esquecer do Prof. Dr. Antônio William Oliveira Lima (in memoriam), conspirador desta tese, “primus inter amicae” e principal apoiador nos períodos difíceis desta tese.

Agradeço também ao “cabra” altamente marromeno, sugestivamente qualificado e inoxidável (quer dizer, brilhante!), criado por vó, amufinado e divêis: Tom Batista, caboco que me ajudou nos momentos mais terríveis desta pós-graduação. Só em SP para um fortalezense encontrar um quixeramobinense!

E dedico também àqueles que sempre tiveram, sinceramente, alguma esperança e confiança em minha pessoa.

A todos vocês, dedico esta tese.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus Altíssimo e Onipotente. “Todavia, o homem, partícula de tua criação, deseja louvar-Te. Tu mesmo que incitas ao deleite no Teu louvor, porque nos fizeste para Ti, e nosso coração está inquieto enquanto não encontrar em Ti descanso” (Santo Agostinho de Hipona, Confissões).

*Aos bons professores do IQ-USP, que mesmo sabendo das minhas misérias intelectuais e pessoais souberam olhar além do óbvio, em particular os profs. Tibor Rabóczkay e, *at last but not the least*, Sílvia Helena Pires Serrano. Esta, minha orientadora, mesmo ainda com tantas brigas e confusões teve*

paciência e estômago para me suportar até o fim, além de estender a mão no momento em que mais necessitei. “Perdoe-me quando erre, sem querer errar”.

Não posso deixar de agradecer também o Prof. Dr. Thiago Regis Longo Cesar da Paixão por ceder a utilização do equipamento de espectroscopia de impedância eletroquímica, além do apoio dos colegas do L₂ESQ, particularmente dos doutorandos Thiago Selva (Tarzan), José Ricardo Silva (Zé Lindo) e da mestranda Vanessa Ataíde (Miss Proletariado).

Aos imorredouros amigos da UFC e do GELCORR que também me deram o apoio tanto em suportar os revezes quanto compartilhar as alegrias deste período. E também não posso esquecer-me do inesquecível Prof. Francisco Belmino Romero, exemplo de profissional, professor e ser humano. Talvez não tivesse sido o melhor aluno das suas aulas, mas certamente o que me foi ensinado não será perdido ou aplicado em vão.

No LABEA, por que não lembrar deles também? Tenho muito mais a agradecer por eles: aos já formados pós-graduandos Dr. Fernando Castro (Caracol), Prof. Dr. Murilo (Kid Mumu), Prof. Dr. Robson Pinho (Robinho), Prof. Dr. Iranaldo e (agora!) Prof. Dr. Rafael Martos (Rafão). A todos os outros que ainda estão atravessando a *via crucis* da formação: Raphael (nanoPotato), Carol, Fernando Bellini (Maylla), Adriana (Dri), Laís (Miss), Ana Tápias (Aninha), Matesa; aos amigos certos das horas incertas: Prof. Dr. Luís Cides (Cidão) e Prof. Dr. Antônio William Oliveira Lima (Dotô Uíliam), Prof. Dr. Rafão e nanoPotato, além das nossas gloriosas trabalhadoras silenciosas do laboratório Maria Cristina (bixxxcoito), Lúcia e Nívia. A todos vocês, o meu mais profundo agradecimento.

Agradeço também ao CNPq (processo 161082/2011-4) pelo duplo auxílio financeiro (pessoal e profissional).

Benedic, ánima mea, Dómino ... [qui] renovábitur ut áquilæ juvéntus tua. (Ps CII)

RESUMO

Campos, O. S. **Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína utilizando eletrodo de carbono vítreo.** 2016. 150 pp. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O comportamento eletroquímico da cafeína (CAF) e moléculas análogas, tais como teobromina (TB), teofilina (TF) e xantina (XA), foi estudado utilizando eletrodo de carbono vítreo. Técnicas como voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD) e onda quadrada (VOQ) e cronoamperometria foram utilizadas para elucidação do mecanismo de oxidação da CAF. Os voltamogramas cíclicos mostraram que todos os compostos estudados apresentaram um único pico irreversível de oxidação na seguinte sequência: $E_{pa(CAF)} 1,50V > E_{pa(TB)} 1,34V > E_{pa(TF)} 1,0 V > E_{pa(XA)} 0,74V$. Os coeficientes angulares das curvas E_p vs pH foram de 20 mV pH^{-1} , 35 mV pH^{-1} , 58 mV pH^{-1} e

59mVpH⁻¹, respectivamente. A oxidação da TF e XA ocorre envolvendo o mesmo número de elétrons (n) e prótons (H⁺), enquanto para a cafeína e teobromina, o número de prótons não é igual ao número de elétrons. Este último, foi calculado utilizando os valores de largura de pico à meia altura de corrente dos voltamogramas de pulso diferencial e, exceto a XA, todos os demais derivados foram oxidados em um processo envolvendo 1 elétron. Para a cafeína, o valor de n, coincidiu com aquele calculado pela equação de Randles-Ševčík para sistemas irreversíveis, usando o coeficiente de difusão, $D_0 = 1,46 \times 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ e coeficiente de transferência de carga, α , de 0,63. No intervalo de $10 \leq v \leq 75 \text{ mVs}^{-1}$, os coeficientes angulares dos gráficos ($E_{pa} - \log v$) para CAF, TB, TF e XA, foram de 26, 34, 21 mV e 22 mV (década de v)⁻¹, que é o indicativo de um processo de oxidação envolvendo a formação de cátion radical. O número de elétrons determinado por cronoamperometria para a CAF e TB foi n=1 e, comopara TF e XA foram n= 2 e 3,0. Voltamogramas cíclicos e de onda quadrada obtidos em meio de DMSO usando terafluoroborato de tetrabutílamônio mostraram no segundo ciclo, o aparecimento de um par redox quase reversível com $E_{1/2}$ de + 0,50 V (*versus* Ag/AgCl), processo atribuído à oxidação do dímero. Para avaliar efeitos de adsorção eletroquímica da CAF na superfície do eletrodo, experimentos de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) e de potencial de circuito aberto (PCO) foram utilizadas para caracterizar a superfície de eletrodos de carbono vítreo polido (**p-ECV**), carbono vítreo previamente tratado em solução tampão BR, pH 4,0 (**BR-ECV**) e carbono vítreo previamente tratado em solução de **CAF (CAF-ECV)**. Os valores de R_{ct} para CAF-ECV foram maiores do que os valores obtidos para o p-ECV, usando solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ como sonda eletroquímica.

Palavras-chave: eletroquímica, voltametria, reações químicas, cafeína.

ABSTRACT

Campos, O. S. **Study of the electrochemical oxidation of caffeine using a glassy carbon electrode**. 2016. 150 p. Ph.D. Thesis – Graduate Program in Chemistry, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The electrochemical behavior of Caffeine (CAF) and similar molecules such as theobromine (TB), theophylline (TF) and xanthine (XA) was studied using glassy carbon electrode. Techniques such as cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV), square wave voltammetry (VOQ) and chronoamperometry were used to elucidate the CAF oxidation mechanism. Cyclic voltammetry showed that all studied compounds had a single irreversible oxidation peak in the following sequence: $E_{pa}(\text{CAF}) 1.50\text{V} > E_{pa}(\text{TB}) 1.34\text{V} > E_{pa}(\text{TF}) 1.0\text{V} > E_{pa}(\text{XA}) 0.74\text{V}$. The angular coefficients of E_p versus pH curves were 20, 35, 58 and 59mV/pH, respectively. Oxidation of TF and X occurs involving the same number of electrons (n) and protons (H⁺), while for caffeine

and theobromine, the number of protons is not equal to the number of electrons. The last one was calculated using the peak width values at half-maximum current obtained from the differential pulse voltammograms and, all other derivatives, except for XA, were oxidized in a process involving one electron. For caffeine, the value of n , coincided with that calculated by the Randles-Sevcik equation for irreversible systems, using the diffusion coefficient $D_0 = 1.46 \times 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ and the charge transfer coefficient, α , of 0.63. In the range of $10 \leq v \leq 75 \text{ mVs}^{-1}$, the slopes of the graphs ($E_p - \log v$) to CAF, TB, TF and XA were 26, 34, 21 and 22 $\text{mV}(v \text{ decade})^{-1}$, which is indicative of an oxidation process involving the formation of radicalar cation. The number of electrons determined by chronoamperometry for CAF and TB oxidation was $n = 1$, but for TF and XA were $n = 2$ and 3.0, respectively. Cyclic and square wave voltammograms obtained in DMSO containing terafluoroborato tetrabutylammonium shown, in the second cycle, a quasi-reversible redox couple almost $E_{1/2} + 0.50 \text{ V}$ (vs. Ag / AgCl), attributed to the oxidation of a caffeine dimer. To evaluate the electrochemical adsorption effect of CAF on the electrode surface, electrochemical impedance spectroscopy experiments (IEE) and open circuit potential (OCP) were used to characterize the surface of polished glassy carbon electrodes (p-ECV), glassy carbon previously treated in BR buffer, pH 4.0, (BR-ECV), and glassy carbon previously treated in CAF solution, pH 4.0, (CAF-ECV). The R_{ct} and OCP values for CAF-ECV were larger than the values obtained for p-ECV solution using $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ as the electrochemical probe.

Keywords: electrochemistry, voltammetry, chemical reactions, caffeine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema da biossíntese da XA a partir da GMP (I) gerando guanosina (II), guanina (III), XA (IV) e ácido úrico (V). Outra rota biosintética utiliza adenosina monofosfato (VI), adenosina (VII), inosina (VIII) e hipoXA (IV) para gerar XA. 27

Figura 2 – Biosíntese da CAF a partir da xantosina (I) gerando 7-metil xantosina (II), 7-metilXA (III), TB (IV) e finalmente CAF (V). SAM: S-adenosil-L-metionina; SAH: S-adenosil-L-homocisteína. 28

Figura 3 – Esquema da síntese orgânica da CAF. Em meio etanólico contendo etanoato de sódio, 1,3-dimetil uréia (I) reage com 2-cianoacetato de etila (II) formando 1,3-dimetil-4-amino-5-nitosouracil (III). Em meio aquoso contendo ácido fórmico em catalisador de carbono-paládio, forma-se 1,3-dimetil-4-amino-5-formaminouracil (IV) para finalmente, na presença de sulfato de dimetila, gerar CAF (V).	29
Figura 4 – Gráfico dos dez maiores consumidores de café do mundo em função do consumo <i>per capita</i> (barra negra) e do número de xícaras de café consumidas por dia (barra vermelha) utilizando dados do site WorldAtlas.com (BERNARD, 2015).	30
Figura 5 – Primeira (A) e segunda (B) etapas do mecanismo de oxidação da CAF proposto por Hansen e Dryhurst.	33
Figura 6 – Mecanismo de oxidação proposto por Spătaru e colaboradores para a xantina e, conseqüentemente, para as outras metilxantinas.	35
Figura 7 – Mecanismo de fotodegradação oxidativa da CAF em função do radical gerado.	37
Figura 8 – Figura sem escala representando sinais senoidais de potencial (—) e resposta de corrente (—) a um determinado valor de ω sobre um potencial CC (—), indicando os respectivos valores de amplitude E_0 e I_0 e o ângulo de fase φ	39
Figura 9 – Projeção voltamétrica segundo a aproximação de Butler-Volmer (A) e ampliação da região pseudo-linear no qual o potencial alternado é aplicado. Havendo uma aplicação de potencial alternado, o sinal resultante é uma corrente também alternada.	40
Figura 10 – Representação sem escalas do diagrama de Nyquist para um circuito RC em paralelo (ou circuito de Randles). No canto superior esquerdo da figura está indicado o sentido de diminuição da frequência. Também estão indicados o vetor impedância a partir da origem do gráfico, além do módulo da impedância $ Z $ e o ângulo de fase φ . Em destaque, o ponto do espectro que apresenta a frequência máxima, $\omega_{máx}$. Z' a parte real do gráfico e Z'' a parte imaginária (SLUYTERS-REHBACH, 1994).	42

Figura 11 – Representação sem escalas dos gráficos de Bode em função de $\log Z $ (sigmiodal) e do ângulo de fase φ (gaussiana) para o espectro da Figura 10.	43
Figura 12 – Razão dos módulos de impedância em função da amplitude aplicada. A curva ① foi determinada a 10 Hz para ferro ativo em meio sulfúrico, enquanto a curva ② representa níquel passivo em meio sulfúrico a 40 Hz.	46
Figura 13 – Circuito de Voigt modificado para aplicação do teste de Kramers-Kroning. Os elementos do circuito possuem as nomenclaturas usuais, enquanto n representa o número de circuitos RC utilizados. Via de regra, n é igual ao número de frequências utilizadas no experimento.	47
Figura 14 – Célula eletroquímica inserida em uma gaiola de Faraday. Dentro dela foi colocada uma estante universal pequena, para manter fixa a célula eletroquímica.	48
Figura 15 – Representação de um sistema RC em série (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), utilizando $C_{dl} = 10^{-6}$ f e $R_u = 100 \Omega$. Fonte: o próprio autor.	50
Figura 16 – Representação de um sistema RC em série (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), utilizando utilizando $C_{dl} = 10^{-6}$ f, $R_u = 100 \Omega$ e $R_{ct} = 1000 \Omega$	51
Figura 17 – Exemplo de dois espectros com mesmo valor de C_{dl} e R_u variando-se os valores de R_{ct} . Os valores máximos de frequência de ambos os espectros são destacados.	52
Figura 18 – Representação de um sistema RC em série contendo o elemento de Warburg W , (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), mostrando a região de relaxação da dupla camada elétrica e transferência de carga (I) e região difusional (II), utilizando $C_{dl} = 10^{-6}$ f, $R_u = 100 \Omega$, $R_{ct} = 1000 \Omega$ e $R_w = 100 \Omega$	54
Figura 19 – Representação de um sistema RC em série (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), utilizando $C_{dl\ 1} = 10^{-6}$ f, $C_{dl\ 2} = 10^{-5}$ f $R_u = 100 \Omega$, $R_{ct\ 1} = 100 \Omega$ e $R_{ct\ 2} = 300 \Omega$. Fonte: o próprio autor.	55
Figura 20 – Voltamograma cíclico obtido em solução de ferricianeto de potássio 1 mmol L^{-1} em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$) em eletrodo de carbono vítreo polido, indicando os potenciais aplicados em espectroscopia de impedância	

eletroquímica (A) e circuito equivalente utilizado para o tratamento dos dados de impedância, a saber: CPE (elemento de fase constante), R_{ct} (resistência à transferência de carga), R_{diff} (resistência à difusão calculado por elemento Warburg) e R_e (resistência do eletrólito) (B)..... 63

Figura 21 – Exemplo de determinação da região linear da curva I versus $(t-t_0)^{-1/2}$ sem escala, destacando-se a região de Cottrell. A região linear destacada é aquela na qual a reação eletroquímica é controlada por difusão, enquanto que a derivação da reta corresponde à região da relaxação da dupla camada elétrica devido à aplicação de potencial no início do experimento. 66

Figura 22 – Voltamogramas cíclicos (A) e gráfico da corrente de pico catódica (I_{pc}) e versus a raiz quadrada da velocidade de varredura (B). Condições experimentais: $E_i = E_f = -0,2$ V; $E_\lambda = 0,6$ V, $10 \leq v \leq 100$ (mV s⁻¹). Solução utilizada: ferrocianeto de potássio 5 mmol L⁻¹ dissolvido em KCl 0,5 mol L⁻¹, pH = 6,0, com polimento entre medidas. Equação da reta ($n = 3$, $E_{pc} = 0,226 \pm 0,002$ V): $-I_{pc} (\mu A) = (1,66 \pm 0,04) \mu A + (233,6 \pm 2,7 \mu A s^{1/2} V^{-1/2}) \times v^{1/2}$ 72

Figura 23 – Moléculas de CAF (A), XA (B), TF (C) e TB (D) geometrizadas na sua conformação de menor energia. Condições experimentais: campo de força *drieding* em hipercampo com explicitação de hidrogênios. 74

Figura 24 – Voltamogramas cíclicos da XA e seus derivados utilizando p-ECV em tampão BR 0,4 mol L⁻¹, pH 4,0. Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,6$ V; $E_\lambda = 1,6$ V; $v = 100$ mV s⁻¹..... 76

Figura 25 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando p-ECV em solução de CAF 0,5 mmol L⁻¹ em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ para vários valores de pH (A) e curva $E_p - pH$ correspondente à oxidação eletroquímica da CAF (B). Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,6$ V; $E_\lambda = 1,6$ V; $v = 100$ mV s⁻¹ com polimento superficial após cada voltamograma. Solução utilizada: tampão BR 0,4 mol L⁻¹ contendo 0,5 mmol L⁻¹ de CAF. 77

Figura 26 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando p-ECV polido em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 8,0 (—) em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 8,0 contendo 0,5 mmol L⁻¹ de CAF (—) e em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 5,0 (—). Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,6$ V; $E_\lambda = 1,6$ V; $v = 100$ mV s⁻¹..... 78

Figura 27 - Relações de densidade de corrente de pico de oxidação da CAF em função do pH para ECV polido. 79

Figura 28 – Curvas E_p – pH utilizando p-ECV para TB (A), TF (B) e XA (C).	81
Figura 29 – Estruturas de ressonância da CAF ($R^1 = -CH_3$) e TB ($R^1 = -H$) (A) e da XA ($R^2 = R^3 = -H$) e TF ($R^2 = R^3 = -CH_3$) (B).	82
Figura 30 – Curvas $\log j_{pa} - \log v$ para CAF (A), TB (B), TF (C) e XA (D), nas mesmas condições descritas nas Figuras 25 (CAF) e 28 (outras xantinas).	83
Figura 31 – Curvas de $E_p \times \log v$ para CAF (A), TB (B), TF (C) e XA (D). Condições experimentais iguais àquelas descritas nas Figuras 25 (CAF) e 28 (outras xantinas).	85
Figura 32 – Estrutura química proposta para o eletrodo de carbono vítreo (A) e modificação do eletrodo pela CAF via radicalar (B).	87
Figura 33 – Voltamogramas de pulso diferencial soluções de tampão BR 0,4 mol L^{-1} contendo 0,5 mmol L^{-1} , pH 4,0. $t_{mod} = 5$ ms; $t_{int} = 1000$ ms; $a = 5$ mV e $v = 5$ mVs $^{-1}$. Em destaque a largura do pico de oxidação à meia-altura de corrente, $w_{1/2}$, parâmetro utilizado para calcular o número de elétrons.	88
Figura 34 – Regiões lineares das curvas cronoamperométricas para CAF (A), TB (B), TF (C) e XA (D) utilizando p-ECV, segundo linearização da equação de Cottrell descrita na Seção 3.3.6., entre 0,26 s $^{-1/2}$ e 0,6 s $^{-1/2}$ Eletrólito de suporte: tampão BR 0,4 mol L^{-1} pH 4,0. Intervalo de concentrações e potenciais aplicados descritos na Tabela 9.	91
Figura 35 – Curvas de Cottrell em função da concentração ($\mu\text{mol}/\text{cm}^3$) para CAF ($\blacktriangledown$), TF ($\blacksquare$), XA ($\blacktriangle$) e TB ($\bullet$), segundo linearização da equação de Cottrell descrita na Seção 3.3.6. utilizando p-ECV (A) e curvas de Cottrell em função da concentração ($\mu\text{mol}/\text{cm}^3$) para XA ($\blacktriangle$) e TB ($\bullet$) (B). Eletrólito de suporte: tampão BR 0,4 mol L^{-1} pH 4,0. Intervalo de concentrações utilizado descrito na Tabela 9. A inserção da figura mostra a curva de Cottrell ampliada para TB.	92
Figura 36 – Proposta de oxidação da TF através da formação de radical, com perda de um próton e de um elétron.	94
Figura 37 – Espectros UV-Vis da CAF em função da concentração entre 190 e 320 nm em tampão BR 0,4 mol L^{-1} pH 4,0 (A) e espectros das xantinas estudadas em tampão BR 0,4 mol L^{-1} pH 4,0, 0,12 mmol L^{-1} cada (B).	95
Figura 38 – Diagrama de distribuição percentual das espécies de xantinas em função do pH (A), e as estruturas moleculares da TB (B), TF (C) e XA (D)	

desprotonadas. No gráfico de distribuição de espécies está destacado o intervalo de pH utilizado nos dados experimentais da tese.	96
Figura 39 – Voltamogramas cíclicos consecutivos ($n = 20$) obtidos em tetrafluorborato de tetrabutilamônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em DMSO contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de CAF utilizando p-ECV.	97
Figura 40 – Voltamogramas cíclicos (vigésimo ciclo) obtidos em tetrafluorborato de tetrabutilamônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em DMSO contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de CAF utilizando p-ECV. $E_{\text{cond}} = 1,4 \text{ V}$, $t_{\text{cond}}: 30 \text{ segundos}$	98
Figura 41 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em p-ECV aplicando potencial de condicionamento de $1,4 \text{ V}$ por trinta segundos (A) e sem aplicação de potencial de condicionamento (B). Parâmetros experimentais: $E_i = 0,1 \text{ V}$; $E_f = 1,5 \text{ V}$; $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $a = 20 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ ($v = 125 \text{ mV s}^{-1}$). Concentração de CAF: $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em DMSO contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tetrafluorborato de tetrabutilamônio como eletrólito de suporte.	99
Figura 42 – Etapa eletroquímica da reação de oxidação da CAF em meio aquoso, destacando-se o elétron desemparelhado no C_8	100
Figura 43 – Formação de uma ligação covalente -C-C- a partir de dois radicais de CAF.	102
Figura 44 – Etapa química de formação do dímero com saída de dois prótons das moléculas de CAF originalmente presentes na molécula.	102
Figura 45 – Voltamogramas cíclicos da oxidação de CAF $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,0 utilizando p-ECV com agitação entre medidas. Condições do experimento: $E_i = E_f = 1,1 \text{ V}$ e $E_\lambda = 1,6 \text{ V}$ a $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$	104
Figura 46 – Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de CAF $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,0, durante modificação do p-ECV polido com alumina $1,0 \text{ micra}$ e posteriormente submetido a vinte voltamogramas cíclicos em $1,1 \text{ V} \leq E_\lambda \leq 1,6$ a 100 mV s^{-1} (A) e o decaimento de corrente em função do número de ciclos mostrando a estabilização do sinal de densidade de corrente de pico em aproximadamente $0,03 \text{ mA cm}^{-2}$ (B).	105
Figura 47 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando CAF-ECV em solução de CAF $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR $0,4 \text{ mol L}$ para vários valores de pH (A) e curvas $E_p - \text{pH}$ (B). Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,7 \text{ V}$; $E_\lambda = 1,7 \text{ V}$; $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ com eletrodo modificado após cada medida. Condições de modificação: 20	

ciclos em solução de CAF 1,0 mmol L ⁻¹ em tampão BR 0,4 mol L ⁻¹ pH 4,0 entre medidas.....	107
Figura 48 – Relações de densidade de corrente de pico de oxidação da CAF em função do pH para ECV polido (A) e modificado com CAF (B).	108
Figura 49 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o ECV durante o processo de modificação em tampão BR 0,4 mol L ⁻¹ pH 4. Condições experimentais: ECV polido e submetido a 20 ciclos a 100 mV s ⁻¹ , utilizando E _i = E _f = 1,1 V e E _λ = 1,6 V.....	109
Figura 50 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando BR-ECV para vários valores de pH (A) e curvas E _p – pH (B). Condições experimentais: E _i = E _f = 0,7 V; E _λ = 1,7 V; v = 100 mV s ⁻¹ . Condições de modificação: 20 ciclos em tampão BR 0,4 mol L ⁻¹ pH 4 entre medidas.	110
Figura 51 – Densidade de carga absoluta da dupla camada elétrica (A) e carga percentual relativa (B) dos eletrodos estudados obtida em eletrólito de suporte (tampão BR 0,4 mol L ⁻¹ pH 4,0) calculado a partir da Equação 35. Condições: E _i = E _f = 0,6 V; E _λ = 1,6 V; v = 100 mV s ⁻¹	111
Figura 52 – Potencial de circuito aberto médio em função do tempo (t = 3600 s) para os eletrodos modificados estudados (n = 3).....	112
Figura 53 – Espectros de impedância em função dos potenciais aplicados, conforme descrito na Seção 3.3.4. Eletrólito de suporte: KCl 0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0, contendo K ₃ [Fe(CN) ₆] 1,0 mmol L ⁻¹ utilizando intervalo de frequência de 40 kHz até 45 mHz, a = 10 mV.....	113
Figura 54 – Valores de R _{ct} em função da amplitude aplicada, nas condições utilizadas na Figura 53.	114
Figura 55 – Valores de chi-quadrado em função da amplitude utilizada. Condições experimentais iguais às aquelas mostradas na Figura 54.....	115
Figura 56 – Espectro de impedância eletroquímica com <i>fitting</i> correspondente para p-ECV (A) ao circuito equivalente de Randles modificado com elemento difusivo de Gerischer (B). Eletrólito de suporte: KCl 0,1 mol L ⁻¹ contendo ferricianeto de potássio 1,0 mmol L ⁻¹ , pH 6,0, utilizando intervalo de frequência de 40 kHz até 45 mHz, com E = 230 mV e a = 10 mV.	116
Figura 57 – Espectro de impedância para o eletrodo BR-ECV (A) com o respectivo <i>fitting</i> correspondente ao circuito equivalente proposto (B), utilizando	

o elemento difusivo de Gerischer. Eletrólito de suporte: KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo ferricianeto de potássio 1,0 mmol L⁻¹, pH 6,0, utilizando intervalo de frequência de 40 kHz até 45mHz, com E = 230 mV e a = 10 mV. 119

Figura 58 – Sobreposição de espectros de impedância para os eletrodos p-ECV (▲), BR-ECV (■) e CAF-ECV (●) sobrepostos..... 121

Figura 59 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o CAF-ECV em solução de tampão BR 0,4 mol L⁻¹, pH 4,0 (A) e (B) Curvas de calibração para cafeína utilizando eletrodo polido (linha vermelha) e eletrodo CAF-ECV (linha azul) no mesmo intervalo de concentração. Parâmetros de voltametria de onda quadrada: f = 25 s⁻¹, a = 20 mV; ΔE_s = 5 mV (v = 125 mV s⁻¹); E_i = 0,0 V; E_f = 1,6 V. Intervalo de concentração: 1 μmol L⁻¹ até 110 μmol L⁻¹. Equações de reta: j_p (μA cm⁻²) = (22,4 ± 8,8) μA cm⁻² + (6,8 ± 0,1 μA L μmol⁻¹ cm⁻²) × [CAF] (p-ECV) 122

Figura 60 – Planilha de Excel® alimentada com os valores de Ru = 100 Ω, Rct = 1000 Ω e Cdl = 1 μF. 135

Figura 61 – Inserção da Fórmula 1 para retornar um valor de frequência complexo, com a linha a seguir retornando o valor de frequência complexa para 30 kHz. 136

Figura 62 – Utilização da fórmula “=IMPROD” para calcular o produto entre a frequência complexa B6, em azul, com Cdl, \$B\$3, em vermelho. O único valor que irá mudar é a frequência complexa, como mostrado na linha 7. 137

Figura 63 – Utilização da fórmula “=IMDIV(1;C6)”, para divisão do produto complexo iωCdl, representado pela célula C6, em azul. A linha abaixo mostra como, para a próxima frequência, o valor é retornado. 138

Figura 64 – Inserção da fórmula “=IMSOMA(\$B\$1;D6)” para tornar a Equação 39 no formato de números complexos no Excel®. Os valores somados são: resistência não compensada (B1, fixada) e o valor da frequência, D6. A linha abaixo mostra qual o valor calculado para a frequência seguinte. 139

Figura 65 – Inserção das Fórmulas 5 até 9 para o cálculo do módulo da impedância, ângulo de fase, impedância real e imaginária para a função de transferência localizada em E6, e o logaritmo da frequência calculado em E6, com os valores consequentes na linha abaixo. 140

Figura 66 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 39 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter $\log Z $, $\log f$, $-Z''$, Z' e ângulo de fase.....	140
Figura 67 – Aplicação da fórmula “=IMSOMA” para soma do número complexo C6 com o valor inverso da resistência da transferência de carga B4, fixada. A próxima linha contém o cálculo para a próxima frequência.....	142
Figura 68 – Aplicação da fórmula “=IMDIV” para soma do número complexo D6 por 1. A próxima linha contém o cálculo para a próxima frequência.	142
Figura 69 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 42 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter $\log Z $, $\log f$, $-Z''$, Z' e ângulo de fase.....	143
Figura 70 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 47 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter $\log Z $, $\log f$, $-Z''$, Z' e ângulo de fase. O valor calculado de R_o foi $1,90 \Omega s^{-1/2}$	145
Figura 71 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 45 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter $\log Z $, $\log f$, $-Z''$, Z' e ângulo de fase. Os valores de R_{ct2} e C_{dl2} utilizados para esta simulação foram 600Ω e 1 mF , respectivamente.	147

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação dos substituintes da estrutura geral das metilxantinas.	26
--	----

Tabela 2 – Correlações de E_p – pH para as xantinas estudadas por Fujishima e colaboradores. [xantinas] = 50 μM , v = 20 mV s^{-1} , eletrólito de suporte: tampão BR 0,04 mol L^{-1} + 0,1 M NaClO_4 , eletrodo de referência: calomelano saturado.	34
Tabela 3 – Alguns circuitos equivalentes comumente utilizados em EIE.	44
Tabela 4 – Reagentes utilizados neste trabalho.	59
Tabela 5 – Experimentos voltamétricos utilizados nesta tese com seus respectivos parâmetros aplicados.	61
Tabela 6 – Valores de coeficiente de difusão calculados pelo método de Wilkie-Chang, a $T = 298,15 \text{ K}$ e a partir dos dados obtidos pela geometrização molecular.	75
Tabela 7 – Valores de coeficientes angulares das curvas E_p – $\log v$ para as xantinas estudadas. Dados obtidos a partir das curvas da Figura 30. Coeficiente angular 1: 10 até 75 mV s^{-1} ; coeficiente angular 2: a partir de 100 mV s^{-1}	86
Tabela 8 – Número de elétrons obtidos a partir dos voltamogramas de pulso diferencial utilizando a Equação 14.	88
Tabela 9 – Valores de número de elétrons calculados a partir da Equação 30, considerando $\alpha = 0,63$ e $A = 0,065 \text{ cm}^2$. A última linha da tabela mostra o valor médio do coeficiente angular e do número de elétrons calculado para a CAF.	90
Tabela 10 – Intervalo de concentrações e potenciais aplicados para as xantinas em estudo por cronoamperometria.	90
Tabela 11 – Parâmetros utilizados para determinação do número de elétrons utilizando a equação de Cottrell.	92
Tabela 12 – Propriedades físico-químicas calculadas para C_8 e N_9 do anel imidazólico da CAF molecular.	100
Tabela 13 – Valores de R_p em função do potencial aplicado, conforme condições descritas na Figura 53.	114
Tabela 14 – Dados eletroquímicos obtidos a partir do espectro e do circuito equivalente da Figura 56.	117
Tabela 15 – Dados eletroquímicos obtidos a partir do espectro e do circuito equivalente apresentados na Figura 57B.	120
Tabela 16 – Dados eletroquímicos obtidos a partir do espectro e do circuito equivalente para o eletrodo CAF-ECV.	121

Tabela 17 – Valores de LD calculados a partir do valor médio do desvio padrão do intercepto das curvas analíticas da Figura 59B.....	123
---	-----

1. INTRODUÇÃO	26
1.1. XANTINAS E SEUS DERIVADOS NA NATUREZA.....	26
1.2. A MAIS FAMOSA DAS XANTINAS: A CAFEÍNA	30

SUMÁRIO

1.3. MECANISMO DE REAÇÃO ELETROQUÍMICA DA CAFEÍNA PROPOSTO NA LITERATURA	32
1.4.1. ASPECTOS EXPERIMENTAIS DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA	45
1.4.2. A INTERPRETAÇÃO DOS ESPECTROS DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA EXPERIMENTAIS	49
1.4.3. POTENCIOMETRIA EM CIRCUITO ABERTO	56
2. OBJETIVOS	58
3. MATERIAIS E MÉTODOS	59
3.1. REAGENTES UTILIZADOS	59
3.2. SISTEMA DE ELETRODOS	60
3.3. INSTRUMENTAÇÃO	60
3.3.1. EXPERIMENTOS VOLTAMÉTRICOS	60
3.3.2. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS UTILIZADAS	60
3.3.3. CÁLCULO DO NÚMERO DE ELÉTRONS UTILIZANDO VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL	62
3.3.4. ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA	62
3.3.5. POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO	64
3.3.6. CRONOAMPEROMETRIA	64
3.3.7. DETERMINAÇÃO DA ÁREA ATIVA DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO	68
3.4. SOLUÇÕES	66
3.3.8. ESPECTROFOTOMETRIA	67
3.5. PROCEDIMENTOS APLICADOS	69
3.4.1. ELETRÓLITOS DE SUPORTE	68
3.5.1. LIMPEZA DO ECV	69

3.5.2. PROCEDIMENTO DE MODIFICAÇÃO DO ECV EM TAMPÃO BR (BR-ECV)	69
3.5.3. PROCEDIMENTO DE MODIFICAÇÃO DO ELETRODO EM SOLUÇÃO DE CAFEÍNA (CAF-ECV)	69
3.5.4. CÁLCULO DO VOLUME MOLAR DA CAF A PARTIR DO MÉTODO DE VAN DER WAALS	69
3.5.5. CÁLCULO DO COEFICIENTE DE DIFUSÃO A PARTIR DO MÉTODO DE WILKE-CHANG	70
3.5.6. CÁLCULO DE OUTRAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS	71
3.5.7. TRATAMENTO E APRESENTAÇÃO DOS DADOS	71
 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	 72
4.1. DETERMINAÇÃO DA ÁREA ATIVA DO ECV	72
4.2. DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE DIFUSÃO DAS XANTINAS ESTUDADAS	73
4.3. ESTUDO ELETROQUÍMICO DAS XANTINAS	76
4.4. ESTUDO ESPECTROFOTOMÉTRICO DAS XANTINAS	94
4.5. ESTUDO ELETROQUÍMICO DA CAF EM MEIO NÃO-AQUOSO	97
4.6. PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DA CAF	100
4.7. MODIFICAÇÃO DO ELETRODO EM SOLUÇÃO DE CAFEÍNA	104
4.8. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ELETRODO MODIFICADO	111
4.9. CARACTERIZAÇÃO SUPERFICIAL DOS ELETRODOS MODIFICADOS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA	113
4.9.1. DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DO POTENCIAL DC E DA AMPLITUDE	124
5. CONCLUSÕES	113
4.9.2. CARACTERIZAÇÃO DOS ELETRODOS POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS	116

6. BIBLIOGRAFIA PESQUISADA	126
APÊNDICE C – CALCULANDO AS IMPEDÂNCIAS EQUIVALENTES DE ALGUNS SISTEMAS	
APÊNDICE A – DETERMINANDO A EQUAÇÃO DA IMPEDÂNCIA EQUIVALENTE A PARTIR DAS EQUAÇÕES DE IMPEDÂNCIA DOS ELEMENTOS DE CIRCUITO ELÉTRICO	135
APÊNDICE B – EQUAÇÃO DA IMPEDÂNCIA EQUIVALENTE EM ALGUNS CASOS ...	134
SÚMULA CURRICULAR	148

INTRODUÇÃO

XANTINAS E SEUS DERIVADOS NA NATUREZA

As metilxantinas, moléculas de grande importância biológica, são derivadas da base nitrogenada purina, sendo encontradas em diversas espécies de vegetais, tais como a *Coffea arabica*, uma espécie de café oriunda da Etiópia e *Camellia sinensis*, com os quais são produzidos diversos tipos de chá (ASHIHARA; SANO; CROZIER, 2008). São classificadas como pseudo-alcalóides (ou alcalóides purínicos), uma vez que estas não são sintetizadas a partir de aminoácidos (ASHIHARA; SANO; CROZIER, 2008). A Tabela 1 mostram a molécula de purina, composto de partida para síntese das metilxantinas, bem como a identificação dos derivados encontrados como função da posição do grupo metílico.

Tabela 1 – Identificação dos substituintes da estrutura geral das metilxantinas. Fonte: o próprio autor baseado na literatura (SPILLER, 1997).
Substituinte	Nome
	$R_1 = R_2 = R_3 = -CH_3$	Cafeína
	$R_2 = R_3 = -CH_3, R_1 = -H$	Teobromina
	$R_1 = R_3 = -CH_3, R_2 = -H$	Paraxantina
	$R_1 = R_2 = -CH_3, R_3 = -H$	Teofilina
	$R_1 = R_2 = R_3 = -H$	Xantina

As propriedades físico-químicas das metilxantinas variam de acordo com a posição dos grupos metílicos encontrados nos nitrogênios 1, 3 e 7 da xantina. Enquanto a cafeína (CAF) possui solubilidade relativamente alta em água a 25° C (cerca de 111 mmol L⁻¹) por estar totalmente metilada nos nitrogênios 1, 3 e 7, a xantina possui baixíssima solubilidade nas mesmas condições (cerca de 0,45 mmol L⁻¹), apesar da molécula possuir sítios de ligação de hidrogênio pela presença de ligações N-H, cuja diferença de eletronegatividade gera cargas parciais sobre os átomos constituintes da molécula. Observação semelhante ocorre na teobromina (TB, grupos metílicos nas posições 3,7) e teofilina (TF, grupos metílicos nas posições 1,3): enquanto a primeira possui solubilidade igual a 40,8 mmol L⁻¹, a última possui solubilidade igual a 1,8 mmol L⁻¹. A diminuição de solubilidade observada para a TF pode ser explicada pela presença de ligações de hidrogênio intermoleculares, que impedem o efeito de solvatação (KRASNOV,

2011). A Figura 1 descreve a rota biosintética da XA nos vegetais (ASHIHARA; SANO; CROZIER, 2008; LEHNINGER; NELSON; COX, 2014).

Figura 1 – Esquema da biossíntese da XA a partir da GMP (I) gerando guanosina (II), guanina (III), XA (IV) e ácido úrico (V). Outra rota biosintética utiliza adenosina monofosfato (VI), adenosina (VII), inosina (VIII) e hipoxantina (IV) para gerar XA. Fonte: próprio autor adaptado da literatura (ASHIHARA; SANO; CROZIER, 2008; LEHNINGER; NELSON; COX, 2014).

O precursor da XA é guanosina monofosfato (GMP, I), que sofre hidrólise e libera um grupo fosfato (Pi) tornando-se guanosina (II). Em seguida, a guanosina sofre uma nova hidrólise liberando a ribose ligada no nitrogênio imídico, restando a base nitrogenada guanina (III). A etapa final da biossíntese da XA (IV) envolve a troca do grupo amino pelo carbonílico, reação mediada pela enzima guanina

deaminase que faz liberar o grupo amino na forma de amônia. Uma outra forma biosintética da XA envolve a adenosina monofosfato (AMP, VI) e é muito semelhante à rota envolvendo GMP. A etapa de desfosforilação é mediada pela enzima 5'-nucleotidase, em que o produto gerado é a adenosina (VII). Outra enzima, a adenosina deaminase é responsável pela adição do grupo carboxílico no carbono 6, liberando o grupo amino na forma de amônio gerando inosina (VIII), uma molécula de hipoxantina ligada a uma ribose. Em seguida, a enzima nucleosidase realiza a hidrólise da inosina realizando a clivagem da ligação 9β entre a hipoxantina e a ribose, tornando-se somente hipoxantina (IX). Em seguida a XA oxidase realiza uma adição de carbonila no carbono 2 da hipoxantina gerando a XA (IV). Por tautomeria, a XA possuindo uma forma cetônica pode ser oxidada mais uma vez pela xantina oxidase gerando ácido úrico (V).

A CAF, no entanto, é gerada a partir da xantossina, um produto de catabolismo de bases purínicas. A Figura 2 mostra a biossíntese da CAF (ASHIHARA; SANO; CROZIER, 2008).

Figura 2 – Biossíntese da CAF a partir da xantossina (I) gerando 7-metil xantossina (II), 7-metilxantina (III), TB (IV) e finalmente CAF (V).

SAM: S-adenosil-L-metionina; SAH: S-adenosil-L-homocisteína.

Fonte: próprio autor adaptado da literatura (ASHIHARA; SANO; CROZIER, 2008).

Inicialmente, a xantossina (I) é transformada em 7-metil-xantossina (II) quando a S-adenosil-L-metionina (SAM) cede para a xantossina seu grupo metílico

localizado no núcleo de enxofre da SAM, mediada pela enzima N-metil-transferase. Em seguida, a 7-metil-xantosina é convertida a 7-metil-xantina (III) por hidrólise mediada pela N-metil-nucleosidade, com posterior saída da ribose. Em seguida, novamente a SAM, mediada pela enzima n-metil-transferase, cede um grupo metila na posição 3 da 7-metil-xantosina, sendo o produto 3-7-dimetilxantina (ou TB, IV). Quando o grupo metílico é cedido pelo sistema SAM, agora mediada pela enzima cafeína sintase, no qual possui a mesma função da N-metil-transferase. O produto final é a 1,3,7-trimetilxantina (ou CAF, IV). Em nosso organismo, a CAF é metabolizada no fígado gerando TF, TB e paraxantina, e menos de 3% de CAF não metabolizada é excretada.

A síntese em laboratório da CAF e das outras metilxantinas foi desenvolvida por Emil Fischer, ganhador do prêmio Nobel de química em 1902, fazendo unir as fronteiras da química e da bioquímica (KUNZ, 2002). A Figura 3 a seguir mostra a síntese orgânica da CAF.

Figura 3 – Esquema da síntese orgânica da CAF. Em meio etanólico contendo etanoato de sódio, 1,3-dimetil uréia (I) reage com 2-cianoacetato de etila (II) formando 1,3-dimetil-4-amino-5-nitosouracil (III). Em meio aquoso contendo ácido fórmico em catalisador de carbono-paládio, forma-se 1,3-dimetil-4-amino-5-formaminouracil (IV) para finalmente, na presença de sulfato de dimetila, gerar CAF (V).

Fonte: próprio autor adaptado da literatura (KUNZ, 2002).

A MAIS FAMOSA DAS XANTINAS: A CAFEÍNA

A CAF é, sem sombra de dúvida, o psicoativo mais consumido no mundo (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Presente em alimentos, bebidas e em fármacos, a CAF certamente faz parte da vida do homem contemporâneo. Segundo o site WorldAtlas.com (BERNARD, 2015), o Brasil faz parte dos dez maiores países consumidores de café *per capita* no mundo, bem como no consumo médio de xícaras de café por dia. Além disso, o Brasil também é maior exportador de café nos últimos 150 anos (WIKIPEDIA, 2015). A Figura 4 mostra um gráfico retirado do site acima citado com as quantidades de consumo de café *per capita* e o consumo de xícaras de café por dia.

Figura 4 – Gráfico dos dez maiores consumidores de café do mundo em função do consumo *per capita* (barra negra) e do número de xícaras de café consumidas por dia (barra vermelha) utilizando dados do site WorldAtlas.com (BERNARD, 2015).

A CAF, assim como as metilxantinas, possui atividade inibitória da fosfodiesterase, enzima responsável pela clivagem da ligação fosfodiéster do cAMP (adenosina monofosfato cíclica), um biosinalizador responsável pela regulação das quinases protéicas dependentes da cAMP (também conhecida como PKA, do inglês *protein kinase A*), responsáveis pela regulação dos níveis de glicogênio e açúcares no organismo, bem como no metabolismo lipídico. A inibição da cAMP estimula a liberação da epinefrina na corrente sanguínea, uma vez que a própria cAMP é um mensageiro secundário para regulação de determinadas moléculas regulatórias (DEREE et al., 2008).

A CAF e as outras metilxantinas possuem um efeito antagônico nos receptores P1 purinérgicos localizados em todas as células do organismo humano.

Tais receptores regulam do oxigênio miocardial e a pressão arterial, além de regular a liberação de neurotransmissores como dopamina e glutamato. Essa regulação é mediada justamente pela cAMP; portanto, o efeito antagonista nos receptores P1 pelas metilxantinas é causado pela semelhança química delas com a cAMP, havendo competição entre as moléculas. A ligação entre os receptores P1 e as metilxantinas causa o efeito estimulante da CAF, uma vez que esse fenômeno causa a liberação dos neurotransmissores (FISONE; BORGKVIST; USIELLO, 2004). Além disso, o efeito antagônico estimula a medula oblongata (ou bulbo cerebral), região do tronco encefálico responsável pelas funções vitais do nosso organismo, tais como respiração, batimentos cardíacos e pressão arterial. A CAF consegue ter acesso aos receptores celulares dos neurônios graças ao seu caráter anfifílico: possuindo caráter apolar quanto polar, a molécula de CAF consegue, quando está na corrente sanguínea, atravessar a barreira hematoencefálica, atravessando também a barreira celular e atingindo a região intra-neuronal (FISONE; BORGKVIST; USIELLO, 2004). No organismo, a CAF é metabolizada no fígado e é degradada majoritariamente pelo citocromo P450 oxidase, originando três metabólitos: paraxantina (1,7-dimetil xantina, estimulante da lipólise), TB (dilata os vasos sanguíneos e possui efeito diurético) e TF (provoca relaxação dos músculos lisos dos brônquios) (WISHART et al., 2006).

A CAF possui diversos benefícios: inibe a peroxidação lipídica, fonte de radicais livres que causam danos oxidativos ao DNA, além de possuir um efeito *scavenger* muito elevado ao radical hidroxil (HO[•]) (LEÓN-CARMONA; GALANO, 2011; SHI; DALAL; JAIN, 1991). Também há relatos da literatura médica descrevendo o efeito protetor da CAF frente aos raios UV-B na córnea de cobaias (KRONSCHLÄGER et al., 2013), além de estudos que demonstram a diminuição da concentração de β -amilóide, peptídeo relacionado à doença de Alzheimer, no hipocampo cerebral de cobaias após administração de CAF (ARENDASH et al., 2006; CAO et al., 2009). Além disso, houve uma diminuição nas quantidades solúveis e depositadas de β -amilóide, resultado esse que sugere haver uma diminuição nas chances de contrair a doença de Alzheimer quando se consome CAF à longo prazo.

Contudo, a CAF possui atividade psicoativa e pode causar dependência crônica. Além do mais, a CAF pode ser tóxica em doses elevadas (acima de 400

mg, em média), e sua toxicidade é potencializada pelo uso concomitante de bebidas alcóolicas a bebidas que possuam CAF em sua composição, como, por exemplo, as bebidas “energéticas”. Já existe uma correlação entre o alto consumo de CAF com o alto consumo de álcool, além da combinação das duas substâncias serem bastante populares entre a população jovem (O'BRIEN et al., 2011; VINADER-CAEROLS et al., 2012). Além disso, a quinta edição do Manual de Diagnóstico e Estatística de Desordens Mentais, editado pela Associação Americana de Psiquiatria e lançado em 2013 já considera a abstinência de CAF como sendo uma desordem mental (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013), identificada a partir dos seguintes sintomas: dificuldade para descansar, nervosismo, insônia, distúrbios gastrointestinais, confusão mental ou verbal, taquicardia ou arritmia cardíaca e períodos de agitação psicomotora inesgotável (ou balançar algum membro involuntariamente, como a perna).

Na seção a seguir serão tratados os temas relativos à esta tese, a saber: o mecanismo de oxidação eletroquímica da CAF.

1.3. MECANISMO DE REAÇÃO ELETROQUÍMICA DA CAFEÍNA PROPOSTO NA LITERATURA

Os primeiros artigos sobre a eletroquímica de derivados de XA foram aqueles descritos por Tafel, em que a redução eletroquímica da TB à deoxiTB (TAFEL, 1899), de guanina a deoxiguanina (ou hipoxantina) e de CAF e TB à deoxicafeína e deoxiteobromina foram estudadas em meio de ácido sulfúrico (TAFEL; ACH, 1901; TAFEL; WEINSCHENK, 1900). No entanto, Fitcher e Kern (FICHTER; KERN, 1926) estudaram a oxidação eletroquímica das xantinas utilizando anodos de óxido de chumbo e platina em diversos eletrólitos e em meio ácido e alcalino. Os autores determinaram que os produtos de oxidação da CAF poderiam ser TB, deoxiteobromina e deoxicafeína.

Contribuições igualmente importantes neste campo foram dados por Druhurst e Hansen (HANSEN; DRYHURST, 1971a). Segundo os autores, tanto a CAF quanto a TB se oxidam na ligação $-C_8-N_9-$ do grupo imidazólico. O processo ocorre em duas etapas envolvendo quatro elétrons e quatro prótons, e o mecanismo proposto é apresentado na Figura 5.

Figura 5 – Primeira (A) e segunda (B) etapas do mecanismo de oxidação da CAF proposto por Hansen e Dryhurst.

Fonte: próprio autor adaptado da literatura (HANSEN; DRYHURST, 1971a).

A oxidação da cafeína na região imidazólica envolve a adição de uma molécula de água e liberação de 2 elétrons e 2 prótons para a formação da imidazolidiona. A segunda etapa envolve o consumo de duas moléculas de água, a clivagem da dupla ligação –C₄–C₅–, a adição de dois grupos hidróxido na molécula oxidada e liberação de dois prótons e dois elétrons. O autor também sugere que haja outros subprodutos de oxidação, tais como ácido dimetilparabânico e metil uréia.

Dryhurst foi o pioneiro na caracterização do comportamento eletroquímico de compostos biologicamente importantes (DRYHYRST et al., 1982) e diversos trabalhos publicados posteriormente confirmaram, ao menos supostamente, o mecanismo proposto inicialmente para a oxidação da CAF. Trinta e um anos depois, Spătaru e colaboradores (SPĂTARU et al., 2002) estudaram novamente o comportamento eletroquímico das xantinas e seus derivados, mas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro. Os autores concluíram que os resultados obtidos experimentalmente para todas as xantinas estudadas estão de acordo

com o mecanismo proposto por Dryhurst. A Tabela 2 mostra a variação do potencial de pico dos compostos estudados em função do pH.

Tabela 2 – Correlações de E_p – pH para as xantinas estudadas por Fujishima e colaboradores. [xantinas] = 50 μM , v = 20 mV s^{-1} , eletrólito de suporte: tampão BR 0,04 mol L^{-1} + 0,1 M NaClO_4 , eletrodo de referência: calomelano saturado.

Fonte: (SPĂTARU et al., 2002)

Composto	Intervalo de pH	Correlação E_p – pH
XA	1,8 – 8,0	1,18 – 0,071 pH
	9,0 – 12,0	0,65 – 0,043 pH
TF	1,8 – 9,0	1,30 – 0,052 pH
	9,0 – 12,0	0,93 – 0,040 pH
TB	1,8 – 8,9	1,47 – 0,032 pH
CAF	1,8 – 7,5	1,47 – 0,019 pH

Segundo os autores, as moléculas estudadas sofrem, de modo geral, o mesmo processo de oxidação eletroquímico. Para a XA e TF, os intervalos de pH 1,8 – 8,0 e 1,8 – 9,0, a coeficiente angular da curva E_p – pH foram iguais a 71 mV pH^{-1} e 52 mV pH^{-1} , respectivamente. Apesar desses resultados indicarem somente que o número de prótons é igual ao número de elétrons pela proximidade do valor teórico de 60 mV pH^{-1} (BARD; FAULKNER, 2000; BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993; GOSSER-JR, 1993), os autores consideraram que a oxidação eletroquímica da XA e das outras metilxantinas ocorrem em processos envolvendo quatro prótons e quatro elétrons, apesar das coeficiente angulares das curvas de E_p – pH apresentarem valores inferiores a 60 mV pH^{-1} . Os autores atribuem esses valores menores de coeficiente angular à proximidade dos potenciais de oxidação do potencial de decomposição do eletrólito de suporte (SPĂTARU et al., 2002), o que pode ter causado um consumo químico da CAF pelos produtos de oxidação gerados durante a decomposição eletroquímica do eletrólito de suporte. Por este motivo, assumiram que somente a primeira etapa do mecanismo proposto por Dryhurst em 1971 estava correta. A Figura 7 mostra a proposta de mecanismo para a oxidação da xantina e seus derivados em eletrodo de diamante dopado com boro apresentada por estes autores.

Figura 6 – Mecanismo de oxidação proposto por Spătaru e colaboradores para a xantina e, conseqüentemente, para as outras metilxantinas.

Fonte: próprio autor adaptado da literatura (SPĂTARU et al., 2002).

Martinez-Huile e colaboradores (MARTÍNEZ-HUITLE et al., 2010) estudaram o comportamento eletroquímico da CAF, também em eletrodo de diamante dopado com boro, mas previamente modificado com Nafion®. Apesar do trabalho não mostrar quaisquer resultados relativos à variação de potencial de pico em função do pH, ou mesmo um estudo eletroquímico mais extensivo do processo de oxidação da CAF, os autores consideraram que o mecanismo de oxidação da CAF seria o mesmo proposto por Spătaru e colaboradores.

Infelizmente, os trabalhos dedicados ao estudo do mecanismo de oxidação eletroquímica da CAF limitaram-se tão somente a repetir o mecanismo proposto por Spătaru e Dryhurst, tais como Mersal (MERSAL, 2011), Habibi (HABIBI; ABAZARI; POURNAGHI-AZAR, 2012), e Brett (TORRES; BARSAN; BRETT, 2014), entre outros.

Em 1997, um trabalho sobre degradação da CAF lançou luzes sobre este mecanismo: Telo e Vieira (TELO; VIEIRA, 1997), estudaram a oxidação da CAF em meio aquoso por radicais hidroxil e radicais derivados de persulfato por EPR (espectroscopia de ressonância paramagnética), mostrando que radicais derivados de CAF foram detectados durante o processo. O radical hidroxil ($\text{OH}^\bullet$) foi produzido pela fotólise de um derivado de 4-mercaptopiridina ou H_2O_2 ,

enquanto os radicais derivados de sulfato foram formados pela fotólise de soluções de $K_2S_2O_8$. Em ambos os casos, houve a formação de espécies radicalares de CAF que formaram aduto hidroxilado na posição 8 (oxidação promovida pelo radical hidroxil) ou aduto de fosfato na posição 8 (oxidação promovida com radicais derivados de sulfato).

Os produtos de oxidação propostos por Telo e Vieira são mostrados na Figura 7; as condições representadas por (i) significam a adição de um íon hidróxido no carbocátion positivo, (ii) a entrada do íon dihidrogenofosfato com saída do próton e (iii) uma etapa de oxidação seguida de hidrólise.

Figura 7 – Mecanismo de fotodegradação oxidativa da CAF em função do radical gerado.

Fonte: próprio autor adaptado da literatura (TELO; VIEIRA, 1997).

Recentemente, um trabalho de Chan e colaboradores (CHAN et al., 2014) lançou resultados que divergem daqueles obtidos por Fujishima e Dryhurst. Os autores propuseram a oxidação da cafeína em meio aquoso com a formação de um cátion radical que é, em seguida, protonado no N₉ do anel imidazólico. Em meio não-aquoso, os mesmos autores observaram que a CAF oxida de forma semelhante, formando um cátion radical estável em acetonitrila, e neste meio também eles propuseram que a CAF possa agir como uma base e abstrair um próton do meio. O próton, segundo os autores, surgiria por causa da quantidade

de água dissolvida na acetonitrila e que interagiria no N₉ do anel imidazólico via ligação de hidrogênio.

A seção a seguir apresentará alguns conceitos fundamentais sobre espectroscopia de impedância eletroquímica e potenciometria em circuito aberto, técnicas utilizadas na parte experimental desta tese, mas que não são de aplicabilidade muito comum.

ASPECTOS FUNDAMENTAIS DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA

ELETROQUÍMICA

- 1.4. A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) é uma técnica eletroquímica que utiliza das variações de permissividade dielétrica da interface eletrodo/solução em função da variação de frequência de um sinal de potencial alternado, sobre um valor pré-estabelecido de potencial contínuo aplicado ao eletrodo de trabalho. Convém dizer que a EIE é espectroscopia por analogia e não propriamente por haver incidência de luz na célula eletroquímica. Supondo que haja um experimento de impedância potenciostática, a equação de aplicação de potencial será (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008):

$$E_t = \tilde{E} + \bar{E} \dots \dots \dots \text{Equação 1}$$

em que $\tilde{E}$ representa o sinal de potencial alternado (AC) e $\bar{E}$ representa o sinal de potencial contínuo (CC). O sinal de perturbação senoidal é aplicado sobre o valor de potencial CC, sendo descrito pela seguinte equação:

$$\tilde{E} = E_o \sin(\omega\tau) \dots \dots \dots \text{Equação 2}$$

em que E_o representa a amplitude do sinal senoidal, ω representa a frequência angular e τ representa o período. Se uma perturbação elétrica é estimulada em um sistema eletroquímico, este terá uma resposta de corrente elétrica alternada cuja equação é igual a:

$$\tilde{I} = I_o \sin(\omega\tau + \phi) \dots \dots \dots \text{Equação 3}$$

em que $\tilde{I}$ representa o sinal de corrente elétrica alternada e I_o a amplitude do sinal senoidal. A nova grandeza que surge é φ , denominada ângulo de fase que representa em graus o deslocamento entre as ondas senoidais de potencial e corrente. A Figura 8 mostra a representação geométrica de ambas as formas de sinal anteriormente descritas.

Figura 8 – Figura sem escala representando sinais senoidais de potencial (—) e resposta de corrente (—) a um determinado valor de ω sobre um potencial CC (—), indicando os respectivos valores de amplitude E_o e I_o e o ângulo de fase φ .

Fonte: O próprio autor.

De uma forma geral, a equação da impedância (Z) é uma equação análoga à lei de Ohm. Ou seja, podemos definir impedância como sendo a razão entre o sinal de potencial e corrente alternados:

$$Z = \frac{\tilde{E}}{\tilde{I}} \dots\dots\dots \text{Equação 4}$$

em que $\tilde{E}$ representa o potencial alternado aplicado, $\tilde{I}$ a resposta de corrente alternada e Z a razão entre essas grandezas. Logo, a impedância é definida como a medida de resistência em corrente alternada. Inserindo as Equações correspondente às duas grandezas, $\tilde{E}$ e $\tilde{I}$, temos que:

$$Z = \frac{E_o \sin(\omega\tau)}{I_o \sin(\omega\tau + \phi)} \therefore Z(\omega) = Z_o \frac{\sin(\omega\tau)}{\sin(\omega\tau + \phi)} \dots\dots\dots \text{Equação 5}$$

em que $Z(\omega)$ representa a dependência da impedância em função da frequência da perturbação de potencial aplicada e Z_o a razão entre as amplitudes de corrente e potencial. A impedância possui unidades de resistência (ohm, Ω), tal qual a resistência ôhmica (BARD; FAULKNER, 2000; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). Normalmente, os experimentos são realizados uma faixa de frequência decrescente, e a determinação da frequência é experimental, variando entre 40 kHz até 100 mHz, a depender do que se irá estudar (GABRIELLI, 1998; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). A Figura 9 mostra como o sinal de potencial e corrente alternados são obtidos ao utilizar um potencial CC.

Figura 9 – Projeção voltamétrica segundo a aproximação de Butler-Volmer (A) e ampliação da região pseudo-linear no qual o potencial alternado é aplicado. Havendo uma aplicação de potencial alternado, o sinal resultante é uma corrente também alternada.

Fonte: O próprio autor.

Pela Figura 9, pode-se observar que o potencial alternado é aplicado sobre uma região pequena da curva quase-linear, prevista pela equação de Butler-Volmer, em que o sistema é considerado em estado estacionário (BARD; FAULKNER, 2000; TICIANELLI; GONZÁLEZ, 2005). É também notável que a corrente elétrica alternada é consequência direta da aplicação de potencial alternado, mas convém observar que a única variável neste sistema é a frequência. Logo, o potencial contínuo aplicado e a resposta de corrente alternada são as mesmas do início até o final do experimento, sendo este mais um exemplo de técnica eletroquímica no estado estacionário (COGGER; WEBB, 1999; GABRIELLI, 1998; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). Caso o potencial (ou corrente) CC varie durante o experimento, ocorre o que se chama dispersão dos pontos do espectro e, neste caso, considera-se o sistema em “evolução”, ou seja, fora do estado estacionário.

É possível representar a impedância, Z , a partir de vetores em um plano de Argand-Gauss aplicando-se números complexos, sendo representada por

$$Z = Z' - iZ'' \dots\dots\dots \text{Equação 6}$$

em que Z representa o número complexo, Z' a parte real, Z'' a parte imaginária e i o número imaginário ($i = \sqrt{-1}$) e j é a densidade de corrente, conforme a notação adotada pela IUPAC (SLUYTERS-REHBACH, 1994). A representação do espectro utilizando números complexos possui o nome de diagrama de Nyquist, cujo nome remete ao engenheiro da Bell Laboratories que desenvolveu o modo de exibição deste gráfico (WIKIPEDIA, 2002). A Figura 10 mostra o diagrama de Nyquist comum em diversos sistemas eletroquímicos.

Figura 10 – Representação sem escalas do diagrama de Nyquist para um circuito RC em paralelo (ou circuito de Randles). No canto superior esquerdo da figura está indicado o sentido de diminuição da frequência. Também estão indicados o vetor impedância a partir da origem do gráfico, além do módulo da impedância $|Z|$ e o ângulo de fase φ . Em destaque, o ponto do espectro que apresenta a frequência máxima, $\omega_{máx}$. Z' a parte real do gráfico e Z'' a parte imaginária (SLUYTERS-REHBACH, 1994).

Fonte: O próprio autor.

Apesar da representação espectral de Nyquist ser a mais utilizada nos trabalhos que utilizam impedância, é possível obter outra representação em função do logaritmo da frequência, cujos diagramas são chamados de Bode, referência a outro pesquisador da área de telecomunicações da Bell Laboratories que desenvolveu este tipo de gráfico (WIKIPEDIA, 2014). Quando o logaritmo do módulo e o ângulo de fase são colocados em função do logaritmo da frequência, são mostrados dois tipos de gráficos distintos. As representações são mostradas na Figura 11.

Figura 11 – Representação sem escalas dos gráficos de Bode em função de $\log |Z|$ (sigmoidal) e do ângulo de fase ϕ (gaussiana) para o espectro da Figura 10.

Fonte: O próprio autor.

As representações de Bode possuem vantagens em relação à representação de Nyquist. Uma delas consiste em saber o número de eventos que ocorrem durante o experimento, que pode ser representado pelo número de patamares no gráfico de $\log |Z|$ vs $\log f$, ou o número de picos no gráfico de ângulo de fase, coisa que pode ser difícil identificar nos gráficos de Nyquist, e o formato dos gráficos pode também traduzir qual tipo de evento está ocorrendo na interface eletrodo/solução. Mais adiante serão apresentados alguns tipos de eventos bastante comuns e, suas respectivas representações de Nyquist e Bode. Um modelo bastante utilizado é a aplicação de circuitos equivalentes para explicar os fenômenos eletroquímicos. Um modelo bastante utilizado é a aplicação de circuitos equivalentes para explicar os fenômenos eletroquímicos.

O tratamento matemático para impedância eletroquímica é idêntico àquele que os livros-texto de eletricidade básica demonstram (HALLIDAY; RESNICK; KRANE, 2004). É possível associar os fenômenos observados na interface eletrodo/solução a alguns circuitos, tais como alguns descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Alguns circuitos equivalentes comumente utilizados em EIE.

Fonte: (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008)

Fenômeno	Circuito equivalente	Representação	Equação da impedância associada
Resistor	Resistor (R)		$Z_R = R_o$
Capacitor	Capacitor (C)		$Z_C = \frac{1}{j\omega C}$
Resistividade/capacitância	Elemento de fase constante (Q ou CPE)		$Z_{Q/CPE} = \frac{R_o}{(j\omega)^\eta}$
Difusão	Elemento de Warburg (W)		$Z_W = \frac{R_o}{\sqrt{j\omega}}$

* η = coeficiente do elemento de fase constante que varia entre 0 (para um resistor) e 1 (para um capacitor)

Os fenômenos eletroquímicos podem ser analogamente associados aos circuitos equivalentes correspondentes. Os dois circuitos mais utilizados são o circuito RC para determinação da resistência da solução e da resistência à polarização, também chamada de resistência de transferência de carga (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). Quando o sistema eletroquímico apresenta comportamento difusional, utiliza-se o sistema RC em paralelo com W, que é o elemento de Warburg para difusão, já descrito em livros-texto sobre impedância (BARD; FAULKNER, 2000; MANSFELD, 1999; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). Convém lembrar que a utilização dos circuitos equivalentes em eletroquímica deve ser considerada como análoga ao sistema elétrico, uma vez que, para a descrição dos fenômenos que ocorrem na interface eletrodo/solução, é necessário introduzir outras grandezas, como concentração e resistência do eletrólito, pH da solução, área ativa do eletrodo, etc., grandezas estas, que não são previstas no modelo puramente elétrico.

1.4.1. ASPECTOS EXPERIMENTAIS DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

Sendo a espectroscopia de impedância eletroquímica uma técnica em estado estacionário, existem três regras a serem seguidas (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008):

1. Casualidade: a resposta de saída de um sinal eletroquímico (corrente ou potencial) não pode preceder a entrada desse mesmo sinal;
2. Estabilidade: a resposta de saída de um sinal eletroquímico (corrente ou potencial) não pode variar em função do tempo;
3. Linearidade: sob as condições de casualidade e estabilidade, o sinal eletroquímico senoidal de baixa amplitude aplicado ao sistema (corrente ou potencial) irá gerar uma resposta também senoidal e de baixa amplitude.

Sendo assim, é de caráter obrigatório a otimização dos parâmetros experimentais para manutenção a linearidade do sistema, para não perder o caráter de estado estacionário (GABRIELLI, 1998). A amplitude largamente utilizada em experimentos de impedância eletroquímica é de 10 mV, apesar de outros experimentos serem conduzidos a amplitudes menores ou maiores. Contudo, a utilização da amplitude correta, sem perda da linearidade do sistema, como foi dito anteriormente, depende do sistema estudado. As voltametrias cíclica e linear são as primeiras ferramentas para caracterização do sistema, pois as regiões do voltamograma em que existe a presença ou ausência de processos eletroquímicos podem direcionar o valor da amplitude ideal. Se o experimento de impedância for conduzido, por exemplo, no potencial de meia-onda, o valor de amplitude deve ser o menor possível, uma vez que o aumento indiscriminado desta grandeza pode atingir o valor de potencial de pico, deslocando o sistema para uma situação não-linear, ou evolui-lo. Sendo assim, é importante determinar experimentalmente o valor de amplitude para garantir a linearidade do sistema. A Figura 12 mostra um exemplo de determinação experimental de amplitude a partir do módulo da impedância.

Figura 12 – Razão dos módulos de impedância em função da amplitude aplicada. A curva ① foi determinada a 10 Hz para ferro ativo em meio sulfúrico, enquanto a curva ② representa níquel passivo em meio sulfúrico a 40 Hz.

Fonte: Cortesia Solarton Analytical (GABRIELLI, 1998).

A região das curvas paralelas ao eixo das abscissas representa o intervalo de valores de amplitude em que os sistemas continuarão em regime linear (ou estacionário); a derivação das curvas demonstra que os sistemas entraram em regime não linear, em que foi violada uma (ou todas) das condições de linearidade, estabilidade e casualidade.

O teste em que se detecta a existência de violação das condições de linearidade, estabilidade e causalidade é o teste de Krammers-Kronning, um teste estatístico em que se utiliza um circuito de Voigt modificado (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008), mostrado na Figura 13.

Figura 13 – Circuito de Voigt modificado para aplicação do teste de Kramers-Kronig. Os elementos do circuito possuem as nomenclaturas usuais, enquanto n representa o número de circuitos RC utilizados. Via de regra, n é igual ao número de frequências utilizadas no experimento.

Fonte: próprio autor a partir da referência da literatura (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008).

O teste de Kramers-Kronig (KK) é baseado no teorema residual de Cauchy (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008), em que se considera uma integral de linha de funções analíticas; em nosso caso, a função analítica é o número complexo utilizado para calcular a impedância do eletrodo frente à reação eletroquímica. A explicação detalhada das equações que regem o teste de KK para o sistema eletroquímico foge do escopo desta tese, uma vez que o entendimento delas é bastante difícil e requer um conhecimento prévio de análise de funções complexas e de transformadas de Fourier, assunto abordado em livros de impedância eletroquímica (MACDONALD, 1992; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). Contudo, convém saber que o teste de KK consegue transformar os valores de impedância da parte real em valores de impedância de parte imaginária, e vice-versa, utilizando o circuito de Voigt mostrado na Figura 13. Os resultados matemáticos do teste de KK são cruzados com as iterações (ou aproximações sucessivas) dos circuitos de Voigt com os resultados experimentais, e quando há convergência dos resultados, o teste é concluído. Quando há comparação do modelo de KK com os resultados experimentais, calcula-se o erro relativo e assim é possível determinar se o sistema está ou não satisfazendo as condições de linearidade, casualidade e estabilidade. Contudo, teste positivo de KK é condição necessária, mas não suficiente para satisfação das condições de casualidade, estabilidade e linearidades.

Um outro ponto a se considerar, à luz das condições de estado estacionário, é o arranjo que o experimento de EIE exige. É obrigatório que as células e eletrodos possuam reprodutibilidade de posição, uma vez que a impedância

medida é a somatória de todas as impedâncias do sistema eletroquímico em estudo (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). Além disso, é preciso isolar a célula eletroquímica das interferências elétricas de rede, utilizando a gaiola de Faraday, que anula o campo elétrico dentro dela, conforme a aplicação da lei de Gauss em superfícies condutoras eletrizadas (HALLIDAY; RESNICK; KRANE, 2004). Para o funcionamento pleno da gaiola de Faraday, é de caráter obrigatório que a mesma esteja aterrada. A Figura 14 mostra a gaiola de Faraday utilizada nos experimentos de EIE.

Figura 14 – Célula eletroquímica inserida em uma gaiola de Faraday. Dentro dela foi colocada uma estante universal pequena, para manter fixa a célula eletroquímica.

Fonte: o próprio autor.

1.4.2. A INTERPRETAÇÃO DOS ESPECTROS DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA EXPERIMENTAIS

Esta parte da introdução dirá respeito à interpretação dos espectros de impedância experimentais. Os espectros aqui gerados foram simulados utilizando as equações de impedância características para os circuitos equivalentes estudados, em intervalos de frequência diferentes para cada caso. O modo de construí-los, bem como o cálculo dos valores de módulo de amplitude e ângulo de fase através do Excel®, encontram-se descritos no Apêndice A desta tese.

Caso 1: sistema RC em série

Quando o circuito equivalente representativo da interface eletrodo/solução possui um sistema RC linear, como mostrado na Figura 15A, o espectro de impedância característico é paralelo ao eixo de impedância imaginária, como mostrado na Figura 15B. Isso pode ser entendido como ausência de eletrólito de suporte ou a concentração do mesmo é insuficiente, causando efeitos ôhmicos que impedem o estudo da reação eletroquímica. Também o espectro obtido da Figura 15B pode ser entendido da seguinte forma: a queda ôhmica pela ausência de eletrólito de suporte faz mascarar a resistência à transferência de carga da reação eletroquímica, tornando-a maior do que realmente é. Assim, a resistividade tende ao infinito, formando um arco tão grande dentro do intervalo de frequência que seria necessário uma frequência muitas ordens de grandeza maior para poder visualizá-la. Raciocínio semelhante pode ser aplicado num sistema em que o eletrodo esteja absolutamente passivado.

Figura 15 – Representação de um sistema RC em série (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), utilizando $C_{dl} = 10^{-6} f$ e $R_u = 100 \Omega$. Fonte: o próprio autor.

Caso 2: sistema RC em paralelo

Quando a resistência à transferência de carga possui um valor definido, o circuito equivalente possui um elemento resistivo chamado resistência à transferência de carga (R_{ct}), representando a reação eletroquímica em si. Havendo a resistência de transferência de carga, o espectro resultante é um semi-círculo. O ponto inicial do espectro, na região de altas frequências representa a resistência da solução, R_s (também chamada de resistência não compensada, R_u), e a resistência à transferência de carga, calculado na região do espectro em baixas frequências, representa a soma das resistências de transferência de carga e da solução ($R_u + R_{ct}$). Sabendo-se R_u , pode-se determinar R_{ct} .

Quando um sistema eletroquímico é caracterizado como RC, significa dizer que as regiões de alta frequência refletem os processos de dupla camada elétrica,

sempre muito rápidos (BARD; FAULKNER, 2000; BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993), enquanto que na região de baixa frequência já acontecem os processos eletroquímicos de transferência de carga, representados por R_{ct} (BARD; FAULKNER, 2000; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). A Figura 16 mostra o circuito equivalente do sistema, bem como os espectros de Nyquist e de Bode.

Figura 16 – Representação de um sistema RC em série (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), utilizando utilizando $C_{dl} = 10^{-6} f$, $R_u = 100 \Omega$ e $R_{ct} = 1000 \Omega$.

Fonte: o próprio autor.

O ponto máximo do espectro de impedância é representado pela frequência máxima, $\omega_{m\acute{a}x}$, possui a seguinte equação:

$$\omega_{m\acute{a}x} = \frac{1}{R_{ct}C_{dl}} \dots\dots\dots \text{Equação 7}$$

em que $\omega_{\text{máx}}$ é a frequência máxima, em hertz, do espectro estudado, R_{ct} a resistência à transferência de carga em ohms e C_{dl} a capacitância da dupla camada elétrica em farad ($1 \text{ farad} = 1 \text{ C V}^{-1}$). Convém observar que esta equação é aplicada somente nos casos em que haja um circuito RC para o sistema eletroquímico estudado. A determinação da frequência máxima é útil experimentalmente, pois a variação da altura do espectro está correlacionada diretamente à cinética da reação, pois a constante de reação eletroquímica é inversamente proporcional à resistência de transferência de carga. Portanto, valores menores de R_{ct} fazem aumentar o valor de $\omega_{\text{máx}}$, o que faz diminuir também o tamanho do espectro, como mostrado na Figura 17 abaixo.

Figura 17 – Exemplo de dois espectros com mesmo valor de C_{dl} e R_u variando-se os valores de R_{ct} . Os valores máximos de frequência de ambos os espectros são destacados.

Fonte: o próprio autor.

Caso 3: sistema RC em paralelo com difusão linear semi-infinita em macroeletrodos

Quando há um processo eletroquímico com controle difusional, surge um novo elemento a ser incorporado: o elemento de Warburg, considerando-se o modelo difusional cottrelliano (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008). A impedância deste elemento é calculada pela Equação 8 (BARD; FAULKNER, 2000; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008):

$$Z_w = \frac{R_o}{\sqrt{\omega}} - i \frac{R_o}{\sqrt{\omega}} \dots\dots\dots \text{Equação 8}$$

em que Z_w representa a impedância de difusão em ohms, R_o o coeficiente de Warburg em $\text{ohm s}^{-1/2}$, i o número complexo e ω a frequência em hertz. O coeficiente de Warburg é calculado a partir da Equação 9:

$$R_o = \frac{RT}{An^2F^2\sqrt{2}} \left(\frac{1}{D_{oxi}^{\frac{1}{2}}C_{Oxi}} + \frac{1}{D_{red}^{\frac{1}{2}}C_{Red}} \right) \dots\dots\dots \text{Equação 9}$$

em que as grandezas da Equação 9 possuem seus significados habituais. Considerando uma reação reversível monoeletrônica ($Oxi + e^- \rightleftharpoons Red$), $C_{Oxi} = C_{Red} = C$, $D_{Oxi} = D_{Red} = D$, e considerando θ a razão entre as concentrações das espécies eletroquímicas oxidadas e reduzidas, a Equação 9 se reduz à Equação 10.

$$R_o = \frac{RT}{AF^2\theta\sqrt{2D}} \dots\dots\dots \text{Equação 10}$$

Como é um elemento de fase constante, é possível perceber que o elemento de impedância de difusão aparece na região de baixas frequências, e existe uma região linear cujo coeficiente angular possui valor igual a 1. Isso significa que o ângulo de fase nesse domínio de frequências mudou em 45° , refletido no valor de coeficiente angular da região linear do espectro, que representa a região de transferência de carga controlada por difusão. O circuito equivalente, mostrado na Figura 18A, está em série com a resistência à transferência de carga, e a Figuras 18B e 18C mostram os espectros simulados de Nyquist e Bode para este sistema.

Figura 18 – Representação de um sistema RC em série contendo o elemento de Warburg W, (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), mostrando a região de relaxação da dupla camada elétrica e transferência de carga (I) e região difusional (II), utilizando $C_{dl} = 10^{-6} \text{ f}$, $R_u = 100 \text{ } \Omega$, $R_{ct} = 1000 \text{ } \Omega$ e $R_w = 100 \text{ } \Omega$.

Fonte: o próprio autor.

Caso 4: sistema com mais de um arco capacitivo

Quando um espectro experimental apresenta mais de um arco capacitivo, significa dizer que possui dois ou mais processos eletroquímicos concatenados. Esses processos são diferenciados entre si, evidentemente, pelos valores de $\omega_{\text{máx}}$. Uma outra denominação para este valor é chamada constante de tempo, termo idêntico àquele utilizado para os circuitos RC em um sistema eletrônico (HALLIDAY; RESNICK; KRANE, 2004). Sendo assim, cada constante de tempo

representa um processo eletroquímico na interface eletrodo/solução, observado no espectro de impedância. Este modelo pode ser aplicado a materiais porosos como tintas, ou mesmo para reações eletroquímicas de múltiplas etapas. A Figura 19 mostra o circuito equivalente para o sistema estudado, bem como os espectros oriundos deste circuito.

Figura 19 – Representação de um sistema RC em série (A), o espectro de Nyquist (B) e Bode correspondentes (C), utilizando $C_{dl1} = 10^{-6} f$, $C_{dl2} = 10^{-5} f$, $R_u = 100 \Omega$, $R_{ct1} = 100 \Omega$ e $R_{ct2} = 300 \Omega$. Fonte: o próprio autor.

1.4.3. POTENCIOMETRIA EM CIRCUITO ABERTO

O potencial de circuito aberto (*open circuit potential*, sigla em inglês comumente utilizada em eletroquímica juntamente com seu acrônimo OCP) nada mais é do que a aplicação de potenciometria em um sistema de eletrodos contendo eletrodo de trabalho e eletrodo de referência (BARD; FAULKNER, 2000; SKOOG et al., 2003), sendo o contato do contra-eletrodo colocado em curto em relação ao contato do eletrodo de referência. Assim, o eletrodo indicador será propriamente o eletrodo de trabalho. Como parte da termodinâmica (PILLA, 1980), a potenciometria segue as mesmas leis daquela mas aplicado aos fenômenos eletroquímicos. Sendo assim, a equação mais importante da termodinâmica eletroquímica é a equação de Nernst (BARD; FAULKNER, 2000; PILLA, 1980; SKOOG et al., 2003), no qual é derivada da equação da energia de Gibbs constituinte de uma determinada reação química:

$$\Delta_r G = \Delta_r G^o + RT \ln \frac{\prod_n a_R}{\prod_k a_P} \dots\dots\dots \text{Equação 11}$$

em que $\Delta_r G$ é a variação de energia de Gibbs da reação, $\Delta_r G^o$ a variação de energia de Gibbs padrão e $RT \ln \frac{\prod_n a_R}{\prod_k a_P}$ o produto entre a constante dos gases ideais e a temperatura do sistema e o logaritmo da razão dos produtos das concentrações do n -ésimo reagente consumido e do k -ésimo produto formado. Substituindo na Equação 11 a equação fundamental da eletroquímica (BARD; FAULKNER, 2000; PILLA, 1980; TICIANELLI; GONZÁLEZ, 2005):

$$\Delta_r G^o = -nF\mathcal{E}^o \dots\dots\dots \text{Equação 12}$$

ao fazer as devidas correções algébricas e conversões de base logaritmica, a Equação 11 torna-se:

$$\mathcal{E} = \mathcal{E}^o + \frac{0,05916}{n} \log \frac{\prod_n a_R}{\prod_k a_P} \dots\dots\dots \text{Equação 13}$$

em que a Equação 13 é a conhecida equação de Nernst (BARD; FAULKNER, 2000; PILLA, 1980). Considerando $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$, $R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$,

$T = 298,15 \text{ K}$ e $\ln x = 2,303 \log x$, obtêm-se o valor $\frac{0,05916}{n}$. A unidade obtida é em volts, e n representa o número de elétrons envolvidos. Existem muitas aplicações para equação de Nernst para os já citados eletrodos de trabalho, mas o eletrodo mais utilizado pelos químicos é o eletrodo de pH, já descrito nos livros-texto de química analítica e físico-química (BARD; FAULKNER, 2000; PILLA, 1980; SKOOG et al., 2003).

OBJETIVOS

Tendo em vista, que muitas conclusões acerca do mecanismo de oxidação eletroquímica da cafeína são equivocadas, uma vez que não são suportadas por dados experimentais, os objetivos desta tese foram:

2. i) Estudar os processos de oxidação eletroquímicos da CAF, bem como de outros compostos da classe das xantinas, tais como TB, TF e XA. As técnicas eletroquímicas aplicadas para este fim foram a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada e cronoamperometria;
- ii) Avaliar a possibilidade de tratar o eletrodo de carbono vítreo em solução de CAF para obtenção de uma superfície modificada que possa ser utilizada na própria detecção de CAF.

MATERIAIS E MÉTODOS

REAGENTES UTILIZADOS

Todos os reagentes utilizados foram de grau PA e utilizados sem purificação prévia, Tabela 4.

3.

3.1.

Tabela 4 – Reagentes utilizados neste trabalho.

Reagente	Procedência	Código CAS
Ácido acético glacial	Merck	64-19-7
Ácido bórico	Merck	10043-35-3
Ácido fosfórico	Merck	7664-38-2
Cafeína	Sigma-Aldrich	58-08-2
Cloreto de potássio	Sigma-Aldrich	7447-40-7
Dimetil sulfóxido	Merck	67-68-5
Ferricianeto de potássio	Merck	13746-66-2
Gás nitrogênio	Oxiteno	7727-37-9
Hidróxido de sódio	Merck	1310-73-2
Teobromina	Sigma-Aldrich	83-67-0
Teofilina	Sigma-Aldrich	58-55-9
Tetrafluorborato de tetrametilamônio	Sigma-Aldrich	429-42-5
Xantina	Sigma-Aldrich	69-89-6

SISTEMA DE ELETRODOS

Foi utilizada uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos: eletrodo de carbono vítreo (ECV) CH Instruments modelo CH-10, eletrodo de referência Ag/AgCl/KCl saturado construído no próprio laboratório, e uma espiral de platina como eletrodo auxiliar. O volume da célula utilizada foi de 25 mL.

INSTRUMENTAÇÃO

3.3.1. EXPERIMENTOS VOLTAMÉTRICOS

3.3. Todos os experimentos voltamétricos foram conduzidos utilizando o potenciostato PGSTAT101 (Metrohm Autolab, Utrecht, Holanda) ou o potenciostato PGSTAT20 (Ecochemie, Utrecht, Holanda), equipado com sistema IME 663 (Ecochemie, Utrecht, Holanda) acoplado a um agitador magnético Metrohm 728 para automação dos experimentos. A aquisição de resultados foi feita utilizando o *software* NOVA versão 1.11.2. As medidas de pH foram efetuadas usando um pH-metro Metrohm modelo 654 acoplado a um eletrodo de vidro, também da Metrohm. A temperatura medida durante os experimentos foi igual a 24 ± 2 °C.

3.3.2. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS UTILIZADAS

Os procedimentos voltamétricos utilizados, bem como os parâmetros aplicados, são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Experimentos voltamétricos utilizados nesta tese com seus respectivos parâmetros aplicados.

Tipo de voltametria	Parâmetros	Intervalo de potencial
Onda quadrada	$f = 25 \text{ s}^{-1}$ $a = 20 \text{ mV}$ $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ $(v = 125 \text{ mV s}^{-1}; \text{estudo eletroquímico da CAF em meio não aquoso e levantamento da curva de calibração da CAF em meio aquoso})$	$0,1 \text{ V até } 1,5 \text{ V}$ <i>(versus Ag/AgCl, para estudo eletroquímico da CAF em meio não aquoso)</i> $0,0 \text{ V até } 1,6 \text{ V}$ <i>(versus Ag/AgCl/KCl sat., para levantamento da curva de calibração da CAF)</i>
Pulso diferencial	$t_{\text{mod}} = 5 \text{ ms}$ $t_{\text{int}} = 1000 \text{ ms}$ $a = 5 \text{ mV}$ $(v = 5 \text{ mV s}^{-1}; \text{parâmetros aplicados para determinação de número de elétrons})$	$0,0 \text{ V até } 1,6 \text{ V}$ <i>(versus Ag/AgCl/ KCl sat.)</i>
Cíclica	$v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ $(\text{para estudos de variação de pH, modificação do eletrodo, medições em meio não aquoso e determinação dos potenciais para medições cronoamperométricas})$ $10 \leq v \leq 1000 \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$ $(\text{para estudos de velocidade de varredura})$ $10 \leq v \leq 100 \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$ $(\text{para determinação de área ativa})$	$E_i = E_f = 1,1 \text{ V},$ $E_\lambda = 1,6 \text{ V}$ <i>(versus Ag/AgCl/ KCl sat., para modificação o eletrodo)</i> $E_i = E_f = 0,1 \text{ V}$ $E_\lambda = 1,5 \text{ V}$ <i>(versus Ag/AgCl, para estudo da CAF em meio não aquoso)</i> $E_i = E_f = 0,6 \text{ V},$ $E_\lambda = 1,6 \text{ V}$ <i>(versus Ag/AgCl/ KCl sat., para outros estudos voltamétricos)</i> $E_i = E_f = -0,2 \text{ V},$ $E_\lambda = 0,6 \text{ V}$ <i>(versus Ag/AgCl/ KCl sat., para determinação de área ativa)</i>

3.3.3. CÁLCULO DO NÚMERO DE ELÉTRONS UTILIZANDO VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL

O cálculo do número de elétrons por voltametria de pulso diferencial foi efetuado usando a largura de pico de oxidação à meia altura de corrente de pico (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993), de acordo com a Equação 14,

$$w_{\frac{1}{2}} = 3,52 \frac{RT}{nF} \dots\dots\dots \text{Equação 14}$$

em que $w_{1/2}$ (V) é a largura à meia altura da corrente de pico, enquanto as outras variáveis possuem seus significados habituais. Quando $T = 298,15$ K, $R = 8,314$ J mol⁻¹ K⁻¹ e $F = 96485$ C mol⁻¹, a Equação 14 se reduz a:

$$w_{\frac{1}{2}} = \frac{0,090}{n} \dots\dots\dots \text{Equação 15}$$

A utilização da Equação 15 é válida somente para pequenos valores de amplitude para evitar distorção dos voltamogramas (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993).

3.3.4. ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

Visando estudar a adsorção de CAF no eletrodo de trabalho, experimentos de espectroscopia de impedância eletroquímica foram conduzidos em gaiola de Faraday utilizando intervalo de frequência de 40 kHz até 45 mHz (distribuição logarítmica), utilizando dez pontos por década de frequência. A sonda eletroquímica utilizada foi ferricianeto de potássio 1 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹. Para determinar o valor de amplitude no qual não causasse evolução do sistema (ou o valor de amplitude que não perturbaria o estado estacionário), foram realizados experimentos de impedância variando o valor de 1 até 100 mV, enquanto que o valor de potencial aplicado foi também variado entre 110 e 350 mV, como mostram as setas verticais na Figura 20.

É importante frisar que o experimento de espectroscopia de impedância eletroquímica é extremamente sensível às variações externas, tais como: posição dos eletrodos, posição da célula e arranjo dos cabos do potenciostato, por

exemplo. Sendo assim, utilizou-se dentro da gaiola de Faraday uma estante pequena para fixar a posição da célula eletroquímica, bem como a demarcação das posições dos eletrodos dentro da gaiola, garantindo a reprodutibilidade do sistema.

Figura 20 – Voltamograma cíclico obtido em solução de ferricianeto de potássio 1 mmol L^{-1} em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$) em eletrodo de carbono vítreo polido, indicando os potenciais aplicados em espectroscopia de impedância eletroquímica (A) e circuito equivalente utilizado para o tratamento dos dados de impedância, a saber: CPE (elemento de fase constante), R_{ct} (resistência à transferência de carga), R_{diff} (resistência à difusão calculado por elemento Warburg) e R_e (resistência do eletrólito) (B).

Fonte: o próprio autor.

3.3.5. POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO

Os experimentos de OCP foram conduzidos em gaiola de Faraday, levando-se em consideração os mesmos cuidados tomados no experimento de EIE. O tempo de experimento foi igual a 3600 segundos. Os eletrodos estudados por OCP foram o eletrodo polido (p-ECV), modificado em tampão Britton-Robinson (BR-ECV) e em CAF (CAF-ECV), conforme será descrito nas seções 3.5.1., 3.5.2. e 3.5.3. O eletrólito de suporte utilizado foi tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4,0, utilizando o eletrodo Ag/AgCl/KCl sat. como eletrodo de referência.

3.3.6. CRONOAMPEROMETRIA

A determinação experimental o número de elétrons foi efetuada utilizando-se cronoamperometria (BARD; FAULKNER, 2000). A primeira etapa consiste na aplicação de um valor de potencial em que não há reação eletroquímica, para estabilização de corrente de fundo; em seguida, a segunda etapa consiste na aplicação de potencial em que ocorre a reação eletroquímica, normalmente valores iguais ou circunvizinhos aos de $E_{1/2}$ (ZOSKI, 2007). Para efeito de comparação, foi utilizada a concentração de 0,5 mmol L⁻¹ de CAF em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ para este experimento. Neste trabalho, a primeira etapa consistiu na aplicação de 0,6 V por cinco segundos, sendo aplicado em seguida um segundo potencial relacionado à região de regime difusional do voltamograma cíclico (ZOSKI, 2007), obtido individualmente para cada uma das xantinas estudadas. Os potenciais utilizados foram escolhidos por voltametria cíclica, utilizando as condições descritas na Tabela 5. Todos os experimentos cronoamperométricos foram conduzidos em gaiola de Faraday, observando-se os mesmos cuidados experimentais aplicados nos experimentos de impedância. De acordo com a equação de Cottrell, Equação 16, tem-se:

$$i_{lim} = \frac{nFA\sqrt{D_0C}}{\sqrt{\pi t}} \dots\dots\dots \text{Equação 16}$$

Multiplicando-se o numerador e denominador por $t^{-1/2}$ e considerando que, a equação de Cotrell pode ser reescrita na forma da Equação 17.

$$i_{lim} = 54435,8 \times nA\sqrt{D_o}t^{-\frac{1}{2}}C \dots\dots\dots \text{Equação 17}$$

De acordo com a Equação 17, o coeficiente angular do gráfico i vs C , dado pela Equação 18, é utilizado para o cálculo do número de elétrons, n , usando uma planilha do Microsoft Excel®¹. Experimentalmente, o valor de tempo utilizado foi $(t-t_0)^{-1/2}$, para normalizar o tempo da segunda etapa do experimento cronoamperométrico. Desse modo, o coeficiente angular pode ser calculado pela Equação 18.

$$\left(\frac{\partial i_{lim}}{\partial C}\right) = 54435,8 \times nA\sqrt{D_o}(t - t_0)^{-\frac{1}{2}} \dots\dots\dots \text{Equação 18}$$

A região linear das curvas i_{lim} versus $(t-t_0)^{-1/2}$ foi determinada para cada composto estudado, na região inicial deste gráfico. Um exemplo da determinação da região linear é mostrado na Figura 21. Após a determinação da região linear, foi selecionado um valor de $(t-t_0)^{-1/2}$ a ser colocado na Equação 18 para determinação do número de elétrons na reação de oxidação eletroquímica das xantinas.

¹ Sendo o Excel® uma marca registrada Microsoft®, a menção do *software* e das capturas da tela nesta tese possuem finalidade meramente acadêmica e não-comercial, conforme a lei de *copyright (fair use)* aprovada nos E.E. U.U., sob o n. 94-553 de 19 de outubro de 1976. No Brasil, a citação parcial do *software* para fins didáticos não constitui ofensa para o criador do mesmo, cf. o artigo 6º da Lei nº 9.609 (BRASIL, 1998).

Figura 21 – Exemplo de determinação da região linear da curva I versus $(t-t_0)^{-1/2}$ sem escala, destacando-se a região de Cottrell. A região linear destacada é aquela na qual a reação eletroquímica é controlada por difusão, enquanto que a derivação da reta corresponde à região da relaxação da dupla camada elétrica devido à aplicação de potencial no início do experimento.

Fonte: o próprio autor.

3.3.7. DETERMINAÇÃO DA ÁREA ATIVA DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

Para determinação de área ativa, utilizou-se o método clássico de Randles-Ševčík para processos reversíveis (BARD; FAULKNER, 2000; ZOSKI, 2007). A sonda eletroquímica utilizada para este experimento foi ferricianeto de potássio $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ dissolvido em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. De acordo com a equação de Randles-Ševčík (BARD; FAULKNER, 2000; ZOSKI, 2007), tem-se, a 25°C :

$$\pm I_p = 2,69 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} A D_o^{\frac{1}{2}} C^* v^{\frac{1}{2}} \dots\dots\dots \text{Equação 19}$$

em que I_p representa a corrente de pico anódica (+) ou catódica (-), n o número de elétrons, A a área ativa (cm^2), D_o o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), concentração da espécie eletroativa (mol cm^{-3}) e a velocidade de varredura (V s^{-1}). A 25°C e em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, o coeficiente de difusão considerado para o ferricianeto de potássio foi $7,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (KONOPKA; MCDUFFIE, 1970). A reação eletroquímica de redução do ferricianeto a ferrocianeto em solução é dada pela Equação 22 (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993):

A área ativa do eletrodo foi determinada substituindo os valores dos parâmetros adequados, com suas respectivas unidades, na Equação 20.

3.3.8. ESPECTROFOTOMETRIA

Os experimentos espectrofotométricos foram realizados num um espectrofotômetro HP 8453 interfaciado a um microcomputador, sendo os dados obtidos utilizando o software HP ChemStation. Os espectros foram registrados em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4,0 utilizando cubeta de quartzo de 1,0 mL com caminho óptico de 1,0 cm, termostatizada em Peltier HP 89090A, em temperatura de 25° ± 3° C.

SOLUÇÕES

3.4.1. ELETRÓLITOS DE SUPORTE

Para o estudo de pH, utilizou-se o tampão Britton-Robinson preparado com 3.4.1 misturas equimolares de ácido acético, ácido fosfórico e ácido bórico (BRITTON; ROBINSON, 1931), 0,4 mol L⁻¹. A solução tampão inicial foi estocada em frasco plástico em local seco ao abrigo da luz solar. As soluções no valor de pH desejado foram obtidas por neutralização da solução estoque com NaOH 4,0 mol L⁻¹; soluções-tampão na faixa de $2,0 \leq \text{pH} \leq 10$ ($\Delta\text{pH} = 1,0$) foram utilizadas. Em meio não-aquoso, utilizou-se solução de tetrafluorborato de tetrabutilamônio (TBABF₄) 0,1 mol L⁻¹ em dimetilsulfóxido (DMSO), uma vez que em meio aquoso os produtos da oxidação eletroquímica de compostos orgânicos podem sofrer uma reação química acoplada de adição nucleofílica (SAVÉANT, 2006), reação esta, que pode dificultar a interpretação dos resultados. A obtenção de dados em meio não-aquoso é importante para eliminar esta etapa e complementar os resultados obtidos em meio aquoso. Para este estudo, utilizou-se um fio de prata recoberto com cloreto de prata como pseudo-referência, havendo diferença de 300 mV de potencial deste eletrodo *versus* Ag/AgCl/KCl sat.

PROCEDIMENTOS APLICADOS

3.5.1. LIMPEZA DO ECV

Foi utilizado um feltro de polimento colocando-se algumas gotas de suspensão 1:1 alumina:água, 1,0 micra. Após polir trinta vezes, a superfície foi lavada com água deionizada e secada com jato de gás nitrogênio. O eletrodo de carbono vítreo submetido apenas a polimento superficial foi denominado p-ECV.

3.5.2. PROCEDIMENTO DE MODIFICAÇÃO DO ECV EM TAMPÃO BR (BR-ECV)

Após proceder a limpeza do ECV, este foi colocado em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4,0. Utilizando voltametria cíclica, foram realizados vinte ciclos a 100 mV s⁻¹ na seguinte janela de potencial: $E_i = E_f = 1,1$ V, $E_\lambda = 1,6$ V. Ao término do experimento o ECV modificado em tampão BR foi cuidadosamente secado com jato de gás nitrogênio, sendo este eletrodo denominado BR-ECV.

3.5.3. PROCEDIMENTO DE MODIFICAÇÃO DO ELETRODO EM SOLUÇÃO DE CAFEÍNA (CAF-ECV)

O procedimento aplicado foi idêntico ao mostrado na seção anterior, mas em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4,0 contendo 1,0 mmol L⁻¹ de CAF. Ao término do experimento o ECV modificado em CAF foi cuidadosamente secado com jato de gás nitrogênio, e denominado de CAF-ECV.

3.5.4. CÁLCULO DO VOLUME MOLAR DA CAF A PARTIR DO MÉTODO DE VAN DER WAALS

O valor de Volume Molar foi determinado computacionalmente utilizando o software ChemAxon MarvinBeans Academic Version 16.8.8. Após desenhar a molécula no programa, este determina qual seria a conformação da molécula que possui menor valor de energia livre de Gibbs (processo de geometrização). Após esta etapa, o programa calcula o Volume Molecular das moléculas geometrizadas a partir de um algoritmo baseado no método de van der Waals (CHEMAXON, 2016). Neste modelo o programa assumiu que todos os átomos em questão são esféricos, e o raio de van der Waals não varia com as condições ambientais. A equação utilizada pelo programa para o cálculo do volume molecular é:

$$\psi^2 = C^2 \exp\left(-\frac{2\sqrt{m_e\theta}}{\hbar} r\right) \dots\dots\dots \text{Equação 21}$$

em que ψ^2 representa a densidade eletrônica a uma distância r a partir do núcleo atômico de um átomo hidrogenóide, m_e a massa de repouso do elétron, θ a primeira energia de ionização do átomo considerado, $\hbar$ a constante de Planck dividida por 2π rad e C^2 uma constante de integração, já que ψ^2 corresponde à integral de densidade de probabilidade de posição ($\int \psi^2 dx = 1$) em toda a extensão do espaço em que o elétron orbita ao redor do núcleo. O programa forneceu o valor de volume molecular em $\text{\AA}^3$, a partir do qual o valor do volume molar em $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ foi calculado utilizando a Equação 22:

$$\bar{V} \text{ (cm}^3 \text{mol}^{-1}) = \frac{\text{Volume molecular (}\text{\AA}^3\text{)}}{1 \text{ molécula}} \times \frac{6,022 \times 10^{23} \text{ moléculas}}{1 \text{ mol}} \times \frac{10^{-24} \text{ cm}^3}{1 \text{ \AA}^3} \dots\dots\dots \text{Equação 22}$$

3.5.5. CÁLCULO DO COEFICIENTE DE DIFUSÃO A PARTIR DO MÉTODO DE WILKE-CHANG

O valor de coeficiente de difusão da CAF e das outras xantinas foi calculado utilizando o método de Wilke-Chang (WILKE; CHANG, 1955), Equação 23:

$$D_o = 7,4 \times 10^{-8} T \frac{\sqrt{\chi M}}{\eta V^{0,6}} \dots\dots\dots \text{Equação 23}$$

em que M é massa molar do solvente em g mol^{-1} , η a viscosidade dinâmica do solvente em cP (considerando um fluido newtoniano), V o volume molar do soluto em $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$, T a temperatura absoluta em K e χ o coeficiente de associação do solvente. Para água, os valores são, para $T = 298,15 \text{ K}$: $\eta = 0,89 \text{ cP}$ e $\chi = 2,6$ e $M = 18,0 \text{ g mol}^{-1}$.

3.5.6. CÁLCULO DE OUTRAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS

De modo similar à Seção 3.5.5., as moléculas das xantinas foram geometrizadas para o menor valor de energia livre de Gibbs. Porém, foi calculada a distribuição das microespécies em função do pH, das espécies existentes entre o intervalo de $1,0 \leq \text{pH} \leq 14$, a $T = 298 \text{ K}$. Para a CAF, foi realizado o cálculo das eletronegatividades individuais dos átomos da molécula, bem como as polarizabilidades individuais e as densidades eletrônicas no HOMO da CAF.

3.5.7. TRATAMENTO E APRESENTAÇÃO DOS DADOS

Foi utilizado o próprio *software* de aquisição de dados eletroquímicos NOVA 1.11.3 (Metrohm Autolab, Utrecht, Holanda) para o tratamento dos dados voltamétricos; para outros experimentos, utilizou-se o *General Purpose Electrochemical System* (GPES) versão 4.9.007. Utilizou-se alisamento Savitsky-Golay nível 2 nos voltamogramas obtidos devido ao ruído de rede elétrica, que o sistema de aterramento e o *no-break* não conseguiram filtrar. Além disso, para obter os parâmetros eletroquímicos a partir dos voltamogramas aplicou-se uma linha de base exponencial, uma vez que o processo de oxidação da CAF está próximo da região de desprendimento de oxigênio e, por causa disto, a aplicação da correção de linha de base linear pode causar perda ou distorção das informações eletroquímicas disponíveis. Os dados obtidos também foram tratados e graficados no *software* OriginPro 9.1 *Academic Version*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando se deseja elucidar o mecanismo de reação eletródica envolvido em um processo eletroquímico, alguns parâmetros, referentes às espécies envolvidas no sistema eletroquímico, devem ser conhecidos. Dentre eles, a área do eletrodo, o coeficiente de difusão das espécies e, para alguns métodos, também o volume molar das espécies envolvidas na reação eletródica. Por este motivo, iniciou-se a seção de resultados e discussão desta tese apresentando os resultados obtidos referentes à determinação dos coeficientes de difusão dos derivados de xantina estudados, e da área ativa do eletrodo.

DETERMINAÇÃO DA ÁREA ATIVA DO ECV

4.1. A Figura 22 mostra os voltamogramas obtidos em solução de ferricianeto de potássio 5,0 mmol L⁻¹ em meio de KCl 1,0 mol L⁻¹, para as velocidades de varredura entre 10 mV s⁻¹ e 100 mV s⁻¹.

Figura 22 – Voltamogramas cíclicos (A) e gráfico da corrente de pico catódica (I_{pc}) e *versus* a raiz quadrada da velocidade de varredura (B). Condições experimentais: $E_i = E_f = -0,2$ V; $E_\lambda = 0,6$ V, $10 \leq v \leq 100$ (mV s⁻¹). Solução utilizada: ferrocianeto de potássio 5 mmol L⁻¹ dissolvido em KCl 0,5 mol L⁻¹, pH = 6,0, com polimento entre medidas.

Equação da reta ($n = 3$, $E_{pc} = 0,226 \pm 0,002$ V):

$$-I_{pc} (\mu A) = (1,66 \pm 0,04) \mu A + (233,6 \pm 2,7 \mu A s^{1/2} V^{-1/2}) \times v^{1/2}$$

Fonte: próprio autor.

Utilizando-se o valor de $7,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (KONOPKA; MCDUFFIE, 1970) para o coeficiente de difusão do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, calculou-se o valor médio da área ativa do eletrodo ($n = 3$) substituindo o coeficiente angular da curva - I_{pc} versus $v^{1/2}$ na Equação 20 (equação de Randles-Ševčík). Os valores calculados foram $0,065 \pm 0,002 \text{ cm}^2$ e $0,063 \pm 0,002 \text{ cm}^2$, neste último caso, utilizando-se o coeficiente de difusão do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, $6,7 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Como os valores foram praticamente iguais (diferença de 3,1 %), utilizou-se o valor de $0,065 \text{ cm}^2$ como área ativa, já que as medições foram feitas em solução de $\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{3-}$. Este valor foi utilizado para calcular os valores de densidade de corrente, j , normalizando além dos os valores de corrente dos voltamogramas, os espectros de impedância, neste caso, multiplicando o valor de impedância pela área ativa do eletrodo ($\Omega \text{ cm}^2$).

DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE DIFUSÃO DAS XANTINAS ESTUDADAS

- 4.2. A molécula de CAF foi desenhada no *software* MarvinBeans, e a geometrização da molécula foi obtida, e a conformação calculada com menor energia, mostrada na Figura 23.

Figura 23 – Moléculas de CAF (A), XA (B), TF (C) e TB (D) geometrizadas na sua conformação de menor energia. Condições experimentais: campo de força *drieding* em hipercampo com explicitação de hidrogênios.

Fonte: o próprio autor.

A Figura 23 mostra as moléculas das xantinas em sua conformação menos energética. É possível observar que essa condição é aquela na qual os ângulos de ligação formados numa molécula causam uma menor repulsão entre os núcleos atômicos da molécula, diminuindo, assim, as energias de repulsão nessas moléculas. A partir desta conformação, os volumes molares foram calculados pelo próprio programa e, de acordo com o mesmo, utilizou método de van der Waals (CHEMAXON, 2016) foi utilizado. Os valores de volume molecular, molar e de coeficiente de difusão são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de coeficiente de difusão calculados pelo método de Wilkie-Chang, a $T = 298,15\text{ K}$ e a partir dos dados obtidos pela geometrização molecular.

Molécula	Volume molecular ($\text{\AA}^3$)	Volume molar ($\text{cm}^3\text{ mol}^{-1}$)	Coeficiente de difusão ($\text{cm}^2\text{ s}^{-1}$)
CAF	164,3	99,0	$1,46 \times 10^{-5}$
TB	146,5	88,2	$1,15 \times 10^{-5}$
TF	146,7	88,3	$1,15 \times 10^{-5}$
XA	111,4	67,1	$1,84 \times 10^{-5}$

Os dados de volume molecular obtidos pelo programa permitiram calcular os valores de volume molar, bem como os valores de coeficiente de difusão de todas as moléculas. Os valores do coeficiente de difusão encontrados na literatura mostram valores, no mínimo, uma ordem de grandeza menor em relação ao valor calculado pelo programa, $7,74 \times 10^{-6}\text{ cm}^2\text{ s}^{-1}$ (PRICE, 1989). Apesar da CAF formar π -complexos por efeito “stacking”, que corresponde à formação de agregados do soluto por interação hidrofóbica planar (KRASNOV, 2011; ORIGLIA-LUSTER; PATTERSON; WOOLLEY, 2002; PRICE, 1989; SINHA et al., 2010; TAVAGNACCO et al., 2011), o que tende a diminuir o coeficiente de difusão, isto depende da concentração em solução, que no caso desta Tese foi $0,5\text{ mmol L}^{-1}$, concentração 20 e 2x menor do que àquelas encontradas na literatura em que o coeficiente de difusão da CAF foi determinado (ORIGLIA-LUSTER; PATTERSON; WOOLLEY, 2002). Assim, trabalhando-se com concentração bem mais baixa, é de se esperar que a formação de π -complexos possa ser negligenciada, e por isso a obtenção de um maior coeficiente de difusão. Esta hipótese será avaliada quando o número de elétrons envolvidos no processo eletroquímico for determinado por diversas técnicas eletroquímicas, incluindo a Voltametria de Pulso Diferencial, em que o cálculo de n (número de elétrons) é feito por meio de uma equação em que o coeficiente de difusão não é um parâmetro considerado.

ESTUDO ELETROQUÍMICO DAS XANTINAS

A Figura 24 mostra os voltamogramas cíclicos da CAF e das outras moléculas semelhantes a ela utilizando p-ECV.

4.3.

Figura 24 – Voltamogramas cíclicos da XA e seus derivados utilizando p-ECV em tampão BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4,0. Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,6 \text{ V}$; $E_\lambda = 1,6 \text{ V}$; $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Fonte: próprio autor.

Como pode se observar na Figura 24, todos os voltamogramas mostrados possuem caráter irreversível, uma vez que não há componente de redução do produto formado, indicando a provável existência de uma reação acoplada que consome o produto formado, ou ainda, a provável adsorção do produto de oxidação sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. Além dos potenciais de pico de oxidação das xantinas, observaram-se para a cafeína e teobromina largo ombro próximo de 1,2 V. Este sinal está associado à oxidação de grupos superficiais tais como fenóis, no eletrodo de carbono vítreo (ZOSKI, 2007). Sendo o p-ECV polido entre medidas, a superfície exposta ao ar foi oxidada e, no voltamograma cíclico aparece este sinal. Quando são realizados vários ciclos, este sinal localizado em 1,2 V desaparece completamente.

A Figura 25A mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a oxidação da CAF com o eletrodo p-ECV em soluções de tampão BR 0,4 mol L⁻¹ em diversos valores de pH.

Figura 25 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando p-ECV em solução de CAF 0,5 mmol L⁻¹ em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ para vários valores de pH **(A)** e curva E_p – pH correspondente à oxidação eletroquímica da CAF **(B)**. Condições experimentais:

$E_i = E_f = 0,6$ V; $E_\lambda = 1,6$ V; $v = 100$ mV s⁻¹ com polimento superficial após cada voltamograma. Solução utilizada: tampão BR 0,4 mol L⁻¹ contendo 0,5 mmol L⁻¹ de CAF.

Equação da reta ($n = 3$):

$$E_{pa} \text{ (V)} = (1,54 \pm 0,01) \text{ V} - (0,020 \pm 0,002) \text{ V pH}^{-1}$$

Fonte: o próprio autor.

Observa-se que a CAF possui um único pico de oxidação próximo de 1,5 V, e o seu perfil voltamétrico não se altera em função do pH do meio. Os voltamogramas cíclicos obtidos em solução de CAF em pH superior a 7,0 são de difícil compreensão, porque o aumento do pH favorece a reação de oxidação do íon hidróxido em solução. Esta possibilidade foi aventada após a obtenção dos dados apresentados na Figura 26. O voltamograma cíclico obtido em tampão BR pH 8,0 apresenta um pico de oxidação em $\approx 1,57$ V, o que já interfere no processo de oxidação da CAF.

Figura 26 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando p-ECV polido em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 8,0 (—) em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 8,0 contendo 0,5 mmol L⁻¹ de CAF (—) e em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 5,0 (—). Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,6$ V; $E_\lambda = 1,6$ V; $v = 100$ mV s⁻¹.

Fonte: próprio autor.

Sabe-se que a reação de desprendimento de oxigênio é pOH-dependente, conforme a seguinte reação (PILLA, 1980):

e, ao aplicar-se a equação de Nernst,

$$E = E^o - \frac{0,059}{2} \log \frac{P_{O_2}^{\frac{1}{2}}}{[HO^-]^2} \dots\dots\dots \text{Equação 25}$$

para as condições de contorno $P_{O_2} = cte$ e $E' = E^o - 0,015 \log P_{O_2}$, a Equação 25 se reduz a:

$$E = E' - 0,030 \text{ pOH} \dots\dots\dots \text{Equação 26}$$

em que o potencial de oxidação do íon HO^- é antecipado com a diminuição do pOH, mostrando que a alcalinidade do meio irá interferir nas densidades de corrente de pico obtidas durante a oxidação da CAF. Os valores de j_p tendem a diminuir significativamente com o aumento do pH, Figura 27.

Figura 27 - Relações de densidade de corrente de pico de oxidação da CAF em função do pH para ECV polido.
Fonte: o próprio autor.

A maioria dos trabalhos até agora publicados envolvendo a oxidação eletroquímica da CAF foram conduzidos em baixos valores de pH (BRUNETTI; DESIMONI; CASATI, 2007; SPĂȚARU et al., 2002; SVÍTKOVÁ et al., 2012). No entanto, como durante a oxidação da CAF em soluções alcalinas observou-se uma diminuição no sinal de oxidação do branco e da própria CAF, pode-se também levantar a possibilidade de formação do radical hidroxil segundo a Equação 27.

Para justificar estes resultados pode-se pensar no ataque à superfície do eletrodo com diminuição de área ativa, ou ainda em uma reação de oxidação da CAF pelo radical hidroxil formado, características antioxidantes da CAF (LEÓN-

CARMONA; GALANO, 2011; SHI; DALAL; JAIN, 1991). Por causa destes possíveis efeitos, as demais medidas foram realizadas em pH igual ou inferior a 7,0.

Observa-se que a variação de E_p *versus* pH para p-ECV (Figura 25B), o coeficiente angular foi de $0,020 \pm 0,002 \text{ V pH}^{-1}$, valor semelhante ao apresentado em outros trabalhos em condições semelhantes (SPĂTARU et al., 2002). De acordo com a Equação 28 (GOSSER-JR, 1993):

$$\left(\frac{\partial E_p}{\partial pH}\right) = 60 \left(\frac{n_{H^+}}{n_{e^-}}\right) \dots\dots\dots \text{Equação 28}$$

Aplicando o valor de coeficiente angular experimental da curva $E_p - pH$ na Equação 30, obtém-se o valor de $n_e = 3 n_{H^+}$. Conclui-se, portanto, que o número de prótons não é igual ao número de elétrons, ou seja, pela equação três elétrons estariam envolvidos na reação eletroquímica considerando-se um próton durante a reação de transferência de carga para o eletrodo. Como o valor de coeficiente angular é muito pequeno, provavelmente o número de elétrons está superestimado. Apesar de todos os indicativos experimentais mostrarem que $n_e \neq n_{H^+}$ vários trabalhos na literatura insistem no erro (HABIBI; ABAZARI; POURNAGHI-AZAR, 2012; HANSEN; DRYHURST, 1971a; SPĂTARU et al., 2002; TORRES; BARSAN; BRETT, 2014). Como o valor do potencial de pico anódico da CAF é muito próximo do potencial de decomposição do eletrólito, os autores acreditam que este seja o motivo para que $n_e \neq n_{H^+}$.

A Figura 28 mostra os gráficos E_p *versus* pH para a TB, TF e XA.

Figura 28 – Curvas Ep – pH utilizando p-ECV para TB (A), TF (B) e XA (C).

Equações de reta (n = 3):

- TB: $E_{pa} = (1,58 \pm 0,01) \text{ V} - (0,035 \pm 0,002) \text{ V} \times \text{pH}^{-1}$ ($R^2 = 0,981$)

- TF: $E_{pa} = (1,41 \pm 0,01) \text{ V} - (0,058 \pm 0,002) \text{ V} \times \text{pH}^{-1}$ ($R^2 = 0,996$)

- XA: $E_{pa} = (1,15 \pm 0,03) \text{ V} - (0,059 \pm 0,005) \text{ V} \times \text{pH}^{-1}$ ($R^2 = 0,976$)

Outras condições experimentais: $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$; solução utilizada: tampão

BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de cada xantina estudada.

Fonte: próprio autor.

A partir das equações das regressões lineares obtidas para as curvas Ep – pH mostradas na Figura 28, TF e XA possuem valores de coeficiente angular iguais a $0,058 \text{ V pH}^{-1}$ e $0,059 \text{ V pH}^{-1}$, respectivamente, indicando que o número de prótons é igual ao número de elétrons, conforme a literatura registra (SPĂTARU et al., 2002). Também a TB apresentou valores de coeficiente angular da curva Ep – pH conforme aos valores encontrados na literatura, $0,035 \text{ V pH}^{-1}$.

Este comportamento pode ser explicado pela presença ou ausência do hidrogênio no N7 do anel imidazólico da estrutura base das xantinas. Enquanto a CAF e TB (Figura 29A) possuem esse nitrogênio substituído com um grupo metila, a XA e TF (Figura 29B) possuem esse mesmo nitrogênio substituído por hidrogênio. Deste modo, o hidrogênio ligado a esse nitrogênio é ionizável e, por ser mais eletronegativo que o hidrogênio, atrai para si o par de elétrons da ligação N – H, permitindo que o próton seja liberado para solução, formando uma espécie

negativa, o que justifica os valores de coeficiente angular da curva $E_p - pH$ serem próximos de 60 mV pH^{-1} . Isto não acontece na CAF e TB: o N_7 possui um grupo metil e, evidentemente, não há desprotonação do anel imidazólico no N_7 , o que justifica o valor de coeficiente angular da curva $E_p - pH$ ser tão pequeno (20 mV pH^{-1} para CAF e 35 mV pH^{-1} para TB). A justificativa da TB possuir um valor de coeficiente angular de 35 mV pH^{-1} é por causa da desprotonação do hidrogênio localizado em N_1 , que produz uma estrutura de ressonância menos estável quando o próton sai do N_1 , ao invés do N_7 do anel imidazólico.

Figura 29 – Estruturas de ressonância da CAF ($R^1 = -CH_3$) e TB ($R^1 = -H$) (A) e da XA ($R^2 = R^3 = -H$) e TF ($R^2 = R^3 = -CH_3$) (B).

Fonte: o próprio autor.

É interessante notar, o efeito do grupo metil na ordem de aumento dos potenciais de pico de oxidação da XA e seus derivados, para um mesmo valor de pH, por exemplo, pH 7,0: E_{pa} (XA – $0,74 \text{ V}$) < E_{pa} (TF – $1,0 \text{ V}$) < E_{pa} (TB – $1,34 \text{ V}$) < E_{pa} (CAF – $1,50 \text{ V}$). De modo similar, o coeficiente angular das curvas $E_p - pH$ diminuíram em ordem exatamente inversa: XA (59 mV pH^{-1}) > TF (58 mV pH^{-1}) > TB (35 mV pH^{-1}) > CAF (20 mV pH^{-1}). Do ponto de vista eletroquímico, estas variações nos trazem informações importantes, como o fato de que os potenciais de pico de oxidação são mais altos quando o grupo metila está na posição N_7 (CAF e TB), o que já nos indica, que a oxidação deve ocorrer provavelmente no C_8 . Já o fato dos coeficientes angulares das curvas de $E_p - pH$ serem menores nestas mesmas moléculas, é um forte indicativo de que pode estar havendo uma reação química

acoplada à reação eletroquímica, já que o número de elétrons envolvidos é diferente do número de prótons.

O efeito da variação da velocidade de varredura para as quatro xantinas estudadas mostra que o potencial de pico anódico se desloca para valores de potencial mais positivos em função do aumento da velocidade de varredura. Porém, os valores de densidade de corrente de pico aumentam proporcionalmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura para todas elas (dados não mostrados). A Figura 30 mostra os gráficos de $\log j_p - \log v$, e verificou-se uma quebra de linearidade para velocidades maiores que 75 mV s^{-1} , no caso da CAF e TB. Estes gráficos ajudam no diagnóstico complementar do estudo eletroquímico dos compostos orgânicos (GOSSER-JR, 1993).

Figura 30 – Curvas $\log j_{pa} - \log v$ para CAF (A), TB (B), TF (C) e XA (D), nas mesmas condições descritas nas Figuras 25 (CAF) e 28 (outras xantinas).

Fonte: próprio autor.

Nas figuras 30A e 30B, correspondentes à CAF e TB, existe, entre 10 e 1000 mV s^{-1} , valores de coeficiente angular iguais a 0,50 e 0,52, respectivamente, no intervalo entre 10 até 75 mV s^{-1} , intervalo em que os processos são controlados por difusão, uma vez que os valores de densidade de corrente na equação de

Randles-Ševčík, tanto para processos reversíveis quanto irreversíveis, são proporcionais à raiz quadrada da velocidade de varredura (GOSSER-JR, 1993). Para CAF e TB, o coeficiente angular diminuiu para 0,38 e 0,35, respectivamente, acima de 75 mV s^{-1} .

Tal comportamento não foi observado para TF e XA, em que o coeficiente angular foi igual a 0,5 para ambas as moléculas, e em todo o intervalo de velocidade de varredura estudado. Valores de coeficiente angular maiores do que 0,5 são atribuídos a processos eletroquímicos em que a etapa de difusão é coexistente com a etapa de adsorção, na qual a situação limite é 1,0, quando há adsorção total do produto de oxidação (ou redução) eletroquímica sobre a superfície eletródica. (GOSSER-JR, 1993).

Até o momento, não existem explicações teóricas satisfatórias acerca das causas para a obtenção de valores de coeficiente angular menores do que 0,5, como é o caso da TB e da CAF. É importante informar que o potencial de oxidação da CAF, como função do pH, foi o mesmo para velocidades de varredura de 10 e 50 mV s^{-1} e os valores de coeficiente angular das curvas $E_p - \text{pH}$ foram iguais àqueles resultados obtidos a 100 mV s^{-1} (dados não mostrados).

A Figura 31 mostra os gráficos de $E_p - \log v$ para todas as xantinas estudadas.

Figura 31 – Curvas de $E_p \times \log v$ para CAF (A), TB (B), TF (C) e XA (D). Condições experimentais iguais àquelas descritas nas Figuras 25 (CAF) e 28 (outras xantinas).

Equações de reta ($n = 3$):

- CAF (A): $E_{p_a} (V) = (1,40 \pm 0,04) V - (0,026 \pm 0,003 V \text{ dec}^{-1}) \times \log v$
(entre 10 e 75 mV s^{-1})

$E_{p_a} (V) = (1,34 \pm 0,01) V + (0,049 \pm 0,003 V \text{ dec}^{-1}) \times \log v$
(entre 100 até 1000 mV s^{-1})

- TB (B): $E_{p_a} (V) = (1,38 \pm 0,01) V + (0,034 \pm 0,002 V \text{ dec}^{-1}) \times \log v$
(entre 10 e 75 mV s^{-1})

$E_{p_a} (V) = (1,35 \pm 0,01) V + (0,049 \pm 0,004 V \text{ dec}^{-1}) \times \log v$
(entre 100 até 1000 mV s^{-1})

- TF (C): $E_{p_a} (V) = (1,14 \pm 0,01 V) + (0,021 \pm 0,001 V \text{ dec}^{-1}) \times \log v$
($R^2 = 0,984$)

- XA (D): $E_{p_a} (V) = (0,869 \pm 0,003 V) + (0,022 \pm 0,002 V \text{ dec}^{-1}) \times \log v$
($R^2 = 0,948$)

Fonte: próprio autor

Como foi mencionado anteriormente, o potencial de pico anódico deslocou-se para valores mais positivos com a variação da velocidade de varredura. Contudo, como já observado nas curvas $\log j_p - \log v$, observou-se para a CAF e TB, uma quebra de linearidade no mesmo intervalo de velocidade de varredura, entre 10 – 75 mVs^{-1} , com o segmento linear apresentando um coeficiente angular da ordem de 30 mV (década de v) $^{-1}$. Para velocidades acima de 100 mV s^{-1} esse valor aumentou, conforme descrito na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores de coeficientes angulares das curvas $E_p - \log v$ para as xantinas estudadas. Dados obtidos a partir das curvas da Figura 30.

Coeficiente angular 1: 10 até 75 mV s^{-1} ; coeficiente angular 2: a partir de 100 mV s^{-1} .

Fonte: próprio autor.

Composto	Coeficiente angular 1 (V dec^{-1})	Coeficiente angular 2 (mV dec^{-1})
CAF	$0,026 \pm 0,003$	$0,049 \pm 0,003$
TB	$0,034 \pm 0,002$	$0,049 \pm 0,004$
TF	$0,021 \pm 0,001$	
XA	$0,022 \pm 0,002$	

Assim como nos estudos anteriores, as curvas referentes à CAF e TB apresentaram a mesma quebra de linearidade. Os valores de coeficiente angular para as curvas E_{pa} versus $\log v$ para CAF e TB foram de 0,026 e 0,034 V pH^{-1} no intervalo de 10 a 75 mV s^{-1} e, dentro dos critérios de diagnóstico, estes resultados indicam que existe reação de oxidação envolvendo o acoplamento de radicais livres (PLETCHER et al., 2011).

Para v acima de 100 mV s^{-1} a CAF e TB apresentaram aumento de coeficiente angular para 49 mV pH^{-1} , Tabela 7. Se estes resultados forem associados àqueles apresentados na Figura 30 – $\log j_{pa}$ vs $\log v$, para a mesma região ($v > 100 \text{ mV s}^{-1}$), a diminuição de correntes pode sugerir que existe perda de área ativa do eletrodo por um efeito de passivação que poderia ser causado por adsorção do produto de oxidação. Se a CAF for oxidada via mecanismo radicalar em um processo envolvendo um elétron, o radical pode atacar a superfície do eletrodo de carbono vítreo para originar uma ligação covalente, Figura 32, que resulta na perda de área ativa do eletrodo, causando diminuição na densidade de corrente e deslocamento do potencial de pico de oxidação para potenciais mais positivos. Alternativamente e/ou concomitantemente, pode-se ainda, pensar em efeitos de queda ôhmica devido ao aumento da velocidade de varredura (DAHMEN, 1986; PLETCHER et al., 2011).

Por outro lado, a utilização de mais baixas velocidades de varredura favorece a existência da reação acoplada, que segundo os critérios de diagnóstico poderia ser classificada como um processo de dimerização (coeficiente angular da curva E_p versus $\log v$ na ordem de 29,6 $\text{mV (década de } v)^{-1}$) em comparação aos valores de 0,026 e 0,034 $\text{V (década de } v)^{-1}$, experimentalmente obtidos para CAF e TB, Tabela 7.

Figura 32 – Estrutura química proposta para o eletrodo de carbono vítreo (A) e modificação do eletrodo pela CAF via radicalar (B).

Fonte: o próprio autor adaptado da literatura (ZOSKI, 2007).

No caso da XA e da TF, os gráficos de E_{pa} - pH apontam para um processo envolvendo o mesmo número de prótons e de elétrons em toda a faixa de velocidades estudadas, já que as inclinações foram de 58 e 59 mV pH⁻¹ para TF e XA, respectivamente, Figura 28. Por outro lado, as curvas E_{pa} – log v para TF e XA, Figura 30, apresentaram valores de 21 mV e 22 mV (década de v)⁻¹, respectivamente, e pelo critério de diagnóstico continua havendo a formação de um radical livre, mas com envolvimento de próton, o que fica mais difícil ainda de visualizar.

Dispondo-se dos critérios de diagnóstico até agora discutidos, utilizou-se a voltametria de pulso diferencial para determinar o valor de $w_{1/2}$ e, assim, poder estimar o número de elétrons envolvidos nos processos de transferência de carga. Para tanto, foram utilizadas soluções de tampão BR 0,4 mol L⁻¹ contendo 0,5 mmol L⁻¹, pH 4,0. A superfície do eletrodo foi cuidadosamente polida e lavada entre cada voltamograma, Figura 33. Em todos os casos a Equação 14 foi utilizada para estimar o número de elétrons. Os resultados são apresentados na Tabela 8.

Figura 33 – Voltamogramas de pulso diferencial soluções de tampão BR 0,4 mol L⁻¹ contendo 0,5 mmol L⁻¹, pH 4,0. $t_{\text{mod}} = 5$ ms; $t_{\text{int}} = 1000$ ms; $a = 5$ mV e $v = 5$ mVs⁻¹. Em destaque a largura do pico de oxidação à meia-altura de corrente, $w_{1/2}$, parâmetro utilizado para calcular o número de elétrons.

Fonte: o próprio autor.

Tabela 8 – Número de elétrons obtidos a partir dos voltamogramas de pulso diferencial utilizando a Equação 14.

Fonte: o próprio autor.

Composto	$w_{1/2}$ (mV)	Número de elétrons
CAF	103 ± 6	$0,93 \pm 0,05$
TF	91 ± 2	$0,99 \pm 0,02$
TB	81 ± 1	$1,10 \pm 0,01$
XA	61 ± 1	$1,48 \pm 0,02$

Para todos os compostos, exceto para a XA, o valor calculado para o número de elétrons foi próximo de um elétron. Este método é amplamente utilizado para determinar o número de elétrons devido a sua simplicidade e praticidade

(BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993). Apesar da oxidação eletroquímica da CAF, TB e TF indicar a participação de um elétron, a XA mostra que $n = 1,5$. Uma vez que a CAF e as outras xantinas podem formar estruturas de complexo π em solução aquosa (KRASNOV, 2011; SPILLER, 1997), isto poderia ser um indício de que esta associação molecular poderia estar ocorrendo no caso da xantina e, neste caso, o processo de oxidação poderia envolver mais de um elétron.

Para confirmar os dados obtidos pela voltametria de pulso diferencial, utilizou-se a cronoamperometria, empregando-se a mesma concentração de CAF utilizada nos experimentos voltamétricos, 0,5 mM em tampão BR 0,4 mol L⁻¹, pH 4,0. Como foi discutido na Seção 4.2., deparou-se com um problema: o coeficiente de difusão calculado pelo programa MarvinBeans forneceu o valor de volume molar, a partir do qual se utilizou a equação de Wilkie-Chang (Equação 25) para obtenção do coeficiente de difusão da CAF, estimado como $1,46 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, Tabela 6. Como já dito anteriormente, este valor é uma ordem de grandeza maior do que valores apresentados na literatura, $7,0 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (PRICE, 1989; RIBEIRO et al., 2013), mas a concentração de CAF usada no desenvolvimento desta tese foi 0,5 mM, portanto muito menor do que as concentrações utilizadas por Ribeiro e Price (10 e 1 mM) para o cálculo de coeficiente de difusão da CAF. Nestas condições é de se esperar, que tenhamos de fato um coeficiente de difusão maior, pois as interações de complexo π serão menores (ou mesmo, nulas) do que aquelas existentes em soluções mais concentradas.

Com isto em mente, substituiu-se o valor de $D_o = 1,46 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e do coeficiente de transferência de carga, α , de 0,63 obtido de dados da literatura (MERSAL, 2011) na equação de Randles-Ševčík para sistemas irreversíveis, Equação 29 (BARD; FAULKNER, 2000; BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993; BUORO et al., 2014) e calculou-se o número de elétrons envolvidos em cada sistema.

$$\pm I_p = 2,997 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} A \alpha^{\frac{1}{2}} D_o^{\frac{1}{2}} C v^{\frac{1}{2}} \dots\dots\dots \text{Equação 29}$$

O coeficiente angular é dado pela Equação 30:

$$\left(\frac{\partial I_p}{\partial v^{\frac{1}{2}}}\right) = 2,997 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} A \alpha^{\frac{1}{2}} D_o^{\frac{1}{2}} C \dots\dots\dots \text{Equação 30}$$

O número de elétrons, n, foi então calculado a partir dos valores de coeficiente angular das curvas I_p vs $v^{1/2}$, fornecidos pela Equação 30. As curvas não foram apresentadas, mas foram obtidas em solução 0,5 mM ($5,0 \times 10^{-7}$ mol cm^{-3}) de CAF, pH 4,0, na faixa de 10 – 75 mVs⁻¹ e feitas em triplicata. Os dados foram feitos em triplicata e são apresentados na Tabela 10.

Tabela 9 – Valores de número de elétrons calculados a partir da Equação 30, considerando $\alpha = 0,63$ e $A = 0,065 \text{ cm}^2$. A última linha da tabela mostra o valor médio do coeficiente angular e do número de elétrons calculado para a CAF.

Fonte: o próprio autor.

Coeficiente angular (A V⁻¹ s⁻¹)	Número de elétrons
61,3 x 10 ⁻⁶	0,72
64,1 x 10 ⁻⁶	0,74
61,8 x 10 ⁻⁶	0,72
62,4x10 ⁻⁶ ± 1,2x10 ⁻⁶	0,73 ± 0,01

Deste modo, o número de elétrons calculado para a CAF pode ser considerado como 1 e este valor é coerente com os dados obtidos por voltametria de pulso diferencial, em que não utiliza, de forma direta, o valor do coeficiente de difusão da espécie. Após a validação do valor calculado de coeficiente de difusão através da metodologia proposta nesta tese, procedeu-se com o cálculo do número de elétrons utilizando cronoamperometria. Os dados experimentais utilizados para tanto são mostrados na Tabela 11, e os cronoamperogramas obtidos conforme descrito na Seção 3.3.6 são mostrados na Figura 34.

Tabela 10 – Intervalo de concentrações e potenciais aplicados para as xantinas em estudo por cronoamperometria.

Fonte: o próprio autor

Composto	Intervalo de concentrações (mmol L⁻¹)	Potencial aplicado (V)
CAF	0,25 – 7,5	1,48
TB	0,1 – 1,0	1,54
TF	0,25 – 2,5	1,41
XA	0,25 – 1,0	1,30

Figura 34 – Regiões lineares das curvas cronoamperométricas para CAF (A), TB (B), TF (C) e XA (D) utilizando p-ECV, segundo linearização da equação de Cottrell descrita na Seção 3.3.6., entre $0,26 \text{ s}^{-1/2}$ e $0,6 \text{ s}^{-1/2}$. Eletrólito de suporte: tampão BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,0. Intervalo de concentrações e potenciais aplicados descritos na Tabela 9.

Fonte: o próprio autor.

Após obtenção dos cronoamperogramas e determinação da região linear das curvas de Cottrell, determinou-se um valor de $(t-t_0)^{-1/2}$ para realizar o cálculo do número de elétrons utilizando a Equação 18. O critério estabelecido foi utilizar um valor médio de $(t-t_0)^{-1/2}$, pois é um tempo em que, simultaneamente, a corrente do processo faradaico, após a aplicação do potencial onde ocorre oxidação, está estabilizada (região de corrente estacionária, I_{lim}), a corrente capacitiva já caiu a um valor mínimo. As regiões lineares observadas experimentalmente variaram muito, e não foi possível estabelecer um único valor de $(t-t_0)^{-1/2}$ para ser aplicado em todos os amperogramas. Os parâmetros utilizados nos experimentos para a determinação do número de elétrons são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11 – Parâmetros utilizados para determinação do número de elétrons utilizando a equação de Cottrell.

Fonte: o próprio autor

Composto	Coefficiente de difusão (cm ² s ⁻¹)	Valor de (t-t ₀) ^{-1/2} utilizado (s ^{-1/2})	Número de elétrons (n = 3)
CAF	1,46 × 10 ⁻⁵	0,7	0,88 ± 0,02
TB	1,15 × 10 ⁻⁵	0,3	0,91 ± 0,06
TF	1,15 × 10 ⁻⁵	1,2	2,98 ± 0,11
XA	1,84 × 10 ⁻⁵	0,58	2,23 ± 0,09

Deste modo, a Figura 35 mostra os gráficos de I_{lim} versus concentração para todos os derivados de xantina estudados.

Figura 35 – Curvas de Cottrell em função da concentração (μmol/cm³) para CAF (▼), TF (■), XA (▲) e TB (●), segundo linearização da equação de Cottrell descrita na Seção 3.3.6. utilizando p-ECV (A) e curvas de Cottrell em função da concentração (μmol/cm³) para XA (▲) e TB (●) (B). Eletrólito de suporte: tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4,0. Intervalo de concentrações utilizado descrito na Tabela 9. A inserção da figura mostra a curva de Cottrell ampliada para TB.

Equações de reta (n = 3)

- CAF: $I (\mu A) = (11,6 \pm 2,9) \mu A + (8,8 \pm 0,7 A \text{ cm}^3 \text{ mol L}^{-1}) \times [CAF]$
- TB: $I (\mu A) = (5,0 \pm 0,1) \mu A + (3,71 \pm 0,1 A \text{ cm}^3 \text{ mol L}^{-1}) \times [TB]$
- TF: $I (\mu A) = (23,2 \pm 1,5) \mu A + (41,1 \pm 0,8 A \text{ cm}^3 \text{ mol L}^{-1}) \times [TF]$
- XA: $I (\mu A) = (4,9 \pm 0,6) \mu A + (20,1 \pm 0,7 A \text{ cm}^3 \text{ mol L}^{-1}) \times [XA]$

Fonte: o próprio autor.

Como é observado na Figura 35, a correlação entre as correntes de oxidação das xantinas com a concentração foi linear, indicando que as condições de contorno para a equação de Cottrell foram satisfeitas. O número de elétrons determinados para cafeína e teobromina foi igual a 1, lembrando que o coeficiente de difusão usado foi calculado pelo método de Wilke-Chang (mas usando o valor de volume molar calculado pelo MarvinBeans). Deste modo, o mesmo número de elétrons foi obtido por duas técnicas em que o valor de D_0 é um parâmetro necessário e, por uma técnica em que este valor não é utilizado diretamente para o cálculo de n . Este fato mostra que o coeficiente de difusão estimado para a cafeína e teobromina parece estar correto. No entanto, o número de elétrons determinados para o processo de oxidação da TF e XA foram $n = 3$ e $n = 2$, respectivamente. Estes valores diferem muito daqueles obtidos por voltametria de pulso diferencial, $n = 1$ e $n = 1,5$, respectivamente.

O envolvimento de um elétron e um próton durante a oxidação da teofilina, é reforçado pelo valor do coeficiente angular da curva E_p/pH (59 mV pH^{-1}) e vai de encontro aos dados de Hansen e Dryhurst, que propuseram a perda simultânea de um próton e um elétron durante a oxidação da TF (HANSEN; DRYHURST, 1971b), Figura 36. Os autores propõem ainda a formação posterior de dímeros, detectados por espectrometria de massas.

Se ocorrer a adsorção do produto formado na superfície do eletrodo, seja por um ataque radicalar à superfície do mesmo, ou por adsorção de um eventual dímero, a área do eletrodo (A) irá diminuir, assim como provavelmente diminuirá o coeficiente de transferência de carga, α . Com isto, o número de elétrons, n , calculado com base no coeficiente angular da Equação 30, será superestimado. Se lembrarmos que durante o experimento cronoamperométrico, a corrente cai com o tempo, mas o potencial aplicado se mantém constante, esta é uma possibilidade que pode ser aventada.

Deste modo, há de se ter muito cuidado com o uso da Equação de Cottrell, principalmente em casos onde existem, ou podem existir, reações químicas acopladas.

Figura 36 – Proposta de oxidação da TF através da formação de radical, com perda de um próton e de um elétron.

Fonte: próprio autor adaptado da literatura (HANSEN; DRYHURST, 1971b)

ESTUDO ESPECTROFOTOMÉTRICO DAS XANTINAS

4.4. Os espectros de absorção das xantinas estudadas foram registrados na região de comprimento entre 190 nm até 320 nm, em tampão BR 0,4 mol L⁻¹, pH 4,0. Os dados obtidos são mostrados na Figura 37.

A Figura 37A mostra que nas concentrações de 0,5 e 0,25 mmol L⁻¹ a intensidade das bandas de absorção foram superiores à escala do espectrofotômetro, enquanto as bandas de absorção da CAF foram bem definidas na concentração de 0,12 mmol L⁻¹. As bandas típicas de absorção da CAF estão presentes em 200 nm, 217 nm e 275 nm, e correspondem às transições $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, respectivamente. As transições $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ se devem à absorção dos grupos carbonílicos das xantinas (amidas nas posições -N₁-C₆- e -N₃-C₂-) e da dupla ligação do grupo imínico (-C₄-C₅-), enquanto que a transição $n \rightarrow \sigma^*$ está relacionada aos núcleos de nitrogênio e oxigênio que as xantinas possuem (PAVIA et al., 2015).

Figura 37 – Espectros UV-Vis da CAF em função da concentração entre 190 e 320 nm em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4,0 (A) e espectros das xantinas estudadas em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4,0, 0,12 mmol L⁻¹ cada (B).

Fonte: próprio autor.

Também é possível observar que a intensidade das bandas é máxima na CAF; TF e TB possuem absorbâncias menos intensas nas três bandas observadas, enquanto a XA possui a menor absorção dentre as quatro moléculas. Isso pode ser explicado devido ao efeito doador do grupo metil. Sendo a CAF metilada nos núcleos de nitrogênio das posições 1, 3 e 7, os elétrons dos grupos doadores são injetados por hiperconjugação na molécula de CAF, tornando o espectro de absorção mais intenso. Sendo a TB e TF menos metiladas, a

absorção eletrônica é semelhante, mas menos intensa, e a XA possui menor intensidade por falta de grupos doadores.

Contudo, a variação de pH aplicada no intervalo de 2,0 até 7,0, não alterou significativamente a intensidade de absorção, número de bandas ou deslocamento de comprimento de onda (resultados não mostrados). Buscando compreender melhor o sistema estudado, o diagrama de distribuição das espécies foi construído em função do pH, Figura 38, como descrito na Seção 3.5.6.

Figura 38 – Diagrama de distribuição percentual das espécies de xantinas em função do pH (A), e as estruturas moleculares da TB (B), TF (C) e XA (D) desprotonadas. No gráfico de distribuição de espécies está destacado o intervalo de pH utilizado nos dados experimentais da tese.

Fonte: próprio autor.

Observa-se claramente que, dentro do intervalo de pH estudado, todas as xantinas estão praticamente em sua formula estrutural molecular, excetuando-se a TF e XA, uma vez que próximo de pH 7,0 está diminuindo a concentração de TF e XA molecular, fato explicado por seus valores de pKa estarem uma unidade adiante. Ainda assim, cerca de 90 % de TF e XA estão em suas formas moleculares, podendo-se concluir que o estudo eletroquímico das xantinas em meio aquoso foi realizado com as xantinas em sua forma molecular, ou com aproximadamente 10% de sua concentração em sua forma ionizada.

ESTUDO ELETROQUÍMICO DA CAF EM MEIO NÃO-AQUOSO

Seguindo a sugestão de Saveant para o estudo mecanístico em eletroquímica (SAVÉANT, 2006), procedeu-se a caracterização do comportamento eletroquímico da CAF utilizando DMSO contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tetrafluorborato de tetrabutilamônio como eletrólito de suporte. Este procedimento é recomendado para evitar as reações de ataque nucleofílico, pela água, no produto formado e, também para estabilizar intermediários reativos, principalmente espécies radicalares. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 39.

Figura 39 – Voltamogramas cíclicos consecutivos ($n = 20$) obtidos em tetrafluorborato de tetrabutilamônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em DMSO contendo $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de CAF utilizando p-ECV.

Fonte: próprio autor.

Observa-se que os voltamogramas mostrados na Figura 39 mostram a presença de um sinal de oxidação em $1,4 \text{ V}$ (*versus* Ag/AgCl). Após o potencial de inversão, não foi observado sinal de redução correspondente ao processo de oxidação, mas em potenciais próximos de $0,45 \text{ V}$, observou-se um pequeno sinal de redução seguido de um sinal de oxidação após a inversão do sentido da varredura. Nos ciclos subsequentes, o sinal do potencial de pico em $1,4 \text{ V}$ decresceu, enquanto que os sinais em $0,45 \text{ V}$ e $0,55 \text{ V}$ ($E_{1/2} = 0,50 \text{ V}$) aumentaram em função do número de ciclos. A partir destes resultados, concluiu-se que existe uma dependência direta entre o produto formado em $1,4 \text{ V}$ e os processos que ocorreram em $0,45 \text{ V}$ e $0,55 \text{ V}$. A Figura 40 mostra os resultados obtidos ao limitar

a janela de potencial de trabalho àquela correspondente apenas ao processo redox dependente do processo principal de oxidação da CAF em 1,4 V.

Figura 40 – Voltamogramas cíclicos (vigésimo ciclo) obtidos em tetrafluorborato de tetrabutilamônio 0,1 mol L⁻¹ em DMSO contendo 0,5 mmol L⁻¹ de CAF utilizando p-ECV.

$E_{\text{cond}} = 1,4 \text{ V}$, $t_{\text{cond}} = 30 \text{ segundos}$.

Fonte: próprio autor.

Percebe-se que, não havendo condicionamento do eletrodo a 1,4 V, o sinal quase reversível não é observado, enquanto que, após o condicionamento, a formação do par quase reversível é visível, como foi mostrado na Figura 39. Este tipo de voltamograma pode ser observado em diversas situações, inclusive em processos que envolvem formação de dímeros (DE TOLEDO et al., 2006); no caso em estudo, a CAF pode ser oxidada e formar um dímero molecular com características de reversibilidade eletroquímica.

Para avaliar as características de reversibilidade deste possível dímero, foram realizados experimentos empregando a voltametria de onda quadrada nas mesmas condições daquelas realizadas em voltametria cíclica. Os dados obtidos são apresentados na Figura 41.

Figura 41 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos em p-ECV aplicando potencial de condicionamento de 1,4 V por trinta segundos (A) e sem aplicação de potencial de condicionamento (B). Parâmetros experimentais: $E_i = 0,1$ V; $E_f = 1,5$ V; $f = 25$ s⁻¹, $a = 20$ mV; $\Delta E_s = 5$ mV ($v = 125$ mV s⁻¹). Concentração de CAF: 0,5 mmol L⁻¹ em DMSO contendo 0,1 mol L⁻¹ de tetraflourborato de tetrabutilamônio como eletrólito de suporte.

Fonte: o próprio autor.

Quando não se aplica o potencial de condicionamento de 1,4 V, o voltamograma de onda quadrada é bastante semelhante ao perfil voltamétrico do primeiro voltamograma cíclico de CAF em meio não aquoso. Ao analisar os componentes de corrente, observa-se que as componentes direta e reversa estão todas apontadas para o sentido anódico do voltamograma, indicando que o processo de oxidação de CAF é irreversível. Contudo, após aplicar o potencial de condicionamento de 1,4 V, aparecem dois sinais no componente direta e reversa ao redor de 0,5 V. No componente direto o sinal é positivo, enquanto que a reversa é negativo, reforçando a hipótese da formação de um dímero eletroquímico de CAF.

PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DA CAF

Até o momento, os resultados obtidos indicam que a CAF é oxidada, e que o produto de oxidação é um dímero. Exceto para XA, as outras metilxantinas estudadas são oxidadas perdendo um elétron.

4.6. Também os resultados da literatura apontam que a oxidação, por diversos modos, ocorre na região do anel imidazólico da CAF (ASHIHARA; SANO; CROZIER, 2008; HANSEN; DRYHURST, 1971a; SPĂTARU et al., 2002; TELO; VIEIRA, 1997). Os resultados aqui obtidos também apontam para a oxidação eletroquímica da CAF em $-C_8-N_9-$, formando um cátion radical. Tal conclusão decorre da curva de $E_p - \log v$, revelando haver, entre 10 até 75 $mV s^{-1}$, coeficiente angular de 27 $mV dec^{-1} v$, característica de reação radicalar (PLETCHER et al., 2011). Assim, a primeira etapa seria a oxidação eletroquímica da CAF com a saída de um elétron, conforme Figura 42.

Figura 42 – Etapa eletroquímica da reação de oxidação da CAF em meio aquoso, destacando-se o elétron desemparelhado no C_8 .

Fonte: o próprio autor.

Tabela 12 – Propriedades físico-químicas calculadas para C_8 e N_9 do anel imidazólico da CAF molecular.

1 bohr = 0,052 nm

Fonte: o próprio autor.

Átomo	Eletronegatividade (u. a.)		Densidade de carga ($C m^{-3}$)	Densidade eletrônica do HOMO ($eV bohr^{-3}$)
	Ligação π	Ligação σ		
C_8	6,12	9,33	0,01	0,85
N_9	6,15	10,73	- 0,30	1,32

Sendo a eletronegatividade a propriedade periódica que faz atrair para um átomo a densidade eletrônica de um átomo vizinho (CHANG, 2009), os valores de eletronegatividade dos átomos nas ligações σ e π são, naturalmente, diferentes. Os valores de eletronegatividade são menores na ligação π . Pode-se concluir, portanto, que a ligação dupla existente na ligação $\text{--C}_8\text{--N}_9\text{--}$ possui baixa capacidade de atrair elétrons para os átomos estudados, e o elétron desta ligação será ejetado na oxidação da CAF.

Por outro lado, a densidade de carga calculada é de $0,01 \text{ C m}^{-3}$ para o C_8 , e $-0,30 \text{ C m}^{-3}$ para o N_9 , indicando que o átomo de carbono pode acumular carga negativa, mas o átomo de nitrogênio possui densidade de carga negativa, e não é capaz de acumular carga negativa. Desta maneira, propõe-se que a ligação π entre a ligação C=N do anel imidazólico é quebrada durante a oxidação da CAF. Sendo a CAF uma molécula antioxidante, é razoável admitir que o radical CAF gerado possua o elétron restante sobre o átomo de carbono, e a carga positiva causada pela oxidação da CAF esteja sobre o átomo de nitrogênio. Esta conclusão é corroborada pelos valores da densidade eletrônica no HOMO: no átomo C_8 , o valor é baixo, se comparado a N_9 , significando que o HOMO pode condicionar elétrons em C_8 , ao contrário de N_9 (ISAACS, 1995). Assim, o elétron que caracteriza o radical fica localizado em C_8 , e a carga elétrica positiva fica sobre N_9 .

É preciso observar que a oxidação eletroquímica da CAF em meio aquoso não envolve a participação de prótons. Mesmo a baixas velocidades de varredura (10 e 50 mV s^{-1}), os valores de coeficiente angular de $E_p - \text{pH}$ são iguais àqueles obtidos a 100 mV s^{-1} , a saber, 20 mV pH^{-1} . Deste modo, propõe-se a CAF seja oxidada em um processo envolvendo 1 elétron e que 2 radicais de CAF sejam acoplados para a formação do dímero, Figura 43.

Figura 43 – Formação de uma ligação covalente -C-C- a partir de dois radicais de CAF.

Fonte: o próprio autor.

É interessante observar que o dímero formado é instável, uma vez que as cargas positivas geradas pela formação do radical CAF, estão localizadas nos átomos de nitrogênio, mais eletronegativo do que o carbono. No entanto, essas cargas podem ser neutralizadas pelos efeitos de ressonância da dupla ligação localizada em -C₄-C₅- e dos pares de elétrons não-ligantes que estão nos nitrogênios. A terminação da oxidação da CAF é dada por uma etapa química em que dois prótons são removidos do C₈, reestabelecendo as duplas ligações originais da molécula de CAF, conforme mostra a Figura 44.

Figura 44 – Etapa química de formação do dímero com saída de dois prótons das moléculas de CAF originalmente presentes na molécula.

Fonte: o próprio autor.

Como visto anteriormente, para baixas velocidades de varredura, na faixa de 10 até 75 mV s⁻¹, o coeficiente angular da curva j_{pa} versus log v para cafeína foi de 0,50. Já para velocidades mais altas, este coeficiente diminuiu para 0,38. De acordo com a equação de Randles-Ševčík, coeficientes de 0,5 indicam processos controlados por difusão, enquanto valores superiores indicam mudança

para um controle adsorptivo (coeficiente igual a 1,0). Neste mesmo intervalo de velocidade, o coeficiente angular do gráfico de E_{pa} versus $\log v$ foi de 26 mV/década de v , valor muito próximo de 30 mV (década de v)⁻¹, para reações eletroquímicas envolvendo formação de radicais, como o aqui proposto (PLETCHER et al., 2011). Desta forma, o mecanismo de oxidação da cafeína poderia ser resumido como:

em que a somatória das Equações 31 a 33 é igual a:

A reação global da oxidação da cafeína envolve dois prótons e dois elétrons e representa o esquema de deidrodimerização da molécula de CAF (LUND; HAMMERICH, 2000): a primeira etapa é eletroquímica, enquanto as outras são químicas, o que justifica a baixa variação de E_{pa} com o pH para a cafeína (20 mV pH⁻¹). Observa-se no processo descrito pelas reações 31 a 33 que, em mais baixas velocidades de varredura, a reação acoplada acaba por facilitar a reação eletroquímica. Quando a velocidade de varredura aumenta, não há tempo para a reação acoplada ocorrer e com isto, os potenciais de oxidação se tornam mais positivos.

Resta agora discutir porque, para mais altas velocidades de varredura, o coeficiente angular da curva j_{pa} versus $\log v$ é menor do que 0,5, valor encontrado para processos controlados por difusão. Este fato pode ser explicado, admitindo-se que a CAF que está sendo oxidada é aquela que se encontra na camada interna de Helmholtz. Isto ocorre, porque a mais altas velocidades de varredura não há tempo para a CAF difundir do interior da solução para a superfície do eletrodo. A CAF oxidada na camada de Helmholtz já é suficiente para a formação do dímero com a passivação da superfície, o que justifica a diminuição do coeficiente angular

da curva j_{pa} versus $\log v$ igual a 0,5 (entre 10 e 75 mV s^{-1}) para 0,38 (acima de 100 mV s^{-1}), Figura 30.

MODIFICAÇÃO DO ELETRODO EM SOLUÇÃO DE CAFEÍNA

Sabendo-se dos efeitos de adsorção da CAF em eletrodos de platina e aço-carbono (DA TRINDADE; GONÇALVES, 2009; SABA; BROWN; OMANOVIC, 2006) e da formação de dímeros durante o processo de oxidação da CAF e do critério por voltametria cíclica não indicar adsorção do produto de oxidação da CAF acima de 100 mV s^{-1} , acompanhou-se o comportamento do eletrodo de carbono vítreo durante a realização de voltamogramas cíclicos consecutivos em solução 1,0 mmol L^{-1} de CAF em tampão BR 0,4 mol L^{-1} pH 4,0, na ausência de polimento entre um voltamograma e outro. Cabe salientar que a escolha do pH 4,0 foi baseada no valor de potencial de pico de oxidação (valor mediano dentre aqueles obtidos no intervalo de pH estudado). Os dados obtidos são apresentados na Figura 45.

Figura 45 – Voltamogramas cíclicos da oxidação de CAF 1,0 mmol L^{-1} em tampão BR 0,4 mol L^{-1} pH 4,0 utilizando p-ECV com agitação entre medidas. Condições do experimento: $E_i = E_f = 1,1 \text{ V}$ e $E_\lambda = 1,6 \text{ V}$ a $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Fonte: próprio autor.

Como pode ser observado, os níveis de corrente obtidos para oxidação da CAF diminuíram a cada voltamograma, o que nos conduziu a explorar a possibilidade de usar o eletrodo com a superfície previamente modificada na

própria solução de CAF. A Figura 46 mostra os voltamogramas obtidos ao longo do processo de modificação.

Figura 46 – Voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de CAF

1,0 mmol L⁻¹ em tampão BR 0,4 mol L⁻¹, pH 4,0, durante modificação do p-ECV polido com alumina 1,0 micra e posteriormente submetido a vinte voltamogramas cíclicos em $1,1 \text{ V} \leq E_{\lambda} \leq 1,6$ a 100 mV s^{-1} (A) e o decaimento de corrente em função do número de ciclos mostrando a estabilização do sinal de densidade de corrente de pico em aproximadamente $0,03 \text{ mA cm}^{-2}$ (B).

Fonte: próprio autor.

Os voltamogramas apresentados na Figura 46A mostram que no primeiro ciclo, a da oxidação da CAF ($E_p = 1,45 \text{ V}$) ocorreu com corrente de pico relativamente alta, embora essa altura de pico esteja sobre a corrente capacitiva que não foi estabilizada. Depois do segundo ciclo a corrente de fundo diminuiu drasticamente, significando que a estabilização da superfície do eletrodo foi iniciada, Figura 46B. Ao final do experimento, a densidade de corrente de pico já se encontrava em aproximadamente $0,33 \text{ mA cm}^{-2}$. Encerrado o experimento, o eletrodo modificado (CAF-ECV) foi utilizado para obtenção dos voltamogramas cíclicos em diversos valores de pH. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 47.

Figura 47 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando CAF-ECV em solução de CAF $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR $0,4 \text{ mol L}$ para vários valores de pH (A) e curvas $E_p - \text{pH}$ (B). Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,7 \text{ V}$; $E_\lambda = 1,7 \text{ V}$; $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ com eletrodo modificado após cada medida. Condições de modificação: 20 ciclos em solução de CAF $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,0 entre medidas.

Equação da reta: ($n = 3$)

$$E_{p_a} (\text{V}) = (1,52 \pm 0,01) \text{ mV} - (0,017 \pm 0,002 \text{ mV dec}^{-1}) \times \text{pH}.$$

Fonte: próprio autor.

Os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 47A mostram que o sinal de densidade de corrente é pouco afetado pelo pH do meio, o formato dos

voltamogramas, se comparado com os voltamogramas da Figura 25, é diferente: o sinal de corrente capacitiva é relativamente menor, e os picos estão menos alargados, indicando que a superfície está, de fato, modificada. Por outro lado, a curva de E_{pa} versus pH (Figura 47B) apresenta coeficiente angular igual a $0,017 \pm 2 \text{ V (década de v)}^{-1}$, valor semelhante ao obtido com eletrodo polido ($0,020 \pm 0,002 \text{ V (década de v)}^{-1}$). Além disso, o potencial de pico da cafeína no eletrodo modificado, ECV-CAF, foi 15mV mais positivo em relação ao eletrodo limpo em pH 4,0, valor não muito significativo.

A Figura 48A mostra as diferenças nas medidas de corrente de pico para as duas superfícies de eletrodo. O p-ECV possui valores de densidade de corrente de pico que são pouco precisos como sugere o desvio padrão dos pontos. Porém, as correntes de pico para CAF-ECV mostram uma tendência linear com valores mais precisos. Observa-se que o desvio padrão aumenta significativamente após pH 5,0, fato que pode ser explicado pelo aumento da alcalinidade do meio, como já foi discutido anteriormente (cf. páginas 77 e 79).

Figura 48 – Relações de densidade de corrente de pico de oxidação da CAF em função do pH para ECV polido (A) e modificado com CAF (B).

Fonte: próprio autor.

Para verificar se o processo de modificação não poderia ser atribuído somente ao tampão BR, estudou-se o procedimento de modificação em solução contendo apenas o eletrólito de suporte. Os dados obtidos são apresentados na Figura 49.

Figura 49 – Voltamogramas cíclicos obtidos com o ECV durante o processo de modificação em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4. Condições experimentais: ECV polido e submetido a 20 ciclos a 100 mV s⁻¹, utilizando E_i = E_f = 1,1 V e E_λ = 1,6 V.

Fonte: próprio autor.

Como esperado, os voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo BR-ECV, somente mostram os processos de reorganização da dupla camada elétrica, sem processos eletroquímicos evidentes. Assim como na Figura 46B, o sinal de fundo estabiliza-se e permanece constante. Aparentemente, o eletrodo está “modificado” e, possivelmente sua superfície está funcionalizada com grupos –OH e –COOH, além de outros grupos funcionais (ZOSKI, 2007), que pode influenciar a estabilização do sinal de oxidação da CAF. A Figura 50 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a oxidação da CAF no eletrodo modificado em tampão.

(A)

(B)

Figura 50 – Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando BR-ECV para vários valores de pH (A) e curvas E_p – pH (B). Condições experimentais: $E_i = E_f = 0,7$ V; $E_\lambda = 1,7$ V; $\nu = 100$ mV s⁻¹. Condições de modificação: 20 ciclos em tampão BR 0,4 mol L⁻¹ pH 4 entre medidas.

Equação da reta: $E_{pa} = (1,51 \pm 0,01)$ V – $(0,014 \pm 0,002$ V dec⁻¹) × pH

Fonte: próprio autor.

Os voltamogramas cíclicos obtidos para BR-ECV apresentaram menor diferença de potencial à meia altura de corrente em relação ao p-ECV e ao CAF-ECV, mostrando que há estabilização da superfície eletródica para oxidação da CAF. A janela de potencial foi ligeiramente deslocada para verificar se houve deslocamento de potencial para valores mais positivos, mas isto não ocorreu. Ao

analisar a curva de E_p versus pH, o coeficiente angular para o sistema é igual a $0,014 \pm 0,002 \text{ V (década de } v)^{-1}$, praticamente o valor para os outros dois tipos de experimento realizados anteriormente, evidenciando que a modificação não interfere no processo de transferência de carga.

CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DO ELETRODO MODIFICADO

Para avaliar a influência dos processos de modificação sobre o sinal de fundo dos eletrodos, mediram-se os valores de carga da dupla camada elétrica em tampão BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,0 com os três tipos de eletrodos: p-ECV, BR-ECV e CAF-ECV. A obtenção da carga da dupla camada elétrica foi obtida a partir dos voltamogramas, utilizando a Equação 35:

$$Q_{dl}^{abs} = \frac{\int i dE}{v} \dots\dots\dots \text{Equação 35}$$

em que $Q_{dl}^{abs} = Q_{oxi} + |Q_{red}|$, ou seja, a carga da dupla camada elétrica obtida (C) é a soma das cargas de oxidação e redução em módulo, $\int i dE$ representa a integração da área abaixo do voltamograma (A V^{-1}) e v a velocidade de varredura (V s^{-1}). A Figura 51 mostra os resultados obtidos utilizando a Equação 35.

Figura 51 – Densidade de carga absoluta da dupla camada elétrica (A) e carga percentual relativa (B) dos eletrodos estudados obtida em eletrólito de suporte (tampão BR $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,0) calculado a partir da Equação 35.

Condições: $E_i = E_f = 0,6 \text{ V}$; $E_\lambda = 1,6 \text{ V}$; $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$

Fonte: próprio autor.

Claramente percebe-se que na Figura 51B existe uma diferença notável nos eletrodos modificados em relação ao eletrodo polido. A densidade de carga elétrica que se observa no p-ECV é relativamente alta e a razão sinal/ruído baixa, o que prejudica a sensibilidade do sensor. Por outro lado, o eletrodo modificado somente em tampão possui a menor carga residual, o que *a priori* seria interessante para eletroanálise, mas o alto valor de desvio padrão (cf. mostrado na Figura 50A) mostra que esta metodologia tem problemas de reprodutibilidade de sinal, o que inviabilizaria um desenvolvimento de metodologia eletroanalítica. Por fim, o CAF-ECV possui uma densidade de carga 10,5% maior do que àquela observada no BR-ECV. Este fato pode ser justificado por conta da própria modificação em solução de CAF, uma vez que ainda pode haver oxidação da molécula de partida ou de um dos seus subprodutos adsorvidos. Porém, apesar de contribuir de forma significativa para o aumento da carga residual, o desvio padrão para o valor obtido de densidade de carga para esta modificação foi uma ordem de grandeza menor, em relação ao p-ECV e ao BR-ECV. Deste modo, demonstra-se que no CAF-ECV, a superfície do eletrodo está de fato modificada.

De forma complementar, o monitoramento do potencial de circuito aberto em eletrólito suporte imediatamente após o tratamento dos eletrodos mostrou a diferença de perfil entre as três superfícies estudadas, Figura 52.

Figura 52 – Potencial de circuito aberto médio em função do tempo ($t = 3600$ s) para os eletrodos modificados estudados ($n = 3$).

Fonte: próprio autor.

**CARACTERIZAÇÃO SUPERFICIAL DOS ELETRODOS MODIFICADOS UTILIZANDO
ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA**

4.9.1. DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DO POTENCIAL DC E DA AMPLITUDE

4.9. No intuito de avaliar com maior profundidade a modificação superficial dos eletrodos estudados nesta tese, utilizou-se a espectroscopia de impedância eletroquímica para caracterização deste e dos outros eletrodos empregados. Primeiramente, foi realizada a avaliação do potencial aplicado, como descrito na Seção 3.3.4 e na Figura 20. Os resultados são mostrados na Figura 53.

Figura 53 – Espectros de impedância em função dos potenciais aplicados, conforme descrito na Seção 3.3.4. Eletrólito de suporte: KCl 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0, contendo K₃[Fe(CN)₆] 1,0 mmol L⁻¹ utilizando intervalo de frequência de 40 kHz até 45 mHz, a = 10 mV.

Fonte: próprio autor.

Os espectros de impedância mostrados na Figura 53 mostram a influência do potencial aplicado nos espectros de impedância. Contudo, os gráficos de Nyquist são pouco úteis na avaliação do melhor potencial para os experimentos posteriores de impedância. Porém, via de regra, o melhor é aquele que possuir menor valor de resistência de transferência de carga. A Tabela 13 mostra os resultados de R_p via *fitting* dos espectros experimentais, utilizando o circuito equivalente mostrado na Figura 20B.

Tabela 13 – Valores de R_p em função do potencial aplicado, conforme condições descritas na Figura 53.

Fonte: próprio autor.

Valor de potencial aplicado (mV)	R_p ($k\Omega\text{ cm}^2$)
110	---
150	0,243
190	0,0624
230	0,0345
270	0,0897
310	0,6214
350	---

É possível observar que os valores de resistência de transferência de carga em função do potencial aplicado em solução contendo KCl $0,1\text{ mol L}^{-1}$ e ferricianeto $1,0\text{ mmol L}^{-1}$ possui valor de R_p mínimo em 230 mV (*versus* Ag/AgCl/KCl sat.). Este valor corresponde ao potencial de meia-onda do par ferricianeto/ferrocianeto no meio estudado, no qual 50% das espécies eletroativas estão no seu estado oxidado e reduzido (ZOSKI, 2007). Determinado o valor de potencial a ser utilizado, empregou-se a variação de amplitude para determinar qual seria o valor em que o estado estacionário em suas três regras não seria violado. A Figura 54 mostra os valores de resistência à transferência de carga em função da amplitude aplicada.

Figura 54 – Valores de R_{ct} em função da amplitude aplicada, nas condições utilizadas na Figura 53.

Fonte: próprio autor.

A Figura 54 mostra a dependência dos valores de R_{ct} com a amplitude aplicada. Apesar do desvio padrão das medidas parecer alto, a variação está na ordem de $0,01 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$, o que pode ser considerado um erro compatível com as variações experimentais em impedância eletroquímica; contudo, não existe nenhuma correlação observável entre as grandezas experimentais. Para definir qual valor ótimo de amplitude, utilizou-se os dados de resistência calculados pelo teste de Kramers-Kronig. Os resultados são mostrados na Figura 55.

Figura 55 – Valores de chi-quadrado em função da amplitude utilizada. Condições experimentais iguais àsquelas mostradas na Figura 54.

Fonte: próprio autor.

Em se tratando da parte experimental da espectroscopia de impedância eletroquímica, a amplitude pode determinar a sensibilidade dos resultados, mas é preciso lembrar que valores altos de amplitude podem influenciar no estado estacionário, quando se atinge valores de amplitude próximos aos valores de $E_{1/2}$ da espécie eletroquímica a ser estudada. Como é possível observar na Figura 55, o valor de amplitude em que é possível obter melhores valores de sensibilidade sem violar o estado estacionário é 10 mV; acima deste valor existe um crescimento exponencial do valor de chi-quadrado. Isso é causado pelo valor de potencial elevado que causa a violação do estado estacionário pela reação eletroquímica do par ferricianeto/ferrocianeto, em que o valor de amplitude oscila para além dos valores de $E_{1/2}$ obtidos anteriormente. Os dados mostrados na Tabela 13 mostram

que esse efeito gera um aumento no valor de R_p . Sendo assim, o valor ótimo de amplitude a ser utilizado nos experimentos será de 10 mV.

4.9.2. CARACTERIZAÇÃO DOS ELETRODOS POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS

A Figura 56 mostra o espectro de impedância eletroquímica obtido para o eletrodo de carbono vítreo polido em solução de ferricianeto $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 56 – Espectro de impedância eletroquímica com *fitting* correspondente para p-ECV (A) ao circuito equivalente de Randles modificado com elemento difusivo de Gerischer (B). Eletrólito de suporte: KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo ferricianeto de potássio $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 6,0, utilizando intervalo de frequência de 40 kHz até 45 mHz, com $E = 230 \text{ mV}$ e $a = 10 \text{ mV}$.

Fonte: próprio autor.

A Figura 56A mostra o perfil esperado de um processo eletroquímico que é controlado por difusão: o primeiro arco capacitivo refere-se à resistência à transferência de carga do par ferricianeto/ferrocianeto; após o primeiro arco capacitivo se inicia a região linear difusional, relativa à difusão do produto formado no par ferricianeto/ferrocianeto. Normalmente aplica-se um circuito equivalente semelhante ao mostrado na Figura 56B utilizando o elemento difusivo de Warburg. Contudo, existem desvios observados no *fitting* experimental, em que o processo eletroquímico do par ferricianeto/ferrocianeto causa modificação do eletrodo, o que será mostrado adiante. O elemento difusivo de Gerischer possui a mesma formulação físico-química do elemento difusivo de Warburg, com a adição de uma constante de reação química, como é possível observar na Equação abaixo.

$$Z_G = \frac{R_0}{\sqrt{k_a + i\omega}} \dots\dots\dots \text{Equação 36}$$

A Equação 37 é idêntica à equação de impedância do elemento difusivo de Warburg (ORAZEM; TRIBOLLET, 2008), sendo k_a a constante de reação química citada anteriormente. Quando $k_a \rightarrow 0$, o elemento de impedância de Gerischer torna-se o elemento de Warburg. A Tabela 15 mostra os valores obtidos pelo *fitting* experimental das curvas de impedância da Figura 56.

Tabela 14 – Dados eletroquímicos obtidos a partir do espectro e do circuito equivalente da Figura 56.

Grandeza	Valor
R_{ct}	$0,122 \pm 0,038 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$
Z_{diff}	$0,369 \pm 0,006 \text{ m}\Omega \text{ cm}^2$
CPE1	$58,31 \pm 5,85 \text{ }\mu\text{Mho cm}^{-2}$
k_a	$0,020 \pm 0,006 \text{ s}^{-1}$
η	$0,88 \pm 0,01$

* η = coeficiente do elemento de fase constante que varia entre 0 (para um resistor) e 1 (para um capacitor)

A Tabela 15 mostra os parâmetros eletroquímicos obtidos pelo *fitting* experimental das curvas de impedância para eletrodo polido. Até agora, o que se pode concluir dos experimentos é que o CPE possui um comportamento capacitivo devido ao valor de η ser muito próximo de 1,0, além da reação eletroquímica de redução/oxidação do ferricianeto nas condições estudadas mostrar que existe

uma constante química com valor considerável, indicando que a reação eletroquímica observada possui, pelo menos, uma etapa química. Provavelmente este comportamento é devido à escala de tempo do experimento de impedância. No intervalo de frequência aplicado para estes experimentos, o tempo estimado foi de seis minutos; enquanto que um experimento típico de voltametria cíclica a 100 mV s^{-1} e na janela de potencial do par ferricianeto/ferrocianeto de potássio dura poucos segundos (oito segundos). Assim, sob um potencial aplicado durante seis minutos algum tipo etapa química pode estar ocorrendo (JAFFARI; TURNER, 1997). A Figura 57 mostra os espectros de impedância obtidos para o eletrodo BR-ECV.

Figura 57 – Espectro de impedância para o eletrodo BR-ECV (A) com o respectivo *fitting* correspondente ao circuito equivalente proposto (B), utilizando o elemento difusivo de Gerischer. Eletrólito de suporte: KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo ferricianeto de potássio 1,0 mmol L⁻¹, pH 6,0, utilizando intervalo de frequência de 40 kHz até 45mHz, com E = 230 mV e a = 10 mV.

Fonte: próprio autor.

Como esperado, o espectro mostrado na Figura 57A, obtido para o eletrodo BR-ECV apresentou comportamento diferente do eletrodo p-ECV. Os valores de resistência à transferência de carga aumentaram, uma vez que, como foi visto na Figura 50, houve passivação do eletrodo, causando também um aumento nos valores de R_{ct} , como mostrado na Tabela 15.

Tabela 15 – Dados eletroquímicos obtidos a partir do espectro e do circuito equivalente apresentados na Figura 57B.

Grandeza	Valor
R_{ct}	$4,764 \pm 0,462 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$
Z_{diff}	$0,725 \pm 0,005 \text{ m}\Omega \text{ cm}^2$
CPE1	$20,77 \pm 6,15 \text{ }\mu\text{Mho cm}^{-2}$
CPE2	$83,23 \pm 4,62 \text{ }\mu\text{Mho cm}^{-2}$
k_a	10^{-6}
η_1	$0,91 \pm 0,01$
η_2	$0,60 \pm 0,02$

O valor de R_{ct} para BR-ECV, se comparado para o eletrodo p-ECV, aumentou 39 vezes. Isto era um resultado esperado, uma vez que os dados voltamétricos já haviam indicado um aumento de densidade de carga superficial após a modificação do eletrodo de carbono vítreo em tampão BR, pH 4,0. Assumindo que durante a modificação do eletrodo em tampão BR, pH 4,0, haja funcionalização da superfície do eletrodo com grupos -COOH e -OH, quando o eletrodo é colocado no eletrólito de suporte (pH $\approx$ 6,0), ocorre a desprotonação desses grupos, tornando a densidade de carga líquida sobre a superfície do eletrodo, negativa. Sendo o próprio íon ferricianeto carregado negativamente, este sofre repulsão na interface eletrodo/solução, dificultando a entrada do ânion na camada interna de Helmholtz, fato indicado também pelo aumento da impedância de difusão, Z_{diff} , que dobrou de valor.

O espectro de impedância obtido para o eletrodo CAF-ECV é idêntico ao espectro obtido para o eletrodo BR-ECV, sugerindo que haja, pelo menos no domínio de altas e médias frequências, um comportamento semelhante, Figura 57A. Porém, em baixas frequências os valores de impedância mudam ligeiramente, sendo esta região de domínio do processo de difusão do analito ou de seu do produto de redução/oxidação (já que o potencial aplicado corresponde ao valor de $E_{1/2}$). Contudo, os valores de resistência à transferência de carga para o eletrodo CAF-ECV são semelhante aos obtidos para o eletrodo BR-ECV, Tabela 16.

Tabela 16 - Dados eletroquímicos obtidos a partir do espectro e do circuito equivalente para o eletrodo CAF-ECV.

Fonte: o próprio autor.

Grandeza	Valor
R_{ct}	$4,242 \pm 0,965 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$
Z_{diff}	$0,565 \pm 0,069 \text{ m}\Omega \text{ cm}^2$
CPE1	$88,15 \pm 7,08 \text{ }\mu\text{Mho cm}^{-2}$
CPE2	$21,54 \pm 5,85 \text{ }\mu\text{Mho cm}^{-2}$
k_a	10^{-6}
η_1	$0,61 \pm 0,01$
η_2	$0,91 \pm 0,02$

Por uma limitação do *software*, que calcula os parâmetros eletroquímicos a partir do espectro de impedância, não foi possível fazer uma diferenciação mais clara das diferenças entre esses dois eletrodos. No máximo, é possível afirmar que em ambos os casos os eletrodos estão com superfície eletródica modificada, e que ambos estão com características resistivas em relação ao eletrodo p-ECV, indicando que existe adsorção eletroquímica nos eletrodos BR-ECV e CAF-ECV. A Figura 58 mostra os espectros sobrepostos dos três eletrodos estudados.

Figura 58 – Sobreposição de espectros de impedância para os eletrodos p-ECV (▲), BR-ECV (■) e CAF-ECV (●) sobrepostos.

Fonte: o próprio autor.

Para uma comparação eletroanalítica entre os eletrodos p-ECV e CAF-ECV, levantou-se curvas de calibração para determinação de CAF utilizando voltametria de onda quadrada pelo método de adição de padrão. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 59.

Figura 59 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos com o CAF-ECV em solução de tampão BR 0,4 mol L⁻¹, pH 4,0 (A) e (B) Curvas de calibração para cafeína utilizando eletrodo polido (linha vermelha) e eletrodo CAF-ECV (linha azul) no mesmo intervalo de concentração. Parâmetros de voltametria de onda quadrada: $f = 25 \text{ s}^{-1}$, $a = 20 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ ($v = 125 \text{ mV s}^{-1}$); $E_i = 0,0 \text{ V}$; $E_f = 1,6 \text{ V}$. Intervalo de concentração: $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ até $110 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Equações de reta:

$$j_p (\mu\text{A cm}^{-2}) = (22,4 \pm 8,8) \mu\text{A cm}^{-2} + (6,8 \pm 0,1 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-2}) \times [\text{CAF}] \text{ (p-ECV)}$$

$$j_p (\mu\text{A cm}^{-2}) = (18,8 \pm 7,3) \mu\text{A cm}^{-2} + (6,0 \pm 0,1 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-2}) \times [\text{CAF}] \text{ (CAF-ECV)}$$

Fonte: o próprio autor.

A Figura 59B mostra que as curvas de calibração para o p-ECV e CAF-ECV possuem diferentes sensibilidades, sendo que o p-ECV possui coeficiente angular maior que CAF-ECV, indicando que este eletrodo é menos sensível à cafeína se comparado ao p-ECV. Isto pode ser explicado pela modificação do eletrodo em si, uma vez que o tratamento do eletrodo em CAF passiva o eletrodo, como mostrado nas discussões sobre o processo de oxidação da cafeína, página 85.

Os limite de detecção (LD) dos eletrodos, p-ECV e CAF-ECV, foram calculados utilizando o método já descrito na literatura (HARRIS, 2012; SKOOG; HOLLER; WEST, 2014). Os valores de LD obtidos para a CAF são mostrados na Tabela 17.

Tabela 17 – Valores de LD calculados a partir do valor médio do desvio padrão do intercepto das curvas analíticas da Figura 59B.

Fonte: o próprio autor.

Eletrodo	LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-2}$)
p-ECV	3,9 $\pm$ 0,1	6,8
CAF-ECV	3,7 $\pm$ 0,1	6,0

Como decorre dos dados apresentados na Tabela 16, não há vantagem na modificação do eletrodo de carbono vítreo em solução de cafeína para eventual quantificação deste analito.

CONCLUSÕES

Todas as xantinas estudadas apresentaram comportamento irreversível. Para a CAF, o potencial de pico de oxidação não apresentou dependência apreciável com o pH do meio ($0,020 \pm 0,002 \text{ V dec}^{-1} \text{ pH}$) e, dois intervalos lineares foram observados a partir dos gráficos de densidade de corrente de pico versus velocidade de varredura. No intervalo de $10 \leq v \leq 75 \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$, o processo eletroquímico foi controlado por difusão, enquanto que acima de 100 mVs^{-1} não foi possível concluir se o processo é governado por difusão ou adsorção. A TB apresentou comportamento similar, embora maior dependência do potencial de pico com o pH do meio ($0,035 \pm 0,002 \text{ V pH}^{-1}$) tenha sido observado. A XA e TF apresentaram o mesmo comportamento voltamétrico: controle difusional em todo o intervalo de velocidade de varredura estudado, com valores de $\left(\frac{\partial E_p}{\partial \text{pH}}\right)$ próximos a $0,059 \text{ V}$, indicando que o mesmo número de prótons e elétrons estão envolvidos no processo eletroquímico de transferência de carga. Os resultados voltamétricos, realizados em meio aquoso e em meio orgânico (DMSO), além de experimentos cronoamperométricos, indicaram que o mecanismo de oxidação eletroquímica da CAF envolve um elétron originando um radical e é seguida pela formação de um dímero, de acordo com a descrição mostrada na Seção 4.6. Para a CAF, o número de elétrons calculado por voltametria cíclica, usando a equação de Randles-Ševčík, e voltametria de pulso diferencial, usando a largura de pico à meia altura de corrente ($w_{1/2}$) foi igual a um, enquanto TB e TF apresentaram por Voltametria de pulso diferencial número de elétrons igual a um e a XA, número de elétrons maior que um. Por cronoamperometria, utilizando a equação de Cottrell, obteve-se para a CAF e TB, número de elétrons igual a 1 e para TF e XA, número de elétrons 2 e 3, respectivamente. O mecanismo proposto para a oxidação da CAF, segundo os dados obtidos nesta tese, tem como primeira etapa a oxidação eletroquímica da CAF formando um cátion radical, sendo sucedida por duas outras reações químicas, a saber: formação de um dímero a partir de dois cátions radicais de CAF e a saída de dois prótons. A formação do dímero, bem como sua adsorção na superfície do eletrodo de carbono vítreo, foi detectada em meio não aquoso pela formação de um par redox quase reversível com potencial de meia onda ($E_{1/2}$) de $0,50 \text{ V}$ (*versus* Ag/AgCl), indicando que o dímero formado é eletroativo.

O eletrodo de carbono vítreo foi propositalmente modificado em solução de CAF em tampão BR, pH 4,0. Embora o critério voltamétrico não tenha indicado claramente que ocorre adsorção do produto de oxidação da CAF na superfície do eletrodo, técnicas eletroquímicas como potencial de circuito aberto e espectroscopia de impedância eletroquímica, foram empregadas para avaliar a adsorção eletroquímica da CAF sobre eletrodo de carbono vítreo.

Os espectros de impedância eletroquímica obtidos para os eletrodos BR-ECV e CAF-ECV mostraram maiores valores de R_{ct} em relação aos obtidos com o p-ECV, indicando que o eletrodo modificado possui comportamento resistivo. Além disto, curvas de potencial de circuito aberto foram obtidas para todos os eletrodos e indicaram modificação superficial tanto pelo tratamento em tampão, quanto pelo tratamento em solução de cafeína.

Para avaliar a possibilidade de uma eventual aplicação eletroanalítica do eletrodo modificado, CAF-ECV, na detecção de cafeína, curvas de calibração foram levantadas utilizando-se voltametria de onda quadrada. Quando os valores de sensibilidade dos eletrodos p-ECV e CAF-ECV foram comparados, pouca diferença de sensibilidade foi observada. O efeito de passivação da superfície eletródica diminuiu a área ativa do eletrodo, de modo que as densidades de corrente de pico diminuíram para o CAF-ECV. Assim, não houve vantagem na preparação e utilização do mesmo.

BIBLIOGRAFIA PESQUISADA²

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. [s.l.] American Psychiatric Association, 2013.

6. ARENDASH, G. W. et al. Caffeine protects Alzheimer's mice against cognitive impairment and reduces brain beta-amyloid production. **Neuroscience**, v. 142, n. 4, p. 941–952, 2006.

ASHIHARA, H.; SANO, H.; CROZIER, A. Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. **Phytochemistry**, v. 69, n. 4, p. 841–56, mar. 2008.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2a. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000.

BERNARD, K. **Top 10 Coffee Consuming Nations**. Disponível em: <<http://www.worldatlas.com/articles/100014-top-10-coffee-consuming-nations>>.

BRASIL. **Lei 9609, de 19 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre a proteção da propriedade intelectual de programa de computador, sua comercialização no País, e dá outras providências**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9609.htm>. Acesso em: 1 jan. 2016.

BRETT, C. M. A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. **Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications**. 1a. ed. Oxford: Oxford University Press, 1993.

BRITTON, H. T. S.; ROBINSON, R. A. CXCVIII - Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, p. 1456, 1 jan. 1931.

BRUNETTI, B.; DESIMONI, E.; CASATI, P. Determination of Caffeine at a Nafion-Covered Glassy Carbon Electrode. **Electroanalysis**, v. 19, n. 2–3, p. 385–388, jan. 2007.

BUORO, R. M. et al. Imunossupressor leflunomide anodic behaviour at a

² De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

boron-doped diamond electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 729, p. 61–67, set. 2014.

CAO, C. et al. Caffeine suppresses beta-amyloid levels in plasma and brain of Alzheimer's transgenic mice. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 17, n. 3, p. 681–697, 2009.

CHAN, K. K. et al. Electrochemically Controlled One-Electron Oxidation Coupled to Consecutive Hydrogen Atom Transfer of Caffeine. **ChemElectroChem**, v. 1, n. 9, p. 1557–1562, 16 set. 2014.

CHANG, R. **Chemistry**. 10a. ed. New York: McGraw Hill Companies, Inc., 2009.

CHEMAXON. **ChemAxon Docs - Geometrical Descriptors Plugin**. Disponível em: <<https://docs.chemaxon.com/display/docs/Geometrical+Descriptors+Plugin>>. Acesso em: 15 set. 2015.

COGGER, N. D.; WEBB, R. V. **Frequency Response Analysis**. 1a. ed. Hampshire: Solatron Analytical, 1999.

DA TRINDADE, L. G.; GONÇALVES, R. S. Evidence of caffeine adsorption on a low-carbon steel surface in ethanol. **Corrosion Science**, v. 51, n. 8, p. 1578–1583, ago. 2009.

DAHMEN, E. A. M. F. **Electroanalysis: Theory and Applications in Aqueous and Non-Aqueous Media and in Automated Chemical Control**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., 1986.

DE TOLEDO, R. A. et al. Use of Graphite Polyurethane Composite Electrode for Imipramine Oxidation—Mechanism Proposal and Electroanalytical Determination. **Analytical Letters**, v. 39, n. 3, p. 507–520, fev. 2006.

DEREE, J. et al. Insights into the regulation of TNF-alpha production in human mononuclear cells: the effects of non-specific phosphodiesterase inhibition. **Clinics (Sao Paulo, Brazil)**, v. 63, n. 3, p. 321–328, 2008.

DRYHYRST, G. et al. **Biological Electrochemistry - Vol. 1**. 1. ed. New York: CRC Academic Press, 1982.

FICHTER, F.; KERN, W. Elektrochemische Oxydationen in der Puringruppe. **Helvetica Chimica Acta**, v. 9, n. 1, p. 429–441, 1926.

FISONE, G.; BORGKVIST, A.; USIELLO, A. Caffeine as a psychomotor stimulant: Mechanism of action. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 61, n. 7–8, p. 857–872, 2004.

GABRIELLI, C. **Identification of Electrochemical Processes by frequency response analysis**. 1a. ed. Hampshire: Solartron Analytical, 1998.

GOSSER-JR, D. K. **Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms**. 1. ed. New York: Wiley-VCH, 1993.

HABIBI, B.; ABAZARI, M.; POURNAGHI-AZAR, M. H. A Carbon Nanotube Modified Electrode for Determination of Caffeine by Differential Pulse Voltammetry. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 33, n. 11–12, p. 1783–1790, nov. 2012.

HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; KRANE, K. S. **Física 3**. 5a ed. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora SA, 2004.

HANSEN, B.; DRYHURST, G. Electrochemical oxidation of theobromine and caffeine at the pyrolytic graphite electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 30, n. 3, p. 407–416, maio 1971a.

HANSEN, B. H.; DRYHURST, G. Electrochemical oxidation of theophylline at the pyrolytic graphite electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 32, n. 3, p. 405–414, 1971b.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

ISAACS, N. S. **Physical organic chemistry**. 2a. ed. [s.l.] Longman Scientific & Technical, 1995.

JAFFARI, S. A.; TURNER, A. P. F. Novel hexacyanoferrate(III) modified graphite disc electrodes and their application in enzyme electrodes—Part I. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 12, n. 1, p. 1–9, jan. 1997.

KONOPKA, S. J.; MCDUFFIE, B. Diffusion coefficients of ferri- and

ferrocyanide ions in aqueous media, using twin-electrode thin-layer electrochemistry. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 14, p. 1741–1746, dez. 1970.

KRASNOV, A. **Solubility and physical stability improvement of natural xanthine derivatives**. [s.l.] University of Helsinki, 2011.

KRONSCHLÄGER, M. et al. Caffeine eye drops protect against UV-B cataract. **Experimental eye research**, v. 113, p. 26–31, ago. 2013.

KUNZ, H. Emil Fischer--unequalled classicist, master of organic chemistry research, and inspired trailblazer of biological chemistry. **Angewandte Chemie (International ed. in English)**, v. 41, n. 23, p. 4439–51, 2 dez. 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6a. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2014.

LEÓN-CARMONA, J. R.; GALANO, A. Is caffeine a good scavenger of oxygenated free radicals? **Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 15, p. 4538–4546, 2011.

LUND, H.; HAMMERICH, O. **Organic Electrochemistry**. 4. ed. New York: Marcel Dekker, 2000.

MACDONALD, J. R. Impedance spectroscopy. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 20, n. 3, p. 289–305, maio 1992.

MANSFELD, F. **Analysis and interpretation of EIS data for metals and alloys**. 1. ed. Hampshire: Solartron Limited, 1999.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. et al. Fabrication and application of Nafion®-modified boron-doped diamond electrode as sensor for detecting caffeine. **Diamond and Related Materials**, v. 19, n. 10, p. 1188–1193, out. 2010.

MERSAL, G. A. M. Experimental and Computational Studies on the Electrochemical Oxidation of Caffeine at Pseudo Carbon Paste Electrode and Its Voltammetric Determination in Different Real Samples. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 3, p. 520–529, 6 ago. 2011.

O'BRIEN, M. C. et al. Caffeine, Alcohol, and Youth: A Toxic Mix. **Journal of Caffeine Research**, v. 1, n. 1, p. 15–21, mar. 2011.

ORAZEM, M. E.; TRIBOLLET, B. **Electrochemical Impedance**

Spectroscopy. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2008.

ORIGLIA-LUSTER, M. .; PATTERSON, B. .; WOOLLEY, E. .

Thermodynamics for self-association of caffeine in water: apparent molar volumes and apparent molar heat capacities of aqueous caffeine at temperatures from 278.15 to 393.15K and at the pressure 0.35MPa. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 34, n. 11, p. 1909–1921, nov. 2002.

PAVIA, D. L. et al. **Introduction to Spectroscopy**. 5. ed. Connecticut: Cengage Learning, 2015.

PILLA, L. **Físico-Química**. 1a. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora, 1980.

PLETCHER, D. et al. **Instrumental Methods in Electrochemistry**. 1. ed. Philadelphia: Woodhead Publishing, 2011.

PRICE, W. E. Tracer caffeine diffusion in aqueous solutions at 298 K. The effect of caffeine self-association. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases**, v. 85, n. 2, p. 415, 1989.

RIBEIRO, A. C. F. et al. Salt effects on the diffusion of caffeine in aqueous solutions. **Fluid Phase Equilibria**, v. 338, p. 197–203, jan. 2013.

SABA, P.; BROWN, W. A.; OMANOVIC, S. Interactive behavior of caffeine at a platinum electrode surface. **Materials Chemistry and Physics**, v. 100, n. 2–3, p. 285–291, dez. 2006.

SAVÉANT, J.-M. **Elements of Molecular and Biomolecular Electrochemistry: An Electrochemical Approach to Electron Transfer Chemistry**. 1a. ed. New Jersey: Wiley, 2006.

SHI, X.; DALAL, N. S.; JAIN, A. C. Antioxidant behaviour of caffeine: Efficient scavenging of hydroxyl radicals. **Food and Chemical Toxicology**, v. 29, n. 1, p. 1–6, jan. 1991.

SINHA, B. et al. Apparent molar volumes and viscosity B-coefficients of caffeine in aqueous thorium nitrate solutions at T=(298.15, 308.15, and 318.15)K. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 42, n. 3, p. 380–386, mar. 2010.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 8a. ed. Boston: Cengage Learning, 2003.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M. **Fundamentos de Química Analítica**. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

SLUYTERS-REHBACH, M. Impedances of electrochemical systems: Terminology, nomenclature and representation - Part I: Cells with metal electrodes and liquid solutions (IUPAC Recommendations 1994). **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n. 9, p. 1831–1891, 1 jan. 1994.

SPĂȚARU, N. et al. Anodic voltammetry of xanthine, theophylline, theobromine and caffeine at conductive diamond electrodes and its analytical application. **Electroanalysis**, p. 721–728, 2002.

SPILLER, G. Caffeine. In: SPILLER, G. A. (Ed.). **Caffeine**. 1a Ed. ed. Flórida: CRC, 1997. p. 384.

SVÍTKOVÁ, J. et al. Utilization of electrochemical methods in determination of trace elements in beverages. **Acta Chimica Slovaca**, v. 5, n. 1, p. 42–46, 1 jan. 2012.

TAFEL, J. Ueber Desoxytheobromin. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 32, n. 3, p. 3194–3206, out. 1899.

TAFEL, J.; ACH, B. Reductionsproducte aus Guanin. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 34, n. 1, p. 1170–1181, jan. 1901.

TAFEL, J.; WEINSCHENK, A. Ueber 3-Methyldesoxyxanthin und Desoxyheteroxanthin. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 33, n. 3, p. 3369–3377, out. 1900.

TAVAGNACCO, L. et al. Molecular Dynamics Simulation Studies of Caffeine Aggregation in Aqueous Solution. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 37, p. 10957–10966, 22 set. 2011.

TELO, J. P.; VIEIRA, A. J. S. C. Mechanism of free radical oxidation of caffeine in aqueous solution. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n. 9, p. 1755–1758, 1 jan. 1997.

TICIANELLI, E. A.; GONZÁLEZ, E. R. **Eletroquímica - Princípios e**

Aplicações. 1. ed. São Paulo: EDUSP, 2005.

TORRES, A. C.; BARSAN, M. M.; BRETT, C. M. A. Simple electrochemical sensor for caffeine based on carbon and Nafion-modified carbon electrodes. **Food chemistry**, v. 149, p. 215–20, 15 abr. 2014.

VINADER-CAEROLS, C. et al. Effects of Alcohol, Coffee, and Tobacco, Alone or in Combination, on Physiological Parameters and Anxiety in a Young Population. **Journal of Caffeine Research**, v. 2, n. 2, p. 70–76, jun. 2012.

WIKIPEDIA. **Harry Nyquist**. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Harry_Nyquist>. Acesso em: 2 maio. 2015.

WIKIPEDIA. **Hendrik Wade Bode**. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hendrik_Wade_Bode>. Acesso em: 2 maio. 2015.

WIKIPEDIA. **Brazil**. Disponível em: <<https://en.wikipedia.org/wiki/Brazil>>.

WILKE, C. R.; CHANG, P. Correlation of diffusion coefficients in dilute solutions. **AIChE Journal**, v. 1, n. 2, p. 264–270, jun. 1955.

WISHART, D. S. et al. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. **Nucleic acids research**, v. 34, n. Database issue, p. D668-72, 1 jan. 2006.

ZOSKI, C. **Handbook of Electrochemistry**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier Science, 2007.

APÊNDICE A– DETERMINANDO A EQUAÇÃO DA IMPEDÂNCIA EQUIVALENTE A PARTIR DAS EQUAÇÕES DE IMPEDÂNCIA DOS ELEMENTOS DE CIRCUITO ELÉTRICO

Como a espectroscopia de impedância eletroquímica utiliza circuitos equivalentes para modelagem do sistema eletrodo/solução, é possível construir espectros de impedância teóricos a partir da utilização das leis das malhas nos mesmos circuitos equivalentes utilizados, em que é a soma das quedas de tensão em um determinado circuito é igual a zero (HALLIDAY; RESNICK; KRANE, 2004). Quando aplicada aos resistores em circuito alternado, a impedância equivalente de circuitos em série será igual a (HALLIDAY; RESNICK; KRANE, 2004; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008):

$$Z_{eq} = \sum_{i=1}^n Z_i \dots\dots\dots \text{Equação 37}$$

em que Z_{eq} é a impedância equivalente, e $\sum_{i=1}^n Z_i$ é a somatória até o n-ésimo elemento de impedância em série. Quando os elementos estão em paralelo, a impedância equivalente pode ser calculada da seguinte maneira (HALLIDAY; RESNICK; KRANE, 2004; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008):

$$\frac{1}{Z_{eq}} = \frac{1}{\sum_{i=1}^n Z_i} \dots\dots\dots \text{Equação 38}$$

em que $\frac{1}{Z_{eq}}$ é o inverso da impedância equivalente, enquanto $\frac{1}{\sum_{i=1}^n Z_i}$ é a somatória da impedância do n-ésimo elemento em paralelo. Sabendo-se quais são as equações de impedância relativos aos elementos utilizados no circuito, pode-se obter a equação da impedância calculada a partir desses valores.

Sendo a impedância um número complexo, é necessário torná-lo no formato $Z = a \pm bi$, separando na equação da impedância equivalente a parte real da imaginária.

APÊNDICE B – EQUAÇÃO DA IMPEDÂNCIA EQUIVALENTE EM ALGUNS CASOS

Sendo a espectroscopia de impedância eletroquímica fundamentada nos princípios da transformada de Fourier (BARD; FAULKNER, 2000; ORAZEM; TRIBOLLET, 2008), a função de transferência é uma razão de outras duas funções dependentes do tempo, normalmente representado por e^{st} . No nosso caso, a função de transferência é a impedância equivalente, e as duas funções dependentes do tempo (ou dependentes da frequência) são o potencial e corrente alternados, e a constante s da função de transferência é tão somente o produto complexo $i\omega$, sendo a função de transferência depende de $i\omega t$, ou $e^{i\omega t}$. Nessa notação, torna-se mais fácil construir os gráficos de Nyquist e Bode utilizando no Excel®.

APÊNDICE C – CALCULANDO AS IMPEDÂNCIAS EQUIVALENTES DE ALGUNS SISTEMAS

I. SISTEMA RC EM SÉRIE

Num sistema RC em série, um resistor e um capacitor estão em série, como visto na Figura 16A. Sendo assim, aplica-se a Equação 44:

$$Z_{eq} = Z_{R_u} + Z_C \therefore R_u + \frac{1}{i\omega C_{dl}} \dots\dots\dots \text{Equação 39}$$

em que a Equação 44 representa a impedância equivalente para o sistema RC em série.

Com uma planilha em branco no Excel®, as colunas A e B, nas suas linhas 1, 2 e 3 serão utilizadas para referenciar o valor da resistência não compensada (R_u), da resistência à transferência de carga (R_{ct}) e a capacitância da dupla camada elétrica (C_{dl}), respectivamente. Apesar de qualquer coluna e linha ser potencialmente utilizável, neste caso serão usadas as colunas A e B. A Figura 60 mostra como esses dados alimentariam a planilha.

	A	B
1	R_u (Ω)	100
2	R_{ct} (Ω)	1000
3	C_{dl} (F)	1.00E-06

Figura 60 – Planilha de Excel® alimentada com os valores de $R_u = 100 \Omega$, $R_{ct} = 1000 \Omega$ e $C_{dl} = 1 \mu\text{F}$.

Fonte: o próprio autor.

A próxima etapa é definir o intervalo de frequência. Na própria coluna A, na linha 6, foi colocada uma célula com o nome “Frequência (Hz)”. Como o nome sugere, será nesse intervalo que o espectro será construído. Neste e nos outros exemplos, será usado o intervalo de 40 kHz até 10 mHz, com 90 pontos de frequência, além de utilizar os valores de resistência descritos na Figura 59. A seguir, uma coluna à direita, chamada “Frequência complexa”, mostra o produto do número complexo com o valor da frequência da coluna à sua esquerda. A

frequência complexa será usada para calcular o valor de impedância ponto a ponto, em todos os exemplos citados neste apêndice. No Excel®, a fórmula a escrever será³:

=COMPLEXO(0;A6).....Fórmula 1

em que o comando mostrado na Fórmula 1 irá retornar, na célula em que foi direcionada a mesma, um número complexo; neste caso, a célula irá mostrar um valor de número complexo puro, onde o zero representa que a parte real do número é nula, enquanto que a parte complexa é representada pela frequência multiplicada pelo número complexo, neste caso a célula A6. A Figura 61 mostra como seria esse comando na célula, e como a próxima linha, representando a próxima frequência, retorna esse valor.

5	Frequência (Hz)	Frequência complexa
6	40000.0000	=COMPLEXO(0;A6)
7	30000.0000	30000i

Figura 61 – Inserção da Fórmula 1 para retornar um valor de frequência complexa, com a linha a seguir retornando o valor de frequência complexa para 30 kHz.

Fonte: o próprio autor.

A coluna a seguir será chamada “Produto complexo”, onde será o produto da frequência imaginária por um outro número. Neste caso, o produto será o valor $i\omega Cdl$, correspondente ao inverso da impedância da capacitância. Deste modo, a fórmula a ser utilizada será:

=IMPROD(B6;\$B\$3)Fórmula 2

³ Convém observar que o Excel® possui um tradutor interno de fórmulas, uma vez que, evidentemente, a mudança do idioma do *software* implica uma mudança na forma que fórmula é escrita. Caso haja problemas em saber qual fórmula aplicar em edições do Excel® em outros idiomas, o site Excel-Translator (<http://en.excel-translator.de>) ajuda a traduzir a fórmula nos idiomas do Office® disponíveis no mercado.

em que a Fórmula 2 retornará, na célula, o valor de um produto de um número imaginário por outro. Neste caso, a célula B6, correspondente à frequência complexa, será o número complexo a ser multiplicado, e \$B\$3 a célula B3, correspondente à capacitância da dupla camada elétrica. A Figura 62 mostra como a fórmula é inserida na célula, e como o valor é calculado na próxima frequência.

	A	B	C
1	Ru (Ω)	100	
2	Rct (Ω)	1000	
3	Cdl (F)	1.00E-06	
4			
5	Frequência (Hz)	Frequência complexa	Produto complexo
6	40000.0000	40000i	=IMPROD(B6;\$B\$3)
7	30000.0000	30000i	0.03i

Figura 62 – Utilização da fórmula “=IMPROD” para calcular o produto entre a frequência complexa B6, em azul, com Cdl, \$B\$3, em vermelho. O único valor que irá mudar é a frequência complexa, como mostrado na linha 7.

Fonte: o próprio autor.

A seguir, a próxima etapa é converter os valores calculados até agora no formato da Equação 41, em que o produto $i\omega Cdl$ é dividido por 1. Aqui, a fórmula a ser utilizada é:

=IMDIV(1;C6).....Fórmula 3

em que o comando da Fórmula 3 irá retornar uma divisão de números complexos. Neste caso, será 1 dividido por $i\omega Cdl$, representado pela célula C6. A Figura 63 mostra a inserção da fórmula na célula, bem como o cálculo na próxima frequência.

	A	B	C	D
1	Ru (Ω)	100		
2	Rct (Ω)	1000		
3	Cdl (F)	1.00E-06		
4				
5	Frequência (Hz)	Frequência complexa	Produto complexo	Inverso do produto complexo
6	40000.0000	40000i	0.04i	=IMDIV(1;C6)
7	30000.0000	30000i	0.03i	-33.33333333333333i

Figura 63 – Utilização da fórmula “=IMDIV(1;C6)”, para divisão do produto complexo $i\omega C_{dl}$, representado pela célula C6, em azul. A linha abaixo mostra como, para a próxima frequência, o valor é retornado.

Fonte: o próprio autor.

Após calcular o valor de $1/i\omega C$, a próxima etapa é completar a equação da impedância equivalente, como mostrada na Equação 44. Bastando somar os valores da resistência não compensada com $1/i\omega C_{dl}$, o valor final será a própria Equação 41 rearranjada para o formato $a \pm bi$. Assim, o comando para soma de complexos é:

=IMSOMA(\$B\$1;D6).....Fórmula 4

em que o comando da Fórmula 4 irá retornar uma soma de números complexos. Neste caso, a célula B1 possui o valor da resistência não compensada (R_u) fixada, uma vez que esse valor corresponde à resistência do eletrólito. A célula D6 é justamente o valor $1/i\omega C_{dl}$, dependente da frequência. A coluna que contém a equação final é chamada “Função de transferência”, representando o valor que será transferido, conforme a transformada de Laplace. A Figura 64 mostra como este valor fica inserido na planilha, bem como o valor de frequência consequente.

	A	B	C	D	E
1	Ru (Ω)	100			
2	Rct (Ω)	1000			
3	Cdl (F)	1.00E-06			
4					
5	Frequência (Hz)	Frequência complexa	Produto complexo	Inverso do produto complexo	Função de transferência na frequência dada
6	40000.0000	40000i	0.04i	-25i	=IMSOMA(\$B\$1;D6)
7	30000.0000	30000i	0.03i	-33.33333333333333i	100-33.33333333333333i

Figura 64 – Inserção da fórmula “=IMSOMA(\$B\$1;D6)” para tornar a Equação 39 no formato de números complexos no Excel®. Os valores somados são: resistência não compensada (B1, fixada) e o valor da frequência, D6. A linha abaixo mostra qual o valor calculado para a frequência seguinte.

Fonte: o próprio autor.

A partir de agora, com o número complexo calculado para todas as frequências, seis colunas são montadas: “log |Z|”, “Ângulo de fase”, “Z”, “-Z” e “log f”, representando seus respectivos valores e significados, como descrito na Seção 1.4.1. desta tese. As respectivas fórmulas a serem utilizadas são:

=LOG10(IMABS(E6)) Fórmula 5
 =IMARG(E6)*180/PI() Fórmula 6
 =IMREAL(E6)..... Fórmula 7
 =IMAGINÁRIO(E6) Fórmula 8
 =LOG10(A6) Fórmula 9

em que a Fórmula 5 retorna o logaritmo decimal do valor absoluto do número complexo da célula E6, a Fórmula 6 retorna o valor de argumento do número complexo E6 em graus, a Fórmula 7 retorna a parte real do número complexo da célula E6, a Fórmula 8 retorna a parte imaginária do mesmo número complexo e a Fórmula 9 retorna o valor do logaritmo decimal da frequência em A6. Todos esses valores serão utilizados, ponto a ponto, para construir os gráficos de Nyquist e Bode. A Figura 65 mostra como esses valores ficam registrados na planilha, bem como o próximo valor calculado usando esse método.

Função de transferência na frequência dada			
100-25i			
100-33.33333333333333i			
log Z 	Ângulo de fase	Z'	-Z''
=LOG10(IMABS(E6))	=IMARG(E6)*180/PI()	=IMREAL(E6)	=IMAGINÁRIO(E6)
2.022878745	-18.43494882	100	-33.33333333
log f			
=LOG10(A6)			
4.477121255			

Figura 65 – Inserção das Fórmulas 5 até 9 para o cálculo do módulo da impedância, ângulo de fase, impedância real e imaginária para a função de transferência localizada em E6, e o logaritmo da frequência calculado em E6, com os valores consequentes na linha abaixo.

Fonte: o próprio autor.

Com os valores calculados, os gráficos de Nyquist e Bode foram grafados, como mostrado na Figura 66.

Figura 66 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 39 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter log |Z|, log f, - Z'', Z' e ângulo de fase.

Fonte: o próprio autor.

II. SISTEMA RC EM PARALELO

Para sistemas RC em paralelo, como descrito na Figura 16A, a impedância equivalente é dada por:

$$Z_{eq} = R_u + Z_1 \dots\dots\dots \text{Equação 40}$$

em que Z_{eq} é a impedância equivalente, Z_{Ru} a impedância do resistor e Z_1 a impedância equivalente das impedâncias da capacitância da dupla camada elétrica (Z_{Cdl}) e da resistência à transferência de carga (Z_{Rct}). Estando os dois elementos em série, a impedância equivalente será:

$$\frac{1}{Z_1} = \frac{1}{Z_{Rct}} + \frac{1}{Z_{Cdl}} \therefore \frac{1}{R_{ct}} + i\omega C_{dl} \dots\dots\dots \text{Equação 41}$$

em que, substituindo a Equação 46 na 45, tem-se:

$$Z_{eq} = R_u + \frac{1}{i\omega C_{dl} + \frac{1}{R_{ct}}} \dots\dots\dots \text{Equação 42}$$

em que a Equação 47 possui os seus valores já descritos anteriormente.

Na planilha, deve-se adicionar uma célula contendo o valor inverso de R_{ct} , ou $1/R_{ct}$, além de duas colunas: “ $i\omega C + 1/R_{ct}$ ”, representando a soma entre o inverso da resistência da transferência de carga com o produto imaginário da frequência com a capacitância da dupla camada elétrica. Como pretende-se colocar esse produto na forma da Equação 44, a próxima operação é inverter essa soma na coluna “Inverso”, e todo o resto continua o mesmo.

Na coluna “ $i\omega C + 1/R_{ct}$ ”, deve-se usar a Fórmula 4, “=IMSOMA(X;Y)”, substituindo os valores de X e Y pelos valores correspondentes. Neste caso, o valor X é o valor do produto complexo com a frequência (coluna “Produto complexo”), e Y é o valor de capacitância na célula B4 fixa. A Figura 67 mostra como esta função é colocada na célula, bem como o produto formado na linha consequente.

	A	B	C	D
1	Ru (Ω)	100		
2	Rct (Ω)	1000		
3	Cdl (F)	1.00E-06		
4	1/Rct (Ω^{-1})	0.001		
5	Frequência (Hz)	Complexo	Produto complexo	iwC + 1/Rct
6	40000.0000	40000i	0.04i	=IMSOMA(C6;\$B\$4)
7	30000.0000	30000i	0.03i	0.001+0.03i

Figura 67 – Aplicação da fórmula “=IMSOMA” para soma do número complexo C6 com o valor inverso da resistência da transferência de carga B4, fixada. A próxima linha contém o cálculo para a próxima frequência.

Fonte: o próprio autor.

A seguir, a próxima etapa é inverter a coluna “iwC + 1/Rct” na coluna “Inverso”. Neste caso, basta utilizar a Fórmula 3, “=IMDIV(X;Y)”, em que X é 1 e Y a célula D6, como mostrada na Figura 68.

	A	B	C	D	E
1	Ru (Ω)	100			
2	Rct (Ω)	1000			
3	Cdl (F)	1.00E-06			
4	1/Rct (Ω^{-1})	0.001			
5	Frequência (Hz)	Complexo	Produto complexo	iwC + 1/Rct	Inverso
6	40000.0000	40000i	0.04i	0.001+0.04i	=IMDIV(1;D6)
7	30000.0000	30000i	0.03i	0.001+0.03i	1.10987791342952-33.2963374028857i

Figura 68 – Aplicação da fórmula “=IMDIV” para soma do número complexo D6 por 1. A próxima linha contém o cálculo para a próxima frequência.

Fonte: o próprio autor.

Deste modo, a função de transferência, como no caso anterior, será a soma da coluna “Inverso” com o valor de Ru, e o processo de obtenção dos valores para os gráficos de Bode e Nyquist são os mesmos. A Figura 69 mostra como esses gráficos são formados a partir dos dados calculados para a Equação 47.

Figura 69 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 42 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter $\log |Z|$, $\log f$, $-Z''$, Z' e ângulo de fase.

Fonte: o próprio autor.

III. SISTEMA RC COM DIFUSÃO LINEAR SEMI-INFINITA EM MACROELETRODOS

Quando um sistema RC possui um elemento difusional, conforme mostrado na Figura 18A, a equação da impedância equivalente é igual a:

$$Z_{eq} = R_u + Z_1 \dots\dots\dots \text{Equação 43}$$

em que, neste caso, Z_1 incluirá a resistência à transferência de carga em série com a impedância à difusão. Estando a capacitância da dupla camada elétrica em paralelo com as duas resistências, a expressão de Z_1 será:

$$\frac{1}{Z_1} = \frac{1}{Z_{cdl}} + \frac{1}{R_{ct} + Z_W} \therefore i\omega C_{dl} + \frac{1}{R_{ct} + \frac{R_o}{\sqrt{\omega}} - i\frac{R_o}{\sqrt{\omega}}} \dots\dots\dots \text{Equação 44}$$

em que, substituindo a Equação 49 na Equação 48, tem-se:

$$Z_{eq} = R_u + \frac{1}{i\omega C + \frac{1}{R_{ct} + \frac{R_o}{\sqrt{\omega}} - i\frac{R_o}{\sqrt{\omega}}}} \dots\dots\dots \text{Equação 45}$$

em que as novas grandezas inclusas neste modelo foram explicadas na Seção 1.3.3.

Como pode ser notado na Equação 50, o processo de montagem das fórmulas no Excel® é idêntico ao processo anterior, exceto a adição da impedância difusional. Para tanto, é preciso incluir uma célula para o valor de A_W . Neste exemplo, será considerada uma reação reversível monoeletrônica para determinação do coeficiente de Warburg conforme a Equação 12. Considerando $\theta = 1$, $C_{Oxi} = C_{Red} = 10^{-4} \text{ mol cm}^{-3}$, $A = 1 \text{ cm}^2$, $D = 1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$, $R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ e $T = 298,15 \text{ K}$, obtém-se o valor de $A_W = 1,90 \Omega \text{ cm}^{-2}$. A sequências de coluna deve incluir o cálculo da raiz quadrada da frequência ($\sqrt{\omega}$) para, em outra coluna, ser o divisor do valor de A_W . Em seguida, deve-se calcular o valor da raiz quadrada imaginária da frequência a partir da seguinte fórmula:

=IMRAIZ(B6).....Fórmula 10

em que o comando “=IMRAIZ” retorna na célula o valor da raiz quadrada da frequência imaginária. Neste caso, a coluna utilizada é a “Complexo”, como mostrado na Figura 64. A seguir, a coluna a ser adicionada é a “ $-i(Aw/\sqrt{w})$ ”, em que as células mostrarão a divisão imaginária entre A_w e a frequência complexa; o próximo passo é a soma imaginária entre R_{ct} e o número complexo do elemento de Warburg para, depois, inverter o valor dessa soma na coluna “Inverso $R_{ct} + Z_w$ ”. Após este procedimento, é necessário criar outra coluna, chamada “Soma $i\omega C + (R_{ct} + Z_w)^{-1}$ ”, que corresponde aos valores do produto da capacitância da dupla camada elétrica com a frequência imaginária, “ $i\omega C$ ”, a ser somada com os valores da coluna “Soma $R_{ct} + Z_w$ ”. A penúltima coluna, chamada de “Inverso coluna anterior”, é o resultado da inversão da coluna “Soma $i\omega C + (R_{ct} + Z_w)^{-1}$ ”, para realizar a soma imaginária de R_u com a coluna “inverso coluna anterior”, aqui chamada de “Soma final”, correspondente à função de transferência, idêntica à Equação 50. A Figura 70 mostra como os gráficos de Bode e Nyquist se comportam em função dos dados utilizados nesta planilha.

Figura 70 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 47 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter $\log |Z|$, $\log f$, $-Z''$, Z' e ângulo de fase. O valor calculado de R_o foi $1,90 \Omega \text{ s}^{-1/2}$.

Fonte: o próprio autor.

IV. SISTEMA COM MAIS DE UMA CONSTANTE RC DE TEMPO

A impedância equivalente para um sistema de dupla constante de tempo, como descrita na Figura 19A, possui a seguinte equação:

$$Z_{eq} = R_u + Z_1 + Z_2 \dots\dots\dots \text{Equação 46}$$

em que Z_{eq} e R_u possuem seus significados habituais, e Z_1 e Z_2 correspondem às impedâncias equivalentes dos circuitos 1 e 2 que possuem seus respectivos circuitos com resistência e capacitância. Neste caso, a soma das impedâncias equivalentes será igual a:

$$\frac{1}{Z_1} + \frac{1}{Z_2} = \frac{1}{R_{ct1}} + i\omega C_{dl1} + \frac{1}{R_{ct2}} + i\omega C_{dl2} \dots\dots\dots \text{Equação 47}$$

em que, substituindo a Equação 52 na Equação 51, tem-se:

$$Z_{eq} = R_u + \frac{1}{j\omega C_{dl1} + \frac{1}{R_{ct1}}} + \frac{1}{j\omega C_{dl2} + \frac{1}{R_{ct2}}} \dots\dots\dots \text{Equação 48}$$

em que a Equação 53 possui seus valores habituais.

Neste caso, como já dito anteriormente, é preciso fazer uma segunda sequência de operações para Z_2 , idêntica para calcular Z_1 , como mostrado na Seção anterior. Além disso, deve-se inserir novas células contendo os valores de R_{ct2} , C_{dl2} e de $1/R_{ct2}$. As operações para cálculo de Z_2 são idênticas. A Figura 71 mostra como seriam os gráficos de Nyquist e Bode a partir da Equação 53.

Figura 71 – Espectro de Nyquist (A) e Bode (B) para a equação de impedância equivalente descrita na Equação 45 utilizando planilha Excel® com as respectivas fórmulas para obter $\log |Z|$, $\log f$, $-Z''$, Z' e ângulo de fase. Os valores de R_{ct2} e C_{dl2} utilizados para esta simulação foram 600 Ω e 1 mF, respectivamente.

Fonte: o próprio autor.

SÚMULA CURRICULAR

i. DADOS PESSOAIS

Nome: Othon Souto Campos

Local e data de nascimento: Fortaleza/CE, 16 de abril de 1986

ii. EDUCAÇÃO

Ensino médio: Colégio Evolutivo – Fortaleza/CE, 2003

Ensino superior:

Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2006 (interrompido)
Graduação em Licenciatura em Química

Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009
Graduação em Bacharelado em Química

Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011
Mestrado em Química, ênfase em Físico-Química

Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016
Doutorado em Ciências, ênfase em Química

iii. OCUPAÇÃO

Bolsista de doutorado CAPES/PROEX – 08/2011 até 10/2011

Bolsista de doutorado CNPq/Demanda Social – 11/2011 até 07/2015

iv. PUBLICAÇÕES

Artigos publicados em periódicos indexados

- Lima, C. L.; **Campos, O. S.**; Oliveira, A. C.; de Sousa, F. F.; Filho, J. M.; Lima-Neto, P.; Correia, A. N.; Sabadia, G. Q.; Nogueira, I. M.; Pinheiro, G. S.; Oliveira, A. C. Synthesis, characterization and catalytic performance of metal-containing mesoporous carbons for styrene production. **Applied Catalysis A: General**, v. 395, n. 1–2, p. 53–63, mar. 2011.
- BUORO, R. M.; **CAMPOS, O. S.**; BACIL, R. P.; SERRANO, S. H. P. Insights toward the Electrochemical Behavior of Hematin Using a Hematin Modified Glassy Carbon Electrode. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 163, n. 10, p. G178–G185, 8 set. 2016.

Comunicações em congressos

- Buoro, R. M.; **Campos, O. S.**; Bacil, R. P.; Serrano, S. H. P. Electrochemical behavior of biomimetic molecule hematin on glassy carbono electrode. XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, Uberlândia (Brasil) 2015.
- **Campos, O. S.**; Lima, A. W. O.; Buoro, R. M.; Pedrotti, J. J.; Domingues, S. H.; Serrano, S. H. P. Electrocatalytic effect of graphene and quercetine composite on glassy carbono electrode via electrochemically induced Michael addition. XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, Uberlândia (Brasil), 2015.
- Lima, A. W. O.; **Campos, O. S.**; Buoro, R. M.; Pedrotti, J. J.; Domingues, S. H.; Serrano, S. H. P. Electrochemical performance of lignine/graphene oxide/glucose oxidase composites as nanoconnectors between FAD/FADH₂ and the transducer. XXIII International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, Malmö (Suécia), 2015.
- Lima, A. W. O.; **Campos, O. S.**; Buoro, R. M.; Pedrotti, J. J.; Domingues, S. H.; Serrano, S. H. P. Simultaneous detection of

noradrenaline, acetaminophen, xanthine and theophylline at a sensor based on a graphene oxide and o-dihydroxy catechol modified glassy carbon electrode. XVI Topical Meeting of ECS, Angra dos Reis (Brasil), 2015.

- Gomes, C. S.; Buoro, R. M.; **Campos, O. S.**; Serrano, S. H. P. Evaluation of BDDE surface pre-treatment towards the oxidation of indolic compounds. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- **Campos, O. S.**; Correia, A. N.; Lima-Neto, P. Estudo qualitativo da eletrodeposição de cádmio em meio de sulfato ácido. XIX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, Campos do Jordão (Brasil), 2013.
- Lima, C. L.; **Campos, O. S.**; de Sousa, F. F.; Filho, J. M.; Lima-Neto, P.; Correia, A. N.; Oliveira, A. C. Synthesis, characterization and catalytic performance of metals-containing modified mesoporous carbon for styrene production. XVI Congresso Brasileiro de Catálise, Campos do Jordão (Brasil), 2011.